

УДК 631.461.3

НИТРИФИКАЦИЯ В ЭУТРОФНЫХ ТОРФЯНИКАХ РАЗНОГО ТИПА ЗЕМЛЕПОЛЬЗОВАНИЯ

© 2022 г. М. Н. Маслов^{а, *}, Л. А. Поздняков^а, О. А. Маслова^б^аМГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия^бИнститут молекулярной генетики НИЦ “Курчатовский институт”,
пл. Академика И.В. Курчатова, 2, Москва, 123182 Россия

*e-mail: maslov.m.n@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.01.2022 г.

После доработки 03.03.2022 г.

Принята к публикации 05.03.2022 г.

Оценено профильное распределение почвенных свойств и интенсивности нетто-нитрификации в эутрофных торфяниках Яхромской поймы (Московская область) разного типа землепользования: лес, постагрогенная залежь, а также пахотные участки, с продолжительностью возделывания более 50 и 100 лет. Выявлено, что тип землепользования оказал значимое влияние на содержание органического углерода, общего азота, соотношение C : N, а также содержание нитратного азота и скорость нетто-нитрификации только в поверхностных слоях торфа (0–20 и 20–40 см). Влияние типа землепользования на процессы азотного цикла в почве проявляются через изменение количества, качества и регулярности поступления свежего растительного опада. Установлено, что нитрификация являлась основным процессом микробиологической трансформации соединений азота в торфяниках вне зависимости от типа использования, при этом пахотные торфяники характеризовались меньшей скоростью нитрификации по сравнению с торфяниками под лесной растительностью. В лесном торфянике автотрофный путь нитрификации преобладал над гетеротрофным, в то время как для агрогенных и постагрогенных торфяников интенсивность автотрофной и гетеротрофной нитрификации была сопоставима. Первая стадия автотрофной нитрификации осуществлялась преимущественно аммонийокисляющими археями, в то время как количество копий гена *amoA* бактерий было на 1–2 порядка меньше.

Ключевые слова: микробная биомасса почв, автотрофная нитрификация, гетеротрофная нитрификация, аммонийокисляющие археи, Histosols

DOI: 10.31857/S0032180X2208010X

ВВЕДЕНИЕ

Нитрификация является важным этапом микробиологической трансформации соединений азота в почве [4, 8, 23, 40] и может осуществляться по автотрофному и гетеротрофному пути. Автотрофная нитрификация представляет собой двухстадийный процесс окисления $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ до нитритного и затем до нитратного азота, при котором микроорганизмы используют в качестве источника углерода углекислый газ и получают энергию в процессе нитрификации. Первый этап осуществляется автотрофными аммонийокисляющими бактериями (АОБ), а также аммонийокисляющими археями (АОА) из недавно описанного типа *Thaumarchaeota* [51], в то время как вторая стадия осуществляется нитритокисляющими бактериями [23]. Гетеротрофная нитрификация в наиболее обобщенном виде представляет собой процесс окисления органических азотсодержащих соединений до NO_2^- или NO_3^- [45, 67], который осу-

ществляется широким спектром микроорганизмов, включающим грибы, гетеротрофные бактерии и актиномицеты.

Интенсивность нитрификации зависит от многих почвенных параметров, таких как доступность азотных соединений [57], температура почвы [37, 43] и др. Ранее было принято считать, что автотрофная нитрификация не характерна для кислых почв [14, 57], в то время как активность гетеротрофных нитрификаторов не лимитирована низкими значениями pH [23], что делает этот механизм нитрификации основным путем образования нитратов в кислых почвах [66]. Однако в последние десятилетия установлена возможность автотрофной нитрификации в кислых почвах за счет группы кислотолерантных архей [38, 47, 51], а также бактерий, способных осуществлять нитрификацию даже в сильнокислых условиях [50]. Для гетеротрофной нитрификации одними из важнейших лимитирующих факторов являются содержание углерода в почве и обогащенность ор-

ганического вещества азотом (соотношение C : N). Показано, что высокое отношение C : N стимулирует гетеротрофную нитрифицирующую активность почвы [20, 68] за счет увеличения биодоступности органического углерода, что может стимулировать рост грибов и гетеротрофных бактерий.

Смена типа землепользования, например распашка целинных земель или, напротив, прекращение использования сельскохозяйственных угодий, определяет условия функционирования почвенной экосистемы. Поскольку влияние землепользования в первую очередь проявляется через изменение количества и качества поступающего в почву органического материала, большинство работ посвящено изучению цикла углерода [1, 6, 33, 61], а данные о влиянии на цикл азота более фрагментарны. Например, Ли и Ланг [39] обнаружили, что при распашке лесных почв наблюдается значительное уменьшение темпов минерализации и микробной иммобилизации N, но интенсивность нитрификации увеличивается. В противоположность этому, Куксон с соавт. [22] установили значительное увеличение интенсивности иммобилизации азота после преобразования лесных почв в сельскохозяйственные, а в некоторых случаях никакого влияния типа землепользования на темпы трансформации N не было обнаружено [12]. При смене типа землепользования часто происходит и изменение механизмов нитрификации: лесные почвы, как правило, характеризуются высокой скоростью гетеротрофной, но низкой интенсивностью автотрофной нитрификации [66], тогда как в сельскохозяйственных соотношении этих процессов противоположное [31].

За счет относительно высокой обеспеченности азотом эутрофные торфяные почвы умеренного климата часто вовлекаются в интенсивное сельскохозяйственное использование. Наши предыдущие исследования, проведенные на торфяниках Яхромской поймы (Московская область), показали, что, несмотря на изначально однородные свойства торфа, различие режима сельскохозяйственного использования (регулярная распашка в течение 100 и 50 лет, постагрогенная залежь и практически не затронутый освоением участок под лесом) оказывают влияние на процессы микробиологической трансформации соединений углерода и азота за счет изменения активности микробного сообщества и физико-химических условий [44]. Установлено, что нитрификация является важным звеном цикла азота в поверхностных слоях торфа [43], что обуславливает ряд негативных последствий, таких как увеличение содержания нитратов в грунтовых водах, эмиссия в атмосферу азотсодержащих парниковых газов (прежде всего, N₂O), загрязнение нитратами сельскохозяйственной продукции и др.

Цель работы – изучение механизмов, лежащих в основе образования нитратов в торфяных почвах разного типа землепользования, а также оценка участия в этом процессе отдельных групп микроорганизмов, что может дать возможность управления нитрификацией в почвах для снижения негативных последствий.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили в центральной части Яхромской поймы (Дмитровский район Московской области, 56°23' N, 37°26' E). Климат территории умеренный: среднегодовая температура воздуха +3.3°C (январь –11°C, июль +18°C), среднегодовое количество осадков 620–640 мм.

Для исследования выбрали 4 участка с разным типом землепользования: торфяник, использующийся в качестве пашни более 100 лет (**AP100**), пахотный торфяник, использующийся 50 лет (**AP50**), постагрогенная залежь (**PAP**) под молодым лесом с доминированием *Salix caprea*, а также практически не затронутый осушением и хозяйственной деятельностью лесной участок (**NAP**) с доминированием *Betula pendula*. В лесной экосистеме (**NAP**) сформирована торфяная эутрофная типичная почва (**Histosols**); на остальных участках вследствие земледельческого освоения сформировались торфоземы типичные (**Histosols**). Подробное описание участков приведено ранее [43, 44]. Отбор образцов почвы проводили в июле 2020 г. в трехкратной повторности с помощью бура через каждые 20 см до глубины 1 м. Общее содержание углерода (C_{tot}) и азота (N_{tot}) в почве определяли с помощью анализатора Vario EL III analyzer (Elementar, Germany). Значение рН_{H₂O} определяли в почвенной суспензии при соотношении почва : вода, равном 1 : 5. Влажность почвы оценивали гравиметрически (105°C, 24 ч).

Определение биологических параметров почвы проводили непосредственно после отбора и доставки образцов в лабораторию согласно рекомендациям [2, 5]. В свежих образцах методом фумигации–экстракции [16, 59] с модификациями [3] определяли содержание углерода (**MBC**) и азота (**MBN**) микробной биомассы почв. Концентрацию углерода и азота в экстрактах определяли на автоматическом анализаторе LiquiTOC (Elementar, Германия). Содержание **MBC** и **MBN** рассчитывали как разницу в содержании элементов между фумигированной и нефумигированной навеской почвенного образца с учетом стандартных пересчетных коэффициентов (0.45 для **MBC** и 0.54 для **MBN**). В вытяжках из нефумигированных образцов исследовали содержание аммонийного и нитратного азота спектрофотометрически индофенольным методом и по Гриссу после восстановления нитратов до нитритов на кадмиевой

колонке, соответственно. Интенсивность нетто-нитрификации ($\Delta N-NO_3$, мг/(кг сут)) оценивали в условиях аэробного инкубирования почвенных образцов в течение 21 дня при постоянной температуре $+22^\circ C$ и естественной влажности.

Соотношение активности автотрофной и гетеротрофной нетто-нитрификации определялось в образцах почвы, отобранных с глубин 0–20 (поверхностный аэробный слой), 40–60 (зона периодического затопления грунтовыми водами) и 80–100 см (глубина постоянного нахождения грунтовых вод на всех участках). Для определения потенциальной активности автотрофных и гетеротрофных нитрификаторов проводили лабораторный инкубационный эксперимент с внесением в почву 100 мкг N/г в виде сульфата аммония (для определения скорости автотрофной нитрификации) или пептона (для определения интенсивности гетеротрофной нитрификации). Инкубацию образцов проводили в течение 72 ч при постоянной температуре $+22^\circ C$.

Для установления роли бактерий и архей в автотрофной нитрификации определяли количество бактериальных и архейных копий гена *amoA*, кодирующего аммониймонооксигеназу – ключевой фермент автотрофной нитрификации, методом количественной полимеразной цепной реакции (*qPCR*). Препараты ДНК выделяли из почвенных образцов с помощью наборов реактивов FastDNA™ Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, США) согласно методике производителя. Все реакции *qPCR* проводили в термоциклере C1000 CFX96 Real Time (Bio-Rad Laboratories, США). Реакционная смесь содержала 10 мкл смеси BioMaster HS-*qPCR* SYBR Blue (Biolabmix, Россия), 0,8 мкл каждого праймера и 1 мкл экстрагированной почвенной ДНК-матрицы в общем объеме 20 мкл. Реакцию проводили по следующему протоколу: 3 мин при $95^\circ C$, затем 40 циклов при $95^\circ C$ в течение 20 с, $54^\circ C$ в течение 20 с и $72^\circ C$ в течение 20 с. Содержание функциональных генов в изучаемых образцах рассчитывали при помощи программного обеспечения CFX Manager. Для оценки специфичности продукта *qPCR* проводили анализ кривой плавления (от 65 до $95^\circ C$ с шагом $0.5^\circ C$). Бактериальные и архейные гены *amoA* количественно определяли с использованием наборов праймеров, описанных в [26]. Стандарты получали путем очистки продуктов полимеразной цепной реакции и количественного определения концентрации с помощью Qubit fluorometer 2 (Thermo Fisher Scientific, США). Эффективность *qPCR* составляла 90%, а коэффициенты детерминации были $R^2 > 0.90$ для всех стандартных кривых.

На графиках приведены среднее \pm ошибка среднего. Все показатели рассчитаны для сухой почвы. При статистической обработке результа-

тов использовали факторный дисперсионный анализ, корреляционный анализ, а также метод главных компонент. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., 2011).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общие свойства почв. Почвы эутрофных торфяников характеризовались высоким содержанием органического углерода и общего азота (рис. 1). Тип землепользования оказал значимое ($p < 0.05$) влияние на эти показатели только в верхних слоях торфа (0–20 и 20–40 см), для более глубоких слоев влияние типа землепользования на содержание C_{tot} и N_{tot} не было статистически подтверждено. Для лесного и постагрогенного участков максимум содержания углерода и азота был характерен для верхнего слоя торфа, для пахотных торфяников – для более глубокого слоя (40–60 см). Органическое вещество пахотных торфяников было в меньшей степени обогащено азотом (имело более высокое соотношение C : N) по сравнению с участками, покрытыми лесом. С увеличением глубины залегания торфа соотношение C : N увеличивалось (за исключением подпахотного слоя 20–40 см в торфяниках AP50 и AP100). Вне зависимости от типа землепользования и глубины залегания торф имел слабокислую реакцию среды.

Содержание углерода и азота микробной биомассы и минерального азота. Наиболее высокое содержание углерода и азота микробной биомассы было характерно для торфяных почв под лесной растительностью (рис. 2). Максимальное содержание MBC и MBN в торфяниках всех типов землепользования было определено для поверхностного слоя и плавно уменьшалось с глубиной. Соотношение MBC : MBN, напротив, увеличивалось с глубиной залегания торфа, однако значимой связи этого показателя с типом землепользования не выявлено.

Нитраты являлись преобладающей формой минерального азота в торфяниках всех типов землепользования. При этом содержание нитратного азота в поверхностных слоях пахотных торфяников было больше, чем в торфяниках под лесной растительностью, хотя в наиболее глубоких слоях торфа содержание нитратного азота статистически не различалось между разными типами землепользования. С увеличением глубины залегания в образцах торфа увеличивалось содержание аммония, но уменьшалось содержание нитратов, что привело к общему снижению содержания минерального азота с увеличением глубины.

Профильное распределение активности нетто-нитрификации. Интенсивность нетто-нитрифи-

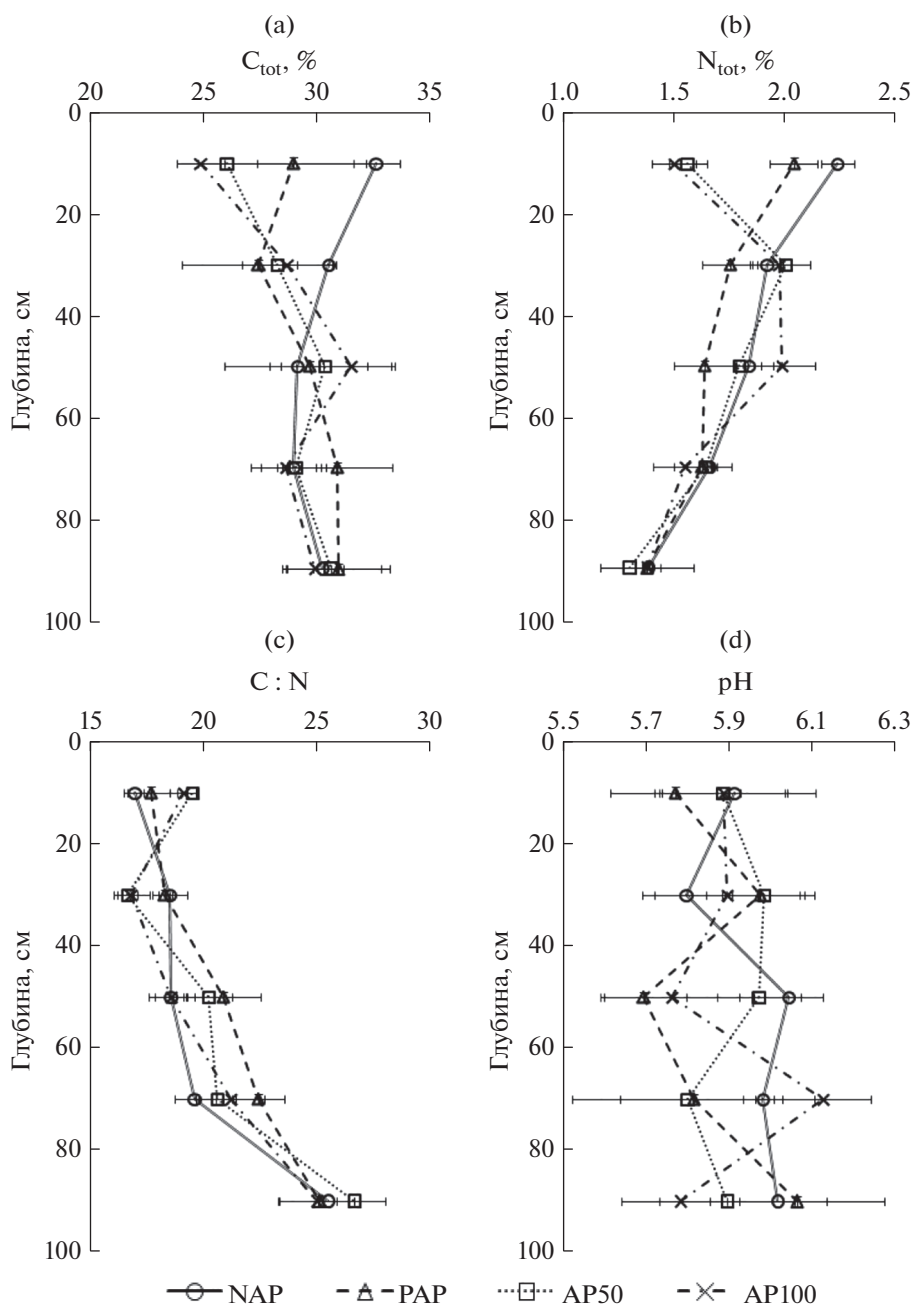


Рис. 1. Профильное распределение основных свойств торфа в торфяниках разного типа землепользования: а – органический углерод, %; б – общий азот, %; с – соотношение C : N; д – pH.

кации в торфяниках под лесной растительностью была в 2 раза больше, чем в пахотных торфяниках. С глубиной интенсивность нетто-нитрификации уменьшалась, при этом в пахотных торфяниках уменьшение интенсивности происходило медленнее, чем в лесном и постагрогенном торфяниках. Методом главных компонент установлено, что более 70% выборочной дисперсии интенсивности нетто-нитрификации определялось действием двух факторов (рис. 3). Первый фактор объяснял 45.5% дисперсии и в наибольшей сте-

пени коррелировал с такими параметрами, как МВС ($r = 0.89$), МВН ($r = 0.90$), $N-NO_3^-$ ($r = 0.54$) и $N-NH_4^+$ ($r = -0.64$), то есть с содержанием в почве микробной биомассы и минерального азота. Второй фактор объяснял 26.0% дисперсии и коррелировал с такими свойствами почвы, как C_{tot} ($r = 0.92$) и N_{tot} ($r = 0.63$).

Соотношение активности автотрофной и гетеротрофной нетто-нитрификации. Торфяники под лесной растительностью (NAP и PAP) характери-

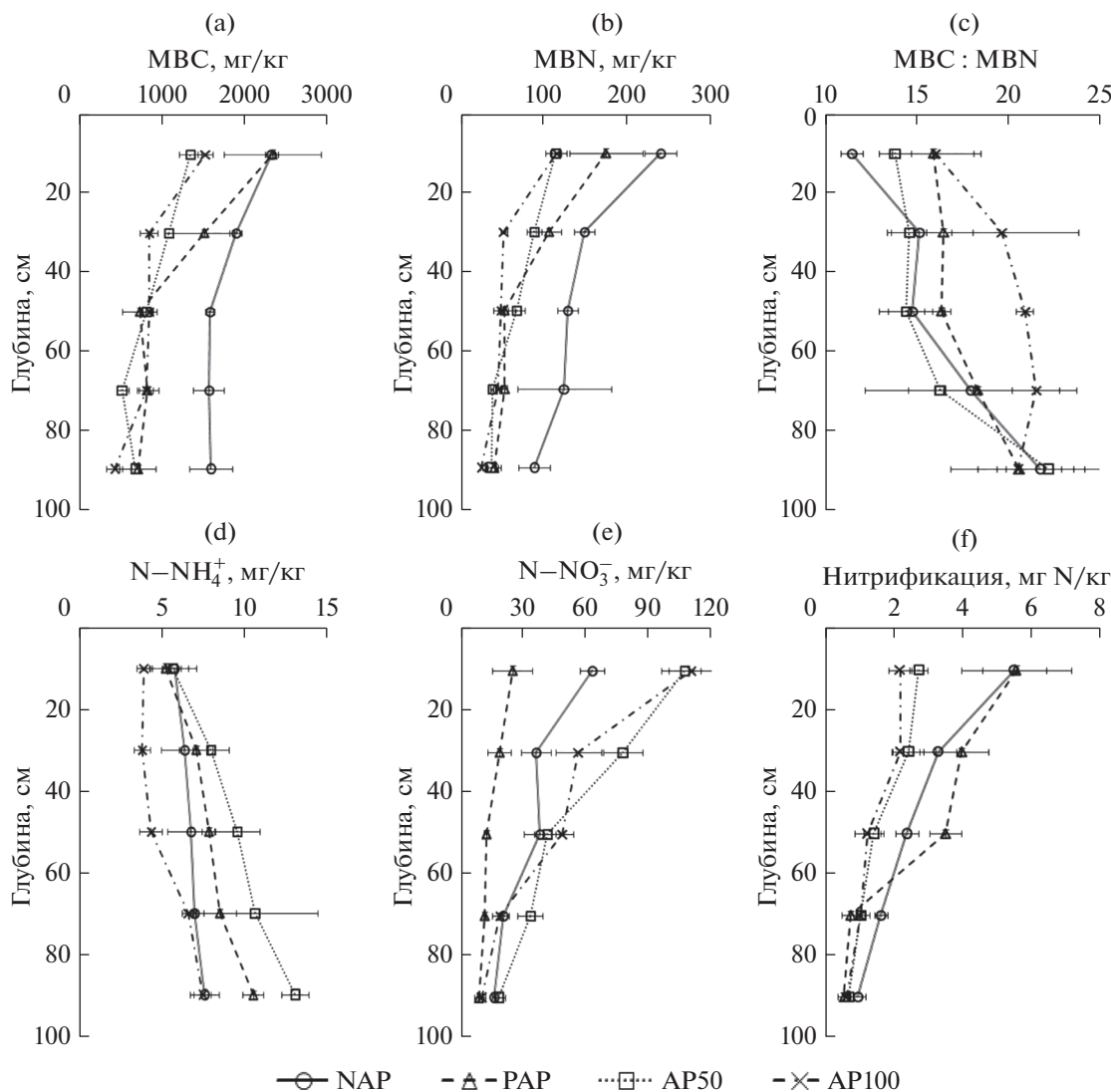


Рис. 2. Профильное распределение содержания микробного углерода и азота, минерального азота и интенсивности нетто-нитрификации в торфяниках разного типа землепользования: а – углерод микробной биомассы, мг/кг; б – азот микробной биомассы, мг/кг; с – соотношение С : N в микробной биомассе; д – аммонийный азот, мг/кг; е – нитратный азот, мг/кг; ф – скорость нетто-нитрификации, мг N/(кг сут).

зовались большей скоростью как автотрофной, так и гетеротрофной нитрификации по сравнению с пахотными торфяниками (рис. 4). Эти различия были характерны не только для поверхностного (0–20 см), но и для срединного (40–60 см) слоя торфа, тогда как для более глубокого слоя (80–100 см) статистически значимых различий не установлено. Пахотные торфяники характеризовались примерно равным соотношением автотрофной и гетеротрофной нитрификации, в то время как для лесного и постагрогенного торфяников интенсивность автотрофной нитрификации была выше, чем гетеротрофной.

Роль архей и бактерий в автотрофной нетто-нитрификации. Количество копий гена *amoA* архей

варьировало от 5.2×10^7 до 1.73×10^9 копий/г почвы, а бактерий – от 2.0×10^7 до 4.0×10^8 копий/г почвы (рис. 5). Количество копий гена *AOA* зависело от типа землепользования и уменьшалось в ряду: NAP > PAP > AP50 > AP100. Для бактериального варианта гена влияние землепользования проявлялось только на уровне различий между пахотными (AP50 и AP100) и покрытыми лесной растительностью (NAP и PAP) торфяниками. Как для архей, так и для бактерий было характерно уменьшение количества копий гена *amoA* с глубиной, однако вне зависимости от типа землепользования и глубины *AOA* преобладали над *AOB*. Количество копий гена *amoA* архей наиболее тесно коррелировало с содержанием углерода и азота

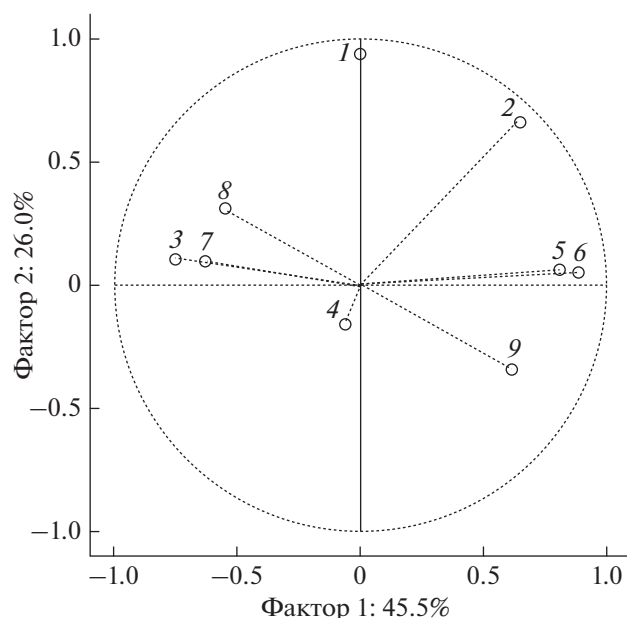


Рис. 3. Проекция совокупности изученных свойств в плоскости двух главных компонент, где группирующая переменная – интенсивность нетто-нитрификации: 1 – C_{tot} , %; 2 – N_{tot} , %; 3 – C : N; 4 – pH; 5 – MBC, мг/кг; 6 – MBN, мг/кг; 7 – MBC : MBN; 8 – $N-NH_4^+$, мг/кг; 9 – $N-NO_3^-$, мг/кг.

микробной биомассы ($r = 0.75$ и 0.87 соответственно), а также с соотношением MBC : MBN ($r = -0.71$) и скоростью нетто-нитрификации ($r = 0.77$). Представленность бактериального варианта *amoA* в меньшей степени была связана с почвенными свойствами и в наибольшей степени коррелировала с соотношением MBC : MBN ($r = -0.67$) и скоростью нетто-нитрификации ($r = 0.75$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Агрогенная и постагрогенная динамика свойств торфа. Длительное сельскохозяйственное использование торфяников привело к уменьшению общего содержания углерода и азота в поверхностном слое (0–40 см) торфа по сравнению с лесным участком, что связано с активизацией процессов разложения органического вещества торфа [32] вследствие осушения и регулярной вспашки, а также сокращением поступления свежего растительного опада [44]. Отсутствие значимых различий между участками с разной продолжительностью сельскохозяйственного использования свидетельствует о том, что наиболее существенные потери углерода и азота почвой происходят в первые десятилетия освоения, а в последующем скорость этого процесса заметно уменьшается, что позволяет пред-

положить, что снижение происходит за счет минерализации наиболее лабильных фракций органического вещества. Так, ранее для поверхностных слоев торфа этих объектов установлено существенное уменьшение активности β -1,4-глюкозидазы, участвующей в метаболизме углеводов, при одновременном увеличении активности пероксидазы, катализирующей реакции окисления фенольных соединений [44]. Обратный процесс постагрогенного развития торфяников также затрагивает только поверхностные слои торфа и приводит к частичному восстановлению содержания C_{tot} и N_{tot} , хотя эти показатели и не достигают значений, характерных для целинного лесного участка. Восстановление общего содержания органического вещества в постагрогенном торфянике связано с восстановлением лесной растительности и увеличением количества свежего надземного и подземного растительного опада, ежегодно поступающего в почву [25], что согласуется с установленными ранее закономерностями для минеральных постагрогенных почв [1, 7, 61].

В наибольшей степени тип землепользования влияет на микробный пул углерода и азота. Так, сельскохозяйственное использование приводит к уменьшению содержания MBC и MBN по сравнению с контрольным лесным участком во всем изученном профиле, что может быть обусловлено сокращением поступления как надземного и подземного опада, так и прижизненных выделений растений при переходе от лесной растительности к агроценозу. Ранее для многих почв установлено, что регулярное поступление растительных остатков способствует увеличению численности, биомассы и разнообразия почвенных микроорганизмов [13, 18, 29, 46]. Необходимо отметить, что восстановление содержания микробного углерода и азота в торфяниках происходит медленно и, несмотря на начало естественного лесовосстановления на постагрогенной залежи, микробный пул в торфянике РАР не достиг значений, характерных для целинного лесного торфяника.

Содержание нитратного азота и скорость нитрификации также зависят от типа землепользования, хотя влияние этого фактора сказывается только в поверхностном слое торфа (0–60 см). Содержание нитратов в сельскохозяйственных торфяниках в несколько раз больше, чем в лесном и постагрогенном, что ранее установлено при изучении сезонной динамики минерального азота в этих почвах [44]. В то же время скорость нитрификации, напротив, больше в торфяниках под лесной растительностью. Выявленное противоречие может быть связано с разницей в скорости потребления минерального азота, поскольку в лесных экосистемах (NAP и РАР) большее количество минерализованного азота потребляется большей биомассой растений. Таким образом, в

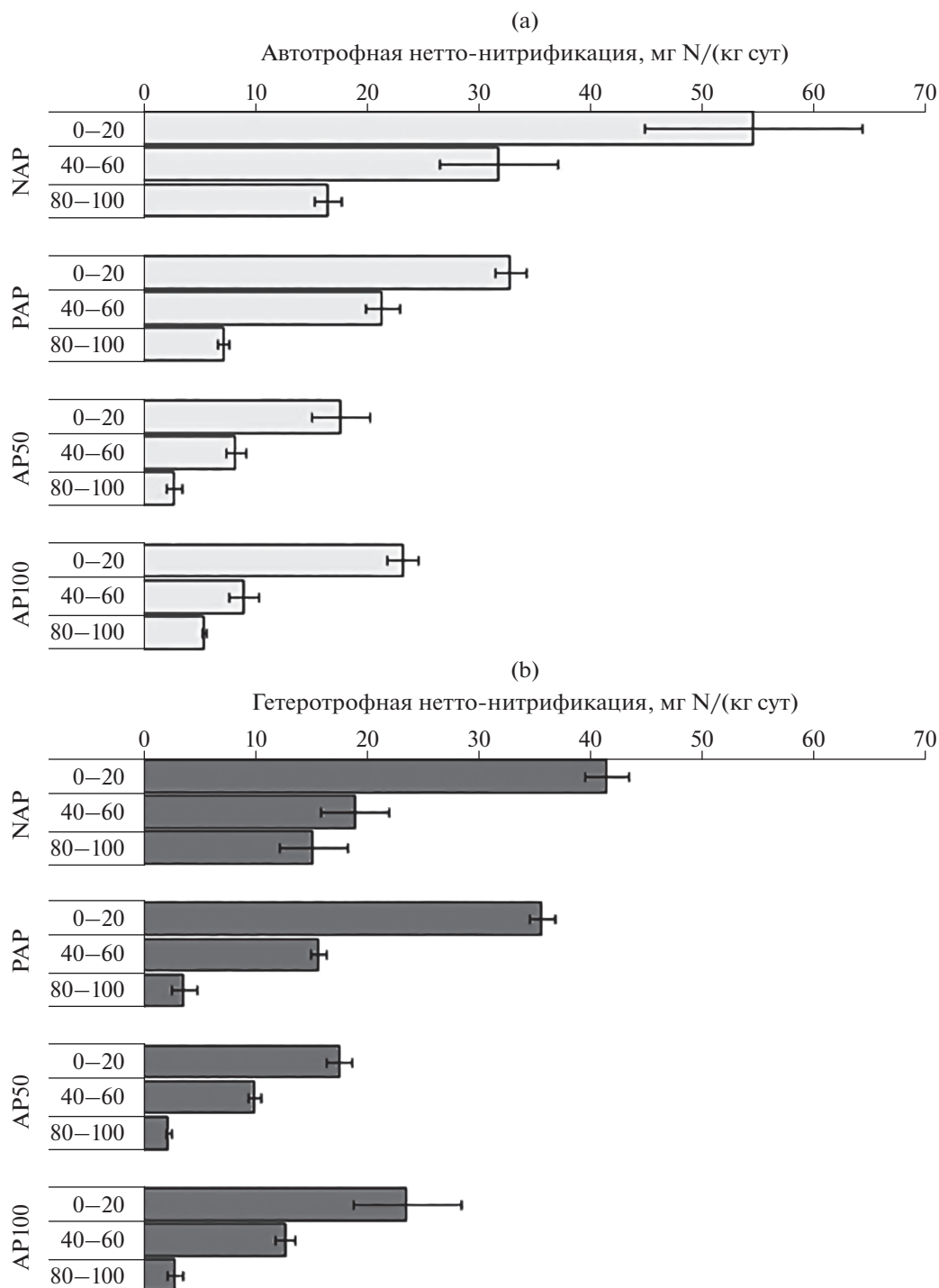


Рис. 4. Профильное распределение скорости (мг N/(кг сут)) автотрофной (а) и гетеротрофной (б) нитрификации в торфяниках разного типа землепользования для слоев торфа 0–20, 40–60 и 80–100 см.

естественных условиях содержание минерального азота зависит от баланса его образования при минерализации органического вещества почвы микроорганизмами и потребления растениями.

Нитрификация как ключевой процесс трансформации соединений азота в торфяных почвах. Для эутрофных торфяников нитрификация является

основным процессом нетто-минерализации соединений азота почвы вне зависимости от глубины и типа землепользования. Высокой интенсивности нитрификации в эутрофных торфяниках способствовали почвенные факторы, прежде всего, химический состав торфа, образованного остатками лесной растительности, содержащими

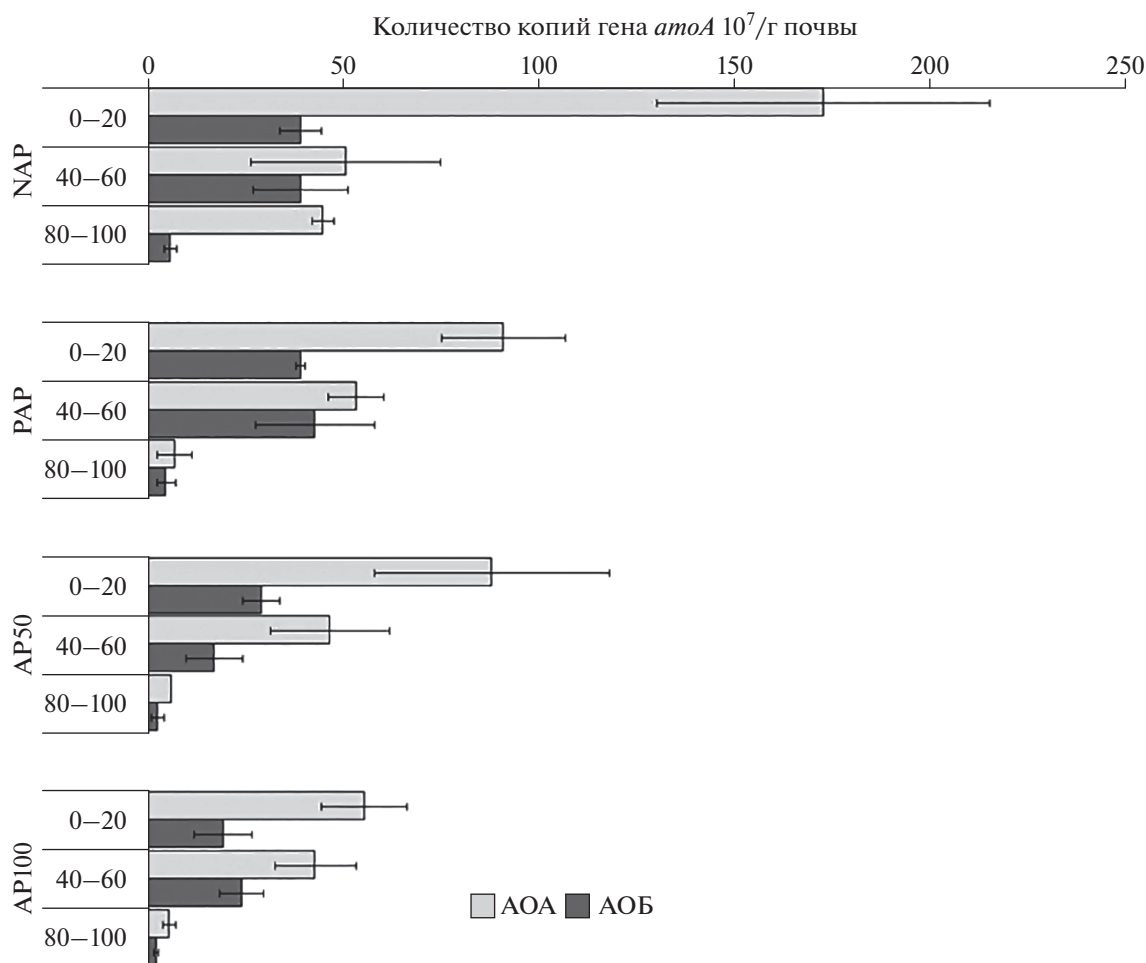


Рис. 5. Профильное распределение количества копий гена *amoA* аммонийоксилирующих архей (АОА) и аммонийоксилирующих бактерий (АОБ) в торфяниках разного типа землепользования для слоев торфа 0–20, 40–60 и 80–100 см.

большое количество общего азота. Кроме того, изучаемые торфяники имели слабокислую или близкую к нейтральной реакцию среды, что не ограничивало возможность протекания автотрофной нитрификации [23], как это происходит, например, в кислых (рН 3.8–4.4) лесных торфяниках Канады, где нитраты составляют не более 10% от общего количества минерализованного азота [63].

Наибольшая активность нитрификаторов характерна для поверхностных слоев торфа (до глубины 60 см), что связано с наиболее аэробными условиями по сравнению с более глубокими слоями. По этой же причине содержание аммонийного азота в профилях торфяников увеличивается с глубиной, а содержание нитратного напротив уменьшается. Ранее для торфяных почв было показано, что аэробные условия инкубации способствуют более активной нитрификации и общей минерализации соединений азота по сравнению с анаэробными [15, 55], что проявляется, в частно-

сти, при мелиоративном осушении [48, 58, 65] или во время кратковременных засух [11]. Накопление нитратов в поверхностных слоях торфа может быть обусловлено уменьшением скорости денитрификации, и соответственно газообразных потерь азота торфяной почвой, при снижении насыщенности влагой [48]. В то же время периодические колебания влажности почвы, характерные для поверхностных слоев торфа, особенно после мелиоративного осушения, могут оказывать прямое влияние на состав почвенного микробного сообщества, увеличивая долю нитрификаторов [24].

Роль архей и бактерий в автотрофной нитрификации. Аммонийоксилирующие археи являются преобладающей группой микроорганизмов, осуществляющих первую стадию автотрофной нитрификации в торфяниках всех типов землепользования. Ранее для многих торфяных почв было показано, что количество копий гена *amoA* архей может быть на порядок больше, чем бактериальной версии гена [54, 62], что не характерно для ав-

томорфных почв [41]. Кроме того, в экспериментах с использованием 1-октина (специфический ингибитор экспрессии *amoA* бактерий) установлено, что аммонийоокисляющие археи ответственны за осуществление нитрификации в торфяных почвах в большей степени, чем в автоморфных почвах [41].

Наибольшее содержание гена *amoA* археями отмечено для лесного торфяника (NAP), в то время как для торфяников других типов землепользования количество АОА было значительно меньше. Аммонийоокисляющие бактерии также преобладали в торфяниках под лесной растительностью, а в пахотных торфяниках их представленность была меньше. Уменьшение численности АОБ при регулярной вспашке и удалении пожнивных остатков растений ранее показано для многих типов почв [9, 36, 46, 52]. При этом отмечено, что численность АОА в меньшей степени зависит от вспашки почвы, чем численность АОБ [52]. В то же время полученные нами данные о сокращении представленности аммонийоокисляющих микроорганизмов в пахотных почвах по сравнению с почвами под лесом вступает в противоречие с некоторыми ранее опубликованными исследованиями, показывающими, что количество копий гена *amoA* в пахотных почвах больше, чем в целинных [17, 21, 27], хотя часто эти различия могли быть вызваны применением минеральных азотных удобрений, что нехарактерно для исследованных объектов из-за их высокой обеспеченности потенциально минерализуемыми формами азота. Полагаем, что большее содержание аммонийоокисляющих микроорганизмов в лесных торфяниках связано с регулярным поступлением свежего растительного опада, поскольку минерализация растительных остатков способствует увеличению аммонификации, а также обилия гена *amoA* [46]. Ранее установили, что нетто-аммонификация характерна только для лесных торфяников и практически не проявляется в пахотных [43].

Автотрофные нитрификаторы в наибольшей степени представлены в поверхностном слое торфа (0–20 см), а с увеличением глубины их численность, как правило, уменьшается, достигая минимума в наиболее глубоком из изученных слоев (80–100 см). Преобладание АОА в слое торфа 0–20 см может быть связано с большим содержанием в поверхностном слое микробной биомассы из-за лучшей обеспеченности теплом и доступными для потребления источниками углерода и азота. Высокая степень корреляции содержания архейного гена *amoA* с другими микробиологическими параметрами, установленная в настоящем исследовании, ранее продемонстрирована для некоторых других почв [30, 49], хотя во многих более ранних работах такая связь не была выявлена [10, 28, 42]. Ранее для полупустынных почв установлено, что АОБ в большей степени приуро-

чены к поверхностным слоям почвы и с глубиной их численность уменьшается, в то время как для АОА, напротив, характерно увеличение представленности в более глубоких слоях почвы [56], то есть археи и бактерии занимали специфические ниши в почве. Такое распределение могло быть связано с тем, что большинство АОБ является типичными копиотрофами [53, 64], требовательными к наличию кислорода [34], в то время как АОА менее зависимы от доступности субстрата [35, 56] и способны успешно функционировать при меньшей доступности почвенных источников азота [60] и при меньшем парциальном давлении кислорода [19, 54]. Однако для исследованных торфяников не установлено подобного четкого разделения, что может быть связано с меньшим лимитированием микроорганизмов доступностью источников углерода и азота в торфяных почвах по сравнению с минеральными почвами полупустыни. Вероятно, на профильное распределение АОА и АОБ в торфяных почвах влияют другие факторы, прежде всего, низкая температура и недоступность кислорода, лимитирующее действие которых для наиболее глубоких слоев торфа определяется уровнем грунтовых вод.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нитрификация является ключевым процессом трансформации соединений азота в почвах эутрофных торфяников вне зависимости от типа землепользования. В то же время тип землепользования определяет выраженность процесса нетто-нитрификации и преимущественный механизм этого процесса. Влияние типа землепользования на процессы азотного цикла в почве проявляются через изменение количества, качества и регулярности поступления свежего растительного опада. Так, регулярная вспашка и удаление пожнивных остатков при длительном сельскохозяйственном использовании торфяников приводит к сокращению содержания микробной биомассы почвы и уменьшению скорости нетто-нитрификации, преимущественно за счет подавления автотрофной нитрификации. Установлено, что первая стадия автотрофной нитрификации в торфяных почвах осуществляется преимущественно за счет активности архей, в то время как активность аммонийоокисляющих бактерий менее выражена.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы признательны к. б. н., с. н. с. А.К. Тхакаковой (Почвенный институт имени В.В. Докучаева, Москва) за проведение количественной полимеразной цепной реакции.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Экспериментальная часть работы выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект 20-74-00023). Обобщение полученного материала выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121040800321-4 “Индикаторы трансформации биогеохимических циклов биогенных элементов в природных и антропогенных экосистемах”).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Курганова И.Н., Телеснина В.М., Лонес де Гереню В.О., Личко В.И., Караванова Е.И. Динамика пулов углерода и биологической активности агродерново-подзолов южной тайги в ходе постагрогенной эволюции // Почвоведение. 2021. № 3. С. 287–303.
2. Макаров М.И., Кузнецова Е.Ю., Малышева Т.И., Маслов М.Н., Меняйло О.В. Влияние условий хранения образцов почв на экстрагируемость углерода и азота // Почвоведение. 2017. № 5. С. 569–579.
3. Макаров М.И., Малышева Т.И., Маслов М.Н., Кузнецова Е.Ю., Меняйло О.В. Углерод и азот микробной биомассы в почвах южной тайги при определении разными методами // Почвоведение. 2016. № 6. С. 733–744.
4. Маслов М.Н., Макаров М.И. Трансформация соединений азота в тундровых почвах Северной Фенноскандии // Почвоведение. 2016. № 7. С. 813–821.
5. Маслов М.Н., Маслова О.А., Токарева О.А. Изменение лабильного и микробного пулов углерода и азота в лесной подстилке при разных способах хранения образцов // Почвоведение. 2019. № 7. С. 793–802.
6. Рыжова И.М., Ерохова А.А., Подвезенная М.А. Динамика и структура запасов углерода в постагрогенных экосистемах южной тайги // Почвоведение. 2014. № 12. С. 1426–1435.
7. Телеснина В.М., Богатырев Л.Г., Бенедиктова А.И., Земсков Ф.И., Маслов М.Н. Динамика поступления растительного опада и некоторых свойств лесных подстилок при постагрогенном лесовосстановлении в условиях южной тайги // Вестник Моск. ун-та. Сер. 17, почвоведение. 2019. № 4. С. 3–10.
8. Умаров М.М., Кураков А.В., Степанов А.Л. Микробиологическая трансформация азота в почве. М.: ГЕОС, 2007. 138 с.
9. Badagliacca G., Benitez E., Amato G., Badalucco L., Giambalvo D., Laudicina V.A., Ruisi P. Long-term no-tillage application increases soil organic carbon, nitrous oxide emissions and faba bean (*Vicia faba* L.) yields under rain-fed Mediterranean conditions // Sci. Total Environ. 2018. V. 639. P. 350–359.
10. Bartossek R., Nicol G.W., Lanzen A., Klenk H.-P., Schleper C. Homologues of nitrite reductases in ammonia-oxidizing archaea: diversity and genomic context // Environ. Microbiol. 2010. V. 12. P. 1075–1088.
11. Bechtold S.J., Naiman R.J. Soil texture and nitrogen mineralization potential across a riparian toposequence in a semi-arid savanna // Soil Biol. Biochem. 2006. V. 38. P. 1318–1325.
12. Bedard-Haughn A., Matson A.L., Pennock D.J. Land use effects on gross nitrogen mineralization, nitrification, and N₂O emissions in ephemeral wetlands // Soil Biol. Biochem. 2006. V. 38(12). P. 3398–3406.
13. Bent E., Németh D., Wagner-Riddle C., Dunfield K. Residue management leading to higher field-scale N₂O flux is associated with different soil bacterial nitrifier and denitrifier gene community structures // Appl. Soil Ecol. 2016. V. 108. P. 288–299.
14. Booth D.J., Prescott C.E., Grayston S.J. Microbial functional genes involved in nitrogen fixation, nitrification and denitrification in forest ecosystems // Soil Biol. Biochem. 2014. V. 75. P. 11–25.
15. Bridgham S.D., Updegraff K., Pastor J. Carbon, nitrogen, and phosphorus mineralization in northern wetlands // Ecology. 1998. V. 79. P. 1545–1561.
16. Brookes P.C., Landman A., Pruden G., Jenkinson D.S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil // Soil Biol. Biochem. 1985. V. 17. P. 837–842.
17. Cavagnaro T.R., Jackson L.E., Hristova K., Scow K.M. Short-term population dynamics of ammonia oxidizing bacteria in an agricultural soil // Appl. Soil Ecol. 2008. V. 40. P. 13–18.
18. Ceja-Navarro J.A., Rivera-Orduna F.N., Patino-Zuniga L., Vila-Sanjurjo A., Crossa J., Govaerts B., Dendooven L. Phylogenetic and multivariate analyses to determine the effects of different tillage and residue management practices on soil bacterial communities // Appl. Environ. Microbiol. 2010. V. 76. P. 3685–3691.
19. Chen X.P., Zhu Y.G., Xia Y., Shen J.P., He J.Z. Ammonia-oxidizing archaea: important players in paddy rhizosphere soil? // Environ. Microbiol. 2008. V. 10. P. 1978–1987.
20. Chen Z., Ding W., Xu Y., Müller, Rutting T., Yu H., Fan J., Zhang J., Zhu T. Importance of heterotrophic nitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in a cropland soil: evidence from a ¹⁵N tracing study to literature synthesis // Soil Biol. Biochem. 2015. V. 91. P. 65–75.
21. Colloff M.J., Wakelin S.A., Gomez D., Rogers S.L. Detection of nitrogen cycle genes in soils for measuring the effects of changes in land use and management // Soil Biol. Biochem. 2008. V. 40. P. 1637–1645.
22. Cookson W.R., Osman M., Marschner P., Abaye D.A., Clark I., Murphy D.V., Stockdale E.A., Watson C.A. Controls on soil nitrogen cycling and microbial community composition across land use and incubation temperature // Soil Biol. Biochem. 2007. V. 39. P. 744–756.
23. De Boer W., Kowalchuk G. Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms // Soil Biol. Biochem. 2001. V. 33. P. 853–866.
24. Fierer N., Schimel J.P. Effects of drying-rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations // Soil Biol. Biochem. 2002. V. 34. P. 777–787.

25. Guo L.B., Gifford R.M. Soil carbon stocks and land use change: a meta-analysis // *Glob. Change Biol.* 2002. V. 8. P. 345–360.
26. Hallin S., Jones C.M., Schloter M., Philippot L. Relationship between N-cycling communities and ecosystem functioning in a 50-year-old fertilization experiment // *Isme J. Nature Publishing Group.* 2009. V. 3. P. 597–605.
27. Hayden H.L., Drake J., Imhof M., Oxley A.P.A., Norng S., Mele P.M. The abundance of nitrogen cycle genes *amoA*, and *nifH*, depends on land-uses and soil types in South-Eastern Australia // *Soil Biol. Biochem.* 2010. V. 42. P. 1774–1783.
28. Helen D., Kim H., Tytgat B., Anne W. Highly diverse *nirK* genes comprise two major clades that harbour ammonium-producing denitrifiers // *BMC Genomics.* 2016. V. 17. P. 155.
29. Henderson S.L., Dandie C.E., Patten C.L., Zebarth B.J., Burton D.L., Trevors J.T., Goyer C. Changes in denitrifier abundance, denitrification gene mRNA levels, nitrous oxide emissions, and denitrification in anoxic soil microcosms amended with glucose and plant residues // *Appl. Environ. Microbiol.* 2010. V. 76. P. 2155–2164.
30. Huang L., Riggins C.W., Rodriguez-Zas S., Zabaloy M.C., Villamil M.B. Long-term N fertilization imbalances potential N acquisition and transformations by soil microbes // *Sci. Total Environ.* 2019. V. 691. P. 562–571.
31. Islam A., Chen D., White R.E. Heterotrophic and autotrophic nitrification in two acid pasture soils // *Soil Biol. Biochem.* 2007. V. 39. P. 972–975.
32. Kalbitz K., Rupp H., Meissner R. N-, P- and DOC-dynamics in soil and groundwater after restoration of intensively cultivated fens // *Wetlands in Central Europe: Springer,* 2002. P. 99–116.
33. Kalinina O., Goryachkin S.V., Lyuri D.I., Giani L. Post-agrogenic development of vegetation, soils, and carbon stocks under self-restoration in different climatic zones of European Russia // *Catena.* 2015. V. 129. P. 18–29.
34. Ke X., Lu W., Conrad R. High oxygen concentration increases the abundance and activity of bacterial rather than archaeal nitrifiers in rice field soil // *Microb. Ecol.* 2015. V. 70. P. 961–970.
35. Kim J.G., Jung M.Y., Park S.J., Rijpstra W.I.C., Damste J.S.S., Madsen E.L., Min D., Kim J.S., Kim G.J., Rhee S.K. Cultivation of a highly enriched ammonia-oxidizing archaeon of thaumarchaeotal group I.1b from an agricultural soil // *Environ. Microbiol.* 2012. V. 14. P. 1528–1543.
36. Kim N., Riggins C.W., Rodríguez-Zas S., Zabaloy M.C., Villamil M.B. Long-term residue removal under tillage decreases *amoA*-nitrifiers and stimulates *nirS*-denitrifier groups in the soil // *Appl. Soil Ecol.* 2021. V. 157. P. 103730.
37. Lehtovirta-Morley L.E. Ammonia oxidation: ecology, physiology, biochemistry and why they must all come together // *FEMS Microbiol. Lett.* 2018. 365.
38. Leininger S., Urlich T., Schloter M., Schwark L., Qi J., Nicol G.W., Prosser J.I., Schuster S.C., Schleper C. Archaea predominate among ammoniaoxidizing prokaryotes in soils // *Nature.* 2006. V. 442. P. 806–809.
39. Li P., Lang M. Gross nitrogen transformations and related N₂O emissions in uncultivated and cultivated black soil // *Biol. Fertil. Soils.* 2014. V. 50. № 2. P. 197–206.
40. Li D.D., Zhang X.Y., Green S.M., Dungait J.A.J., Wen X.F., Tang Y.Q., Guo Z.M., Yang Y., Sun X.M., Quine T.A. Nitrogen functional gene activity in soil profiles under progressive vegetative recovery after abandonment of agriculture at the Puding Karst Critical Zone Observatory, SW China // *Soil Biol. Biochem.* 2018. V. 125. P. 93–102.
41. Lin Y., Hu H.-W., Ye G., Fan J., Ding W., He Z.-Y., Zheng Y., He J.-Z. Ammonia-oxidizing bacteria play an important role in nitrification of acidic soils: A meta-analysis // *Geoderma.* 2021. V. 404. P. 115395.
42. Long A., Song B., Frیدهy K., Silva A. Detection and diversity of copper containing nitrite reductase genes (*nirK*) in prokaryotic and fungal communities of agricultural soils // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2015. V. 91. P. 1–9.
43. Maslov M.N., Maslova O.A. Soil nitrogen mineralization and its sensitivity to temperature and moisture in temperate peatlands under different land-use management practices // *Catena.* 2022. V. 210. P. 105922.
44. Maslov M.N., Maslova O.A. Temperate peatlands use-management effects on seasonal patterns of soil microbial activity and nitrogen availability // *Catena.* 2020. V. 190. P. 104548.
45. Müller C., Stevens R.J., Laughlin R.J. A ¹⁵N tracing model to analyze N transformations in old grassland soil // *Soil Biol. Biochem.* 2004. V. 36. P. 619–632.
46. Németh D.D., Wagner-Riddle C., Dunfield K.E. Abundance and gene expression in nitrifier and denitrifier communities associated with a field scale spring thaw N₂O flux event // *Soil Biol. Biochem.* 2014. V. 73. P. 1–9.
47. Nicol G.W., Leininger S., Schleper C., Prosser J.I. The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria // *Environ. Microbiol.* 2008. V. 10. P. 2966–2978.
48. Olde Venterink H., Davidsson T.E., Kiehl K., Leonardson L. Impact of drying and rewetting on N, P and K dynamics in a wetland soil // *Plant Soil.* 2002. V. 243. P. 119–130.
49. Ouyang Y., Evans S.E., Friesen M.L., Tiemann L.K. Effect of nitrogen fertilization on the abundance of nitrogen cycling genes in agricultural soils: a meta-analysis of field studies // *Soil Biol. Biochem.* 2018. V. 127. P. 71–78.
50. Picone N., Pol A., Mesman R., van Kessel M.A., Cremers G., van Gelder A.H., van Aalen T.A., Jetten M.S.M., Lüscher S., den Camp H.J.O. Ammonia oxidation at pH 2.5 by a new gammaproteobacterial ammonia-oxidizing bacterium // *ISME J.* 2021. V. 15. P. 1150–1164.
51. Prosser J.I., Hink L., Gubry-Rangin C., Nicol G.W. Nitrous oxide production by ammonia oxidizers: Physiological diversity, niche differentiation and potential mitigation strategies // *Glob. Change Biol.* 2020. V. 26. P. 103–118.
52. Segal L.M., Miller D.N., McGhee R.P., Loecke T.D., Cook K.L., Shapiro C.A., Drijber R.A. Bacterial and archaeal ammonia oxidizers respond differently to long-

- term tillage and fertilizer management at a continuous maize site // *Soil Tillage Res.* 2017. V. 168. P. 110–117.
53. *Shah V., Chang B.X., Morris R.M.* Cultivation of a chemolithoautotroph from the clade of marine bacteria that produces nitrite and consumes ammonium // *ISME J.* 2017. V. 11. P. 263–271.
 54. *Sims A., Horton J., Gajaraj S., McIntosh S., Miles R.J., Mueller R., Reed R., Hu Z.* Temporal and spatial distributions of ammonia-oxidizing archaea and bacteria and their ratio as an indicator of oligotrophic conditions in natural wetlands // *Water Res.* 2012. V. 46. P. 4121–4129.
 55. *Song Y., Song C., Meng H., Swarzenski C.M., Wang X., Tan W.* Nitrogen additions affect litter quality and soil biochemical properties in a peatland of Northeast China // *Ecol. Eng.* 2017. V. 100. P. 175–185.
 56. *Song Z., Wang J., Liu G., Zhang C.* Changes in nitrogen functional genes in soil profiles of grassland under long-term grazing prohibition in a semiarid area // *Sci. Total Environ.* 2019. V. 673. P. 92–101.
 57. *Ste-Marie C., Parer D.* Soil, pH and N availability effects on net nitrification in the forest floors of a range of boreal forest stands // *Soil Biol. Biochem.* 1999. V. 31. P. 1579–1589.
 58. *Tiemeyer B., Frings J., Kahle P., Kohne S., Lennartz B.* A comprehensive study of nutrient losses, soil properties and groundwater concentrations in a degraded peatland used as an intensive meadow – implications for rewetting // *J. Hydrology.* 2007. V. 345. P. 80–101.
 59. *Vance E.D., Brookes P.C., Jenkinson D.S.* An extraction method for measuring soil microbial biomass C // *Soil Biol. Biochem.* 1987. V. 19. P. 703–707.
 60. *Verhamme D.T., Prosser J.I., Nicol G.W.* Ammonia concentration determines differential growth of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms // *ISME J.* 2011. V. 5. P. 1067–1071.
 61. *Wang B., Liu G.B., Xue S., Zhu B.* Changes in soil physico-chemical and microbiological properties during natural succession on abandoned farmland in the Loess Plateau // *Environ. Earth Sci.* 2011. V. 62. P. 915–925.
 62. *Wang C., Tang S., He X., Ji G.* The abundance and community structure of active ammonia-oxidizing archaea and ammonia-oxidizing bacteria shape their activities and contributions in coastal wetlands // *Water Res.* 2020. V. 171. P. 115464.
 63. *Westbrook C.J., Devito K.J., Allan C.J.* Soil N cycling in harvested and pristine Boreal forests and peatlands // *Forest Ecol. Manage.* 2006. V. 234. P. 227–237.
 64. *Xie Z., Roux X.L., Wang C.P., Gu Z.K., An M., Nan H.Y., Chen B.Z., Li F., Liu Y.J., Du G.Z., Feng H.Y., Ma X.J.* Identifying response groups of soil nitrifiers and denitrifiers to grazing and associated soil environmental drivers in Tibetan alpine meadows // *Soil Biol. Biochem.* 2014. V. 77. P. 89–99.
 65. *Yu S., Ehrenfeld J.G.* The effects of changes in soil moisture on nitrogen cycling in acid wetland types of the New Jersey Pinelands (USA) // *Soil Biol. Biochem.* 2009. V. 41. P. 2394–2405.
 66. *Zhang J., Sun W., Zhong W., Cai Z.* The substrate is an important factor in controlling the significance of heterotrophic nitrification in acidic forest soils // *Soil Biol. Biochem.* 2014. V. 76. P. 143–148.
 67. *Zhang J.B., Wang J., Zhong W.H., Cai Z.C.* Organic nitrogen stimulates the heterotrophic nitrification rate in an acidic forest soil // *Soil Biol. Biochem.* 2015. V. 80. P. 293–295.
 68. *Zhang Y., Wang J., Dai S., Zhao J., Huang X., Sun Y., Chen J., Cai Z., Zhang J.* The effect of C : N ratio on heterotrophic nitrification in acidic soils // *Soil Biol. Biochem.* 2019. P. 107562.

Nitrification in Eutrophic Peat Soils under Different Types of Land Use

M. N. Maslov¹*, L. A. Pozdnyakov¹, and O. A. Maslova²

¹ Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

² Institute of Molecular Genetics – NRC Kurchatov Institute, Moscow, 123182 Russia

*e-mail: maslov.m.n@yandex.ru

The profile distribution of soil properties and intensity of net-nitrification in Yakhroma floodplain (Moscow region) eutrophic peatlands of different land-use types (near-pristine forest, post-agrogenic site, arable sites with cultivation duration of more than 50 and more than 100 years) was estimated. It was revealed that the land use type had a significant impact on the content of organic carbon, total nitrogen, the ratio C : N, as well as the content of nitrates and the net-nitrification rate only in the surface layers of peat (0–20 and 20–40 cm). The influence of the land use type on the processes of the nitrogen cycle in the soil was revealed through changes in the quantity, quality and regularity of fresh plant litter. It was found that nitrification was the main process of microbiological transformation of nitrogen compounds in peatlands, regardless of the type of their land use, while arable peatlands were characterized by a lower nitrification rate compared to peatlands under forest vegetation. In the forest peatland, the autotrophic nitrification pathway prevailed over the heterotrophic one, while for agrogenic and postagrogenic peatlands, the intensity of autotrophic and heterotrophic nitrification was comparable. The first step of autotrophic nitrification was carried out mainly by ammonium-oxidizing archaea, while the number of copies of the *amoA* gene of ammonium-oxidizing bacteria was 1–2 orders of magnitude less.

Keywords soil microbial biomass, autotrophic nitrification, heterotrophic nitrification, ammonium-oxidizing archaea, eutrophic peatlands, Histosols