

УДК 631.4

## ИЗОТОПНЫЙ СОСТАВ УГЛЕРОДА И ХИМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ТИПИЧНОГО ЧЕРНОЗЕМА В УСЛОВИЯХ КОНТРАСТНОГО ЗЕМЛЕПОЛЬЗОВАНИЯ

© 2021 г. З. С. Артемьева<sup>а</sup>, \*, Н. Н. Данченко<sup>а</sup>, Э. П. Зазовская<sup>б</sup>,  
Ю. Г. Колягин<sup>с</sup>, Н. П. Кириллова<sup>д</sup>, Б. М. Когут<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Пыжжевский пер., 7, стр. 2, Москва, 119017 Россия

<sup>б</sup>Институт географии РАН, Старомонетный пер., 29, Москва, 119017 Россия

<sup>с</sup>Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

<sup>д</sup>Факультет почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: artemyevazs@mail.ru

Поступила в редакцию 11.09.2020 г.

После доработки 05.01.2021 г.

Принята к публикации 11.01.2021 г.

Представлены данные по изотопному составу углерода и химической структуре разных пулов органического вещества (ОВ) типичного чернозема в контрастных вариантах землепользования (степь и длительный чистый пар). Прослежена последовательность разложения ОВ в почвах. Выявлено, что в целинных черноземах под степью при продвижении от свободного к агрегированному ОВ фиксируются изменения химической структуры, характерные для начальных стадий разложения: увеличивается степень ароматичности и гидрофобности ОВ, а также степень его микробиологической переработки. Продукты микробного разложения агрегированного ОВ адсорбируются на глинистых частицах илистой фракции. Они имеют выраженную алифатическую природу со значительным вкладом длинноцепочечных алкилов. ОВ ила характеризуется наибольшей степенью разложенности и максимальным вкладом полипептидов, что согласуется с наибольшей концентрацией <sup>13</sup>C среди всех исследованных пулов ОВ. Химическая структура фракции остатка аналогична таковой илистой фракции, обогащена короткоцепочечными алкилами. Практически полное отсутствие поступления свежего органического материала в почву в течение длительного функционирования в режиме чистого пара вызывает резкое увеличение степени микробной переработки имеющегося в почве органического материала во всех исследованных пулах ОВ, что подтверждается “утяжелением” их изотопного состава. Уменьшается количество наиболее легкодоступных и энергетически привлекательных для микробного сообщества фрагментов органического материала (O-Alk), увеличивается степень его разложенности и гидрофобности. Увеличение доли ароматических фрагментов и степени ароматичности ОВ свидетельствует о селективном накоплении химически наиболее устойчивых ароматических соединений.

**Ключевые слова:** грануло-денсиметрическое фракционирование,  $\delta^{13}\text{C}$ , <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопия, средний диаметр илистых частиц

DOI: 10.31857/S0032180X21060034

### ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным представлениям, органическое вещество (ОВ) почвы представляет собой сложный гетерогенный континуум материалов и соединений, отличающихся по стабильности, скорости оборачиваемости и продолжительности существования [8]. Поступающее в почву ОВ локализуется в почвенной матрице в соответствии с преобладающим механизмом стабилизации, образуя разные пулы: свободное ОВ (ЛФ<sub>СВ</sub>), локализуемое в межагрегатном поровом пространстве, агрегированное ОВ (ЛФ<sub>АГР</sub>), локализу-

емое внутри агрегатов, и ОВ, прочно связанное с илистой фракцией и фракцией остатка [2, 13, 63]. Особенности количественного и качественного состава разных пулов ОВ отражают соотношение процессов образования и разложения ОВ и его взаимодействия с элементарными почвенными частицами и являются функцией всех факторов почвообразования [3].

В настоящее время при изучении ОВ почвы все более востребованы неразрушающие прямые аналитические методы, например, анализ стабильных изотопов С, твердотельная <sup>13</sup>C ЯМР-спектроско-

пия. Принцип использования методов стабильных изотопов основан на том, что содержание тяжелых и легких изотопов (например,  $^{13}\text{C}$  и  $^{12}\text{C}$  соответственно) варьирует благодаря изотопной дискриминации тяжелого изотопа в соединениях ОВ при протекании биохимических и/или физических процессов [12]. Комбинация физического фракционирования ОВ почвы и естественной обогащенности тяжелым изотопом  $^{13}\text{C}$  дает возможность оценивать небольшие изменения запасов углерода в почве, которые могут быть значительными в долгосрочной перспективе, но не обнаруживаются с помощью традиционных методов [23, 32].

Растительные остатки, поступающие в почву, подвергаются биодеградации и стабилизации, следовательно, общий С почвы должен включать С разного времени пребывания в почве [33]. Во время фотосинтеза растения дискриминируют  $^{13}\text{C}$ , предпочитая более легкий изотоп  $^{12}\text{C}$ , то есть для растений соотношение  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  меньше, чем в окружающей атмосфере. С другой стороны, биохимические молекулы/соединения (углеводы, лигнин, целлюлоза, липиды) могут иметь разные значения  $\delta^{13}\text{C}$  [53, 64], и дифференциальное накопление растительных биомолекул в почвенных фракциях разной плотности может изменять изотопный состав последних.

Так как дискретное ОВ представляет собой лабильный материал относительно недавнего происхождения, можно ожидать, что его изотопный состав ( $\delta^{13}\text{C}$ ) будет близок к таковому текущей растительности [11, 29]. Тяжелая фракция, представляющая более старые, аморфные органические соединения, должна иметь повышенные значения  $\delta^{13}\text{C}$  [34].

ЯМР-спектроскопия широко используется для анализа химической структуры ОВ почвы в мировой практике.  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопия в твердом состоянии с переносом поляризации (СР) и в условиях вращения под “магическим” углом (MAS) представляет собой мощный и наиболее доступный экспериментальный подход для сбора информации о структурных характеристиках природного ОВ и его изменении при биодеградации [10, 18, 20]. В России, несмотря на преимущества перед жидкофазной ЯМР-спектроскопией, работы, посвященные химической структуре ОВ разной локализации в почвенной матрице, единичны [5].

Обобщенные результаты работ ряда зарубежных авторов по  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопии ОВ почвы позволили выделить преобладающие структурные фрагменты в ОВ разных фракций. При этом степень деградации ОВ при прохождении стадий разложения зависит от наличия защитных механизмов, способных повысить его биохимическую стабильность [21]. В ЛФ<sub>СВ</sub> преобладают О-Alk

структуры, химический состав соответствует высокому содержанию полисахаридов из свежих растительных остатков и микробной биомассы (например, целлюлозы, гемицеллюлозы, хитина, пептидогликана и др.). По мере утилизации этих лабильных структур селективно накапливаются ароматические (Aryl) и алкильные (Alk) фрагменты, инициируются процессы разложения лигнина (ЛФ<sub>АГР</sub>), что в дальнейшем приводит к изменению химической структуры – уменьшению количества Aryl фрагментов. Это характерно для ОВ, ассоциированного с минеральной матрицей почвы (ил и остаток).

Сопряженное изучение химической структуры и изотопного состава пулов ОВ разной локализации в почвенной матрице расширит наши представления о процессах гумификации, гумусообразования и трансформации ОВ в почве. Позволит узнать механизмы физической стабилизации ОВ, обеспечивающей его пространственную недостижимость микроорганизмам и ферментам, а также инактивирования редуцентов условиями влажности и газообмена, регулируемые сложением почвы.

Цель работы – изучение изотопного состава и химической структуры пулов ОВ чернозема в условиях контрастного землепользования.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – типичный чернозем в условиях контрастных видов использования: степь (Центрально-Черноземный государственный биосферный заповедник “Стрелецкая степь” Курская область) и длительный (52 года) чистый бессменный пар без удобрений (Курский НИИ агропромышленного производства) (51°34' N, 36°06' E). Территория исследованных участков типична для Центрально-Черноземного региона. Климат умеренный. Среднегодовая температура составляет 4.8–5.3°C. Среднегодовое количество осадков равно 540 мм. Почвы – среднесуглинистый типичный чернозем [6], согласно международной классификации *Naпlс Chernozem* [65] на лёссовых отложениях с содержанием ила (<1 мкм) 18.4–22.9%, пыли (50–1 мкм) 69–70%, песка (50–2000 мкм) 8–12%,  $\text{C}_{\text{орг}}$  2.6–4.8%, рН  $\text{H}_2\text{O}$  6.8–6.9. Образцы отбирали с каждого варианта опыта в трехкратной повторности.

Для выделения разных пулов ОВ применяли модифицированный вариант грануло-денсиметрического фракционирования, полная схема которого представлена ранее [2]. Модификация заключается в исключении плотности 2.0 г/см<sup>3</sup> из схемы фракционирования, поскольку сопряженное исследование фракции 1.8–2.0 г/см<sup>3</sup> в режиме построения карты распределения элементов с электронной микроскопией выявило практиче-

ски полное преобладание частиц кварца, покрытых глинистыми минералами с единичными фитолитами [9]. С помощью бромформ-этанольной смеси выделяли свободное (неагрегированное) ОВ ( $ЛФ_{СВ}$ ), локализованное в межагрегатном пространстве почвы – легкие фракции (плотность  $< 1.8 \text{ г/см}^3$ ). Далее агрегаты разрушали с помощью ультразвукового озвучивания и выделяли илистую фракцию – ил ( $< 1 \text{ мкм}$ ). После удаления илестых частиц из образца с помощью тяжелой бромформ-этанольной смеси выделяли агрегированное ОВ (локализованное внутри микроагрегатов ( $ЛФ_{АГР}$ )) – легкие фракции (плотность  $< 1.8 \text{ г/см}^3$ ). Все процедуры выделения выполняли в трехкратной повторности.

Схема позволяет выделить 4 пула ОВ: неагрегированное, свободное ( $ЛФ_{СВ}$ ); агрегированное ( $ЛФ_{АГР}$ ); ил и остаток.

Содержание С и N в грануло-денсиметрических фракциях определяли методом каталитического сжигания на анализаторе TOC Analyzer (Shimadzu, Japan). Все измерения выполняли в трехкратной повторности.

Измерение изотопного отношения тяжелого изотопа к легкому ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) проводили на комплексе оборудования, состоящем из элементного CHNS анализатора (vario ISOTOPE select Elementar, Германия) и изотопного масс-спектрометра (precision IRMS Elementar, Великобритания) в ЦКП “Лаборатория радиоуглеродного датирования и электронной микроскопии” Института географии РАН.

Изотопный состав углерода ОВ выражали в тысячных долях отклонения от международного эталона ( $\text{vPDB}$ ),  $\delta(\text{‰})$ :

$$\delta X_{\text{образец}} = [(R_{\text{образец}} - R_{\text{стандарт}}) / R_{\text{стандарт}}] \times 1000,$$

где  $X$  – это элемент (C), а  $R$  – молярное соотношение изотопов в анализируемом образце и эталоне. В эталонах  $\delta^{13}\text{C} = 0$ . Образцы анализировали относительно референтного газа ( $\text{CO}_2$ ), откалываемого по стандартам МАГАТЭ.

Твердотельные CP-MAS  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектры образцов регистрировали на спектрометре Bruker Avance-II 400 WB (США) на частоте 100.4 МГц с использованием 4 мм датчика. Образцы помещали в циркониевый ротор диаметром 4 мм и вращали под “магическим” углом с частотой 12 кГц. Для записи спектров использовали импульсную последовательность с линейным изменением амплитуды радиочастотного поля при переносе поляризации, линейным снижением мощности 1H-канала от 100 до 70% и временем контакта 2 мс. Время задержки между импульсами 2 с. Шкала химических сдвигов построена относительно сигнала  $\text{CH}_2$ -группы твердого адмантана (38, 48 м.д.),

который использовали в качестве вторичного внешнего стандарта.

Выделили области, соответствующие следующим химическим типам С: алкильный Alk-C (0–47 м.д.), О-алкильный O-Alk-C (47–113 м.д.), ароматический Ar-C (113–160 м.д.) и карбоксильный и карбонильный (160–214 м.д.). Рассчитывали следующие показатели ОВ:

DI = Alk/ $\Sigma$ O-Alk – интегральный показатель разложенности/переработки [18, 20],

ARI =  $\Sigma$ Ar/ $\Sigma$ Alk + O-Alk +  $\Sigma$ Ar – степень ароматичности [42],

HI = ((Alk + Ar)/(O-Me +  $\Sigma$ O-Alk + Carboxyl + Carbonyl + Phenolic)) – индекс гидрофобности [66].

Рассчитывали относительные вклады основных биомолекул в структуру стабильного ОВ исследованных пулов. Для расчета вклада углерода полипептидов в ОВ исследованных фракций использовали формулу из работы [46]:

$$C_{\text{полипептидов}} = R(C/N)_{\text{полипептидов}} / (C/N)_{\text{почвы/фракции}},$$

где  $R$  – доля N в полипептидах от общего  $N_{\text{орг}}$  в почве, использовали среднюю величину интервала 85–90% [47], равную 87.5%.  $(C/N)_{\text{полипептидов}} = 3.125 - C/N$  для средневзвешенного аминокислотного состава HCl-гидролизата почв [52].

Средний диаметр илестых частиц определяли методом динамического светорассеивания на анализаторе NanoBrook Omni (Brookhaven Instruments Corporation, USA).

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью статистического пакета Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) и Origin Pro 8 (Origin Lab Corporation, Northampton, MA, USA). Уровень значимости  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Масса органических и органо-минеральных фракций.** Функционирование типичного чернозема в режиме чистого пара в течение 52 лет вызвало резкие изменения в распределении органических и органо-минеральных фракций: количество  $ЛФ_{СВ}$  уменьшилось в 12 раз,  $ЛФ_{АГР}$  – в 3.5 раза, илестой фракции увеличилось в 1.2 раза на фоне отсутствия изменений содержания фракции остатка (табл. 1). Все различия статистически значимы. Подробное описание разных пулов ОВ при длительном функционировании в режиме чистого пара представлено ранее [7].

**Распределение С и N.** На рис. 1 представлена концентрация С и N, а также отношение С/N. Видно, что величина отношения С/N повсеместно больше в варианте пар. Это противоречит общепринятым представлениям об уменьшении

C/N в более зрелом ОВ, которое предполагается в варианте пар из-за отсутствия поступления свежего ОВ в течение длительного времени (52 года) и может быть следствием различий в источниках и механизмах формирования ОВ в почвах радикально различающихся вариантов земледельческого использования (степь и пар).

**Изотопный состав углерода.** Анализ изотопного состава разных пулов ОВ почвы показал незначительные различия между значениями  $\delta^{13}\text{C}$  (рис. 2), что является общим фактом [15, 38, 55]. Разница в степени обогащенности тяжелым изотопом С, как правило, связана с различиями состава пулов ОВ [38].

Величины  $\delta^{13}\text{C}$  для разных пулов ОВ в варианте степь (почва в целом) варьировали от  $-26.86$  до  $-25.58$ , что свидетельствует о селективном сохранении некоторых биохимических соединений в отдельных пулах ОВ [36]. Видно, что области дискретного (ЛФ) и минерально-ассоциированного ОВ (ил и остаток) не перекрываются и разнесены далеко друг от друга. Это демонстрирует высокую степень гомогенности выделенных фракций по качественному составу.

Значения  $\delta^{13}\text{C}$  для дискретного ОВ укладывались в диапазон, характерный для биомассы наземных С3-растений ( $22-32\text{‰}$ ), и близки к средним значениям  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-27\text{‰}$ ), но несколько превышают величину  $\delta^{13}\text{C}$  для почвы в целом (на  $0.9-1.0\text{‰}$ ). Дискретное ОВ (ЛФ<sub>СВ</sub> и ЛФ<sub>АГР</sub>) было обеднено  $^{13}\text{C}$  по сравнению с почвой в целом и фракциями большей плотности ( $>1.8 \text{ г/см}^3$ ) (ил и остаток). Как правило, по мере увеличения степени ассоциации ОВ с минеральной матрицей почвы повышается степень его микробной переработки, что отражается в росте значения  $\delta^{13}\text{C}$  [17, 31, 32, 38, 49]. Однако аналитические данные показали, что ЛФ<sub>АГР</sub> характеризуется меньшей величиной  $\delta^{13}\text{C}$  по сравнению с ЛФ<sub>СВ</sub>:  $-26.86$  против  $-26.77\text{‰}$  соответственно. Это не согласуется с предполагаемой большей степенью микробной переработки органического материала ЛФ<sub>АГР</sub> по сравнению с ЛФ<sub>СВ</sub> [17, 41].

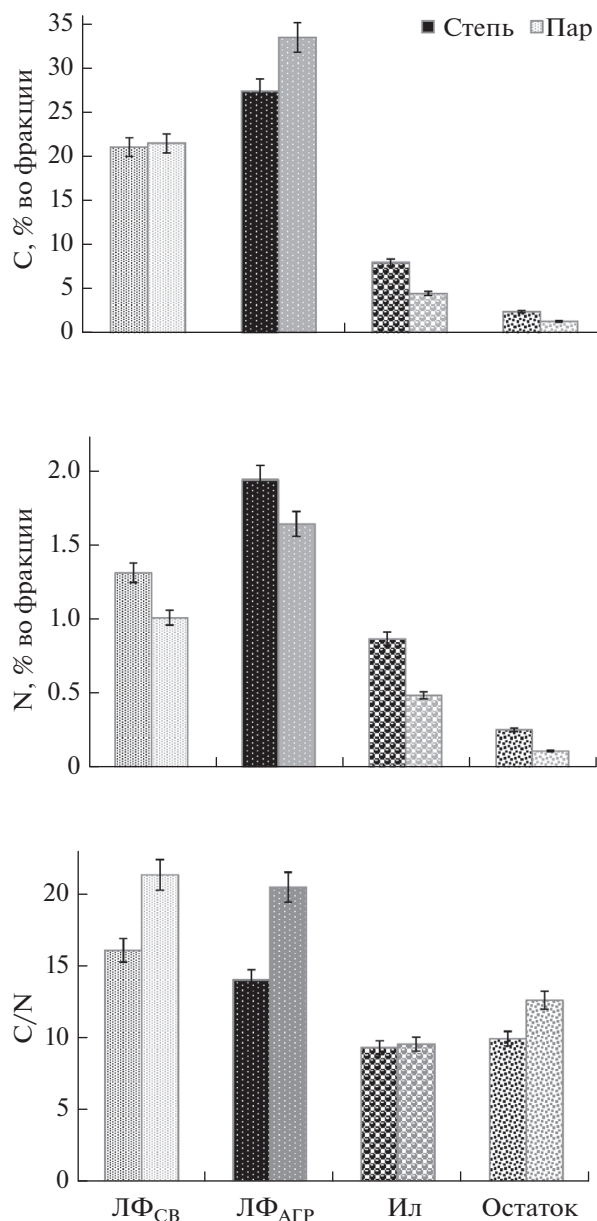


Рис. 1. Величины концентрации С и N, а также величина отношения C/N в типичном черноземе контрастных вариантов земледельческого использования.

**Таблица 1.** Распределение органических и органо-минеральных фракций (среднее (*M*) + стандартная ошибка (*SE*)) и критерий Стьюдента (*t*), определяющий степень различия между средними значениями параметров в типичном черноземе контрастных вариантов земледельческого использования, %

Ценоз	ЛФ <sub>СВ</sub>		ЛФ <sub>АГР</sub>		Ил		Остаток	
	<i>M</i> + <i>SE</i>	<i>t</i>	<i>M</i> + <i>SE</i>	<i>t</i>	<i>M</i> + <i>SE</i>	<i>t</i>	<i>M</i> + <i>SE</i>	<i>t</i>
Степь	0.48 ± 0.05	<b>15.6</b>	4.63 ± 0.78	<b>8.29</b>	18.40 ± 0.46	<b>7.07</b>	76.49 ± 1.09	0.36
Пар	0.04 ± 0.02		1.32 ± 0.03		22.43 ± 1.02		76.22 ± 0.99	

Примечание. Критерий Стьюдента приведен для  $p < 0.05$ , жирный шрифт характеризует статистически значимые различия.

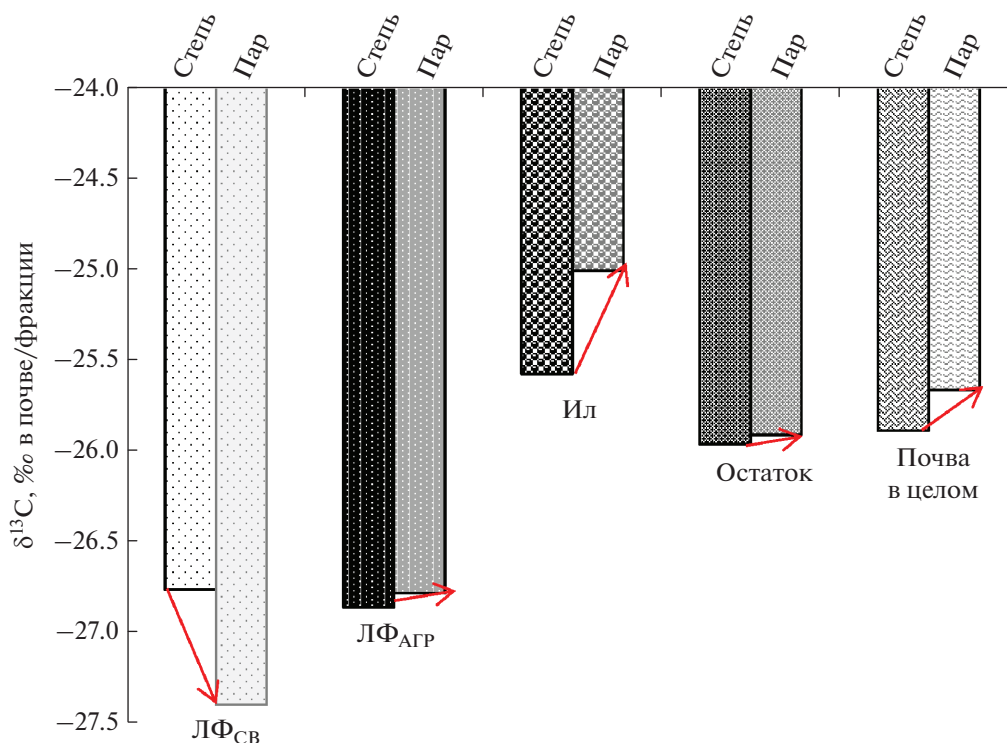


Рис. 2. Величина  $\delta^{13}\text{C}$  в разных пулах ОВ и в почве в целом контрастных вариантов земледелия.

Следует отметить, что данные по обогащенности  $^{13}\text{C}$  дискретного ОВ разной локализации в почвенной матрице противоречивы. Наряду со сведениями о более тяжелом изотопном составе  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  по сравнению с  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$ , встречаются и данные о его облегчении [17, 45, 56, 61]. Есть сведения о том, что  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$ , хотя и состоит из хорошо узнаваемого растительного материала, имеет промежуточный химический состав и не всегда является самым свежим и неразложившимся материалом [57]. Предполагается, что “утяжеление” изотопного состава углерода  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  может происходить за счет селективного сохранения углей или устойчивых биомолекул, а также утилизации растительных или микробных липидов, которые обычно являются изотопно более легкими [14, 45, 53, 56].

Изотопный состав углерода ОВ, локализованного в органично-минеральных фракциях (ил и остаток), значительно отличается от такового дискретного ОВ. ОВ ила и остатка было обогащено  $^{13}\text{C}$  по сравнению с почвой в целом и дискретным ОВ. Это согласуется с литературными данными об “утяжелении” изотопного состава С по мере увеличения степени ассоциации с минеральной фазой почвы [15, 17, 30, 32, 34, 38, 49, 62]. Учитывая, что ОВ этих фракций имеет преимущественно микробное происхождение, большее содержание  $^{13}\text{C}$  в данных фракциях по сравнению с

дискретным ОВ свидетельствует об увеличении степени дискриминации  $^{13}\text{C}$  по мере продвижения разложения ОВ [16, 34, 37].

Следует учитывать, что фракцию остатка можно рассматривать как очень гетерогенную по степени разлагаемости. Вероятно, она содержит оба компонента: с высокой скоростью оборота и со стабильным ОВ [15]. Именно этим можно объяснить незначительное “облегчение” изотопного состава С по сравнению с илистой фракцией. При этом изотопный состав С илистой фракции в целом, показывая его обогащение  $^{13}\text{C}$ , отражает доминирование более старого ОВ относительно более молодого.

Значение  $\delta^{13}\text{C}$  для почвы в целом ( $-25.89\text{‰}$ ) укладывается в диапазон, характерный для почв умеренного климата: от  $-24$  до  $-29\text{‰}$  [15]. Следует учитывать, что изотопный состав С в почве складывается из изотопного состава С органических материалов во всех пулах ОВ почвы с учетом их количественного вклада (массы). Фракция остатка наиболее представительная по массе, и изотопный состав ОВ в почве преимущественно будет определяться ее изотопным составом (рис. 3).

**Влияние варианта земледелия на изотопный состав углерода.** Анализ изотопного состава углерода ОВ почвы в целом (вариант пар) показал незначительные отличия по сравнению с вариан-

том степь ( $\Delta\delta^{13}\text{C} = 0.27\text{‰}$ ):  $-25.7$  против  $-25.9\text{‰}$  соответственно. Аналитические данные идентичны полученным ранее ( $-25.6\text{‰}$ ) [51].

Величины  $\delta^{13}\text{C}$  для разных пулов ОВ также демонстрируют незначительное, но последовательное увеличение относительно таковых варианта степь (рис. 2). При этом различия более выражены для дискретного ОВ ( $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$ ), что еще раз подчеркивает его большую чувствительность к изменению экологических условий по сравнению с фракциями с большей степенью ассоциации с минеральной фазой (ил и остаток). Исключение отмечено лишь для  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$ , здесь изотопный состав С оказался “легче” в варианте пар по сравнению с вариантом степь.

По-видимому, из-за отсутствия постоянного поступления свежего растительного материала в течение длительного времени изотопный состав С будет все больше смещаться в сторону “утяжеления” за счет субстратного эффекта, то есть истощения биохимических компонентов с легким составом, сопровождающимся изотопной дискриминацией в процессе жизненного цикла микроорганизмов [25, 44, 59]. В том числе анаэробной повторной ассимиляция С из мертвого микробного материала на поздних стадиях разложения [34, 43]. Это согласуется с выводами Меничетти с соавт. [51], которые исследовали изменения изотопного состава ( $\delta^{13}\text{C}$ ) в пяти европейских многолетних экспериментах с чистым паром, включая объект наших исследований. Авторы настаивают, что последовательное увеличение  $\delta^{13}\text{C}$  обусловлено потерями С, обедненного  $^{13}\text{C}$ , а возможные причины – это микробный метаболизм и субстратные эффекты [51].

Исследование химической структуры ОВ существенно дополнило данные по изотопному составу.

**Свободное ОВ почвы ( $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$ )** ( $\text{ЛФ}$  с плотностью  $<1.8 \text{ г/см}^3$ ). Относительные доли разных типов С в  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$ , полученные интегрированием спектров ЯМР (рис. 4), приведены в табл. 2. Максимальный вклад в общую интенсивность спектра  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  вносят O-Alk фрагменты ( $>34\%$  общей интенсивности), что указывает на присутствие большого количества полисахаридов [24, 40]. Учитывая преимущественно растительное происхождение органического материала в данном пуле ОВ, можно предполагать, что присутствующие в нем углеводы в основном представлены целлюлозой, что согласуется с литературными данными [36].

Второй по значимости вклад (30%) в общий интеграл вносят ароматические ( $\Sigma\text{Ar}$ ) фрагменты, главным образом, лигнинового происхождения.

Заметное доленое участие Alk-C (20.7%) в  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  указывает на обогащенность поступающего органического материала жирными кислотами, липи-

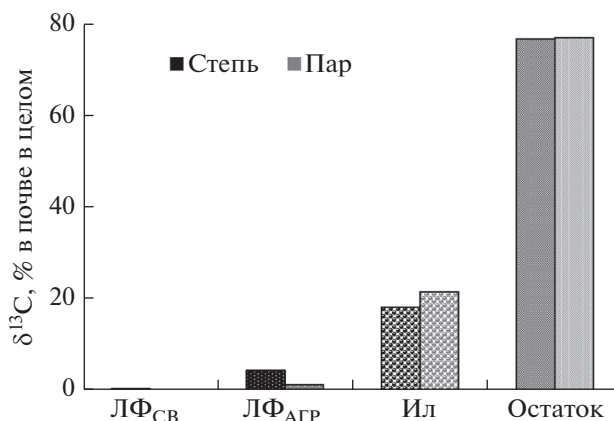


Рис. 3. Долевое участие компонентов ОВ водоустойчивых структурных отдельностей в общей величине  $\delta^{13}\text{C}$ .

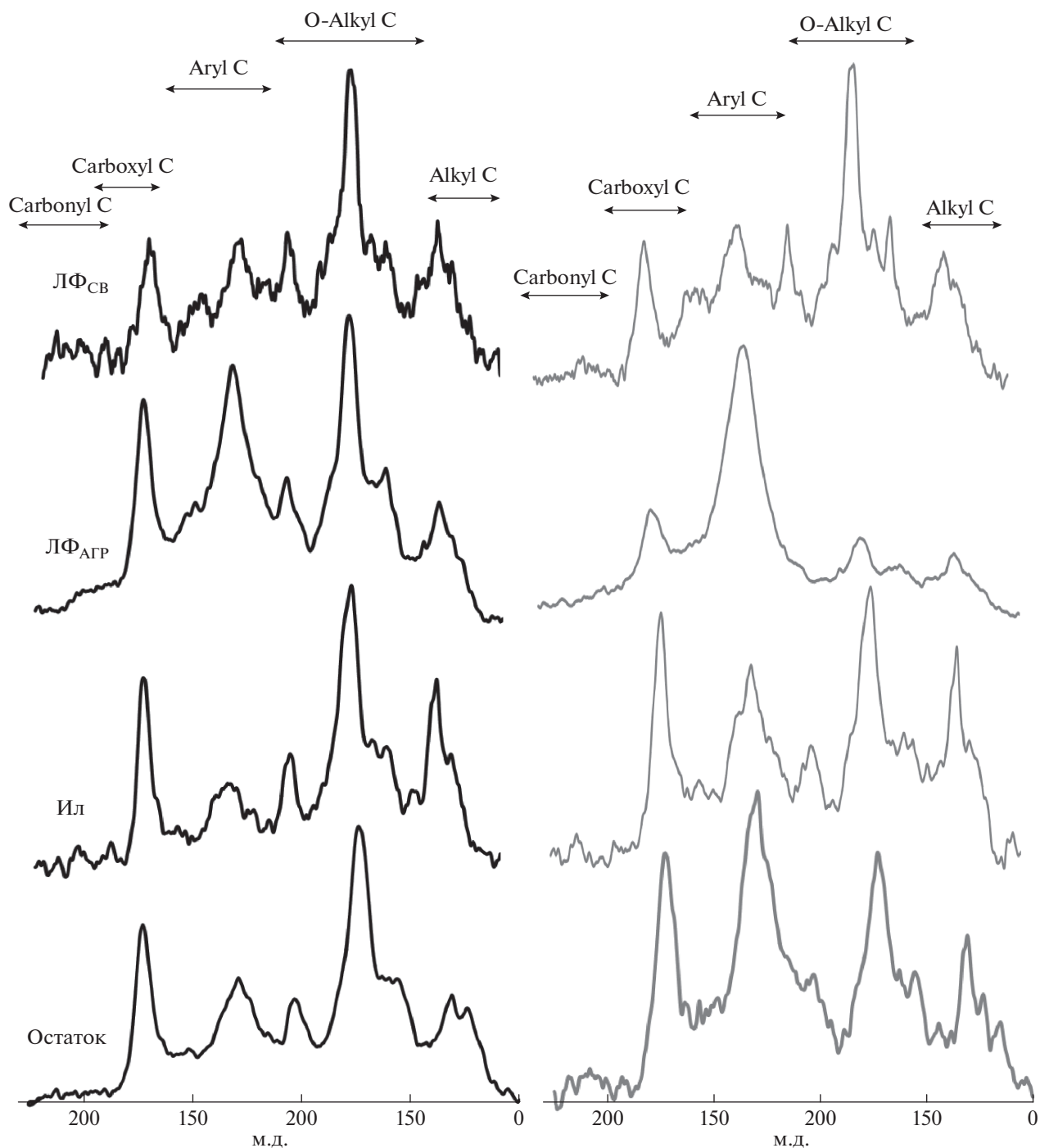
дами и воскообразными растительными веществами, такими как кутин и суберин [24, 40].

Суммарный вклад С карбоксильных и карбонильных групп превышает 15%, что согласуется с литературными данными об их количестве в  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  [36, 48, 60].

Спектры ЯМР  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  в изученных почвах очень схожи со спектрами, полученными для подстилок и растительного материала [36, 60]. Растительное происхождение  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  также подтверждается данными электронно-микроскопического анализа, показавшими, что этот пул ОВ состоит преимущественно из грубых, неизмененных растительных остатков [4, 36]. Это предполагает, что присутствующие в нем углеводы в основном представлены целлюлозой [36].

Таким образом,  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  содержит относительно лабильные компоненты, такие как углеводы и соединения N [36, 60], что повышает восприимчивость  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  к микробной атаке. При отсутствии защитных механизмов это объясняет быстрое разложение данного пула ОВ в почве. Соответственно разложение  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  контролируется, главным образом, его химическим составом.

Спектры  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  варианта пар мало отличаются от таковых варианта степь. Величины колебаний в разных вариантах землепользования незначительны  $\sim 1.1$  раза. Исключение отмечено лишь для полипептидов, вклад которых уменьшается в 1.3 раза, свидетельствуя о снижении микробной активности в данном пуле в условиях практически полного отсутствия поступления свежего ОВ и сопровождается заметным увеличением степени ароматичности органических материалов (в 1.2 раза) и менее значительным увеличением степени разложенности ОВ (в 1.1 раза). Снижение доли Alk фрагментов хорошо согласуется с уменьшением доли липидов в  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  в варианте пар.



**Рис. 4.** Спектры твердофазной  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопии, полученные для разных пулов ОВ (ЛФ<sub>СВ</sub>, ЛФ<sub>АГР</sub>, Ил, Остаток) в контрастных вариантах земледельческого использования: вариант степь прорисован черным цветом; вариант пар – серым.

В целом ЛФ<sub>СВ</sub> варианта пар можно охарактеризовать как более окисленное, более ароматичное и гидрофобное по сравнению с таковым варианта степь. Отмеченный более “легкий” изотопный состав С ЛФ<sub>СВ</sub> в варианте пар по сравнению с вариантом степь согласуется с данными  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопии, которые свидетельствуют об уменьше-

нии в варианте пар относительно варианта степь доли карбоксильных групп (обогащенных  $^{13}\text{C}$ ): 11.7 против 12.7 соответственно. В то же время отмеченное уменьшение степени разложения ЛФ<sub>СВ</sub> в варианте пар по сравнению с вариантом степь сопровождается увеличением степени его гидрофобности. Можно предположить, что в ЛФ<sub>СВ</sub>

**Таблица 2.** Относительная интенсивность сигналов в <sup>13</sup>C ЯМР спектрах, C/N, DI (Alk/ΣO-Alk) – степень разложивности ОВ, ARI (ΣAr/ΣAlk + O-Alk + ΣAr) – степень ароматичности ОВ, HI ((ALK + AR)/(O-Me + ΣO-Alk + Carboxyl + Carbonyl + O-Ar)) – индекс гидрофобности свободного ОВ, а также количество липидов и пептидов, % общей интенсивности

Фракция	Alk	ΣO-Alk	Ar	O-Ar	ΣAr	COOH	CHO	DI	ARI	HI	C/N	Липиды	Полипептиды
	0–47	47–113	113–141	141–160		160–188	188–214						
Степь													
ЛФ <sub>СВ</sub>	20.7	34.2	22.0	8.0	30.0	12.7	2.4	0.60	0.35	0.74	16.1	13.9	17.0
ЛФ <sub>АГР</sub>	12.5	25.9	29.2	11.1	40.3	17.1	4.2	0.48	0.51	0.72	14.1	5.6	17.6
Ил	26.5	34.7	16.1	5.3	21.4	16.7	0.8	0.76	0.26	0.74	9.4	16.0	26.4
Остаток	19.0	32.3	21.7	7.8	29.4	17.4	1.9	0.59	0.36	0.68	9.9	10.4	21.6
Пар													
ЛФ <sub>СВ</sub>	18.2	32.4	24.9	10.5	35.4	11.7	2.2	0.56	0.41	0.76	21.3	13.1	12.9
ЛФ <sub>АГР</sub>	9.4	13.3	45.5	12.6	58.2	15.4	3.8	0.71	0.72	1.22	20.4	4.5	12.4
Ил	21.4	25.5	25.7	8.3	33.9	18.4	0.7	0.84	0.42	0.89	9.35	12.7	22.0
Остаток	16.0	21.3	32.5	9.5	42.0	17.8	2.8	0.75	0.53	0.94	12.7	10.4	14.3

варианта пар селективно сохраняются наиболее труднорастворяемые и гидрофобные компоненты растительного происхождения, имеющие более легкий изотопный состав С.

**Агрегированное ОВ почвы (ЛФ<sub>АГР</sub>)** (ЛФ с плотностью <1.8 г/см<sup>3</sup>). Спектры ЛФ<sub>АГР</sub> отличаются от таковых ЛФ<sub>СВ</sub>, прежде всего, снижением вклада O-Alk фрагментов до 40% общей интенсивности (в 1.3 раза). В углеводной области спектра наиболее выражен пик ~74 м.д., что указывает на количественное доминирование полисахаридов в ЛФ<sub>АГР</sub>, аналогично ЛФ<sub>СВ</sub>. При этом количество ΣAr фрагментов увеличивается в 1.3 раза, что свидетельствует о более глубокой степени микробной переработки органического материала ЛФ<sub>АГР</sub> по сравнению с ЛФ<sub>СВ</sub> и согласуется с данными электронной микроскопии [4, 36].

Интересно, что в ЛФ<sub>АГР</sub> доля Alk-фрагментов, содержащихся в труднорастворяемых липидах и восках, снижается в 1.6 раза по сравнению ЛФ<sub>СВ</sub>, что противоречит литературным данным [37]. Мы предполагаем, что попадание в ЛФ<sub>АГР</sub> твердого растительного материала определяется, во-первых, их размером: по-видимому, большая часть липидов и восков ассоциирована с твердым растительным материалом крупного размера (>100 мкм), во-вторых, их гидрофобность (за счет обогащенности липидами и восками) может ограничивать колонизацию микробным сообществом. Однако хорошо выраженный пик ~30 м.д., обусловленный сигналами метиленовых групп длинноцепочечных алифатических соединений, указывает на присутствие в ЛФ<sub>АГР</sub> воскообразных компонентов растительного и животного происхождения [46, 48].

Суммарный вклад карбоксильных и карбонильных групп при переходе от ЛФ<sub>СВ</sub> к ЛФ<sub>АГР</sub> увеличивается в 1.4 раза, что может быть следствием накопления в данном пуле ОВ продуктов окислительной деполимеризации лигнина, а также делигнификации клеточных стенок растительного материала [58]. Это сопровождается уменьшением в 1.2 раза доли метоксильных групп (O-Me) (данные не приведены), основными носителями которых являются лигнины, так как деметоксилирование – один из механизмов превращений лигнина под действием энзимов базидомицетов.

Таким образом, в ЛФ<sub>АГР</sub> фиксируются изменения химической структуры по сравнению с ЛФ<sub>СВ</sub>, характерные для начальных стадий разложения ОВ, что подтверждается микроскопическими исследованиями. Это находит отражение в увеличении содержания ΣAr фрагментов и обусловлено селективной утилизацией O-Alk фрагментов [19]. На начальных стадиях разложения органических материалов, когда относительно свежая частица ОВ инкрустируется минеральными частицами, O-Alk в значительной степени минерализуются до CO<sub>2</sub>, а остаток утилизируется микроорганизмами и превращается в микробную биомассу и метаболиты, которые адсорбируются глинистыми минералами, покрывающими органическую частицу. Таким образом, микробная минерализация и ассимиляция обуславливают снижение содержания O-Alk-C в ЛФ<sub>АГР</sub>. Уменьшение O-Alk-C и увеличение Aryl-C при переходе от ЛФ<sub>СВ</sub> к ЛФ<sub>АГР</sub> предполагают, что разложение органического материала в ЛФ<sub>АГР</sub> продвинулось гораздо дальше, что согласуется с его большей стабильностью [37].

Выше отмечалось, что ЛФ<sub>АГР</sub> характеризуется более “легким” изотопным составом С по сравне-



нию с  $ЛФ_{СВ}$ . Наши аналитические данные подтверждают гипотезу о том, что “утяжеление” изотопного состава углерода  $ЛФ_{СВ}$  может происходить за счет селективного сохранения устойчивых биомолекул [14, 45, 56]. Учитывая, что в  $ЛФ_{АГР}$  доля  $Argl-C$  повышается в 1.3 раза по сравнению с  $ЛФ_{СВ}$ , можно предполагать сохранение наиболее стойких лигниновых материалов, следовательно, “облегчение” изотопного состава углерода  $ЛФ_{АГР}$  при переходе от  $ЛФ_{СВ}$  [38]. По нашему мнению, это не единственная причина. Более “легкий” изотопный состав углерода  $ЛФ_{АГР}$  по сравнению с  $ЛФ_{СВ}$  может быть следствием физической защиты  $ЛФ_{АГР}$  в микроагрегатах внутри структурных отдельностей почвы [54, 61].

Спектр  $ЛФ_{АГР}$  в значительно большей степени отличается от такового варианта степь по сравнению с  $ЛФ_{СВ}$ . В первую очередь это выражается в значительном уменьшении доли  $O-Alk$  (почти в 2 раза) и  $Alk$  фрагментов (в 1.3 раза), а также резком увеличении суммарного вклада  $\Sigma Ag$  фрагментов (в 1.4 раза), которые становятся преобладающими (более 58% общей интенсивности). Это сопровождается более заметным увеличением степени разложенности (в 1.5 раза) и ароматичности органических материалов (в 1.4 раза). И хорошо согласуется с фактором физической защиты  $ЛФ_{АГР}$  в составе неустойчивых в УЗ-поле микроагрегатов. В почве быстрое разложение фрагментов твердого органического материала, богатого углеводами, замедляется, когда оно защищено/покрыто минеральными частицами. По мере протекания процессов разложения, с уходом наиболее лабильных компонентов (углеводов и соединений N), степень ассоциации дискретного  $ОВ$  и минеральных частиц будет уменьшаться, физическая защита дискретного  $ОВ$  будет слабеть. В результате оно будет фрагментироваться, и размер частиц твердого органического материала будет уменьшаться. Как следствие, в дискретном  $ОВ$  меньшего размера ( $ЛФ_{АГР}$ ) будут относительно накапливаться более химически устойчивые структуры (например, ароматические структуры лигнинового происхождения) [21]. Соответственно в  $ЛФ_{АГР}$  будет возрастать доля микробно переработанных органических материалов.

Очень резкое повышение гидрофобности  $ЛФ_{АГР}$  в варианте пар (в 1.7 раза) отрицательно отражается на его способности к адгезии.

Снижение доли полипептидов (в 1.4 раза) свидетельствует о резком уменьшении микробной активности в варианте пар.

Таким образом, агрегированное  $ОВ$  демонстрирует большую чувствительность к варианту землепользования по сравнению со свободным  $ОВ$ .

**ОВ илистой фракции (ил)** (размер  $<1$  мкм, плотность  $>1.8$  г/см<sup>3</sup>). Илистая фракция визуально

представляет собой ламеллярные частицы, уложенные параллельно друг другу по базальным плоскостям [9]. Материал органо-глинистых комплексов ( $<1$  мкм) представляет физико-химически стабилизированный пул  $ОВ$  почвы [22, 27, 61].

Спектры  $ОВ$  ила отличаются от таковых  $ЛФ_{АГР}$ , прежде всего, увеличением вкладов  $Alk-C$  и  $O-Alk-C$ : в 2 и 1.3 раза соответственно.  $O-Alk$  фрагменты становятся преобладающими – почти 35% общей интенсивности. Это сопровождается резким уменьшением доли  $\Sigma Ag$  фрагментов (почти в 1.9 раза) и незначительным увеличением суммарной доли карбоксильных и карбонильных групп (в 1.2 раза).

Резкое уменьшение доли  $Argl-C$  и увеличение вклада  $O-Alk-C$  при переходе от  $ЛФ_{АГР}$  к фракции ила указывают на то, что  $\Sigma Ag$ -структуры разлагаются микроорганизмами, и происходит превращение растительного производного  $O-Alk-C$  в микробный  $O-Alk-C$  [39]. Органические материалы, связанные с глиной, считаются потенциально лабильными из-за значительного количества углеводов в этой фракции [50]. А их преимущественно микробное происхождение во фракции ила увеличивает привлекательность для микробного сообщества. Наши аналитические данные подтверждают эту гипотезу. Наибольшие потери концентрации C и N зафиксированы именно во фракции ила: C (% во фракции):  $ЛФ_{СВ}$  (в 1.1 раза)  $<$   $ЛФ_{АГР}$  (в 1.2 раза)  $<$  остаток (в 1.7 раза)  $\leq$  ил (в 1.8 раза) и N (% во фракции):  $ЛФ_{АГР}$  (в 1.1 раза)  $<$   $ЛФ_{СВ}$  (в 1.3 раза)  $<$  остаток (в 1.3 раза)  $\leq$  ил (в 1.8 раза).

Перечисленные структурные изменения свидетельствуют о алифатической природе C, ассоциированного с илом [28, 37, 50]. Увеличение доли  $Alk$  фрагментов обусловлено большим содержанием полипептидов (26.4 против 17.6 соответственно). При этом в  $Alk$  фрагментах  $ОВ$  фракции ила преобладают длинноцепочечные структуры, являющиеся наиболее гидрофобной составляющей частью  $ОВ$ : интенсивность сигнала при 30 м.д. очень высока, а сигнал в более сильном поле ( $\sim 20$  м.д.), который дают короткоцепочечные структуры, намного слабее, но хорошо различим.

Резкое увеличение содержания  $Alk-C$  во фракции ила, а также доли полипептидов (в 1.5 раза), по-видимому, обусловлено присутствием продуктов жизнедеятельности и распада новосинтезированной микробной биомассы с высокой долей  $Alk$  фрагментов [18, 37, 47]. Данные электронной микроскопии показали, что обломки клеток (клеточные стенки и слизь), часто бывают непосредственно связаны с минеральными частицами [26, 35].

Степень разложенности  $ОВ$  ила по сравнению с  $ЛФ_{АГР}$  в 1.6 раза больше. Это свидетельствует,

что разложение ОВ в почвах следует континууму от свежих и частично разложенных органических материалов в ЛФ<sub>СВ</sub> и ЛФ<sub>АГР</sub>, до значительно/полностью переработанных – в иле: степень ароматичности снижается в 2 раза, а степень гидрофобности ОВ увеличивается незначительно (0.74 против 0.72 соответственно).

ОВ фракции по сравнению с ЛФ<sub>АГР</sub> более алифатично и менее ароматично и характеризуется большей степенью разложенности. Это подтверждается резким увеличением количества Alk и O-Alk на фоне уменьшения доли фенольных и ароматических структур. Доля продуктов микробного происхождения в составе ОВ ила намного больше таковой ЛФ<sub>АГР</sub>: отмечено резкое увеличение доли полипептидов (в 1.5 раза).

Спектры ОВ ила варианта пар отличаются от варианта степь, прежде всего, резким увеличением вклада ΣAg фрагментов (в 1.6 раза) на фоне уменьшения доли Alk фрагментов (в 1.2 раза) и O-Alk (в 1.4 раза).

Следует отметить уменьшение количества пептидов в ОВ ила (в 1.2 раза), свидетельствующее о снижении микробной активности в условиях резкого недостатка энергетических и питательных ресурсов.

Степень разложенности ОВ в варианте пар по сравнению с вариантом степь повышается незначительно (в 1.1 раза) в отличие от степени ароматичности, которая увеличивается в 1.6 раза.

Резкое увеличение доли ΣAg фрагментов на фоне уменьшения доли O-Me групп (в 1.3 раза) свидетельствует, что во фракции ила, аналогично ЛФ<sub>АГР</sub>, варианта пар остаются более гидрофобные ароматические соединения. На это указывает увеличение в 1.2 раза индекса гидрофобности. Предполагая, что степень гидрофобности ОВ ила является определяющим фактором для агрегатобразования, можно ожидать, что размер илистых микроагрегатов в варианте пар будет меньше такового варианта степь. Действительно, аналитические данные выявили тенденцию к уменьшению величины среднего диаметра илистых микроагрегатов размером <1 мкм в варианте пар по сравнению с вариантом степь (434 против 417 нм, соответственно).

**ОВ фракции остатка.** В состав фракции остатка входит крупнозернистый минеральный компонент (преимущественно первичные минералы), устойчивые в УЗ-поле микроагрегаты с незначительной примесью лигнино- и углеподобных веществ [9, 37].

Исходя из того, что органическая составляющая фракции остатка, как и ила, преимущественно представлена ОВ микроагрегатов илистых частиц (в данном случае, устойчивых в УЗ-поле), следует ожидать, что ОВ фракции остатка во мно-

гом будет аналогично фракции ила. Действительно, спектры ОВ остатка близки таковым илистой фракции, но имеют отличия.

В спектре ОВ остатка, как и во фракции ила, O-Alk количественно доминируют (32% общей интенсивности), хотя их доля меньше в 1.1 раза. Это сопровождается незначительным увеличением суммарного вклада карбоксильной и карбонильной групп (в 1.1 раза). Отличие спектра фракции остатка от ила состоит в увеличении доли ΣAg-C (в 1.4 раза) на фоне снижения (в 1.4 раза) доли Alk-C, что согласуется с немногочисленными данными по химической структуре ОВ пылеватых и песчаных фракций [50].

Уменьшение количества Alk-C во фракции остатка по сравнению с илом связано с меньшим вкладом как липидов (в 1.5 раза), так и полипептидов (в 1.2 раза), что свидетельствует о снижении по сравнению с илом, доли ОВ микробного происхождения. Следует отметить, что Alk-C во фракции остатка не только количественно, но и качественно отличается от фракции ила. В спектре фракции ила интенсивность сигнала при 30 м.д. очень высока, а 20 м.д. проявляется лишь в виде плеча. Тогда как в спектре фракции остатка их интенсивности уже сопоставимы, что свидетельствует о меньшем вкладе длинноцепочечных компонентов (30 м.д.) и о меньшей степени гидрофобности ОВ остатка по сравнению с илом, что находит подтверждение в снижении индекса гидрофобности (в 1.1 раза).

Для спектра ОВ фракции остатка варианта пар отмечены аналогичные ОВ ила тенденции: резко повышается доля ΣAg фрагментов (в 1.4 раза) на фоне снижения доли O-Alk (в 1.5 раза) и Alk (в 1.2 раза) фрагментов.

Степень разложенности ОВ в варианте пар по сравнению с вариантом степь повышается почти в 1.3 раза на фоне более значительного увеличения степени ароматичности ОВ (в 1.4 раза). Это сопровождается ростом степени гидрофобности ОВ фракции остатка: в 1.4 раза по сравнению с таковой варианта степь.

Таким образом, можно утверждать, что ОВ фракции остатка по сравнению с илом имеет аналогичную хорошо выраженную алифатическую природу, но с меньшим преобладанием длинноцепочечных соединений. Как и во фракции ила оно менее алифатично и более ароматично, характеризуется меньшей степенью разложенности и гидрофобности. Доля продуктов микробного происхождения в составе фракции остатка меньше таковой фракции ила, что подтверждается сокращением доли полипептидов. По-видимому, отмеченные отличия ОВ фракции остатка от фракции ила обусловлены большей степенью гетерогенности состава первого. В частности, присутствием в остатке фракции микроагрегатов плотностью 1.8–

2.0 г/см<sup>3</sup>, которая, согласно схемам фракционирования, относится к легким фракциям [1, 37].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведенные сопряженные исследования изотопного состава и химической структуры пулов ОВ типичного чернозема позволили проследить последовательность разложения ОВ в почвах, которое следует континууму от свежих и частично разложенных растительных остатков в дискретном ОВ до значительно/полностью переработанных – в органо-минеральных фракциях.

Свободное ОВ (ЛФ<sub>СВ</sub>) представлено в основном хорошо различимыми визуальными фрагментами растительного материала, локализующимися в межагрегатном поровом пространстве макроагрегатов. Это наименее разложенное ОВ представлено грубыми, малоизмененными растительными остатками. В химическом составе доминируют О-Алк фрагменты (целлюлоза). Для ЛФ<sub>СВ</sub> характерно наиболее широкое отношение С/Н, что определяется растительным происхождением органического материала в его составе. Изотопный состав углерода, выраженный как δ<sup>13</sup>С, близок к таковому растительности.

Агрегированное ОВ (ЛФ<sub>АГР</sub>) – продукт фрагментации и гумификации ЛФ<sub>СВ</sub>. Для него характерна значительная степень деградации растительных остатков. В ЛФ<sub>АГР</sub> по сравнению с ЛФ<sub>СВ</sub> фиксируются изменения химической структуры, характерные для начальных стадий разложения ОВ: увеличивается вклад ароматических фрагментов, том числе фенолов, а также степень ароматичности и гидрофобности, уменьшается величина С/Н. Его более “легкий” изотопный состав по сравнению с ЛФ<sub>СВ</sub> обусловлен сохранением наиболее стойких лигниновых материалов, обогащенных <sup>13</sup>С, также его физической защитой в микроагрегатах внутри структурных отдельных почв.

Органо-глинистые комплексы (ил) – продукты микробного разложения ЛФ<sub>АГР</sub>, которые, наряду с белковыми структурами, адсорбируются на глинистых частицах. ОВ фракции ила имеет выраженную алифатическую природу со значительным вкладом длинноцепочечных алкилов, характеризуется наибольшей степенью разложенности, что согласуется с наименьшей наблюдаемой величиной отношения С/Н. Доля продуктов микробного происхождения намного больше таковой ЛФ<sub>АГР</sub>, что подтверждается резким увеличением доли полипептидов. Изотопный состав С – наиболее “тяжелый” среди всех исследованных пулов ОВ.

Фракция остатка содержит устойчивые в УЗ-поле микроагрегаты пылеватого и илистого размера (50–1 мкм) с незначительной примесью углепо-

добных веществ. Устойчивые микроагрегаты включают глинистые минералы, адсорбированные микробные метаболиты, а также микробную биомассу. Химическая структура фракции остатка сходна с фракцией ила, обогащена полиненасыщенными короткоцепочечными алкилами.

Устойчивые в УЗ-поле микроагрегаты пылеватого и илистого размера (50–1 мкм), наряду с угледобными веществами, представляют наиболее стабильное (инертное) ОВ. Тем не менее, изотопный состав С фракции остатка несколько “легче” таковой фракции ил, по-видимому, за счет присутствия фракции плотностью 1.8–2.0 г/см<sup>3</sup>. Большая степень гетерогенности состава фракции остатка по сравнению с фракцией ила обуславливает большую величину отношения С/Н.

При длительном функционировании почвы в режиме чистого пара происходят изменения изотопного состава и химической структуры ОВ. Практически полное отсутствие поступления свежего органического материала в почву вызывает резкое увеличение степени микробной переработки имеющегося в почве органического материала во всех исследованных пулах ОВ, что подтверждается “утяжелением” их изотопного состава С. Уменьшается количество наиболее легкодоступных и энергетически привлекательных для микробного сообщества фрагментов органического материала (О-Алк фрагментов). Это способствует селективному накоплению/сохранению химически наиболее устойчивых ароматических соединений. Увеличивается степень разложенности ОВ и его гидрофобность.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследования проведены при частичной поддержке гранта Президиума РАН “Теоретическое и экспериментальные исследования для эффективного научно-технологического развития агропромышленного комплекса РФ” (2018–2020 гг.) с привлечением оборудования Центра коллективного пользования “Функции и свойства почв и почвенного покрова” Почвенного института им. В.В. Докучаева.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Артемьева З.С.* Органические и органо-глинистые комплексы агрогенно-деградированных почв. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2008. 48 с.
2. *Артемьева З.С.* Органическое вещество и гранулометрическая система почвы. М.: ГЕОС, 2010. 240 с.
3. *Артемьева З.С., Кириллова Н.П.* Роль продуктов органо-минерального взаимодействия в структуро-

- образовании и гумусообразовании основных типов почв Центра Русской равнины // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2017. № 90. С. 73–95.
4. *Артемяева З.С., Федотов Г.Н.* Состав функциональных пулов легкоразлагаемого органического вещества автоморфных зонального ряда почв Центра Русской равнины // Вестник Моск. ун-та. Сер. 17. Почвоведение. 2013. № 4. С. 3–10.
  5. *Дымов А.А.* Почвы послерубочных, постпирогенных и постагрогенных лесных экосистем северо-востока Европейской части России. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2018. 48 с.
  6. Классификация и диагностика почв СССР. М.: Колос, 1977. 223 с.
  7. *Когут Б.М., Артемяева З.С., Кириллова Н.П., Яшин М.А., Сошникова Е.И.* Компонентный состав органического вещества воздушно-сухих и водостойчивых макроагрегатов 2–1 мм типичного чернозема в условиях контрастного землепользования // Почвоведение. 2019. № 2. С. 161–170. <https://doi.org/10.1134/S0032180X19020084>
  8. *Семенов В.М., Когут Б.М.* Почвенное органическое вещество. М.: ГЕОС, 2015. 233 с.
  9. *Федотов Г.Н., Артемяева З.С.* Коллоидная составляющая грануло-денсиметрических фракций почв // Почвоведение. 2015. № 1. С. 61–70. <https://doi.org/10.7868/S0032180X15010049>
  10. *Чуков С.Н., Лодыгин Е.Д., Абакумов Е.В.* Использование  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопии в исследовании органического вещества почв (обзор) // Почвоведение. 2018. № 8. С. 952–964. <https://doi.org/10.1134/S0032180X18080026>
  11. *Accoe F., Beockx P., Van Cleemput O., Hofman G., Hui X., Bin H., Guanxion C.* Characterization of soil organic matter fractions from grassland and cultivated soils via C content and  $\delta^{13}\text{C}$  signature // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2002. V. 16. P. 2157–2164. <https://doi.org/10.1002/rcm.827>
  12. *Andreux F., Cerri C., Vose P.B., Vitorello V.A.* Potential of stable isotope,  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  methods for determining input and turnover in soils // Nutrient cycling in terrestrial ecosystems. Field methods, application, and interpretation. London, 1990. P. 259–275.
  13. *Artemyeva Z.S., Kogut B.M.* The Effect of Tillage on Organic Carbon Stabilization in Microaggregates in Different Climatic Zones of European Russia // Agriculture. 2016. V. 6. P. 63. <https://doi.org/10.3390/agriculture6040063>
  14. *Badeck F.W., Tcherkez G., Nogués S., Piel C., Ghashghaie J.* Post-photosynthetic fractionation of stable carbon isotopes between plant organs – a widespread phenomenon // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2005. V. 19. P. 1381–1391. <https://doi.org/10.1002/rcm.1912>
  15. *Balesdent J., Mariotti A., Guillet B.* Natural  $^{13}\text{C}$  abundance as a tracer for studies of soil organic matter dynamics // Soil Biol. Biochem. 1987. V. 19. P. 25–30. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90120-9](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90120-9)
  16. *Balesdent J., Mariotti A.* Measurement of soil organic matter turnover using  $^{13}\text{C}$  natural abundance // Mass Spectrometry of Soils. N.Y.: Marcel Dekker, 1996. P. 83–111.
  17. *Baisden W.T., Amundson R., Cook A.C., Brenner D.L.* Turnover and storage of C and N in five density fractions from California annual grassland surface soils // Glob. Biogeochem. Cycles. 2002. V. 16. P. 117–132. <https://doi.org/10.1029/2001GB001822>
  18. *Baldock J.A., Oades J.M., Vassallo A.M., Wilson M.A.* Solid-state CP/MAS  $^{13}\text{C}$  NMR analysis of bacterial and fungal cultures isolated from a soil incubated with glucose // Austr. J. Soil Res. 1990. 28: 213–225. <https://doi.org/10.1071/SR9900213>
  19. *Baldock J.A., Oades J.M., Waters A.G., Peng X., Vassallo A.M., Wilson M.A.* Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy // Biogeochemistry. 1992. V. 16. P. 1–42. <https://doi.org/10.1007/BF02402261>
  20. *Baldock J.A., Preston C.M.* Chemistry of carbon decomposition processes in forests as revealed by solid-state carbon  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance // Carbon Forms and Functions in Forest Soils. Madison, 1995. P. 89–117.
  21. *Baldock J.A., Skjemstad J.O.* Role of the soil matrix and minerals in protecting natural organic materials against biological attack // Org. Geochem. 2000. V. 31. P. 697–710. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(00\)00049-8](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(00)00049-8)
  22. *Beare M.H., Mcneill S.J., Curtin D., Parfitt R.L., Jones H.S., Dodd M.B., Sharp J.* Estimating the organic carbon stabilisation capacity and saturation deficit of soils: a New Zealand case study // Biogeochemistry. 2014. V. 120. P. 71–87. <https://doi.org/10.1007/s10533-014-9982-1>
  23. *Bellarby J., Chenu C., Foereid B., Smith P., Wattenbach M., Zingore Sh., Smith J., Gottchalk P.* Simulation of soil organic carbon response at forest cultivation sequences using  $^{13}\text{C}$  measurements // Org. Geochem. 2010. V. 41. P. 41–54.
  24. *Boeni M., Bayer C., Dieckow J., Conceição P.C., Dick D.P., Knicker H., Macedo M.C.M.* Organic matter composition in density fractions of Cerrado Ferrasols as revealed by CPMAS  $^{13}\text{C}$  NMR: influence of pastureland, cropland and integrated crop-livestock // Agric. Ecosyst. Environ. 2014. V. 190. P. 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.09.024>
  25. *Boström B.* Achieving carbon isotope mass balance in northern forest soils, soil respiration and fungi. Orebro, 2008.
  26. *Campbell R., Porter R.* Low temperature scanning electron microscopy of microorganisms in soils // Soil Biol. Biochem. 1982. V. 14. P. 241–245. [http://doi.org/10.1016/0038-0717\(82\)90033-5](http://doi.org/10.1016/0038-0717(82)90033-5)
  27. *Chenu C., Plante A.F.* Clay-sized organo-mineral complexes in a cultivation chronosequence: revisiting the concept of the “organo-mineral complex” // Eur. J. Soil Sci. 2006. V. 57. P. 596–607. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2006.00834.x>

28. *Clemente J.S., Simpson A.J., Simpson M.J.* Association of specific organic matter compounds in size fractions of soils under different environmental controls // *Org. Geochem.* 2011. V. 42. P. 1169–1180.  
<https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2011.08.010>
29. *Compton J.E., Boone R.D.* Long-term impacts of agriculture on soil carbon and nitrogen in New England forests // *Ecology.* 2000. V. 81. P. 2314–2330.  
[https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2000\)081\[2314:LTIOAO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081[2314:LTIOAO]2.0.CO;2)
30. *Crow E.S., Sulzman E.W., Rugh W.D., Bowden R.D., Lajtha K.* Isotopic analysis of respired CO<sub>2</sub> during decomposition of separate soil organic matter pools // *Soil Biol. Biochem.* 2006. V. 38. P. 3279–3291.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.007>
31. *Crow S.E., Swanston C.W., Lajtha K., Brooks J.R., Keirstead H.* Density fractionation of forest soils: methodological questions and interpretation of incubation results and turnover time in an ecosystem context // *Biogeochemistry.* 2007. V. 85. P. 69–90.  
<https://doi.org/10.1007/s10533-007-9100-8>
32. *del Galdo I., Six J., Peressotti A., Cotrufo M.F.* Assessing the impact of land-use change on soil C sequestration in agricultural soils by means of organic matter fractionation and stable C isotopes // *Global Change Biology.* 2003. V. 9. P. 1204–1213.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2003.00657.x>
33. *Dignac M.F., Bahri H., Rumpel C., Rasse D.P., Bardoux G., Balesdent J., Girarding C., Chenu C, Mariotti A.* Carbon-13 natural abundance as a tool to study the dynamics of lignin monomers in soil: an appraisal at the Closeaux experimental field (France) // *Geoderma.* 2005. V. 128. P. 3–17.  
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.022>
34. *Ehleringer J.R., Buchmann N., Flanagan L.B.* Carbon isotope ratios in belowground carbon cycle processes // *Ecol. Appl.* 2000. V. 10. P. 412–422.  
[https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[0412:CIRIBC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[0412:CIRIBC]2.0.CO;2)
35. *Foster R.C., Rovira A.D., Cook T.W.* Ultrastructure of the Root Soil Interface. St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society, 1983.
36. *Golchin A., Oades J.M., Skjemstad J.O., Clarke P.* Study of free and occluded particulate organic matter in soils by solid state <sup>13</sup>C CP/MAS NMR spectroscopy and scanning electron microscopy // *Austral. J. Soil Res.* 1994. V. 32. P. 285–309.  
<https://doi.org/10.1071/SR9940285>
37. *Golchin A., Oades J.M., Skjemstad J.O., Clarke P.* Soil structure and carbon cycling // *Aust. J. Soil Res.* 1994. V. 32. P. 1043–68.  
<https://doi.org/10.1071/SR9941043>
38. *Golchin A., Oades J.M., Skjemstad J.O., Clarke P.* Structural and dynamic properties of soil organic matter as reflected by <sup>13</sup>C natural abundance, pyrolysis mass spectrometry and solid-state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy in density fractions of an Oxisol under forest and pasture // *Aust. J. Soil Res.* 1995. V. 33. P. 59–76.  
<https://doi.org/10.1071/SR9950059>
39. *Golchin A., Baldock J.A., Clarke P., Higashi T., Oades J.M.* The effects of vegetation and burning on the chemical composition of soil organic matter of a volcanic ash soil as shown by C-<sup>13</sup> NMR spectroscopy. 2. Density fractions // *Geoderma.* 1997. V. 76. P. 175–192.  
[https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(96\)00103-6](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(96)00103-6)
40. *González-Pérez M., Torrado P.V., Colnago L.A., Martín-Neto L., Otero X.L., Milori D.M., Gomes F.H.* <sup>13</sup>C NMR and FTIR spectroscopy characterization of humic acids in spodosols under tropical rain forest in southeastern Brazil // *Geoderma.* 2008. V. 146(3). P. 425–433.  
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2008.06.018>
41. *Gregorich E.G., Drury, C.F., Ellert, B.H., Liang, B.C.* Fertilization effects on physically protected light fraction organic matter // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1997. V. 61. P. 482–484.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj1997.03615995006100020016x>
42. *Hatcher P.G., Schnitzer M., Dennis L.W., Maciel G.E.* Aromaticity of humic substances in soils // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1981. V. 45. P. 1089–1094.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj1981.03615995004500060016x>
43. *Helgason B.L., Gregorich E.G., Janzen H.H., Ellert B.H., Lorenz N., Dick R.P.* Long-term microbial retention of residue C is site-specific and depends on residue placement // *Soil Biol. Biochem.* 2014. V. 68. P. 231–240.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.10.002>
44. *Hobbie E., Colpaert J.* Nitrogen availability and mycorrhizal colonization influence water use efficiency and carbon isotope patterns in *Pinus sylvestris* // *New Phytol.* 2004. V. 164. P. 515–525.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01187.x>
45. *John B., Yamashita T., Ludwig B., Flessa H.* Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soils under different types of land use // *Geoderma.* 2005. V. 128. P. 63–79.  
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.013>
46. *Knicker H.* Solid state CPMAS <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N NMR spectroscopy in organic geochemistry and how spin dynamics can either aggravate or improve spectra interpretation // *Org. Geochem.* 2011. V. 42(8). P. 867–890.  
<https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2011.06.019>
47. *Kölbl A., Kögel-Knabner I.* Content and composition of free and occluded particulate organic matter in a differently textured arable Cambisol as revealed by solid-state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy // *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2004. V. 167. P. 45–53.  
<https://doi.org/10.1002/jpln.200321185>
48. *Kögel-Knabner I.* <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. *Geoderma.* 1997. V. 80. P. 243–270.  
[https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(97\)00055-4](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(97)00055-4)
49. *Llorente M., Glaser B., Turrión M.B.* Anthropogenic disturbance of natural forest vegetation on calcareous soils alters soil organic matter composition and natural abundance of <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N in density fractions // *Eur. J. Forest Res.* 2010. V. 129. P. 1143–1153.  
<https://doi.org/10.1007/s10342-010-0402-3>
50. *Mahieu N., Powelson D.S., Randall E.W.* Statistical analyses of published carbon-13 CPMAS NMR spectra of

- soil organic matter // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1999. V. 63. P. 307–319.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj1999.03615995006300020008x>
51. Menichetti L., Houot S., van Oort F., Kätterer T., Christensen B.T., Chenu C., Barré P., Vasilyeva N.A., Ekblad A. Increase in soil stable carbon isotope ratio relates to loss of organic carbon: results from five long-term bare fallow experiments // *Oecologia*. 2014. V. 177. P. 811–821.  
<https://doi.org/10.1007/s00442-014-3114-4>
  52. Nelson P.N., Baldock J.A. Estimating the molecular composition of a diverse range of natural organic materials from solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR and elemental analyses // *Biogeochemistry*. 2005. V. 72. P. 1–34.  
<https://doi.org/10.1007/s10533-004-0076-3>
  53. Park R., Epstein S. Carbon isotope fractionation during photosynthesis // *Geochim. Cosmochim. Acta*. 1960. V. 21. P. 110–26.  
[https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(60\)80006-3](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(60)80006-3)
  54. Paul S., Veldkamp E., Flessa H. Soil organic carbon in density fractions of tropical soils under forest–pasture–secondary forest land-use changes // *Eur. J. Soil Sci.* 2008. V. 59. P. 359–371.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2007.01010.x>
  55. Preston C.M., Nault J.R., Trofymow J.A. Chemical changes during 6 years of decomposition of 11 litters in some Canadian forest sites. Part 2.  $^{13}\text{C}$  Abundance, solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy and the meaning of “lignin” // *Ecosystems*. 2009. V. 12. P. 1078–1102  
<https://doi.org/10.1007/s10021-009-9267-z>
  56. Rasmussen C., Torn M.S., Southard R.J. Mineral assemblage and aggregates control carbon dynamics in a California conifer forest // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 2005. V. 69. P. 1711–1721.  
<https://doi.org/10.2136/SSSAJ2005.0040>
  57. Rovira P., Vallejo V.R. Physical protection and biochemical quality of organic matter in Mediterranean calcareous forest soils: a density fraction approach // *Soil Biol. Biochem.* 2003. V. 35. P. 245–261.  
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00257-2](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00257-2)
  58. Ruiz-Dueñas F.J., Martínez Á.T. Microbial degradation of lignin: how a bulky recalcitrant polymer is efficiently recycled in nature and how we can take advantage of this // *Microbial Biotechnology*. 2009. V. 2(2). P. 164–177.  
<https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2008.00078.x>
  59. Šantručková H., Bird M.I., Lloyd J. Microbial processes and carbon-isotope fractionation in tropical and temperate grassland soils // *Funct. Ecol.* 2000. V. 14. P. 108–114.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2000.00402.x>
  60. Skjemstad J.O., Dalal R.C., Barron P.F. Spectroscopic investigations of cultivation effects on organic matter of Vertisols // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1986. V. 50. P. 354–359.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj1986.03615995005000020020x>
  61. Six J., Elliot E.T., Paustian K., Doran J.W. Aggregation and soil organic matter accumulation in cultivated and native grassland soils // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1998. V. 62. P. 1367–1377.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj1998.03615995006200050032x>
  62. Six J., Guggenberger G., Paustian K., Haumaier L., Elliott E.T., Zech W. Sources and composition of soil organic matter fractions between and within soil aggregates // *Eur. J. Soil Sci.* 2001. V. 52. P. 607–618.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2001.00406.x>
  63. Six J., Paustian K. Aggregate-associated soil organic matter as an ecosystem property and a measurement tool // *Soil Biol. Biochem.* 2014. V. 68. P. A4–A9.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.06.014>
  64. Smith B.N., Benedict C.R. Carbon isotope ratios of chemical constituents of *Panicum maximum* L. // *Plant and Cell Physiology*. 1974. V. 15. P. 949–951.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a075085>
  65. World reference base for soil resources 2014. A framework for international classification, correlation and communication, Word Soil Resource Report 106. FAO. Rome, 2014. 181 p.
  66. Xu S., Silveira M.L., Ngatia L.W., Normand A.E., Soltenberger L.E., Reddy K.R. Carbon and nitrogen pools in aggregate size fractions as affected by sieving method and land use intensification // *Geoderma*. 2017. V. 305. P. 70–79.  
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.05.044>

## Natural $^{13}\text{C}$ Abundance and Chemical Structure of Organic Matter of Haplic Chernozem under the Contrast Land Use

Z. S. Artemyeva<sup>1,\*</sup>, N. N. Danchenko<sup>1</sup>, E. P. Zazovskaya<sup>2</sup>, Yu. G. Kolyagin<sup>3</sup>,  
 N. P. Kirillova<sup>4</sup>, and B. M. Kogut<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, 119017 Russia

<sup>2</sup>Institute of Geography, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119017 Russia

<sup>3</sup>Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

<sup>4</sup>Soil Science Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

\*e-mail: artemyevazs@mail.ru

Natural  $^{13}\text{C}$  abundance and chemical structure of different organic matter (OM) pools of Haplic Chernozem in contrasting variants of land use (steppe and long-term bare fallow) were studied. The sequence of OM decomposition in soils was traced. Under the natural conditions (steppe), changes in the chemical structure of OM characteristic of the initial stages of decomposition take place: the degree of the occluded OM aromatic-

ity and hydrophobicity increases, as well as the degree of its microbial processing in the direction from the free ( $LF_{fr}$ ) to the occluded ( $LF_{occ}$ ) OM. The products of microbial decomposition of  $LF_{occ}$  adsorbed on clay particles are concentrated in the clay fraction (Clay). The clay-bound OM has a pronounced aliphatic nature with a significant contribution of long-chain alkyls and is characterized by the highest degree of decomposition and the maximum contribution of polypeptides, which is consistent with its “heaviest” isotope signature among all the studied OM pools. The chemical structure of the residue fraction (Res) is, in many respects, similar to that of the Clay enriched in short-chain alkyls of predominantly microbial origin. The almost complete absence of the input of fresh organic material over a long period (52 years) to the soil of the bare fallow causes a sharp increase in the degree of microbial processing of the organic material in all the studied OM pools, which is confirmed by their “heaviest” isotope signature. The amount of the most easily available and energetically attractive fragments of organic material (O-Alk) for the microbial community decreases, whereas the degree of OM decomposition and its hydrophobicity increase. An increase in the share of aromatic fragments and in the degree of OM aromaticity indicates the selective accumulation of the most chemically stable aromatic compounds.

*Keywords:* granulodensimetric fractionation,  $\delta^{13}C$ ,  $^{13}C$  NMR-spectroscopy, average diameter of clay particles