

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Журавлева Анна Ивановна

**Проявление затравочного эффекта в разложении органического вещества
современных и погребенных почв лесной зоны**

Специальность 03.02.13 – почвоведение

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва - 2019

Работа выполнена в лаборатории почвенных циклов азота и углерода Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физико–химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук.

Научный руководитель:

Благодатская Евгения Валерьевна,
кандидат биологических наук

Официальные оппоненты:

Милановский Евгений Юрьевич,
доктор биологических наук, доцент,
кафедра физики и мелиорации почв
Московского государственного университета
имени М.В. Ломоносова

Манучарова Наталия Александровна,
доктор биологических наук, профессор,
кафедра биологии почв Московского
государственного университета имени М.В.
Ломоносова

Русаков Алексей Валентинович доктор
географических наук, профессор, заведующий
кафедрой почвоведения и экологии почв
Санкт-Петербургского государственного
университета

Защита диссертации состоится «28» мая 2019 г. в 17 часов 30 мин на заседании диссертационного совета МГУ.03.05 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, ГСП–1, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, аудитория 398-М.

E-mail: mmakarov@soil.msu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»:

<https://istina.msu.ru/dissertations/188295438/>

Автореферат разослан «23» апреля 2019 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета,
доктор биологических наук



Ковалева Наталия Олеговна

Актуальность работы. В наземных экосистемах почва является одним из главных резервуаров углерода, содержание которого в почвенном органическом веществе втрое выше, чем в атмосфере (Batjes, 1996). Основные запасы С сосредоточены в верхней части почвенного профиля, а с учетом минеральных горизонтов, содержание углерода в 3-м слое увеличивается до 2.3 Гт. Несмотря на то, что химическая структура органического вещества (ОВ) в верхней и нижней части почвенного профиля зачастую имеет сходный характер (Fontaine, 2007), органическое вещество минеральных горизонтов обновляется очень медленно, и его возраст по радиоуглеродному датированию (^{14}C) может достигать нескольких тысяч лет, т.е. «древний» стабильный гумус представляет собой долговременный резервуар углерода, и в то же время является потенциальным источником CO_2 (Богатырев, 2007; Моргун, 2008; Семенов, 2015; Ковда, 2016; Меняйло, 2016).

Стабильность ОВ минеральных почвенных горизонтов может быть обусловлена дефицитом свежего субстрата для почвенных микроорганизмов, т.е. биотическим фактором (Гузев, 1980; Манучарова, 2017). Внесение в почву доступного субстрата активирует микроорганизмы и инициирует синтез ферментов (Крамарева, 2003), принимающих участие в разложении почвенного органического вещества (ПОВ), т.е. приводит к возникновению затравочного эффекта (ЗЭ), а именно - к усилению минерализации ПОВ (Кудеяров и др., 2007). Микробные сообщества корнеобитаемого слоя формируются в условиях регулярного поступления органического субстрата (благоприятствующего развитию копиотрофных микроорганизмов), тогда как на глубине, в условиях недостатка поступления органического вещества относительно доминируют олиготрофы (Лысак, 2008; Звягинцев, 2002; Семенов, 2013). Насколько различается способность микроорганизмов инициировать затравочный эффект в органогенной и минеральной части почвенного профиля - остается невыясненным. В погребенных почвах микроорганизмы, ранее существовавшие в условиях притока свежего субстрата, вынуждены адаптироваться к недостатку элементов питания и энергии. В данном случае погребенные горизонты представляют собой модельные объекты с резко контрастными трофическими условиями по сравнению с современными обогащенными ОВ горизонтами. Актуальным остается вопрос: что определяет ЗЭ при долговременном изменении трофической ситуации, вызванной,

например, погребением верхних почвенных горизонтов – отсутствие притока субстрата или свойства исходного микробного сообщества?

Положение почвы в ландшафте определяет комплекс гидротермических и трофических условий (Русаков, 2019), влияющих на деятельность микроорганизмов, в том числе и на уровне элементов микрорельефа (Алифанов, 2004; Добровольская, 2017). Исследование влияния микрорельефа на активность почвенных микроорганизмов представляет особенный интерес, поскольку почвы, сформировавшиеся в микропонижениях, относительно обогащены органическим веществом и обеспечены влагой по сравнению с почвами микроповышений (Алифанов, 2010). Это позволяет предположить различия микробного отклика на поступление доступного субстрата в почвах разных элементов микрорельефа. Помимо воздействия естественного фактора (микрорельефа) на реакцию почвенных микроорганизмов при поступлении свежего субстрата, существенное влияние оказывает негативная антропогенная деятельность (Кожевин и др., 1989; Селивановская, 2007), а именно - пирогенное воздействие (Девятова, 2012; Милановский, 2018). Увеличение площадей неконтролируемых палов растительности приводит к поступлению в почву продуктов неполного сгорания растительных остатков, способных изменять ростовые характеристики микроорганизмов, инициирующих ЗЭ. Известно, что микроорганизмы с доминирующей r-стратегией характеризуются высокой скоростью роста в условиях избытка субстрата и менее эффективной способностью усваивать субстрат, чем K-стратегии, отличающиеся высокой конкурентной способностью, меньшей скоростью роста, доминирующие при разложении труднодоступных субстратов (Паников, 1992). В связи с этим, исследования функциональных особенностей почвенных микроорганизмов на различных стадиях преобразования пирогенно-измененного растительного материала лесного и лугового ценозов представляются актуальными.

Цель работы заключалась в выявлении роли доступного субстрата в проявлении затравочного эффекта в современных и погребенных почвах.

Задачи исследования включали:

- Определение интенсивности затравочного эффекта в зависимости от:
- величины микробной биомассы;
- содержания органического углерода в почве;
- трофической обстановки в органогенных и минеральных горизонтах;

- смены трофических условий в современных и погребенных горизонтах почв;
- микрорельефа;

- Сравнение величины ЗЭ в подзолистых и серых лесных почвах.
- Выявление изменений ростовых характеристик почвенных микроорганизмов в зависимости от качества субстрата.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследований.

Выявлено, что стабильность органического вещества глубоколежащих минеральных и погребенных почвенных горизонтов в значительной мере является результатом недостатка доступа свежего субстрата. Продemonстрировано сохранение функциональных особенностей в погребенных горизонтах почв лесной зоны, присущих копиотрофным микроорганизмам. Впервые выявлено влияние почвы на высоком (типовом) таксономическом уровне для лесной климатической зоны на интенсивность проявления затравочных взаимодействий. Выявлена прямая взаимосвязь величины ЗЭ с содержанием $C_{\text{орг}}$ и микробной биомассы. Установлено, что в горизонтах почв, лимитированных по источнику энергии и питательным элементам, относительное доминирование получали микроорганизмы - К-стратеги. Проведена оценка влияния микрорельефа на проявление затравочного эффекта в гумусовых горизонтах серой лесной почвы, кроме того, выявлены и механизмы развития ЗЭ. Так, в ходе долговременной минерализации органического вещества увеличение величин ЗЭ сопровождалось усилением активности ферментов, минерализующих труднодоступные соединения. Показано, что качество вносимых в почву субстратов влияло на состояние микробных сообществ, обуславливая доминирование медленно растущих микроорганизмов, способных вызывать затравочный эффект, в вариантах с пирогенно-трансформированным растительным материалом. Выявлены функциональные изменения в структуре микробного сообщества почвы, инициированные поступлением пирогенного материала, которые создают угрозу запасам органического вещества почвы.

Материалы диссертации могут быть использованы в курсах лекций по почвенной микробиологии, экологии, биогеохимии и химии гумуса, а также для создания математических моделей цикла C в почве и наземных экосистемах.

Основные защищаемые положения.

1. Стабильность органического вещества почв в значительной мере определяется дефицитом свежего субстрата для почвенных микроорганизмов.
2. Интенсивность проявления затравочного эффекта контролируется величиной микробной биомассы и активностью гидролитических ферментов.
3. Величина затравочного эффекта зависит от микроклиматических особенностей, обусловленных положением почвы в микроландшафте.
4. Качество поступающего в почву субстрата определяет изменение ростовых характеристик микроорганизмов почв.

Апробация работы. Результаты исследований были представлены на российских конференциях: «Экология и почвы. Роль абиотических факторов в почвообразовании» (г. Пущино, 2009), Пущинская школа-конференция молодых ученых "Биология – наука XXI века" (г. Пущино, 2009, 2015), «География продуктивности и биогеохимического круговорота наземных ландшафтов. К 100-летию Н.И. Базилевич» (г. Пущино, 2010), на Съезде Общества почвоведов им. В.В. Докучаева (Белгород, 2016). Кроме того, результаты диссертации были апробированы на Международных симпозиумах и конференциях: Eurosoil (г. Бари, Италия, 2012), Симпозиум по органическому веществу почв (г. Харпенден, Великобритания, 2017), Микробиологический Конгресс (г. Пущино, 2017), на Ежегодной сессии Европейского союза наук о Земле (г. Вена, Австрия, 2010, 2017).

Личный вклад соискателя. В ходе работы над диссертацией автор принимал непосредственное участие в полевых исследованиях, планировании и проведении лабораторных экспериментов, компьютерной обработке и анализе данных, обсуждении и публикации результатов.

Публикации по теме диссертационной работы. По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 3 работы - в рецензируемых научных журналах, входящих в международные базы WOS и Scopus.

Объем и структура диссертации. Диссертация включает введение, обзор литературы, описание объектов и методов исследования, обсуждение экспериментальных результатов, заключение, выводы, приложение и список литературы. Материалы диссертации изложены на 129 страницах, содержит 8 таблиц, 25 рисунков. Список литературы включает 178 наименований, в том числе 114 англоязычных.

Организация исследований. Основная часть лабораторных исследований выполнена в Институте физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН (г. Пущино, Московская обл.). Полевые наблюдения осуществлялись на территории Опытной-полевой станции ИФХиБПП РАН. Часть почвенных образцов были предоставлены д.б.н., профессором В.М. Алифановым и научным сотрудником к.г.н. Института криосферы Земли СО РАН А.С. Якимовым. Эксперименты с использованием ^{14}C проводились на базе изотопного блока Института фундаментальных проблем биологии РАН (г. Пущино).

Благодарности. Автор выражает благодарности научному руководителю к.б.н., в.н.с. Е.В. Благодатской за всестороннюю помощь и поддержку. Автор глубоко признателен за ценную консультационную помощь в описании погребенных почв и поддержку проф., д.б.н., В.А. Демкину. Особую благодарность автор выражает к.б.н., в.н.с. Т.С. Демкиной за участие в обсуждении полученных результатов. Соискатель благодарен за содействие в ходе анализа данных к.б.н., в.н.с. Т.Э. Хомутовой, к.б.н. с.н.с. лаборатории математического моделирования экосистем Т.Н. Мякшиной за помощь в подготовке образцов для исследований и планировании лабораторных опытов. Автор глубоко благодарен всем сотрудникам лаборатории археологического почвоведения и коллективу лаборатории почвенных циклов азота и углерода ИФХиБПП РАН за внимательное и дружественное участие на всех этапах подготовки данной работы. Автор благодарит зав. лабораторией, д.б.н., профессора, чл.-корреспондента РАН В.Н. Кудеярова за помощь и всестороннюю поддержку.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ЗАТРАВОЧНЫЙ ЭФФЕКТ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Затравочные эффекты принято разделять на *реальный* (источник дополнительного углерода - почвенное ОВ) и *кажущийся* (источник - микробная биомасса). Правильное экспериментальное разделение ЗЭ на *кажущийся* и *реальный* зачастую является проблематичным. Естественное обогащение почв ^{13}C и применение равномерно меченых ^{14}C -субстратов позволяет решать эту проблему (*Blagodatskaya et al., 2011*). В качестве дополнительной характеристики *реального* затравочного эффекта было предложено определять активности ферментов, разрушающих высокомолекулярные (труднодоступные) соединения (*Blagodatskaya, Kuzyakov, 2008*). Внесение доступного субстрата в почву инициирует не только усиление минерализации ПОВ (положительный ЗЭ), но и вызывает противоположное явление – замедление

разложения органического вещества почв, или иммобилизацию внесенных азота или углерода, т.е. отрицательный ЗЭ.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Затравочный эффект как фактор стабильности органического вещества изучали в почвах лесной климатической зоны. Исследование влияния трофических условий на проявление затравочного эффекта проводили в современных и погребенных подзолистых почвах средневекового поселения IX-X вв н.э. «Вынгаяха 7» Ямало-Ненецкого АО, Пуровского района (*Пошехонова, 2009*). Мы исследовали проявление ЗЭ для копитрофных микробных сообществ верхнего органогенного горизонта (О) и ЗЭ для олиготрофных микроорганизмов в минеральном горизонте (В) подзолистой почвы, а также при долговременном изменении трофической обстановки в погребенных аналогах современных горизонтов: О и В.

Таблица 1. Характеристики исследуемых горизонтов подзолистой почвы

Горизонт, (см)	C _{орг} , %	pH _{водный}
О (0 - 4)	7,29	4,74
B _{Fe} (45 - 80)	<0,5	5,65
[O] (23 - 30)	3,1	5,17
[B _{Fe}] (55 – 70)	<0,5	7,45

Влияние микрорельефа на интенсивность проявления затравочного эффекта изучали на образцах серых лесных современных и погребенных почв микроповышения (далее в тексте – **МПВ**) и микропонижения (**МПН**), расположенных на северных отрогах Среднерусской возвышенности (правобережье широтного отрезка р. Ока) на юге Московской области в районе г. Пущино (*Алифанов, Гугалинская, 2008*). Реликтовый полигонально-блочный микрорельеф, образовавшийся в позднеплейстоценовое время 14–16 тыс. л. Н., сохранился до настоящего времени в виде округлых почвенных блоков, в поперечнике достигающих 15 - 40 м со средней высотой превышения над межблочьями 60 см. Межблочья оконтуривают блоки и имеют ширину 3-7 м, а в поперечнике могут достигать от 3 - 7 до 10 - 15 м. Исследовали современные гумусовые горизонты – А1 на МПВ и А1 МПН, а также их погребенные аналоги.

Таблица 2. Характеристики исследуемых горизонтов серой лесной почвы

Горизонт (см)	C _{орг.} , %	pH _{водный}
 A1 (1 - 7)	2,8±0,5	5,5
 A1 (1 - 8)	3,6±0,5	5,9
 [A1] (215 - 225)	0,3±0,05	5,9
 [A1] (138 - 148)	0,4±0,05	6,3

Для разделения источников углерода в выделившемся CO₂ на углерод внесенного субстрата и почвы в почву добавляли раствор равномерно меченной ¹⁴C-глюкозы, выделившийся углекислый газ улавливали 1н раствором NaOH, последующее определение общего CO₂ проводили титриметрическим методом, ¹⁴C активность определяли в аликвоте щелочи, смешанной со сцинтилляционной жидкостью, на жидкостном сцинтилляционном счетчике Beckman coulter (Beckman, США), полученные результаты сравнивали с контролем.

Величину затравочного эффекта (мкг/г почвы) рассчитывали, вычитая из общего количества выделившегося CO₂ (CO₂^{общ}) - количество меченного CO₂ (¹⁴CO₂) и количество CO₂, выделившегося из контрольной почвы без добавления глюкозы (CO₂^{контр}):

$$CO_2^{ПОВ} = \underbrace{(CO_2^{общ} - {}^{14}CO_2)}_{\text{почва с глюкозой}} - \underbrace{CO_2^{контр}}_{\text{почва с водой}} \quad (1)$$

почва с глюкозой почва с водой

Дополнительно рассчитывали относительный затравочный эффект, выраженный в % по отношению к контролю (необогатенной глюкозой почвы) и внесенному С:

$$ОЗЭ = (ЗЭ \cdot 100) / CO_2 \text{ общ}, \dots \dots \dots (2)$$

$$ОЗЭ = (ЗЭ \cdot 100) / C \text{ внес.}, \dots \dots \dots (3)$$

ЗЭ- затравочный эффект (мкг/г), CO₂ общ. – количество CO₂, выделившегося из контрольной почвы (мкг/г), С внес.- внесенный С (мкг/г).

Эффективность потребления субстрата (Y) определяли для первых 3 сут инкубации, принимая допущение, что в течение этого времени внесенная глюкоза была потреблена микроорганизмами и частично минерализована до CO₂. Величину Y рассчитывали, исходя из соотношения количества выделившегося ¹⁴CO₂ к количеству потребленной ¹⁴C глюкозы, по уравнению:

$$Y = 1 - (^{14}\text{CO}_2/\text{C гл.}), \quad (4)$$

где $^{14}\text{CO}_2$ – количество кумулятивно выделившегося меченого CO_2 , мкг С/г,
С гл. – количество углерода, внесенного с глюкозой, мкг С/г почвы.

Таким образом, при расчете величин Y учитывали выделение CO_2 только за счет минерализации внесенного субстрата. Величину общей микробной биомассы определяли физиологическим методом (*Anderson, Domsch 1978*), ферментативную активность - методом флуорогенно-меченных субстратов (*Pritch, Sowerby, 2005*).

Проводили сравнение активности ферментов класса гидролаз, осуществляющих последовательное разложение полимерных (труднодоступных) – целлюбогидролазы и ксиланаз и олигомерных соединений – β -глюкозидазы и хитиназы - до мономеров. Ростовые характеристики почвенных микроорганизмов определяли с помощью кинетического подхода (*Panikov, Sizova, 1996*).

Максимальную удельную скорость роста микроорганизмов (μ_m , ч⁻¹) определяли, аппроксимируя экспериментально полученные значения скорости выделения CO_2 (мкг С г почвы⁻¹ ч⁻¹) по уравнению:

$$v = v_0^{\text{пр}} \exp(\mu_m t) + v_0^{\text{хол}}, \quad (5)$$

где $v_0^{\text{пр}}$ - начальная скорость продуктивного окисления субстрата, сопряженного с синтезом АТФ,

$v_0^{\text{хол}}$ – начальная скорость холостого окисления субстрата до CO_2 ,

t – время, ч.

Подбор параметров уравнения (5) осуществляли с помощью программы Model Maker 3.1 (“Cherwell Scientific Publishing Ltd”) по методу наименьших квадратов. Для расчета доли активной биомассы почвенных микроорганизмов, способных к росту на внесенной глюкозе, использовали параметры, найденные для уравнения (5). Исследования проводили на почвенных образцах в 5 повторностях, вариабельность показателей оценивали с помощью стандартной ошибки.

Глава 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1. Влияние исходной трофической обстановки на функциональные особенности микроорганизмов современных и погребенных подзолистых почв.

Процесс разложения глюкозы в современных и погребенных подзолистых почвах характеризовался двумя периодами с различной интенсивностью минерализации. В период интенсивной минерализации (первые 3 сут после внесения глюкозы) эмиссия CO_2 из органогенного горизонта в 10 раз превышала выделение CO_2 из контрольной почвы. В последующие 50 сут происходило замедление скорости минерализации (рис. 2). Скорость продуцирования CO_2 из современных органогенного и минерального горизонтов в 3-4 раза превышала эмиссию углекислого газа из погребенных горизонтов О и В, соответственно (рис. 2а). В целом, скорость выделения CO_2 из органогенного горизонта превышала таковую из минеральных В горизонтов в течение всего инкубационного периода (рис. 2а).

Динамические изменения интенсивности минерализации глюкозы можно объяснить 1) быстрым потреблением субстрата и использованием его в ходе катаболизма (первые 3 сут) и 2) последующей реутилизацией иммобилизованного в микробной биомассе углерода. Микробные сообщества минеральных горизонтов, сформировавшиеся в условиях субстратного лимитирования, характеризовались более эффективным потреблением глюкозы (табл. 3), т.е. относительным преобладанием микроорганизмов с К-стратегией.

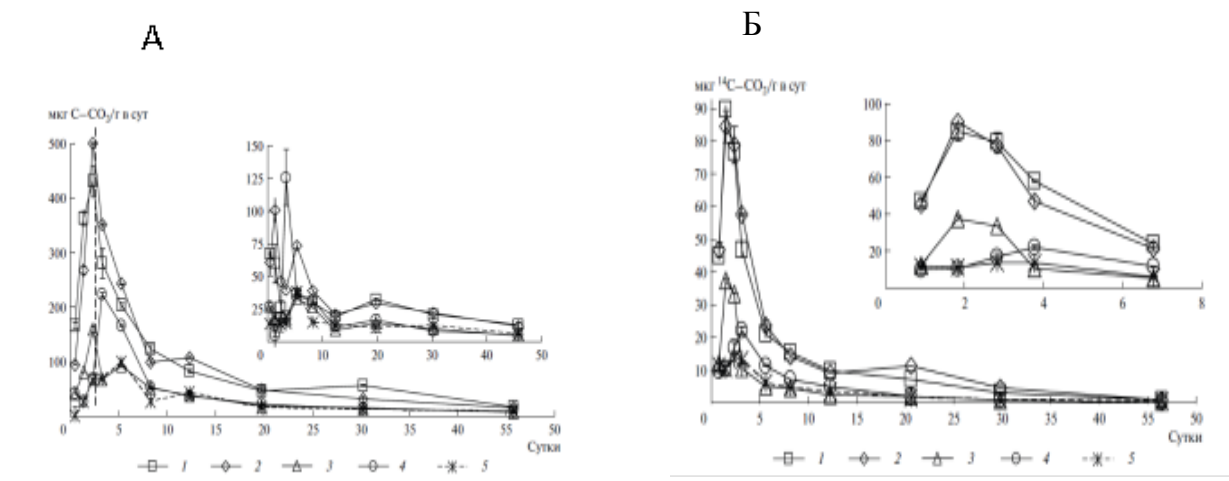


Рис. 2. Динамика эмиссии CO_2 из современных и погребенных подзолистых почв - А), вставка - скорость эмиссии CO_2 из контрольных, необогащенных глюкозой почв. Кинетика респираторного отклика (эмиссии $^{14}\text{C}\text{CO}_2\text{-C}$) из современных органогенных, иллювиальных и погребенных горизонтов - Б), вставка - кинетика дыхательного

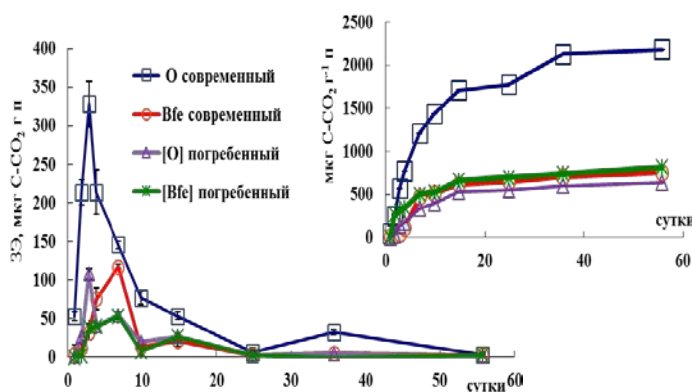
отклика ($^{14}\text{CO}_2\text{-C}$) за первые 8 сут. Современные горизонты 1 - О (0 - 4 см), 2 - В_{Fe} (45 - 80 см); погребенные горизонты: 3 - [О] (23 - 30 см), 4- [В_{Fe}] (55 - 70 см).

Респираторная реакция микроорганизмов на внесенный субстрат не только в современном почвенном горизонте О, но и в погребенном [О] характеризовалась одинаковым трендом выделения $^{14}\text{CO}_2$ (рис. 2Б), что говорит о сохранении функциональных особенностей микроорганизмов в течение длительного периода после погребения. Характерным отличием кинетики респираторной реакции микроорганизмов минеральных горизонтов от органогенных являлось наличие 2- сут лаг-периода (рис. 2Б), в то время как микроорганизмы О горизонта осуществляли разложение глюкозы сразу после её внесения.

Таблица 3. Интенсивность затравочного эффекта в зависимости от эффективности потребления глюкозы микроорганизмами и реутилизации углерода глюкозы в микробной биомассе современных и погребенных горизонтах подзолистой почвы.

Горизонт, см	Эффективность потребления глюкозы (Y)*	Реутилизация С-глюкозы в микробной биомассе, % **	МБ мкг С/г почвы
Современный О (0 - 4)	0,79	16,4	464
Погребенный [О] (23 - 30)	0,61	19,3	126
Современный В _{Fe} (45 - 80)	0,83	39,5	17,3
Погребенный [В _{Fe}] (55 - 70)	0,83	24,3	38,4

*Примечание - коэффициент экономического потребления субстрата, рассчитан



для первых 3 сут инкубации, принимая допущение, что за трое суток микроорганизмы использовали глюкозу, частично минерализовав её до CO_2

** - реутилизацию С - субстрата, рассчитывали для 10 сут интервала, на основании выделившегося суммарного

$^{14}\text{CO}_2$.

Рис. 3. Интенсивность затравочного эффекта в современных и погребенных горизонтах подзолистой почвы.

Проявление затравочного эффекта, в зависимости от величины МБ и $\text{C}_{\text{орг}}$ в современных и погребенных горизонтах подзолистой почвы. Величина суммарного ЗЭ закономерно снижалась от верхнего органогенного к минеральным и погребенным горизонтам (рис. 3). Минимальным затравочный эффект был в погребенном органогенном горизонте (рис.4А).

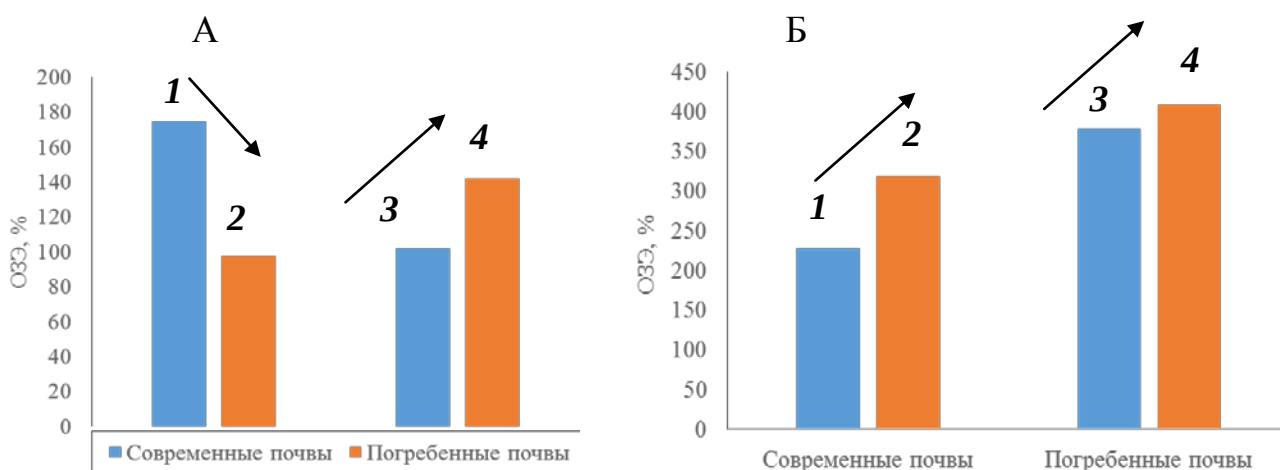


Рис. 4. Затравочный эффект по отношению к контролю - А, по отношению к внесенному углероду глюкозы - Б. Современные горизонты 1- О (0 - 4 см), 2 - B_{Fe} (45 - 80 см); погребенные горизонты: 3- [О] (23 - 30 см), 4- [B_{Fe}] (55 - 70 см).

Способность копитрофных и олиготрофных микроорганизмов вызывать затравочный эффект в органогенном и минеральных горизонтах определялась содержанием $\text{C}_{\text{орг}}$ и величиной микробной биомассы (рис. 5), причем более тесная взаимосвязь была обнаружена между ЗЭ и величиной микробной биомассы.

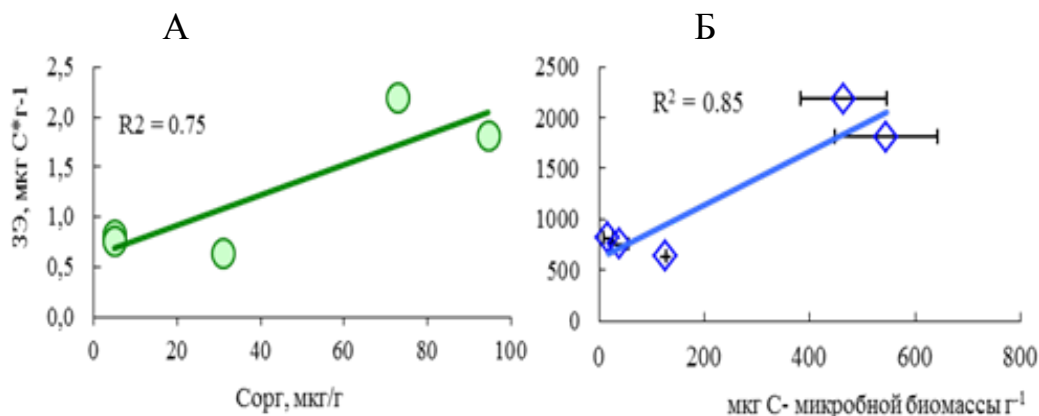


Рис. 5. Взаимосвязь затравочного эффекта с содержанием органического углерода (А) и

углерода микробной биомассы (Б) в современных и погребенных подзолистых почвах.

Большие величины абсолютного и относительного ЗЭ в минеральных почвенных горизонтах (по сравнению с органогенными) были связаны с усилением активности целлюбиогидролазы и β -глюкозидазы (рис. 6А). Интересно отметить, что ЗЭ, выраженный по отношению к контролю (рис. 4Б), оказывался максимальным в минеральном погребенном горизонте, в отличие от тенденции, выявленной для органогенных горизонтов подзолистой почвы (максимальный ЗЭ был в современном органогенном горизонте О). Причиной такого несоответствия являлось доминирование микроорганизмов с К-стратегией в минеральном погребенном горизонте, подтверждающееся более высокими значениями экономического коэффициента Y , то есть более эффективным потреблением субстрата.

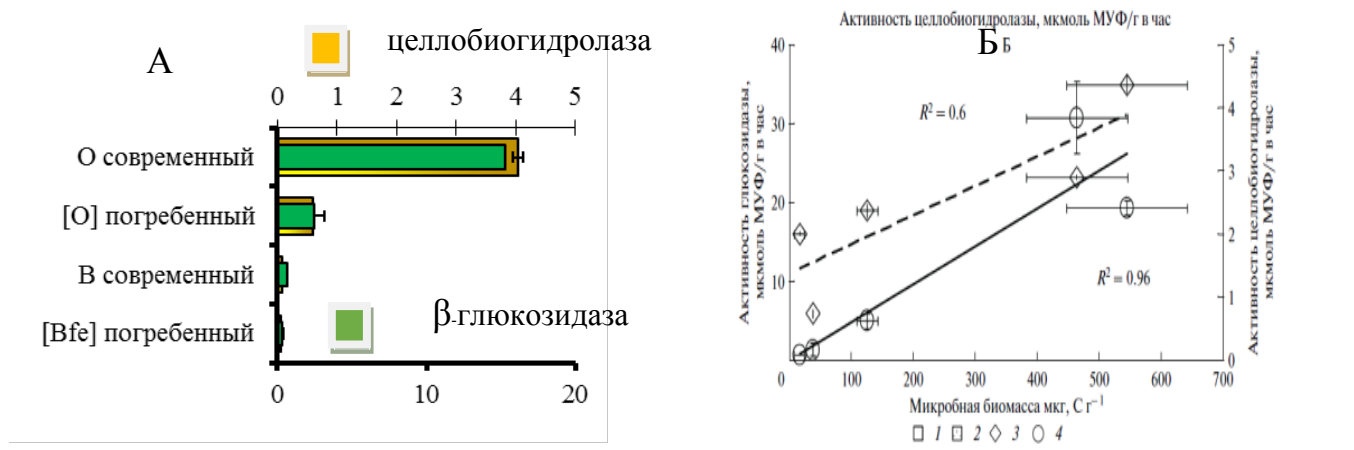


Рис. 6. Активность ферментов, минерализующих ПОВ, в современных и погребенных почвах - А; Б –зависимость ферментативной активности от величины микробной биомассы; основная ось Y (слева) – β -глюкозидаза (3), вспомогательная (справа) Y – целлюбиогидролаза (4).

Тесная взаимосвязь скорости ЗЭ с активностью целлюбиогидролазы, разлагающей высокомолекулярные соединения (рис.5Б), свидетельствует о возникновении *реального* затравочного эффекта, поскольку этот фермент может участвовать в процессе ко-метаболизма ПОВ (Fontaine, 2003). Таким образом, устойчивость почвенного ОВ к микробному разложению определяется дефицитом поступления свежего субстрата в минеральные и погребенные почвенные горизонты.

3.2. Влияние микрорельефа на величину затравочного эффекта в серых лесных почвах

Оценка минерализационной активности в современных и погребенных почвах в зависимости от содержания микробной биомассы и органического углерода

Микробиологические и физико-химические свойства серой лесной почвы микропонижения и микроповышения оказались сходными (табл. 2). Величины микробной биомассы снижались от современных к погребенным горизонтам в 8 раз для почвы МПВ и в 20 раз - для МПН, $C_{орг}$ - в 9 и 10 раз, скорости эмиссии углекислого газа - в 3 и 3,4 раза, соответственно. Важно отметить, что после увлажнения, спустя 10 сут инкубации вдвое увеличилась суммарная продукция CO_2 в небогатенной почве МПВ (рис. 7) как в современном гумусовом горизонте, так и в его погребенном аналоге по сравнению с интенсивностью выделения углекислого газа микроорганизмами почв МПН.

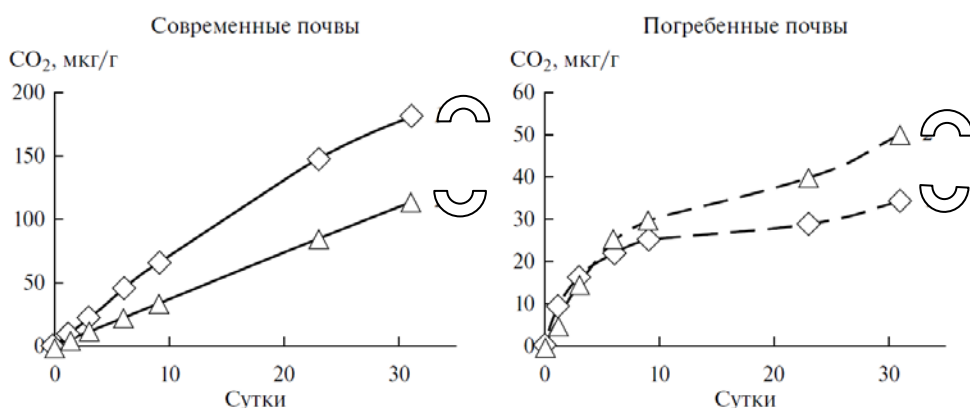


Рис. 7.
Суммарное
выделение
 CO_2 из

контрольных вариантов современных и погребенных почв:  -микроповышение,  микропонижение.

Выявлено, что до внесения в почвы легкодоступной глюкозы (только при добавлении воды) максимальная ферментативная активность наблюдалась в гумусовых горизонтах почв МПВ (рис. 8). В современной почве МПВ активность ферментов, осуществляющих разложение труднодоступных соединений - ксиланаз и целлобиогидролазы - была в 2 и 3 раза, соответственно, выше, чем в МПН.

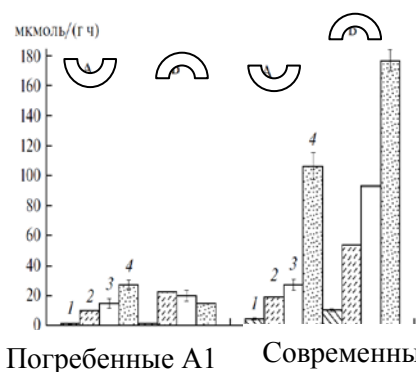


Рис. 8. Скорость ферментативного гидролиза в

современных и погребенных горизонтах серой лесной почвы:  микропонижение,  микроповышение (1-β- глюкозидазы, 2- хитиназы, 3- целлобиогидролазы, 4- ксиланаз).

Проявление затравочного эффекта в современных и погребенных гумусовых горизонтах серой лесной почвы микроповышения и микропонижения

Положительные величины затравочного эффекта были характерны для современных горизонтов, а также для погребенного гумусового горизонта почвы микропонижения. ЗЭ в погребенном горизонте почвы МПВ был отрицательным (рис. 9). Величина затравочного эффекта в современном гумусовом горизонте МПН в 6 раз превышала ЗЭ погребенного аналога (рис. 9) и коррелировала с величиной микробной биомассы и содержанием $C_{орг}$ в почвах (табл. 3).

Таблица 3. Микробиологические и физико-химические свойства современных и погребенных гумусовых горизонтов серых лесных почв в элементах микрорельефа

Горизонт (см)	МБ, мкг С/ г	$C_{орг}$, %
 Современный A1 (1-7)	397 a	2,8 a
 Современный A1 (1-8)	332 b	3,6 b
 Погребенный [A1] (215-225)	49,7 c	0,31 c
 Погребенный [A1] (138-148)	16,3 d	0,35 c

Таким образом, 10-кратные различия в содержании микробной биомассы и ПОВ между современными и погребенными почвами определяли различия и в абсолютных величинах ЗЭ.

Характерно, что небольшие различия в содержании микробного углерода между элементами микрорельефа в современных гумусовых горизонтах (величина $C_{мик}$ на микроповышении всего на 20% превышала величину МБ в почве микропонижения) оказались недостаточными, чтобы вызвать различия в ЗЭ. В погребенных почвах величина МБ на микроповышении в 3 раза превышала содержание микробной биомассы микропонижения, что приводило к достоверным различиям в интенсивности ЗЭ.

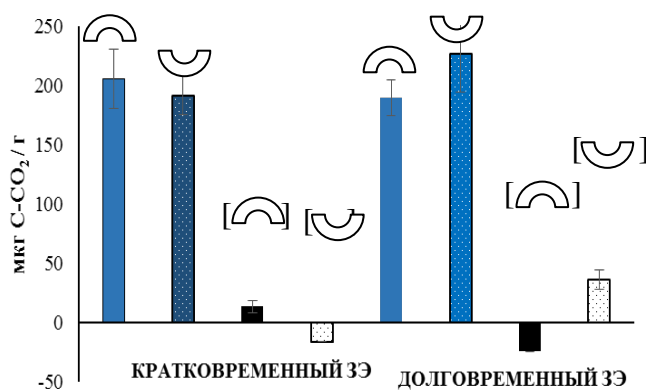


Рис. 9. Суммарный затравочный эффект в современных и погребенных гумусовых горизонтах серых лесных почв. В квадратных скобках – погребенные аналоги.

Наблюдавшиеся затравочные взаимодействия различались и по механизмам, и по продолжительности ЗЭ в зависимости от микрорельефа. В фазу интенсивной минерализации (2-5 сут) положительный затравочный эффект наблюдался в почве МПВ, в то время как на МПН ЗЭ был отрицательным. Важно подчеркнуть, что прирост активности ферментов (β -глюкозидазы, хитиназы и целлобиогидролазы) во время интенсивной минерализации оказался выше в современной почве микропонижения (рис. 10). При этом ЗЭ в горизонте микропонижения был или отрицательным, или ниже, чем на микроповышении. Наблюдавшееся кратковременное увеличение активности ферментов отражало активацию микробного метаболизма внесением глюкозы, не связанную напрямую с ЗЭ.

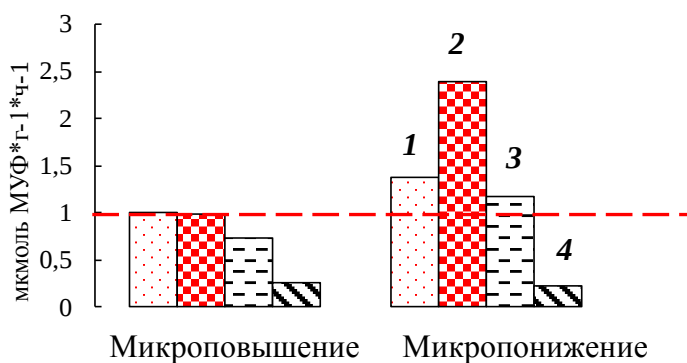


Рис. 10. Изменение активности ферментов (1- β -глюкозидазы, 2- хитиназы, 3- целлобиогидролазы, 4- ксиланазы) в современных горизонтах серой лесной почвы микропонижения и микроповышения в фазу интенсивной минерализации.

Долговременный затравочный эффект наблюдался в интервале 5 - 60 сут и был положительным в почве МПН и отрицательным в погребенной почве МПВ. Аналогично абсолютному ЗЭ, величина затравочного эффекта, стандартизированная по отношению к контролю, была выше в современных почвах по сравнению с погребенными (рис. 11).

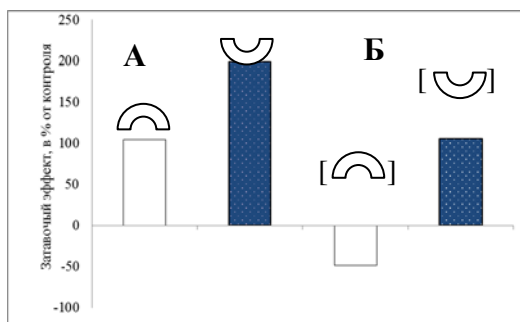


Рис. 11. Затравочный эффект, выраженный по отношению к контролю в современных (А) и погребенных (Б) горизонтах серой лесной почвы.

В современных гумусовых горизонтах долговременный ЗЭ был вдвое выше в почве микропонижения, чем на микроповышении. Подобная тенденция наблюдалась для погребенных аналогов: результирующий ЗЭ также оказался в 2 раза выше в микропонижении. Увеличение относительного затравочного эффекта (выраженного по отношению к контролю) в гумусовых горизонтах почв микропонижений соответствовало максимальному приросту ферментативной активности в этих горизонтах (рис. 12).

Таким образом, более высокие величины относительного ЗЭ в гумусовых горизонтах почв микропонижений были связаны с гидролитической активностью ферментов микроорганизмов. Это косвенно подтверждает, что при развитии долговременного затравочного эффекта источником выделяющегося $C-CO_2$ являлось почвенное органическое вещество (т.е. ЗЭ был *реальным*).

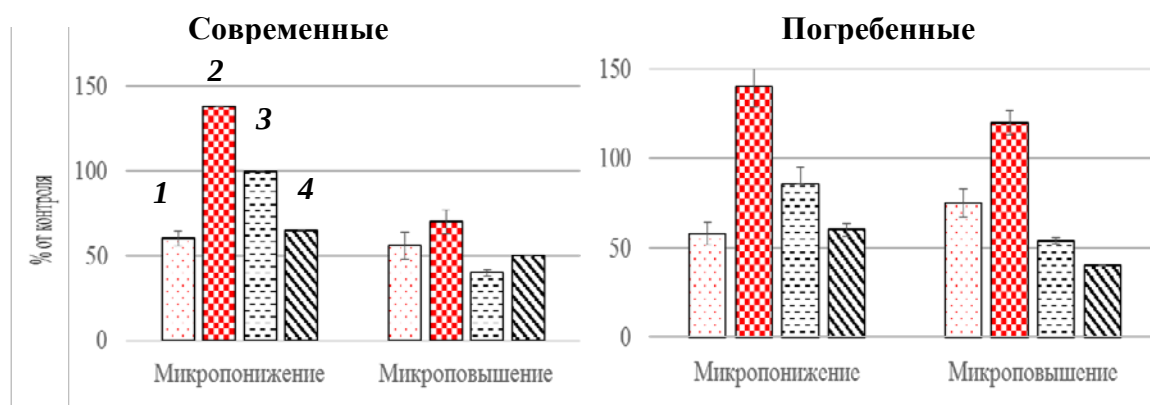


Рис. 12. Ферментативная активность в ходе долговременного затравочного эффекта, выраженного по отношению к контролю, в современных и погребенных горизонтах серой лесной почвы (1-β-глюкозидазы, 2- хитиназы, 3- целлобиогидролазы, 4- ксиланазы).

3.3. Интенсивность проявления затравочного эффекта в зависимости от типа почвы

Величина затравочного эффекта зависела от типа почвы. В современных горизонтах подзолистой почвы величина ЗЭ в 6 - 7 раз превышала таковую в современных горизонтах серой лесной почвы. Это объяснялось большим содержанием органического углерода в верхних органогенных горизонтах подзолистой почвы по сравнению с гумусовыми горизонтами серых лесных почв. Аналогичная ситуация была характерна и для палеогоризонтов почв.

3.3. Изменения ростовых характеристик микробных сообществ в зависимости от качества субстрата

Исследование изменений ростовых характеристик микроорганизмов и их влияние на затравочный эффект осуществляли при внесении растительного материала лугового и лесного ценозов, а также пирогенно-трансформированного растительного материала. В ходе минерализации внесенных растительных субстратов отчетливо выделялись три периода с разной интенсивностью процессов деструкции: 1) период интенсивной минерализации (0 - 5 сут), 2) замедление (5 - 25 сут) и 3) окончание минерализационных процессов (25 - 40 сут) (рис. 13).

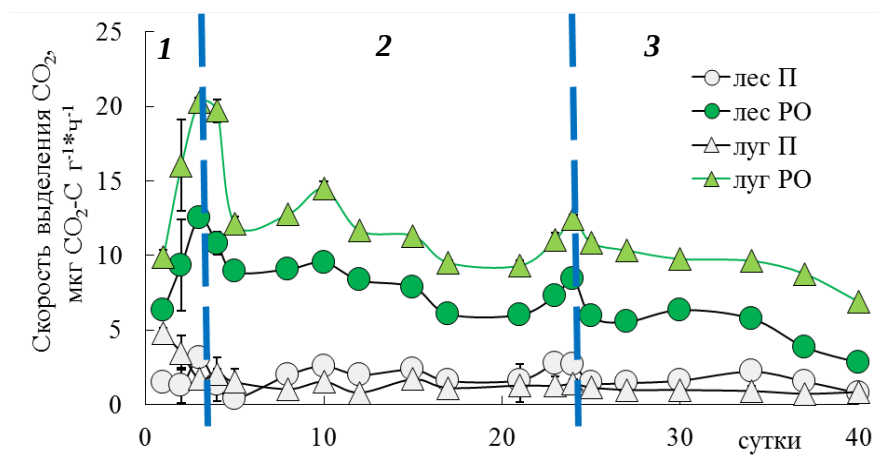


Рис. 13. Скорость эмиссии углекислого газа из почв с растительными субстратами за вычетом контроля; 1- интенсивная минерализация, 2 - замедление минерализации, 3 - окончание минерализации; овальные символы окрашенные - лес П, пустые - лес РО, треугольные символы окрашенные - луг П, пустые треугольники - луг РО.

Наибольшее влияние на кумулятивную эмиссию CO_2 оказывал тип внесенного субстрата (89% от общей вариабельности). В среднем, из вариантов с растительными остатками выделилось в 2 раза больше CO_2 , чем из почв с внесенным пеплом. Характерно, что процесс минерализации растительных остатков протекал наиболее интенсивно в почвах лугового ценоза, тогда как разложение пирогенного материала

оказалось наиболее сильным в лесной почве. Таким образом, пирогенное воздействие по-разному изменяет качество и доступность растительного материала лесного и лугового ценозов. Это приводит к диспропорциональным изменениям эмиссии CO_2 из почвы и изменению структуры микробного сообщества в почве.

Изменения в структуре микробных сообществ почв, инкубированных с растительными остатками, были наиболее интенсивными в период интенсивной минерализации, и проявлялись в уменьшении величины максимальной удельной скорости роста μ (в 1,3 - 1,4 раза для леса и луга соответственно) по сравнению с контролем (рис. 14).

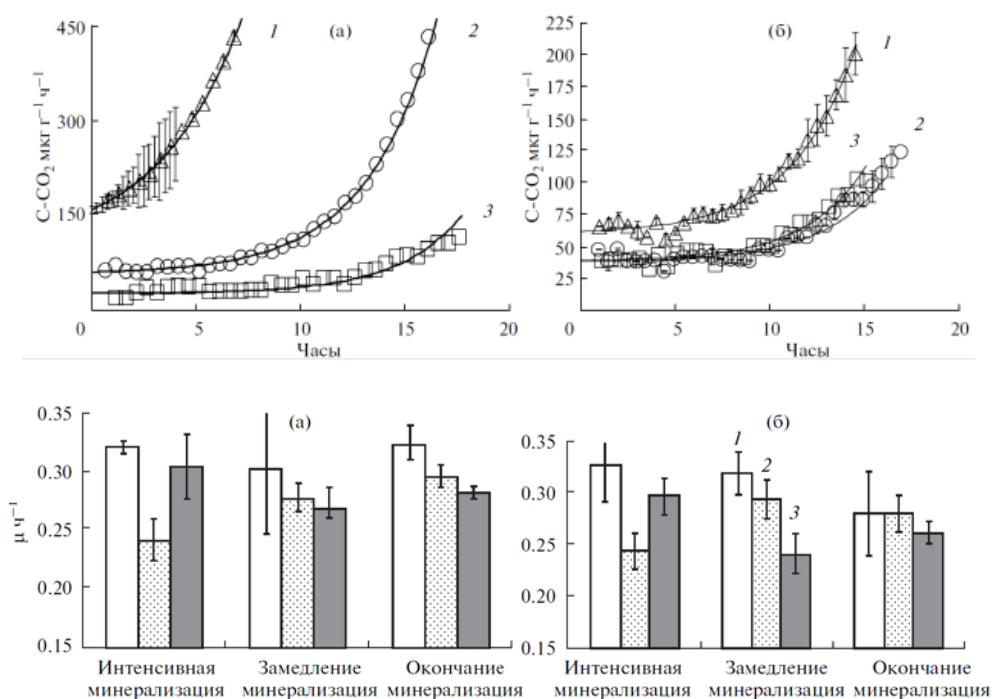


Рис. 14. Динамика респираторного отклика на внесение глюкозы и динамика максимальной удельной скорости роста микроорганизмов μ в почвах с внесением растительных остатков и пирогенно-трансформированного растительного материала в период интенсивной минерализации ((а) – на примере почвы под лесом, в период окончания минерализации на примере почвы луга (б)): 1 - контроль 2 - почва с растительными остатками, 3 - почва с пирогенно-трансформированным материалом).

На основании снижения величины максимальной удельной скорости роста микроорганизмов можно судить об относительном преобладании в почвах с растительными субстратами микроорганизмов с К-стратегией. Характерно, что изменение доминирующей стратегии в почвах, обогащенных растительными

остатками, было резким, но кратковременным: в ходе инкубации разница между скоростями роста в контрольной и обогащенной субстратами почвах сглаживалась, оставаясь достоверной к концу инкубации только в почвах лесного ценоза. В период интенсивной минерализации величина максимальной удельной скорости роста в варианте с пирогенным материалом не отличалась достоверно от значений μ в контрольной почве. Однако в период замедления минерализации произошло снижение максимальной удельной скорости роста (по отношению к контролю), то есть в почве с пирогенным материалом микроорганизмы с К-стратегией доминировали только на поздних этапах минерализации.

Динамика величины активной биомассы отражала доступность субстратов, внесенных в почву, для преобразования: обогащение почвы растительными остатками и пирогенно-трансформированным материалом, соответственно, привело к 100 - 200-кратному увеличению доли активной биомассы (рис. 15). Короткая продолжительность лаг-периода, а также величины времени генерации для общей и активной биомассы, подтверждают, что микроорганизмы – К-стратеги, разлагающие растительные остатки, находились к моменту определения величины μ в активном состоянии.

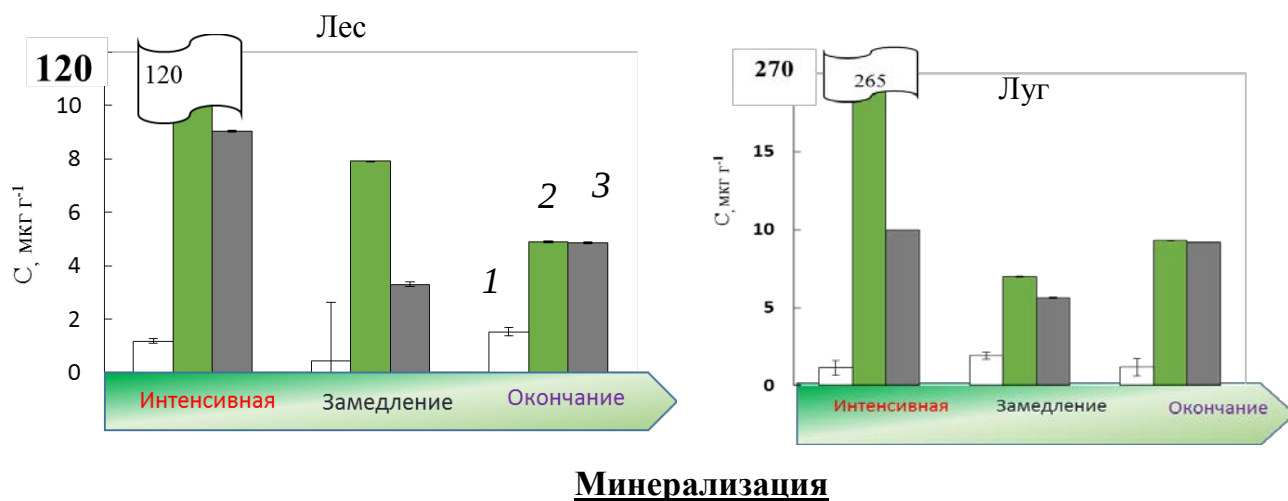


Рис. 15. Увеличение активной микробной биомассы в: 1 - контрольной почве, 2 - почве с растительными остатками, 3 - почве с пеплом.

Максимальная скорость роста микроорганизмов определялась как типом ценоза, так и качеством внесенного субстрата, и являлась более чувствительным показателем состояния микробного сообщества по сравнению с физиологической характеристикой микроорганизмов (респираторной активностью).

Применение кинетических методов позволяет косвенно судить о возникновении затравочного эффекта по изменению стратегии роста микроорганизмов. Относительное доминирование в структуре микробных сообществ микроорганизмов с К-стратегией указывает на возможность возникновения затравочного эффекта в почвах обоих ценозов. В вариантах с растительным пеплом вероятность затравочных взаимодействий была выше, что подтверждается низкими значениями μ и высокой эффективностью потребления субстрата, сохранявшимися до конца инкубации.

ВЫВОДЫ

1. Изучены характерные особенности возникновения затравочного эффекта, инициированного внесением ^{14}C -глюкозы в органогенные и минеральные горизонты серой лесной и подзолистой почв лесной зоны. Установлено, что интенсивность затравочного эффекта, в основном, определялась содержанием $\text{C}_{\text{орг}}$ и сопряженными с ним параметрами: величиной микробной биомассы и активностью гидролитических ферментов. Величины ЗЭ в подзолистой почве в 7,6 раз превышали таковые в серой лесной почве.
2. Влияние контрастных трофических условий выражалось в более высоких величинах затравочного эффекта, инициированного копиотрофными микробными сообществами органогенных горизонтов, в 3,5 - 4 раза превышавших ЗЭ, вызванный деятельностью олиготрофных микробных сообществ минеральных горизонтов почв. При смене трофических условий, вызванных прекращением доступа свежего субстрата в погребенных почвах, происходило 2-3-кратное снижение величин затравочного эффекта по сравнению с современными почвами.
3. Стандартизированная оценка ЗЭ по отношению к контрольной почве и внесенному углероду выявила в минеральных горизонтах по сравнению с органогенными в два раза более высокую удельную минерализационную активность при более эффективном потреблении субстрата, характерном для микроорганизмов с К-стратегией.
4. При развитии ЗЭ в гумусовых горизонтах серых лесных почв увеличивалась активность внеклеточных ферментов целлобиогидролазы и ксиланазы, осуществляющих разложение высокомолекулярных соединений растительного происхождения, что подтверждало участие микроорганизмов - К-стратегов в минерализации ПОВ.

5. Влияние микрорельефа проявлялось в верхних гумусовых горизонтах в ходе долговременного ЗЭ, который был в 1,5 раза выше на микропонижении по сравнению с микроповышением, и сопровождался усилением ферментативной активности.
6. Анализ кинетических показателей роста микроорганизмов выявил, что поступление в почву пирогенно-измененных растительных остатков вызывает функциональные изменения в структуре микробного сообщества, приводящие к доминированию медленно растущих микроорганизмов, способных вызывать затравочный эффект. Таким образом, даже кратковременные пожары в перспективе создают условия, приводящие к интенсификации разложения ПОВ, и, как следствие, создают угрозу запасам органического вещества почвы.

Научные статьи, опубликованные в журналах Scopus, WoS, RSCI, а также в изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности:

1. A. Zhuravleva, T. Myakshina, E. Blagodatskaya The effect of pyrogenically modified substrates on mineralizing activity and growth strategies of microorganisms of grey forest soil // Microbiology (Microbiologiya). 2011. №2. P. 194-204. **IF=0,8**
2. A. Zhuravleva, A. Yakimov, V. Demkin, E. Blagodatskaya Mineralization of soil organic matter initiated by the application of an available substrate to the profiles of surface and buried podzolic soils // Eurasian Soil Science. 2012. № 4. P.435 – 444. **IF=0,7**
3. A. Zhuravleva, V. Alifanov, E. Blagodatskaya Effect of contrasting trophic conditions on the priming effect in gray forest soil // Eurasian Soil Science. 2018. №2. P. 204 – 210. **IF=0,7**

Иные публикации:

1. А.И. Журавлева, А.С. Якимов, В.А. Демкин, Е.В. Благодатская Минерализация органического вещества в профиле современных и погребенных почв, инициированная внесением свежего субстрата // География продуктивности и биогеохимического круговорота наземных ландшафтов. М.: Тов-во научных изданий КМК. 2010. С. 298-301
2. Журавлева А.И., Благодатская Е.В. Оценка роли внесения свежего субстрата в усилении минерализации почвенного органического вещества в профиле

современных и погребенных почв // Отражение био-, гео-, антропоферных взаимодействий в почвах и почвенном покрове. Томск: ТМЛ-Пресс. 2010. Т.2. С. 73-75.

3. Журавлева А.И., Алифанов В.М., Благодатская Е.В. Влияние микрорельефа на проявление затравочного эффекта в современных и погребенных серых лесных почвах // Материалы всероссийской конференции по археологическому почвоведению, посвященной памяти проф. В.А. Демкина. Пушкино. 2014. С.113-116.

4. Плеханова Л.Н., Журавлева А.И., Ткачев В.В. Культурный слой и палеоурбаноземы эпохи бронзы поселения Ишкининское в Оренбургской области // Научное обозрение. 2015. № 20. С. 62-74.

5. E. Blagodatskaya, A. Zhuravleva, T. Myakshina, S. Blagodatsky Effect of ground fire of low intensity on soil organic matter decomposition. // EGU General Assembly. Vol 12. Vienna; 2010. pp. EGU2010-11279

6. E. Blagodatskaya, A. Zhuravleva, S. Blagodatsky, A. Yakimov, V. Demkin, Y. Kuzyakov Acceleration of organic matter decomposition after the input of available substrate in subsoil horizons. // EGU General Assembly. Vol 12. Vienna; 2010. pp. EGU 2010-6728.

7. Semenov M., Zhuravleva A., Tkhakakhova A. Spatial changes in the prokaryotic community structure across a soil catena. EGU General Assembly Conference Abstracts. Vienna, Austria. 2017. V. 19. P. 6648.

8. Semenov M., Zhuravleva A., Semenov V., Kuznetzova I., Yevdokimov I., Larionova A., Blagodatskaya E. Few bacterial species in soil microbial community react to changes in moisture regime. 6th International Symposium on Soil Organic Matter SOM. Harpenden. 2017. P. 15.

9. Журавлева А.И., Кузнецова И.Н., Благодатская Е.В. Оценка микробиологического отклика в условиях длительной и кратковременной засух в серой лесной почве // Тезисы VII- Съезда общества почвоведов им. В.В. Докучаева, Почвоведение- продовольственной и экологической безопасности. Белгород, 2016. С. 116-117.

10. Журавлева А.И. Влияние кратковременной и длительной засухи на биологическую активность почв в вегетационном опыте // Тезисы 22-й Международной Пушкинской школы-конференции молодых ученых «Биология- наука 21 века», Пушкино, 2018. С.47- 50.