МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М. В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Суздалева Ангелина Владимировна

Структура порового пространства в системе «почва – растение – микроорганизмы» (модельные эксперименты)

4.1.5. Мелиорация, водное хозяйство и агрофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2022

Работа выполнена на кафедре физики и мелиорации почв факультета почвоведения МГУ имени М. В. Ломоносова

Научный руководитель	*Шеин Евгений Викторович*, доктор биологических наук, профессор
Официальные оппоненты	*Степанов Алексей Львович,* доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова», факультет почвоведения, заведующий кафедрой биологии почв *Зинченко Сергей Иванович*, доктор сельскохозяйственных наук, ФГБНУ «Верхневолжский федеральный аграрный научный центр», заведующий отделом агрофизики почвы, заместитель директора по научной работе *Клюева Валерия Валерьевна,* кандидат биологических наук, ФГБНУ ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», отдел физики, гидрологии и эрозии почв, научный сотрудник

Защита диссертации состоится «13» декабря 2022 г. в 17 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МГУ.015.2 Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова по адресу 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ имени М. В. Ломоносова, биологический факультет, аудитория М2.

E-mail: nvkostina@mail.ru, тел.: 8 (495) 939 35 46

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М. В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: https://istina.msu.ru/dissertations/507525497/

Автореферат разослан «09» ноября 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук Костина Н. В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность

Поровое пространство почвы является как проводящей системой для воды, воздуха и веществ, так и их депозитарием. Кроме того, поровое пространство является почвенным объемом, в котором растут корни растений и обитает почвенная биота. Взаимодействия в этой сложной системе «почва – растение – микроорганизмы» и ее функционирование являются предметом интереса широкого круга исследователей с целью улучшения роста и продуктивности растений. В поровом пространстве происходят процессы, определяющие основные биосферные функции почв (круговорот воды, газов, веществ), рост корневых систем растений и функционирование почвенной биоты. Большое значение в этих процессах имеет плотность и пористость почвы и ее агрегатов (Качинский, 1965; Кауричев, Гречин, 1969; Ревут, 1969; Воронин, 1984, 1986; Шеин, 2005; Tracy et al., 2012; Tracy et al., 2015;). В переуплотненной почве ухудшается баланс воздуха и воды, что при прорастании семян может приводить к появлению ослабленных ростков и/или к их гибели и, в конечном счете, снижению урожайности с-х культур (Медведев, 1988; Белоусов, 2020; Petrovic et al., 1982, George et al., 2014; Suzdaleva et al., 2021). Кроме того, поровое пространство почв является местообитанием микроорганизмов, создающих почвенную экосистему (Верховцева и др, 2008; Carson et al., 2010; White et al. 2013; Suzdaleva et al., 2021; Rabbi et al.,2016), поэтому вопросы формирования структуры порового пространства почв в системе «почва – растение – микроорганизмы» являются актуальными.

Исследование мезоморфологии почв и биологических свойств системы «почва – растение – микроорганизмы» современными методами (томография и хромато-масс-спектрометрические методы) позволяют значительно расширить знания о динамике пористости почв (ее реальных физических величин) при формировании корневой системы на начальном этапе развития растения из семени (Richards, Passioura, 1989; Mooney et al., 2012; Chimungu et al., 2015; Atkinson, 2019; Maqbool et al., 2022).

Степень разработанности темы исследования

Почвенная структура как базовое агрофизическое свойство почвы и структура порового пространства как неотъемлемая часть почвенной структуры на сегодняшний день исследуется комплексно, благодаря заслугам отечественных и зарубежных почвоведов (А.Д. Воронин, П.В. Вершинин, С. А. Захаров, Е.В.Шеин, W. Kubiëna, R. Brewer, Dexter; Lal и др.). Ряд авторов рассматривает структуру почвы как отношение размера, формы и расположения твердых частиц и пустот (пор), непрерывности пор и способность последних удерживать и пропускать жидкость, органические и неорганические вещества, способность поддерживать активный рост и развитие корней (Lal, 1991). Современное понимание структуры почвы и её неотъемлемой части – структуры порового пространства – связано с работами Сергеева, 1971; Умаровой, 2011; Скворцовой, 2013; Зайдельмана, 2017; Bacq-Labreuil A. et al., 2018; Kleber M. et al., 2021; Totsche et al., 2010; Juyal et al., 2019; Vogel et al., 2022.

Фундаментальные и прикладные вопросы взаимодействия почвенных агрегатов и корневых систем растений остаются одними из самых актуальных в почвоведении, сельском хозяйстве. (Вершинин и др., 1959; Карпачевский, 2012; Hochholdinger, 2004; Hochholdinger, 2008, Péret 2009; Zobel, 2010; Hamada et al., 2012; Bao 2014; Metzner. 2014; Dinneny, 2019). Использование томографического метода значительно расширило возможности проведения научных исследований в данном направлении, хотя в начале его применения почвенная структура (Sasov, 1987; Anderson et al, 1992; Lynch, 1995; Bonser, 1996) и корневая архитектура (Watanabe et al., 1992; McNeill and Kolesik, 2004 ; Kaestner et al., 2006) изучались отдельно друг от друга, и только в начале 21-го века появились комплексные исследования системы «почва – растение» (Mooney, 2002; Pires et al, 2010; Helliwell et al. 2013).

Получение трехмерных реконструкций почв с ненарушенной структурой позволило многим авторам изучить состояние корневых систем при различных воздействиях (Bonser, 1996; Hodge, 2004; Bao, 2014; Péret, 2014; Rogers,2016; Khare, 2017; Dinneny, 2019), отследить влияние корневой системы на почвенную структуру и функции почв (Dorioz et al., 1993; Aravena, 2014; Mao 2015; Koebernick et al., 2017; Yang, 2017; Zhang, 2019; Helliwell, 2019; Koebernick, 2019; Phalempin et al., 2021), в том числе при стимулировании развития специфического микробиома (Golchin, 1994; Czarnes, 2000; Gregory, 2006; Feeney, 2006; Zhang, 2021).

Однако для полного понимания и управления структурой порового пространства важно совместное изучение почвенной структуры и деятельности микроорганизмов (Hou et al., 2022). Такую возможность дает использование (дополнительно к томографии) метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС): качественное и количественное определение маркерных веществ микроорганизмов (жирных кислот, альдегидов, спиртов, стеринов и др.) непосредственно в исследуемом материале (Верховцева и др., 2015). Метод имеет широкое применение не только в почвоведении (Пашкевич, 2004; Селиверстова и др., 2008; Селиверстова, Верховцева, 2011; Писанов, и др., 2020), но и в медицине (Полякова и др., 2021).

Цель и задачи исследования

Цель работы – изучить закономерности динамики структуры порового пространства почв, корневых систем проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и состава микробного комплекса в пахотном горизонте серой лесной, дерново-подзолистой почвы и чернозема южного в процессе прорастания семян в модельном физическом эксперименте с помощью современных методов (томография и хромато-масс-спектрометрический методы).

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. В краткосрочных (12 сут) физических модельных экспериментах по прорастанию корневой системы семени ячменя (*H. vulgare* L.) изучить изменение структуры порового пространства исследуемых почв, динамику объемов пор различного диаметра.
2. Исследовать количественные закономерности роста и распределения корней разного диаметра в период формирования корневой системы совместно с динамикой распределения пор по размерам.
3. Изучить состав почвенной биоты и закономерности его изменения в процессе роста и развития корневой системы на образцах трех тяжелосуглинистых почв.

Эти задачи решались экспериментально на примере физической модели системы «почва – растение – почвенные микроорганизмы», направленной на динамические исследования структуры порового пространства почв, формирования корневой системы и особенности состава сообщества почвенных микроорганизмов в процессе прорастания и формирования архитектуры корней растений ячменя (*H. vulgare* L.) в первые 12 сут после посева.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное исследование трансформации порового пространства семенного ложа в период начального развития (с 1-х по 12-е сут) корневой системы ячменя. Получены количественные характеристики порового пространства (параметры томографической пористости, распределения пор по размерам и др.) исследуемых почв (при влажности почвы близкой к наименьшей влагоемкости (НВ) и при прорастании корней ячменя (*H. vulgare* L.).

Впервые на реальных почвенных объектах с помощью последовательных томографических исследований показано изменение структуры (объемов и диаметров капилляров) порового пространства исследуемых почв, рост корней разного диаметра в период формирования корневой системы.

Показано, что биологический фактор вступает в активное взаимодействие со структурой порового пространства, проявляя максимум трансформационной активности к 7-м сут, на что указывает максимальное количество численности микроорганизмов и увеличение доли тонких корней к этому моменту.

Изучен состав почвенной биоты в указанных образцах почв и его динамика в процессе роста, развития корней и формирования корневой ризосферы. Доминирующими филумами на протяжении всего периода развития корневой системы являлись Actinobacteria и Proteobacteria, описано специфическое сообщество бактерий с активным гидролитическим комплексом в отношении сложных углеводов. Показана существенная роль анаэробной составляющей почвенной биоты.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные в работе результаты могут быть использованы при комплексном анализе формирования почвенной структуры, создании методик совместного томографического изучения порового пространства почв и корневой системы растений. В процессе разработки и проведения модельного физического опыта были обоснованы методические основы томографических экспериментальных исследований и расчетов порового пространства почв, динамики прорастания семян и развития корневой системы зерновых сельскохозяйственных культур; методические особенности численных расчетов (объемы и диаметры развивающихся корней) и количественных наблюдений за ростом и развитием корневой системы с помощью томографического метода, а также закономерности динамики микробиологического состава околосеменного пространства почв, в котором характерным является преобладание микробного комплекса с целлюлозолитической активностью.

Знания, полученные при проведении данного исследования, могут быть полезными в области сельского хозяйства при разработке методов, направленных на улучшение агрофизический условий начального роста и дальнейшего развития корневых систем растений.

Методология и методы исследования

В основу исследований положен системный подход, теоретической основой которого являлись идеи и принципы изучения структурной организации почв, изложенные в трудах А.Г. Дояренко (1924), П. В. Вершинина (1959), Н.А. Качинского (1965), И.Б. Ревута (1969), А.Д. Воронина (1984), Е.В. Шеина (1988, 2005), Dexter A. R. (1988), Lal R. (1991), А.Б. Умаровой (2011)

в сочетании с современными подходами к исследованию структуры порового пространства почв и современными микробиологическими методами анализа. Систематизацию и обобщение накопленного экспериментального материала проводили математическими методами в пакете программ MS Excel и STATISTICA.

Защищаемые положения

1. По мере роста корневой системы ячменя (*H. vulgare* L.) тренд на увеличение доли макропор наблюдался во всех трех зональных тяжелосуглинистых почвах до 7-х суток, особенно – в черноземе южном. В дальнейшем в серой лесной почве отмечался тренд на увеличение доли мезопор, а в черноземе южном и дерново-подзолистой почве – макропор.

2. Закономерности распределения диаметров корней ячменя схожи для всех почв – максимальное количество корней (35–50 %) имели одинаковый размер в диапазоне диаметров 0,2–0,6 мм, причем в серой лесной почве к концу эксперимента рост доли тонких корней диаметром 0,07–0,16 мм согласуется с увеличением количества мезопор.

3. В процессе роста корневой системы ячменя в почве семенного ложа доминируют целлюлозолитические микроорганизмы одновременно со снижением объема семени, подтверждаемым томографической съемкой.

Степень достоверности, апробация результатов и публикации

Все полученные экспериментальные результаты являются оригинальными, воспроизводимыми, их достоверность определяется достаточным объемом исследований, обработкой общепринятыми статистическими методами. Результаты были представлены на шести научных конференциях. Степень достоверности подтверждается публикациями в рецензируемых научных журналах.

По теме диссертации опубликовано 3 статьи в журналах, рекомендованных для защиты в МГУ имени М.В. Ломоносова и индексируемых базами Web of Science и Scopus, и 6 статей в других научных изданиях, в том числе в сборниках материалов конференций и тезисов докладов.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа общим объемом 164 страницы состоит из введения, 3 глав (обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения), заключения, выводов, списка литературы из 324 источников, 10 приложений, 16 таблиц и 38 рисунков.

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в подборе и анализе литературы по теме исследования, в разработке методики исследования, в проведении всех экспериментов, в интерпретации полученных данных. Автор описывал полученные результаты в печатных работах и представлял их на конференциях. В работах, опубликованных в соавторстве, основополагающий вклад принадлежит соискателю.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю профессору д.б.н. Евгению Викторовичу Шеину за мудрое руководство, ценные наставления и замечания, поддержку и консультации на всех этапах работы, кафедре физике и мелиорации почв факультета почвоведения за обсуждения и советы по работе, заведующей кафедрой А.Б. Умаровой, доценту к.б.н. М.А. Бутылкиной, к.б.н. А.В. Дембовецкому. Автор глубоко признателен профессору д.б.н. Верховцевой Надежде Владимировне, за введение во все тонкости проведения ГХ-МС исследования и консультирование по вопросам в области микробиологии. Отдельную благодарность автор выражает Константину Николаевичу Абросимову, с.н.с. отдела физики, гидрологии и эрозии почв «Почвенного института» им. В.В. Докучаева за помощь в организации и проведении экспериментов и обсуждении всех вопросов, возникающих в ходе работы. А также автор благодарит учителей,

коллег и соратников, к.б.н. Л.В. Галактионову, д.б.н. А.М. Русанова, д.б.н. Е.Б. Пашкевич, к.т.н. Н.В. Чухраева, к.б.н. А.А. Романычеву, П.С. Агудина, Н.В. Сорокину, д.б.н. Г.В. Харитонову, к.б.н. Н.В. Костину и многих других.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В первой главе подробно представлен литературный обзор по теме: рассмотрены современные представления о почвенной структуре и поровом пространстве почв, описан метод изучения структуры порового пространства с помощью компьютерной томографии с детальным рассмотрением морфометрических показателей для целей съемки почвенных объектов, проведен детальный анализ современных исследований зоны ризосферы, ее порово-структурных и микробиологических характеристик.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ[1]

Объектами исследования послужили агрегаты 5-3 мм пахотных горизонтов дерново-подзолистой, серой лесной почвы и чернозема южного, координаты и местоположение отбора проб приведены в Таблице 1.

В качестве биологического объекта использовали семена ячменя *H. vulgare* L. сорт Михайловский.

Таблица 1 – Характеристика почв.

Образец	Классификация по WRB 2014 г. (версия 2015 г.)	Координаты отбора образцов	Местность
Серая лесная	Albic Luvisols / Grey-Luvic Phaeozems	56°41'74" N, 40°42'67" E.	Суздальский р-н Владимирской обл.
Дерново-подзолистая	Albic Glossic Retisols (Lomic, Cutanic)	56°07'23" N, 37°48'16" E.	с. Ельдигино, Московская область
Чернозем южный	Calcic Chernozem	51°58′12″ N, 55°19′15″ E.	Соль-Илецкий р-н Оренбургской обл.

Методы исследования

Физическая модель семенного ложа

В данном исследовании изменен масштаб изучаемой системы в связи с особенностями использования томографа – его проникающей способностью, которая дает более точные результаты для малых почвенных образцов (Hou et al., 2022). Использовались пластиковые цилиндрические бюксы диаметром 1 см и

[1] Работа выполнена с привлечением оборудования центра коллективного пользования Почвенного института имени В.В. Докучаева.

высотой 4,5 см, что соответствует 5 сегментам вертикальной съемки, прозрачные для рентгеновских лучей микротомографа. В них помещались почвенные агрегаты (5–3 мм) таким образом, чтобы создать два слоя, различающихся по плотности почв. Нижний слой утрамбовывался поршнем до плотности 1,2 г/см^3, верхний слой состоял из агрегатов и не уплотнялся дополнительно (равновесная плотность – 0.8 г/см^3). На границе слоев располагалось семя ячменя (*H. vulgare* L.) сорта Михайловский. Объем почвенного образца составлял 2,5 см^3. При исследовании зерна в цилиндре большего диаметра доля поглощения почвы возрастет, соответственно возможность уверенного определения проростка зерна снизится, что приведет к невозможности количественно оценить объемы зерна, проростков и корневой системы. На Рисунке 1 представлены изображения моделей семенного ложа.

Рисунок 1 – Фото моделей семенного ложа в рентген-прозрачном бюксе: слева направо: бюксы контрольного и опытного вариантов, бюкс при томографическом испытании.

На протяжении всего эксперимента в почве поддерживалась оптимальная влажность, близкая к НВ для данной почвы. Именно такая влажность позволяет получить наилучшие результаты сегментации (Zappala et al., 2013) при томографировании объектов. Растения поливали сверху, избыток гравитационной воды свободно стекал через воронкообразное отверстие, после чего добавляли по 0,5 мл каждые 48 ч для поддержания воды на уровне, близком к НВ. Контроль влажности проводился с помощью взвешивания образцов. Температура в помещении составляла 26°С, прорастание семян происходило в условиях темноты.

Томографическая съемка, реконструкция и обработка объемных данных

На протяжении периода прорастания с 1-е по 12-е сут через равные промежутки времени проводилась томографическая съемка с помощью рентгеновского микротомографа «Bruker SkyScan 1172G» (Бельгия).

Параметры съемки и реконструкции для образца данного типа и диаметра неоднократно опробованы в ряде аналогичных исследований (Абросимов и др, 2019; Wildenschild, Sheppard, 2013; Müller et al., 2018; Skvortsova et al., 2018; Ivanov et al., 2019). Использованные нами параметры съемки и реконструкции в данном эксперименте указаны в Таблице 2. Они идентичны для всех задействованных в исследовании образцов с целью избежать методической ошибки при обработке данных. Время съемки для одного сегмента занимало 63 минуты. В процессе реконструкции и воссоздания объемной структуры с четко различимыми рентген-контрастными фазами удалось разделить почву, поровое пространство и биологические объекты (зерно с проростком и корнями). В нашем эксперименте цифровые шумы реконструированных изображений стали серьезной проблемой. Автоматическая сегментация фаз в таких условиях оказалась частично работоспособной: методом Оцу (Абросимов, 2021a; Otsu, 1979; Abrosimov, 2021a) успешно можно сегментировать только почву. Еще одним условием сложности являлась проблема малой плотности корней относительно твердой фазы почвы. По этой причине в исследовании использована ручная сегментация, что с высокой степенью достоверности позволило разделить перечисленные выше рентген-контрастные фазы примеры результатов в виде изображений представлены на Рисунке 2.

Таблица 2 – Параметры съемки и реконструкции томографической съемки для всех моделей семенного ложа с исследуемыми почвами.

Параметры съемки	Параметры реконструкции
Scanner=Skyscan1172	Reconstruction Program=NRecon
Hardware version=G	Program Version=Version: 1,7,4,6
Source Type=Hamamatsu 100/250	Result File Type=BMP
Camera=SHT 11Mp camera	Result Image Width (pixels)=2000
Camera Pixel Size (um)= 9,01	Result Image Height (pixels)=2000
Number of Files= 902	Pixel Size (um)= 7,92
Source Voltage (kV)= 70	Angular Step (deg)=0,4000
Source Current (uA)= 129	Smoothing=8
Number of Rows= 1332	Smoothing kernel=0 (Asymmetrical boxcar)
Image Pixel Size (um)= 7,92	Ring Artifact Correction=14
Filter= Al,0,5 mm	Draw Scales=OFF
Image Format=TIFF	Object Bigger than FOV=OFF
Exposure (ms)= 60	Threshold for defect pixel mask (%)=3
Rotation Step (deg)=0,400	Beam Hardening Correction (%)=100
Frame Averaging=ON (3)	Minimum for CS to Image Conversion=0,021363
Random Movement=ON (10)	Maximum for CS to Image Conversion=0,320439
Use 360 Rotation=yes	

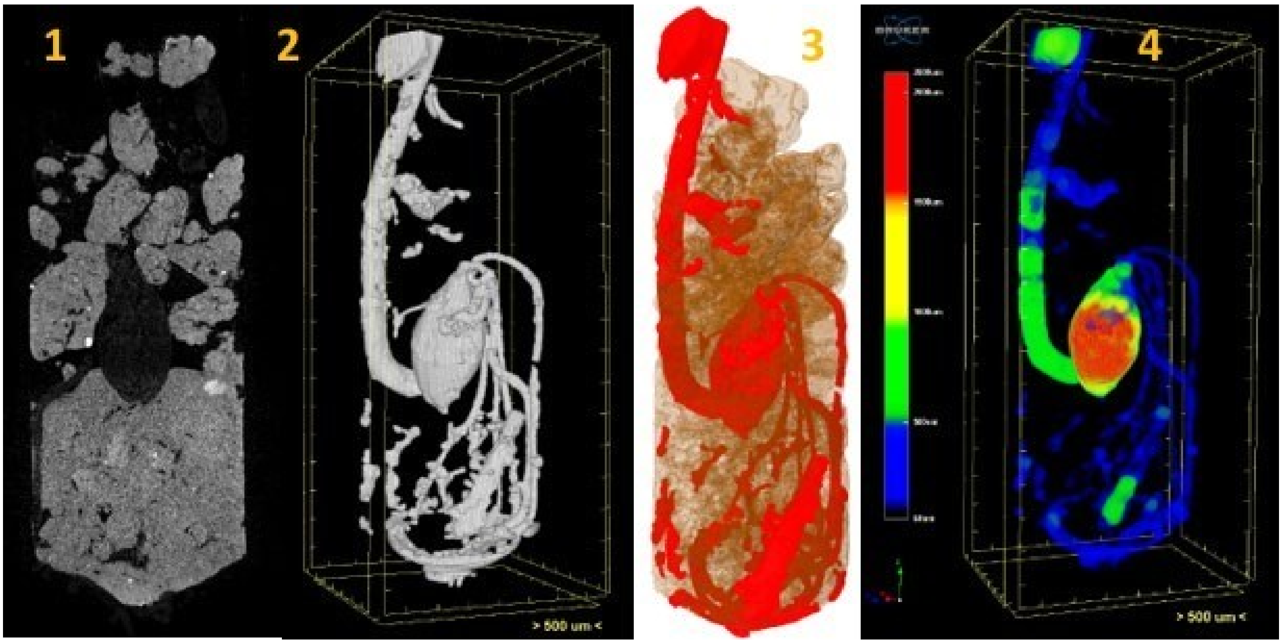
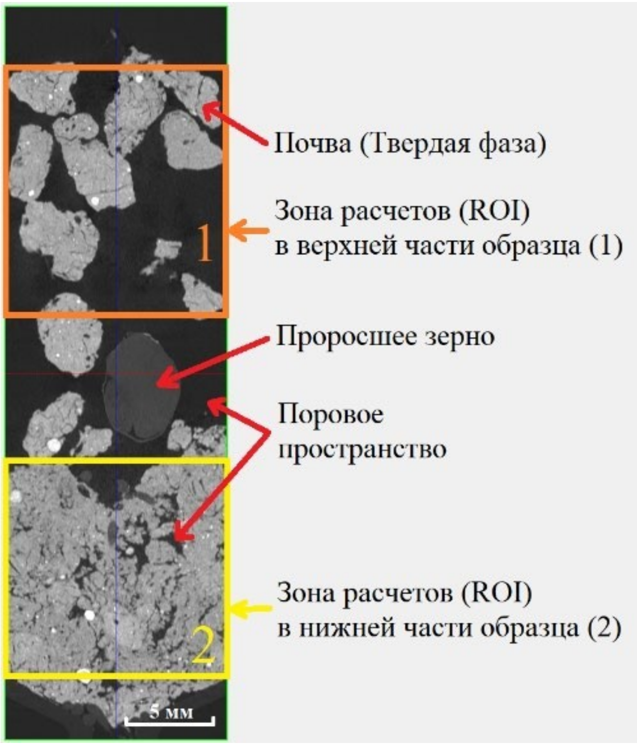


Рисунок 2 – Томографическое изображение проросшего зерна ячменя в почве. Слева направо: 1) вертикальный томографический срез в градациях серого (без сегментации фаз); 2) сегментация рентген-контрастной фазы соответствующая высокой концентрации органического вещества (проросшее семя); 3) взаимное расположение частиц твердой фазы (почвы) и органического вещества (проросшее семя), 4) толщина элементов проросшего зерна (распределение по локальной толщине).



Для выделения проростка и корневой системы использована последовательность сжатия изображения и ряда фильтров: Median, Despekcle (в 3D режиме) и бинаризация. Помимо визуализации объемной структуры проросшего семени, реконструированные томографические данные позволяют получить ряд объемных показателей – объем семени и корней, объем пор определенного диаметра на каждом этапе исследования при помощи программного обеспечения Bruker CT Analyzer (CTan). Зоны, для которых проводился расчет, показаны на Рисунке 3.

Рисунок 3 – Выделение зоны расчётов при анализе томографических изображений.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Характеристика объектов исследования

Контроль влажности почвы в образцах проводился на анализаторе влажности МХ-50 (Япония) и термогравиметрическим методом. Значения влажности были близки к величине наименьшей влагоемкости (НВ), характерной для используемых в опыте почв (Рисунок 4).

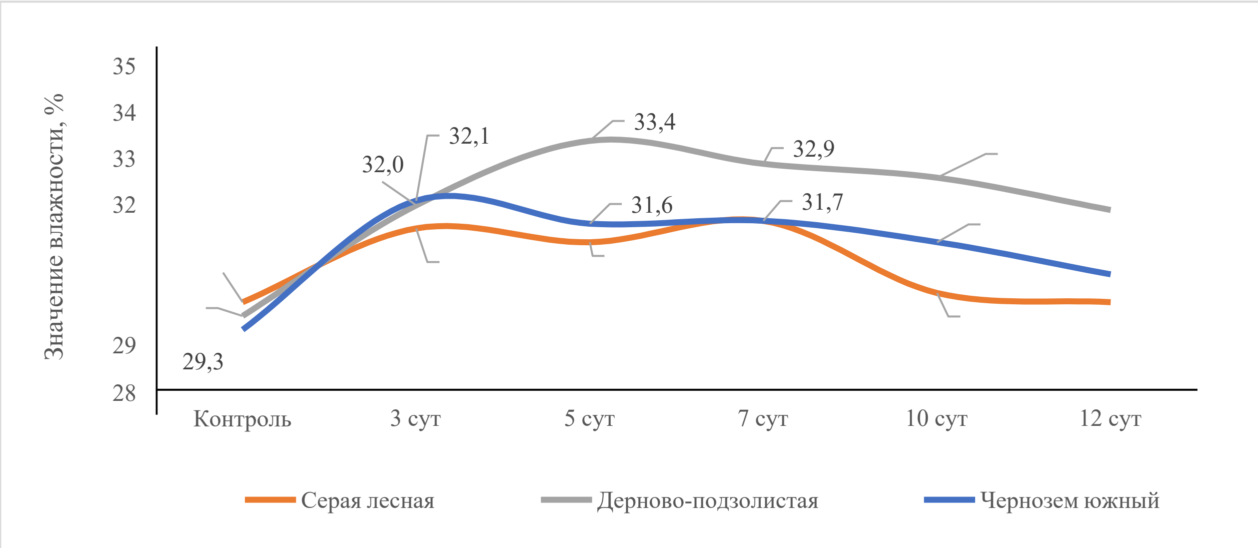
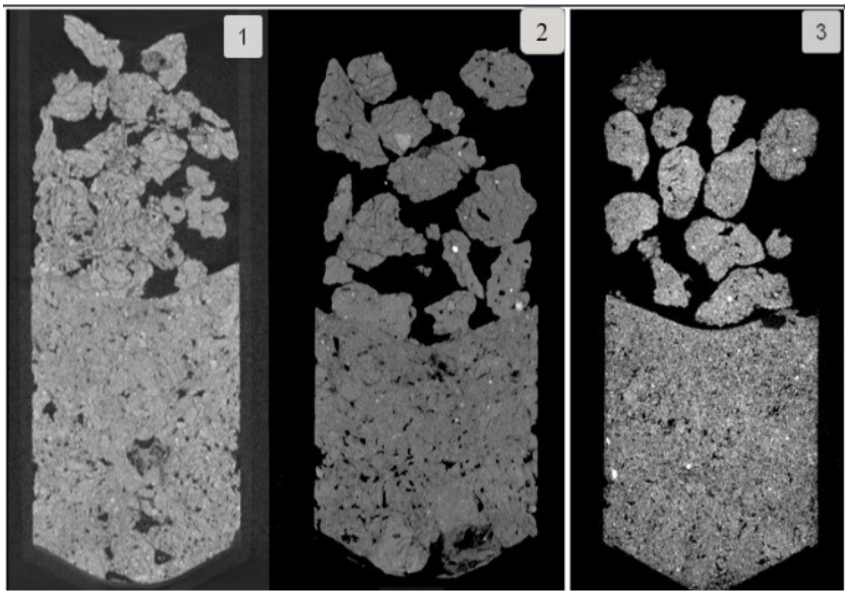


Рисунок 4 – Значения весовой влажности (%) в почвах, используемых в опытах моделей семенного ложа.



На Рисунке 5 представлены томограммы контрольных образцов моделей семенного ложа. Отчетливо различимы контрастные рыхлый надсеменной и искусственно уплотненный подсеменной слои.

Рисунок 5 – Контрольные образцы модельного семенного ложа, слева направо: 1) серая лесная почва, 2) дерново-подзолистая почва и 3) чернозем южный.

Томографическое изучение изменения порового пространства в моделях семенного ложа

Изменения в структуре порового пространства отслеживались по значениям коэффициента пористости и распределения объемов пор по размерам.

Коэффициент пористости, *е* [$см^3/см^3$] – это отношение объема пор образца к объему твердофазных частиц, не зависящее от влажности почвы, так как привязан к стабильному параметру Для расчета коэффициента пористости (определенного диаметра пор) объем пор и объем твердой фазы брались из томографических данных по пористости и объему твердой фазы (с учетом объема, занимаемого растением).

Изучение коэффициента пористости позволяет рассматривать поровое пространство и характеризовать распределение пор по размерам независимо от набухания (Шеин, 2005). В процессе увлажнения исследуемые типы почв набухают по-разному. Например, в черноземе южном набухание происходит сильнее, чем в дерново-подзолистой почве. Расчет коэффициента пористости предоставляет возможность сравнивать поровое пространство в разных типах почв.

Для дерново-подзолистой почвы характерны пики в области пор, диаметром от 0,1 мм – 0,6 мм на протяжении всего процесса проращивания, хорошо заметно, что на 12-е сутки коэффициент пористости больше, чем на предыдущие сутки.

В целом для серой лесной почвы наиболее стабильным остается распределение пор в диапазоне мезопор на протяжении всего периода роста ячменя. По мере прорастания семени в семенном ложе на серой лесной почве наблюдается перераспределение пор в области наибольших и наименьших диаметров пор. График для контрольного образца лежит ниже остальных линий, соответствующим дням прорастания ячменя. Поры до 0,1 мм с 3-х по 7-е сут имеют близкие значения коэффициента пористости. Максимумы сохраняются для одинаковых диапазонов. На 10-е и 12-е сутки максимум смещается в сторону более тонких пор.

Для семенного ложа на черноземе южном максимумы для коэффициента пористости по мере прорастания семени смещены в сторону большего размера пор, а в контрольном образце – наоборот, максимум смещен в сторону наименьших значений размеров пор. По виду графиков распределения коэффициента пористости можно говорить о том, что по мере прорастания семени в черноземе южном увеличивается поровое пространство, представленное крупными порами. Этот вывод справедлив как при сравнении с контрольным образцом, так и при сравнении распредеделения пор семенного ложа в динамике.

На Рисунке 6 представлены зависимости коэффициента пористости (е, в долях от единицы) для пор различного диаметра (диаметр, мм).

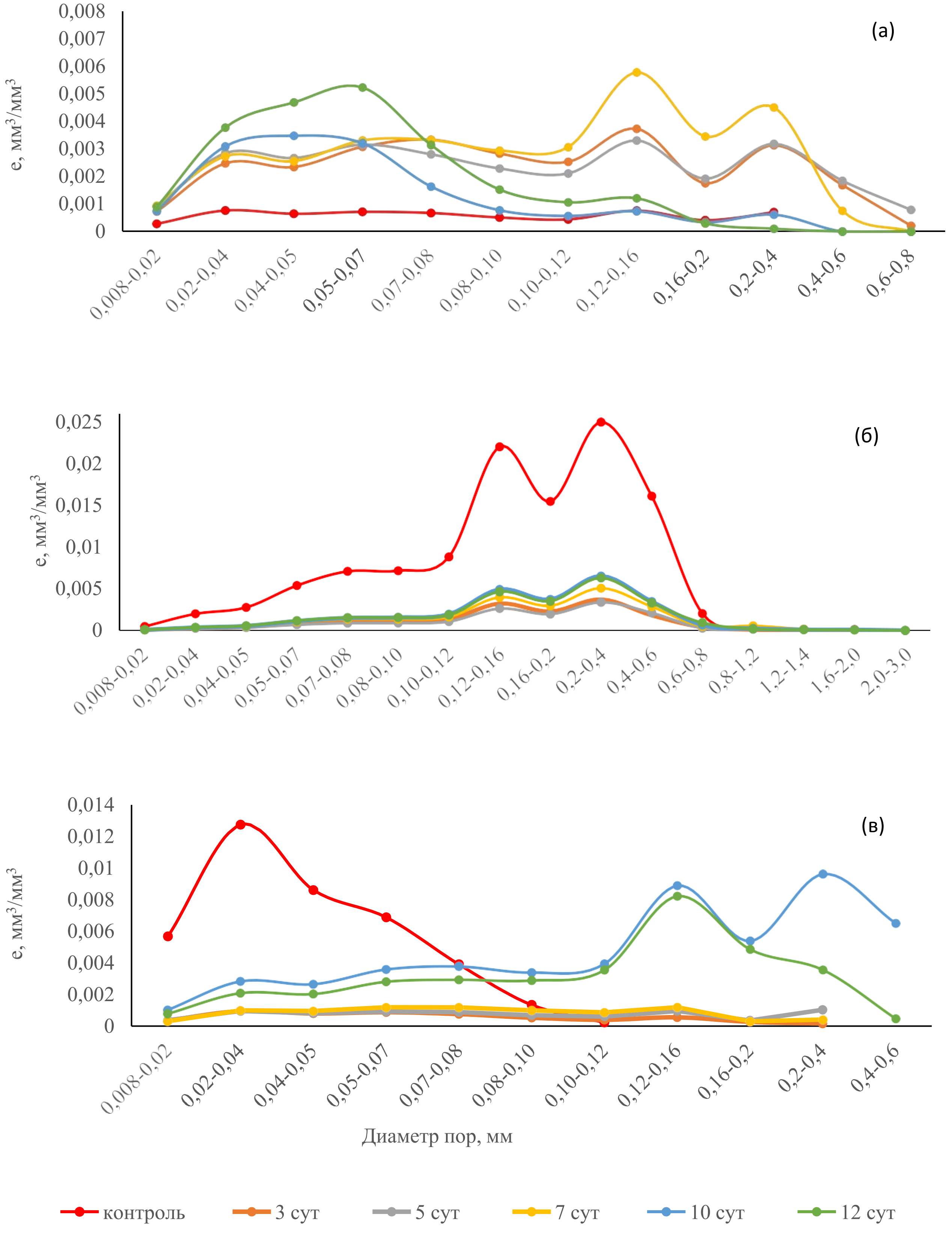


Рисунок 6 – Изменение коэффициента пористости *e* (мм^3 пор почвы/мм^3 твердой фазы почвы) в соответствии с диаметром пор (мм): а) серая лесная почва, б) дерново-подзолистая почва, в) чернозем южный.

Для всех изученных типов почвы коэффициент пористости реагирует на изменение порового пространства, прослеживаются пиковые значения для одних и тех диаметров пор, что указывает на схожие процессы распределения пор в поровом пространстве по мере роста семени. Однако исходное распределение пор по размерам может оказывать существенное влияние на динамику коэффициента пористости (как в дерново-подзолистой почве), что указывает на важную роль этой почвенно-физической характеристики (распределения коэффициента пористости по диаметрам и его первоначальная динамика). Характер динамики распределения пор по мере развития корневой системы подробнее рассмотрен в следующем разделе.

На графиках распределения пор по размерам (Рисунок 7) поровое пространство в подсеменном слое представлено за 100%. Диаграммы показывают какой процент порового пространства представлен порами определенного размера, Такая форма количественного представления данных возможна благодаря единовременным и одноразмерным данным, полученным в ходе обработки томографических снимков, и встречается у других авторов (Oliveira et al., 2020). На графике с дифференциальным распределением каждый временной этап обозначен соответствующей линией. В таком варианте представления данных удобно проследить распределение пор в образце за одни конкретные сутки.

На начальном этапе прорастания корневой системы ячменя (*H. vulgare* L.) наибольший объем порового пространства исследуемых почв приходился на поры, диаметром от 0,1 до 0,4 мм, в отличие от контрольных образцов без воздействия корневой системы. В контрольных образцах в серой лесной почве около 48% приходится на макропоры, а в дерново-подзолистой почве – 84% , а в черноземе южном 46% и 39% приходятся на микро- и мезопоры соответственно. В дальнейшем, до 7-х суток увеличивается доля более крупных пор во всех трех исследуемых почвах, В последствие в серой лесной почве на 10-е и 12-е сутки более 50% порового пространства занято мезопорами. В дерново-подзолистой почве тренд распределения пор сохраняется с 3-х по 12-е сут с увеличением доли тонких макропор. В черноземе южном доля тонких макропор постоянно увеличивается, достигая пика к 10–12-м сут.

Подробно изменение коэффициента пористости для пор определенного диаметра и распределение пор по размерам описано в разделах диссертации 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3.

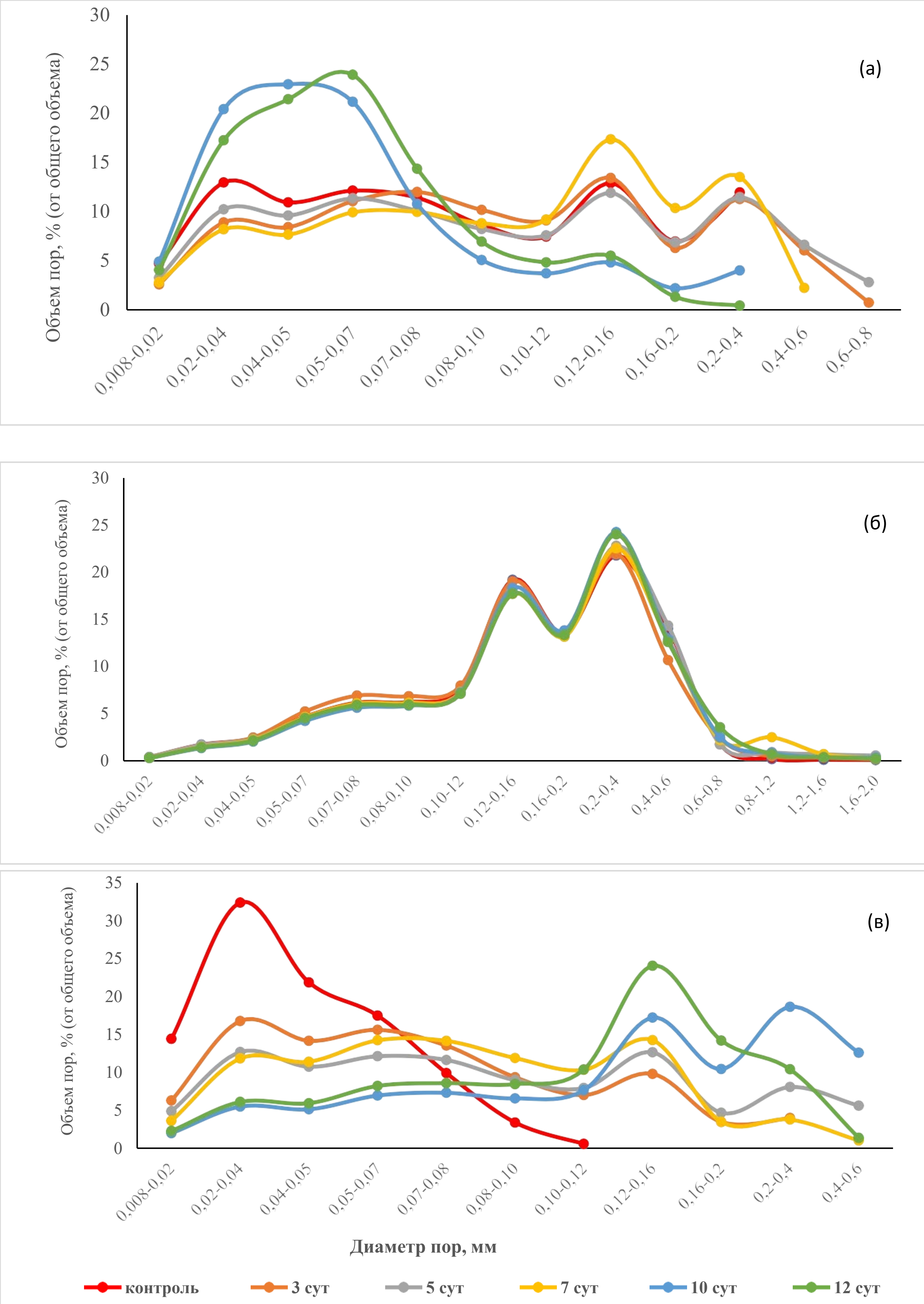


Рисунок 7 – Распределение пор по размерам (в % от общего объема пор). а) серая лесная почва, б) дерново-подзолистая почва, в) чернозем южный.

Исследование формирования корневой системы прорастающего семени при одновременном томографическом контроле динамики порового пространства почв

Исследование томографических данных для корневой системы заключалось в изучении распределения корней по диаметрам (по толщине). На графиках за 100% принят объем всех корней растения, находящихся в зоне съемки в определенные сутки, каждая линия, обозначающая временной период имеет соответствующий цвет, на оси абсцисс отмечены величины толщины/диаметров корней, а на оси ординат – доля от объема корня.

Томографические исследования корневой системы показали, что наибольший объем корневой системы представлен корнями, толщиной от 0,2 мм до 0,6 мм. Начиная с 7-х суток, увеличивается доля тонких корней диаметром меньше 0,2 мм. В черноземе южном толщина корней достигает 0,9–1 мм в диаметре, в серой лесной и дерново-подзолистой – до 1,4 мм в диаметре, что продемонстрировано на Рисунке 8. Отметим, что в серой лесной почве (Рисунок 8 а) на 12-е сут среди корней больше тех, что диаметром от 0,07–0,2 мм (график выше), чем во всех других почвах.

Структура микробного сообщества почв в модельном семенном ложе серой лесной, дерново-подзолистой почвах и черноземе южном

Оценка биоразнообразия микробиологического сообщества методом ГХ-МС показала, что он включает 36 видов в серой лесной почве, 38 видов – в дерново-подзолистой почве, 37 видов – в черноземе южном, принадлежащих к пяти филумам – Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Cyanobacteria (Рисунок 9) во всех типах почвы доминировали филумы Actinobacteria и Proteobacteria, как по численности, так и по биоразнообразию.

Среди всех филумов в наибольшем количестве были представлены анаэробно-аэробные виды с активным комплексом целлюлозолитических ферментов.В первый этап (в пределах 2-х недель) прорастания семени численность и состав почвенной биоты подвергалась динамическим изменениям, протекающим физиологически согласованно с процессом прорастания. Показанное на томографической съемке снижение объема семени за период с 3-х по 12-е сутки (Рисунок 10) происходило при постоянном доминировании в сообществе микроорганизмов – «активных гидролитиков» (Таблица 3), разлагающих сложные органические соединения (оболочку семени) – в аэробных условиях в дерново-подзолистой и анаэробных в серой лесной и черноземе южном. При этом суммарная численность бактерий увеличивалась к 5-м суткам в дерново-подзолистой и на 7-е сутки в остальных почвах. В последующие сутки она снижалась, что связано, по-видимому, с окончанием разрушения оболочки семени.

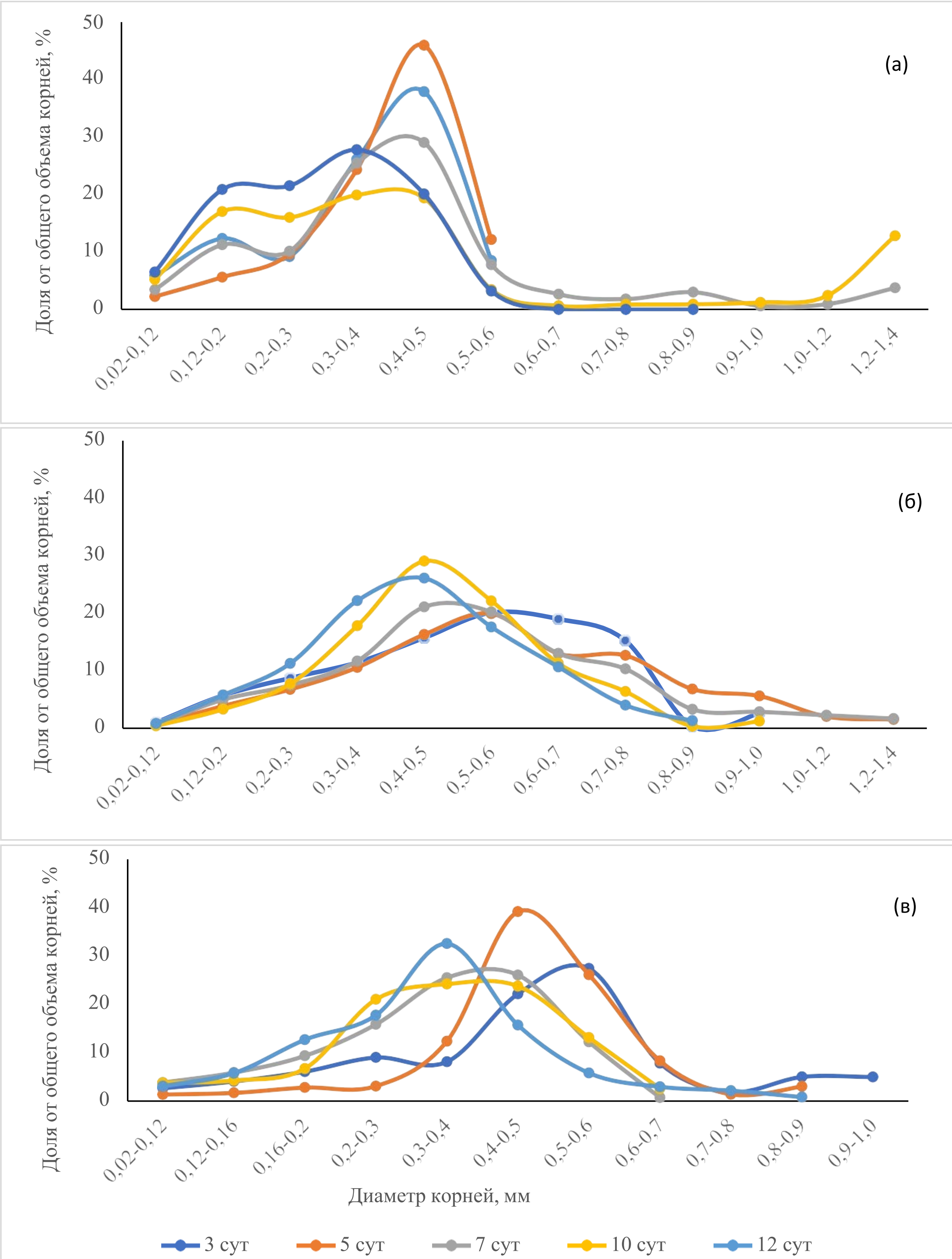


Рисунок 8 – Распределение толщины корней ячменя в разные периоды прорастания.
а) серая лесная почва, б) дерново-подзолистая почва, в) чернозем южный.

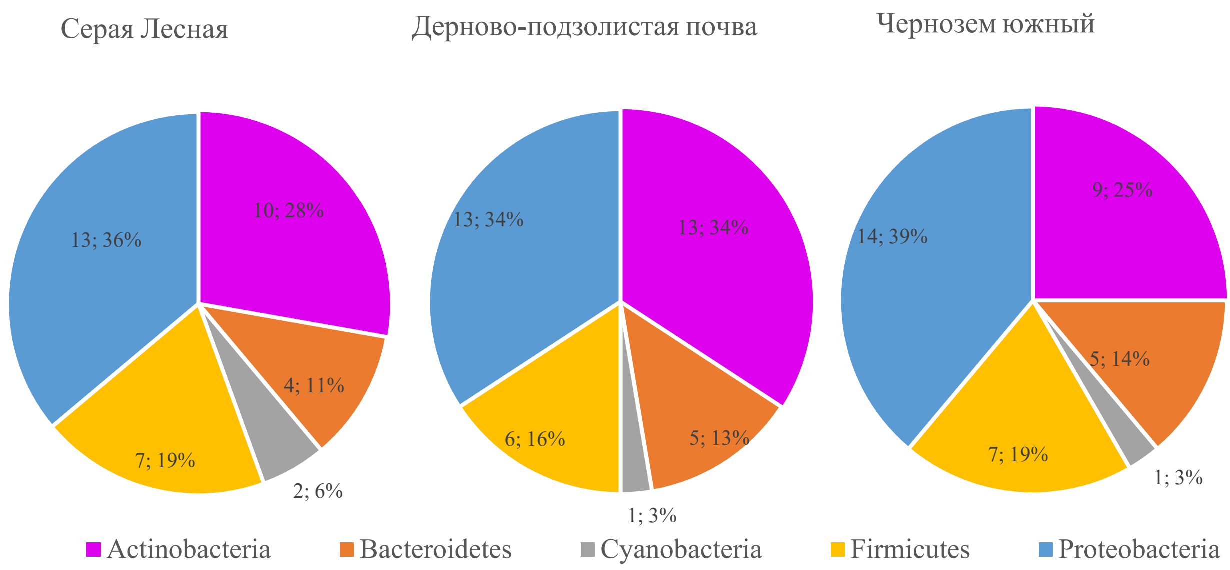


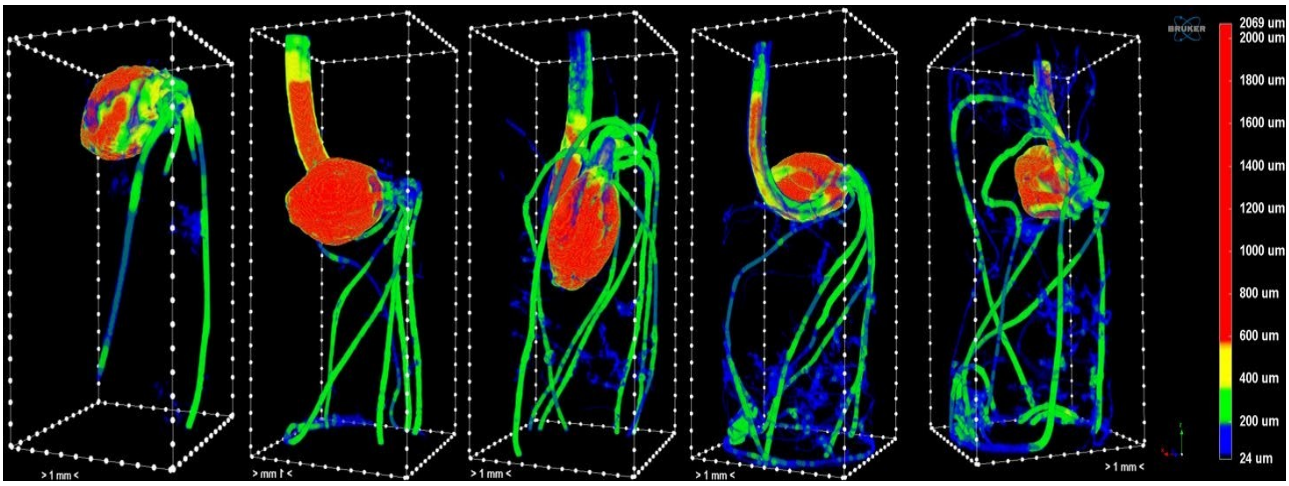
Рисунок 9 – Биоразнообразие микробиологического сообщества в исследуемых почвах, количество видов и в %.

Таблица 3 – Некоторые виды целлюлозолитических микроорганизмов, представленных в наибольшем количестве в почвах модельного семенного ложа.

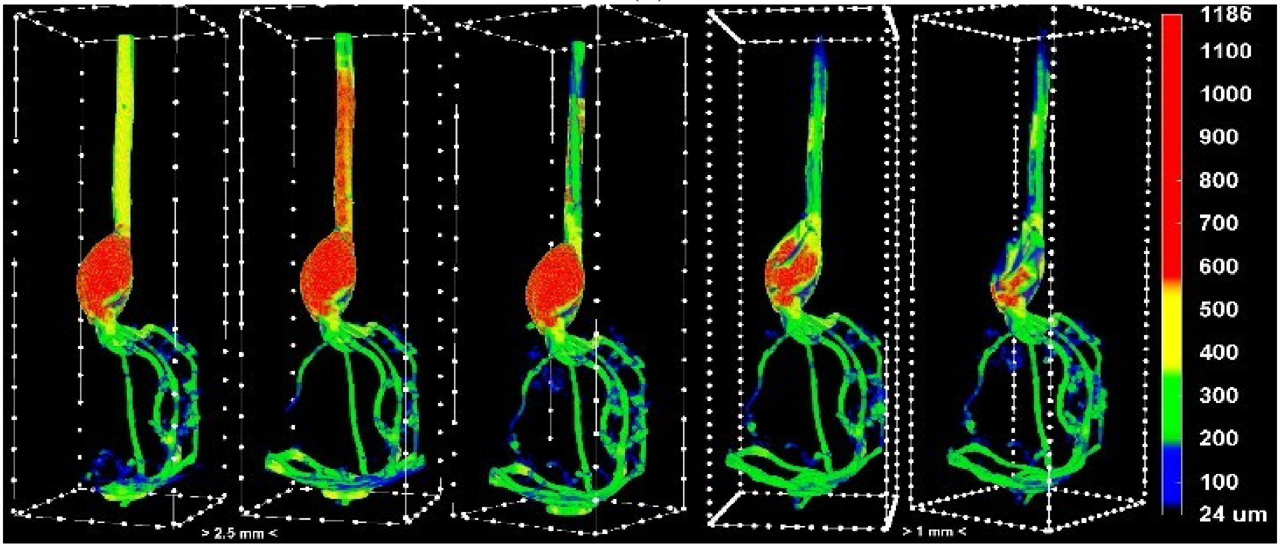
Филум	Серая лесная почва	Дерново-подзолистая	Чернозем южный
ACTINOBACTERIA	*Propionibacterium jensenii* *Pseudonocardia* sp. *Rhodococcus equi*	*Propionibacterium jensenii* *Cellulomonas sp.* *Rhodococcus equi* *Pseudonocardia* sp.	*Propionibacterium jensenii* *Pseudonocardia* sp. *Rhodococcus equi*
PROTEOBACTERIA	*Desulfovibrio* sp. *Aeromonas hydrophila*	*Desulfovibrio* sp.	*Desulfovibrio* sp. *Aeromonas hydrophila*
BACTEROIDETES	*Bacteroides ruminicola* *Cytophaga* sp.	*Bacteroides ruminicola* *Cytophaga* sp.	*Bacteroides ruminicola* *Cytophaga* sp.

Подробному описанию структуры микробиологического сообщества посвящен раздел диссертации 3.3 Структура микробного сообщества почв в модельном семенном ложе серой лесной, дерново-подзолистой почвах и черноземе южном.

(а)



(б)



(в)

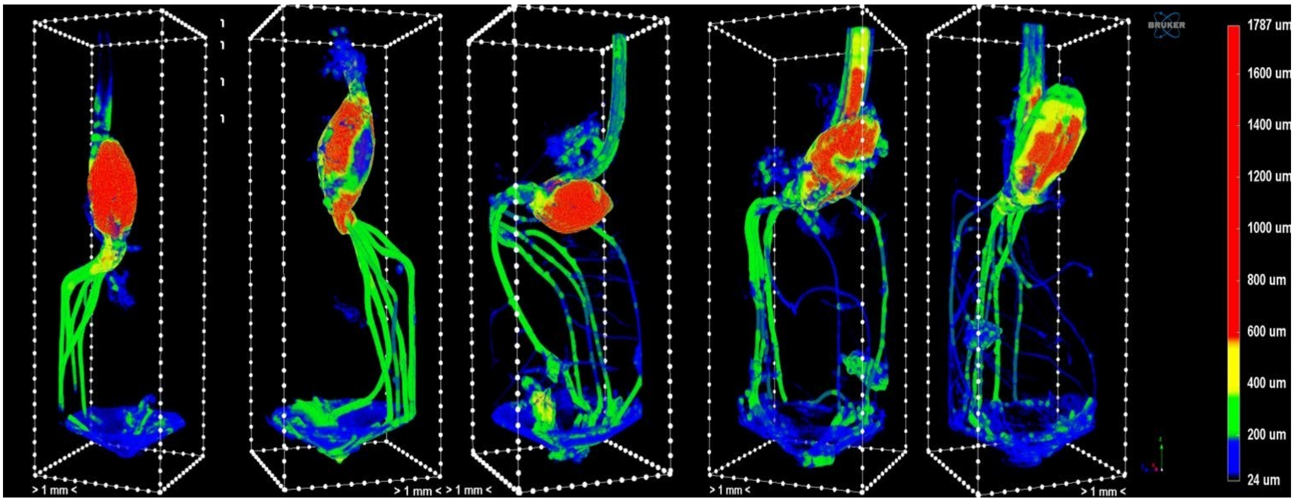


Рисунок 10 – Динамика роста ячменя в семенном ложе – карта локальной толщины а) серая лесная почва, б) дерново-подзолистая почва, в) чернозем южный.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе показано, что в процессе эксперимента происходит взаимообусловленное изменение биотических и абиотических компонентов системы «почва – растения – микроорганизмы», выделяются определенные стадии их развития, связанные с динамикой распределения объемов почвенных пор по размерам, объемов корней разного диаметра, состава микробиологического сообщества и его численности. Отмечено, что к 7-м суткам происходит перераспределение диаметров корней – в этот период появляются наиболее тонкие корни; меняется характер распределения пор; изменяется численность микроорганизмов – достигает пика и позже снижается. По-видимому, этапность формирования системы «почва – растения – микроорганизмы» обусловлена взаимосвязанными изменениями во всех трех составляющих системы, взаимно контролирующих и участвующих в формировании всего консорциума.

В дальнейшем, опираясь на взаимообусловленность развития всех трех составляющих, возможно определить этапы и траекторию развития системы в целом, на основе апробированных в данной работе методов. Эти знания необходимы для разработки инженерных агросистем, которые основываются на понимании природных взаимодействий. Существующая на сегодняшний день проблема масштабирования ставит вопросы о возможности применения экспериментальных результатов данного исследования в условиях сельскохозяйственного производства, в масштабах поля. Первым шагом для решения вопросов в этом направлении автор видит в продолжении исследования модельных и нативных образцов указанной системы с увеличением размера образца с сохранением должного качества томографической съемки. Кроме того, актуальным может быть использование разработанного и апробированного дизайна лабораторного эксперимента для моделирования разных сценариев почвенных и внешних условий для исследования развития системы «почва – прорастающее семя растения – микроорганизмы».

ВЫВОДЫ

1. На начальном этапе (до 12-х сут) формирования корневой системы ячменя (*H. vulgare* L.) наибольший объем порового пространства исследуемых почв был представлен порами диаметром от 0,1 до 0,4 мм. В контрольных образцах (без корневой системы) в серой лесной почве около 48% приходилось на очень тонкие макропоры (0,08–0,4 мм), в дерново-подзолистой почве – 84% (0,08–1 мм), а в черноземе южном 46% и 39% приходилось на микро- и мезопоры соответственно (0,008–0,04 мм и 0,04–0,08 мм). В черноземе южном доля макропор постоянно увеличивалась в процессе опыта с 33% на 3-и сутки до 68% на 12-е сутки. Увеличение доли макропор происходило во всех указанных типах почвы до 7-х суток. На 10-е и 12-е сутки в серой лесной почве более 50% порового пространства было занято мезопорами (0,04–0,08 мм); в дерново-подзолистой почве характер распределения пор с увеличением доли макропор (0,08–2 мм) сохранялся с 3-их по 12-е сут; в черноземе южном доля тонких макропор (0,08–1 мм) постоянно увеличивалась, достигая максимума к 10–12-м сут.

2. Корневая система ячменя (*H. vulgare* L.) во всех трех типах почв представлена в основном корнями, диаметром от 0,2 до 0,6 мм. В серой лесной почве, начиная с 7-х суток, появлялись корни диаметром от 0,7 до 1,4 мм, а на 10-е и 12-е сутки доля относительно тонких корней 0,1–0,4 мм выше, как в сравнении с другими этапами в серой лесной почве, так и в сравнении с другими почвами. В дерново-подзолистой почве с 3-х по 7-е сут максимум корней приходился на диапазон 0,4–0,6 мм, на 10-е и 12-е сут – 0,4–0,5 мм. Максимальные доли толщины корней ячменя в черноземе южном: к 3-м сут – 0,5–0,6 миллимметровые корни составляли 27%, на 5–7-е сут – 0,4–0,5 миллиметровые корни достигали 39–26%, на 10–12-е сут – 0,3–0,4-х миллиметровые корни составляли 24–32%.

3. В составе микробного сообщества в почвах модельного семенного ложа в начальный период прорастания ячменя (*H. vulgare* L.) доминируют представители филогенетических групп Actinobacteria и Proteobacteria. Во всем микробном сообществе наибольшую численность составляют аэробно-анаэробные микроорганизмы, обладающие комплексом целлюлозолитических ферментов, способствующих разложению сложных органических соединений, а также обладающие антагонистической активностью к фитопатогенам. Максимальная численность микроорганизмов отмечалась на 5–7-е сут прорастания ячменя, что согласно результатам томографической съемки соответствует периоду активного уменьшения объема прорастающего семени и совпадает по срокам с появлением тонких боковых корней. В этот же период происходит изменение в распределении пор по размерам.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, входящих в базы RSCI, Web of Science и/или Scopus и рекомендованных к защите в МГУ имени М.В. Ломоносова:

1. **Суздалева А.В**., Шеин Е.В., Абросимов К.Н., Дембовецкий А.В. Структура порового пространства почв, прорастающих корней и микробного сообщества в консорциуме «почва-растения-микроорганизмы» в почвах модельного семенного ложа ячменя // Проблемы агрохимии и экологии. – 2022. – №2. – С.45-50. IF (РИНЦ): 0,467 DOI: 10.26178/AE.2022.19.44.001
2. **Суздалева А.В.,** Верховцева Н.В., Абросимов К.Н., Романычева А.А. Физико-томографическая характеристика и структура бактериального сообщества агрофизической системы прорастающие корни–поровое пространство почв (модельные физические экспериментальные исследования) // Почвоведение. – 2021. – Т. 55. – №. 9. – С. 1124-1132. IF (РИНЦ): 2,601 DOI: 10.31857/S0032180X21090112
[Suzdaleva A. V., Verkhovtseva N.V., Abrosimov K.N., Romanycheva A.A. Physical-Tomographic Characteristics and Structure of Bacterial Community of the Agrophysical System "Germinating Roots—Pore Space of Soils" (Physical Model Experiment) //Eurasian Soil Science. – 2021. – Т. 54. – №.9. – С. 1410-1417. IF (WoS): 1.374 DOI: 10.1134/S1064229321090118]
3. Шеин Е.В., Верховцева Н.В., **Суздалева А.В**., Абросимов К.Н. Рентгеновская компьютерная томография структуры корней и динамика почвенной биоты на ранних стадиях роста ячменя (*Hordeum vulgare* L.) // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2021. – №. 53. – С. 6-21. IF (РИНЦ): 0,883 DOI: 10.17223/19988591/53/1

Публикации в других научных изданиях:

4. **Suzdaleva A.V**., Verkhovtseva N.V., Shein E.V., Dembovetsky A.V., Abrosimov K.N. Structure of the soil pore space in the seedling bed before the seedling stage: studies using the microtomography method // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – IOP Publishing, 2021. – Т. 862. – №. 1. – С. 012047. SJR: 0,170. DOI:10.1088/1755-1315/862/1/012047
5. **Suzdaleva A. V**., Shein E.V., Verkhovtseva N.V., Abrosimov K.N. Physical and microbiological aspects of the soil seed bed in the early formation of the barley root system (*Hordeum vulgare* L.): tomographic studies //IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – IOP Publishing, 2020. – Т. 941. – №. 1. – С. 012032. SJR: 0,170. DOI:10.1088/1757-899X/941/1/012032
6. Шеин Е.В., Скворцова Е.Б., Дембовецкий А.В., Верховцева Н.В., **Суздалева А.В.,** Калнин Т.Г. Агрофизическая характеристика почв: современные томографические методы, возможности, перспективы // Материалы III

Международной научной конференции Тенденции развития агрофизики: от актуальных проблем земледелия и растениеводства к технологиям будущего. ФГБНУ АФИ Санкт-Петербург, 2021. – С. 57–60.
7. **Суздалева А.В.,** Шеин Е.В., Абросимов К.Н., Дембовецкий А.В. Визуализация и количественная характеристика физических и биологических процессов методом микротомографии на примере прорастания ячменя //Проблемы экологии южного Урала. – 2021. – с. 49–54.
8. Шеин Е. В., Верховцева Н. В., **Суздалева А. В.** Физико-томографическая и микробиологическая характеристика агрофизической системы корни - поровое пространство почв-почвенная биота, стр. 53–58 // Проблемы агрохимии и экологии – от плодородия к качеству почвы. – Отдел полиграфии Научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова Москва, 2021. – С. 53–58.
9. Шеин Е. В., Дембовецкий А.В., Болотов А.Г., Скворцова Е.Б., **Суздалева А.В.,** Калнин Т.Г., Абросимов К.Н. Функциональное значение и томографическое строение порового пространства суглинистых почв // Материалы II Международной научной конференции «Тенденции развития агрофизики: от актуальных проблем земледелия и растениеводства к технологиям будущего», посвященной памяти академика Е.И. Ермакова. – 2019. – С. 55.