ВНИИРАЭ
Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии, г. Обнинск, Россия

«ОЦЕНКА ЗАПАСОВ ПОДВИЖНОГО И ДОСТУПНОГО РАСТЕНИЯМ ЦИНКА В ПОЧВЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИЗИМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА

В.С. Анисимов (vsanisimov@list.ru), Л.Н. Анисимова, А.И. Санжаров, Р.А. Фригидов, Д.В. Дикарев, Ю.Н. Корнеев, С.В. Коровин, А.В. Саруханов, А.В. Томсон

Всероссийская научная конференция «ПОЧВЕННО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ЛИЗИМЕТРИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ» г. Москва, МГУ, факультет почвоведения, 18-20 октября 2021 г.

Актуальная научная проблема

Оценивание потенциальной подвижности и биологической доступности ТМ в почвах на основании анализа изотопных отношений для отдельных химических фракций

Целью настоящей работы являлось определение подвижности и биологической доступности природного (стабильного) Zn в почве

Решаемые задачи:

1) определение запасов (пулов) подвижных и биологически доступных соединений нативного Zn с использованием в качестве радиоактивной метки ^{65}Zn

2) оценка потенциальной подвижности и биологической доступности отдельных форм нахождения металла в почве в условиях, максимально приближенных к равновесным

Для этого была разработана и апробирована на практике специальная проточная лизиметрическая установка циклического действия

Структурно-динамическая схема стенда для изучения параметров миграции $^{65}Zn(Zn)$ в системе почва – почвенный раствор – растение

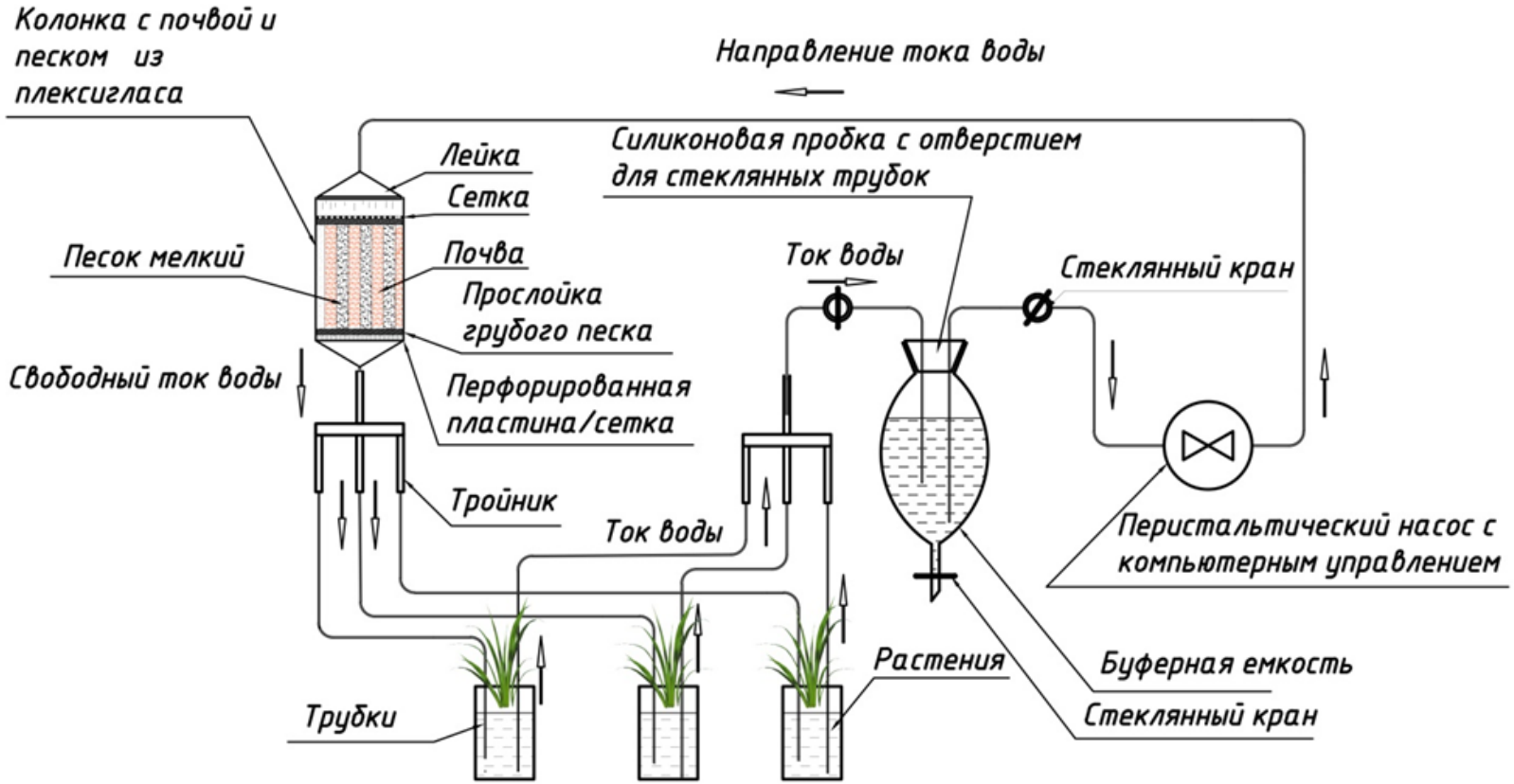


Рисунок 1.

Вид лизиметрической установки и вегетационного стенда с растениями

Рисунок 2. Стенд для изучения параметров миграции ^{65}Zn (Zn) в системе почва – почвенный раствор – растение: 1- момент уравновешивания деионизированной воды, находящейся в системе с дерново-подзолистой почвой; 2 - вегетационные сосуды с растениями

Описание опыта

Почва	Дерново-подзолистая супесчаная почва (Albic Retisol (Loamic, Ochric))
Место отбора почвы	д. Передоль Жуковского района Калужской области
Тест-культура	Ячмень (*Hordeum vulgare* L.), сорт Зазерский-85
Количество почвы в лизиметре, кг	5
Количество дренажа (крупного и мелкого песка) в лизиметре, кг	5
Внесенные элементы питания	N_{100} (NH_4NO_3) и K_{100} (K_2SO_4)
Количество вегетационных сосудов	3
Количество картриджей в сепараторе в вегетационном сосуде	6
Количество проростков ячменя в картридже	3
Общий объем жидкой фазы в системе, $дм^3$	около 5.5
Скорость тока влаги через перистальтический насос, $см^3 \times мин^{-1}$	4
Радиоактивная метка	^{65}Zn ($T_{1/2}$ = 224 сут)
Содержание ^{65}Zn в почве (на момент начала вегетационного опыта), $Бк \times кг^{-1}$	68700±2800
Время инкубирования почвы с внесенным ^{65}Zn	1 год

Характеристики исследуемой почвы

Показатель	Дерново-подзолистая супесчаная почва
pH_{KCl}	5.05±0.01
$pH_{водн,}$	6.04±0.01
Органический углерод, %	1.0±0.01
$H_г$, смоль(+)×кг$^{-1}$ почвы	1.89±0.02
Сумма обменных оснований, смоль(+)×кг$^{-1}$ почвы	5.3±0.1
Обменный K_2O, мг×кг$^{-1}$ (по Масловой)	77.7±1.3
Подвижный P_2O_5, мг×кг$^{-1}$ (по Кирсанову)	126.9±1.9
Zn валовый, мг×кг$^{-1}$ почвы	41.2±2.6

Определяемые показатели

В ходе вегетационного эксперимента были определены в динамике:

- значения концентраций цинка (мг×кг$^{-1}$) и удельной активности ^{65}Zn (Бк×кг$^{-1}$) в почве и растениях: **$[Zn]_{раст./почва}$** и **$A_m(^{65}Zn)_{почва}$, $A_m(^{65}Zn)_{раст.}$;**

- значения концентрации Zn (мкг×дм$^{-3}$) и объемной активности ^{65}Zn (Бк×дм$^{-3}$) в фазе почвенного раствора: **$[Zn]_{почв.раствор}$, $A_v(^{65}Zn)_{почвенный\ раствор.}$**

- показатели удельной и объемной активности ^{65}Zn рассчитывались на дату начала вегетационного эксперимента.

Определяемые показатели

- **“Удельная активность $^{65}Zn/Zn$”**
- определялась в почвенном растворе (лизиметрических водах), в отдельных химических фракциях (формах нахождения) цинка в почве, а также в частях растений.
- представляет собой отношения объемной (удельной) активности ^{65}**Zn** к концентрации стабильного **Zn**, содержащегося в соответствующих объектах исследования, Бк×мг$^{-1}$:
  - $A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{почв.раствор} = A_v(^{65}Zn)/[Zn]_{почв.раствор}$;
  - $A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{фр.№} = A_m(^{65}Zn)_{фр.№}/C(Zn)_{фр.№}$;
  - $A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{ВЧ/корни} = A_m(^{65}Zn)_{ВЧ/корни}/C(Zn)_{ВЧ/корни}$.

Определяемые показатели

На основании показателя «**Удельная активность ^{65}Zn/Zn**» были рассчитаны значения **коэффициентов обогащения (*КО*)** радиоактивной меткой ^{65}Zn природного (стабильного) Zn, содержащегося в почве и растениях по отношению к главному компоненту нашей модельной системы – почвенному раствору, например:

$$КО_{фр.№}(^{65}Zn/Zn) = A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{фр.№} / A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{почв.раствор}$$

Определяемые миграционные показатели

коэффициенты распределения

$K_d(Zn) = [Zn]_{почва}/[Zn]_{почв.раствор}$,

$K_d(^{65}Zn) = A_m{}^{65}Zn_{почва}/A_v{}^{65}Zn_{почв.раствор}$

коэффициенты концентрирования:

$K_K(Zn) = [Zn]_{Вч}/[Zn]_{почв.раствор}$,

$K_K(^{65}Zn) = A_m{}^{65}Zn_{Вч}/A_v{}^{65}Zn_{почв.раствор}$. (дм^3×кг$^{-1}$)

коэффициенты накопления:

$K_H(Zn) = [Zn]_{Вч}/[Zn]_{почва}$,

$K_H(^{65}Zn) = A_m{}^{65}Zn_{Вч}/A_m{}^{65}Zn_{почва}$. (дм^3×кг$^{-1}$)

Предварительная подготовка почвенных образцов

Различные формы нахождения $^{65}Zn(Zn)$ определяют в почве, находящейся в лизиметре и имеющей влажность (W = НВ), непосредственно перед началом вегетационного опыта Смешанный образец почвы получают путем объединения микропроб (m ≈ 5 г) извлеченных с помощью специального бурика, изготовленного из химически инертного материала (всего 10 уколов). Из объединенной пробы после тщательного усреднения ее путем разминания в герметично закрытом прочном п/э пакете отбирают образцы на влажность, а также необходимое в соответствии с индивидуальной схемой фракционирования количество почвы (сырой, в пересчете на абсолютно-сухую массу).

Форма нахождения ^{65}Zn(Zn)/Описание процедуры экстракции

Параллельные экстракции
Обменная/ 1М CH_3COONH_4 (pH 4.8) – ацетатно-аммонийный буфер (ААБ)
Обменная и связанная в металлоорганических комплексах (ОМК)/ 1М CH_3COONH_4 (pH 4.8) + 1% EDTA

Форма нахождения $^{65}Zn(Zn)$/Описание процедуры экстракции

Последовательная экстракция по методу Tessier в модификации Förstner

I. Обменная / 1М CH_3COONH_4 (pH 7.0)

II. Связанная с карбонатами / 1М CH_3COONa (pH 5.0)

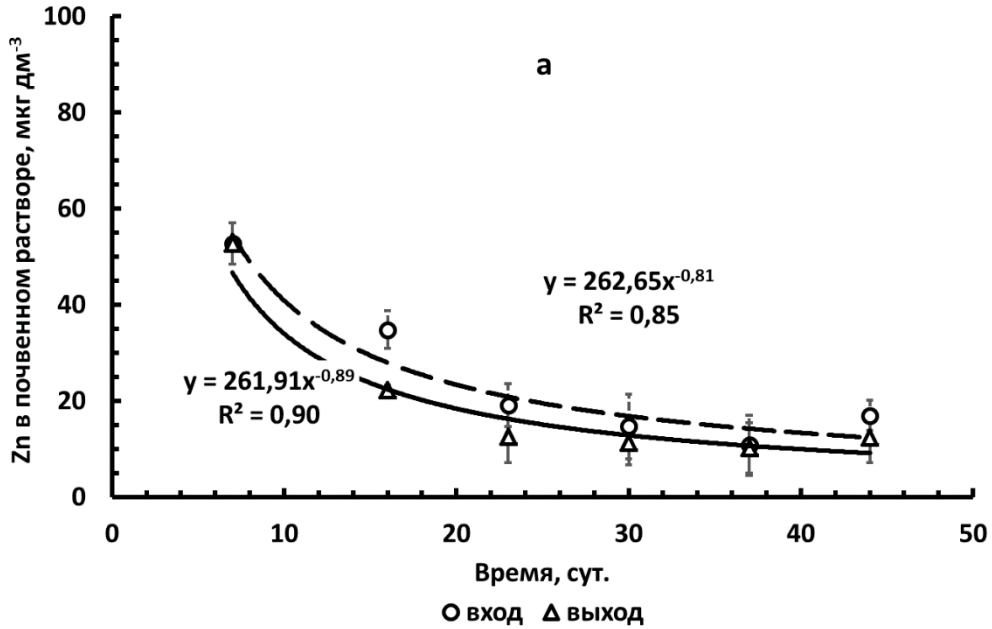
III. Связанная с легко восстанавливаемыми оксидами Mn (частично Fe)/ 0.1 М NH_2OH-HCl в 0.01 М HNO_3

IV. Связанная с восстанавливаемыми оксидами Fe-Mn / 0.1 М $H_2C_2O_4$+$(NH_4)_2C_2O_4$ буферный раствор (pH 3.2-3.3)

V. Связанная с окисляемым органическим веществом и сульфидами / Смесь 0.02 М HNO_3 + 30% H_2O_2 (v:v=3:5), pH 2

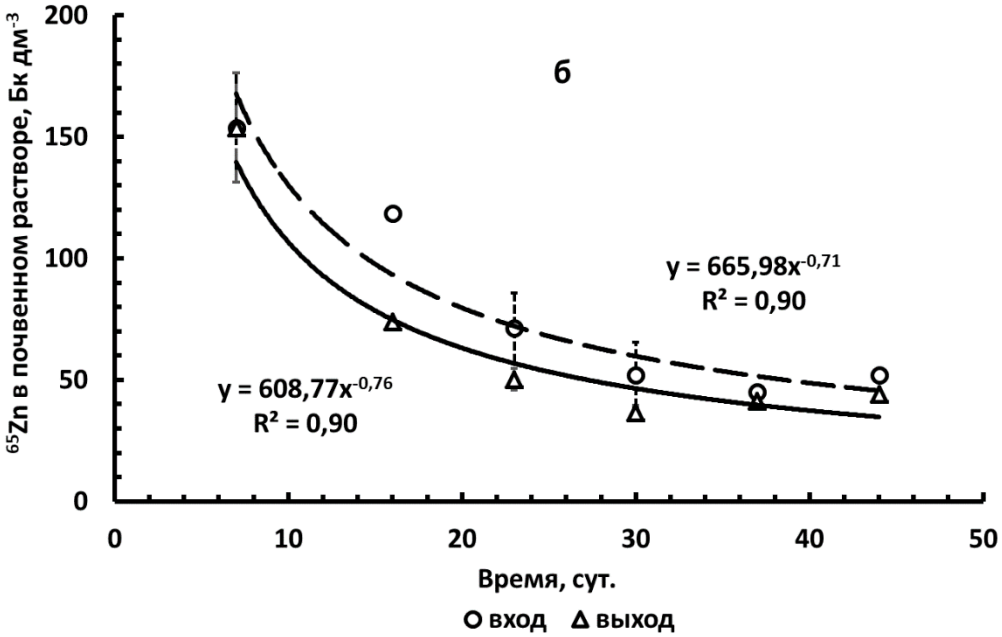
VI. Связанная с кристаллической матрицей первичных и вторичных почвенных минералов /Выпаривание с HNO_3 (конц.) при t = 95 °C

VII. Остаточная (связанная с кристаллической матрицей первичных и вторичных почвенных минералов и не извлекаемая конц. HNO_3 при нагревании)/ Определяют по разности между валовым количеством металла и общей удельной активностью ^{65}Zn в почве и суммарным содержанием их во фракциях I-VI.

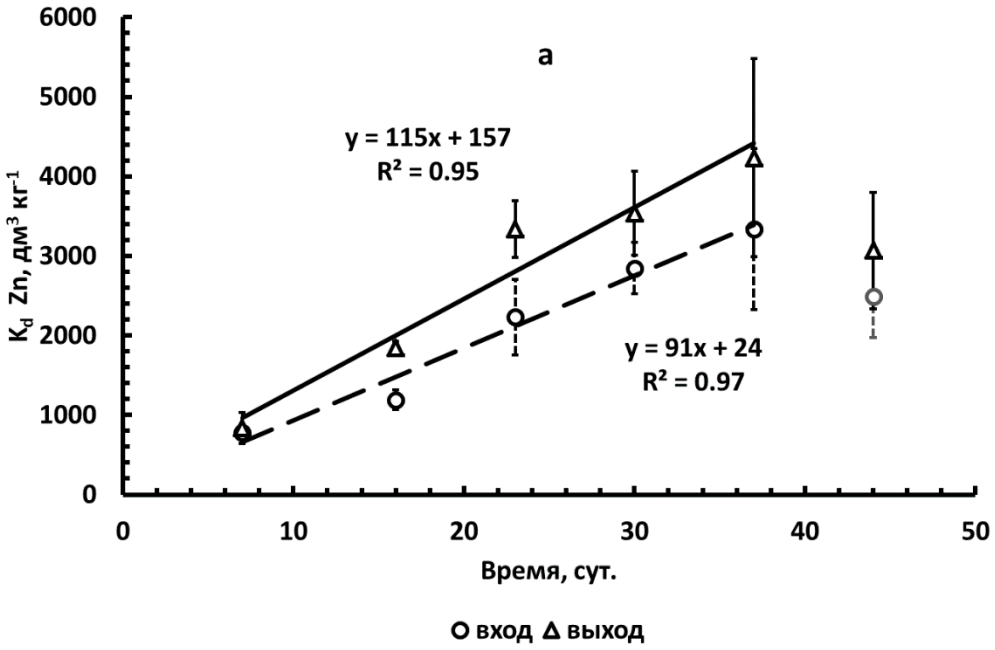


Установлено, что уменьшение концентрации стабильного Zn и объемной активности ^{65}Zn в почвенном растворе со временем удовлетворительно описываются степенной функцией с отрицательным показателем вида $[Zn]_{почв.раствор} = a \times t^{b}$, где *a* и *b* – параметры, *t* – время, сут

Рисунок 3.
Экспериментальные данные (среднее значение±ст.отклонение) для почвенного раствора в динамике: [Zn]стаб., мкг×дм$^{-3}$ (а); объемная активность ^{65}Zn, Бк×дм$^{-3}$ (б)



В течение вегетационного опыта продолжавшегося 35 сут происходило увеличение коэффициентов распределения как стабильного (природного), так и радиоактивного изотопов (рис. 4 а,б).



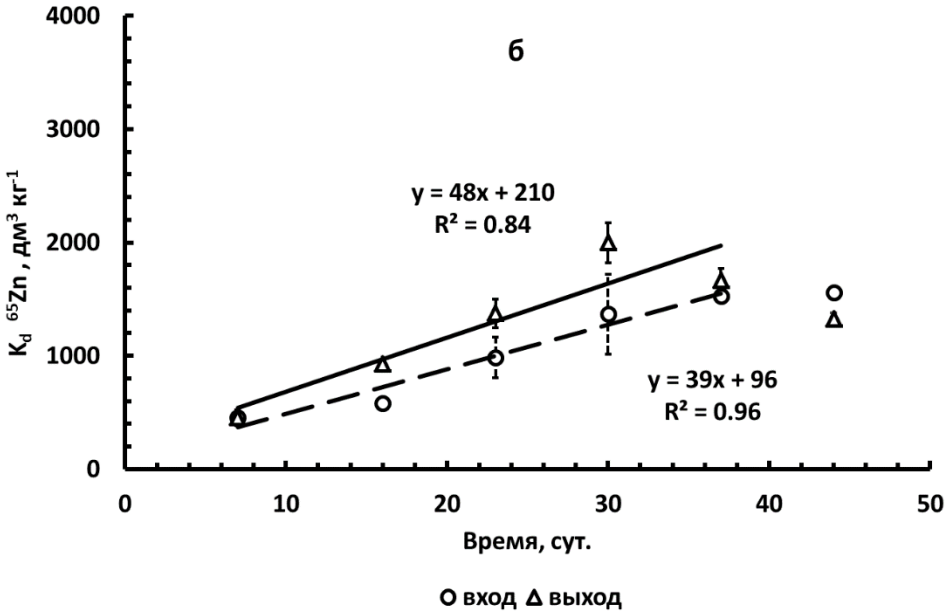


Рисунок 4. Экспериментальные данные (среднее значение±ст.отклонение) для почвенного раствора в динамике: коэффициенты распределения (Kd) между твердой и жидкой фазами Zn (а), ^{65}Zn (б), дм^3×кг$^{-1}$

Подвижность Zn(^{65}Zn) в почвенном растворе

Динамика водно-миграционных показателей K_d(Zn) и K_d(^{65}Zn) на входе и выходе из вегетационных сосудов, **удовлетворительно описывается линейными уравнениями типа $K_d = a \times t + b$**, где a (дм^3×кг$^{-1}$×сут$^{-b}$) и b (дм^3×кг$^{-1}$) – параметры, t – время, сут.

Вход:

K_d(Zn), дм^3/кг: 780±50 (1-е сутки) → 3340±1020 (35-е сутки).

Выход:

K_d(Zn), дм^3/кг: 840±200 (1-е сутки) → 4230±1240 (35-е сутки).

Вход:

K_d(^{65}Zn), дм^3/кг: 460±70 (1-е сутки) → 1530±50 (35-е сутки).

Выход:

K_d(^{65}Zn), дм^3/кг: 460±70 (1-е сутки) → 1670±100 (35-е сутки).

РИСУНКИ 3 и 4.
Zn(^{65}Zn) в почвенном растворе

Для стабильного Zn и радионуклида ^{65}Zn было установлено, что их концентрация и удельная активность, соответственно, в почвенном растворе уменьшались со временем (рис. 3 а, б). При этом содержание радиоизотопа и его стабильного изотопного носителя в почвенном растворе на выходе из лизиметра (на входе в вегетационные сосуды) было выше, чем на выходе из вегетационных сосудов, что объясняется поглощением цинка корнями ячменя. Снижение концентрации стабильного Zn и объемной активности радионуклида ^{65}Zn в почвенных растворах со временем связано как с истощением запаса водорастворимых форм металлов в почве в результате непрерывного поглощения корнями растений, не компенсируемого десорбцией Zn (^{65}Zn) из почвенного поглощающего комплекса (ППК) в почвенный раствор, так и с подщелачиванием почвенного раствора корневыми выделениями. Об этом же свидетельствует и увеличение значений K_d Zn(^{65}Zn) со временем, по мере роста, развития растений и поглощения ими Zn(^{65}Zn), а также на выходе из вегетационных сосудов.

Вывод I

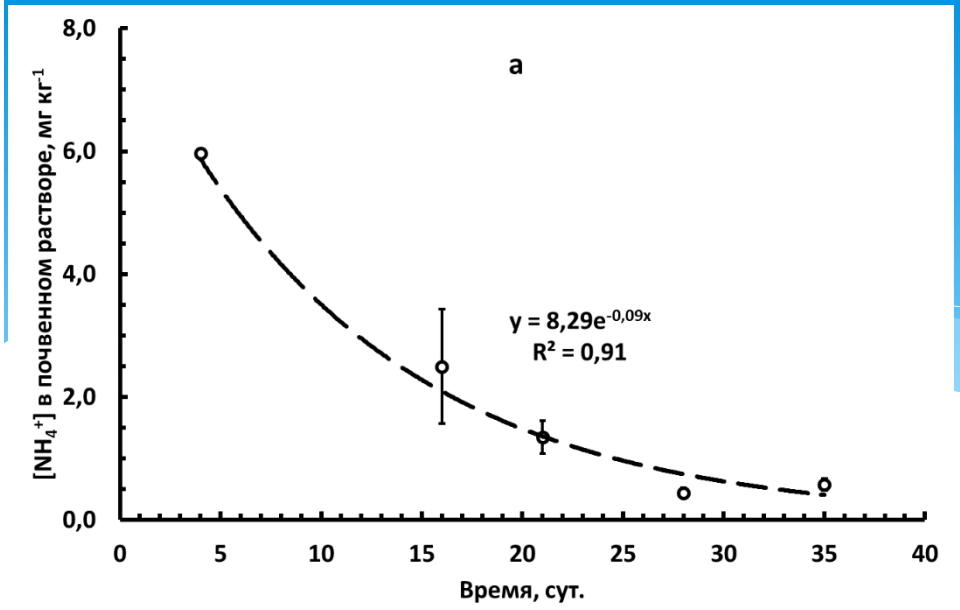
На основании экспериментально установленных величин коэффициентов распределения оказалось, что подвижность ^{65}Zn в системе почва – почвенный раствор в течение вегетационного эксперимента была практически в 2 раза выше подвижности природного (стабильного) Zn.

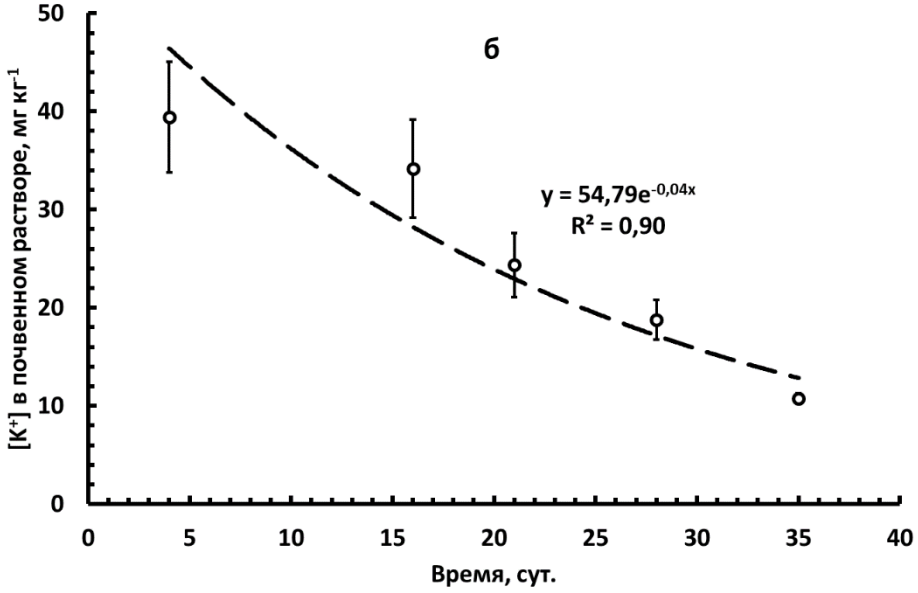
Время инкубации ^{65}Zn в почве до начала вегетационной составляющей лизиметрического опыта составляло 1 год.

РИСУНКИ 5 и 6.
Динамика содержания элементов питания и величины pH в почвенном растворе

В процессе вегетационного опыта наблюдалось существенное снижение в почвенном растворе концентрации ионов, мг×кг$^{-1}$: [NH_4^+], [K^+] (рис. 5 а, б) и [NO_3^-] (рис. 6 а), в то время как средние (на входе и выходе из вегетационных сосудов) значения pH возрастали с 5 до 7 (рис. 6 б).

Рисунок 5. Динамика концентраций в почвенном растворе, (мг×кг$^{-1}$) : [NH_4^+] (а), [K^+] (б) (среднее значение ± станд. отклонение)





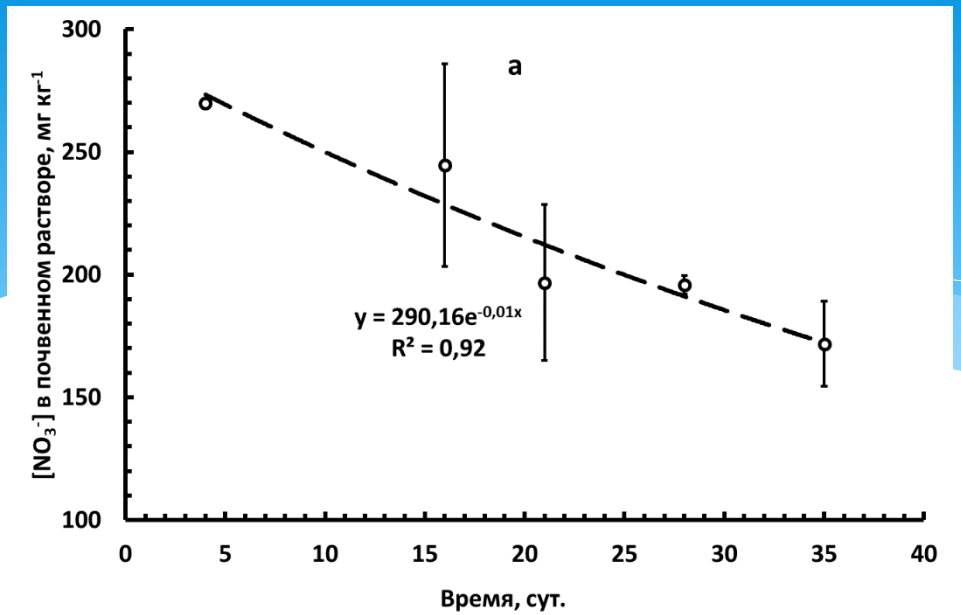
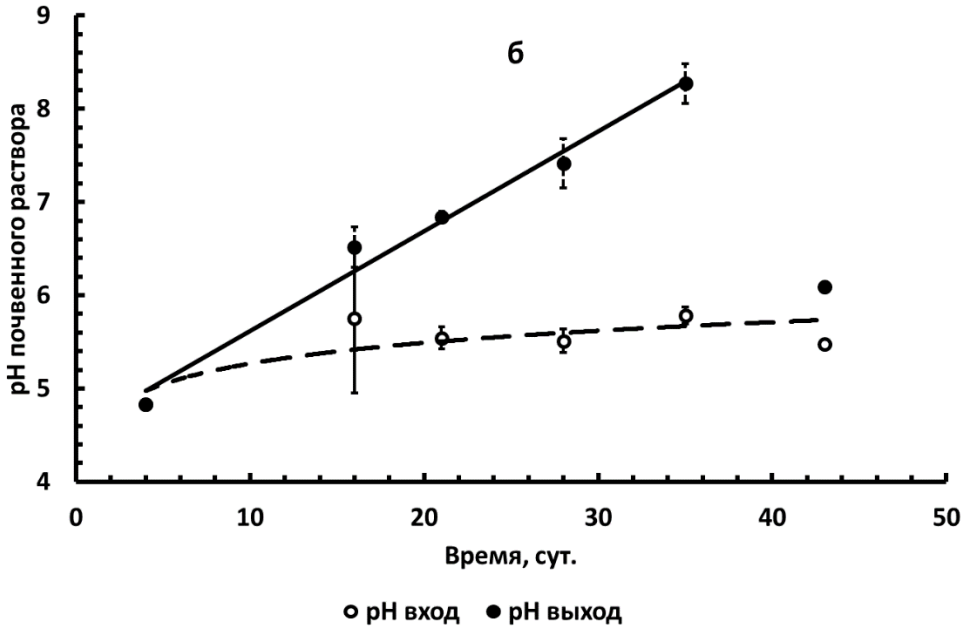
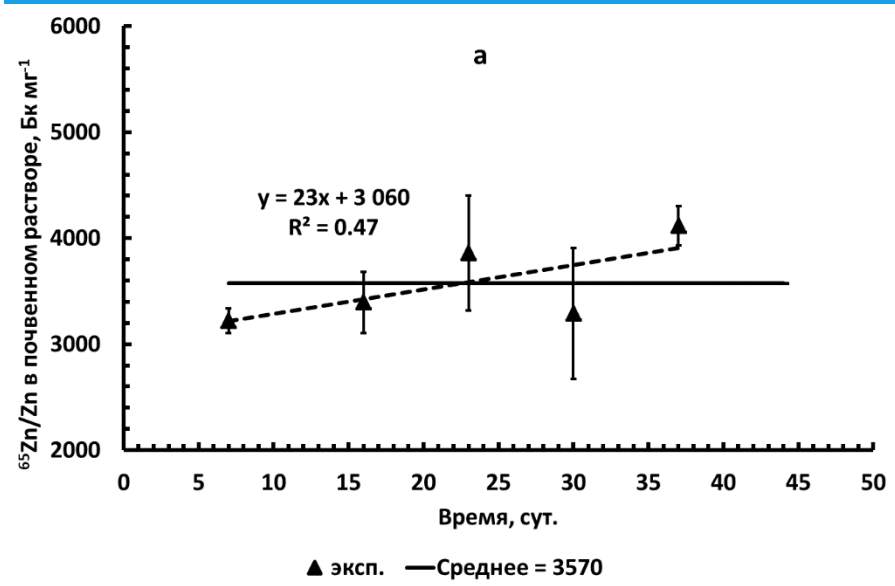


Рисунок 6. Динамика концентрации в почвенном растворе [NO_3^-] , мг×кг$^{-1}$ (а), и pH (б) (среднее значение ± станд. отклонение)



РИСУНКИ 5 и 6.
Динамика содержания элементов питания и величины pH в почвенном растворе

В процессе вегетационного опыта наблюдалось существенное снижение в почвенном растворе концентрации ионов, мг×кг$^{-1}$: [NH_4^+], [K^+] (рис. 5 а, б) и [NO_3^-] (рис. 6 а), в то время как средние (на входе и выходе из вегетационных сосудов) значения pH возрастали с 5 до 7 (рис. 6 б).



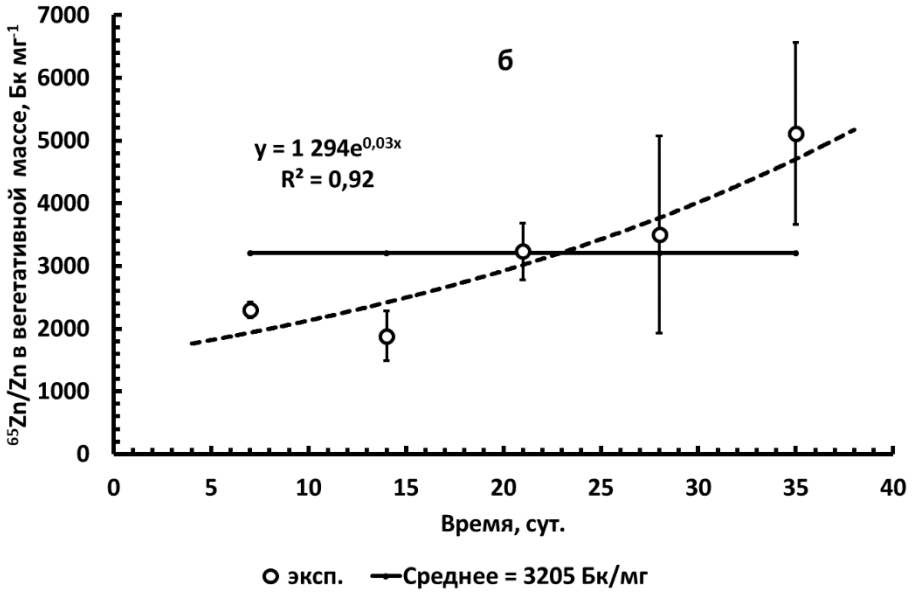


Рисунок 7. Экспериментальные данные (среднее значение±ст.отклонение) для почвенного раствора в динамике, Бк×мг$^{-1}$:
$A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{почв.раствор}$ (а),
$A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{ВЧ}$ (б),
$A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{КОРНИ}$ (в)

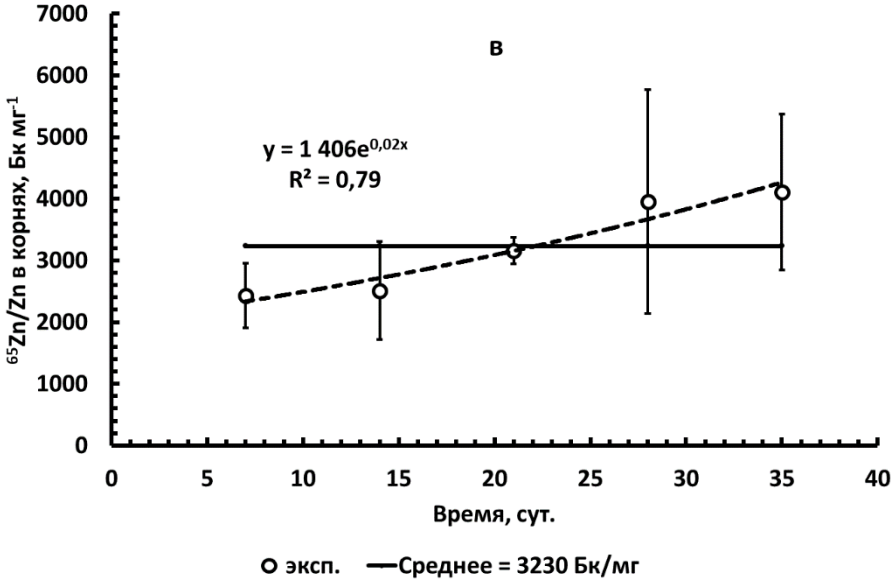


РИСУНОК 7.
Важными показателями для оценки вклада конкретной формы нахождения цинка в миграционную цепочку почва – почвенный раствор – растение являются значения удельной активности $^{65}Zn/Zn$ в исследуемых объектах.

Так, на рисунке 7 (а-в) приведены данные по динамике удельной активности $^{65}Zn/Zn$ в почвенном растворе, вегетативных частях и корнях тест-растения – ячменя в пересчете на стабильный Zn, содержащийся в этих объектах, Бк×мг$^{-1}$:

$$A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{почв.раствор},\ A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{ВЧ},\ A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{корни}.$$

Средние за вегетационный период значения соответствующих показателей составили, соответственно, 3580±390, 3210±1250 и 3230±780 Бк×мг$^{-1}$.

Вывод II

В результате подщелачивания почвенного раствора его экстрагирующая способность по отношению к «свежевнесенному» ^{65}Zn постепенно снижалась, хотя и не так сильно, как по отношению к менее подвижному нативному цинку. Это привело к выраженным тенденциям увеличения значений $A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{почв.раствор}$, $A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{Вч}$, $A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{корни}$ в течение вегетационного периода (рис. 7 а-в).

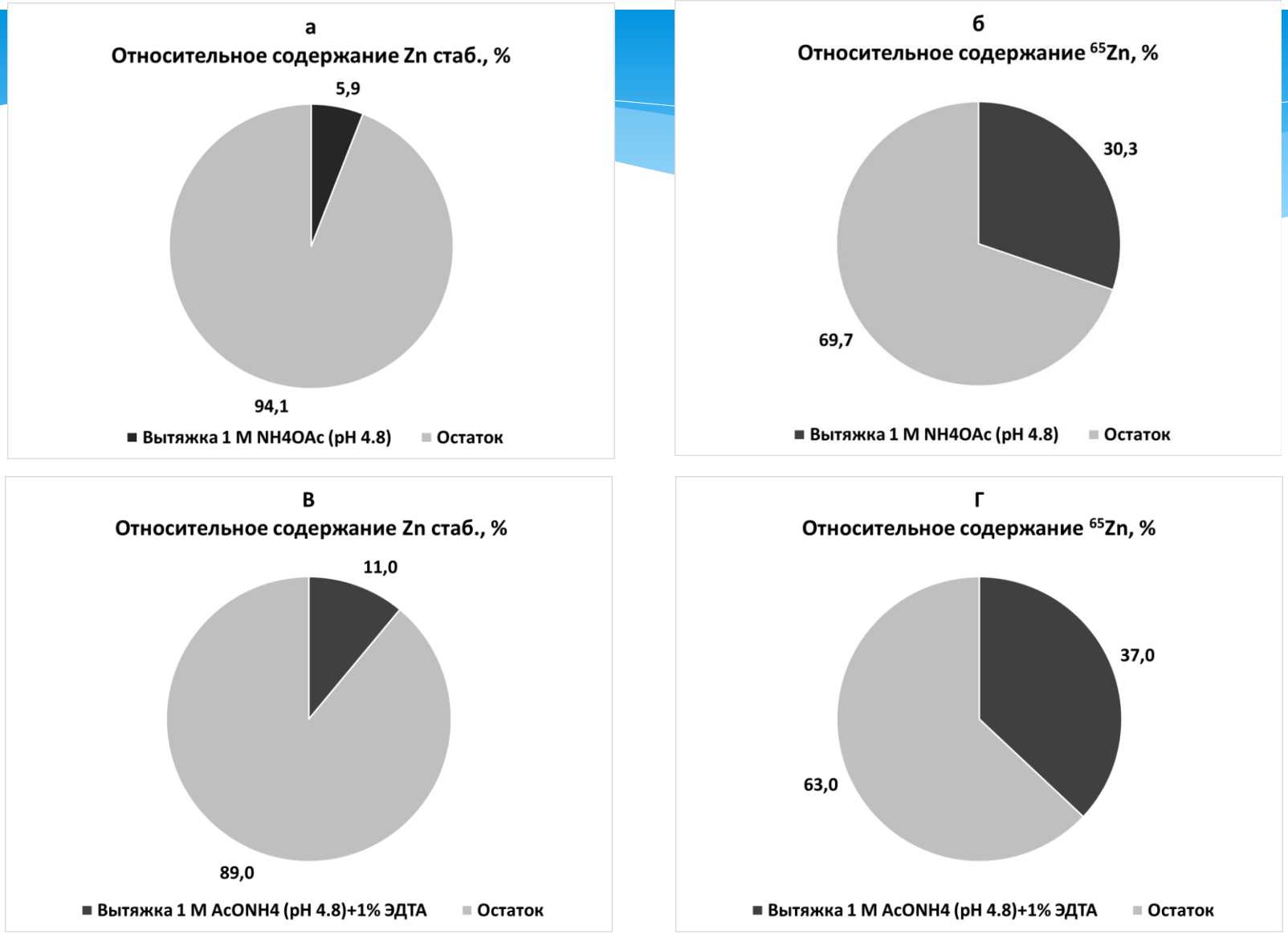


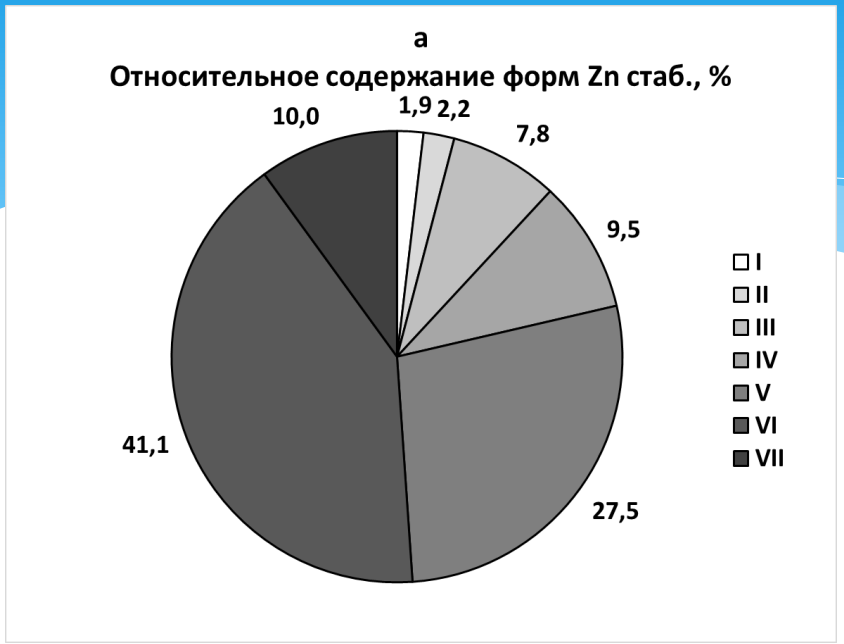
Рисунок 8. Относительное содержание (%) подвижной (а, б) и суммы подвижной и связанной с металлооганическими комплексами (ОМК) форм стабильного (природного) Zn и ^{65}Zn в дерново-подзолистой почве

РИСУНОК 8.
Параллельная экстракция

Относительное содержание (по сравнению с валовым количеством) подвижной формы нативного Zn и ^{65}Zn в исследуемой дерново-подзолистой почве составило 5.9±0.4 и 30.3±2.1%% соответственно (рис. 8 а,б).

В то же время, содержание суммы подвижной и связанной с металлооганическими комплексами (ОМК) форм Zn и ^{65}Zn было равно 11.0±1.4 и 37.0±1.2%% соответственно (рис. 8 в,г).

Т.е., в первом случае относительное содержание стабильного Zn было в 5.1 раза меньше, чем относительное содержание радионуклида ^{65}Zn, а во втором – в 3.4 раза.



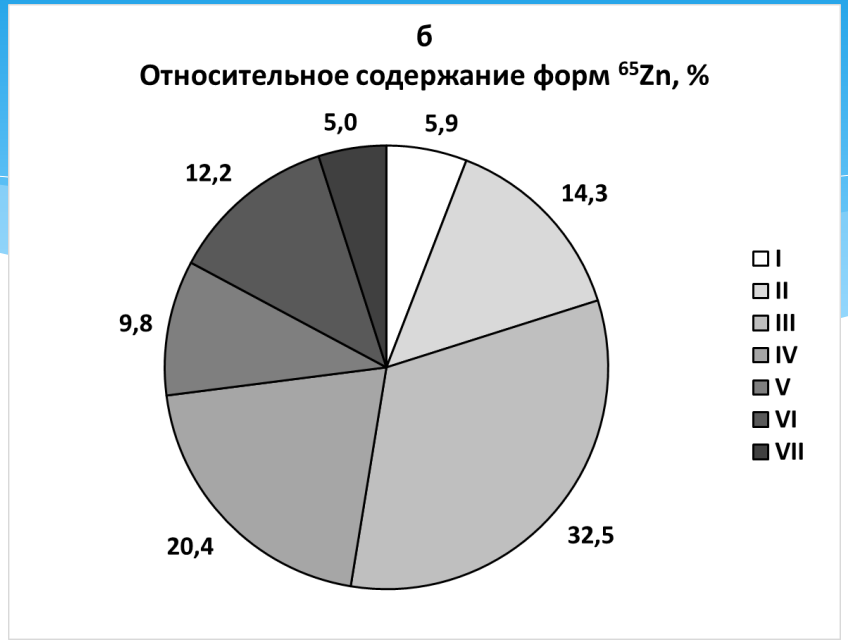
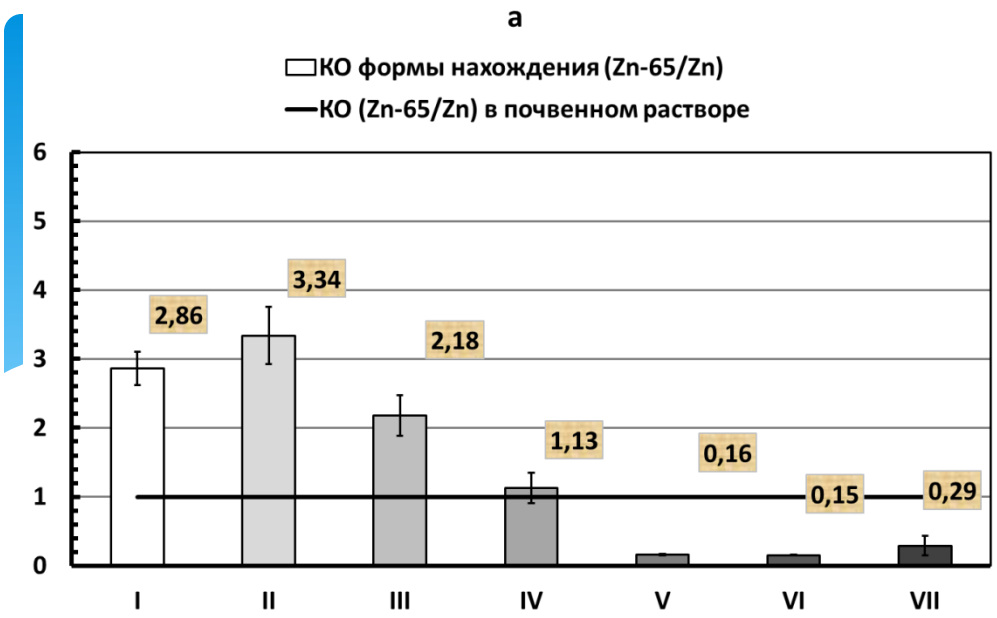


Рисунок 9. Относительное содержание (%) форм нахождения стабильного (природного) Zn (а) и ^{65}Zn (б) в дерново-подзолистой почве, определяемых по методу Tessier - Förstner;

РИСУНОК 9 а,б.
Последовательная экстракция

Для того, чтобы более подробно изучить вклад различных форм нахождения Zn в состав жидкой фазы почв с использованием в качестве радиоактивной метки ^{65}Zn, была применена последовательная схема фракционирования отобранных образцов почв по методу Tessier в модификации Förstner (см. табл. 2).

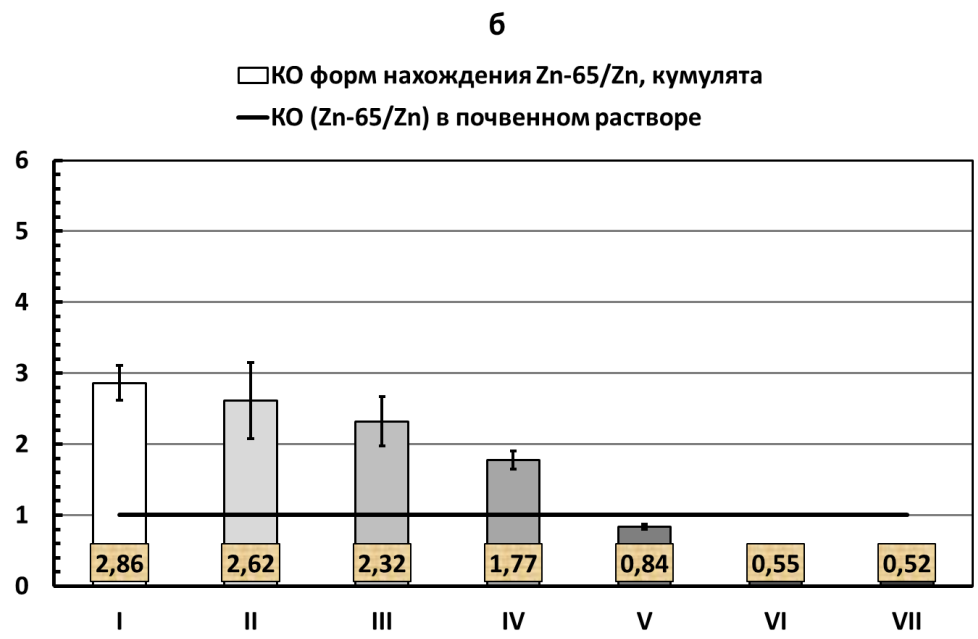
Результаты представлены на рис. 9 а, б. Сравнительный анализ данных показывает, что относительное содержание подвижной и условно подвижной форм ^{65}Zn в почве (фракции I-IV) значительно превышает содержание соответствующих форм стабильного (природного) изотопа Zn, соответственно, в 3.1, 6.5, 4.2 и 2.1 раза. В то же время значения относительного содержания консервативных (фиксированных) форм ^{65}Zn в почве (фракции V-(VI+VII)) были значительно ниже, чем для Zn: в 2.8 и 3.0 раза соответственно.



Установлено, что обогащение подвижных и условно подвижных форм природного Zn радиоактивным ^{65}Zn в 1.13 - 3.34 раза превышало аналогичную величину для почвенного раствора на момент, соответствующий началу вегетационного опыта.

В то же время, обогащение консервативных (неподвижных) форм Zn в почве радионуклидом ^{65}Zn по сравнению с почвенным раствором было в 0.15 - 0.29 раза ниже.

Рисунок 10. *Коэффициенты обогащения (КО)* радионуклидом ^{65}Zn стабильного Zn отдельных химических фракций металла, извлекаемых по методу Tessier – Förstner (а); кумулятивные *КО* суммы последовательно извлекаемых химических фракций (б)



Определение запаса подвижных соединений Zn в почве

Анализ соотношений $A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{фр.№}$/ $A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{почв.раствор}$ позволил рассчитать **величину запаса подвижных “*E*-value” (E_{Zn})** соединений нативного цинка в единице массы исследуемой почвы:

$E_{Zn} \cong \Sigma C(Zn)_{почва,фр.I\text{-}IV}$ = 8.80±0.59 мг×кг$^{-1}$ (или 21.4±1.4%). Соответствующее значение удельной активности для

Σ Фракций I-IV:

^{65}Zn ($A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{\Sigma фр.I\text{-}IV}$) = 5700±400 Бк×мг$^{-1}$.

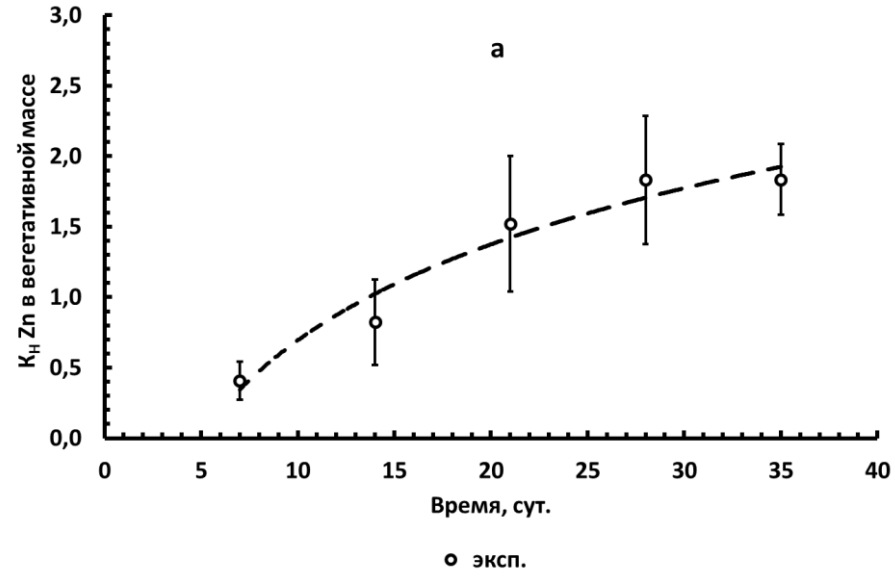
Вывод III

Среднее за период вегетационного опыта значение $A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{почв.раствор}$ = 3580±390 Бк×мг$^{-1}$ < $A_{уд}(^{65}Zn/Zn)_{\Sigma фр.I\text{-}IV}$ = 5700±400 Бк×мг-1. Значения последних величин различаются в 1.6 раза.

Это свидетельствует о существовании медленного процесса изотопного обмена между подвижными и условно подвижными формами цинка с одной стороны, и неподвижными (фиксированными) с другой, посредством жидкой фазы исследуемой почвы – почвенного раствора.

Факторами, позволившими зафиксировать данное явление, оказались длительность периода инкубации влагонасыщенной почвы с внесенным ^{65}Zn и, по-видимому, развитие естественных процессов, приводящих к повышению актуальной кислотности почвы.

Значения K_H Zn и K_H ^{65}Zn в течение вегетационного эксперимента также возрастали



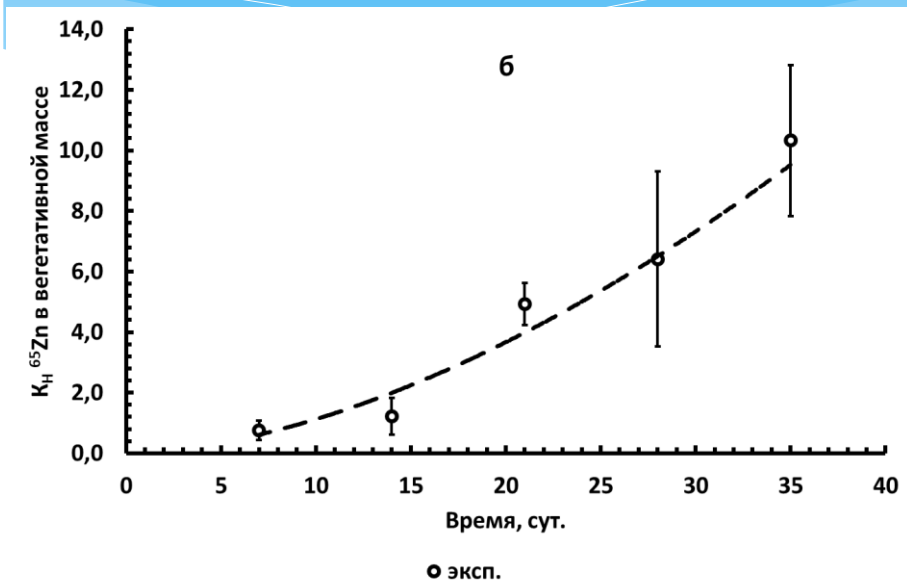


Рисунок 11. Динамика коэффициентов накопления Zn (а) и^{65}Zn (б) в сухой вегетативной массе ячменя: K_H Zn (а) и K_H ^{65}Zn (б), (среднее ±станд. отклонение)

Вывод IV

Биологическая доступность в системе почва – почвенный раствор – растение ^{65}Zn даже спустя 1 год после внесения в почву оставалась в разы выше, чем природного (стабильного) Zn.

Это подтверждается данными по динамике значений K_H Zn и K_H ^{65}Zn в течение вегетационного эксперимента

Благодарности:

Работа выполнялась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (Грант РФФИ № 19-29-05039)и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (госзадание № FGNE 2021-0002)

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!