

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии

Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ Т. Г. Волова

« 18 » июня 2018 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Оценка потери углерода криогенными почвами в инкубационных
экспериментах при разных температурах и добавлении меченой (^{13}C) глюкозы

Руководитель	_____	<u>доцент, к.б.н.</u>	Е.Н. Афанасова
Консультант	_____	<u>с.н.с., к.б.н.</u>	Г.К. Зражевская
Выпускник	_____		А.Е. Децура

Красноярск 2018

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Глава 1. Литературный обзор.....	5
1.1. Влияние глобального потепления на состояние органического вещества	5
1.2. «Прайминг-эффект» и его роль в минерализации почвенного органического вещества	6
1.3. Общий механизм «прайминг-эффекта».....	9
1.4. Зависимость «прайминг-эффекта» от качества субстрата.....	11
1.5. Пулы микробной биомассы почв: активная, покоящаяся, мертвая биомасса и их участие в процессах трансформации органического вещества	12
1.6. Метод анализа стабильных изотопов углерода в исследованиях динамики трансформации почвенного органического вещества	13
Глава 2. Объекты и методы исследования.....	15
2.1. Объекты исследования	15
2.2. Подготовка почвенных образцов к инкубационному эксперименту.....	17
2.3. Инкубационный эксперимент как метод исследования.....	18
Глава 3. Результаты и обсуждения	23
3.1. Влияние добавленной меченой глюкозы на эмиссию CO ₂ в инкубационном эксперименте при 5°C.....	23
3.2. Влияние добавленной меченой глюкозы на эмиссию CO ₂ в инкубационном эксперименте при 23°C.....	28
Выводы:	34
Список использованной литературы.....	35
Приложение	40

ВВЕДЕНИЕ

Начало 21-го столетия ознаменовало обострение проблемы глобальных климатических изменений, вызывающих всевозможные нарушения биогеохимических циклов углерода, увеличение концентрации «парниковых» газов, обеднение биоразнообразия и ухудшение устойчивости экосистем. Данная проблема, в первую очередь, связана с деятельностью почвенных микробных сообществ.

Вопрос о влиянии глобального потепления на процессы разложения почвенного органического вещества и эмиссию парниковых газов в атмосферу из мерзлотных почв до сих пор остается не до конца разрешенным [8, 24].

К прямому температурному воздействию, которое выражается в таянии почв, прибавляется косвенное влияние потепления, которое проявляется в развитии «прайминг-эффекта» – процесса, при котором происходит интенсификация разложения почвенного органического вещества после увеличения поступления первичной продукции растительных сообществ [8, 33].

После более чем двух десятилетий исследовательских усилий по изучению «прайминг-эффекта» его механизмы и составляющие остаются частично неясными [24]. Несмотря на широкие возможности предоставленные, современными методами и инструментами, характер активности почвенных микробных сообществ *in situ* не изучен из-за отсутствия единого системного подхода к изучению роста микроорганизмов в почве. По этим причинам исследования влияния глобального потепления на почвы криолитозоны носят разрозненный характер [1, 24].

Данные вопросы могут быть прояснены на примере инкубационных почвенных экспериментов, имитирующих естественные условия среды.

Так как большая часть России расположена на территории криолитозоны, а проблема глобального потепления набирает все новые и новые обороты с каждым годом, изучение влияния повышения температур на данные почвы

приобретает все большую актуальность. Отсюда следуют цели и задачи исследования:

Целью данной работы являлась оценка уровня потери углерода криогенными почвами в инкубационных экспериментах в ответ на повышение температуры и доступности органического субстрата.

В задачи исследования входило:

– Изучить влияние повышения температуры на уровень эмиссии CO_2 криогенными почвами.

– Исследовать влияние поступления легкодоступного субстрата на выделение CO_2 криогенными почвами при разных температурных режимах.

– Выявить различия в ответе на повышение температур и на поступление легкодоступного субстрата почв склонов северной и южной экспозиций.

Работа была выполнена в международной лаборатории «Экофизиология биогеоценозов криолитозоны» Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленного подразделения Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук (ИЛ СО РАН).

Глава 1. Литературный обзор

1.1. Влияние глобального потепления на состояние органического вещества

в почвах криолитозоны

За последние сто лет экосистемы северных широт прошли через большие изменения в связи с глобальным повышением температуры. Более наглядно глобальное потепление проявляется в зоне Арктики – происходит отступление ледников, таяние мерзлотных почв. Если судить по спутниковым снимкам, можно заметить, что за период с 1970 по 2002 год площадь арктических льдов снизилась приблизительно на 25 % [7]. Данные изменения были вызваны повышением средних мировых температур менее чем на один градус, на территории Арктики же данные процессы выражены сильнее и за последние сто лет температура там выросла на 5С° [7]. Повсеместное увеличение средних температур воздуха, воды и почв привело и к увеличению температур почв вечной мерзлоты [8].

Криогенные почвы распространены на более чем 14-ти процентах суши, они присутствуют в бореальных лесах, тундрах и арктических пустынях [42]; они занимают около 60% площади России, весь север Красноярского края лежит в зоне сплошного или спорадического распространения вечной мерзлоты [6,12]. Последние исследования показывают, что почвы вечной мерзлоты хранят в себе более чем 1600×10^{12} кг углерода, что представляет собой 50% от общего мирового запаса углерода в почвенном органическом веществе. В целом, в одних только криогенных почвах углерода вдвое больше чем во всей атмосфере и растительности вместе взятых [2, 38, 42,].

Отрицательные многолетние температуры криогенных почв предотвращает активное разложение растительных остатков и почвенного органического вещества, которое накапливалось в данных почвах с конца последнего ледникового периода [30, 33]. Повышение температур в результате

глобального потепления может привести к увеличению доступности этих огромных запасов органического углерода для разложения микробными сообществами [33]. Разложение почвенного органического вещества может усиливаться за счет развития так называемого «прайминг-эффекта» при котором происходит стимулирование минерализации вследствие поступления в оттаявшие почвы дополнительного свежего и легкодоступного углеродного субстрата [8, 33].

1.2. «Прайминг-эффект» и его роль в минерализации почвенного органического вещества

Почвенное органическое вещество (ПОВ) является основным фактором, определяющим круговорот углерода и питательных веществ в биосфере, оно является основным источником питательных веществ для роста и развития растений (после микробного разложения), способствует улучшению качества почвы, участвуя в формировании её структуры, устойчивости к эрозии и обеспечения плодородия; а также представляет собой основной резервуар органического углерода биосферы [24, 33].

Накопление органического вещества в почве является следствием активности почвенной биоты: растения обеспечивают поступление в почву органического вещества, а почвенные микроорганизмы (бактерии, немикоризные и микоризные грибы, актиномицеты) его трансформируют. В почве большинство органических соединений перерабатывается гетеротрофными микроорганизмами, которые используют органический углерод в качестве питательного вещества и источника энергии. Следовательно, количество органического углерода и форма его нахождения в почве напрямую влияет на активность микроорганизмов [13, 24, 36].

Почвенный органический углерод является движущей силой для большинства микробиологических процессов, в особенности для почвенного дыхания и минерализации азота. Степень декомпозиции органических соединений особенно важна, поскольку от этого зависит количество доступной энергии, используемой для роста микроорганизмов и синтеза ими ферментов. Разложение органического вещества в составе гумуса обычно протекает сравнительно долго, поскольку получение энергии из такого субстрата происходит медленно, то есть чем сложнее структура в которой находится органический углерод, тем дольше идет процесс его разложения. Логично, что для поддержания уровня углерода, в качестве субстрата для микробиологической активности требуется постоянный его приток из растительных остатков [13, 24, 36].

Было показано, что включение в почву свежего органического вещества, такого как листовые растительные остатки или солома, может усиливать минерализацию почвенного органического вещества. [8, 24, 40, 44].

Стимулирование минерализации ПОВ за счет поступления легкодоступного субстрата, названное «прайминг-эффектом», можно отчетливо наблюдать на уровне ризосферы. Так в лабораторных условиях было показано, что без дополнительного минерального питания разложение отмерших остатков пшеницы и кукурузы привело к двукратному увеличению скорости минерализации ранее имеющегося в почве органического углерода [8, 24, 31].

«Прайминг-эффект» или «эффект затравки» считается результатом поступления в оттаявшие почвы дополнительного свежего и легкодоступного субстрата в виде свежих растительных остатков, при котором происходит стимуляция разложения ПОВ находящего в сложных структурах [8, 24, 41].

Растения снабжают микробные сообщества почвы рядом органических веществ, которые незамедлительно могут быть поглощены микроорганизмами (сахара, аминокислоты, органические кислоты, выделяемые корнями), или которые могут быть легко разложены (целлюлоза и белки из корней и

подстилки). Эти органические вещества могут стимулировать способность почвенного микробного сообщества к разложению большего количества органического вещества несколькими способами:

– Первичная энергия, полученная от разложения этих легкодоступных веществ, тратится на последующее ускоренное разложение более сложных веществ почвенного органического вещества, на разложение которых энергетических ресурсов до поступления затравки не хватало [24].

– Снабжение органическими веществами для повышения микробного роста. Большое количество микроорганизмов стимулирует большее разложение ПОВ [2].

– Стимуляция прежде покоящихся микробных сообществ, основным компонентом питания которых являются сложные вещества в составе ПОВ (смена доминантов). То есть стимуляция тех видов микроорганизмов, которые зависят от данных сложных веществ и которые способны лучше их перерабатывать. Усиление активности таких микроорганизмов может вызывать усиление разложения ПОВ в результате кометаболизма и продуцирования специфических ферментов [19].

Считается, что низкое качество ПОВ ограничивает количество доступной энергии для почвенных микробных сообществ и как следствие скорость минерализации ПОВ [8, 10, 41]. Таким образом часто предполагается, что эффект «прайминга» является результатом увеличения общей микробной активности из-за более высокой доступности энергии и питательных веществ, высвобождаемых от разложения свежего органического вещества. Однако, в нескольких экспериментах было выявлено, что в некоторых случаях после введение легкоусвояемых соединений в почву, таких как глюкоза или фруктоза, наблюдалось меньшее ускорение минерализации ПОВ, чем при внесении зерновых оболочек или пшеничной соломы [8, 20, 39, 41]. Такие не переработанные материалы из-за своей полимерной структуры представляют собой более труднорастворимые субстраты, чем глюкоза или фруктоза, и можно

было ожидать, что менее слабый эффект затравки должен был иметь место в первом случае, нежели во втором [20, 39].

Более того различают реальный и кажущийся «прайминг-эффект». Кажущийся «прайминг-эффект» заключается в увеличении выделения CO_2 из-за ускорения минерализации органического вещества и активизации микробного метаболизма, не затрагивающее стабильный пул ПОВ [11]. Реальный прайминг-эффект наблюдается за счет ускоренного разложения труднодоступного ПОВ. Обычно микробная сукцессия, инициированная поступлением свежего органического вещества, сопровождается активизацией прежде покоящихся микроорганизмов. Это определяет необходимость проведения оценок прайминг-эффекта в зависимости от величины микробной биомассы. На сегодняшний день не было предложено точных подходов для четкого разделения кажущегося и реального «прайминг-эффектов»; вопрос о том, что является источником дополнительной эмиссии CO_2 – эндогенный метаболизм микроорганизмов или разложение запасенного ПОВ остается частично открытым [1].

Таким образом, механизмы «прайминг-эффекта» значительно сложнее, чем можно предположить.

1.3. Общий механизм «прайминг-эффекта»

Характеристика "прайминг-эффекта" с учетом его размера и продолжительности, источников легкодоступного субстрата и функционального разнообразия микробных сообществ (рис. 1):

1. Добавление субстрата более легкоусвояемого, чем ПОВ, стимулирует рост активной части микробного сообщества, которое после исчерпания внесенного субстрата сохраняет активность за счет разложения ПОВ, которая зависит от количества дополнительного субстрата:

а) При небольших количествах внесенного субстрата относительно микробной биомассы наблюдается краткосрочное, небольшое, но резкое увеличение активности эмиссии CO₂ (так называемый "триггерный" эффект), которое не сопровождается сменой состава и размера микробных сообществ [1];

б) При внесении количества субстрата, сравнимого с количеством микробной биомассы, триггерный эффект может сопровождаться частичным замещением эндогенного метаболизма на разложение ПОВ [1];

в) Если количество внесенного углеродного субстрата превышает размер микробной биомассы, микроорганизмы переходят на метаболизм с использованием исключительно данного субстрата, что приводит к замедлению разложения ПОВ [1, 27].

Ситуации "а" и "б" приводят к развитию кажущегося "прайминг-эффекта", который завершается за 1-5 дней без разложения ПОВ. Ситуация "в" создает условия для развития следующих процессов:

2. При поступлении достаточного количества субстрата наиболее активные и конкурентоспособные микроорганизмы переходят на стадию роста. Развивается стадия "микробной активации", которой присуще изменение микробного состава [17, 21, 27].

3. После полного исчерпания внесенного субстрата, активные микроорганизмы перенастраивают метаболизм на разложение более труднодоступных соединений, выделяя при этом ферменты, разлагающие ПОВ [32]. При лимитировании минерального питания при разложении ПОВ восполняется дефицит азота или фосфора. В данном случае наблюдается реальный "прайминг-эффект".

4. В конечном итоге активность микроорганизмов спадает, величина микробной биомассы приходит к исходному состоянию, восстанавливается равновесие системы [32].

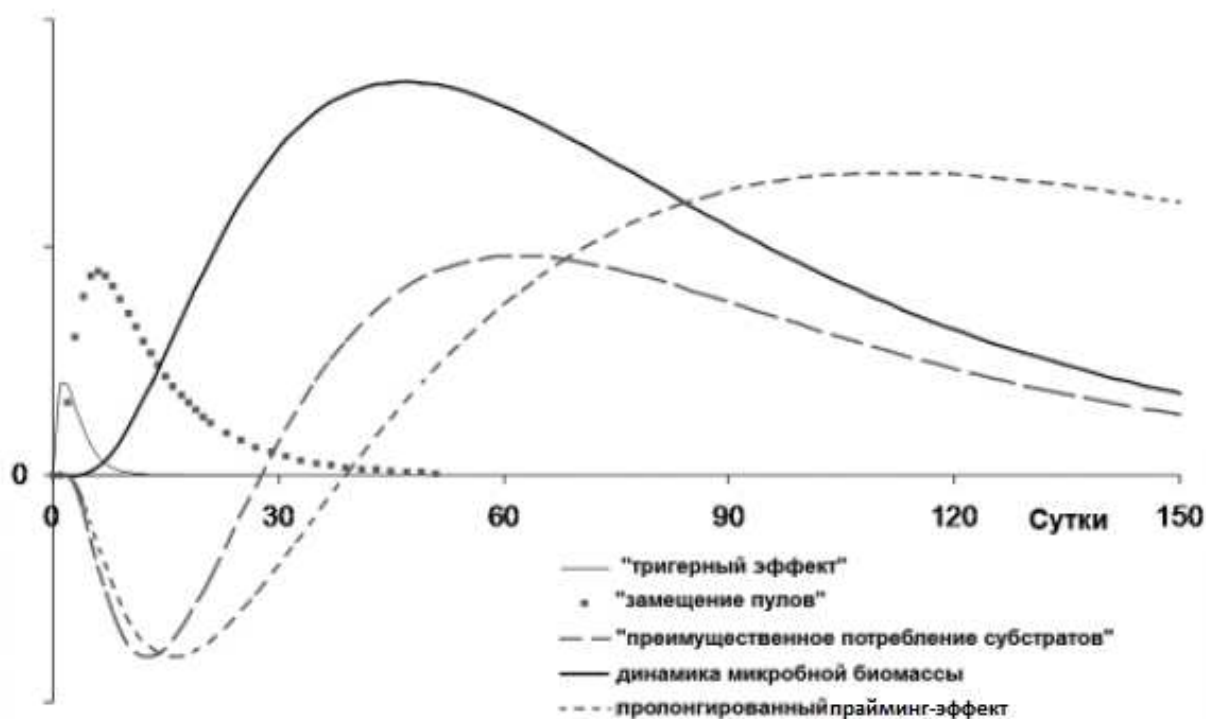


Рисунок 1 – Механизм «прайминг-эффекта» [Blagodatskaya, Kuzyakov, 2013]

1.4. Зависимость «прайминг-эффекта» от качества субстрата

Величина «прайминг-эффекта» определяется доступностью, составом и количеством вносимого субстрата. Минерализация легкодоступных источников углерода (глюкоза, фруктоза) в большинстве случаев должна сопровождаться большими показателями прайминг-эффекта, чем разложение труднодоступных субстратов, таких как щавелевая кислота или растительные остатки [18, 29].

Количество выделяемого экстра-С также зависит от доступного почвенного азота и его количества. При внесении соединений, содержащих как доступный азот, так и углерод, наблюдалось снижение «прайминг-эффекта» [1, 35]. Это происходило из-за того, что микробные сообщества переключались на преимущественное потребление легкодоступного субстрата при наличии основных элементов минерального питания. Поступление легкодоступных

углеродсодержащих соединений и лимитирование при этом азота вызывает стимулирование разложения ПОВ микробными сообществами для восполнения недостающего N [1, 28].

Так же доступность и соотношение C и N определяет активность ферментных систем углеводного и азотного циклов [15, 16]. К примеру, при добавлении азота происходит стимуляция активности целлюлолитических ферментов. При этом активность фенолоксидаз — ферментов, разлагающих лигнин, весомо снижалась с повышением наличия доступного N [15]. Таким же образом активность амидогидролаз и других ферментов азотного цикла находится в зависимости от содержания доступного в почве органического углерода [27].

1.5. Пулы микробной биомассы почв: активная, покоящаяся, мертвая биомасса и их участие в процессах трансформации органического вещества

Так как рассматриваемый «прайминг-эффект» и большинство биохимических процессов в почве осуществляются почвенными микроорганизмами, микробная биомасса рассматривается и в качестве движущей силы этих биогеохимических циклов [4]. В этой связи необходимо знать, какая часть микробной биомассы осуществляет круговорот элементов и какова её активность.

Почвенные микробные сообщества представляют собой широкий спектр микроорганизмов, которые в свою очередь находятся в четырех физиологических состояниях, прямо влияющих на уровень их активности. Первые три состояния являются жизнеспособными [1, 4].

Во-первых, это активные микроорганизмы, которые принимают непосредственное участие в трансформации органического почвенного

вещества в и связанных с ним биохимических процессах. Активная микробная биомасса в основном определяет кинетику процессов трансформации органического вещества, которая является основной движущей силой биогеохимического круговорота элементов в почве [1, 4].

Во-вторых, это потенциально активные микроорганизмы. Данная группа микроорганизмов находится в состоянии ожидания и может переключаться на подходящий поступивший субстрат за сравнительно короткое время от нескольких минут до нескольких часов. Подобным образом происходит процесс смены доминантов. Переход в состояние покоя – распространенная стратегия в природе, используемая различными организмами для преодоления неблагоприятных условий окружающей среды [1, 4].

Покоящиеся формы являются третьим жизнеспособным состоянием, не участвуя напрямую в процессах трансформации органического вещества данные микроорганизмы могут вносить вклад в условия, способствующие переходу их в активное состояние [1, 2, 4].

Последнее состояние микроорганизмов в почве — мертвые микроорганизмы. Мертвая биомасса (или некромаасса) не оказывает прямого воздействия на биогеохимические процессы, однако может выступать в качестве доступного субстрата, тем самым влияя на разложение органического вещества почвы [4].

1.6. Метод анализа стабильных изотопов углерода в исследованиях динамики трансформации почвенного органического вещества

Углерод имеет два стабильных изотопа: “легкий” изотоп, в ядре атома которого содержится меньшее число нейтронов (C^{12}), и “тяжелый” (C^{13}). Содержание данных изотопов в природном углероде равно 98,93 % и 1,07 % соответственно [5, 25].

Так как углерод присутствует во всех органических соединениях, использование изотопного маркирования для анализа динамики содержания изотопа ^{13}C позволяет оценить скорости минерализации разных пулов органического вещества и проследить причины увеличения или снижения концентрации CO_2 в атмосфере [1, 5].

В ходе некоторых биохимических реакций происходит фракционирование (разделение) изотопов. Так, при фотосинтезе растения (или микроскопические планктонные водоросли и цианобактерии) потребляют в первую очередь соединения содержащие CO_2 с более легким изотопом углерода ^{12}C , вовлекая его в метаболизм для получения энергии и в процессах дыхания выделяется в атмосферу. Соответственно, относительное содержание тяжелого, непереработанного изотопа ^{13}C в окружающей среде (воздушной или водной) повышается [25, 37]. Из чего можно сделать вывод, что чем ПОВ более сильно разложено, тем больше тяжелого изотопа углерода будет встречаться в почве.

Характеристика изотопного состава углерода представляется в виде величины $\delta^{13}\text{C}$, выраженной в промилле (‰), которая рассчитывается по формуле [40]:

$$\delta = (R \text{ образца} - R \text{ стандарта}) \cdot 1000 / R \text{ стандарта} \quad (1)$$

где R – отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ относительно международных эталонов.

Для углерода данный эталон – карбонат VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite, $\delta^{13}\text{C} = 0$). Положительная величина означает обогащение образца тяжелым изотопом относительно стандарта, отрицательная – обеднение. То есть чем ниже данная величина, тем меньше присутствие тяжелого изотопа в образце, тем больше разложено ПОВ [40].

Глава 2. Объекты и методы исследования

2.1. Объекты исследования

Для проведения инкубационного эксперимента в качестве объектов исследования были использованы почвенные образцы зоны сплошного распространения многолетней мерзлоты.

Почвенные образцы были отобраны в районе поселка Тура, Центральная Эвенкия, Красноярский край, на склонах южной и северной экспозиций. Образцы почв отбирались согласно генетическим почвенным горизонтам (органический, верхний минеральный и нижние минеральные, всего четыре горизонта на каждом склоне), из почвенных профилей размером 2 x 1 м, в трехкратной повторности вдоль протяженности горизонта.

Описание территории месторасположения профилей: оба склона (склоны северной и южной экспозиции) представляют из себя транс-элювиальную фацию; растительность представлена голубично-багульниково-лишайниково-зеленомошным лиственничником.

Описание почвенных горизонтов профиля склона южной экспозиции:

– Горизонт O (0-11 см.) – органический горизонт – представлен зеленым мхом, лишайником, брусникой, арктоусом, обильно встречаются корни кустарничковых растений, единично – корни древесных растений. Профиль темно-серый, рыхлый, переход на следующий горизонт плавный, граница ровная.

– Горизонт B1 (11-20 см.) – верхний минеральный горизонт – серый, рыхлый, представлен легкой супесью, присутствуют крупные включения угля, обильно встречаются корни кустарничковых, единично – корни древесных. Переход на следующий горизонт плавный, граница перехода волнистая.

– Горизонт В2 (20-40 см.) – нижний минеральный горизонт – коричневый, уплотненный, тяжелая супесь, обильно литоморфы d от 0.5 до 5 см., редко встречаются корни кустарничковых растений, граница перехода на следующий горизонт ровная, переход не выраженный.

– Горизонт С (40-... см.) (минеральный, переход к материнской породе) – коричневый, плотный, легкий суглинок. Редко встречаются корни кустарничковых растений, обильно присутствуют литоморфы d от 0.5 до 12 см., ниже 60 см. расположены обильные включения угля d до 2.5 см.

Описание почвенных горизонтов профиля склона северной экспозиции:

– Горизонт О (0-14 см.) – органический горизонт – представлен следующей растительностью: мох, брусника, шикша (водяника), обильно встречаются корни кустарничковых растений, единично корни древесных. Граница перехода ровная, переход резкий.

– Горизонт А (14-20 см.) – органоминеральный горизонт – черный, рыхлый, обильно присутствуют корни кустарничковых растений. Граница перехода волнистая, переход резкий.

– Горизонт В (20-30 см.) – минеральный горизонт – серовато-коричневый, увлажненный, уплотненный, тяжелый суглинок, обильно встречаются корни кустарничковых растений. Граница перехода ровная, переход плавный.

– Горизонт С (30-... см.) (минеральный, переход к материнской породе) – серовато-коричневый, плотный, тяжелый суглинок, сильно увлажненный, по профилю встречаются прожилки многолетней мерзлоты, глубина залегания мерзлоты около 30 см., обильно присутствуют замерзшие корни древесных растений, над мерзлотой включения черного цвета, которые не являются углем, возможно представляют собой вынос органики.

Температура поверхности склона южной экспозиции составляла 37°C, минерального слоя – 8,6°C; на склоне северной экспозиции данные температуры составляли 25,8°C и 2°C соответственно.

Подробные значения температуры в зависимости от глубины профилей обоих склонов представлены в таблицах 1.

Таблица 1 – Зависимость температуры почвы от глубины

Склон южной экспозиции											
Глубина, см	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55
Температура, °С	7,3	7,1	6,6	5,7	5,2	4,8	4,5	3,8	3,4	3,3	2,5
Склон северной экспозиции											
Глубина, см	5					10*					
Температура, °С	0,8					0					
<i>* глубже 10 см на склоне северной экспозиции начинается залегание мерзлоты</i>											

2.2. Подготовка почвенных образцов к инкубационному эксперименту

Почвенные образцы были очищены от живых корней и других крупных растительных остатков и гомогенизированы протираанием через 2 мм сито, после чего заморожены и транспортированы в лабораторию для анализа основных почвенных параметров (рН, влажность). В лаборатории небольшая часть каждого образца была высушена при 60°C, затем было определено содержание органического углерода и соотношение его стабильных изотопов (12/13C) в отдельных горизонтах с использованием Picarro 2201-i с модулем отбора образцов малого объема.

По объему содержания углерода и по соотношению его стабильных изотопов возможно судить о плодородии почвы, доступности органических веществ, и степени их разложения.

Количество образцов-микрососмов составляло 48 (4 почвенных горизонта, 2 температурных режима, 3 повторности).

Основные перечисленные характеристики образцов почв приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Характеристики образцов почв

Горизонт	Мощность горизонта, см	Содержание углерода, %	pH	Влажность, %	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]
Склон южной экспозиции					
ЮС Oh	0-10	36.40	5.74	31	-28,21
ЮС B1	11-20	0.95	6.50	10	-26,22
ЮС B2	20-40	0.33	6.82	12	-26,07
ЮС C	40-...	0.48	6.92	11	-25,03
Склон северной экспозиции					
СС Oh	0-14	27.79	5.21	92	-28,24
СС A	14-20	12.61	5.19	59	-28,53
СС B	20-30	2.45	6.36	41	-26,80
СС C	30-...	2.45	6.54	38	-26,16

Зависимость «прайминг-эффекта» от кислотности почвы: более высокие значения «прайминг-эффекта» наблюдаются почвах с диапазоном pH 5–8 (Blagodatskaya, Anderson, 1998), что входит в диапазон исследуемых образцов

2.3. Инкубационный эксперимент как метод исследования

В ходе работ проводился инкубационный эксперимент при двух различных температурных режимах (5°C и 23°C) для оценки потенциальной

степени микробной трансформации почвенного органического вещества и изучения «прайминг-эффекта».

Температуры инкубационных камер на протяжении всего эксперимента поддерживались неизменными. Отобранные образцы различных почвенных горизонтов были помещены в инкубационные сосуды с каждого горизонта в трехкратных повторностях. Процесс инкубации при 5°C занял 156 дней, при 23°C – 50 дней. Данная разница объясняется увеличением активности микробных сообществ при повышении температуры.

Для изучения «прайминг-эффекта» – стимулирования микробной трансформации ПОВ притоком легкодоступной органики, в половину образцов была внесена ^{13}C -маркированная глюкоза в концентрации ^{13}C 10атом%. Необходимое количество вносимого субстрата рассчитывали согласно методике Вильд с соавторами [43].

В эксперименте при 5°C глюкоза вносилась на 12 сутки после начала инкубации, так как биологические процессы при 5°C занимают большее время. Внесение глюкозы с самого начала эксперимента не принесло бы нужного эффекта, так как микробные сообщества находились в угнетенном состоянии. Прединкубационный период позволил микробным сообществам перестроиться для новых условий. При инкубации при 23°C глюкоза вносилась сразу на первый день эксперимента.

Образцы почвы из тех же горизонтов и экспозиций, инкубируемые без внесения меченой глюкозы, служили контролем. Эмиссия CO_2 в каждом из микрокосмов регистрировалась на 0, 2, 4, 6, 8, 10 дни после начала инкубации, и с двухнедельным интервалом в дальнейшем.

Перед инкубацией была посчитана водоудерживающая способность почвенных образцов гравиметрическим методом – образцы высушивались при 105°C в течении 6 часов, затем влажность определялась по формуле [3]:

$$\omega = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \cdot 100\% \quad (2)$$

где m_1 – масса сосуда с почвой до высушивания, г;

m_2 – масса сосуда с почвой после высушивания, г;

m – масса пустого сосуда, г.

С помощью ультрачистой воды (MiliQ-water) данная характеристика поддерживалась на уровне 60-ти процентов (на уровне полевой влагоемкости) на протяжении всего периода эксперимента. После добавления воды сосуды взвешивались для контроля потерь воды в течение времени. Затем каждые 6-7 дней сосуды снова взвешивались, и испаренная за это время вода замещалась соответственным количеством ультраочищенной (чем выше температура инкубации, тем выше потери влаги). Временной промежуток между добавлением воды и измерениями CO_2 составлял два дня и был одинаковым после каждого добавления воды. Измерения не производились сразу на следующий день для того чтобы повышение почвенного дыхания, вызванного стрессом системы сразу после добавления воды, не влияло на результаты измерений.

В инкубационные сосуды объемом 100 мл помещались следующие минимальные количества почвенных образцов (в перерасчете на сухой вес): горизонт O – 5 г; горизонт A – 10 г; горизонты B/B1/B2/C – 15 г. Такое распределение объясняется тем, что органические и органоминеральные горизонты содержат в себе большее количество почвенного углерода в сравнении с минеральными горизонтами и для оптимального уровня эмиссии CO_2 их количество должно быть меньше.

Анализ образцов производился при помощи анализатора Picarro 2201-i с модулем отбора образцов малого объема, позволяющим одновременно осуществлять регистрацию концентрации диоксида углерода и его изотопное смещение.

Перед каждой экспозицией из сосудов с образцами при помощи насоса и создания вакуума удалялся весь присутствующий воздух. Затем сосуды продувались на протяжении минуты синтетическим воздухом из баллонов, в котором отсутствуют компоненты дальнейших измерений (без CO_2 и CH_4). Количество используемого воздуха было равно трем объемам сосуда (3×100 мл). Далее краны крышек сосудов герметично закрывали и отправляли отстаиваться на час при необходимых температурах. За это время происходило дыхание микробных сообществ. Помимо этого, было необходимо повторить данную процедуру с тремя пустыми (без почвенных образцов) сосудами, продутыми синтетическим воздухом, для контроля за составом воздуха из баллонов. Время окончания продувки каждой партии сосудов точно записывалось для дальнейших корректировок в расчетах (для точного перерасчета зависимости интенсивности дыхания на единицу времени). Между измерением каждого образца в качестве пробела использовался замер атмосферного воздуха отдельным портом анализатора.

Так как углекислый газ тяжелее воздуха и имеет тенденцию опускаться на дно сосудов, для точных измерений в крышках сосудов были предусмотрены длинные трубки, доходившие до дна сосудов.

Для поддержания необходимых температур во время измерений сосуды с образцами помещались в специальные термобоксы, стенки которых были изолированы пенопластом.

Измерения проводились партиями по 10 образцов. Сначала каждый сосуд непосредственно подключался к анализатору, после чего краны на крышках сосудов отрывались и производились измерения. После измерений с сосудов убирались герметичные крышки, на их место помещалась сетчатая ткань и сосуды возвращались для дальнейшей инкубации в необходимую температуру до следующего измерения.

Измерения образцов заключали в себе анализ содержания углекислого газа, углерода и его стабильных изотопов (^{12}C и ^{13}C).

Статистическая обработка полученных экспериментальных данных производилась с использованием программного пакета Microsoft Excel 2013 для Windows 8.

Глава 3. Результаты и обсуждения

3.1. Влияние добавленной меченой глюкозы на эмиссию CO₂ в инкубационном эксперименте при 5°C

По результатам инкубационного эксперимента при 5°C показано, что почвы склонов обеих экспозиций, которые инкубировались в качестве контрольных (т.е. без внесения дополнительной меченой глюкозы) имели достаточно низкую активность в отношении эмиссии CO₂. На протяжении всего периода инкубации эмиссия CO₂ со всех горизонтов обеих склонов экспозиции имела достаточно стабильный характер без резких подъемов или спадов. Наблюдаемое сравнительно существенное снижение эмиссии CO₂ в органическом горизонте склона южной экспозиции в период с первого по четвертый день инкубации можно объяснить переходом микробных сообществ данного горизонта с доинкубационного температурного режима на температурный режим эксперимента.

Микробные сообщества органических горизонтов обеих склонов имели наибольшую активность по сравнению со всеми остальными горизонтами. Минеральные горизонты почвы склона северной экспозиции выделяли CO₂ в 1,5 раза активнее, чем соответствующие горизонты склона южной экспозиции.

Данный характер активности микробных сообществ является общим для всех этапов эксперимента и на всем его протяжении сохраняется подобная зависимость в распределении почвенных горизонтов по уровню активности эмиссии CO₂. Такое распределение активности микробных сообществ прямо зависит от количества органического углерода почвенных горизонтов в которых данные сообщества обитают (рис2).

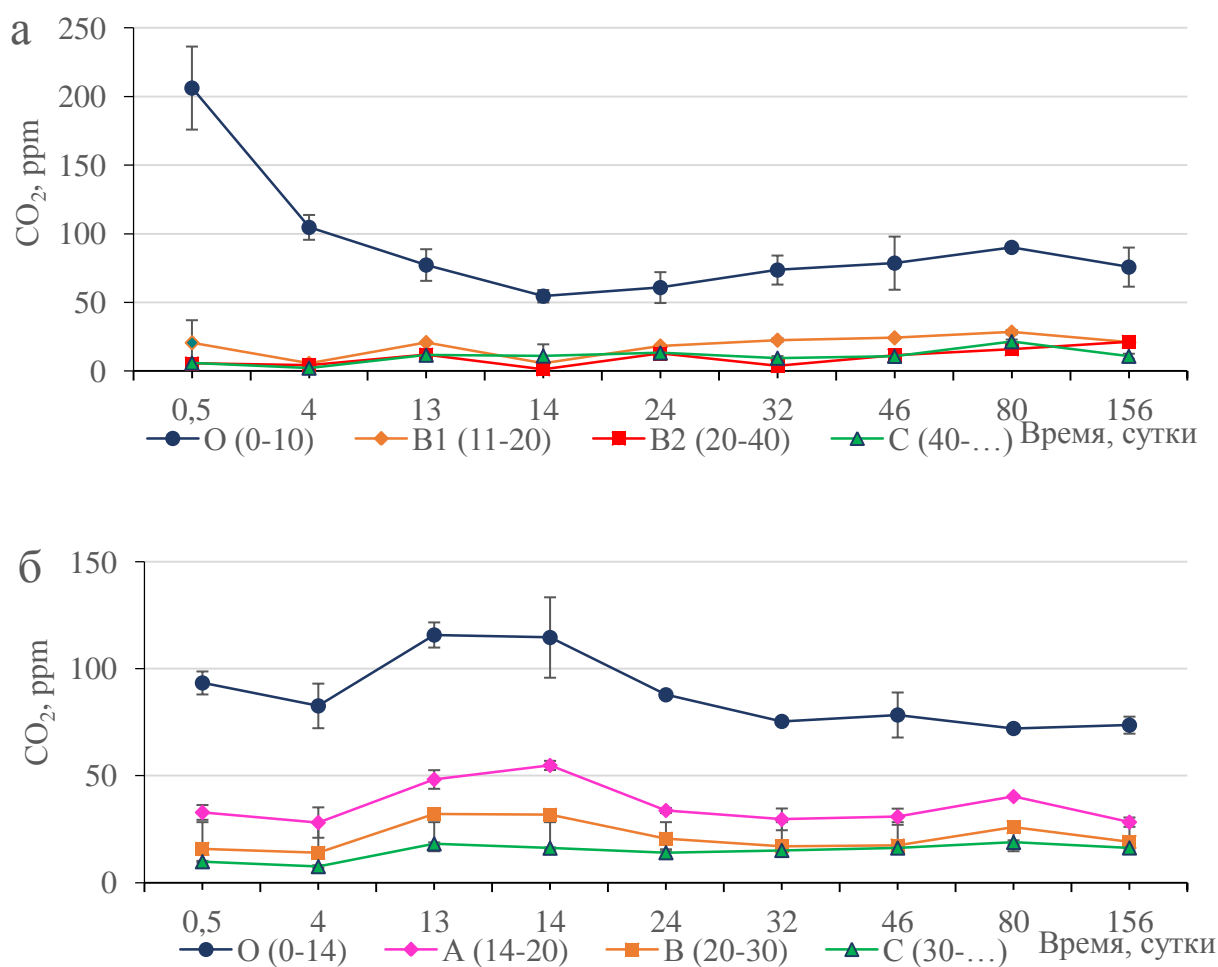


Рисунок 2 – Эмиссия CO₂ в инкубационных микрокосмах при 5°С на склоне северной экспозиции: а – склон южной экспозиции; б – склон северной экспозиции

Анализируя данные, полученные в инкубационном эксперименте при 5°С с добавлением глюкозы, было выявлено увеличение эмиссии CO₂ в органических горизонтах обоих склонов экспозиции, и увеличение эмиссии в минеральных горизонтах на склоне северной экспозиции. Вышесказанное свидетельствует о том, что добавленная глюкоза на склоне южной экспозиции интенсивнее всего перерабатывалась в CO₂ в органическом горизонте, тогда как на склоне северной экспозиции в этот процесс были вовлечены все горизонты почвы (и органический и минеральные), хотя и с меньшей интенсивностью. Практически полное исчерпание внесенной глюкозы на обоих горизонтах происходило примерно на 17 сутки после начала эксперимента (т.е. через 5

суток после внесения меченой глюкозы). Добавленная глюкоза в инкубации при 5°C не вызвала повторных всплесков активности дыхания не на одном из склонов, т.е. в данных условиях «прайминг»-эффект зарегистрирован не был (рис. 3).

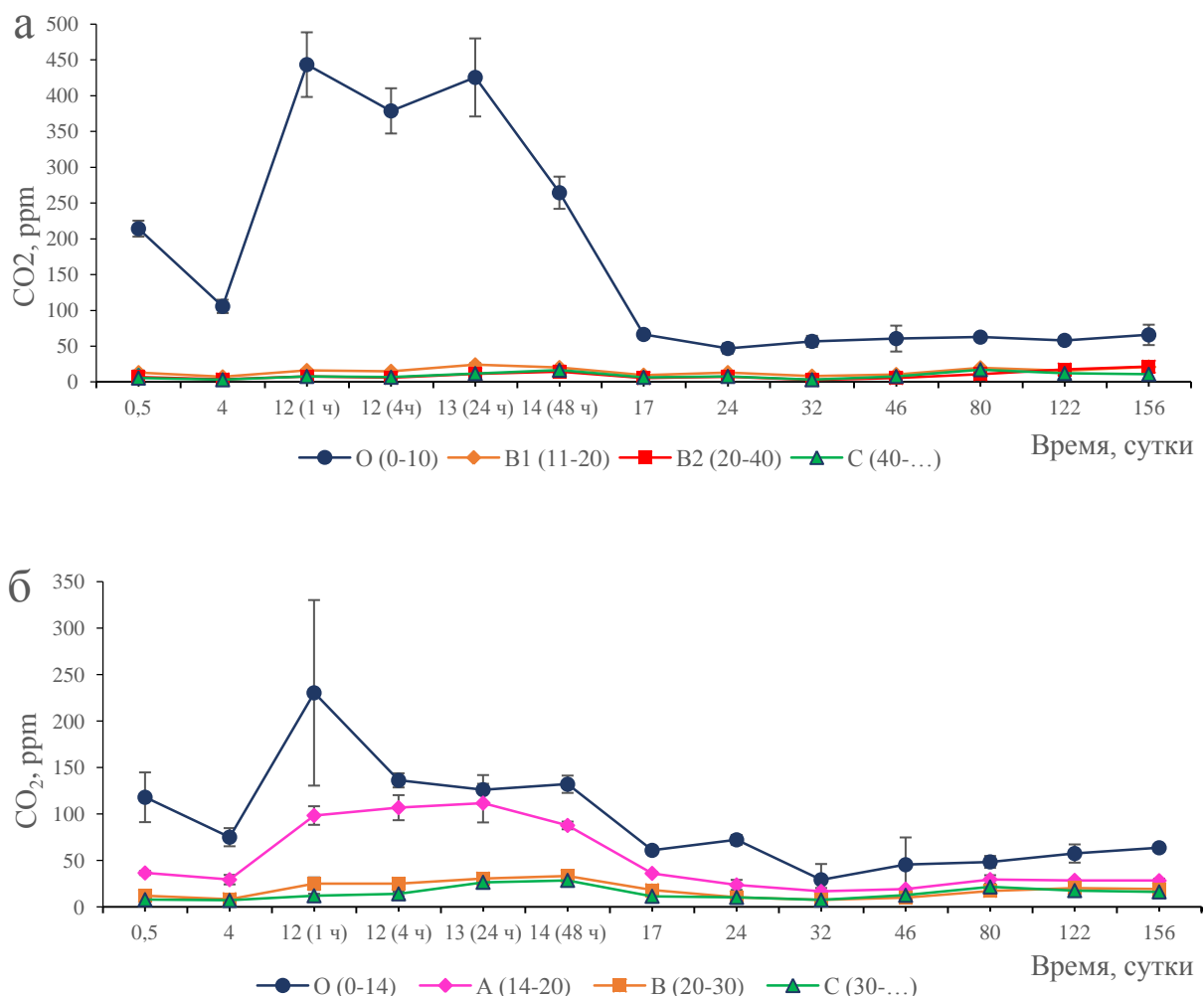


Рисунок 3 – Эмиссия CO₂ в инкубационных микрокосмах при 5°C с внесением меченой глюкозы: а – склон южной экспозиции; б – склон северной экспозиции

По данным, полученным после измерения содержания ¹³C изотопа в CO₂ (который был внесен в составе меченой глюкозы), были подтверждены результаты об практически полном исчерпании внесённого субстрата на 17 суток и об отсутствии эффекта прайминга. Так же было показано, что органи-

минеральный горизонт склона северной экспозиции обладает большей способностью к разложению соединений содержащий ^{13}C изотоп глюкозы, чем органический горизонт того же склона и все минеральные горизонты обоих склонов (рис. 4).

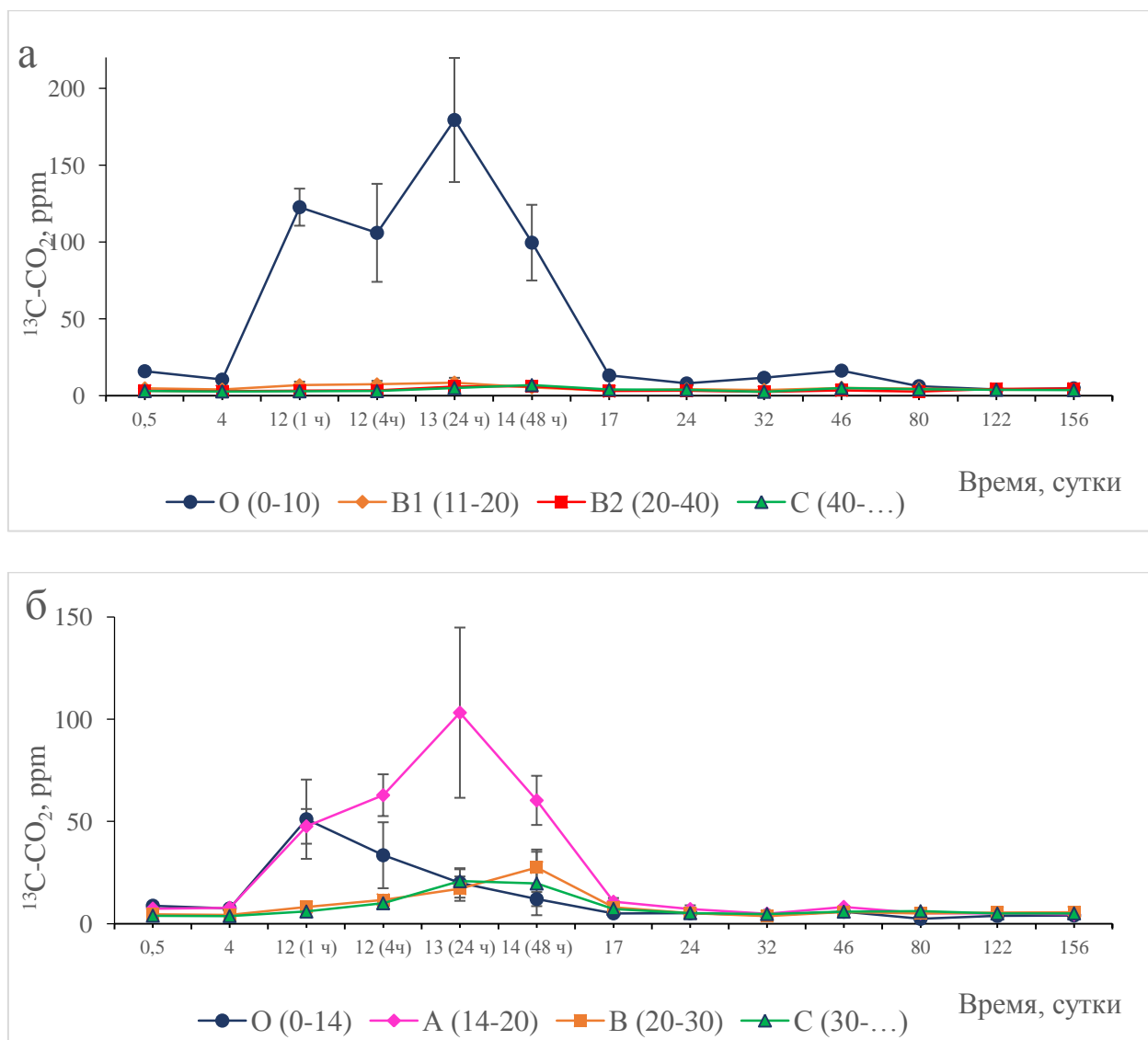


Рисунок 4 – Содержание ^{13}C в CO_2 в инкубационных микрокосмах при 5°C с внесением меченой глюкозы: а – склон южной экспозиции; б – склон северной экспозиции

Основываясь на полученных суммарных данных, можно прийти к заключению, что поступление легкодоступного субстрата не способно

послужить развитию «прайминг эффекта» при пониженных температурах (5°C).

Это может быть объяснено тем, что данные температуры являются обычными для существования микроорганизмов в этих почвенных горизонтах, и, по-видимому, они приспособлены к более экономному расходованию субстрата и не дают резких всплесков развития даже при появлении дополнительного легкодоступного питания. Так же было показано, что в сравнении с минеральным горизонтом почвы южного склона экспозиции, минеральный горизонт почвы склона северной экспозиции показал более интенсивное дыхание как без внесения глюкозы, так и при её добавлении. Данное различие можно объяснить тем, что на северном склоне горизонты имеют меньшую мощность (толщину), следовательно, и микробные сообщества там расположены более плотно, что возможно увеличивает их активность.

Кроме того, большую активность микробных сообществ минерального горизонта северного склона можно объяснить постоянным преобладанием там низких температур. Мерзлота на таких территориях залегает выше, и минеральные слои прогреваются меньше, следовательно, существование в таких условиях является для данных сообществ неизменной составляющей их жизнедеятельности. Низкие температуры вынуждают данные сообщества использовать все возможные ресурсы на максимум для обеспечения своей выживаемости, для чего они выработали оптимальные приспособления. В данные приспособления, вероятно, входит идеально скорректированная под внешние условия ферментная система, четко настроенная на максимально возможную переработку преобладающих на территории горизонтов органических соединений. Также отсутствие «прайминг эффекта» говорит о том, что перестройки метаболизма или смены доминантов в микробных сообществах не произошло.

3.2. Влияние добавленной меченой глюкозы на эмиссию CO₂ в инкубационном эксперименте при 23°C

При анализе данных, полученных после инкубации почвенных образцов при 23°C (контрольный вариант без внесения глюкозы), было показано увеличение активности эмиссии CO₂ в органических горизонтах обоих склонов, спад данной активности пришёлся на 15 день с даты начала инкубации, повторных всплесков активности обнаружено не было. При сравнении с результатами, полученными при инкубации при 5°C, было выявлено, что органический склон южной экспозиции при повышении температуры увеличивает уровень активности эмиссии CO₂ практически вдвое, в то время как на северном склоне данные показатели разнятся не существенно. Кроме того, при 23°C активность эмиссии CO₂ на минеральных горизонтах не отличалась на северном и южном склонах, в отличие от эксперимента при 5°C, где минеральные слои северного горизонта показывали большую эмиссию CO₂, нежели соответствующие горизонты южного склона (рис. 5).

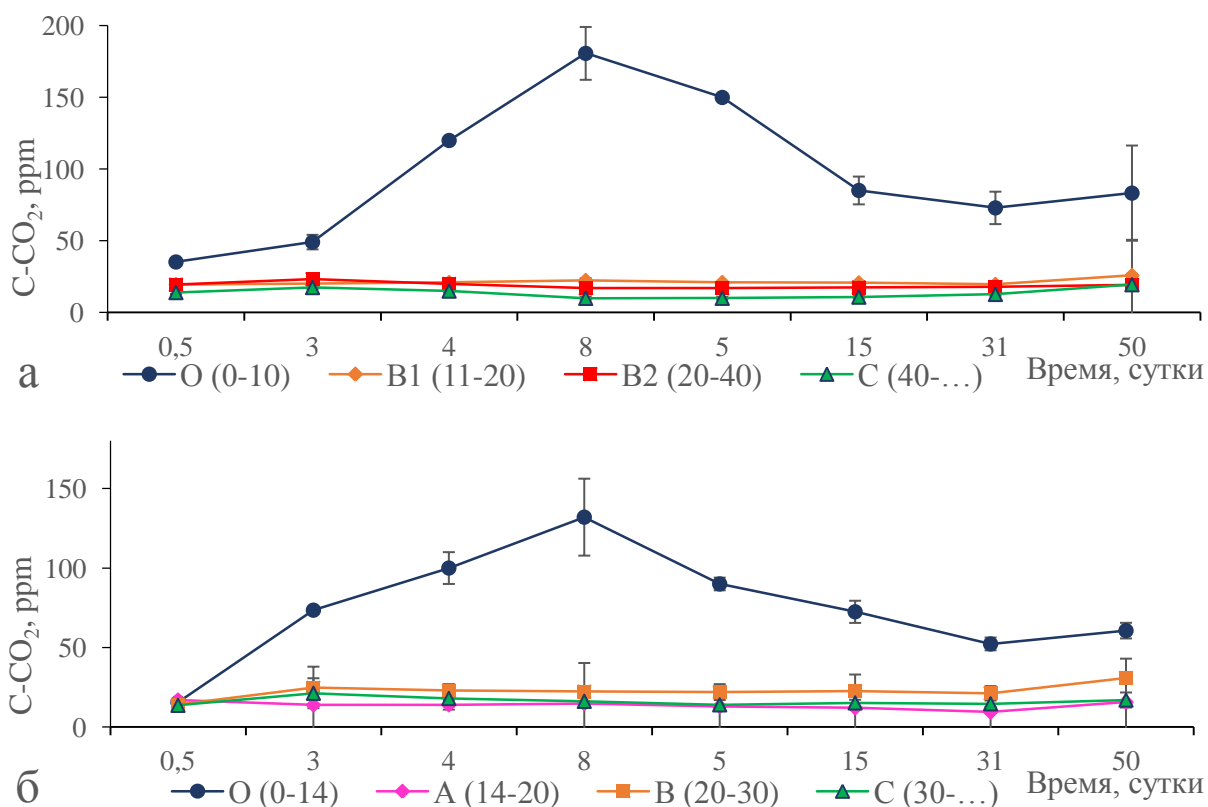


Рисунок 5 – Эмиссия CO₂ в инкубационных микрокосмах при 23°C: а – склон южной экспозиции; б – склон северной экспозиции

После внесения меченной глюкозы отчетливо наблюдалось резкое и практически моментальное увеличение дыхательной активности органического горизонта склона южной экспозиции, за которым впоследствии после трехдневного перерыва последовал вторичный всплеск активности. За данный перерыв произошла либо перестройка ферментативного аппарата микробных сообществ, либо смена доминантов, после чего вероятно началось разложение ранее запасенного органического субстрата.

Период вторичного роста активности оказался довольно продолжительным и занял 23 дня, в том время как исчерпание первично внесенной глюкозы произошел за два дня. Наблюдаемая ситуация говорит о возможно обнаруженном «прайминг-эффекте».

Такой же эффект, но в три раза менее активный наблюдался и у почв северного склона, при этом на данном склоне в «прайминг-эффект» были вовлечены не только органический, но и минеральные слои.

На склоне северной экспозиции величина эмиссии CO_2 во вторичном всплеске практически соизмерима с соответствующей величиной первичного ответа микробной активности на поступивший легкодоступный субстрат. Такие данные свидетельствуют о практически равном вовлечении микробных сообществ в разложение органического вещества при вторичном всплеске, как и при первичном ответе.

Полученные сведения также могут выступать в качестве свидетельства для ранее названного предположения о лучшей приспособленности микробных сообществ почв северного склона экспозиции к окружающей их среде (рис. 6).

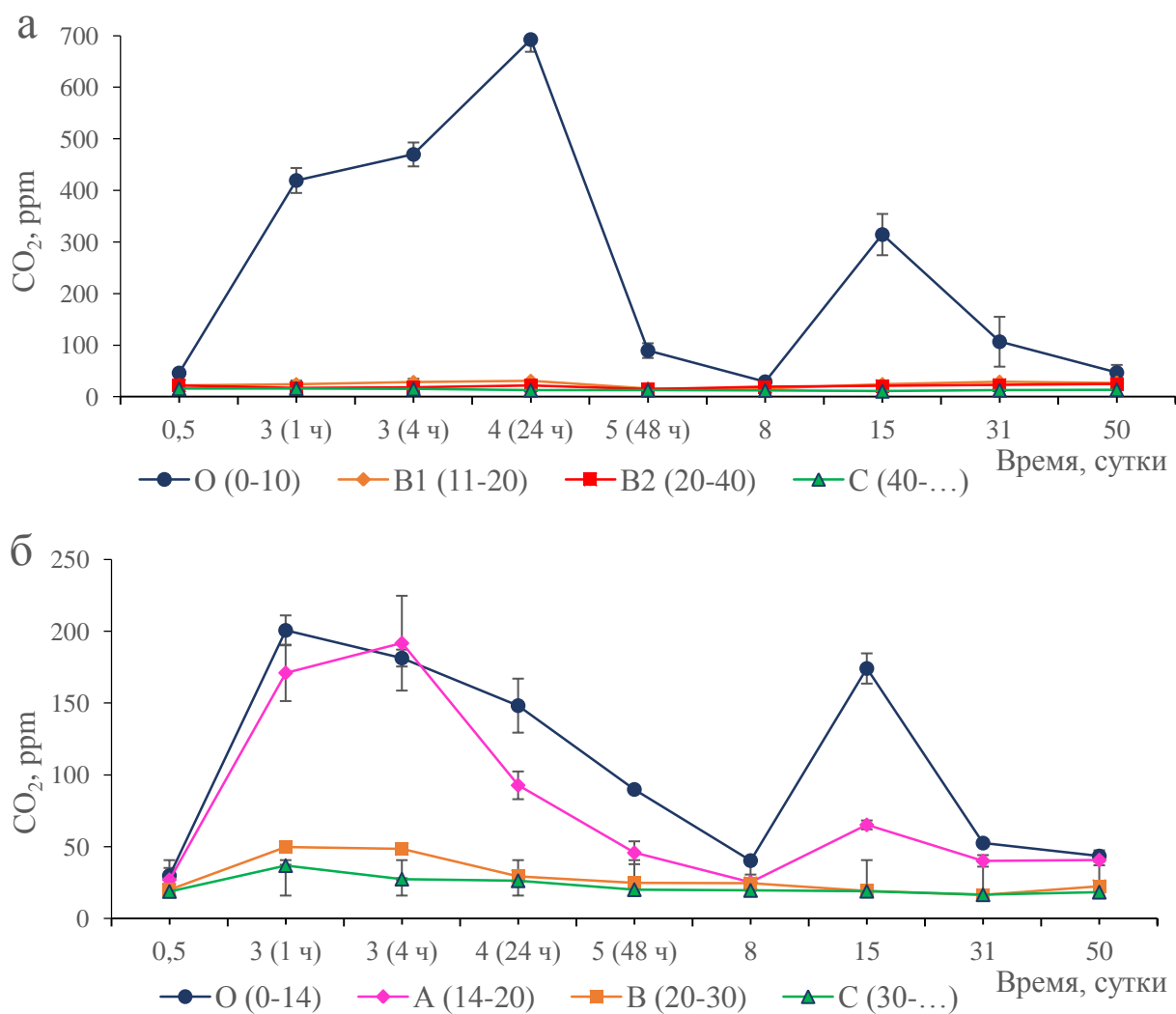


Рисунок 6 – Эмиссия CO₂ в инкубационных микрокосмах при 23°C с внесением меченной глюкозы: а – склон южной экспозиции; б – склон северной экспозиции

При анализе данных о динамике изменения содержания ¹³C изотопа в CO₂ в инкубационном эксперименте при 23°C было показано, что полное истощение внесенного субстрата произошло за два дня, что вдвое быстрее, чем при 5 °C. Также было подтверждено наличие второго всплеска активности – «прайминг»-эффекта. Также данные показали, что микробные сообщества органо-минерального слоя А принимают самое активное участие в переработке соединений, содержащих в себе ¹³C изотоп (рис. 7).

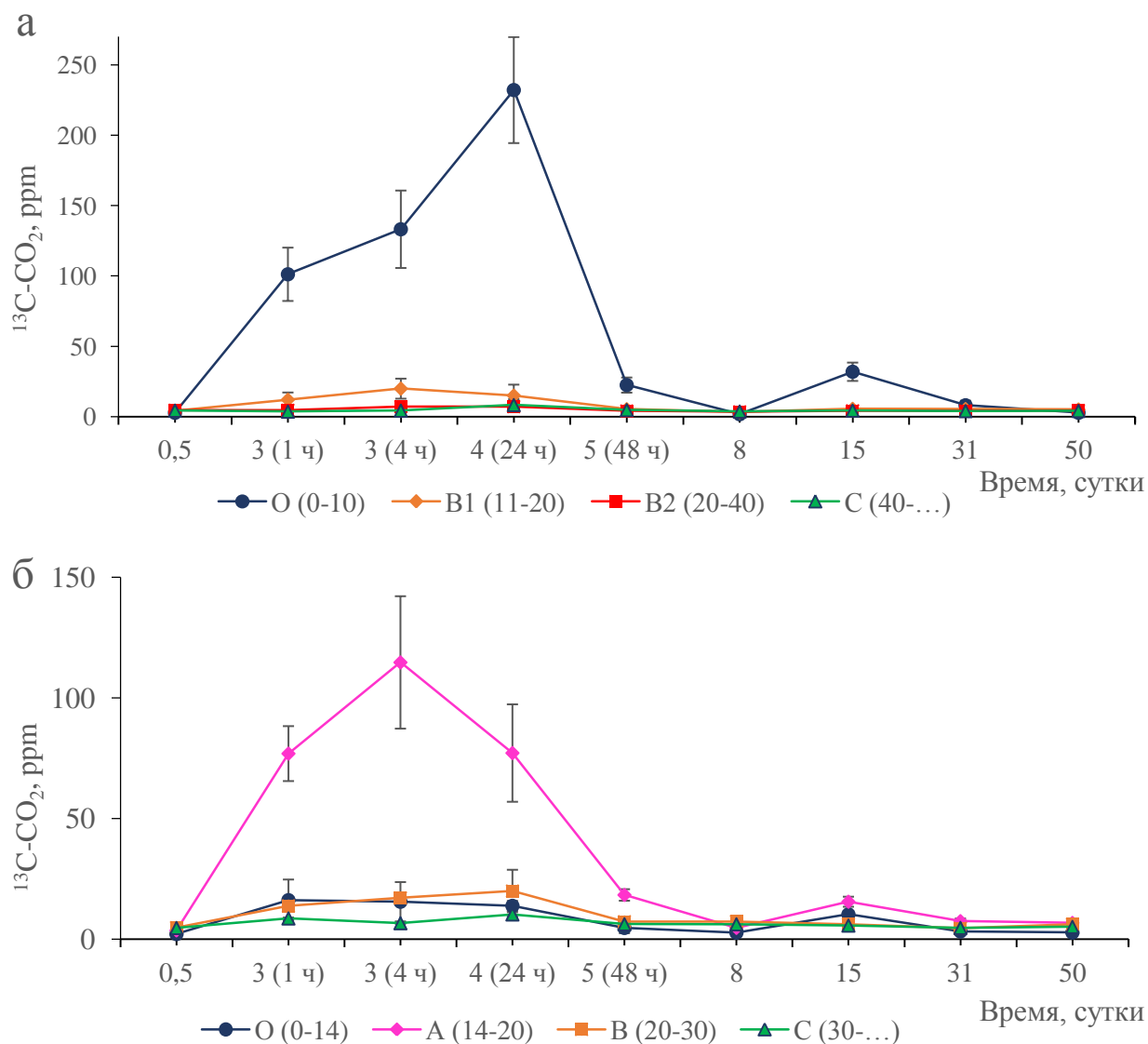


Рисунок 7 – Содержание ^{13}C в CO_2 в инкубационных микрокосмах при 23°C с внесением меченой глюкозы: а – склон южной экспозиции; б – склон северной экспозиции

Анализируя суммарные данные, полученные после инкубационных экспериментов при 5°C и 23°C , можно сделать окончательный вывод о природе «прайминг-эффекта» почв вечной мерзлоты – к развитию «прайминг-эффекта» приводят повышение температуры и поступление в почвы легкодоступного субстрата, которое провоцирует увеличение активности минерализации органического вещества микробными сообществами.

В почвах южных склонов в «прайминг-эффект» в основном вовлечены микробные сообщества органического почвенного горизонта; в почвах более холодных территорий, территорий северных склонов, в «прайминг»-эффект вовлечены все почвенные горизонты, с преобладанием активности микробных сообществ в органических слоях почв.

Наблюдаемый довольно продолжительный вторичный всплеск активности говорит о возможном обнаружении реального «прайминг-эффекта», при котором повышение температуры и поступление легкодоступного субстрата активизировало наиболее конкурентоспособные группы микроорганизмов, которое впоследствии смогли перенастроить свой метаболизм на разложение более труднодоступных соединений, выделяемые при этом внеклеточные ферменты начали разлагать запасенное ПОВ.

Полученные в ходе проведения инкубационного эксперимента данные по оценке возможности развития «прайминг»-эффекта при повышении температур в мерзлотных почвах на примере почв Центральной Эвенкии в полной мере соответствуют мировому уровню и значительно дополняют понимание влияния последствий глобального изменения климата на мерзлотные экосистемы.

ВЫВОДЫ:

1. Повышение температуры криогенных почв на примере района Центральной Эвенкии вызвало небольшое увеличение активности микробных почвенных сообществ, которая выражалась в интенсификации их дыхания, и, следовательно, в эмиссии в атмосферу CO₂.
2. Поступление легкодоступного субстрата в совокупности с увеличением температуры криогенных почв с 5 до 23°C обнаружило возможность развития «прайминг-эффекта». При поступлении легкодоступного субстрата при пониженных температурах «прайминг-эффекта» не развился. Было подтверждено, что при низких температурах среды почвенные микроорганизмы приспособлены расходовать субстрат экономно и не дают резких всплесков развития при поступлении дополнительного легкодоступного питания.
3. Сравнение активности эмиссии CO₂ микробными сообществами склонов северной и южной экспозиций показало: микробные сообщества органического почвенного горизонта южного склона экспозиции обладают вдвое большей активностью, чем микробные сообщества соответствующего горизонта северного склона. Северный склон в свою очередь имеет более активные микробные сообщества минеральных горизонтов. На теплых территориях «прайминг»-эффект выражен более явно, в то время как на холодных местностях он охватывает больше почвенных горизонтов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Благодатская Е.В. Активность и биомасса почвенных микроорганизмов в изменяющихся условиях окружающей среды / Е.В. Благодатская, М.В. Семенов, А.В. Якушев // Москва: Товарищество научных изданий КМК. – 2016. – 243 с.
2. Благодатская Е.В. Изменение экологической стратегии микробного сообщества почвы, инициированное внесением глюкозы / Е.В. Благодатская, И.Н. Богомолова // Почвоведение. – 2001. – №5. – с. 600-608.
3. ГОСТ Р ИСО 11465-2011 Качество почвы. Определение массовой доли сухого вещества и массового отношения влаги гравиметрическим методом. – Введ. 01.01.2013. – Москва: Стандартинформ, 2006. – 7 с.
4. Добровольская Т.Г. Роль микроорганизмов в экологических функциях почв / Т.Г. Добровольская, Д.Г. Звягинцев, И.Ю. Чернов, А. В. Головченко // Почвоведение. – 2005. – №9. – с.1087 – 1096.
5. Подгорный Д.А. Углерод во всем своем многообразии: учебное пособие / Д.А. Подгорный– Челябинск. – 2014. – 31 с.
6. Семенов С. М. Методы оценки последствий изменения климата для физических и биологических систем: монография / С. М. Семенов. – Москва: Росгидромет. – 2012. – 508 с.
7. Ступин Ф. П. Избранные вопросы экологии: информационно-методический сборник / Ф. П. Ступин, О. В. Татков – 2017. – 120 с.
8. Bingeman, C.W. The effect of the addition of organic materials on the decomposition of an organic soil / Bingeman, C.W., Varner, J.E., Martin, W.P., //Soil Science Society America Proceedings. – 1953. – vol. 29. – pp. 692–696.
9. Blagodatskaya E., Kuzyakov Y. Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches / Soil Biology & Biochemistry. 2013. – vol. 67 – 192 – 211.

10. Broadbent F.E. Nitrogen release and carbon loss from soil organic matter during decomposition of added plant residues / Soil Science Society of America Proceedings. 1947. – № 12. – pp. 246–249.
11. Brookes P.C., Kragt J.F., Powlson D.S., Jenkinson D.S. 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: the effects of fumigation time and temperature // Soil Biol. Biochem. Vol.17. No.6. P.831–837.
12. Brown J. Circum-Arctic Map of Permafrost and Ground Ice Conditions /Brown J., Ferrians O. J., Heginbottom J. A, Melnikov E. S. // CircumPacific Map Series. – 1997.
13. Campbell, C.A. Influence of fertilizer and straw baling on soil organic matter in a thick black chernozem in Western Canada / Campbell, C.A., Lafond, G.P., Zentner, R.P. // Soil Biology and Biochemistry. – vol. 23. – pp. 443–446.
14. Capek P. The effect of warming on the vulnerability of subducted organic carbon in arctic soils / P. Capek, K. Diakova, J. Dickopp, J. Barta // Soil Biology & Biochemistry. 2015. – vol. 90 – pp. 19-29.
15. Carreiro M. M. Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition / M. M. Carreiro, R. L. Sinsabaugh, D. A. Repert, D. F. Parkhurst. 2000. – vol. 81. – pp. 2359-2365.
16. Chander. K. Organic matter, microbial biomass and enzyme activity of soils under different crop rotations in the tropics / K. Chander, S. Goyal, M. C. Mundra K. K. Kapoor // Biology and Fertility of Soils. 1997. – vol. 24. – pp 306–310.
17. Cheng W., Coleman D. C. Effect of living roots on soil organic matter decomposition / Soil Biol. Biochem. – 1990. – vol. 22. – pp. 781-787.
18. Conde E. The impacts of inorganic nitrogen application on mineralization of ¹⁴C-labelled maize and glucose, and on priming effect in saline alkaline soil / Conde E., Cardenas M., Ponce-Mendoza A., Luna-Guido M.L., Cruz-Mondragón C., Dendooven L. // Soil Biology and Biochemistry. 2005. – vol 37. – pp. 681-691.

19. Craine J., Fierer N. Microbial nitrogen limitation increases decomposition / Ecological Society of America. – 2007. № 88 – pp. 2105–2113.
20. Dalenberg J.W., Jager G., Priming effect of some organic additions to ¹⁴C-labelled soil / Soil Biology and Biochemistry. 1989. – vol. 21. – pp 443–448.
21. De Nobili, M., Soil microbial biomass is triggered into activity by trace amounts of substrate/ De Nobili, M., Contin, M., Mondini, C., and Brookes, P. C. // Soil Biology and Biochemistry. 2001. – vol. 33. – pp. 1163–1170.
22. Deng S. P., Tabatabai M. A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: I. Amidohydrolases / Biology and Fertility of Soils. 1996. – vol. 22. – pp 202–207.
23. Derrien D. Does the addition of labile substrate destabilise old soil organic matter? / D. Derrien, C. Plain, P. Courty, L. Gelhaye, Tanja C.W. // Soil Biology & Biochemistry. 2014. – vol. 76. – pp. 149 – 160.
24. Fontaine S. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? / Fontaine S., Mariottib A., Abbadie L. // Soil Biology & Biochemistry. – 2003. – vol. 35. – pp. 837–843.
25. Fry B. Stable Isotope Ecology / New Yor: Library of Congress. – 2006. – 316 p.
26. Gentsch N. Storage and transformation of organic matter fractions in cryoturbated permafrost soils across the Siberian Arctic / N. Gentsch, R. Mikutta, R. J. E. Alves, J. Barta, P. Capek, A. Gittel // Biogeosciences. 2015. – vol. 12. – pp. 4525–4542.
27. Helal D. R. Sauerbeck Influence of plant roots on C and P metabolism in soil Plant and Soil February 1984, Volume 76, Issue 1–3, pp 175–182.
28. Hamer U, Marschner B. Priming effects in soils after combined and repeated substrate additions / Geoderma. 2005. – № 128. – pp. 38–51.
29. Hamer U., Marschner B. Priming effects in different soil types induced by fructose, alanine, oxalic acid and catechol additions / Soil Biology and Biochemistry 2005. – vol. 37. – pp. 445-454.

- 30.Harden J.W. Dynamics of soil carbon during deglaciation of the Laurentide ice-sheet / Harden J.W., Sundquist E.T., Stallard R.F., Mark R.K. // Science. – 1992. – № 258. – pp. 1921–1924.
- 31.Jingguo W., Bakken L.R. Competition for nitrogen during mineralisation of plant residues in soil: microbial response to C and N availability / Soil Biology and Biochemistry. 1996. – № 29, pp. 163–170.
- 32.Kuzyakov Y., Bol R. Sources and mechanisms of priming effect induced in two grassland soils amended with slurry and sugar/ Soil Biology & Biochemistry. 2006. – № 38. – pp. 747 – 758.
- 33.Lee H. The rate of permafrost carbon release under aerobic and anaerobic conditions and its potential effects on climate/ Lee H., Schuur E., Inglett K., Chanton J. // Global Change Biology. – 2012, – vol. 18. – pp. 515-527.
- 34.Lee H. The rate of permafrost carbon release under aerobic and anaerobic conditions and its potential effects on climate / Lee H., E.A.G. Schuur, K.S. Inglett // Global Change Biology. 2012. – vol. 18. – pp. 515 – 527. 45
- 35.Liljeroth E. Carbon translocation to the rhizosphere of maize and wheat and influence on the turnover of native soil organic matter at different soil nitrogen levels / E. LiljerothP. KuikmanJ. A. Van Veen // Plant and Soil. 1994. vol. 161. –pp 233–240.
- 36.Nyborg, M. Fertiliser N, crop residue, and tillage alter soil C and N content in a decade / Nyborg, M., Solberg, E.D., Malhi, S.S., Isauralde, R.C. // Soil Management and Greenhouse Effect. – 1995. – pp. 93–101. (11)
- 37.Schmitt J. Rise from Ice Cores Carbon Isotope Constraints on the Deglacial CO₂ / Science. 2012. – vol. 336. – pp. 711 – 714.
- 38.Schuur E.A.G. Vulnerability of permafrost carbon to climate change: implications for the global carbon cycle/ Schuur E.A.G., Bockheim J, Canadell J.G.// BioScience. – 2008. – № 58. – pp. 701–714.

39. Shen J.K., Bartha R. Priming effect of glucose polymers in soilbased biodegradation tests / *Soil Biology and Biochemistry*. 1997. – vol. 29. – pp. 1195–1198.
40. Shibistova O. Rate of belowground carbon allocation differs with successional habit of two afro-montane trees / Shibistova O., Yohannes Y., Boy J., Richter A., Wild B., Watzka M., Guggenberger G. // *Plos one*. – 2012. – vol. 7. – pp. 1 – 11.
41. Sorensen L.H. Rate of decomposition of organic matter in soil as influenced by repeated air drying-rewetting and repeated additions of organic material / *Soil Biology and Biochemistry*. – 1974. – pp. 287–292.
42. Tarnocai C. Soil organic carbon pools in the northern circumpolar permafrost region / Tarnocai C., Canadell J.G., Schuur E.A.G., Kuhry P., Mazhitova G., Zimov S. // *Global Biogeochemical Cycles*. – 2009. – №. 23. – p. 11.
43. Wild B. Input of easily available organic C and N stimulates microbial decomposition of soil organic matter in arctic permafrost soil / B. Wild, J. Schnecker, R. J. Eloy Alves, P. Barsukov, J. Bárta, P. Capek // *Soil Biology & Biochemistry*. 2014. vol. 75. – pp. 143 – 151.
44. Wu J. Formation and destruction of microbial biomass during decomposition of glucose and ryegrass in soil / Wu J., Brookes P.C., Jenkinson D.S. // *Soil Biology and Biochemistry*. – 1993. – vol. 25. – pp. 1435–1441.
45. Zhu Z. Fate of rice shoot and root residues, rhizodeposits, and microbial assimilated carbon in paddy soil - part 1: Decomposition and priming effect / Z. Zhu, T. Ge, Y. Hu, O. Shibistova, G. Guggenberger // *Biogeosciences*. 2016. – vol. 13. – pp. 4481– 4489.
46. Zhu Z. Fate of rice shoot and root residues, rhizodeposits, and microbial assimilated carbon in paddy soil - part 2: turnover and microbial utilization / Z. Zhu, T. Ge, Y. Hu, P. Zhou, T. Wang, O. Shibistova, G. Guggenberger // *CrossMark*. 2017. – vol. 426. – pp. 243 – 257.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1 Эмиссия CO₂ в инкубационных микрокосмах при 5°C,
контрольный вариант, ppm

Горизонт	Дни								
	0,5	4	13	14	24	32	46	80	156
Склон южной экспозиции									
О (0-10)	206,22	104,75	77,33	54,64	60,91	73,67	78,71	90,17	75,82
В1 (11-20)	20,60	5,69	20,88	5,61	18,41	22,60	24,31	28,45	21,00
В2 (20-40)	5,62	4,20	12,04	1,38	12,82	3,88	11,47	15,97	21,37
С (40-...)	5,98	2,27	11,68	11,09	13,29	9,49	10,86	21,51	10,91
Склон северной экспозиции									
О (0-14)	93,41	82,69	115,85	114,66	87,88	75,43	78,43	72,12	73,68
А (14-20)	32,88	28,14	48,28	54,86	33,78	29,64	30,87	40,28	28,34
В (20-30)	15,83	13,97	32,04	31,80	20,61	17,05	17,41	26,03	19,10
С (30-...)	9,85	7,56	18,21	16,19	14,06	15,11	16,25	18,88	16,28

Приложение 2 Эмиссия CO₂ в инкубационных микрокосмах при 5°C с
внесением меченной глюкозы, ppm

Горизонт	Дни												
	0,5	4	12 (1 ч)	12 (4ч)	13 (24 ч)	14 (48 ч)	17	24	32	46	80	122	156
Склон южной экспозиции													
О (0-10)	214,26	105,66	443,47	378,81	425,57	264,47	66,42	46,79	56,73	60,64	62,68	58,15	65,82
В1 (11-20)	13,06	7,17	16,04	14,95	23,99	20,21	9,57	13,16	8,21	10,44	19,85	15,70	21,00
В2 (20-40)	6,73	3,53	7,64	5,93	11,22	14,34	5,59	7,36	2,84	5,66	10,85	17,38	21,37
С (40-...)	5,54	3,12	7,82	6,68	11,84	16,56	6,58	7,87	3,14	7,86	17,18	11,97	10,91
Склон северной экспозиции													
О (0-14)	118,03	75,09	230,34	136,20	126,13	132,03	60,93	72,24	29,31	45,46	48,51	57,52	63,68
Аh (14-20)	36,62	29,42	98,39	106,84	111,74	87,74	36,16	23,80	16,72	19,23	29,60	28,65	28,34
В (20-30)	12,00	8,39	25,08	25,05	30,57	33,13	18,12	10,38	7,67	10,09	17,35	20,34	19,10
С (30-...)	7,94	7,13	12,10	14,18	26,58	28,66	11,52	10,33	7,49	12,64	21,63	17,65	16,28

Приложение 3 Содержание ^{13}C в CO_2 в инкубационных микрокосмах при 5°C с внесением меченной глюкозы, ppm

Горизонт	Дни												
	0,5	4	12 (1 ч)	12 (4ч)	13 (24 ч)	14 (48 ч)	17	24	32	46	80	122	156
Склон южной экспозиции													
О (0-10)	15,9 2	10,4 7	122,67	105,97	179,40	99,57	13,1 9	7,9 8	11,6 4	16,2 8	6,1 9	3,9 8	4,7 6
B1 (11-20)	4,70	3,95	6,80	7,38	8,50	5,40	3,31	4,2 2	3,71	5,06	4,5 4	3,8 1	4,0 9
B2 (20-40)	3,22	2,87	3,22	3,43	5,91	6,12	2,96	3,2 1	2,40	3,53	2,6 3	4,4 7	4,5 3
С (40-...)	2,97	2,76	2,83	2,99	4,93	6,90	3,96	3,8 7	2,57	4,94	4,1 3	3,8 6	3,6 0
Склон северной экспозиции													
О (0-14)	8,76	7,44	51,08	33,45	19,92	12,00	5,04	5,0 8	4,09	5,80	2,3 3	3,7 7	3,9 4
Ah (14-20)	7,35	7,78	47,58	62,83	103,20	60,30	10,7 1	7,1 2	4,85	8,19	5,1 6	4,9 6	4,4 9
B (20-30)	4,51	4,23	8,13	11,62	17,10	27,50	7,95	5,0 7	3,67	5,76	5,0 1	5,4 7	5,5 6
С (30-...)	3,89	3,72	5,93	9,98	20,77	19,63	7,20	5,1 3	4,71	5,88	6,0 9	4,9 5	5,0 3

Приложение 4 Эмиссия CO_2 в инкубационных микрокосмах при 23°C , контрольный вариант, ppm

Горизонт	Дни							
	0,5	3	4	8	5	15	31	50
Склон южной экспозиции								
О (0-10)	35,31	49,16	120,23	180,73	150,32	85,16	73,02	83,29
B1 (11-20)	19,53	20,20	21,21	22,42	21,20	20,75	19,67	25,88
B2 (20-40)	19,50	23,33	20,10	16,97	17,11	17,48	17,87	19,19
С (40-...)	13,96	17,48	15,21	9,96	10,33	10,79	12,69	19,44
Склон северной экспозиции								
О (0-14)	15,54	73,50	100,31	132,00	90,12	72,48	52,28	60,65
A (14-20)	16,98	13,90	14,51	14,75	13,14	12,10	9,43	15,75
B (20-30)	14,15	24,72	23,32	22,33	22,32	22,66	21,20	30,91
С (30-...)	13,68	21,28	18,23	16,22	14,52	15,23	14,65	17,03

Приложение 5 Эмиссия CO₂ в инкубационных микрокосмах при 23°C с внесением меченной глюкозы, ppm

Горизонт	Дни								
	0,5	3 (1 ч)	3 (4 ч)	4 (24 ч)	5 (48 ч)	8	15	31	50
Склон южной экспозиции									
О (0-10)	46,22	419,50	470,04	692,73	89,61	29,22	314,64	106,83	46,88
В1 (11-20)	21,57	24,01	28,29	30,55	15,99	15,54	24,18	28,83	26,85
В2 (20-40)	21,74	17,24	18,45	21,81	14,32	19,11	20,89	22,84	24,95
С (40-...)	15,49	15,92	14,96	12,53	12,83	12,23	10,78	12,73	13,60
Склон северной экспозиции									
О (0-14)	29,87	200,62	181,34	148,22	89,88	40,35	174,09	52,55	43,52
Ah (14-20)	26,99	171,03	191,70	92,76	45,83	25,31	65,22	40,16	40,74
В (20-30)	20,00	49,75	48,39	29,44	24,78	24,63	19,31	16,34	22,55
С (30-...)	18,87	36,85	27,44	26,31	20,12	19,56	18,99	16,58	18,34

Приложение 6 Содержание ¹³C в CO₂ в инкубационных микрокосмах при 23°C с внесением меченной глюкозы, ppm

Горизонт	Дни								
	0,5	3 (1 ч)	3 (4 ч)	4 (24 ч)	5 (48 ч)	8	15	31	50
Склон южной экспозиции									
О (0-10)	2,867	101,267	133,267	232,167	22,557	1,847	32,020	8,200	2,880
В1 (11-20)	4,163	12,153	20,017	15,083	5,423	3,343	5,677	5,527	5,213
В2 (20-40)	4,700	4,667	7,183	7,250	4,157	3,540	4,243	4,223	4,503
С (40-...)	4,393	3,693	4,397	8,367	4,787	3,787	4,410	4,057	4,160
Склон северной экспозиции									
О (0-14)	2,18	16,23	15,58	13,87	4,72	2,74	10,34	3,28	2,80
Ah (14-20)	3,72	76,95	114,73	77,18	18,39	4,77	15,59	7,54	6,80
В (20-30)	4,84	13,88	17,14	20,02	7,31	7,34	6,21	4,61	6,19
С (30-...)	4,71	8,67	6,69	10,32	6,27	6,25	5,70	4,74	5,14

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

Т. Г. Волова
подпись инициалы, фамилия

« 18 » июня 2018г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Оценка потери углерода криогенными почвами в инкубационных
экспериментах при разных температурах и добавлении меченой (^{13}C)
ГЛЮКОЗЫ

Руководитель Е.Н. Афанасова
подпись, дата 20.06.2018 доцент, к.б.н.

Консультант Г.К. Зражевская
подпись, дата 20.06.2018 с.н.с., к.б.н.

Выпускник А.Е. Децура
подпись, дата 20.06.2018

Красноярск 2018