

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Анохиной Натальи Александровны на
тему: «Биогенные углеводороды в почвах парковых зон города Москвы»
по специальности 03.02.13 – почвоведение, 03.02.08 – экология.

Актуальность исследований. Алифатические соединения липидов относятся к наиболее гидрофобным органическим веществам, синтезируемым растениями. Биосинтез липидов, в частности, *n*-алканов – важный физиолого-биохимический процесс, обеспечивающий значимое звено биогеохимического цикла углерода. Разнообразие липидов, скорость их трансформации и деградации дает количественную информацию о почвенных процессах, общем состоянии экосистемы и ее углеродного пула, например, концентрация *n*-алканов позволяет характеризовать восстановление экосистемы леса. Гидрофобность органических молекул липидной фракции почв позволяет им связываться в прочные комплексы с твердыми фазами почв и ограничивает их миграцию в растворах из-за низкой растворимости в воде. Отсутствие избирательной деградации индивидуальных *n*-алканов при неизменности характерного углеводородного рисунка дает основание проводить палееореконструкцию растительного покрова и изучать процессы деградации углерод-содержащих соединений в почвах.

Вместе с тем, как количественно определить содержание и состав алифатических соединений липидов в растительных тканях и почвах? В каком виде и состоянии включаются алифатические углеводороды в почвенное органическое вещество: в неизменном или после разложения до производных? Как будут отражаться изменения природной среды в городских условиях на синтез липидов растениями, объемы их поступления в почву и стабилизацию? На каком уровне контролируется биodeградация липидов: молекулярном или экосистемном, определяясь совокупностью

внешних факторов? Эти принципиальные вопросы, по-прежнему, остаются актуальными и до сих пор не решенными.

Сказанное выше, подчеркивает актуальность, теоретическую новизну и прикладную значимость исследований, выполненных Н.А. Анохиной.

Содержание работы. Обоснование темы, объекты и методы исследований, экспериментальные результаты, полученные при реализации заявленных задач, подробно раскрыты и квалифицированно обсуждены в трех главах рецензируемой диссертации. Диссертация содержит 13 таблиц, 37 рисунков, 1 приложение и библиографию из 128 источников.

В подробном обзоре литературы обстоятельно рассмотрены источники поступления биогенных углеводов в почву, вопросы биосинтеза и структуры простых восков в растениях, синтез углеводов в микроорганизмах, взаимодействие и трансформация *n*-алканов, оценены источники их поступления в почву, отображены пути трансформации и вероятные механизмы стабилизации. В частности подробно рассматривается сорбция алканов в почве, круговорот углерода в лесных экосистемах.

В результате обобщения большого и разнообразного литературного материала были сформулированы основные приоритетные направления в исследовании проблемы накопления и биотрансформации биогенных углеводов в почвах парковых зон города Москвы.

Несомненным достоинством работы является представительность объектов исследований, включающих фитоценозы с липой сердцевидной, лещиной обыкновенной, кленом платанолистным и рябиной обыкновенной. В пределах выбранных площадок присутствовал и травянистый ярус. Методологически обосновано определение алканов в профилях почв. Важно подчеркнуть оригинальность исследования сезонных изменений состава и содержания *n*-алканов и *n*-метил-кетонов под различными широколиственными фитоценозами.

Приведены детальные характеристики гранулометрического состава исследованных почв и некоторые химические свойства почв,

микробиологические показатели (величины базального дыхания почв) почв экспериментальных площадок, имеющих самостоятельное познавательное значение.

Количество реперных почвенных разрезов и площадок, процедура подготовки образцов гарантировали репрезентативность полученных результатов. Подробное описание природных условий позволяет получить представление об основных внешних факторах, контролирующих превращение *n*-алканов и их продуктов в почвах.

В исследованиях использовался широкий спектр как общепринятых классических методов определения свойств почв (гранулометрический состав почвы, водопрочность агрегатов, содержание бензолкарбоновых кислот и др.), так и специальные методики выделения *n*-алканов и *n*-метил-кетонов из проб почв и подстилок, тканей растений (лист) с последующим анализом проб методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии.

Главным достоинством и преимуществом работы является оптимизация методики выделения *n*-алканов и *n*-метил-кетонов из проб почвы и подстилок. Также были выполнены в них исследования сезонных изменений скоростей трансформации почвенного органического вещества в почвах под широколиственными растительными сообществами для обоснования выбора временных точек пробоотбора, отражающих для данного типа листопадных растительных сообщества периоды, контрастные по запасам и скорости трансформации растительной мортмассы – основного источника липидов в почвах: начало вегетации – конец вегетации – начало листопада – постлистопадный период.

В экспериментальной части работы обсуждаются в сопоставлении с литературными данными результаты исследований содержания *n*-алканов и производных липидов в свежем листопаде, в надземной массе растений (подстилке), корнях и почве разных местоположений (лесопарк на Воробьевых горах, национальный парк «Лосиный остров»), а также и их профильное распределение в дерново-подзолистых почвах под липняками

НП «Лосиный остров». Приведены факты трансформации липидов и возможное участие продуктов их трансформации в сорбции минеральной почвенной массой. Определены размеры лабильного (*n*-метил-кетоны) и инертного (*n*-алканы) пулов липидного комплекса в почвах. Дана характеристика липидного комплекса на разных стадиях развития растений: зеленый лист – начало отмирания (желтый лист) – свежая подстилка (листопад). Также наиболее интересные результаты получены по составу и содержанию *n*-алканов и индивидуальных *n*-метил-алканов в подстилке, верхнего горизонта кленового, липнякового, кленово-липового сообщества в различные сезоны года.

Предпринята попытка выявить структурообразующее влияние липидного комплекса при сравнении сезонной динамики исследуемых почв и водопрочных агрегатов в почвах кленового и кленово-липового сообществ.

Обсуждаются основные механизмы химической и физической стабилизации *n*-алканов и их продуктов трансформации в почве на основе следующих показателей: ОЕР (odd-over-even predominance) – коэффициент преобладания нечетных соединений над четными для оценки преобладающего источника поступления, характеристики общего спектра *n*-алканов и приблизительной оценки деградации липидов; LSR (long-short ratio) – отношение *n*-алканов с длинной и короткой углеродной цепью для учета вклада низших растений и микробной биомассы в составе почвенных *n*-алканов; отношение *n*-алканы/2-метил-кетоны для оценки интенсивности переработки растительных липидов в почвенной мортмассе.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна.

Полученные оригинальные результаты позволили сформулировать 4 положения, выносимые на защиту.

Обоснована научная новизна и практическая значимость работы.

По результатам исследований сформулировано восемь выводов, которые информативны и соответствуют содержанию работы и защищаемым положениям.

В целом диссертационная работа написана на современном научном уровне, хорошим языком и читается с интересом.

Замечания по содержанию и оформлению работы. При общей высокой оценке работы Н.А. Анохиной, ее уникальности и соответствии с мировым уровнем имеется несколько вопросов и замечаний рекомендательного и дискуссионного характера:

1. В главе 1.3 диссертант утверждает, что органическое вещество почв состоит из гетерогенной смеси соединений...., но в то же время обязывает считать, что почвенное органическое вещество есть исходный континуум органических соединений..., лишь основываясь на гипотезе Lehmann, Kleber (2015). Как совместить такие две противоречивые теории?
2. При всей важности и актуальности выбора и модификации метода определения *n*-алканов, который позволяет увеличить выход липидов из образцов почв и подстилок на 51-56 и 28-35 %, соответственно, всегда стоит проблема верификации полученных результатов. В этой связи возникает вопрос, почему не сравниваются полученные значения с результатами, полученными методом Е.В. Фридланд (1979) (метод экстракции в аппарате Сокслета), для многих типов почв, включая и малогумусные горизонты. То есть, как узнать, какой процент липидов остался еще не экстрагированным из почв и подстилок? Более того, насколько сопоставимы выводы о распределении *n*-алканов и продуктов их трансформации, полученные автором, с аналогичными данными в зарубежных исследованиях, пользующихся оригинальной методикой - метод экстракции в аппарате Сокслета.

3. Для выбора точки отсчета квазиравновесного состояния липидов в почве были сделаны определения содержания бензолкарбоновых кислот: 4-гидроксibenзойной, бензойной и салициловой как меры деструкции лигнина. Однако, согласно нашему методологическому подходу к изучению биохимии лигнина в почвах, количественным критерием деструкции лигнина является степень трансформации боковых цепочек лигнина по отношению к растительной ткани, и рассчитывается эта величина с учетом степени окисленности лигнина на основании отношении кислот к альдегидам. Предлагаемый диссертантом вызывает сомнения, поскольку салициловая кислота присутствует в незначительных количествах, да и то, в основном в таких растениях как ива. Информацию по биохимии лигнина в почвах можно было получить и в иностранной литературе: Ertel J.R., Hedges J.I. (1984), Kögel I. (1985), Kögel-Knaber I. (1996), Amelung W. (1999) и др.. Более того, в разделе «Методы исследования» отсутствует информация о методе определения бензолкарбоновых кислот. А вот показатель величины базального дыхания почв — вполне корректен, поскольку учитывается синергетический вклад всех микроорганизмов, разлагающих органическое вещество подстилок и почв.
4. Результаты определения гранулометрического состава представлены в сезонной динамике. Однако гранулометрический состав почв есть величина инерционная: время его изменения - 10^{-3} - 10^{-4} лет. Поэтому полученные в течение вегетационного периода результаты - это лишь повторности. Для характеристики сезонных изменений твердой фазы лучше использовать метод гранулоденсиметрического фракционирования (Травникова Л.С., Артемьева З.С., 2001).
5. Снижение содержание *n*-метил-кетонов, особенно в горизонте АУЕЛ по сравнению с вышележащими гумусовыми горизонтами (стр. 76), объясняется лишь отсутствием почвенных

беспозвоночных. Это не совсем так, поскольку основная причина кроется в действии застойно-промывного (ранней весной) и промывного водного режима почв, способствующего выносу элементов, в том числе и гидрофобной органики, из элювиальных горизонтов. Так, по данным В.И. Пересыпкина, Е.А. Романкевич (2010), полициклические углеводороды и лигнинные фенолы встречаются в морях и океанах на расстоянии до 5-10 км от береговой линии. Влияние водного режима почв необходимо было учесть и при формулировке выводов 3 и 7.

6. На стр. 71. автор утверждает, что наибольшее содержание алканов характерно для гомологов с длиной цепи C29 и C31, которые являются биомаркерами широколиственных растений, а на стр. 72 повышенное содержание C29 алкана объясняется большей величиной травянистого корневого опада. В таком случае алкан с длиной цепи C29 может ли выступать биомаркером определенного вида растительности?
7. Увеличение доли четных *n*-алканов диссертант связывает с увеличением вклада компонентов микробной и корневой биомассы (стр. 76). Но какая доля принадлежит микробной биомассе, а какая корневой. Почему состав алканов в надземной биомассе отличается от состава алканов в подземной биомассе? Литературных данных в диссертации по этому вопросу нет. Наши данные по составу и содержанию лигнинных фенолов отражают их близкий или тождественный состав в надземной и подземной частях растений.
8. Вывод 8 не совсем корректен, поскольку, во-первых, не указаны размеры агрегатов, во-вторых, состав и содержание *n*-алканов и *n*-метил-кетонов должны отличаться на внешней поверхности и внутренней поверхностях агрегатов, как было достоверно показано в наших работах, например, по содержанию и степени окисленности лигнинных фенолов, аминсахаров (Ковалев, 2016; Kovalev,

Kovaleva, 2018). В растертых (гомонизированных) почвенных агрегатах состав и содержание алканов будут близки для всей почвенной массы.

9. Не совсем корректна фраза, представленная в разделе «научная новизна»: «Впервые получены данные по профильному распределению содержания *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в почвах». Необходимо уточнить: в почвах под широколиственными растительными сообществами на территории г. Москвы, - поскольку известны подобные работы M. Zech et al (2002, 2012), Stolpnikova E.M., Kovaleva N.O., Kovalev I.V. (2020) и др. о закономерностях профильного распределения и содержания алканов в почвах других территорий.
10. В списке литературы нет ссылок на упоминаемую в тексте работу Орлова и др., 2004; ошибка в ссылке на работу W. Amelung на стр. 14 (Amelung, 2008).

Вместе с тем, указанные замечания и вопросы не умаляют значимости диссертационного исследования и носят дискуссионный характер.

Заключение. Исследования Н.А. Анохиной решают научно-исследовательскую задачу по одному из приоритетных направлений в современном почвоведении – проблеме сбалансирования пулов и потоков углерода в экосистемах. По актуальности, научной значимости, практической перспективности, объему выполненных исследований, полноте решения и глубине проработки задач работа Н.А. Анохиной «Биогенные углеводороды в почвах парковых зон города Москвы» полностью соответствует требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.02.13 – почвоведение, 03.02.08 – экология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена,

согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Анохина Наталья Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.13 – почвоведение, 03.02.08 – экология.

Официальный оппонент:

доктор сельскохозяйственных наук,

ведущий научный сотрудник

кафедры физики и мелиорации почв

факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова")

Ковалев Иван Васильевич

03.10.2020

Контактные данные:

Специальность, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация: 03.02.13 – почвоведение

Адрес места работы:

119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, МГУ, д.1, стр. 12, факультет почвоведения. Тел.: 7 (495)939-35-23; e-mail: main@soil.msu.ru

Подпись Ковалева И.В. удостоверено
Декан ф-та почвоведения МГУ
спец-контр. РАН (С.Н.И.)

