

УДК 631.433.3

АКТИВНОСТЬ ВЫДЕЛЕНИЯ CO₂, АЗОТФИКСАЦИИ И ДЕНИТРИФИКАЦИИ ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ КРУПНЫХ ДРЕВЕСНЫХ ОСТАТКОВ ЕЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ В ЮЖНОЙ ТАЙГЕ

© 2023 г. И. В. Евдокимов^а, *, Н. В. Костина^б, С. С. Быховец^а, А. В. Кураков^с^аИнститут физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Федеральный исследовательский центр “Пушкинский научный центр биологических исследований РАН”, ул. Институтская, 2, Пушкино, Московская область, 142290 Россия^бФакультет почвоведения, МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия^сБиологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

*e-mail: ilyaevd@yahoo.com

Поступила в редакцию 16.07.2022 г.

После доработки 07.11.2022 г.

Принята к публикации 08.11.2022 г.

В инкубационных экспериментах с крупными древесными остатками (КДО) растений ели обыкновенной (*Picea abies* L.), имеющих одну из пяти стадий разложения, и гумусового горизонта дерново-подзолистой почвы (Retisol) определена активность выделения CO₂, азотфиксации, денитрификации, а также оценено физиологическое состояние сообщества микроорганизмов-деструкторов в зависимости от стадии разложения КДО. Образцы КДО пяти стадий разложения и почвы отбирали на экспериментальных площадках Центрально-лесного государственного природного биосферного заповедника (Тверская область). Максимальные размеры эмиссии CO₂ при разложении КДО были связаны со стадиями разложения III и IV. Для этих же стадий характерны максимальные величины таких важных показателей активности микробного сообщества КДО и почвы, как субстрат-индуцированное дыхание (СИД, 50 мкг С–CO₂/г/ч), доля легкоразлагаемого органического С в органическом веществе (A1, 66%) и метаболический коэффициент q_{CO_2} (0.78). В отличие от эмиссии CO₂, максимальная активность азотфиксации наблюдалась на более ранней стадии II. Величины активности азотфиксации и денитрификации свидетельствуют о постепенном и сложно регулируемом процессе перехода на протяжении стадий II, III и IV от свойств бактериальных и грибных сообществ КДО к таковым в почве. Резкий переход (более чем втрое уменьшение) наблюдается только для соотношения С : N в КДО между стадиями разложения III и IV. Хотя на последней стадии разложения V эмиссия CO₂ существенно уменьшается, органическое вещество КДО отличается меньшей устойчивостью, чем ОВ дерново-подзолистой почвы.

Ключевые слова: органическое вещество, микробная биомасса, метаболический коэффициент, субстрат-индуцированное дыхание, цикл углерода, цикл азота, ¹³C

DOI: 10.31857/S0032180X22600949, EDN: HDAPSA

ВВЕДЕНИЕ

Сокращение поступления парниковых газов, преобладающим из которых является диоксид углерода, в атмосферу, является одной из важнейших задач по смягчению глобальных изменений в биосфере, потепления климата [4, 35]. Мероприятия по уменьшению эмиссии CO₂ и усилению его связывания (стока) должны предварять проверенные данные по ассимиляции углерода в растительной биомассе, дыханию растений, разложению органического вещества почв и фитомассы — опада, корней и крупных древесных остатков (КДО). Недоучет потока CO₂, возвращающегося в атмосферу при разложении КДО, мо-

жет привести к завышенным оценкам долговременного связывания атмосферного CO₂ в наземных экосистемах [26, 32]. Надежные данные по эмиссии CO₂ особенно важны при оценке его нетто-стоков в лесных биогеоценозах, запасы древесных остатков в которых достигают максимальных величин, в сравнении с другими экотопами [13]. Это — один из трех крупнейших по величине резервуаров углерода в лесных экосистемах, наряду с почвенным органическим веществом (ОВ) и древостоем [21]. КДО (называемые в литературе дебрисом, от английского слова “debris”) подразделяют на сухостой, пни и стволую древесину

(валежную и зависшую) с диаметром более 2.5 см [22, 31].

Наиболее весомой фракцией дебриса (КДО) являются сухостой и валеж, различающиеся по отсутствию и наличию прямого контакта с поверхностью почвы и, соответственно, с почвенной микробиотой. По степени разложения валеж и другие КДО подразделяют на 4 или 5 стадий разложения [13, 25]. При этом вклад КДО является наименее изученным среди всех известных источников формирования гумусовых веществ почв и эмиссии CO₂ в атмосферу [5].

Окислительную конверсию древесных остатков осуществляют сложные сообщества грибов, бактерий, насекомых и других организмов при доминирующей роли дереворазрушающих базидиальных макромицетов [29, 30]. Изменения в таксономической структуре сообщества организмов-деструкторов в зависимости от стадии деструкции КДО не всегда дают информацию о возможных трендах в разложении или накоплении тех или иных С- и N-субстратов [27, 31]. В то же время именно величина пула биомассы грибных и бактериальных деструкторов является параметром, определяющим скорость разложения растительных остатков, и поэтому ее надо знать для оценки интенсивности циклов биофильных элементов [15, 34]. Помимо размеров пула биомассы организмов-деструкторов, важна их активность, о которой можно судить по выделению CO₂ при разложении КДО.

Хотя работы по определению CO₂ *in situ* все шире используются различными исследовательскими группами [15], скорости выделения CO₂ слишком вариабельны, чтобы их можно было описывать относительно простыми моделями. При этом оценка вклада КДО в потоки CO₂ напрямую наталкивается на ряд серьезных методических трудностей [26]. Изучение роли КДО в депонировании и эмиссии углерода затруднено из-за длительности их разложения (от десятков до нескольких тысяч лет), что создает сложности для постановки длительных полевых опытов. Представляется перспективной оценка активности этого процесса в образцах валежа в контролируемых лабораторных условиях, и для этого можно применить модификацию метода субстрат-индуцированного дыхания (СИД), предложенную специально для изучения скорости разложения растительных остатков [15].

Постановка таких экспериментов позволяет параллельно со скоростью разложения КДО оценить и активность денитрификации и азотфиксации. Циклы С и N в наземных экосистемах тесно сопряжены. Знание интенсивности процессов азотного цикла важно, так как обеспеченность

азотом существенно влияет на пулы бактериальной и грибной биомассы и ее метаболическую активность. Наши данные [6] указывают на увеличение азотфиксирующей активности микробного сообщества КДО при сдвиге от стадий I и II к стадии III. Это дало возможность говорить о разложении КДО как о процессе с положительной обратной связью, то есть ускоряющемся во времени вследствие благоприятного сдвига в С : N питательного субстрата [25]. В то же время сложнее оценивать влияние этого процесса на углеродный цикл при угнетении азотфиксации в случае поступления азотных соединений в экосистему, например, в виде атмосферных осадков [24, 28].

Представляется логичным изучать процессы биогеохимической трансформации КДО в связке биомасса организмов-деструкторов — дыхательная активность деструкторов — конверсия органического вещества древесных остатков в направлении приобретения свойств почвенного органического вещества. Для этого определяли следующие показатели для стадий I–V разложения КДО: 1) дыхательную активность сообщества деструкторов при разложении КДО в контролируемых условиях; 2) величину биомассы деструкторов; 3) кинетические характеристики дыхания деструкторов, полученные путем математической аппроксимации кривых выделения CO₂ при разложении ОВ в составе КДО; 4) химический состав вещества КДО. Эти данные соотносили с соответствующими показателями для верхнего гумусового горизонта почвы. Предположили, что сравнительный анализ активности выделения CO₂, микробной биомассы, ее физиологического состояния, скоростей денитрификации и азотфиксации, а также химического состава КДО позволит выделить качественные сдвиги в сообществах деструкторов в зависимости от стадий разложения КДО, давая, таким образом, качественно новую информацию о закономерностях функционирования сообщества деструкторов КДО и скоростях разложения древесных остатков.

Цель работы — определение активности выделения диоксида углерода, азотфиксации, денитрификации, физиологического состояния биомассы деструкторов на разных стадиях разложения крупных древесных остатков ели и в дерново-подзолистой почве.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследований. Образцы КДО ели обыкновенной (*Picea abies* L.), представляющих все 5 стадий разложения ее валежа, отбирали в климаксом ельнике кисличном на мониторинговых площадках в Центрально-лесном государственном природном биосферном заповеднике

(ЦЛГБЗ, Тверская область, подзона южной тайги). К стадии I были отнесены КДО с отсутствием явных признаков разложения древесины, II — со слабыми признаками разложения, III — с размягченным наружным слоем и крепкой сердцевинной, IV — размягченной древесиной, включая сердцевину, V — с разложением до состояния трухи. В заповеднике ведется мониторинг продуктивности лесных экосистем, погодных условий, микробиоты и почвенных характеристик [8, 12, 13]. Образцы отбирали буром в четырехкратной повторности (с четырех разных поваленных деревьев для каждой из пяти стадий разложения). Параллельно отбирали и образцы дерново-подзолистой почвы из гумусового горизонта AEL. Свежеотбранные образцы КДО и образцы гумусового горизонта AEL хранили в течение нескольких суток при 4°C до начала инкубационных экспериментов. Химические и физические характеристики этой почвы приведены ранее [7, 11, 12].

Определяли активность выделения CO₂ (базальное дыхание) бактериями и грибами при инкубации в лаборатории образцов КДО и почвы и ряд других индексов микробиологической активности: СИД, характеризующее общую микробную биомассу; метаболический коэффициент, равный отношению базального дыхания к СИД, отражающий физиологическое состояние микроорганизмов [1]; актуальную и потенциальную азотфиксацию (после внесения дополнительного источника углерода, глюкозы) и актуальную денитрификацию.

Лабораторные эксперименты. Навески дебриса и почвы массой 1 и 5 г, соответственно, помещали в 120 мл герметичные стеклянные флаконы с резиновыми пробками перед началом прединкубации. Прежде чем начать определения базального дыхания и микробной биомассы, образцы подвергали предварительной инкубации (акклиматизации) в течение 3 сут при 22°C и 60% полной влагоемкости (для горизонта AEL абсолютная влажность составляла 29%, для материала КДО — свыше 100%) с целью активизации микробного сообщества [19]. Основную инкубацию начинали немедленно по окончании предварительной и проводили при тех же величинах температуры и влажности. Скорости выделения углекислого газа определяли по накоплению за определенные промежутки времени, периодически отбирая газовые пробы с последующим определением концентрации CO₂ на инфракрасном газоанализаторе IRGA Li-820 (LiCor, США), с последующей вентиляцией атмосферы внутри сосудов в течение 30 мин. Влажность поддерживали периодическим (2–3 раза в месяц) внесением необходимых количеств деионизированной воды.

Эмиссию CO₂ при разложении органических веществ КДО и почвы (гумусовый горизонт AEL) (базальное дыхание микроорганизмов, разлагающих эти субстраты), нормированную на начальное содержание углерода ($C-CO_2(t)/C_0$), аппроксимировали с помощью одинарной экспоненты с константой:

$$C-CO_2(t) = 1 - A_1 e^{-k_1 t} - A_2, \quad (1)$$

где k_1 — константа скорости разложения лабильного пула; A_1 — доля лабильного пула, A_2 — доля устойчивого пула; при этом $A_2 = 1 - A_1$. При разложении органического вещества КДО пул A_2 характеризует закрепление ОВ опада в виде устойчивых продуктов гумификации [2, 17]. При разложении ОВ почвы и КДО пул A_2 рассматривали как стабильное органическое вещество почвы, не подвергающееся разложению в ходе инкубации. Длительность инкубации составила 627 сут.

Запасы микробной биомассы в почве и в крупных древесных остатках определяли методом СИД, разработанным для почв Андерсоном и Домшем [14]. Метод СИД основан на определении начального дыхательного отклика почвенного микробного сообщества в первые 2–4 ч после внесения глюкозы. Глюкозу вносили в образцы почвы (в дозе 4 мг С/г почвы) и КДО (36 мг С/г КДО). Концентрация глюкозы для образцов КДО была увеличена на порядок, чтобы вызвать в них достоверный дыхательный отклик [15]. Объем вносимого раствора подбирали с таким расчетом, чтобы влажность образцов не превышала 70% полной влагоемкости. Коэффициенты пересчета от измеряемых величин СИД к величинам запасов углерода биомассы в разлагающихся КДО пока еще не установлены экспериментально. Поэтому использовали интенсивность СИД, а не приведенные величины микробной биомассы. Ведь в случае, если пересчетные коэффициенты одинаковы для всех стадий разложения КДО, относительные величины СИД будут не менее информативными, чем величины биомассы. Если пересчетные коэффициенты разные, необходимы дополнительные уточняющие исследования для их определения.

Углерод и азот почве и крупных древесных остатках, а также изотопное соотношение ¹³C определяли на масс-спектрометре Delta plus IRMS (Thermo Fisher Scientific, Германия).

Определение актуальной активности азотфиксации проводили ацетиленовым методом [10]. Навески почвы и дебриса разной степени разложения КДО (1.0 г) помещали в пенициллиновые флаконы объемом 13 мл в шестикратной повторности. Флаконы закрывали резиновой пробкой. В 3 флакона из каждого образца вводили ацетилен (1 мл) для измерения азотфиксации, остав-

Таблица 1. Активность дыхания, биомасса и метаболический коэффициент сообщества деструкторов на разных стадиях разложения КДО (валежа) ели обыкновенной ($\pm$ стандартное отклонение). Буквами а, b, с и т. д. обозначена достоверность различий по методу Тьюки при $P < 0.05$

Показатель	Стадия разложения КДО					Почва
	I	II	III	IV	V	
СИД, мкг С–CO ₂ /г/ч	12.1 $\pm$ 5.9a	17.4 $\pm$ 4.6a	28.4 $\pm$ 5.8ab	49.5 $\pm$ 7.4b	16.8 $\pm$ 2.5a	14.0 $\pm$ 4.1a
Базальное дыхание (Б), мкг С–CO ₂ /(г ч)	6.9 $\pm$ 0.9b	12.6 $\pm$ 4.1bc	22.1 $\pm$ 5.4c	19.8 $\pm$ 3.1c	7.4 $\pm$ 2.6b	1.9 $\pm$ 0.6a
Метаболический коэффициент ($qCO_2 = Б/СИД$)	0.57c	0.72d	0.78d	0.40b	0.44b	0.14a
C : N	1274 $\pm$ 109e	1227 $\pm$ 65e	696 $\pm$ 62d	219 $\pm$ 35c	152 $\pm$ 10b	15 $\pm$ 1a
$\delta^{13}C$, ‰	–25.0 $\pm$ 0.5c	–25.8 $\pm$ 0.3c	–25.0 $\pm$ 0.4c	–26.3 $\pm$ 0.2b	–27.0 $\pm$ 0.1a	–26.9 $\pm$ 0.3a
Константа разложения k_1 , $n \times 10^{-3}$ /сут	2.35 $\pm$ 0.50b	2.90 $\pm$ 0.87b	1.24 $\pm$ 0.45ab	1.02 $\pm$ 0.16a	0.71 $\pm$ 0.09a	3.21 $\pm$ 0.26b
Доля С лабильного пула в составе разлагающегося ОВ, %	9.4 $\pm$ 1.4a	13.1 $\pm$ 2.0a	34.6 $\pm$ 8.7b	65.9 $\pm$ 7.2	41.6 $\pm$ 4.4b	17.4 $\pm$ 0.7ab

шиеся 3 флакона использовали для определения эндогенного выделения этилена (контроль). Флаконы инкубировали в термостате при 28°C в течение 1 сут. Шприцем отбирали пробу (1 мл) и определяли количество образовавшегося этилена на газовом хроматографе Кристалл-2000 (Россия) с пламенно-ионизационным детектором и колонкой, заполненной Porapak N 80/100 (длина колонки 1 м, внутренний диаметр 3 мм, газ-носитель гелий).

Определение потенциальной активности азотфиксации проводили при помощи одного из вариантов ацетиленового метода [10]. Навески КДО разной степени разложения (1.0 г) и почвы помещали в пенициллиновые флаконы объемом 13 мл, добавляли раствор глюкозы (в расчете 1% глюкозы от массы навески). Флаконы закрывали резиновой пробкой, вводили ацетилен (1 мл) и инкубировали в термостате при 28°C в течение 1 сут. Отбирали пробу (1 мл) и определяли количество образовавшегося этилена. Измерение проводили на газовом хроматографе Кристалл-2000 (Россия). Активность азотфиксации выражали в нмоль C₂H₄/(г сут).

Для **определения актуальной денитрификации** навески дебриса – КДО (1.0 г) и почвы помещали в пенициллиновые флаконы, герметично закрывали резиновыми пробками и продували аргоном в течение 1 мин, вводили 1 мл ацетилена и инкубировали при температуре 28°C. Измерение концентрации закиси азота проводили в трехкратной повторности на 5-е сут на газовом хроматографе Кристалл-2000 (Россия) с детектором электронного захвата и колонкой, заполненной Porapak N 80/100 (длина колонки 1 м, внутренний диаметр 3 мм, газ-носитель азот). Объем вводимой пробы 1 см³ [10].

Статистическую обработку данных результатов проводили при помощи программы Statistica 6. Скорость выделения углекислого газа определяли в четырехкратной повторности. Скорости процессов азотного цикла исследовали в трехкратной повторности. Каждая повторность для почвы или КДО представляла смешанный образец, приготовленный из пяти малых образцов; расстояния между точками отбора малых образцов не менее 1 м. Группировку по достоверности различий определяли методом Тьюки при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Активность базального дыхания, биомасса и метаболический коэффициент сообщества деструкторов на разных стадиях разложения КДО. Данные, обобщенные в табл. 1, дают представление об активности грибных и бактериальных деструкторов в ходе последовательных пяти стадий разложения КДО. Максимальные значения базального дыхания выявлены для стадий III и IV. К конечной стадии (V) активность разложения КДО снижалась, и активность эмиссии CO₂ практически не отличалась от таковой на начальном этапе (стадия I). Наибольшие величины СИД (соответственно и биомассы деструкторов) установлены в образцах КДО на стадии разложения IV. Эта же стадия деструкции КДО характеризовалась интенсивным базальным дыханием (около 20 мкг С–CO₂/(г ч)) и максимальной из всего ряда пяти стадий относительной величиной вклада лабильного углерода в общий пул разлагаемых С субстратов (около 2/3). Интенсивность СИД в почве (14 мкг С–CO₂/(г ч)) не отличалась от таковой для сообществ деструкторов КДО стадий I, II и V. То

есть только по данным об активности СИД можно было бы сделать ложный вывод о “схождении свойств” сообществ деструкторов на ранних стадиях разложения КДО и почвы. Это служит дополнительным аргументом в пользу комплексного изучения свойств экосистемы с привлечением максимально доступного количества индексов активности, качества, устойчивости и т.д. [2].

Метаболический коэффициент — один из широко используемых индикаторов экологической устойчивости/нарушения в экосистемах — был высоким на ранних стадиях разложения КДО, достигая максимума (0.78) на стадии III. К стадиям IV и V он значительно (примерно вдвое) уменьшался, при этом все еще не достигая значений, характерных для биоты почв (0.14). Иначе говоря, по этому показателю сообщества деструкторов КДО приобретают черты почвенного сообщества, или, учитывая разницу в величинах $q\text{CO}_2$, почти почвенного. Маловероятно, что высокое значение метаболического коэффициента на ранних стадиях разложения КДО по сравнению с таковым для почвы объясняется каким-то природным стрессом [1, 18]. Скорее, его следует отнести на счет неполного отклика на внесение глюкозы деструкторов КДО, учитывая большое разнообразие медленнорастущих видов именно на ранних стадиях их разложения [24].

Константы разложения лабильного пула ОВ и величины $\delta^{13}\text{C}$ на разных стадиях разложения КДО. Данные долговременного инкубационного эксперимента по определению кинетики разложения ОВ КДО и почвы показали, что константы разложения лабильного пула ОВ варьируют для КДО в пределах примерно одного порядка — от 0.71×10^{-3} (стадия V) до $2.90 \times 10^{-3}/\text{сут}$ (стадия II). Величины доли лабильного пула ОВ — A_1 находятся в интервале от 9.4% (стадия I) до 65.9% (стадия IV разложения КДО). Для почвы кинетические константы были внутри диапазона значений для разных стадий разложения КДО, составляя $3.21 \times 10^{-3}/\text{сут}$ и 17.4% для A_1 соответственно. То есть гумусовый горизонт подзолистой почвы характеризовался относительно высокой константой разложения ОВ и невысокой долей лабильного пула С в составе почвенного ОВ. По имеющимся данным по разложению растительного опада в хвойных лесах можно предполагать, что, наоборот, кинетика разложения ОВ в почве должна быть менее интенсивной, чем у растительных остатков [2]. Вероятно, это было связано с особенностями разложения крупных древесных остатков: а) более медленным разложением древесины по сравнению с фракциями опада, обогащенными низкомолекулярными легкоразлагаемыми субстратами (листва, хвоя, кора, тонкие корни); б) более медленным освоением организ-

мами-деструкторами больших объемов стволовой древесины (особенно на ранних стадиях) по сравнению с более тонкими ветвями, даже в случае сходного химического состава; в) повышенной концентрацией в КДО хвойных деревьев фенолсодержащих веществ, обладающих микростатическими или микробоцидными свойствами [33].

Еще одной интересной особенностью разложения КДО было значимое (на 1.3‰) уменьшение содержания тяжелого изотопа ^{13}C в составе органических веществ в ряду стадий I–IV — с –25.0 до –26.3‰. На стадии V уровень обогащения органических веществ тяжелым изотопом ^{13}C снизился до такой же величины, что и в собственном почвенном ОВ (–26.9‰). Это хорошо согласуется с литературными данными. В работе Чена с соавт. [20] показан примерно такой же диапазон сигнатур для КДО (–27.4...–25.4‰), как и в настоящем исследовании. Они наблюдали, как было установлено и в наших экспериментах, лишь незначительные изменения в содержании ^{13}C на ранних стадиях разложения КДО, а резкое уменьшение (на 1.6‰) — только при переходе от стадии IV к V. Значения сигнатур для почвы и растительных субстратов являются результатом усреднения $\delta^{13}\text{C}$ для разнообразного набора органических веществ как с высоким (пектины, сахара, аминокислоты, гемицеллюлоза), так и низким (целлюлоза, лигнин, липиды) относительным содержанием изотопа ^{13}C , а также разных величин $\delta^{13}\text{C}$ для тех или иных таксонов организмов-деструкторов [20]. Поэтому величина $\delta^{13}\text{C}$ является важным показателем для характеристики сходства и различий органического вещества в компонентах экотопов.

По совокупности характеристик биоты деструкторов и органического вещества можно сделать вывод о том, что между стадиями разложения КДО III и IV происходит наиболее существенное (критическое) их изменение (рис. 1). Это выразилось в уменьшении по сравнению с ранними стадиями разложения КДО величин метаболического коэффициента и константы разложения k_1 ; в значимом уменьшении $\delta^{13}\text{C}$ (фактически до уровня почвенной сигнатуры); в увеличении СИД, базального дыхания, доли доступного углеродного субстрата (A_1) в составе разлагаемого ОВ. Тем не менее, даже на последней стадии разложения органическое вещество КДО обладает меньшей устойчивостью, чем органическое вещество дерново-подзолистой почвы. Об этом можно судить по величинам констант разложения ОВ, скоростей дыхания организмов-деструкторов, доли лабильного пула С [2]. Константа разложения ОВ для почвы превышала таковую для стадии V примерно в 4.5 раза, а скорость базаль-

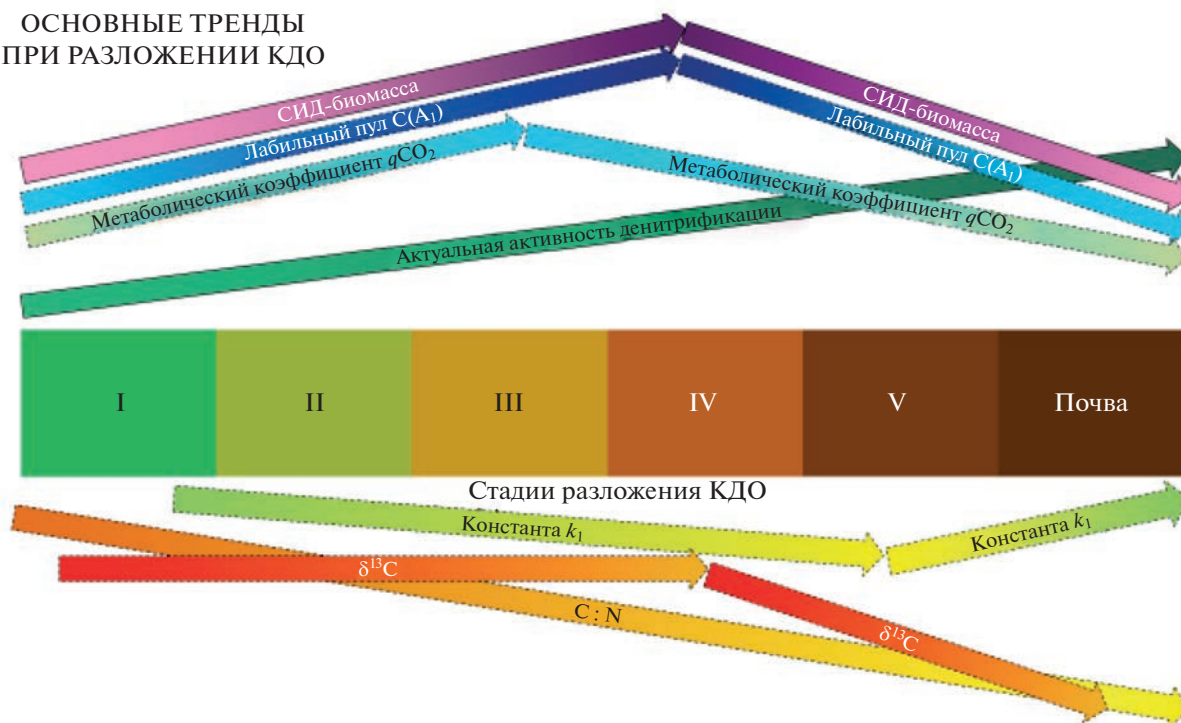
ОСНОВНЫЕ ТРЕНДЫ
ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ КДО


Рис. 1. Зависимость характеристик сообществ деструкторов от стадии разложения КДО (концептуальная схема).

ного дыхания и пул лабильного органического углерода, наоборот, были меньше примерно в 4 и 2.5 раза соответственно.

Активность азотфиксации и денитрификации для сообщества деструкторов КДО. В отличие от выделения CO₂ максимальная активность азотфиксации наблюдалась на более ранней стадии разложения II, при этом наибольшая биомасса микроорганизмов, дающих отклик на внесение

легкоразлагаемого субстрата (глюкозы), сформировалась на стадии IV (табл. 2).

В ряду стадий разложения КДО от I до V было выявлено уменьшение соотношения C : N с 1274 (I) до 152 (V), то есть примерно на порядок. При этом различия между C : N в живой (здоровой) древесине и в КДО стадии разложения I были статистически недостоверными (соотношение C : N в здоровой древесине ~1330, данные не показаны в

Таблица 2. Активность азотфиксации и денитрификации на разных стадиях разложения КДО (валежа) или обыкновенной ($\pm$ стандартное отклонение). Буквами a, b, c и т.д. обозначена достоверность различий по методу Тьюки при $P < 0.05$

Процесс	Здоровая древесина	Стадии разложения					Дерново-подзолистая почва (AEL)
		I	II	III	IV	V	
Потенциальная активность азотфиксации, нг C ₂ H ₄ /(г сут)	8.1 $\pm$ 0.2a	5.7 $\pm$ 0.1a	91 $\pm$ 25c	36 $\pm$ 4	49 $\pm$ 24bc	27 $\pm$ 2 b	47 $\pm$ 16 bc
Актуальная активность азотфиксации, нг C ₂ H ₄ /(г сут)	Следы	0.7 $\pm$ 0.1a	30 $\pm$ 2c	6.6 $\pm$ 1.3b	22 $\pm$ 20bc	2.3 $\pm$ 1.3b	3.5 $\pm$ 0.5b
Актуальная активность денитрификации, мкг N ₂ O/(г сут)	0.7 $\pm$ 0.1a	0.8 $\pm$ 0.1a	1.3 $\pm$ 0.1 b	1.5 $\pm$ 0.1b	1.5 $\pm$ 0.4b	5.6 $\pm$ 1.2c	5.2 $\pm$ 1.7c

табл. 2). В целом в ряду стадий разложения с I по V содержание азота в разлагающихся КДО в расчете на их единицу веса увеличивается на порядок. Максимальное относительное увеличение содержания азота происходило при переходе от стадии IV к V (в 3.4 раза). При переходе от стадии II к III относительное содержание азота увеличилось в 1.8 раза.

Данные по динамике изменения как содержания N как такового, так и соотношения C : N в КДО, во-первых, вполне соответствуют известным трендам на относительное обогащение органического вещества азотом при гумификации [9]; во-вторых эта тенденция хорошо согласуется с феноменом усиления азотфиксации на стадии разложения III [16, 25]. Финские авторы обнаружили, что для стадии III в большинстве случаев характерен максимум и в количестве копий *nifH* генов, и в потенциальной активности азотфиксации. В настоящем исследовании величины как актуальной, так и потенциальной азотфиксации были максимальными уже на стадии II; кроме того, выделяется и второй (дополнительный) пик активностей азотфиксации для сообщества стадии IV. Такое расхождение можно объяснить следующими причинами: 1) нестрогой привязкой максимума к стадии разложения, тем более что стадии определяются органолептически, то есть с высокой степенью субъективизма; 2) различиями в экофизиологических условиях (температурно-влажностный режим, таксономическая структура сообщества деструкторов, различия в содержании азота [35]).

Возможно, привязка максимума азотфиксации к стадиям II–III связана с началом продукции CH_4 , который окисляется метанооксилирующими бактериями, являющимися в то же время и азотфиксаторами [25]. Кроме того, в азотфиксации могут принимать участие и археи-метаногены, ведь при достаточном уровне влажности быстрое потребление грибами кислорода может приводить к созданию локальных анаэробных условий и развитию анаэробной группировки прокариот, в том числе, и метаногенов [3]. Для разложения КДО ели обыкновенной финскими авторами была показана взаимовыгодная кооперация между грибами-деструкторами, продуцирующими метан, и метанотрофными бактериями, играющими роль азотфиксаторов при разложении древесины. Согласно этой гипотезе, дефицит азота может восполняться за счет этой синергии [25]. В работе канадских авторов максимум потенциальной активности азотфиксации приходился на стадию III [16]. В то же время прямую корреляцию между обилием генов *nifH* и активностью азотфиксации удается обнаружить не всегда [25].

Активность денитрификации возрастала в ряду стадий разложения КДО от I по V, достигая к

стадии V величин, сходных с таковой в почве. Вероятно, это связано с усилением почвенных свойств к стадии разложения V и, соответственно, с увеличением потребности в регулировании относительного избытка азота за счет газообразных потерь N в процессе денитрификации, то есть именно таким способом, который присущ микробиоте почв.

Что касается границы качественного перехода между КДО и почвой, то по дыхательной активности, величине метаболического коэффициента (см. выше), величинам активности азотфиксации и денитрификации, полученным в настоящем исследовании и известным по литературным данным [16, 23, 25], можно условно говорить лишь о постепенном, сложно регулируемом процессе перехода на протяжении II, III и IV стадий. Резкий переход (более чем трехкратное уменьшение) между стадиями III и IV наблюдается только для соотношения C : N в составе КДО.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В серии лабораторных экспериментов изучены особенности процессов циклов углерода и азота при разложении крупных древесных остатков (КДО валежа ели). Гипотеза о том, что сравнительный анализ активности выделения CO_2 , микробной биомассы, ее физиологического состояния, скоростей денитрификации и азотфиксации в образцах валежа ели, а также химического состава этого валежа позволит выделить качественные сдвиги в сообществах деструкторов в зависимости от стадий разложения КДО, оказалась верной. По уменьшению величины метаболического коэффициента, константы разложения k_1 , сигнатуры $\delta^{13}\text{C}$, а также по увеличению СИД микробной биомассы, базального дыхания, доли доступного C субстрата в составе разлагаемого ОВ, можно сделать вывод о том, что на границе между стадиями разложения КДО III и IV происходит наиболее существенное изменение свойств КДО и, видимо, сообщества их деструкторов. Основной поток эмиссии CO_2 при разложении КДО ели обыкновенной также связан со стадиями разложения III и IV. В отличие от эмиссии CO_2 , максимальная активность азотфиксации наблюдается на более ранней стадии II, а наибольшая биомасса организмов, дающих отклик на внесение легкоразлагаемого субстрата (глюкозы), формируется на стадии разложения IV. По величинам активности азотфиксации и денитрификации можно условно говорить о постепенном, сложно регулируемом процессе приближения свойств КДО и соответствующих бактериальных и грибных сообществ на протяжении стадий II, III и IV к таковым для почвы. Резкий переход (бо-

лее чем трехкратное падение) наблюдается только для соотношения C : N в составе КДО между стадиями разложения III и IV. На стадии разложения V эмиссия CO₂ существенно снижается. Тем не менее, даже на этой последней стадии разложения органическое вещество КДО отличается меньшей устойчивостью, чем органическое вещество подзолистой почвы.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы благодарят к. б. н., с. н. с. ИФХиБПП РАН А.К. Квиткину за помощь в организации отбора и транспортировки почвенных образцов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работы по определению активности процессов цикла C (около половины всего объема экспериментальных работ) выполнены в рамках темы государственного задания № 122040500037-6. Все исследования процессов азотного цикла, а также работы по отбору, транспортировке и хранению образцов проведены при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение 075-15-2021-1396).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васенев В.И., Ананьева Н.Д., Иващенко К.В. Влияние поллютантов (тяжелые металлы, дизельное топливо) на дыхательную активность конструкторов // *Экология*. 2013. № 6. С. 436–445. <https://doi.org/10.7868/S0367059713060115>
2. Евдокимов И.В., Юсупов И.А., Ларионова А.А., Быховец С.С., Глаголев М.В., Шавнин С.А. Тепловое воздействие факела попутного газа на биологическую активность почвы // *Почвоведение*. 2017. № 12. С. 1485–1493. <https://doi.org/10.7868/S0032180X17120073>
3. Заварзин Г.А., Заварзина А.Г. Ксилотрофы и микопильные бактерии при образовании дистрофных вод // *Микробиология*. 2009. Т. 78. № 5. С. 579–591.
4. Замолодчиков Д.Г., Каганов В.В., Липка О.Н. Потенциальное поглощение углерода фитомассой древостоя при восстановлении тугайных лесов // *Лесоведение*. 2020. № 2. С. 115–126. <https://doi.org/10.31857/S0024114820020114>
5. Кудяров В.Н., Заварзин Г.А., Благодатский С.А., Борисов А.В., Воронин П.Ю., Демкин В.А., Демкина Т.С. и др. Пулы и потоки углерода в наземных экосистемах России. М.: Наука, 2007. 315 с.
6. Кураков А.В., Евдокимов И.В., Максимович С.В., Костина Н.В. Микробное сообщество при разложении валежа ели и его активность в выделении двуокси углерода, азотфиксации и денитрификации // *Проблемы лесной фитопатологии и микологии*. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2018. 262 с.
7. Кураков А.В., Прохоров И.С., Костина Н.В., Махова Е.Г., Садыкова В.С. Стимуляция грибами азотфиксации в дерново-подзолистых почвах // *Почвоведение*. 2006. № 9. С. 1075–1081.
8. Кураков А.В., Семенова Т.А. Видовое разнообразие микроскопических грибов в лесных экосистемах южной тайги Европейской части России // *Микология и фитопатология*. 2016. Т. 50. С. 367–378.
9. Ларионова А.А., Квиткина А.К., Быховец С.С., Лопес де Гереню В.О., Колягин Ю.Г., Каганов В.В. Влияние азота на минерализацию и гумификацию лесных опавов в модельном эксперименте // *Лесоведение*. 2017. № 2. С. 128–139.
10. Степанов А.Л., Лысак Л.В. Методы газовой хроматографии в почвенной микробиологии. М.: МАКС Пресс, 2002. 88 с.
11. Соколова Т.А., Дронова Т.Я., Толпешта, И.И., Иванова С.Е. Взаимодействие лесных суглинистых подзолистых почв с модельными кислыми осадками и кислотно-основная буферность подзолистых почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2001. 207 с.
12. Соколова Т.А., Толпешта И.И., Лысак Л.В., Завгородняя Ю.А., Чалова Т.С., Карпунин М.М., Изосимова Ю.Г. Биологические характеристики и содержание подвижных соединений Fe, Al и Si в ризосфере ели в подзолистой почве // *Почвоведение*. 2018. № 11. С. 1330–1339. <https://doi.org/10.1134/S0032180X18110084>
13. Стороженко В.Г., Шорохова Е.В. Биогеоэкологические и ксилотитические параметры устойчивых таежных ельников // *Грибные сообщества лесных экосистем*. М.–Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2012. Т. 3. С. 22–40.
14. Anderson J.P.E., Domsch K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils // *Soil Biol. Biochem.* 1978. V. 10. P. 215–221. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(78\)90099-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90099-8)
15. Beare M.H., Neely C.L., Coleman D.C., Hargrove W.L. A substrate-induced respiration (SIR) method for measurement of fungal and bacterial biomass on plant residues // *Soil Biol. Biochem.* 1990. V. 22. P. 585–594. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(90\)90002-H](https://doi.org/10.1016/0038-0717(90)90002-H)
16. Benoist A., Houle D., Bradley R.L., Bellenge J.-P. Evaluation of biological nitrogen fixation in coarse woody debris from Eastern Canadian boreal forests // *Soil Biol. Biochem.* 2022. V. 165. 108531. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108531>
17. Berg B. Decomposition patterns for foliar litter: A theory for influencing factors // *Soil Biol. Biochem.* 2014. V. 78. P. 222–232. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.08.005>
18. Blagodatskaya E.V., Anderson T.H. Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal-to-bacterial ratio and qCO₂ of microbial communities in forest soils // *Soil Biol. Biochem.* 1998. V. 30. P. 1269–1274. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(98\)00050-9](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(98)00050-9)
19. Blagodatsky S.A., Heinemeyer O., Richter J. Estimating the active and total soil microbial biomass by kinetic respiration analysis // *Biology and Fertility of Soils*.

2000. V. 32. P. 73–81.
<https://doi.org/10.1007/s003740000219>
20. Chen J., Heikkinen J., Hobbie E.A., Rinne-Garmston (Rinne) K.T., Penttilä R., Mäkipää R. Strategies of carbon and nitrogen acquisition by saprotrophic and ectomycorrhizal fungi in Finnish boreal *Picea abies*-dominated forests // Fungal Biology. 2019. V. 123. P. 456–454.
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.03.005>
 21. Dossa G.G.O., Yang Y.-Q., Hu W., Paudel E., Schaefer D., Yang Y.-P., Cao K.-F., Xu J.-C., Bushley K.E., Harrison R.D. Fungal succession in decomposing woody debris across a tropical forest disturbance gradient // Soil Biol. Biochem. 2021. V. 155. P. 108142.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108142>
 22. Harmon M.E., Franklin J.F., Swanson F.J., Sollins P., Gregory S.V., Lattin J.D., Anderson N.H. et al. Ecology of coarse woody debris in temperate ecosystems // Adv. Ecological Res. 1986. V. 15. P. 133–276.
[https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60121-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60121-X)
 23. Lajtha K. Nutrient retention and loss during ecosystem succession: revisiting a classic model // Ecology. 2020. V. 101. P. e02896.
<https://doi.org/10.1002/ecy.2896>
 24. Leppanen S.M., Salemaa M., Smolander A., Mäkipää R., Tirola M. Nitrogen fixation and methanotrophy in forest mosses along a N deposition gradient // Environmental and Experimental Botany. 2013. V. 90. P. 62–69.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.12.006>
 25. Mäkipää R., Leppänen S.M., Munoz S.S., Smolander A., Tirola M., Tuomivirta T., Fritze H. Methanotrophs are core members of the diazotroph community in decaying Norway spruce logs // Soil Biol. Biochem. 2018. V. 120. P. 230–232.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.02.012>
 26. Mukhortova L., Pashenova N., Meteleva M., Krivobokov L., Guggenberger G. Temperature Sensitivity of CO₂ and CH₄ Fluxes from Coarse Woody Debris in Northern Boreal Forests // Forests. 2021. V. 12. P. 624.
<https://doi.org/10.3390/f12050624>
 27. Prosser J.I., Bohannan B.J.M., Curtis T.P., Ellis R.J., Firestone M.K., Freckleton R.P., Green J.L., Green L.E. et al. The role of ecological theory in microbial ecology // Nature Rev. Microbiol. 2007. V. 5. P. 384–392.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro1643>
 28. Salemaa M., Lindroos A.-J., Merilä P., Mäkipää R., Smolander A. N₂ fixation associated with the bryophyte layer is suppressed by low levels of nitrogen deposition in boreal forests // Sci. Total Environ. 2019. V. 653. P. 995–1004.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.364>
 29. Stokland J.N. Volume increment and carbon dynamics in boreal forest when extending the rotation length towards biologically old stands // Forest Ecology and Management. 2016. V. 488. P. 119017.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119017>
 30. Stokland J.N., Sitonen J., Jonsson B.G. Biodiversity in Dead Wood. Cambridge: Cambridge University Press. 2012.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781139025843>
 31. Shorohova E., Kapitsa E. The decomposition rate of non-stem components of coarse woody debris (CWD) in European boreal forests mainly depends on site moisture and tree species // Eur. J. Forest Res. 2016. V. 135. P. 593–606.
<https://doi.org/10.1007/s10342-016-0957-8>
 32. Shorohova E., Kapitsa E., Kuznetsov A., Kuznetsova S., Lopes de Gerenyu V., Kaganov V., Kurganova I. Coarse woody debris density and carbon concentration by decay classes in mixed montane wet tropical forests // Biotropica. 2022. V. 54. P. 635–644.
<https://doi.org/10.1111/btp.13077>
 33. Vek V., Poljanšek I., Humar M., Willför S., Oven P. In vitro inhibition of extractives from knotwood of Scots pine (*Pinus sylvestris*) and black pine (*Pinus nigra*) on growth of *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*, *Gloeophyllum trabeum* and *Fibroporia vaillantii* // Wood Science and Technology. 2020. V. 54. P. 1645–1662.
<https://doi.org/10.1007/s00226-020-01229-7>
 34. Wu C., Prescott C.E., Shua C., Li B., Zhang Zh., Wang H., Zhang Y., Yuanqiu Liu Y., Wang G.G. Forest Fragmentation Slows the Decomposition of Coarse Woody Debris in a Subtropical Forest // Forest Science. 2021. V. 67. P. 682–693.
<https://doi.org/10.1093/forsci/fxab035>
 35. Wu C., Zhang Z., Shu C., Mo O., Wang H., Kong F., Zhang Y., Wang G.G., Liu Y. The response of coarse woody debris decomposition and microbial community to nutrient additions in a subtropical forest // Forest Ecology and Management. 2020. V. 460. P. 117799.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117799>

Activity of CO₂, N₂ Fixation and Denitrification in the Course of Decay of Coarse Woody Debris Decay of Norway Spruce in the South Taiga

I. V. Yevdokimov^{1, *}, N. V. Kostina², S. S. Bykhovets¹, and A. V. Kurakov³

¹Institute of Physicochemical and Biological Problems of Soil Science, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow oblast, 142290 Russia

²Lomonosov Moscow State University, Faculty of Soil Science, Moscow, 119991 Russia

³Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: ilyaevd@yahoo.com

The activity of CO₂ efflux, N₂ fixation, and denitrification, as well as the physiological state of the community of microorganisms-destructors were assessed depending on the decay stage of the coarse woody debris (CWD) in the incubation experiments with the coarse woody debris of Norway spruce (*Picea abies* L.) and

podzolic soil (Retisol). The coarse woody debris and soil were sampled at the experimental sites of the Central Forest State Reserve (Tver Region, Russia). Maximal CO₂ emissions caused by CWD decomposition was associated with the decay stages III and IV. Also, the latter two showed maximal values of such sound indices of microbial activity as substrate induced respiration (SIR, 50 µg C–CO₂/(g h)), percentage of easily decomposable C in organic matter (A_1 , 66%) and metabolic quotient $q\text{CO}_2$ (0.78). Unlike the CO₂ emission, maximal activity of N₂ fixation was at the earlier decay stage II. The values of N₂ fixation and denitrification activities indicate a gradual and complicatedly regulated transition process from the properties of bacterial and fungal communities of CDW to those in the soil during stages II, III and IV. The dramatic, more than 3-fold decrease was found only for C : N in CWD during the stages III–IV transition. CO₂ emission at the stage V increased dramatically. Nevertheless, the CWD organic matter even at this latest decay stage had lower sustainability than organic matter of podzolic soil.

Keywords: organic matter, microbial biomass, metabolic quotient, substrate induced respiration, C cycle, N cycle, ¹³C