

**ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ УРБАНОЗЕМОВ
ГОРОДА ИВАНОВО
(ПАРК им. В.Я. СТЕПАНОВА)**

Хорецкая Надежда Сергеевна, Пырзу Антон Дмитриевич,

Муниципальное бюджетное образовательное учреждение

«Лицей № 22», 11 класс

Научный руководитель: Волкова Татьяна Геннадьевна,

доцент кафедры органической и физической химии, кандидат химических наук,

доцент, ФГБОУ ВО «Ивановский государственный университет», г. Иваново

тел. +7 (4932) 37-37-03

e-mail:tgvolkova@yandex.ru

Иваново

2023

Содержание

	Стр
Введение	3
Обзор литературы	4
Экспериментальная часть	6
<i>Характеристика места отбора почвенных образцов</i>	6
<i>Отбор почвенных образцов</i>	6
<i>Приготовление водной почвенной вытяжки и определение ее кислотности</i>	6
<i>Кондуктометрия водной почвенной вытяжки</i>	6
<i>Определение щелочности почвы</i>	7
<i>Уреазная активность почв</i>	7
<i>Изучение почвенного дыхания</i>	7
<i>Выделение бактерий, фиксирующих атмосферный азот</i>	8
<i>Микроскопическое исследование</i>	8
Заключение	9
Приложение	10
Список литературы	16

Введение

Оценка экологического состояния городских почв, находящихся в зонах антропогенного воздействия и прилегающих к источникам техногенного загрязнения, является одной из основных задач экологического мониторинга.

Городские (урбанизированные) почвы отражают максимальное разнообразие типов воздействия человека. И как следствие – они становятся непригодными для выполнения своих экологических функций, поскольку аккумулируют практически все техногенные и антропогенные загрязнения, попадающие в окружающую среду.

Оценка экологического состояния парковых урбанозёмов г. Иваново, находящихся в зонах антропогенного воздействия и прилегающих к автотранспортным магистралям, стала **целью** настоящей работы.

Задачи:

- 1) отбор почвенных образцов и описание почвы по плану;
- 2) необходимый физико-химический анализ:
 - определение рН почвенной вытяжки
 - определение значения электропроводности
 - определение величины общей щелочности
- 3) определение биоактивности почвы
 - определение уреазной активности почвы
 - определение «почвенного дыхания»
 - выделение бактерий, фиксирующих атмосферный азот
- 4) обработка и анализ полученных экспериментальных данных.

Объекты исследования:

почвенные образцы (пять образцов), отобранные по склону левого берега р. Уводь, спускающемся от ул. Смольная парка к реке Уводь и представляющие экологический профиль центральной части парка им. В. Я. Степанова.

Проведенное исследование расширяет спектр данных, входящих в экологический мониторинг небольших городов, а также позволяет оценить риски вторичного засоления парковых почв и негативного влияния человека на биоактивность почвы, что в свою очередь может отражаться на флоре, произрастающей на территории парка.

Обзор литературы

Почва – один из основных компонентов городской экосистемы. Она выполняет важные средообразующие функции:

- обеспечение роста и развития травянистой и древесно-кустарниковой растительности, жизнедеятельности почвенных организмов;
- поглощение загрязняющих веществ;
- предотвращение проникновения загрязняющих веществ в сопредельные среды;
- поддержание биоразнообразия на городской территории.

Возросший процесс урбанизации приводит к очень значительной и часто необратимой трансформации окружающей среды. Авторы [1] отмечают, что изменения сопровождаются практически полным изъятием территорий из естественных экосистем, формированием урбоэкосистем с деградирующими, уничтоженными или замещенными природными системами.

Ярким примером антропогенного и техногенного влияния является засоление почв. Засоление почвы – процесс накопления растворимых солей [2]. Первичное засоление – это естественный процесс, а вторичное – результат антропогенного влияния. Засоленные почвы ухудшают плодородие почв и отрицательно влияют на рост и развитие большинства растений (токсичное действие легко растворимых солей проявляется в снижении доступности воды для растений, нарушении нормального соотношения элементов минерального питания). В городских условиях источниками вторичного засоления могут быть автотранспортные магистрали и производства, загрязняющие атмосферу. Атмосферная пыль, содержащая подщелачивающие компоненты, может приводить к изменению уровня кислотности почв в сторону более высоких значений pH [3].

Одним из важнейших экологических показателей состояния почвы считается ее биоактивность. Методики ее определения достаточно разнообразны и включают основные характеристики жизнедеятельности почвенной микробиоты – суммарная интенсивность выделения углекислого газа («почвенное дыхание»), скорость разложения заложенной в почву клетчатки, разрушение желатинового слоя фотоматериалов, накопления аминокислот, азотфиксация, ферментативная активность почвы и т.д. [4-8].

Функциональные изменения городского почвенного покрова проявляются в изменении биогеохимических циклов в компонентах биогеоценозов за счет нерегулируемого загрязнения [9]. Так исследования показали, что почвы парковых зон испытывают явную трансформацию в метаболическом аспекте [3,9].

Показатели биологической активности почвы наиболее четко отражают степень нарушения почв, поскольку живые организмы способны реагировать на весь комплекс негативных воздействий [10]. Глобальная азотфиксация представляет собой процесс естественного вовлечения азота в биологический круговорот. Основную роль в этом круговороте играют азотфиксирующие бактерии. Азотфиксаторы обладают способностью усваивать молекулярный азот воздуха и переводить его в доступные для растений формы. Азотфиксирующие бактерии

могут быть аэробами и анаэробами, свободно живущими в почве (азотобактер, клостридии, цианобактерии) и живущими в симбиозе с растениями (клубеньковые бактерии). Аэробные неспорообразующие грамотрицательные бактерии, фиксирующие молекулярный азот, были впервые выделены из почвы М. Бейерингом в 1901 году. Ученый дал им имя *Azotobacter chroococcum*. Уже само название говорит о том, что эти бактерии способны к концентрации азота, для них характерен коричневый пигмент – *chroo* и они создают кокковидные клетки – *coccum* [11]. Представители рода *Azotobacter* чаще всего обитают в нейтральных и слабощелочных почвах, а также в пресноводных водоемах и солончатых болотах. В литературе приводятся противоречивые данные о присутствии азотобактеров в почвах, богатых перегноем [12]. С одной стороны, различные перегнойные вещества не всегда могут усваиваться азотобактером. Следовательно, в почвах, которые богаты перегноем, азотобактеры не размножаются. С другой стороны, если в почве присутствуют органические соединения, а также продукты распада клеток растений и животных, азотобактер будет достаточно хорошо сформирован. А также он быстро размножается в почвах, которые были удобрены соломой и навозом.

Следует отметить, что Азотобактер очень чувствителен к кислотности почвы. Наиболее приемлемая для него сфера обитания - рН 7.2-8.2. В то же время он может быть на средах с рН от 4,5 до 9,0. Кислая окружающая среда отрицательно влияет на формирование колоний. Исследования показывают [13], что из кислых почв поступают неактивные формы азотобактерий – формы, потерявшие способность к фиксации молекулярного азота.

В почвах, отличающихся более высокой увлажненностью и многообразием луговой растительности, азотобактер можно увидеть только в вегетационный период [14]. Азотобактер в торфяниках присутствует в небольших количествах. В достаточно увлажненных черноземах он развивается хорошо, и максимальное количество азотобактера образуется весной. В почвах России в основном имеется *Azotobacter Chroococcum*.

Азотфиксирующие бактерии имеют и уникальные свойства: кроме фиксации азота из воздуха они образуют большое количество биологически активных веществ – стимуляторов роста и витаминов, которые так необходимы для роста и развития растений [15].

Азотобактер используют и в экологическом мониторинге. Например, бактерии рода *Azotobacter* традиционно используются как индикаторы химического загрязнения почвы [3, 16-17].

Экспериментальная часть

Характеристика места отбора почвенных образцов

Парк им. В.Я.Степанова является особо охраняемой природной территорией [18]. Парк создан на основе естественного лесного массива и усадебного парка фабрикантов Гарелиных. В состав парка им. В.Я. Степанова входит парковая зона и участок р. Уводь, прилегающий к парку. Основная часть парка расположена в долине левого берега р. Уводь, амфитеатром спускаясь к реке. С северо-восточной стороны парк примыкает к ул. Смольной г. Иваново и к жилому району м. Хуторово. С востока граничит со стадионом «Текстильщик», с южной и юго-западной сторон граничит с жилым районом м. Нежданово, с северо-запада проходит полоса отчуждения линии железной дороги Москва - Иваново, здесь парк примыкает к микрорайону м. Отрадное. (Приложение, рис.1)

Отбор почвенных образцов

Отбор почвенных образцов проходил по склону левого берега р.Уводь, спускающемся от ул. Смольная к реке Уводь (Приложение, рис.2.).

Было взято пять образцов.

Почвы парка подразделяются на:

- Дерново-подзолистые супесчаные почвы,
- Дерново-среднеподзолистые пылевато-легкосуглинистые почвы
- Аллювиальные (наносные) слоистые слабодерновые песчаные.

Взятые нами образцы относятся к первым двум типам. Определение проводили по методике, представленной в методических указаниях «Охотники за бактериями» [19].

Приготовление водной почвенной вытяжки и определение ее кислотности

Для приготовления водной вытяжки брали пробу почвы, пропускали ее через сито диаметром 0,75 мм. Навеску массой 40 г перенесли в стакан и добавили 100 мл воды. Содержимое несколько раз перемешали, фильтрование проводили после 20 минутного отстаивания (Приложение, рис.3.) [20].

Кислотность почвенных вытяжек определяли с помощью универсальной индикаторной бумаги. рН всех образцов равен 5, что соответствует слабокислой среде (Приложение, табл.1.).

Кондуктометрия водной почвенной вытяжки

Засоление почв оценивали по величине электропроводности почвенной вытяжки (Приложение, рис.4.) [20]. Результаты определения электропроводности почвенных растворов показали (Приложение, табл.2), что все образцы почвы относятся к незасоленным. Больше число солей приходится на территорию, примыкающую к автомобильной трассе.

Определение щелочности почвы

Высокая щелочность почв действует угнетающе на развитие растений. Например, почвы с высоким значением рН (более 8,5) характеризуются низкой водопроницаемостью. Для исследования использовали титриметрический метод – почвенную вытяжку титровали соляной кислотой в присутствии индикатора метиловый оранжевый (Приложение, рис.5.).

Полученные результаты свидетельствуют о невысоких значениях общей щелочности (Приложение, табл.3).

Уреазная активность почв

Биоактивность почвы определяли экспресс-методом [21]. К навеске почвы в чашке Петри добавляли навеску мочевины, затем добавляли воду до состояния густой пасты и закрывали крышкой, на которой находились влажные полоски универсальной индикаторной бумаги. По мере разложения мочевины кислотность воздушной среды менялась на щелочную (Приложение, рис.6.).

Значения рН регистрировались каждые полчаса (Приложение, рис.7.). Исследования показали снижение биоактивности по мере приближения к местам активно посещаемым ивановцами.

Изучение почвенного дыхания

«Дыхание почвы» - процесс образования углекислого газа в результате разложения и окисления органического вещества почвенными микроорганизмами и корнями растений. Нами были определены количества CO_2 и интенсивность его выделения.

В эксикаторы с притертой крышкой (Приложение, рис.8.) помещалась навеска сухой почвы 100 г и стаканчик с раствором 0,1М NaOH. Через определенное время экспонирования проводили титрование 0,1М HCl в присутствии фенолфталеина. Время насыщения составило сутки, трое и семь суток соответственно.

Расчеты массы углекислого газа и интенсивности выделения проводили по формулам:

$$m(\text{CO}_2) = (n(\text{NaOH})_{\text{к}} - n(\text{NaOH})_{\text{опыт}}) \cdot M(\text{CO}_2)$$

где $n(\text{NaOH})$ – количества вещества щелочи для контрольного опыта и для почвенных образцов; $M(\text{CO}_2)$ – молярная масса углекислого газа

$$D = \frac{(a - b) \cdot 2,2}{S \cdot T}$$

где D – количество CO_2 , выделившегося из почвы, мг/(дм² · ч); a – количество 0,1М HCl, которое потребовалось на титрование щелочи при определении содержания CO_2 в воздухе сосуда-изолятора (контрольный опыт), мл; b – количество 0,1М HCl, которое потребовалось на титрование щелочи в опыте, мл; S – площадь изолируемой поверхности, дм²; T – время экспозиции, ч; 2,2 – количество CO_2 , поглощаемое 1 мл 0,1М раствора щелочи, мг

Результаты представлены в таблице 4. (Приложение, табл. 4)

Из данных таблицы 4 видно, что масса и интенсивность выделения углекислого газа снижаются при спуске от ул. Смольной к р.Уводь. Также можно отметить, что максимальная интенсивность выделения CO_2 соответствует первым суткам.

Выделение бактерий, фиксирующих атмосферный азот

Для выявления азотобактера в почве и определения его относительного содержания пользуются методом почвенных комочков. Колонии азотобактеров растут на плотной питательной среде Эшби, которая готовилась из вспомогательного раствора – это раствор солей хлорида натрия, сульфатов калия и магния, гидрофосфата калия и суспензии, включающей карбонат кальция, агар, глюкозу.

Из увлажненной почвы формировали комочки диаметром 3-4 мм и размещали их в чашке Петри (в узлах трафарета). Чашки Петри с закрытыми крышками оставили при комнатной температуре на 4 дня. По истечении этого времени вокруг комочков появились обрастания. К сожалению, низкая температура не дала возможности вырасти полноценным колониям. На рис.9. (Приложение, рис.9) представлены культуры, полученные на 7 сутки.

Наблюдение за ростом колоний проходило ежедневно, а сбор статистической информации на 4, 7 и 10 день согласно методике. (Приложение, табл. 5) Из представленных данных видно, что на 4 день колонии *Azotobacter* присутствуют на всех образцах почвы. Наибольшее число колоний мы наблюдали на образце 5. Это позволяет сделать вывод о том, что здесь находятся самые активно растущие штаммы азотобактеров. Это подтверждает и факт фиксации колоний с бурым, почти чёрным пигментом, которые первыми также появились на 5 образце (на 7 сутки).

Микроскопическое исследование

Для знакомства с азотобактером из блестящих слизистых колоний был приготовлен препарат-мазок, окрашенный фуксином Циля и тушью. Микроскопия показала, что азотобактерии присутствуют во всех анализируемых образцах почвы (рис.10.).

Клетки бактерий рода *Azotobacter* имеют овальную форму (окрашены в розовый цвет), располагаются одиночно, парами и неправильными скоплениями.

Заключение

Оценка экологического состояния парковых урбанозёмов г. Иваново (парк им. В. Я. Степанова), находящихся в зонах антропогенного воздействия и прилегающих к автотранспортным магистралям, была проведена в рамках настоящей работы. Полученные результаты показывают:

- негативное влияние автомобильной дороги, примыкающей к парку, что провоцировать вторичное засоление почв;
- негативное влияние человека на биоактивность почвы, что в свою очередь может отражаться на флоре, произрастающей на территории парка.

Оба риска можно нивелировать при использовании плотных бордюрных насаждений (кустарников).

Также были выявлены более высокие показатели биоактивности почвы вблизи автомагистрали, связывающей центр г.Иваново и микрорайона Авдотьино. Высокая скорость разложения мочевины и большее количество углекислого газа, выделяющего в процессе почвенного дыхания, характеризуют потенциальную самоочищающую способность почвенного покрова парковых зон.

В ходе работы было выявлено, что азотобактерии присутствуют во всех анализируемых образцах почвы. Самыми активно растущими и многочисленными оказались штаммы азотобактеров почвы, взятой ближе всего к р. Уводь. В целом же можно отметить, что развитие бактерий ослаблено, что не способствует пополнению почв биогенным азотом, необходимым корням растений.

Приложение

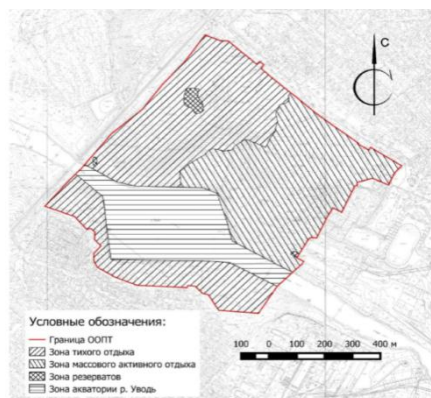


Рис.1. Карта

ООПТ

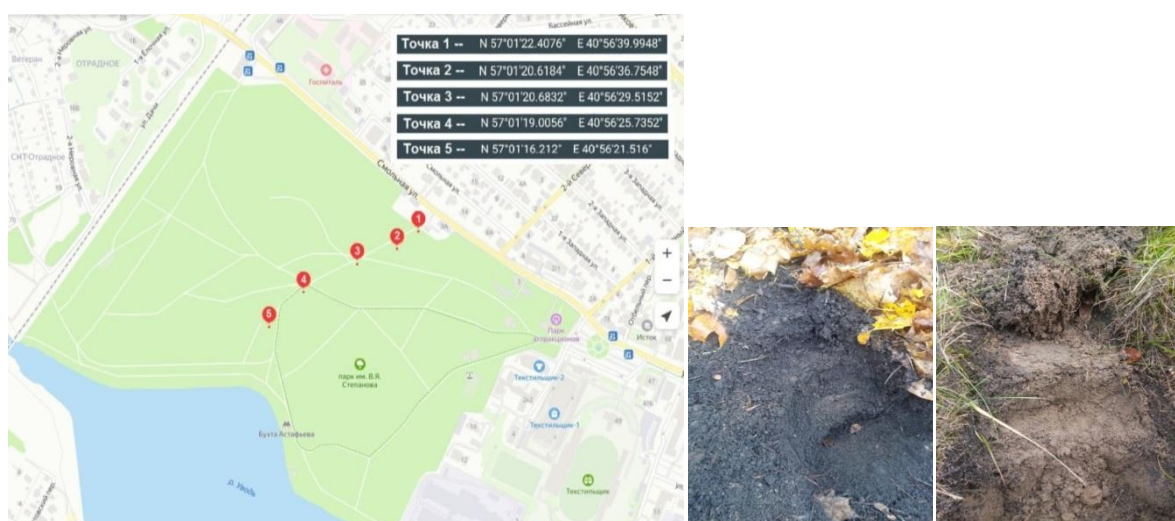


Рис.2. Места отбора почвенных образцов и примеры почвенных разрезов



Рис.3. Фильтрование и определение pH
Значения кислотности почвенных вытяжек

Номер разца	об-	1	2	3	4	5
pH		5	5	5	5	5

Таблица 1



$$C = 0,54 * 10^3 * EC, \text{ мг/л}$$

EC - электропроводность, мСм/см

Рис.4. Определение электропроводности почвенных вытяжек

Значения электропроводности и содержание солей

Номер образца	1	2	3	4	5
Электропроводность, мСм/см	0,077	0,028	0,022	0,029	0,028
Содержание солей, мг/л	49,3	17,9	14,1	18,6	17,9

Таблица 2



$$\text{Щ} = \frac{V \cdot c_{\text{HCl}} \cdot V_0 \cdot 100}{V_1 \cdot m_0},$$

где V — общий объём раствора HCl , израсходованного на титрование, см^3 ; c_{HCl} — молярная концентрация раствора HCl , моль/дм^3 ; V_0 — общий объём водной вытяжки, см^3 ; V_1 — объём водной вытяжки, взятый для титрования, см^3 ; m_0 — масса навески почвы, взятая для приготовления водной вытяжки, г ; 100 — коэффициент пересчёта на 100 г почвы.

Рис.5. Определение щелочности почвенных вытяжек

Значения щелочности

Номер образца	1	2	3	4	5
Щ, ммоль/100 г почвы	0,176	0,075	0,063	0,050	0,101

Таблица 3

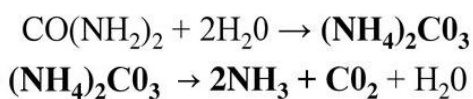
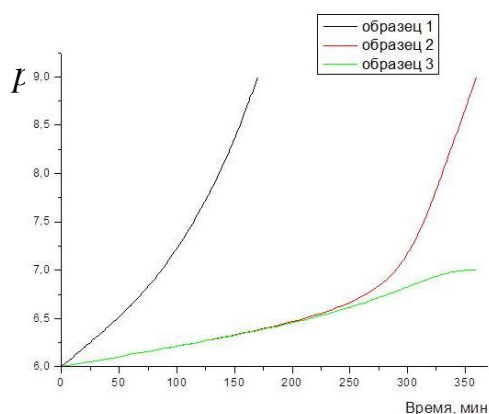


Рис.6. Определение уреазной активности экспресс-методом



Биоактивность образцов почвы
1 > 2 >> 3 >>> 4 = 5

Рис. 7. Скорость изменения рН



Рис.8. Изучение почвенного дыхания

Масса и интенсивность выделившегося в результате дыхания почвы CO₂

Номер образца	Сутки (24 часа)		3 суток (72 часа)		7 суток (168 часов)	
	m(CO ₂), г	D, мг/(дм ² ·ч)	m(CO ₂), г	D, мг/(дм ² ·ч)	m(CO ₂), г	D, мг/(дм ² ·ч)
1	0,007	0,13	0,008	0,05	0,01	0,02
2	0,008	0,14	0,009	0,06	0,011	0,03
3	0,004	0,07	0,007	0,04	0,009	0,02
4	0,002	0,04	0,004	0,03	0,01	0,03
5	0,004	0,07	0,006	0,04	0,007	0,02

Таблица 4

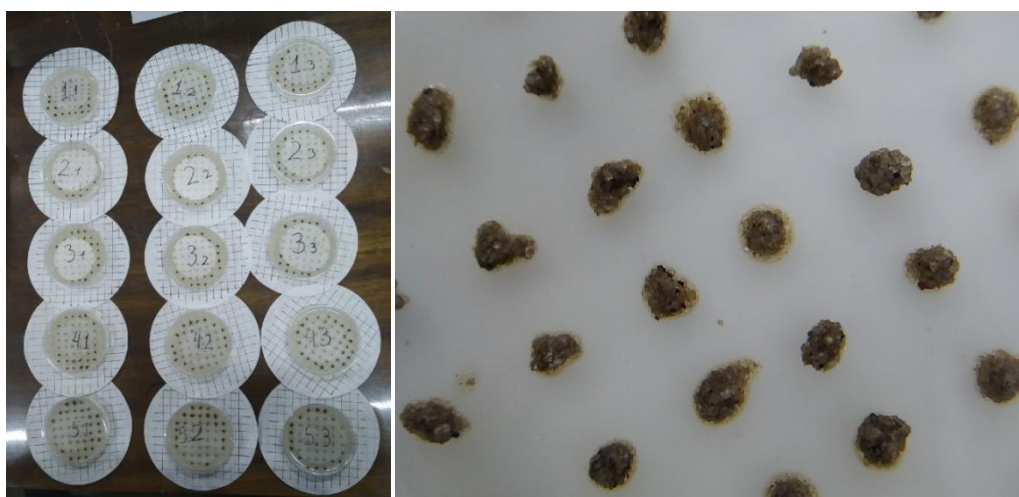


Рис.9. 7-суточные культуры

Таблица 5

Результаты статистической обработки

День 4

№ чашки	Всего ко-мочков	С обрастанием		%	
		всего	Потемневшие	всего	Потемневшие
1.1	43	5	0	11,5	0
1.2	44	6	0	13,6	0
1.3	44	7	0	15,3	0
2.1	44	4	0	9,0	0
2.2	44	5	0	11,3	0
2.3	44	6	0	13,6	0
3.1	44	3	0	6,8	0
3.2	44	3	0	6,8	0
3.3	44	2	0	4,5	0
4.1	44	4	0	9,0	0
4.2	44	3	0	6,8	0
4.3	44	2	0	4,5	0
5.1	44	11	0	25,0	0
5.2	44	8	0	18,2	0
5.3	45	14	0	31,8	0

День 7

№ чашки	Всего ко-мочков	С обрастанием		%	
		всего	Потемневшие	всего	Потемневшие
1.1	43	9	0	20,9	0
1.2	44	8	0	18,2	0
1.3	44	9	0	20,4	0
2.1	44	13	0	29,5	0
2.2	44	10	0	22,7	0
2.3	44	17	0	38,6	0
3.1	44	9	0	20,4	0
3.2	44	11	0	25,0	0
3.3	44	11	1	25,0	2,3
4.1	44	8	0	18,2	0
4.2	44	6	0	13,6	0
4.3	44	8	0	18,2	0
5.1	44	30	12	68,2	27,3
5.2	44	17	5	38,6	11,4
5.3	45	17	1	37,7	2,3

День 10

№ чашки	Всего ко-мочков	С обрастанием		%	
		всего	Потемневшие	всего	Потемневшие
1.1	43	21	3	48,8	6,9
1.2	44	29	4	65,9	9,1

1.3	44	25	3	56,8	6,8
2.1	44	23	5	52,3	11,3
2.2	44	26	2	59,1	4,5
2.3	44	31	6	70,4	13,6
3.1	44	25	4	56,8	9,1
3.2	44	24	10	54,5	22,7
3.3	44	28	15	63,6	34,1
4.1	44	28	2	63,6	4,5
4.2	44	27	2	61,3	4,5
4.3	44	27	4	61,3	9,1
5.1	44	32	20	72,7	45,4
5.2	44	33	11	75,0	25,0
5.3	45	37	24	84,1	54,5

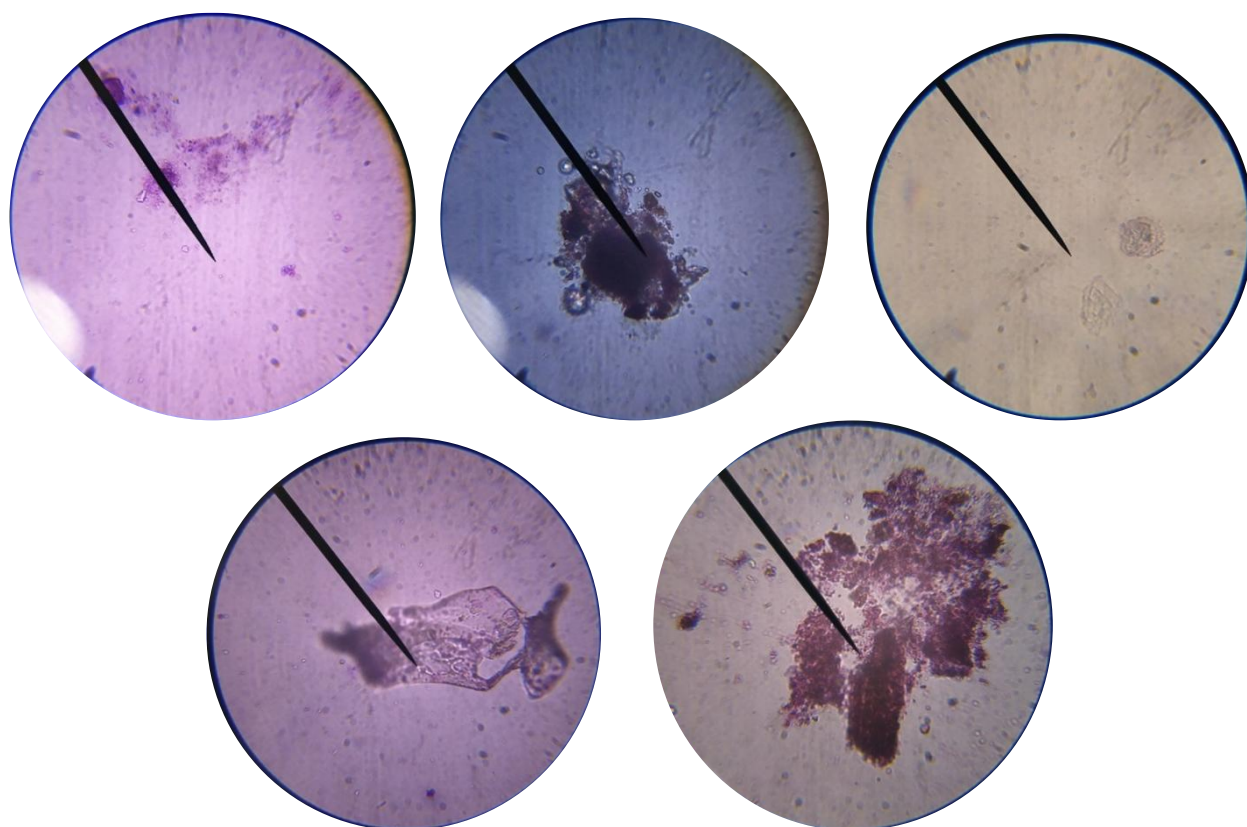


Рис.10. Снимки препаратов при х800 (водная иммерсия)

Список литературы

1. Юдина Е.В. Экологическая концепция в исследованиях почв урболандшафтов // В книге: Территориальные исследования: цели, результаты и перспективы. Тезисы IX Всероссийской научной конференции молодых ученых. Под редакцией Е.Я. Фрисмана. 2017. С. 115-118.
2. Лопатовская О. Г., Сугаченко А.А. Мелиорация почв. Засоленные почвы : учеб. пособие. Иркутск : Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2010. – 101 с.
3. Трифонов Т.А., Сахно О.Н., Забелина О.Н, Феоктистова И.Д. Сравнительная оценка состояния городских почв по их биологической активности // Вестн.Моск.Ун-та. Сер.17. Почвоведение, 2014, № 3. С.23-27.
4. Головкин Э.А. О методах изучения биологической активности торфяных почв// Материалы науч.конф. по методам микробиологических и биохимических исследований почв. Киев: Урожай, 1971. С.68-76.
5. Методы почвенной микробиологии и биохимии// Под ред. Звягинцева Д.Г. М.: МГУ, 1980, с.224.
6. Методы стационарного изучения почв // Под ред. Роде А.А. М.: Наука, 1977, с. 296.
7. Мишустин Е.Н., Никитин Д.И., Востров И.С. Прямой метод определения суммарной протеазной активности почв // Сб.докл.симпозиума по ферментам почв. Минск: Наука и техника, 1968, С.144-150.
8. Мишустин Е.Н., Петрова А.А. Определение биологической активности почв // Микробиология. 1963. Т.32, вып.3. С.479-491.
9. Забелина О.Н., Трифонова Т.А. Экологическое состояние парково-рекреационных урбаноземов города Владимира // Известия Самарского научного центра РАН, 2012. Т.14, № 1(8), С.2140-2143.
10. Нетрусов А.И. Экология микроорганизмов.М.: Академия, 2005, с.608.
11. Воробейников Г.А., Павлова Т.К. Почвенно-экологический словарь-справочник: учеб.пособие. СПб: РГПУ им. А.И.Герцена, 2008, с.379.
12. Степанян Т. У. Использование клубеньковых бактерий в ассоциации с почвенными свободноживущими бактериями для инокуляции бобовых растений // Биолог.журн. Армении. – №3. – 2016. – С. 18 – 23.
13. Селивановская С. Ю. Микроорганизмы в круговороте биогенных элементов. Казань: Казан.ун-т, 2014. – 38 с. 26.
14. Пацко Е. В. Перспективность использования ассоциаций азотфиксирующих микроорганизмов для повышения урожайности растений // Бюл. Моск. общ.исп. прир. – 2014. – №. 2. – С. 84 – 86.
15. Пробиотики для растений: как накормить растущий мир. URL: <https://biomolecula.ru/articles/probiotiki-dlia-rastenii-kak-nakormit-rastushchii-mir>
16. Феоктистова И.Д. Оценка состояния почв г.Владимира по наличию азотобактера и санитарному числу // Сборник избранных статей по материалам научных конференций ГНИИ "Нацразвитие". Материалы научных конференций. Выпускаю-

щий редактор Ю.Ф. Эльзесер. Ответственный за выпуск Л.А. Павлов. 2019. С. 87-90.

17. Баданова М.А., Лабутина М.В. Азотофиксирующая динамика в почвах разного уровня антропогенного воздействия // Рациональное природопользование - основа устойчивого развития. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2020. С. 165-169.
18. Приложение 2 к Положению о парке культуры и отдыха Ивановской области // URL: <https://docs.cntd.ru/document/430662080>
19. Охотник за микробами. Методические рекомендации и инструкции по применению набора. Новосибирск, 2020.
20. Аршанский Е.Я., Борисевич И.С., Конович Л.А. Химико-экологический мониторинг почв: исследовательская работа учащихся // Химия в школе, 2021, № 8, С.64-68.
21. Аристовская Т.В., Чугунова М.В. Экспресс-метод определения биологической активности почв // Почвоведение. - 1989. - № 11. - С. 142-147.