

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Фарходова Юлиана Робертовича на тему «Молекулярный состав лабильного и стабильного органического вещества типичных черноземов разного вида использования» по специальности 1.5.19.(03.02.13) – Почвоведение (биологические науки)

Почвенные пулы лабильного и стабильного органического вещества являются высокочувствительными индикаторами экологического и агрономического состояния почв. Данные о показателях их молекулярного строения востребованы как для моделирования устойчивости гумусовых соединений, так и для изучения региональных процессов депонирования и секвестрации углерода. С другой стороны, активное многолетнее использование черноземов в сельскохозяйственном производстве приводит к утрате их плодородия, и прежде всего, за счет необратимых потерь содержания гумуса.

Молекулярный состав различных пулов органического вещества почв – это динамичная и легко трансформируемая система, принимающая непосредственное участие в почвенных процессах и формировании эффективного плодородия почвы. Однако, взгляды на биохимический и биоминералогический состав лабильного и стабильного органического вещества почв в целом, и черноземов, в частности, не единообразны, а механизмы формирования активного и инертного пулов почвенного углерода остаются малоисследованными. Между тем, их изучение чрезвычайно актуально с точки зрения понимания процессов минерализации и гумификации органического вещества почв в условиях земледельческого освоения и накопления данных о природе различных прекурсоров и составляющих почвенного гумуса.

Поэтому целью исследований представленной диссертационной работы было изучение влияния различных типов землепользования на особенности

молекулярного состава лабильного и стабильного органического вещества чернозема типичного Курской области.

Для достижения цели работы были предложены, а затем и успешно решены следующие задачи:

1. Сформировать представительную выборку для изучения черноземов и их фракций.
2. Адаптировать и оптимизировать подходы к анализу молекулярного состава органического вещества черноземов.
3. Сравнить молекулярный состав термостабильного и термолабильного органического вещества и их денсиметрических фракций.
4. Выявить зависимость молекулярного состава органического вещества черноземов от типа землепользования.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Определены условия двухстадийного пиролиза, позволяющие надежно разделить органическое вещество черноземов на термостабильную и термолабильную фракции.
2. Особенности молекулярного состава термолабильной и термостабильной фракций зависят от вида землепользования.
3. Особенности молекулярного состава термолабильного и термостабильного пулов различных денсиметрических фракций определяются локализацией во фракции и видом использования почв.

Научная новизна исследования заключается в выявлении новых биомаркеров трансформации почвенного органического вещества.

Практическая значимость состоит в предложении и апробации доработанной автором методологии двухстадийного пиролиза для изучения молекулярного состава органического вещества почв.

Диссертационная работа Фарходова Ю.Р. представляет собой хорошо структурированное, компактное, методологически грамотное и научно обоснованное исследование, изложенное на 169 страницах текста. Она состоит из трех глав, включает введение, обзор литературы, характеристику объектов

и методов, результаты исследования и их обсуждение, выводы, список литературы и приложения. Общий объем тома – 192 страницы. В тексте имеется 45 рисунков, 8 таблиц. В списке литературы приведено 314 источников.

В **первой главе** диссертационной работы представлен обзор литературы. В разделе 1.1 рассмотрены существующие представления о системе гумусовых веществ в целом, их функциях в агроценозах, рассмотрена роль сельского хозяйства в глобальных процессах кругооборота углерода. В разделе 1.2. изложены различные взгляды на природу пулов инертного и лабильного органического вещества почв, дан критический обзор существующих подходов к фракционированию почвенного органического вещества с акцентом на денсиметрическое и термическое фракционирование, проанализированы преимущества и недостатки различных методов. В разделе 1.3 приведен обзор современных методов изучения молекулярного состава почвенного органического вещества: ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия и наиболее подробно – аналитический пиролиз.

Во **второй главе** освещены условия почвообразования, объекты и методы исследований. В данной главе приведен подробный анализ климатических условий Курской области, кратко представлены схемы опытов: ежегодно косимая степь (ЦЧГБЗ имени В.В.Алехина), севооборот, бессменная с 1964 г. культура кукурузы, поле под паром и выведенная 23 года назад из-под пара его часть - залежь. Даны химические свойства изучаемых почв. Указаны оригинальные и общепринятые методики, которые использовались автором при проведении исследований.

В **третьей главе** диссертационной работы приводятся результаты исследований.

В разделе 3.1 приводятся результаты анализа молекулярного состава органического вещества типичных черноземов различных видов использования. Автором установлено, что для выделения термолабильной фракции наилучшим является температурный режим 100-420° С со скоростью

повышения температуры 30 градусов в минуту, а для изучения термостабильной фракции – флэш-пиролиз при температуре 650⁰С. Показано, что пахотная обработка чернозема приводит к увеличению степени гумификации. Установлено, что в пахотных черноземах также происходит накопление короткоцепочечных жирных кислот – маркеров грибной биомассы. Для непахотных черноземов характерна высокая доля длинноцепочечных и разветвленных жирных кислот, что свидетельствует о высокой доле грамположительных бактерий в составе микробиома.

Раздел 3.2. посвящен характеристике органического вещества денсиметрических фракций черноземов различного вида использования. Состав термостабильного органического вещества зависит от обработки почвы: под паром во всех фракциях накапливаются фурфурол и бензонитрил, под степью – фенолы, алканы, алкилбензолы, полиядерные ароматические углеводороды. Наиболее гумифицированное органическое вещество содержится во фракции минерального остатка (бензонитрил, бензол, бифенил, нафталин).

Раздел 3.3 содержит результаты термического анализа органического вещества денсиметрических фракций. Показано, что вне зависимости от вида использования черноземов, в термолабильном органическом веществе легких денсиметрических фракций с плотностью менее 2 г/см³ преобладают пиролизаты слаботрансформированных соединений растительного происхождения (алканы, метиловые эфиры жирных кислот, метоксифенолы, левоглюкозенон, индолы), а фракция минерального остатка с плотностью более 2 г/см³ содержит высокую долю устойчивых к микробной трансформации азотсодержащих компонентов (бензонитрил) и полисахаридных остатков (фурфурол). Наименее трансформированное органическое вещество содержится в окклюзированной фракции с плотностью менее 1,6 г/см³. В ходе постагрогенной трансформации черноземов в первую очередь восстанавливаются запасы почвенного

органического вещества во фракции минерального остатка с плотностью более 2 г/см^3 , причем, за счет накопления свежего лигнина.

Научная значимость исследования состоит в том, что полученные данные могут быть использованы в обновлении теоретической базы почвенной биохимии. На основании проведенных исследований могут быть разработаны практические рекомендации по регулированию режима органического вещества и оптимизации содержания лабильных и стабильных гумусовых веществ в черноземе типичном в условиях различных видов землепользования.

Экспериментальные данные, представленные в диссертации, получены в ходе высокотехнологичных лабораторных исследований, методами которых автор овладел в полной мере. Это и денсиметрический анализ, и пиролиз, и термохимоллиз, и анализ стабильных изотопов. Интегрированный подход к изучению тонкой биохимии и биофизики почв обнаруживает высокую квалификацию исследователя и делает полученные результаты соответствующими мировому уровню. Достоверность полученных результатов подтверждается статистической обработкой данных методами многомерной статистики и дисперсионного анализа.

В целом, диссертация представляет собой актуальное и интересное поисковое исследование, в ходе которого подбирались и отрабатывались методики, позволяющие наиболее полно раскрыть сущность биохимических и биоминералогических процессов в черноземах разных видов землепользования.

Результаты работы были апробированы на Всероссийских и Международных научных конференциях.

Обоснованность и достоверность полученных в работе результатов и выводов подтверждается их публикацией в 14 работах, из которых 5 в рецензируемых изданиях, входящих в систему цитирования Web of Science, Scopus или RSCI, а также рекомендованных ВАК МГУ для публикации

результатов кандидатских диссертаций. Автореферат диссертации полностью отражает ее содержание, положения и выводы.

Как и любое значимое исследование, данная работа дает повод для вопросов и замечаний.

1. Первая задача исследования сформулирована не очень удачно: «сформировать представительную выборку черноземов и их фракций, отвечающую поставленной цели». Это скорее задача эксперимента, а не диссертационного исследования. Однако и как задача эксперимента она вызывает много вопросов. Пахотные варианты чернозема – это севооборот, бессменная кукуруза, пар. Непахотные варианты – залежь и лесополоса. Но ведь залежь – это часть пашни, выведенная из-под пара 23 года назад. А лесополоса тоже в недавнем прошлом (70 лет назад) – это пашня. То есть все площадки – пахотные. Молекулярный состав пула стабильных органических соединений, например, полициклических ароматических соединений, за столь короткий срок практически не меняется. Именно ввиду высокой инерционности данного пула, n-алканы, жирные кислоты и лигнинные фенолы часто используются в качестве биомаркеров палеосреды (Zech W et. al, 2008; Zech M et. al, 2009; Ковалева Н.О., Ковалев И.В. «Почвенные биомаркеры», 2020 и др.). И сам автор на стр. 112 приходит к выводу, что «результаты кластерного анализа не показали характерных отличий» даже в составе термолабильного органического вещества «пахотных вариантов от непахотных».
2. Из текста диссертации осталось неясным также, как автор решил проблему унификации глубины отбора образцов почвы для анализа. Ведь в поле под паром глубина 0-25 см – это гумусовый горизонт, на залежи – дерновый, в лесополосе – горизонт подстилки. Изначально неравные условия эксперимента приводят к неоднозначности выводов: высокая степень гумификации в гумусовом горизонте и обогащенность неразложившимся лигнином в подстилке, - предопределены способом

отбора образцов. Кроме того, осталось неясным, вносили ли удобрения органические и минеральные при паровании, выращивании кукурузы и в севооборотах, сколько раз в год, какие. Какая обработка пара была использована – пахота плугом на глубину 25-30 см или дисковое поверхностное боронование на 10-15 см? От выбора способа обработки зависит сохранность сорной растительности и корневой массы – главного источника почвенного органического вещества.

3. Очевидно, что автор не владеет терминологией, принятой в исследованиях биологического круговорота, иначе он бы не путал понятия «свежий опад», «древесный опад», «травяной опад». В итоге остается неясным, что имеется в виду под опадом: корневая фитомасса, мортмасса, ветошь, степной войлок? В лесополосе речь идет о корнях, древесных тканях или листовом опаде? Ведь хорошо известно из работ Титляновой С.А., Базилевич Н.И. и др. (ссылки отсутствуют в списке литературы), что в степных экосистемах подземная биомасса превосходит надземную в 10-20 раз, а корневая мортмасса в 4 раза больше фитомассы корней. И очень сложно согласиться с утверждением (стр. 93), что в узкой лесополосе (из каких пород деревьев осталось неясным) в черноземной степи «основным источником опада в местах произрастания древесных растений являются надземные части». Часто употребляется словосочетание «объем ежегодного опада», при этом никаких цифр об объемах опада не приводится.
4. Автору стоит избегать голословных утверждений, которыми изобилует работа, например, «корни взаимодействуют непосредственно с почвой, и, вероятно, сразу после отмирания попадают во фракцию меньше 1,6 (стр. 93)». При этом в описании объектов отсутствуют сведения даже о процентном содержании корней, которое выполняется при полевом морфологическом описании разрезов. Или: «это может быть связано с низким количеством поступающего опада (никаких данных об объемах опада нет), а также с наличием механической обработки (сведений о

характере обработки тоже нет), которая способствует разложению свежего органического материала», «близко к варианту степь по объему ежегодного опада (цифр нет)». На стр. 117: «содержание углеводов максимально в ОПОВ 1,6-2,0 для почв вариантов степь и залежь, что связано с травянистостью опада» (как связано? Сколько углеводов должно быть в тканях злаков по сравнению с другими типами опада? Сколько их должно быть в корнях, которые доминируют по биомассе?). На стр. 62: «содержание длинноцепочечных алканов в вариантах опыта объясняется режимом и количеством поступающего опада (ни о режиме, ни о количестве опада ничего неизвестно): в пахотные варианты поступает меньше опада по сравнению с нарушенными вариантами степь и лесополоса (никаких данных о биомассе или урожае в работе нет)». Между тем, в недавних работах Демина В.В., Анохиной Н.А. (ссылок нет в списке литературы) действительно детально разобраны режимы поступления опада широколиственных пород и их влияние на накопление алканов. И хочется обратить внимание автора на то, что алканы – качественный биомаркер типа растительности (древесной или травяной), а не только микробной активности.

5. Не хватает сведений о реальной мощности поверхностных горизонтов, из которых отобраны образцы, чтобы судить о представительности пробы. Очень не хватает описания почвенных разрезов в диссертации по почвоведению.
6. В дополнение к пункту 4 необходимо отметить и неравнозначность литературного обзора: очень подробно описаны методы и методология денсиметрического фракционирования, очевидна увлеченность автора методами термического и термохимического анализа и высокая компетентность в вопросах двухстадийного пиролиза. Значительно меньше внимания уделено методам масс-спектрометрии и изотопного анализа. Если бы автор углубился в эти темы более прилежно, то он бы знал, что сирингилов и гваяцилов в тканях травяных растений критически

мало. Лигнин трав состоит из кумариловых и феруловых структурных единиц. Поэтому отношение синригиллов к гваяцилам хорошо работает только для почв лесополосы. Но и в этом случае для оценки степени разложенности лигнина используют отношение кислот к альдегидам в синригилловых (ac/al)_S или гваяциловых единицах (ac/al)_V (Ertel et. al, 1984; Kogel, 1986, Rodionov, 1999; Ковалев, 2017). К сожалению, автор, анализируя молекулярное строение лабильного и стабильного органического вещества, часто переходит вновь на уровень обобщенных групп соединений, особенно в отношении давно хорошо и детально уже изученного лигнина. Между тем, в перечисленных выше работах достоверно показано, что лигниновые фенолы накапливаются во всех гранулометрических фракциях почв, при этом от крупных к тонким фракциям нарастает степень трансформации биополимера и его реакционная способность к дальнейшим органоминеральным взаимодействиям.

7. Очень впечатляет раздел 3.1.4.1., посвященный методическим аспектам оценки состава жирных кислот. Это одна из наиболее сильных и интересных частей работы. Но осталось непонятным, какой все же внутренний стандарт был использован. Что означает фраза «Количественную оценку проводили методом внутренней нормализации и внутреннего стандарта»?
8. Соискатель справедливо приходит к предположению, что разница в полученных характеристиках лабильных гумусовых веществ в черноземе под кукурузой и в почве под пшеницей и злаковыми травами обусловлена биохимической природой растительных остатков. Действительно, кукуруза – растение C₄ типа фотосинтеза в отличие от остальных C-3 растений, и по составу лигниновых фенолов, полисахаридов и алканов пул органического углерода в почве под ней отличается от остальных вариантов опыта. Именно поэтому в табл. В1 (приложение) появляется никак не обсуждаемая величина $\delta^{13}\text{C}$, равная -16,7 ‰. Биохимические и

физиологические особенности путей ассимиляции углекислого газа растениями, опад которых поступает в почву, в данном случае оказываются более значимыми, нежели микробная активность и тем более вариант землепользования. Древесные ткани по содержанию лигниновых фенолов и по величине $\delta^{13}\text{C}$ значительно отличаются от листьев и тем более - от тканей трав. Хорошо известно (Huang Y. et al. 1999; Моргун и др. 2008), что кумариловые фенолы трав «утяжеляют» изотопные отношения, что и демонстрируют табл. 4 и табл. В1.

9. Предложенные и модифицированные автором методы годятся только для изучения молекулярного состава органического вещества черноземов?
10. Из текста работы осталось не очень ясно, какой физический смысл автор вкладывает в часто употребляемые термины «степень гумификации» и «степень деградации чернозема» (стр.100).
11. В тексте диссертации редко, но встречаются орфографические ошибки, нарушение алфавитного порядка в списке литературы и единичные несоответствия ссылок списку литературы. Кроме того, форматирование текста диссертации оставляет желать лучшего: много неоправданно больших пробелов в четверть, треть и половину листа.
12. Хотелось бы пожелать автору в будущем излагать полученный материал более системно, сначала обобщить литературные данные о генезисе и содержании изучаемых биомаркеров в различных объектах, органах и тканях, и на этой основе строить предположения и делать выводы, сравнивая получаемые результаты с имеющимися сведениями.

Приведенные замечания не умаляют значимости и содержательности диссертационного исследования. Полученный обширный материал еще станет источником новых открытий.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.19. (03.02.13) – Почвоведение (биологические науки), а

также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова. Таким образом, соискатель Фарходов Юлиан Робертович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.19.(03.02.13) – Почвоведение (биологические науки).

Официальный оппонент

доктор биологических наук, доцент,
заведующий лабораторией
экологического почвоведения
кафедры географии почв
факультета Почвоведения
ФГБОУ ВО МГУ им. В.М. Ломоносова
Ковалева Наталия Олеговна



Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.00.27-Почвоведение (биологические науки)

Адрес места работы: 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12. Факультет Почвоведения

Контактные данные

Тел.: +7 (495) 239-22-89; e-mail: natalia_kovaleva@mail.ru

тел.: +7-903-510-61-41

« 15 » декабрь 2022 г.

