

Муниципальное бюджетное учреждение дополнительного образования  
«Станция юных натуралистов»

Учебно - исследовательская работа  
**Определение активности *Azotobacter* в почвах с разной техногенной  
нагрузкой на примере соснового бора в г. Канске**

Выполнили:

Целовальников Вячеслав, обучающийся

МБОУ ООШ №22, г. Канска

Бугакова Софья, обучающаяся

МБОУ ООШ №22, г. Канска

Руководитель:

Мельниченко Оксана Витальевна,

педагог дополнительного образования,

МБУ ДО СЮН

г. Канск  
2022г

## Оглавление

### Введение

1. «Сосновый бор в г. Канске».....	3
2. Актуальность.....	4
3. Azotobacter.....	4-5

### Методика исследований

1. Материалы.....	5-6
2. Методы	
2.1. Отбор и подготовка почвы к исследованию.....	6
2.2. Определение механического состава почвы.....	6
2.3. Определение наличия карбонатов и измерение рН.....	7
2.4. Определение дыхания почвы.....	7-8
2.5. Культивирование азотфиксирующих бактерий.....	9
2.6. Микроскопическое исследование.....	9
2.7. Исследование способности бактерий к накоплению полимерных соединений.....	9

<b>Результаты и их обсуждение</b> .....	10-11
---	-------

<b>Выводы</b> .....	11-12
---------------------	-------

<b>Заключение</b> .....	12
-------------------------	----

<b>Список литературы</b> .....	13
--------------------------------	----

## **Введение**

### **1. «Сосновый бор в г. Канске»**

На правом берегу нашего города расположен сосновый бор. До 1941 года сосновый бор заполнял всю территорию правобережья нашего города, море цветов, живописные луга. Горожане летом любили отдыхать там.

Своё развитие правобережье получило с началом Великой Отечественной войны, когда на территорию Канска стали эвакуироваться важные предприятия. С увеличением объёма строительства на правом берегу Кана, которое всё больше занимало пространство некогда заповедного бора, в семидесятых годах в городе началось общественное движение за сохранение хотя бы части этого леса. Защита бора стала городской идеей, и в итоге в 1980 году было принято решение о признании оставшихся 130 гектаров соснового леса заповедной зоной.

Сейчас памятник природы «Сосновый бор в г. Канске» является особо охраняемой природной территорией краевого значения. Рельеф равнинный, сосняк разнотравный с шиповником, черёмухой, боярышником - насчитывается до 70 различных растений. Много грибов: маслята, рядовки, шампиньоны. В бору живут белки, много видов птиц. Возраст деревьев бора от 80-130 лет.

Так как бор находится в черте города, почвенный покров подвержен сильной техногенной и рекреационной нагрузке. Бор с трёх сторон окружен городскими автотрассами, что оказывает косвенное воздействие на экосистему соснового бора путём физического и химического воздействия транспортного потока. Перенос пыли с поверхности дороги и обочин, шумовое, вибрационное, электромагнитное и радиоактивное воздействие, перенос воздушным и водным путём вредных и токсичных веществ, образующихся в результате химических реакций при горении углеводородных топлив в двигателях внутреннего сгорания, а также накопление в придорожной полосе веществ, используемых при летнем и зимнем содержании дорог.

Через бор проходит железная дорога технического назначения. В почве сорбируется и аккумулируется большая часть выбросов железнодорожного транспорта. Большую роль в загрязнении почв оказывают пестициды (гербициды) - средства стимулирования и торможения роста растений, подсушивания растений. Пестициды - это единственный загрязнитель, который вносится человеком сознательно, они обладают способностью накапливаться в окружающей среде, не поддаются биологическому распаду и могут сохраниться в почве в течении многих лет. Обнаружена чрезвычайная способность отдельных пестицидов к распространению и накоплению в живых организмах.

А так же бор является излюбленным местом горожан, что оказывает серьёзную рекреационную нагрузку на почву.

### **2. Актуальность**

В современное время в условиях сильного антропогенного изменения окружающей среды биотестирование состояния почвы является актуальной проблемой экологии. В качестве тест - культуры используют бактерию р. *Azotobacter*. Одна из важных функций азотобактера – это перевод элементов питания в доступную для растений форму, в частности азота. Поэтому интерес к этим бактериям не исчезает, и они являются постоянным объектом исследований в области биотехнологии и экологии. Однако сведений о поведении азотобактера в почвах городских лесных экосистем, испытывающих транспортное загрязнение и рекреационные нагрузки, недостаточно.

Мы перед собой поставили **цель:** исследование почвы из соснового бора в г. Канске на наличие и активность бактерий р. *Azotobacter*.

#### **Задачи:**

-собрать образцы почв в сосновом бору с разной антропогенной нагрузкой;

-провести физико-химический анализ почв;

-выделить из почв азотфиксирующие бактерии;

-провести микроскопическое исследование образцов;

-провести сравнительный анализ.

**Объект исследования** - почва с трёх участков соснового бора.

**Предмет исследования** - азотфиксирующие бактерии.

**Гипотеза:** активность азотобактера зависит от уровня техногенной нагрузки.

### **3. *Azotobacter***

Для исследования мы выбрали бактерию рода *Azotobacter*, из-за её распространённости, изученности и простоты в культивировании.

Первым описанным видом этого рода является *Azotobacter chroococcum*, был открыт в 1901 году Мартином Бейеринком. Всего в этом роде содержатся 6 видов, наиболее распространены *Azotobacter chroococcum* (типовой вид), образующий колонии бурого, почти черного цвета. *Azotobacter agilis*, для которого характерны бесцветные колонии, и *Azotobacter vinelandii*, чьи колонии флуоресцирующей желтовато-зеленой окраски. Клетки относительно крупные (1-2 мкм в диаметре), как правило имеют овальную форму, но возможен широкий полиморфизм от палочковидной до сферической формы. Клетки могут располагаться одиночно, парами, неправильными скоплениями, цепочками. Клетки образуют цисты, не образуют спор. В ранних культурах клетки имеют жгутики.

*Azotobacter* обитает преимущественно в слабокислых, нейтральных и слабощелочных почвах (рост и азотфиксация возможны в диапазоне рН от 4,8 до 8,5, оптимально – 7,0 – 7,5). Бактерии рода азотобактер являются свободноживущими азотфиксаторами, однако они способны жить в ассоциации с некоторыми растениями.

Большое влияние на развитие азотобактера оказывает влажность почвы, потребность во влаге аналогична потребности высших растений. Азотобактер распространён в пресных водоёмах, илах, сточных водах, сильно увлажнённых почвах, на водных растениях в прудах и водохранилищах. Это свидетельствует о его высокой степени гидрофильности. На основании высокой потребности во

влаге почвенных форм азотобактера предполагается, что предки некоторых морских и почвенных видов азотобактера могли быть общими.

## Методика исследований

### 1. Материалы

Исследования проводились с использованием набора «Охотник за микробами» в соответствии с методическими рекомендациями.

Период исследования с 5.05 2022 по 25.06.2022г.

Материалы и реактивы:

1) 3 пробы почв из соснового бора с разной антропогенной нагрузкой:

**№1(«Автотрасса»)** - 11м от городской автотрассы и автобусной остановки (большая техногенная и рекреационная нагрузка);

**№2(«Контроль»)** - 210м от железной дороги, 160м от автотрассы (с наименьшей антропогенной нагрузкой для контроля);

**№3(«Ж/д»)** - 13м от железной дороги, 100м от автотрассы (самая большая техногенная нагрузка).(Приложение 1)

2) Для проведения физико - химического исследования:

- соляная кислота 0.1М;
- пипетки Пастера на 1мл;
- пробирки типа «эппендорф»;
- индикаторная бумага;
- дистиллированная вода.

3) Для изучения почвенного дыхания:

- ёмкости для титрования;
- соляная кислота 0.1М;
- NaOH 0.1 М;
- фенолфталеин;
- бюретка на 25мл;
- пипетка Мора на 10мл.

4) Для культивирования азотобактера:

- соли для приготовления среды Эшби - $K_2SO_4$ ,  $K_2HPO_4$ , NaI,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $CaCO_3$ ;

- органические компоненты среды Эшби - агар и глюкоза;
- чашки Петри;
- мерная колба на 1л;
- химический стакан на 600мл;
- термометр;
- пипетка Пастера;
- зубочистки;
- весы;
- плита электрическая.

5) Для микроскопического исследования:

- предметные стёкла;

- микроскоп (объектив 40 с водной иммерсией);
- микробиологические петли;
- спиртовки;
- пипетки Пастера;
- красители - фуксин Циля, тушь, судан чёрный;
- изопропанол;
- спиртовые салфетки.

## 2. Методы

### 2.1. Отбор и подготовка почвы к исследованию

Отбор почв для бактериологического исследования проводили с глубины 0-10 см согласно нормативным требованиям и методическими рекомендациями к набору «Охотник за микробами».

Для исследования мы отобрали 3 образца почв в городском сосновом бору с разной антропогенной нагрузкой: №1- на расстоянии 11м от автотрассы и автобусной остановки; №2- в удалённом месте с наименьшей антропогенной нагрузкой и №3 - на расстоянии 13м от ж/д и 100м от автотрассы с наибольшей техногенной нагрузкой.(Приложение 2)







Далее мы очистили почвы от мусора, корешков и высушили при комнатной температуре на белых листах бумаги. Измельчили в ступке и просеяли через сито.(Приложение 3)

### 2.2. Определение механического состава почвы

Механический состав почв мы определяли мокрым способом.(Приложение 4)

Для определения механического состава почву смешали с водой до получения вязкой массы, из которой сначала скатали шарик, затем растянули его в жгут и соединили в кольцо. Результаты соотнесли с данными таблицы 1.

Таблица 1. Механический состав почвы

Описание	Рисунок	Тип механического состава
Шарик не скатывается, шнур не образуется		Песок
Зачатки шнура		Супесь
Шнур при раскатывании дробится на комочки		Легкий суглинок
Шнур сплошной, при сгибании разламывается		Средний суглинок
Шнур при сгибании не разламывается, кольцо дает несколько трещин		Тяжелый суглинок
Кольцо без трещин		Глина

### 2.3. Определение наличия карбонатов и измерение pH

Наличие карбонатов в почве мы определяли с помощью HCl 0,1M. (Приложение 5)

Если в почве находится значительное количество карбонатов, то при добавлении нескольких капель соляной кислоты на почве будет наблюдаться вспенивание. Карбонаты способны реагировать с соляной кислотой по следующей реакции:  $\text{CO}_3^{2-} + 2\text{H}^+ = \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2\uparrow$

В результате реакции выделяется углекислый газ, который и обуславливает вспенивание.

#### Измерение pH

Водородный показатель (pH) среды является важной химической характеристикой, от которой зависит биоразнообразие населяющей её организмов. Мы использовали простейший способ измерения pH - использование индикаторной бумаги. (Приложение 6)

Сначала мы приготовили водную вытяжку. Для этого половину объёма пробирки типа «эппендорф» заполнили образцом почвы, затем, оставшийся объём пробирки заполнили дистиллированной водой, пробирку плотно закрыли крышкой и перемешивали в течение 5 минут. Дождались полного осаждения взвеси почвы на дно пробирки и опустили индикаторную бумагу в почвенную вытяжку. Сравнили окрашивание индикаторной бумаги со шкалой.

### 2.4. Определение дыхания почвы

«Дыхание почвы» - процесс образования  $\text{CO}_2$  в результате разложения и окисления органического вещества почвенными микроорганизмами и корнями растений, что является одним из способов биотестирования состояния почвы. Измерение дыхания почвы мы проводили в соответствии с методическими рекомендациями к набору «Охотник за микробами». Сущность метода: определение количества  $\text{CO}_2$ , которое выделяет почва.

Для каждого образца почвы мы подготовили по 3 одинаковые банки объёмом 0,5л с герметично закрывающейся крышкой, промаркировали их номерами. Подготовили одинаковые навески для всех образцов (100г сухой почвы). Перенесли навески почвы в банки №2 и №3, распределили почву ровным слоем по дну. (Приложение 7)

Подготовили и пронумеровали по 3 ёмкости для титрования (баночки для анализов). С помощью пипетки Мора перенесли в каждую ёмкость для титрования 10мл раствора NaOH 0,1M, поставили открытые ёмкости №2 и №3 с раствором NaOH на поверхность почвы в соответствующих банках 0,5л №2 и №3. Открытую ёмкость для титрования №1 поместили на дно пустой банки №1 (контрольный эксперимент).

Закрыли банки крышкой и поставили при комнатной температуре в тёмный шкаф на сутки.

Через сутки провели титрование раствором соляной кислоты 0,1 M, с добавлением в раствор NaOH фенолфталеина (раствор приобрёл малиновую окраску). Титровали до полного обесцвечивания раствора. Объём HCl, пошедший на титрование, занесли в таблицу 2. (Приложение 8)

Таблица 2. Объём HCl, пошедший для нейтрализации NaOH

Образец почвы	«Автотрасса»			«Контроль»			«Ж/д»		
	№1	№2	№3	№1	№2	№3	№1	№2	№3
V <sub>HCl</sub> ,мл	19,7	18,2	18,7	19,7	17,9	17,8	19,0	16,4	16,5

Вычисления количества моль щёлочи, содержащееся в ёмкости для титрования, проводили по формуле:

$n(\text{NaOH}) = C_{\text{HCl}} \cdot V_{\text{HCl}} = 0,1 \cdot V_{\text{HCl}}$ , где  $V_{\text{HCl}}$  - объём соляной кислоты (мл), потраченный на титрование:

**«Автотрасса»:**  $n(\text{NaOH})_1 = 0,1 \cdot 19,7 = 1,97$  моль

$n(\text{NaOH})_2 = 0,1 \cdot 18,2 = 1,82$  моль

$n(\text{NaOH})_3 = 0,1 \cdot 18,7 = 1,87$  моль

**«Контроль»:**  $n(\text{NaOH})_1 = 0,1 \cdot 19,7 = 1,97$  моль

$n(\text{NaOH})_2 = 0,1 \cdot 17,9 = 1,79$  моль

$n(\text{NaOH})_3 = 0,1 \cdot 17,8 = 1,78$  моль

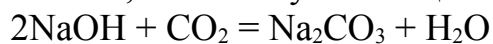
**«Ж/д»:**  $n(\text{NaOH})_1 = 0,1 \cdot 18,5 = 1,85$  моль

$n(\text{NaOH})_2 = 0,1 \cdot 17,2 = 1,72$  моль

$n(\text{NaOH})_3 = 0,1 \cdot 18,2 = 1,82$  моль

Определили среднее количество моль щёлочи в ёмкостях №2 и №3 для всех образцов почвы, сравнили количество моль щёлочи в ёмкости №1 со средним количеством.

Количество моль щёлочи в ёмкости №2 и №3 должно быть меньше, чем в ёмкости №1, поскольку часть щёлочи прореагировала с  $\text{CO}_2$  по реакции:



**«Автотрасса»:**  $n(\text{NaOH})_{\text{cp}} = (1,82 + 1,87) / 2 = 1,85$  моль

$1,85$  моль <  $1,97$  моль

**«Контроль»:**  $n(\text{NaOH})_{\text{cp}} = (1,79 + 1,78) / 2 = 1,79$  моль

$1,79$  моль <  $1,97$  моль

**«Ж/д»:**  $n(\text{NaOH})_{\text{cp}} = (1,72 + 1,82) / 2 = 1,77$  моль

$1,77$  моль <  $1,85$  моль

Массу  $\text{CO}_2$ , выделившегося в результате дыхания почвы, вычислили по формуле:

$$m(\text{CO}_2) = (n(\text{NaOH})_1 - n(\text{NaOH})_{\text{cp}}) \cdot M(\text{CO}_2),$$

где  $n(\text{NaOH})_1$  - количество NaOH в контрольной ёмкости №1,  $n(\text{NaOH})_{\text{cp}}$  - усреднённое количество щёлочи, содержащееся в ёмкостях №2 и №3,  $M(\text{CO}_2) = 44$  г/моль - молярная масса  $\text{CO}_2$ .

**«Автотрасса»:**  $m(\text{CO}_2) = (1,97 - 1,85) \cdot 44 = 5,28$  г

**«Контроль»:**  $m(\text{CO}_2) = (1,97 - 1,79) \cdot 44 = 7,92$  г

**«Ж/д»:**  $m(\text{CO}_2) = (1,85 - 1,77) \cdot 44 = 3,52$  г

2.5. **Культивирование азотфиксирующих бактерий** проводили традиционным методом обрастания комочков на среде Эшби.

### Приготовление вспомогательного раствора

В мерную колбу на 1л налили дистиллированной воды 400мл, высыпали в колбу с водой соли NaCl, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O и K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и перемешали до полного отсутствия осадка на дне колбы. Довели объём раствора до отметки 1л.

### Приготовление среды Эшби (Приложение 9)

На весах подготовили навески: CaCO<sub>3</sub>-1г, Агара-3г, глюкозы-4г. В химический стакан налили 200мл вспомогательного раствора, перенесли туда все навески. Смесь перемешали до состояния однородной взвеси. Смесь вскипятили на плите, охладили до 50<sup>0</sup>С и заполнили ею чашки Петри.

Для исследования роста колоний на одном образце почвы мы проводили 2 параллельных эксперимента в 2-х чашках Петри.

Увлажнённую почву с помощью одноразовых зубочисток комочками диаметром 3-4 мм по 50 комочков перенесли в каждую чашку с питательной средой. Работу проводили возле горящих спиртовок. Чашки Петри накрыли крышками и убрали в шкаф при комнатной температуре.(Приложение10)

Провели наблюдение за ростом колоний на 3, 7 и 10 день после посева.

**2.6. Микроскопическое исследование** бактерий проводили с окрашиванием фуксином Циля и тушью, при увеличении x400 с водной иммерсией.

Протёрли предметные стёкла спиртовой салфеткой для удаления загрязнений и жирового слоя. Прокалили микробиологические петли над спиртовкой, нанесли на стёкла небольшое количество биомассы, с помощью пипетки Пастера добавили по капельке фуксина Циля и туши, перемешали красители и биомассу до равномерного тонкого слоя грязно - розового цвета. Получившийся препарат высушили на воздухе. На препарат нанесли каплю воды и изучили с помощью микроскопа при увеличении x400.(Приложение11)

**2.7. Исследование способности бактерий к накоплению полимерных соединений** проводили с окрашиванием суданом чёрным.

На предметных стёклах маркером нарисовали круги, перевернули стёкла, с помощью пипетки Пастера нанесли в центр каждого круга по капле дистиллированной воды, микробиологической петлёй перенесли небольшое количество биомассы с 4 колоний каждого образца почвы, разболтали колонии в воде. Капли подсушили на воздухе до полного исчезновения влаги, зафиксировали препарат с помощью пламени спиртовки. После остывания стекла на каждое пятно нанесли каплю судана чёрного и оставили на 15 минут при комнатной температуре. После высыхания промыли пятна изопропанолом. Проанализировали интенсивность окраски пятен, если после промывки стекла бактерии окрасились в голубой цвет, значит они способны активно накапливать полимеров в своих клетках.(Приложение12)

Рассмотрели бактерии через объектив микроскопа с увеличением x400.

## Результаты и их обсуждение

### 1. Результаты физико - химического исследования

Образец почвы	Механический состав	Наличие карбонатов	pH
№1 «Автотрасса»	Супесь	-	5
№2 «Контроль»	Лёгкий суглинок	-	5
№3 «Ж/д»	Средний суглинок	-	5

Исследованные почвы относятся к слабокислым. По механическому составу почвы отличаются, но можно сказать, что все образцы не относятся к плодородным почвам. Наличие карбонатов во всех образцах не обнаружено. Это предполагает не очень благоприятные условия для микробиологической активности, в частности азотобактера.

## 2. Дыхание почвы

Образец почвы	n(NaOH)1, МОЛЬ	n(NaOH)2, МОЛЬ	n(NaOH)3, МОЛЬ	n(NaOH) <sub>ср</sub> , МОЛЬ	CO <sub>2</sub> , Г
№1 «Автотрасса»	1,97	1,82	1,87	1,85	5,25
№2 «Контроль»	1,97	1,97	1,79	1,78	7,92
№3 «Ж/д»	1,85	1,72	1,82	1,77	3,52

Изучая дыхание почвенных образцов, мы определили, что самое большое количество углерода выделилось из почвы, с наименьшей антропогенной нагрузкой, что говорит о наибольшей активности микроорганизмов в этом образце. Соответственно, меньше всего микроорганизмов в образце, взятом возле железной дороги и в 100м от автотрассы, где почва подвержена большой техногенной нагрузке.

## 3. Культивирование бактерий

Результаты наблюдений

3 день

Образец почвы	Всего комочков	С обрастанием		% обрастаний	
		Всего	С потемнением	Всего	С потемнением
1.1	50	2	0	4	0
1.2	50	1	0	2	0
2.1	50	1	0	2	0
2.2	50	2	0	4	0
3.1	50	0	0	0	0
3.2	50	0	0	0	0

7 день

Образец почвы	Всего комочков	С обрастанием		% обрастаний	
		Всего	С потемнением	Всего	С потемнением
1.1	50	2	0	4	0

1.2	50	1	0	2	0
2.1	50	3	2	6	4
2.2	50	2	0	4	0
3.1	50	0	0	0	0
3.2	50	0	0	0	0

10 день

Образец почвы	Всего комочков	С обрастанием		% обрастаний	
		Всего	С потемнением	Всего	С потемнением
1.1	50	6	4	12	8
1.2	50	10	5	20	10
2.1	50	3	3	6	6
2.2	50	4	2	8	4
3.1	50	2	0	4	0
3.2	50	0	0	0	0

Колонии изначально были прозрачными, а затем начали темнеть - приобретать коричневый оттенок, некоторые колонии были более тёмные, почти чёрные. Это даёт нам сделать вывод, что бактерии относятся к виду *Azotobacter chroococcum*.

Количество обрастаний почвенных комочков во всех образцах очень маленькое, что говорит о низкой активности азотобактера, особенно в третьем образце.

4. Микроскопическое исследование показало, что во всех образцах есть азотобактер.

5. Исследование способности бактерий к накоплению полимерных соединений показало, что после окрашивания бактерий суданом чёрным, практически все бактерии не окрасились в голубой цвет. Немного потемнели 2 проба со 2 образца и 4 проба с 3 образца. В них мы обнаружили несколько темноокрашенных бактерий, все остальные бактерии окрасились по краю, но внутри оставались белыми, значит они не способны накапливать полимеров в своих клетках.

### Выводы

Мы отобрали 3 образца почвы в городском сосновом бору с разной техногенной и рекреационной нагрузкой, провели физико - химический анализ почв, выделили азотфиксирующие бактерии, провели микроскопическое исследование бактерий.

По результатам исследования можно сделать вывод, что свободноживущие азотфиксирующие бактерии почв в сосновом бору находятся в плохом состоянии при техногенном загрязнении среды обитания. Наиболее активное снижение роста азотобактера выявлено на фоне

комплексного техногенного загрязнения почв автомобильными эмиссиями, выбросами железнодорожного транспорта и накоплению гербицидов. В образце, взятом возле автотрассы и остановки, техногенная и рекреационная нагрузка оказали меньшее воздействие на активность азотобактера. В контрольном образце, где, на наш взгляд, меньше всего антропогенной нагрузки, азотобактер был тоже не очень активен. Возможно ему составляют конкуренцию другие, более активные микроорганизмы, т.к. их больше всего в этой почве.

Таким образом, выдвинутая нами гипотеза: активность азотобактера зависит от уровня техногенной нагрузки - подтвердилась.

### **Заключение**

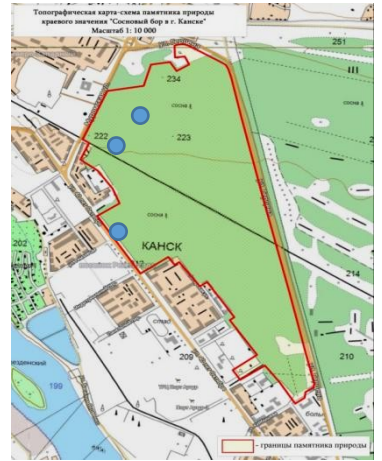
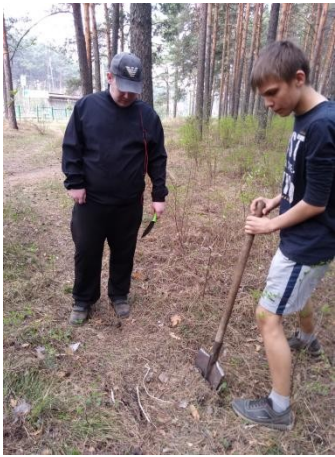
В заключении можно отметить, что развитие азотобактерий в почвах нашего бора сильно ослаблено, а это не способствует пополнению почв биогенным азотом, необходимым корням растений. Для улучшения качества среды обитания и повышения азотфиксирующей активности необходимо ограничить техногенные нагрузки в пределах соснового бора.

В дальнейшем мы планируем исследовать почвы на активность азотобактера в природных сосновых лесах и сравнить результаты исследований.

Ещё мы попробовали перенести колонии, выросшие на почвенных комочках на чистую среду Эшби, все образцы показали хорошую активность. Уже на третий день во всех чашках появились большие колонии. Мы решили продолжить наше исследование. Если азотобактер, живущий в неблагоприятной среде, способен хорошо развиваться в более благоприятных условиях, то он может благотворно влиять на прорастание и всхожесть семян овощных культур, а так же - выращивание рассады.

### **Список литературы**

1. Алексеева А.Е. Физиолого - биохимическая активность и биоразнообразии штаммов *Azotobacter chroococcum*, выделенных из почв Нижегородской области: автореф. дис. канд. биолог. наук // Нижний Новгород, 2005.
2. Артамонова В.С., Бортникова С. Б. О состоянии почвенных азотфиксирующих бактериях на территории городского леса.// Вестник Пермского университета. Биология. Микробиология. Вып.2. 2016.
3. Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест. МУ 2.1.7.730-99
4. Донченко В.К. Актуальные проблемы изучения техногенного загрязнения окружающей среды // Экологическая безопасность. 2007. № 1-2.
5. Звягинцев Д. Г. Почва и микроорганизмы // М.: Изд-во Московского университета, 1987.
6. Звягинцев Д. Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. //М.: Изд-во Московского университета, 1991.
7. Каверина Н. В. Геоэкологическая оценка воздействия железнодорожного транспорта на экосистемы прилегающих территорий: автореф. дис. канд. геогр. наук.// Воронеж, 2004.
8. Казанцев И. В. Экологическая оценка влияния железнодорожного транспорта на содержание тяжелых металлов в почвах и растениях полосы отвода: автореф. дис. канд. биол. наук.// Тольятти, 2008.
9. Нахаев З. Н. . Техногенное воздействие автомобильных дорог на экосистемы придорожной полосы//Resources and Technology, 2003.
10. Охотник за микробами. Методические рекомендации и инструкции по применению набора.// Новосибирск, 2020.
11. Фирсанкова Л. И. Скверы и рожи Канска.// Изд. «ЛИТЕРА-принт»,2020.
12. <http://oopt.aari.ru/oopt/Сосновый-бор-в-городе-Канске>
13. [https://gufo.me/dict/biology\\_encyclopedia/азотобактер\\_\(azotobacter\)](https://gufo.me/dict/biology_encyclopedia/азотобактер_(azotobacter))



№1 «Автотрасса»

№2 «Контроль

№3 «Ж/д»

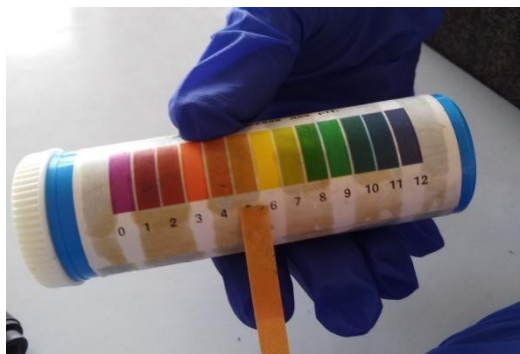
Приложение 3

Приложение 4

Приложение 5



Приложение 6



Приложение 7

Приложение 8



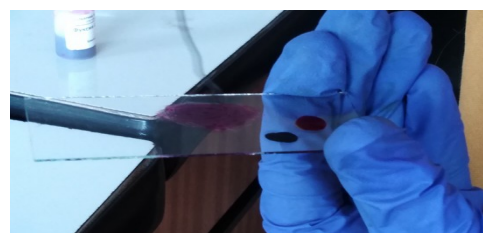
Приложение 9



Приложение 10



Приложение 11



Приложение 12

