

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный университет»

Институт Наук о Земле

Кафедра почвоведения и географии почв

**Сравнительная характеристика компонентного состава
органического вещества целинных и агропочв
Белгородской области**

*Магистерская диссертация
по направлению 06.04.02 «Почвоведение»*

Выполнил:
магистрант группы 17.М26-нз
Бирилко Данила Александрович

Научный руководитель:
доктор с/х наук, профессор,
Попов Александр Иванович

Магистерская диссертация защищена

«_____» _____ 2019 г.

Оценка _____

Председатель ГЭК: _____

Санкт-Петербург
2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	5
1.1. ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК ИЗУЧЕНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ПОЧВ	5
1.2. СТАНДАРТНЫЕ МЕТОДИКИ ИЗУЧЕНИЯ ПОЧВЕННОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА	8
1.3. ПРОБЛЕМЫ ЩЕЛОЧНЫХ МЕТОДОВ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ГУМУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ	10
1.4. СОСТАВ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПОЧВЕННОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА	16
2. ОБЪЕКТЫ, МЕТОДЫ И ХОД ИССЛЕДОВАНИЯ	28
2.1. ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	28
2.2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.3. ХОД ИССЛЕДОВАНИЯ	39
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
4. ВЫВОДЫ	49
5. ЛИТЕРАТУРА	50

ВВЕДЕНИЕ

Трудами корифеев русской науки В. В. Докучаева и П. А. Костычева были заложены основы учения о почве как о природном теле, образующемся в результате совокупной деятельности природных факторов, среди которых исключительная роль принадлежит биологическим факторам почвообразования — растительному покрову и деятельности живых существ. Согласно этому учению, перегной рассматривается как важнейшая часть почвы, имеющая огромное значение в почвообразовательных процессах и в почвенном плодородии, и наличие его в почве является тем качественным признаком, который отличает почву от мертвой материнской породы (Кононова, 1951).

История изучения почвенного органического вещества (ПОВ) на данный момент привела исследователей к выводу о том, что на 85-90% ПОВ состоит из специфических гумусовых веществ (Александрова, 1980; Кононова, 1963; Орлов и др., 1996). Оставшуюся часть ПОВ составляют вещества неспецифической почвенной природы (отмершие остатки растений и продукты их частичного разложения).

Также на данный момент в международном научном сообществе приняты стандартные процедуры для извлечения гумусовых веществ с использованием щелочных растворов. Получаемые таким образом фракции гумусовых веществ повсеместно используются для качественного и количественного анализа почвенного органического вещества и одновременно служат основой для классификации гумусовых кислот.

Проблема состоит в том, что при принятой методике извлечения фракций гумусовых веществ в них неизбежно переходят также и все находящиеся в почвенном образце вещества неспецифической природы.

Данное исследование предлагает метод, с помощью которого вещества неспецифической природы можно было бы извлечь из почвенных образцов, прежде чем будет произведено извлечение собственно гумусовых кислот стандартными методами.

Это позволит давать качественную и количественную характеристику неспецифических веществ изучаемых почв и таким образом даст возможность сравнивать их по этому критерию. А также это позволит получать фракции гумусовых кислот в более чистом виде.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Охарактеризовать компонентный состав органического вещества на примере целинных и агропочв Белгородской области.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ:

- 1). Разработать метод «мягкого» извлечения индивидуальных органических соединений на примере целинных и агропочв Белгородской области.
- 2). Сравнить компонентный состав органического вещества данных почв.

РАБОЧАЯ ГИПОТЕЗА:

Исследование компонентного состава почвенного органического вещества с помощью последовательного выделения как сложных веществ, так и соединений индивидуальной природы, позволит охарактеризовать антропогенное воздействие на компонентный состав органической составляющей почв.

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК ИЗУЧЕНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ПОЧВЫ

Используя специальное оборудование, позволившее производить в полужавском масштабе выделение органических веществ из больших количеств почвы, дальнейшее их разделение и очищение, О. Шрейнер и И. Шори (Schreiner, Shorey, 1908; 1909; 1910; 1911) определили в составе гумуса более 40 различных химически индивидуальных соединений, относящихся к различным группам, известным в органической химии: углеводов, стеаринов, жиров, органических кислот, альдегидов, углеводов, фосфорорганических соединений, азотсодержащих органических веществ.

А. А. Шмук (цит. по: М. М. Кононова, 1951) отмечал, что в почве, как в сложной среде, при разнообразии поступающих растительных и животных остатков и при различном характере микробиологической деятельности, мы вправе ожидать присутствия больших или меньших количеств всех веществ, имеющихся в растениях и животных и продуцируемых микроорганизмами, — от угольной кислоты до сложнейших белков.

Как считала М. М. Кононова (1951), органическая часть почвы представляет сложную систему веществ, динамичность которой определяется непрерывно поступающим в почву органических остатков растительного и животного происхождения и непрерывным изменением их под влиянием преимущественно биологических, а в некоторой степени также химических и физических факторов. Этим и объясняется тот факт, что в органической части почвы присутствуют разнообразные вещества, которые либо входят в состав разлагающихся растительных остатков, либо представляют собой продукты жизнедеятельности микроорганизмов, использующих эти вещества в качестве источника энергии, либо, наконец, являются продуктами вторичного синтеза в виде бактериальной плазмы. Эта

плазма, несмотря на некоторую специфичность, в основном состоит из тех же соединений, что и растительные и животные ткани.

В чрезвычайно разнообразной группе индивидуальных органических соединений, включающей компоненты разлагающихся растительных остатков, разнообразные продукты жизнедеятельности микроорганизмов и продукты ресинтеза в виде микробных тел, можно ожидать присутствия веществ, которые относятся к следующим классам органических соединений:

- 1) Жиры и близкие к ним вещества.
- 2) Углеводы и родственные им вещества (моно- и дисахара, целлюлоза, гемицеллюлозы и пектины, пентозаны, маннаны, полиурониды растительного и микробного происхождения).
- 3) Протеины и их производные: белки различной сложности, аминокислоты, амиды, различные основания пуринного, пиридинного и пиримидинного рядов и другие азотсодержащие органические соединения.
- 4) Лигнины и их производные. В эту группу входят не только сформировавшиеся лигнины высших растений, но и так называемые «предшественники лигнина», а также начальные продукты их разложения.
- 5) Дубильные вещества в простых и конденсированных формах.
- 6) Смолы и терпены.
- 7) Органические кислоты жирного и ароматического рядов и их эфиры.

В сумме эти соединения неспецифической природы составляют 10-15 % от общего запаса органических веществ почвы (Кононова, 1951).

При этом М. М. Кононова (1951) указывает, что нельзя забывать о необходимости дальнейшего изучения и систематизации разнообразнейшей группы присутствующих в почве органических соединений неспецифической природы. Несмотря на то, что их количества весьма невелики, им, несомненно, принадлежит значительная роль в жизни почвы.

Во второй половине XX века интерес к изучению группы неспецифических органических соединений почвенного гумуса ослабел, что,

несомненно, находится в прямой связи с усилившимся вниманием к группе собственно гумусовых веществ (Кононова, 1951).

Однако, Л. Н. Александрова (1980) приводила более подробный структурный анализ почвенного органического вещества. Она указывала, что гумус — всегда сложная многокомпонентная система, включающая три группы веществ: органические соединения исходных органических (в основном растительных) остатков, постепенно подвергающихся трансформации; промежуточные продукты трансформации, образующиеся в процессе разложения первой группы соединений (эта группа очень разнообразна, эфемерна и все еще плохо изучена); гумусовые кислоты и их производные.

Она предлагала представлять состав почвенного органического вещества следующим образом (рис. 1):

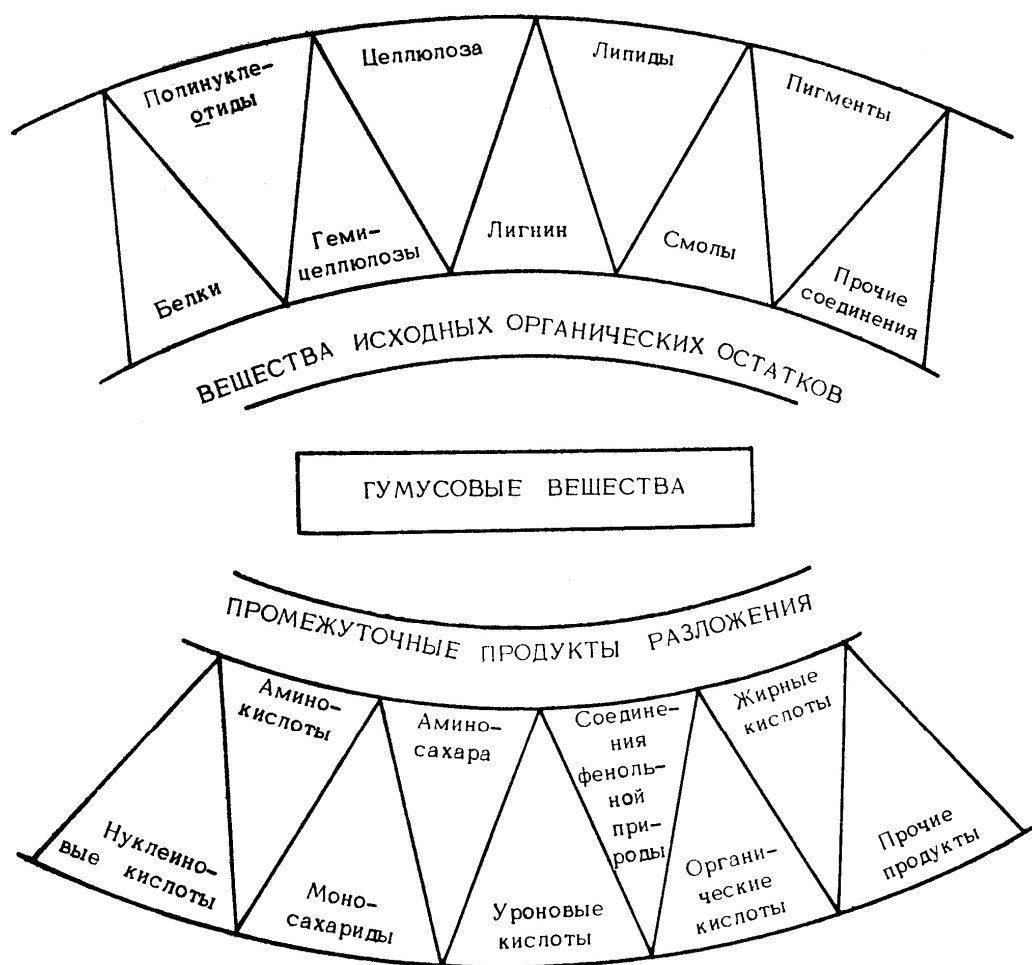


Рисунок 1. Компонентный состав почвенного органического вещества по Л. Н. Александровой (1980).

1.2. СТАНДАРТНЫЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ПОЧВЕННОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА

На данный момент стандартные методики изучения почвенного органического вещества предполагают извлечение нескольких фракций гуминовых веществ с помощью щелочных растворов (рис. 2).

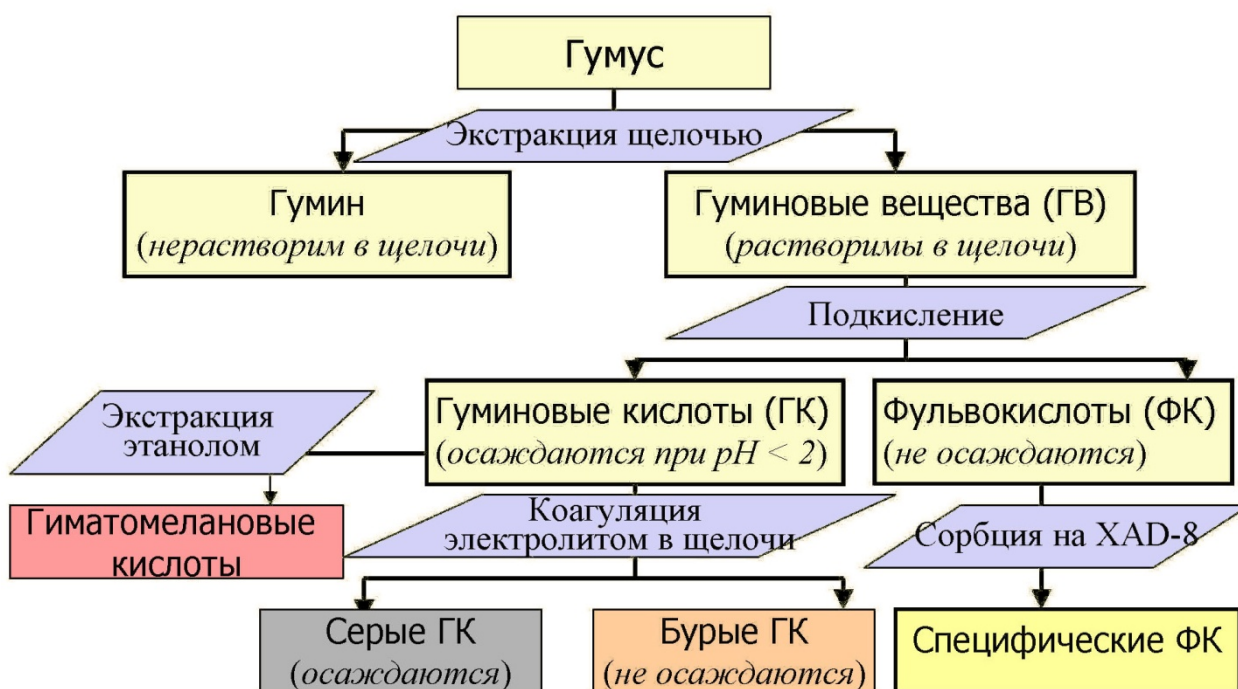


Рисунок 2. Схема разделения гумуса по F. J. Stevenson (1994).

При этом, как 100 лет назад, так и на данный момент научное сообщество принципиально разделено на сторонников и противников такого метода исследования почвенного органического вещества.

Корни данного разделения восходят к спору о том, что же, на самом деле, представляют из себя гуминовые вещества, вплоть до отрицания их существования как отдельного класса органических соединений, а также о том каким образом они образуются в естественной среде.

Обсуждения молекулярной структуры будут продолжаться среди практиков всех процедур экстракции природного органического вещества, в то время как практическое применение гуминовых фракций будет происходить независимо. Многие исследователи используют щелочные

извлечения для получения репрезентативных фракций природного органического вещества для изучения химической структуры природного органического вещества, элементного цикла с участием природного органического вещества или его взаимодействия с питательными веществами, металлами или пестицидами. Успешное применение их результатов не зависит от существования теоретической гуминовой макромолекулярной структуры (Olk et al., 2019).

В рамках данной работы не рассматриваются проблемы существования гумусовых веществ, а также теории их образования в естественных условиях. Мы лишь пытались внести ясность в вопрос чистоты получаемых стандартными способами гуминовых вытяжек, а также указываем на возможность и целесообразность отдельного исследования неспецифических почвенных веществ для более точной характеристики как самой почвы, так и характера гумусообразования.

1.3. ПРОБЛЕМЫ ЩЕЛОЧНЫХ МЕТОДОВ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ГУМУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ

М. Клебер и Дж. Лехманн (Kleber и Lehmann, 2019) объясняют суть проблем щелочных методов извлечения гумусовых веществ (ГВ). Когда в 1970-х и 1980-х годах стало очевидно, что уровень CO_2 в атмосфере повышается, основное внимание в исследованиях органического вещества почвы сместилось с сельскохозяйственных проблем на более геохимически мотивированные вопросы круговорота углерода в почве. Исследователи нуждались в параметрах для изучения процессов разложения и оценивали многочисленные косвенные и прямые показатели, включая химические вытяжки, разделения по размеру частиц и фракциям плотности. Дж. Одес и Дж. Лэдд (Oades и Ladd, 1977) предложили одно из первых всеобъемлющих исследований, в котором сравнивали полезность выделения физических фракций с полезностью химических вытяжек. Они увидели, что использование щелочных вытяжек для обоснования положений о круговороте органического углерода очень ограничено по ряду причин:

1. «Использование соотношения E4:E6 и значений k для (химических) экстрактов из частиц разных размеров не позволило получить данные, из которых можно было бы сделать обобщения. Интерпретацию спектрофотометрической работы с точки зрения конденсации следует рассматривать с осторожностью. Конденсацию также путали с гумификацией» (с. 137).

2. «Совершенно очевидно, что классическая схема химического фракционирования извлекает также и микробные ткани и что их присутствие в почве видоизменяет ее фракционирование» (с. 143).

3. «Грибной материал менее растворим, чем бактериальные компоненты, и концентрируется во фракциях гумина... [А] ряд почв, в том числе кислых почв и почв засушливых районов, имеют высокое содержание гумина, отчасти из-за стойких, нерастворимых грибковых материалов» (с. 143).

4. «Ни растительные, ни микробные ткани не могут рассматриваться как гумифицированные (в смысле вторичного синтеза) только лишь на том основании, что они присутствуют в гуминовых фракциях и в гумине» (с. 145).

5. «Еще одним недостатком использования экстрагентов, таких как щелочь, является то, что извлеченный материал будет получен из нескольких источников, например, частично разложившихся фрагментов растений, микробной биомассы и глинистых органических комплексов. Таким образом, нет никакого способа определить, не был ли, например, связанный водородной связью белок, выделенный из фракции гуминовой кислоты, получен из материала, который не был гумифицирован в почве» (с. 151).

Аргументы, выдвинутые Дж. Одес и Дж. Лэдд (Oades и Ladd, 1977), остаются в силе и сегодня, и вместе с растущим признанием важности охраны круговорота органического вещества в почве побудили научное сообщество все чаще исследовать физические фракции почвы для изучения этого процесса (Six et al., 2004).

Сильно щелочные растворы могут также гидролизовать сложные эфиры в природном органическом веществе, увеличивая концентрацию групп карбоновой кислоты. Дж. Ричи и И. Педу (Ritchie и Perdue, 2008) изучали гистерезис титрования с четырьмя стандартными фульвокислотами (ФК) и двумя стандартными гуминовыми кислотами (ГК), полученными от Международного общества гуминовых веществ. Гистерезис проявляется, когда кривые титрования (графики зависимости плотности заряда органических соединений от pH) для прямого и обратного титрования не накладываются друг на друга. Эти кислотные образцы титровали от приблизительно pH 3 до 10,5 с помощью NaOH в атмосфере N₂, и после ожидания либо 30 минут, либо 24 часов их подвергали обратному титрованию с помощью HCl. Во всех случаях плотность заряда органических соединений при pH 8 использовалась для оценки содержания карбоксила. Концентрации карбоксильных групп в образцах увеличились на 13-18 % в

течение 24-часового периода между двумя обратными титрами. Эти наблюдения в целом согласуются с данными других исследований гистерезиса (Bowles et al., 1989; Antweiler, 1991; Leenheer et al., 1995; Sierra et al., 2004).

Р. Уоршоу (Wershaw, 2000) резюмирует: любая попытка исключить группу компонентов природного органического вещества из определения гуминовых веществ или гумуса требует наличия методов, позволяющих отделить не гуминовые компоненты из получаемых стандартно гуминовых вытяжек. Если невозможно достоверно отделить гуминовые вещества от не гуминовых, то какой бы аналитический метод ни использовался, он не будет однозначно характеризовать представляющие интерес гуминовые вещества. Если принять определения Ф. Стивенсона (Stevenson, 1994) для гуминовых веществ и гумуса, то первым шагом в любом исследовании гуминовых веществ будет являться отделение этих веществ, образованных вторичным синтезом [в почве], от всех других компонентов ПОВ. Если человек не может выполнить эту задачу, то, неизбежно, он никак не может утверждать, что проанализировал или охарактеризовал гуминовые вещества.

Р. Саттон и Дж. Спозито (Sutton и Sposito, 2005) рассмотрели доказательства идеи, что почвенные ГВ представляют собой «коллекции разнообразных компонентов с относительно низкой молекулярной массой, образующих динамические ассоциации, стабилизированные гидрофобными взаимодействиями и водородными связями». Например, А. Пикколо (Piccolo, 2001) обнаружил, что добавление уксусной кислоты (CH_3COOH) может разрушать водородные связи в ГК, выделенной из бурых углей, и приводить к хроматограммам HPSEC, которые показывают более высокое содержание меньших молекулярных масс, чем без добавления уксусной кислоты. Однако данные также указывают на значительную долю компонентов с молекулярной массой более 100 кДа даже после обработки уксусной кислотой. Р. Саттон и Дж. Спозито (Sutton и Sposito, 2005) приписали эту большую долю идентифицируемым биомолекулам. Мы согласны с тем, что

растительные и микробные биомолекулы являются важными компонентами ГВ, дополняя их химическое разнообразие (Olk et al., 2019).

Дж. Лехманн и др. (Lehmann et al., 2008) использовали спектроскопию рентгеновского поглощения для изучения распределения четырех различных классов органического углерода в почве в природных почвенных агрегатах, и они обнаружили пространственную сегрегацию на наноуровне. Они легко смогли идентифицировать черные углеродные наночастицы как области, с большой плотностью углерода в ароматических соединениях, и с низкой плотностью углерода в трех других классах соединений: алифатических, карбоновых и фенольных/пиримидиновых или имидазольных. Они также увидели широкое распределение кластеров, содержащих различные соотношения этих четырех классов углеродных соединений, включая некоторые области, где ароматические соединения присутствуют мало, либо отсутствуют вообще. Эта изменчивость свидетельствует о том, что ПОВ состоит преимущественно из крупных полимеров несколько сходного состава (Schmidt et al., 2011), также это совместимо с аргументом, что ГВ (и ПОВ) состоят из множества биомолекул и продуктов абиотических реакций.

Д. Олк и др. (Olk et al., 2019) также считают, что недостатком всех видов фракционирования является попадание одних и тех же материалов в разные фракции, что нежелательно.

Лучше всего, на наш взгляд, описал данную проблему Д. С. Орлов (1996).

По мнению Д. С. Орлова (1996), согласно номенклатурной схеме, органическое вещество почвы представлено собственно гумусом, не утратившими анатомического строения, остатками растений и животных, а также в его состав приходится включать и часть живых организмов, поскольку в ходе анализа отделить некоторых микроскопических животных не представляется возможным и их органические составляющие войдут в показатель общего содержания органического вещества. Частично эти

организмы могут войти и в состав гумуса, поскольку в ходе обработок составляющие плазму и клеточные стенки компоненты могут составить некоторую часть неспецифических соединений. Таким образом, уже на этом этапе разделения и фракционирования органических соединений возникают элементы неопределенности.

Как считал Д. С. Орлов (1996), если в почве присутствуют органические остатки, не утратившие анатомического строения, а такие остатки есть всегда, по крайней мере, в верхних горизонтах почв, то из них, как и из микроорганизмов, будут извлечены различные биоорганические соединения, которые попадут в группу неспецифических соединений. Полностью же отобрать мелкие остатки невозможно. И в этом случае четкое аналитическое разделение оказывается невозможным, хотя количественно влияние таких остатков может быть не слишком значительным.

Д. С. Орлов (1996) полагал, что нет пока методов, обеспечивающих разделение и выделение из почвы отдельно промежуточных продуктов распада и прогуминовых веществ. Они неизбежно войдут либо в группу неспецифических соединений, либо в группу гумусовых кислот. Сами гуминовые вещества представлены фракциями, различающимися по характеру и прочности связи с минеральными компонентами почвы. Выделение фракций требует применения обработок различными реактивами, причем из разных навесок почвы, что приводит к перекрыванию найденных количеств и также вносит в результаты анализов дополнительные погрешности.

А. И. Попов и др. (2018) также считают, что при разделении гумусовых веществ на фракции, вероятно, происходят сопутствующие реакции, например, гидролиз гумусовых веществ, включение части низкомолекулярных соединений — продуктов деструкции — в высокомолекулярные соединения.

Было несколько призывов к комплексному использованию химических и физических методов фракционирования, чтобы лучше приблизиться к реальности того, что ПОВ представляет собой сложную смесь многих компонентов и может быть связана в любой почве с помощью нескольких стабилизирующих агентов (Trumbore и Zheng, 1996; Olk и Gregorich, 2006; von Lützow et al., 2007). Для поощрения конструктивного взаимодействия между практиками этих несовершенных подходов был организован симпозиум 2004 года, резюме которого представили Д. Олк и И. Грегориш (Olk и Gregorich, 2006). К сожалению, дискуссия среди практиков слишком часто сводится к нападкам, основанным на выборочных обзорах литературы. Мы вновь призываем исследователей органического вещества почв и водной среды признать все честные источники данных и признать сильные и слабые стороны каждой из процедур фракционирования при интерпретации результатов. Каждая процедура фракционирования в современном использовании для изучения природного органического вещества, включая щелочную экстракцию для гуминовых фракций, имеет ограничения. Тем не менее каждая процедура может дать и дала полезные результаты — в пределах своих возможностей — которые были бы невозможны при изучении природного органического вещества лишь как целого (Olk et al., 2019).

По нашему мнению (Попов и др., 2018), единственным решением изучения качественного состава ПОВ, является разработка относительно простого и адекватного анализа, позволяющего отделить гумусовые вещества от неспецифических веществ, а также от неразложившихся и полуразложившихся растительных и грибных остатков.

1.4. СОСТАВ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПОЧВЕННОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА

Часть органических соединений, входящих в состав растительных остатков и принимающих активное участие в образовании гумуса, в настоящее время достаточно хорошо изучена (Туев, 1989), другая часть, как например гломалин, изучена недостаточно.

Приведем описание всех групп органических соединений на данный момент обнаруживаемых в составе почвенного органического вещества (рис. 3).

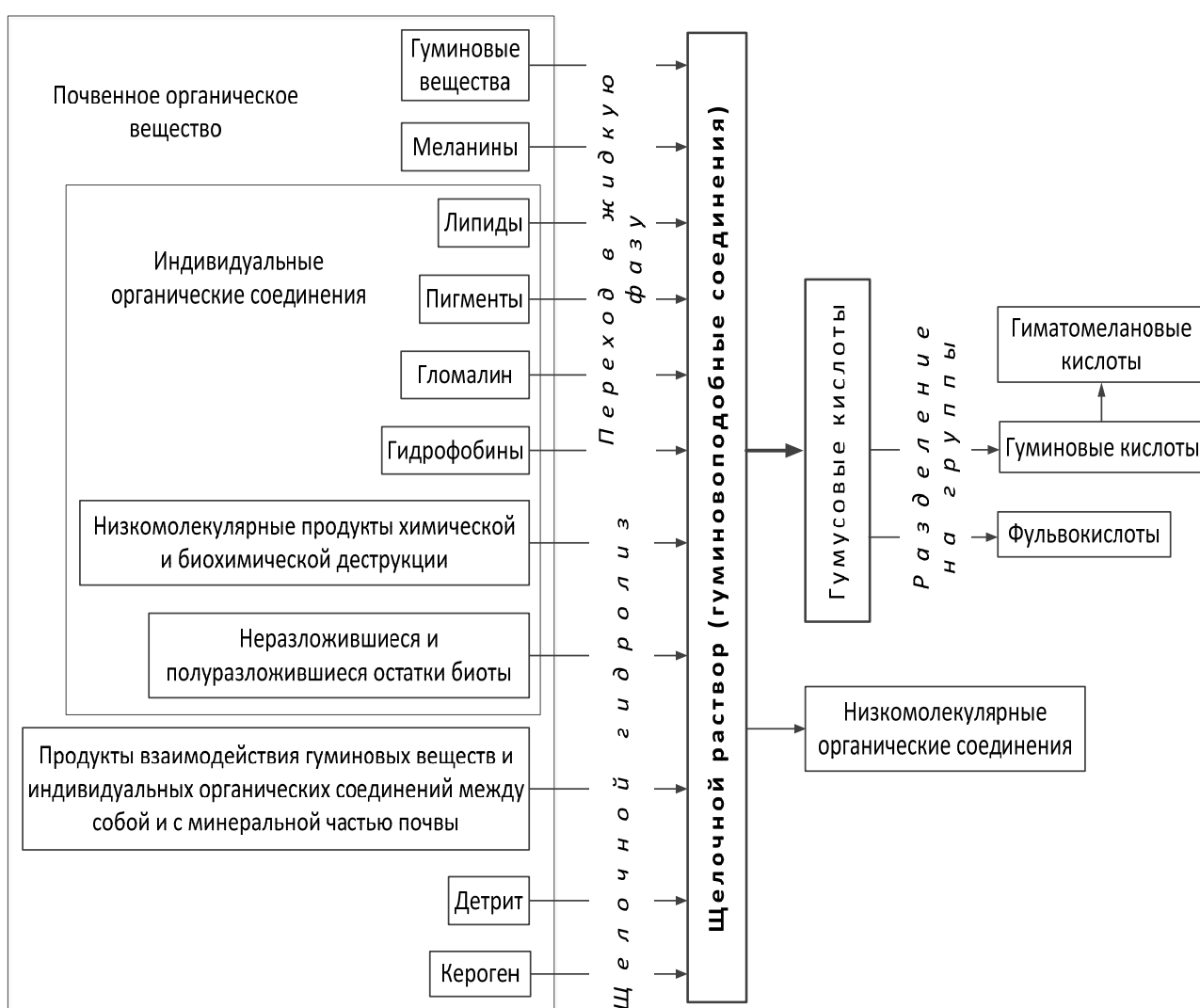


Рисунок 3. Схема извлечения щелочным раствором компонентов почвенного органического вещества и их дальнейшее подразделение.

Гуминовые вещества — аморфные темно-коричневые или темно-бурые высокомолекулярные природные амфифильные амфотерные органические азотсодержащие редокс-гетерополимеры, характеризующиеся отсутствием строгого постоянства химического состава. Эти специфические соединения придают генетическим горизонтам почв, наряду с минеральными соединениями, специфическую темную окраску и обуславливают ряд свойств (пластичность, сопротивление пенетрации, вязкость, оструктуренность, ионный обмен, биологическую активность, а также тепло-водо-воздушный, пищевой, кислотный и солевой режимы). В силу исторически сложившихся традиций в основу классификации гумусовых веществ положено их различие, связанное с извлечением этих специфических соединений из природных объектов теми или иными растворителями, большей частью щелочными растворами (Попов, 2004).

Меланины — аморфные высокомолекулярные полимерные темно-окрашенные пигменты, которые образуются в процессе жизнедеятельности прокариотов, включая актиномицетов, и грибов встречающихся в почвах (Звягинцев, 1986; Лях, 1972; Мишустин, 1956; Саиз-Гименез, 1979). Меланины, являясь сложными гетерополимерами, различаются как набором мономерных единиц, так и видами связей (Лях, 1972). Разнообразие исходных мономеров и высокая активность промежуточных продуктов делают химический состав меланинов разнообразным, а структуру полимера нерегулярной (Бриттон, 1986). Являются возможными предшественниками гумусовых веществ.

Липиды — большая и разнообразная группа природных соединений, объединенных общим свойством — практической их нерастворимостью в воде и хорошей растворимостью в органических растворителях. Эти соединения в зависимости от способности к гидролизу делят на омыляемые и неомыляемые. Омыляемые липиды подразделяют на простые и сложные. Простые липиды при гидролизе образуют два компонента: спирты и карбоновые кислоты, а сложные липиды — три и более компонентов.

К простым липидам относят воски и жиры, а к сложным липидам — фосфолипиды, гликолипиды и сфинголипиды. Неомыляемые липиды включают стероиды, жирорастворимые витамины и простагландины (Слесарев, 2001).

Воски — органические соединения, образованные высшими карбоновыми кислотами и высокомолекулярными одноатомными спиртами различного строения. В состав восков входят около 300 различных веществ, среди которых преобладают сложные эфиры, углеводороды, свободные жирные кислоты, ароматические вещества, вода, красящие, минеральные и другие вещества (Березов, 1998). Главной составной частью восков являются сложные эфиры (до 75 %), образованные пальмитиновой, неоцеротиновой и мелиссиновой кислотами, цериловым и мелиссиновым спиртами. Кроме того, в восках содержатся церотиновая, монтаниновая и олеиновая кислоты и неоцериловый и монтаниновый спирты. Церотиновая и мелиссиновая кислоты — наиболее активная часть восков; эти кислоты могут вступать в реакцию с большинством катионов металлов, в том числе щелочных.

Жиры — простые липиды, по химическому строению представляют собой сложные эфиры жирных кислот и глицерина. Все жирные кислоты в своем составе содержат карбоксильную группу (или как ее еще называют, головку жирной кислоты) и радикал (или хвост, который является гидрофобным). Различия между жирными кислотами связаны с различным строением их радикала. Выделяют насыщенные жирные кислоты — жирные кислоты, радикал которых не содержит двойных связей, и ненасыщенные жирные кислоты, которые характеризуются наличием двойных связей в радикале (Березов, 1998).

В состав почвенных липидов кроме свободных жирных кислот, их триглицеридов, восков могут входить в небольших количествах и другие вещества, поступающие в почву из живых организмов. Также к почвенным липидам относятся смоляные кислоты, пигменты и проч. (Паников, 1984).

Анализ фракционного состава липидов методом тонкослойной хроматографии позволил выявить, что в агросерых почвах Брянского ополья абсолютно преобладали углеводороды (в частности, сквален и алкоксиглицериды). В незначительных количествах были выявлены триглицериды, стеринны и их эфиры. В первую очередь в результате биохимического разложения в составе липидной фракции снижалось содержание полярных, более реакционно способных соединений (стеринов, триглицеридов и эфиров стеринов). Изменения в составе почвенных липидов и липидов органических остатков могут служить меткой интенсивности трансформации органического вещества. Среди жирных кислот по данным газо-жидкостной хроматографии преобладали соединения с четным числом атомов углерода в цепи. При этом происходит отбор наиболее кинетически устойчивых кислот, имеющих наименьшую длину цепи, — миристиновой с четырнадцатью и пальмитиновой с шестнадцатью атомами углерода (Ковалева, 2005). С помощью препаративной колоночной хроматографии на силикагеле было показано, что в составе липидов в гумусовых горизонтах лесных почв входили мало полярные (41-42 %) и высоко полярные (2-7 %) липиды, гликолипиды (до 60 % в горизонте Aeh) и фосфолипиды (9-15 %) (Ziegler, 1989). Как было выявлено в полевом эксперименте (Zancada, 2004), за 87 недель наблюдения содержание липидов постепенно снижалось, при этом структурные изменения в макромолекулярных частях почвенных липидов были небольшими, а часть липидов, которые были прочно связаны с твердой фазой почвы, практически не менялись.

Итак, липиды относятся к неспецифическим соединениям ПОВ и представлены в основном восками и смолами. Это наиболее устойчивые соединения в почвах, слабо подверженные биодegradации. Высокая кинетическая устойчивость липидов обуславливает относительную стабильность их содержания в естественных почвах, что имеет важное индикационное значение для диагностики процессов почвообразования.

Пигменты — группа окрашенных почвенных биогенных веществ, переходящих в спирто-бензольную вытяжку, которые включают в себя оксиантрахиноны и родственные им вещества, тетрапирольные соединения, каротиноиды и некоторые другие (Вольнова, 1972; Паников, 1984; Ноут, 1971). В растениях к наиболее распространенным относятся хлорофилл и каротиноиды — каротин и ксантофил. Хлорофиллы, химический состав которых хорошо изучен, являются порфириновыми соединениями, содержащими магний, а каротиноиды представляют собой производные углеводорода ликопина, соединения с эмпирической формулой $C_{40}H_{50}$. Микроорганизмы могут многие пигменты выделять в окружающую среду при жизни, однако большая часть их попадает в почву после отмирания клеток (Туев, 1989). В почвах существует некоторый резерв порфириновых и корриновых соединений, которые могут обратимо закрепляться и сохраняться без разрушения. При этом хлорофиллы, входящие в состав ПОВ, могут выступать в качестве индикатора переувлажнения почвы (Козырев, 1991).

Гломалин — гликопротеин, сложное органическое гидрофобное соединение, которое характеризуется иммунореакционными свойствами и способностью связывать железо. Имеет много общих черт с другими биомолекулами, такими как гидрофобины и гумусовые вещества (Nichols, 2003; Wright, 1998). Открыла и назвала почвенные гликопротеины, являющиеся продуктом жизнедеятельности арбускулярных микоризных грибов (АМГ) порядка Glomales (Glomerales), «гломалином» американская почвовед С. Райт (Wright, 1996), а необходимость выделения из почв этих соединений была обоснована микробиологом К. Николсом (Nichols, 2003).

С позиции биохимии, гликопротеины, или более корректно, гликоконъюгаты — белки, содержащие углеводный компонент (гликан), который ковалентно связан с полипептидной основой. Углеводы, как правило, присоединены к белку либо N-гликозидной связью к амидному азоту аспарагина, либо O-гликозидной связью к гидроксигруппе остатка

серина, треонина, гидроксизина. Доля углеводов в них варьирует от 15 до 20 % по массе, не содержат уроновых кислот, углеводные цепи содержат не более 15 звеньев, при этом углеводы имеют нерегулярное строение.

Гломалин в составе ПОВ присутствует в большом количестве (как правило, 2-15 мг/г и даже больше — 60 мг/г) в разнообразных почвах (как в кислых и известковых, так и в почвах сенокосных и пахотных угодий) (Wright, 1998). Высокое содержание гломалина в основном обусловлено избытком гифов АМГ в почве, длина которых может составлять 100 м/см^3 (Miller, 1995) и медленной скоростью деструкции этого гликопротеина — от 7–42 до 100 лет (Rillig, 2004; Steinberg, 2003). Содержание гломалина в почве может составлять 1-5 % от общего количества углерода органических соединений в почве. В состав гломалина входит 30-40 % углерода, 1-2 % азота и до 5 % железа, что может придавать почве красноватый цвет.

Идентификация гломалина, синтезируемого АМГ, привело к переоценке вклада грибов в ПОВ и агрегатную стабильность (Nichols, 2003; Wright, 1996). Как было показано исследованиями С. Бедини с соавторами (Bedini, 2009), микоризация растений способствует: увеличению концентрации гломалина в почве и доли водопрочных агрегатов диаметром 1-2 мм. Гломалин окружает микроагрегаты и склеивает их вместе, формируя макроагрегаты и улучшая структуру почвы.

Обычно в пахотных почвах преобладают прокариоты, которые не синтезируют гломалин. Механическая обработка почвы разрушает макроагрегаты, что приводит к уплотнению почв. В уплотненных почвах могут создаваться анаэробные условия, в которых грибы плохо развиваются. С другой стороны обработка почвы повышает количество кислорода в ней, стимулируя рост бактериального сообщества, последние в качестве трофического субстрата используют полисахариды и гломалин. Кроме того, широкий спектр современных фунгицидов является токсичным для микоризного населения грибов. Механическая обработка почвы, избыток минеральных удобрений и пестицидов, короткие севообороты и длинные

паровые периоды способствуют снижению популяции грибов, в частности АМГ, и уменьшению содержания гломалина в почве.

В почвах, обогащенных органическим веществом, значительно возрастает активность почвенных грибов и микроорганизмов (Чекмарев, 2011). Биологическую активность большинства грибов во многом определяют биополимеры углеводной природы, содержание которых может достигать до 50 % от сухой мортмассы (Ветчинкина и др., 2008).

Следует заметить, что выделение гломалина обычно протекает при высокой температуре (121 °С) буферным раствором (как правило, содержащим хелатор — чаще всего цитрат-ион). При таких условиях гломалин, весьма вероятно, изменяется химически. Извлечение гломалина уменьшает его иммунореактивность за счет конформационных изменений и присутствия других веществ, например железа и цитратат-иона, которые «связываются» с гломалином и не могут быть удалены химической обработкой. Гидролиз и реакции окисления также возможны при таких условиях извлечения (Nichols, 2003, 2005).

Как было установлено Ф. Шиндлером (Schindler, 2007), высокое содержание углерода ароматических (42-49 %) и карбоксильных (24-30 %) соединений в составе гломалина, а также низкое содержание алифатических соединений (4-11 %) и углерода углеводов (4-16 %), свидетельствует о том, что гломалин не имеет сходства с типичным гликопротеидом. При этом фактически ЯМР-спектры гломалина сильно напоминали таковые ГК. Иначе говоря, существующие в настоящее время методы извлечения гломалина, из-за их подобия методу, используемому при извлечении ГК, способствуют извлечению обоих материалов. К тому же между синтезом гликоконъюгатов и меланинов была выявлена общая закономерность: с увеличением в мицелии темного пигмента растет и количество эндогликопротеинов (Ветчинкина, 2008).

Понимание участия почвенных грибов и микроорганизмов в стабилизации почвы на молекулярном уровне приведет к разработке

способов увеличения устойчивости сельскохозяйственных систем (Wright, 1998). Уникальные свойства и полифункциональность гликополимеров наводит на мысль, что их можно использовать для диагностических целей (Попов и Сун Гэ, 2018).

Тем не менее, в настоящее время существует ряд вопросов, связанных с изучением гломалина. Во-первых, современными методами пока нельзя получить «чистый» гломалин. Во-вторых, точный химический состав и наличие функциональных групп еще не выяснены. Все эти проблемы ограничивают дальнейшие исследования и использование гломалина для диагностических целей.

Гидрофобины — небольшие (с массой 7-9 кДа) амфифильные белки, встречающиеся исключительно в мицелиальных грибах и состоящие из примерно 100 ± 25 аминокислотных остатков. Структура гидрофобинов представлена двумя структурными доменами, каждый из которых содержит четыре остатка цистеина, вовлеченных в образование внутримолекулярных дисульфидных мостиков. Степень гомологии аминокислотных остатков между гидрофобинами невелика. Гидрофобины оказались совершенно новым классом белков, обладающих своеобразными физико-химическими свойствами. Для их выделения потребовалось применение методов, нетипичных для выделения белков. Обилие гидрофобных аминокислотных остатков и связь их с клеточной стенкой гиф и привело к названию «гидрофобины» (Белозерская, 2001; Колесников, 2014; Wessels, 1997).

Гидрофобины содержат как гидрофильные, так и гидрофобные аминокислотные остатки, т. е. являются амфифилами. Поэтому гидрофобины способны самособираться в амфипатическую мембрану на границе раздела гидрофобной и гидрофильной фаз (Wösten, 2000). Характерной чертой гидрофобинов является наличие восьми остатков цистеина, образующих дисульфидные мостики (Wessels, 1994, 1997; de Vries, 1993). В зависимости от кластеризации гидрофобных и гидрофильных участков гидрофобины делятся на два класса (Колесников, 2014). Мембрана, образуемая

гидрофобинами I класса, обладает очень низкой растворимостью и может быть диссоциирована только высококонцентрированными кислотами (такими как муравьиная кислота или чистая трифторуксусная кислота). Комплексы, образованные гидрофобинами II класса, менее стабильны, и поэтому могут быть легко растворены в 60 % этаноле или 2 % растворе додецилсульфата натрия (Колесников, 2014; Wösten, 1993).

В ПОВ также присутствуют неспецифические органические соединения вторичного происхождения.

Высокомолекулярные специфические и неспецифические компоненты ПОВ постепенно преобразуются под действием химических реакций в низкомолекулярные (Flaig, 1971). Низкомолекулярные продукты биохимической окислительной и гидролитической деструкции — быстро обновляемый (лабильный) органический материал. В почве могут быть обнаружены неспецифические органические соединения вторичного происхождения, в частности: фенольные соединения, аминокислоты, алифатические кислоты, а также олиго- и моносахариды (включая аминсахара и уроновые кислоты) (Александрова, 1980; Кононова, 1963; Орлов, 1996; Паников, 1984; Flaig, 1971).

В продукты деструкции специфических и неспецифических веществ первичного и вторичного происхождения, в неразложившиеся и полуразложившиеся остатки биоты и в детрит (измельченные растительные остатки) входят: разнообразные углеводы, лигнин, пептиды, белки и проч.

Углеводы — основной класс природных веществ, встречающихся повсеместно в растительных, животных и бактериальных организмах. Углеводы делятся на три основных класса: моносахариды, олигосахариды и полисахариды. Моносахариды содержат от четырех до семи или восьми атомов углерода и только одну альдегидную или кетонную группу (Туев, 1989).

В настоящее время известно несколько сотен различных по структуре и стереохимии моносахаридов, различающихся по характеру карбонильной

группы, входящей в их состав (альдозы и кетозы), и по числу углеродных атомов в молекуле: триозы, тетрозы, пентозы, гексозы. Конституционной частью молекулы моносахарида может быть карбоксильная группа (уроновые кислоты) или аминогруппа (аминосахара) (Туев, 1989).

Олигосахариды представляют собой олигомеры моносахаридов, связанных между собой посредством гликозидных связей. В эту категорию входят соединения, содержащие от двух до восьми или десяти мономерных звеньев. Олигосахара в свободном состоянии распространены в основном в растительном мире, где они играют роль резервных углеводов (Туев, 1989).

Одним из наиболее важных для гумификационных процессов полисахаридов является целлюлоза. Она входит в состав клеточных оболочек всех одревесневших тканей и является основной составной частью растительных организмов. Содержание ее в растительных остатках достигает 50 % и более сухого вещества. Согласно современным представлениям молекула целлюлозы является линейным полимером (Туев, 1989).

Мономерные структурные единицы в молекуле целлюлозы сочленяются между собой β -гликозидными связями по 1 и 4 атомам углерода. Это основная связь, с помощью которой образуются все полисахариды и большая часть олигосахаридов. Гликозидная связь в химии углеводов имеет такое же значение, какое в белковой химии имеет пептидная, а в химии нуклеиновых кислот фосфодиэфирная связь. Гликозидные связи образуются также при соединении сахаров со стероидами, пигментами и другими веществами. В растительных клетках отдельные молекулы целлюлозы за счет водородных связей соединяются в пучки (мицеллы), образуя фибриллы — волокна. Молекулярная масса полученных препаратов целлюлозы колеблется в пределах от 50 000 до 106. Последовательные связи остатков β -глюкозы повернуты на 180° , в связи с чем макромолекулы целлюлозы имеют спиральную форму (Туев, 1989).

Хитин — полисахарид, по строению очень близкий к целлюлозе. Он входит в состав низших растений, грибов и беспозвоночных животных,

главным образом членистоногих, и в количественном отношении занимает, вероятно, второе после целлюлозы место среди органических веществ на Земле (Туев, 1989).

Хитин состоит из остатков 2-ацетиламино-2-дезоксид- β -D-глюкозы, связанной между собой β -гликозидными связями. Повторяющиеся единицы у хитина те же, что и у целлюлозы, но гидроксильная группа при С-2 замещена ацетилидной группой. Полисахариды, которые, подобно хитину, содержат аминсахариды или их производные, объединяются под общим названием мукополисахаридов. Определять молекулярную массу хитина трудно, так как в природных объектах он всегда находится в прочно связанном состоянии с веществами неполисахаридной природы, главным образом с белками и неорганическими солями. Для освобождения хитина от этих веществ необходимы жесткие условия, при которых он может существенно деградировать (Туев, 1989).

Гемицеллюлозы также широко распространены в природе, в растениях они входят в состав клеточных стенок. По характеру структурных элементов, входящих в состав молекул, гемицеллюлозы разделяются на ксиланы, глюкоманнаны и галактаны (Туев, 1989).

Лигнин в количественном отношении — один из главных компонентов растительных тканей, уступающий, вероятно, только целлюлозе и стоящий наравне с гемицеллюлозами. В растительных организмах лигнин локализуется между микрофибриллами клеток и противодействует сжатию, вследствие чего его называют инкрустирующим веществом. В одревесневших тканях растений содержится 18-30 % лигнина. Этот растительный продукт, образующийся в природе в значительных количествах, медленно подвергается биологическому окислению. Поэтому он является главным источником медленно распадающегося органического вещества почв, и в первую очередь источником ароматических соединений для гумусовых веществ. Препараты лигнина, выделенные из различных растений, представляют аморфный порошок желтого или коричневого цвета.

В химическом отношении лигнин неоднороден. Это весьма сложное соединение, состоящее из большого числа различных мономерных блоков, которые все без исключения производные фенилпропана и в первую очередь представлены конифериловым спиртом. Сложность строения лигнина обуславливается разнообразием соединений, при помощи которых мономерные блоки связываются друг с другом. Такое нерегулярное строение согласуется с представлением, согласно которому ферментативный процесс синтеза лигнина ограничивается образованием радикалов кониферилового спирта. Предполагается, что эти радикалы связываются затем спонтанно, причем характер возникающих связей определяется мезомерным состоянием радикалов (Туев, 1989).

2. ОБЪЕКТЫ, МЕТОДЫ И ХОД ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования были выбраны гумусовые горизонты почв лесостепи Белгородской области:

- 1), 2) — темно-гумусовые горизонты (AU1 и AU2) чернозема миграционно-мицелярного;
- 3), 4) — пахотные горизонты (PU1 и PU2) агрочернозема миграционно-мицелярного;
- 5), 6) — серо-гумусовый (AY) и элювиально-гумусовый (AEL) горизонты серой типичной почвы;
- 7), 8) — пахотные серо-гумусовые (PY1 и PY2) горизонты агросерой почвы.

Для выявления антропогенного влияния (распашки) вместе с целинными почвами были выбраны их пахотные аналоги.

Описание климатической зоны

Зона лесостепи является переходной между зоной лесов и зоной степей и представляет собой область, где более или менее крупные участки леса чередуются с безлесными степными пространствами. Территория заповедника «Белогорье» расположена на высоком правом берегу р. Ворсклы в непосредственной близости от пос. Борисовка — районного центра Белгородской области (Аксенов и др., 1980).

Для данного района характерен умеренно-континентальный климат с жарким сухим летом и довольно холодной зимой. Среднегодовая температура воздуха $+6^{\circ}\text{C}$, средняя температура января $-8,1^{\circ}$, июля — $+19,9^{\circ}$. Иногда зимой температура воздуха падает до -37° , а летом бывают дни с температурой $+40^{\circ}$; температура почвы на поверхности пашни $+50^{\circ}$, $+60^{\circ}$. Температура почвы ниже 0° бывает в среднем 3–4 месяца в году (декабрь–март). Сумма положительных температур выше 10° составляет

2600°. Снежный покров также лежит 3–4 месяца, мощность его в среднем 20–25 см, но распределяется он очень неравномерно, так как сдувается с высоких открытых мест в балки и овраги. В лесу глубина снега может достигать 50–60 см. Поэтому промерзание почвы неравномерно: на открытых местах почва промерзает до 60 см, в лесу почва часто совсем не промерзает или промерзает на незначительную глубину.

Среднемноголетняя сумма атмосферных осадков 530 мм в год, около половины осадков выпадает летом. Количество атмосферных осадков очень неустойчиво по годам. Бывают влажные годы, когда осадков выпадает значительно больше нормы (Аксенов и др., 1980).

Большая часть атмосферных осадков летом выпадает в виде ливней, когда за один раз может выпасть месячная или даже двухмесячная норма осадков. При этом большая часть воды не впитывается в почву, а стекает в балки, овраги и попадает в гидрографическую сеть. Грунтовые воды залегают глубоко. Наблюдаются два уровня грунтовых вод: верхний, неустойчивый, уровень приурочен к третичным отложениям (на глубине 15–20 м от поверхности), нижний — более устойчивый, — к меловым (~50 м от поверхности). Основной влагозапас в почве создается за счет весеннего снеготаяния. Средняя глубина промачивания почвы 150 см. Испаряемость в среднем 700 мм в год, но фактическое испарение влаги с поверхности иногда еще увеличивается, что связано со спецификой передвижения воздушных масс. Ветры очень характерны для данного района. Они могут быть разного направления, нередки и южные суховеи, которые способствуют засухам. В данном районе засухи периодически повторяются и могут длиться до 1,5–2 месяцев, нанося большой вред сельскому хозяйству. В такие годы даже в лесу наступает летний листопад и резко сокращается продуктивность леса. Все это определяет непромывной характер водного режима почв (Аксенов и др., 1980).

Рассматриваемая территория расположена в юго-западной части Средне-Русской возвышенности, абсолютные отметки 200–250 м над уровнем

моря. Непосредственно в районе заповедника максимальная абсолютная отметка 217 м. Этот район никогда не был покрыт ледником, даже в период максимального Днепровского оледенения, когда ледник обошел СреднеРусскую возвышенность двумя языками по долинам Днепра и Дона. Поэтому здесь отсутствуют ледниковые формы рельефа и валунные отложения, но местами можно встретить большие массы древнеаллювиальных песчаных отложений, связанных с таянием ледника (Аксенов и др., 1980).

Мезорельеф сильно расчленен: в целом можно назвать его увалисто-долинно-балочным. Многочисленные притоки Днепра и Дона расчленили Средне-Русскую возвышенность на ряд увалов шириной 200-250 км. Речные долины шириной от 3-5 до нескольких десятков километров асимметричны. Долина р. Ворсклы в районе заповедника очень типична для долин степных и лесостепных рек. Правый берег, так называемый «нагорный», крутой, обрывистый, изрезан оврагами, возвышается над уровнем реки на 50-70 м. Левый берег пологий, на нем отчетливо выделяются три террасы: а) пойменная, имеющая два высотных уровня — низкую пойму, заливаемую ежегодно, и высокую пойму, заливаемую лишь наиболее высокими паводками. Пойма возвышается над меженным уровнем реки на 1-2 м, сложена аллювиально-слоистыми, как правило, суглинистыми наносами. На пойме развиваются пышные луга, дающие богатый урожай сена (до 80 ц/га); б) надпойменная или боровая терраса, сложенная древнеаллювиальными песчаными и супесчаными отложениями и нередко покрытая сосновыми лесами; в) степная, самая древняя терраса, сложенная лессовидными суглинками и лессами. На ней формируются зональные черноземные почвы (Аксенов и др., 1980).

Увалы и речные долины относятся к древним формам рельефа, они начали формироваться примерно 20 млн лет тому назад, когда с этой территории отступило к югу древнетретичное море.

К современным формам рельефа относятся многочисленные балки, овраги (по-местному «яры»), особенно густо испещряющие крутые коренные берега рек. Овраги образуются благодаря водной эрозии, широко распространенной в лесостепной и степной зонах. Водная эрозия бывает плоскостная и линейная (овражная). Она возможна на местности, имеющей уклон, и проявляется тем сильнее, чем он больше. Способствуют водной эрозии и климатические факторы (относительно мощный снежный покров к моменту его таяния, активное снеготаяние, глубокое промерзание почвы на безлесных участках, образование ледяной корки на поверхности почвы во время зимних оттепелей, ливневый характер летних осадков), а также рыхлость и легкая размываемость почвообразующих пород и, наконец, антропогенные факторы: вырубка леса, распашка территории, неумеренная пастьба скота и пр. Из-за водной эрозии и образующейся в результате этого густой овражной сети в лесостепи пропадает масса полезной территории (Аксенов и др., 1980).

Описание разрезов

Чернозем миграционно-мицелярный среднесуглинистый на карбонатных лессовидных суглинках

Белгородская область, заповедник «Белогорье», участок «Острасьевы яры». Юго-западный склон Среднерусской возвышенности, останец плакора, на поверхности кочки от выбросов слепышей.

Растительность: разнотравно-кострицовая-олуговелая степь. На поверхности почвы редкие сухие остатки трав, степного войлока на поверхности нет.

AU1 (0-20) Почти сухой, темно-серый, заметно уплотнен за счет корней, зернисто-комковатая структура, средний суглинок. Обильно пронизан корнями. Переход ясный по обилию корней, граница слабоволнистая.

AU2 (20-40 см) Почти сухой, темно-серый, светлее вышележащего горизонта, уплотненный, комковато-ореховатая структура, средний суглинок. В нижней части горизонта (с 45 см) вскипает от соляной кислоты. Наблюдается обратная кротовина (25-35 см) диаметром до 15 см. Переход заметный по цвету, граница слабоволнистая.

ВСАмс (40-85 см) Почти сухой, серый с большими палевыми и серо-палевыми пятнами, уплотненный, непрочно комковатый, средний суглинок. Тонкие корни, по граням структурных отдельностей и корням карбонатные новообразования в виде псевдомицелия, бурная реакция с соляной кислотой. Переход постепенный.

ВСса (85-160 см) Свежий, светло-серый с серо-палевыми пятнами (количество возрастает к низу горизонта), уплотненный, непрочно-мелкокомковатый, средний суглинок. По всей толще горизонта отдельные прожилки от карбонатов кальция. Вскипает от соляной кислоты. Переход постепенный.

Сса (160-195 см) Свежий, палевый с белесым оттенком, уплотненный, бесструктурный, средний суглинок.

Агрочернозем миграционно-мицелярный среднесуглинистый на карбонатных лессовидных суглинках

PU1 (0-20 см). Свежий, темно-серый, уплотненный, наблюдаются плотные комки почвы, комковато-глыбистая структура, тяжелый суглинок. Включения корней, червороины. Переход резкий, граница ровная.

PU2 (20-40 см). Свежий, темно-серый, очень плотный, комковато-глыбистая структура, тяжелый суглинок. Переход ясный, граница слабоволнистая.

Серая типичная легкосуглинистая маломощная на карбонатных лессовидных суглинках.

Белгородская область, заповедник «Белогорье», отделение «Дубрава». Южная часть Русской равнины, выровненная часть очень пологого склона юго-восточной экспозиции.

Растительность: широколиственный лес (дуб, ясень, ясень, клен, липа, вяз). Подстилка (0-1 см) Листовые пластинки дуба, клена разной степени разложённости.

АУ (0-18 см) Свежий, серый, рыхлый, структура средне-мелко пылеватая, легкий суглинок. Встречаются отбеленные зерна кварца, камеры дождевых червей, обильно пронизан корнями травянистых и древесных (диаметр до 0,5 см) растений. Переход ясный по обилию сiltан, граница слабоволнистая.

АЕL (18-37 см) Свежий, буровато-серый с белесыми присыпками, уплотненный, структура ореховато-комковатая, легкий суглинок. Встречаются тонкие кутаны и сiltаны, обильно пронизан корнями древесных (диаметр 1-5 см) растений. Переход постепенный.

ВЕL (37-50 см) Свежий, серый с буровато-коричневыми тонами (внутрипедная масса буровато-темно-палевая), уплотненный — плотнее предыдущего, структура средне-ореховатая, легкий суглинок. Есть кутаны и сiltаны, встречаются корни растений, грибной мицелий. Переход ясный по цвету, граница слабоволнистая.

ВТ1 (50-89 см) Свежий, буровато-темно-палевая внутрипедная масса — буровато-сероватые кутаны, плотный, структура многопорядковая — ореховато-призматическая, легко-средний суглинок. Встречаются корни древесных растений (диаметр 1-5 см). Переход заметный по плотности, граница слабоволнистая.

ВТ2 (89-120 см) Свежий, темно-палевый с темно-коричневыми кутанами, плотный, менее плотный, чем вышележащий горизонт, структура призматически-глыбистая, средний суглинок. Встречаются тонкие корни,

ходы корней, прямые палеокротовины на глубине 100-115 см. Переход ясный по плотности, граница слабоволнистая.

BC (120-140 см) Свежий, палевый, уплотненный, структура неясно призматически-плитчатая, легкий суглинок. По граням структурных отдельностей тонкие кутаны, появляются карбонатные прослойки. Переход резкий, граница ровная.

Cca (140-145 см) Свежий, светло-палевый, уплотненный, более плотный, чем вышележащий горизонт, пронизан карбонатными прослойками.

Агросерая типичная легкосуглинистая маломощная на карбонатных лессовидных суглинках.

PY1 (0-15 см) Свежий, серый, рыхлый, структура средне-мелко пылеватая, легкий суглинок. Наличие корней. Переход неясный.

PY2 (15-30 см) рыхлый, структура средне-мелко пылеватая, легкий суглинок. Наличие корней. Переход ясный по окраске, граница четкая.

Элювиальный процесс в почвах лесостепи выражен слабее, чем в таежно-лесной зоне, что связано с меньшим сезонным промыванием почвы и менее агрессивным характером почвенных растворов (Гагарина и др., 2008).

В серых почвах наблюдается накопление SiO_2 в горизонтах AEL, BEL и обеднение их оксидами железа и алюминия, наибольшее содержание которых наблюдается в иллювиальных горизонтах. Минимум илистой фракции и полуторных оксидов соответствует элювиальным горизонтам, максимум — горизонту BT. Распределение валовых количеств CaO и MgO обусловлено выщелачиванием карбонатов за пределы профиля, оподзоливанием и биогенной аккумуляцией в верхней части профиля. Серые почвы в верхнем горизонте содержат 3-8 % гумуса. Содержание гумуса заметно падает вниз по профилю. Состав гумуса серых почв в целом гуматно-фульватный. В аккумулятивно-гумусовом горизонте $C_{ГК}:C_{ФК}$ близко

к единице. Во всех остальных горизонтах меньше. Емкость катионного обмена серых почв зависит от гранулометрического состава и содержания гумуса. Насыщенность основания колеблется от 65% до 95 % на лессовидных отложениях. Гидролитическая кислотность может достигать 1,5-5,0 мэкв./100 г почвы. Содержание подвижного азота, фосфора и калия невысокое. Но в естественных условиях растения не испытывают недостатка этих элементов из-за высокой активности биологического круговорота. В целом свойства серых почв весьма благоприятны для растительности, о чем говорит ее высокая продуктивность (Гагарина и др., 2008).

Средняя биомасса растительности в степи составляет 28 т/га, бóльшая часть приходится на корневую массу. Масса опада в 2-3 раза больше, чем в лесах, а зольность в 1,5–2 раза больше. В состав опада входит много белка и мало лигнина, поэтому в разложении опада большую роль играют микроорганизмы. Под степной растительностью формируются условия для мощного развития биогенной аккумуляции. В то же время отсутствуют условия для интенсивного промывания профиля и для появления кислых почвенных растворов. Поэтому профиль черноземов не дифференцирован ни по валовому, ни по гранулометрическому составу. Активно перераспределяются по профилю только свободные карбонаты. Средняя глубина вскипания в черноземах в «Астрасьевых ярах» — 35-45 см. Сильное влияние на формирование черноземов оказывают животные, обитающие в почвенной толще. Черноземы богаты гумусом, содержание которого плавно убывает с глубиной. В составе органического вещества преобладают гуминовые кислоты, отношение углерода гуминовых кислот к углероду фульвокислот, как правило, больше 1 (Гагарина и др., 2008).

2.2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Водородный потенциал (рН) водной и солевой вытяжки — потенциометрическим методом.
- Гидролитическая кислотность (Нг) — методом кислотно-основного титрования.
- Сумма обменных оснований (S) — по Каппену.
- Емкость катионного обмена (ЕКО) — расчетным способом.
- Гигроскопическая влажность (ГВ) — термостатно-весовым методом.
- Потери при прокаливании (ППП) — прокаливанием в муфеле при 900° С.
- Содержание углерода органических соединений в почве — по Тюрину.

Полученные характеристики объектов исследования представлены в таблице 1.

Реакция среды всех почв была близкой к нейтральной, кроме пахотных горизонтов агрочернозема. Они все обладали повышенной и высокой степенью насыщенности основаниями. Значения суммы обменных оснований почв выбранных объектов характеризовались как высокие и очень высокие. Наибольшие значения содержания углерода по И. В. Тюрину были выявлены в целинном черноземе миграционно-мицеллярном и в целинной серой типичной почве.

Таблица 1. Характеристики объектов исследования.

Генетический горизонт	Глубина взятия образца, см	рН		Гидролитическая кислотность (Нг)	Сумма обменных оснований (S)	ЕКО	Степень насыщенности основаниями (V, %)	Гигроскопическая влага (ГВ, %)	Потери при прокаливании (ПП, %)	С _{общ} , %
		Н ₂ О	КСІ							
		мэкв./100 г почвы								
Чернозем миграционно-мицелиарный										
AU1	0-20	6,6	6,1	1,2	44,1	45,3	97,4	1,89	9,29	3,79
AU2	20-40	6,8	6,3	1,4	43,5	44,9	96,9	1,70	8,28	3,47
Агрочернозем миграционно-мицелиарный										
PU1	0-20	6,4	5,9	1,3	42,6	43,9	97,0	1,72	8,16	2,90
PU2	20-40	6,1	5,7	1,3	42,2	43,5	97,0	1,71	8,06	2,87
Серая типичная почва										
AУ	0-18	6,7	5,3	5,3	21,2	26,5	80,0	1,68	13,37	3,64
AEL	18-37	6,3	4,9	4,8	21,5	26,3	81,8	0,94	6,33	1,24
Серая типичная агропочва										
PУ1	0-15	6,7	5,4	3,3	25,1	28,4	88,4	1,08	5,42	2,64
PУ2	15-30	6,6	5,2	2,8	25,2	28,0	90,0	0,99	5,11	2,54

Для извлечения компонентов почвенного органического вещества использовался метод последовательного их извлечения из одного почвенного образца.

Масса проб — 5 г.

Повторность — 3-кратная.

Отделение жидкой фазы — центрифугированием (8000 об./мин).

В качестве основного растворителя был использован 90 % водный раствор ацетона.

Определение количества того или иного компонента в растворе, в основном, производилось массовым методом с помощью влагоопределятеля AXIS.

2.3. ХОД ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ПОЧВЕННОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА

Хлорофиллоподобные соединения и каротиноиды

Определялись стандартным методом по ГОСТ 17.1.4.02-90 — растворение в 90% водном ацетоне.

Расчеты количества хлорофиллоподобных соединений основаны на известных удельных спектральных показателях поглощения света растворами данных соединений.

Соединения белковой природы, растворимые в ацетоне

К ним относятся: гликопротеины (гломалин) и гидрофобины.

Метод извлечения: растворение в 90 % водном растворе ацетоне с добавлением гидроксиламина (1 г/л).

Определение количества: массовым методом на влагоопределителе.

Для качественной реакции на белок была применена ксантопротеиновая проба (реакция Мульдера).

Меланиноподобные соединения

Меланины — черные или темно-коричневые пигменты животных, растений и микроорганизмов, в почве синтезируются прокариотами и грибами.

Метод извлечения: растворение в 90 % водном ацетоне с добавлением соляной кислоты (10:1).

Определение количества: массовым методом на влагоопределителе.

Индивидуальные органические соединения, нерастворимые в ацетоне (условно «остатки биоты») и способы их извлечения представлены в таблице 2.

Определение количества: массовым методом на влагоопределителе.

Таблица 2. Нерастворимые в ацетоне соединения (остатки биоты).

Вид соединения	Метод извлечения
<ul style="list-style-type: none"> • олигосахариды • полисахариды • пептиды 	растворение в дистиллированной воде
<ul style="list-style-type: none"> • остатки корней • микробная масса • хитин насекомых • остатки тел почвенной биоты 	флотация в дистиллированной воде

Липиды (жиры, воски, смолы)

Метод извлечения: спирто-бензольная смесь (1:1).

Определение количества: массовым методом на влагоопределителе.

Органическое вещество, оставшееся не выделенным

Потери при прокаливании — прокаливание при 900° С.

Определение количества: массовым методом на аналитических весах.

Очевидным плюсом метода последовательной обработки одного почвенного образца является исключение попадания одних и тех же материалов в разные фракции.

Минусом является накопление ошибки определения в результате неизбежных потерь образца почвы в ходе исследований. В данном исследовании суммарные потери не превышали 7 %.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пропорция содержания гигроскопической влаги, минеральной и органических частей объектов исследования представлена на рис. 5.

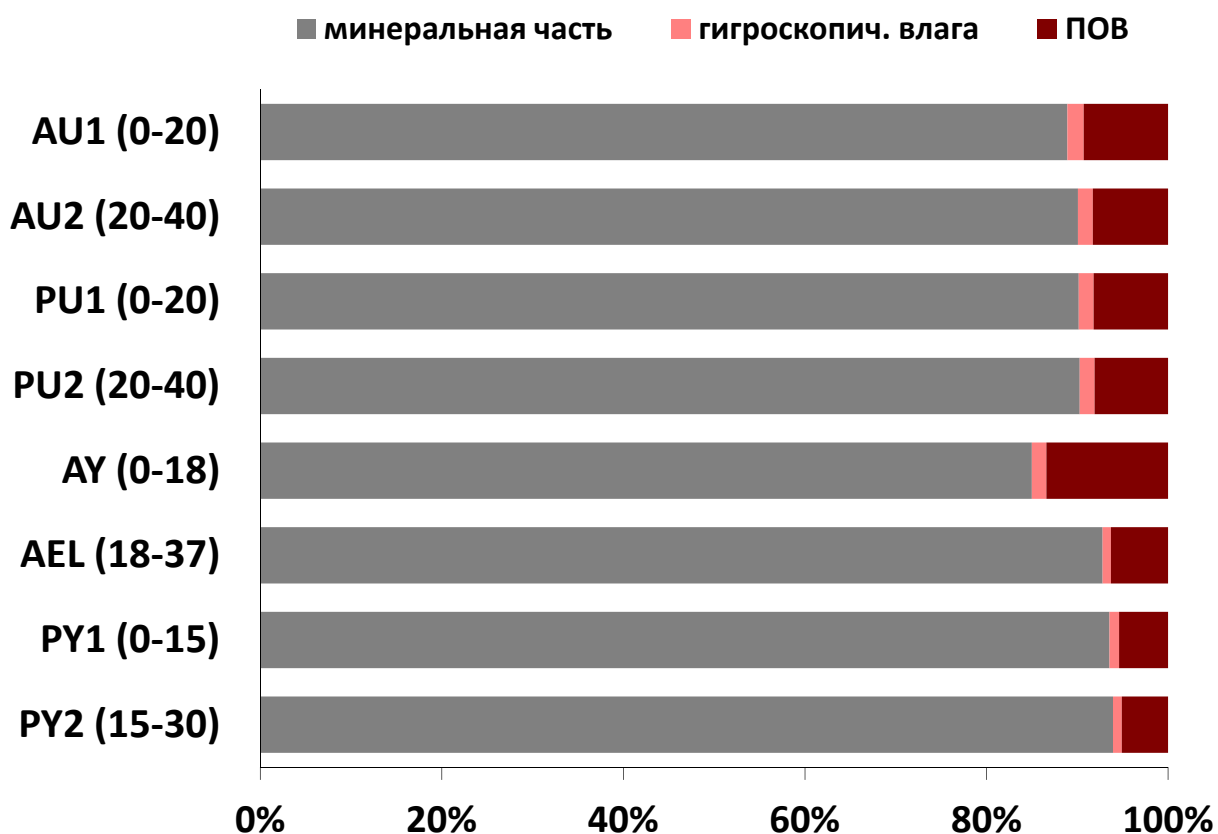


Рисунок 5. Пропорция содержания гигроскопической влаги, минеральной и органических частей объектов исследования.

Как следует из представленного (рис. 5), доля органического вещества в гумусовых горизонтах целинного чернозема и в пахотных горизонтах агрочернозема примерно одинакова и составляет около 8%. Максимальное содержание органического вещества было отмечено в АУ горизонте серой почвы (13,4%), что, по всей видимости, связано с особенностями почвообразования серой почвы. В гумусово-эллювиальном горизонте серой почвы и в двух пахотных горизонтах агросерой почвы содержание органического вещества было равновеликим и составляло 5-6%. Иными словами, распашка и черноземов и серой лесной почвы не привела к накоплению органического материала.

Компонентный состав почвенного органического вещества объектов исследования представлен на рис. 6-11, и приведен в таблицах 3 и 4.

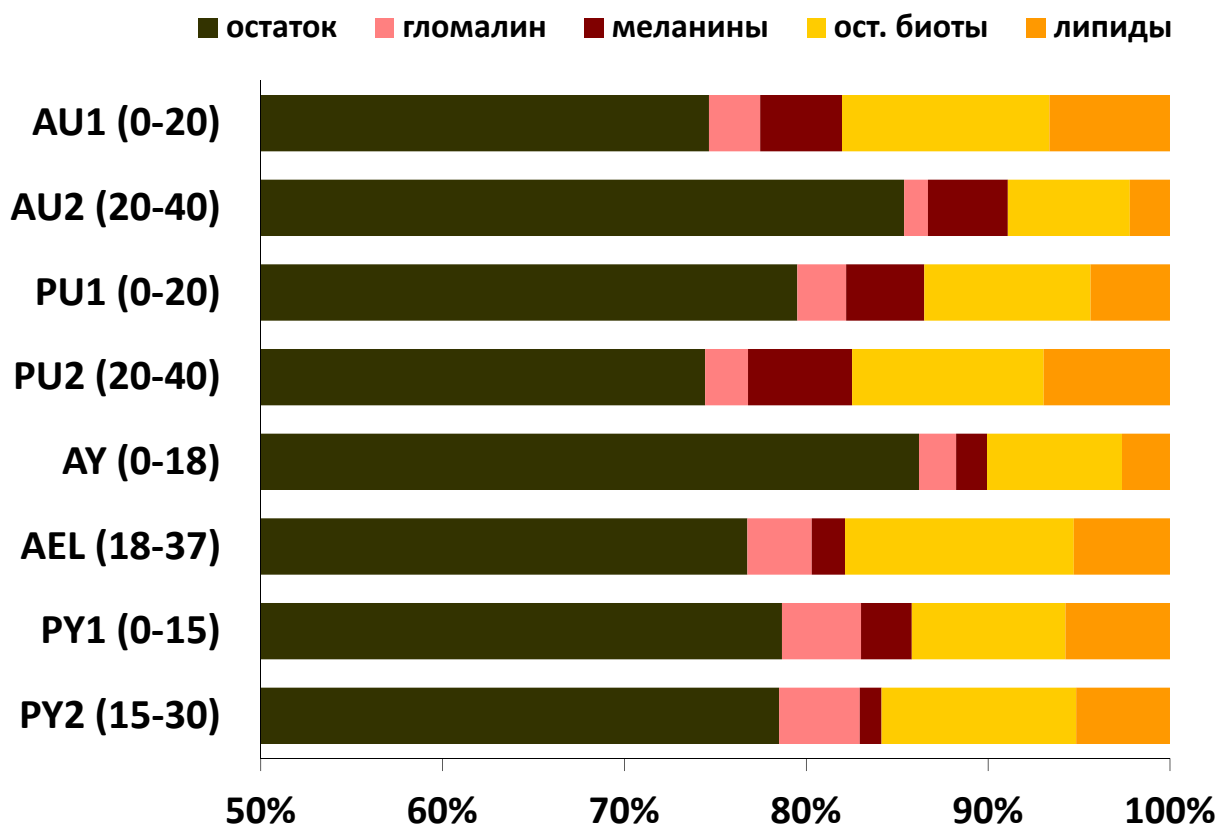


Рисунок 6. Компонентный состав ПОВ.

Анализ содержания фотосинтетических пигментов показал (табл. 3, рис. 7), что во всех нижних частях гумусовых горизонтов всех объектов исследования было отмечено наименьшее их содержание. Наибольшее содержание этих пигментов выявлено в горизонте АУ серой почвы. Что, по всей видимости, связано с большим поступлением опада древесных растений, содержащим аналогичные пигменты.

Присутствие фотосинтетических пигментов в верхней части пахотных горизонтов и агрочернозема и агросерой почвы, по всей видимости, связано с поступлением пожнивных остатков культурных растений.

Таблица 3. Содержание пигментов в объектах исследования.

Горизонты (мощность, см)	Хлорофилл- <i>a</i>	Хлорофилл- <i>b</i>	Феофетин	Каротиноиды
	мг/кг почвы			
AU1 (0-20)	0,064	нет	0,007	0,061
AU2 (20-40)	нет	нет	0,005	0,018
PU1 (0-20)	0,016	0,040	0,089	0,067
PU2 (20-40)	0,000	нет	0,005	0,002
AУ (0-18)	0,061	0,200	0,488	0,259
AEL (18-37)	нет	нет	0,032	0,063
PУ1 (0-15)	0,012	0,054	0,133	0,113
PУ2 (15-30)	нет	0,005	0,010	0,036
F_{факт.}	115,12	199,28	247,21	167,52
F₀₅	4,07	4,07	2,66	2,66
НСР₀₅	0,009	0,020	0,032	0,019

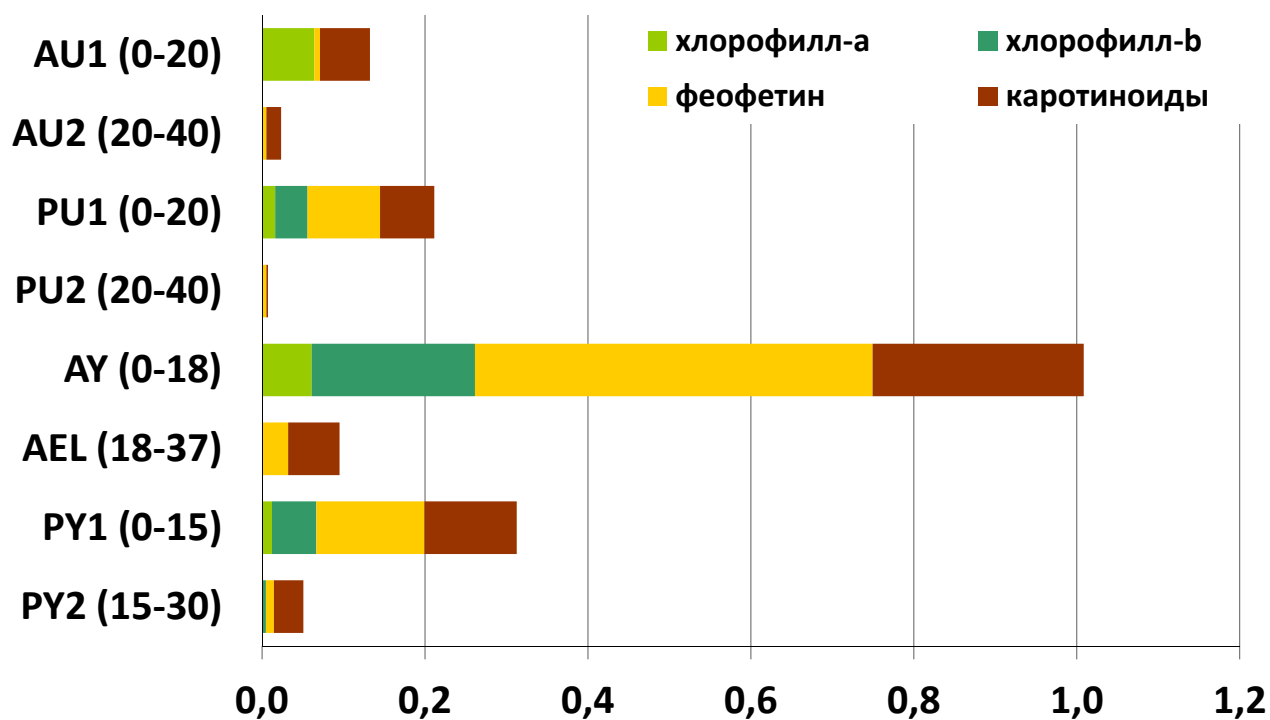


Рисунок 7. Содержание пигментов, мг/кг.

Таблица 4. Содержание гломалина, меланинов, остатков биоты, липидов в объектах исследования.

Горизонты (мощность, см)	Гломалин	Меланино- подобные вещества	Остатки биоты	Липиды
	г/кг почвы			
AU1 (0-20)	2,265	3,612	9,168	5,331
AU2 (20-40)	1,170	3,927	6,000	1,980
PU1 (0-20)	2,355	3,768	8,016	3,828
PU2 (20-40)	1,789	4,347	8,016	5,280
AY (0-18)	2,145	1,785	7,776	2,772
AEL (18-37)	2,295	1,185	8,160	3,432
PY1 (0-15)	2,400	1,539	4,656	3,168
PY2 (15-30)	2,385	0,644	5,760	2,772
F_{факт.}	11,86	73,70	13,10	30,82
F₀₅	2,66	2,66	2,66	2,66
НСР₀₅	0,37	0,51	1,27	0,65

Содержание гломалина в составе ПОВ в горизонтах AU1 чернозема и PU1 агрочернозема, в AY и AEL серой почвы, PY1 и PY2 агросерой почвы было равновеликим, наименьшее содержание гломалина было отмечено в горизонте AU2 чернозема (рис. 8). Наличие гломалина свидетельствовало о том, что во всех этих случаях растения были инфицированы арбускулярной микоризой.

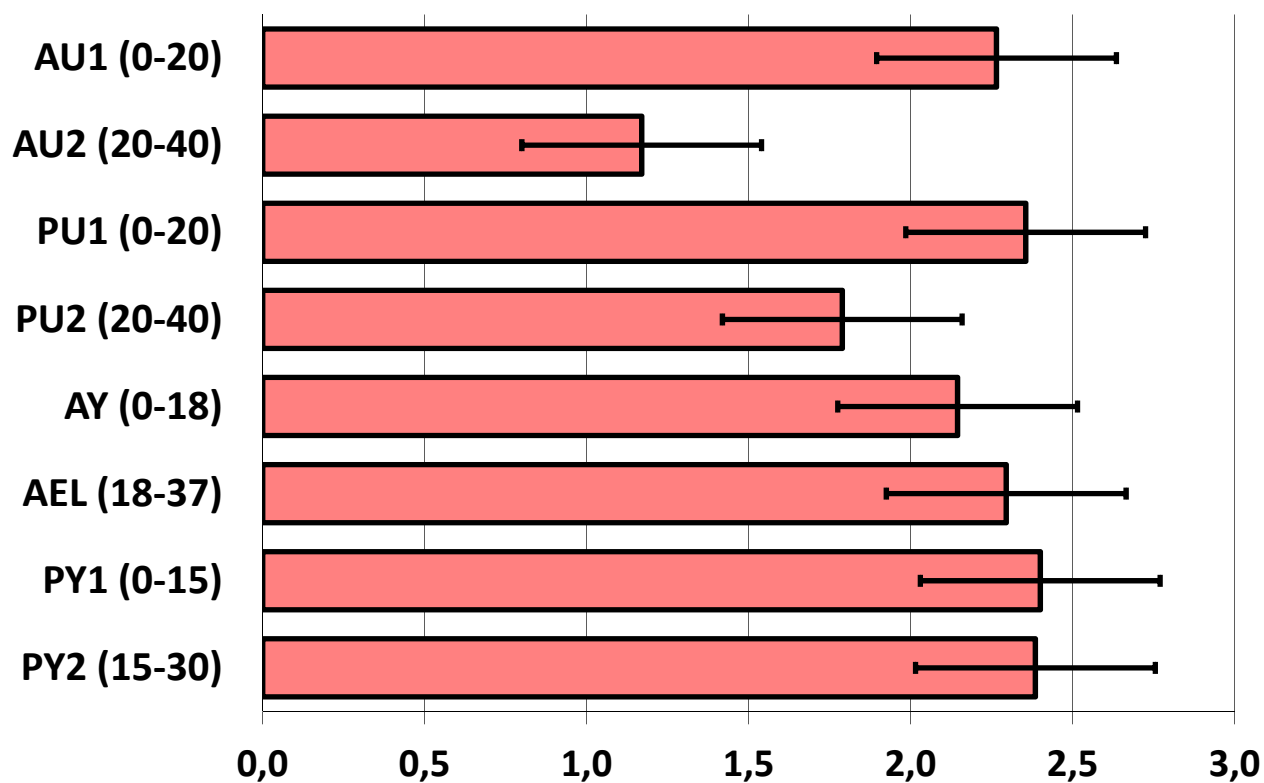


Рисунок 8. Содержание гломалина, г/кг.

Содержание меланиноподобных соединений, как и ожидалось, было наибольшим во всех горизонтах и целинного и пахотного черноземов. Что свидетельствует об отсутствии деградации данного вида соединений при распашке (рис. 9). В серой и агросерой почвах с глубиной содержание меланиноподобных соединений снижалось одинаково, что также свидетельствует об отсутствии сильного антропогенного воздействия на их содержание.

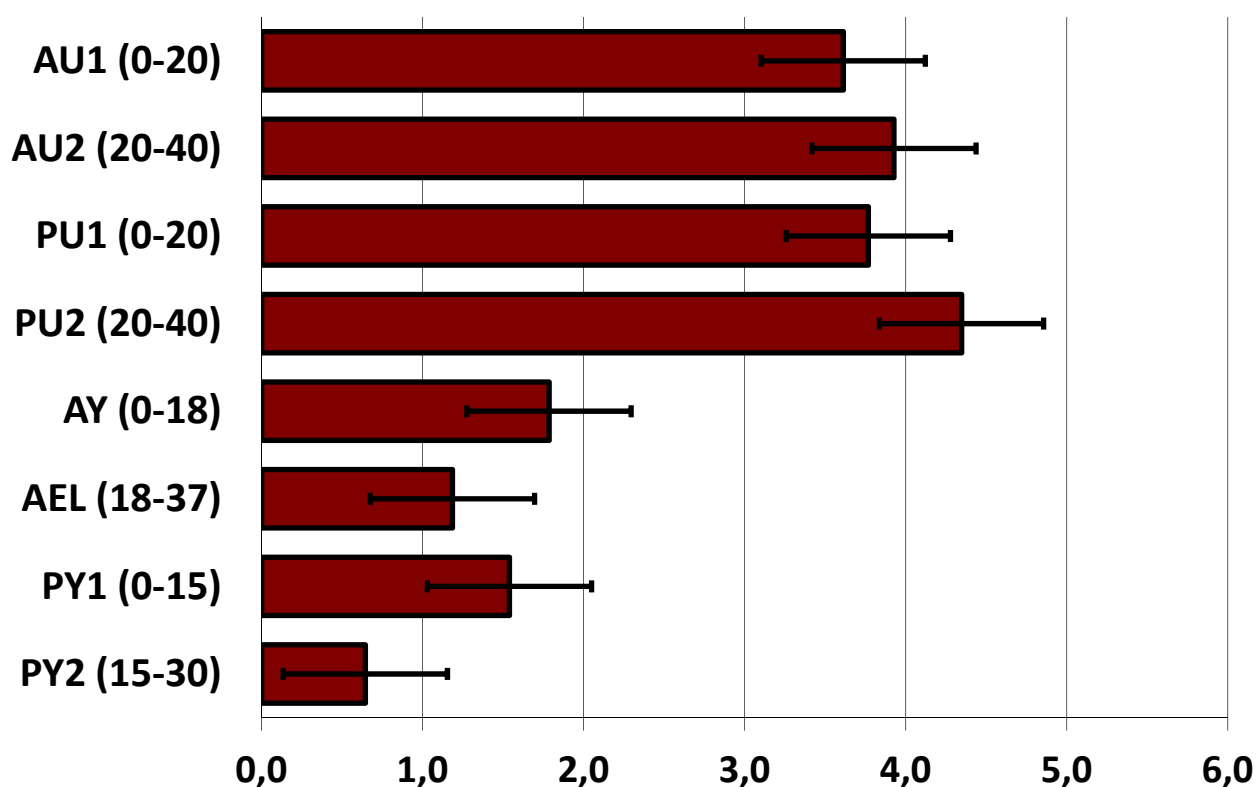


Рисунок 9. Содержание меланиноподобных соединений, г/кг.

Содержание остатков биоты в обеих частях пахотного горизонта агрочернозема соответствовало среднему содержанию таковых в целинном черноземе. В случае серой и агросерой почв было отмечено снижение количества этих остатков в пахотном горизонте агросерой почвы по сравнению с ее целинным аналогом (рис. 10).

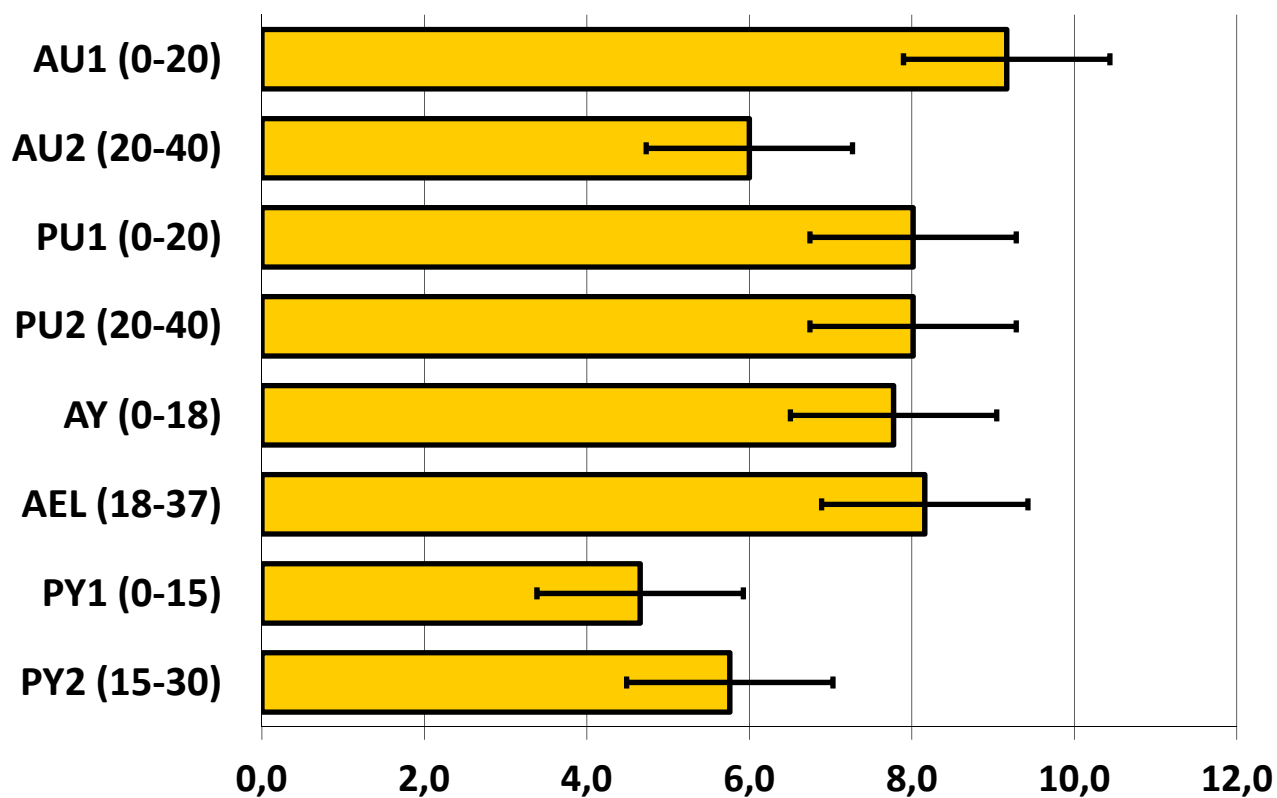


Рисунок 10. Содержание остатков биоты, г/кг.

Анализ содержания липидов в объектах исследования показал, что наибольшее содержание липидов было отмечено в AU1 целинного чернозема и PU2 агрочернозема (рис. 11). При этом в целинном черноземе с глубиной содержание липидов резко снижалось, что может объясняться меньшим поступлением растительных остатков и постмортальных остатков почвенной биоты, содержащих липиды. В верхней части пахотного горизонта, хотя и было отмечено меньшее количество липидов, чем в нижележащей части, но в целом объясняется их поступлением с пожнивными остатками культурных растений и механическим перемешиванием. Существенных различий между содержанием липидов в целинной серой и агросерой почвах выявлено не было.

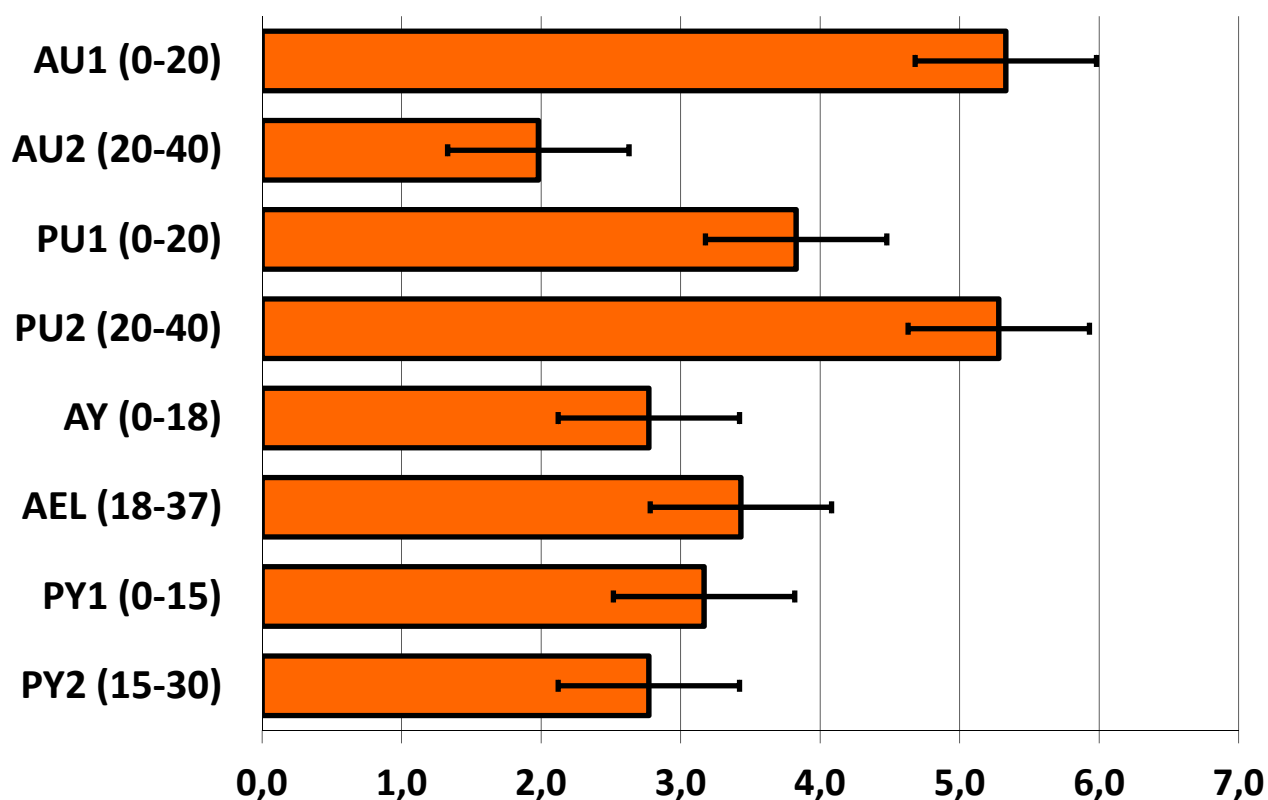


Рисунок 11. Содержание липидов, г/кг.

4. ВЫВОДЫ

1. Последовательно из почвенного органического вещества удалось выделить следующие компоненты:

- хлорофиллоподобные соединения и каротиноиды;
- гликопротеины (гломалин);
- меланиноподобные вещества;
- постморальные остатки растений и почвенной биоты и индивидуальные органические соединения не растворимые в ацетоне;
- липиды (жиры, воски, смолы).

2. Выделенные «мягкими» способами компоненты составляли от 15 до 25 % почвенного органического вещества.

3. Выявлено, что содержание меланиноподобных веществ было заметно больше в черноземах, чем в серых почвах.

4. Найдено, что распашка не оказывала влияния на компонентный состав почвенного органического вещества, за исключением содержания остатков биоты — их количество при распашке уменьшалось.

5. Установлено, что распашка усредняла компонентный состав почвенного органического вещества верхних пахотных горизонтов с нижними, в то время как в ненарушенных почвах верхние горизонты заметно отличались от нижележащих.

6. По нашему мнению, детальное изучение компонентного состава почвенного органического вещества является весьма информационным.

5. ЛИТЕРАТУРА

- Аксенов С.М., Андреев Д.П., Гагарина Э.И. и др. Практикум по полевому почвоведению: по природным зонам. Учеб. Пособие. Под ред. А.А. Хантулева и О.Г. Растворовой. — Л., Изд-во ун-та, 1980 — 148 с.
- Александрова Л.Н. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации / Л.Н. Александрова. — Л.: Наука, 1980. — 287 с.
- Белозерская Т.А. Гидрофобины грибов: структура и функции / Т.А. Белозерская // Микология и фитопатология. — 2001. — Т. 35. — № 1. — С. 3–11.
- Березов Т.Т. Биологическая химия: Учебник / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин / 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 1998. — 704 с.
- Бриттон Г. Биохимия природных пигментов / Г. Бриттон / Пер. с англ. — М.: Мир, 1986. 422 с.
- Ветчинкина Е.П. Динамика образования гликопротеинов и высокомолекулярных фенолов грибом *Lentinusedodes* в условиях глубинного культивирования / Е.П. Ветчинкина, В.Е. Никитина, В.Г. Бабицкая, В.В. Щерба, Т.А. Пучкова, Д.А. Смирнов, О.В. Осадчая // Самарская Лука. — 2008. — Т. 17. № 2 (24). — С. 367–372.
- Вольнова А.И. Образование почвенными грибами пигмента, сходного с фракцией гуминовой кислоты Р-типа / А.И. Вольнова, Т.Г. Мирчинк // Вестник Моск. ун-та. 1972. Серия 6. Биол., Почвоведение. — № 2. — С. 64–67.
- Гагарина Э.И., Растворова О.Г., Счастливая Л.С. и др. Почвы природных зон Русской равнины: учебное пособие / Под ред. Б.Ф. Апарина, Г.А. Касаткиной. — СПб: изд-во С.-Петербур. ун-та, 2008. 226 с.
- Звягинцев Д.Г. О природе гуминовых кислот / Д.Г. Звягинцев, Т.Г. Мирчинк // Почвоведение. — 1986. — № 5. — С. 68-75.
- Ковалева Н.О. Липидная фракция почвенного гумуса как источник палеопедологической информации / Н.О. Ковалева, Е.В. Терентьева,

- И.В. Ковалев // Гуминовые вещества в биосфере / Материалы III Всерос. конф. — СПб. 2005. — С. 64–65.
- Козырев Ф.Н. Почвенный хлорофилл как индикатор переувлажнения почвы / Ф.Н. Козырев // Доклады ВАСХНИЛ. — 1991. — № 5. — С. 30–33.
- Колесников Б.А. Получение поверхностно-активных белков из глубинной культуры гриба *Trichoderma viride* / Б.А. Колесников, И.В. Ларионов, М.М. Шамцян // Известия С.-Петерб. гос. технологич. ин-та (технич. ун-та). — 2014. — № 25 С. 47–50.
- Кононова М.М. Проблема почвенного гумуса и современные задачи его изучения / М.М. Кононова. — М.: Изд-во АН СССР, 1951. — 390 с.
- Кононова М.М. Органическое вещество почвы, его природа, свойства и методы изучения / М.М. Кононова. — М.: Изд-во АН СССР, 1963. — 314 с.
- Лях С.П. Микробные меланины / С.П. Лях, Е.Л. Рубан. — М.: Наука, 1972. — 185 с.
- Мишустин Е.Н. Роль микроорганизмов в синтезе перегнойных соединений / Е.Н. Мишустин, С.С. Драгунов, О.И. Пушкинская // Известия АН СССР. — 1956. — Серия биол. — № 6. — С. 83-94.
- Орлов Д.С. Органическое вещество почв Российской Федерации / Д.С. Орлов, О.Н. Бирюкова, Н.И. Суханова. — М.: Наука, 1996. — 254 с.
- Паников Н.С. Неспецифические соединения почвенного гумуса / Н.С. Паников, Л.К. Садовникова, Е.Н. Фридланд — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1984. — 144 с.
- Попов А.И. Гуминовые вещества: свойства, строение, образование / А.И. Попов / Под ред. Е.И. Ермакова. — СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. — 248 с.
- Попов А.И. Гломалин — новая характеристика состояния агропочв? / А.И. Попов, Сун Гэ // Агрэкологический вестник. Вып. 8: Междунар. сб. науч. трудов. В двух частях Ч. 2. — Воронеж: ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ. 2018. — С. 51–56.

- Попов А.И., Сун Гэ, и др. Характеристика качественного состава почвенного органического вещества: проблемы и решения / А.И. Попова, Сун Гэ, Ю.В. Симонова, К.И. Цивка, Н.М. Ковалева, Д.А. Бирилко, Е.В. Сазанова, Г.Д. Холостов. — .: , 2018.
- Саиз-Гименез С. Химическая структура гумусоподобного пигмента / С. Саиз-Гименез, Ф. Мартин // Известия АН СССР. — 1979. — Серия биол. — № 1. — С. 59-64.
- Слесарев В.И. Химия: Основы химии живого: Учебник для вузов / 2-е изд., испр. и доп. / В.И. Слесарев. — СПб: Химиздат, 2001. — 784 с.
- Туев Н.А. Микробиологические процессы гумусообразования. М., 1989.
- Чекмарев П.А. Мониторинг содержания органического вещества в пахотных почвах ЦЧР / П.А. Чекмарев, С.В. Лукин, Ю.И. Сискевич, Н.П. Юмашев, В.И. Корчагин, А.Н. Хижняков // Достижения науки и техники АПК. — 2011. — № 09. — С. 23–26.
- Шмук А.А. К химии органического вещества почвы. Труды Кубанского с.-х. ин-та, т. 1, вып. 2, 1924.

Antweiler, R.C. 1991. The hydrolysis of Suwannee River fulvic acid. In: R.A. Baker, editor, Organic substances and sediments in water. Vol. 1: Humics and soils. Lewis, Chelsea, MI. p. 163–177.

Bedini S. Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* / S. Bedini, E. Pellegrino, L. Avio, S. Pellegrini, P. Bazzoffi, E. Argese, M. Giovannetti // Soil Biology and Biochemistry. — 2009. — V. 41. — Is. 7. — P. 1491–1496.

Bowles, E.C., R.C. Antweiler, and P. MacCarthy. 1989. Acid-base titrations and hydrolysis of fulvic acid from the Suwannee River. In: R.C. Averett et al., editors, Humic substances in the Suwannee River, GA: Interaction,

- properties, and proposed structures. USGS Open File Rep. 87-557. USGS, Reston, VA. p. 209–229
- deVries O.M.H. Insoluble hydrophobin complexes in the walls of *Schizophyllum commune* and other filamentous fungi / O.M.H. de Vries, M.P. Fekkes, H.A.B. Wösten, J.G.H. Wessels // *Arch. Microbiol.* — 1993. — V. 159. — P. 330–335.
- Flaig W. Organic compounds in soil // *Soil. Sci.* — 1971. — V. 111. — No 1. — P. 19-33.
- Hoyt P. Fate of chlorophyll in soil / P. Hoyt // *Soil Science.* — 1971. — V. 111. — Is. 1. — P. 49–53.
- Kleber M., Lehmann J. Humic Substances Extracted by Alkali Are Invalid Proxies for the Dynamics and Functions of Organic Matter in Terrestrial and Aquatic Ecosystems // *Journal of Environmental Quality* 2019. V. 48. Is. 2. P. 207–216.
- Leenheer, J.A., R.L. Wershaw, and M.M. Reddy. 1995. Strong acid, carboxyl group structures in fulvic acid from the Suwannee River, Georgia: I. Minor structures. *Environ. Sci. Technol.* 29: 393–398.
- Lehmann, J., D. Solomon, J. Kinyangi, L. Dathe, S. Wirick, and C. Jacobsen. 2008. Spatial complexity of soil organic matter forms at nanometre scales. *Nat. Geosci.* 1: 238–242.
- Lützw, M., I. Kögel-Knabner, K. Ekschmitt, E. Matzner, G. Guggenberger, B. Marschner, et al. 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: Mechanisms and their relevance under different soil conditions- a review. *Eur. J. Soil Sci.* 57: 426–445.
- Miller R.M. External hyphal production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities / R.M. Miller, D.R. Reinhardt, J.D. Jastrow // *Oecologia.* — 1995. — V. 103. — P. 17–23.
- Nichols K.A. Characterization of glomalin, a glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungi / K.A. Nichols / Dissertation ... for the degree of Doctor of Philosophy. 2003. — 285 c.

- Nichols K.A. Comparison of gloialin and humic acid in eight native U.S. soils / Nichols K.A., Wright S.F. // Soil Science. — 2005. — V. 170, — No. 12. — P. 985–997.
- Oades, J.M. and J.N. Ladd. 1977. Biochemical properties: Carbon and nitrogen metabolism. In: J.S. Russell and E.L. Greacen, editors, Soil factors in crop production in a semi-arid environment. University of Queensland Press, St. Lucia, QLD, Australia. p. 127–160.
- Olk D.C. and E.G. Gregorich. 2006. Overview of the symposium proceedings, «Meaningful pools in determining soil carbon and nitrogen dynamics». Soil Sci. Soc. Am. J. 70: 967–974.
- Olk D.C., Bloom P.R., Perdue E.M., et. al. Environmental and Agricultural Relevance of Humic Fractions Extracted by Alkali from Soils and Natural Waters // Journal of Environmental Quality 2019. V. 48. Is. 2. P. 217–232.
- Piccolo, A. 2001. The supramolecular structure of humic substances. Soil Sci. 166: 810–832.
- Rillig M.C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin and soil quality / M.C. Rillig // Canadian Journal of Soil Science. — 2004. — V. 84. — P. 355–363.
- Ritchie, J.D. and E.M. Perdue. 2008. Analytical constraints on acidic functional groups in humic substances. Org. Geochem. 39: 783–799.
- Schindler F.V. Chemical characteristics of glomalin-related soil protein (GRSP) extracted from soils of varying organic matter content / F.V. Schindler, E.J. Mercer, J.A. Rice // Soil Biology and Biochemistry. 2007. — V. 39. — Is. 1. — P. 320–329.
- Schmidt, M.W.I., M.S. Torn, S. Abiven, T. Dittmar, G. Guggenberger, I.A. Janssens, M. Kleber, I. Kögel-Knabner, J. Lehmann, D.A.C. Manning, P. Nan-nipieri, D.P. Rasse, S. Weiner, and S.E. Trumbore. 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. Nature 478: 49–56.
- Schreiner O., Shorey E. Some acid constituents of soil humus // J. Amer. Chem. Soc. V. 30. 1908.

- Schreiner O., Shorey E. Some acid constituents of soil humus // J. Amer. Chem. Soc. V. 31. 1909.
- Schreiner O., Shorey E. Some acid constituents of soil humus // J. Amer. Chem. Soc. V. 32. 1910.
- Schreiner O., Shorey E. Some acid constituents of soil humus // J. Amer. Chem. Soc. V. 33. 1911.
- Sierra, M.M.D., A.N. Fernandes, and B. Szpoganicz. 2004. Influence of amide linkages on acidity determinations of humic substances: Testing with model-mixtures. *Talanta* 62: 687–693.
- Six, J., H. Bossuyt, S. Degryze, and K. Denef. 2004. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil Tillage Res.* 79: 7–31.
- Steinberg P.D. Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalin / P.D. Steinberg, M.C. Rillig. // *Soil Biol. Biochem.* — 2003. V. 35. — P. 191–194.
- Stevenson, F.J. 1994. *Humus chemistry: Genesis, composition, reactions*. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York.
- Sutton, R., and G. Sposito. 2005. Molecular structure in soil humic substances: The new view. *Environ. Sci. Technol.* 39: 9009–9015.
- Trumbore, S.E., and S. Zheng. 1996. Comparison of fractionation methods for soil organic matter ¹⁴C analysis. *Radiocarbon* 38: 219–229.
- Wershaw, R.L. 2000. The study of humic substances: In search of a paradigm. In: E.A. Ghabbour and G. Davies, editors, *Humic substances: Versatile components of plants, soil, and water*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. p. 1–7.
- Wessels J.G.H. Developmental regulation of fungal cell wall formation / J.G.H. Wessels // *Annu. Rev. Phytopathol.* — 1994. — V. 32. — P. 413–437.
- Wessels J.G.H. Hydrophobins: proteins that change the nature of the fungal surface / J.G.H. Wessels // *Advances in microbial physiology*. — 1997. — V. 38. — P. 1–45.

- Wösten H.A.B. Interfacial selfassembly of a fungal hydrophobin into a hydrophobic rodlet layer / H.A.B. Wösten, O.M.H. de Vries, J.G.H. Wessels // *Plant Cell*. — 1993. — V. 5. — P. 1567–1574.
- Wösten H.A.B. Hydrophobins, the fungal coat unraveled / H.A.B. Wösten, M.L. de Vocht // *Biochim. Biophys. Acta*. — 2000. — V. 1469. — P. 79–86.
- Wright S.F. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots / S.F. Wright, M. Franke-Snyder, J.B. Morton, A. Upadhyaya // *Plant Soil*. — 1996. — V. 181. — No 2. — P. 193–203.
- Wright S.F. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi / S.F. Wright, A. Upadhyaya // *Plant and soil*. — 1998. — V. 198. — No. 1. — P. 97–107.
- Zancada M.C. Speciation of lipids and humus-like colloidal compounds in a forest soil reclaimed with municipal solid waste compost / M.C. Zancada, G. Almendros, J. Sanz, R. Román // *Waste Manag. Res.* — 2004. — V. 22. — No 1. — P. 24–34.
- Ziegler F. Changes of lipid content and lipid composition in forest humus layers derived from Norway spruce / F. Ziegler // *Soil Biology and Biochemistry*. — 1989. — V. 21. — Is. 2. — P. 237–243.