

УДК 631.4

## ИЗОТОПНЫЙ СОСТАВ УГЛЕРОДА ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ВОДОУСТОЙЧИВЫХ СТРУКТУРНЫХ ОТДЕЛЬНОСТЕЙ ТИПИЧНОГО ЧЕРНОЗЕМА В КОНТРАСТНЫХ ВАРИАНТАХ ЗЕМЛЕПОЛЬЗОВАНИЯ

© 2023 г. З. С. Артемьева<sup>а</sup>, \*, Э. П. Зазовская<sup>б</sup>, Е. С. Засухина<sup>с</sup>, Е. В. Цомаева<sup>а</sup><sup>а</sup>Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Пыжевский пер., 7, стр. 2, Москва, 119017 Россия<sup>б</sup>Институт географии РАН, Старомонетный пер., 29, Москва, 119017 Россия<sup>с</sup>Федеральный исследовательский центр “Информатика и управление” РАН, ул. Вавилова, 44, корп. 2, Москва, 119333 Россия

\*e-mail: artemyevazs@mail.ru

Поступила в редакцию 08.09.2022 г.

После доработки 07.11.2022 г.

Принята к публикации 08.11.2022 г.

Представлены данные по изотопному составу углерода (С) разных пулов органического вещества (ОВ) в водоустойчивых структурных отдельностях (макро- и свободных микроагрегатах) типичного чернозема под степью и длительным чистым паром. Фракционирование  $^{13}\text{C}$  на отдельных этапах формирования пулов ОВ является относительно постоянным, независимо от уровня структурной организации. Это демонстрирует представленная концептуальная схема, позволяющая количественно оценить потоки С в системе агрегат/пул ОВ. Выявлено, что основные потоки С в пулах ОВ идут от свободного ОВ (ЛФ<sub>СВ</sub>) к фракции остатка через микроагрегаты внутри водоустойчивых структурных отдельностей (мВСА), компонентами которых являются агрегированное ОВ (ЛФ<sub>АГР</sub>) и илистая фракция (ил). С большой долей вероятности С перемещается из макроагрегатов (ВСА<sub>ма</sub>) в свободные микроагрегаты (ВСА<sub>ми</sub>). Большая вероятность потока С во фракцию остатка из мВСА по сравнению с прямыми потоками С из ЛФ<sub>АГР</sub> и ила свидетельствует в пользу гипотезы о том, что фракция остатка представлена в большей степени разрушенными частями/осколками разрушенных мВСА размером 50–1 мкм. Вне зависимости от размера в ВСА имеется лабильное ОВ в составе мВСА, наряду с ЛФ<sub>СВ</sub> (только в макроагрегатах) и стабильное ОВ (фракция остатка). Лабильное ОВ (ЛФ<sub>АГР</sub> и ил) внутри ВСА<sub>ми</sub> характеризуется более легким изотопным составом С, следовательно, меньшей степенью микробиологической переработки по сравнению с таковым мВСА внутри ВСА<sub>ма</sub>, что является следствием его лучшей физической защиты от микробных атак. Однако наиболее стабильный пул ОВ, сосредоточенный во фракции остатка внутри ВСА<sub>ми</sub> обогащен  $^{13}\text{C}$  по сравнению с таковым в ВСА<sub>ма</sub>. Учитывая, что фракция остатка определяет общий изотопный состав С в ВСА, ОВ свободных микроагрегатов в целом характеризуется большей степенью микробиологической переработки по сравнению с таковым макроагрегатов. Свободные микроагрегаты – это части дезинтегрированных макроагрегатов.

**Ключевые слова:** водоустойчивая структура, грануло-денсиметрическое фракционирование, стабилизации углерода, потоки углерода,  $\delta^{13}\text{C}$

DOI: 10.31857/S0032180X22601098, EDN: HBLHJT

### ВВЕДЕНИЕ

Органическое вещество (ОВ) почвы является крупнейшим резервуаром органического углерода (С) на суше [31]. Стабилизация и дестабилизация ОВ в почве имеют решающее значение для глобального цикла С. В условиях современных климатических вызовов глубокое понимание механизмов стабилизации ОВ в почве может иметь ключевое значение для прогнозирования поведения С в почве и его обратной связи с климатом [45]. Под физической стабилизацией ОВ в почве понимают его защиту от минерализации, которая,

в первую очередь, обеспечивается агрегатами. Положительное влияние агрегирования на аккумуляцию углерода в почве отмечается во многих работах [1, 22, 29, 37, 43, 44, 49, 53].

Анализ стабильных изотопов С ( $\delta^{13}\text{C}$ ) является мощным инструментом для оценки оборота ОВ в почве, в том числе на разных иерархических уровнях организации почвенной массы [12, 16, 27, 32, 38], а также оценки степени его разложения [35]. ОВ почвы, в основном, происходит из тканей растений, которые имеют определенную изотопную сигнатуру, возникающую из-за разли-

чий в путях фотосинтетической ассимиляции С. Процессы разложения ОВ напрямую зависят от его локализации в почвенной матрице [3]. Соответственно, стабилизация С в разных пулах ОВ приводит к фракционированию  $^{13}\text{C}$  и, следовательно, к различным значениям  $\delta^{13}\text{C}$ . В качестве основных причин такого фракционирования рассматриваются микробный метаболизм (стабилизация органических материалов после прохождения одного или нескольких циклов микробной утилизации) и субстратные эффекты (предпочтительная стабилизация органических соединений с легким или тяжелым  $\delta^{13}\text{C}$ ).

Связь обогащенности тяжелым изотопом  $^{13}\text{C}$  с методами физического фракционирования ОВ успешно использовалась некоторыми авторами для оценки количественных изменений содержания С в различных гранулометрических фракциях почвы [12, 17, 26, 27, 32, 38]. Однако ОВ почвы – очень сложная система, состоящая из разных фракций, характеризующихся различными физическими и химическими свойствами, устойчивостью к разложению микробиотой и временем оборота [31]. Поэтому для корректной оценки динамики ОВ необходимо различать фракции не только по размеру, но и функционально разные фракции ОВ почвы [6, 21]. Более того, Балесдент [15] прямо указывает на важность и необходимость исследования изотопного состава С для изучения природы пулов ОВ почвы. Это может быть достигнуто путем фракционирования ОВ по размеру и плотности [1, 19, 24].

Комбинация методов фракционирования ОВ с техникой естественной обогащенности тяжелым изотопом  $^{13}\text{C}$  предлагает информативный подход для изучения особенностей стабилизации углерода в почве, которые сложно обнаружить с помощью традиционных методологий [12, 21, 26, 32]. Изучение изотопного состава пулов ОВ, локализованных в структурных отдельностях разного размера, может способствовать более глубокому пониманию механизмов физической стабилизации ОВ.

Цель работы – изучение изотопного состава С пулов ОВ водоустойчивых структурных отдельностей (макро- и свободных микроагрегатов), выделенных из воздушно-сухих агрегатов (2–1 мм) типичного чернозема в условиях контрастного земледользования.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – типичный чернозем в условиях контрастных вариантов 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). Климат умеренный. Среднегодовая температура составляет 4.8–5.3°C. Среднегодовое количество осадков равно 540 мм. Почвы – среднесуглинистый типичный чернозем [7], согласно международной классификации *Harlic Chernozem (Loamic, Pachic)* [52] 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%,  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  6.8–6.9. Образцы отбирали с каждого варианта опыта в трехкратной повторности.

После сухого просеивания всего почвенного образца получили следующие фракции: >10, 10–7, 7–5, 5–3, 3–2, 2–1, 1–0.5, 0.5–0.25, <0.25 мм. Далее мокрому просеиванию подвергали воздушно-сухие агрегаты размером 2–1 мм. Выбор агрегатов данного размера обусловлен их наибольшим вкладом в  $\text{C}_{\text{общ}}$  почвы [8].

Для выделения пулов ОВ применяли модифицированный вариант грануло-денсиметрического фракционирования, полная схема которого представлена ранее [11]. Схема позволяет выделить четыре пула ОВ: неагрегированное, свободное ( $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$ ), агрегированное ( $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$ ), ил и остаток.

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

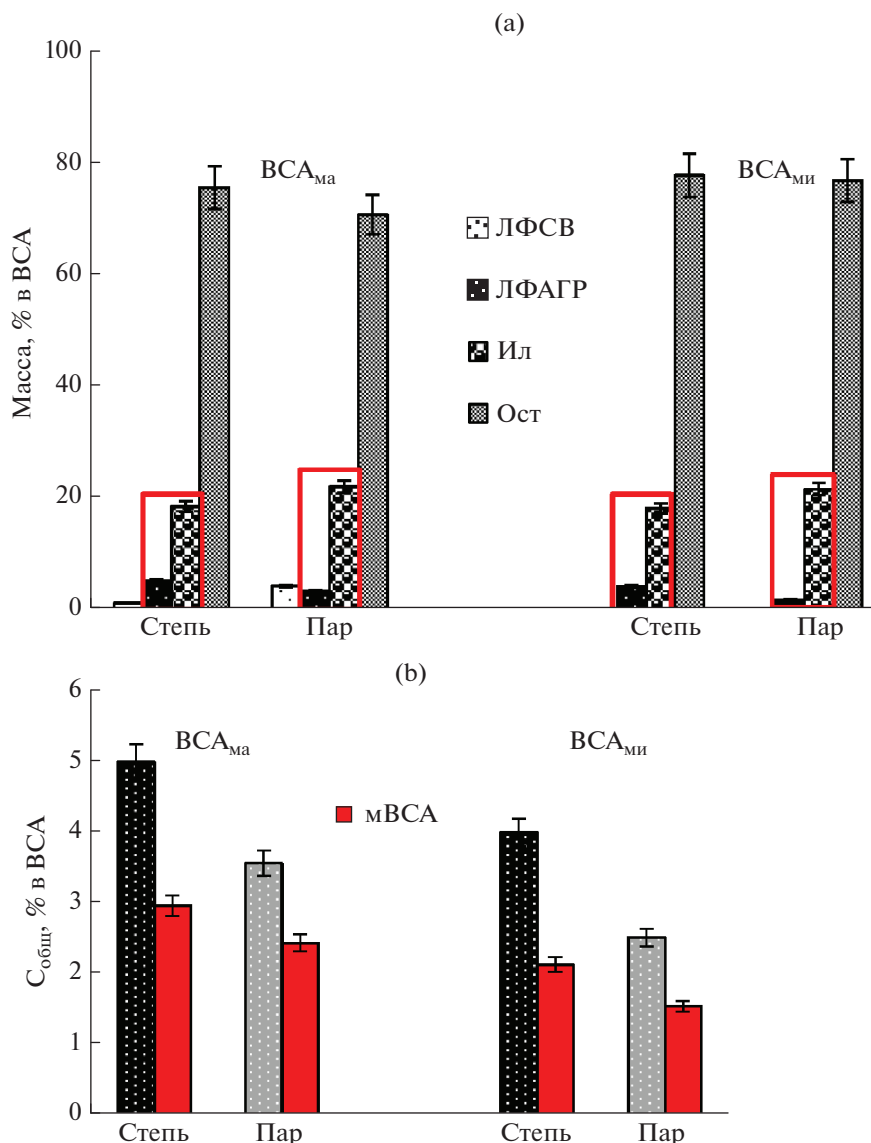
Измерение изотопного отношения тяжелого изотопа к легкому ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) проводили на комплексе оборудования, состоящем из элементного *CHNS* анализатора (*vario Isotope Select Elementar, Германия*) и изотопного масс-спектрометра (*precision IRMS Elementar, Великобритания*) в ЦКП “Лаборатория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

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

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

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

Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистического пакета *Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, США)*. Выбранный уровень значимости  $p < 0.05$ .



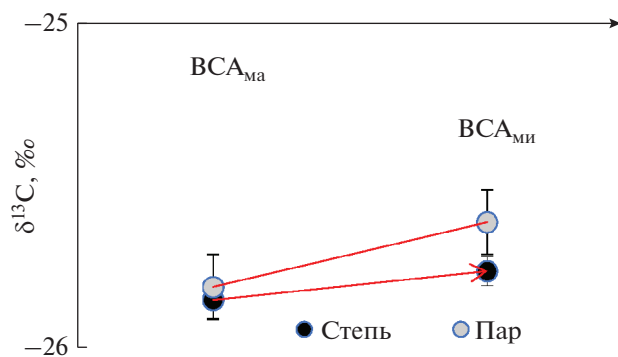
**Рис. 1.** Распределение компонентов в водоустойчивых макро- и свободных микроагрегатах (BSA) (a) и содержание С в них (% в BSA) (b) в типичном черноземе контрастных вариантов земледельческого использования. Здесь и далее: BSA<sub>ма</sub> – макро- (2–1 мм) и BSA<sub>ми</sub> – свободные микроагрегаты (<0.25 мм); свободное ОВ (ЛФСВ) – легкая фракция (плотность <1.8 г/см<sup>3</sup>); агрегированное ОВ (ЛФАГР) – легкая фракция (плотность <1.8 г/см<sup>3</sup>); ил – илистая фракция (<1 мкм); ОВ фракции остатка (Ост); мBSA – микроагрегаты внутри водоустойчивых структурных отдельных (BSA), неустойчивые к воздействию ультразвука.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

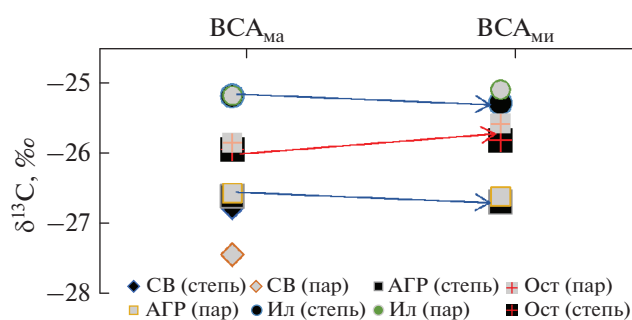
**Водоустойчивые структурные отдельные (макро- (2–1 мм) и свободные микроагрегаты (<0.25 мм)).** Аналитические данные выявили практически полную однотипность компонентного состава водоустойчивых структурных отдельных разного размера, выделенных из воздушно-сухих агрегатов размером 2–1 мм (steppe) (рис. 1a). И в макро-, и в свободных микроагрегатах выделяются неустойчивые (мBSA) и устойчивые (остаток) в УЗ-поле микроагрегаты. Это согласуется с лите-

ратурными данными об отсутствии значительных различий в составе водоустойчивых макро- и микроагрегатов [41].

Единственное, но очень важное различие – это ЛФСВ, которое присутствует лишь в макроагрегатах (1.1% на массу BSA<sub>ма</sub>), в свободных микроагрегатах обнаружены только его следы, что согласуется с литературными данными [10, 43]. Поэтому практически полное отсутствие свободного ОВ в BSA<sub>ми</sub> предполагает, преимущественно, лишь дальнейшее микробиологическое разложе-



**Рис. 2.** Величина  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) в водоустойчивых структурных отдельностях разного размера (макро- (ВСА<sub>ма</sub>) и свободных микроагрегатах (ВСА<sub>ми</sub>)) контрастных вариантов землепользования.



**Рис. 3.** Величина  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) пулов ОВ в водоустойчивых макро- (ВСА<sub>ма</sub>) и свободных микроагрегатах (ВСА<sub>ми</sub>) контрастных вариантов землепользования.

ние ЛФ<sub>АГР</sub> внутри мВСА<sub>ми</sub> без возможности пополнения этого пула ОВ за счет ЛФ<sub>СВ</sub>. Наряду с практически идентичным составом структурных отдельностей, вне зависимости от их размера это позволяет предполагать, что свободные микроагрегаты являются частями/осколками разрушенных макроагрегатов [10, 25, 27, 28, 36, 41, 42, 44].

Особое внимание следует обратить на неустойчивые микроагрегаты внутри структурных отдельностей (мВСА). Несмотря на то, что их доля, вне зависимости от варианта землепользования, составляет ~1/5 массы структурных отдельностей в целом, они стабилизируют большую часть С<sub>общ</sub> ВСА: 59–68 (степь) и 53–61% (пар) (рис. 1b), что согласуется с данными [38].

**Изотопный состав углерода.** В естественных условиях (степь) величина  $\delta^{13}\text{C}$  для ОВ, локализованного в ВСА разного размера была выше по сравнению с таковой для почвы в целом: -25.85 (ВСА<sub>ма</sub>) и -25.77‰ (ВСА<sub>ми</sub>) (рис. 2), что согласуется с литературными данными [27]. Это сопровождается увеличением степени обогащенности тяжелым изотопом  $^{13}\text{C}$  по мере уменьшения размера структурных отдельностей (рис. 3), что под-

тверждается данными [9, 16, 29, 32] и отражает отличие в доле участия молодого растительного материала в агрегатах разного размера [29]. Следовательно, более тяжелая изотопная сигнатура ОВ свободных микроагрегатов указывает на большую долю в них “старого” С. Все это, как будто, свидетельствует в пользу предположения, что ВСА<sub>ми</sub> являются частями/осколками ВСА<sub>ма</sub> и, следовательно, органические материалы в них должны быть переработаны в большей степени. Однако это противоречит аналитическим данным по величине отношения С/Н, которая, напротив, увеличивается по мере уменьшения размера структурных отдельностей: 11.0 против 10.7 (степь). Это кажущееся противоречие удалось прояснить, изучив изотопный состав С пулов ОВ структурных отдельностей.

С одной стороны, выявлено незначительное облегчение изотопного состава С дискретного ОВ (ЛФ<sub>СВ</sub> и ЛФ<sub>АГР</sub>), наряду с ОВ ила в ВСА<sub>ми</sub> по сравнению с ВСА<sub>ма</sub>, что свидетельствует о большей физической защите ОВ в микроагрегатах и согласуется с общепринятым мнением об увеличении устойчивости структурных отдельностей по мере уменьшения их размера [22, 48]. В таком случае ОВ в свободных микроагрегатах должно быть менее подвержено изменениям по сравнению с таковым в макроагрегатах, в том числе за счет микробиологической дискриминации  $^{13}\text{C}$ . Следовательно, наблюдаемый более легкий изотопный состав С пулов ОВ в свободных микроагрегатах выглядит логичным. Это хорошо согласуется с увеличением величины отношения С : N в них по мере уменьшения размера структурных отдельностей: 14.2 против 13.8 (ЛФ<sub>АГР</sub>), 9.5 против 9.2 (ил), а также с данными твердофазной  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопии, которая выявила меньшую степень разложения указанных пулов ОВ в свободных микроагрегатах по сравнению с таковыми в макроагрегатах [4].

С другой стороны, изотопный состав С фракции остатка в ВСА<sub>ми</sub> оказался тяжелее таковой в макроагрегатах. По-видимому, это является следствием некоторых различий в качественном составе ОВ данной фракции на разных уровнях структурной организации почвы. Аналитические данные по  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопии выявили во фракции остатка в ВСА<sub>ми</sub> большую долю карбоксильных групп (обогащенных  $^{13}\text{C}$ ), наряду с меньшей долей алкильных фрагментов, в том числе липидов, обедненных  $^{13}\text{C}$  [4]. Это в совокупности с большей степенью ароматичности ОВ фракции остатка в свободных микроагрегатах и, возможно, большей степенью его микробиологической переработки, и обуславливает более тяжелый изотопный состав С (то есть большую долю старого С) во фракции остатка в свободных микроагрегатах по сравнению с таковым макроагрегатов.

При этом следует учитывать, что общий изотопный состав С структурных отдельных, аналогично почве в целом, складывается из изотопных сигнатур органических материалов во всех пулах ОВ в почве/водоустойчивых структурных отдельностях с учетом их количественного вклада (массы) [3]. Соответственно, общий изотопный состав С водоустойчивых структурных отдельностях будет определяться, преимущественно, фракцией остатка в силу ее подавляющего преобладания в почве/ВСА разного размера (рис. 4).

Поэтому, несмотря на несколько облегченный изотопный состав дискретного ОВ и ОВ илистой фракции, локализованных в ВСА<sub>ми</sub> по сравнению с таковыми в ВСА<sub>ма</sub>, общая изотопная сигнатура свободных микроагрегатов будет более тяжелой по сравнению с таковой макроагрегатов именно за счет более тяжелой сигнатуры ОВ фракции остаток.

**Влияние варианта землепользования на изотопную сигнатуру.** Сравнительный анализ изотопной сигнатуры ОВ макро- и свободных микроагрегатов в варианте пар выявил тенденцию к ее утяжелению относительно таковой варианта степь, что согласуется с литературными данными об утяжелении изотопного состава С при переводе целинных почв в сельскохозяйственное использование [24].

Аналогично варианту степь, наблюдается тенденция к утяжелению изотопного состава С по мере уменьшения размера структурных отдельностей: ВСА<sub>ма</sub> (−25.81‰) < ВСА<sub>ми</sub> (−25.50‰).

Следует отметить, что величина обогащенности <sup>13</sup>С ОВ оставшихся неразрушенными макроагрегатов в варианте пар очень близка к таковой варианта степь (−25.81 против −25.85‰ соответственно), что, по-видимому, является подтверждением гипотезы о высокой консервативности водоустойчивых макроагрегатов (2–1 мм) по сравнению со свободными микроагрегатами — несмотря на то, что они практически полностью исчезли из воздушно-сухих структурных отдельностей такого же размера [8].

Величины δ<sup>13</sup>С для разных пулов ОВ демонстрируют незначительное, но последовательное увеличение относительно таковых варианта степь. Исключение отмечено лишь для свободного ОВ (ЛФ<sub>СВ</sub>) макроагрегатов, чья изотопная сигнатура оказалась легче в варианте пар по сравнению с таковой варианта степь.

Более легкий изотопный состав С свободного ОВ в ВСА<sub>ма</sub> варианта пар по сравнению с таковым варианта степь согласуется с некоторыми данными <sup>13</sup>С ЯМР-спектроскопии, которые свидетельствуют об уменьшении в варианте пар доли карбоксильных групп, обогащенных <sup>13</sup>С, и об увеличении долевого участия алкильных соедине-

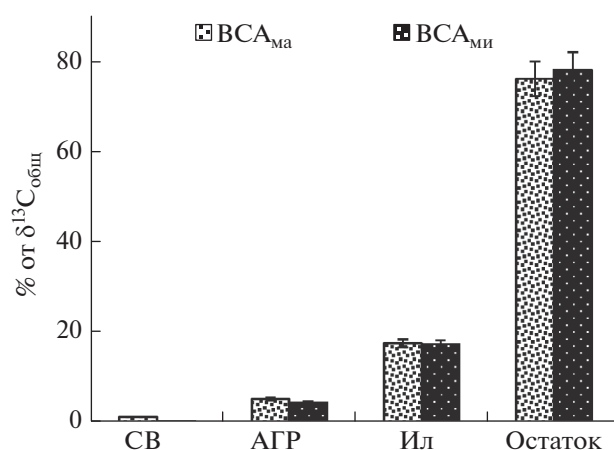


Рис. 4. Долевое участие компонентов ОВ водоустойчивых структурных отдельностей в общем уровне накопления изотопа <sup>13</sup>С (степь).

ний (обедненных <sup>13</sup>С) [4]. Это в совокупности с резким увеличением степени гидрофобности ЛФ<sub>СВ</sub> в ВСА<sub>ма</sub> в варианте пар относительно варианта степь (более чем в 2 раза) дает основание предполагать, что в ЛФ<sub>СВ</sub> макроагрегатов варианта пар селективно сохраняются наиболее трудно разлагаемые и гидрофобные фрагменты растительного происхождения (например, лигнина) с легким изотопным составом С [4].

**Модель множественной линейной регрессии для прогнозирования величины соотношения <sup>13</sup>С/<sup>12</sup>С (выраженном как δ<sup>13</sup>С).** Изотопная сигнатура ОВ складывается из соотношения разнонаправленных процессов. С одной стороны, облегчения изотопного состава С остаточного субстрата за счет относительно более низких скоростей разложения биохимических компонентов растительного материала, имеющих легкий изотопный состав С (например, лигнина), и относительно быстрого разложения более тяжелых соединений (например, полисахаридов) [39]. С другой стороны, утяжеление изотопного состава С остаточного субстрата при прохождении микробных циклов утилизации ОВ при разложении ОВ [51].

Учитывая очевидную комплексность величины отношения <sup>13</sup>С/<sup>12</sup>С, рассчитали модель множественной линейной регрессии для прогнозирования данного параметра в исследованных пулах ОВ, для чего воспользовались данными твердофазной <sup>13</sup>С ЯМР-спектроскопии [3, 4].

Оказалось, что наилучшая модель ( $r = 0.91$ ), в которой все параметры были значимыми ( $P < 0.05$ ), включала долевого участия алкильных (ALK) и ароматических (AROM) фрагментов, карбоксильных групп (CARBOX) и степень разложения органического материала DI (ALK/ΣO-ALK) (табл. 1).

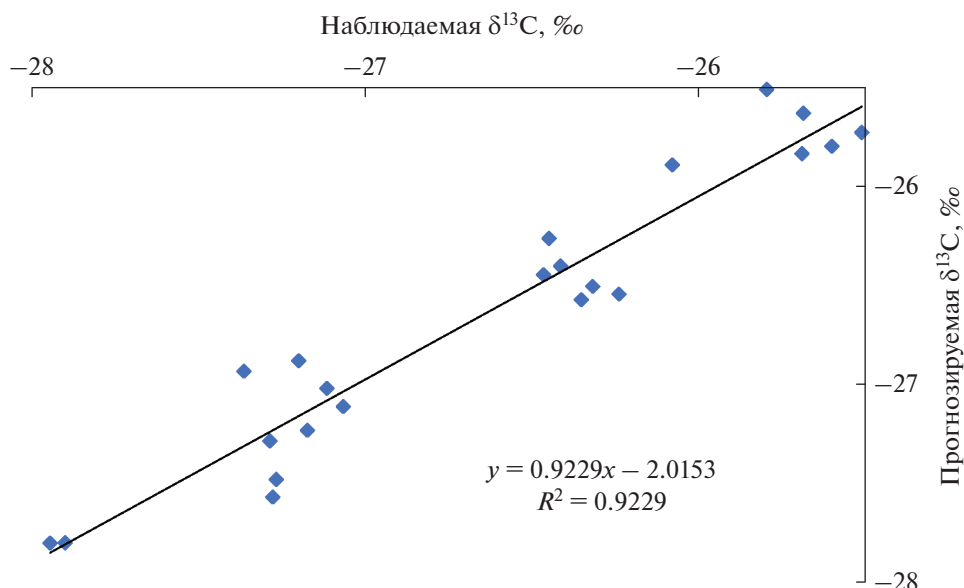


Рис. 5. График корреляции аналитических и модельных данных по величине  $\delta^{13}\text{C}$  ( $\delta^{13}\text{C} = f(\text{Alk}, \Sigma\text{Ar}, \text{COOH}, \text{DI})$ ,  $n = 22$ ,  $R^2 = 0.92$ ,  $P < 0.05$ ).

Модельные и аналитические данные (по величине  $\delta^{13}\text{C}$ ) показали удовлетворительное соответствие ( $R_{adj}^2 = 0.92$ ,  $P < 0.05$ ) (рис. 5).

На наш взгляд, модель в большей степени отражает зависимость величины обогащенности тяжелым изотопом ( $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ ) от субстратного эффекта (то есть соотношения органического материала, обогащенного и обедненного тяжелым изотопом  $^{13}\text{C}$ ), а влияние биологического фактора (микробной утилизации ОВ) не столь очевидно. Поэтому проанализировали возможные пути потоков С между пулами ОВ и классами структурных отдельностей.

**Потоки углерода в системе структурных отдельностей разного размера.** Пути потоков С в системе пул ОВ/класс структурных отдельностей определяли по методу, предложенному Гуниной и Кузяковым [26]. Метод основан на гипотезе, что пулы ОВ/классы структурных отдельностей с одинако-

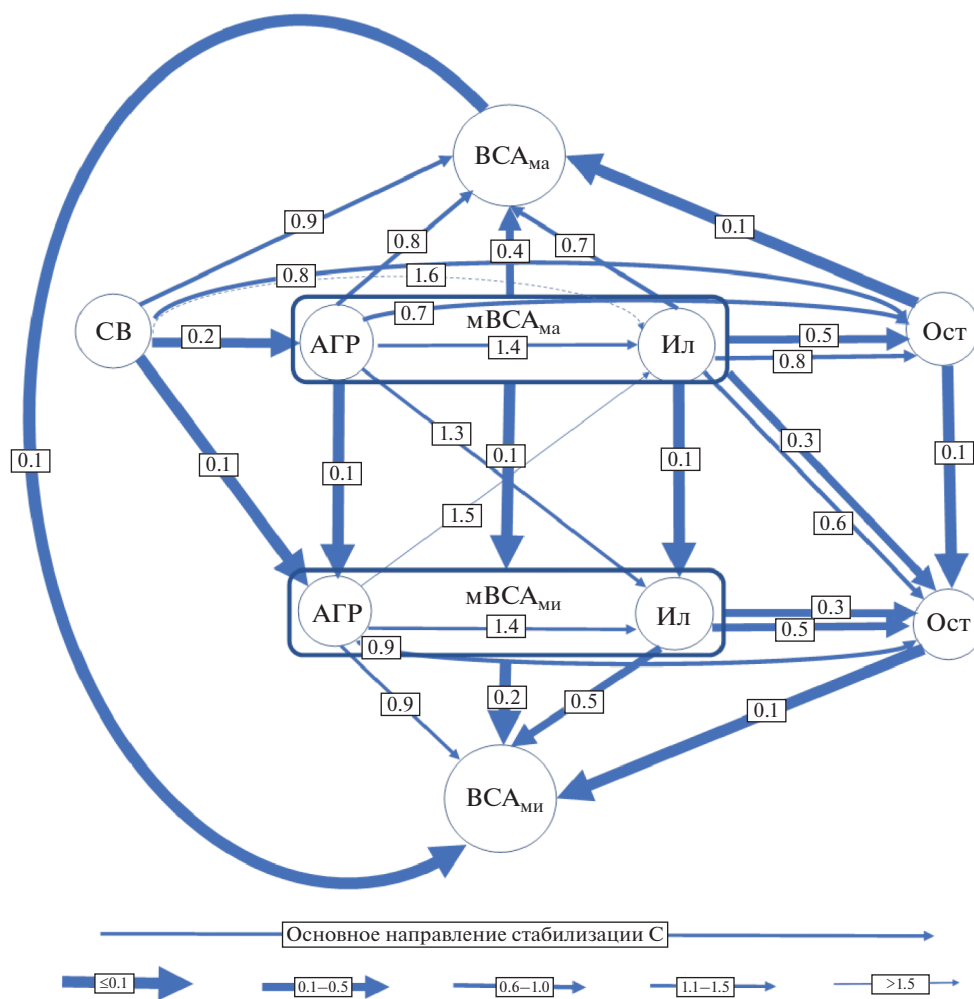
выми значениями  $\delta^{13}\text{C}$  более тесно связаны/ассоциированы, чем те, которые имеют отличающиеся значения  $\delta^{13}\text{C}$ , а также на хорошо установленном биологическом правиле, согласно которому органические материалы, прошедшие серию циклов микробной утилизации, в большей степени обогащены  $^{13}\text{C}$  по сравнению с менее переработанными.

Для анализа возможных путей образования ОВ расположили пулы ОВ, выделенные из структурных отдельностей разного размера, в схему, состоящую из двух линий: верхняя линия – для макроагрегатов ( $\text{BCA}_{\text{ма}}$ ), нижняя линия – для свободных микроагрегатов ( $\text{BCA}_{\text{ми}}$ ) (рис. 6). Каждая линия составлена из пулов ОВ, расположенных по возрастанию плотности. Такой порядок предполагает, что увеличение плотности приводит к усилению трансформации С растительного происхождения [46].

Таблица 1. Коэффициенты полиномиальной статистической модели  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ( $y$ ):  $y = A_0 + A_1x_1 + A_2x_2 + A_3x_3 + A_4x_4$

Параметр	$A$	Value	SE	$t$ -Value	Prob>  $t$	Adj. R-Square
	$A_0$	-37.2339	1.7849	-20.8600	0.0000	0.9048
$x_1$ (ALK)	$A_1$	0.5077	0.1107	4.5875	0.0003	
$x_2$ (CARBOX)	$A_2$	0.3992	0.0303	13.1825	0.0000	
$x_3$ (DI)	$A_3$	-13.0856	2.9259	-4.4724	0.0003	
$x_4$ (AROM)	$A_4$	0.1098	0.0333	3.2996	0.0042	

Примечание.  $x_1$  = ALK (% интенсивности);  $x_2$  = CARBOX (% интенсивности);  $x_3$  = DI (Alk/ $\Sigma$ O-Alk);  $x_4$  = AROM (% интенсивности);  $n = 22$ ; RMSE = 0.23;  $P < 0.05$ .



**Рис. 6.** Концептуальная схема потоков углерода в системе разных пулов ОВ в структурных отдельностях разного размера. Стрелками показаны направления потоков углерода; их ширина отражает относительную вероятность потока углерода между пулами/структурными отдельностями, числа вдоль стрелок показывают относительную вероятность потока углерода. Меньшие различия  $\Delta^{13}\text{C}$  соответствуют более высокой степени вероятности потока С.

Для стандартизации изотопного состава С в пулах ОВ рассчитали разницу ( $\Delta^{13}\text{C}$ ) между значениями  $\delta^{13}\text{C}$  каждого пула ОВ/класса структурных отдельностей и  $\delta^{13}\text{C}$  почвы в целом (значения  $\delta^{13}\text{C}$  почвы в целом вычитали из  $\delta^{13}\text{C}$  пула). Различия в величине  $\Delta^{13}\text{C}$  отражают разную степень разложения ОВ каждого пула ОВ/класса структурных отдельностей по сравнению с общей массой ОВ почвы [26].

Соответственно, пул ОВ в начале стрелки рассматривается как источник С, а в конце – как его продукт. После этого  $\Delta^{13}\text{C}$  продукта вычитали из  $\Delta^{13}\text{C}$  источника для каждого пула ОВ/класса структурных отдельностей. Такой прием позволяет количественно оценить вероятность потока С.

Схема дает возможность сделать вывод, что направление потоков С внутри структурных от-

дельностей разного размера идет от дискретного ОВ (ЛФ<sub>СВ</sub> и ЛФ<sub>АГР</sub>) к минерально-ассоциированному (ил и остаток), то есть слева направо. Таким образом, отправной точкой потока С растительного происхождения в структурные отдельности является свободное ОВ ЛФ<sub>СВ</sub> (с самой низкой  $\Delta^{13}\text{C}$ ), а ил и остаток – это последние стадии трансформации ОВ (максимальные  $\Delta^{13}\text{C}$ ).

Отчетливых различий в путях вероятной трансформации С на уровне макро- и свободных микроагрегатов не наблюдалось, что согласуется с выявленной ранее их весьма схожей химической структурой [4].

Вероятность прямого потока С от ЛФ<sub>СВ</sub> в ЛФ<sub>АГР</sub> очень высока –  $\Delta^{13}\text{C}$  (0.1–0.2), что свидетельствует о незначительной разнице в степени их микробиологической переработки. Далее по-

ток С должен перетекать в илистую фракцию, однако величина  $\Delta^{13}\text{C}$  (1.4) предполагает весьма малую степень вероятности прямого потока из дискретного ОВ в ил. По нашему мнению, это только лишний раз подчеркивает существенные различия в происхождении ОВ данных пулов: преимущественно растительное для  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  и микробное — для ила. Соответственно, продукты микробного разложения  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  могут адсорбироваться на глинистых частицах (ил) лишь после их очень интенсивной микробной переработки [13, 20, 21, 24, 33].

Последний пул ОВ, куда направлен поток С — фракция остатка. Возможные источники поступления С в данный пул ОВ в структурных отдельностях разного размера располагаются в ряд по мере увеличения вероятности потока С: ( $\text{ВСА}_{\text{ма}}$ )  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}} \leq$  ил (0.8) <  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  (0.7) <  $\text{мВСА}_{\text{ма}}$  (0.5); ( $\text{ВСА}_{\text{ми}}$ )  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  (0.9) < ил (0.5) <  $\text{мВСА}_{\text{ми}}$  (0.3).

Вероятность потока С в структурные отдельности из разных пулов ОВ и неустойчивых микроагрегатов внутри ВСА увеличивается в следующем ряду: ( $\text{ВСА}_{\text{ма}}$ ):  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  (0.9) <  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  (0.8) < ил (0.7) <  $\text{мВСА}_{\text{ма}}$  (0.4) < остаток (0.1); ( $\text{ВСА}_{\text{ми}}$ ):  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  (0.9) < ил (0.5) <  $\text{мВСА}_{\text{ми}}$  (0.2) < остаток (0.1). Следует отметить, что такой порядок хорошо отражает количественный вклад разных пулов ОВ в общий изотопный состав С структурных отдельностей, продемонстрированный ранее.

Однако преобразования С могут происходить не только в пределах одного класса структурных отдельностей, но и между макро- и свободными микроагрегатами, а также между разными пулами ОВ.

Велика вероятность потока С из всех исследованных пулов ОВ и  $\text{мВСА}_{\text{ма}}$  макроагрегатов в соответствующие пулы и  $\text{ВСА}_{\text{ми}}$  свободных микроагрегатов:  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}} =$  ил =  $\text{мВСА}_{\text{ма}} =$  остаток (0.1). Следует отметить очень высокую вероятность потока С из  $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$  макроагрегатов в  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  свободных микроагрегатов (0.1). Наряду с очень большой долей вероятности прямого потока С из макроагрегатов в свободные микроагрегаты ( $\Delta^{13}\text{C} = 0.1$ ), это подтверждает гипотезу, что свободные микроагрегаты представляют собой осколки/фрагменты разрушенных макроагрегатов.

Существенно меньше вероятность потока С из  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  макроагрегатов в ил свободных микроагрегатов (1.3), вероятность потока из  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  свободных микроагрегатов в ил макроагрегатов еще менее вероятна (1.5).

При этом большая вероятность потока С во фракцию остатка из неустойчивых микроагрегатов внутри структурных отдельностей ( $\text{мВСА}$ ) по сравнению с прямыми потоками С из  $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$  ил соответствующих структурных отдельностей (0.5

против 0.7–0.8 соответственно ( $\text{ВСА}_{\text{ма}}$ ) и 0.3 против 0.5–0.9 соответственно ( $\text{ВСА}_{\text{ми}}$ )), свидетельствует в пользу гипотезы о том, что фракция остатка в большой степени представлена частями/осколками разрушенных неустойчивых микроагрегатов ( $\text{мВСА}$ ).

**Водоустойчивые макро- и свободные микроагрегаты.** Проведенные исследования приводят к ряду гипотез относительно образования и строения структурных отдельностей разного размера и последующего накопления и оборота ОВ в почве, а также факторов, регулирующих их формирование и изменение под влиянием внешних условий.

Разложение твердых растительных остатков в почве зависит от их локализации в почвенной матрице: экологические условия для биодеградации должны существенно различаться для ОВ, локализованного в межагрегатном пространстве ( $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$ ) и внутри структурных отдельностей ( $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$ ). Проведенные исследования продемонстрировали, что иерархический уровень структурных отдельностей также имеет значение для процессов биодеградации ОВ.

**Водоустойчивые макроагрегаты** состоят из свободного ОВ ( $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$ ), микроагрегатов ( $\text{мВСА}$ ) и межагрегатной массы (остаток) (рис. 7).

В свою очередь, неустойчивые микроагрегаты внутри макроагрегатов ( $\text{мВСА}$ ) состоят из органического ядра — агрегированного ОВ ( $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$ ) и минеральной компоненты (ил), которая его (ядро) инкрустирует. Инкрустация дискретного ОВ минеральными частицами почвы возрастает благодаря постоянному микробиологическому разложению дискретного ОВ и образованию различных клеящих агентов белкового и липидного характера. Частичная деградация и фрагментация является обязательным условием для инкрустации твердых растительных остатков глинистыми частицами, так как только частично биологически переработанные и фрагментированные (до размера  $\leq 100$  мкм) частицы органического материала могут быть инкапсулированы глинистыми частицами ( $\text{ЛФ}_{\text{СВ}} \rightarrow \text{ЛФ}_{\text{АГР}}$ ) [11, 23, 25, 27, 50]. Еще одним обязательным условием является степень гидрофобности ОВ: чем она меньше, тем вероятность инкрустации ОВ глинистыми частицами и, в итоге, включения его в микроагрегат больше [11]. В противном случае фрагменты растительного материала будут продолжать функционировать как свободное ОВ ( $\text{ЛФ}_{\text{СВ}}$ ), параллельно подвергаясь биодеградации/фрагментации до достижения ими размера и качества, обеспечивающих возможность его инкрустации минеральными частицами ( $\text{ЛФ}_{\text{АГР}}$ ) и включения внутрь микроагрегата ( $\text{мВСА}$ ) [11, 23].

Размеры такого рода микроагрегатов колеблются в пределах 50–250 мкм, они неустойчивы к



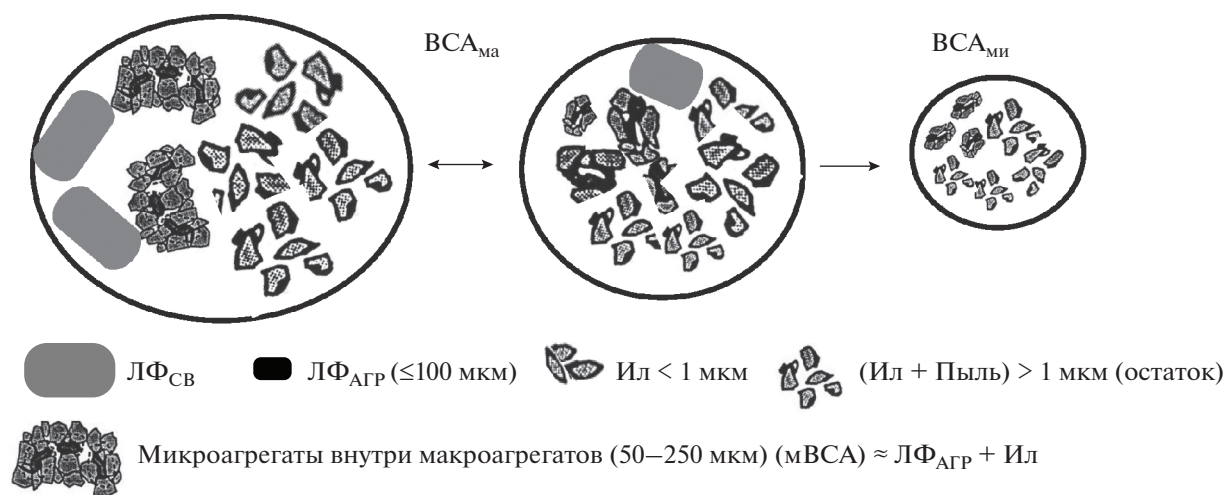


Рис. 7. Блок-схема дезагрегации водоустойчивых макроагрегатов (2–1 мм).

ультразвуковому воздействию, однако обладают водоустойчивостью, поэтому их часто называют стабильными [22]. Конкретный размер мВСА в естественных условиях (степь) определяется исключительно ОВ. Внутри свободных микроагрегатов он в 1.7 раза, а количество в 1130 раз меньше по сравнению с таковыми в макроагрегатах. Плотность упаковки такого рода микроагрегатов внутри макроагрегатов в 1.7 раза меньше по сравнению с таковой внутри свободных микроагрегатов. Распределение мВСА в матрице ВСА, по-видимому, неравномерное [25, 30, 47].

В относительно замкнутом внутреннем пространстве мВСА экологические условия существенно отличаются от внешних. Близость в микрометровом масштабе субстрата (ОВ) и микроорганизмов, его разлагающих, стимулирует биодegradацию ОВ [18, 40], а наличие тесного контакта с минеральной матрицей (ил) обеспечивает возможность быстрой адсорбции новообразованных продуктов разложения ОВ [11]. Продукты метаболизма микробного сообщества ризосферы, колонизирующего свежее дискретное ОВ (ядро микроагрегата), поступающее из корневых и растительных остатков, выступают в качестве пропитки/клея, придавая микроагрегату стабильность.

Выявленные структурные изменения ОВ при переходе от свободного (LФ<sub>СВ</sub>) к агрегированному (LФ<sub>АГР</sub>) свидетельствуют об активной деполимеризации лигнина именно в агрегированном ОВ внутри микроагрегатов, то есть именно внутри микроагрегатов (мВСА) инициируется процесс активной трансформации вновь поступившего органического материала [11]. Это согласуется с литературными данными о селективном накоплении лигнина и продуктов типа лигнина, пре-

имущественно, в агрегированном ОВ [23]. Интегральные показатели химической структуры свидетельствуют о большей степени трансформации LФ<sub>АГР</sub> по сравнению с LФ<sub>СВ</sub>: 0.56 против 0.49 (DI – индекс разложения ОВ), 0.50 против 0.35 (ARI – индекс ароматичности ОВ) и 0.81 против 0.61 (HI – индекс гидрофобности ОВ), соответственно [4]. Это подтверждается и более тяжелой изотопной сигнатурой LФ<sub>АГР</sub> по сравнению с таковой LФ<sub>СВ</sub> (–26.62 против –26.78‰ соответственно).

Глинистые частицы (ил) – минеральный компонент микроагрегатов внутри макроагрегатов (мВСА) – обеспечивают физическую защиту ОВ [14], а также являются минеральной матрицей, на которую продукты микробного разложения LФ<sub>АГР</sub> быстро адсорбируются и стабилизируются. Микроскопические исследования с применением техники USAXS продемонстрировали, что сохранение ОВ является результатом инкапсуляции свежего ОВ минералами в процессе формирования и эволюции микроагрегатов [34].

Следует отметить, что в современных моделях образования агрегатов неустойчивым (в УЗ-поле) микроагрегатам внутри структурных отдельностей (мВСА) придается особую важность [10, 20, 25, 27, 36, 41, 42]. Наши исследования полностью поддерживают эту точку зрения, более того, полагаем, что неустойчивые микроагрегаты (50–250 мкм), состоящие из LФ<sub>АГР</sub> (ядро) и частиц глины (инкрустируют ядро), могут рассматриваться как *центры агрегации* почвенной массы [2, 11]. Основными аргументами в пользу этого предположения являются:

1) относительно небольшое внутреннее пространство микроагрегата обеспечивает близость микробного сообщества, источника ОВ и мине-

ральной матрицы, на которую могут адсорбироваться продукты разложения ОВ;

2) максимально наблюдаемое обогащение органического ядра ( $ЛФ_{АГР}$ ) микроагрегата продуктами деполимеризации лигнина предполагает высокую интенсивность процессов разложения ОВ, и соответственно высокую продуктивность адгезионных фрагментов/веществ;

3) максимально наблюдаемое обогащение минерального компонента микроагрегата (ил) полипептидами и липидами микробного происхождения, то есть максимально наблюдаемое количество микробной биомассы и продуктов метаболизма, позволяет предполагать, что вероятность локализации биологически активных зон, так называемых “hotspots” микробиологической активности внутри микроагрегата, очень высока, если не максимальна;

4) неустойчивые микроагрегаты стабилизируют большую часть С структурных отдельностей.

Следовательно, весьма вероятно, что “hotspots” структурообразующей активности (по аналогии с “hotspots” микробиологической активности) локализованы, в основном, именно внутри неустойчивых (крупных) микроагрегатов (мВСА). Это согласуется с мнением авторов [34], которые называют микроагрегаты внутри макроагрегатов инкубаторами.

Следуя концептуальной модели Гольчина с соавт. [25], в силу того, что разложение ОВ происходит внутри мВСА, по мере уменьшения в их ядре ( $ЛФ_{АГР}$ ) привлекательного для микробиоты биологического материала, в нем будет накапливаться все более устойчивый к биодegradации органический материал, микробная активность будет замедляться, соответственно, будет снижаться выработка клеящих и стабилизирующих веществ; микроагрегаты будут терять стабильность [22]. В итоге это приведет к их дезинтеграции, при этом часть их останется в пуле крупных 50–250 мкм мВСА (рис. 7), и при условии неполной потери ими энергетически привлекательного гидрофильного органического материала, далее они смогут участвовать в новом цикле образования крупных мВСА [11].

Фрагменты разрушенных неустойчивых (в УЗ-поле) микроагрегатов (мВСА), практически потерявшие свое органическое ядро в процессе биологического разложения (преимущественно, пылеватого размера), пополнят пул мелких (устойчивых в УЗ-поле) микроагрегатов (остаток) внутри макроагрегатов. Поэтому можно предполагать, что устойчивые в УЗ-поле микроагрегаты — это, преимущественно, минеральные “корки” разрушенных мВСА, пропитанные микробными продуктами [44].

**Свободные микроагрегаты** — это части дезинтегрированных макроагрегатов; оснований в пользу

гипотезы их образования внутри макроагрегата, как специфического процесса, не обнаружили. Основными доводами в пользу этого являются: 1) практически одинаковый, исключая  $ЛФ_{СВ}$ , компонентный состав; 2) близкий количественный и качественный состав ОВ, включая химическую структуру; 3) очень высокая вероятность прямого потока С из макро- в свободные микроагрегаты; 4) одинаковый размер илистых частиц, инкрустирующих органическое ядро (~400 нм) мВСА; 5) большая степень выраженности негативных изменений количества и качества ОВ в  $ВСА_{ми}$  в варианте пар, обусловленная высвобождением ОВ, ранее защищенного в составе  $ВСА_{ма}$  при их разрушении, и соответственно, увеличением его доступности для микробиоты. Таким образом, свободные микроагрегаты состоят из мВСА и межмикроагрегатной массы (фракция остатка), унаследованных от макроагрегатов.

Предельно низкие количества макроагрегатов (<0.3% массы воздушно-сухих агрегатов 2–1 мм) в варианте пар (в течение 52 лет), свидетельствующее об их практически полном разрушении [8], связываем с малыми размерами мВСА внутри макроагрегатов и количеством ОВ, стабилизированного в них (как в органическом ядре, так и в илистых частицах, инкрустирующих его), предельной степенью зрелости ОВ, его высокой гидрофобностью и увеличением доли минеральной матрицы, истощенной в ОВ [5]. Все это негативно сказывается на продуцировании связующих агентов микробиотой, что приводит к ослаблению связей внутри макроагрегатов и их стремительному разрушению. Теоретически в почве могут остаться только свободные микроагрегаты [25]. Однако фактически это вряд ли возможно, так как поступление свежего ОВ растительного происхождения, наряду с биологическим материалом, имеет место, хотя количественно совершенно неадекватное и спорадическое, за счет, в том числе, эолового заноса, а также зоохории.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведенные исследования изотопного состава С пулов ОВ в водоустойчивых макро- и свободных микроагрегатах типичного чернозема позволили количественно оценить потоки С в системе агрегат/пул ОВ. Концептуальная схема демонстрирует, что основные потоки С в пулах ОВ идут от свободного ОВ ( $ЛФ_{СВ}$ ) к фракции остатка через микроагрегаты внутри структурных отдельностей (мВСА). Выявлено, что фракционирование  $^{13}C$  на отдельных этапах формирования пулов ОВ является относительно постоянным, независимо от уровня структурной организации.

Свободное ОВ ( $L\Phi_{CB}$ ) – отправная точка потока С растительного происхождения в структурные отдельности, о чем свидетельствует его изотопная сигнатура, в наибольшей степени приближенная к таковой растительности.

Агрегированное ОВ ( $L\Phi_{AGR}$ ) – продукт фрагментации/гумификации свободного ОВ почвы, один из двух основных компонентов мВСА. Для данного пула ОВ характерна значительная степень деградации и фрагментации растительных остатков, что является необходимым условием для преобразования  $L\Phi_{CB}$  в  $L\Phi_{AGR}$ , поскольку только частично биологически переработанные и фрагментированные (до размера  $\leq 100$  мкм) частицы органического материала могут быть инкапсулированы глинистыми частицами. Большая по сравнению с  $L\Phi_{CB}$  степень микробиологической переработки органических материалов в  $L\Phi_{AGR}$  находит отражение в его более тяжелом изотопном составе С.

Органо-глинистые комплексы (ил) – это продукты микробного разложения  $L\Phi_{AGR}$ , которые, наряду с белковыми структурами, адсорбируются на глинистых частицах. Ил в наибольшей степени обогащен  $^{13}C$  среди всех исследованных пулов ОВ.

$L\Phi_{AGR}$  и ил – это компоненты неустойчивых в УЗ-поле микроагрегатов (мВСА), образующихся внутри макроагрегатов *одновременно* с первичным капсулированием свежего ОВ. Размеры такого рода микроагрегатов колеблются в пределах 50–250 мкм, они неустойчивы к ультразвуковому воздействию, однако обладают водостойкостью.

Микроагрегаты внутри структурных отдельностей (мВСА) играют важнейшую роль в структурообразовании и стабилизации С в средне- и долгосрочной перспективе. Именно внутри мВСА инициируется процесс трансформации вновь поступившего органического материала, в частности, активной деполимеризации лигнина. Поэтому неустойчивые микроагрегаты (мВСА) можно рассматривать как центры агрегирования почвенной массы (“hotspots” структурообразующей активности).

Фракция остатка – это межмикроагрегатная масса, заполняющая внутренний объем макроагрегата между мВСА. Содержит устойчивые в УЗ-поле микроагрегаты размером 50–1 мкм с незначительной примесью наиболее трудно разлагаемых гидрофобных фрагментов ОВ растительного происхождения, а также углеподобные вещества. Устойчивые в УЗ-поле микроагрегаты – это части/осколки разрушенных неустойчивых (в УЗ-поле) микроагрегатов (мВСА), практически утративших свое органическое ядро ( $L\Phi_{AGR}$ ). Во фракции остатка накапливается наиболее стабильное (инертное) ОВ. Тем не менее, изотопная

сигнатура фракции остаток несколько легче таковой илистой фракции, по-видимому, за счет присутствия труднорастворимых гидрофобных фрагментов ОВ растительного происхождения с легким изотопным составом.

Свободные микроагрегаты – это части дезинтегрированных макроагрегатов; оснований в пользу гипотезы их образования внутри макроагрегатов, как специфического процесса, не обнаружено. Таким образом, свободные микроагрегаты состоят из мВСА и межмикроагрегатной массы (фракция остатка), унаследованных от макроагрегатов.

И в макро-, и в свободных микроагрегатах имеется лабильное ОВ (в составе мВСА, наряду с  $L\Phi_{CB}$  (только в макроагрегатах)) и стабильное ОВ (остаток). Компоненты мВСА внутри ВСА<sub>ми</sub> в большей степени физически защищены по сравнению с таковыми внутри ВСА<sub>ма</sub> (более легкой изотопный состав), что, по-видимому, является следствием меньшего размера мВСА внутри ВСА<sub>ми</sub>. Однако наиболее стабильный пул ОВ, сосредоточенный во фракции остатка внутри ВСА<sub>ми</sub>, характеризуется большей степенью микробиологической переработки (обогащенность  $^{13}C$ ) по сравнению с таковой в ВСА<sub>ма</sub>. Учитывая, что фракция остатка определяет общий изотопный состав С в ВСА, общий изотопный состав С в свободных микроагрегатах (ВСА<sub>ми</sub>) более тяжелый по сравнению с таковым макроагрегатов. Таким образом, снято противоречие между общепринятым мнением об увеличении устойчивости структурных отдельностей по мере уменьшения их размера (увеличение степени физической защиты ОВ) и хорошо установленным фактом увеличения степени обогащенности  $^{13}C$  по мере уменьшения размера структурных отдельностей (большая степень микробиологической переработки ОВ).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследования проведены 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. *Артемова З.С.* Органические и органо-глинистые комплексы агрогенно-деградированных почв. Автореф. дис. ... докт. биол. н. М., 2008. 48 с.

2. *Артемьева З.С.* Органическое вещество и гранулометрическая система почвы. М.: ГЕОС, 2010. 240 с.
3. *Артемьева З.С., Данченко Н.Н., Зазовская Э.П., Колягин Ю.Г., Кириллова Н.П., Козут Б.М.* Изотопный состав углерода и химическая структура органического вещества типичного чернозема в условиях контрастного землепользования // Почвоведение. 2021. № 6. С. 686–700. <https://doi.org/10.31857/S0032180X21060034>
4. *Артемьева З.С., Данченко Н.Н., Колягин Ю.Г., Кириллова Н.П., Цомаева Е.В., Козут Б.М.* Химическая структура органического вещества водостойчивых структурных отдельностей типичного чернозема в условиях контрастного землепользования: твердотельная CP-MAS <sup>13</sup>C-ЯМР-спектроскопия // Почвоведение. 2022. № 6. С. 161–170. <https://doi.org/10.31857/S0032180X2206003X>
5. *Артемьева З.С., Зазовская Э.П., Варламов Е.Б., Засухина Е.С., Цомаева Е.В., Козут Б.М.* Органическое вещество водостойчивых макро- и микроагрегатов типичного чернозема в контрастных вариантах землепользования // Агрохимия. 2022. № 10. С. 3–14. <https://doi.org/10.31857/S0002188122100039>
6. *Артемьева З.С., Кириллова Н.П.* Роль продуктов органо-минерального взаимодействия в структурообразовании и гумусообразовании основных типов почв Центра Русской равнины // Бюл. Почв. ин-та им. В. В. Докучаева. 2017. № 90. С. 73–95. <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2017-90-73-95>
7. Классификация и диагностика почв СССР. М.: Колос, 1977. 223 с.
8. *Козут Б.М., Артемьева 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>
9. *Angers D.A., Giroux M.* Recently deposited organic matter in soil water-stable aggregates // Soil Sci. Soc. Am. J. 1996. V. 60. P. 1547–1551. <https://doi.org/10.2136/sssaj1996.03615995006000050037x>
10. *Angers D.A., Recous S., Aita C.* Fate of carbon and nitrogen in water-stable aggregates during decomposition of <sup>13</sup>C <sup>15</sup>N-labelled wheat straw in situ // Eur. J. Soil Sci. 1997. V. 48. P. 295–300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1997.tb00549.x>
11. *Artemyeva Z., Danchenko N., Kolyagin Yu., Kirillova N., Kogut B.* Chemical structure of soil organic matter and its role in aggregate formation in Haplic Chernozem under the contrasting land use variants // Catena. 2021. V. 204. P. 105403. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2021.105403>
12. *Atere C.T., Gunina A., Zhu Z., Xiao M., Liu Sh., Kuzyakov Y., Chen L., Deng Y., Wu J., Ge T.* Organic matter stabilization in aggregates and density fractions in paddy soil depending on long-term fertilization: Tracing of pathways by <sup>13</sup>C natural abundance // Soil Biol. Biochem. 2020. V. 149. P. 107931. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107931>
13. *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>
14. *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)
15. *Balesdent J.* Soil organic matter dynamics and isotopic studies // Mineralogical Magazine. 1998. V. 62A. <https://doi.org/10.1180/MINMAG.1998.62A.1.52>
16. *Balesdent J., Mariotti A.* Measurement of soil organic matter turnover using <sup>13</sup>C natural abundance // Mass Spectrometry of Soils. N.Y.: Marcel Dekker, 1996. P. 83–111.
17. *Balesdent J., Besnard E., Arrouays D., Chenu C.* The dynamics of carbon in particle-size fractions of soil in a forest-cultivation sequence // Plant and Soil. 1998. V. 201. P. 49–57. <https://doi.org/10.1023/A:1004337314970>
18. *Chenu C., Stotzky G.* Interactions between microorganisms and soil particles: An overview // Interactions between Soil Particles and Microorganisms – Impact on the Terrestrial Ecosystem. Chichester: John Wiley & Sons, 2002. P. 3–39.
19. *Christensen B.T.* Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates // Adv. Soil Sci. 1992. V. 20. P. 1–89. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2930-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2930-8_1)
20. *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 // Biochem. 2007. V. 85. P. 69–90. <https://doi.org/10.1007/s10533-007-9100-8>
21. *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>
22. *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>
23. *Golchin A., Oades J.M., Skjemstad J.O., Clarke P.* Soil structure and carbon cycling // Aust. J. Soil Res. 1994. V. 32. P. 1043–1068. <https://doi.org/10.1071/SR9941043>
24. *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>
25. *Golchin A., Baldock J.A., Oades J.M.* A model linking organic matter decomposition, chemistry, and aggregate dynamic // Soil Processes and the Carbon Cycle. Fl.: Boca Raton, 1998. P. 245–266.
26. *Gunina A., Kuzyakov Y.* Pathways of litter C by formation of aggregates and SOM density fractions: implications from <sup>13</sup>C natural abundance // Soil Biol. Biochem. 2014. V. 71. P. 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.01.011>

27. *Jastrow J.D.* Soil aggregate formation and the accrual of particulate and mineral associated organic matter // *Soil Biol. Biochem.* 1996. V. 28. P. 656–676. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00159-X](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00159-X)
28. *Jastrow J.D., Miller R.M.* Soil aggregate stabilization and carbon sequestration: feedbacks through organomineral associations // *Soil Processes and the Carbon Cycle*. Fl.: Boca Raton, 1998. P. 207–223.
29. *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>
30. *Lehmann J., Kinyangi J., Solomon D.* Organic matter stabilization in soil microaggregates: implications from spatial heterogeneity of organic carbon contents and carbon forms // *Biogeochem.* 2007. V. 85. P. 45–57. <https://doi.org/10.1007/s10533-007-9105-3>
31. *Lehmann J., Kleber M.* The contentious nature of soil organic matter // *Nature*. 2015. V. 528. P. 60–68. <https://doi.org/10.1038/nature16069>
32. *Liu Y., Hu C., Hu W., Wang L., Li Z., Pan J., Chen F.* Stable isotope fractionation provides information on carbon dynamics in soil aggregates subjected to different long-term fertilization practices // *Soil Till. Res.* 2018. V. 177. P. 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.still.2017.11.016>
33. *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  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  in density fractions // *Eur. J. Forest Res.* 2010. V. 129. P. 1143–1153. <https://doi.org/10.1007/s10342-010-0402-3>
34. *McCarthy J.F., Ilavsky J., Jastrow J.D., Mayer L.M., Perfect E., Zhuang J.* Protection of organic carbon in soil microaggregates via restructuring of aggregate porosity and filling of pores with accumulating organic matter // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 2008. V. 72. P. 4725–4744. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2008.06.015>
35. *Menichetti L., Houot S., van Oort F., Kätterer T., Christensen B.T., Chenu C., Barre 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. <https://doi.org/10.1007/s00442-014-3114-4>
36. *Oades J.M.* Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management // *Plant and Soil*. 1984. V. 76. P. 319–337. <https://doi.org/10.1007/BF02205590>
37. *Oades J.M., Waters A.G.* Aggregate hierarchy in soils // *Aust. J. Soil Res.* 1991. V. 29. P. 815–828. <https://doi.org/10.1071/SR9910815>
38. *O'Brien S.L., Jastrow J.D.* Physical and chemical protection in hierarchical soil aggregates regulates soil carbon and nitrogen recovery in restored perennial grasslands // *Soil Biol. Biochem.* 2013. V. 61. P. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.01.031>
39. *O'Leary M.H.* Carbon isotope fractionation in plants // *Phytochemistry*. 1981. V. 20. P. 552–567. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)85134-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)85134-5)
40. *Pinheiro M., Garnier P., Beguet J., Martin-Laurent F., Vieuble-Gonod L.* The millimetre-scale distribution of 2,4-D and its degraders drives the fate of 2,4-D at the soil core scale // *Soil Biol. Biochem.* 2015. V. 88. P. 90–100. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.05.008>
41. *Puget P., Chenu C., Balesdent J.* Dynamics of soil organic matter associated with particle-size fractions of water-stable aggregates // *Eur. J. Soil Sci.* 2000. V. 51. P. 595–605. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2000.00353.x>
42. *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>
43. *Six J., Conant R.T., Paul E.A., Paustian K.* Stabilization mechanisms of soil organic matter: implications for c-saturation of soils // *Plant Soil*. 2002. V. 241. P. 155–176. <https://doi.org/10.1023/A:1016125726789>
44. *Six J., Bossuyt H., Degryze S., Denef K.* A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics // *Soil Tillage Res.* 2004. V. 79. P. 7–31. <https://doi.org/10.1016/j.still.2004.03.008>
45. *Sollins P., Swanston C., Kramer M.* Stabilization and destabilization of soil organic matter – a new focus // *Biogeochem.* 2007. V. 85. P. 1–7. <https://doi.org/10.1007/s10533-007-9099-x>
46. *Sollins P., Kramer M., Swanston C., Lajtha K., Filley T., Aufdenkampe A., Wagai R., Bowden R.* Sequential density fractionation across soils of contrasting mineralogy: evidence for both microbial- and mineral-controlled soil organic matter stabilization // *Biogeochem.* 2009. V. 96. P. 209–231. <https://doi.org/10.1007/s10533-009-9359-z>
47. *Solomon D., Lehmann J., Harden J., Wang J., Kinyangi J., Heymann K., Karunakaran C., Lu Y., Wirrick S., Jacobson C.* Micro- and nano-environments of carbon sequestration: Multi-element STXM-NEXAFS spectroscopy assessment of microbial carbon and mineral associations // *Chem. Geol.* 2012. V. 329. P. 53–73. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2012.02.002>
48. *Tisdall J.M.* Formation of soil aggregates and accumulation of soil organic matter // *Structure and Organic Matter Storage in Agricultural Soils*. Fl.: Boca Raton, 1996. P. 57–96.
49. *Tisdall J.M., Oades J.M.* Organic matter and water-stable aggregates in soils // *J. Soil Sci.* 1982. V. 33. P. 141–163. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1982.tb01755.x>
50. *Wagai R., Mayer L.M., Kitayama K.* Nature of the “occluded” low-density fraction in soil organic matter studies: A critical review // *Soil Sci. Plant Nutr.* 2009. V. 55. P. 13–25. <https://doi.org/10.1007/s10533-009-9359-z>
51. *Werth M., Kuz'yakov Y.*  $^{13}\text{C}$  fractionation at the root-microorganisms-soil interface: a review and outlook for partitioning studies // *Soil Biol. Biochem.* 2010. V. 42(9). P. 1372–1384. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.04.009>
52. World reference base for soil resources 2014. A framework for international classification, correlation and communication, *World Soil Resource Report 106*. FAO. Rome, 2014. 181 p.
53. *Young I.M., Crawford J.W., Nunan N., Otten W., Spiers A.* Microbial distribution in soils: physics and scaling // *Adv. Agronomy*. 2009. V. 100. P. 81–121. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)00604-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)00604-4)

## Natural $^{13}\text{C}$ Abundance of Organic Matter in Water-Stable Aggregates of Haplic Chernozem under Conditions of Contrasting Land Uses

Z. S. Artemyeva<sup>1, \*</sup>, E. P. Zazovskaya<sup>2</sup>, E. S. Zasukhina<sup>3</sup>, and E. V. Tsomaeva<sup>1</sup>

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

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

<sup>3</sup>Federal Research Center "Computer Science and Control" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119333 Russia

\*e-mail: artemyevazs@mail.ru

Natural  $^{13}\text{C}$  abundance of different organic matter (OM) pools in water-stable macro- and free microaggregates of Haplic Chernozem in contrasting land use variants (steppe and long-term bare fallow) are described. Fractionation of  $^{13}\text{C}$  at certain stages of the formation of OM pools is relatively constant, regardless of the level of structural organization. This is demonstrated by the presented conceptual scheme, which allows one to quantify the fluxes of carbon (C) in the system of aggregate/OM pool. It was revealed that the main C fluxes in the OM pools go from the free OM ( $\text{LF}_{\text{fr}}$ ) to the Residue fraction through microaggregates within water-stable aggregates (mWSA), the components of which are the occluded OM ( $\text{LF}_{\text{occ}}$ ) and the Clay. With a high degree of probability, C flows from macroaggregates ( $\text{WSA}_{\text{ma}}$ ) to free microaggregates ( $\text{WSA}_{\text{mi}}$ ). At the same time, the higher probability of the C flux into the Residue from the mWSA as compared to the direct C fluxes from the  $\text{LF}_{\text{occ}}$  and the Clay, testifies in favor of the hypothesis that the Residue is represented, to a large extent, by parts/fragments of disintegrated mWSAs of 50–1  $\mu\text{m}$  in size. Regardless of the size, the WSA contains a labile OM (as the components of mWSA, along with  $\text{LF}_{\text{fr}}$  — only in macroaggregates) and a stable OM (Residue). Labile OM ( $\text{LF}_{\text{occ}}$  and Clay) within  $\text{WSA}_{\text{mi}}$  is characterized by a lower degree of microbial processing ("lighter" isotopic signature) compared to that within  $\text{WSA}_{\text{ma}}$ , which is due to its greater "physical" protection against microbial attacks. However, the most stable OM pool, concentrated in the Residue within  $\text{WSA}_{\text{mi}}$  is enriched in  $^{13}\text{C}$  compared to that within  $\text{WSA}_{\text{ma}}$ . Considering that the Residue determines the total isotopic composition of C in WSA, the organic matter of free microaggregates is characterized by a higher degree of microbial processing in comparison with that of macroaggregates. Free microaggregates are parts of disintegrated macroaggregates.

*Keywords:* water-stable structure, granulo-densi to metric fractionation, carbon stabilization, carbon fluxes,  $\delta^{13}\text{C}$