

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
ФАКУЛЬТЕТ ПОЧВОВЕДЕНИЯ

На правах рукописи

Анохина Наталья Александровна

Биогенные углеводороды в почвах парковых зон города Москвы

03.02.13 – почвоведение, 03.02.08 - экология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:
кандидат биологических наук
Завгородняя Ю.А.
кандидат биологических наук, доцент
Демин В.В.

Москва
2020

Содержание

Список сокращений и условных обозначений.....	4
Введение.....	5
Глава 1. Литературный обзор.....	9
1.1. Источники поступления биогенных углеводов в почву.	9
1.1.1 Углеводы растительного происхождения	9
1.1.2. Микроорганизмы, продуцирующие углеводы.....	16
1.2 . Взаимодействие и трансформация алканов	19
1.3. Сорбция алканов в почве.....	26
1.4. Круговорот углерода в лесных экосистемах и его пулы	31
Глава 2. Объекты и методы.....	37
2.1 Исследование сезонных изменений скоростей трансформации органического вещества в почвах под широколиственными растительными сообществами.	37
2.2 Оптимизация методики выделения <i>n</i> -алканов и <i>n</i> -метил-кетонов из проб почв и подстилок.....	38
2.3 Анализ проб методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии. ...	42
2.4 Исследование состава и содержания <i>n</i> -алканов и <i>n</i> -метил-кетонов в профиле почв под широколиственными фитоценозами.	43
2.5 Исследование сезонных изменений липидного комплекса верхних горизонтов почв под липняками.....	46
2.6 Исследование сезонных изменений липидного комплекса верхних горизонтов почв под различными широколиственными фитоценозами.	49
2.7 Выделение водопрочных агрегатов из образцов почв.	52
2.8 Анализ проб.	52
2.9 Расчет показателей.....	52
Глава 3. Результаты и обсуждение.....	54
3.1 Исследование сезонных изменений скоростей трансформации органического вещества в почвах под широколиственными растительными сообществами.	54
3.2 Оптимизация методики выделения <i>n</i> -алканов и <i>n</i> -метил-кетонов из проб почв и подстилок.....	56

3.3 Исследование состава и содержания <i>n</i> -алканов и <i>n</i> -метил-кетонов в профиле почв под широколиственными фитоценозами.....	64
3.4 Исследование сезонных изменений липидного комплекса верхних горизонтов почв под липяками.....	71
3.5 Исследование сезонных изменений липидного комплекса верхних горизонтов почв под различными широколиственными фитоценозами.	77
Заключение	105
Выводы	106
Список литературы	109
Приложение А	123

Список сокращений и условных обозначений

- C - углерод
- C_{общ} - общий углерод
- C_{орг} - органический углерод
- N - азот
- C/N - отношение углерода к азоту
- ЖК - жирные кислоты
- ОВ – органическое вещество
- БКК – бензолкарбоновые кислоты
- ASE – метод ускоренной автоматической экстракции растворителями
- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
- ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием
- m/z – отношение массы иона к его заряду
- LSR -long-short ratio (соотношение *n*-алканов с длиной цепи >25 углеродных атома к *n*-алканам с длиной углеродной цепи <25 атомов)
- OEP - odd-over-even predominance (коэффициент преобладания нечетных *n*-алканов с длиной углеродной цепи 25-33 атомов на четными *n*-алканами с длиной углеродной цепи 24-32 атома)
- C₂₉/C₃₁- отношение *n*-алкана с длиной углеродной цепи 29 атомов к *n*-алкану с длиной углеродной цепи 31 атом
- A/K – отношение суммарного содержания *n*-алканов к суммарному содержанию *n*-метил-кетонов
- «Л.О.» - образцы, отобранные в национальной парке «Лосиный остров»
- «В.Г.» - образцы, отобранные в лесопарке на Воробьевых горах

Введение

Актуальность проблемы. Исследование факторов, влияющих на устойчивость пула органических веществ почвы – главного резервуара $C_{\text{орг}}$ в биосфере (Batjes, 2014) - требует изучения всех аспектов поведения в почвах разных классов органических соединений. Некоторые образующиеся в результате биосинтеза молекулы, могут служить биомаркерами – соединениями, наблюдая за которыми можно получить информацию о процессах формирования и трансформации органических веществ в почве. Алифатические углеводороды с длиной углеродной цепи от 16 до 34 атомов, несмотря на их невысокое содержание в составе органического вещества (ОВ) почв (Kögel-Knabner, 2002), представляются удобными соединениями для исследования углеродного цикла. *n*-Алканы относятся к наиболее гидрофобным органическим молекулам липидной фракции почвы, что позволяет им связываться в прочные комплексы с твердыми фазами почвы и ограничивает их миграцию в растворах из-за низкой растворимости в воде. Являясь продуктами биогенного синтеза, *n*-алканы не образуются в почве при внутри- и внеклеточной деградации органических соединений. Таким образом, распределение в почве и сезонные изменения гомологического состава алканов могут отражать локализацию и динамику трансформации и стабилизации ОВ с момента поступления в почву (Zech et al., 2012). Одним из промежуточных окисленных продуктов постмортальной биodeградации *n*-алканов являются *n*-метил-кетоны, отсутствующие в живых клетках растений (Anokhina et al., 2018). По степени гидрофобности алифатические кетоны близки к алканам, что определяет сходное с ними поведение в почве и также может быть использовано для оценки интенсивности деструкции липидов в почве.

Объект и предмет исследования. В настоящей работе предметом изучения являлся характеристический спектр углеводородов биогенного происхождения. Объекты исследования: почвы парковых широколиственных сообществ г. Москвы (дерново-подзолистая и темно-гумусовая), опад

широколиственных растительных сообществ, зеленые и пожелтевшие листья *Acer platanoides* и *Tilia cordata*, надземная и корневая биомасса *Carex pilosa*.

Цель работы – исследование динамики содержания и состава алифатических соединений липидов в почвах под широколиственными растительными сообществами на территории города Москвы.

Задачи исследования:

1) Произвести подбор оптимальных условий для одновременной эффективной экстракции из подстилок и верхних горизонтов почв алифатических соединений почвенных липидов - *n*-алканов и *n*-метил-кетонов

2) Исследовать качественный и количественный состав алифатических компонентов липидной фракции в профиле почвы под широколиственным растительным сообществом.

3) Изучить сезонные изменения в содержании и гомологическом составе *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в верхних горизонтах почв под листопадными фитоценозами.

4) Оценить вклад различных источников природных липидов в формирования гомологического состава линейных углеводородов в верхних горизонтах почв под листопадными фитоценозами.

Научная новизна. Предложена усовершенствованная методика определения *n*-алканов и *n*-метил-кетонов из одной навески проб подстилок и почв. Впервые изучена сезонная динамика содержания биогенных углеводородов в почвах листопадных сообществ городских лесопарков. Впервые получены данные по профильному распределению содержания *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в почвах.

Практическая значимость работы. Распределение в почве и сезонные изменения гомологического состава алканов отражают локализацию и динамику трансформации и стабилизации гидрофобной фракции почвенного органического вещества, изучение которой является ключом для понимания механизмов взаимодействия и прогнозирования

времени пребывания различных органических соединений в почвах, в том числе гидрофобных поллютантов.

Положения, выносимые на защиту.

1) Использование градиентной экстракции растворителями различной полярности необходимо при проведении количественных исследований липидного комплекса почв, так как обеспечивает более эффективное извлечение из минеральных и органогенных горизонтов алифатических соединений почвенных липидов с длиной углеродной цепи $>C_{25}$.

2) В гомологическом составе линейных алканов верхних гумусовых горизонтов дерново-подзолистой почвы под широколиственным растительным сообществом абсолютно доминируют нечетные соединения с длиной цепи $C_{25}-C_{33}$, основным источником которых в почве являются эпителикулярные воска растений. В элювиальном и иллювиальном горизонтах гомологический состав *n*-алканов определяется наличием липидов микробной биомассы и корней.

3) В гумусовых горизонтах почв под листопадными фитоценозами происходят количественные и качественные сезонные изменения в липидном составе. Фракция липидов в зрелых почвах характеризуется выраженными сезонными изменениями в гомологическом составе *n*-алканов при незначительных колебаниях их количественного содержания. Для молодых почв в годовом цикле количественные изменения содержания *n*-алканов более существенны, в то время как гомологический состав меняется слабо.

4) Продукты микробиологического окисления *n*-алканов – 2-метилкетоны – являются более чувствительным показателем процессов трансформации липидного комплекса, протекающих в почве, по сравнению линейными алканами.

Личный вклад автора. Автором осуществлялась постановка проблемы и методическая разработка путей ее решения, планирование и проведение экспериментальных работ, обработка, систематизация и интерпретация полученных данных, апробация и публикация результатов.

Все аналитические измерения, обработка данных и подготовка проб проводились самим автором или при его непосредственном участии.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на конференциях: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2014, 2016); Международная научная конференция Докучаевские молодежные чтения (Санкт-Петербург, 2015, 2017), Лесные почвы и функционирование лесных экосистем. Всероссийская научная конференция с международным участием (Москва, 2019). Предзащита состоялась на кафедре химии почв 17.05.2019.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в список Scopus, Web of Science, RSCI, рекомендованных к защите в МГУ.

Объем и структура диссертации. Диссертация включает введение, обзор литературы, описание объектов и методов исследования, обсуждение экспериментальных результатов, выводы, список литературы, приложения. Материалы диссертации изложены на 124 страницах, содержат 13 таблиц, 37 рисунков. Список литературы включает 128 наименований, в том числе 97 англоязычных.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность своим научным руководителям за неоценимую помощь, терпение и неиссякаемый источник вдохновения, а также семье, друзьям и коллегам за понимание и поддержку. Отдельное спасибо хочется сказать школьным учителям за помощь в подготовке к олимпиадам, Омской ОблСЮН за первые шаги в области почвоведения и, конечно, преподавателям родного факультета за все полученные знания и навыки.

Глава 1. Литературный обзор

1.1. Источники поступления биогенных углеводов в почву.

В литературе описаны сведения о важной роли липидов в формировании почвенной структуры и плодородия. Они быстро реагируют на изменение внешних условий, являются источником энергии для микробиоты и представляют активное начало почвенного гумуса. Липиды могут служить индикатором интенсивности биохимических процессов в почвах, их содержание существенно влияет на водный и питательный режимы почв (Лодыгин, Безносиков, 2003).

n-Алканы составляют небольшую часть (до 2 мг/г C_{org}) почвенного липидного комплекса (Lehtonen, Ketola, 1993), в состав которого включают все вещества, извлекаемые из почвы органическими растворителями, но считаются характеристическими компонентами почвенных липидов. Липиды – гетерогенная группа органических соединений, которые определяют как нерастворимые в воде, но экстрагируемые неполярными растворителями. Основными источниками *n*-алканов в почвах являются надземные части растений, корневая и бактериальная биомасса (Avato et al., 1984; Bull et al., 2000; Jetter et al., 2006).

1.1.1 Углеводороды растительного происхождения

Длинноцепочечные *n*-алканы, C_{21} - C_{37} , синтезируются как часть эпителикулярных восков на листьях наземных растений (рис.1) и являются наиболее различимыми и широко используемыми растительными биомаркерами, поступающими на поверхность почвы с опадом (Luo et al., 2012; Bush, McInerney, 2013). Неразветвленные алканы с длинной цепью углеродных атомов обеспечивают гидрофобные свойства листовых восков и служат первичным барьером растений от внешних условий среды, защищая лист от потерь влаги путем транспирации (Jetter et al., 2006).

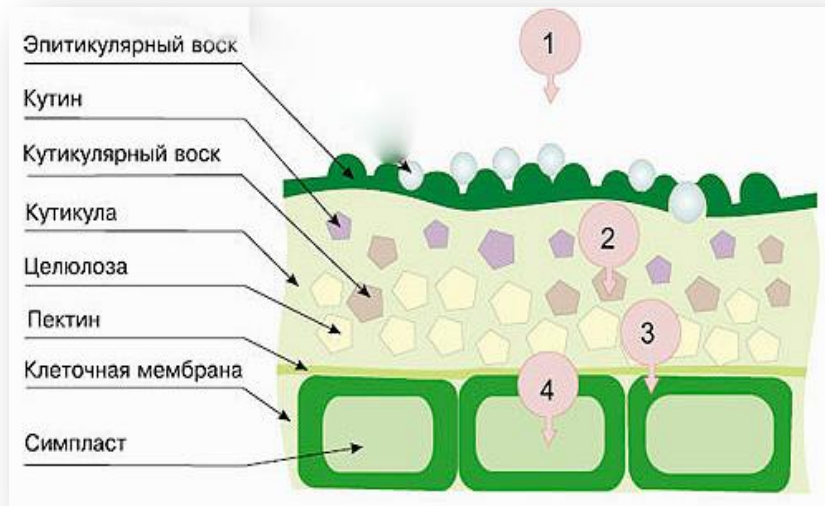


Рисунок 1. Строение растительной кутикулы

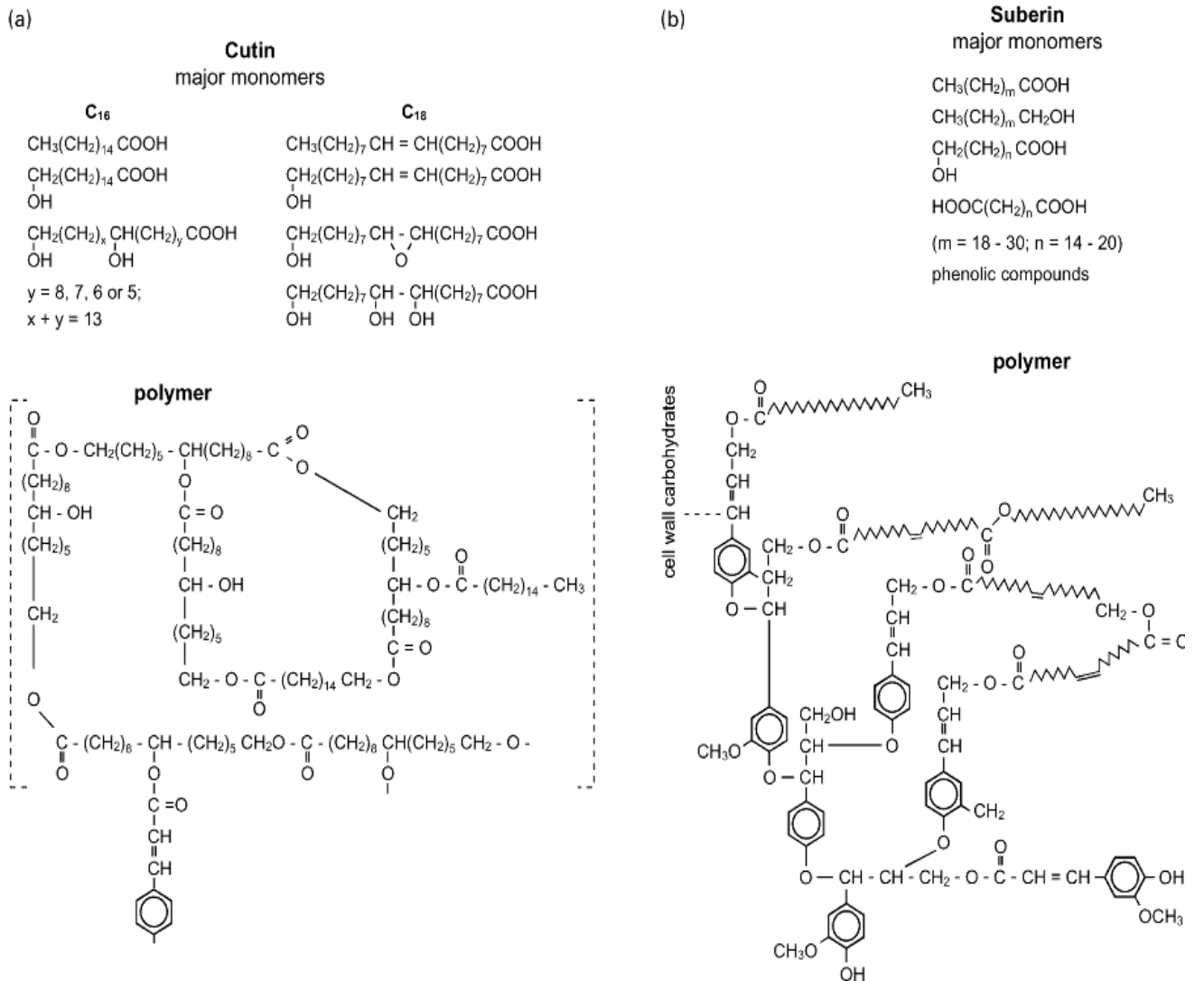


Рисунок 2. Мономеры и структура кутина (a) и суберина (b)

(Kogel-Knaber, 2002)

Растения имеют уникальный структурный компонент их наружной поверхности (кутикулы) – кутин, являющийся полимером гидроксигликолевых кислот. Раны растений покрыты другим типом липидов – производных полимерного материала суберина (рис. 2).

Суберины представляют собой глицерины феллоновой ($C_{22}H_{42}O_3$) и пробковой кислот ($C_8H_{14}O_4$), нерастворимы в воде и спирте. Кутины – смесь различных воскоподобных веществ. Кутин отлагается обычно в виде пленки, называемой кутикулой, на наружной поверхности клеток кожицы листьев и стебля. Нередко образуются, кроме того, в целлюлозной толще наружной стенки клеток кожицы тонкие прослойки кутина – кутикулярные слои. Благодаря стойкости кутина, кутикула хорошо сохраняется в палеонтологических остатках (Harwood, Russel, 1984).

На поверхности кутикулы растений такие липиды как кутин и суберин связаны с другими, менее полярными соединениями – восками. В листовых восках наземных растений преобладают *n*-алканы с длиной цепи C_{25} - C_{33} и значительным преобладанием нечетных соединений. Они локализируются в подстилке, а затем поступают в почву, где считаются наиболее устойчивым к деградации компонентом (Zech et al., 2012).

За исключением нескольких редких видов, воска не обнаружены во внутренних органах, а локализируются лишь на поверхности растения. Главные компоненты восков представлены в таблице 1. В целом большинство компонентов – неполярные молекулы с длинной углеводородной цепью. В зависимости от особенностей синтеза, молекулы могут быть четными или нечетными (Harwood, Russel, 1984).

**Таблица 1. Компоненты растительных восков
(Harwood, Russel, 1984)**

компонент	структура	распространение
<i>n</i> -алканы	$CH_3(CH_2)_nCH_3$	в большинстве растений; обычно

		доминируют C ₂₉ или C ₃₁
<i>изо</i> -алканы	CH ₃ CH(CH ₃)R	распространены реже, чем <i>n</i> -алканы; наиболее часто встречаются C ₂₇ , C ₂₉ , C ₃₁ , C ₃₃
кетоны	R ₁ COR ₂	реже <i>n</i> -алканов, в основном в низших растениях; C ₂₉ , C ₃₁
вторичные спирты	R ₁ CH(OH)R ₂	реже кетонов; C ₂₉ , C ₃₁
	CH ₃ CH(OH)R	в суберине, нечетные цепочки C ₉ - C ₁₅
β-дикетоны	R ₁ COCH ₂ COR ₂	минорные компоненты, C ₂₉ , C ₃₁ , C ₃₃
первичные спирты	RCH ₂ OH	в большинстве растений; четные цепочки C ₂₆ -C ₂₈
кислоты	RCOOH	широкое распространение; четные цепочки C ₂₄ -C ₂₈

Главные компоненты кутикулярных восков – углеводороды, кислоты, альдегиды, спирты и эфиры, - имеют длинную C-цепь, происходящую от жирных кислот (ЖК) (рис. 3).

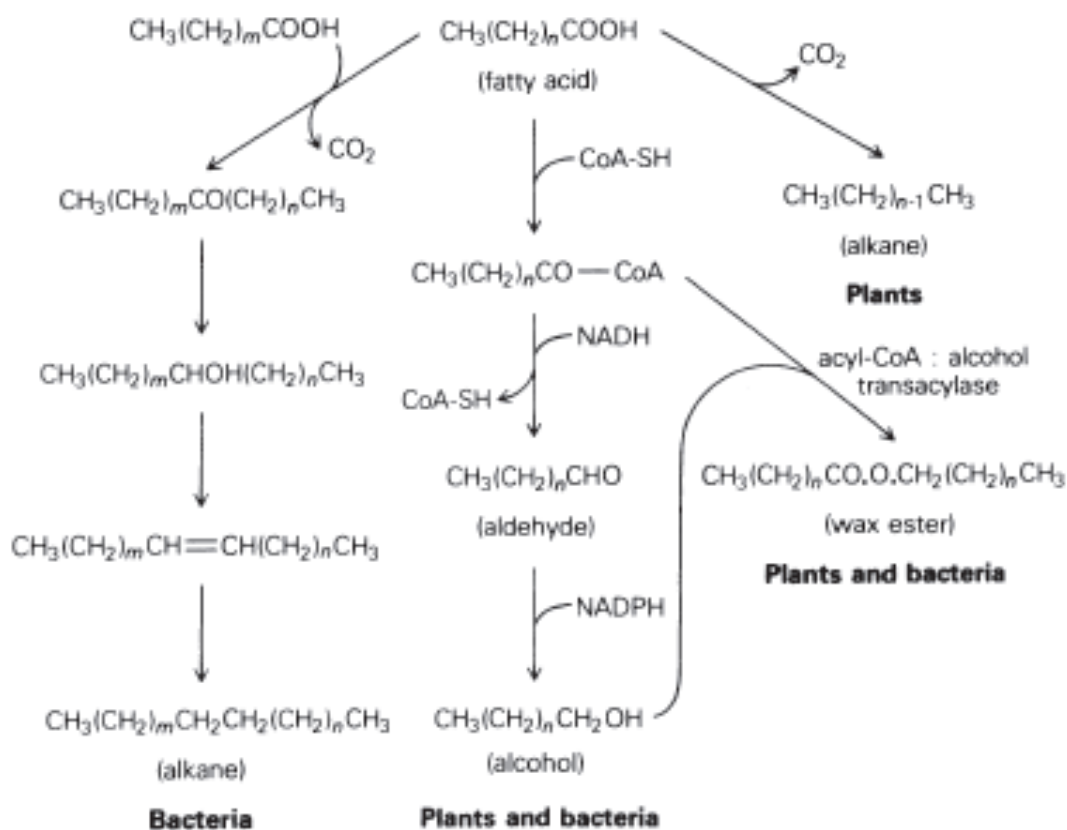


Рисунок 3. Биосинтез простых восков в растениях и бактериях (Harwood, Russel, 1984)

Более 50 ЖК были обнаружены в растениях и микроорганизмах, но только несколько из них играют заметную роль. Из-за особенностей синтеза множество ЖК являются насыщенными или ненасыщенными монокарбоновыми кислотами. Главным образом были обнаружены не свободные ЖК, а входящие в состав различных комплексных молекул – липосахаридов и ацильных липидов. В растениях 7 типов составляют примерно 95% от всех ЖК в составе листьев и семян: насыщенные (лауриновая, миристиновая, пальмитиновая, стеариновая) и ненасыщенные (олеиновая, линоленовая, α -линоленовая) кислоты (Harwood, Russel, 1984).

Растения обычно продуцируют набор *n*-алканов в соответствии со строгим коэффициентом преобладания нечетных соединений над четными и зачастую с доминированием одного (двух) конкретных гомологов (Bush, McInerney, 2013). Так для травянистых растений характерно преобладание C_{31} в общем спектре *n*-алканов, для широколиственных древесных растений –

C_{29} и C_{27} (Zech et al., 2011), в спектре *n*-алканов сфагновых мхов могут преобладать соединения с более короткой углеводородной цепью (Peters et al., 2000; Lopez-Dias et al., 2013). Доминирование конкретных *n*-алканов в поверхностных почвенных горизонтах может интерпретироваться как количественная информация о преобладающем виде растений в данной местности (Norris et al., 2013), т.к. преобладающая длина цепи сохраняется, аналогично тому, как это происходит в растительном опаде. Увеличение массы и концентрации среднецепочечных *n*-алканов (C_{16} - C_{24}) связано с микробной активностью (van Beilen et al., 2003; Zech et al., 2011).

В ряде работ было показано, что *n*-алканы могут быстро накапливаться в течение периода созревания листа весной и ранним летом, и в дальнейшем количество углеводов примерно постоянно на протяжении всего периода вегетации растения (Avato et al., 1984; Tipple et al., 2013). Однако результаты изотопного анализа указывают на то, что состав *n*-алканов может меняться в течение сезона вегетации и сильно зависит от природных условий (Chikaraishi, 2004; Arnelung et al., 2008; Sachse, 2009).

У различных организмов состав липидов в оболочке индивидуален (табл.2).

Таблица 2. Наличие (+) различных классов липидов в составе липидной оболочки растений и микроорганизмов (Kogel-Knaber, 2002)

Класс липидов	Растения	Водоросли	Грибы	Бактерии
Углеводороды				
<i>n</i> -алканы	+	+	+	+
разветвленные алканы	+	+	+	+

олефины	+	+		+
циклоалканы	+			
Кетоны				
монокетоны	+			+
β -дикетоны	+			
Вторичные спирты	+			+
Диэфиры	+			
Свободные ЖК	+			
Эфиры восков				
эфиры первичных спиртов	+	+	+	+
эфиры третичных спиртов	+			
Первичные спирты	+	+		+
Альдегиды	+			
Терпеноиды	+			

В литературе встречаются различные данные по содержанию *n*-алканов в растениях, в зависимости от пробоподготовки материала и способа расчета. По данным некоторых исследователей покрытосеменные содержат в среднем 506 мкг *n*-алканов/г сухого листа, голосеменные – 46 мкг/г (Bush, McInerney,

2013). Суммарное содержание *n*-алканов с длиной цепи C₂₀-C₃₅ в свежем кленовом опаде составило 230 мкг/г растительного материала, а в разложившемся – 85 мкг/г (Zech et al., 2011; Quideau et al., 2013).

1.1.2. Микроорганизмы, продуцирующие углеводороды

Синтез углеводородов в микроорганизмах зависит от условий окружающей среды, которые определяют пути физиологической регуляции. Грамположительные бактерии, такие как *Clostridium*, внутриклеточно продуцируют углеводороды с длиной цепи 11-35 атомов углерода с преобладанием среднецепочечных (C₁₈ – C₂₇) или длинноцепочечных соединений (C₂₅ – C₃₅) (Walker, Cooney, 1973; Bagaeva, Zinurova, 2004). Грамотрицательные анаэробные бактерии сульфат-редукторы *Desulfovibrio desulfuricans* также продуцируют C₁₁-C₃₅ углеводороды, причем более 80% от их общего содержания составляют C₂₅-C₃₅ *n*-алканы (Bagaeva, Zolotukhina, 1994; Bagaeva, 1997; Bagaeva, 2000). Синтез углеводородов дрожжами зависит от условий среды обитания. Например, анаэробные условия способствуют увеличению производства внутриклеточных углеводородов *Saccharomyces oviformis* и вызывает синтез сквалена, что невозможно в аэробных условиях. Синтез индивидуальных углеводородов сильно зависит от исходного углеродного субстрата (Jones, 1969; Naccarato, Gilbertson, Gelman, 1974; Ladygina, Dedyukhina, Vainshtein, 2006)

В составе клеточной стенки грибов преобладают длинноцепочечные углеводороды: их спектр схож с таковым у высших растений, у которых доминируют нечетные *n*-алканы (C₂₇, C₂₉ и C₃₅). Однако происхождение алканов в спорах остается под вопросом (Oro, Laseter, Weber, 1966; Weete, 1972). Информации об углеводородном составе грибного мицелия была получена в ходе экспериментов с выращиванием грибов на различных средах. Мицелиальные углеводороды были представлены *n*-алканами C₁₅-C₃₆ с преобладанием длинноцепочечных C₁₉-C₃₀. Нетипичный углеводородный состав был зафиксирован у *Cladosporium resinae*, выращенного на глюкозо- или глутаматсодержащем субстрате: он включал пристан, характерный для

фотосинтезирующих бактерий. Показана также возможность синтеза дитерпеновых углеводов грибами *Hericiumerinaceum* и *Phomabetae* (Merdinger, Devine, 1965; Merdinger, Kohn, McClain, 1968).

Различные систематические группы микроорганизмов характеризуются специфическим составом углеводородной фракции, например, цианобактерии являются уникальными производителями 7- и 8-метилгептадеканов, фотосинтезирующие бактерии отличаются синтезом циклических углеводов (Koster et al, 1999), а у грибов доминируют длинноцепочечные углеводороды (Fisher, Holloway, Richmond, 1972). Из этого следует, что углеводородный состав микроорганизмов можно использовать как хемотаксономический критерий (Laseter et al, 1968). Наличие разветвленных углеводов в составе органического вещества обычно характеризует бактериальное происхождение морских осадков. Стоит отметить, что клетки микроорганизмов характеризуются низким содержанием углеводов (не более 10% от сухой массы) (Jones, 1969).

Бактерии родов *Desulfovibrio* и *Clostridium* могут продуцировать углеводороды во внешнюю среду (до 19 и 30 мг/л, соответственно). По сравнению с внутриклеточными углеводородами, которые представлены главным образом C_{25} - C_{35} *n*-алканами (50-90%), внешнеклеточная фракция содержит соединения с менее длинной цепью (C_{19} - C_{21} и C_{16} - C_{18} у *Clostridium pasteurianum* и *D. desulfuricans* соответственно) и при этом повышается доля изо-форм (Jones, Young, 1970; Nikolaev et al, 2001).

Предполагается, что алифатические углеводороды образуются из жирных кислот. На данный момент широко распространены две теории биосинтеза неразветвленных углеводов – «удлинение-декарбоксилирование» и «С-С конденсация», наиболее изучена среди них первая. Согласно этой версии предполагается синтез длинноцепочечных жирных кислот (например, C_{16} и C_{18}), которые увеличивают С-цепь путем поэтапного присоединения C_2 фрагментов из малонил-СoА с последующим карбоксилированием (Ladygina, Dedyukhina, Vainshtein, 2006). Такой путь

был впервые описан в растительных тканях. Похожий механизм синтеза встречается у *E. coli* и *Nostoc muscorum* (Kolattukudy, 1967; Ladygina, Dedyukhina, Vainshtein, 2006).

Другой широко распространенный путь биосинтеза алканов включает в себя С-С конденсацию двух жирных кислот (или подходящих остатков) с последующим декарбоксилированием одной из них. Такой механизм был изучен на примере бактерии *S. Lutea* (Brocks et al., 2003; Ladygina, Dedyukhina, Vainshtein, 2006).

Новый способ биосинтеза длинноцепочечных алканов через 1-спирты был изучен у *V. furnissii*. Предполагается, что 1-гексадеканаль, образующийся из 1-гексадекановой кислоты, восстанавливается до соответствующего спирта и далее преобразуется в гексадекан. Такой механизм объясняет ОЕР алканов в бактериях, т.к. содержание четных жирных кислот значительно выше, чем нечетных (Park, 2005).

Как известно, у высших растений алканы, главным образом, вовлечены в синтез эпителикулярных восков, которые предотвращают избыточную потерю влаги, а также защищают растение от воздействия патогенов и насекомых-вредителей. Роль углеводов в микроорганизмах еще не до конца понятна. Углеводы входят в состав клеточной стенки спор грибов, выполняя тем самым защитную функцию (Lu, Peng, Sun, 2003). В то же время функции внутриклеточных углеводов остаются неясными. Из-за их низкого содержания достаточно трудно предполагать их роль в поддержании энергетического и углеродного баланса микроорганизмов. Наиболее вероятно, что внутриклеточные углеводы составляют важную часть в клеточных стенках и контролируют физико-химические свойства цитоплазматических мембран, это подтверждается различными данными по составу углеводов, локализованных в клеточных стенках, цитоплазматических мембранах и цитоплазме дрожжей. Также углеводы могут способствовать внутриклеточной аккумуляции гидрофобных компонентов (Ladygina, Dedyukhina, Vainshtein, 2006).

Биосинтез внешнеклеточных неразветвленных углеводов бактериями родов *Desulfovibrio* и *Clostridium* происходит вследствие ассоциации с мембранными образованиями на поверхности клетки, которые защищают бактерию от высоких концентраций выделяемых кислот. Считается, что внешнеклеточные насыщенные C₂₁-C₃₃ углеводороды, продуцируемые бактерией *P. fluorescens*, участвуют в саморегуляции клеточной адгезии на стеклянной поверхности и обеспечивают агрегацию (Dennis, Kolattukudy, 1992).

1.2 . Взаимодействие и трансформация алканов

Попадая в почву, *n*-алканы подвергаются биохимическим превращениям под воздействием микроорганизмов и окружающей среды. Часть *n*-алканов прочно сорбируется органическим веществом почв и в таком состоянии перемещается вниз по профилю в результате зоотурбаций (Ferguson et al., 2009; Bush, McInerney, 2013).

n-Алканы считаются относительно устойчивыми к деградации, т.к. алкильные атомы водорода менее охотно вступают в реакции обмена по сравнению с другими биомаркерами (Zech et al., 2011). За счет своей линейной структуры с небольшим числом функциональных групп, *n*-алканы – особенно устойчивые и долгоживущие молекулы, которые могут сохраняться в почве десятки тысяч лет (Eglington, Logan, 1991; Peters et al., 2000).

Высокая термодинамическая устойчивость является одним из факторов, обуславливающих относительную стабильность их в почвах. Фракция почвенных липидов четко отделяется от других компонентов органического вещества своей гидрофобностью и растворимостью в малополярных органических растворителях. Е.В. Фридланд (1979) к этим признакам добавляет наличие высших алкильных радикалов и присутствие подобных веществ в составе живых организмов. Главными компонентами этой группы являются воск и смолы. Органические растворители извлекают из почв также углеводороды, в том числе полициклические, стероиды,

глицериды, фосфолипиды, различные органические кислоты, включая феноксикислоты, а также пигменты и соединения других классов. Воска образованы сложными эфирами высших жирных кислот и высокомолекулярных одноатомных (иногда двухатомных) спиртов. Кроме того, в составе восков всегда присутствуют свободные спирты и кислоты, а также углеводороды и различные примеси. Входящие в состав восков кислоты и спирты обычно представлены насыщенными соединениями с неразветвленной углеродной цепочкой и числом углеродных атомов от 12 до 34. В наибольших количествах присутствуют кислоты с числом углеродных атомов от 16 до 26, причем преобладают кислоты с четным числом углеродных атомов: пальмитиновая — $C_{15}H_{31}COOH$, стеариновая — $C_{17}H_{35}COOH$, арахиновая — $C_{19}H_{39}COOH$, бегеновая — $C_{21}H_{43}COOH$, лигноцериновая — $C_{23}H_{47}COOH$, церотиновая — $C_{25}H_{51}COOH$ и др. Обнаружены в почвах и непредельные жирные кислоты, например олеиновая — $CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$ (Орлов и др., 2004).

Аналогичный характер имеют и высшие спирты, например цетиловый спирт $CH_3(CH_2)_{14}CH_2OH$. В торфяных восках были найдены спирты с длиной углеродной цепи C_{20} , C_{22} , C_{24} , C_{25} , C_{26} , C_{28} , C_{30} . Такой состав восков указывает на их родство с восками растительных и животных остатков, в которых преимущественно содержатся соединения, образованные насыщенными неразветвленными кислотами и спиртами с четным числом атомов углерода в молекуле.

Доля липидов в составе органического вещества минеральных горизонтов почв колеблется от 2-4 до 10-12 % от $C_{общ}$. В органогенных горизонтах Н и торфах липиды накапливаются в значительно больших размерах — до 15-20 %. Накопление липидов в гумусных горизонтах зонального ряда почв обычно находится в обратной зависимости от степени гумификации и содержания гуминовых кислот. В серых лесных, черноземных, каштановых почвах с высокой степенью гумификации органического вещества доля липидов минимальна — 2-4 %. В тундровых,

подзолистых и полупустынных почвах она повышается в 2-3 раза (Орлов и др., 2005).

Кроме того, липиды могут попадать в почву из антропогенных источников – нефтепродуктов, от неполного сгорания топлива или оседания угольной пыли (Wiesenberg et al., 2004).

В поверхностных горизонтах основной источник поступления *n*-алканов – опад, определяющий соответственно состав и содержание углеводородов. Для верхних почвенных горизонтов характерно преобладание нечетных длинноцепочечных *n*-алканов, также как и для листьев растений. Причем сохраняется отношение доминирующих углеводородных цепей (Zech, 2011). В подповерхностные горизонты *n*-алканы поступают главным образом с корневыми экссудатами и из микроорганизмов (Kogel-Knaber, 2002).

Механизмы поступления и трансформации *n*-алканов в нижних горизонтах в литературе до конца четко не освещены. Большую роль исследователи отдают дождевым червям и микроорганизмам (Wentzel et al., 2007), которые перерабатывают материал верхних горизонтов и переносят продукты трансформации в нижележащие слои (Kogel-Knaber, 2002; Handley et al., 2008; Singh, 2012). Также одним из источников поступления *n*-алканов в нижние горизонты является корни растений (Rasse et al., 2005), которые закрепляются в почве на определенной глубине и выделяют различные экссудаты (Peters et al., 2000; Otto et al., 2005; Jansen et al., 2008). Возможно, общая совокупность этих двух источников и определяет картину поступления углеводородов в подповерхностные горизонты почв. Спектр *n*-алканов отличается от того, который наблюдается в верхних горизонтах: увеличивается доля среднецепочечных (C_{17} - C_{24}) и четных соединений (Kogel-Knaber, 2002; Quanea et al., 2004; Singh, 2012; Bush et al., 2013).

Как было описано выше, состав и содержание *n*-алканов в почвах зависит от типа растительности в экосистеме и источника поступления углеводородов.

Для оценки преобладающего источника поступления, характеристики общего спектра *n*-алканов и приблизительной оценки деградации используются коэффициент преобладания нечетных соединений над четными ОЕР (odd-over-even predominance):

$$\text{OEP} = \frac{nC_{25} + nC_{27} + nC_{29} + nC_{31} + nC_{33}}{nC_{24} + nC_{26} + nC_{28} + nC_{30} + nC_{32}},$$

а также отношение длинноцепочечных *n*-алканов к средне- и короткоцепочечным – LSR (long-short ratio):

$$\text{LSR} = \frac{\sum \text{н-алканов с длиной C-цепи} \geq 25}{\sum \text{н-алканов с длиной C-цепи} < 25} \text{ (Zech et al., 2012)}.$$

Разнообразие липидов, скорость их трансформации и деградации дает количественную информацию о почвенных процессах, общем состоянии экосистемы и ее углеродного пула (Norris et al., 2013).

При сильной антропогенной нагрузке на экосистему, содержание и состав *n*-алканов изменяется. Проводились наблюдения за ходом восстановления экосистем, нарушенных после добычи полезных ископаемых в Канаде. Концентрация *n*-алканов в почвах восстановленных широколиственных ценозов меньше, чем в аналогичных естественных, однако прогрессивное увеличение средней длины цепи алканов свидетельствует о восстановлении экосистемы леса (Norris et al., 2013).

Разложение углеводов в почве обеспечивается прежде всего деятельностью углеводородокисляющих микроорганизмов, способных в конструктивном и энергетическом обмене оксигенировать углеводородные субстраты, минерализовать до CO₂ и H₂O или превращать в соединения, утилизируемые другими группами микроорганизмов (Ильин и др., 1982; Naryama et al., 2004; Yakimov et al., 2007). В деструкции алифатических углеводов участвуют микроорганизмы родов *Bacterium*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Candida*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter* (Britton, 1984; Throne-Holst et al., 2007). Существуют различия в окислении предельных и непредельных углеводов. Установлено, что

предельные углеводороды с разветвленными цепями окисляются легче, чем линейные (Квасников, Ключникова, 1981).

В некоторых работах описана возможная анаэробная деградация *n*-алканов без объяснения механизмов (Coates et al., 1980; Hirschler et al., 1998; So et al., 2003).

В процессе переработки растительного материала микроорганизмами было отмечено, что содержание длинноцепочечных *n*-алканов в почвах и подстилках уменьшается до 57% по сравнению со свежесопавшим растительным материалом (Zech et al., 2011). Но уменьшается общее количество углеводородов, а не содержание индивидуальных соединений с конкретной длиной С-цепи. При исследовании высокогорных почв Анд были сделаны выводы, что за исключением C₃₃, величины соотношений *n*-метил-кетон/*n*-алкан примерно одинаковы для верхних минеральных горизонтов и составляют 0,03-0,15, с глубиной это отношение растет. Это свидетельствует об отсутствии избирательной деградации индивидуальных *n*-алканов. Таким образом, даже если общая концентрация *n*-алканов уменьшается во времени, характерный углеводородный рисунок остается неизменным, на основании чего можно проводить палеореконструкции растительного покрова и изучать процессы деградации почвенного углерода (Jansen, Nierop, 2009).

Первичными продуктами деструкции алканов в почвенных условиях являются спирты, жирные кислоты и метил-кетоны (*n*-алкан-2-оны). Последние образуют гомологи с числом углеродных атомов, равным исходному алкану, в ходе реакции β-окисления углеводородной цепи (Rontain et al., 2013) (рис.4). При этом кетоны считаются более удобным классом для оценки биodeградации углеводородов, так как практически не образуются в высших растениях, в то время как значительные количества четных спиртов и кислот поступают в почву напрямую в составе растительных остатков и в результате деструкции неуглеводородных компонентов растительных восков (Wu et al., 2012).

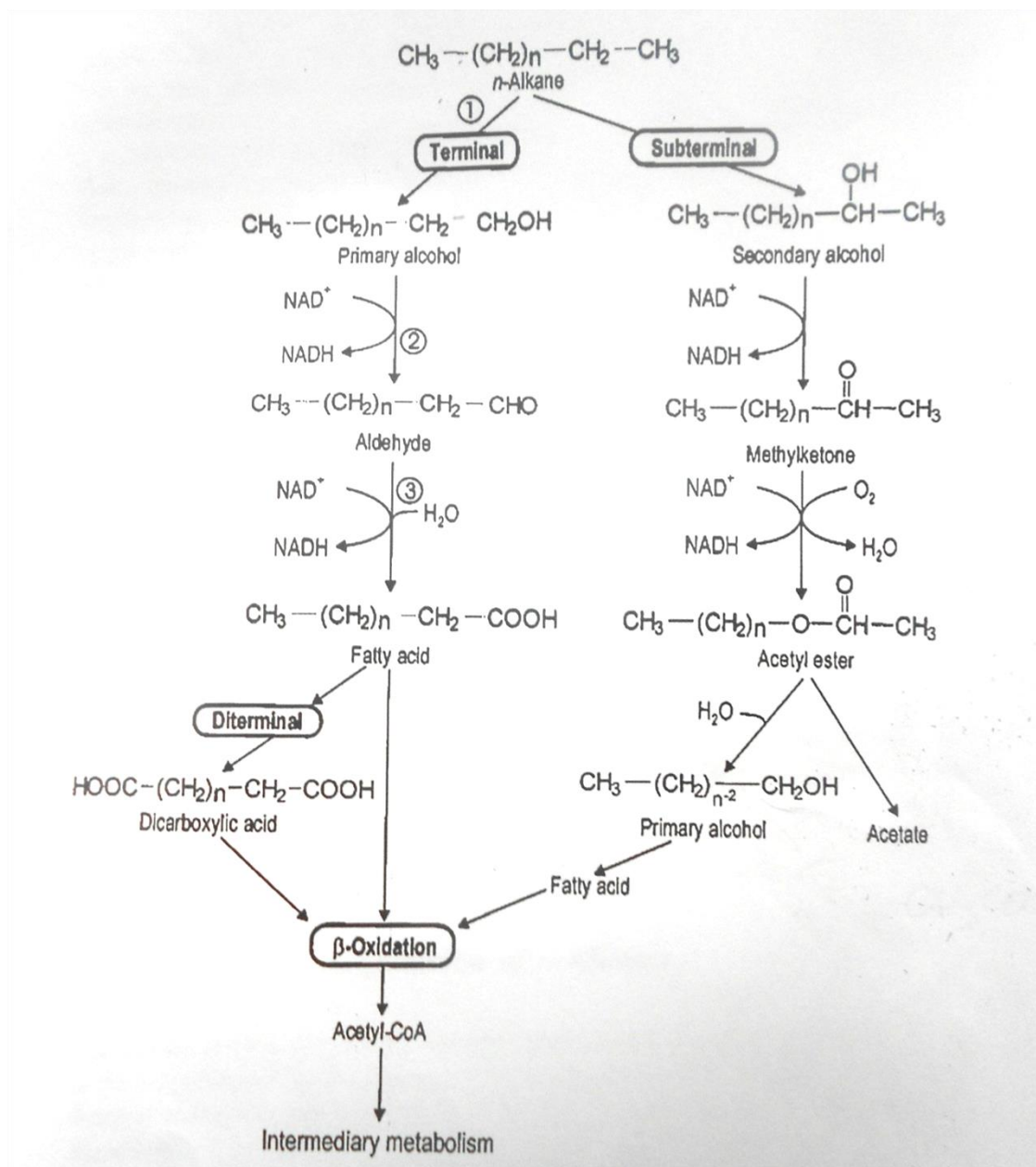


Рисунок 4. Пути аэробной деградации *n*-алканов (по Singh, 2012)

У метил-кетонов, также как у алканов, больше нечетных компонентов, и за исключением C_{33} , они являются главным продуктом деградации *n*-алканов в почвах (Jansen, Nierop, 2009). Исключение составляют только виды рода *Sphagnum* являющиеся непосредственным источником метил-кетонов C_{23} - C_{31} в почвы (Nichols, Huang, 2007). При этом более высокая, по сравнению с другими продуктами окисления, гидрофобность определяет

сходное с алканами поведение алифатических кетонов в пределах почвенной матрицы.

В свою очередь *n*-метил-кетоны разрушаются в основном до *n*-спиртов с уменьшением длины цепи на 2 атома углерода (Forney, Markovetz, 1971).

Сохранение линейных липидов в почвах, в том числе *n*-алканов, является конечным результатом сложных взаимодействий различных факторов – состава микробной популяции, сорбционных свойств и минерального состава почв (Bull, 2000). Еще один из возможных путей деградации *n*-алканов (рис.4) – это окисление до *n*-спиртов и *n*-жирных кислот (ЖК). Спирты и ЖК, в отличие от алканов, имеют больше четных компонентов в составе, поэтому их поступление из растений весьма ограничено, что дает возможность проследить их появление в почве путем деградации алканов. Тем не менее, это не главный механизм превращений, и скорее всего *n*-спирты и *n*-ЖК образуются в почве *in situ* (Jansen, 2008).

Рядом исследователей было отмечено, что сохранение лабильных алифатических компонентов в почвах и осадках происходит путем их полимеризации *in situ* в геополимеры. Липиды могут связываться с углеводными и белковыми макромолекулами на самых ранних стадиях распада, что является первой стадией в процессе трансформации и способствует обогащению алифатическими компонентами органического вещества (Gupta et al., 2008, 2009).

В литературе пока не достаточно полно освещена тема метил-кетонов, их поступления, количеств и трансформации в почве. Т.к. они являются промежуточным продуктом деградации *n*-алканов, состав и содержание *n*-метил-кетонов в почвах может нести количественную информацию об интенсивности биологической активности данной экосистемы. Поэтому в большинстве исследований по данной теме соотношение *n*-алкан/*n*-метил-кетон одной длины С-цепи используется как величина селективного сохранения индивидуальных длинноцепочечных алканов и как оценка скорости биodeградации углеводородов (Jansen, Nierop, 2009).

1.3. Сорбция алканов в почве

ОВ почв состоит из гетерогенной смеси соединений, которые проявляют ряд амфифильных свойств или свойств, подобных поверхностно-активным веществам, и способны к саморегуляции в водном растворе. ОВ почв сорбируется на минеральных поверхностях в дискретной зональной последовательности. В зоне контакта формированию особенно сильных органо-минеральных ассоциаций способствует, во-первых, лигандный обмен органических функциональных групп амфифилов с минеральными гидроксилами, образующими прочные внутрисферные комплексы, а во-вторых, белковые соединения, которые разворачиваются при адсорбции и таким образом увеличивают адгезионную прочность, добавляя гидрофобные взаимодействия к электростатическому связыванию. В таком случае энтропия будет стремиться экранировать открытые гидрофобные части амфифильных молекул от полярной водной фазы посредством ассоциации с другими гидрофобными компонентами. Таким образом, образуется мембраноподобный бислои, содержащий гидрофобную зону, компоненты которой могут легче обмениваться с почвенным раствором, чем в зоне контакта, но сила связи все еще сильная. На гидрофильной поверхности сорбируются органические молекулы, образующие внешнюю область (кинетическую зону), которые слабо удерживаются различными взаимодействиями. Органические вещества в кинетической зоне могут иметь высокие скорости обмена с окружающим раствором, что приводит к короткому времени пребывания отдельных фрагментов (Kleber, Sollins, Sutton, 2007).

Относительная высокая устойчивость к биodeградации связана в том числе с гидрофобностью *n*-алканов и их способностью прочно сорбироваться на почвенных частицах (Allen-King et al., 2002). В связи с чем, рассмотрим природу и механизмы сорбционных свойств почв по отношению к *n*-алканам.

Почва представляет собой сложную по химическому и минералогическому составу систему (в ее состав входят первичные и

вторичные минералы, специфические и неспецифические органические вещества, образующие органоминеральные соединения). До сих пор в литературе нет окончательного мнения о роли ее компонентов в сорбции органических загрязняющих веществ и о механизме этих процессов (Зубкова, Карпачевский, 2001).

Большую сорбционную способность имеет органическое вещество почв (Khan, Schnitzer, 1972; Turcotte et al., 2009). Во-первых, оно является уникальным нативным сорбентом, определяющим способность почв обеспечивать высокую буферность в отношении большинства элементов питания и поллютантов. Роль этого сорбента повышается в связи с тем, что даже при низком содержании органического вещества оно может образовывать пленки, покрывающие поверхности минеральных частиц и агрегатов и существенно влиять на их сорбционные характеристики.

Большое влияние на процессы адсорбции органических соединений оказывают широко варьирующие гидрофильно-гидрофобные свойства органического вещества самих почв и органических соединений, которые поглощаются почвой. Это положение относится в равной мере, как к нативному органическому веществу почв, так и к органическим соединениям антропогенного происхождения в составе твердой фазы почв и почвенного раствора. Среди тех и других широкое распространение имеют амфифильные органические соединения, в состав молекул которых входят гидрофильные ионные фрагменты (карбоксильные и аминогруппы) и гидрофобные компоненты – ароматические кольца и неполярные алкильные цепи (Соколова, Трофимов, 2009).

Сорбция гидрофобных органических веществ на почвенном органическом материале напоминает набухание полимеров в органических растворителях, а механизмы сорбции органических веществ на почвенной органике представляют собой совокупность процессов монослойной и полислойной адсорбции на поверхности частиц и конденсации паров в мелких порах (Мищенко, 2004)

Адсорбция гидрофобных соединений на твердой поверхности во многих случаях подчиняется линейному уравнению адсорбции и соответствует С-форме изотермы. При этом, чем меньше растворимость гидрофобного соединения в воде, тем выше значения K_p . Из компонентов твердой фазы почвы наибольшую способность поглощать гидрофобные молекулы проявляет органическое вещество почв, в то время как глинистые минералы, минералы группы оксидов и гидроксидов Fe и Al и величина pH не оказывают существенного влияния на процесс адсорбции. Считается, что гидрофобные соединения могут проникать вглубь молекул органических веществ («растворяться» в них) и удерживаться там силами Ван дер Ваальса (Соколова, Трофимов, 2009), особенно это касается неразветвленных углеводородов, которые занимают сорбционные центры внутри отверстий ситоподобной структуры гуминовых кислот (Khan, Schnitzer, 1972). Поэтому *n*-алканы могут сохраняться в почвах, торфах и подстилках достаточно долгое время (Zech, 2012; Kleber et al, 2014; Wilhelm et al., 2017). В почвенном органическом материале полярные и неполярные группы перемешаны. Большие или длинные молекулы могут взаимодействовать одновременно многими точками, что делает более сложной их десорбцию. Причиной гистерезиса между кривыми сорбции и десорбции могут быть также ковалентные связи между сорбентом и сорбатом (Graber, Borisover, 1998).

Согласно другим представлениям о формах гуминовых веществ в почвах и отложениях (Weshaw, 1986), они состоят из ряда различных олигомеров и простых соединений, которые возникают в результате частичной деградации растительных остатков. Эти продукты разложения стабилизируются путем включения в гумусовые агрегаты. Внутри этих мембраноподобных агрегатов органические вещества удерживаются с помощью механизмов слабой связи, водородной связи, гидрофобных взаимодействий. Полученные структуры аналогичны мицеллам или

мембранам, в которых внутренняя часть структур является гидрофобной, а внешняя – гидрофильной.

Было показано, что сорбция неполярных углеводов на органических компонентах уменьшается в ряду: корни > листья > гуминовые кислоты ~ микробная биомасса (Мищенко, 2004). Изотермы сорбции углеводов на почвах и их компонентах, включая микроорганизмы и растительную биомассу, имели нелинейный S-образный вид, что обычно указывает на многослойную сорбцию, а в случае пористых сорбентов – и на конденсацию в почвенных капиллярах (Бреус и др., 2003).

Нелинейный вид изотерм сорбции углеводов на микробной и растительной биомассе, очевидно, связан с неоднородностью состава растительных и микробных компонентов. Она может быть вызвана присутствием в их составе, с одной стороны, аморфных липидов и восков, взаимодействующих с органическими загрязняющими веществами по типу «распределения», а с другой – полисахаридов, способных к образованию кристаллоподобных структур (Мищенко, 2004).

Алканы содержатся в современных и ископаемых растительных материалах (Huang et al., 1995; Otto et al., 2005), в почвах, палеопочвах и флювиальных отложениях (Quenea et al., 2004; Smith et al., 2007), а также в озерных и морских осадках (Handley et al., 2008). Вследствие подобной прочной консервации, в последние десятилетия активно используют *n*-алканы как биомаркеры растительных сообществ и климатических условий при палеореконструкциях (Lichtfouse et al., 1998).

Перейдем к рассмотрению роли сорбированных алканов. Согласно теории влияния амфифильности органического вещества почвы на процессы почвообразования (Шеин, Милановский 2002, 2003), органические вещества гидрофобной природы влияют на формирование аккумулятивного типа гумусового профиля и формируют свойство водоустойчивости почвенных агрегатов, т.к. от степени гидрофобности поверхности органо-минеральных частиц будет зависеть их способность к взаимодействию друг с другом за

счет гидрофобного связывания и образование водопрочных агрегатов, либо подверженность к пептизации за счет образования водородных связей. Образование агрегатов за счет гидрофобного взаимодействия между элементарными почвенными частицами, покрытыми гумусовыми веществами, связано с формированием энергетически наиболее выгодной (в водном окружении) поверхности образующегося агрегата (Маршал, 1981). Корни травянистых растений являются источником поступления углеводов непосредственно в почвенные горизонты. Помимо этого одной из важнейших функций тонких корней и корневых волосков является их участие в структурировании почвы. Органические агенты, связывающие частицы почвы в устойчивые агрегаты – полисахариды, корни растений и гифы грибов (Титлянова, Косых, Миронычева-Токарева, 1994).

По всей видимости, в почве присутствует микронеоднородность аэробных и анаэробных условий, которая обеспечивает динамическое равновесие и вместе с тем протекание процессов гумификации, идущих по типу образования гидрофильных и гидрофобных гумусовых веществ: в анаэробных микронеоднородностях, внутри почвенной массы образуются и закрепляются гидрофобные соединения, которые остаются на месте и способствуют образованию устойчивых агрегатов; на поверхности и аэробных микронеоднородностях почвенной толщи происходит минерализация гуминовых веществ и образование более гидрофильных веществ, которые могут вместе с водой мигрировать по почвенному профилю (Шеин, Милановский, 2002).

Исходя из изложенной гипотезы, для формирования и сохранения во времени агрегатов необходимо выполнение двух обязательных условий. Гумификация растительных остатков происходит непосредственно в минеральных горизонтах и экологические условия должны обеспечивать развитие анаэробных микроорганизмов. Если эти условия не выполняются, формирования водоустойчивых агрегатов не происходит.

В литературе известен тот факт, что при влажностях более 70% от наименьшей влагоемкости окислительно-восстановительный потенциал внутри агрегата ниже на 100-200 мВ по сравнению с поверхностью. Более того, почвенные микробиологи экспериментально установили наличие внутри почвенных агрегатов факультативно-анаэробных бактерий и образование локальных зон анаэробного микробоценоза. Перечисленные факты косвенно указывают на то, что генезис устойчивых почвенных агрегатов может быть связан со специфическими свойствами органического вещества, формирующегося в условиях недостатка воздуха и при участии специфической микробиоты (Милановский, Шеин, 2003). За счет потоков воды, циклов иссушения-увлажнения, размораживания-оттаивания в агрегатах начинают преобладать анаэробные условия, что способствует поселению анаэробной микрофлоры. За счет выработки специфических органических веществ в анаэробных условиях начинают образовываться преимущественно гидрофобные органические вещества, которые и являются основным склеивающим цементом при образовании агрегата. В биогеоценозах с развитым травянистым растительным покровом подобный трансфер органических веществ особенно значителен, что не может не сказаться на лучшей оструктуренности почв. Таким образом, образование связи между пластинками глинистых минералов за счет гидрофобного взаимодействия приводит к “склеиванию” минеральных частиц и, главное, гидрофобизация их поверхности - к уменьшению разрушающего воздействия расклинивающего давления, что в результате и приводит к возникновению свойства водоустойчивости почвенных агрегатов (Шеин, Милановский, 2002).

1.4. Круговорот углерода в лесных экосистемах и его пулы

В модели круговорота углерода почвы органическое вещество существует как континуум органических фрагментов, которые постоянно подвергаются воздействию деструктирующей микробиоты и стремятся к меньшему молекулярному размеру. Распад крупных молекул приводит к

уменьшению размера исходного растительного материала с одновременным увеличением количества доступных полярных и ионизируемых групп, и, таким образом, к повышенной растворимости в воде. В то же время, устойчивость от дальнейшего разложения увеличивается за счет большей реакционной способности по отношению к минеральным поверхностям и включением в состав почвенных агрегатов. Органические соединения, попадающие в почву, сильно различаются по составу, доступности для разложения и, как следствие, имеют разную скорость оборачиваемости. Тем не менее, этот показатель сильно зависит от экологических и биотических факторов в почве, в особенности температуры. Модели круговорота углерода должны дополняться соответствующими температурными параметрами для более точного описания картины деструкции органических соединений (Lehmann, Kleber, 2015).

Скорость деградации органического вещества почв в целом и опада, в частности, определяется химическим составом субстрата, доступностью азота, микробиотой, условиями среды, в особенности аэрацией, влагой, температурой и pH. В последние годы в зарубежной литературе основная дискуссия развернулась относительно того, какой из двух факторов - климат или "качество" опада - в большей мере определяет скорость разложения; остальным факторам придается гораздо меньшее значение. Известно, что наиболее значимые молекулы в составе органического вещества почв это: содержание лигнина как наиболее медленно разлагающегося в природе материала растительных тканей и практически не разлагающегося в чистом виде микроорганизмами, в отсутствие углеводов в качестве источников энергии (Заварзин, 2007); содержание нерастворимых полимеризованных углеводов, в большей степени подверженных разложению в чистом виде; содержание растворимых органических углеводов, легко вымываемых и минерализующихся с очень высокой скоростью; содержание фенольных и полифенольных соединений, роль которых в физиологии растений

окончательно не ясна, но которые, по-видимому, выполняют некие регуляторные функции в разложении опада (Gosz, 1981).

Пулы углерода, которые в максимальной степени влияют на природные потоки углекислого газа и концентрацию его в атмосфере, сосредоточены в наземной растительной биомассе и почвенном органическом веществе, время пребывания углерода в них составляет соответственно несколько сотен и несколько тысяч лет (Ortiz et al, 2016; Wilhelm et al., 2017).

Резистентный пул наземной фитомассы главным образом формируется за счет древесной растительности, поскольку именно древесина деревьев и кустарников является долговременным хранилищем углерода с временами его пребывания до сотен лет. Вторым по значимости наземным пулом углерода являются древесные остатки в виде валежа и сухостоя. Время нахождения в резервуаре углерода крупных древесных остатков, которые часто называют дебрисом, может достигать нескольких сотен лет. Этот пул играет весьма важную роль в деструкционной составляющей баланса углерода (Базилевич, 1993; Заварзин, 2007). В климаксных экосистемах вход ОВ в почву постоянен (Титлянова, Наумова, Косых, 1993).

Почвенный покров является одним из главных долговременных резервуаров углерода на планете. Резервуар почвенного органического углерода значительно превышает наземный. Накопление органического углерода определяется балансом между продукцией растений и деструкцией отмершей биомассы, в основном микробиотой, животные в наземных экосистемах в отличие от морских играют подчиненную роль. Функции подземного растительного вещества в почве многообразны и определяют в целом круговорот С, N и других элементов в экосистеме (Титлянова, Косых, Миронычева-Токарева, 1994). Продукция и деструкция, осуществляемые сообществами организмов, имеют разные экофизиологические оптимумы. Кроме того, продукция и деструкция имеют разные максимумы в зависимости от гидротермических условий: температурный максимум для деструкции выше, чем для продукции, а от увлажнения зависит сложным

образом, с резким снижением при чрезмерном увлажнении. Избыточное увлажнение создает анаэробизм и подавляет деструкцию. Таким образом, накопление углерода в долговременных резервуарах объективно свидетельствует об интенсивности и устойчивости стока углекислого газа на протяжении многих тысячелетий в наземных экосистемах. При этом эрозионные процессы, по-видимому, мало влияют на общую устойчивость почвенного резервуара углерода (Nguyen, 2003; Заварзин, 2007).

Исследование углеродного цикла в наземных экосистемах невозможно без рассмотрения такого важного компонента почвенного органического вещества, как микробная биомасса. Этот небольшой в сравнительном отношении пул играет исключительно важную роль в превращениях всех биогенных макроэлементов в экосистеме. Почвенные микроорганизмы являются не только и не столько пассивным резервуаром, содержащим некоторое количество углерода, но в первую очередь движущей силой, осуществляющей процессы деструкции и минерализации высокомолекулярных органических соединений, поступающих в почву (Kuzyakov, Domanski, 2000; Batjes, 2014; Lehmann, Kleber, 2015)

Источником углерода в почве лесной экосистемы является совокупность углерода, поступившего в почву в виде поверхностного и внутрипочвенного опада. Расчет баланса углерода в почве позволяет получить дополнительную информацию о том, в каком из пулов органического вещества почвы - в опаде, подстилке или органическом веществе минеральных горизонтов почвы происходит накопление или потери углерода. Близкое к нулевому значение баланса углерода в почве свидетельствует о стабилизации запасов почвенного органического углерода в луговых и лесных ценозах на серой лесной и дерново-подзолистой почве (Lynch, Whipps, 1991; Заварзин, 2007).

Исследования, направленные на прогнозирование оборота углерода в почве, должны включать в себя изучение его пространственного расположения в минеральной матрице, локальную окислительно-

восстановительную обстановку, микробиоту и взаимодействие с минеральной поверхностью в условиях влажности и температуры, наблюдаемых в почвах. На данный момент существует три теории образования и накопления органических веществ в почве: классическая гумификация, избирательное сохранение и прогрессивное разложение. Все три модели предполагают, что фрагменты растений и почвенной фауны являются начальными источниками органических соединений и расформированы на части в начале разложения, т.к. известно, что большая часть опавших листьев или корней разрушается в первый год пребывания в почве. Также известно, что растительные остатки должны разлагаться ферментами до относительно небольшого размера, прежде чем они смогут активно транспортироваться через клеточные стенки микроорганизмов. В наземных экосистемах эту функцию выполняют так называемые экзоэнзимы. Таким образом, в почву ежегодно попадает большое количество органических веществ, которые под воздействием термодинамического градиента преобразуются из больших и энергетически обогащенных соединений в молекулы меньшие по размеру и заключенной в них энергии (Lehmann, Kleber, 2015).

Выборочное сохранение, которое также называется преимущественным разложением - это более новая концепция, основанная на исследованиях разложения листьев и видимых фрагментов растений в почвах. Эта теория предполагает, что органические ресурсы состоят из лабильных и относительно устойчивых соединений, причем последние используются микроорганизмами только тогда, когда лабильные израсходованы. Тем не менее, в настоящее время имеются доказательства того, что под воздействием соответствующих условий, некоторые организмы способны разлагать даже предположительно стойкие соединения быстрее, чем предполагалось ранее (Lehmann, Kleber, 2015)

Современные подходы должны признать исходный континуум органических соединений, а не дискретные пулы с разным временем оборота,

а также влияние доступности органических соединений, а не качество субстрата. Понимание механики процессов, происходящих в почве, будет улучшено, если в первую очередь обращать внимание не на молекулярную структуру органических соединений, а на пути увеличения подвижности в почвенном растворе разложенных фрагментов молекул (Lehmann, Kleber, 2015).

До сих пор не до конца изучены механизмы взаимодействия органических веществ на различных минеральных поверхностях и стабильность самих минералов может изменяться в результате воздействия органических соединений, таких как те, которые выделяются корнями. Чтобы предсказать реакцию органического углерода почвы на климатические изменения, модели круговорота должны выходить за рамки концептуальных пулов, имеющих разный оборот и, вместо этого, объединить физические свойства почвы и биологические процессы (Lehmann, Kleber, 2015).

Глава 2. Объекты и методы

2.1 Исследование сезонных изменений скоростей трансформации органического вещества в почвах под широколиственными растительными сообществами.

Для проведения сезонных наблюдений за состоянием липидного комплекса почв под листопадными растительными сообществами необходимо было обоснованно выбрать периоды годового цикла, различающиеся по скорости изменений, протекающих в органопрфиле таких почв. Чувствительным индикатором скоростей трансформации органического вещества в подстилочном и верхнем почвенном горизонтах могут быть неспецифические водорастворимые соединения почвенного гумуса.

На примере модельного широколиственного сообщества почвенных лизиметров, представленного кленом платанолистным (*Acer platanoides*), была изучена сезонная динамика состава и содержания бензолкарбоновых кислот (БКК) в верхнем гумусовом горизонте почвы и в подстилке. По многочисленным данным (Кефели с соавт., 1973; Клышев, 1973; Gaur, Pareek, 1974; Куваева, 1980; Поспешил с соавт., 1981; Орлов с соавт., 1985; Золотарева, Рузиева, 2000; Anderson, Domsch, 2010) низкомолекулярные ароматические карбоновые кислот являются важными участниками углеродного цикла и принимают активное участие в формировании почвенного профиля, выступая в роли регуляторов микробиологической активности в почвах (детритного блока).

В течение года производили ежемесячные (с октября по апрель) отборы проб подстилки и почвы с глубины 0-10 см. В образцах проводили определение состава и содержания БКК методом твердофазной экстракции с использованием концентрирующих патронов и последующим определением на ВЭЖХ (Анохина с соавт., 2018). Также в образцах определяли интенсивность почвенного дыхания по скорости эмиссии диоксида углерода (Anderson, Domsch, 2010).

2.2 Оптимизация методики выделения *n*-алканов и *n*-метил-кетонов из проб почв и подстилок.

Предложено несколько методов выделения алифатических компонентов липидов из растений, почв и осадочных пород. Процедуры включают исчерпывающую экстракцию различными органическими растворителями с последующим разделением на фракции и очисткой на силикагеле или оксиде алюминия методом адсорбционной хроматографии. Полнота выделения целевых компонентов из почв и растительных материалов достигалась разными методами: обработкой ультразвуком в ходе экстракции (Nguen et al., 2011), экстракцией в микроволновых установках (Bush, McInerney, 2013), экстракцией в аппарате Сокслета (Zech et al., 2012; Norris et al., 2013; Ortiz et al., 2016), экстракцией субкритическими растворителями (Wiesenberg et al., 2004; Nichols, Huang, 2007; Jansen, 2008; Nepp et al., 2015). Из перечисленных наиболее эффективными оказались методы экстракции в аппарате Сокслета и экстракции субкритическими растворителями или ускоренной автоматической экстракции растворителями (Accelerated Solvent Extraction – ASE). Экстракция субкритическими растворителями рекомендована Агентством по охране окружающей среды США в качестве метода выделения широкого набора полуволетучих органических соединений различной полярности из твердых матриц (EPA Methods, 2007).

При подборе оптимальных условий экстракции из подстилок и верхних горизонтов почв *n*-алканов и *n*-метил-кетонов за основу была взята методика экстракции из почв *n*-алканов, *n*-спиртов и *n*-жирных кислот (Wiesenberg et al., 2004; Jansen et al., 2006). Приведенные в методике параметры экстракции с использованием автоматического экстрактора ASE 200 (Dionex, США): смесь $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 93:7 (v/v), стальные ячейки объемом 11 мл, температура - 75°C, время статической экстракции - 20 минут, давление 17 МПа (2500 psi). Смесь растворителей близкого состава ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH} = 9:1$ v/v) была

использована для экстракции методом ASE C₂₃-C₃₁ *n*-метил-кетонов из торфа и сфагнома (Nichols, Huang, 2007).

Во всех сериях экспериментов использовалась одни и те же процедуры: подготовки образцов к экстракции, хранения и концентрирования проб после экстракции, выделения слабополярной и неполярной фракций липидов методом адсорбционной хроматографии и количественного определения *n*-алканов и *n*-метил-кетонов методом ГХ-МС. Квалификация использованных реактивов - «эталонный» или «для ВЭЖХ». Аналитическая повторяемость трехкратная.

Для отработки методики были использованы образцы почвы и подстилки, отобранные в Центрально-Лесном Государственном Биосферном Заповеднике (Нелидовский р-н, Тверская обл., РФ). Образцы отбирали в вегетационный период в 5 точках в пределах одного фитоценоза – ельника (*Picea abies*) чернично-зеленомошного (*Vaccinium myrtillus*, *Hylocomium splendens*, *Pleurozium schreberii*). Тип почвы – подзолистая грубогумусовая (Haplic Retisols). Были отобраны образцы горизонта FH подстилки (содержание C=35,4±0,9%) и верхнего минерального горизонта АО (содержание C=3,4±0,8%). Из точечных проб образцов готовили смешанные пробы, которые высушивали на воздухе и гомогенизировали: подстилку - в мельнице с ножевыми лезвиями, почву - в фарфоровой ступке, с последующим просеиванием через сито с диаметром отверстий 1мм.

2,0 г образца почвы или 0,2 г подстилки для обеспечения равномерности заполнения перемешивали в фарфоровой ступке с 2 г прокаленного кварцевого песка (размер зерна 0,25-0,3 мм), переносили в ячейку для экстракции (11 мл) с помещенным на дно целлюлозным фильтром, оставшийся свободный объем заполняли кварцевым песком. Различные варианты экстракции исследовали с использованием прибора ASE 200 (Dionex, США), оборудованного контроллером смешивания растворителей (Завгородняя и др., 2012).

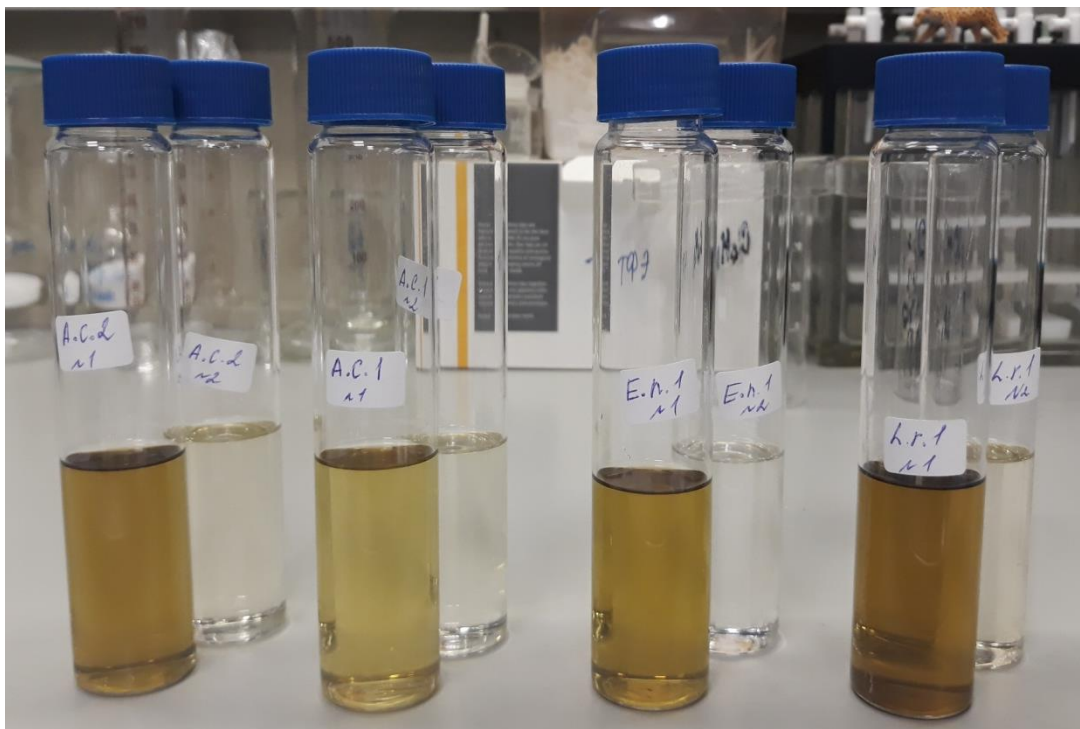


Рисунок 5. Экстракты из образцов почв, полученные с помощью ASE.

Для удаления следов воды флаконы с экстрактами (рис.5) на 1,5-2 часа помещали в морозильную камеру (-20°C). Затем экстракты аккуратно переносили в сердцевидную отгонную колбу на 100 мл (кристаллы воды оставались на стенках и дне флакона) и отгоняли растворитель под вакуумом на роторном испарителе при температуре 40°C , концентрируя пробу до объема 0,05 мл. К концентрату добавляли 0,5мл хлороформа для растворения пробы и количественно переносили на заранее подготовленную стеклянную колонку ($d = 10$ мм), заполненную 4 г оксида алюминия Диасорб-А (БиоХимМак, РФ) II степени активности по Брокману, насыщенного *n*-гексаном.

В качестве элюента для *n*-алканов использовали *n*-гексан, для более полярной фракции – смесь 1:1 (v/v) *n*-гексан:хлороформ. Пропускали через колонку 10 мл *n*-гексана и собирали элюат в отдельную пробирку. Затем повторяли промывку колонки 10 мл смеси 1:1 (v/v) *n*-гексан:хлороформ и также собирали элюат в отдельную пробирку (рис.6). Используемые для элюирования целевых компонентов объемы растворителей были определены в серии предварительных экспериментов с дробным отбором элюата порциями по 1 мл.

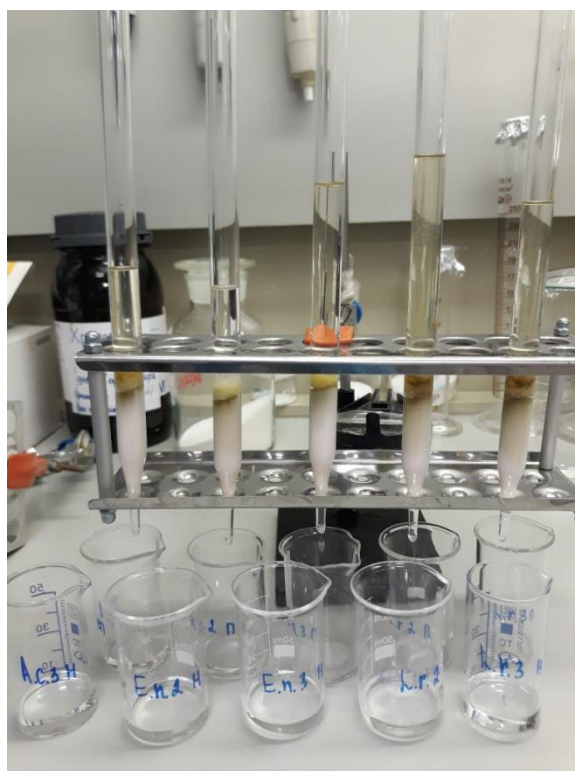


Рисунок 6. Разделение неполярных и полярных компонентов на колонке с оксидом алюминия

Каждую из полученных фракций упаривали до объема примерно 0,2 мл, количественно переносили в хроматографическую виалу и доводили до объема 1 мл *n*-гексаном. В первой неполярной фракции определяли *n*-алканы, во второй, более полярной - *n*-метил-кетоны. Раздельный анализ фракций позволяет значительно улучшить качественную идентификацию и количественное определение *n*-алканов и *n*-метил-кетонов методом ГХ-МС с использованием фрагмент-ионов (базовых пиков) с m/z 57 для *n*-алканов и m/z 59 для *n*-метил-кетонов (рис.7). Указанные ионы присутствуют в масс-

спектрах гомологов обоих классов целевых компонентов, что, вследствие недостаточного разрешения их хроматографических пиков, осложняет определение *n*-метил-кетонов в пробах на фоне содержащихся в значительно более высоких концентрациях *n*-алканов.

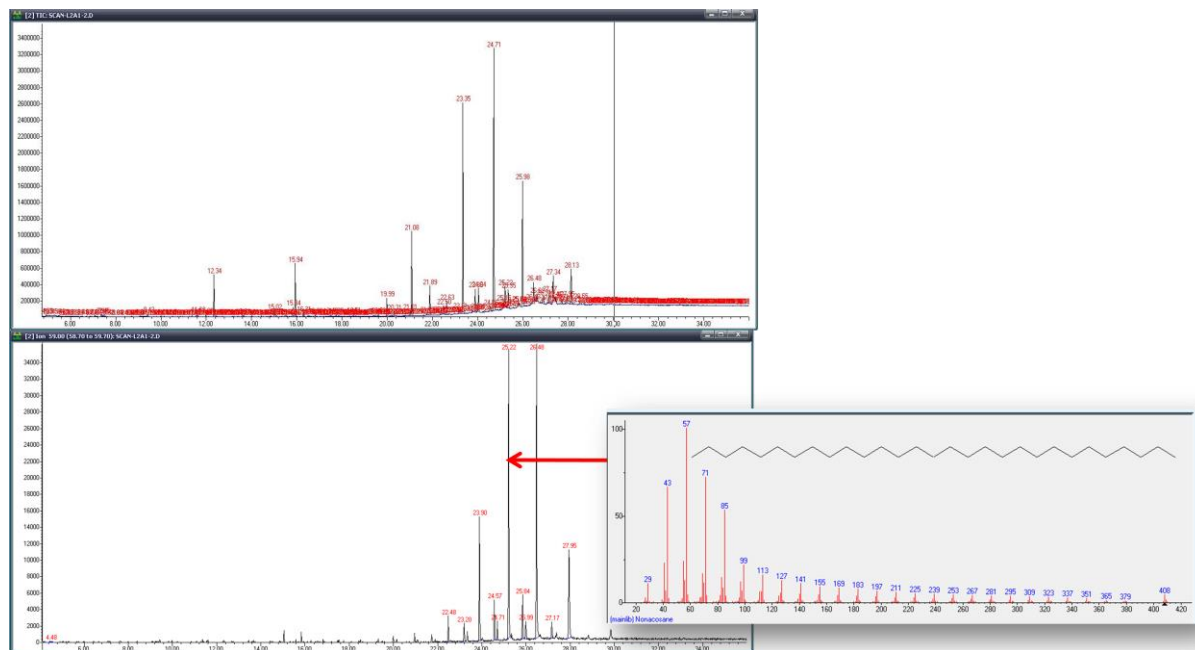


Рисунок 7. Хроматограмма неполярной фракции углеводородов в режиме полного ионного тока (сверху) и при выборе фрагмент-иона с m/z 57 (снизу)

2.3 Анализ проб методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии.

Качественную идентификацию и количественное определение целевых компонентов в пробах проводили методом капиллярной газо-жидкостной хроматографии на газовом хроматографе Agilent 6890N (Agilent Technologies) с квадрупольным масс-селективным детектором MSD5973N (Agilent Technologies) и системой обработки данных ChemStation, MSDChem.

Параметры газохроматографического процесса: колонка DB1-ms 30м×0.25мм ×0.25 мкм; инжектор – испаритель, режим – без деления потока; температура инжектора – 320°C; объем пробы – 1 мкл; газ-носитель – гелий; скорость потока газа-носителя – 1 мл/мин; температурная программа термостата – 60–320°C; температура трансфера – 300°C. Параметры масс-

спектрометра: тип ионизации – электронный удар; ионизирующее напряжение – 70 эВ; режим сканирования – полный ионный ток; скорость сканирования – 2.2 спектр/с; диапазон регистрируемых масс – 30–700 а.е.м.

Идентификацию *n*-алканов и *n*-метил-кетонов проводили по временам удерживания и масс-спектрам (библиотека NIST Mass Spectral Library, 2.0ver., 2008, 986100 соединений). Количественное определение проводили по доминирующим фрагмент-ионам. В качестве внешнего стандарта для калибровки детектора использовали количественную смесь *n*-алканов C₁₀–C₃₆ (Connecticut *n*-Hydrocarbon Mix) фирмы Supelco. Калибровку проводили по четырем уровням, отклонения от линейности не превышали 10%.

2.4 Исследование состава и содержания *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в профиле почв под широколиственными фитоценозами.

Для изучения профильного распределения *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в почвах под широколиственными фитоценозами были заложены два разреза («Л.О.2» и «Л.О.3») дерново-подзолистых почв (Umbric Retisols) (Классификация...,2004; IUSS Working Group WRB, 2006) под липняками (*Tilia cordata*) в Национальном парке «Лосиный остров» г. Москва.

Описание почвенного профиля приведено ниже:

АУ, 0-2 см. Темно-серый 10YR 3/2, легкий суглинок, свежий. Бусы по корням, дернина. Мелко-комковатая структура, рыхлый, есть копролиты. Граница волнистая, переход заметный по обилию корней.

АУ, 2-5 см. Темно-серый 10YR 3/2, легкий суглинок, свежий. Корни встречаются реже. Комковато-зернистый, рыхлый. Есть копролиты. Граница волнистая. Переход заметный по цвету.

АУЕЛ, 5-12 см. Окраска неоднородная, окраска неоднородная: на серовато-буром фоне (10YR 4/2) более темные пятна 10YR 3/2, влажноватый, легкий суглинок. Комковато-плитчатая структура, уплотненный. Корни единичные. Переход постепенный, граница волнистая.

EL, 12-28 см. Серовато-буровато-палевый (10YR 5/4), влажноватый, легкий суглинок, пылевато-плитчатая структура, уплотненный. Граница языковатая. Переход заметный по цвету и структуре.

BT, 28-60 см. Серовато-бурый (2.5Y 3/4), влажноватый, легкий суглинок. призмовидно-ореховатый, корней нет; твердый, плотный.

Почва – дерново-подзолистая типичная мелкая неглубокоосветленная легкосуглинистая на покровном суглинке, подстилаемом мореной.

В изучаемых профилях были определены следующие параметры: pH водной вытяжки (при соотношении почва:вода 1:2,5), отношение C/N (C и N измерены на элементом анализаторе) и содержание фракций элементарных почвенных частиц, полученное ареометрическим методом (ГОСТ 12536-2014) (табл.3).

Из почвенных горизонтов AY (слои 0–2 и 2–5 см), AYEL (5–12 см), EL (12–28 см), BT (28–60 см) отобрали по пять точечных проб. Для каждого слоя почвы из точечных проб готовили смешанные, которые высушивали до воздушно-сухого состояния.

Таблица 3. Некоторые характеристики почвенных горизонтов дерново-подзолистых почв под липняками парка «Лосиный остров»

Точка отбора	Горизонт	рН вод.	C/N	Содержание (%) фракций элементарных почвенных частиц диаметром (мм)							
				1,0-0,5	0,5-0,25	0,25-0,05	0,05-0,01	0,01-0,005	0,005-0,001	<0,001	Физ.глина (<0,01)
«Л.О.2»	AY (0-2см)	6,1±0,1	14±1	7,8	8,3	22,4	32,4	10,5	9,4	9,2	29,1
	AY (2-10см)	5,9±0,1	13±1	6,5	7,6	20,4	36,4	7,9	10,8	10,4	29,1
	AYEL	5,7±0,2	12±1	7,5	8,8	22,1	35,1	9,0	11,5	6,0	26,5
	EL	5,5±0,1	9±2	8,5	7,6	30,2	24,2	11,0	12,0	6,5	29,5
	BT	5,9±0,1	7±2	8,9	10,9	31,7	18,8	9,9	9,6	10,2	29,7
«Л.О.3»	AY (0-2см)	6,2±0,1	13±1	6,4	8,1	21,7	34,9	9,2	8,5	11,2	28,9
	AY (2-10см)	5,9±0,1	12±1	7,1	6,6	22,3	35,5	9,0	9,6	9,9	28,5
	AYEL	5,7±0,1	12±2	8,9	7,3	25,1	34,1	10,4	9,7	4,5	24,6
	EL	5,4±0,1	11±1	6,7	6,9	32,8	20,5	12,8	14,7	5,6	33,1
	BT	5,9±0,2	9±2	7,4	6,9	33,5	23,8	8,9	8,1	11,4	28,4

2.5 Исследование сезонных изменений липидного комплекса верхних горизонтов почв под липняками.

Для проведения сезонного пробоотбора четыре площадки опробования («Л.О.1», «Л.О.2», «Л.О.3», «Л.О.4») были заложены в Национальном парке «Лосиный остров» в 30-м и 32-м кварталах парка.

Все площадки расположены между 3–4 деревьями в фитоценозах с липой сердцевидной (*Tilia cordata*) в первом ярусе, лещиной обыкновенной (*Corylus avellana*), кленом платанолистным (*Acer platanoides*) и рябиной обыкновенной (*Sorbus aucuparia*) во втором ярусе. В пределах выбранных площадок травянистый ярус был представлен снытью обыкновенной (*Aegopodium podagraria*), осокой волосистой (*Carex pilosa*), пролесником лесным (*Mercurialis perennis*), щитовником мужским (*Dryopteris filix-mas*), зеленчуком желтым (*Galeobdolon luteum*) без выраженного доминирования; на поверхности почвы местами встречались листостебельные мхи и водоросли (рис.8).



Рисунок 8. Площадка пробоотбора в Национальном парке «Лосиный остров»

Дерново-подзолистые почвы соответствуют описанию, приведенному выше для разрезов «Л.О.2» и «Л.О.3» (Классификация...,2004; IUSS Working

Group WRB, 2006) с подстилкой, представленной недифференцированным растительным опадом текущего года (Киселева, 2006; Прокофьева с соавт., 2011).

Пробы отбирали в пяти точках в пределах площадки опробования. Отбор подстилок производили с поверхности почвы площадью 0.0625 м². Пробы подстилок высушивали до воздушно-сухого состояния и взвешивали, из точечных проб растительного материала готовили смешанную пробу. Пробы почв отбирали с глубины 0-5 и 5-10 см, из точечных проб готовили смешанные, которые высушивали до воздушно-сухого состояния. Отбор производили в ноябре после окончания листопада, в мае – начало вегетации и в сентябре – до листопада. Определяемые параметры образцов приведены в таблице 4.

Таблица 4. Некоторые характеристики верхних почвенных горизонтов дерново-подзолистых почв под липняками парка «Лосиный остров», отобранных в разные сезоны года

Точка отбора	Месяц	Слой, см	рН вод.	C/N	Содержание (%) фракций элементарных почвенных частиц диаметром (мм)							
					1,0-0,5	0,5-0,25	0,25-0,05	0,05-0,01	0,01-0,005	0,005-0,001	<0,001	Физ.глина (<0,01)
«Л.О.1»	ноябрь	0-5см	6,0±0,1	13±1	8,7	10,2	22,4	30,4	9,4	9,8	9,1	28,3
		5-10см	6,0±0,1	14±2	7,9	10,1	21,4	33,4	7,8	10,2	9,2	27,2
	май	0-5см	6,1±0,1	14±1	8,8	9,9	22,1	32,5	6,9	10,5	9,3	26,7
		5-10см	6,1±0,1	14±2	8,9	10,2	21,3	32,6	7,3	10,6	9,1	27,0
	сентябрь	0-5см	6,2±0,2	13±1	7,6	10,4	22,5	32,8	7,5	10,2	9,0	26,7
		5-10см	6,1±0,1	13±1	9,1	10,5	22,2	31,2	7,8	10,5	8,7	27,0
«Л.О.2»	ноябрь	0-5см	5,9±0,2	13±1	7,1	9,7	23,1	32,8	8,1	10,3	8,9	27,3
		5-10см	6,0±0,1	13±2	7,5	9,5	21,2	34,8	8,2	9,8	9,0	27,0
	май	0-5см	6,1±0,1	13±1	9,7	11,2	20,7	31,5	8,1	9,5	9,3	26,9
		5-10см	6,2±0,2	11±2	6,0	8,8	22,6	35,5	8,3	9,6	9,2	27,1
	сентябрь	0-5см	6,0±0,1	14±1	7,8	8,3	22,4	32,4	10,5	9,4	9,2	29,1
		5-10см	6,0±0,1	12±1	6,5	7,6	20,4	36,4	7,9	10,8	10,4	29,1
«Л.О.3»	ноябрь	0-5см	6,1±0,1	11±1	8,8	9,2	21,3	33,3	8,5	9,4	9,5	27,4
		5-10см	6,1±0,2	10±2	5,1	9,4	21,8	36,1	8,1	9,9	9,6	27,6
	май	0-5см	6,0±0,1	12±1	7,8	8,7	22,5	34,8	7,9	9,0	9,3	26,2
		5-10см	5,9±0,1	11±1	6,1	8,4	22,0	35,8	8,2	10,1	9,4	27,7
	сентябрь	0-5см	6,2±0,1	13±1	6,4	8,1	21,7	34,9	9,2	8,5	11,2	28,9
		5-10см	6,2±0,2	12±1	7,1	6,6	22,3	35,5	9,0	9,6	9,9	28,5
«Л.О.4»	ноябрь	0-5см	6,1±0,1	11±1	7,0	8,6	23,4	32,1	8,5	10,2	10,2	28,9
		5-10см	6,0±0,1	10±2	8,0	9,1	21,4	33,4	8,8	9,6	9,7	28,1
	май	0-5см	6,0±0,1	13±1	8,4	9,2	22,5	32,7	7,9	9,7	9,6	27,2
		5-10см	6,1±0,1	12±1	7,4	8,8	23,2	32,8	8,5	9,5	9,8	27,8
	сентябрь	0-5см	6,2±0,2	12±2	8,7	9,2	22,1	31,9	8,7	10,0	9,4	28,1
		5-10см	6,0±0,1	12±1	7,6	9,5	22,5	32,5	8,9	9,8	9,2	27,9

2.6 Исследование сезонных изменений липидного комплекса верхних горизонтов почв под различными широколиственными фитоценозами.

Для проведения сезонного пробоотбора три площадки опробования были заложены в лесопарке на Воробьевых горах (г. Москва, Большой газон МГУ) под широколиственными фитоценозами между 3–4 деревьями. Приблизительный возраст почв – 60 лет (Прокофьева, Герасимова, 2018).

В исследованных точках доминантами верхнего яруса являются: клен платанолистный (*Acer platanoides*), липа сердцевидная (*Tilia cordata*), клен и липа (далее – кленово-липовое сообщество). Данные парцеллы (точки «В.Г.кл», «В.Г.л», «В.Г.кл+л» соответственно) характеризуются сходным типом биологического круговорота, с приблизительно равной антропогенной нагрузкой. Постоянный слой подстилки не формируется и представлен недифференцированным опадом текущего года, т.к. основная его масса перерабатывается на поверхности в течение года до следующего листопада. Описание исследуемых почв приведено ниже (табл.5).

AU1, 0-10 см. Темно-серый 10YR 3/2, средний суглинок, свежий. Верхние 5см слабо сформированная дернина, ниже встречаются бусы по корням. Зернисто-комковато-порошистый, копролиты, рыхлый, единичные включения стекла. Граница волнистая. Переход постепенный по обилию корней и цвету.

AU2, 10-33 см. Окраска неоднородная: на серовато-буром фоне (10YR 4/2) более темные пятна 10YR 3/2, средний суглинок, свежий. Корни. Комковато-зернистый, рыхлый. Граница волнистая. Переход заметный по цвету

AUC#, 33-55 см. Серовато-буровато-палевый (10YR 5/4), влажноватый, средний суглинок, ореховато-комковатый; корни единичные, твердоватый, уплотненный. Переход постепенный, граница волнистая.

S# (техногенный перемещенный природный субстрат), 55-100 см. Светло-бурый (2.5Y 4/4), влажноватый, опесчаненный средний суглинок, призмовидно-ореховатый, корней нет; твердый, плотный.

Почва - темногумусовая типичная насыщенная сильно гумусированная среднесуглинистая почва на техногенных отложениях (Haplic Phaeozems) (Классификация...,2004; IUSS Working Group WRB, 2006; Прокофьева, Герасимова, 2018).

Различия между точками заключаются как в составе первого яруса, так и в степени развития травянистого покрова. Проективное покрытие травянистого яруса (представленного снытью обыкновенной (*Aegopodium podagraria*), осокой волосистой (*Carex pilosa*), пролесником лесным (*Mercurialis perennis*) без выраженного доминирования) выше всего под липняком («В.Г.л»), хотя оно относительно невысокое. Под кленово-липовым сообществом («В.Г.кл+л») напочвенный ярус выражен значительно слабее, под кленом («В.Г.кл») он отсутствует (рис.9). Данное различие непосредственно сказывается на процессе формирования почвенной структуры при исходно равных условиях – минеральной матрице и типе биологического круговорота. Плотность выше, а оструктуренность хуже у почвы под кленовым сообществом.

Сезонные отборы проб (ноябрь - после листопада, май – начало вегетации, сентябрь – до листопада) производили в пяти точках в пределах площадки опробования. Отбор подстилок производили с поверхности почвы площадью 0.0625 м². Пробы почв отбирали с глубины 0-10 см. Из точечных проб готовили смешанные, которые использовали для дальнейших анализов.

Таблица 5. Некоторые характеристики верхнего почвенного горизонта темногумусовой почвы лесопарка на Воробьевых горах, отобранного в разные сезоны года

Точка отбора	Месяц	рН вод.	C/N	Содержание (%) фракций элементарных почвенных частиц диаметром (мм)							
				1,0-0,5	0,5-0,25	0,25-0,05	0,05-0,01	0,01-0,005	0,005-0,001	<0,001	Физ.глина (<0,01)
«В.Г.кл»	ноябрь	6,9±0,1	9±1	8,4	9,4	15,2	30,4	10,2	11,4	15,0	36,6
	май	6,7±0,2	10±1	7,5	9,0	14,8	31,2	10,1	12,7	14,7	37,5
	сентябрь	6,8±0,1	10±1	7,8	9,3	15,0	30,8	9,8	12,2	15,1	37,1
«В.Г.кл+л»	ноябрь	6,8±0,1	8±1	8,6	9,2	16,2	29,6	8,5	13,0	14,9	36,4
	май	6,9±0,1	5±2	7,9	8,9	16,4	30,3	8,8	12,5	15,2	36,5
	сентябрь	6,9±0,2	7±1	7,7	8,8	16,3	29,9	9,4	12,9	15,0	37,3
«В.Г.л»	ноябрь	6,9±0,1	7±1	8,1	9,2	15,0	31,3	8,9	12,5	15,0	36,4
	май	6,8±0,1	8±1	7,8	9,5	15,1	31,0	9,2	12,8	14,6	36,6
	сентябрь	6,9±0,1	8±1	8,9	9,9	15,1	30,2	9,0	12,0	14,9	35,9



Рисунок 9. Площадки пробоотбора в лесопарке на Воробьевых горах – кленовое (слева) и липняковое (справа) сообщества

2.7 Выделение водопрочных агрегатов из образцов почв.

Водопрочные агрегаты были выделены методом мокрого просеивания в трехкратной повторности для каждого образца. Для последующего анализа фракции водопрочных агрегатов высушивали в фарфоровых чашках в сушильном шкафу при температуре 60°C до воздушно-сухого состояния (Вадюнина, Корчагина, 1986).

2.8 Анализ проб.

Воздушно-сухие пробы подстилок гомогенизировали с помощью мельницы с ножевыми лезвиями. Пробы из минеральных горизонтов почвы растирали в фарфоровой ступке и пропускали через сито с диаметром отверстий 1мм.

Для полученных образцов определяли:

- содержание С и N на CHNS-анализаторе Vario EL III (Elementar),
- состав и содержание *n*-алканов и *n*-метил-кетонов, выделенных по оптимизированной процедуре экстракции, методом ГХ-МС.

Аналитическая повторность всех проведенных определений была трехкратная.

2.9 Расчет показателей.

По полученным результатам количественных определений для всех образцов рассчитывали следующие показатели:

- содержание суммы *n*-алканов C₁₇–C₃₆ (мкг/г C_{орг});

– содержание суммы нечетных *n*-алканов с длиной C-цепи 25–35 (мкг/г C_{орг}), как преобладающих в составе биомассы высших растений – доминирующего источника алифатических углеводородов в незагрязненных почвах;

– содержание суммы *n*-метил-кетонов C₁₇–C₃₆ (мкг/г C_{орг});

– содержание суммы нечетных *n*-метил-кетонов с длиной C-цепи 25–35, продуктов окисления *n*-алканов с аналогичной длиной углеродной цепи;

– индекс ОЕР (odd-over-even predominance), который характеризует состав *n*-алканов (отношение содержания *n*-алканов с нечетной и четной длиной цепи), позволяет оценить источник поступления *n*-алканов в почву, в частности, указывает на интенсификацию микробиологической активности в почве (Zech et al., 2012; Norris et al., 2013):

$$OEP = \frac{nC_{25} + nC_{27} + nC_{29} + nC_{31} + nC_{33}}{nC_{24} + nC_{26} + nC_{28} + nC_{30} + nC_{32}}$$

– индекс LSR (long-short ratio) – отношение алканов с длинной и короткой углеродной цепью, также позволяет учесть вклад низших растений и микробной биомассы в состав почвенных *n*-алканов (Nichols, Huang, 2007; Zech et al., 2012):

$$LSR = \frac{\sum_{n\text{-алканов с длиной C-цепи} \geq 25}}{\sum_{n\text{-алканов с длиной C-цепи} < 25}}$$

– отношение *n*-алканы/2-метил-кетоны (А/К) – величина относительного накопления продуктов деградации исходных *n*-алканов; используется как показатель повышения интенсивности переработки растительных липидов в почвенной мортмассе (Jetter et al., 2006; Sachse, 2009; Zech et al., 2011; Xia et al., 2015):

$$A/K = \frac{\sum_{n\text{-алканов с длиной C-цепи} 25-34}}{\sum_{n\text{-метил-кетонов с длиной C-цепи} 25-34}}$$

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Excel и Statistica.

Глава 3. Результаты и обсуждение

3.1 Исследование сезонных изменений скоростей трансформации органического вещества в почвах под широколиственными растительными сообществами.

В течение периода наблюдений в образцах подстилки и почвы под широколиственным растительным сообществом высокое содержание отмечено для 4-гидроксibenзойной, бензойной и салициловой кислот, которые являются и продуктами разложения лигнина, и образуются в ходе метаболизма микроорганизмов. В образцах почвы преобладает бензойная кислота, в подстилке – 4-гидроксibenзойная. Минорными компонентами выступают кислоты, образующиеся в ходе биохимических процессов в растительных клетках - например, коричная.

Для подстилки лиственного сообщества наиболее высокое содержание всех БКК было обнаружено во время листопадного периода (500 мкг/гC_{орг}). В это время в почве содержание кислот, являющихся продуктами распада лигнина, не очень высокое – 40 мкг/гC_{орг}. (рис.10,11) Осенью происходит накопление на поверхности почвы опавшего листового материала, который микроорганизмы начинают активно перерабатывать. При отсутствии поступления в почвенный слой корневого опада и активной деятельности в нем зообиоты основная масса водорастворимых продуктов деструкции локализована в подстилочном слое.

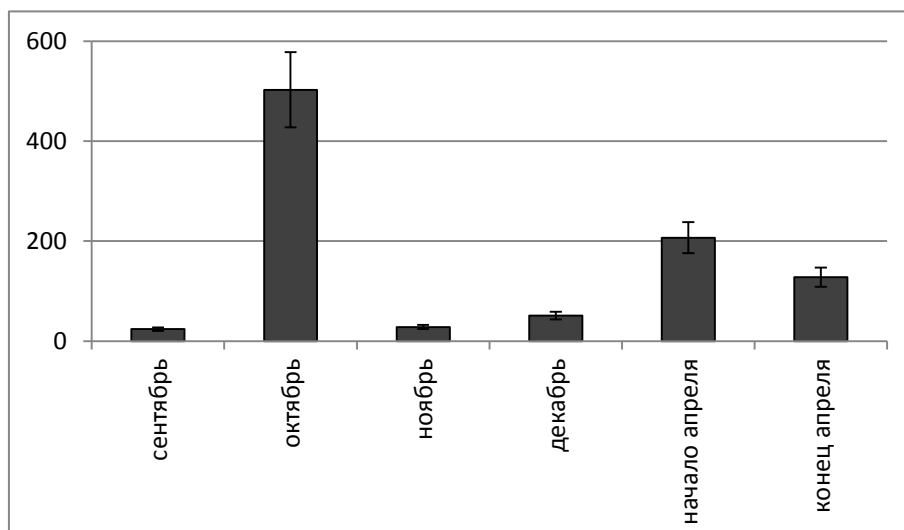


Рисунок 10. Динамика содержания суммы БКК (мкг/г) в слое подстилки модельного широколиственного сообщества.

При наступлении холодов жизнедеятельность микроорганизмов замедляется, в почве и подстилке сообщества остается некоторый пул из образовавшихся метаболитов и продуктов распада легкоразлагаемого растительного материала. Содержание кислот в этот период практически не изменяется и составляет около 100 мкг/гC_{орг} в почве и 50 мкг/гC_{орг} – в подстилке.

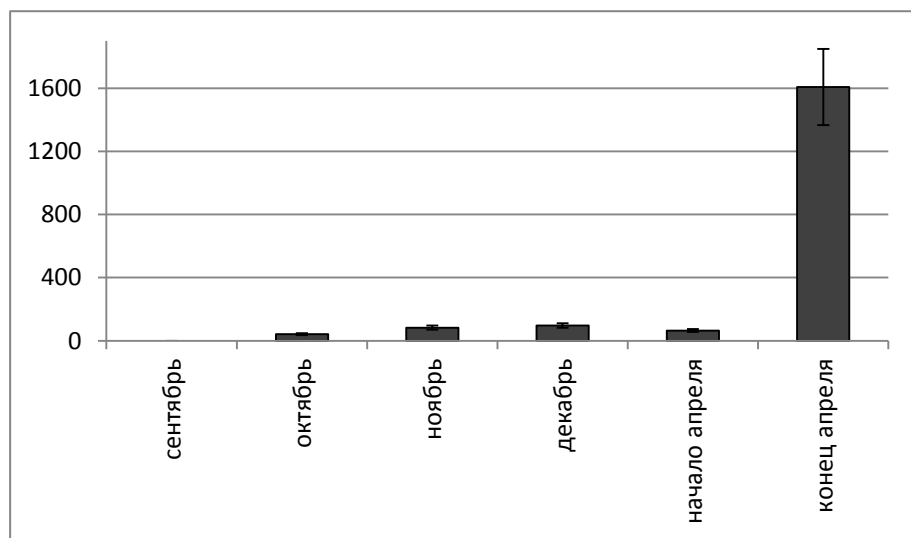


Рисунок 11. Динамика содержания суммы БКК (мкг/г С) в верхнем горизонте почвы модельного широколиственного сообщества.

К окончанию снеготаяния жизнедеятельность микроорганизмов вновь активизируется. Так как самым устойчивым к разложению компонентом опада является лигнин, который в этот период остается фактически единственным источником питательных веществ в подстилке, микроорганизмы начинают интенсивно его перерабатывать. Поэтому в середине весны количество БКК, образующихся в подстилке при разложении лигнина и мигрирующими с талыми водами, достигает максимума в верхнем минеральном горизонте – более 1600 мкг/гC_{орг}. Далее в течение вегетационного сезона содержание бензолкарбоновых кислот постепенно снижается по мере истощения запасов листовой мортмассы до момента начала следующего листопада. Минимальные показатели эмиссии CO₂

(рис.12) также приурочены к до листопадному периоду (Анохина с соавт., 2018).

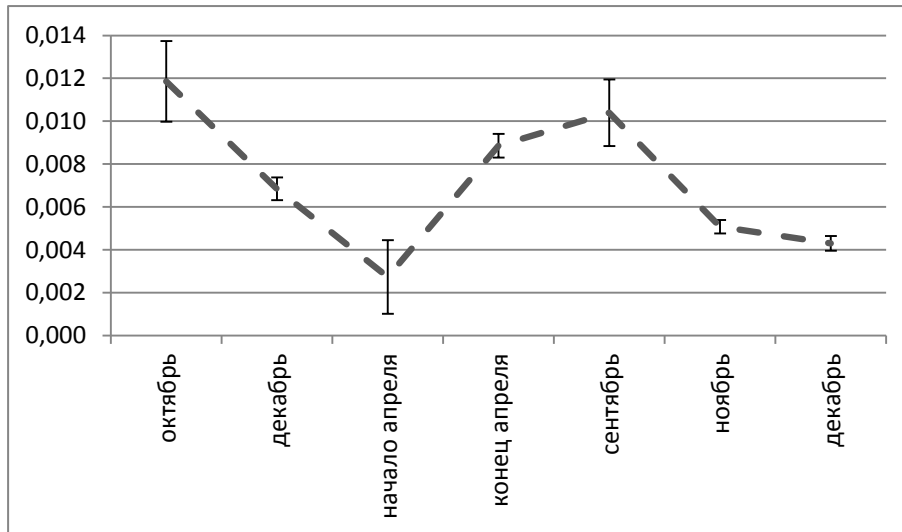


Рисунок 12. Величины базального дыхания (мг С-СО₂/ч*г) почв широколиственных сообществ лизиметров

На основании проведенного исследования были выбраны временные точки для выполнения пробоотбора, отражающие для данного типа листопадных растительных сообществ периоды, контрастные по запасам и скорости трансформации растительной мортмассы - основного источника липидов в верхних горизонтах почвы:

- начало вегетации после весеннего снеготаяния (апрель-май),
- конец вегетации, период до начала листопада (сентябрь),
- постлистопадный период (ноябрь).

3.2 Оптимизация методики выделения *n*-алканов и *n*-метил-кетонов из проб почв и подстилок.

В настоящий момент метод ASE рассматривается как наиболее перспективный для экстракции биомаркеров типа алканов, спиртов, кетонов, жирных кислот из твердых и полутвердых образцов с использованием традиционных растворителей (гексана, дихлорметана, хлороформа, метанола и др.). Экстракция субкритическими растворителями рекомендована Агентством по охране окружающей среды США в качестве метода выделения широкого набора полуволетучих органических соединений

различной полярности из твердых матриц (EPA Methods, 2007). Повышение температуры (до 75°C и выше) ускоряет процесс экстракции, в то время как высокое давление (до 20 МПа) позволяет сохранять растворитель в жидком состоянии, обеспечивая безопасное и полное извлечение аналита, которое достигается, в том числе за счет дополнительной промывки образца в автоматическом режиме. Объем получаемого экстракта не превышает 60–80 мл, что позволяет в ряде случаев использовать его для непосредственного анализа без дополнительной очистки и концентрирования (Richter et al., 1996; Popp et al., 1997).

Потенциальные преимущества метода ASE перед другими способами выделения могут быть реализованы только за счет тщательного выбора условий экстракции: типа используемых растворителей, температуры и времени экстракции, количества циклов обработки и промывки образцов.

Модернизация исходной процедуры экстракции проводилась последовательно через ряд этапов:

1. Предварительные эксперименты показали, что при использовании на ASE в качестве экстрагента смеси дихлорметан:метанол при 75°C даже при давлении 17 МПа (2500 psi) часто происходит разгерметизация экстракционных ячеек, что связано с высоким давлением насыщенных паров дихлорметана. Поэтому дихлорметан был заменен на хлороформ - растворитель, широко используемый в «классических» процедурах экстракции липидов (Christie, Han, 2010). Это позволило существенно (до 10,3 МПа) снизить давление в системе ASE при экстракции.

В методике ASE, экстракции, приведенной US EPA (EPA Methods, 2007), а также в технических рекомендациях фирмы-производителя Dionex (Dionex Application Note 338) температура экстракции 100-180°C приведена как оптимальная для извлечения полуволетучих органических соединений (в том числе углеводов) из твердых матриц. Так как в литературе отсутствуют какие-либо указания на трансформацию (деструкцию или окисление) *n*-алканов и *n*-метил-кетонов при температуре экстракции выше

75°C, была использована температура 100°C. Были опробованы следующие варианты экстрагентов: 1) CHCl₃; 2) CHCl₃:CH₃OH 3:1 (v/v); 3) CHCl₃:CH₃OH 1:1 (v/v). Время статической экстракции - 20 минут, давление 10,3 МПа (1500 psi).

2. Температура, при которой ведется экстракция, может заметно влиять на полноту извлечения *n*-алканов и *n*-метил-кетонов, поэтому был определен выход целевых компонентов при 100°C, 125°C и 150°C.

3. При использовании метода ASE (Dionex Application Note 338) рекомендуется сокращать время статического нагрева экстракционной ячейки, увеличивая при этом число циклов экстракции. Поэтому был исследован выход *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в процессе 4 последовательных обработок образцов растворителем.

4. В работе (Jansen et al., 2006) было обнаружено, что относительный выход соединений разной полярности (*n*-алканов и *n*-жирных кислот) очень чувствителен к небольшим изменениям полярности растворителя. Поэтому был исследован выход целевых компонентов при последовательной экстракции различными растворителями (градиентная экстракция).

Изменение состава растворителя. Замена дихлорметана на хлороформ в смеси с метанолом приводит к увеличению выхода *n*-алканов из образцов почвы и подстилки на 5-7%, выход *n*-метил-кетонов увеличивается на 4-5%. Использование чистого хлороформа приводит к незначительному снижению выхода анализируемых компонентов из образцов почвы и подстилки. Так как наблюдался только небольшой тренд в сторону увеличения выхода *n*-алканов и *n*-метил-кетонов с увеличением доли метанола в экстракционной смеси, в дальнейших экспериментах использовалась система CHCl₃:CH₃OH 3:1 v/v.

При использовании в качестве экстрагента смеси CH₂Cl₂:CH₃OH 93:7 v/v при 17 МПа (2500 psi) в ряде случаев происходила разгерметизация ячеек, в то время как для вариантов экстракции смесью CHCl₃ и CH₃OH при 10,3 МПа (1500 psi) этого явления не наблюдалось.

Влияние температуры на полноту экстракции. При использовании для экстракции смеси $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (3:1 v/v) при давлении 10,3 МПа и времени статической выдержки 20 минут достоверных различий между выходом *n*-алканов и *n*-метил-кетонов для температур экстракции 100°C, 125°C и 150°C обнаружено не было. Дальнейшие эксперименты проводились при 100°C.

Влияние повторной экстракции на выход *n*-алканов и *n*-метил-кетонов.

Известно, что увеличение циклов экстракции может существенно повысить полноту извлечения анализируемых компонентов. Система ASE200 Dionex позволяет в автоматическом режиме выполнять необходимое количество повторных обработок, при этом экстракты собираются в отдельные флаконы. Было проведено 4 цикла экстракции смесью $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 3:1 v/v (100°C, 10,3 МПа) по 5 минут статической выдержки каждый. Полученные результаты были сопоставлены с результатами однократной экстракции в тех же условиях со временем статической выдержки 20 минут.

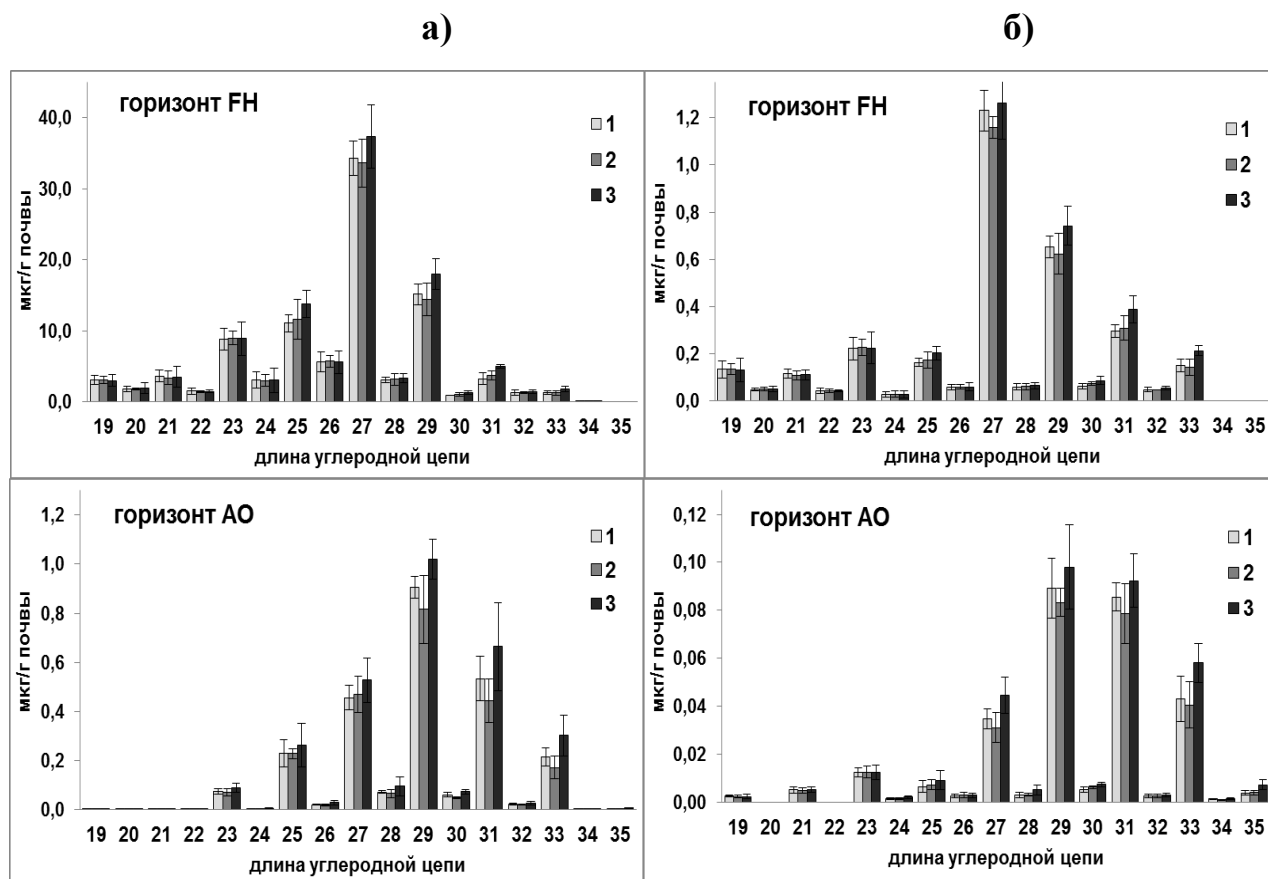


Рисунок 13. Влияние количества повторных обработок экстрагентом на выход (в мкг/г) *n*-алканов (а) и *n*-метил-кетонов (б) из

образцов подстилки и почвы (среднее значение \pm стандартное отклонение, $n=5$).

Условия экстракции:

1 - $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 3:1 v/v , 100°C, 10300 кПа, 20 минут, 1 цикл;

2 - $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 3:1 v/v , 100°C, 10300 кПа, 5 минут, 2 цикла;

3 - $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 3:1 v/v , 100°C, 10300 кПа, 5 минут, 4 цикла.

Анализ графиков (рис. 13) показывает, что уже после второй пятиминутной обработки суммарный выход как *n*-алканов, так и *n*-метил-кетонов достигает величин, полученных в экспериментах со временем статической выдержки 20 минут. В последующих 2 цикла экстракции извлекается дополнительно еще 10-15% *n*-алканов и *n*-метил-кетонов.

«Градиентная экстракция». В экспериментах по экстракции липидных биомаркеров из почв методом ASE было обнаружено, что увеличение давления в системе от 1000 до 2500 psi приводит, с одной стороны, к увеличению выхода *n*-алканов, а с другой – к небольшому снижению выхода нормальных жирных кислот (Jansen et al., 2006). Авторы приписывают этот эффект уменьшению полярности растворителя при увеличении давления в системе.

Для того чтобы извлечь наиболее гидрофобные высокомолекулярные фракции *n*-алканов и *n*-метил-кетонов из образцов почвы и подстилки в 3-м и 4-м циклах экстракции смесь $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 3:1 v/v была заменена на чистый CHCl_3 . Использование менее полярного растворителя на заключительной стадии экстракции позволило выделить на 25% больше *n*-алканов и *n*-метил-кетонов из образцов почвы, главным образом, за счет компонентов с длиной цепи $\text{C}_{27}\text{-C}_{35}$. Извлечение липидных компонентов из образцов подстилки увеличилось на 15% (рис. 14).

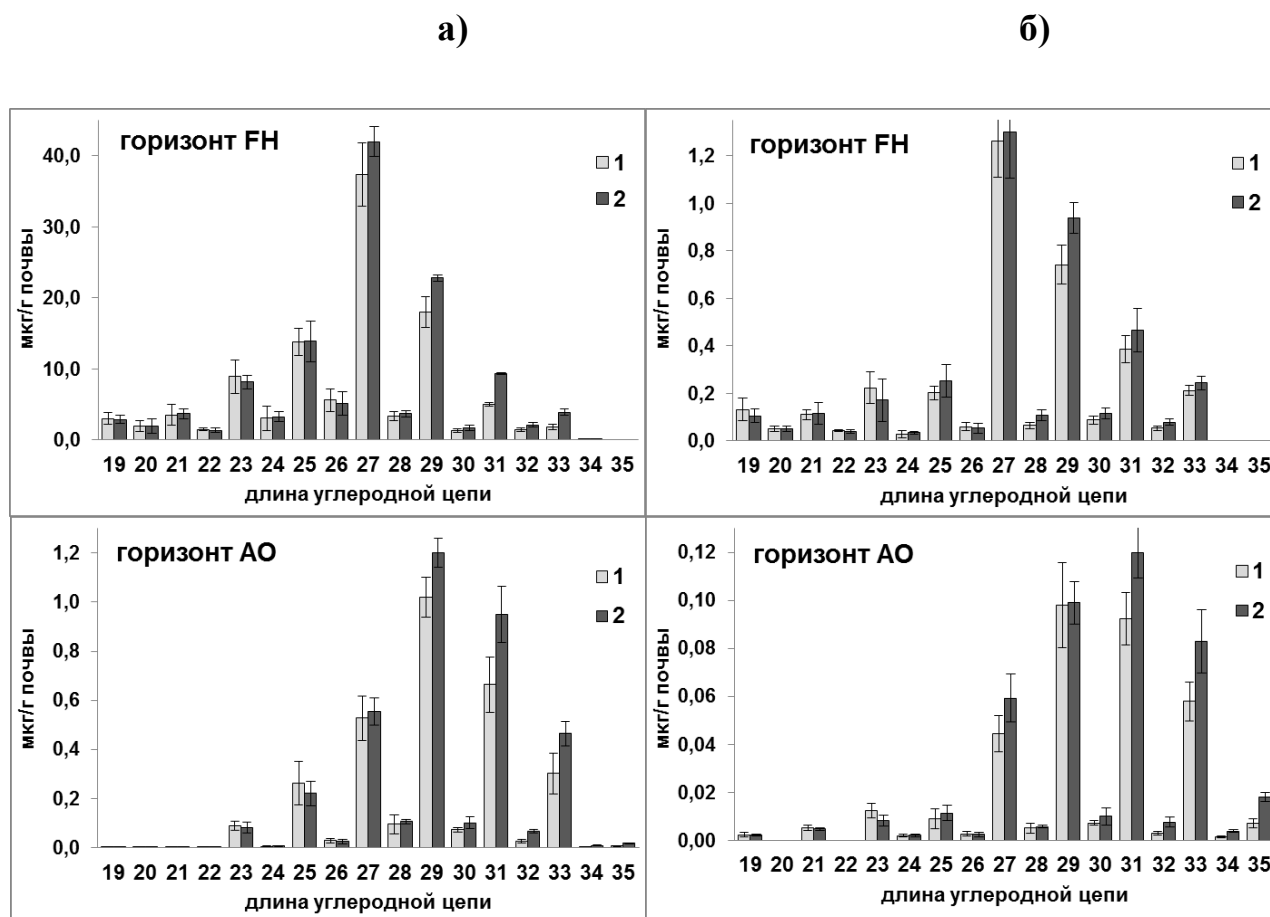


Рисунок. 14. Влияние «градиентной экстракции» на выход (в мкг/г) *n*-алканов (а) и *n*-метил-кетонов (б) из образцов подстилки и почвы (среднее значение ± стандартное отклонение, $n=5$).

Условия экстракции:

1 - $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 3:1 v/v , 100°C, 10300 кПа, 5 минут, 4 цикла;

2 - $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 3:1 v/v , 100°C, 10300 кПа, 5 минут, 2 цикла + CHCl_3 , 100°C, 10300 кПа, 5 минут, 2 цикла.

В целом по сравнению с оригинальной методикой изменение параметров экстракции позволило увеличить выход липидных компонентов из исследованных образцов почвы и подстилки на 51-56 и 28-35%, соответственно, преимущественно за счет лучшей экстракции гомологов с длиной цепи $>\text{C}25$ (таблица 6).

Таблица 6. Величины выхода (в мкг/г образца) липидных биомаркеров из образцов почвы и подстилки при разных процедурах экстракции

Образец	Суммарный выход C ₁₉ -C ₃₅ <i>n</i> -алканов		Суммарный выход C ₁₉ -C ₃₅ <i>n</i> -метил-кетонов	
	гор. FH	гор. АО	гор. FH	гор. АО
Оригинальная процедура экстракции (CH ₂ Cl ₂ :CH ₃ OH 93:7 ^v / _v , 75°C, 17МПа, 1 цикл по 20 минут)	92,9±4,2	2,44±0,13	3,19±0,13	0,29±0,02
Оптимизированная процедура экстракции (CHCl ₃ :CH ₃ OH 3:1 ^v / _v , 100°C, 10,3МПа, 2 цикла по 5 минут; CHCl ₃ , 100°C, 10,3МПа, 2 цикла по 5 минут)	125,5±4,5	3,82±0,18	4,08±0,26	0,44±0,02

Оптимизированный метод анализа *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в образцах почв и подстилок. 2,0 г почвы или 0,2 г подстилки в воздушно-сухом состоянии тщательно перемешивают с 2 г прокаленного кварцевого песка (размер зерна 0,25-0,3 мм) и помещают в экстракционную ячейку для системы ASE объемом 11 мл. Экстракция проводится при следующих условиях (для ASE200, Dionex): температура 100°C, давление 10,3 МПа (1500 psi), время предварительного нагрева - 1 мин, время статической выдержки - 5 минут, объем промывки растворителем 120%, время продувки инертным газом - 60 секунд, 2 цикла обработки смесью растворителей хлороформ:метанол 3:1 ^v/_v и 2 цикла - хлороформом.

Полученные экстракты вымораживают при (-20°C) в течение 1,5-2 часов, затем органические фазы объединяют, перенося в одну отгонную

колбу, и упаривают под вакуумом на роторном испарителе при 40°C до объема 0,05 мл. Остаток растворяют в 0,5 мл хлороформа и переносят в стеклянную колонку $d=10$ мм, заполненную 4 г оксида алюминия (II по Брокману) хроматографической градации. Пропускают через колонку 10 мл *n*-гексана, затем 10 мл смеси *n*-гексан:хлороформ 1:1^{v/v}, собирая элюаты в отдельные пробирки.

Полученные фракции упаривают до объема ~0,2 мл, количественно переносят в хроматографические вials и доводят до объема 1 мл *n*-гексаном. Полученные пробы анализируют методом ГХ-МС (рис. 15).

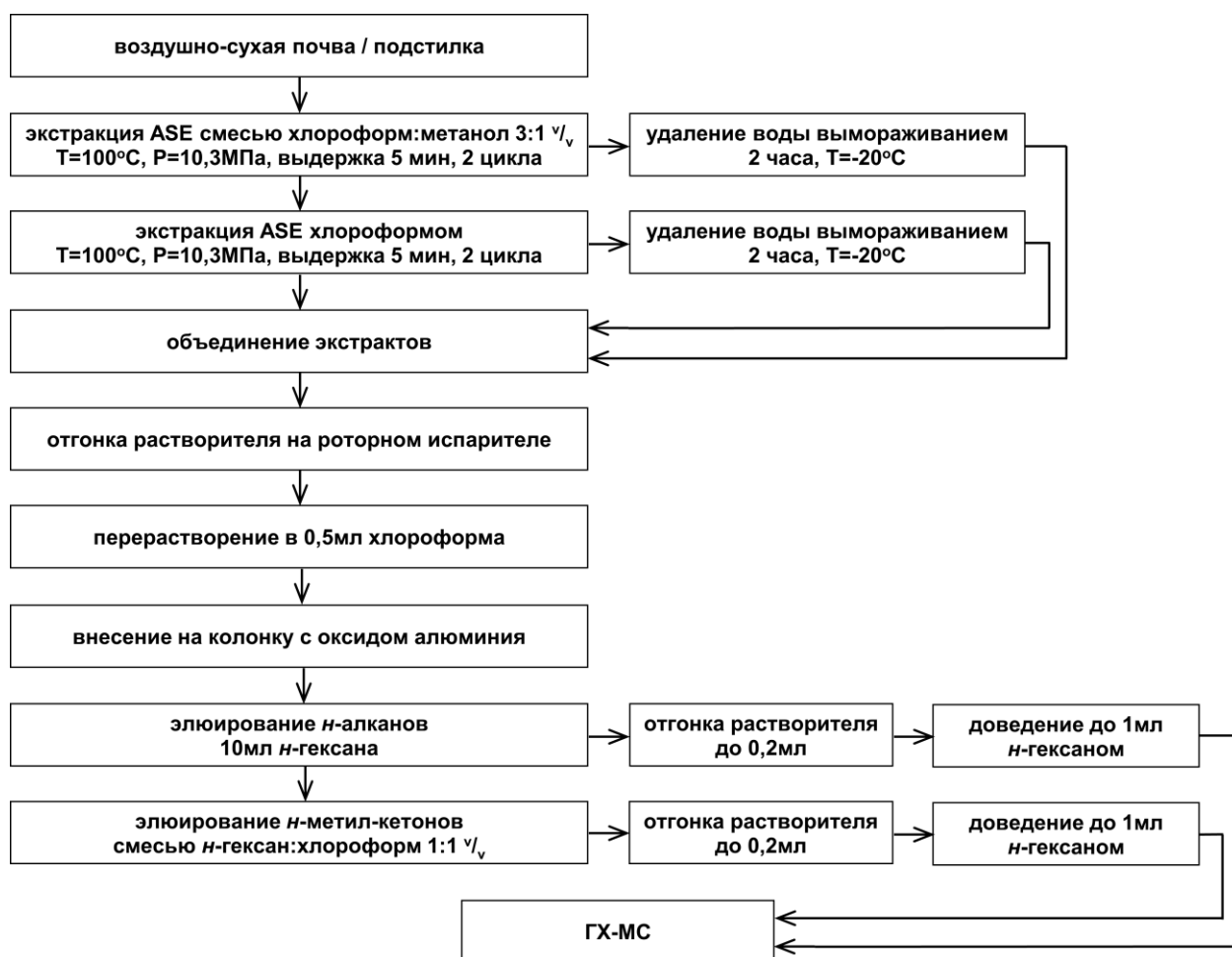


Рисунок. 15. Схема анализа образцов почв и подстилок при определении состава и содержания липидных биомаркеров методом ГХ-МС.

3.3 Исследование состава и содержания *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в профиле почв под широколиственными фитоценозами.

В составе *n*-алканов верхних горизонтов исследованных почв абсолютно доминируют длинноцепочечные нечетные соединения (табл. 4, рис. 14), что указывает на наземный растительный опад, как на основной источник липидов в верхней части органофилия. Доля их снижается в гор.АЕЛ (5–10 см), что выражается в некотором уменьшении значений индексов LSR и ОЕР и предполагает более значительный вклад углеводов микробной и корневой биомассы в углеродный пул гор.АУЕЛ по сравнению с гор. АУ. Для корневой биомассы характерно низкое содержание *n*-алканов (около 100 мкг/г С) и *n*-метил-кетонов (около 2 мкг/г С). В гомологическом составе алканов корневых липидов (рис. 16, 17) высока доля четных и короткоцепочечных гомологов - ОЕР и LSR для корневой массы составляют 2 и 5, соответственно. Доминирующим гомологом является C₂₉.

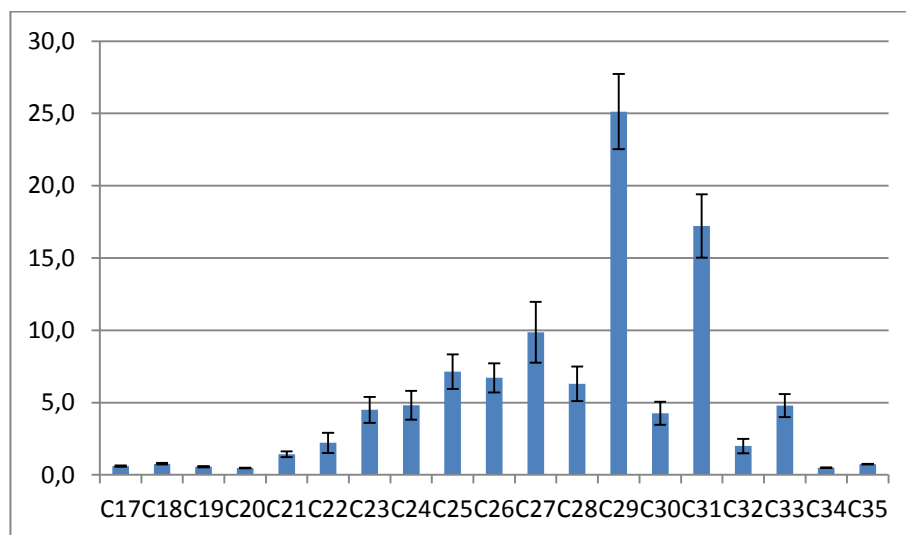


Рисунок 16. Содержание *n*-алканов (% от общей суммы) в корнях из верхнего горизонта дерново-подзолистой почвы

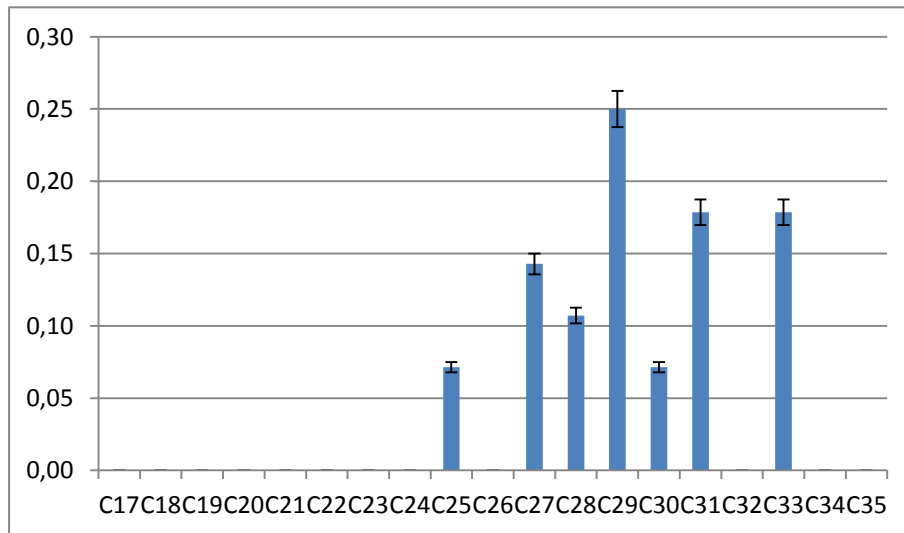


Рисунок 17. Содержание *n*-метил-кетонов (% от общей суммы) в корнях из верхнего горизонта дерново-подзолистой почвы

Относительное содержание *n*-алканов и *n*-метил-кетонов выше в 1.5 раза в слое 5–10 см по сравнению с вышележащим, что свидетельствует о более глубокой трансформации в гор.АЕL органического вещества и накоплении в нем липидной фракции, при этом соотношение А/К (*n*-алканы/2-метил-кетоны) достоверно не изменяется. Отличием гор.АУ и АУЕL является повышение в последнем вклада в состав *n*-алканов гомологов с длиной углеродной цепи C_{31} и C_{33} . *n*-Метил-кетоны характеризуются сходным с *n*-алканами типом распределения гомологов по длине углеродной цепи; различие заключается в более высоком относительном содержании в составе кетонов гомолога с длиной цепи C_{33} .

При переходе от верхних гумусовых гор.АУ и АУЕL к гор.ЕL уменьшается содержание в почве органического вещества, при этом резко возрастает доля линейных алканов в его составе с 200 мкг/г С в АУЕL до 700–900 мкг/г С в гор.ЕL. Также резко меняется тип распределения *n*-алканов по длине углеродной цепи. Доминирования нечетных длинноцепочечных гомологов во фракции алканов гор.ЕL не наблюдается (индекс ОЕР близок к 1), что указывает на преимущественно микробное (грибное и бактериальное) происхождение углеводов.

Таблица 7. Профильное распределение *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в дерново-подзолистых почвах под липняками НП «Лосиный остров» (средние значения ± стандартное отклонение, *n* = 3)

Горизонт		AY 0-2см	AY 2-5см	AYEL	EL	BT
«Л.О.2»						
C _{орг} , %		4,7±0,2	3,5±0,1	2,5±0,5	0,3±0,02	0,1±0,01
<i>n</i> -алканы	Сумма C ₁₇ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	130±35	150±18	195±59	900±55	570±20
	Сумма нечетных C ₂₅ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	97±11	107±10	150±26	369±42	229±12
	C ₂₉ /C ₃₁	1,2±0,1	1,2±0,1	0,5±0,1	1,8±0,2	0,7±0,1
OEP		10±2	8±2	6±2	1,0±0,2	2±1
LSR		5±1	4±1	4±1	4±1	2±1
<i>n</i> -метил-кетоны	Сумма C ₁₇ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	12±2	17±3	16±3	2,2±0,3	9,5±1,0
	Сумма нечетных C ₂₅ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	10±2	12±1	12±2	2,0±0,1	8,0±0,7
	A/K	11±1	9±1	12±1	409±10	60±6
«Л.О.3»						
C _{орг} , %		3,8±0,3	2,2±0,1	2,0±0,2	0,3±0,03	0,2±0,01
<i>n</i> -алканы	Сумма C ₁₇ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	140±35	150±18	220±59	680±63	590±25
	Сумма нечетных C ₂₅ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	105±28	107±16	169±27	279±22	237±14
	C ₂₉ /C ₃₁	1,4±0,2	1,0±0,1	1,0±0,1	1,2±0,1	0,6±0,1
OEP		11±2	7±2	5±2	1,0±0,3	3±1
LSR		6±2	4±2	3±2	3±2	1,0±0,3
<i>n</i> -метил-кетоны	Сумма C ₁₇ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	13±2	8,0±0,9	24±3	1,9±0,2	8,0±1,3
	Сумма нечетных C ₂₅ –C ₃₅ ,	9,0±0,7	6,0±0,9	16±2	1,5±0,2	5,2±0,4

мкг/гC _{орг} А/К	11±2	19±3	9±2	358±15	74±6
------------------------------	------	------	-----	--------	------

В горизонт ЕL дерново-подзолистой почвы ограничено поступление как остатков наземной растительности, вследствие низкой активности в этой зоне дождевых червей, перемешивающих подстилку с минеральными горизонтами (Nichols, Huang, 2007), так и значительных количеств корневого опада, поскольку основная масса травянистых корней локализована выше этого горизонта. Основным источником *n*-алканов становится в этом случае микробная биомасса, которая может поступать в гор.ЕL в виде водной суспензии бактериальных клеток или грибных гифов (Colina-Tejada et al, 1996), а также формироваться за счет развития в этом горизонте микрофлоры рассеяния, субстратом для которой служит инфильтрующееся из вышележащих горизонтов органическое вещество. В то же время содержание *n*-метил-кетонов в гор.ЕL довольно низкое – 2 мкг/г С (отношение А/К в среднем составляет 380), что может свидетельствовать о низкой скорости окисления углеводов в этой зоне почвы (рис.18).

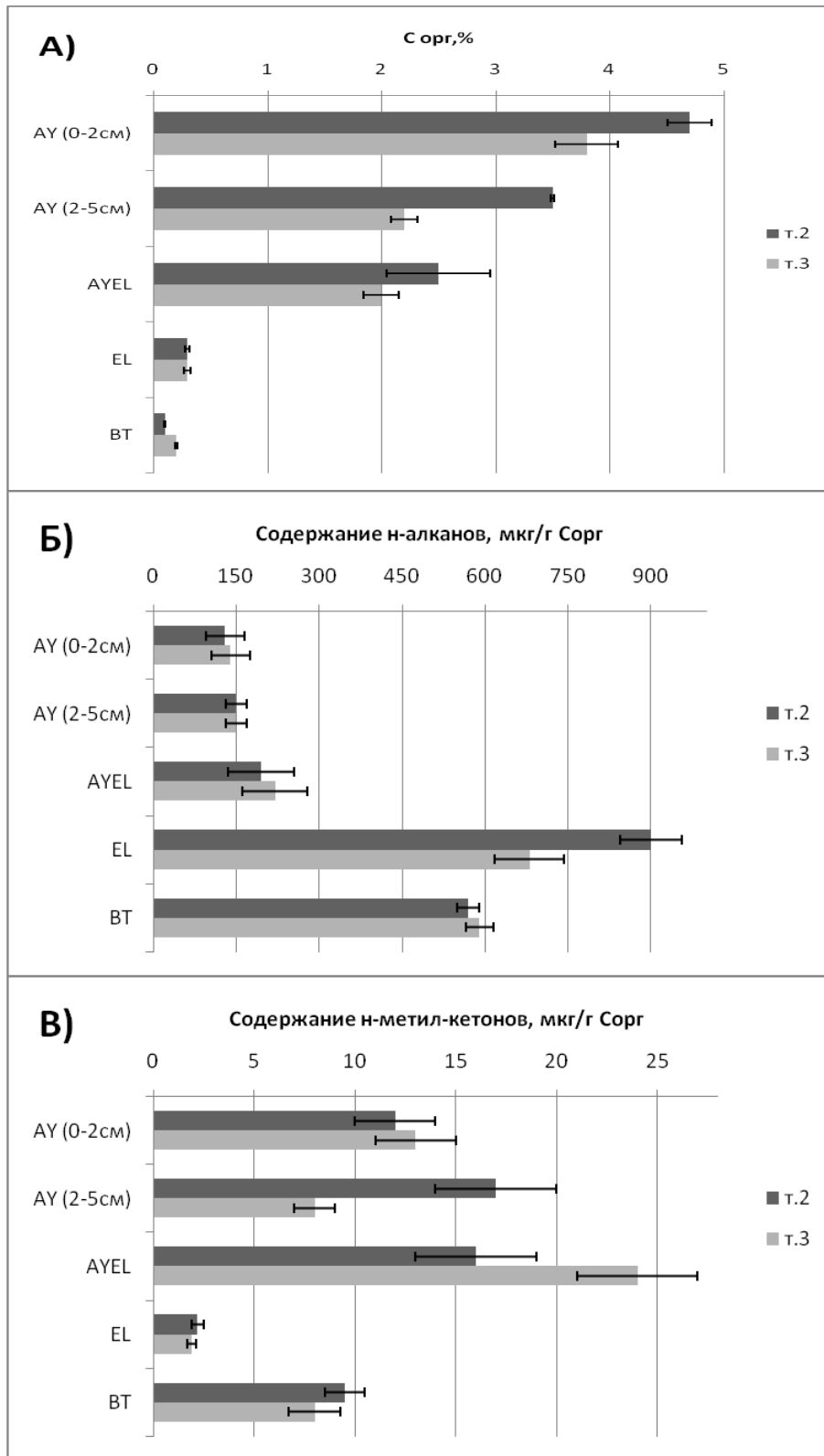


Рисунок 18. Профильное распределение содержания органического углерода (а), C_{17} – C_{36} *n*-алканов (б) и C_{17} – C_{36} *n*-метил-кетонов (в) в дерново-подзолистых почвах НП «Лосиный остров» (средние значения \pm стандартное отклонение, $n = 3$)

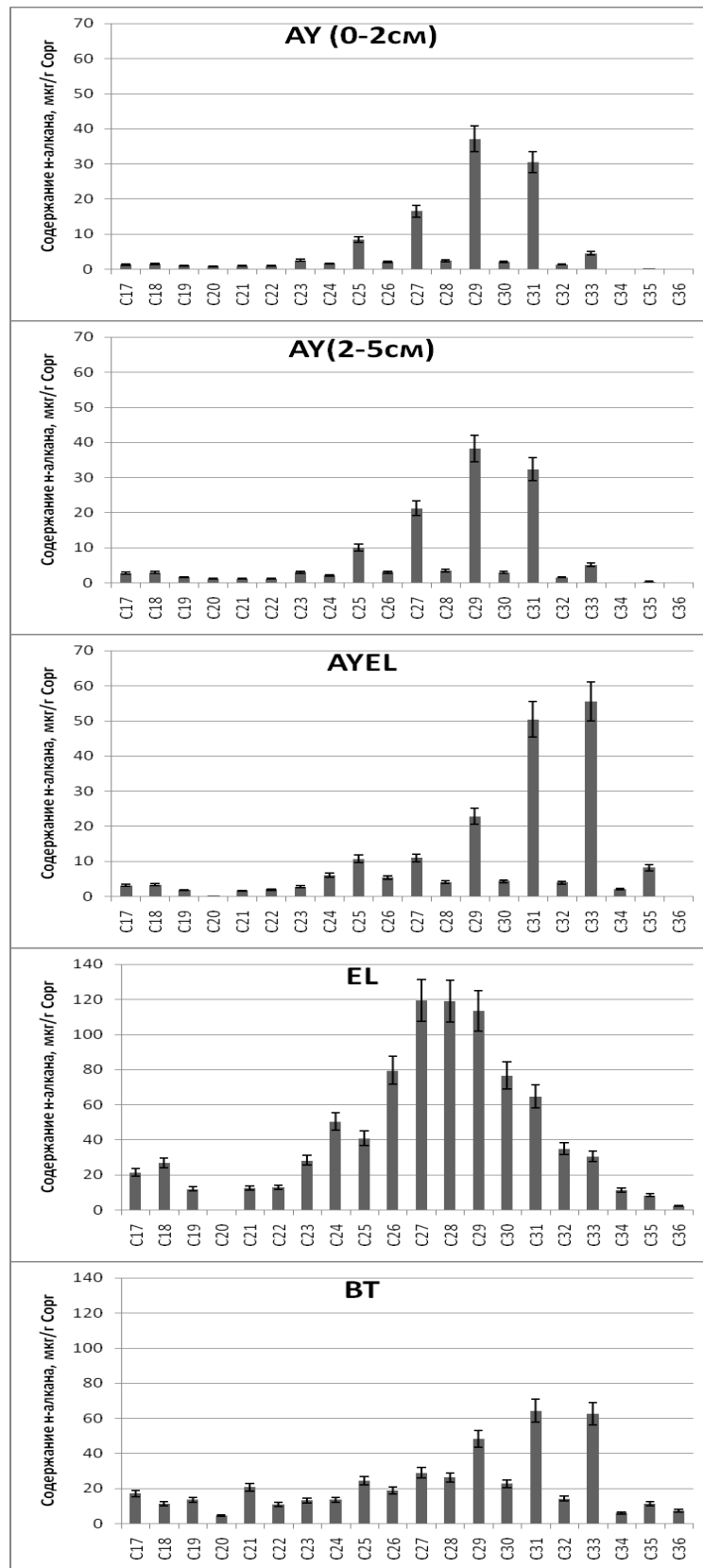


Рисунок 19. Состав и содержание *n*-алканов по горизонтам в профиле дерново-подзолистых почв НП «Лосиный остров» («Л.О.2») (средние значения \pm стандартное отклонение, $n = 3$).

Состав липидной фракции гор.ВТ указывает на вклад в ее состав компонентов микробного и растительного происхождения (рис. 19). По сравнению с гор.ЕЛ в гор.ВТ повышается относительное содержание длинноцепочечных нечетных алканов и содержание соответствующих линейных кетонов – отношение А/К здесь около 67, что говорит о наличии в почве липидов растительного происхождения, среди которых преобладают, по-видимому, компоненты корневого опада. На это, как и на вклад в углеводородный состав почвы продуктов микробного синтеза, указывают достаточно низкие индексы ОЕР (2–3) и LSR (1–2).

В составе линейных алканов почвы из гор.ВТ наиболее высокая, по сравнению с вышележащими горизонтами, доля гомологов с длиной цепи C_{31} , C_{33} и C_{35} . Известно, что скорость биodeградации линейных алканов уменьшается с увеличением длины их углеродной цепи (Zech et al., 2012), а в пределах органо-минеральной матрицы почв происходит избирательная сорбция длинноцепочечных *n*-алканов за счет их большей гидрофобности (Lehtonen, Ketola, 1993). Относительное повышение содержания в гор.ВТ более высокомолекулярных и, соответственно, более устойчивых к биodeградации *n*-алканов, может быть связано с длительным сроком накопления здесь липидной фракции, и с возможным присутствием в глубоких горизонтах почвы компонентов липидного комплекса в менее доступной для биodeградации форме (Kogel-Knaber, 2002).

3.4 Исследование сезонных изменений липидного комплекса верхних горизонтов почв под липяками.

Для исследованных фитоценозов содержание *n*-алканов в отобранном после окончания листопада в ноябре свежем листовом опаде составляет 6–9 мг/г С (табл.8). Количество *n*-метил-кетонов в 27–65 раз ниже, чем содержание *n*-алканов, и в среднем составляет около 200 мкг/г С. Наблюдается строгое доминирование длинноцепочечных нечетных углеводородов – более 75% от общей суммы *n*-алканов и *n*-метил-кетонов составляют соединения с длиной цепи 25, 27, 29 и 31 атом углерода (рис.20). Наибольшее содержание характерно для C₂₉ и C₃₁ алканов (при некотором преобладании последнего), которые являются биомаркерами широколиственных растительных сообществ.

Таблица 8. Состав *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в опаде, поступающем на поверхность дерново-подзолистых почв под липняками (средние значения ± стандартное отклонение, *n* = 3)

Показатель		«Л.О.1»	«Л.О.2»	«Л.О.3»	«Л.О.4»
<i>n</i> -алканы	Количество опада, г/м ² *	408±11,0	664 ± 7,6	712 ± 8,9	624 ± 6,8
	C _{орг} , %	46,8 ± 0,6	45,0 ± 0,4	44,9 ± 0,4	45,1 ± 0,6
	Сумма C ₁₇ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	9175±842	5541±307	7068±500	6450±416
	Сумма нечетных C ₂₅ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	8437±712	4690±220	6603±436	5816±338
	C ₂₉ /C ₃₁	0,5±0,3	1,0±0,4	0,9±0,4	2,1±1,0
	ОЕР	13 ± 2	9 ± 1	20 ± 4	14 ± 2
	LSR	61 ± 6	11 ± 1	34 ± 4	18 ± 3
<i>n</i> -метил-кетоны	Сумма C ₁₇ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	142 ± 20	208 ± 43	234 ± 51	233 ± 48
	Сумма нечетных C ₂₅ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	117 ± 14	160 ± 26	195 ± 38	194 ± 38
	A/K	65 ± 4	27 ± 1	30 ± 1	28 ± 1

* *n* = 5.

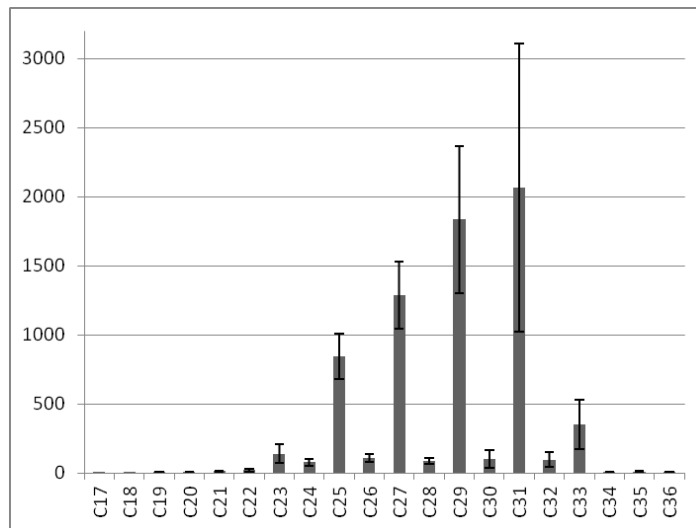


Рисунок 20. Содержание индивидуальных *n*-алканов (мкг/г C_{орг}) в подстилке липняков (средние значения для четырех точек ± стандартное отклонение).

По количеству опада и содержанию в нем *n*-алканов выделяется точка «Л.О.1», для которой получено наибольшее содержание углеводородов C₂₅–C₃₅ при самом низком количестве опада. Данный факт может быть связан с тем, что на этой площадке при меньшей общей плотности древостоя во втором ярусе выше доля подроста лещины и рябины, для которых характерна более низкая скорость микробиологической деструкции опада (Xia et al, 2015). О низкой скорости переработки опада в точке «Л.О.1» свидетельствует наиболее высокое значение индекса LSR и относительно низкое по сравнению с другими точками содержание метил-кетонов.

Основные отличия в составе липидного комплекса верхних горизонтов почв от подстилки – относительное повышение (в 3–4 раза) содержания кетонов и увеличение доли в спектре УВ четных *n*-алканов (индекс ОЕР снижается в 2–4 раза), что связано с увеличением вклада компонентов микробной и корневой биомассы в формирование углеводородного состава минеральных слоев почвы (Анохина, Демин, Завгородняя, 2018). Относительно повышенное содержание C₂₉ алкана также можно объяснить большей величиной травянистого корневого опада в верхних минеральных горизонтах.

Таблица 9. Состав *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в верхних горизонтах дерново-подзолистых почв под липняками в ноябре после окончания листопада (средние значения \pm стандартное отклонение, $n = 3$)

Показатель	Слой, см	«Л.О.1»	«Л.О.2»	«Л.О.3»	«Л.О.4»	
$C_{\text{орг}}$, %	0–5	4,6 \pm 0,3	4,2 \pm 0,5	3,0 \pm 0,4	3,9 \pm 0,3	
	5–10	3,8 \pm 0,4	2,5 \pm 0,5	2,1 \pm 0,3	2,0 \pm 0,4	
<i>n</i> -алканы	Сумма	0–5	95 \pm 9	91 \pm 8	111 \pm 12	86 \pm 7
	C_{17} – C_{35} , мкг/г $C_{\text{орг}}$	5–10	195 \pm 38	200 \pm 37	185 \pm 32	190 \pm 31
	Сумма	0–5	56 \pm 3	66 \pm 4	76 \pm 5	64 \pm 4
	нечетных					
	C_{25} – C_{35} , мкг/г $C_{\text{орг}}$	5–10	95 \pm 9	127 \pm 16	106 \pm 11	126 \pm 11
	C_{29}/C_{31}	0–5	0,9 \pm 0,2	1,3 \pm 0,2	1,4 \pm 0,1 \pm	1,8 \pm 0,3
OEP	0–5	5 \pm 0,4	6 \pm 1	5 \pm 0,3	6 \pm 0,3	
	5–10	4 \pm 1	4 \pm 1	4 \pm 0,4	6 \pm 1	
LSR	0–5	6 \pm 1	10 \pm 1	9 \pm 1	8 \pm 1	
	5–10	7 \pm 1	7 \pm 1	5 \pm 1	6 \pm 1	
<i>n</i> -метил-кетоны	Сумма	0–5	8 \pm 1	9 \pm 1	10 \pm 1	10 \pm 1
	C_{17} – C_{35} , мкг/г $C_{\text{орг}}$	5–10	14 \pm 2	20 \pm 4	17 \pm 4	21 \pm 5
	Сумма	0–5	6 \pm 1	7 \pm 1	9 \pm 2	8 \pm 2
A/K	нечетных					
	C_{25} – C_{35} , мкг/г $C_{\text{орг}}$	5–10	10 \pm 2	16 \pm 3	13 \pm 2	12 \pm 2
	0–5	9 \pm 2	9 \pm 2	8 \pm 2	8 \pm 2	
	5–10	10 \pm 2	8 \pm 2	8 \pm 2	11 \pm 2	

Для верхних горизонтов почв, отобранных в постлистопадный период на четырех точках опробования, не отмечено существенных различий в липидном составе. Коэффициенты варьирования по большинству показателей не превышали 30% (табл.9). Близкий состав липидной фракции для всех исследованных почв определяется одинаковым характером трансформации растительного опада, протекающей в условиях ежегодного залпового поступления листового опада в осенний период, с которого начинается цикл перераспределения и переработки свежей мортмассы в подстилочном и почвенных горизонтах, протекающий при активном участии

зообиоты (Геннадиев с соавт., 2002). Направление сезонных изменений в липидном комплексе почв также было сходно для всех площадок опробования, что позволяет в дальнейшем рассматривать их как единый объект исследования.

В таблице 10 приведены средние значения по всем точкам опробования для показателей состава липидной фракции верхних горизонтов изученных дерново-подзолистых почв Национального парка «Лосиный остров».

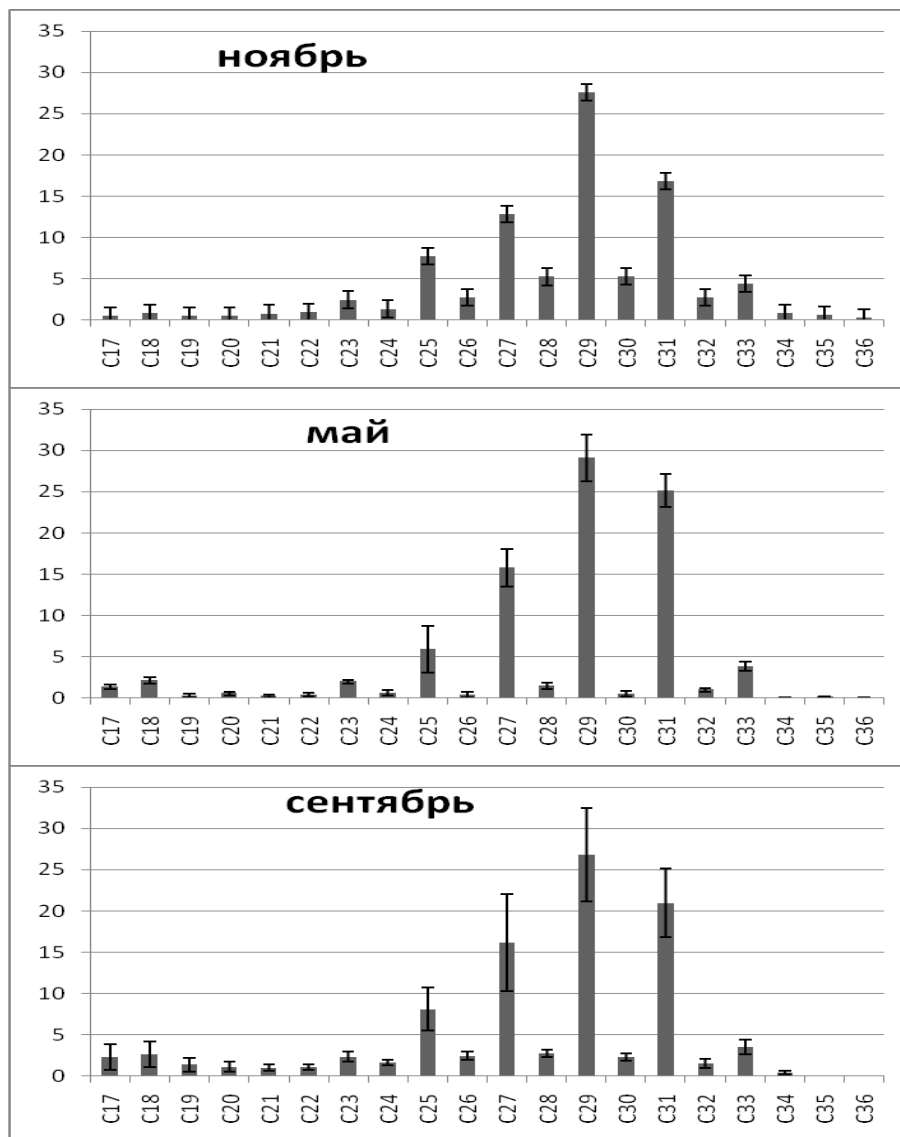


Рисунок 21. Сезонные изменения спектра *n*-алканов (мкг/г C_{орг}) в горизонте 0–5см дерново-подзолистых почв НП“Лосиный остров” (средние значения для четырех точек ± стандартное отклонение).

Достоверных изменений в суммарном содержании *n*-алканов по сезонам года не обнаружено: 96–137 мкг/г C_{орг} в гор.АУ и 170–220 мкг/г C_{орг}

в АУЕЛ. При этом общие запасы нечетных *n*-алканов с длиной цепи C₂₅–C₃₅ в гумусовых горизонтах составляют около 370 мг/м², что в 4–5 раз ниже их количества, ежегодно поступающего с листовым опадом на поверхность почвы осенью (в среднем около 1700 мг/м²). Таким образом, основная часть липидных компонентов наземного опада утилизируется в подстилочном горизонте в ходе минерализации растительных остатков.

Таблица 10. Изменение в течение года состава *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в верхних горизонтах дерново-подзолистых почв под липняками (средние значения для четырех точек ± стандартное отклонение)

Показатель	Слой, см	Ноябрь	Май	Сентябрь	
C _{орг} , %	0–5	3,9 ± 0,7	4,4 ± 0,6	4,2 ± 0,9	
	5–10	2,6 ± 0,8	3,0 ± 0,6	2,5 ± 0,3	
Сумма C ₁₇ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	0–5	96 ± 27	91 ± 14	99 ± 28	
	5–10	193 ± 37	178 ± 16	206 ± 41	
<i>n</i> -алканы	Сумма	0–5	66 ± 20	80 ± 11	76 ± 19
	нечетных C ₂₅ – C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	5–10	114 ± 26	118 ± 11	121 ± 26
C ₂₉ /C ₃₁	0–5	1,4±0,4	1,2±0,3	1,2±0,2	
	5–10	1,2±0,3	1,2±0,3	0,9±0,3	
ОЕР	0–5	6 ± 1	22 ± 2	9 ± 1	
	5–10	5 ± 1	9 ± 1	6 ± 1	
LSR	0–5	8 ± 2	9 ± 1	4 ± 1	
	5–10	6 ± 1	4,0 ± 1	3 ± 1	
<i>n</i> -метил-кетоны	Сумма C ₁₇ –C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	0–5	9 ± 1	5 ± 1	13 ± 2
	5–10	18 ± 3	1 ± 0,2	20 ± 4	
Сумма нечетных C ₂₅ – C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	0–5	8 ± 1	4 ± 1	9 ± 1	
	5–10	13 ± 3	1 ± 0,2	13 ± 2	
А/К	0–5	9 ± 1	21 ± 4	11 ± 2	
	5–10	9 ± 2	170 ± 26	9 ± 1	

В то же время, заметные изменения в течение годового цикла происходят в составе липидной фракции верхних горизонтов исследованных почв. Наиболее сильно отличаются пробы, отобранные в весеннее время после окончания снеготаяния, когда вегетационный период еще только начался, отсутствует напочвенный растительный покров, и слабо развита корневая масса травянистых растений. Процессы микробного разложения

почвенного органического вещества в этот период также замедлены, и в составе *n*-алканов снижается доля четных гомологов, поступающих в большей мере из остатков корней и микробной плазмы (рис. 21). Индексы ОЕР в гор.АУ наиболее высокие в этот период (>20), углеводородная фракция представлена, в основном длинноцепочечными нечетными гомологами, источником которых является, по-видимому, липиды локализованные внутри почвенных агрегатов и менее доступные для микробного разложения.

В этот период из-за низкой микробной активности в гумусовых горизонтах почвы резко снижается содержание *n*-метил-кетонов. К этому моменту уже утилизированы кетоны, поступившие в почву с поверхности с частицами опада и образовавшиеся при дальнейшей окислительной деградации в почве алканов легкодоступной растительной биомассы. В гор.АУЕЛ содержание кетонов снижается сильнее (до значений <1 мкг/г $C_{орг}$) по сравнению с вышележащим горизонтом, что можно объяснить отсутствием деятельности в течение зимнего периода почвенных беспозвоночных, обеспечивающих в другие сезоны равномерное распределение напочвенного и корневого опада в пределах всего гумусированного слоя.

К концу вегетационного сезона (в сентябре) в составе фракции *n*-алканов верхнего почвенного горизонта снова нарастает содержание четных гомологов (ОЕР понижается до 8–9), что соответствует повышению вклада в липидный состав углеводов корневого опада и свежей микробной биомассы, активно развивающейся, в том числе в зоне ризосферы и на корневом опаде. В 2 раза снижаются индексы LSR, такое появление в почве дополнительного количества среднецепочечных *n*-алканов связано, по-видимому, с развитием в летний период напочвенного покрова из низших растений (мхов и водорослей), остатки которых являются источником неполярных соединений с длиной углеродной цепи $<C_{25}$ (Ficken et al, 2011;

Zech et al, 2012; Bush, McInerney, 2013). Аналогичные изменения в липидном составе наблюдаются для гор. АУЕЛ, но выражены они значительно слабее.

Сходный характер сезонных изменений в составе и содержании линейных алканов приведен в работе (Xia et al, 2015), в которой повышение содержания *n*-алканов со средней длиной цепи (C₂₀–C₂₄) в разлагающемся листовом опаде в летний период связывают с нарастанием микробной биомассы, вклад которой в общее содержание алканов может составлять от 20 до 40% в зависимости от степени разложенности опада.

Содержание *n*-метил-кетонов в почве в сентябре повышается до уровня постлистопадного периода. В составе кетонов увеличивается доля гомологов с длиной цепи <C₂₅ – продуктов микробного окисления соответствующих *n*-алканов, хотя относительное содержание среднецепочечных кетонов в отличие от среднецепочечных алканов даже в этот период весьма незначительно (не более 5%). Последний факт указывает на отсутствие относительного накопления *n*-метил-кетонов в результате окислительной деградации растительных и микробных *n*-алканов в верхних горизонтах почвы, что связано с высокой скоростью дальнейшей деградации самих кетонов, соизмеримой со скоростью их образования в почвенных условиях.

3.5 Исследование сезонных изменений липидного комплекса верхних горизонтов почв под различными широколиственными фитоценозами.

При изучении состава биогенных углеводородов в ходе старения листовых пластин были выявлены общие закономерности для двух изучаемых растений. Обращает на себя внимание некоторое снижение суммарного содержания *n*-алканов при пожелтении листьев: для клена – в 5 раз, для липы – в 1,6 раз (табл.11). При этом нечетные длинноцепочечные *n*-алканы являются доминирующими (63-86% от общего содержания всех *n*-алканов), что согласуется с литературными данными (Zech et al., 2012; Bush, McInerney, 2013). В зеленых листьях липы наибольшее значение имеют C₂₉ и C₃₁ *n*-алканы, для зеленых листьев клена – C₂₉. В пожелтевших листьях также преобладают длинные и нечетные алканы, однако наблюдается тенденция к

увеличению средней длины цепи углеродных атомов: в желтых листьях липы по-прежнему лидирующую позицию занимает C_{29} алкан, но значительно увеличилась доля C_{31} , C_{33} и C_{35} ; в желтых листьях клена абсолютно доминирует C_{31} (рис.22, 23). Подобный спектр биогенных углеводов характерен для высших растений (Harwood, Russel, 1984; Chikaraishi, 2004).

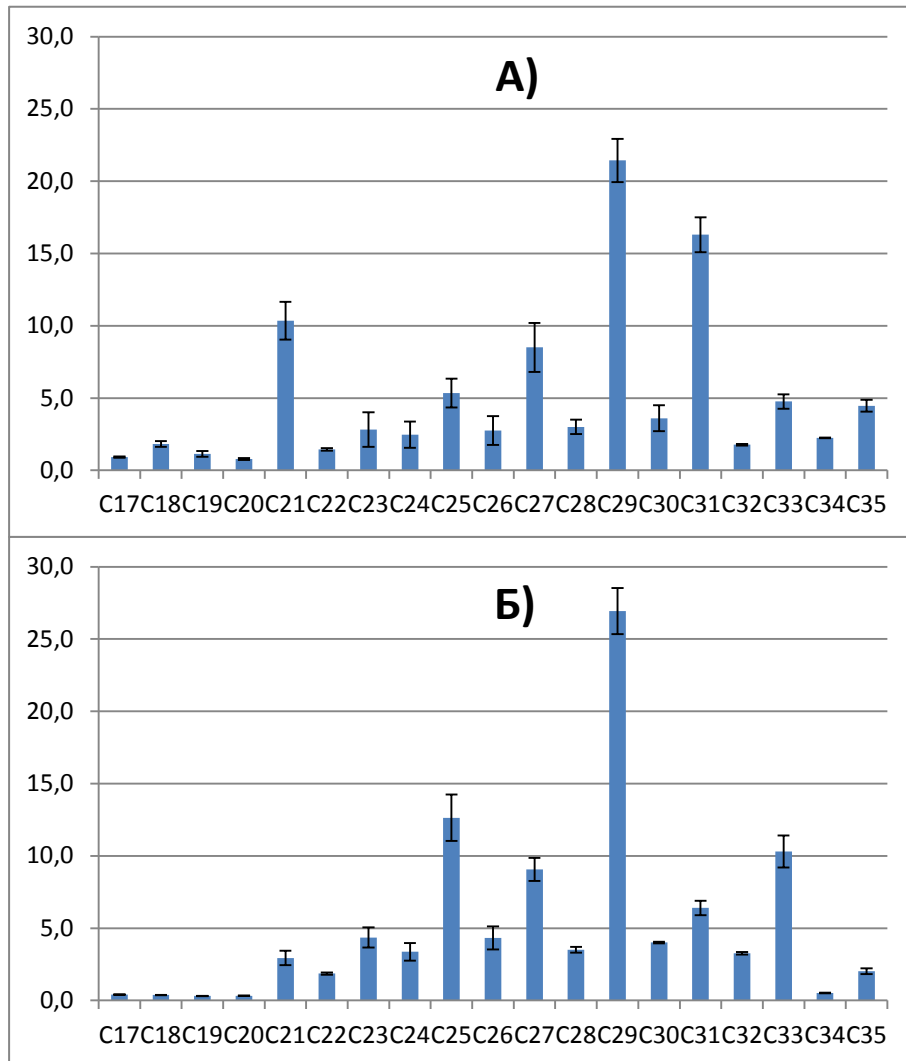


Рисунок 22. Состав и содержание (% от общей суммы) индивидуальных *n*-алканов в зеленых листьях А) липы и Б) клена

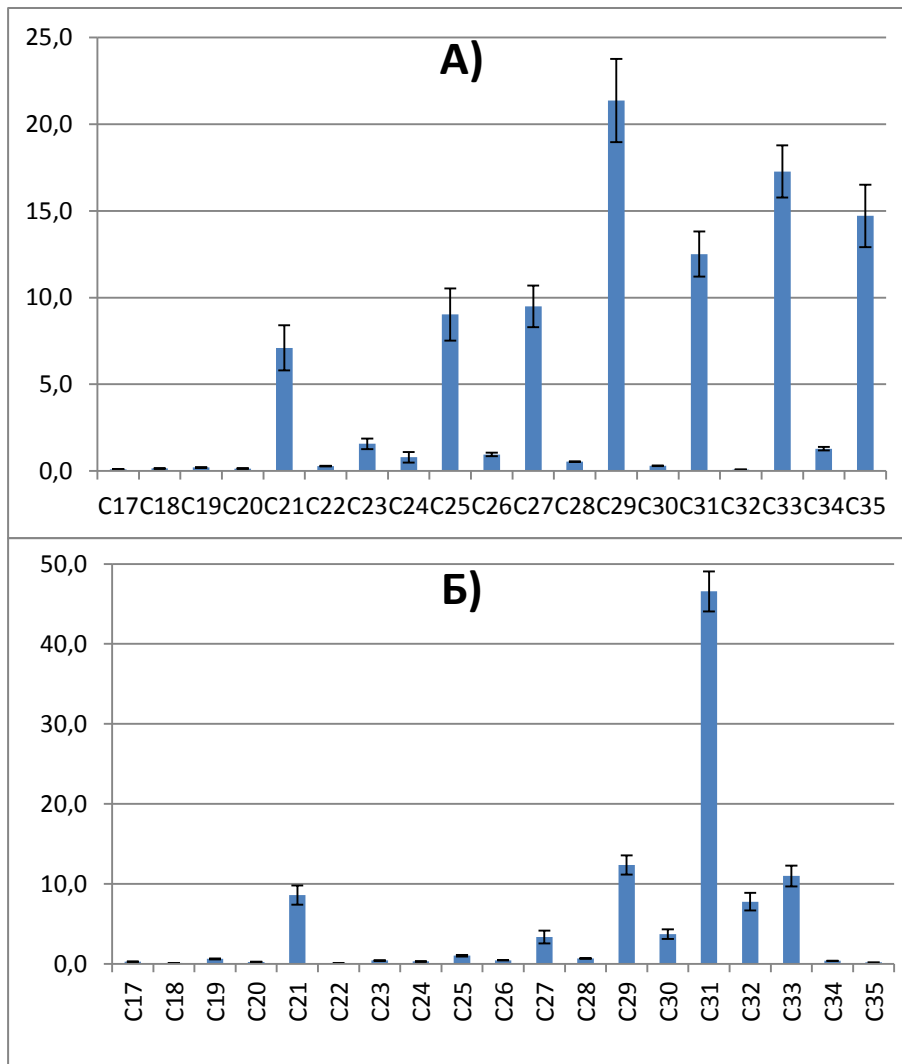


Рисунок 23. Состав и содержание (% от общей суммы) индивидуальных *n*-алканов в желтых листьях А) липы и Б) клена

Таблица 11. Состав *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в зеленых и желтых листьях исследуемых древесных растений (средние значения \pm стандартное отклонение, $n = 3$).

Показатель	клен		липа	
	зеленые	желтые	зеленые	желтые
$C_{орг}, \%$	39,7 \pm 0,5	42,5 \pm 0,6	41,7 \pm 0,6	43,7 \pm 0,5
Содержание <i>n</i> -алканов C_{17} - C_{36} , мкг/г $C_{орг}$	7952 \pm 143	1409 \pm 118	1351 \pm 136	1349 \pm 114
Содержание нечетных <i>n</i> -алканов C_{25} - C_{35} , мкг/г $C_{орг}$	5359 \pm 116	1065 \pm 135	794 \pm 96	960 \pm 102
Отношение <i>n</i> -алканов C_{29}/C_{31}	4,2 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	1,7 \pm 0,1
ОЕР	4 \pm 1	6 \pm 1	4 \pm 0,4	26 \pm 2
LSR	5 \pm 1	7 \pm 2	3 \pm 1	7 \pm 2
Содержание <i>n</i> -метил-кетонов C_{17} - C_{36} , мкг/г $C_{орг}$	1 \pm 0,1	77 \pm 12	1 \pm 0,1	42 \pm 6
Содержание нечетных <i>n</i> -метил-кетонов C_{25} - C_{35} , мкг/Сорг	<1	62 \pm 8	<1	32 \pm 7
А/К	15904 \pm 723	18 \pm 3	1126 \pm 117	32 \pm 6

Активная трансформация *n*-алканов в *n*-метил-кетоны начинается после запуска процессов отмирания листа. В зеленых листьях клена и липы содержание окисленных соединений близко к нижней границе предела обнаружения, т.е. они фактически отсутствуют. В желтых листьях *n*-метил-кетоны содержатся в достаточно большом количестве – сотни мкг/г $C_{орг}$. Величина соотношения алканы/кетоны демонстрирует сказанное и резко уменьшается в ходе пожелтения листьев.

Для зеленой надземной биомассы травянистых растений характерно доминирование длинноцепочечных нечетных гомологов – C_{31} и C_{33} (рис.24). *n*-Метил-кетоны не идентифицированы.

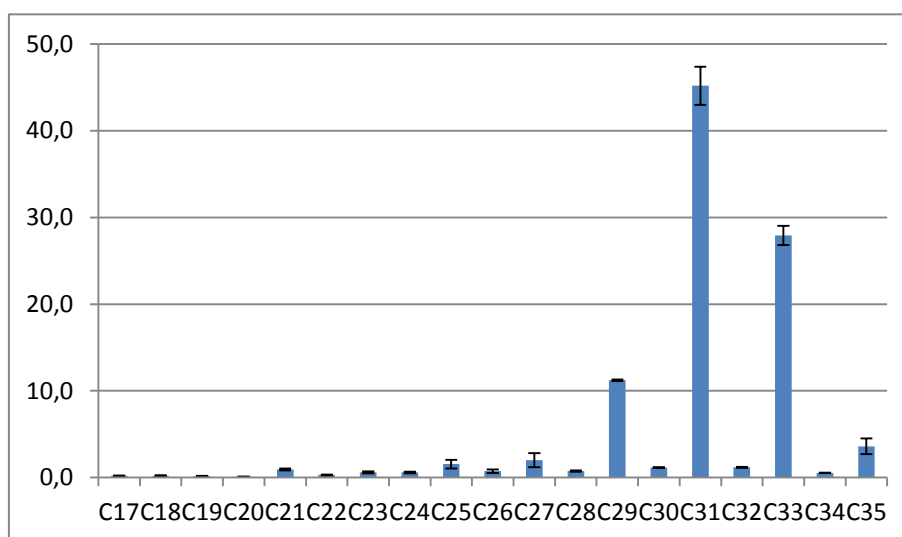


Рисунок 24. Состав и содержание (% от общей суммы)

индивидуальных *n*-алканов в зеленых побегах травянистых растений

Опад, поступающий на поверхность почвы после листопада, является источником большого пула биогенных углеводов и претерпевает изменения, связанные с деструкцией, в течение всего года. Количество опада, представленного в основном листьями, уменьшается от постлистопадного сезона (ноябрь) к долистопадному периоду (сентябрь). Стоит отметить отличительную черту исследуемого кленового сообщества, где к сентябрю на поверхности почвы практически полностью исчезает слой подстилки, при том что кленовый опад считается менее благоприятным для разложения почвенной биотой по сравнению с, например липняковым (Zech et al., 2011).

Суммарное содержание *n*-алканов максимально в ноябре и уменьшается в 3-9 раз к сентябрю (табл. 12). В составе биогенных углеводородов подстилки, как и в составе листьев, доминируют длинные нечетные соединения (65-90% от суммы всех *n*-алканов). При этом в кленовой подстилке наблюдается повышение ОЕР в 3-4 раза, а в липняковой – снижение в 3 раза этого показателя к сентябрю. Это может объясняться увеличением активности микроорганизмов детритного блока.

Таблица 12. Состав *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в опаде, поступающем на поверхность темногогумусовой почвы под исследуемыми парцеллами (средние значения \pm стандартное отклонение, $n = 3$).

А) Кленовая парцелла

Показатель	ноябрь	май	сентябрь
Количество опада, г/м ²	970 \pm 78	889 \pm 71	136 \pm 11
C _{орг} , %	39,8 \pm 0,50	40,1 \pm 0,50	30,3 \pm 0,30
Содержание <i>n</i> -алканов C ₁₇ -C ₃₆ , мкг/гC _{орг}	2767 \pm 203	775 \pm 103	395 \pm 56
Содержание нечетных <i>n</i> -алканов C ₂₅ -C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	2178 \pm 181	636 \pm 92	354 \pm 36
Отношение <i>n</i> -алканов C ₂₉ /C ₃₁	0,4 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1
ОЕР	5 \pm 0,5	12 \pm 4	18 \pm 7
LSR	17 \pm 3	9 \pm 3	13 \pm 5
Содержание <i>n</i> -метил-кетонов C ₁₇ -C ₃₆ , мкг/гC _{орг}	109 \pm 19	28 \pm 5	12 \pm 1
Содержание нечетных <i>n</i> -метил-кетонов C ₂₅ -C ₃₅ , мкг/Сорг	88 \pm 115,7	21 \pm 2	8 \pm 2
А/К	25 \pm 2	28 \pm 3	33 \pm 4

Б) Кленово-липовая парцелла

Показатель	ноябрь	май	сентябрь
Количество опада, г/м ²	715 \pm 57	556 \pm 45	108 \pm 9

$C_{орг}, \%$	39,2±0,50	38,2±0,40	42,7±0,50
Содержание <i>n</i> -алканов $C_{17}-C_{36}$, мкг/г $C_{орг}$	2800±261	1166±226	1034±107
Содержание нечетных <i>n</i> -алканов $C_{25}-C_{35}$, мкг/г $C_{орг}$	2225±156	936±114	770±86
Отношение <i>n</i> -алканов C_{29}/C_{31}	0,7±0,1	1,3±0,1	1,8±0,1
ОЕР	7±1	7±2	9±3
LSR	11±2	12±4	9±3
Содержание <i>n</i> -метил-кетонов $C_{17}-C_{36}$, мкг/г $C_{орг}$	124±14	49±9	15±1
Содержание нечетных <i>n</i> -метил-кетонов $C_{25}-C_{35}$, мкг/Сорг	99±13	40±5	12±1
А/К	23±2	24±3	67±9

В) Липняковая парцелла

Показатель	ноябрь	май	сентябрь
Количество опада, г/м ²	676±49	279±25	129±21
$C_{орг}, \%$	44,1±0,50	35,4±0,90	43,5±1,70
Содержание <i>n</i> -алканов $C_{17}-C_{36}$, мкг/г $C_{орг}$	1501±158	2334±125	228±30
Содержание нечетных <i>n</i> -алканов $C_{25}-C_{35}$, мкг/г $C_{орг}$	1112±140	1983±114	137±34
Отношение <i>n</i> -алканов C_{29}/C_{31}	1,1±0,1	0,7±0,1	2,3±0,1
ОЕР	8±1	9±4	2±1

LSR	6±1	23±7	7±1
Содержание <i>n</i> -метил-кетонов C ₁₇ -C ₃₆ , мкг/гC _{орг}	65±4	133±25	12±1
Содержание нечетных <i>n</i> -метил-кетонов C ₂₅ -C ₃₅ , мкг/Сорг	50±4	114±19	3±1
А/К	23±2	18±6	20±2

Для подстилки кленово-липового сообщества характерно стабильное соотношение нечетных и четных *n*-алканов на протяжении всего года, ОЕР составил 7-9.

Динамика коэффициента LSR имеет более неоднозначный ход, но тем не менее его величина не опускалась ниже 6, длинноцепочечные соединения преобладают во всех исследуемых подстилках. В кленовом опаде LSR уменьшается к маю почти в 2 раза, а к сентябрю возрастает в 1,4 раза. В липняковой подстилке наблюдается противоположная картина – рост этого индекса в 3 раза в вегетацию и затем снижение к осени. Для кленово-липовой подстилки серьезной вариации по сезонам не обнаружено (рис.25-27).

Содержание *n*-метил-кетонов в подстилках после листопада примерно на 20-50 мкг/г $C_{орг}$ выше, чем в желтых листьях соответствующих растений, окислительная трансформация *n*-алканов продолжается уже в составе напочвенного покрова. Нечетные длинноцепочечные *n*-метил-кетоны составляют около 70-80% от общего количества этих соединений (рис.28-30). Далее к долистопадному периоду происходит интенсивная деградация и сокращение их содержания в 9-12 раз. В кленовом и кленово-липовом сообществах максимальное количество метил-кетонов приурочено к ноябрю, периоду с наибольшей массой опада. В липняковой парцелле не смотря на схожую динамику деструкции подстилки, пик суммы метил-кетонов приходится на вегетационный период. По-видимому, это связано с особенностями функционирования почвенной биоты, которая не успела переработать большую часть свежей подстилки до наступления холодов и активизировала свою деструктивную деятельность весной.

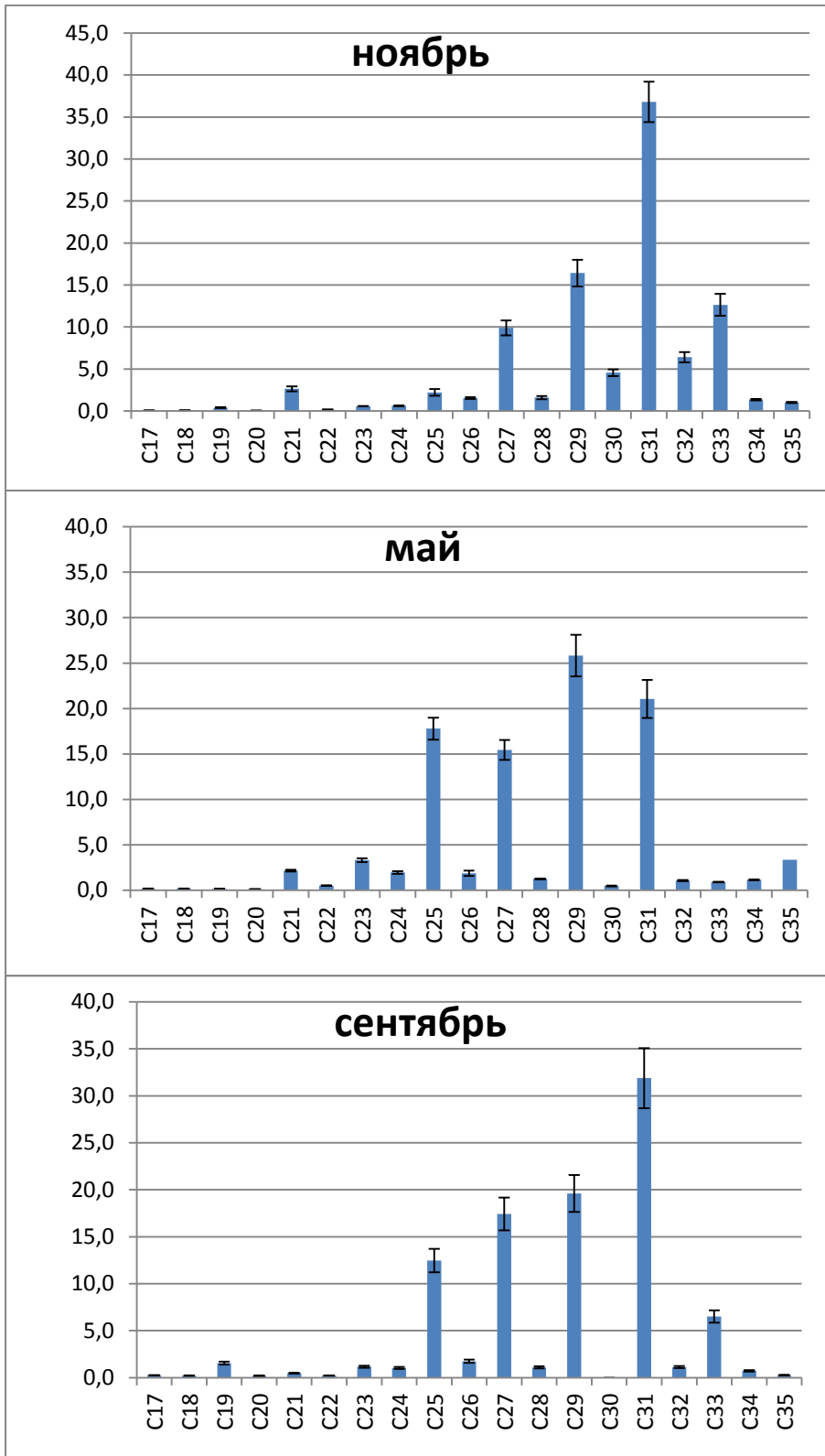


Рисунок 25. Состав и содержание (% от общей суммы) индивидуальных *n*-алканов в подстилке кленового сообщества в различные сезоны года

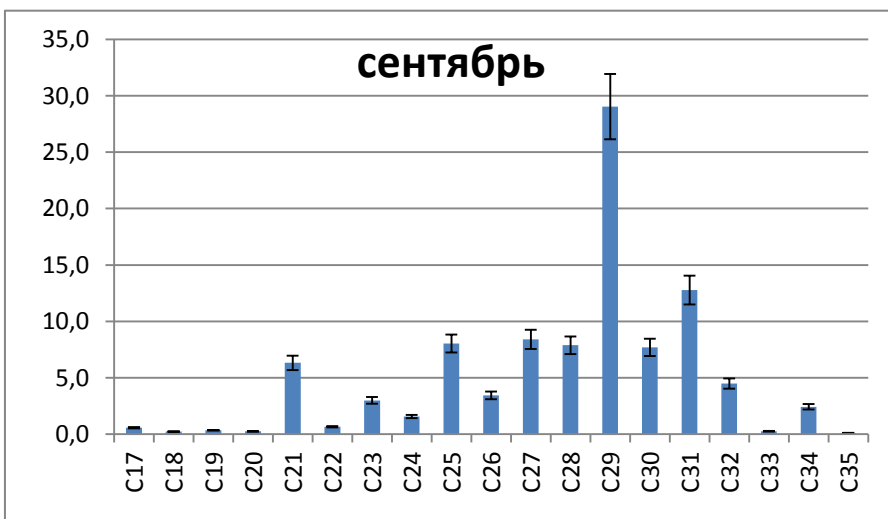
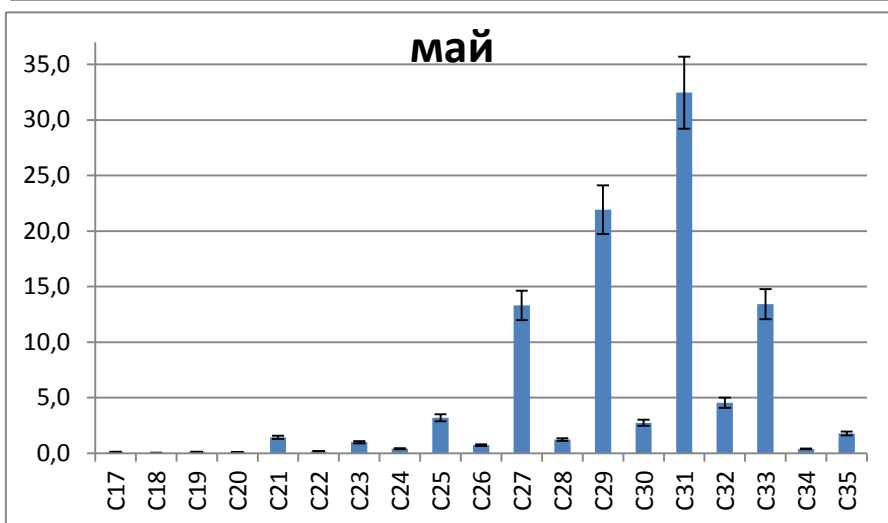
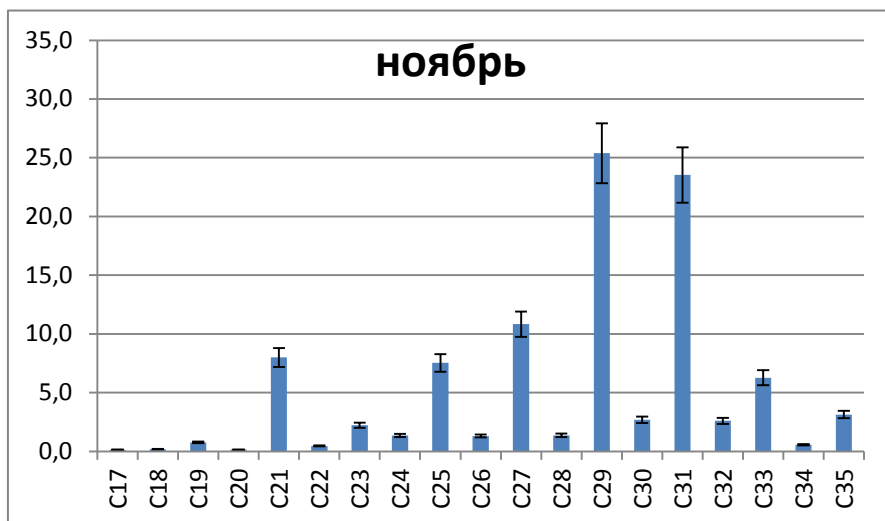


Рисунок 26. Состав и содержание (% от общей суммы) индивидуальных *n*-алканов в подстилке липняка в различные сезоны года

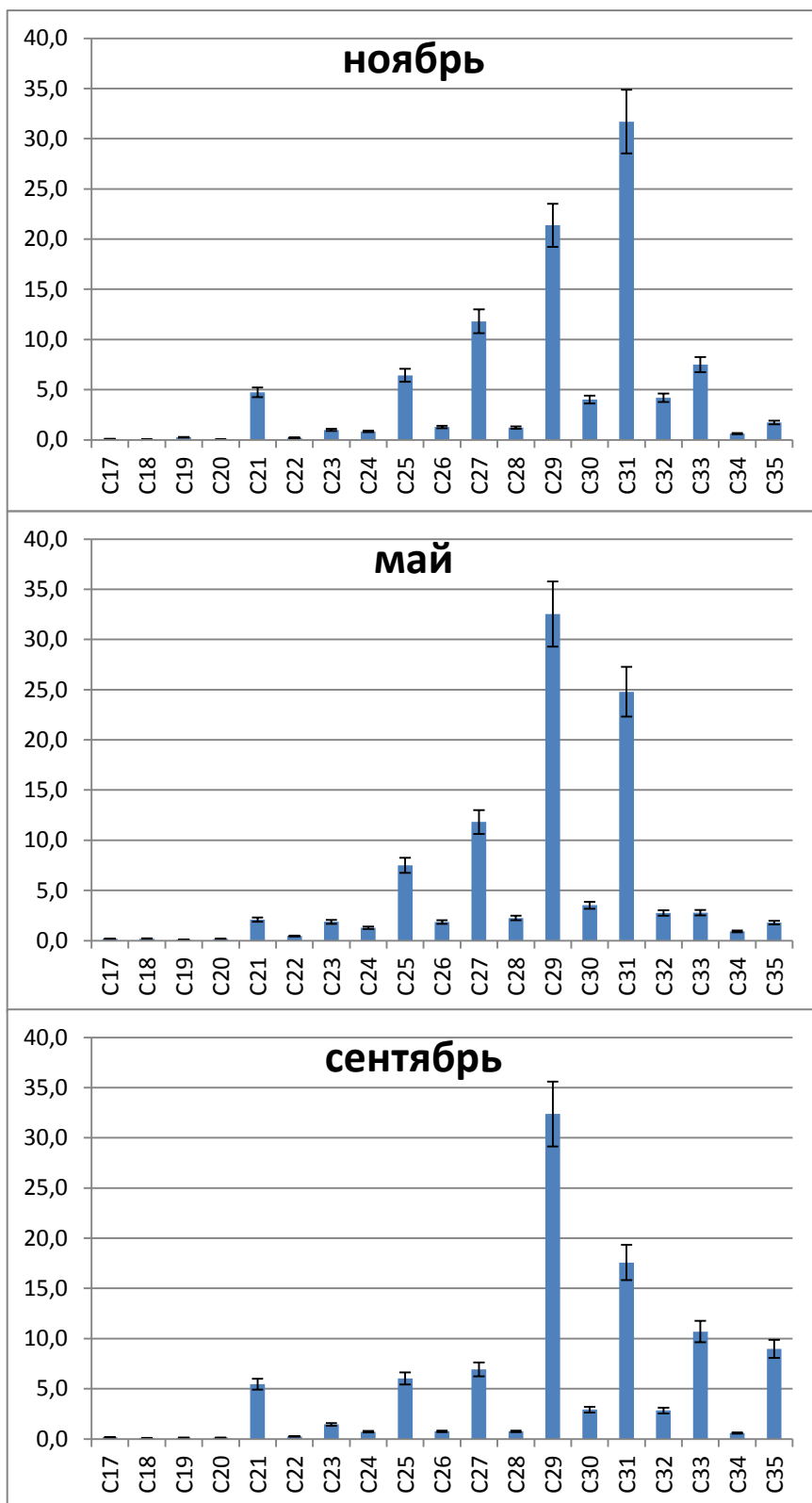


Рисунок 27. Состав и содержание (% от общей суммы) индивидуальных *n*-алканов в подстилке кленово-липового сообщества в различные сезоны года

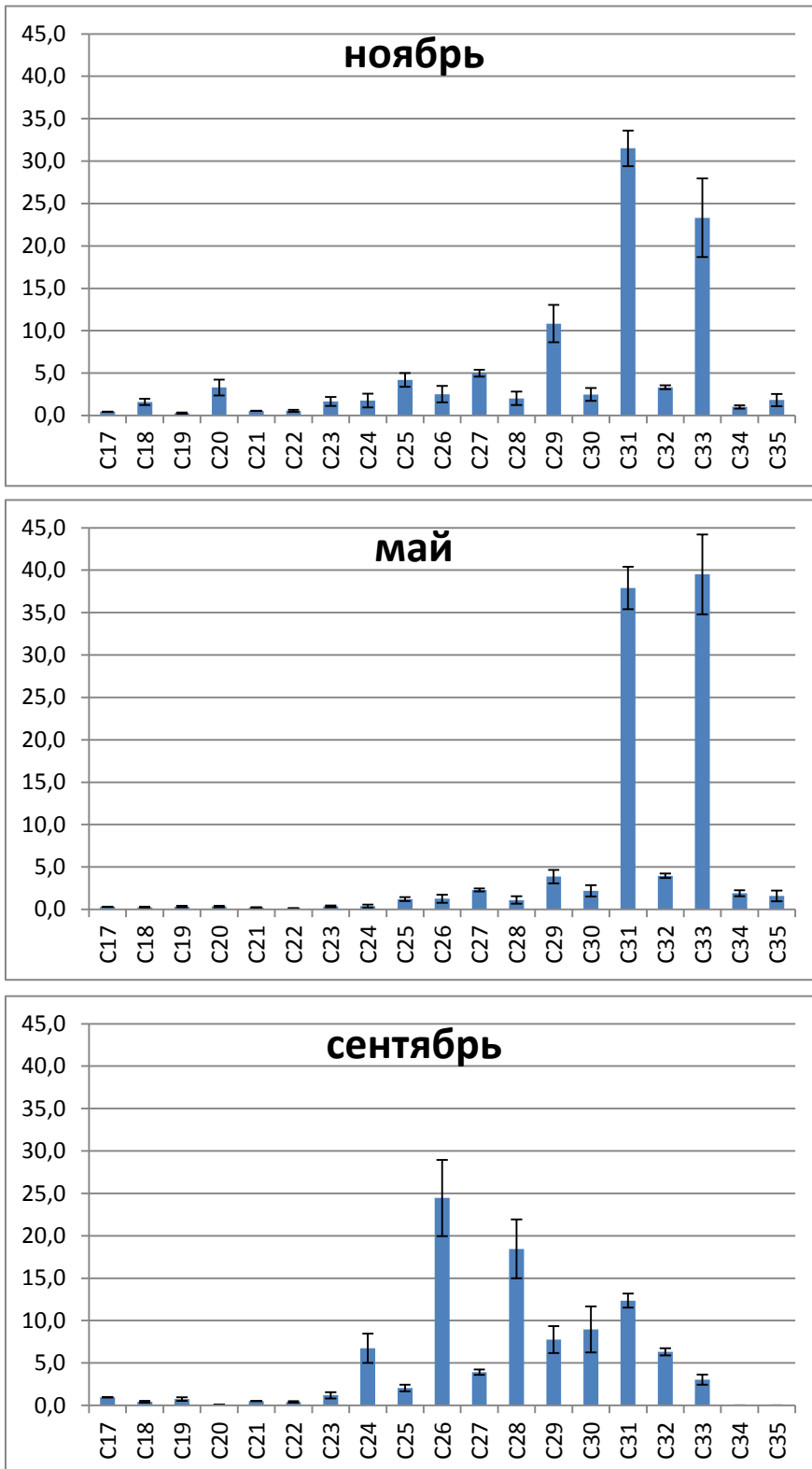


Рисунок 28. Состав и содержание (% от общей суммы) индивидуальных *n*-метил-кетонов в подстилке липняка в различные сезоны года

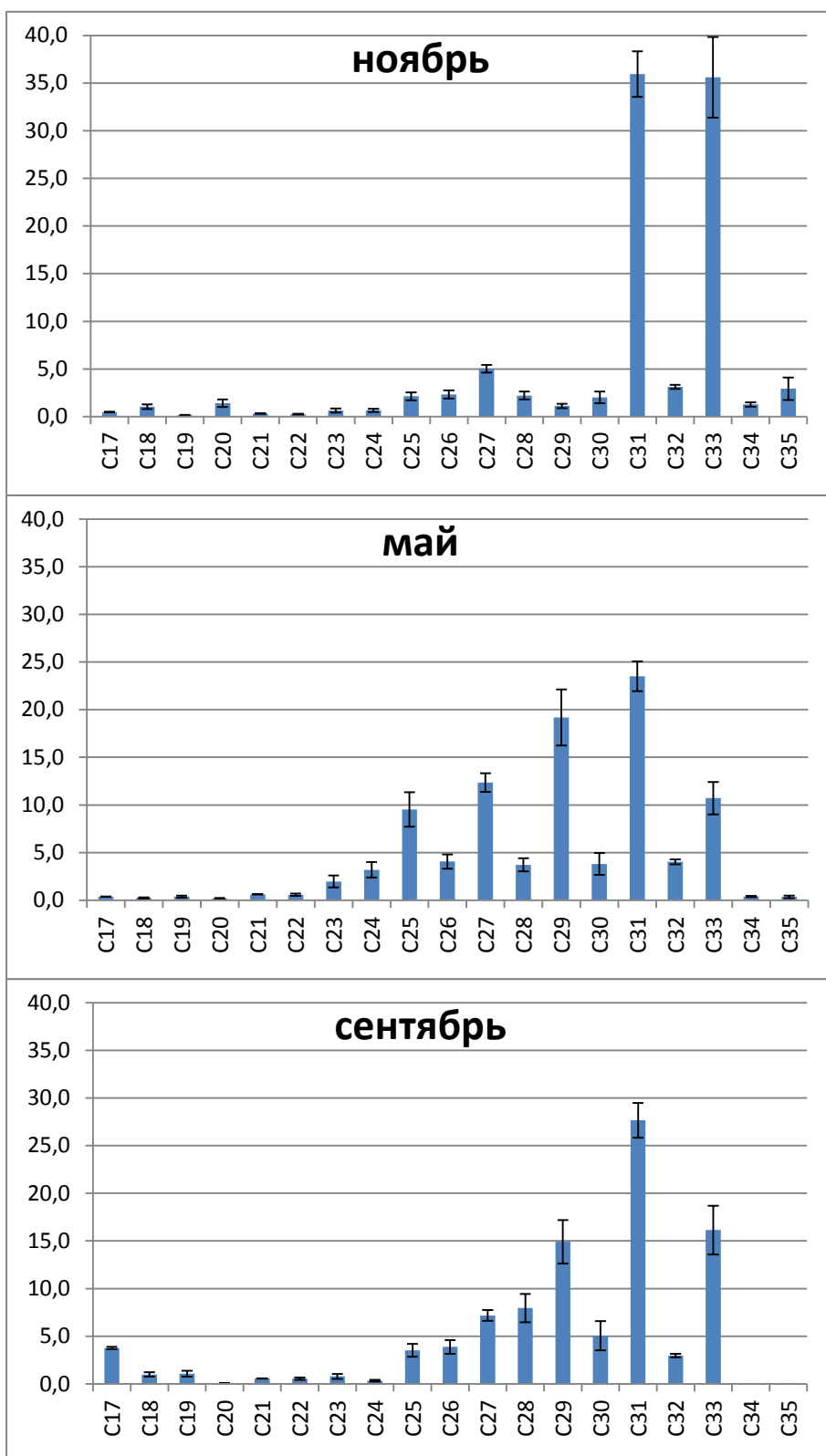


Рисунок 29. Состав и содержание (% от общей суммы) индивидуальных *n*-метил-кетонов в подстилке кленового сообщества в различные сезоны года

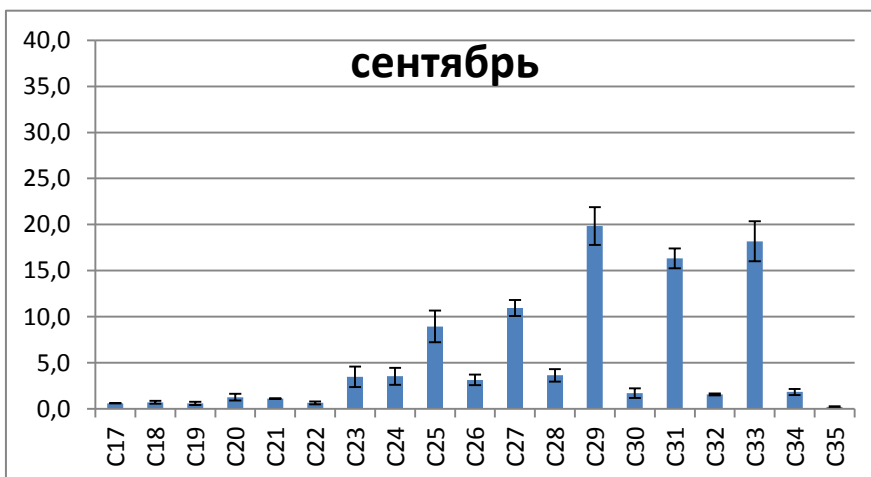
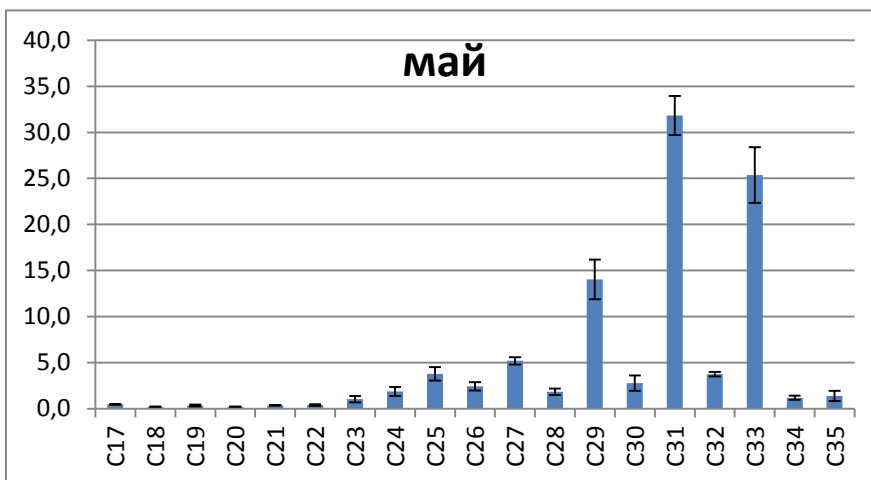
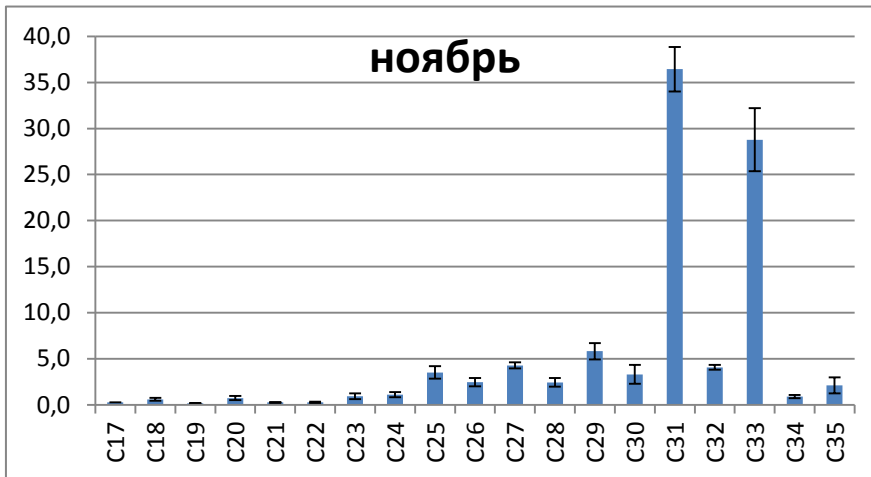


Рисунок 30. Состав и содержание (% от общей суммы) индивидуальных *n*-метил-кетонов в подстилке кленово-липового сообщества в различные сезоны года

Суммарное содержание *n*-алканов в верхнем горизонте почвы кленового сообщества уменьшается к долистопадному периоду в 3 раза, относительно довольно высоких содержаний в ноябре и мае, что согласуется

с динамикой деструкции опада (табл.13). При этом доля нечетных длинноцепочечных соединений остается постоянной и составляет около 90%. Об этом факте также свидетельствует постоянство коэффициента ОЕР. LSR в составе почвы показывает повышение содержания длинноцепочечных углеводов к сентябрю в 1,5раза, в целом тотальное преобладание *n*-алканов с длиной C-цепи больше 25 атомов в течение года не вызывает сомнений. Имеет место деградация алканов от ноября к сентябрю.

В верхнем горизонте почвы под кленово-липовой парцеллой происходит уменьшение общего количества *n*-алканов к сентябрю на 25%, доля длинноцепочечных нечетных углеводов стабильно составляет около 82% (рис.32, табл.13), ОЕР падает к сентябрю на 60% за счет повышения доли четных длинноцепочечных *n*-алканов. LSR не изменяется течение года и составляет в среднем 7, что меньше в 2 раза, чем в верхнем горизонте почвы кленового сообщества, также как и ОЕР. В исследуемой почве липняка суммарное количество неокисленных углеводов снижается в 2 раза к сентябрю, доля нечетных длинноцепочечных *n*-алканов также остается постоянной на уровне 80% (рис.33, табл.13). Индекс ОЕР немного возрастает к долистопадному периоду, LSR – без сезонных изменений. Коэффициент ОЕР в почве кленового сообщества был в среднем в 1,5 раз выше, чем в почве липняка, а LSR – в 2,8 раз, что свидетельствует о большем вкладе длинноцепочечных нечетных *n*-алканов в точке под кленом, где отсутствует травянистый покров и корневые экссудаты (рис. 31). Для верхнего горизонта почвы всех изучаемых сообществ характерно уменьшение суммарного содержания *n*-метил-кетонов к долистопадному сезону: для липняковой парцеллы в 2 раза, для двух других – в 20-30 раз, где в сентябре окисленных соединений практически не обнаружено. Доля нечетных длинноцепочечных метил-кетонов в почвах кленового и кленово-липового сообществ растет к сентябрю до 100% (рис. 34-36, табл.12), а в липняке остается постоянной на уровне 70%. Доминирующим во всех образцах верхнего горизонта исследуемых почв является C₃₁ *n*-метил-кетон.

Таблица 13. Состав *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в верхнем горизонте темногумусовой почвы под исследуемыми парцеллами (средние значения ± стандартное отклонение, *n* = 3).

А) Кленовая парцелла

Показатель	ноябрь		май		сентябрь	
	почва	ВПА	почва	ВПА	почва	ВПА
Масса опада, г/м ²	970±84		889±75		136±20	
C _{орг} , %	5,5±1,4	5,0±0,03	4,7±1,2	4,9±0,2	3,4±0,8	3,3±0,1
Содержание <i>n</i> -алканов C ₁₇ -C ₃₆ , мкг/гC _{орг}	577±27	351±53	671±82	519±110	340±29	170±13
Содержание нечетных <i>n</i> -алканов C ₂₅ -C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	515±71	318±40	606±69	469±98	303±15	154±11
Содержание нечетных <i>n</i> -алканов C ₂₅ -C ₃₅ от общей суммы, %	89±4	91±5	90±4	90±3	89±4	91±3
Соотношение <i>n</i> -алканов C ₂₉ /C ₃₁	0,4±0,1	0,4±0,1	0,4±0,1	0,4±0,1	0,4±0,1	0,4±0,1
ОЕР	12±1	14±1	13±1	13±1	13±1	12±1
LSR	12±1	17±2	14±1	18±1	18±1	15±1
Содержание <i>n</i> -метил-кетонов C ₁₇ -C ₃₆ , мкг/гC _{орг}	29±2	21±1	30±8	25±8	<1	<1
Содержание нечетных <i>n</i> -метил-кетонов C ₂₅ -C ₃₅ , мкг/Сорг	24±2	18±1	24±6	19±2	<1	<1
Содержание нечетных <i>n</i> -метил-кетонов C ₂₅ -C ₃₅ от общей суммы, %	83±4	86±9	80±6	76±7	100	100
A/K	20±4	16±3	24±2	23±5	311±42	527±14

Б) Кленово-липовая парцелла

Показатель	ноябрь		май		сентябрь	
	почва	ВПА	почва	ВПА	почва	ВПА
Масса опада, г/м ²	715±68		556±45		108±12	
C _{орг} , %	4,5±1,1	3,9±0,01	3,0±0,8	3,2±0,1	3,4±0,8	5,2±0,5
Содержание <i>n</i> -алканов C ₁₇ -C ₃₆ , мкг/гC _{орг}	355±56	267±41	315±59	241±50	284±16	121±24
Содержание нечетных <i>n</i> -алканов C ₂₅ -C ₃₅ , мкг/гC _{орг}	286±42	216±34	265±49	201±36	233±1	106±21
Содержание нечетных <i>n</i> -алканов C ₂₅ -C ₃₅ от общей суммы, %	81±4	81±3	84±4	83±3	82±3	88±6
Соотношение <i>n</i> -алканов C ₂₉ /C ₃₁	0,8±0,1	0,7±0,1	0,8±0,1	0,8±0,1	0,9±0,1	1,1±0,1
ОЕР	10±3	9±1	11±1	9±3	7±1	12±1
LSR	7±2	6±1	4±1	5±1	7±3	9±1
Содержание <i>n</i> -метил-кетонов C ₁₇ -C ₃₆ , мкг/гC _{орг}	21±5	16±5	15±2	13±1	1,1±0,2	<1
Содержание нечетных <i>n</i> -метил-кетонов C ₂₅ -C ₃₅ , мкг/Сорг	15±4	14±9	17±6	13±1	1,1±0,2	<1
Содержание нечетных <i>n</i> -метил-кетонов C ₂₅ -C ₃₅ от общей суммы, %	71±7	88±8	100	100	100	100
A/K	16±7	20±7	19±3	19±7	255±34	346±46

В) Липняковая парцелла

Показатель	ноябрь		май		сентябрь	
	почва	ВПА	почва	ВПА	почва	ВПА
Масса опада, г/м ²	676±70		279±20		129±15	

$C_{орг}, \%$	5,5±1,5	4,4±0,2	5,0±1,2	5,2±0,1	4,7±0,4	4,4±0,1
Содержание <i>n</i> -алканов $C_{17}-C_{36}$, мкг/г $C_{орг}$	632±39	381±41	607±3	432±46	300±20	159±21
Содержание нечетных <i>n</i> -алканов $C_{25}-C_{35}$, мкг/г $C_{орг}$	504±32	270±39	467±12	319±40	247±38	120±17
Содержание нечетных <i>n</i> -алканов $C_{25}-C_{35}$ от общей суммы, %	80±1	71±2	77±2	74±3	82±2	75±2
Соотношение <i>n</i> -алканов C_{29}/C_{31}	1,6±0,1	1,5±0,1	1,3±0,1	1,5±0,1	1,5±0,1	1,5±0,1
ОЕР	7±1	4±1	6±1	5±1	13±2	10±1
LSR	6±1	4±1	6±2	6±1	4±1	2,1±0,2
Содержание <i>n</i> -метил-кетонов $C_{17}-C_{36}$, мкг/г $C_{орг}$	38±3	33±1	47±2	35±6	19±3	14±2
Содержание нечетных <i>n</i> -метил-кетонов $C_{25}-C_{35}$, мкг/г $C_{орг}$	29±2	25±0,4	34±2	25±3	14±1	9±2
Содержание нечетных <i>n</i> -метил-кетонов $C_{25}-C_{35}$ от общей суммы, %	76±3	76±4	72±5	71±4	65±6	64±5
А/К	17±1	12±2	13±1	12±2	17±5	11±1

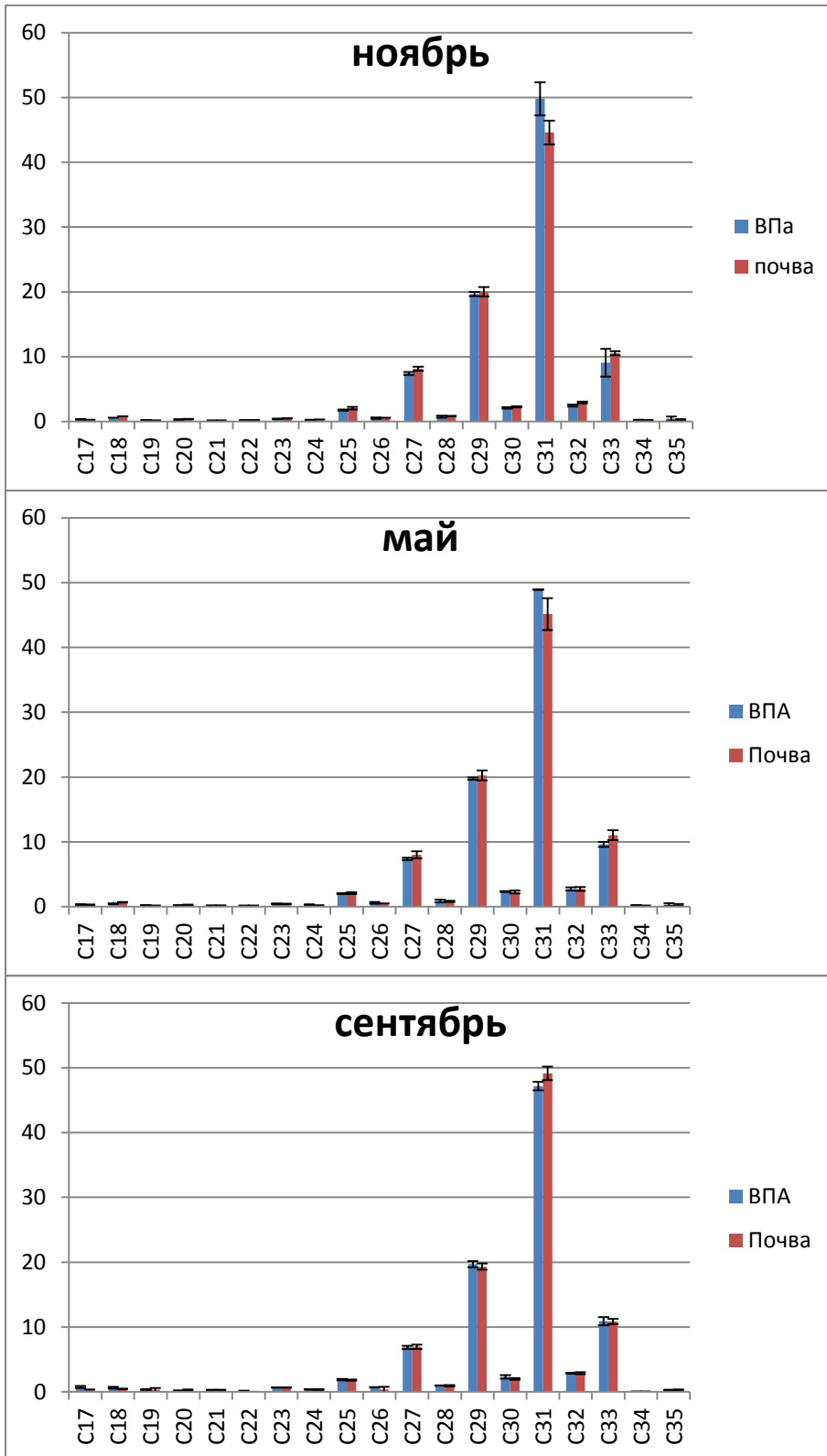


Рисунок 31. Изменение спектра *n*-алканов (% от общей суммы) в составе верхнего горизонта почвы кленового сообщества по сезонам

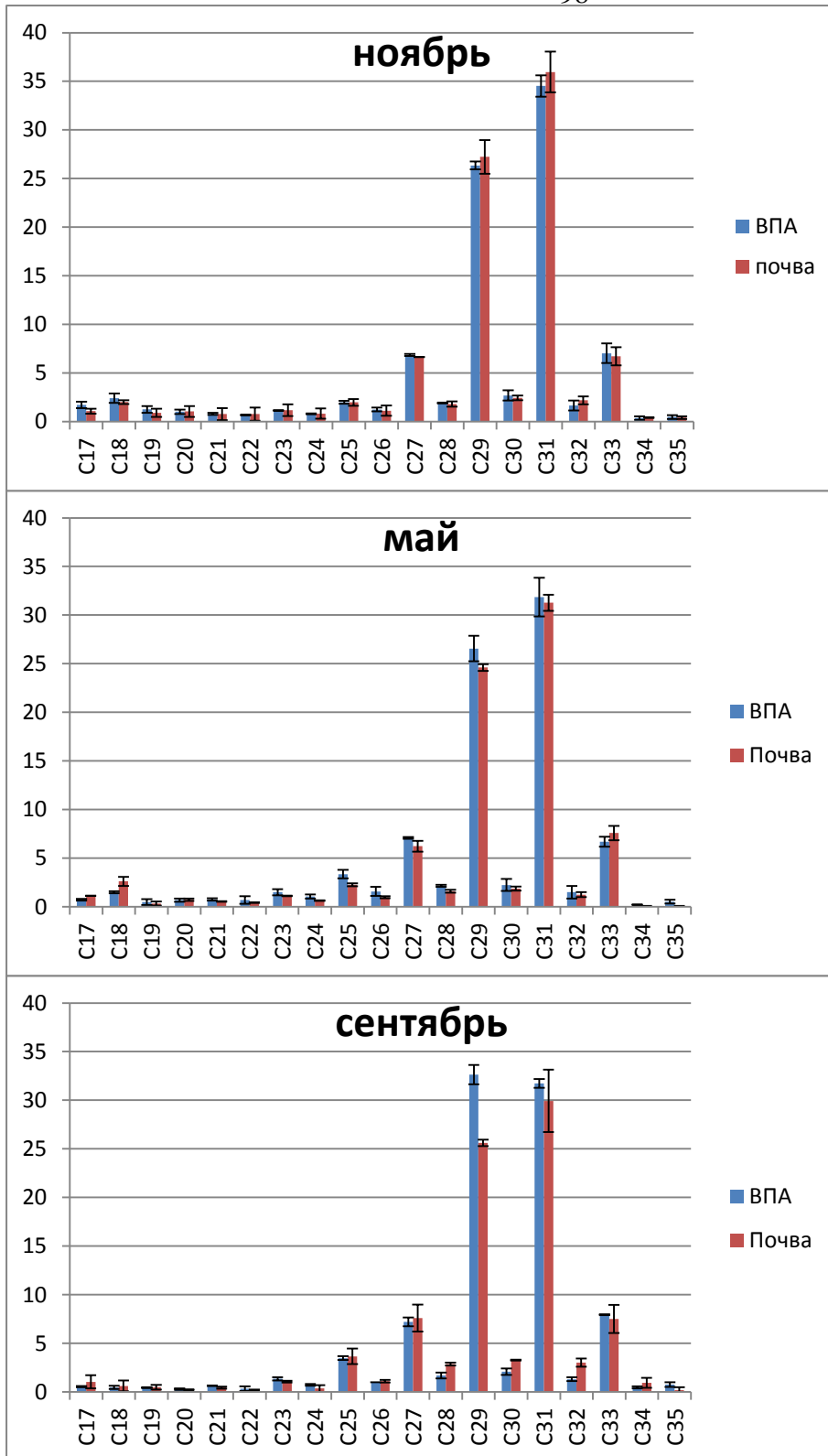


Рисунок 32. Изменение спектра *n*-алканов (%) в составе верхнего горизонта почвы кленово-липового сообщества по сезонам

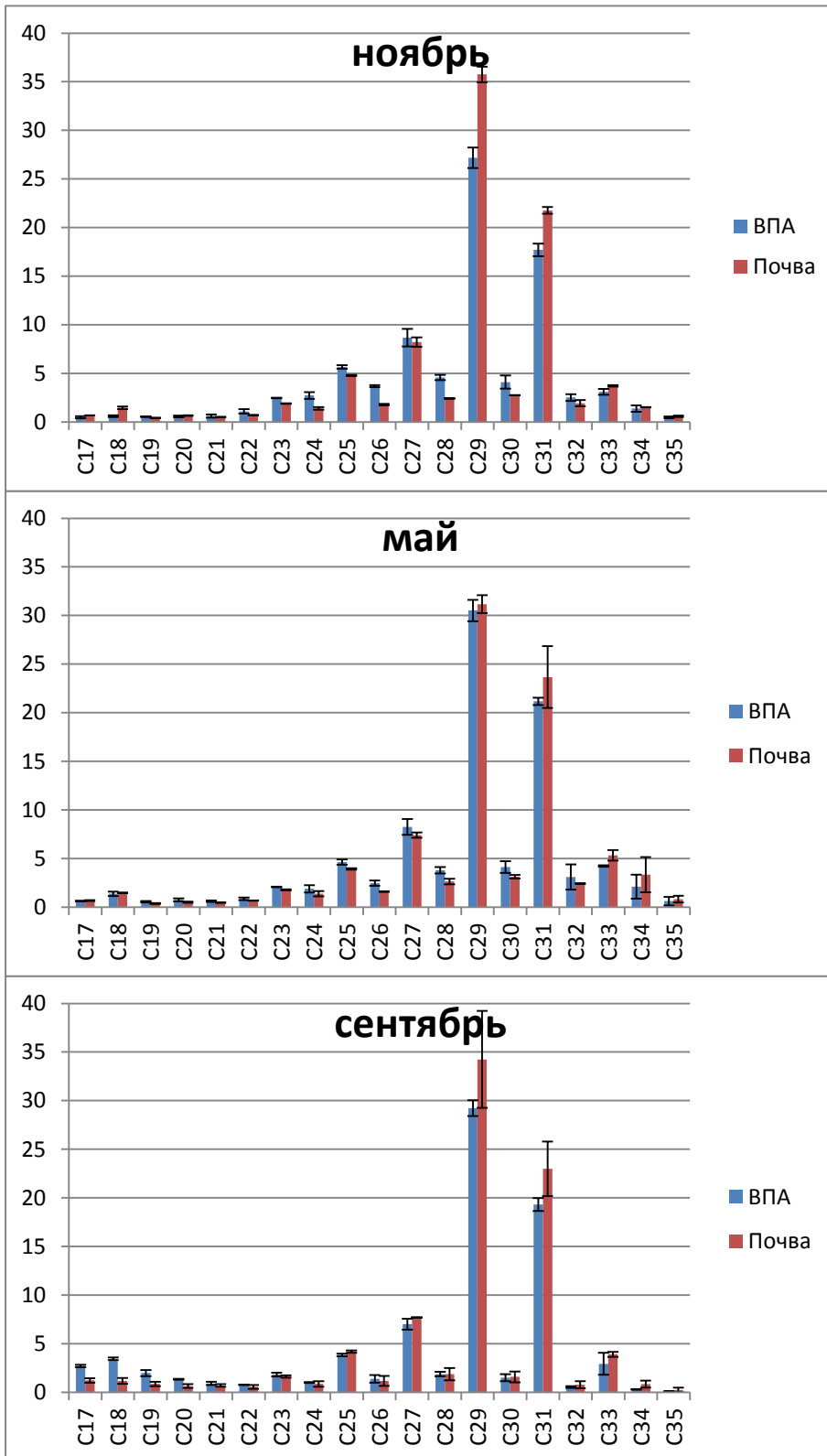


Рисунок 33. Изменение спектра *n*-алканов (% от общей суммы) в составе верхнего горизонта почвы липнякового сообщества по сезонам

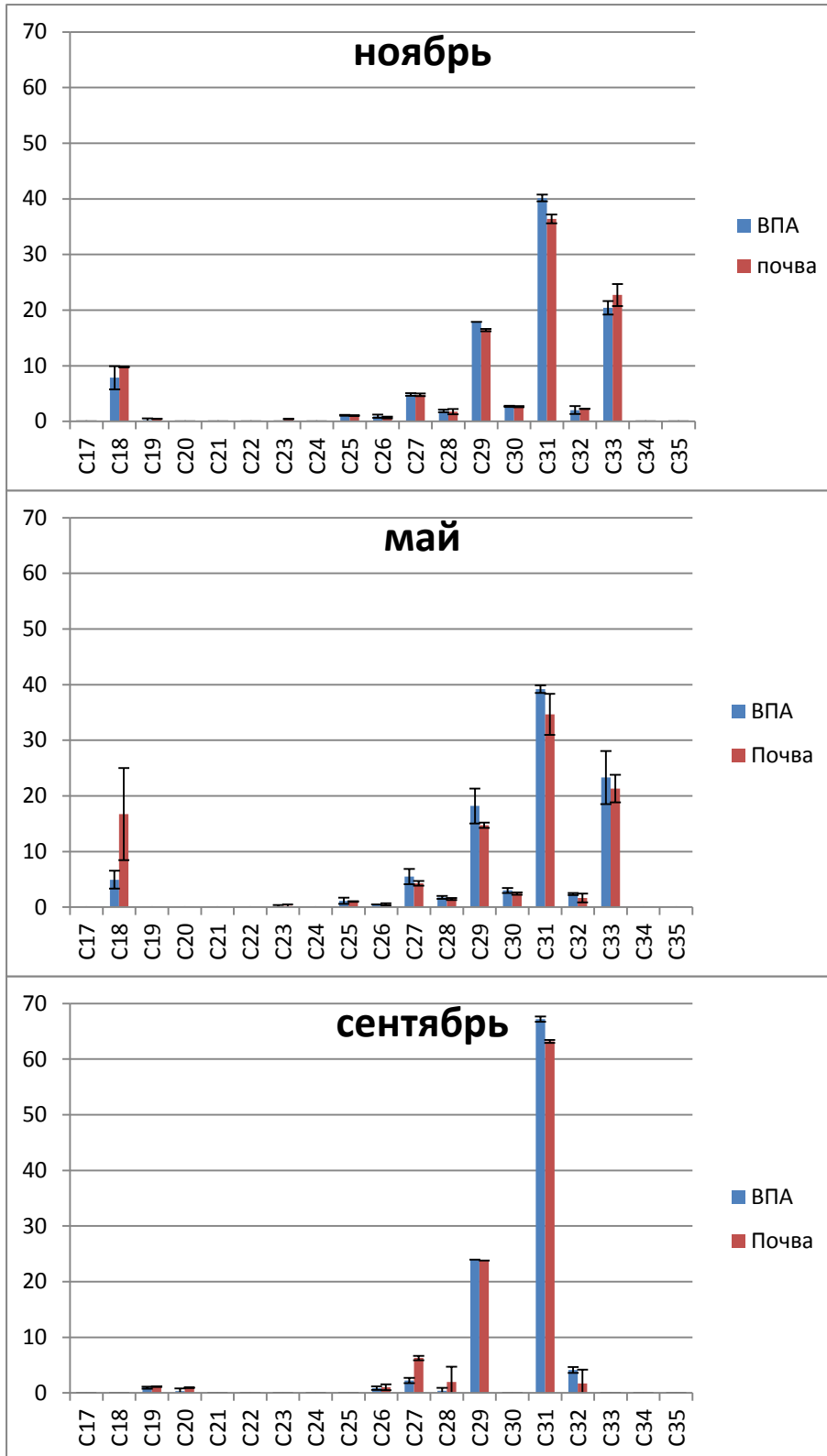


Рисунок 34. Изменение спектра *n*-метил-кетонов (% от общей суммы) в составе верхнего горизонта почвы кленового сообщества по сезонам

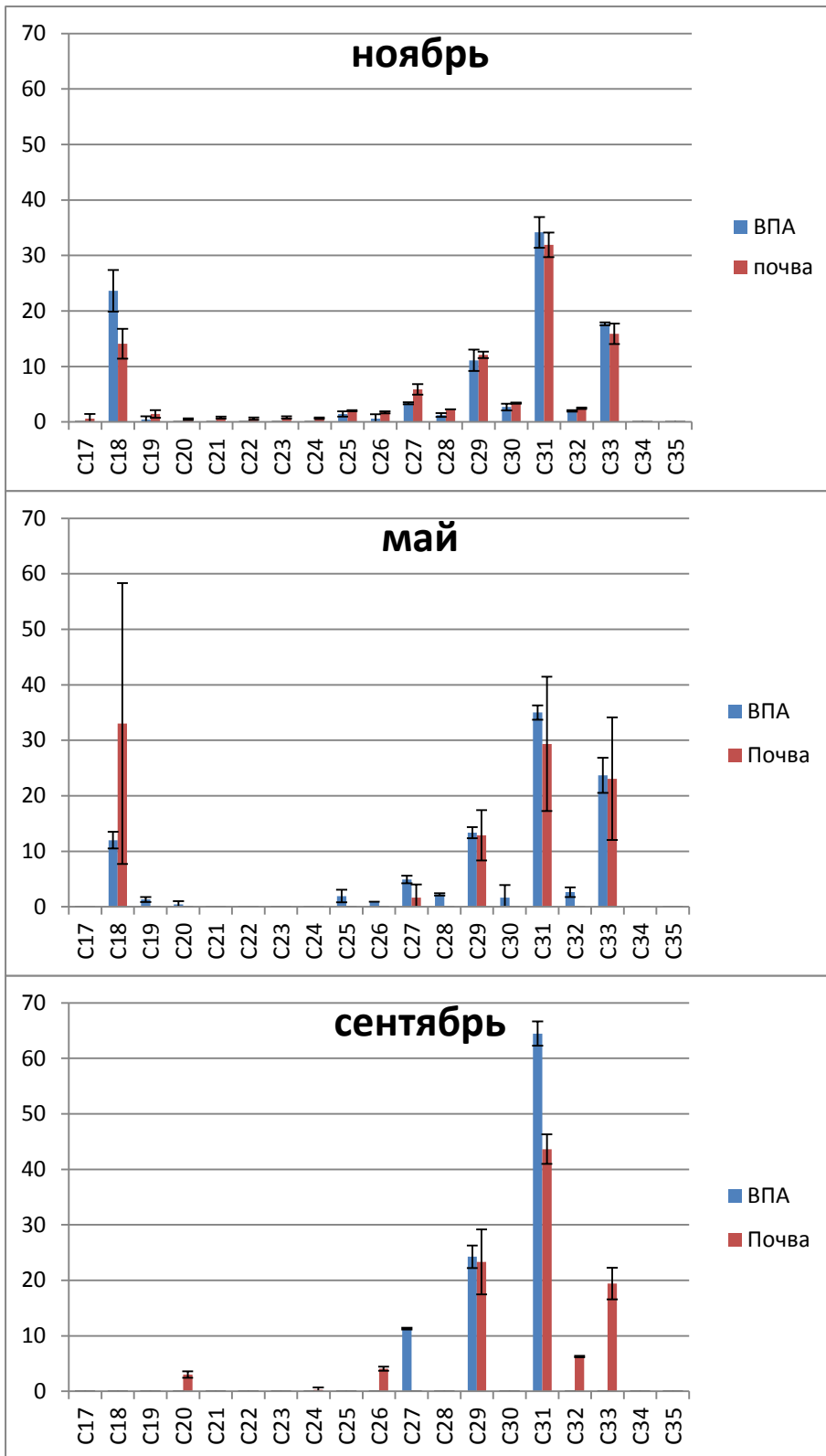


Рисунок 35. Изменение спектра *n*-метил-кетонов (% от общей суммы) в составе верхнего горизонта почвы кленово-липового сообщества по сезонам

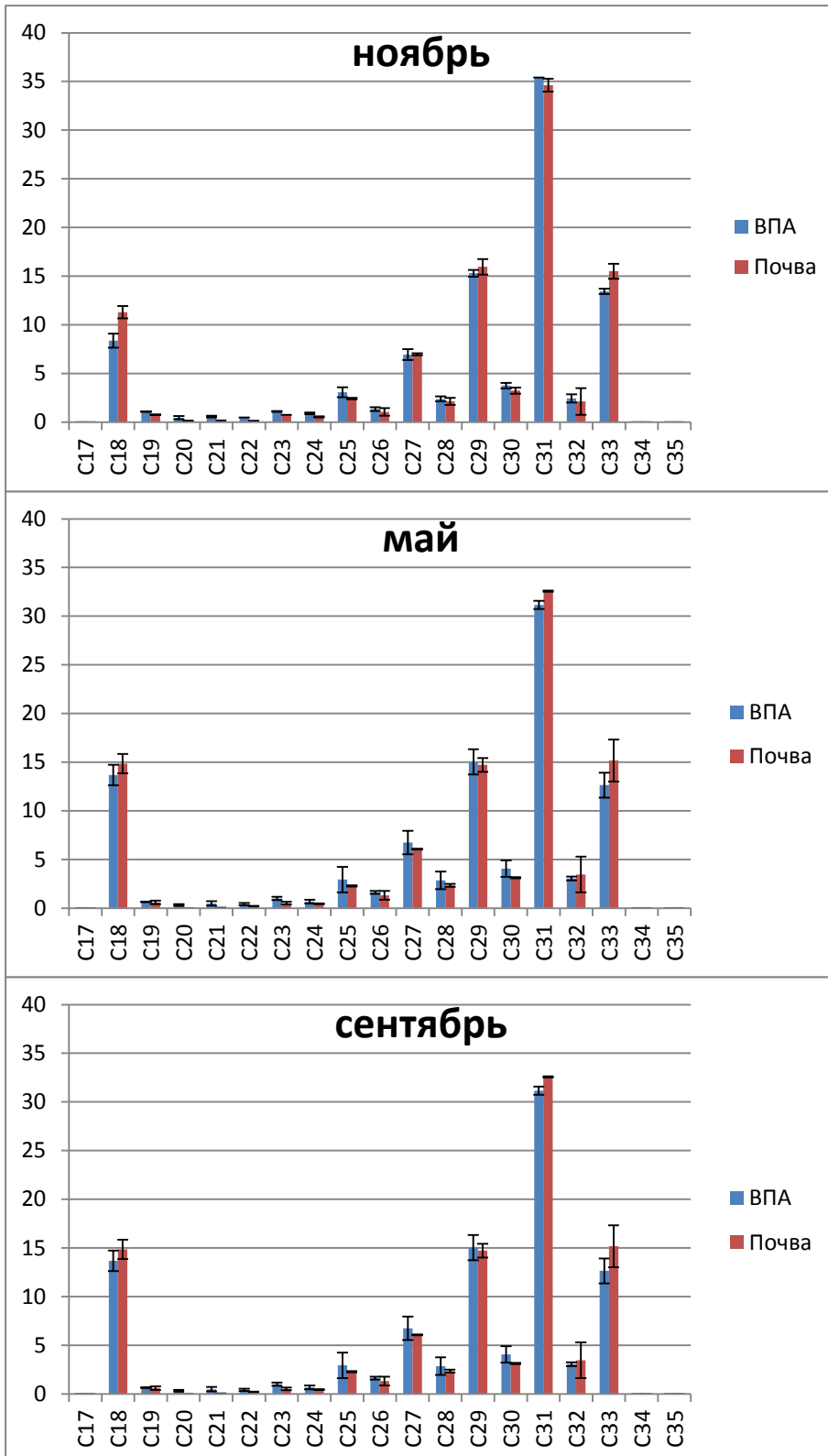


Рисунок 36. Изменение спектра индивидуальных *n*-метил-кетонов (% от общей суммы) в составе верхнего горизонта почвы липнякового сообщества по сезонам

Для всех исследуемых образцов доля водопрочных агрегатов составила не менее 75% от общей массы почвы, что свидетельствует о достаточно высокой устойчивости структурных единиц к воздействию воды в верхнем горизонте изучаемых почв. Отдельно расчет долей агрегатов разного размера не производился, но, тем не менее, было замечено, что в целом почвы кленового сообщества хуже оструктурены и преобладают более мелкие агрегаты. Чего нельзя сказать про почвы кленово-липового сообщества и липняка, где структурообразующее влияние оказывает травянистый покров.

Суммарное содержание биогенных углеводов в составе водопрочных агрегатов было в целом меньше по сравнению с исходными почвами, наблюдались аналогичные сезонные тенденции - общее количество *n*-алканов уменьшается в 2 раза к до листопадному сезону. Для водопрочных агрегатов кленового сообщества сезонной динамики в индексах ОЕР и LSR не наблюдается, доля нечетных длинноцепочечных соединений составляет в среднем 90%. Для ВПА кленово-липового сообщества ОЕР не изменяется в течение года, а LSR увеличивается к сентябрю на 80%, в отличие от почвы в целом. Для ВПА липняка характерна динамика обоих показателей: ОЕР увеличивается в 2 раза, а LSR снижается в 3 раза к до листопадному сезону, что не было замечено для почвы в целом.

Интересные результаты получаются при сравнении сезонной динамики отношения А/К в водопрочных агрегатах и исходных почвах. Для почв и ВПА кленового и кленово-липового сообществ характерно увеличение в 16-32 раза этого соотношения к сентябрю, чего нельзя сказать о почве и ВПА липняка, где на протяжении всего года сохраняется соотношение А/К на уровне 12-17. По-видимому, достаточный вклад корневых выделений в пул углеводов позволяет поддерживать баланс на более-менее постоянном уровне в течение всего года: поступление новых алканов в меньшей степени зависит от одного опада. В кленовом сообществе динамика этого соотношения выражена наиболее ярко: поступление свежего материала носит сугубо сезонный характер, в остальные периоды года происходит

трансформация и деградация ранее привнесенных углеводов. В кленово-липовом сообществе можно пронаблюдать усредненную ситуацию двух предыдущих парцелл.

Заключение

Отсутствие выраженной дифференциации в гомологическом спектре *n*-алканов для различающихся по прочности почвенных структур так же, как и наличие связанной со стадиями биологического круговорота сезонной динамики этого спектра, позволяет предположить, что в почве алканы находятся в составе частичек (капсул) самостоятельной фазы липидов, образующихся при разрушении восковой кутикулы листьев и суберинизированных покровов корней и имеющих сложный компонентный состав. Биodeградация почвенной микробиотой и сорбционные взаимодействия с минеральными и органо-минеральными поверхностями для таких гидрофобных капсул происходят без значительных изменений молекулярного состава входящих в них липидных соединений.

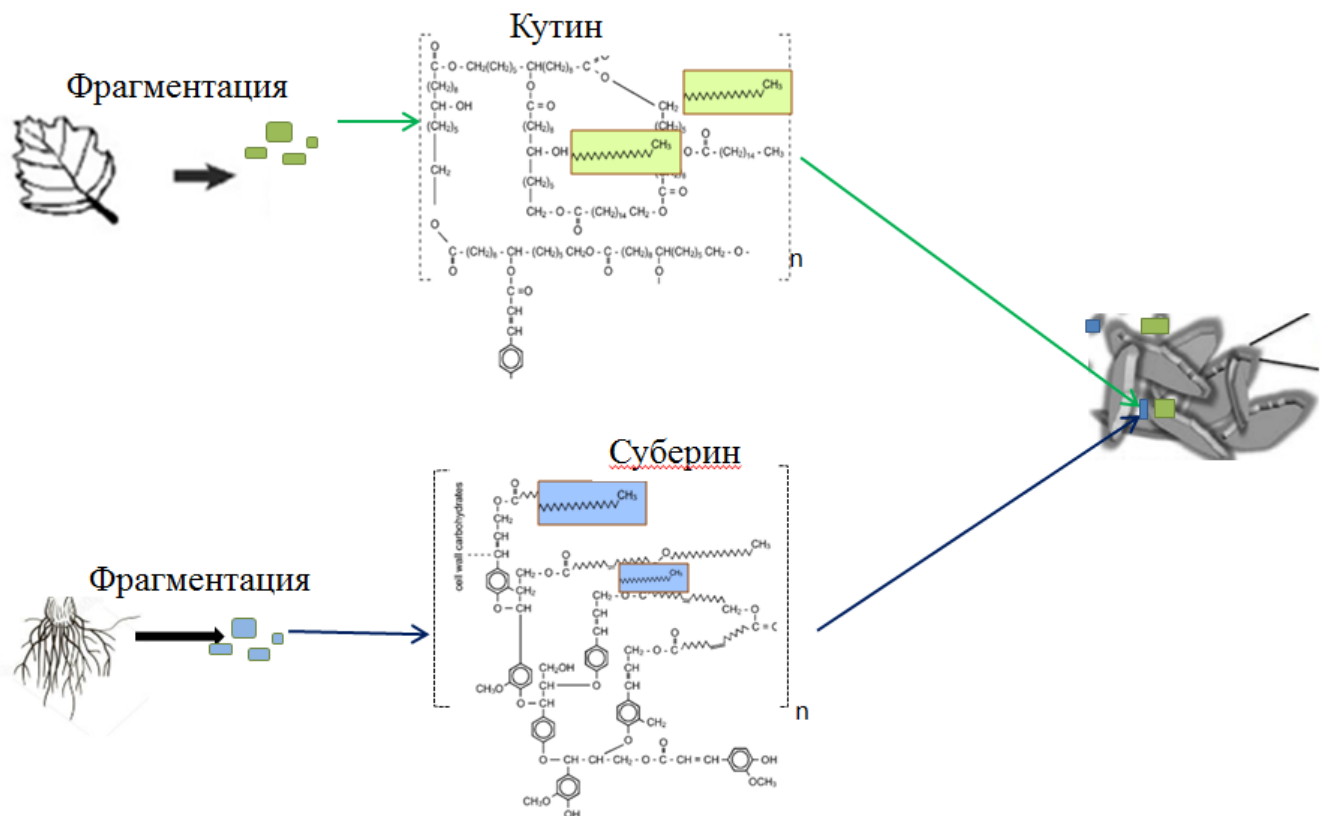


Рисунок 37. Схема поступления *n*-алканов из кутина и суберина в почву в составе липидных «капсул»

В гомологическом ряду неразветвленных алканов, поступающих на поверхность почвы с наземным опадом абсолютно доминируют

длинноцепочечные нечетные соединения, также как и в составе листьев соответствующих древесных растений. При пожелтении листовых пластин увеличивается средняя длина углеродной цепи и начинается трансформация линейных алканов в *n*-метил-кетоны. В этот же период окончательно формируется так называемый углеводородный «отпечаток» наземной фитомассы широколиственной растительности – преобладающая длина *C*-цепи и спектр *n*-алканов в целом сохраняется в течение года следующего после отмирания листа и превращении его в опад.

Выводы

1) Оптимизирована процедура выделения алифатических соединений почвенных липидов - *n*-алканов и *n*-метил-кетонов - методом ускоренной автоматической экстракции, заключающаяся в увеличении количества последовательных циклов извлечения и использовании растворителей различной полярности. Модернизация параметров выделения (использование градиентной экстракции) позволила увеличить выход целевых компонентов из образцов почв на 50%, из подстилок - на 30% за счет более эффективного извлечения наиболее гидрофобных гомологов с длиной углеродной цепи $>C_{25}$.

2) В гомологическом составе *n*-алканов верхних гумусовых горизонтов (AУ и AУЕL) исследованной дерново-подзолистой почвы под широколиственным растительным сообществом абсолютно доминируют ($>70\%$) нечетные соединения с длиной цепи C_{25} – C_{33} , основным источником которых в почве являются эпителикулярные воска листового опада растений. В более глубоком горизонте AУЕL выше вклад углеводов корневой биомассы, что выражается в повышении доли четных гомологов: значения индекса ОЕР снижаются 10 до 6.

3) В элювиальном (ЕL) и иллювиальном (ВТ) горизонтах почвы резко (в 3–4 раза) возрастает доля линейных алканов в составе органического вещества, и меняется тип распределения *n*-алканов по длине углеродной цепи – вклад четных и коротких гомологов резко повышается (значения индексов

ОЕР и LSR - 1-2). Процессы биодegradации алканов в негумусовых горизонтах замедлены, что выражено в низком относительном содержании продуктов деградации – метил-кетонов.

4) Для почв под листопадными фитоценозами с разным временем формирования верхних гумусовых горизонтов характерны количественные и качественные сезонные изменения в липидном составе органофилия. Доля *n*-алканов в составе органического вещества горизонта АУ дерново-подзолистых почв достоверно не изменяется в течение года и составляет 91–99 мкг/гC_{орг}. В горизонте АУ темногумусовых почв доля *n*-алканов выше, меняется в диапазоне от 600 до 300 мкг/гC_{орг}.

5) Гомологический состав *n*-алканов в дерново-подзолистых почвах под липой существенно меняется в годовом цикле: ОЕР увеличивается от ноября к сентябрю в 2,5 раза. Диапазон изменений в гомологическом составе *n*-алканов темногумусовой почве под липой ниже. В горизонте АУ под кленовым сообществом состав *n*-алканов стабилен: значения индекса ОЕР остается постоянным (12 – 13).

6) Продукты микробиологического окисления *n*-алканов – 2-метил-кетоны, несмотря на относительно невысокое содержание в составе почвенных липидов (5–30 мкг/г C_{орг}), являются более чувствительным показателем изменений липидного комплекса почвы по сравнению линейными алканами. В течение вегетационного сезона их относительное содержание в почве изменялось на порядок. При этом диапазон колебаний в дерново-подзолистых почвах (5 – 13 мкг/г C_{орг}) ниже чем темногумусовых почва под кленовыми (1–30 мкг/г C_{орг}) и липовыми сообществами (19-47 мкг/г C_{орг})

7) В большинстве исследованных растительных сообществ существовал период времени, в течение которого относительное содержание продуктов окисления *n*-алканов – *n*-метил-кетонов – минимально, что указывает на отсутствие в почве биологически доступной липидной фракции. В липняках Лосиног острова затухание процессов трансформации алканов

происходило в мае, в кленовом и кленово-липовом фитоценозах Воробьевых гор – в сентябре.

8) Качественный состав *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в органическом веществе выделенных из почв водопрочных агрегатов в течение всего сезона достоверно не отличался от состава этих алифатических соединений для всей почвенной массы, что указывает на малое время жизни почвенных агрегатов и высокую скорость перемешивания верхнего слоя почвы зообиотой, обеспечивающей равномерное распределение поступающих из различных источников липидов на почвенной матрице.

Список литературы

1. *Анохина Н.А., Завгородняя Ю.А., Богатырев Л.Г., Бенедиктова А.И., Земсков Ф.И., Демин В.В.* Динамика содержания ароматических кислот в биогеоценозах стационарных почвенных лизиметров // Вестник Московского Университета. Серия 17: Почвоведение. – 2018. - № 4. – С. 3-10.
2. *Анохина Н.А., Демин В.В., Завгородняя Ю.А.* Состав *n*-алканов и *n*-метил-кетонов в почвах парковой зоны Москвы // Почвоведение. – 2018. - № 6. – С. 1–6.
3. *Базилевич Н.И.* Биологическая продуктивность экосистем Северной Евразии. М.: Наука. – 1993. - 293 с.
4. *Бреус И.П., Мищенко А.А., Неклудов С.А., Бреус В.А., Горбачук В.В.* Сорбция углеводов черноземом выщелоченным. //Почвоведение. – 2003. - № 3.
5. *Вадюнина А.Ф., Корчагина З.А.* Методы исследования физических свойств почв. М.: Агропромиздат. – 1986. – 416 с.
6. ГОСТ 12536-2014. «Грунты. Методы определения гранулометрического (зернового) и микроагрегатного состава». Межгосударственный стандарт: издание официальное: разработан ОАО «ПНИИИС»: внесен Техническим комитетом по стандартизации ТК 465 «Строительство»: принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации: приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12.12.2014 №2022-ст введен в действие в качестве национального стандарта РФ с 01.07.2015: взамен ГОСТ 12536-79. – М.: Стандартинформ, 2015. –IV, 20 с.; 29см. – Текст: непосредственный.
7. *Завгородняя Ю.А., Бочарова Е.А., Кольцов Г.И.* Определение уровня загрязнения почв углеводородами методом автоматизированной ускоренной экстракции в субкритических условиях // Экология и промышленность России. – 2012. - № 2. – С. 30–33.

8. *Золотарева Б.Н., Рузиева Р.Х.* Содержание физиологически активных соединений фенольной и индольной природы в серой лесной почве при систематическом внесении удобрений // Почвоведение. – 2000. - № 4. – 20 с.
9. *Зубкова Т.А., Карпачевский Л.О.* Матричная организация почв. М.: РУСАКИ. – 2001. – 150 с.
10. *Ильин Н.П., Калачникова И.Г., Каркишко Т.И.* Наблюдения за самоочищением почв от нефти в средней и южной тайге. // Добыча полезных ископаемых и геохимия природных экосистем. М.: Наука. – 1982.
11. *Квасников Е.И., Ключникова Т.М.* Микроорганизмы – деструкторы нефти в водных бассейнах. Киев: Наук.думка. – 1981.
12. *Кефели В.И., Турецкая Р.Х., Коф Э.М., Власов П.Ф.* Определение биологической активности свободных ауксинов и ингибиторов роста в растительном материале. Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, дефолиантов и гербицидов. - М.: Наука. – 1973.
13. *Киселева В.В.* НП «Лосиный остров» // Состояние природной среды национального парка «Лосиный остров» (по данным мониторинга за 2003-2005 гг.) [Сб.ст.] / ред. А.И. Янгутов, В.В.Киселева. Пушкино. – 2006. - С. 112 – 114.
14. *Классификация и диагностика почв России.* Смоленск: Ойкумена. – 2004. – 342 с.
15. *Клышев Л.К., Чумбалов Т.К., Алюкина Л.С.* Фенольные соединения и их физиологические свойства. Алма-Ата: «Наука» Казахской ССР. - 1973.
16. *Куваева Ю. В.* Содержание и состав фенольных кислот в некоторых почвах Нечерноземной зоны. // Почвоведение. – 1980. - № 1. – с. 97-106.
17. *Лодыгин Е.Д., Безносиков В.А.* Строение липидной фракции гумуса подзолистых и торфянисто-подзолисто-глееватых почв. // Почвоведение. - 2003. - № 1. - С. 48-52.

18. *Маршал Э.* Биофизическая химия. М.: Мир. - 1981. - Т. 1. - 360 с.
19. *Милановский Е.Ю., Шейн Е.В.* Функциональная роль амфифильных компонентов гумусовых веществ в процессах гумусо-структурообразования и в генезисе почв. // Почвоведение. - 2002. - № 10. - С. 1200-1214.
20. *Мищенко А.А.* Закономерности сорбционного удерживания летучих органических загрязняющих веществ почвами. Диссертация канд. хим. наук: Казань. - 2004.
21. *Орлов Д.С.* Химия почв: Учебник /Д.С. Орлов, Л.К. Садовникова, Н.И. Суханова.— М.: Высш. шк. - 2005. — 558 с: ил.
22. *Орлов Д.С., Лозановская И.Н., Попов П.Д.* Органическое вещество почв и органические удобрения. – М.: МГУ. – 1985. – 96 с.
23. *Постишил Ф., Цвикрова М., Грубцова М.* Растворимые фенольные и гуминовые вещества почв и их влияние на общий метаболизм у растений // Рост растений и дифференцировка. М.: Наука. - 1981. - С. 150-162.
24. *Прокофьева Т.В., Мартыненко И.А., Иванников Ф.А.* Систематика почв и почвообразующих пород г. Москвы и возможность включения их в общую классификацию // Почвоведение. – 2011. - № 5. - С. 611-623.
25. *Прокофьева Т.В., Герасимова М.И.* Городские почвы: диагностика и классификационное определение по материалам научной экскурсии конференции SUITMA-9 по Москве // Почвоведение. – 2018. - № 9. – С. 1057-1070.
26. Пулы и потоки углерода в наземных экосистемах России / В.Н. Кудеяров, Г.А. Заварзин, С.А. Благодатский и др.; [отв. ред. Г.А. Заварзин]; Ин-т физ.-хим. и биол. проблем почвоведения РАН. - М.: Наука. - 2007. - 315 с.

27. Соколова Т.А., Трофимов С.Я. Сорбционные свойства почв. Адсорбция. Катионный обмен: учебное пособие по некоторым главам химии почв. – Тула: Гриф и К. – 2009. – 172 с.
28. Титлянова А.А., Наумова Н.Б., Косых Н.П. Круговорот углерода в луговых экосистемах // Почвоведение. – 1993. - № 3. – С. 32-40
29. Титлянова А.А., Косых Н.П., Мироничева-Токарева Н.П. Корни, как компонент биоты почв Сибири в травяных экосистемах // Почвоведение. – 1994. - № 12. – С. 43-50
30. Фридланд Е.В. Липидная фракция почвенного гумуса. М.: Наука. – 1979. – 180 с.
31. Шейн Е.В., Милановский Е.Ю. Роль и значение органического вещества в образовании и устойчивости почвенных агрегатов. // Почвоведение. - 2003. - № 1. - С. 53-61.
32. Allen-King R., Grathwohl P., Ball W.P. New modeling paradigms for the sorption of hydrophobic organic chemicals to heterogeneous carbonaceous matter in soils, sediments, and rocks // Adv. In Water Resources. – 2002. - v. 25. - p. 985-1016
33. Amelung W., Brodowski S., Sandhage-Hofmann A., Bol R. Combining biomarker with stable isotope analyses for assessing the transformation and turnover of soil organic matter /Advanced in Agronomy, Academic Press. – 2008. - p. 155-250
34. Anderson T.H., Domsch K.H. Soil microbial biomass: the eco-physiological approach// Soil Biol. Biochem. – 2010. - V. 42. - p. 2039-2043.
35. Application Note 338. Dionex Extraction of Total Petroleum Hydrocarbon Contaminants (Diesel and Waste Oil) in Soils by Accelerated Solvent Extraction. <http://www.dionex.com>
36. Avato P., Bianchi G., Mariani G. Epicuticular waxes of Sorghum and some compositional changes with plant age. // Phytochemistry. - 1984. - V. 23. - p. 2843-2846.

37. *Bagaeva T.V.* Effect of the composition of the gaseous phase on the formation of hydrocarbons in *Desulfovibrio desulfuricans*. // *Appl. Biochem. Microbiol.* (Moscow). - 2000. - V. 36. - P. 195–198.
38. *Bagaeva T.V.* The ability of sulfate-reducing bacteria of various taxonomic groups to synthesize extracellular hydrocarbons. // *Microbiology* (Moscow). - 1997. - V. 66. - p. 796–799.
39. *Bagaeva T.V., Zinurova E.E.* Comparative characterization of extracellular and intracellular hydrocarbons of *Clostridium pasteurianum*. // *Biochemistry* (Moscow). - 2004. - V. 69. - P. 427–428 [translated from *Biokhimiya*].
40. *Bagaeva T.V., Zolotukhina L.M.* The formation of hydrocarbons by sulfate reducing bacteria grown under chemolithoheterotrophic conditions. // *Microbiology* (Moscow). - 1994. - v. 63. - P. 993–995.
41. *Batjes N.H.* Total carbon and nitrogen in the soils of the world. *Eur. J. Soil. Sci.* – 2014. V. 65. - № 328. – P. 4–21.
42. *Britton L.N.* Microbial degradation of aliphatic hydrocarbons // *Marsel Dekker, Inc., New York.* – 1984. - p. 89-129.
43. *Brocks J.J, Buick R, Summons R.E., Logan G.A.* A reconstruction of Archean biological diversity based on molecular fossils from the 2.78 to 2.45 billion-year-old Mount Bruce Supergroup, Hamersley Basin, Western Australia. // *Geochim. Cosmochim. Acta.* - 2003. - V. 67. - p. 4321–4335.
44. *Bull I.D., van Bergen P.F., Nott C.J., Poulton P.R., Evershed R.P.* Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted classical experiments. The fate of lipids in different long-term experiments. // *Organic geochemistry.* - 2000. - V. 31. - p. 389-408.
45. *Bush R.T., McInerney F.A.* Leaf-wax *n*-alkane distributions in and across modern plants: implications for paleoecology and chemotaxonomy // *Geochimica et Cosmochimica Acta.* - 2013. - V. 117. - P. 161-179. doi: j.gca.2013.04.016
46. *Chikarashi J., Naraoka H., Poulson S.R.* Carbon and hydrogen isotopic fractionation during lipid biosynthesis in a higher plant (*Cryptomeria*

- japonica*) // *Phytochemistry*. - 2004. - V. 65. - P. 323-330.doi: j.phytochem.2003.12.003
47. *Coates J.D., Woodward J.A., Philip P., Lovley D.R.* Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkanes in petroleum – contaminated marine harbor sediments // *Mar.Pollut.Bull.* – 1980. - v. 1997. - p. 3589-3593
48. *Colina-Tejada A., Ambles A., Jambu P.* Nature and origin of lipids shed into the soil by rainwater leaching a forest cover of *Pinus maritime sp.* // *European Journal of Soil Science*. - 1996. - V. 45. - P. 637-643.
49. *Dennis M., Kolattukudy P.E.* A cobalt-porphyrin enzyme converts a fatty aldehyde to a hydrocarbon and CO. // *Proc Natl Acad USA*. - 1992. - V. 89. - P. 5306–5310.
50. *Eglinton G., Logan G.A.* Molecular preservation // *Phil. Trans. Roy. Soc. London B333*. - 1991. - P. 315-328.
51. EPA Methods. Method 3545A (SW-846). Pressurized Fluid Extraction (PFE). Revision 1. 2007.
52. *Ferguson A.L., Debenedetti P.G., Panagiotopoulos A.Z.* Solubility and molecular conformations of *n*-alkane chain in water // *Physical chemistry*. – 2009. - v. 113. - p. 6405-6414.
53. *Ficken K.J., Li B., Swain D.L., Eglinton G.* An *n*-alkane proxy for the sedimentary input of submerged/floating freshwater aquatic macrophytes. // *Organic Geochemistry*. - 2000. - V. 31. - P. 745–749.
54. *Fisher D.J., Holloway P.J., Richmond D.V.* Fatty acid and hydrocarbon constituents of the surface and wall lipids of some fungal spores. // *J. Gen. Microbiology*. - 1972. - V. 72. - P. 71–78.
55. *Forney F.W., Markovetz A.J.* The biology of Me ketones // *Journal of lipids research*. - 1971. - V. 12. - p. 383-395.
56. *Gaur A. C., Pareek R.P.* Organic acids in soil during degradation of organic residues // *Indian Nat. Sci.* – 1974. - V. 40. - p. 214-220.

57. *Gosz J.R.* Biomass distribution and production budget for a nonaggrading forest ecosystem // *Ecology*. - 1980. - V. 61. - P. 507-514.
58. *Graber E. R., Borisover M. D.* Hydration-Facilitated Sorption of Specifically Interacting Organic Compounds by Model Soil Organic Matter. // *Environmental Science & Technology*. – 1998. – 32 p.
59. *Gupta N.S., Cambra-Moo O., Briggs D.E.G., Love G.D., Fregenal-Martinez M.A., Summons R.E.* Molecular taphonomy of macrofossils from the Cretaceous Las Hoyas Formation, Spain. // *Cretaceous research*. – 2008. -V. 29. – P. 1-8
60. *Gupta N.S., Cody G.D., Tetlie O.E., Briggs D.E.G., Summons R.E.* Rapid incorporation of lipids into macromolecules during experimental decay of invertebrates: initiation of geopolymer formation. // *Organic geochemistry*. – 2009. – Vol. 40. – P. 589-594
61. *Handley L., Pearson P.N., McMillan I.K., Pancost R.D.* Large terrestrial and marine carbon and hydrocarbon isotope excursions in a new Paleocene/Eocene boundary section from Tanzania // *Earth, Planet Sci. Lett.* - 2008. - v. 275. - p. 17-25.
62. *Harayama S., Kasai Y., Hara A.* Microbial communities in oil-contaminated seawater // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2004. - v. 15. - p. 2005-2014.
63. *Harwood J.L., Russel N.J.* Lipids in plants and microbes. London: George Allen&Unnin Ltd. - 1984. – 161 p.
64. *Hedges J., Keil R.* Organic geochemical perspectives on estuarine processes sorption reactions and consequences // *Marine chemistry*. – 1999. – V. 65 (1-2). – P. 55-65
65. *Hepp J., Tuthorn M., Zech R., Mugler I., Schlutz F., Zech W., Zech M.* Reconstructing lake evaporation history and the isotopic composition of precipitation by a coupled $\delta^{18}\text{O}$ - $\delta^2\text{H}$ biomarker approach // *J. of Hydrology*. - 2015. - V. 529. - № 2. - P. 622-631. doi:10.1016/j.jhydrol.2014.10.012
66. *Hirschler A., Rontani J., Raphel D., Matheron R., Bertrand J.* Anaerobic degradation of hexadecane-2-one by a microbial enrichment culture under

- sulfate-reducing conditions // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1998. - v. 64. - p. 1576-1579.
67. *Huang J., Lockheart M.J., Collister J.W., Eglinton G.* Molecular and isotopic biogeochemistry of the Miocene Clarkia Formation: hydrocarbons and alcohols // *Org. Geochemistry.* - 1995. - V.23. - p. 785-801.
68. IUSS Working Group WRB. 2006. World reference base for soil resources. World Soil Resources Reports № 103. FAO, Rome. - 2006.
69. *Jansen B., Hausmann N.S., Tonneijck F.H., Verstraten J.M., de Vooght P.* Characteristic straight-chain lipid ratios as a quick method to assess past forest – paramo transitions in the Ecuadorian Andes // *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology.* - 2008. - V. 262. - P. 129-139. doi: j.orggeochem.2008.09.006
70. *Kolattukudy P.E.* Biosynthesis of paraffins in *Brassica oleraceae*: fatty acid elongation–decarboxylation as a plausible pathway. // *Phytochemistry.* - 1967. - V. 6. - P. 963–975.
71. *Jansen B., Nierop K.G.J.* Methyl ketones in high altitude Ecuadorian Andosols confirm excellent conservation of plant-specific *n*-alkanes patterns // *Organic Geochemistry.* - 2009. - V. 40. - P. 61-69.
72. *Jetter R., Kunst L., Samuels A.L.* Composition of plant cuticular waxes // *Biology of plant cuticle/ Blackwell publishing.* – Oxford. - 2006.
73. *Jones J. G.* Studies on lipids of soil microorganisms with particular reference to hydrocarbons. // *J. Gen. Microbiol.*, 1969. V. 59. P. 145–152.
74. *Jones J.G.* Studies on lipids of soil microorganisms with particular reference to hydrocarbons. // *Genetic Microbiology.* - 1969. - V. 59. - p. 145–152.
75. *Jones J.G., Young B.V.* Major paraffin constituents of microbial cells with particular references to *Chromatium* sp. // *Arch Mikrobiol.* - 1970. - V. 70. - P. 82–88.
76. *Khan S.U., Schnitzer M.* The retention of hydrophobic organic compounds by humic acid // *Geochimica et Cosmochimica Acta.* - 1972. - V. 36. - P. 745-754. doi: 0016-7037(72)90085-3

77. Kleber M., Sollins P., Sutton R. A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces // *Biogeochemistry*. – 2007. – V. 85. – P. 9-24
78. Kleber M., Eusterhues K., Keiluweit M., Mikutta C., Mikutta R., Nico P.S. Mineral-organic associations: formation, properties, and relevance in soil environments // *Advances in Agronomy*. - 2015. - V. 130. - P. 1-140. doi: bs.agron.2014.10.005
79. Kogel-Knaber I. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. // *Soil biology&biochemistry*. - 2002. - V. 34. - p. 139-162.
80. Koster J., Volkman J.K., Rullkotter J., Scholzbottcher B.M., Rethmeier J., Fischer U. Monomethyl-branched, dimethyl-branched, and trimethyl-branched alkanes in cultures of the filamentous cyanobacterium *Calothrix scopulorum*. // *Org Geochem*. - 1999. - V. 30. - p. 1367–1379.
81. Kuzyakov Y., Domanski G. Carbon input by plants into the soil: Review // *J. Plant Nutr. Soil Sci*. - 2000. - V. 163. - P. 421-431.
82. Ladygina N., Dedyukhina E.G., Vainshtein M.B. Are view on microbial synthesis of hydrocarbons. // *Process biochemistry*. - 2006. - V. 41. - P. 1001-1004.
83. Laseter J.L., Hess W.M., Weete J.D., Stocks D.L., Weber D.J. Chemotaxonomic and ultrastructural studies on three species of *Tilletia* occurring on wheat. // *Canadian J. Microbiol*. - 1968. - V. 14. - P. 1149–1154.
84. Lehmann J., Kleber M. The contentious nature of soil organic matter // *Nature*. - 2015. - V. 528. - P. 60-68. doi: 10.1038/nature16069
85. Lehtonen K., Ketola M. Solvent-extractable lipids of *Sphagnum*, *Carex* and *Carex-Bryales* peats: content and compositional features vs peat humifications // *Org. Geochem*. – 1993. - v. 20. - № 3. - p. 363-380.
86. Lichtfouse E., Chenu C., Baudin F., Leblond C., Da Silva M., Behar F., Derenne S., Largeau C., Wehrung P., Albrecht P. A novel pathway of soil

- organic matter formation by selective preservation of resistant straight-chain biopolymers: chemical and isotope evidence // *Organic Geochemistry*. - 1998. - V. 28. - P. 411-415.
87. *Lopez-Dias V., Blanco C.D., Bechtel A.* Different source of *n*-alkanes and *n*-alkan-2 ones in a 6000 cal. yr. BP *Sphagnum*-rich temperate peat bog // *Org. geochem.* – 2013. - v. 57. - p. 7-10.
88. *Lu H., Peng P., Sun Y.* Molecular and stable carbon isotopic composition of monomethylalkanes from one oil sand sample: source implications. // *Org Geochem.* - 2003. - V. 34. - p. 745–754.
89. *Luo Pan, Peng PingAn, Lu HouYuan, Zheng Zhuo, Wang Xu.* Latitudinal variations of CPI values of long-chain *n*-alkanes in surface soil: Evidence for CPI as a proxy of aridity // *Science China, Earth Science.* – 2012. - v. 55. - № 7. - P. 1134-1146
90. *Lynch J.M., Whipps J.M.* Substrate flow in the rhizosphere // *The rhizosphere and plant growth.* Dodrecht: Kluwer. - 1991. - P. 15-24.
91. *Merdinger E., Devine E.M.* Lipids of *Debaryomyces hansenii*. // *Bacteriology.* - 1965. - V. 89. - P. 1488–1493.
92. *Merdinger E., Kohn P., McClain R.C.* Composition of lipids in extracts of *Pullularia pullulans*. // *Canadian J. Microbiol.* - 1968. - V. 14. - P.1021–1027.
93. *Naccarato W.F., Gilbertson J.R., Gelman R.A.* Effects of different culture media and oxygen upon lipids of *Escherichia coli* K-12. // *Lipids.* - 1974. - V. 9. - P. 322–329.
94. *Nguyen Tu Th.Th., Egasse C., Zeller B., Bardoux G., Biron Ph., Ponge J.-F., David B., Derenne S.* Early degradation of plant alkanes in soils: a litterbag experiment using ¹³C-labelled leaves // *Soil Biology&Biochemistry.* - 2011. - V. 43. - P. 2222-2228. doi:10.1016/j.soilbio.2011.07.009
95. *Nguyen C.* Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls // *Agronomic.* - 2003. - V. 23. - P. 375-396.

96. *Nichols J.N., Huang J.* C₂₃–C₃₁ n-alkan-2-ones are biomarkers for the genus *Sphagnum* in fresh-water peatlands. // *Organic geochemistry*. - 2007. - V.38. - p. 1972-1976.
97. *Nikolaev Yu.A., Panikov N.S., Lukin S.M., Osipov G.A.* Saturated C₂₁–C₃₃ hydrocarbons are involved in the self-regulation of *Pseudomonas fluorescens* adhesion to a glass surface. // *Microbiology (Moscow)*. - 2001. - V. 70. - P. 174–181.
98. *Norris C., Dungait J., Joynes A., Quideau S.* Biomarkers of novel ecosystem development in boreal forest soils // *Organic Geochemistry*. - 2013. - V. 64. - P. 9-18. doi: j.orggeochem.2013.08.014
99. *Norris C., Dungait J., Joynes A., Quideau S.* Biomarkers of novel ecosystem development in boreal forest soils // *Organic geochemistry*. – 2013. - v. 64. - p. 9-18.
100. *Oro J., Laseter J.L., Weber D.* Alkanes in fungal spores. // *Science*. - 1966. - V. 154. - p. 399–400.
101. *Ortiz J.E., Borrego A.G., Gallego J.L.R., Sanchez-Palencia Y., Urbanczyk J., Torres T., Domingo L., Estebanez B.* Biomarkers and inorganic proxies in the paleoenvironmental reconstruction of mires: The importance of landscape in Las Conchas (Asturias, Northern Spain) // *Organic geochemistry*. - 2016. - V. 95. - p. 41-54. doi: 10.1016/j.orggeochem.2016.02.009
102. *Otto A., Simoneit B.R.T., Rember W.C.* Conifer and angiosperm biomarkers in clay sediments and fossil plants from the Miocene Clarkia Formation, Idaho, USA// *Org. Geochemistry*. - 2005. - V. 36. - p. 907-922.
103. *Park M-O.* New pathway for long-chain n-alkane synthesis via 1-alcohol in *Vibrio furnissii* M1. // *J.Bacteriol.* - 2005. - V. 187. - P. 1426–1429.
104. *Peters K.E., Walter C.C., Moldowan J.M.* The n-alkane concentrations in buds and leaves of browsed broad leaf trees// *J. Agric. Sci.* - 2000. - V. 135. - P. 311-320. doi: j.gca.2010.08.033

105. *Popp P., Keil P., Möder M., Paschke A., Thuss U.* Application of accelerated solvent extraction followed by gas chromatography, high-performance liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, chlorinated pesticides and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in solid wastes // *J. Chromatogr. A.* - 1997. - V. 774. - № 1-2. - P. 203-211.
106. *Quenea K., Derenne S., Largeau C., Rumpel C., Mariotti A.* Variation in lipid relative abundance and composition among different particle size fractions of a forest soil // *Org. Geochemistry.* - 2004. - V. 35. - p. 1355-1370.
107. *Quideau S.A., Swallow M.J.B., Prescott C.E.* Comparing soil biogeochemical process in novel and natural boreal forest ecosystem // *Biogeosciences Disc.* – 2013. - v. 10. - p. 7521-7548.
108. *Rasse D., Rumpel C., Dignac M.-F.* Is soil carbon mostly root carbon? Mechanism for a specific stabilization // *Plant and soil.* – 2005. - v. 269. - p. 341-356.
109. *Richter B.E., Jones B.A., Ezzell J.L., Porter N.L., Avdalovic N., Pohl C.* Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation // *Anal. Chem.* - 1996. - V. 68. - P. 1033-1039.
110. *Rontani J.-F., Volkman J.K., Prahl F.G., Wakeham S.G.* Biotic and abiotic degradation of alkenones and implications for $U^{K'}_{37}$ paleoproxy applications: A review // *Organic geochemistry.* – 2013. - v. 59. - p. 95-113.
111. *Sachse D., Gleixner G., Wilkes H., Kahmen A.* Leaf wax n-alkane δD value of field grown barely reflect leaf water δD values at the time of leaf formation // *Geochim. Cosmochim. Acta.* - 2008. - V. 74. - P. 6741-6750.
112. *Singh S.N.* Microbial degradation of xenobiotics. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. - 2012. – 486 p.

113. *So C.M., Phelps C.D., Young L.Y.* Anaerobic transformation of alkanes to fatty acids by sulfate-reducing bacterium, strain Hxd3 // *Appl. Environ. microbiol.* - 2003. - V. 69. - p. 3892-3900.
114. *Throne-Holst M., Wentzel A., Ellingsen T.E., Kotlar H.K., Zotchev S.B.* Identification of novel genes involved in long-chain *n*-alkane degradation by *Acinetobacter* sp. strain DSM 17874 // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2007. - v. 73. - № 10. - p. 3327-3332.
115. *Tipple B.J., Berke M.A., Doman C.E., Khachatryan S., Ehleringer J.R.* Leaf-wax *n*-alkanes record the plant-water environment at leaf flush // *Proc. Natl. Acad. Sci.* - 2013. - V. 110. - P. 2659-2664.
116. *Turcotte I., Quideau S.A., Oh S.-W.* Organic matter quality in reclaimed boreal forest soils following oil sands mining // *Org. Geochem.* – 2009. - v. 40. - p. 510-519.
117. *Van Beilen J.B., Neuenschwander M., Smits T.H.M., Roth C., Balada S.B., Witholt B.* Rubredoxins involved in alkane oxidation. // *J. Bacteriol.* – 2003. - v. 184. - p. 427-440.
118. *Walker J.D., Cooney J.J.* Aliphatic hydrocarbons of *Cladosporium resinae* cultured on glucose, glutamic acid, and hydrocarbons. // *Appl. Microbiol.* - 1973. - V. 26. - P. 705–708.
119. *Weete J.D.* Review article: aliphatic hydrocarbons of the fungi. // *Phytochemistry.* - 1972. - V. 11. - P. 1201–1205.
120. *Wentzel A., Ellingsen T.E., Kotlar H.K., Zotchev S.B., Throne-Holst M.* Bacterial metabolism of long-chain *n*-alkanes. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2007. - v. 76. - p. 1209-1221.
121. *Wershaw R.L.* A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic organic chemicals in soil-water or sediment-water systems // *J. of Contaminant hydrology.* – 1986. – V. 1. – P. 29-45.
122. *Wiesenberg G.L.B., Schwark L., Schmidt M.W.I.* Improved automated extraction and separation procedure for soil lipid analyses // *European J. Soil Sci.* - 2004. - V. 55. - P. 349-356.

123. Wilhelm M.B., Davila A.F., Eigenbrode J.L., Parenteau M.N., Jahnke L.L., Liu X.-L., Summons R.E., Wray J.J., Stamos B.N., O'Reilly S.S., Williams A. Xeropreservation of functionalized lipid biomarkers in hyperarid soils in the Atacama Desert // *Organic geochemistry*. - 2017. - V. 103. - p. 97-104. doi: 10.1016/j.orggeochem.2016.10.015
124. Wu Y., Wang Y., Lei T., Chang J., Xia Y. Possible origin of high molecular weight *n*-alkan-2-ones in Jurassic bitumens from the Sichuan basin in southwest China // *Chemistry and technology of fuels and oils*. - 2012. - v. 48. - p. 195-203.
125. Xia M., Talhelm A.F., Pregitzer K.S. Fine roots are the dominant source of recalcitrant plant litter in sugar maple-dominated northern hardwood forests. // *New Phytologist*. - 2015. - V. 208. - P. 715–726.
126. Yakimov M.M., Timmis K.N., Golyshin P.N. Obligate oil-degrading marine bacteria // *Curr Opin Biotechnol*. - 2007. - v. 18. - p. 257-266.
127. Zech M., Pedentchouk N., Markovic S.B., Glaser B. Effect of leaf litter degradation and seasonality on D/H isotope ratios of *n*-alkane biomarkers // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. - 2011. - V. 75. - P. 4917-4928. doi: j.gca.2011.06.006
128. Zech M., Rass S., Buggle B., Loscher M., Zoller L. Reconstruction of the late Quaternary paleoenvironments of Nussloch loess paleosol sequence, Germany, using *n*-alkane biomarkers // *Quaternary Res*. - 2012. - V. 78. - P. 226-235. doi: j.yqres.2012.05.006

Приложение А
Названия и формулы исследуемых *n*-алканов

Формула	Название
$C_{17}H_{36}$	<i>n</i> -гептадекан
$C_{18}H_{38}$	<i>n</i> -октадекан
$C_{19}H_{40}$	<i>n</i> -нонадекан
$C_{20}H_{42}$	<i>n</i> -эйкозан
$C_{21}H_{44}$	<i>n</i> -генейкозан
$C_{22}H_{46}$	<i>n</i> -докозан
$C_{23}H_{48}$	<i>n</i> -трикозан
$C_{24}H_{50}$	<i>n</i> -тетракозан
$C_{25}H_{52}$	<i>n</i> -пентакозан
$C_{26}H_{54}$	<i>n</i> -гексакозан
$C_{27}H_{56}$	<i>n</i> -гептакозан
$C_{28}H_{58}$	<i>n</i> -октакозан
$C_{29}H_{60}$	<i>n</i> -нонакозан
$C_{30}H_{62}$	<i>n</i> -триаконтан
$C_{31}H_{64}$	<i>n</i> -гентриаконтан
$C_{32}H_{66}$	<i>n</i> -дотриаконтан
$C_{33}H_{68}$	<i>n</i> -тритриаконтан
$C_{34}H_{70}$	<i>n</i> -тетратриаконтан
$C_{35}H_{72}$	<i>n</i> -пентатриаконтан
$C_{36}H_{74}$	<i>n</i> -гексатриаконтан

Названия и формулы исследуемых *n*-метил-кетонов

Формула	Название
$C_{17}H_{34}O$	<i>n</i> -гептадекан-2-он
$C_{18}H_{36}O$	<i>n</i> -октадекан-2-он
$C_{19}H_{38}O$	<i>n</i> -нонадекан-2-он
$C_{20}H_{40}O$	<i>n</i> -эйкозан-2-он
$C_{21}H_{42}O$	<i>n</i> -генейкозан-2-он
$C_{22}H_{44}O$	<i>n</i> -докозан-2-он
$C_{23}H_{46}O$	<i>n</i> -трикозан-2-он
$C_{24}H_{48}O$	<i>n</i> -тетракозан-2-он
$C_{25}H_{50}O$	<i>n</i> -пентакозан-2-он
$C_{26}H_{52}O$	<i>n</i> -гексакозан-2-он
$C_{27}H_{54}O$	<i>n</i> -гептакозан-2-он
$C_{28}H_{56}O$	<i>n</i> -октакозан-2-он
$C_{29}H_{58}O$	<i>n</i> -нонакозан-2-он
$C_{30}H_{60}O$	<i>n</i> -триаконтан-2-он
$C_{31}H_{62}O$	<i>n</i> -гентриаконтан-2-он
$C_{32}H_{64}O$	<i>n</i> -дотриаконтан-2-он
$C_{33}H_{66}O$	<i>n</i> -тритриаконтан-2-он
$C_{34}H_{68}O$	<i>n</i> -тетратриаконтан-2-он
$C_{35}H_{70}O$	<i>n</i> -пентатриаконтан-2-он
$C_{36}H_{72}O$	<i>n</i> -гексатриаконтан-2-он