

Влияние соотношения C:N на разложение фитомассы кукурузы при изменении содержания эндогенного и экзогенного азота

© 2017. А. К. Квиткина¹, м. н. с., А. А. Ларионова¹, к. б. н., доцент, в. н. с., Д. М. Дударева², магистрант, С. С. Быховец^{1,2}, к. г. н., старший преподаватель, в. н. с.,

¹Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, 142290, Россия, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, 2,

²Пущинский государственный естественно-научный институт, 142290, Россия, Московская обл., г. Пущино, проспект Науки, 3,
e-mail: aqvia@mail.ru, darya_dudareva@mail.ru

В длительных лабораторных опытах изучали влияние снижения отношения C:N за счёт эндогенного и экзогенного азота на разложение растительных остатков кукурузы: без внесения азота извне (опыт с эндогенным азотом), а также с внесением KNO_3 и NH_4NO_3 . Скорости минерализации лабильных и устойчивых пулов углерода в растительных остатках (РО) оценивали по уравнению двойной экспоненты аппроксимацией кумулятивной кривой эмиссии CO_2 при разложении РО за 365 сут. Было показано, что снижение C:N усиливало минерализацию РО на ранних стадиях разложения. Накопление эндогенного азота в РО увеличило константу разложения лабильного органического вещества (k_1). Экзогенный минеральный азот существенно увеличил скорость минерализации РО. При внесении KNO_3 , наряду с k_1 , происходило увеличение размера лабильного пула (A_1). Поступление NH_4NO_3 воздействовало на все параметры модели, включая и константу разложения устойчивого пула (k_2), а также привело к максимальной трансформации РО и увеличению индекса гумификации алкил/O-алкил с 0,33 до 0,51. Таким образом, отношение C:N, источник азота и форма, в котором азот включается в процесс деструкции опада, оказывают влияние на константы минерализации, размер лабильного пула и состав продуктов гумификации.

Ключевые слова: минерализация растительных остатков, CO_2 , экологическая стехиометрия, C:N, константы разложения, гумификация.

Effect of C:N ratio and external and internal nitrogen on mineralization rate of corn residues

A. K. Kvitkina¹, A. A. Larionova¹, D. M. Dudareva², S. S. Byhovets^{1,2},

¹ Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science of the Russian Academy of Sciences,

2 Institutskaya St., Pushchino, Moscow region, Russia, 142290,

² Pushchino State Institute of Natural Sciences,

3 Prospect Nauki, Pushchino, Moscow region, Russia, 142290,

e-mail: aqvia@mail.ru, darya_dudareva@mail.ru

The impact of C:N and of internal and external nitrogen on plant residues (corn leaves) decomposition was studied in a series of long-term laboratory incubation experiments: without nitrogen addition (internal organic and inorganic N), with KNO_3 and NH_4NO_3 addition (external N). Mineralization rates of the labile and the recalcitrant carbon pools were estimated by fitting 365-day cumulative CO_2 losses by double-pool exponential decay function. It has been shown that decrease of C:N leads to stimulated mineralization at the early stages of decomposition (first 20 days of incubation). The value of C:N affects the k_1 parameter of the double exponential decay model of plant residues. The decomposition constant of the labile carbon pool directly depends on C:N in the C:N range from 22 to 62, but decreases under the stress of high doses of internal (C:N = 22) and external (C:N = 10) nitrogen. The internal organic nitrogen affected the decay constant (k_1) of the labile pool only. KNO_3 as an external N form influenced the size (A_1) and k_1 value of the labile pool. NH_4NO_3 affected all the parameters of the double exponential decay including constant (k_2) of the recalcitrant pool, and also resulted in intensive transformation of plant residues (humification index alkyl/O-alkyl increased from 0.33 to 0.51). Thus, mineralization and humification of plant residues depends on C:N ratio, origin and form of available nitrogen. The internal nitrogen in plants and the external nitrogen (KNO_3 and NH_4NO_3) affect in the same direction, but the effect of external nitrogen is more pronounced than of internal, and of ammonium nitrogen is more than that of nitrate nitrogen.

Keywords: mineralization, CO_2 , ecological stoichiometry, C:N ratio, decay rates, humification.

Минерализация растительного опада – ключевой процесс круговорота углерода, определяющий скорость эмиссии углекислого газа и поступление питательных элементов в почву. Разложение растительных остатков (РО) зависит как от гидротермических факторов окружающей среды, так и от структуры сообщества организмов-деструкторов, и качества опада: содержания лигнина, концентрации азота и отношения С:N в опаде [1–6]. Почвенные циклы углерода и азота взаимосвязаны. Для органического вещества почвы характерны низкие величины С:N в диапазоне 11–17, поэтому его разложение в первую очередь лимитируется запасами лабильного углерода [5]. В отличие от органического вещества почвы отношение С:N в разных фракциях опада варьирует от 20 до 600, то есть для разложения богатого углеродом опада организмам-деструкторам требуется азот. Поэтому разложение опада, его минерализация до CO_2 и гумификация, то есть трансформация в органическое вещество почвы, наиболее чувствительны к добавлению азота.

При современных темпах роста вовлечения азота в биогеохимический круговорот является актуальной оценка влияния соединений азота на процессы минерализации лабильного и устойчивого углерода в почве [2, 7]. При рассмотрении процессов разложения РО мы предлагаем различать эндогенный и экзогенный азот. Эндогенный азот в растениях находится преимущественно в органической форме в составе аминокислот, амидов, аминокислот и белков, а также может накапливаться в минеральной форме при выращивании в условиях избытка азотных удобрений. Под экзогенным азотом мы понимаем азот, поступающий при разложении РО извне, с удобрениями или с атмосферными выпадениями преимущественно в аммиачной и нитратной формах.

Целью нашей работы было сравнить воздействие С:N за счёт эндогенного и экзогенного азота на разложение и гумификацию растительных остатков. В задачи исследования входили сравнительный анализ влияния органического (эндогенного), аммонийного и нитратного (экзогенного) азота на скорость минерализации растительных остатков кукурузы в ряду снижения соотношения углерода к азоту от С:N=62 до С:N=22 и 10, и оценка индексов гумификации РО.

Методика исследования

В инкубационных экспериментах использовали кукурузу, выращенную в условиях

обеднённого, нормального и обогащённого азотом питания. РО (100 мг) инкубировали в смеси отмытого HCl песка (900 мг) с иллитом (100 мг) при 22 °С, 80% ППВ. Пробы инокулировали водной суспензией (100 мкл) из чернозёма выщелоченного, приготовленной в соотношении вода:почва = 10:1.

В опыте А изучали влияние эндогенного азота: листья кукурузы с С:N 22, 34, 47 и 62 инкубировали без добавления азота (варианты 22А, 32А, 47А, 62А). В листьях 22А эндогенный азот был равномерно распределён между органической и нитратной формами. В опыте Б использовали растительные остатки с С:N 62, к которым последовательно добавляли возрастающие количества NH_4NO_3 и доводили соотношение С:N до 47, 32, 22 и 10 (варианты 47Б, 34Б, 22Б, 10Б). В опыте В соотношение С:N регулировали внесением KNO_3 в исходные растительные остатки с С:N 62 (варианты 47В, 22В).

Газовые пробы отбирали на 1, 3, 5, 7, 10 сут, далее еженедельно или реже в течение 365 сут (после 30 сут пробы отбирали раз в 10–30 сут, после 180 сут раз в 30–60 сут, в соответствии с экспоненциальным снижением эмиссии CO_2). После отбора флаконы проветривали. Интенсивность дыхания вычисляли по накоплению CO_2 в интервалах между отборами газовых проб. Минерализацию органического вещества ($C_{\text{мин}}$) определяли как кумулятивную эмиссию углекислого газа (C-CO_2), рассчитанную в процентах от внесённого углерода (C_0):

$$C_{\text{мин}} = \text{C-CO}_2 / C_0 \cdot 100\%. \quad (1)$$

Кумулятивную кривую эмиссии CO_2 аппроксимировали за период эксперимента с помощью уравнения:

$$C_{\text{мин}} = 1 - A_1 e^{-k_1 t} - (1 - A_1) e^{-k_2 t}, \quad (2)$$

где A_1 – доля лабильного пула, k_1 и k_2 – константы скоростей разложения лабильного и устойчивого пулов углерода растительных остатков кукурузы.

Уравнение аппроксимировали, используя алгоритм Марквардта. Концентрацию CO_2 определяли на газовом хроматографе «Кристаллюкс-4000». Содержание $C_{\text{орг}}$ и $N_{\text{общ}}$ определяли с помощью элементного HCNS-анализатора Vario EL III («Elementar», Германия). Структурные фрагменты ОВ исследовали методом твёрдофазного ^{13}C -ЯМР. ^{13}C -ЯМР спектры опадов были получены на спектрометре BRUKER AVANCE-II NMR

400. Для расшифровки спектры разделяли на диапазоны, соответствующие различным структурным фрагментам [3, 4]: 0–45 ppm – незамещённые алкилы (алифатические фрагменты); 45–110 ppm – О-алкильные группы углеводов; 110–160 ppm – незамещённые и О-замещённые (фенольные) ароматические фрагменты (арилы); 160–220 ppm – карбонилы COOH-групп, альдегидов и кетонов.

Данные анализировались в Statistica 6.0 (ANOVA, по Тьюки ($p < 0,01$)). На графиках приведены стандартные отклонения ($n = 3$).

Результаты и обсуждение

При разложении растительных остатков наибольшая скорость эмиссии CO₂ во всех трёх опытах наблюдалась в первые 30 сут инкубации (рис. 1). За это время минерализовалось около половины всего углерода, эмитированного за 365 сут инкубации. Минимальная скорость наблюдалась при разложении РО с C:N=62 без внесения минерального азота. Наибольшая скорость разложения РО наблюдалась при C:N=22 после внесения нитрата аммония (рис. 1).

Поскольку влияние азота на скорость минерализации неодинаково для различающихся по устойчивости пулов, зависимость между скоростью разложения и величиной C:N оценивали отдельно для лабильного и устойчивого пула. В нашем эксперименте минерализацию фитомассы в микрокосме хорошо описывает двухпуловая модель (уравнение 2). Согласно биохимическому анализу растений [1, 5], лабильный пул с константой разложения k_1 представлен соединениями с большим содержанием азота и низким содержанием лигнина и полифенолов – белками,

моно- и олигосахаридами, также в лабильный пул входят микробная биомасса и низкомолекулярные продукты микробного метаболизма. Устойчивый пул с константой разложения k_2 , напротив, отличается высоким содержанием целлюлозы, лигнина и полифенолов, большими значениями C:N и лигнин:N. Также к устойчивому пулу относятся устойчивые микробные метаболиты и продукты гумификации фитомассы.

По результатам эксперимента, форма азота оказала существенное влияние на величину A_1 : совместное внесение аммонийной и нитратной форм экзогенного азота привело к увеличению лабильного пула в 1,9–2,2 раза (рис. 2 А), тогда как присутствие только нитратного экзогенного и эндогенного азота увеличило размер A_1 в 1,6 раза (рис. 2 А). Аналогичный результат был отмечен в работе [1], где в листьях с исходно высоким содержанием азота размер лабильного пула органических веществ был больше, чем в листьях с низким содержанием азота. Константы разложения устойчивого пула (рис. 2 В) не обнаруживали зависимости от C:N, за исключением опыта с внесением нитрата аммония. В отличие от других форм азота, внесение NH₄NO₃ ускоряло минерализацию устойчивого пула растительных остатков в 3,3 раза – время разложения, рассчитанное как величина, обратная константе разложения ($T=1:k_2$), снизилось с 8,7 до 2,7 лет.

Таким образом, увеличение содержания органического эндогенного азота до C:N=47 и C:N=34 повысило только скорость разложения лабильного пула. Добавление экзогенного нитратного азота до C:N=47 и C:N=22 увеличило как скорость разложения, так и размеры лабильного пула. К увеличению этих двух параметров привело и высокое содержание

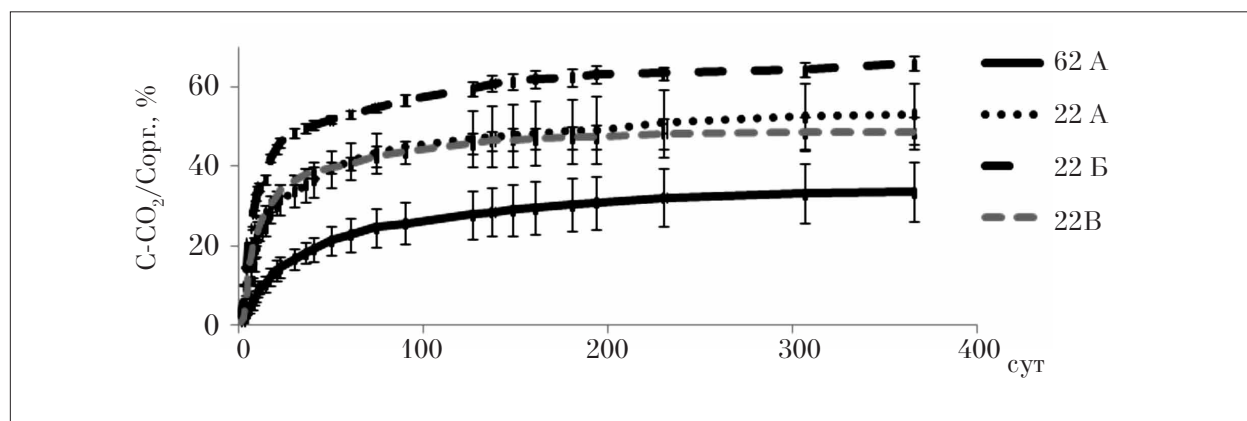


Рис. 1. Кумулятивные потери углерода, выраженные в % от внесённого углерода, при разложении исходных растительных остатков (C:N=62, опыт А) и растительных остатков с C:N=22: без добавления азота (22 А), с добавлением NH₄NO₃ (22 В), с добавлением KNO₃ (22 В) за 365 сут

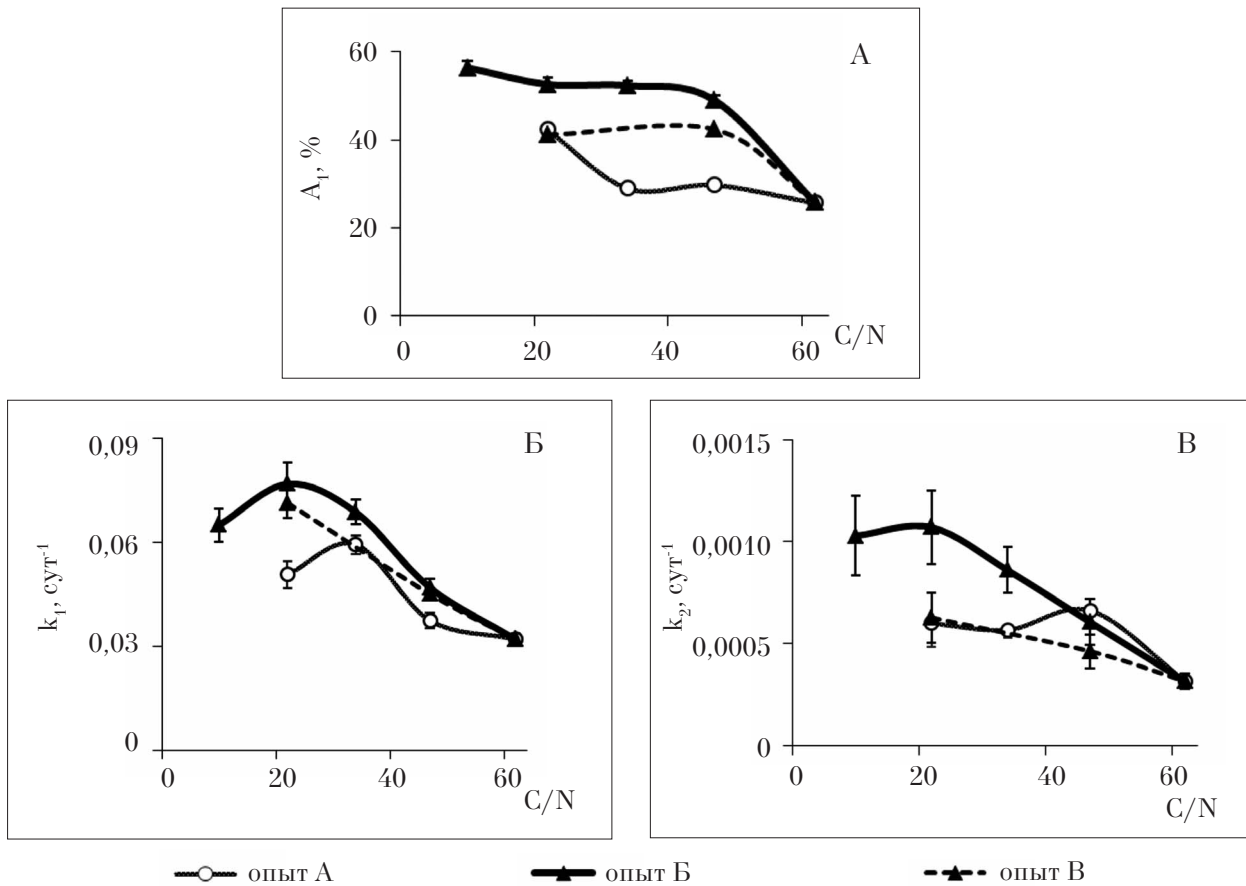


Рис. 2. Параметры двухпулловой модели минерализации РО: (А) A_1 – размер лабильного пула (% от $C_{\text{орг}}$), (Б) k_1 – константа минерализации лабильного пула, сут^{-1} , (В) k_2 – константа минерализации устойчивого пула, сут^{-1} . Варианты: опыт А – растительные остатки (РО), опыт Б – (РО + NH_4NO_3), опыт В – (РО + KNO_3)

эндогенного азота С:N=22. Одновременное внесение в систему экзогенного аммонийного и нитратного азота наряду с увеличением размера и скорости разложения лабильного пула повысило скорость разложения устойчивого пула.

Определение структурных фрагментов углерода в РО кукурузы показало, что источник азота существенно влияет на процессы гумификации (рис. 3 А). После годового инкубирования РО кукурузы (вариант 62А) произошли значительные изменения в структуре органического вещества: снизилась доля углеводных О-алкилов с 80 до 60% от $C_{\text{орг}}$ и примерно в 2 раза возросла доля алкильных и ароматических групп. Доля карбонильных групп при этом существенно не увеличилась. Внесение экзогенного азота привело к ещё более значительной трансформации органического вещества исходных РО за счёт изменения содержания карбонильных и алкильных групп. Внесение нитратной и аммонийной форм (вариант 22Б) увеличило долю алкилов с 20 до 27% и вклад карбонильных групп с 5

до 8% по сравнению с вариантом 62А соответственно (рис. 3). Добавление экзогенного азота только в виде нитратной формы (22В) оказало меньшее влияние на процесс трансформации ОВ и увеличило долю только карбоксильных групп по сравнению с вариантом 62А.

Индексы гумификации по разному реагируют на источники и форму внесения азота. Расчёт отношения арил/О-алкил (рис. 3 Б), свидетельствует об увеличении степени ароматичности продуктов гумификации РО независимо от источника азота. Отношение алкил/О-алкил, напротив, существенно зависит от формы азота: максимальное значение этого индекса гумификации наблюдается при внесении обеих минеральных форм азота, тогда как минимальное значение отмечено в варианте с внесением экзогенного KNO_3 . Известно, что азот способствует интенсивной гумификации опада, причём повышение степени ароматичности органического вещества обычно связывают с подавлением лигнинолитических ферментов, т. е. с увеличением доли устойчивого

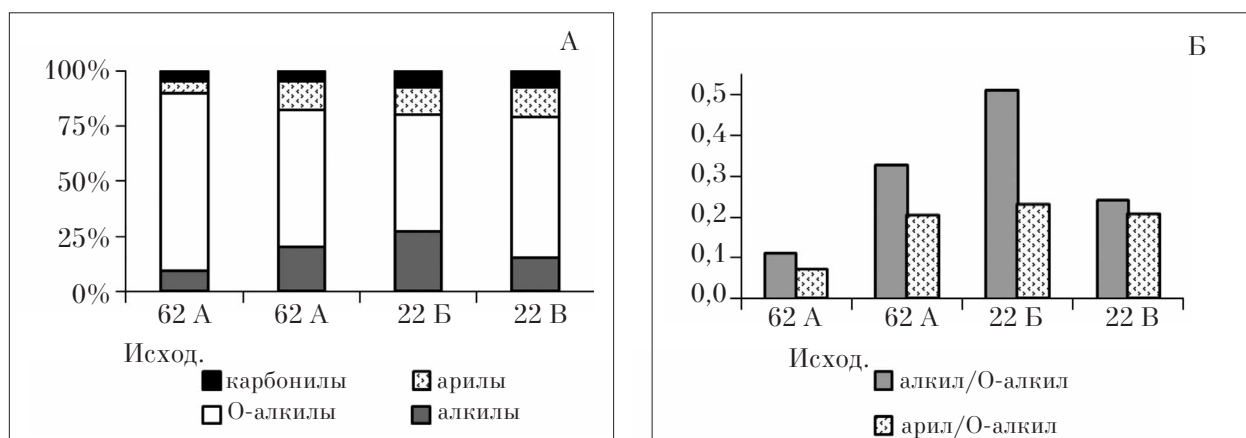


Рис. 3. Состав исходных растительных остатков и продуктов их разложения: (А) распределение углерода по структурным фрагментам по данным ¹³С-ЯМР спектроскопии, в % от С орг., (Б) индексы гумификации

лигнина в продуктах гумификации. В наших исследованиях, напротив, стимулирование гумификации внесением азота сопровождалось увеличением не степени ароматичности, а другого индекса гумификации – отношения алкил:О-алкил (рис. 3 Б).

Таким образом, источник азота (эндогенный или экзогенный), форма, в которой азот поступает в почву и включается в процесс деструкции опада (органическая, нитратная, аммонийная формы) и С:N оказывают влияние на константы минерализации углерода, размер его лабильного пула и качественный состав продуктов гумификации РО кукурузы. В известных из литературы моделях углеродного цикла влияние всех форм азота на интенсивность минерализации растительного опада предполагается одинаковым. По результатам настоящего исследования влияние формы и источника азота, наряду с его количеством и С:N, должно учитываться в математических моделях, описывающих разложение РО.

Заключение

В инкубационных экспериментах по разложению листьев кукурузы была установлена обратная зависимость эмиссии CO₂ от С:N на ранних стадиях разложения (в пределах 20 сут инкубации), нивелирующаяся со временем.

Величина С:N влияет на параметры двухпуловой модели разложения растительных остатков. Константы разложения лабильного пула углерода напрямую зависят от С:N в интервале С:N от 22 до 62, но снижаются под действием высоких доз экзогенного (С:N 10) и эндогенного (С:N=22) азота.

Минерализация растительного опада зависит не только от С:N, но и от источника, и формы доступного азота. Эндогенный азот, входящий в состав растений, и экзогенный, добавленный в виде NH₄NO₃ и KNO₃, действуют в одинаковом направлении, но эффект от экзогенного азота выражен сильнее, чем от эндогенного, а от аммонийного сильнее, чем от нитратного.

Увеличение содержания эндогенного органического азота повышает константу разложения лабильного пула углерода (k₁). Экзогенный нитратный азот увеличивает как размер лабильного пула углерода (A₁), так и константу его разложения (k₁). Внесение NH₄NO₃ воздействует на все параметры модели, описывающей деструкцию растительных остатков, и приводит к ускорению разложения и лабильного, и устойчивого пула углерода РО.

Внесение аммонийной формы азота приводит к максимальному преобразованию РО, накоплению ароматического и алифатического углерода в продуктах трансформации, и высоким индексам гумификации: алкил/О-алкил 0,51 и арил/О-алкил 0,23.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 14-04-01738, № 14-04-01884, № 17-04-01933) и РНФ (№ 14-14-00625).

References

- Hobbie S., Eddy W., Buyarski C., Adair C., Ogdahl M., Weisenhorn P. Response of decomposing litter and its microbial community to multiple forms of nitrogen enrichment // Ecological monographs. 2012. V. 82 (3). P. 389–405.
- Knorr M., Frey S.D., Curtis P.S. Nitrogen additions and litter decomposition: a meta-analysis // Ecology. 2005. V. 86. P. 3252–3257.

3. Kogel-Knabner I. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter // *Soil Biology and Biochemistry*. 2002. V. 34. P. 139–162.

4. Larionova A.A., Zolotareva B.N., Kvitkina A.K., Kudayarov V.N., Kolyagin Y.G., Kaganov V.V. Composition of structural fragments and the mineralization rate of organic matter in zonal soils // *Eurasian Soil Science*. 2015. V. 48. № 10. P. 1110–1119.

5. Orlov D.S. *Soil chemistry*. Rotterdam: Balkema Publishers, 1992. 390 p.

6. Semenov V.M., Ivannikova L.A., Kuznetsova T.V., Semenova N.A. The role of plant biomass in the formation of the active pool of soil organic matter // *Eurasian Soil Science*. 2004. V. 37. № 11. P. 1196–1204.

7. Zhang D., Hui D., Luo Y., Zhou G. Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors // *J. of Plant Ecology*. 2008. V. 1. P. 85–93.

УДК [574+575+581.48]:635.621.8

Эколого-генетический анализ морфометрических признаков семени *Cucurbita pepo* var. *giramontia* Duch.

© 2017. В. Ф. Хлебников, д. с-х. н., профессор,
Н. В. Смурова, преподаватель,

Приднестровский государственный университет им. Т. Г. Шевченко,
3300, Приднестровье, г. Тирасполь, ул. 25 Октября, д. 128,
e-mail: v-khl@yandex.ru, natava.smurova@yandex.ru

Объектами исследования являлись 5 родительских форм кабачка овощного *Cucurbita pepo* var. *giramontia* Duch. и 20 гибридов F₁, созданных в НИЛ «Биоинформатика» ПГУ, близких по скороспелости, но различающихся по размеру семян. Предмет исследований – изменчивость морфометрических признаков (масса, длина, ширина и толщина) семени в градиенте условий репродукции (7 лет). Для характеристики изменчивости условий вегетации семенников использовали индексы среды, рассчитанные по массе семени. Генетический анализ изменчивости и наследования признаков провели с использованием экспериментального материала, полученного по схеме полного диаллельного скрещивания (5×5). Изменчивость морфометрических признаков семян в исследованиях, проведенных в 2005–2012 гг., определяют, в первую очередь, гидротермические условия года репродукции вследствие ротации посевов на участках одного поля, генотипические факторы и характер взаимодействия «генотип-среда». Регрессионный анализ выявил достаточно очевидную роль генотипа. Наибольшей отзывчивостью на условия года репродукции характеризуются масса и ширина семени. По длине семени отмечается незначительная реакция исследуемых форм на условия года репродукции. В различных экологических условиях гидротермальный коэффициент (ГТК = 1,31 и 0,92) репродуцирования семян выявлено однонаправленное доминирование ширины семени. За большее выражение признака отвечают доминантные гены. Однако при недостаточном увлажнении отмечена тенденция к уменьшению на 0,73 размерности блока генов, детерминирующих ширину семени, по сравнению с таковым при высоком увлажнении, при этом наблюдается увеличение аддитивности генов. Показано, что широко используемый на практике приём калибровки семян по линейным размерам (для кабачка по ширине семени), в свете полученных данных требует уточнений в связи с экологическими условиями года их репродукции, особенностями генотипа и характера взаимодействия «генотип × среда».

Ключевые слова: семя, морфометрический признак, кабачок овощной, индекс среды, генетический анализ.

Ecologic and genetic analysis of morphometric features of seeds of *Cucurbita pepo* var. *giramontia* Duch.

V. F. Khlebnikov, N. V. Smurova,
Pridnestrovian State University n. a. T.G. Shevchenko,
128, St. 25 October, Tiraspol, Transnistria, 3300,
e-mail: v-khl@yandex.ru, natava.smurova@yandex.ru

Five parental forms of squash *Cucurbita pepo* var. *Giramontia* Duch. and 20 hybrids F₁ created in the research laboratory of Bioinformatics of SPSU, similar in precocity, but differing in the size of seeds are considered in the research. The variability of morphometric signs (weight, length, width and thickness of a seed) of seeds in a gradient of reproduction conditions