

УДК 631.41

МЕТАБОЛОМ ЧЕРНОЗЕМОВ ТИПИЧНЫХ РАЗЛИЧНОГО ВИДА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

© 2025 г. Ю. Р. Фарходов^{a,*} (<https://orcid.org/0000-0002-0210-380X>),
Н. А. Куликова^b, Н. Н. Данченко^a, В. П. Белобров^a, Н. В. Ярославцева^a,
В. И. Лазарев^c, С. А. Крысанов^d, В. А. Холодов^a

^aПочвенный институт им. В.В. Докучаева, Пыжевский пер., 7, стр. 2, Москва, 119017 Россия

^bМГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

^cКурский федеральный аграрный научный центр, ул. Карла Маркса, 70Б, Курск, 305021 Россия

^dСеверный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова,
набережная Северной Двины, 17, Архангельск, 163002 Россия

*e-mail: yulian.farkhodov@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.06.2024 г.

После доработки 20.08.2024 г.

Принята к публикации 31.08.2024 г.

Исследовано влияние землепользования на формирование метаболома чернозема типичного. Проанализированы черноземы типичные (Haplic Chernozems) многолетних полевых опытов Курского ФАНЦ (пос. Черемушки, Курская область) четырех видов использования: 55-летний бессменный черный пар, 21-летняя залежь после бессменного черного пара, 4-летние полевые опыты с применением технологии прямого посева и традиционной обработки. Для изучения почвенного метаболома проводили водную экстракцию фумигированной и нефумигированной почвы с последующим определением содержания водоекстрагируемого органического углерода ($C_{вз}$) и углерода микробной биомассы ($C_{мик}$) методом высокотемпературного каталитического окисления, а также состава почвенных метаболитов методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией. На примере залежи продемонстрировано влияние постагрогенной трансформации черноземов на накопление лабильных форм почвенного углерода. Вспашка черноземов в условиях отсутствия поступления растительного опада приводит к сокращению содержания лабильного углерода. На уровне тенденции показан положительный эффект прямого посева на содержание лабильных форм углерода. По результатам метаболомного анализа черноземов идентифицировано 21 соединение, участвующее в метаболизме углеводов, липидов и азотистых веществ. С помощью индекса разнообразия Шеннона продемонстрировано негативное влияние вспашки на сложность метаболомных профилей черноземов. Наиболее контрастные различия в метаболитном составе выявлены между черноземами, находящимися под залежью и паром, которые обусловлены преобладанием вкладов метаболитов растительного и микробного происхождения соответственно. Наблюдается тенденция к накоплению метаболитов растительного происхождения в черноземе, формирующемся в условиях применения прямого посева. Установлено, что в метаболомном профиле пахотных черноземов доминируют компоненты углеводного обмена, а в непашотных — компоненты азотистого и липидного обмена.

Ключевые слова: многолетние опыты, ГХ/МС, почвенные метаболиты, неспецифическое POV, углерод микробной биомассы

DOI: 10.31857/S0032180X25010073, **EDN:** BXWEUP

ВВЕДЕНИЕ

Метаболом — совокупность низкомолекулярных веществ (<2000 Да), являющихся конечными или промежуточными продуктами обмена веществ в биологических системах [2, 48, 26]. Высокая биологическая активность многих метаболитов позволяет им участвовать в физиологических процессах,

обеспечивая строительную, энергетическую, регуляторную, сигнальную, каталитическую, защитную и другие функции живых организмов [48, 15]. Метаболиты представлены широким спектром органических соединений, большинство из которых относятся к таким группам веществ, как низкомолекулярные кислоты, сахара, аминокислоты, липиды,

пептиды, фенольные соединения, витамины, терпены, терпеноиды, алкалоиды, гликозиды, антибиотики, антимикотики, гормоны [33].

Исследование метаболома находит широкое применение в современной биологии и медицине. Метаболомный подход в изучении биологических объектов позволяет проводить функциональное считывание их физиологического состояния [22]. В последнее время подобный подход стали использовать и применительно к почве [26, 47].

Низкомолекулярные вещества, вырабатываемые почвенной биотой, называют почвенным метаболомом. С точки зрения принадлежности к концептуальным пулам почвенного органического вещества (ПОВ), они относятся к лабильному пулу, активно участвуют в биогеохимических циклах, являются чувствительными показателями изменения факторов окружающей среды [39].

Одним из основных факторов современного почвообразования является сельскохозяйственная деятельность человека. Влияние вида использования на содержание и состав ПОВ разносторонне исследуется, при этом почвенные метаболиты как представители неспецифической части ПОВ слабо изучены. Основные исследования по этой тематике связаны с влиянием особенностей выращивания отдельных сельскохозяйственных культур на состав метаболитов ризосферы. Например, показано, что длительное бессменное возделывание ячменя (*Hordeum vulgare* L.) на Kastanozems приводит к накоплению в ризосфере липидов, липидоподобных молекул, органических кислот и гетероциклических соединений [50]. В другом исследовании установлено, что чередование культур кукурузы и сои по сравнению с их бессменным возделыванием приводит к увеличению содержания углеводов, кетонов и липидов [46]. Наличие в почве цитокинина дигидрозеатина может быть использовано в качестве показателя бессменного выращивания кукурузы [47]. Состав и содержание почвенных метаболитов влияют на супрессивную активность почвы. На примере почв (Calcarosols, Dermosols, Sodosols and Chromosols) штата Виктория (Австралия) показано, что метаболиты почв сельскохозяйственного назначения по сравнению с целинными оказывают значимо меньшую антибиотическую активность в отношении сенной палочки (*Bacillus subtilis*) [36]. Таким образом, воздействие различных аспектов землепользования таких, как система удобрений, способ обработки, система севооборота, применение средств защиты растений, орошение и мелиорация на состав почвенного метаболома остается малоизученным.

Цель исследования — оценка влияния вида использования на особенности метаболомных профилей черноземов типичных — одних из наиболее плодородных почв России.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования выбраны черноземы типичные (Haplic Chernozem) [4, 45] полевых опытов на территории Курского ФАНЦ (пос. Черемушки, Курская область). Отбор образцов проводили в августе 2019 г. на площадках опробования примерно 10×10 м, на которых по диагонали отбирали три индивидуальных образца в слое 0–15 см массой около 2 кг. Каждый индивидуальный образец усредняли методом квартования до 50 г и дальнейшие работы проводили с ним. Исследованы черноземы, формирующиеся в условиях контрастных видов использования: 55-летний бессменный черный пар, 21-летняя залежь после бессменного черного пара и 4-летний полевой опыт с применением технологии прямого посева и традиционной обработки.

На участке бессменного черного пара (далее — пар) почва поддерживается в чистом от сорняков состоянии путем регулярной вспашки с оборотом пласта на глубину 20–22 см. На участке залежи после бессменного черного пара (далее — залежь) отсутствует обработка почвы и контроль над растительным покровом; растительность представлена степным типом. Участки с применением технологии прямого посева (ПП) и традиционной обработки (ТО) расположены на территории многолетних опытов, где применяется четырехпольный зерновой севооборот без пропашных культур с двумя полями зернобобовых одногодичного пользования: горох, озимая пшеница, соя, ячмень. На участке с ТО применяют отвальную вспашку на глубину 20–22 см. Пробоотбор на этих вариантах проводили на участках третьего поля во время возделывания сои.

Комплекс лабораторных исследований включал оценку актуальной кислотности, общего содержания углерода и азота, содержания водоэкстрагируемого и микробного углерода, а также определение метаболитного состава.

Величину pH_{H_2O} оценивали в водной суспензии в массовом соотношении 1 : 5 [1] с помощью иономера pH 211 Microprocessor pH Meter (Hanna instruments, США). Общее содержание углерода ($C_{общ}$) и азота ($N_{общ}$) определяли методом высокотемпературного каталитического окисления на элементном анализаторе vario-MACRO cube (Elementar, Германия) [24]. Содержание водоэкстрагируемого углерода и состава почвенных метаболитов оценивали в водных вытяжках из нефумигированной и фумигированной почвы [40, 42], характеризуя в первом случае внеклеточный метаболом, а во втором — суммарный внеклеточный и внутриклеточный метаболом. Для приготовления вытяжки суспензию почвы в деионизованной воде (ASTM тип 1, 18.2 MΩ см без CO_2) в массовом соотношении 1 : 5 перемешивали на обратном ротаторе при 4°C в течение 1 ч, центрифугировали

15 мин при 3220g с последующим фильтрованием супернатанта через шприцевой фильтр из ацетата целлюлозы с диаметром пор 0.45 мкм. Фумигацию почвы проводили в вакуумном эксикаторе в парах хлороформа в соответствии с методическими рекомендациями [3]. Содержание водоекстрагируемого углерода оценивали методом каталитического окисления водной вытяжки при 720°C на анализаторе TOC-L CSN (Shimadzu, Япония) [23]. Содержание углерода микробного происхождения ($C_{\text{мик}}$) рассчитали по разности содержания водоекстрагируемого углерода в фумигированной ($C_{\text{вз}} + C_{\text{мик}}$) и нефумигированной почве ($C_{\text{вз}}$) [42]. Содержание почвенных метаболитов оценивали в соответствии с общепринятой методикой [40, 27]. Для этого полученные экстракты сушили с помощью роторного испарителя Hei-Var (Heidolph, Германия), полученный осадок повторно растворяли в 200 мкл метанола с использованием ультразвука. Метанольный экстракт фильтровали через центрифужные фильтры с диаметром пор 0.22 мкм (Ultrafree-MC-GV PVDF, Millipore, Billerica, MA), из фильтрата отбирали аликвоту 100 мкл и сушили в токе азота. Твердый остаток после удаления метанола подвергали двухэтапной дериватизации: первый этап проводили добавлением 10 мкл раствора, содержащего 40 мг/мл 98% метоксиамины гидрохлорида в пиридине, при температуре 30°C в течение 90 мин, второй этап проводили добавлением 90 мкл N-метил-N-триметилсилилтрифторацетида с 1% триметилхлорсиланом при температуре 37°C в течение 30 мин. В полученную реакционную смесь добавляли внутренний стандарт — метиловый эфир наонадекановой кислоты и переносили в хроматографическую виалу. Далее экстракт анализировали на газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектором GCMS-QP2010 (Shimadzu, Япония). Условия хроматографирования: начальная температура колонки 60°C с экспозицией 5 мин, температурный градиент 5°C/мин до 310°C с экспозицией 7 мин, температура инжектора 250°C. Капиллярная хроматографическая колонка GsBP-5MS (Gs-Tek, США), 30 м, масс-детектор квадрупольного типа, ионизация — электронный удар с энергией ионизации 70 эВ, диапазон

детектируемых масс 50–600 m/z . Деконволюцию хроматограмм и разметку хроматографических пиков проводили с помощью веб-сервиса Global Natural Products Social Molecular Networking [12], идентификацию пиков осуществляли в программе MS Search с помощью баз данных масс-спектров и индексов удерживания: NIST11 (National Institute of Standards and Technology, США), Fiehn BinBase DB (MassBank of North America). Для идентифицированных метаболитов проводили полуквантитативный анализ методом внутренней нормализации [30]. На основании данных по относительно-му содержанию метаболитов рассчитывали индекс разнообразия Шеннона H по формуле:

$$H = -\sum p_i \ln(p_i),$$

где p_i — относительное содержание i -ого метаболита.

Анализ данных проводили с помощью языка программирования R в среде разработки RStudio [34]. Для разведочного анализа использовали кластерный анализ, сравнение средних значений проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа и критерия Тьюки при уровне значимости $p = 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Химические свойства черноземов. В табл. 1 представлены результаты оценки некоторых химических характеристик почв. По значению pH_{H_2O} варианты опыта не различались, для всех вариантов была отмечена близкая к нейтральной слабокислая реакция среды, что характерно для этого подтипа черноземов. Наибольшее содержание $C_{\text{орг}}$ было обнаружено для образцов варианта залежь, наименьшее — для пара, почвы вариантов ТО и ПП по этому показателю между собой значимо не различались. Наименьшее содержание $N_{\text{общ}}$ характерно для варианта пар, между остальными вариантами различия не выявлены. Наибольшее значение показателя C/N характерно для почвы варианта залежь, различия остальных вариантов слабо выражены. Заметна тенденция к уменьшению содержания $C_{\text{вз}}$ под влиянием механической обработки (варианты пар и ТО), при этом минимальное содержание $C_{\text{вз}}$ характерно для

Таблица 1. Основные химические свойства исследованных черноземов

Вариант	pH_{H_2O}	$C_{\text{орг}}, \%$	$N_{\text{общ}}, \%$	C/N	$C_{\text{вз}}, \text{мг/л}$	$C_{\text{мик}}, \text{мг/л}$
Пар	$6.45 \pm 0.11a$	$2.81 \pm 0.03a$	$0.24 \pm 0.01a$	$11.9 \pm 0.4ac$	$193 \pm 10a$	$76 \pm 10a$
Залежь	$6.47 \pm 0.10a$	$3.78 \pm 0.21b$	$0.30 \pm 0.01b$	$12.7 \pm 0.1a$	$373 \pm 46b$	$465 \pm 203bc$
ТО	$6.45 \pm 0.06a$	$3.20 \pm 0.09c$	$0.29 \pm 0.01b$	$11.1 \pm 0.4bc$	$271 \pm 58abc$	$177 \pm 61a$
ПП	$6.48 \pm 0.12a$	$3.34 \pm 0.05c$	$0.30 \pm 0.01b$	$11.5 \pm 0.4bc$	$344 \pm 23bc$	$180 \pm 54ac$

Примечание. Среднее значение \pm стандартное отклонение ($n = 3$), буквенными индексами показана значимость различий между вариантами в результате их попарных сравнений.

почвы варианта пар, куда не поступают растительные остатки. Максимальное содержание лабильных форм углерода ($C_{вз}$, $C_{мик}$) наблюдали в почве варианта залежь, минимальное — варианта пар. Почвы вариантов ТО и ПП по этим показателям достоверно не различались, однако заметен тренд к их увеличению для ПП, что ранее было показано в [11].

Таким образом, полученные результаты продемонстрировали выраженное отличие почвы варианта залежь, характеризующейся максимальным содержанием $C_{орг}$, отношением C/N и $C_{мик}$. В черноземе, находящемся под залежью, выражены процессы постагрогенной трансформации, которые проявляются в накоплении ПОВ, а также изменении его состава за счет поступления растительного материала [10]. Пар — вариант опыта с наиболее деградированным черноземом, поэтому в этом случае почва характеризуется минимальными значениями всех изученных показателей содержания ПОВ [10]. Отсутствие достоверных отличий ПП от ТО, вероятно, связано с короткой продолжительностью эксперимента (4 года), недостаточной для статистически значимого увеличения содержания водоэкстрагируемого органического вещества [11], которое наблюдается при долгосрочных экспериментах [13, 37, 41].

Метаболомный профиль черноземов. По результатам метаболомного анализа было обнаружено и идентифицировано 21 соединение, 12 из которых были определены только в вытяжках из фумигированной почвы (рис. 1, табл. S1). Для водной вытяжки нефумигированных черноземов характерно наличие жирных кислот (каприловая, миристиновая, пальмитиновая, стеариновая), углеводов (глюкоза, трегалоза, сахароза), трехатомного спирта глицерина и аминокислоты аланина. Фумигация приводит к лизису клеток почвенных микроорганизмов и выделению большого количества углеводов и их производных (глюкоза, ксилоза, арабиноза, глюкозофосфат, галактоза, трезоза, мальтоза, фруктоза и тагатоza, маннозилглицерат, сорбитол), а также аминокислот (изолейцин, лейцин). Полученные результаты хорошо согласуются с данными предыдущих исследований, также демонстрирующих увеличение количества определяемых метаболитов вследствие фумигации. На примере Alfisols, Inceptisols и Ultisols было показано, что многие соединения обнаруживаются только в фумигированных образцах: 2'-дезоксцитидин, пролин, тимин, трезоза, рибоза, галактоза, глюконовая кислота и аллоза [40]. Наблюдаемый эффект объясняется тем, что

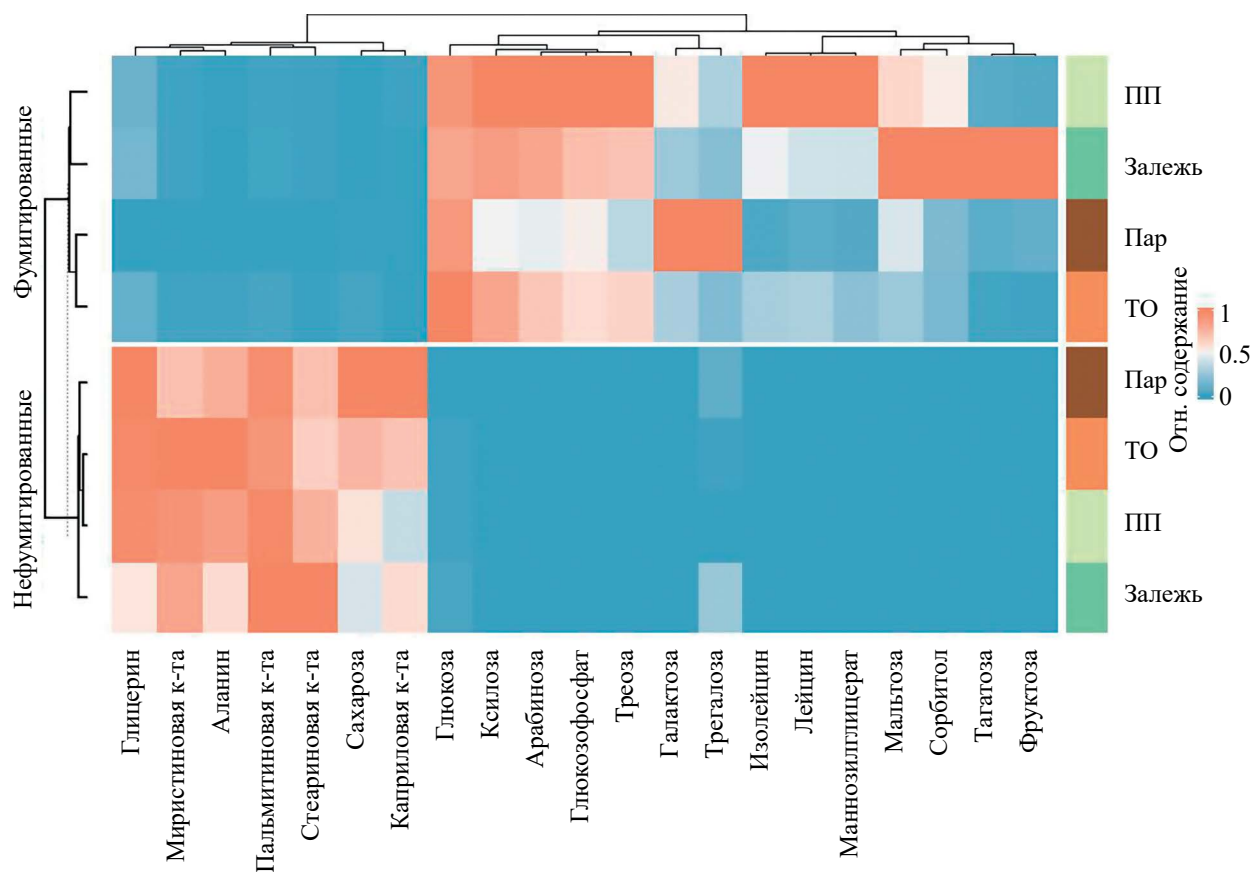


Рис. 1. Кластерограмма относительного содержания метаболитов черноземов типичных различного вида использования.

метаболический профиль нефумигированной почвы определяется только внеклеточными микробными и растительными экссудатами (экзометаболитами), а компонентный состав водной вытяжки фумигированной почвы дополнительно включает в себя эндометаболиты микроорганизмов [40].

С целью оценки влияния вида использования черноземов на разнообразие почвенных метаболитов рассчитаны индексы Шеннона. Разнообразие состава метаболитов нефумигированных черноземов во всех вариантах было примерно одинаковым и не зависело от вида использования (рис. 2). По всей видимости, это связано с тем, что в составе метаболитов в этом случае преобладают только соединения, обладающие определенной термодинамической устойчивостью в конкретных почвенных условиях. Поэтому для исследованных черноземов, характеризующихся близкими свойствами и располагающихся в сходных климатических условиях, разнообразие метаболитов находилось на близком уровне. В случае метаболома фумигированных черноземов показано, что вид использования оказывал влияние на индекс Шеннона: наиболее сложным составом метаболитов обладал чернозем варианта залежь, а наименее разнообразным – чернозем варианта ТО. Можно предположить, что наблюдаемый феномен связан с биоразнообразием почвенных микроорганизмов [29], которое увеличивается в условиях поступления большого количества растительного материала и отсутствия вспашки [28, 51]. Данное наблюдение подтверждается ранее полученными данными о высоком разнообразии аминокислотного состава

естественных черноземов по сравнению с агрочерноземами [8].

Кластерный анализ метаболомных профилей нефумигированных черноземов показал, что наибольшие различия наблюдаются для профилей вариантов залежь и пар, различия между вариантами ТО и ПП слабо выражены. Наблюдаемые отличия были связаны преимущественно с метаболитами жирных кислот вторичного метаболизма растений. Почва варианта пар характеризовалась минимальным относительным содержанием стеариновой кислоты – соединения, связанного с метаболизмом жирных кислот и биосинтезом вторичных метаболитов растений [49]. Принимая во внимание, что одновременно в этом варианте было обнаружено наибольшее относительное содержание сахарозы, утилизация которой в почве часто интенсифицируется в присутствии ризосферных микроорганизмов [49], наблюдаемые особенности метаболома почвы варианта пар могут объясняться отсутствием растений. В метаболоме почвы варианта залежь, напротив, относительное содержание сахарозы было минимальным, а стеариновой кислоты – максимальным. Группировка исследованных вариантов черноземов по составу метаболитов фумигированной почвы указывает на влияние вспашки и ассоциирована преимущественно с составом эндометаболитов: в пахотных черноземах по сравнению с непашотными заметна тенденция уменьшения доли углеводов (мальтоза, ксилоза, арабиноза, треола), липидов (глицерин, стеариновая кислота) и аминокислот (лейцин, изолейцин).

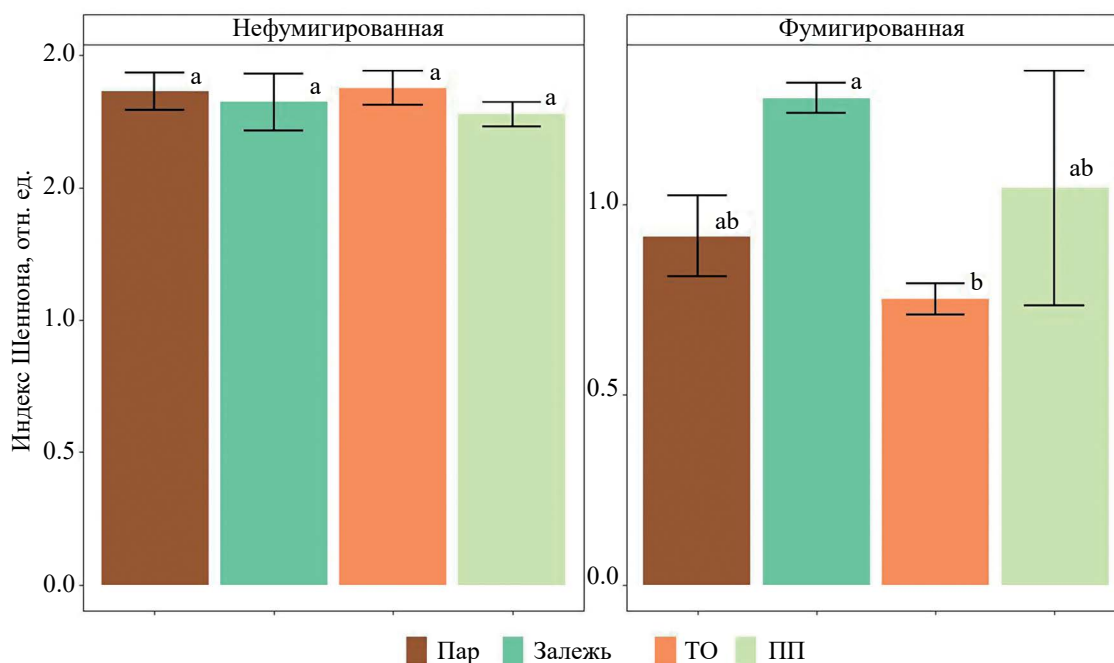


Рис. 2. Разнообразие метаболитного состава черноземов типичных по индексу Шеннона.

По результатам статистического анализа показано значимое влияние вида использования на относительное содержание 9 метаболитов (табл. S1). Среди экзометаболитов только относительное содержание трегалозы различалось в зависимости от варианта опыта. Трегалоза, или микоза — дисахарид, состоящий из двух молекул глюкозы, активно вырабатывается в клетках грибов [19]. Наибольшее относительное содержание трегалозы наблюдалось для черноземов залежи, что предположительно связано с высоким содержанием грибной биомассы ввиду обилия микотрофных растений и отсутствия вспашки [7]. Помимо этого, трегалоза является молекулой-осмолитом, которая вырабатывается в клетках живых организмов для поддержания тургорного давления, а также участвует в поддержании взаимосвязи микроорганизмов и растений в качестве сигнальной молекулы [25]. Принимая этот факт во внимание, можно предполагать недостаток почвенной влаги в черноземе варианта залежь. Сделанное наблюдение хорошо согласуется с сельскохозяйственной практикой в степных районах. Известно, что возделывание многолетних трав в этих регионах приводит к значительному иссушению почвы, поэтому их долю в севообороте стараются минимизировать или исключить [5].

Среди эндометаболитов достоверные различия между видами использования выявлены в относительном содержании арабинозы, фруктозы, глюкозы, галактозы, глицерина, изолейцина, тагатозы, трегалозы и ксилозы. Наибольшими отличиями в содержании этих компонентов характеризовались метаболомы почв вариантов залежь и пар. Арабиноза, ксилоза и глицерин накапливались во всех черноземах, кроме пара. Максимальное содержание тагатозы и фруктозы характерно для залежи, а галактозы и трегалозы — для пара. Гексозы галактоза и манноза являются преимущественно микробными метаболитами, а пентозы арабиноза и ксилоза — растительными [32], поэтому обилие арабинозы и ксилозы в вариантах залежь, ПП и ТО, вероятно, связано с наличием углеводов растительного происхождения во внутриклеточном пространстве почвенных микроорганизмов и большим содержанием мелких корней [16]. При паровании, в условиях отсутствия поступления растительного опада, происходит накопление галактозы — углевода микробного происхождения [32]. Высокое содержание кетогексоз (фруктозы и тагатозы) связывают с растительными выделениями [31], что ярко выражено в метаболоме чернозема залежи. Отношение содержания галактозы к сумме содержаний арабинозы и ксилозы, рассчитанное по данным табл. S1, составило для вариантов пар, залежь, ТО и ПП 11.4, 1.9, 2.4 и 3.2 соответственно. Полученные значения указывают на преобладание вклада растительной биомассы в формирование метаболома чернозема варианта залежь, а микробной — варианта пар [18].

Низкое содержание глюкозы в варианте залежь, вероятно, обусловлено высокой микробной активностью и интенсивным потреблением глюкозы в качестве основного источника энергии [20]. Накопление трегалозы в составе микробных метаболитов варианта пар отражает влияние абиотического стресса [17, 35, 43, 44]. Незащищенный растительностью поверхностный слой почвы быстрее прогревается, что приводит к увеличению испаряемости почвенной влаги. Накопление трегалозы в варианте залежь среди экзометаболитов и варианте пар среди эндометаболитов может указывать на то, что растения и почвенные микроорганизмы испытывают стресс в результате недостаточного увлажнения [43]. Отсутствие тех же закономерностей для остальных вариантов, вероятно, объясняется различиями в водных режимах изучаемых черноземов. Обилие изолейцина в метаболомном профиле почвы варианта ПП может быть обусловлено присутствием значительного количества грибов, которые активно развиваются в отсутствие вспашки [14, 21]. Статистически значимых различий в метаболитном составе черноземов вариантов ПП и ТО не выявлено, что, скорее всего, определено краткосрочностью этих полевых опытов (4 года). При этом отчетливо видна тенденция увеличения содержания некоторых сахаров (арабиноза, фруктоза, галактоза, тагатоза, треоза, ксилоза), аминокислот (лейцин, изолейцин) и липидов (глицерин, пальмитиновая и стеариновая кислота) в составе метаболома почвы варианта ПП по сравнению с ТО, которая повторяет закономерности различий вариантов залежь и пар и, соответственно, указывает на положительное влияние поступления растительных остатков и отсутствия обработки почвы на содержание и разнообразие почвенных метаболитов.

Для обобщенной оценки влияния вида использования на метаболомные профили черноземов идентифицированные молекулы были разделены в зависимости от принадлежности к определенному типу обмена веществ: аминокислоты участвуют в азотистом обмене, жирные кислоты и глицерин — компоненты липидного обмена, а сахара и их производные относятся к компонентам углеводного обмена (рис. 3, табл. S1). Показано, что среди метаболитов нефумигированных черноземов доминируют липиды, а после фумигации — углеводы. Влияние вида использования на групповой состав метаболитов нефумигированных черноземов не выявлено, для фумигированных вариантов обнаружены достоверные различия по всем выделенным группам, что, вероятно, связано с различиями в составе микробной биомассы [6, 52]. На основании сравнения относительного содержания аминокислот и липидов выявлены статистически значимые различия между черноземом варианта пар и другими почвами, в то время как почвы вариантов залежь, ПП, ТО не различались между собой.

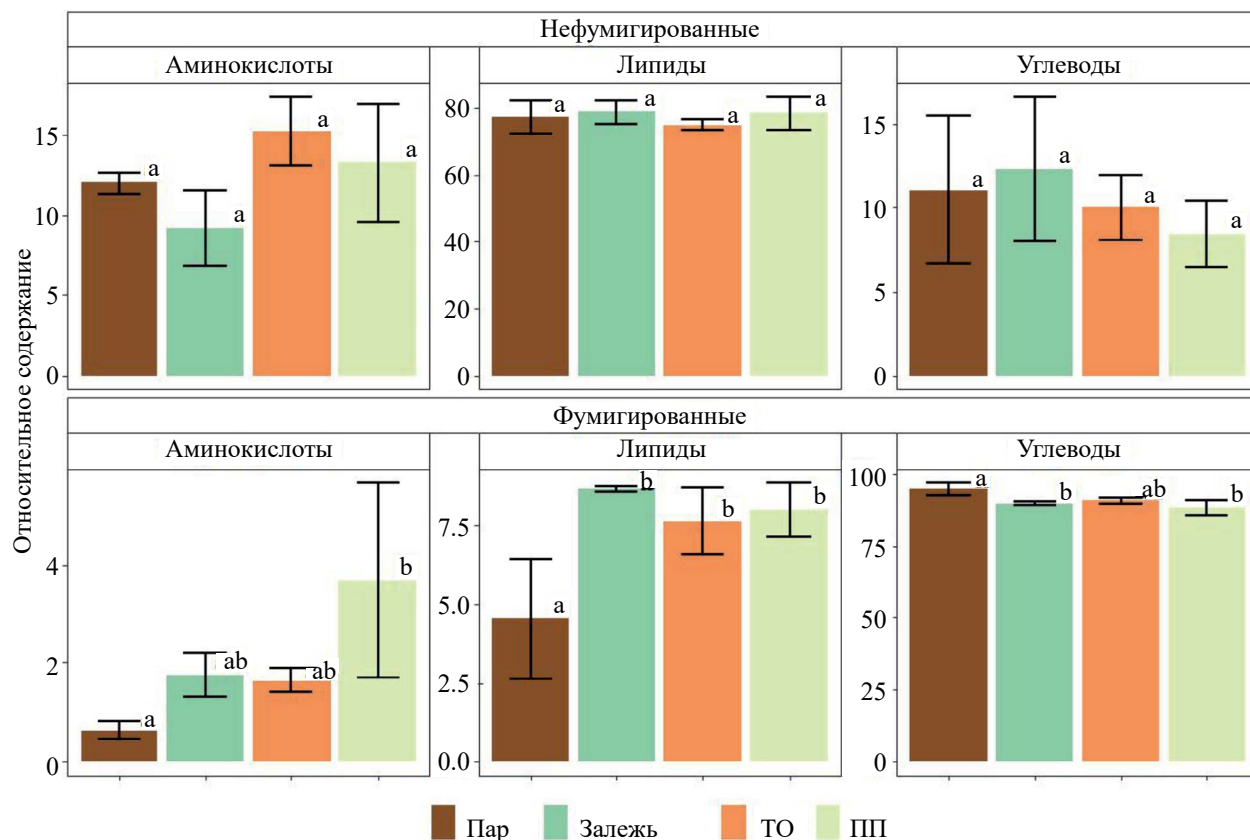


Рис. 3. Групповой метаболитный состав черноземов типичных.

Заметно, что для пахотных вариантов по сравнению с непашотными характерна высокая доля углеводов, а также низкие доли аминокислот и липидов. Наблюдаемые закономерности предположительно обусловлены различием в происхождении почвенных метаболитов: для пахотных вариантов преимущественно микробное, а для непашотных — растительное [38]. Наиболее контрастные различия наблюдались между черноземами вариантов залежь и пар. Похожие, но менее выраженные различия были между почвами вариантов ПП и ТО. Полученные результаты по групповому метаболитному составу согласуются с данными по составу термолабильных фракций ПОВ типичных черноземов различного землепользования [9], которые так же как $C_{вз}$ могут характеризовать лабильный пул ПОВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение состава и трансформации неспецифического ПОВ остается актуальным направлением исследований роли гумусного состояния в формировании плодородия почв в условиях различного землепользования. Почвенные метаболиты, соединения неспецифической природы, характеризуют как неживую, так и живую части почвы, поэтому метаболитный профиль почвы можно

рассматривать как совокупную характеристику неспецифического ПОВ и ОВ активной микробной биомассы. В настоящей работе проведена оценка влияния вида использования черноземов типичных на их метаболитный профиль. В результате исследования идентифицировано 21 соединение, участвующее в метаболизме углеводов, липидов и азотистых веществ. Показано, что основные различия метаболомов черноземов связаны с содержанием внутриклеточных метаболитов, поэтому для экономии времени и ресурсов рекомендуется изучать почву, предварительно обработанную парами хлороформа, что позволяет, помимо экзометаболитов, выделять эндометаболиты почвенных микроорганизмов. Наиболее контрастные различия в составе метаболома черноземов выявлены между вариантами залежь и пар; они обусловлены преимущественным вкладом метаболитов растительного и микробного происхождения соответственно. Метаболиты черноземов под прямым посевом и с применением традиционной обработки слабо различались, но повторяли общие тенденции в изменении состава метаболомов вариантов залежь и пар. В структуре метаболома пахотных черноземов доминируют компоненты углеводного обмена, а в непашотных — компоненты азотистого и липидного обмена. С помощью индекса разнообразия

Шеннона продемонстрировано негативное влияние вспашки на сложность метаболомных профилей черноземов. Зависимость сложности состава почвенных метаболитов от вида использования указывает на диагностический потенциал этого показателя в целях чувствительной интегральной оценки влияния факторов окружающей среды на состояние почвенной системы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 23-26-00107.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Онлайн-версия содержит дополнительные материалы, доступные по адресу
<https://doi.org/10.31857/S0032180X25010073>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воробьева Л.А. Теория и практика химического анализа почв. М.: ГЕОС, 2006. 400 с.
2. Гончаров Н.В., Уколов А.И., Орлова Т.И., Мигаловская Е.Д., Войтенко Н.Г. Метабомика: на пути интеграции биохимии, аналитической химии, информатики // Успехи современной биологии. 2015. Т. 135. № 1. С. 3–17.
3. Евдокимов И.В. Методы определения биомассы почвенных микроорганизмов // Russian Journal of Ecosystem Ecology. 2018. № 3. С. 1–20.
<https://doi.org/10.21685/2500-0578-2018-3-5>
4. Классификация и диагностика почв России. Смоленск: Ойкумена, 2004. 342 с.
5. Корчагин А.А., Мазиров М.А., Шукин И.М. Общее земледелие: учебное пособие. Владимир: Изд-во ВлГУ, 2021. 193 с.
6. Никитин Д.А., Иванова Е.А., Железова А.Д., Семенов М.В., Гаджиумаров Р.Г., Тхакахова А.К., и др. Оценка влияния технологии no-till и вспашки на микробиом южных агрочерноземов // Почвоведение. 2020. № 12. С. 1508–1520.
7. Полянская Л.М., Суханова Н.И., Чакмазян К.В., Звягинцев Д.Г. Особенности изменения структуры микробной биомассы почв в условиях залежи // Почвоведение. 2012. № 7. С. 792–792.
8. Фрунзе Н.И. Разнообразие аминокислот чернозема типичного (Молдавия) // Почвоведение. 2014. № 12. С. 1483–1489.
9. Холодов В.А., Фарходов Ю.Р., Ярославцева Н.В., Айдиев А.Ю., Лазарев В.И., Ильин Б.С., и др. Термолabile и термостабильное органическое вещество черноземов разного земледельческого использования // Почвоведение. 2020. № 8. С. 970–982.
<https://doi.org/10.31857/S0032180X20080080>
10. Холодов В.А., Ярославцева Н.В. Агрегаты и органическое вещество почв восстанавливающих черноземов. М.: ГЕОС, 2021. 119 с.
11. Холодов В.А., Фарходов Ю.Р., Ярославцева Н.В., Данченко Н.Н., Ильин Б.С., Лазарев В.И. Водорастворимый и микробный углерод черноземов разного вида использования // Бюл. Почв. ин-та им В.В. Докучаева. 2022. № 112. С. 122–133.
<https://doi.org/10.19047/0136-1694-2022-112-122-133>
12. Aksenov A.A., Laponogov I., Zhang Z., Doran S.L.F., Belluomo I., Veselkov D., et al. Auto-deconvolution and molecular networking of gas chromatography–mass spectrometry data // Nature Biotechnology. 2021. V. 39. № 2. P. 169–173.
<https://doi.org/10.1038/s41587-020-0700-3>
13. Chantigny M.H. Dissolved and water-extractable organic matter in soils: a review on the influence of land use and management practices // Geoderma. 2003. V. 113. № 3. P. 357–380.
[https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(02\)00370-1](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(02)00370-1)
14. Cheng H., Yuan M., Tang L., Shen Y., Yu Q., Li S. Integrated microbiology and metabolomics analysis reveal responses of soil microorganisms and metabolic functions to phosphorus fertilizer on semiarid farm // Sci. Total Environ. 2022. V. 817. P. 152878.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152878>
15. Chinou I. Primary and secondary metabolites and their biological activity // Chromatographic Sci. Series. 2008. V. 99. P. 59.
16. Domingues R., Bondar M., Palolo I., Queirós O., de Almeida C.D., Cesário M.T. Xylose Metabolism in Bacteria—Opportunities and Challenges towards Efficient Lignocellulosic Biomass-Based Biorefineries // Appl. Sci. 2021. V. 11. № 17. P. 8112.
<https://doi.org/10.3390/app11178112>
17. Elbein A.D., Pan Y.T., Pastuszak I., Carroll D. New insights on trehalose: a multifunctional molecule // Glycobiology. 2003. V. 13. № 4. P. 17R–27R.
<https://doi.org/10.1093/glycob/cwg047>
18. Fischer H., Meyer A., Fischer K., Kuzyakov Y. Carbohydrate and amino acid composition of dissolved organic matter leached from soil // Soil Biol. Biochem. 2007. V. 39. № 11. P. 2926–2935.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.06.014>
19. Gancedo C. Energy-yielding metabolism // The yeasts. 1989. V. 3. P. 205–259.

20. *Gunina A., Kuzyakov Y.* Sugars in soil and sweets for microorganisms: Review of origin, content, composition and fate // *Soil Biol. Biochem.* 2015. V. 90. P. 87–100. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.07.021>
21. *Helgason B.L., Walley F.L., Germida J.J.* Fungal and Bacterial Abundance in Long-Term No-Till and Intensive-Till Soils of the Northern Great Plains // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 2009. V. 73. № 1. P. 120–127. <https://doi.org/10.2136/sssaj2007.0392>
22. *Hollywood K., Brison D.R., Goodacre R.* Metabolomics: Current technologies and future trends // *PROTEOMICS.* 2006. V. 6. № 17. P. 4716–4723. <https://doi.org/10.1002/pmic.200600106>
23. ISO 8245. Water quality—guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC). 1999.
24. ISO 10694:1995 – Soil quality – Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis). 1995.
25. *Iturriaga G., Suárez R., Nova-Franco B.* Trehalose Metabolism: From Osmoprotection to Signaling // *Int. J. Molecular Sci.* 2009. V. 10. № 9. P. 3793–3810. <https://doi.org/10.3390/ijms10093793>
26. *Jones O.A.H., Maguire M.L., Griffin J.L., Dias D.A., Spurgeon D.J., Svendsen C.* Metabolomics and its use in ecology // *Austral Ecology.* 2013. V. 38. № 6. P. 713–720. <https://doi.org/10.1111/aec.12019>
27. *Kind T., Wohlgemuth G., Lee D.Y., Lu Y., Palazoglu M., Shahbaz S., et al.* FiehnLib: Mass Spectral and Retention Index Libraries for Metabolomics Based on Quadrupole and Time-of-Flight Gas Chromatography/Mass Spectrometry // *Anal. Chem.* 2009. V. 81. № 24. P. 10038–10048. <https://doi.org/10.1021/ac9019522>
28. *Li M., He P., Guo X.-L., Zhang X., Li L.-J.* Fifteen-year no tillage of a Mollisol with residue retention indirectly affects topsoil bacterial community by altering soil properties // *Soil Till. Res.* 2021. V. 205. P. 104804. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104804>
29. *Liu K., Ding X., Wang J.* Soil metabolome correlates with bacterial diversity and co-occurrence patterns in root-associated soils on the Tibetan Plateau // *Sci. Total Environ.* 2020. V. 735. P. 139572. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139572>
30. *Misra B.B.* Data normalization strategies in metabolomics: Current challenges, approaches, and tools // *Eur. J. Mass Spectrometry.* 2020. V. 26. № 3. P. 165–174. <https://doi.org/10.1177/1469066720918446>
31. *Miura M., Hill P.W., Jones D.L.* Impact of a single freeze-thaw and dry-wet event on soil solutes and microbial metabolites // *Appl. Soil Ecology.* 2020. V. 153. P. 103636. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103636>
32. *Oades J.M.* Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management // *Plant and Soil.* 1984. V. 76. № 1. P. 319–337. <https://doi.org/10.1007/BF02205590>
33. *Patel A., Patel N., Ali A., Alim H.* Chapter 4 – Metabolic engineering of plant primary–secondary metabolism interface // *Genomics, Transcriptomics, Proteomics and Metabolomics of Crop Plants.* Academic Press, 2023. P. 69–87. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95989-6.00015-2>
34. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2022. <https://www.R-project.org/>
35. *Reina-Bueno M., Argandoña M., Nieto J.J., Hidalgo-García A., Iglesias-Guerra F., Delgado M.J., et al.* Role of trehalose in heat and desiccation tolerance in the soil bacterium *Rhizobium etli* // *BMC Microbiology.* 2012. V. 12. № 1. P. 207. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-207>
36. *Rochfort S., Ezernieks V., Mele P., Kitching M.* NMR metabolomics for soil analysis provide complementary, orthogonal data to MIR and traditional soil chemistry approaches – a land use study // *Magnetic Resonance in Chemistry.* 2015. V. 53. № 9. P. 719–725. <https://doi.org/10.1002/mrc.4187>
37. *Romero C.M., Engel R.E., D'Andrilli J., Chen C., Zabinski C., Miller P.R., et al.* Bulk optical characterization of dissolved organic matter from semiarid wheat-based cropping systems // *Geoderma.* 2017. V. 306. P. 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.06.029>
38. *Samson M.-E., Chantigny M.H., Vanasse A., Menaséri-Aubry S., Royer I., Angers D.A.* Management practices differently affect particulate and mineral-associated organic matter and their precursors in arable soils // *Soil Biol. Biochem.* 2020. V. 148. P. 107867. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107867>
39. *Song Y., Yao S., Li X., Wang T., Jiang X., Bolan N., et al.* Soil metabolomics: Deciphering underground metabolic webs in terrestrial ecosystems // *Eco-Environment Health.* 2024. V. 3. № 2. P. 227–237. <https://doi.org/10.1016/j.eehl.2024.03.001>
40. *Swenson T.L., Jenkins S., Bowen B.P., Northen T.R.* Untargeted soil metabolomics methods for analysis of extractable organic matter // *Soil Biol. Biochem.* 2015. V. 80. P. 189–198. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.10.007>
41. *Toosi E.R., Castellano M.J., Singer J.W., Mitchell D.C.* Differences in Soluble Organic Matter After 23 Years of Contrasting Soil Management // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 2012. V. 76. № 2. P. 628–637. <https://doi.org/10.2136/sssaj2011.0280>
42. *Vance E.D., Brookes P.C., Jenkinson D.S.* An extraction method for measuring soil microbial biomass C // *Soil Biol. Biochem.* 1987. V. 19. № 6. P. 703–707. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6)
43. *Warren C.R.* Response of osmolytes in soil to drying and rewetting // *Soil Biol. Biochem.* 2014. V. 70. P. 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.12.008>
44. *Warren C.R., Manzoni S.* When dry soil is re-wet, trehalose is respired instead of supporting microbial growth // *Soil Biol. Biochem.* 2023. V. 184. P. 109121. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2023.109121>

45. World Reference Base for Soil Resources 2014, International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps Rome: FAO, 2015. 203 p.
46. Xu L., Jin S., Su Y., Lyu X., Yan S., Wang C., et al. Combined metagenomics and metabolomic analysis of microbial community structure and metabolic function in continuous soybean cropping soils of Songnen Plain, China // *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2024. V. 11. № 1. P. 46. <https://doi.org/10.1186/s40538-024-00569-x>
47. Yao S., Bian Y., Jiang X., Song Y. Characterization of dissolved organic matter distribution in forestland and farmland of mollisol based on untargeted metabolomics // *Soil Ecology Lett.* 2023. V. 5. № 4. P. 230179. <https://doi.org/10.1007/s42832-023-0179-1>
48. Zhang A., Sun H., Xu H., Qiu S., Wang X. Cell metabolomics // *Omics*. 2013. V. 17. № 10. P. 495–501. <https://doi.org/10.1089/omi.2012.0090>
49. Zhang J., Zhou D., Yuan X., Xu Y., Chen C., Zhao L. Soil microbiome and metabolome analysis reveals beneficial effects of ginseng–celandine rotation on the rhizosphere soil of ginseng-used fields // *Rhizosphere*. 2022. V. 23. P. 100559. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100559>
50. Zhao Y., Yao Y., Xu H., Xie Z., Guo J., Qi Z., et al. Soil metabolomics and bacterial functional traits revealed the responses of rhizosphere soil bacterial community to long-term continuous cropping of Tibetan barley // *PeerJ*. 2022. V. 10. P. e13254. <https://doi.org/10.7717/peerj.13254>
51. Zheng F., Wu X., Zhang M., Liu X., Song X., Lu J., et al. Linking soil microbial community traits and organic carbon accumulation rate under long-term conservation tillage practices // *Soil Till. Res.* 2022. V. 220. P. 105360. <https://doi.org/10.1016/j.still.2022.105360>
52. Zuber S.M., Villamil M.B. Meta-analysis approach to assess effect of tillage on microbial biomass and enzyme activities // *Soil Biol. Biochem.* 2016. V. 97. P. 176–187. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.03.011>

The Metabolome of Typical Chernozems under Different Land Uses

**Y. R. Farkhodov^{a,*}, N. A. Kulikova^b, N. N. Danchenko^a, V. P. Belobrov^a,
N. V. Yaroslavtsev^a, V. I. Lazarev^a, S. A. Krysanov^d, and V. A. Kholodov^a**

^a*Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, 119017 Russia*

^b*Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*

^c*Federal Agricultural Kursk Research Center, Kursk, 305021 Russia*

^d*Lomonosov Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk, 163002 Russia*

*e-mail: yulian.farkhodov@yandex.ru

The effect of land use on the formation of the metabolome of typical Chernozem is studied. Typical Chernozems (Haplic Chernozems) of four land uses—55-year-old permanent bare fallow, the plot untilled for 21 years after permanent bare fallow, and 4-year field experiments with zero tillage and traditional tillage—from the long-term field experiments at the Kursk Federal Agricultural Research Center (Cheremushki, Kursk oblast, Russia) are analyzed. To study the soil metabolome, the water extracts of both fumigated and nonfumigated soil samples are assayed for the contents of dissolved organic (DOC) and microbial biomass (Cmic) carbon species using high-temperature catalytic oxidation; the soil metabolites are analyzed using gas chromatography–mass spectrometry. The effect of postagrogenic Chernozem transformation on the accumulation of labile soil carbon species is demonstrated by the case study of the plot untilled for 21 years. Plowing of Chernozems in the absence of plant litter decreases the content of labile carbon. A positive effect of no-till practice on the content of labile carbon species is observable at the level of a trend. According to metabolomic analysis, 21 compounds involved in the metabolism of carbohydrates, lipids, and nitrogenous substances are identified in Chernozems. The Shannon diversity index shows that tillage has a negative effect on the complexity of metabolic profiles in Chernozems. Untilled Chernozems and those under permanent fallow conditions display the most contrasting metabolic compositions with the prevalence of metabolites having plant and microbial origin, respectively. The metabolites of a plant origin tend to accumulate in the chernozem under no-till conditions. The components of the carbohydrate metabolism are prevalent in the metabolomic profile of arable chernozemic soils and the components of nitrogen and lipid metabolism predominate in the untilled soils.

Keywords: long-term experiments, GC/MS, soil metabolites, non-specific soil organic matter, microbial biomass carbon