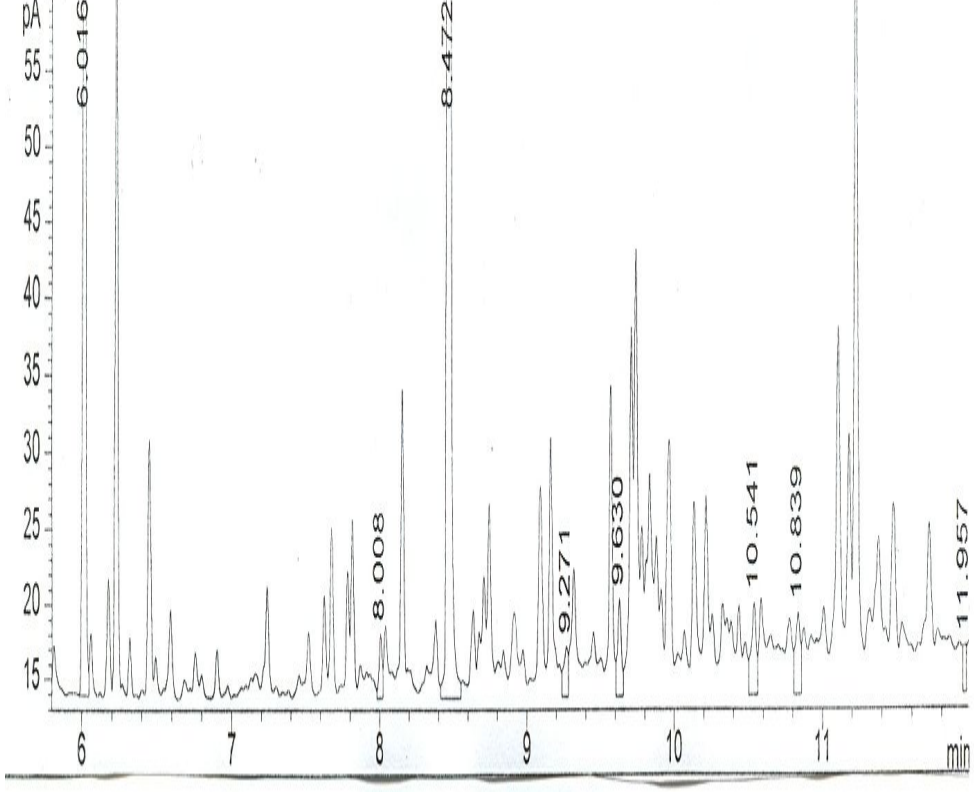


БИОХИМИЯ ЛИГНИНА В ПОЧВАХ ПЕРИОДИЧЕСКОГО ПЕРЕУВЛАЖНЕНИЯ

Ковалев И.В., Ковалева Н.О.

МГУ им. М.В.Ломоносова, ф-т почвоведения

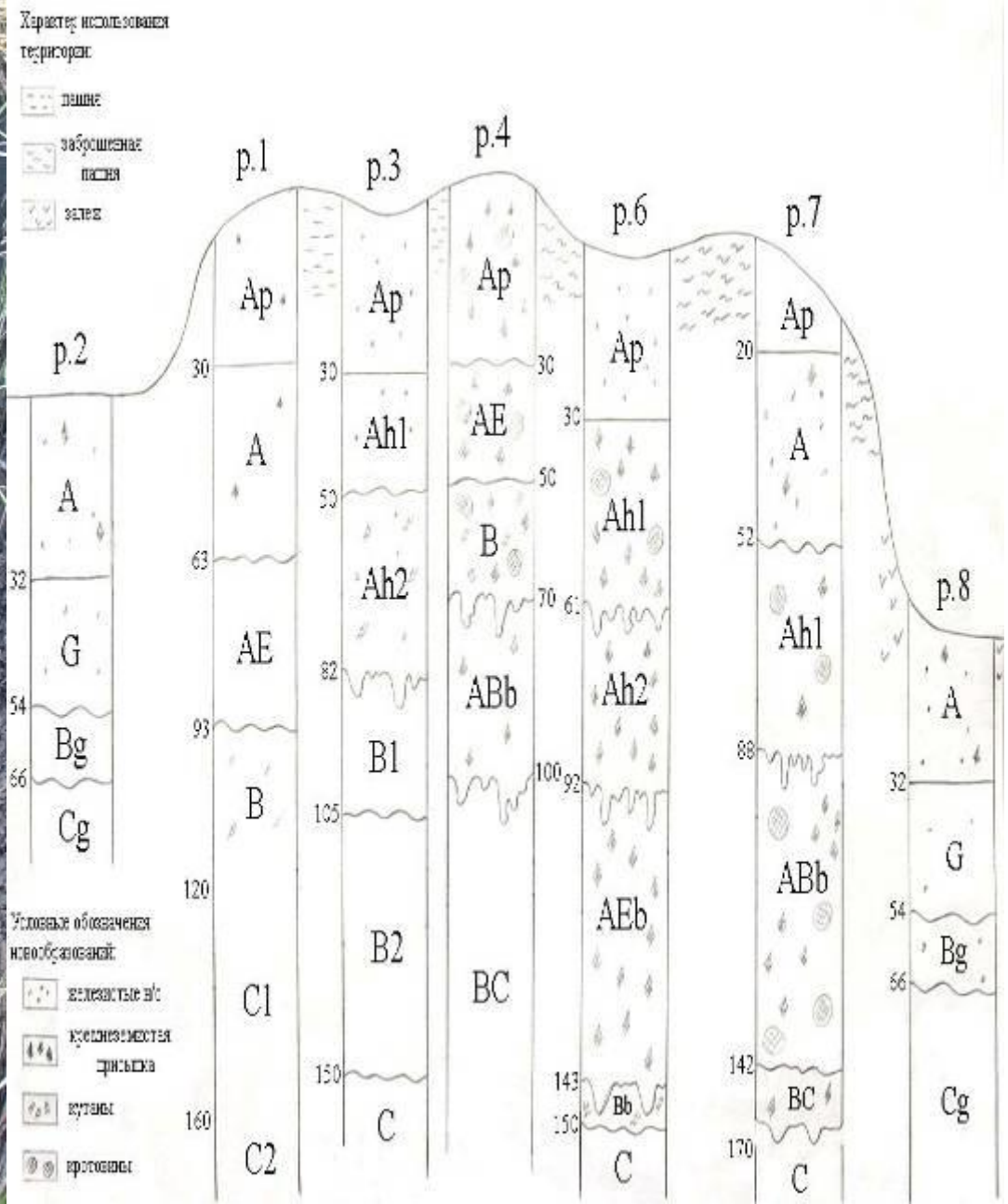
ИЭП МГУ им. М.В.Ломоносова

- **Располагая знаниями о суммарном содержании и реже о структуре лигнина, либо в автоморфных, либо в болотных почвах, мы ничего не знаем о механизмах биохимических процессов его трансформации, протекающих в значительной части почв – в почвах периодического переувлажнения. Между тем временный или длительный сезонный застой влаги создает анаэробные условия в профилях почв с господством окислительных процессов и контрастным типом окислительно-восстановительного режима и на короткие сроки активизирует восстановительные процессы. Контрастность гидрологического режима должна отражаться и на свойствах органического вещества этих почв.**

Объект исследования: Коломенское ополье
(Московская обл.)

Брянское ополье

Брянское ополье



Почвы: серые глеватые почвы. Профильный ряд: $A_{p,fs,g'}$ (0-25 cm) - $EB_{p,fs,g'}$ (25 – 32 cm) - $B1_{g''}$ (32-50 cm) - $B2_{g''}$ (50-95 cm) - B3g''' (95-125 cm) – BCg'''(125-140 cm).

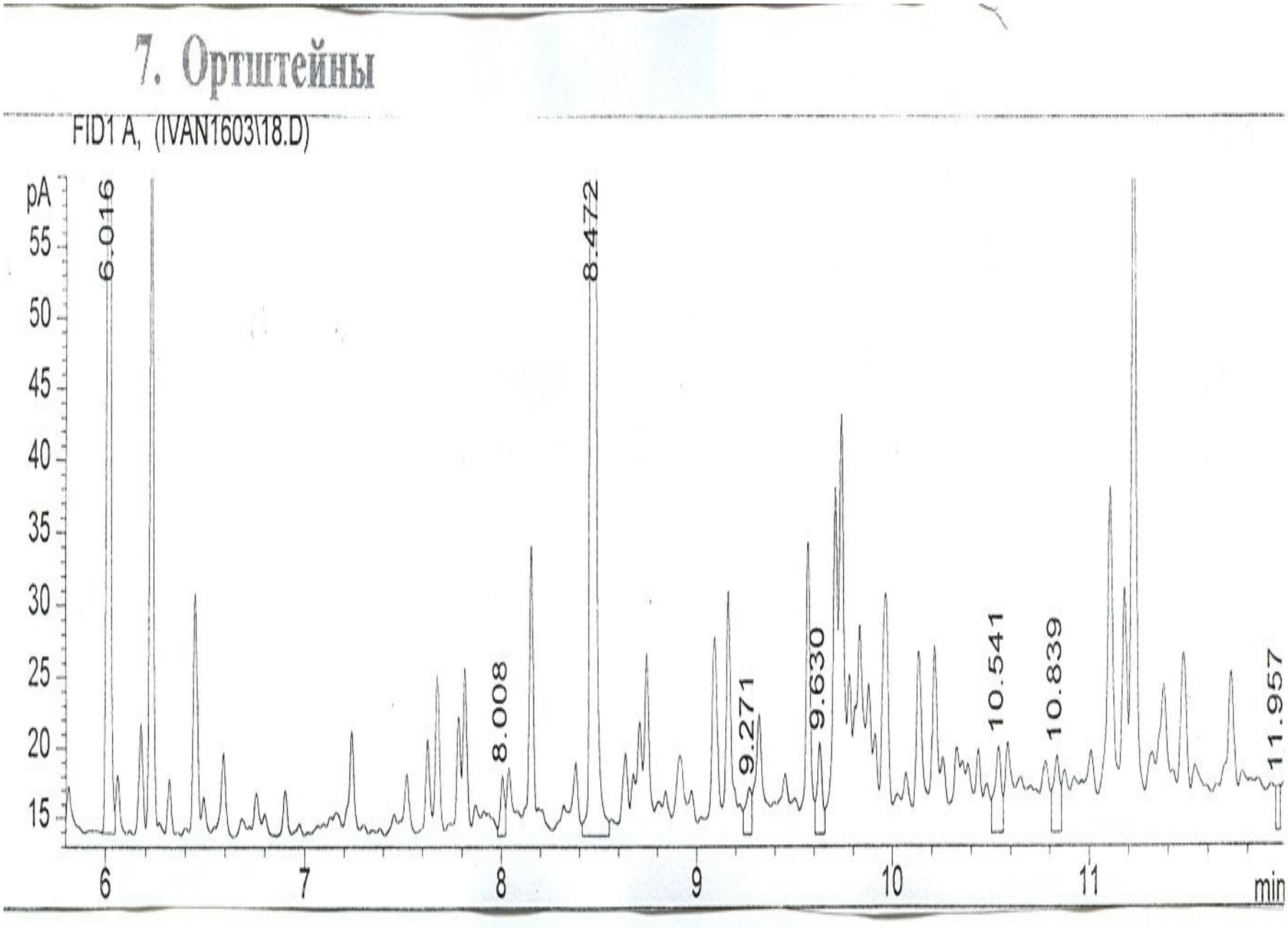
Профиль этих почв имеет мраморовидную окраску иллювиальных горизонтов (особенно гор B2g''), большое количество ортштейнов в гор. Ар и ЕВ и серо-голубые кутаны.

Методы исследования

- **Для определения количественного содержания структурных фрагментов лигнина использовали метод мягкого щелочного гидролиза органического вещества почв оксидом меди в азотной среде с последующим использованием хроматографии тонкого слоя и газового хроматографического разделения (На газовом хроматографе с масс-спектрометром Hewlet-Packard Palo Alto CA USA фенолы разделялись на пламенно- ионизационном детекторе, оборудованном капиллярной колонкой. В качестве основного и маркирующего газа служил азот. Температура инъектора – +2500, детектора – +3000).** Индивидуальные продукты реакции: ванилин, сиреневый альдегид, ванилиновая, сиреневая, п-кумаровая и феруловая кислоты - идентифицированы путем сравнения времени удерживания и пиков с известными компонентами и количествами, используемыми в качестве внешних стандартов
- **(Методика Ertel J.R., Hedges J.I, 1984 в приведенной ниже модификации W.Amelung, 1997).**

Схема метода

Интеграция пиков



Щелочное окисление дает 11 фенолов,

которые сгруппированы по их химической природе

в 4 структурных семейства:

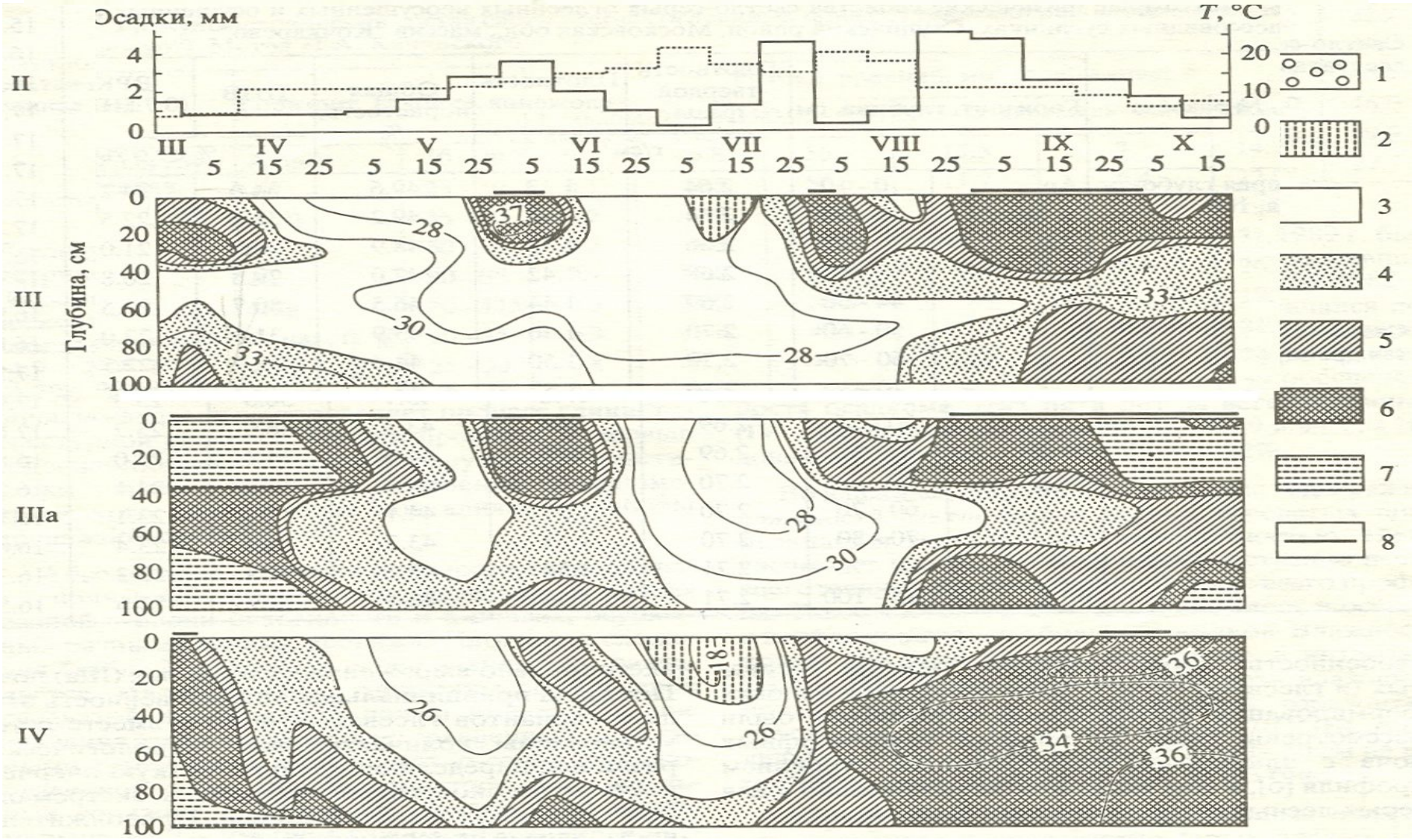
- **ванилиновые (V)**
- **сирингиловые или сиреневые (S)**
- **п-кумаровые (C)**
- **феруловые (F)**

V, S, C ----альдегиды, кетоны, кислоты;

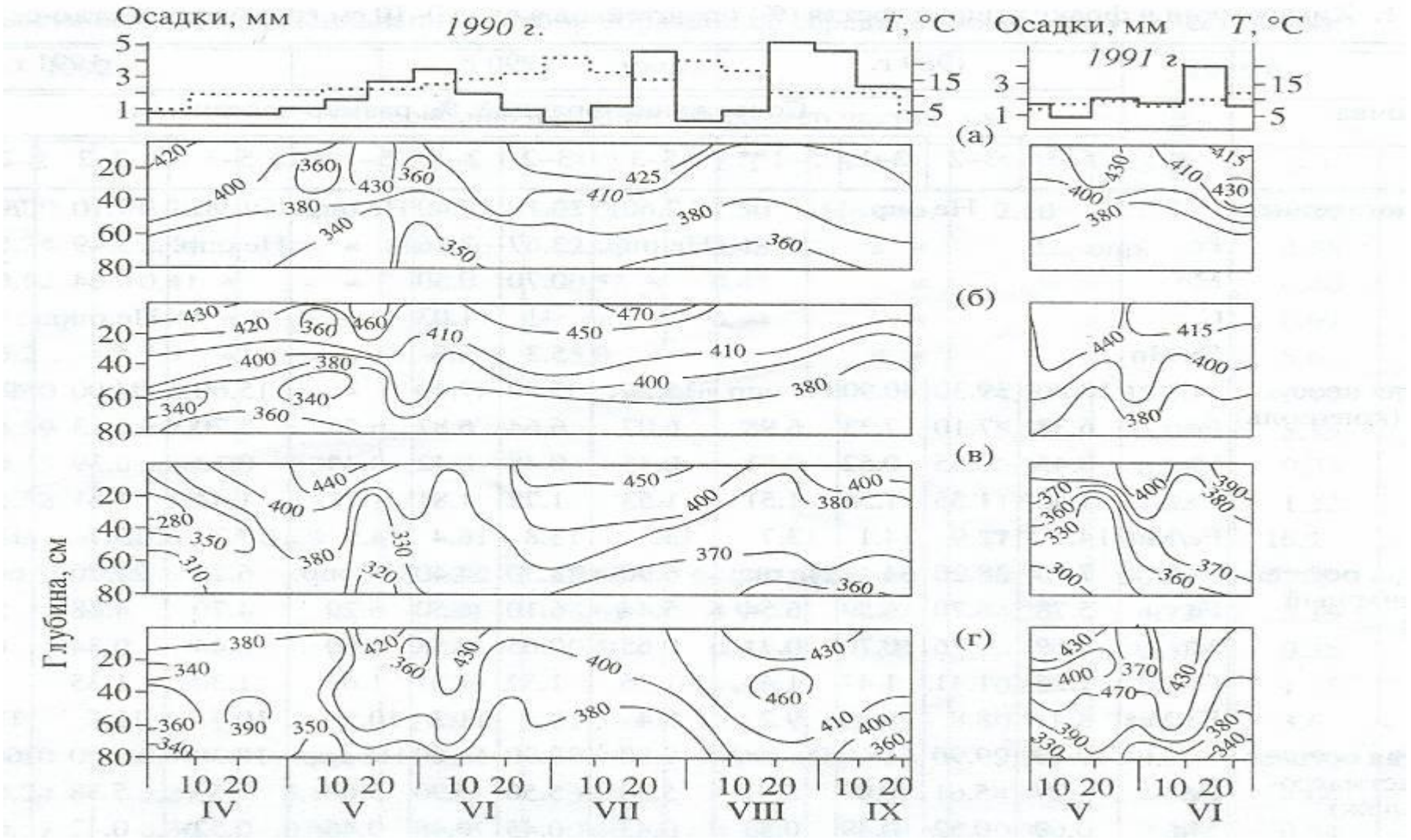
F---кислоты

∑ продуктов окисления лигнина (VSC)----- общее содержание лигнина в образце

Рис. 1. Элементы водного режима светло-серых оглеенных неосушенных и осушенных почв (влажность в объемных процентах и категориях) в 1990-ом влажном году. Массив "Кочкарево". Почвы: I – светло-серая глееватая (типичная), осушенная гончарным дренажом; II – светло-серая глееватая (типичная), осушенная пластмассовым дренажом; III – светло-серая глееватая (типичная) недренированная; IIIa – светло-серая глееватая (экстремально выраженная) недренированная; IV – светло-серая глубокооглеенная недренированная. Категории влажности: 1 – менее влаги завядания (ВЗ); 2 – от ВЗ до влажности разрыва капиллярной связи (ВРК); 3 – от ВРК до 0.95 ППВ (предельной полевой влагоемкости); 4 – 0.95 ППВ - ППВ; 5 – ППВ - 1.05 ППВ; 6 – 1.05 ППВ - до полной влагоемкости – ПВ; 7 – ПВ - полная влагоемкость, верховодка; 8 – ≥0.75 ПВ гор. А пах.



Окислительно-восстановительный режим серых оглеенных почв



Окислительно-восстановительный режим (ОВП, мВ) светло-серых оглеенных осушенных и неосушенных почв. Почвы: светло-серые лесные: а – глееватая, осушенная гончарным дренажом; б – глееватая, осушенная пластмассовым дренажом; в – глееватая недренированная (контроль); г – глубокооглеенная (“автоморфная“).

Брянское ополье

Почва	Горизонт, глубина, см	VSC, мг/г $C_{общ.}$
серая на микроповышении	Ар 0–30	**5,80**
	ЕВ 30–55	**1,85**
серая (со воторым гумусовым горизонтом) **в микрозападине**	Ар 0–33	**9,09**
	А 33–63	**0,72**
серая (глеевая) **в пожбине**	А 0–32	**12,49**
	ЕВ g”” 32–54	**4,99**

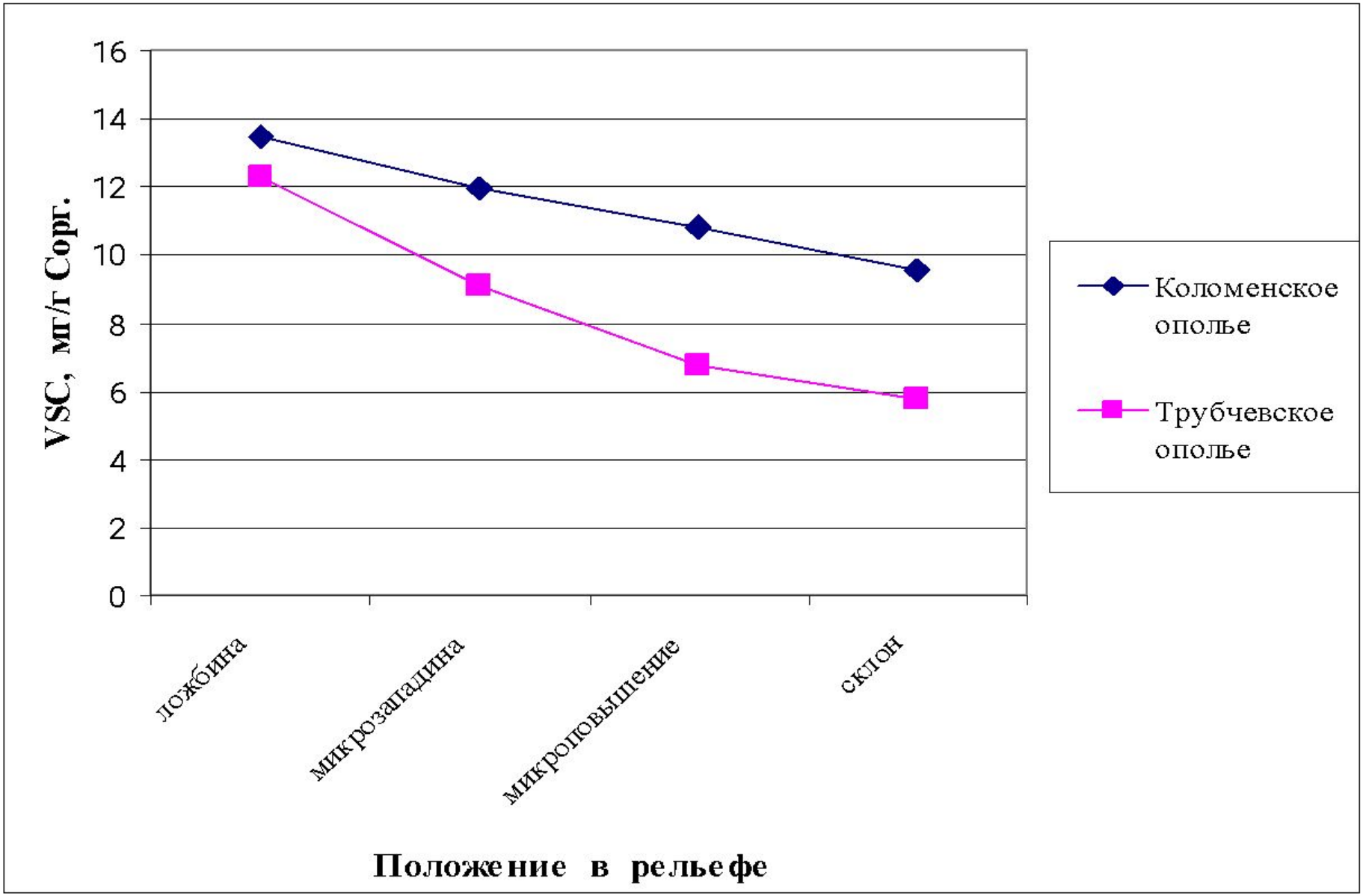
***------- VSC – суммарное количество продуктов окисления лигнина**

Тульские Засеки

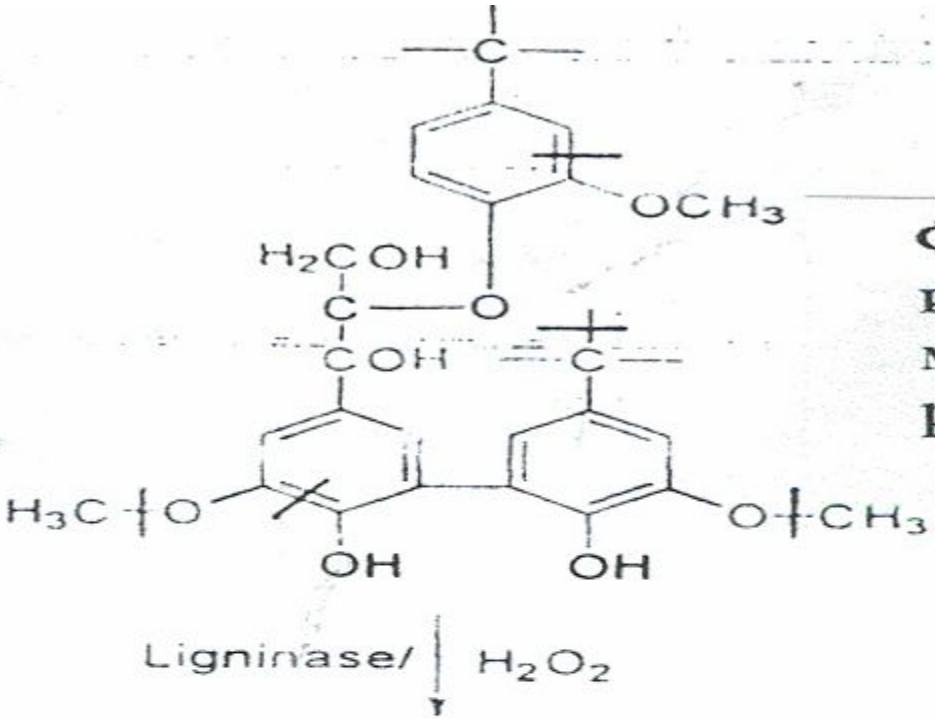
Почва	Горизонт, глубина, см	VSC, мг/г $C_{общ.}$
Темно-серая лесная	A 0–10	**14,60**
	Bt1 50–60	**2,30**
Серая лесная	**A 0–10**	**11,90**
	Bt2 50–60	**2,60**
Светло-серая лесная	**A 0–10**	**12,20**
	Bt2 50–60	**1,20**

*---- **VSC – суммарное количество продуктов окисления лигнина**

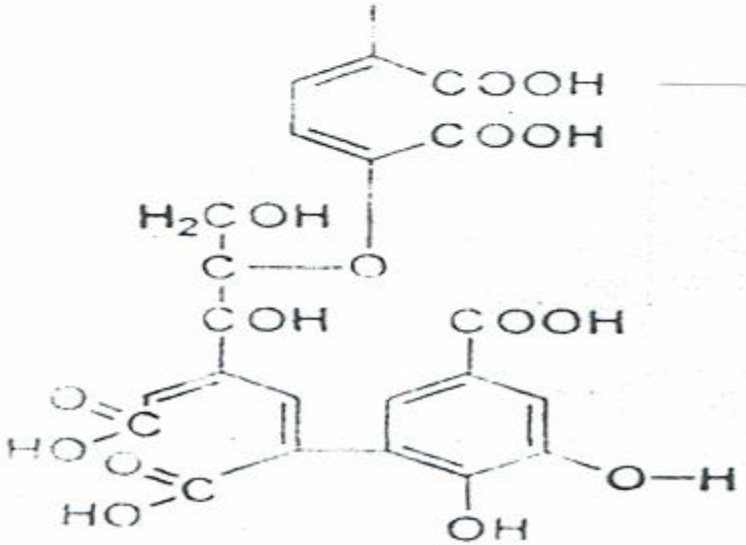
Содержание продуктов окисления лигнина (VSC), мг г-1 Сорг. в почвах изучаемых катен.



Деструкция лигнина, Haider, 1998

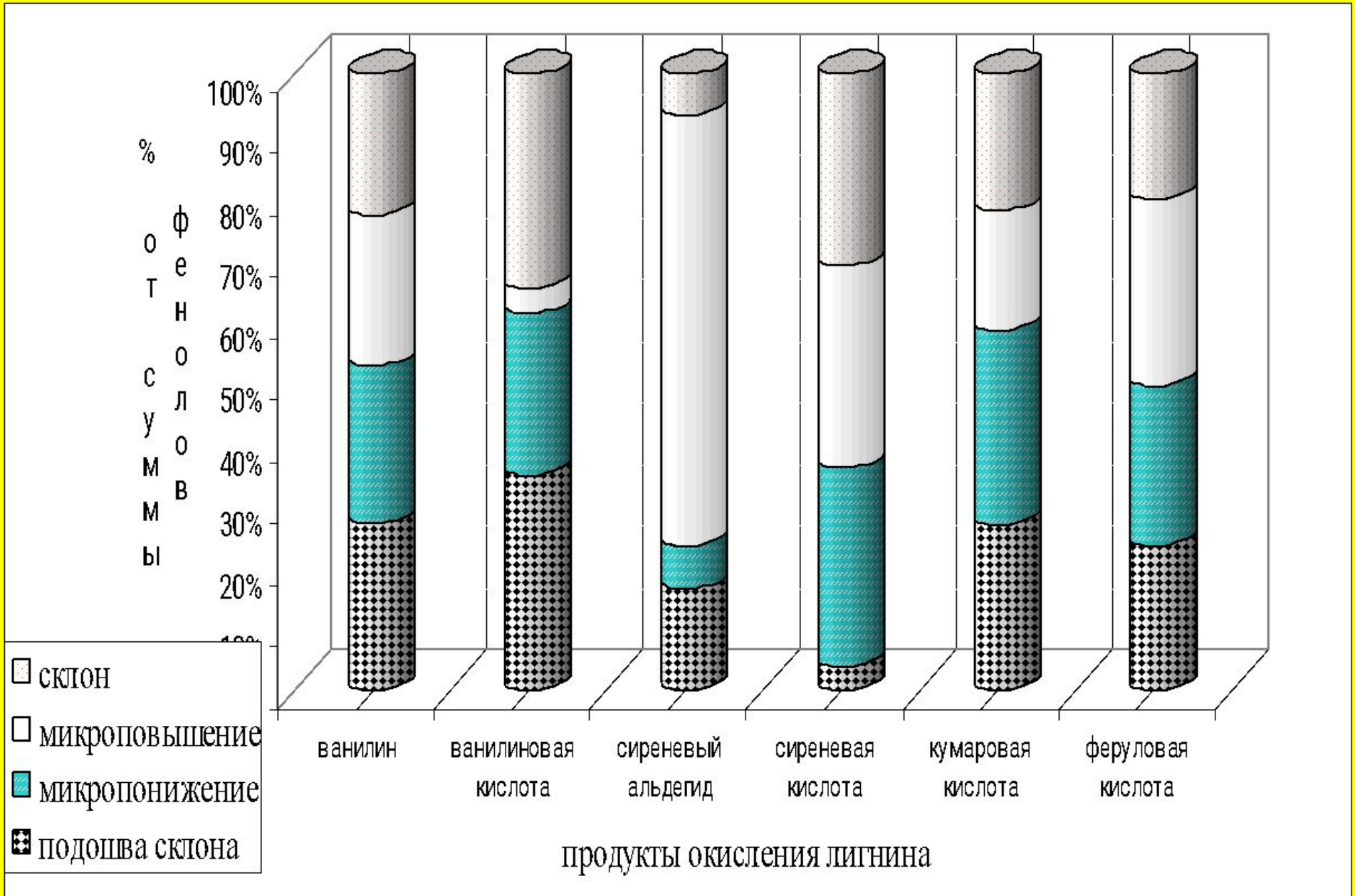


Фрагмент лигнина и возможная реакция микробного расщепления



Частично разрушенный лигнин

Продукты окисления лигнина в серых почвах



«Лигниновые параметры» некоторых видов растений (Ковалева, Ковалев, 2006)

Экосистема	Лигнин, мг $г^{-1}C_{общ}$	V	S	C	V:S:C	S:V	C:F	C:V
Лес								
Еловый	9.42	4.87	2.19	2.36	2:1:1	**0.45**	0.86	0.49
Сосновый	13.70	6.77	3.73	3.19	2:1:1	**0.55**	1.13	0.47
Кедровый	3.08	1.47	0	1.11	1:0:1	**0.02**	0.83	0.70
Лиственничный	9.71	3.75	2.15	3.22	2:1:1	**0.73**	0.66	0.86
Тропический	7.79	3.94	3.78	0.22	1:1:0	**0.96**	0.44	0.06
Роща								
Осиновая	1.58	0.74	0.37	0.46	2:1:1	**0.50**	2.08	0.62
Березовая	12.49	7.54	3.77	1.78	4:2:1	**0.53**	0.83	0.23
Культурные злаки (пашня)	10.85	4.59	4.36	1.90	**2:2:1**	**0.95**	0.96	0.20
Можжевеловое								
редколесье	62.56	32.67	18.83	11.06	3:2:1	**0.58**	0.68	0.32
под кроной на поляне	12.86	5.70	5.72	1.64	4:4:1	**1.00**	0.70	0.29

Примечание. VSC – суммарное количество продуктов окисления лигнина; V – ванилиновые фенолы; S – сирингиловые фенолы; C – коричные фенолы

«Лигниновые параметры» (КОЛОМЕНСКОЕ ОПОЛЬЕ)

Светло-серая почва	Лигнин, (VSC) мг/г С	V	S	C	V:S:C	S:V
глубоко оглеенная	10,9	42	40	18	2:2:1	0,95
глееватая	11,9	41	41	18	2:1:1	1,02

Примечание. **V – ванилиновые фенолы;**
S – сирингиловые фенолы;
C – коричные фенолы

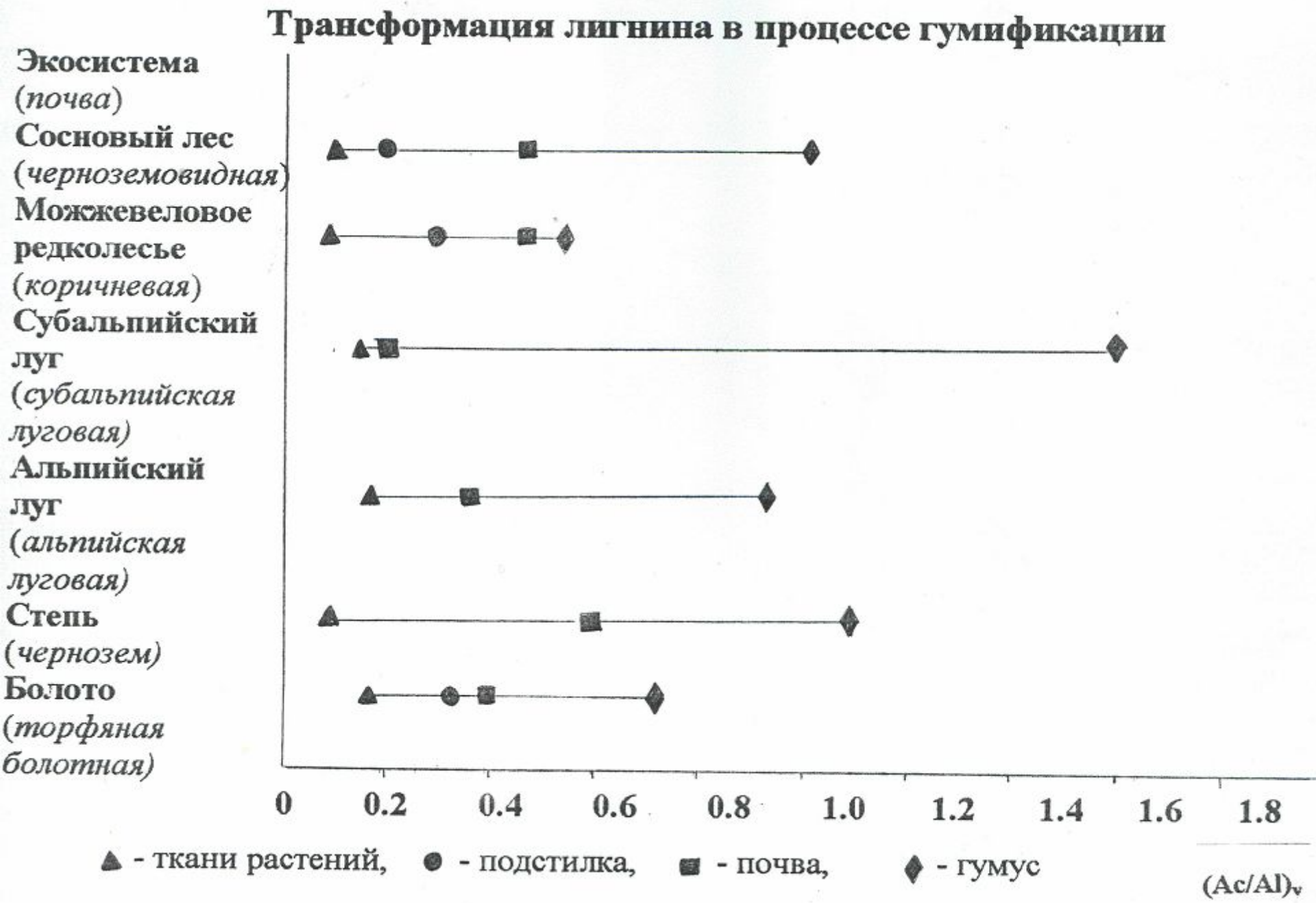
Тульские Засеки

Почва	Горизонт, глубина, см	VSC, мг/г $C_{орг.}$	C/V	T, %
Темно-серая лесная	A 0–10	14,60	**0,80**	10,22
	Bt1 50–60	2,30	**0,55**	9,20
Серая лесная	A 0–10	11,90	**0,73**	10,72
	Bt2 50–60	2,60	**0,33**	2,95

Брянское ополье

Почва	Горизонт, глубина, см	VSC, мг/г $C_{орг.}$	S/V	C/V	C/F
Серая лесная глеевая	A 0–32	12,49	1,50	0,94	0,83
	EBg''' 32–54	4,99	2,46	1,49	1,68
Темно-серая лесная	Ap 0–20	6,77	2,13	1,41	0,88
	A 30–50	0,79	0,65	0,00	0,00
Серая лесная	Ap 0–30	5,80	2,84	1,16	0,79
	EB 30–55	1,85	3,09	5,43	2,39

Ковалева, Ковалев, 2004



Показатели трансформации лигнина в серых лесных почвах, мг/г Собщ., (Брянское ополье)

Почва	Горизонт, глубина, см	VSC, мг/г $C_{общ.}$	Ванилиновые кислоты / ванилин	Сиреневые кислоты / сиреневые альдегиды
серая на микроповышении	Ар 0–30	5,8	0,28	0,37
серая (глеевая) в ложбине	А 0–32	12,5	0,56	0,05

* VSC – суммарное количество продуктов окисления

Показатели трансформации лигнина в серых лесных окультуренных почвах, мг/г Собщ.

Брянское ополье

Почва	Горизонт, глубина, см	VSC, мг/г $C_{общ.}$	T, %
серая на микроповышении	Ар 0–30	**5,80**	**9,2**
	ЕВ 30–55	1,85	**33,4**
серая (со воторым гумусовым горизонтом) в микрозападине	**Ар 0–33**	**9,09**	**11,2**
	А 33–63	**0,72**	**50,1**
серая (глеевая) в ложбине	А 0–32	**12,49**	**22,1**
	EBg’’’’32–54	4,99	**41,3**

*---------- VSC – суммарное количество продуктов окисления

Показатели трансформации лигнина, мг/г $C_{общ}$ гор. Ар серых оглеенных почв, (Коломенское ополье)

Почва	VSC, мг/г $C_{общ.}$	Ванилиновые к-ты / ванилин (Ac/Al)v	Сиреневые к-ты / сиреневые альдегиды (Ac/Al)s	% измененности боковых цепочек по отношению лигнина к исходным растительным тканям (T,%)	VSC / N
Глубоко оглеенная, n = 4	10,8 ± 0,7	0,23 ± 0,03	0,44 ± 0,07	7,9	86
Глееватая n =5	11,9 ± 1,2	0,16 ± 0,01	0,32 ± 0,03	5,8	65

*---------- VSC – суммарное количество продуктов окисления лигнина

**------- T = 74 – (100 – К)(1 + (Ac/Al)v)-1, (Hedges J.I, Ertel J.R., 1984)
где T – % измененности боковых цепочек, (Ac/Al)v – отношение количества фенольных кислот к альдегидам в ванилиновых единицах, К – содержание кетонов в исходных растительных тканях (%ketone).

Почва	Горизонт, глубина, см	VSC, мг/г $C_{общ.}$	Ванилиновые к-ты / ванилин (Ac/Al)v	Сиреневые к-ты / сиреневые альдегиды (Ac/Al)s	% измененности боковых цепочек по отношению лигнина к исходным растительным тканям (T,%)
Глееватая n =5	Ap fs,g' 10–20	11,9 ± 1,2	0,16 ± 0,01	0,32 ± 0,03	5,8
Глееватая осушенная, n = 6	Ap fs,g' 10–20	9,6 ± 0,5	0,18 ± 0,01	0,41 ± 0,01	6,5

Почва (серая лесная)	**Масса конкреций, г/100 г почвы**
Глубоко оглеенная «автоморфная»	**0,3**
Глееватая (контроль)	**2,2**

	VSC, мг г$^{-1}$ С		
	1-2мм	**2-3 мм**	**3-5 мм**
Глубоко оглеенная «автоморфная»	**1,3**	**1,2**	**-****
Глееватая	**1,3**	**1,4**	**1,1**

**** ---------- конкреции фракции >3 мм в почве единичны**

“Лигниновые” параметры

Глее ватая **почва**	Фракция, мм	**VSC,** мг $г^{-1}$ $C_{общ}$	**Ванилиновые кислоты / ванилин** **(Ac/Al)v**	**Сиреневые кислоты / сиреневые альдегиды** **(Ac/Al)s**	**Измененность боковых цепочек лигнина по отношению к исходным растительным тканям** **(T,%)**
Мелкозем, n = 5	**гор. Ар**	**11,9**	**0,19**	**0,37**	**5,8**
Орт-штейны, n = 5	**1-2**	**1,2**	**0,65**	**1,41**	**20,8**

Продукты окисления лигнина в ортштейнах серых почв, мг $г^{-1}$ С

Почва	n	Фракции, мм	VSC, мг/г $С_{общ.}$	Ванилиновая к-та	Сиреневая к-та	Кумаровая к-та	Феруловая к-та
Глубоко оглеенная	n = 4	1-2	1,30	0,13	0,20	0,15	0,08
Глееватая (контроль)	n = 5	1-2	1,34	0,17	0,28	0,20	0,12
	n = 4	2-3	1,08	0,18	0,29	0,21	0,11
	n = 4	3-5	0,81	0,19	0,30	0,21	0,06

Показатели трансформации лигнина в ортштейнах серых лесных почв, мг/г $C_{общ}$.

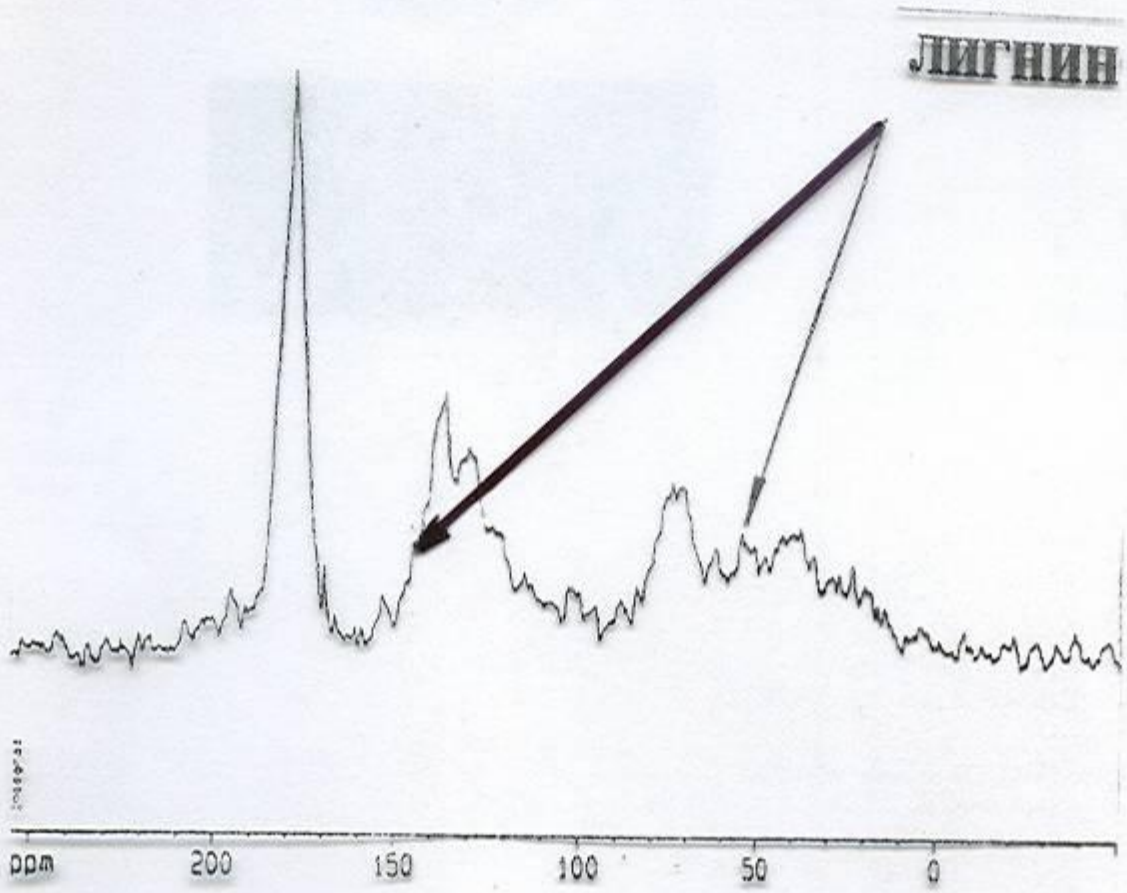
Ортштейны серых оглеен-ных почв	Фрак ция, мм	**VSC,** мг $г^{-1}$ $C_{общ}$ **ортштейнов**	Ванили новые кислоты / ванилин **(Ac/Al)v**	Сиреневые кислоты / сиреневые альдегиды **(Ac/Al)s**	**Измененность боковых цепочек лигнина по отношению к исходным растительным тканям (T,%)**
Глубоко оглеенная, n = 4	**1-2**	**1,30**	**0,2**	**1,1**	**8,1**
Глееватая, ∑n = 13	**1-2**	**1,34**	**0,7**	**1,7**	**19,2**
	2-3	**1,31**	0,6	1,0	22,7
	3-5	**0,81**	0,6	1,5	24,6

***---- VSC – суммарное количество продуктов окисления лигнина**

Почва (серая лесная)	**Масса** конк-реций, г/100 г почвы	**VSC, мг/г С** K_{VSC} *(лигнин)
Глееватая (контроль)	2,2	**1,3** **1,4** **1,1** *0,11* *0,12* *0,09*

*** --- коэффициент концентрирования элемента или соединения в конкрециях;**

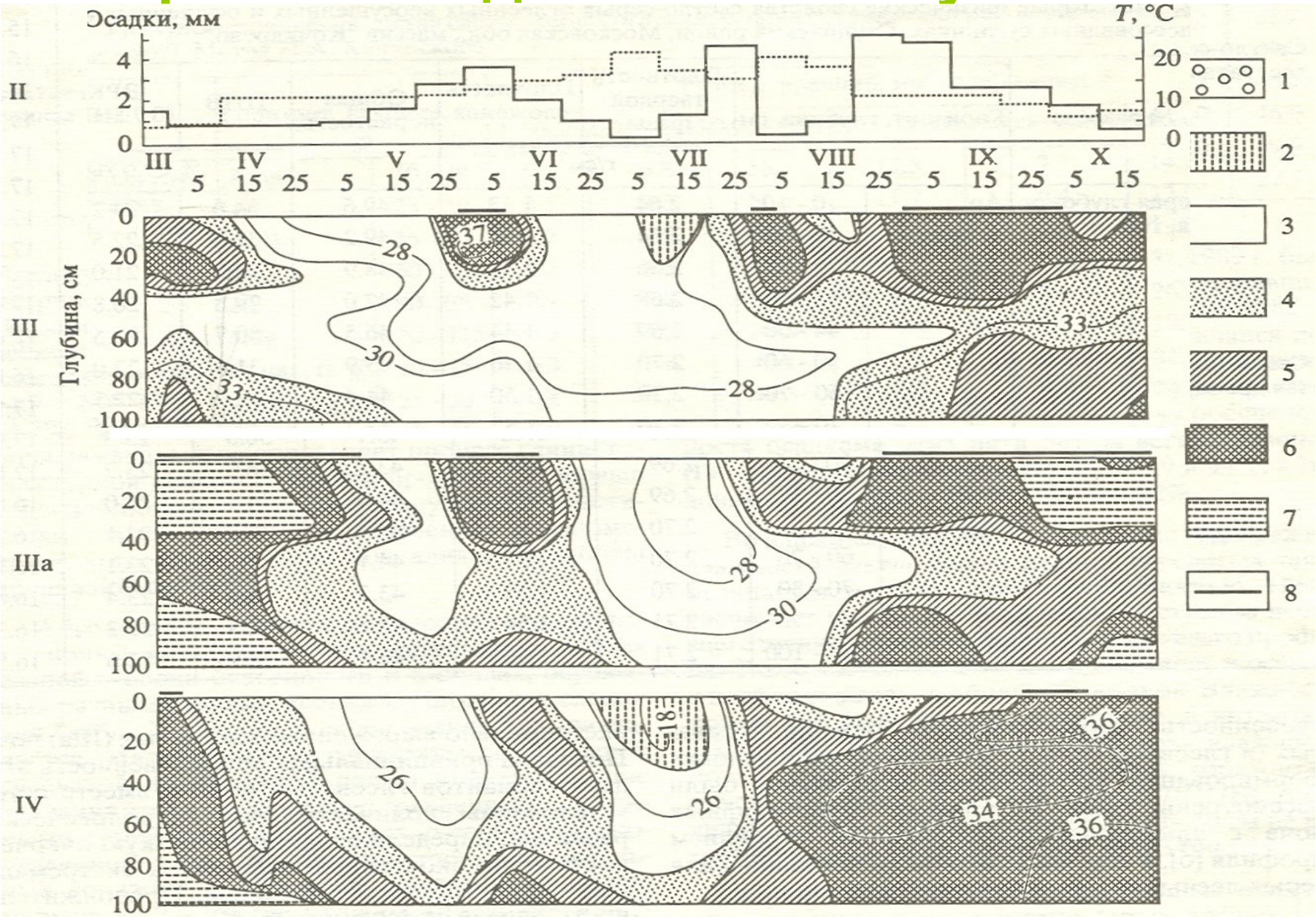
^{13}C ЯМР – спектр гумусовых кислот из железисто-марганцевых новообразований (светло-серая лесная почва)



Распределение углерода в молекулах гумусовых кислот серых лесных почв и конкреций (по данным ЯМР- спектроскопии), % от площади спектра

Препараты гуминовых кислот из:	Углерод алифатических структур, C_{Al}		**Углерод ароматических структур,** C_{Ar}	Углерод карбоксильных структур, C_{COOH}	**Ароматичность, %** $\frac{Ar}{Ar + Al}$	**Сгк / Сфк**	$\frac{Ar}{Al}$ = $\frac{A}{k}$
	C_{Alk}	C_{Alk-O}					
	0-52 ppm	52-106 ppm	106-160 ppm	160-200 ppm			
Глееватая почва	21,1	42,8	17,7	***18,4***	**21,7**	**1,0**	**0**
Конкреции глееватой почвы	18,1	16,2	35,5	***30,2***	**50,9**	**0,5**	**1**

Трансформация гидрологического режима под влиянием осушения



Масса ортштейнов на 100 г почвы в гор.Ар, осушенных пластмассовым и гончарным дренажом и неосушенных серых глееватых почв

Почва	1989 г.	1990 г.	1991 г.	1992 г.	1994 г.	1995 г.	1996 г.	2000 г.
	Масса ортштейнов в г на 100 г абсолютно сухой почвы							
Глееватая (пластмассовый дренаж - середина междренья)	1.38	1.42	1.35	1.37	1.01	1.13 ± 0.052	1.11 ± 0.078	1.12 ± 0.067
Глееватая (гончарный дренаж - середина междренья)	1.17	1.20	1.18	1.16	0.80	0.82 ± 0.051	0.84 ± 0.034	0.90 ± 0.051
Глееватая неосушенная	2.30	2.19	2.26	2.14	2.20	2.16 ± 0.140	не опр.	не опр.
Глубокоогленная	не опр.				0.27	0.26 ± 0.015	0.26 ± 0.040	0.28

Примечание.

n = 5. При этом, каждый смешанный образец (весом около 2 кг) производился из 15 точек опробования

Динамика распределения C и N (%) в ортштейнах (слой 0-10 см) серых лесных оглеенных почв.

Почва	Элемент	1989-1992гг. (n =6)			1996 г. (n = 6)			2007 г. (n = 6)		
		Ф Р А К Ц И Я, мм								
		1--2	2--3	3--5	1--2	2--3	3--5	1--2	2--3	3--5
		Среднее ($\overline{X}$)								
Глееватая неосушенная (контроль)	C, % N, % C/N	1,75 0,15 12,0	1,73 0,15 11,7	1,60 0,14 11,5	1,68 0,14 11,9	1,66 0,14 11,7	1,55 0,14 11,3			
Глееватая, осушенная гончарным дренажом	C, % N, % C/N	1,62* 0,15° 10,8	1,50* 1,40° 10,7	1,43* 1,40° 10,4	1,44 0,12 12,0	1,18 0,11 11,1	1,11 0,10 11,4	1,28** 0,12** 10,2	1,00** 0,11** 10,2	0,94** 0,10** 9,5
Глееватая, осушенная пластмассовым дренажом	C, % N, % C/N	1,65* 0,14° 11,5	1,56* 0,14° 11,2	1,51* 0,14° 10,7	1,41 0,11 12,4	1,26 0,11 11,6	1,19 0,10 11,6	1,31** 0,12** 10,5	1,17** 0,12** 10,0	0,10** 0,11** 9,4

n ---------- повторность;

*** ------ статистически значимое уменьшение содержания углерода к контролю при p< 0,95;**

° ---------- статистически значимое уменьшение содержания азота к контролю при p< 0,80;

**** ------- статистически значимое уменьшение содержания углерода и азота по отношению к первым годам (1989-1992 гг.) последействия дренажа при p< 0,95**

Почва (серая лесная)	P_2O_5, % K_P*			Рподв Кр*подв. Мг/100 г			Рорг Кр* орг Мг/100 г		
	1-2	2-3	3-5	1-2	2-3	3-5	1-2	2-3	3-5
Глееватая (контроль)	0,3 / 1,5	0,2 / 1,2	0,2 / 1,5	∑ = 172,4 / 5,2			∑ = 33 / 0,7		
Глееватая, осушенная дренажом	0,3 / 1,6	0,2 / 1,5	0,2 / 1,4	∑ = 120 / 3,1			∑ = 25 / 0,8		

* --- коэффициент концентрирования элемента или соединения в конкрециях;

Квантильное распределение показателей трансформации лигнина в ортштейнах серых почв.

Глееватые почвы: a –осушенная в 1989-92 гг.; b –осушенная в 1999-2000 гг.

Фракции ортштейнов: 1-2 мм; 2-3 мм; 3-5 мм

***-----Статистически значимое <u>уменьшение</u> ($p < 0,01$)**

продуктов окисления лигнина (VSC, мг $г^{-1}$ C),

Почвы: a –осушенная в **1989**-92 гг.; b –осушенная в 1999-**2000** гг.

Фракции ортштейнов: 1-2 мм; 2-3 мм; 3-5 мм

****-----Статистически значимое <u>увеличение</u> отношений (p < 0,05)**

ванилиновые кислоты/ванилин, (ac/al)v

Почвы: a –осушенная в 1989-92 гг.; b –осушенная в 1999-2000 гг.

Фракции ортштейнов: 1-2 мм; 2-3 мм; 3-5 мм

Статистически значимое увеличение отношений **(p < 0,05)**

сиреневые кислоты/сиреневые альдегиды (ac/al)s

Показатели трансформации лигнина в ортштейнах серых оглеенных почв

Ортштейны серых оглеенных почв	n (повторность)	Фракция, мм	Лигнин N	Измененность боковых цепочек лигнина по отношению к исходным растительным тканям (Т,%)
Глееватая, осушенная пластмассовым и гончарным дренажом в 1989-1992 гг.	9	1-2	14	23
	8	2-3	12	20
	8	3-5	11	12
Глееватая, осушенная пластмассовым и гончарным дренажом в 1999-2000 гг..	10	1-2	13	24
	9	2-3	12	22
	9	3-5	8	25

Распределение углерода в молекулах гумусовых кислот конкреций серых лесных почв (по данным ЯМР-спектроскопии), % от площади спектра

Препараты гуминовых кислот из:	Углерод алифатических структур, C_{Al}		Углерод ароматических структур, C_{Ar}	Углерод карбоксильных структур, C_{COOH}	Ароматичность, % $\frac{Ar}{Ar + Al}$	$\frac{Ar}{Al} = \frac{Ar}{Alk+Alk-O}$
	C_{Alk}	C_{Alk-O}				
	0-52 ppm	52-106 ppm	106-160 ppm	160-200 ppm		
Конкреции **глееватой** почвы	18,1	**16,2**	35,5	30,2	**50,9**	1,0
Конкреции **глееватой осушенной** почвы	19,1	**23,1**	29,3	28,5	**41,0**	0,7

Заключение

Обнаружено, что в формировании гумуса серых лесных почв принимают участие только ткани покрытосеменных (лиственных и травянистых) растений. Причем пропорции лигниновых фенолов не изменились ни под влиянием распашки, ни под влиянием осушения.

В пределах изучаемых катен во всех районах исследования максимум накопления фенольных соединений приходится на почвы мезопонижений с длительным господством восстановительных условий во всем профиле и почвы микрозападин, обладающих в весенний период двухъярусной верховодкой. Наиболее дренированные разности почв, приуроченные к водораздельным микроповышениям и склонам, обладают наименьшими количествами фенолов.

Минерализация ароматических соединений лигнина в аэробных условиях сопровождается значительным увеличением доли фенольных кислот.

Лигниновые параметры вторых гумусовых горизонтов резко отличны от характеристик современного органического вещества. Возможно, это результат их

В Fe-Mn ортштейнах серых лесных почв обнаружен лигнин высших растений. Его фракционный состав соответствует типу господствующей растительности.

С увеличением размера ортштейнов количество продуктов окисления лигнина в них уменьшается за счет минерализации.

Независимо от степени гидроморфизма серых лесных почв количество лигниновых продуктов в ортштейнах в 10 раз меньше, чем в мелкоземе вмещающего горизонта

В ортштейнах гидроморфных почв преобладают фенольные кислоты над альдегидами.

Осушение (12 лет) вызывает глубокую разрушительную трансформацию и таких, казалось бы, устойчивых соединений как лигнин в ортштейнах, особенно в крупных фракциях.

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант 04-04-49727) и DAAD (в Байройтском университете ФРГ)

Спасибо

за внимание!