DOI <https://doi.org/10.32782/geotech2022.35.13>

УДК 550.47:550.424

Долін В.В., Бобков В.М., Орлов О.О.

Долін В.В., доктор геологічних наук, професор, заступник директора, Державна установа «Інститут геохімії навколишнього середовища Національної академії наук України», ORCID 0000-0001-6174-2962, vdolin@ukr.net

Бобков В.М., кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник, Державна установа «Інститут геохімії навколишнього середовища Національної академії наук України», ORCID 0000-0002-3857-5075, vbobkov2021@ukr.net

Орлов О.О., кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Державна установа «Інститут геохімії навколишнього середовища Національної академії наук України», ORCID 0000-0003-2923-5324, orlov.botany@gmail.com

## БІОКІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ФРАКЦІОНУВАННЯ ТРИТІЮ ЖИВЦЯМИ ВЕРБИ БІЛОЇ

**Анотація.** У модельному експерименті вивчено особливості перерозподілу водної форми тритію в закритій екосистемі на основі свіжозрізаних живців верби білої (*Salix alba* L.). Дослід виконано за відсутності у живців листя та коріння. Живці вирощували у середовищі тритієвої води – джерело живлення (FS), розташоване у прозорій закритій камері з органічного скла. Вивчено кінетику поглинання тритію в системі FS – жива речовина. Встановлено, що питома активність тритієвої води FS під дією рослин істотно зменшується, так само, як і у випадку розвинених олистяних живців. Процеси фракціонування ізотопів водню під час вирощування верби білої в середовищі тритійованої води відбуваються незалежно від наявності у живців листя і кореневої системи. Це свідчить про визначальну роль біофізичних процесів (ймовірно дифузійно-осмотичних) та транспірації, і другорядну – фотосинтетичних у фракціонуванні тритію безлистими живцями. Свіжозрізані живці верби, без коріння та листя, здатні ефективно всмоктувати тритій із середовища живлення та випаровувати тритієву воду в повітря, відіграючи роль «тритієвої» помпи. Концентрація  $^3\text{H}$  у транспіраційних газах також істотно зменшується з часом відповідно до зменшення питомої активності FS. Попри відсутність листя, свіжозрізані живці здатні транспірувати значну кількість води у повітря. Зелена перидерма пагонів бере участь у протилежно спрямованих процесах. Нижня її частина, занурена у воду, разом з нижнім зрізом виконує сисну функцію, аналогічну до такої коріння, а верхня, надводна, разом з верхнім зрізом забезпечує транспірацію. Очевидно, що обидві функції перидерма пагонів і нижній та верхній зрізи виконують значно менш ефективно, ніж спеціалізовані розвинені органи рослини. Біокінетичні параметри фракціонування тритію у середовищі живлення під час вирощування верби співпадають за величиною з експериментально визначеними нами раніше у ході вирощування вкорінених живців верби з листям. Водночас кінетика накопичення тритію у транспірованих газах та сокові пагонів помітно відрізняється від аналогічної для розвинених живців з корінням та листям.

**Ключові слова:** тритієва вода, свіжозрізані живці верби без коріння та листя, всмоктування через перидерму, транспірація через перидерму, сік рослин, біокінетичні параметри.

**Вступ.** Як відомо, світло відіграє ключову роль у процесах фотосинтезу рослин, який відбувається в листі [1, 2]. Але, крім нього, у рослинах відбуваються також й інші фізіологічні процеси – рух соку, транспірація, міграція води та солей через стінки клітин тощо. З метою вивчення особливостей поглинання та перерозподілу тритію ( $^3\text{H}$ ) в живих рослинах важливо відокремити названі фізіологічні процеси один від одного. Найпростіший спосіб це зробити полягає в дослідженні пагонів, які не мають листя. Свіжозрізані пагони верби білої (*Salix alba* L.), без коріння та листя, є вдалим об'єктом для цих цілей.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Раніше, в серії модельних (greenhouse) експериментів нами було вивчено процеси ізотопного обміну тритію із довколишньої води в рослини, що дало змогу в контрольованих умовах оцінити швидкість накопичення та перерозподілу цього ізотопу в різних компонентах

верби білої [3–6]. Зазначені експерименти виконано на повністю сформованих рослинах – з листям на гілках і розвиненими коренями.

**Мета дослідження.** Метою цієї роботи було вивчення особливостей процесу поглинання та перерозподілу тритієвої води живцями верби на початку періоду вегетації – живими свіжозрізаними пагонами, без листя і коріння.

**Методи дослідження.** Об'єктами дослідження були тритієва вода з початковою питомою активністю  $7650 \text{ Бк} \cdot \text{дм}^{-3}$ , та 11 свіжозрізаних живців (без коріння та листя) верби білої (*Salix alba* L.). Живці були нарізані із здорових гілок верби білої до періоду вегетації. Живці витримували у звичайній воді протягом 1 тижня для акліматизації. Готові до експерименту рослини перенесли у пластикове відро ємністю 10 л (Fig. 1).

У відро залили  $8,78 \text{ л}$  приготовленої тритієвої води, питомою активністю  $7650 \text{ Бк} \cdot \text{дм}^{-3}$  (джерело живлення, FS – Feeding Solution). З цього моменту почався відлік



Fig. 1. Experimental set up

часу експерименту. Відро з живцями розташували у прозорій герметичній камері на базі модифікованої шафи витяжної радіохімічної 1ШВ1-200 ТУ 051020-82, 02.984-000 ТУ об'ємом 0,54 м<sup>3</sup>, виготовленій з органічного скла (Fig. 1). Усередині камери вмонтовано люмінесцентний світильник 4×18 Вт, який світив цілодобово.

Для збирання водяної пари (*TW* – *Transpired Water*) на дні камери розмістили порцелянову чашу з низькими краями, в яку додали 60 г прожареного хлористого кальцію. Протягом першого тижня проби відбирали тільки з *FS*. Далі щотижня крім проби води відбирали пробу з хлористим кальцієм та по одному саджанцю. Насичений водою хлорид кальцію переносили до колби Вюрца і за допомогою газового пальника відганяли *TW*.

Після зважування пагона його протирали фільтрувальним папером до сухого стану. Далі пагін розрізали на невеликі відрізки (5–6 см) і переносили в 1,5 л скляну ємність, куди ставили стакан з 60 г прожареного хлористого кальцію. Ємність закривали чашкою Петрі і витримували у сушильній шафі за температури 100 °С протягом 24 год. Потому насичений водою хлорид кальцію переносили до колби Вюрца і за допомогою газового пальника відганяли з рослини сік (*PS* – *Plant Sap*).

Кожну пробу води переганяли з додаванням окиснювача. На основі очищених зразків води готували лічильну форму: у спеціальну поліетиленову віалу ємністю 20 мл наливали 8 г попередньо перегнаної досліджуваної води. До проби додавали 12 г сцинтиляційної рідини *OPTIPHASE HiSafe 3* виробництва фірми *Perkin Elmer*. Суміш ретельно перемішували, вимірювання питомої активності <sup>3</sup>H виконували за допомогою ультранизькофонового рідинно-сцинтиляційного  $\alpha$ - $\beta$ -спектрометра *Quantulus 1220-003* виробництва Фінляндії.

**Виклад основного матеріалу дослідження.** Звичайно фізичне випаровування води (без рослин) призводить до фракціонування і накопичення в ній важких ізотопів водню. У нашому експерименті спостерігається протилежний ефект: поступове і рівномірне зменшення концентрації тритію у *FS*, яке описується експоненціальним рівнянням (1):

$$[{}^3\text{H}]_{FS} = A e^{-k_1 t}, \quad (1)$$

де  $[{}^3\text{H}]_{FS}$  – концентрація тритію у *FS* на час  $t$ , що минув після початку експерименту, Бк·дм<sup>-3</sup>,  $A$  – початкова питома активність тритію у *FS*, Бк·дм<sup>-3</sup>,  $k_1$  – біокінетична константа фракціонування тритію внаслідок винесення транспіраційним потоком (Fig. 2).

Випаровування води одночасно відбувається як з ємності, у яку занурено живці, так і шляхом винесення транспіраційним потоком. Попередні дослідження [3–6] показали, що транспірація через листя рослин набагато перевищує випаровування з поверхні *FS*. Встановлено, що за відсутності листя у живців експериментально визначена середня швидкість випаровування становила 256 см<sup>3</sup> на тиждень, тоді як за відсутності рослин з поверхні *FS* вона становить лише 93 см<sup>3</sup> на тиждень, тобто 40%. Решта 60% випаровується шляхом транспірації через поверхню безлистя живців. Цей процес відбувається через перидерму живців, в якій за транспірацію відповідають переважно сочевички, листові рубці і бруньки [2]. Крім того, випаровування води відбувається через верхній зріз пагона.

Кінетика транспіраційного потоку, а також концентрації тритію у соку живців, який міститься у судинах і внутрішньоклітинному соку, з високою достовірністю (Table 1) описується експоненціальним рівнянням:

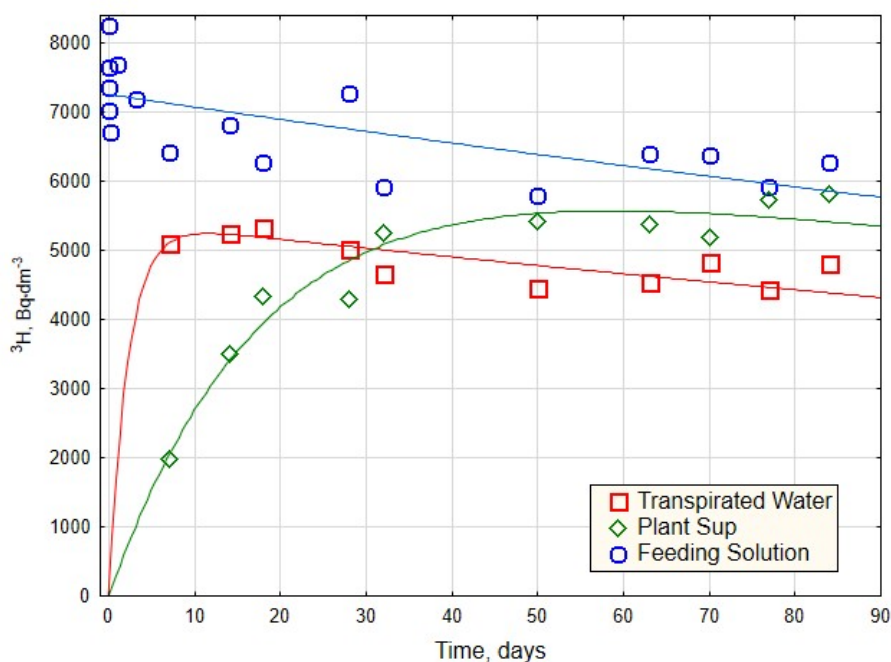


Fig. 2. Biokinetics of tritium fractionation by fresh willow cuttings

$$[{}^3\text{H}]_{TW,PS} = A_1 e^{-k_1 t} (1 - e^{-k_2 t}), \quad (2)$$

де  $A_1$  – максимальна концентрація  ${}^3\text{H}$  у соку рослини,  $\text{Bq} \cdot \text{dm}^{-3}$ ,  $k_2$  – константа швидкості відповідного процесу (Fig. 2).

Після досягнення певної максимальної концентрації кінетичні криві виположуються; біокінетичні процеси синхронізуються з динамікою питомої активності  ${}^3\text{H}$  в середовищі живлення.

Концентрація тритію у соку живців наближається до концентрації цього радіоізоотопу в середовищі живлення протягом трьох місяців. Вміст тритію у водній парі (транспіраційній воді та воді, що фізично випарувалася з  $FS$ ) досягає максимуму (75 %  $FS$ ) протягом перших 10 діб і далі синхронно знижується (Fig. 2, Table 1).

Цікаво відзначити, що біокінетична константа фракціонування  ${}^3\text{H}$  у середовищі живлення у ході вирощуванні верби співпадає за величиною з експериментально визначеною під час вирощування укорінених живців верби з листям [4]. Тобто свіжозрізані нерозвинуті живці верби поглинають тритій із  $FS$  на рівні розвинутих рослин. У таких живців відсутня коренева система, тому надходження тритію може відбуватись через перидерму, а також нижній зріз пагона. В олистяних пагонах саме листя рослин та пов'язаний з ними фотосинтез разом з транспірацією відіграють ключову роль у процесі фракціонування ізоотопів водню. Однак у безлистих пагонів основна роль у цьому належить висхідному транспіраційному потоку. Ймовірно ці процеси відбуваються відповідно до капілярних і дифузійно-осмотичних біофізичних закономірностей. Фракціонування відбувається під час проходження

Table 1. Biokinetic parameters of tritium fractionation by fresh willow cuttings in greenhouse experiment

Media	$A$ , $\text{Bq} \cdot \text{dm}^{-3}$	$k_1, \text{s}^{-1}$	$k_2, \text{s}^{-1}$	$R$
FS	7260	$2,95 \cdot 10^{-8}$	–	0,71
TW	5435	$2,95 \cdot 10^{-8}$	$5,17 \cdot 10^{-6}$	0,99
PS	6794	$2,95 \cdot 10^{-8}$	$6,04 \cdot 10^{-7}$	0,99

води по судинах (капілярах), міжклітинних бар'єрах або унаслідок специфічної взаємодії з компонентами клітин.

Отримані результати свідчать, що свіжозрізані живці верби на початку вегетації (без листя і коріння) здатні ефективно поглинати тритій із  $FS$  «і включити його» до  $PS$ . Наявність коренів і листя значно прискорює цей процес – майже учетверо (константа швидкості становить  $2,17 \cdot 10^{-6} \text{ c}^{-1}$ ) [4]. Тобто у свіжозрізаних живцях відбувається активний рух соку, який ефективно обмінюється речовинами з  $FS$ , а живці здатні до активної транспірації – випаровування води у повітря. Таким чином, перидерма молодих пагонів здатна виконувати одразу дві функції. Нижня її частина, занурена у воду, разом зі зрізом виконує сисну функцію, аналогічну до такої коріння, а верхня, надводна, забезпечує транспірацію. Очевидно, що обидві функції перидерма рослини виконує менш ефективно, ніж спеціалізовані органи, наприклад листя, які забезпечують не лише фотосинтез, але й функціонування «верхнього кінцевого насосу» [1].

**Висновки.** 1. Процеси фракціонування ізоотопів водню під час вирощування верби білої в середовищі тритійованої води відбуваються незалежно

від наявності у живців листя і кореневої системи. Це свідчить про визначальну роль біофізичних процесів (імовірно дифузійно-осмотичних) та транспірації, і другорядну – фотосинтетичних у фракціонуванні тритію безлистими живцями. Живці верби, без коріння та листя, здатні ефективно всмоктувати тритій із середовища живлення та випаровувати тритієву воду у повітря, відіграючи роль «тритієвої» помпи.

2. Біокінетичні параметри фракціонування тритію у середовищі живлення у ході вирощування верби співпадають за величиною з експериментально визначеними нами раніше під час вирощування укорінених живців верби з листям. Водночас кінетика накопичення тритію у транспірованих газах та сокові пагонів верби значно відрізняється від аналогічної для розвинених живців з корінням та листям.

3. Перидерма молодих живців верби білої здатна виконувати одразу дві функції. Нижня її частина, занурена у воду, разом зі зрізом виконує сисну функцію, аналогічну до такої коріння, а верхня, надводна, забезпечує транспірацію.

**Перспективи подальших досліджень.** Застосування отриманих результатів є перспективним для розроблення фітореMediaційних технологій очищення технологічних вод АЕС і заводів з переробки відпрацьованого ядерного палива від тритієвого радіоактивного забруднення.

#### References

1. Polevoy, V.V. (1989), *Fiziologiya rasteniy*. Moscow: Vysshaya shkola.
2. Kramer, P.D., Kozlovskiy, T.T. (2013), *Fiziologiya drevesnykh rasteniy*. Moscow: Kniga po Trebovaniyu.
3. Bobkov, V., Dolin, V. (2016), Isotopic Exchange of Tritium in the Process of Willow Vegetation, *Collection papers Institute of Environmental Geochemistry*, **25**: 49-55. URL: <http://dspace.nbu.gov.ua/handle/123456789/140454> (Last accessed: 13.02.2021).
4. Dolin, V.V., Bobkov, V.M., Pushkarev O.V., Koshliakova T.O. (2018), Isotopic Effects of Tritium during the Growth of White Willow. *Universal Journal of Geoscience*, **6**(6): 175-183.
5. Dolin, V.V., Bobkov, V.M. (2020), Peculiarities of the tritiated water transpiration flux during willow vegetation, *Geochemistry of technogenesis*, **4**: 50-57.
6. Dolin, V.V., Bobkov, V.M. (2020), Dose-dependent effects of isotopic exchange of tritium in the process of willow vegetation. *Nucl. Phys. and Atom. Energy*. **21**( 4): 354-360.

#### BIOKINETIC PARAMETERS OF TRITIUM FRACTIONATION BY FRESH WILLOW CUTTINGS

V. Dolin, V. Bobkov, O. Orlov

**Dolin V.V.**, D. Sc. (Geol.), Prof., Research Director, State Institution "The Institute of Environmental Geochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine", ORCID:0000-0001-6174-2962, [vdolin@ukr.net](mailto:vdolin@ukr.net)

**Bobkov V.M.**, PhD (Chem.), Senior Researcher, State Institution "The Institute of Environmental Geochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine", ORCID:0000-0002-3857-5075, [vbobkov2021@ukr.net](mailto:vbobkov2021@ukr.net)

**Orlov O.O.**, PhD (Biol.), Senior Researcher, State Institution «The Institute of Environmental Geochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine», ORCID: 0000-0003-2923-5324, [orlov.botany@gmail.com](mailto:orlov.botany@gmail.com)

**Abstract.** A model experiment was carried out to study the peculiarities of redistribution of the aqueous form of tritium in a closed ecosystem using freshly cut cuttings of white willow (*Salix alba L.*). There were neither leaves nor roots in the cuttings. The cuttings were grown in tritium water – a feeding solution (FS), in a transparent closed chamber from organic glass. The kinetics of tritium uptake in the "FS-living matter" system was studied. It was found that the specific activity of the tritium water of FS was significantly decreased under the impact of plants, as in the case of developed cuttings with leaves. Processes of fractionation of hydrogen isotopes in the cultivation of white willow in the environment of tritiated water occur independently of the presence of leaves and root systems in the cuttings. This is the evidence of the defining role of biophysical processes (probably diffusion-osmotic) and transpiration, and the secondary role of photosynthesis in the fractionation of tritium by leafless cuttings. Fresh willow cuttings without roots and leaves are able to effectively absorb tritium from the medium and evaporate tritium water to the air, acting as a "tritium" pump. The  $^3\text{H}$  concentration in the transpiration gases also decreases significantly following reduction of specific activity in FS. Despite the lack of leaves, the freshly cut cuttings are able to evaporate (transpire) a significant amount of water to the air. The green periderm of the cuttings participates in oppositely directed processes. The lower part, immersed in water, together with the lower cut performs a suction function similar to that of the roots, while the upper part, which is above the water, together with the upper cut provides transpiration. It is obvious that the cuttings' periderm as well as the upper and lower cuts perform both functions much less efficiently than the specialized developed organs of the plant. Biokinetic parameters of tritium fractionation in the feeding solution during the willow cultivation coincide in value with those experimentally calculated by us earlier when growing rooted willow cuttings with leaves. At the same time, the kinetics of tritium accumulation in transpired gases and plant's sap differs from that for developed cuttings with roots and leaves.

**Key words:** tritium water, freshly cut willow cuttings without roots and leaves, absorption through the periderm, transpiration through the periderm, plant sap, biokinetic parameters.