

УДК 631.4

DOI: 10.19047/0136-1694-2020-103-85-107



Ссылки для цитирования:

Фарходов Ю.Р., Ярославцева Н.В., Яшин М.А., Хохлов С.Ф., Ильин Б.С., Лазарев В.И., Холодов В.А. Выход денсиметрических фракций из типичных черноземов разного землепользования // Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева. 2020. Вып. 103. С. 85-107.
DOI: 10.19047/0136-1694-2020-103-85-107

Cite this article as:

Farkhodov Yu.R., Yaroslavtseva N.V., Yashin M.A., Khokhlov S.F., Ilyin B.S., Lazarev V.I., Kholodov V.A., The yield values of densimetric fractions from typical chernozems of different land use types, Dokuchaev Soil Bulletin, 2020, V. 103, pp. 85-107, DOI: 10.19047/0136-1694-2020-103-85-107

Благодарность:

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 18-316-00101 мол_а (анализ образцов), проект № 19-016-00078 (отбор образцов), а также с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием “Функции и свойства почв и почвенного покрова” Почвенного института им. В. В. Докучаева.

Acknowledgments:

The studies were carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (RFBR), project No. 18-316-00101 mol_a (samples analysis), project No. 19-016-00078 (samples collection), and with the use of the instrumentation of the Centre for Collective Use of Scientific Equipment “Functions and Properties of Soils and Soil Cover” (V.V. Dokuchaev Soil Science Institute).

Выход денсиметрических фракций из типичных черноземов разного землепользования

© 2020 г. Ю. Р. Фарходов^{1*}, Н. В. Ярославцева¹, М. А. Яшин¹,
С. Ф. Хохлов¹, Б. С. Ильин², В. И. Лазарев², В. А. Холодов¹

¹ФИЦ “Почвенный институт им. В.В. Докучаева”, Россия,
119017, Москва, Пыжжевский пер, 7, стр. 2,

* e-mail: yulian.farkhodov@yandex.ru.

²Курский федеральный научный центр, Россия,
305526, Курская область, Курский район, п. Черемушки, 10.

*Поступила в редакцию 14.05.2020, после доработки 03.08.2020,
принята к публикации 10.09.2020*

Резюме: Одним из наиболее обоснованных и востребованных подходов к выделению пулов органического вещества (ОВ) почвы является фракционирование с использованием тяжелых жидкостей. Проблема такого подхода состоит в достаточно больших потерях на стадии отмывки минеральной фракций от тяжелой жидкости, для преодоления этого затруднения предложено использовать вместо дистиллированной воды слабый раствор соляной кислоты. Выявлено, что такой подход позволит снизить потери почвенных частиц с 15 до 5% и потери углерода с 7.5 до 2.5%. В работе приводится подробный протокол денсиметрического фракционирования с помощью растворов поливольфрамата натрия, адаптированный для выделения из типичных черноземов четырех денсиметрических фракций: свободного и окклюдированного ОВ с плотностью $<1.6 \text{ г/см}^3$, окклюдированного ОВ – $1.6\text{--}2.0 \text{ г/см}^3$ и минеральной фракции – $>2.0 \text{ г/см}^3$. Для проведения денсиметрического фракционирования использовали образцы типичных черноземов различного землепользования. Было показано, что процессы восстановления и деградации почв существенно сказываются на содержании легкого окклюдированного почвенного ОВ.

Ключевые слова: протокол выделения, многолетние опыты, почвенное органическое вещество, *Na*plic Chernozem, денсиметрическое фракционирование, поливольфрамат натрия.

The yield values of densimetric fractions from typical chernozems of different land use types

**Yu. R. Farkhodov^{1*}, N. V. Yaroslavtseva¹, M. A. Yashin¹,
S. F. Khokhlov¹, B. S. Iliyn², V. I. Lazarev², V. A. Kholodov¹**

¹*Federal Research Centre “V.V. Dokuchaev Soil Science Institute”,
7 Bld. 2 Pyzhevskiy per., Moscow 119017, Russian Federation,
e-mail: yulian.farkhodov@yandex.ru.

²*Kursk Federal Agrarian Science Centre,
10 p. Cheremushki, Kursk region 305526, Russian Federation.*

Received 14.05.2020, Revised 03.08.2020, Accepted 10.09.2020

Abstract: One of the most justified and applied approaches to isolating pools of soil organic matter is fractionation in heavy liquids. The main problem with this approach is rather large losses in the separation of fractions at the stage of

washing fractions from heavy liquids. The paper presents a densimetric fractionation protocol that can significantly reduce these losses. It is suggested to use 0.001 M HCl for washing. This approach, in comparison with distilled water, allows reducing losses of weight from 15 to 5% and of carbon from 7.5 to 2.5%. The paper provides a detailed protocol, used by the Laboratory of Soil Biochemistry of V.V. Dokuchaev Soil Science Institute, to isolate four densimetric fractions using sodium polytungstate solutions: free and occluded SOM with a density of $<1.6 \text{ g/cm}^3$, occluded SOM – of $1.6\text{--}2.0 \text{ g/cm}^3$, and a mineral residue with a density $>2.0 \text{ g/cm}^3$. In the work we used samples of typical chernozems of different land use types. It was shown that the processes of soil restoration and degradation significantly affect the content of light occluded soil organic matter.

Keywords: densimetric fractionation protocol, long-term experiments, soil organic matter, Haplic Chernozem, density separation, SPT, sodium polytungstate.

ВВЕДЕНИЕ

Почва – крупнейший наземный резервуар углерода на планете, она играет ключевую роль в процессе стабилизации углерода (Lal, 2004). Одним из главных механизмов этого процесса является включение углерода в состав почвенного органического вещества (ОВ) устойчивого к разложению. При этом устойчивость ОВ оценивают по среднему времени пребывания углерода в экосистеме, выделяя пулы по периоду оборота углерода – от десятков до тысяч лет (Helfrich et al., 2006; Krull et al., 2003). На данный момент одним из наиболее обоснованных подходов к выделению пулов ОВ разной степени устойчивости и трансформированности является денсиметрическое фракционирование (Six et al., 2002; von Lutzow et al., 2007).

В литературе известно большое количество схем и протоколов денсиметрического фракционирования, выделяющих множество групп различных фракций (Poeplau et al., 2018). Однако в целом денсиметрическое фракционирование ОВ позволяет выделить две фракции: легкое ОВ и ОВ, связанное с минеральной частью, при плотности разделения $1.6\text{--}1.8 \text{ г/см}^3$ (Cerli et al., 2012; Griepentrog, Schmidt, 2013; Травникова и др., 2010). Фракцию легкого ОВ делят на свободное и окклюдированное (внутриагрегатное). Свободное ОВ состоит из слабо связанных с минеральной

частью почвы остатков растительного опада и считается наименее устойчивым ([Golchin et al., 1994b](#); [Poeplau et al., 2018](#); [Six et al., 1999a](#)). Фракция окклюдированного ОВ состоит из мелкодисперсных остатков растительного опада, находящихся внутри почвенных агрегатов, которые защищают ОВ от деструкции. Характерной особенностью ОВ данной фракции является высокое отношение С к N, низкое содержание тяжелых изотопов углерода и азота, что свидетельствует о слабой степени его разложения по сравнению с ОВ минеральных денсиметрических фракций ([Wagai et al., 2009](#)). Один из самых устойчивых пулов ОВ (со временем оборота более ста лет) – ОВ органоминеральных комплексов ([von Luetzow et al., 2006](#)). Денсиметрические фракции ОВ органоминеральных комплексов также можно разделить по степени трансформированности с граничной плотностью 2 г/см³ ([John et al., 2005](#); [Sollins et al., 2006](#)). Фракция окклюдированного органического вещества с плотностью 1.6(1.8)–2.0 г/см³ представлена комплексами ОВ средней степени разложенности с тонкодисперсными алюмосиликатами, преимущественно группы смектита ([Sollins et al., 2006](#)). Фракция с плотностью >2.0 г/см³, ее называют фракцией минерального остатка или минеральной фракцией, может быть представлена комплексами сильно трансформированного (гумифицированного) ОВ с первичными и вторичными минералами различной степени дисперсности ([Sollins et al., 2006](#)).

В качестве тяжелой жидкости (ТЖ) в денсиметрическом фракционировании применяют различные реагенты, такие как бромформ-этанольная смесь, йодистый метилен, тетрабромэтилен, натрий йодистый, жидкость Клеричи и др. В настоящее время в почвоведении в качестве ТЖ наиболее широко применяется водный раствор поливольфрамата натрия. Этот реактив обладает рядом преимуществ: он не токсичен, имеет низкую вязкость, хорошо растворяется в воде, регенерируется ([Six et al., 1999b](#)). Главными недостатками применения раствора поливольфрамата натрия при денсиметрическом фракционировании ОВ являются возможность загрязнения анализируемого образца соединениями азота в случае недостаточно чистого реактива, а также существенные потери углерода, которые могут достигать 20% от углерода почвы, содержащегося в анализируемом образце в первоначаль-

ном непромытом состоянии ([Kramer et al., 2009](#); [Plaza et al., 2019](#)). С первым недостатком справляются путем контроля чистоты раствора. Второй недостаток связан с пептизирующим воздействием натрия на почвенные коллоиды, которое особенно сильно проявляется при отмывке препарата денсиметрической фракции от тяжелой жидкости. Следует отметить, что некоторые исследователи в меньшей степени сталкивались с подобной проблемой, вероятно, из-за легкого гранулометрического состава исследуемых образцов почв ([Gruenewald et al., 2006](#); [John et al., 2005](#)). Потери пытались снизить за счет осаждения коллоидов, используя высокоскоростное центрифугирование ([Cerli et al., 2012](#)), а также центрифугирование с предварительной коагуляцией в присутствии катионов кальция и натрия ([Golchin et al., 1994a](#); [Viret, Grand, 2019](#)). Отметим, что центрифугирование без предварительной коагуляции для уменьшения потерь углерода при денсиметрическом фракционировании может значительно замедлить процесс фракционирования, а также требует применения высокоскоростных центрифуг больших объемов, доступ к которым часто бывает ограничен. Применение солей для коагуляции почвенных коллоидов требует дополнительной промывки. Более того, применение солей кальция может внести ошибку в результаты фракционирования из-за образования труднорастворимых соединений поливольфрамата кальция ([Torresan, 1987](#)).

Цель работы состояла в достижении минимальных потерь ОВ в ходе денсиметрического фракционирования и в оценке распределения денсиметрических фракций в типичных черноземах при различных видах землепользования. Для достижения цели в ходе отмывки препаратов фракции минерального остатка снижали рН до 3–4 соляной кислотой, что способствовало коагуляции тонких коллоидных частиц и уменьшению их потерь. В работе использовали черноземы многолетних полевых опытов. Черноземы были выбраны как тип почв, в котором денсиметрическое фракционирование максимально осложнено тяжелым гранулометрическим составом и высоким содержанием ОВ ([Eckmeier et al., 2007](#)).

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Образцы типичных черноземов – *Naptic Chernozems* (*Loamic, Aric, Pachic*) ([WRB, 2015](#)) были отобраны на полевом стационаре ФГБНУ “Курский ФАНЦ” (п. Черемушки, Курского района Курской области). Варианты опыта следующие: бессменный чистый пар с 1964 г. (далее обозначен как “пар”); залежь с 1998 г. после бессменного чистого пара с 1964 г. “залежь”); бессменная кукуруза с 1964 г. (“кукуруза”); пятипольный зернопаропропашной севооборот по схеме: чистый пар, озимая пшеница, сахарная свекла, кукуруза, ячмень с 1964 г. (“севооборот”); лесополоса (“лесополоса”), которая заложена на старопахотном участке около 70 лет назад. В качестве ненарушенного варианта типичного чернозема служил участок ежегодно косимой степи (“степь”) Центрально-Черноземного биосферного заповедника им. В.В. Алехина. Подробное описание объектов исследования представлено в публикации В.А. Холодова ([Холодов и др., 2019](#)). Отбор образцов проводили на площадках опробования радиусом 5 м методом конверта, глубина отбора – 0–15 см. Образцы высушивали в течение двух недель на воздухе, затем хранили в темноте при комнатной температуре. Из образцов почв на ситах методом сухого просеивания Саввинова ([Шейн и др., 2007](#)) была выделена фракция сухих агрегатов размером 2–1 мм, и далее работали только с этой фракцией. Выбор этой фракции обусловлен тем, что она доминирует среди остальных фракций, в ней содержится основной запас углерода ([Холодов и др., 2019](#); [Когут и др., 2012](#)).

Использованная схема денсиметрического фракционирования почвы представлена на рисунке 1. На основе известных протоколов денсиметрического фракционирования ([Cerli et al., 2012](#); [John et al., 2005](#)) лабораторией биологии и биохимии почв Почвенного института им. В.В. Докучаева был разработан протокол, приведенный ниже. В ходе фракционирования последовательно выделяли 4 денсиметрических фракции: свободное почвенное ОВ с плотностью $<1.6 \text{ г/см}^3$ (fPOM $<1.6 \text{ г/см}^3$), окклюдированное (внутриагрегатное) почвенное ОВ с плотностью $<1.6 \text{ г/см}^3$ (oPOM $<1.6 \text{ г/см}^3$), окклюдированное (внутриагрегатное) почвенное органическое вещество с плотностью 1.6–2.0 г/см^3 (oPOM 1.6–

2.0 г/см³), фракция минерального остатка с плотностью >2.0 г/см³ (Mineral >2.0 г/см³).

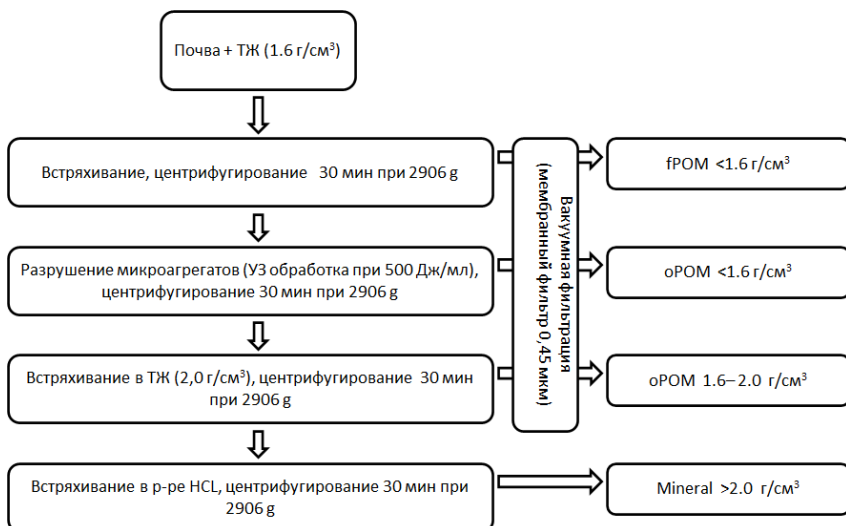


Рис. 1. Схема денсиметрического фракционирования почвы.
Fig .1. Scheme of soil density fractionation.

В качестве ТЖ при денсиметрическом фракционировании применяли раствор поливольфромата натрия ($\text{Na}_6\text{O}_{39}\text{W}_{12} \times \text{H}_2\text{O}$) производства компании Sigma Aldrich, Германия. Для отделения выделенных флотацией фракций использовали вакуумную фильтрацию через фильтр 0.45 мкм (материал – нитроцеллюлоза, производитель Merck Millipore, США). Полноту отмывки целевой фракции от ТЖ контролировали с помощью кондуктометра Milwaukee EC59. Для выделения окклюзированных фракций был использован ультразвуковой (УЗ) гомогенизатор марки УЗГ13-0.1/22 компании “Ультразвуковые технологии и оборудование” (Россия), энергия обработки суспензии 500 Дж/мл. Калибровку гомогенизатора проводили по воде с помощью температурных датчиков (Mentler et al., 2017). Данный метод и энергия диспергации позволяют разрушить почвенные микроагрегаты до уровня элементарных почвенных частиц (Gregorich et al., 1988; Харитонов

[ва и др., 2017](#)). В результате высвобождается окклюдированное ОВ, которое находится внутри микроагрегатов. Относительное ускорение и время центрифугирования подбирали таким образом, чтобы осаждались частицы размером больше 0.45 мкм ([Шаймухаметов и др., 1972](#)). Для предотвращения потерь углерода во фракции минерального остатка, в процессе избавления от соли тяжелой жидкости, вместо дистиллированной воды использовали слабый раствор соляной кислоты, которым осаждали почвенные коллоиды при $\text{pH} = 3$. Чтобы сравнить потери при денсиметрическом фракционировании для различных вариантов черноземов: “степь”, “пар”, “кукуруза”, “севооборот”, – отдельно проводили фракционирование с использованием дистиллированной воды и раствора соляной кислоты.

При реализации схемы денсиметрического фракционирования возникли затруднения, связанные с нюансами выделения, не прописанными в приводимых методиках. Поэтому считаем весьма полезным подробно привести полный протокол денсиметрического фракционирования, принятый в нашей лаборатории.

Протокол денсиметрического фракционирования лаборатории биологии и биохимии почв Почвенного института им. В.В. Докучаева.

Приготовление растворов ТЖ с плотностью 1.6 г/см^3 и 2.0 г/см^3 (с точностью 0.01 г/см^3) проводят согласно Six et al. ([Six et al., 1999b](#)). Сначала готовят маточный раствор ТЖ с плотностью 2.0 г/см^3 , далее часть ТЖ разбавляют до плотности 1.6 г/см^3 . Для приготовления 1 литра ТЖ с плотностью 2.0 г/см^3 к 1 250 г соли полифольфрамата натрия приливают 750 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивают. Плотность полученного раствора определяют ареометром или пикнометром и при необходимости добавляют соль или разбавляют дистиллированной водой для доведения плотности ТЖ до необходимого значения.

Объем воды, который потребуется для разбавления маточного раствора ТЖ, чтобы затем приготовить раствор ТЖ с плотностью 1.6 г/см^3 рассчитывают по формуле:

$$V_{\text{вода}} = \frac{(d_{\text{SPT}} - d_{\text{треб}}) * V_{\text{SPT}}}{d_{\text{треб}} - d_{\text{вода}}}$$

Где d_{SPT} – плотность маточного раствора ТЖ, V_{SPT} – объем маточного раствора ТЖ, $d_{\text{треб}}$ – требуемая плотность ТЖ, $d_{\text{вода}}$ – плотность воды при температуре окружающей среды. Для предотвращения взаимодействия полифольфрамата натрия с кальцием, который может присутствовать в составе стеклянной посуды, приготовленные растворы хранят в пластиковых емкостях.

Выделение fPOM <1.6 г/см³. Перед фракционированием из образца почвы отбирают видимые глазом растительные остатки, далее образец почвы растирают пестиком с резиновым наконечником и пропускают через сито с размером ячейки 1 мм. Для выделения fPOM <1.6 г/см³ в центрифужную полипропиленовую пробирку с закручивающейся крышкой объемом 50 мл вносят 5 г почвы, взятых на аналитических весах, добавляют 25 мл ТЖ с плотностью <1.6 г/см³, закрывают крышкой, интенсивно встряхивают 5 раз и оставляют на 30 минут в покое. Далее надосадочный раствор переливают в отдельную центрифужную пробирку и центрифугируют 30 минут при 2 906 g. После центрифугирования при помощи пипетки Пастера всплывший материал порционно собирают и переносят в другую пробирку для сбора целевой фракции (fPOM <1.6 г/см³), а осадок возвращают в центрифужную пробирку с основным осадком. Операцию повторяют несколько раз до того момента, когда перестает всплывать флотированный материал. Пробирку с осадком оставляют для выделения oPOM <1.6 г/см³. Суспензию с выделенной фракцией фильтруют. Осадок на фильтре промывают дистиллированной водой до полного избавления от остатков ТЖ. Полноту отмытия контролируют с помощью кондуктометра. Для этого в процессе отмытки препарата от ТЖ измеряют электропроводность фильтрата. Процесс отмытки продолжают до достижения значений электропроводности дистиллированной воды. Осадок высушивают на водяной бане при 60 С° и взвешивают на аналитических весах. Фильтрат собирают в емкость для восстановления ТЖ.

Выделение oPOM <1.6 г/см³. В пробирку с осадком, остав-

шимся после выделения $\rho_{\text{POM}} < 1.6 \text{ г/см}^3$, приливают 25 мл ТЖ с плотностью 1.6 г/см^3 , помещают в воду со льдом и озвучивают с помощью зондового УЗ генератора с передачей энергии суспензии 500 Дж/мл. Для достижения заданной энергии диспергации и предотвращения перегревания раствора УЗ обработку следует проводить в два подхода с равным временем озвучивания, не давая суспензии нагреться. После обработки пробирку с суспензией центрифугируют в течение 30 минут при 2 906 g. Затем всплывший материал переносят с помощью пипетки Пастера в пробирку для сбора фракции $\rho_{\text{POM}} < 1.6 \text{ г/см}^3$. Осадок на дне центрифужной пробирки ресуспендируют интенсивным встряхиванием или кратковременным озвучиванием (5–10 сек.) и вновь центрифугируют. Флотируемый материал собирают с помощью пипетки Пастера. Ресуспендирование и центрифугирование проводят до полного отсутствия выхода флотируемого материала. Суспензию с полученной фракцией $\rho_{\text{POM}} < 1.6 \text{ г/см}^3$ фильтруют. Осадок на фильтре промывают дистиллированной водой до полного избавления от соли ТЖ, полноту отмывания контролируют с помощью кондуктометра, как описано выше. Далее осадок высушивают при $60 \text{ }^\circ\text{C}$, взвешивают. Фильтрат собирают в емкость для восстановления ТЖ.

Выделение $\rho_{\text{POM}} 1.6\text{--}2.0 \text{ г/см}^3$. В пробирку с осадком, оставшимся от выделения $\rho_{\text{POM}} < 1.6 \text{ г/см}^3$, приливают 25 мл ТЖ с плотностью 2.0 г/см^3 . ТЖ перемешивают с осадком почвы интенсивным встряхиванием или кратковременной (5–10 сек.) обработкой ультразвуком, затем центрифугируют в течение 30 минут при 2 906 g. После центрифугирования всплывший материал переносят пипеткой Пастера в пробирку для сбора целевой фракции ($\rho_{\text{POM}} 1.6\text{--}2.0 \text{ г/см}^3$). Осадок на дне центрифужной пробирки ресуспендируют интенсивным встряхиванием или кратковременным озвучиванием (5–10 сек.). Суспензию центрифугируют 30 мин. при 2 906 g. Флотируемый материал собирают с помощью пипетки Пастера. Цикл ресуспендирования-центрифугирования продолжают до прекращения выделения фракции. Далее суспензию с целевой фракцией ($\rho_{\text{POM}} 1.6\text{--}2.0 \text{ г/см}^3$) фильтруют. Осадок на фильтре промывают дистиллированной водой, высушивают и взвешивают. Фильтрат собирают в емкость для восстановления.

На дне основной пробирки остается осадок, представленный минеральной фракцией ($\text{Mineral} > 2.0 \text{ г/см}^3$).

Фракцию $\text{Mineral} > 2.0 \text{ г/см}^3$ промывают раствором соляной кислоты. Для этого к осадку добавляют небольшое количество дистиллированной воды, несколько капель 0.1 М HCl до pH = 3.0, озвучивают несколько секунд и центрифугируют 30 мин. при 2 906 г. По окончании центрифугирования проверяют надосадочную жидкость на наличие соли ТЖ с помощью кондуктометра. Отработанный раствор переносят в емкость для восстановления ТЖ. Процесс отмывки продолжают до прекращения изменения значений электропроводности. Фракцию высушивают при 60 C° и взвешивают.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Потери массы почвы и углерода при отмывке.

На рисунке 2 представлено сравнение потерь массы почвы и углерода при отмывке денсиметрической фракции минерального остатка ($\text{Mineral} > 2.0 \text{ г/см}^3$) дистиллированной водой и раствором соляной кислоты. Потери массы почвы и углерода в процессе денсиметрического фракционирования в случае применения раствора соляной кислоты, по сравнению с водой, значимо (t-тест при $\alpha = 0.05$) снизились в три раза: с 15 до 5% в среднем от массы почвы или с 7.5 до 2.5% от содержания углерода в навеске почвы. Понижение pH суспензии при помощи раствора соляной кислоты в процессе отмывки фракции $\text{Mineral} > 2.0 \text{ г/см}^3$ от соли ТЖ хорошо вписывается в общие условия денсиметрического фракционирования, т. к. pH поливольфрамата натрия в зависимости от плотности варьирует от 2 до 3 (www.sometu.de). Снижение pH приводит к коагуляции почвенных коллоидов, которое связано с понижением отрицательного заряда на поверхности коллоидных частиц, а также со слабой степенью гидратации ионов водорода ([Соколова, Трофимов, 2009](#)). Следует отметить, что раствор соляной кислоты применяется уже долгие годы для извлечения илестых частиц из почвы ([Айдинян, 1960](#)).

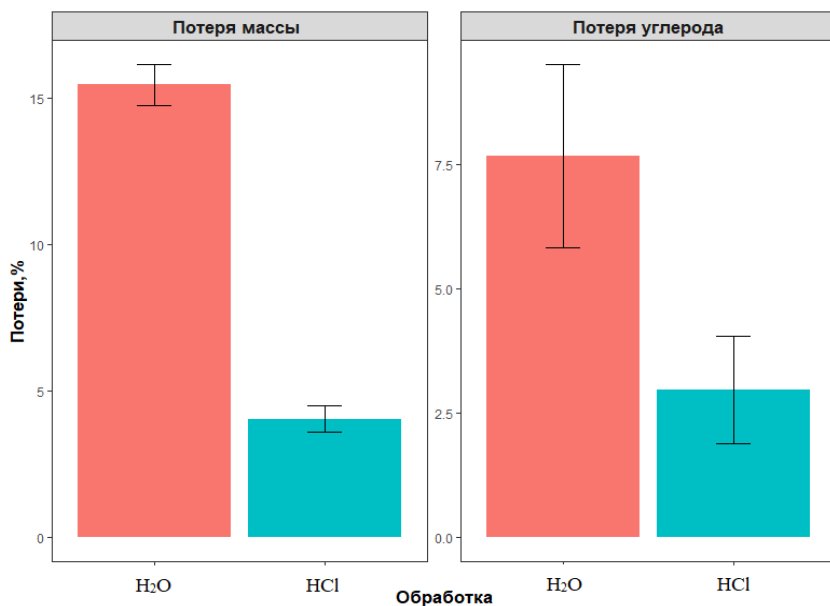


Рис. 2. Потери при денсиметрическом фракционировании ($n = 4$, среднее \pm стандартная ошибка среднего) в агрегатах 2–1 мм типичных черноземов различного землепользования.

Fig. 2. Losses during density fractionation ($n = 4$, mean \pm standard error) in aggregates of 2–1 mm size of typical chernozems under different land management conditions.

Выход денсиметрических фракций из типичных черноземов разного вида использования

Разработанный протокол денсиметрического фракционирования был использован для оценки содержания денсиметрических фракций в типичных черноземах многолетних полевых опытов разного землепользования. На рисунке 3 представлено массовое процентное содержание денсиметрических фракций в агрегатах 2–1 мм типичных черноземов разного землепользования.

Фракция $f_{\text{POM}} < 1.6 \text{ г/см}^3$ представлена растительными остатками низкой степени разложения (рис. 4).

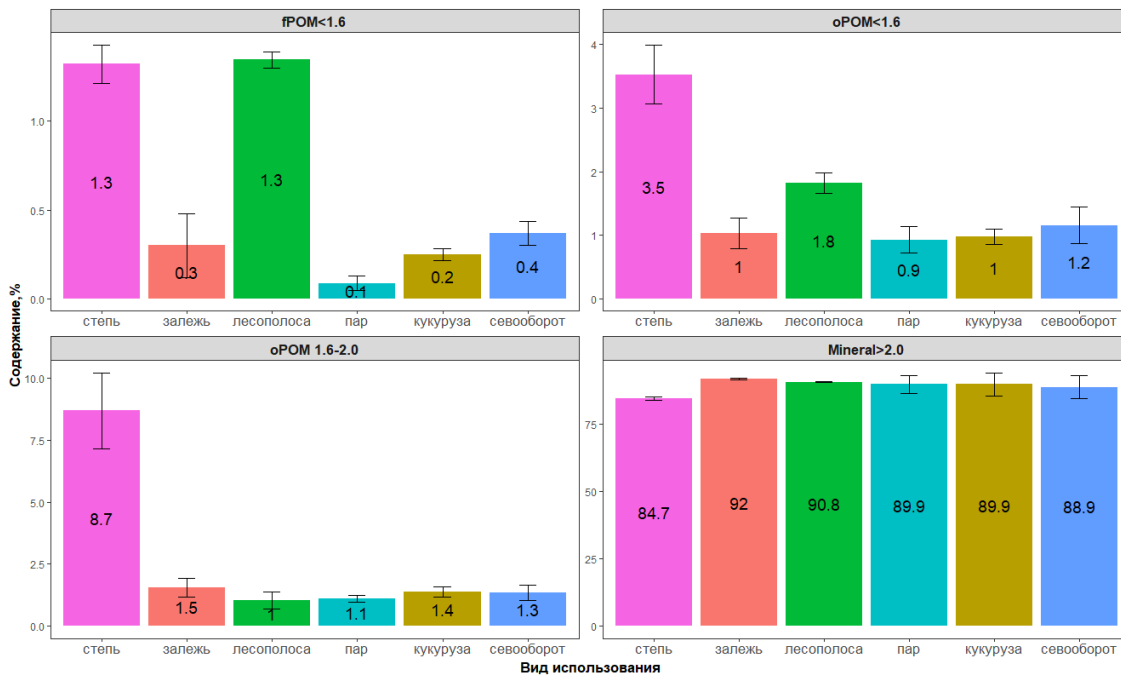


Рис. 3. Массовая доля денсиметрических фракций типичных черноземов (n = 3, среднее ± стандартная ошибка среднего).

Fig. 3. Mass fraction of densimetric fractions of typical chernozems (n = 3, mean ± standard error of the mean).

Содержание данной фракции максимально в вариантах “stepь” и “лесополоса”, в остальных вариантах содержание фракций свободного легкого ОВ незначительно. В первую очередь это связано с тем, что в вариантах “stepь” и “лесополоса” в почву обильно поступают растительные остатки. В варианте “пар”, где отсутствует поступление опада, содержание фракции свободного органического вещества минимально.

Высокое содержание фракции оРОМ $<1.6 \text{ г/см}^3$ также характерно для ненарушенных вариантов “stepь” и “лесополоса”. Это связано с тем, что в этих вариантах отсутствует обработка почвы и, соответственно, процессы разрушения почвенных агрегатов и минерализации легкого окклюдированного вещества менее выражены по сравнению с остальными вариантами, где проводилась обработка почвы. Важно отметить, что в массу фракции фРОМ $<1.6 \text{ г/см}^3$, в отличие от оРОМ $<1.6 \text{ г/см}^3$, могут вносить свой вклад минеральные компоненты почвы, которые слабо сорбированы на ее поверхности, и при обработке ультразвуком сорбционные связи разрушаются, поэтому во фракции оРОМ $<1.6 \text{ г/см}^3$ содержание компонентов минеральной матрицы минимально ([Wagai et al., 2009](#)). Это хорошо видно на рисунке 4, во фракции фРОМ $<1.6 \text{ г/см}^3$ заметны белые минеральные зерна, которые отсутствуют в оРОМ $<1.6 \text{ г/см}^3$. Варианты “залежь”, “stepь” и “лесополоса” характеризуются обильным поступлением растительных остатков. Однако по содержанию фракций свободного и окклюдированного ОВ “залежь” практически не отличается от “пара” и других вариантов с обработкой, что, вероятно, связано с особенностями восстановления запасов органического вещества и структуры почвы после длительной деградации в условиях чистого пара. Так ранее было показано, что для варианта “залежь” распределение сухих почвенных агрегатов ближе к пахотным вариантам, чем к варианту “stepь” ([Холодов и др., 2016](#)), а содержание фракции лабильных гуминовых веществ и водозэкстрагируемого органического вещества не отличается от вариантов с обработкой ([Холодов и др., 2020](#)). Таким образом, накопление углерода в этом варианте, по-видимому, идет во фракциях оРОМ $1.6\text{--}2.0 \text{ г/см}^3$ и Mineral $>2.0 \text{ г/см}^3$.

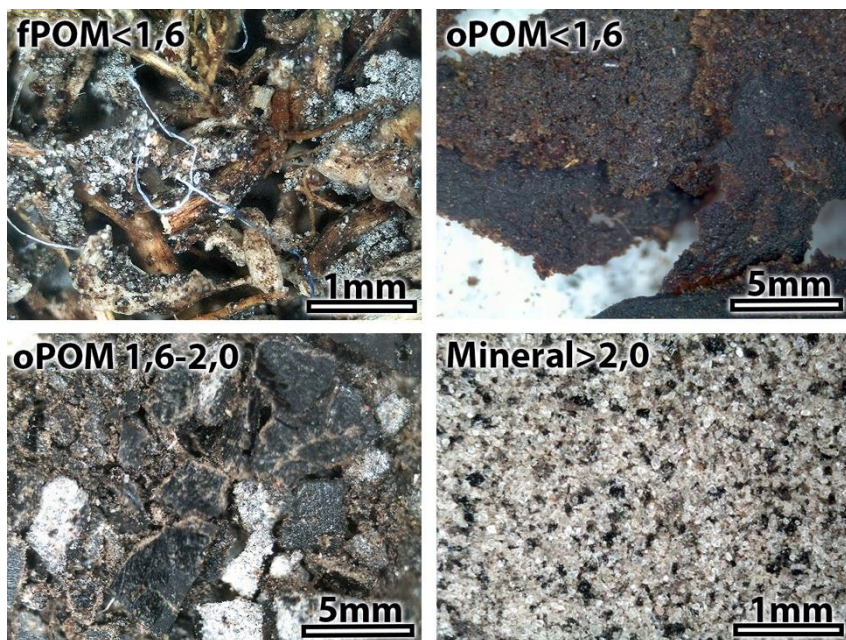


Рис. 4. Денсиметрические фракции под микроскопом (типичный чернозем варианта “steppe”).

Fig. 4. Densimetric fractions under the microscope (Haplic Chernozem, “steppe”).

Фракция oPOM 1.6–2.0 г/см³ и фракция минерального остатка содержат ОВ, которое тесно связано с минеральной матрицей почвы. При этом фракция oPOM 1.6–2.0 г/см³ преимущественно представлена тонкодисперсным материалом минеральной матрицы, а фракция Mineral >2.0 г/см³ сложена как из крупного, так и из мелкого материала минеральной матрицы (рис. 4). Содержание минеральных фракций во всех вариантах было примерно одинаковым, кроме варианта “steppe”, где происходит перераспределение почвенной массы в сторону частиц с плотностью 1.6–2.0 г/см³. Это объясняется высоким содержанием органического вещества в варианте “steppe” (Когут и др., 2011), которое, связываясь с компонентами минеральной матрицы, уменьшает результирующую плотность органоминеральных комплексов. По содержанию фрак-

ции оРОМ 1.6–2.0 г/см³ и Mineral >2.0 г/см³ вариант “степь” резко отличается от остальных вариантов, а для вариантов “залежь” и “лесополоса” содержание данных фракций не отличается от обрабатываемых черноземов. Видимо, это связано с тем, что в постагрогенных вариантах черноземов “залежь” и “лесополоса” восстановление запасов ОВ пока не проявилось в изменении содержания минеральных денсиметрических фракций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате исследования проведена адаптация методики денсиметрического фракционирования для типичных черноземов, также было показано, что применение слабого раствора соляной кислоты на стадии выделения фракции Mineral >2.0 г/см³ позволяет снизить потери почвенных частиц и углерода в 3 раза. По результатам денсиметрического фракционирования установлено, что изменение содержания денсиметрической фракции легкого окклюдированного ОВ связано с процессами деградации и восстановления черноземов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Айдинян Р.Х.* Краткая инструкция. Извлечение ила из почвы. М.: Гипроводхоз, 1960. 10 с.
2. *Когут Б.М., Сысуев С.А., Холодов В.А.* Водопрочность и лабильные гумусовые вещества типичного чернозема при разном землепользовании // Почвоведение. 2012. № 5. С. 555–561.
3. *Когут Б.М., Фрид А.С., Масютенко Н.П., Куваева Ю.В., Романенков В.А., Лазарев В.И., Холодов В.А.* Динамика содержания органического углерода в типичном черноземе в условиях длительного полевого опыта // Агрохимия. 2011. № 12. С. 37–44.
4. *Соколова Т.А., Трофимов С.Я.* Сорбционные свойства почв. Адсорбция. Катионный обмен. Тула: Гриф и К, 2009. 174 с.
5. *Травникова Л.С., Артемьева З.С., Сорокина Н.П.* Распределение гранулоденсиметрических фракций в дерново-подзолистых почвах, подверженных плоскостной эрозии // Почвоведение. 2010. № 4. С. 495–504.
6. *Харитоновна Г.В., Шеин Е.В., Шестеркин В.П., Юдина А.В., Дембовецкий А.В., Остроухов А.В., Бердников Н.В., Якубовская А.А.* Гранулометрический состав донных отложений р. Буреи района Нижне-

Бурейской ГЭС // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. 2017. № 1. С. 24–34.

7. Холодов В.А., Ярославцева Н.В., Фарходов Ю.Р., Белобров В.П., Юдин С.А., Айдиев А.Я., Лазарев В.И., Фрид А.С. Изменение соотношения фракций агрегатов в гумусовых горизонтах черноземов в различных условиях землепользования // Почвоведение. 2019. № 2. С. 184–193. – [10.1134/S0032180X19020060](https://doi.org/10.1134/S0032180X19020060).

8. Холодов В.А., Ярославцева Н.В., Фарходов Ю.Р., Яшин М.А., Лазарев В.И., Ильин Б.С., Филиппова О.И., Воликов А.Б., Иванов А.Л. Оптические характеристики экстрагируемых фракций органического вещества типичных черноземов в многолетних полевых опытах // Почвоведение. 2020. № 6. С. 691–702. DOI: [10.31857/S0032180X20060052](https://doi.org/10.31857/S0032180X20060052).

9. Холодов В.А., Ярославцева Н.В., Лазарев В.И., Фрид А.С. Интерпретация данных агрегатного состава типичных черноземов разного вида использования методами кластерного анализа и главных компонент // Почвоведение. 2016. №. 9. С. 1093–1100. DOI: [10.7868/S0032180X16090070](https://doi.org/10.7868/S0032180X16090070).

10. Шаймухаметов М.Ш., Воронина К.А. Методика фракционирования органо-глинных комплексов с помощью лабораторных центрифуг // Почвоведение. 1972. Т. 8. С. 134–138.

11. Шейн Е.В., Карпачевский Л.О. Теории и методы физики почв. М.: Гриф и К, 2007. 616 с.

12. Cerli C., Celi L., Kalbitz K., Guggenberger G., Kaiser K. Separation of light and heavy organic matter fractions in soil – Testing for proper density cut-off and dispersion level. Geoderma. 2012. Vol. 170. P. 403–416. DOI: [10.1016/j.geoderma.2011.10.009](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.10.009).

13. Eckmeier E., Gerlach R., Gehrt E., Schmidt M.W.I. Pedogenesis of Chernozems in Central Europe – A review. Geoderma. 2007. Vol. 139. No. 3–4. P. 288–299. DOI: [10.1016/j.geoderma.2007.01.009](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.01.009).

14. Helfrich M., Ludwig B., Buurman P., Flessa H. Effect of land use on the composition of soil organic matter in density and aggregate fractions as revealed by solid-state C-13 NMR spectroscopy. Geoderma. 2006. Vol. 136. No. 1–2. P. 331–341. DOI: [10.1016/j.geoderma.2006.03.048](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.03.048).

15. IUSS Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome.

16. Golchin A., Oades J.M., Skjemstad J.O., Clarke P. Study of free and occluded particulate organic matter in soils by solid state ¹³C Cp/MAS NMR spectroscopy and scanning electron microscopy. Australian Journal of Soil Research. 1994. Vol. 32. No. 2. P. 285–309. DOI: [10.1071/SR9940285](https://doi.org/10.1071/SR9940285).

17. *Golchin A., Oades J.M., Skjemstad J.O., Clarke P.* Soil structure and carbon cycling. *Australian Journal of Soil Research*. 1994. Vol. 32. No. 5. P. 1043–1068. DOI: [10.1071/SR9941043](https://doi.org/10.1071/SR9941043).
18. *Gregorich E.G., Kachanoski R.G., Voroney R.P.* Ultrasonic dispersion of aggregates: distribution of organic matter in size fractions. *Canadian Journal of Soil Science*. 1988. Vol. 68. No. 2. P. 395–403. DOI: [10.4141/cjss88-036](https://doi.org/10.4141/cjss88-036).
19. *Griepentrog M., Schmidt M.W.I.* Discrepancies in utilization of density fractionation along with ultrasonic dispersion to obtain distinct pools of soil organic matter. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2013. Vol. 176. No. 4. P. 500–504. DOI: [10.1002/jpln.201200469](https://doi.org/10.1002/jpln.201200469).
20. *Gruenewald G., Kaiser K., Jahn R., Guggenberger G.* Organic matter stabilization in young calcareous soils as revealed by density fractionation and analysis of lignin-derived constituents. *Organic Geochemistry*. 2006. Vol. 37. No. 11. P. 1573–1589. DOI: [10.1016/j.orggeochem.2006.05.002](https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2006.05.002).
21. *John B., Yamashita T., Ludwig B., Flessa H.* Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soils under different types of land use. *Geoderma*. 2005. Vol. 128. No. 1–2. P. 63–79. DOI: [10.1016/j.geoderma.2004.12.013](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.013).
22. *Kramer M. G., Lajtha K., Thomas G., Sollins P.* Contamination effects on soil density fractions from high N or C content sodium polytungstate. *Biogeochemistry*. 2009. Vol. 92. No. 1–2. P. 177–181. DOI: [10.1007/s10533-008-9268-6](https://doi.org/10.1007/s10533-008-9268-6).
23. *Krull E.S., Baldock J.A., Skjemstad J.O.* Importance of mechanisms and processes of the stabilisation of soil organic matter for modelling carbon turnover. *Functional Plant Biology*. 2003. Vol. 30. No. 2. P. 207–222. DOI: [10.1071/FP02085](https://doi.org/10.1071/FP02085).
24. *Lal R.* Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *Science*. 2004. Vol. 304. No. 5677. P. 1623–1627. DOI: [10.1126/science.1097396](https://doi.org/10.1126/science.1097396).
25. *Mentler A., Schomakers J., Kloss S., Zechmeister-Boltenstern S., Schuller R., Mayer H.* Calibration of ultrasonic power output in water, ethanol and sodium polytungstate. *International Agrophysics*. 2017. Vol. 31. No. 4. P. 583–588. DOI: [10.1515/intag-2016-0083](https://doi.org/10.1515/intag-2016-0083).
26. *Plaza C., Giannetta B., Benavente I., Vischetti C., Zaccone C.* Density-based fractionation of soil organic matter: effects of heavy liquid and heavy fraction washing. *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9. P. 10146. DOI: [10.1038/s41598-019-46577-y](https://doi.org/10.1038/s41598-019-46577-y).
27. *Poepflau C., Don A., Six J., Kaiser M., Benbi D., Chenu C., Cotrufo M. F., Derrien D., Gioacchini P., Grand S., Gregorich E., Griepentrog M., Gunina A., Haddix M., Kuzyakov Y., Kuhnel A., Macdonald L. M., Soong J., Trigalet S., Vermeire M. L., Rovira P., van Wesemael B., Wiesmeier M., Yeasmin S.,*

- Yevdokimov I., Nieder R.* Isolating organic carbon fractions with varying turnover rates in temperate agricultural soils – A comprehensive method comparison. *Soil Biology and Biochemistry*. 2018. Vol. 125. P. 10–26. DOI: [10.1016/j.soilbio.2018.06.025](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.06.025).
28. *Six J., Conant R.T., Paul E.A., Paustian K.* Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. *Plant and Soil*. 2002. Vol. 241. No. 2. P. 155–176. DOI: [10.1023/A:1016125726789](https://doi.org/10.1023/A:1016125726789).
29. *Six J., Elliott E.T., Paustian K.* Aggregate and soil organic matter dynamics under conventional and no-tillage systems. *Soil Science Society of America Journal*. 1999. Vol. 63. No. 5. P. 1350–1358. DOI: [10.2136/sssaj1999.6351350x](https://doi.org/10.2136/sssaj1999.6351350x).
30. *Six J., Schultz P.A., Jastrow J.D., Merckx R.* Recycling of sodium polytungstate used in soil organic matter studies. *Soil Biology and Biochemistry*. 1999. Vol. 31. No. 8. P. 1193–1196.
31. *Sollins P., Swanston C., Kleber M., Filley T., Kramer M., Crow S., Caldwell B.A., Lajtha K., Bowden R.* Organic C and N stabilization in a forest soil: Evidence from sequential density fractionation. *Soil Biology and Biochemistry*. 2006. Vol. 38. No. 11. P. 3313–3324. DOI: [10.1016/j.soilbio.2006.04.014](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.014).
32. *Torresan M.E.* The use of sodium polytungstate in heavy mineral separations. Menlo Park, California, 1987. 18 p.
33. *Viret F., Grand S.* Combined Size and Density Fractionation of Soils for Investigations of Organo-Mineral Interactions. *Jove-Journal of Visualized Experiments*. 2019. No. 144. URL: <https://www.jove.com/video/58927/combined-size-density-fractionation-soils-for-investigations-organo>.
34. *von Lutzow M., Kogel-Knabner I., Ekschmitt K., Flessa H., Guggenberger G., Matzner E., Marschner B.* SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. *Soil Biology and Biochemistry*. 2007. Vol. 39. No. 9. P. 2183–2207. DOI: [10.1016/j.soilbio.2007.03.007](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.03.007).
35. *von Lutzow M., Kogel-Knabner I., Ekschmitt K., Matzner E., Guggenberger G., Marschner B., Flessa H.* Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions – a review. *European Journal of Soil Science*. 2006. Vol. 57. No. 4. P. 426–445. DOI: [10.1111/j.1365-2389.2006.00809.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2006.00809.x).
36. *Wagai R., Mayer L.M., Kitayama K.* Nature of the “occluded” low-density fraction in soil organic matter studies: A critical review. *Soil Science and Plant Nutrition*. 2009. Vol. 55. No. 1. P. 13–25. DOI: [10.1111/j.1747-0765.2008.00356.x](https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2008.00356.x).

37. The original non-toxic heavy liquid. Sodium Polytungstate. URL:
www.sometu.de.

REFERENCES

1. Aydinyan R.Kh., *Kratkaya instruktsiya. Izvlecheniye ila iz pochvy* (Brief instructions. Removing silt from the soil), Moscow: Giprovodkhoz, 1960, 10 p.
2. Kogut B.M., Sysuev S.A., Kholodov V.A., Water stability and labile humic substances of typical chernozems under different land uses, *Eurasian Soil Science*, 2012, Vol. 45, No. 5, pp. 496–502. DOI: [10.1134/S1064229312050055](https://doi.org/10.1134/S1064229312050055).
3. Kogut B.M., Frid A.S., Masjutenko N.P., Kuvaeva J.V., Romanenkov V.A., Lazarev V.I., Kholodov V.A., Dynamics of Organic Carbon in Typical Chernozem under Condition of a Long-Term Experiment; *Dinamika sodержaniya organicheskogo ugleroda v tipichnom chernozeme, Agrokhimiya*, 2011, No. 12, pp. 37–44.
4. Sokolova T.A., Trofimov S.Ya., *Sorbtsionnyye svoystva pochv. Adsorbtsiya. Kationnyy obmen* (Sorptions properties of soils. Adsorption. Cation exchange), Tula: Grif i K, 2009, 174 p.
5. Travnikova L.S., Artem'eva Z.S., Sorokina N.P., Distribution of the particle-size fractions in soddy-podzolic soils subjected to sheet erosion, *Eurasian Soil Science*, 2010, Vol. 43, No. 4, pp. 459–467, DOI: [10.1134/S1064229310040137](https://doi.org/10.1134/S1064229310040137).
6. Kharitonova G.V., Shein E.V., Shesterkin V.P., Yudina A.V., Dembovetsky A.V., Ostrouhov A.V., Berdnikov N.V., Yakubovskaya A.Y. The texture of Bureya bottom sediments in the area of the Nizhne-Bureiskaya HPP, 2017, *Moscow Univ. Soil Sci. Bull.*, No. 72, pp. 21–30, DOI: [10.3103/S0147687417010033](https://doi.org/10.3103/S0147687417010033).
7. Kholodov V.A., Yaroslavtseva N.V., Farkhodov Y.R., Belobrov V.P., Yudin S.A., Aydiev A.Y., Lazarev V.I., Frid A.S., Changes in the Ratio of Aggregate Fractions in Humus Horizons of Chernozems in Response to the Type of Their Use, *Eurasian Soil Science*, 2019, Vol. 52, No. 2, pp. 162–170, DOI: [10.1134/S1064229319020066](https://doi.org/10.1134/S1064229319020066).
8. Kholodov V.A., Yaroslavtseva N.V., Farkhodov Y.R., Yashin M.A., Lasarev V.I., Ilin B.S., Fillipova O.I., Volikov A.B., Ivanov A.L., Optical characteristics of extractable organic matter fractions typical chernozems of long-term field experiments, *Eurasian Soil Science*, 2020, No. 6, pp. 691–702, DOI: [10.1134/S1064229320060058](https://doi.org/10.1134/S1064229320060058).
9. Kholodov V.A., Yaroslavtseva N.V., Lazarev V.I., Frid A.S., Interpretation of data on the aggregate composition of typical chernozems

under different land use by cluster and principal component analyses, *Eurasian Soil Science*, 2016, Vol. 49, No. 9, pp. 1026–1032, DOI: [10.1134/S1064229316090076](https://doi.org/10.1134/S1064229316090076).

10. Shaimukhametov M.Sh., Voronina K.A., Method of fractionation of organo-clay complexes by means of laboratory centrifuges, *Pochvovedenie*, 1972, No. 8, pp. 134–138.

11. Shein E.V., Karpachevskii L.O., *Teorii i metody fiziki pochv* (Theories and methods of soil physics), Moscow: Grif and K, 2007, 616 p.

12. Cerli C., Celi L., Kalbitz K., Guggenberger G., Kaiser K., Separation of light and heavy organic matter fractions in soil – Testing for proper density cut-off and dispersion level, *Geoderma*, 2012, Vol. 170, pp. 403–416, DOI: [10.1016/j.geoderma.2011.10.009](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.10.009).

13. Eckmeier E., Gerlach R., Gehrt E., Schmidt M.W.I., Pedogenesis of Chernozems in Central Europe – A review, *Geoderma*, 2007, Vol. 139, No. 3–4, pp. 288–299, DOI: [10.1016/j.geoderma.2007.01.009](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.01.009).

14. Helfrich M., Ludwig B., Buurman P., Flessa H., Effect of land use on the composition of soil organic matter in density and aggregate fractions as revealed by solid-state C-13 NMR spectroscopy, *Geoderma*, 2006, Vol. 136, No. 1–2, pp. 331–341, DOI: [10.1016/j.geoderma.2006.03.048](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.03.048).

15. IUSS Working Group WRB, World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps, World Soil Resources Reports No. 106, FAO, Rome.

16. Golchin A., Oades J.M., Skjemstad J.O., Clarke P., Study of free and occluded particulate organic matter in soils by solid state ¹³C Cp/MAS NMR spectroscopy and scanning electron microscopy, *Australian Journal of Soil Research*, 1994, Vol. 32, No. 2, pp. 285–309, DOI: [10.1071/SR9940285](https://doi.org/10.1071/SR9940285).

17. Golchin A., Oades J.M., Skjemstad J.O., Clarke P., Soil structure and carbon cycling, *Australian Journal of Soil Research*, 1994, Vol. 32, No. 5, pp. 1043–1068, DOI: [10.1071/SR9941043](https://doi.org/10.1071/SR9941043).

18. Gregorich E.G., Kachanoski R.G., Voroney R.P., Ultrasonic dispersion of aggregates: distribution of organic matter in size fractions, *Canadian Journal of Soil Science*, 1988, Vol. 68, No. 2, pp. 395–403, DOI: [10.4141/cjss88-036](https://doi.org/10.4141/cjss88-036).

19. Griepentrog M., Schmidt M.W.I., Discrepancies in utilization of density fractionation along with ultrasonic dispersion to obtain distinct pools of soil organic matter, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2013, Vol. 176, No. 4, pp. 500–504, DOI: [10.1002/jpln.201200469](https://doi.org/10.1002/jpln.201200469).

20. Gruenewald G., Kaiser K., Jahn R., Guggenberger G., Organic matter stabilization in young calcareous soils as revealed by density fractionation and analysis of lignin-derived constituents, *Organic Geochemistry*, 2006, Vol. 37, No. 11, pp. 1573–1589, DOI: [10.1016/j.orggeochem.2006.05.002](https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2006.05.002).

21. John B., Yamashita T., Ludwig B., Flessa H., Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soils under different types of land use, *Geoderma*, 2005, Vol. 128, No. 1–2, pp. 63–79, DOI: [10.1016/j.geoderma.2004.12.013](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.013).
22. Kramer M. G., Lajtha K., Thomas G., Sollins P., Contamination effects on soil density fractions from high N or C content sodium polytungstate, *Biogeochemistry*, 2009, Vol. 92, No. 1–2, pp. 177–181, DOI: [10.1007/s10533-008-9268-6](https://doi.org/10.1007/s10533-008-9268-6).
23. Krull E.S., Baldock J.A., Skjemstad J.O., Importance of mechanisms and processes of the stabilisation of soil organic matter for modelling carbon turnover, *Functional Plant Biology*, 2003, Vol. 30, No. 2, pp. 207–222, DOI: [10.1071/FP02085](https://doi.org/10.1071/FP02085).
24. Lal R., Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security, *Science*, 2004, Vol. 304, No. 5677, pp. 1623–1627, DOI: [10.1126/science.1097396](https://doi.org/10.1126/science.1097396).
25. Mentler A., Schomakers J., Kloss S., Zechmeister-Boltenstern S., Schuller R., Mayer H., Calibration of ultrasonic power output in water, ethanol and sodium polytungstate, *International Agrophysics*, 2017, Vol. 31, No. 4, pp. 583–588, DOI: [10.1515/intag-2016-0083](https://doi.org/10.1515/intag-2016-0083).
26. Plaza C., Giannetta B., Benavente I., Vischetti C., Zaccone C., Density-based fractionation of soil organic matter: effects of heavy liquid and heavy fraction washing, *Scientific Reports*, 2019, Vol. 9, 10146, DOI: [10.1038/s41598-019-46577-y](https://doi.org/10.1038/s41598-019-46577-y).
27. Poeplau C., Don A., Six J., Kaiser M., Benbi D., Chenu C., Cotrufo M. F., Derrien D., Gioacchini P., Grand S., Gregorich E., Griepentrog M., Gunina A., Haddix M., Kuzyakov Y., Kuhnle A., Macdonald L. M., Soong J., Trigalet S., Vermeire M. L., Rovira P., van Wesemael B., Wiesmeier M., Yeasmin S., Yevdokimov I., Nieder R., Isolating organic carbon fractions with varying turnover rates in temperate agricultural soils – A comprehensive method comparison, *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, Vol. 125, pp. 10–26, DOI: [10.1016/j.soilbio.2018.06.025](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.06.025).
28. Six J., Conant R.T., Paul E.A., Paustian K., Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils, *Plant and Soil*, 2002, Vol. 241, No. 2, pp. 155–176, DOI: [10.1023/A:1016125726789](https://doi.org/10.1023/A:1016125726789).
29. Six J., Elliott E.T., Paustian K., Aggregate and soil organic matter dynamics under conventional and no-tillage systems, *Soil Science Society of America Journal*, 1999, Vol. 63, No. 5, pp. 1350–1358, DOI: [10.2136/sssaj1999.6351350x](https://doi.org/10.2136/sssaj1999.6351350x).
30. Six J., Schultz P.A., Jastrow J.D., Merckx R., Recycling of sodium polytungstate used in soil organic matter studies, *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, Vol. 31, No. 8, pp. 1193–1196.

31. Sollins P., Swanston C., Kleber M., Filley T., Kramer M., Crow S., Caldwell B.A., Lajtha K., Bowden R., Organic C and N stabilization in a forest soil: Evidence from sequential density fractionation, *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, Vol. 38, No. 11, pp. 3313–3324, DOI: [10.1016/j.soilbio.2006.04.014](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.014).
32. Torresan M.E., *The use of sodium polytungstate in heavy mineral separations*, Menlo Park, California, 1987, 18 p.
33. Viret F., Grand S., Combined Size and Density Fractionation of Soils for Investigations of Organo-Mineral Interactions, *Jove-Journal of Visualized Experiments*, 2019, No. 144, URL: <https://www.jove.com/video/58927/combined-size-density-fractionation-soils-for-investigations-organo>.
34. von Lutzow M., Kogel-Knabner I., Ekschmitt K., Flessa H., Guggenberger G., Matzner E., Marschner B., SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms, *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, Vol. 39, No. 9, pp. 2183–2207, DOI: [10.1016/j.soilbio.2007.03.007](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.03.007).
35. von Luetzow M., Koegel-Knabner I., Ekschmitt K., Matzner E., Guggenberger G., Marschner B., Flessa H., Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions – a review, *European Journal of Soil Science*, 2006, Vol. 57, No. 4, pp. 426–445, DOI: [10.1111/j.1365-2389.2006.00809.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2006.00809.x).
36. Wagai R., Mayer L.M., Kitayama K., Nature of the “occluded” low-density fraction in soil organic matter studies: A critical review, *Soil Science and Plant Nutrition*, 2009, Vol. 55, No. 1, pp. 13–25, DOI: [10.1111/j.1747-0765.2008.00356.x](https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2008.00356.x).
37. The original non-toxic heavy liquid. Sodium Polytungstate. URL: www.sometu.de.