

СТАБИЛЬНЫЕ ИЗОТОПЫ УГЛЕРОДА И АЗОТА В ДРЕВЕСНЫХ И ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЯХ ВОЗЛЕ КРУПНОГО МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО КОМБИНАТА

© 2019 г. Д. В. Веселкин^{а,*}, О. Е. Чащина^{б,**}, Н. Б. Куянцева^{б,с,***}, А. Г. Мумбер^{б,****}

^а Институт экологии растений и животных УрО РАН
Россия, 620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

^б Ильменский государственный заповедник
Россия, 456317 Миасс, Ильменский заповедник

^с Национальный исследовательский Южно-Уральский государственный университет

Россия, 454080 Челябинск, просп. В.И. Ленина, 6

e-mail: *denis_v@ipae.uran.ru; **korablik@mineralogy.ru;

*** borisovna_k@mail.ru; **** silver@mineralogy.ru

Поступила в редакцию 11.01.2018 г.

После доработки 14.05.2018 г.

Принята к публикации 14.05.2018 г.

Проанализировано изменение состава стабильных изотопов углерода (^{13}C и ^{12}C) и азота (^{15}N и ^{14}N) в лесных растениях под влиянием выбросов крупного медеплавильного комбината. Исследования проведены в сосновых лесах на 10 площадях возле Карабашского медеплавильного комбината и в Ильменском заповеднике на Южном Урале. Соотношение изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ анализировали в листьях растений разных функциональных групп (с экто-, эрикоидной или арбускулярной микоризой; с азотфиксирующим симбиозом; безмикоризных). Соотношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в условиях техногенного загрязнения не изменялось. Низкое соотношение изотопов $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ установлено у эктомикоризных деревьев, высокое — у трав с арбускулярной микоризой, с азотфиксирующим симбиозом и безмикоризных. По сравнению с незагрязненными местообитаниями возле медеплавильного комбината содержание ^{15}N в листьях увеличивается на 2.7‰ у эктомикоризных деревьев, на 3.4‰ — у кустарничка с эрикоидной микоризой, на 2.2‰ — у трав с арбускулярной микоризой. Это свидетельствует о существенном изменении условий минерального питания растений под влиянием загрязнения естественных экосистем тяжелыми металлами.

Ключевые слова: техногенное загрязнение, тяжелые металлы, стабильные изотопы углерода, стабильные изотопы азота, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, функциональные группы растений

DOI: 10.31857/S0016-7525645529-537

Содержание стабильных изотопов углерода ^{13}C и ^{12}C и азота ^{15}N и ^{14}N в организмах и других компонентах экосистем успешно используется для изучения интенсивности и направленности физиологических и экологических процессов (Robinson, 2001; Dawson et al., 2002; Тиунов, 2007; Макаров, 2009). Соотношение изотопов ^{13}C и ^{12}C — величина $\delta^{13}\text{C}$ — в растениях зависит от большого числа факторов: типа фотосинтеза; биохимических композиций клеток, тканей и органов; структуры полога фотосинтезирующих органов; внешних условий. Соотношение изотопов ^{15}N и ^{14}N — величина $\delta^{15}\text{N}$ — отражает разнообразие у растений источников азота, наличие симбиотической азотфиксации и других симбиозов. Направление и величина различий по $\delta^{15}\text{N}$ между разными видами или функцио-

нальными группами растений могут индцировать общий уровень обеспеченности экосистемы азотом, степень его доступности и степень конкуренции за него между видами (Martinelli et al., 1999; Robinson, 2001; Макаров, 2009; Menge et al., 2011). Поскольку изотопный состав азота отражает изменение эдафических условий в экосистемах в целом (Robinson, 2001), его анализ продуктивно используется при изучении динамики экосистем (Vitousek et al., 1989; Hobbie et al., 2005; Compton et al., 2007; Menge et al., 2011), в том числе постпирогенных сукцессий (Hyodo et al., 2013).

Вследствие антропогенного и техногенного загрязнения атмосферы показатель $\delta^{13}\text{C}$ растений изменяется по-разному. В годовых кольцах

деревьев при загрязнении часто регистрируют положительный сдвиг изотопной подписи углерода (Niemelä et al., 1997; Savard et al., 2004; обзор: Savard, 2010), что обычно объясняется обусловленным загрязнением фотосинтезом при закрытых устьицах (Savard, 2010). Но есть указания, что содержание изотопа ^{13}C при загрязнении может уменьшаться (Kwak et al., 2009; Cada et al., 2016). Также неоднозначны результаты о динамике изотопного состава азота в условиях антропогенных воздействий. При урбанизации и под влиянием газообразных загрязнителей регистрировали как обогащение растений ^{15}N (Gebauer et al., 1994; Korontzi et al., 2000; Pearson et al., 2000), так и обеднение (Kwak et al., 2009). Интересно, что обогащение ^{15}N может происходить в отсутствие N-содержащих компонентов в составе выбросов (Hofmann et al., 1997). В целом, данных об особенностях дискриминации стабильных изотопов углерода и азота в растениях под влиянием разных типов и уровней загрязнения недостаточно для генерации однозначных выводов. Между тем лучшее понимание механизмов формирования значений $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ в растениях может способствовать углублению понимания механизмов деградации и устойчивости экосистем в условиях антропогенных воздействий.

Цель работы — анализ изменения состава стабильных изотопов углерода и азота в лесных растениях в условиях сильной трансформации естественных экосистем выбросами крупного металлургического производства на Южном Урале. Для снижения неопределенности в отношении влияния промышленного загрязнения на $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ растений на основании опубликованных сведений сформулировали и проверяли следующую рабочую гипотезу: в условиях загрязнения естественных экосистем тяжелыми металлами в листьях растений увеличивается содержание тяжелых изотопов ^{13}C и ^{15}N .

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Район и пробные площади. Район относится к подзоне южнотаежных сосново-березовых лесов восточного макросклона Южного Урала (Челябинская область; окрестности г. Карабаш и Ильменский государственный заповедник УрО РАН). Типичные высоты возвышенностей — 250–600 м над ур. м. Представлены бурые горно-лесные, бурые лесные, оподзоленные глееватые, серые горно-лесные, черноземы горно-лесные, горно-подзолистые маломощные почвы. Климат континентальный, умеренно холодный. Са-

мый холодный месяц — январь (среднемесячная температура $-16...-17^\circ\text{C}$), самый теплый — июль ($+18^\circ\text{C}$); продолжительность вегетационного периода — 160–170 дней; количество осадков — около 430 мм в год; высота снежного покрова — до 40 см. Преобладающие типы растительности — сосняки разнотравные и производные березняки злаково-разнотравные.

Экосистемы региона сильно антропогенно трансформированы, в том числе вследствие промышленного загрязнения. Карабашский медеплавильный комбинат (КМК, ЗАО «Карабашмедь», г. Карабаш) — крупный источник выбросов, основные из которых SO_2 и пыль тяжелых металлов. Производство запущено в 1910 г. и максимальные объемы выбросов (до 140–360 тыс. т в год) были достигнуты в 1970–1980 гг. (Kozlov et al., 2009). В период 1990–1998 гг. производство меди было остановлено и после повторного открытия и модернизации производства объемы выбросов снизились до уровня 10 тыс. т (Комплексный ..., 2009). Вследствие накопленного сильнейшего техногенного загрязнения на ближайших к комбинату территориях зональные экосистемы полностью разрушены: растительность и верхние части исходных почв отсутствуют, образовалась обширная техногенная пустошь.

Всего обследовано 10 пробных площадей (ПП). 8 ПП расположены на расстояниях 6–9 км в северо-восточном направлении от КМК (импактная зона); 2 ПП — в 48–50 км в южном направлении от КМК (Ильменский заповедник) в сосновых лесах с разным возрастом древостоя и с разной давностью последнего пожара (рис. 1; табл. 1). Площади располагались в средних элементах рельефа на горных фрагментарных и горно-лесных бурых неполноразвитых почвах. Уровни накопления выбрасываемых КМК тяжелых металлов в двухлетней хвое *Pinus sylvestris* L. составляют: в импактной зоне КМК — Cu 8–18 мкг/г, Zn 70–150 мкг/г, Pb 30–105 мкг/г; в Ильменском заповеднике — Cu 2–3 мкг/г, Zn 40–45 мкг/г, Pb 1.5–3 мкг/г (Коротеева и др., 2015 б). Важный фактор состояния лесных экосистем региона — лесные пожары (Чибилев и др., 2016). Поэтому ПП подбирали так, чтобы они представляли ряд с широким диапазоном давности последнего пожара. Давность пожара определяли на основании записей в «Книге учета лесных пожаров» Карабашского лесничества.

Функциональные группы растений. $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ определяли в листьях растений разных функциональных групп, которые выделяли по типу

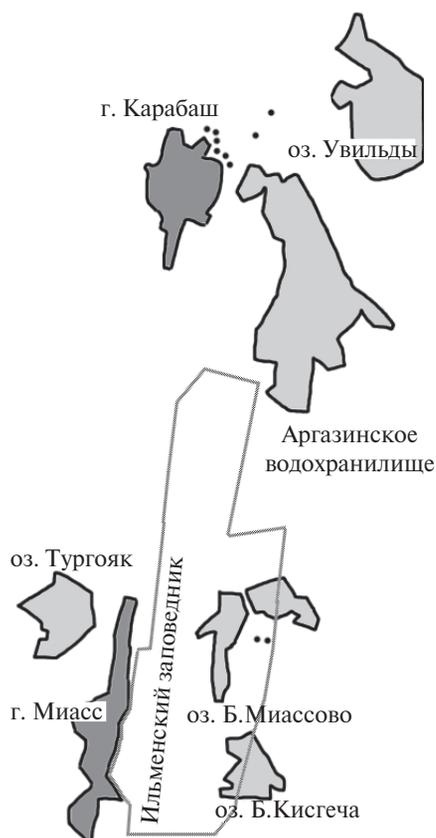


Рис. 1. Район и расположение пробных площадей (•).

симбиозов, реализуемых в подземной сфере. Соответственно, группы – это группы видов растений: с эктомикоризой (ЕСМ); с эрикоидной микоризой (ER); с арбускулярной микоризой

Таблица 1. Характеристики пробных площадей

№ ПП	Координаты		Давность последнего пожара, лет	Состав древостоя	Возраст основного поколения сосны, лет	Сомкнутость крон, %	Покрывание травяно-кустарничкового яруса, %	Толщина подстилки, см
	N	E						
Ильменский заповедник								
1	55.14124	60.32477	6	10С	190	30–40	50–60	3–5
2	55.13859	60.32898	>60	10С+Б	170	50–60	70–80	6–8
Импактная зона КМК								
3	55.51866	60.32880	12	10С+Б	130	50–60	30–40	8–10
4	55.50965	60.32365	13	7С3Б	110	50–60	30–40	8–10
5	55.51314	60.27678	7	7С3Б	105	50–60	30–40	5–7
6	55.51096	60.28785	6	8С2Б	30	50–60	1–5	3–4
7	55.50222	60.29142	12	10С+Б	100	30–40	5–10	8–12
8	55.51314	60.27678	7	10С+Б	72	50–60	5–10	5–9
9	55.49874	60.29126	3	8С2Б	75	40–50	5–10	3–4
10	55.51096	60.28785	>30	8С2Б	30	40–50	20–30	5–7

(AM); с азотфиксирующим симбиозом (N_2f); без микоризы (noM). Эти группы могут также быть интерпретированы как группы растений разных жизненных форм: ЕСМ – деревья; ER – вечнозеленый кустарничек; AM, N_2f и noM – травянистые растения. На каждой ПП стремились собрать образцы листьев растений каждой функциональной группы, в некоторых случаях – нескольких таксонов внутри группы: ЕСМ – *Pinus sylvestris* и *Betula* spp.; ER – *Vaccinium vitis-idaea* L.; AM – *Rubus saxatilis* L.; *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth; один из двух представителей Asteraceae (*Trommsdorffia maculata* (L.) Bernh. или *Saussurea controversa* DC.); N_2f – *Lathyrus vernus* (L.) Bernh.; noM – *Silene nutans* L.

На каждой ПП для изотопного анализа отобраны листья 3–5 особей одного вида из которых сформирована смешанная проба. Дополнительно на каждой ПП методом конверта отобрано по одной смешанной пробе подстилки (ферментативный горизонт) и верхнего слоя минеральной части почвы – на 3–5 см ниже границы подстилки. Образцы высушивали сначала в тени до воздушно-сухого состояния, затем 48 ч при 70°C. Всего проанализировано 87 образцов: 67 образцов растений и по 10 образцов подстилки и минеральной части почвы.

Изотопный анализ выполнен в центре коллективного пользования «Геонаука» Института геологии Коми НЦ Уро РАН. Измерения изотопного состава углерода и азота производились методом масс-спектрометрии в режиме постоянного пото-

ка гелия (CF-IRMS) на аналитическом комплексе, включающем элементный анализатор Flash EA 1112, соединенный через газовый коммутатор ConFlo IV с масс-спектрометром Delta V Advantage (фирма Thermo Fisher Scientific). Изотопный состав азота и углерода выражали в тысячных долях отклонения от международных стандартов VPDB и азота атмосферного воздуха AIR, δ (‰):

$$\delta X_{\text{образец}} = \left(\frac{R_{\text{образец}}}{R_{\text{эталон}}} - 1 \right) \times 1000, \quad (1)$$

где X – это элемент (азот или углерод), R – молярное соотношение тяжелого и легкого изотопов соответствующего элемента. Для калибровки масс-спектрометра использовали международный стандарт USGS-40 (L-Glutamic acid) и лабораторный стандарт Acetanilide (C_8H_9NO). Ошибка измерения составляет $\pm 0.15\%$.

Анализ данных. Статистический анализ выполнен с использованием пакета JMP 10.0.0 (SAS Institute Inc., USA, 2012). Различия $\delta^{13}C$ и $\delta^{15}N$ в связи с влиянием разных факторов оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) и общих линейных моделей (GLM) с фиксированными факторами. Факторы в GLM были в разных сочетаниях: функциональная группа растений, почвенный горизонт, район (Ильменский заповедник или импактная зона КМК) – категориальные предикторы; давность последнего пожара – континуальный предиктор. Единицей при проведении статистического анализа были значения $\delta^{13}C$ и $\delta^{15}N$ в смешанной пробе почвы, подстилки или листьев растений одного вида на ПП. Мера изменчивости – стандартная ошибка ($\pm SE$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основная закономерность изменчивости изотопного состава углерода – увеличение содержания изотопа ^{13}C при переходе от листьев растений (среднее и абсолютный размах: $\delta^{13}C = -29.81 \pm 0.13\%$; $-31.90... -27.08\%$) к подстилкам ($-27.85 \pm 0.29\%$; $-29.72... -26.67\%$) и к гумусовым горизонтам ($-26.28 \pm 0.20\%$; $-27.08... -25.29\%$). Эти различия высокозначимы (однофакторный ANOVA): $F_{(2, 84)} = 62.21$; $P < 0.0001$. В той или иной степени эти различия выражены при отдельном анализе значений $\delta^{13}C$ с двух незагрязненных ПП в заповеднике или с 8 загрязненных ПП вблизи КМК (табл. 2). Других закономерностей изменчивости $\delta^{13}C$ не просматривается. Среди растений пониженные значения $\delta^{13}C$ наблюдались у представителей сем. Asteraceae ($-31.58... -29.30\%$), повышенные – у *Calamagrostis arundinacea* ($-29.70... -27.08\%$). При сравнении изотопного состава углерода в растениях одного и того же таксона на площадях Ильменского заповедника и на площадях вблизи КМК смещения значений $\delta^{13}C$ могут быть как в меньшую, так и в большую сторону, но они не превышают 1% .

В отношении изотопного состава азота общих различий между листьями растений, подстилками и гумусовыми горизонтами не установлено (ANOVA): $F_{(2, 78)} = 0.77$; $P = 0.4651$. Возможно, это следствие того, что соотношение $^{15}N/^{14}N$ не удалось определить в части проб из гумусовых горизонтов, вероятно, из-за общего низкого содержания азота в них. Можно отметить, что средние значения $\delta^{15}N$ увеличиваются в ряду от листьев

Таблица 2. $\delta^{13}C$ и $\delta^{15}N$ подстилки, почвы и растений разных функциональных групп в двух районах

Почвенный горизонт, функциональная группа и таксон растений	$\delta^{13}C$, ‰		$\delta^{15}N$, ‰	
	Ильменский заповедник	Импактная зона КМК	Ильменский заповедник	Импактная зона КМК
Почва и подстилка				
Подстилка	-26.90 ± 0.16	-28.09 ± 0.31	-2.72 ± 0.56	-1.88 ± 0.36
Почва	-26.78 ± 0.22	-26.15 ± 0.22	-1.21^n	-0.48 ± 0.23
Растения				
ЕСМ-деревья:				
<i>P. sylvestris</i>	-29.77 ± 0.59	-30.56 ± 0.31	-5.03 ± 0.68	-2.07 ± 0.33
<i>Betula</i> spp.	-29.58 ± 0.28	-30.55 ± 0.28	-3.45 ± 1.23	-1.96 ± 0.36
ЕР-кустарничек (<i>V. vitis-idaea</i>)	-29.87 ± 0.26	-30.06 ± 0.31	-4.53 ± 3.36	-1.13 ± 0.69
АМ-травы:				
<i>R. saxatilis</i>	-28.51 ± 0.12	-29.02 ± 0.30	-4.64 ± 1.07	-0.49 ± 0.56
<i>C. arundinacea</i>	-28.38 ± 0.09	-28.48 ± 0.31	-4.25 ± 2.02	-1.36 ± 0.71
<i>T. maculata</i> или <i>S. controversa</i>	-31.14 ± 0.44	-30.53 ± 0.30	-1.44 ± 1.58	-0.19 ± 0.91
N ₂ f-травы (<i>L. vernus</i>)	-30.23 ± 0.61	-29.90 ± 0.43	-0.83 ± 0.42	-0.69 ± 0.31
поМ-травы (<i>S. nutans</i>)	–	-29.40 ± 0.35	–	-0.09 ± 1.33

Примечания. $n = 1$, поэтому стандартная ошибка не приведена; прочерк означает, что образцы не анализировались.

эктомикоризных деревьев, формирующих основу опада ($-2.46 \pm 0.31\text{‰}$; $-5.71 \dots 0.07\text{‰}$), к почвам (подстилка: $-2.05 \pm 0.32\text{‰}$; $-3.39 \dots 0.15\text{‰}$; гумусовый горизонт: $-0.66 \pm 0.24\text{‰}$; $-1.21 \dots -0.20\text{‰}$).

Основная закономерность изменчивости изотопной подписи азота — увеличение содержания изотопа ^{15}N в растениях и в меньшей степени в почве при переходе от лесов Ильменского заповедника к сильно загрязненным лесам в импактной зоне КМК. Разности $\delta^{15}\text{N}$ между ненарушенными и загрязненными лесами составляют для подстилки и почвы $+0.7 \dots +0.8\text{‰}$, для разных таксонов растений (не рассматривая бобовые с азотфиксирующим симбиозом) — $+1.2 \dots +4.2\text{‰}$.

В связи с неслучайным отбором проб растений, которые на каждой ПП строго приурочивали к определенным таксонам, представленные выше результаты сравнений $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ в ряду «растения — почвенные горизонты», выполненные с использованием ANOVA, несвободны от артефактов. Более обоснованно проанализировать причины изменчивости $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ отдельно в почве и отдельно в растениях разных функциональных групп. Для учета нескольких источников изменчивости такие сравнения выполнены с использованием GLM (табл. 3; группа безмикоризных растений исключена для корректной оценки взаимодействия между факторами «функциональная группа растений» и «район»).

Из трех рассмотренных факторов — горизонт, район, давность пожара — для соотношения изотопов ^{13}C и ^{12}C в растениях не удалось установить значимого фактора. В почвах значения $\delta^{13}\text{C}$ различаются только между разными горизонтами — подстилкой и гумусовым.

Для азота, напротив, не выявлено значимого фактора, определяющего соотношение ^{15}N и ^{14}N в почвах. Значения $\delta^{15}\text{N}$ в растениях детерминируются сочетанием двух факторов: сильнее — районом отбора проб; слабее — принадлежностью растения к функциональной группе. Влияние первого фактора проявляется в общем возрастании содержания тяжелого изотопа ^{15}N вблизи КМК, по сравнению с ненарушенными лесами Ильменского заповедника, в среднем на 2.7‰ в листьях эктомикоризных деревьев, на 3.4‰ в листьях брусники и на 2.2‰ в травах с арбускулярной микоризой. Различия между растениями разных функциональных групп проявляются в увеличении содержания тяжелого изотопа ^{15}N в ряду ECM → ER → AM → N₂f. Другими словами, наименьшее содержание изотопа ^{15}N в среднем наблюдается у эктомикоризных

Таблица 3. Значимость влияния факторов на $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ в почве и листьях растений (значения P , полученные в общих линейных моделях)

Источник изменчивости	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
Почва и подстилка		
(1) Почвенный горизонт	0.0232	0.1343
(2) Район	0.5665	0.9771
(3) Давность последнего пожара	0.9815	0.4087
(1) × (2)	0.1654	0.7168
(1) × (3)	0.4788	0.8497
R^2_{adj} *	0.54	0.22
Растения		
(1) Функциональная группа растений	0.1534	0.0233
(2) Район	0.6459	<0.0001
(3) Давность последнего пожара	0.9349	0.1271
(1) × (2)	0.9218	0.0416
(1) × (3)	0.5104	0.0232
R^2_{adj}	0.10	0.37

* — R^2_{adj} — скорректированный на число параметров коэффициент детерминации; значения $P < 0.05$ выделены полужирным шрифтом.

деревьев, а наибольшее — у трав с арбускулярной микоризой и с бобово-ризобиальным симбиозом, а также у безмикоризных трав (рис. 2).

Итак, дифференциация соотношений стабильных изотопов в растениях в связи с влиянием Карабашского медеплавильного комбината статистически значима и хорошо выражена для азота, но не выражена для углерода. Общая ампли-

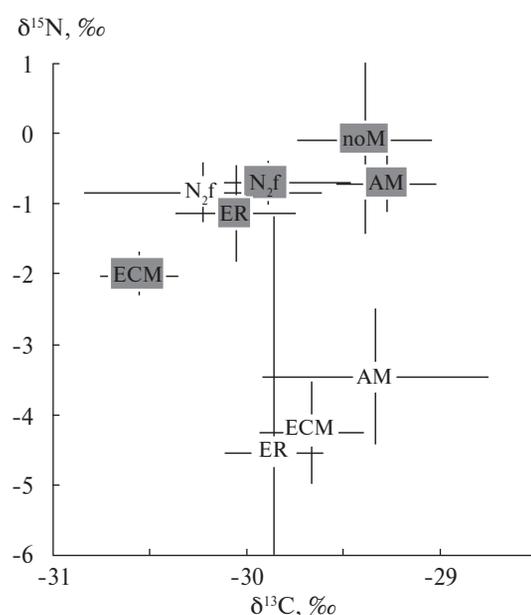


Рис. 2. $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ в листьях растений разных функциональных групп в Ильменском заповеднике (обозначения без заливки) и в импактной зоне Карабашского медеплавильного комбината (обозначения на сером фоне) ($m \pm SE$).

туда изменчивости средних для функциональной группы растений значений $\delta^{13}\text{C}$ составила 1.3‰, а аналогичная амплитуда для $\delta^{15}\text{N}$ – 4.4‰. Эта закономерность также выражена, если отдельно рассматривались данные для незагрязненных ПП Ильменского заповедника и для загрязненных ПП вблизи КМК. В заповеднике общая амплитуда значений $\delta^{13}\text{C}$ составила 0.9‰, амплитуда $\delta^{15}\text{N}$ – 3.7‰. Вблизи КМК амплитуда $\delta^{13}\text{C}$ – 1.3‰, амплитуда $\delta^{15}\text{N}$ – 1.9‰.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наши данные показывают, что изменение условий существования растений возле крупного медеплавильного комбината преимущественно отражается на изменении соотношения в их листьях стабильных изотопов ^{15}N и ^{14}N , но не изотопов ^{13}C и ^{12}C . При этом основное направление трансформации состава стабильных изотопов азота растений южнотаежных сосняков в условиях промышленного загрязнения выбросами крупного металлургического комбината – увеличение соотношения $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, т.е. обогащение ^{15}N . Таким образом, наша рабочая гипотеза подтвердилась в отношении изотопного состава азота, но не углерода.

Вывод об увеличении значений $\delta^{15}\text{N}$ листьев растений возле металлургического комбината – новый, но часть других результатов хорошо соответствуют опубликованным данным. В частности, вполне ожидаемы закономерности дифференциации значений $\delta^{13}\text{C}$ в ряду «растения – подстилка – почва». Изотопный состав углерода в органическом веществе почв прямо наследуется от растений, и с увеличением глубины почвы в большинстве случаев содержание ^{13}C увеличивается на несколько единиц ‰ (Моргун и др., 2008; Меняйло и др., 2014), что наблюдается и в регионе КМК.

Также совпадают с литературными оценками наблюдавшиеся особенности значений $\delta^{15}\text{N}$ у растений с разными типами микоризы. Известно, что $\delta^{15}\text{N}$ азотофиксирующих растений близок $\delta^{15}\text{N}$ атмосферного воздуха (Макаров, 2009). Растения с эрикоидной микоризой и эктомикоризой обычно характеризуются низким $\delta^{15}\text{N}$ (Michelsen et al., 1996; Emmerton et al., 2001; Hobbie et al., 2005), что может быть связано как с особенностями уровней $\delta^{15}\text{N}$ в субстратах, утилизируемых растениями или их грибными симбионтами, так и, в основном, с выраженной дискриминацией изотопов ^{15}N и ^{14}N при транспорте азота от микобионтов к фитобионтам (Hobbie et

al., 2005). Немикоризные растения нередко обогащены ^{15}N , т.е. имеют высокие значения $\delta^{15}\text{N}$ (Michelsen et al., 1996; Hobbie et al., 2005; Craine et al., 2015) из-за того, что они без грибных посредников поглощают из почвы соединения азота, обогащенные тяжелым изотопом ^{15}N . Такое распределение $\delta^{15}\text{N}$ в целом установлено в регионе КМК, и это можно интерпретировать как показатель качества выполненного исследования.

Отчасти ожидаем также вывод, что соотношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ не изменяется под влиянием техногенного загрязнения. Во-первых, величина $\delta^{13}\text{C}$ сильно детерминирована такими глобальными факторами, как тип фотосинтеза (Smith, Epstein, 1971; Farquhar et al., 1989) или климатические и географические характеристики (Ковда и др., 2011), которые в нашем исследовании не изменялись. Во-вторых, разные оценки $\delta^{13}\text{C}$ в растениях в условиях загрязнения слабо согласованы между собой. Есть указания, что сдвиг $\delta^{13}\text{C}$ при загрязнении может быть и положительным (Niemelä et al., 1997; Savard et al., 2004; Savard, 2010) и отрицательным (Kwak et al., 2009; Cada et al., 2016). Помимо этого, эти оценки преимущественно получены с использованием отличающейся от нашей методики, так как чаще всего изучали $\delta^{13}\text{C}$ не в хвое, а в древесине (Niemelä et al., 1997; Savard et al., 2004; Savard, 2010; Cada et al., 2016).

Соотношение ^{15}N и ^{14}N часто зависит от локально действующих факторов. Установленное нами увеличение соотношения $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ в растениях вблизи медеплавильного комбината или смещение $\delta^{15}\text{N}$ листьев в положительную сторону, во-первых, имеет аналоги, т.е. ранее наблюдалось при других формах антропогенных воздействий (Gebauer et al., 1994; Hofmann et al., 1997; Korontzi et al., 2000; Pearson et al., 2000), и, во-вторых, может быть относительно логично объяснено. Объяснения могут основываться как на представлениях об изменении физиологических механизмов метаболизма азота под прямым влиянием поллютантов (Hofmann et al., 1997), так и на экологических механизмах. Учитывая однотипный характер увеличения $\delta^{15}\text{N}$ вблизи КМК у растений разных групп, более обоснованным представляется поиск именно общих экологических объяснений.

Известный феномен, который может быть связан с увеличением $\delta^{15}\text{N}$ в растениях в условиях загрязнения тяжелыми металлами – увеличение глубины залегания корней по сравнению с ненарушенными лесами. Этот феномен строго описан в окрестностях другого металлургического производства на Урале – Среднеуральского ме-

деплавильного завода (Веселкин, 2002). Но необычно глубокое залегание корней *Pinus sylvestris* мы наблюдали и вблизи КМК: в 2009 г. встречаемость тонких корней сосны в лесах в 15–30 км от КМК была порядка 50–80%, а на расстояниях менее 10 км от КМК – порядка 0–25% (Веселкин, 2013); более того, в части прикопок в импактной зоне КМК корни сосны отсутствовали даже в гумусовых горизонтах, залегая глубже 12–15 см, что для этого вида нехарактерно.

Вероятное объяснение глубокого залегания корней в условиях сильного загрязнения лесных экосистем тяжелыми металлами связано с токсичностью верхних слоев почвы, накопленной вследствие аккумуляции выпадений из атмосферы (Коротеева и др., 2015 а, б). Это дает основание полагать, что глубокое залегание корней вблизи КМК свойственно не только сосне, но, вероятно, и другим растениям. В свою очередь, поскольку с увеличением глубины $\delta^{15}\text{N}$ почв увеличивается, более глубокое залегание корней вполне может приводить к увеличению содержания тяжелого изотопа ^{15}N в источниках азота, используемых растениями. Такой механизм может обуславливать смещение $\delta^{15}\text{N}$ в растениях вблизи КМК примерно на 1–1.5‰ в большую сторону, поскольку регрессионный коэффициент для зависимости между $\delta^{15}\text{N}$ почвы и $\delta^{15}\text{N}$ растений почти равен +1 (Craine et al., 2015). Еще одна возможная причина увеличения $\delta^{15}\text{N}$ в растениях вблизи КМК – намечающееся, но статистически недоказанное в рамках нашего исследования увеличение $\delta^{15}\text{N}$ подстилки и гумусовых горизонтов почв вблизи КМК. В случае, если при последующих исследованиях этот эффект удастся тщательно обосновать, он позволит объяснить смещение $\delta^{15}\text{N}$ в растениях вблизи КМК еще примерно на 0.8–1‰ в большую сторону.

Наша уверенность в том, что наблюдаемое изменение изотопного состава азота растений вблизи КМК обусловлено изменением почвенных условий, поддерживается еще одним обстоятельством – динамикой значений $\delta^{15}\text{N}$ в зависимости от уровня техногенного загрязнения у чины *Lathyrus vernus* – представителя семейства бобовых с ризобиальным азотфиксирующим симбиозом. Изотопный состав азота у этого вида не различался в зависимости от того, рос ли он в условиях загрязнения или на фоновой территории. Бобовые, которые с большой вероятностью используют в качестве источника азота N_2 атмосферы, относительно независимы от почвенных источников азота, и поэтому отсутствие у чины изменения

$\delta^{15}\text{N}$ листьев в условиях загрязнения тяжелыми металлами хорошо понятно.

Помимо глубокого залегания корней, возможно еще одно гипотетическое объяснение увеличения содержания тяжелого изотопа ^{15}N в растениях в условиях загрязнения тяжелыми металлами. Поскольку обычно наибольшее содержание ^{15}N наблюдается у безмикоризных растений по сравнению с растениями с разными микоризами (Michelsen et al., 1996; Hobbie et al., 2005), к уменьшению $\delta^{15}\text{N}$ растений вблизи КМК могло бы привести ослабление развития микоризы (экто- и арбускулярной). Такое допущение имеет определенные основания. Известно, что у травянистых растений арбускулярная микориза в техногенных местообитаниях может формироваться менее активно, чем в отсутствии техногенных воздействий (Бетехтина, Веселкин, 2013). Однако эктомикоризы хвойных деревьев вблизи металлургических заводов высоко устойчивы (Веселкин, 2005; 2006; 2013). Таким образом, предположение об изменении микоризного статуса не может служить единственным объяснением изменения $\delta^{15}\text{N}$ растений вблизи КМК, но, возможно, может быть ответственным за какую-то часть установленных различий.

Степень фракционирования изотопов, особенно азота, потенциально может изменяться в ходе послепожарного восстановления экосистем (Hyodo et al., 2013). Поэтому мы анализировали влияние фактора “давность пожара” как дополнительного к факторам “район” и “функциональная группа растений”. Оказалось, однако, что значения $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ почвы и растений не связаны со временем, прошедшим после последнего пожара. Это обусловлено, вероятно, небольшой длительностью периодов послепожарного восстановления, которые нам удалось наблюдать, – максимум до 60 лет. В регионе нашего исследования, расположенного близко к зональному экотону «южная тайга – лесостепь», пожары в сосновых лесах очень часты, и леса, не горевшие более 60 лет, почти не встречаются. Между тем в большинстве описанных в литературе случаев, когда связь между составом стабильных изотопов и длительностью сукцессии обнаруживали, длительность изучаемых сукцессий варьировала от сотен (Compton et al., 2007; Hyodo et al., 2013) до тысяч (Vitousek et al., 1989; Menge et al., 2011) лет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наш основной результат заключается в установлении факта увеличения содержания тяже-

лого изотопа ^{15}N в растениях нескольких функциональных групп, произрастающих вблизи крупного медеплавильного завода. Насколько мы можем судить, ранее подобный эффект как следствие загрязнения естественных экосистем тяжелыми металлами не описывался. Установленная разность значений $\delta^{15}\text{N}$ между незагрязненными и загрязненными лесами в листьях растений одноименных функциональных групп – эктомикоризных, с эрикоидными и арбускулярными микоризами – составляет порядка 2–3.5%. Эти различия сравнимы с различиями $\delta^{15}\text{N}$ между разными почвенными горизонтами (Martinelli et al., 1999; Меньялло и Хангейт, 2006), несколько меньше, чем типичная разность $\delta^{15}\text{N}$ между эктомикоризными и безмикоризными растениями, но сравнимы с типичной разностью $\delta^{15}\text{N}$ между растениями с арбускулярной микоризой и безмикоризными (Craine et al., 2015). Таким образом, изменения $\delta^{15}\text{N}$ на 2–3.5% значительны и указывают на существенные изменения в механизмах и источниках азотного питания растений под воздействием промышленных выбросов металлургического комбината.

Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований Уральского отделения РАН (проект 18-5-5-43) и в рамках выполнения государственных заданий Института экологии растений и животных УрО РАН и Ильменского государственного заповедника.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бетехтина А.А., Веселкин Д.В. (2011) Распространенность и интенсивность микоризообразования у травянистых растений Среднего Урала с разными типами экологических стратегий. *Экология* (3), 176–183.
- Веселкин Д.В. (2002) Распределение тонких корней хвойных деревьев по почвенному профилю в условиях загрязнения выбросами медеплавильного производства. *Экология* (4), 250–253.
- Веселкин Д.В. (2005) Реакция эктомикориз *Pinus sylvestris* L. на техногенное загрязнение различных типов. *Сибирский экологический журнал* (4), 753–761.
- Веселкин Д.В. (2006) Влияние загрязнения различных типов на разнообразие эктомикориз *Pinus sylvestris*. *Микология и фитопатология* 40(2), 122–132.
- Веселкин Д.В. (2013) Морфологическая изменчивость и адаптивное значение эктомикориз хвойных: Pinaceae Lindl. Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. Екатеринбург: Институт экологии растений и животных УрО РАН, 40 с.
- Ковда И.В., Олейник С.А., Голубева Н.И., Моргун Е.Г., Макаров М.И. (2011) Изменение изотопного состава углерода органического вещества и карбонатов почв в пределах слабого дрейфа климатических параметров. *Известия РАН Серия географическая* (2), 51–64.
- Комплексный доклад о состоянии окружающей природной среды Челябинской области в 2008 году (2009). М-во по радиационной и экологической безопасности Челяб. обл. Под общ. ред. Г.Н. Подгусова. Челябинск. URL <http://minocol74.epc74.ru/htmlpages/Show/protectingthepublic/2008>
- Коротеева Е.В., Веселкин Д.В., Куянцева Н.Б., Мумбер А.Г. (2015а) Накопление тяжелых металлов в разных органах березы повислой возле Карабашского медеплавильного комбината. *Агрехимия* (3), 88–96.
- Коротеева Е.В., Веселкин Д.В., Куянцева Н.Б., Чашина О.Е. (2015б) Подход к зонированию нарушенных территорий на основе содержания тяжелых металлов в органах сосны обыкновенной (на примере региона Карабашского медеплавильного комбината). *Вестник Северо-Восточного научного центра ДВО РАН* (3), 86–93.
- Макаров М.И. (2009) Изотопный состав азота в почвах и растениях: использование в экологических исследованиях (обзор). *Почвоведение* (12), 1432–1445.
- Меньялло О.В., Макаров М.И., Ченг Ш.К. (2014) Изотопный состав углерода ($\delta^{13}\text{C}$) и азота ($\delta^{15}\text{N}$) в хвое/листьях и почве в модельных древостоях разных пород. *ДАН* 456(6), 738–740.
- Меньялло О.В. и Хангейт Б.А. (2006) Стабильные изотопы углерода и азота в лесных почвах Сибири. *ДАН* 408(5), 671–674.
- Моргун Е.Г., Ковда И.В., Рысков Я.Г., Олейник С.А. (2008) Возможности и проблемы использования методов геохимии стабильных изотопов углерода в почвенных исследованиях. *Почвоведение* (3), 299–310.
- Тиунов А.В. (2007) Стабильные изотопы углерода и азота в почвенно-экологических исследованиях. *Известия РАН. Серия биологическая* (4), 475–489.
- Чибилев А.А., Веселкин Д.В., Куянцева Н.Б., Чашина О.Е., Дубинин А.Е. (2016) Динамика лесных пожаров и климата Ильменского заповедника в 1948–2013 гг. *ДАН* 468(5), 575–578.
- Cada V., Santruckova H., Santrucek J., Kubistova L., Seedre M., Svoboda M. (2016) Complex physiological response of Norway spruce to atmospheric pollution – decreased carbon isotope discrimination and unchanged tree biomass increment. *Front. Plant Sci.* 7(805).
- Compton J.E., Hooker T.D., Perakis S.S. (2007) Ecosystem nitrogen distribution and $\delta^{15}\text{N}$ during a century of forest regrowth after agricultural abandonment. *Ecosystems* 10(7), 1197–1208.
- Craine J.M., Brookshire E.N.J., Cramer M.D., Hasselquist N.J., Koba K., Marin-Spiotta E., Wang L.X. (2015) Ecological interpretations of nitrogen isotope ratios of terrestrial plants and soils. *Plant Soil* 369(1–2), 1–26.
- Emmerton K.S., Callaghan T.V., Jones H.E., Leake J.R., Michelsen A., Read D.J. (2001) Assimilation and isotopic fractionation of nitrogen by mycorrhizal and nonmycorrhizal subarctic plants. *New Phytol.* 151(2), 513–524.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R., Hubick K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 40, 503–537.
- Gebauer G., Giesemann A., Schulze E.D., Jäger H.J. (1994) Isotope ratios and concentrations of sulfur and nitrogen in needles and soils of *Picea abies* stands as influenced by atmospheric deposition of sulfur and nitrogen-compounds. *Plant Soil* 164(2), 267–281.
- Hobbie E.A., Jumpponen A., Trappe J. (2005) Foliar and fungal $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ ratios reflect development of mycorrhizae and nitrogen supply during primary succession: testing analytical models. *Oecologia* 146(2), 258–268.

- Hofmann D., Jung K., Bender J., Gehre M., Schuurmann G. (1997) Using natural isotope variations of nitrogen in plants as an early indicator of air pollution stress. *J. Mass Spectrom.* **32**(8), 855–863.
- Hyodo F., Kusaka S., Wardle D.A., Nilsson M.-C. (2013) Changes in stable nitrogen and carbon isotope ratios of plants and soil across a boreal forest fire chronosequence. *Plant Soil* **364**(1–2), 315–323.
- Korontzi S., Macko S.A., Anderson I.C., Poth M.A. (2000) A stable isotopic study to determine carbon and nitrogen cycling in a disturbed southern Californian forest ecosystem. *Global Biogeochem. Cy.* **14**(1), 177–188.
- Kozlov M.V., Zvereva E.L., Zverev V.E. (2009) Impacts of point polluters on terrestrial biota. Dordrecht, Heidelberg, London, New-York: Springer, 2009. 466 p.
- Kwak J.-H., Choi W.-J., Lim S.-S., Arshad M.A. (2009) Delta C-13, delta N-15, N concentration, and Ca-to-Al ratios of forest samples from *Pinus densiflora* stands in rural and industrial areas. *Chem. Geol.* **264**(1–4), 385–393.
- Martinelli L.A., Piccolo M.C., Townsend A.R., Vitousek P.M., Cuevas E., McDowell W., Robertson G.P., Santos O.C., Treseder K. (1999) Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: tropical versus temperate forests. *Biogeochemistry* **46**(1–3), 45–65.
- Menge D., Baisden W., Richardson S., Peltzer D.A., Barbour M.M. (2011) Declining foliar and litter $\delta^{15}\text{N}$ diverge from soil, epiphyte and input $\delta^{15}\text{N}$ along a 120000 yr temperate rainforest chronosequence. *New Phytol.* **190**(4), 941–952.
- Michelsen A., Schmidt I.K., Jonasson S., Quarmby C., Sleep D. (1996) Leaf ^{15}N abundance of subarctic plants provides field evidence that ericoid, ectomycorrhizal and non- and arbuscular mycorrhizal species access different sources of soil nitrogen. *Oecologia* **105**(1), 53–63.
- Niemelä P., Lumme I., Mattson W., Arkhipov V. (1997) ^{13}C in tree rings along an air pollution gradient in the Karelian Isthmus, northwest Russia and southeast Finland. *Can. J. For. Res.* **27**(4), 609–612.
- Pearson J., Wells D.M., Seller K.J., Bennett A., Soares A., Woodall J., Ingrouille M.J. (2000) Traffic exposure increases natural N-15 and heavy metal concentrations in mosses. *New Phytol.* **147**(2), 317–326.
- Robinson D. (2001) $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends Ecol. Evol.* **16**, 153–162.
- Savard M.M. (2010) Tree-ring stable isotopes and historical perspectives on pollution – An overview. *Environ. Pollut.* **158**(6SI), 2007–2013.
- Savard M.M., Begin C., Parent M. (2004) Effects of smelter sulfur dioxide emissions: a spatiotemporal perspective using carbon isotopes in tree rings. *J. Environ. Qual.* **33**(1), 13–26.
- Smith B.N., Epstein S. (1971) Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for higher plants. *Plant Physiol.* **47**(3), 380–384.
- Vitousek P.M., Shearer G., Kohl D.H. (1989) Foliar ^{15}N natural abundance in Hawaiian rainforest: patterns and possible mechanisms. *Oecologia* **78**(3), 383–388.

STABLE CARBON AND NITROGEN ISOTOPES IN WOODY PLANTS AND HERBS NEAR THE LARGE COPPER SMELTING PLANT

© 2019 D. V. Veselkin^{a,*}, O. E. Chashchina^{b,**}, N. B. Kuyantseva^{b,c,***},
A. G. Mumber^{b,****}

^aInstitute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences,
ul. 8 Marta, 202, Yekaterinburg, 620144 Russia

^bIlmen State Reserve, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Miass, 456317 Russia

^cNational Research South Ural State University, prosp. V.I. Lenina 76, Chelyabinsk, 454080 Russia

e-mail: *denis_v@ipae.uran.ru; **korablik@mineralogy.ru; ***borisovna_k@mail.ru;

****silver@mineralogy.ru

Received: 11.01.2018

Received version received: 14.05.2018

Accepted: 14.05.2018

Variations of stable carbon (^{13}C and ^{12}C) and nitrogen (^{15}N and ^{14}N) isotopic composition are analyzed in forest plants subjected to the emissions of large copper smelting plant. The studies were carried out in pine forests at ten test plots near the Karabash copper smelting plant and in the Ilmen State Reserve at South Urals. The $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ isotopic ratios were analyzed in leaves of plants of different functional groups (with ecto-, ericoid, or arbuscular mycorrhiza; with nitrogen-fixing symbiosis, and non-mycorrhizal). The $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio did not change under technogenic pollution. The low isotopic $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratio was established in ectomycorrhizal trees, while the high ratio was found in herbs with arbuscular mycorrhiza, nitrogenfixing symbiosis, and non-mycorrhizal groups. As compared to nonpolluted habitats, the ^{15}N content in leaves near the copper smelting plant increases by 2.7‰ in the ectomycorrhizal trees and by 3.4‰ in undershrubs with ericoid mycorrhiza, and by 2.2‰ in herbs with arbuscular mycorrhiza. This indicates a significant change in conditions of mineral feeding of plants under heavy metal pollution of natural ecosystems.

Keywords: technogenic pollution, heavy metals, stable carbon isotopes, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, functional groups of plants

(For citation): Veselkin D.V., Chashchina O.E., Kuyantseva N.B., Mumber A.G. Stable Carbon and Nitrogen Isotopes in Woody Plants and Herbs Near the Large Copper Smelting Plant. *Geokhimiya*. 2019;64(5):529–537. DOI: 10.31857/S0016-7525645529-537)