

**Муниципальное бюджетное образовательное учреждение
«Средняя общеобразовательная школа №23 с. Новозаведенного»
Георгиевского городского округа Ставропольского края**

**«Влияние пестицидов на свободноживущие
азотфиксирующие бактерии рода *Azotobacter*»**

Автор: Калашников Иван, 9 класс
МБОУ СОШ №23 с. Новозаведенного
Руководитель: Писаренко Надежда Ивановна,
учитель биологии МБОУ СОШ №23
с. Новозаведенного

с. Новозаведенное, 2022г

Оглавление

Введение _____	3
1.Методика исследований _____	4
2.Результаты исследований _____	7
Выводы _____	17
Список использованной литературы _____	18

Введение

Плодородие почвы зависит не только от количественных и качественных показателей содержания гумуса и комплекса питательных веществ, но и от состава и численности обитающих в почве микроорганизмов. Особую группу микроорганизмов почвы составляют свободноживущие бактерии рода *Azotobacter*. Эти бактерии обеспечивают плодородие почвы и благополучное развитие растений, но и они же в первую очередь подвергаются воздействию попадающих в почву пестицидов. Пестициды попадают в почву непосредственно при опрыскивании посевов и насаждений, а также в результате стекания рабочей жидкости с поверхности обрабатываемых растений. Свободноживущие бактерии рода *Azotobacter* являются весьма чувствительными микроорганизмами, реагирующими на изменение агроэкологических условий почвенной среды и при подавлении или полном выпадении этих микроорганизмов из экосистемы, прекращается фиксация азота и нарушается питание растений, что может стать причиной нарушения биологического круговорота азота (Колесников, 2000; Коробова, 2012; Бабьева, 1989). Необходимость исследования взаимодействия пестицидов со свободноживущими азотфиксирующими бактериями рода *Azotobacter* обусловлена их важнейшей ролью в фиксации молекулярного азота и способности к фиксации нитритных, нитратных и аммонийных форм азота в почве, а также их важнейшей ролью в создании почвенного плодородия и оптимизации условий вегетации растений.

Объект исследования: азотфиксирующие бактерии рода *Azotobacter*.

Предмет исследования: влияние различных групп пестицидов.

Цель: оценить влияние различных групп пестицидов на свободноживущие азотфиксирующие бактерии рода *Azotobacter*.

Задачи:

1. Изучить культуральные и морфологические признаки выращенных колоний *Azotobacter*.
2. Выявить показатели роста и развития колоний *Azotobacter*.
3. Определить класс токсичности пестицидов по их влиянию на жизнеспособность бактерии рода *Azotobacter*.

Гипотеза: пестициды, попадая в почву, оказывают различное влияние на свободноживущие азотфиксирующие бактерии рода *Azotobacter*.

Пестициды вносят в почву для уничтожения почвообитающих вредителей, нематод, сорняков, возбудителей бактериальных и грибных заболеваний. Попадают они в почву и после обработки надземных органов растений: смываются выпадающими осадками, сносятся ветром. Пестициды могут поступать в почву в виде их остатков, содержащихся в листьях, корнях и т. д. В почве в зависимости от условий они могут оставаться в неизменном состоянии и сохранять свою токсичность в течение более или

менее продолжительного времени. В одном кубическом сантиметре здоровой почвы содержатся миллионы бактерий, участвующих в процессах почвообразования. Даже если пестицидами обрабатывают зеленые части сорняков, они могут повлиять на полезные микроорганизмы, которые играют важную роль в самоочищении почвы от разнообразных веществ – продуктов производственной и прежде всего сельскохозяйственной деятельности человека, так как обладают мощным, разнообразным и лабильным ферментативным аппаратом (Круглов, 1991).

Азотобактер — типичный представитель свободноживущих микроорганизмов, которые живут в почве независимо от того, развивается вблизи растения или нет. Все виды азотобактера аэробы. В качестве источника азота могут ассимилировать соли аммония, нитриты, нитраты и аминокислоты. Они играют особую роль в формировании и поддержании плодородия почвы, так как трансформируют недоступный для растений молекулярный азот атмосферного воздуха в связанный. Впервые бактерии рода азотобактер, а точнее *Azotobacter chroococcum* были открыты голландским микробиологом М. Бейеринк в 1901 году. Семейство *Azotobacteriaceae* относится к отряду *Gracilicutes*, классу *Scotobacteria*, группе аэробных грамотрицательных палочек и кокков. Данная группа микроорганизмов хорошо развивается в почве с нейтральной реакцией среды, хорошо обеспеченной запасами органических веществ и доступными соединениями фосфора (Мирчинк, 1984; Молчанов, 1985).

Азотобактер отрицательно реагирует на ухудшение ценных агрономических качеств почв: реакции почвенной среды, обеспеченности почвы фосфором, некоторыми микроэлементами и доступным ему органическим веществом, чувствителен к недостатку влаги, поставляет в почву биологически активные вещества, подавляет продукты метаболизма фитопатогенных грибов. Поэтому многие исследователи рекомендуют в качестве тест-организма для определения наличия в почве токсинов применять численность колоний азотобактера (Казеев, 2010; Свистова, 2004). Экспериментальным методом доказано, что среди азотфиксирующих микроорганизмов рода *Azotobacter* наиболее чувствителен к токсическому действию *Azotobacter chroococcum*. Бактерии рода *Azotobacter* способны к продукции широкого спектра биологически активных веществ: фитогормоны (ауксины, гиббереллины, цитокинины), витамины группы В, противогрибковые антибиотики, экзополисахариды. Данная сторона физиологической активности азотобактера является определяющей в формировании взаимоотношений с почвенными микроорганизмами и высшими растениями (Дьячкова, Чермашенцева, 2017).

1.Методика исследований

Исследования по изучению влияния пестицидов на свободноживущих азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter* проводили в летний период

2022 года. Нами исследовалось действие трех групп пестицидов: гербицидов, инсектицидов и фунгицидов, относящихся к разным классам химических соединений и активно используемых жителями нашего села на своих приусадебных участках таблица 1.

Таблица 1

Характеристика пестицидов, используемых в исследовании

Название пестицида	Действующее вещество	Химический класс	Характер действия	Способ проникновения	Нормы внесения
Гербициды					
1.Хакер	Клопиралид 750 г/кг	пиридин-карбоксилосые кислоты	Избирательного действия	Системный	2,5г на 5 л воды
2.Лазурит	Метрибузин 700 г/кг	Триазиноны	Избирательного действия	Системный	100г на 3л воды
3.Раундап	Глифосат (изопропиламинная соль) 360 г/л Глифосат N-(фосфонометил)-глицин	Фосфорорганические соединения (ФОС)	Избирательного действия, гербицид сплошного действия	Системный	100мл на 10л воды
Инсектициды					
1. Сэмпай	Эсфенвалерат 50 г/л	Пиретроиды	Системный	Кишечный пестицид, контактный пестицид	5 мл на 10 л воды
2. Актара	Тиаметоксам 250 г/кг.	Неоникотиноиды	Системный пестицид	Кишечный пестицид, контактный пестицид,	1,2 г на 10л воды
3.Карбофос	Малатион 500 г/л.	Фосфорорганические соединения (ФОС)	Системный	Контактно-кишечного действия	10мл на 10л воды
Фунгициды					
1.Делан	Дитианон 700г/кг	Хиноны	Защитный, лечащий фунгицид	Контактно-действия, действующий на вредные организмы при непосредственном контакте с покровами их тела	5г на 7 л воды

2.Топаз	Пенконазол 100 г/л	Триазолы	Защитный	Системный	2мл на 10 л воды
3. Строби	Крезоксим-метил 500 г/кг	Стробилурины	Защитный	Системный поглощается листьями, переносится в точку роста, корни и корневища и легко перемещается по растению, нарушая процесс деления клеток и прекращая его рост.	2г на 8л воды

Все приведенные в таблице 1 препараты включены в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации и свободно реализуются торговой сетью (Государственный каталог пестицидов..., 2021).

Для проведения исследования пробы почвы были отобраны с приусадебного участка. Отбор производили методом конверта на глубине 3-15 см, так как именно этот слой наиболее густо заселен микроорганизмами. Средний смешанный образец почвы имел вес 1 кг. В почвенных образцах нами было проведено определение механического состава почвы, pH, анализ на содержание гумуса, карбонаты, нитраты. Для изучения влияния пестицидов на азотобактерии в пробы почвы внесли дозы пестицида согласно рекомендуемым нормам применения.

Для культивирования азотобактера использовалась элективная питательная среда Эшби (ГОСТ Р 54653-2011), которая не содержит ни минеральных, ни органических форм азота, поэтому ее используют для учета азотфиксирующих микроорганизмов. Количество азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter* учитывали методом обрастания почвенных комочков в трехкратной повторности (Красильников, 1958). Идентификация колоний азобактерий проводилась визуально по следующим признакам: наличие густослизистых колоний на 3-й – 4-й дни инкубации (другие азотфиксаторы образуют колонии на твердых питательных средах лишь после 2-3 недель инкубирования (Зенова и др., 2002); образование темно-бурого пигмента (который не диффундирует в среду, а прочно связан с клетками) на 7-8-е сутки инкубации. Наблюдения за ростом и развитием колоний *Azotobacter* (степень обрастания, количество колоний, их средний диаметр) проводили на 4, 7, 10 дни. Для проведения сравнительного анализа степени токсичности различных пестицидов использовали методику расчета индекса токсичности оцениваемого фактора (ИТФ) по Р. Р. Кабирову с

соавторами по формуле: $ИТФ = (ТФ0/ТФк)$, где ТФ0 – значение тест-функции в опыте, а ТФк – значение в контроле. Затем сравнивали полученные результаты со шкалой токсичности. Шкала токсичности: 5 – норма: $ИТФ = 0.91 - 1.10$; 4 – низкая токсичность: $ИТФ = 0.71 - 0.90$; 3 – средняя токсичность: $ИТФ = 0.5 - 0.7$; 2 – высокая токсичность: $ИТФ < 0.5$; 1 – сверхвысокая: $ИТФ = 0$ (Кабиров, Сагитова, Суханова, 1997). Фотографии сделанные во время проведения исследования представлены в тексте работы и в приложении 1 рис. 1-3.

2. Результаты исследований

Изучение механического состава почвы приусадебного участка показало, что почва является суглинистой, относится к категории малогумусные, содержание гумуса 2,4%, уровень рН почвы в пределах 6 единиц, т.е. близкий к нейтральному, карбонаты и нитраты обнаружены не были.

О присутствии азотобактера судили по образованию характерных колоний вокруг комочков почвы. На плотной среде Эшби бактерии рода *Azotobacter* растут в виде бесцветных (в молодом возрасте) густослизистых капель, которые по мере старения приобретают бурый, темно-коричневый или черный цвет. Определение бактериальных штаммов азотобактера проводили на основании изучения их культуральных и морфологических свойств на 4 сутки эксперимента, когда в чашках Петри на комочках почвы начали появляться молочно-белые обрастания густослизистых выпуклых капель колоний бактерий рода *Azotobacter* рис.1.



Рис. 1. Колонии *Azotobacter*, инкубированных в течение 4 дней в образцах почвы с применением обработки пестицидами и без них

Культуральные признаки колоний определяли в процессе их визуального осмотра сначала невооруженным глазом и через лупу, затем изучали колонии при увеличении микроскопа $\times 160$. Колонии характеризовали по размеру, форме, профилю, контуру края, поверхности, поднятию, цвету, структуре и консистенции таблица 2. Колонии азотобактера, выращенные на плотной питательной среде во всех вариантах опыта, на 4 сутки культивирования, были среднего размера, правильной округлой формы, сильно слизистые, форма колоний приподнятая, край и поверхность - гладкие, консистенция - клейкая. По комплексу фенотипических признаков по Берги (1980) можно предположить, что описанные бактерии относятся к виду *Azotobacter chroococcum*.

Таблица 2

Культуральные признаки колоний *Azotobacter*, инкубированных в течение 4 дней в образцах почвы обработанных пестицидами

Признаки	
1. Форма колонии	круглая
2. Размер колонии	средняя (от 1 до 10 мл)
3. Поверхность колонии	гладкая
4. Профиль колонии	выпуклый
5. Структура	однородная
6. Контур края	гладкий
7. Консистенция	вязкая, слизистая, прилипающая
8. Цвет	сливочно-коричневатый
9. Поднятие	приподнятые колонии

Морфологические признаки клеток бактерий изучали при микроскопическом исследовании образцов колоний, и окрашивании их тушью и фуксином Циля (по Грамму) на 7 день эксперимента таблица 3.

Таблица 3

Морфологические признаки колоний рода *Azotobacter*, инкубированных в течение 7 дней в образцах почвы обработанных пестицидами

Морфологические признаки	
1. Форма клетки	кокковидные, палочковидные чаще расположены попарно
2. Характер расположения	клеток - хаотичный
3. Окраска по Грамму	грамотрицательные

Клетки выделенных нами образцов бактерий, в контроле и во всех вариантах опыта, представляют собой кокковидные формы, соединенные попарно и одиночные, покрытые капсулой, в меньшем количестве встречались палочковидные клетки рис. 2. Это объясняется тем, что молодые клетки рода *Azotobacter* (2-3 сутки инкубирования) имеют форму крупных палочек одиночных или сцепленных попарно, с округлыми концами, подвижны. С возрастом (7-10 сутки) они превращаются в крупные кокки, напоминающие восьмерки (в случае попарного сцепления) и начинают выделять коричневый пигмент.

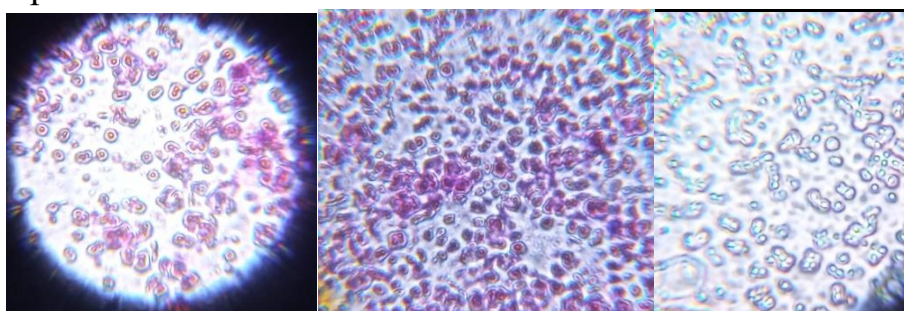


Рис.2. Культура *Azotobacter* под микроскопом $\times 400$, 7 сутки инкубирования

Начало роста и в контрольных образцах, и в образцах с внесением пестицидов было одновременным, и отставания по времени роста культур от контрольных вариантов не отмечено. В ходе исследований был произведен подсчет степени обрастания комочков почвы таблица 4.

Таблица 4

Степень обрастания комочков почвы колониями *Azotobacter* в образцах почвы, с применением обработки пестицидами и без них

Название пестицида	Общее количество обрастаний					
	4 день		5 день		7 день	
	шт	%	шт	%	шт	%
Контроль	12	100	12	100	12	100
Хакер	9	74,7	12	100	12	100
Лазурит	7	58	12	100	12	100
Раундап	6	49,8	12	100	12	100
Сэмпай	6	49,8	12	100	12	100
Актара	7	58	12	100	12	100
Карбофос	5	41,5	12	100	12	100
Делан	9	74,7	12	100	12	100
Топаз	9	74,7	12	100	12	100
Строби	1	8,3	11	91,7	11	91,7

На 4 день наблюдений процент обрастания комочков почвы варьирует в пределах от 8,3% (Строби) до 74,7% (Хакер, Делан, Топаз). На 5 день эксперимента во всех вариантах наблюдается 100% обрастание колониями *Azotobacter* и только в варианте с пестицидом Строби степень обрастания ниже и составляет 91,7%. В контроле и во всех вариантах эксперимента, кроме пестицида Строби обрастания были равномерными по всей границе комочков, что свидетельствует об отсутствии факторов, препятствующих размножению клеток культуры рис. 3.



Рис.3. Обрастания комочков почвы колониями рода *Azotobacter* в контроле и вариантах опыта

Полученные результаты по степени обрастания комочков почвы в которые добавлены различные пестициды не могут дать представления о количестве *Azotobacter* в почве, но если сопоставить их, то можно предположить, что пестицид Строби оказывает неблагоприятное влияние на *Azotobacter*.

На 5 сутки культивирования в колониях *Azotobacter* наблюдалось появление коричневого пигмента, характерного для бактерий вида *Azotobacter chroococcum* рис.4.



Рис. 4. Внешний вид колоний на 5 день после посева, заметно окрашивание колоний в коричневый цвет, что характерно для *Azotobacter chroococcum*

Наибольшее количество пигментированных колоний *Azotobacter* в образцах почвы на 5 день инкубирования отмечено в пробах с Хакером и Деланом, в пестицидах Сэмпай, Топаз, Строби, Карбофос изменения окраски не наблюдалось, в остальных пробах пигментированные колонии были в небольшом количестве таблица 5. На 7 день инкубирования в контрольных и во всех опытных пробах почвы наблюдались пигментированные колонии. Полная пигментация всех колоний зафиксирована в контроле и пестицидах Хакер и Делан, наименьшее количество окрашенных колоний отмечено в пестицидах Раундап и Строби.

Таблица 5

Количество пигментированных колоний *Azotobacter* в образцах почвы, с применением обработки пестицидами и без них

Название пестицида	Количество пигментированных колоний, шт	
	5 день	7 день
Контроль	1	12
Хакер	12	12
Лазурит	3	6
Раундап	3	3
Сэмпай	0	8
Актара	3	10
Карбофос	0	11
Делан	12	12
Топаз	0	7
Строби	0	3

Динамика пигментации колоний *Azotobacter* в образцах почвы показала, что на 5 день инкубирования пигментированные колонии отмечены в контроле 8,3% и в опытных пробах с пестицидами Хакер и Делан 100%, Лазурит, Раундап и Актара, 24,9%. В четырех пробах с пестицидами Сэмпай, Топаз, Строби, Карбофос изменения окраски не произошло. На 7 день процесс пигментации увеличился в контроле 100% и пестицидах Лазурит

49,8%, Сэмпай 66,4%, Актара 83%, Топаз 58,1%, Строби 24,9%, Карбофос 91,3% рис. 5.

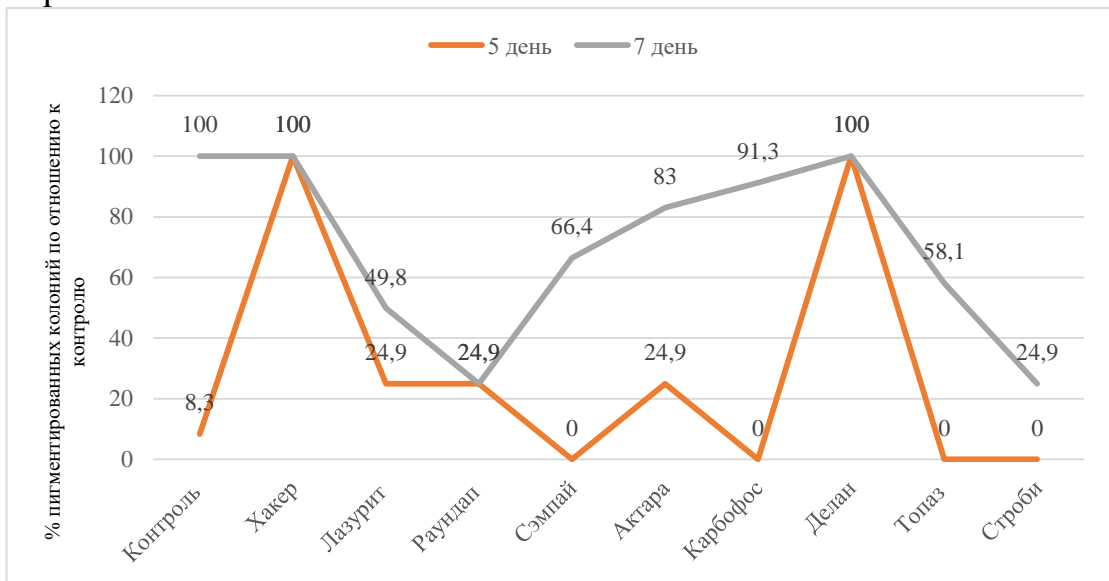


Рис. 5. Динамика пигментации колоний *Azotobacter* в образцах почвы, с применением обработки пестицидами и без них

На 9 день инкубации в контроле и опытных вариантах вокруг колоний *Azotobacter*, которые имели темно-коричневую пигментацию появился четкий черный контур очертания границ колоний рис.6.



Рис.6. Колонии бактерий *Azotobacter* с контуром очертания границ колоний черного цвета

Наиболее информативными для оценки состояния азотобактера под влиянием пестицидов являются показатели его физиологической активности, оцениваемые по интенсивности пигментации (бесцветные или темно-бурые) и величине диаметра колоний. Исследование состояния бактерий *Azotobacter* выращенного на почве с добавлением различных пестицидов, на 7 сутки инкубирования, выявило различие в интенсивности окраски почвенных комочков – от бесцветных до темно-бурых рис.7.



Рис.7. Интенсивность пигментации колоний *Azotobacter* на 7 день инкубации

Колонии выросшие на почве с добавлением пестицида Делан в большей степени имеют темно-коричневую пигментацию- 91,3%, в контроле и Хакере 66%, в Актаре 33,2%, в Сэмпай и Топаз 8,3%, в Лазурите, Раундапе, Карбофосе и Строби темно-коричневых колоний отмечено не было. Колонии светло-коричневой окраски присутствовали во всех вариантах в большей степени в препарате Карбофос 83%, в меньшей степени в Делане 8,3%. Отмечены колонии азотобактера не образующие темно-бурый пигмент в препаратах Раундап и Строби 74,7%, в Лазутире 49,8%, в Топаз и Сэмпай 41,5% и 33,2 соответственно, наименьшее количество непигментированных колоний отмечено в препаратах Актара и Карбофос таблица 6.

Таблица 6

Интенсивность пигментации колоний *Azotobacter* на 7 день инкубации в образцах почвы, обработанных пестицидами

Название пестицида	Всего потемневших колоний, шт	Степень потемнения, количество колоний, шт		
		сильная (темно-коричневая)	слабая (светло-коричневая)	отсутствие пигмента
Контроль	12	8	4	0
Хакер	12	8	4	0
Лазурит	6	0	6	6
Раундап	3	0	3	9
Сэмпай	8	1	7	4
Актара	10	4	6	2
Карбофос	10	0	10	2
Делан	12	11	1	0
Топаз	7	1	6	5
Строби	3	0	3	9

Как было установлено ранее, отсутствие пигментации колоний азотобактера является следствием низкой физиологической активности клеток (Гродзинский и др., 1990). Снижение физиологической активности клеток азотобактера в препаратах вероятно, связано с наличием пестицидов. Известно также, что темно-бурая окраска является проявлением защитной реакции азотобактера на воздействие микроорганизмов и других неблагоприятных условий. Уровень защитной реакции у азотобактера тем выше, чем больше неблагоприятных факторов сказывается на его развитии (Мишустин, Шильникова, 1968; Кузнецов и др., 1965).

Кроме интенсивности пигментации в качестве измеряемого параметра, отражающего рост колоний *Azotobacter* во времени нами, был использован диаметр колоний, образующийся на плотных питательных средах в чашках Петри таблица 7.

Диаметр колоний *Azotobacter* на среде Эшби в образцах почвы, с применением обработки пестицидами и без них

Название пестицида	Средний диаметр колоний, см								
	4 день	min	max	7 день	min	max	10 день	min	max
Контроль	0,5	0,5	1,0	0,9	0,8	1,1	1,15	0,7	1,5
Хакер	0,8	0,6	1,0	0,9	0,7	1,1	1,10	0,8	1,5
Лазурит	0,6	0,4	0,8	0,7	0,6	1,0	1,05	0,6	1,4
Раундап	0,7	0,5	1,0	0,8	0,3	1,2	0,82	0,4	1,5
Сэмпай	0,5	0,4	0,8	0,6	0,3	1,0	1,08	0,7	1,5
Актара	0,8	0,5	1,2	0,9	0,5	1,2	1,07	0,7	1,5
Карбофос	0,6	0,4	1,0	0,7	0,5	1,0	1,05	0,7	1,5
Делан	0,7	0,6	1,0	0,9	0,7	1,2	1,17	0,8	1,5
Топаз	0,6	0,5	1,0	0,8	0,5	1,2	1,07	0,7	1,5
Строби	0,5	0,4	0,8	0,5	0,5	0,8	0,82	0,5	1,2

На 4 день инкубирования во всех вариантах опыта, за исключением препарата Строби, в котором показатели одинаковы с контролем (0,5см), диаметр колоний *Azotobacter* превышает контрольные показатели. В большей степени это проявляется в препаратах Хакер и Актара (0,8см). На 7 день эксперимента в препарате Строби не наблюдается увеличения диаметра колонии, в препаратах Хакер, Актара и Делан диаметр соответствует контролю (0,9см), в остальных вариантах диаметр колоний увеличился по сравнению с предыдущими показателями. На 10 день инкубирования диаметр колоний *Azotobacter* варьирует в пределах 1,17см (Делан) - 0,82см (Раундап и Строби). Превышение контрольных показателей отмечено в препарате Делан.

Оценивая динамику роста колоний *Azotobacter* в течение 10 дней инкубирования можно отметить, что в препаратах Хакер, Актара, Делан, показатели роста превышают контроль, в остальных вариантах опыта они ниже, чем в контроле. Самые низкие показатели роста колоний в препаратах Сэмпай и Строби рис.8. Снижение динамики скорости роста азотобактера в почве с добавлением этих препаратов можно считать признаком ухудшения состояния почвы (Мишустин, Шильникова, 1968; Полякова, 2003.).

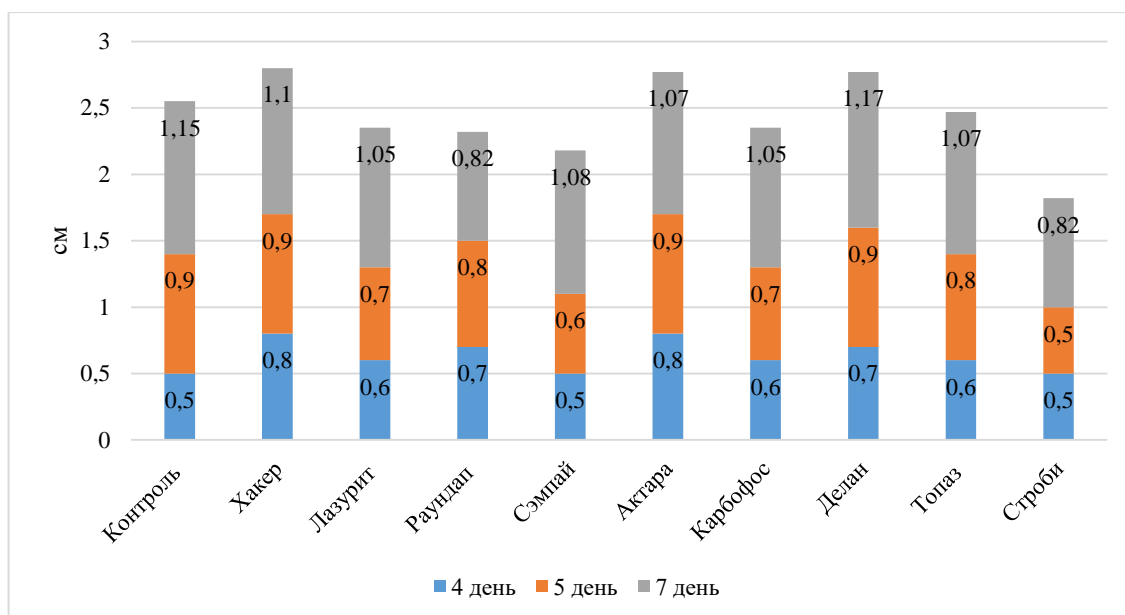


Рис. 8. Динамика роста колоний *Azotobacter* на среде Эшби в образцах почвы, с применением обработки пестицидами и без них

Анализ площади колоний, выросших на твердой безазотистой среде Эшби вокруг комочков почвы, обнаружил различную их величину на 4, 7 и 10 сутки инкубации посевов (от 19,6 до 105,6 мм²) таблица 8. Тенденция к повышению площади колоний прослеживалась во всех вариантах опыта. Максимальные показатели площади колоний отмечены в препарате Делан, минимальные в препарате Строби.

Таблица 8

Площадь колоний *Azotobacter* на среде Эшби в образцах почвы, с применением обработки пестицидами и без них

Название пестицида	Площадь колонии, сутки, мм ²		
	4	7	10
Контроль	19,6	63,5	102,0
Хакер	50,2	63,5	94,0
Лазурит	28,2	38,4	86,5
Раундап	38,4	50,2	52,7
Сэмпай	19,6	28,2	91,5
Актара	50,2	63,5	91,5
Карбофос	28,2	38,4	86,5
Делан	38,4	63,5	105,6
Топаз	28,2	50,2	91,5
Строби	19,6	19,6	52,7

На 8 день инкубирования во всех вариантах опыта, за исключением контроля, вокруг выросших колоний бактерий *Azotobacter*, образовались прозрачные зоны рис.9.



Рис.9. Прозрачные зоны вокруг колоний бактерий *Azotobacter* на 8 день инкубирования в образцах почвы обработанных пестицидами

Наибольшее количество прозрачных зон (5-8шт) отмечено в вариантах с препаратами Сэмпай, Топаз, Делан, Строби, Актара, Карбофос, в большей степени осветление питательной среды наблюдалось в препарате Лазурит, наименьшее количество зон осветления в препаратах Хакер и Раундап (2шт) таблица 9.

Таблица 9

Зоны осветления в колониях *Azotobacter* в образцах почвы, с применением обработки пестицидами и без них

Название пестицида	Осветленные зоны, шт
Контроль	0
Хакер	2
Лазурит	10
Раундап	2
Сэмпай	8
Актара	6
Карбофос	5
Делан	7
Топаз	8
Строби	7

При микроскопическом исследовании осветленных зон в них были обнаружены цисты бактерий *Azotobacter* и предположительно клетки грибов рода *Fusarium* рис.10.

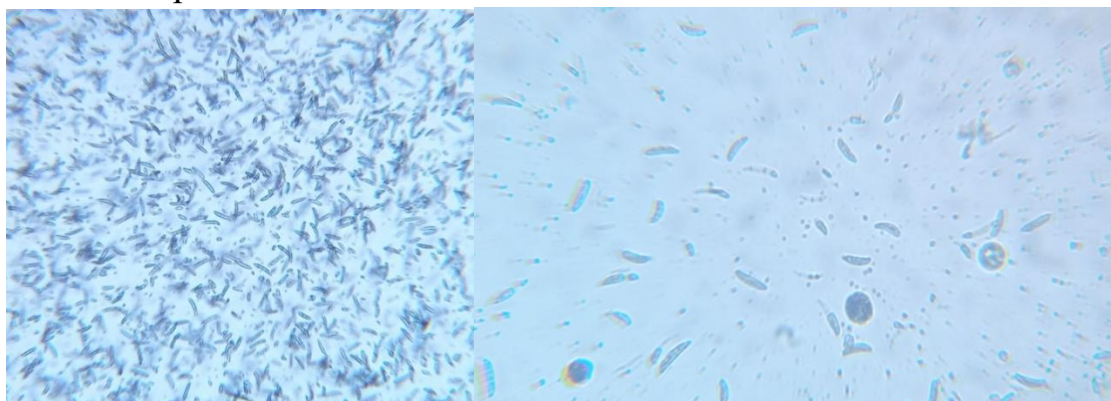


Рис.10. Цисты бактерий *Azotobacter* и предположительно клетки грибов рода *Fusarium* в осветленных зонах вокруг колоний под микроскопом $\times 400$

Для проведения сравнительного анализа степени токсичности пестицидов по % обрастания комочков почвы, интенсивности пигментации колоний и величине диаметра колоний культуры *Azotobacter* был произведен расчет среднего индекса токсичности ИТФ_{ср} оцениваемого фактора и определение класса опасности пестицидов по влиянию на жизнеспособность колоний бактерии *Azotobacter* таблица 10.

Таблица 10

Сравнительная оценка токсичности пестицидов на колонии *Azotobacter* в образцах почвы обработанных пестицидами

Название пестицида	ИТФ % обрастания комочков почвы	ИТФ интенсивности пигментации колоний	ИТФ величины диаметра колоний	ИТФ _{ср}	Класс токсичности
Хакер	1,0	1,0	1,0	1,0	V - норма
Лазурит	1,0	0,5	0,7	0,8	IV – низкая токсичность
Раундап	1,0	0,4	0,8	0,7	IV – низкая токсичность
Сэмпай	1,0	0,6	0,6	0,7	IV – низкая токсичность
Актара	1,0	0,8	1,0	0,9	V - норма
Карбофос	1,0	0,9	0,7	0,8	IV – низкая токсичность
Делан	1,0	1,0	1,0	1,0	V - норма
Топаз	1,0	0,5	0,7	0,7	IV – низкая токсичность
Строби	0,9	0,2	0,5	0,5	III – средняя токсичность

По результатам расчётов среднюю степень токсичности (III класс опасности) в отношении бактерий *Azotobacter* проявил фунгицид Строби, низкую степень токсичности (IV класс опасности) имели гербициды Лазурит и Раундап, инсектициды Сэмпай и Карбофос и фунгицид Топаз. Пестициды Хакер, Актара и Делан не обладали токсичностью по отношению к бактериям *Azotobacter* (V класс отсутствие токсичности).

Выводы

Проведенные исследования и анализ полученных результатов по оценке состояния бактерий рода *Azotobacter* в образцах почвы, обработанных пестицидами и без них, позволили сделать следующие выводы:

1. Под влиянием пестицидов различий в культуральных признаках колоний *Azotobacter* во всех вариантах опыта обнаружено не было. Изменение морфологических признаков колоний *Azotobacter* в показателях степени обрастания комочков и интенсивности их пигментации отмечено в пестициде Строби.
2. В препаратах Хакер, Актара, Делан, показатели роста и развития колоний превышают контроль, в остальных вариантах опыта они ниже, чем в контроле. Самые низкие показатели отмечены в препаратах Сэмпай и Строби.
3. В рекомендуемых дозах, при однократном применении, среднюю степень токсичности по отношению к бактериям *Azotobacter* имеет пестицид Строби, низкую степень токсичности гербициды Лазурит и Раундап, инсектициды Сэмпай и Карбофос и фунгицид Топаз. Пестициды Хакер, Актара и Делан не обладают токсичностью.

Таким образом, выдвинутая нами гипотеза о том, что, используемые жителями нашего села на приусадебных участках, пестициды, попадая в почву оказывают различное влияние на свободноживущие азотофиксирующие бактерии рода *Azotobacter* подтвердилась.

Литература

1. Бабьева И.П. Биология почв: учебник; под ред Д.Г. Звягинцева / И.П. Бабьева, Г.М. Зенова. – 2-е изд., пераб. и доп. – Москва: Изд-во МГУ, 1989. – 336 с.
2. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, Москва, 2021
3. Гродзинский А.М., Кострома Е.Ю., Штроль Т.С., Хохлова И.Г. Прямые методы биотестирования почвы и метаболитов микроорганизмов // Аллелопатия и продуктивность растений. Киев: Наук. думка, 1990. С. 121-124.
4. Дьячкова Л.Г., Чермашенцева Н.А. // Химия и технология органических веществ. №1(1) /2017.
5. Зенова Г.М., Степанов А.Л., Лихачева А.А., Манучарова Н.А. Практикум по биологии почв: Учеб. пособие / – М.:Издательство МГУ, 2002.– 120 с.
6. Кабиров Р. Р., Сагитова А. Р., Суханова Н. В. Разработка и использование многокомпонентной тест-системы для оценки токсичности почвенного покрова городской территории // Экология. 1997. № 6. С. 45 – 48.
7. Казеев К.Ш. Влияние загрязнения современными пестицидами на биологическую активность чернозема выщелоченного / К.Ш. Казеев, Е.С.
8. Круглов Ю.В. Микрофлора почвы и пестициды. М.: Агропромиздат, 1991. 128 с.
9. Колесников С.И. Экологические последствия загрязнения почв тяжелыми металлами / С.И. Колесников, К.Ш. Казеев, В.Ф. Вальков. Ростов – на - Дону: Изд-во СКНЦ ВШ, 2000. 232 с.
10. Коробова Л.Н. Микробный отклик выщелоченного чернозема на превышение нормы гербицидной нагрузки / Л.Н. Коробова, А.В. Шинделов // Вестник Алтайского государственного университета. – 2012. – № 8 (94). – С. 51-54.
11. Красильников Н. А. Микроорганизмы почвы и высшие растения [Текст] / Акад. наук СССР. Ин-т микробиологии. - Москва: Изд-во Акад. наук СССР, 1958. - 463 с.
12. Краткий определитель бактерий Берги / Под ред. Дж.Хоует. – М.: Изд-во Мир, 1980. – 495 с.
13. Кузнецов С.И., Саралов А.И., Низина Т.Н. Микробиологические процессы круговорота углерода и азота в озерах. М.: Наука, 1965. 330 с.
14. Лосева, Л.Г. Боровикова и др. // Агрохимия. – 2010. – № 11. – С. 39-44.
15. Мирчинк Т.Г. Почвенные грибы как компонент биогеоценоза / Т.Г. Мирчинк // Почвенные организмы как компонент биогеоценоза: сб. ст. – Москва: Наука, 1984. – С. 47-56.

16. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Биологическая фиксация атмосферного азота. М.: Наука, 1968. 236 с.
17. Молчанов Ю.М. Влияние севооборота и монокультуры на некоторые свойства почвы и потенциальную активность бактерий / Ю.М. Молчанов // Тез. докл. IV съезда Украинского науч. общ-ва. – Киев: наукава думка. – 1985. – С.19.
18. Полякова А.В. Бактерии азотного обмена как индикатор химического загрязнения / А.В. Полякова // Экология и биология почв. – Ростов-на-Дону, 2003. – С. 75.
19. Свистова И.Д. Влияние многолетнего внесения удобрений на почвенно-поглощительный комплекс и микробное сообщество выщелоченного чернозема / И.Д. Свистова и др. // Агрехимия. – 2004. – № 6. – С. 16-23.

Приложение

Приложение 1



Рис.1. Посев и наблюдение за ростом колоний *Azotobacter*

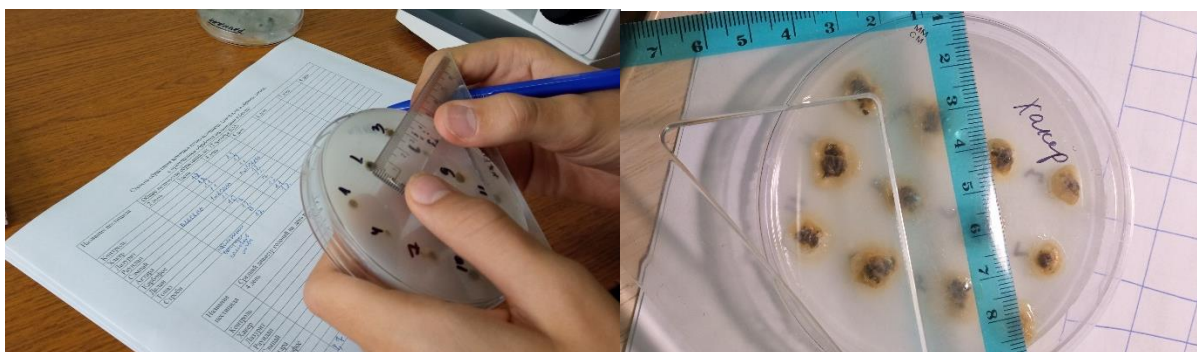


Рис.2. Измерение диаметра колоний *Azotobacter*



Рис.3.Изучение культуральных признаков *Azotobacter* при увеличении микроскопа $\times 160$