

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И МОЛОДЁЖИ
РЕСПУБЛИКИ КРЫМ
Муниципальное бюджетное учреждение
«ДЕТСКИЙ ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР»
муниципального образования городской округ Ялта Республики Крым

**Всероссийский конкурс юных исследователей окружающей среды
им. Б. В. Всесвятского**

Номинация: «Клеточная
биология, генетика»

**ВЛИЯНИЕ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ООПТ
«МЫС МАРТЬЯН» НА УКОРЕНЕНИЕ ЧЕРЕНКОВ ХРИЗАНТЕМЫ
САДОВОЙ**

Работу выполнила:

Сергеенко Алиса Алексеевна,

обучающаяся 11 класса

Муниципального бюджетного
общеобразовательного учреждения

«Ялтинская средняя школа № 12 с
углубленным изучением

иностранных языков» муниципального
образования городской округ

Ялта Республики Крым, обучающаяся
объединения «Биология, экология»

Муниципального бюджетного
учреждения дополнительного

образования «Детский экологический
центр» муниципального образования

городской округ

Ялта Республики Крым

Научный руководитель:

Крайнюк Екатерина Степановна,

руководитель объединения «Биология,
экология» Муниципального

бюджетного учреждения

дополнительного образования

«Детский экологический центр»

муниципального образования

городской округ Ялта Республики

Крым, кандидат биологических наук

г. Ялта – 2023

«ВЛИЯНИЕ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ООПТ «МЫС МАРТЬЯН» НА УКОРЕНЕНИЕ ЧЕРЕНКОВ ХРИЗАНТЕМЫ САДОВОЙ»

Сергеенко Алиса Алексеевна, учащаяся 11 класса Муниципального бюджетного общеобразовательного учреждения «Ялтинская средняя школа № 12 с углубленным изучением иностранных языков» муниципального образования городской округ Ялта Республики Крым, Муниципального бюджетного учреждения дополнительного образования «Детский экологический центр» муниципального образования городской округ Ялта Республики Крым

Руководитель – Крайнюк Екатерина Степановна, педагог дополнительного образования Муниципального бюджетного учреждения дополнительного образования «Детский экологический центр» муниципального образования городской округ Ялта Республики Крым, кандидат биологических наук

Актуальность. Одним из факторов, способных понизить привлекательность декоративных растений, является недостаток одного из наиболее важных для них химического элемента – азота. Дефицит чаще всего восстанавливается путём регулярного внесения в почву минеральных и органических удобрений. Однако данный метод негативно сказывается на экологической обстановке и не позволяет полностью устранить недостаток элемента. В связи с этим активно изучается влияние биологических удобрений, содержащих азотфиксирующие организмы, на рост и развитие растений Хризантемы входят в число наиболее популярных цветочно-декоративных культур. Сорты хризантемы садовой размножаются в основном черенками, на качество укоренения которых влияет насыщение растения питательными веществами. Таким образом, изучение влияния азотфиксирующих микроорганизмов на укоренение черенков хризантемы садовой является актуальной задачей. **Цель работы:** изучить влияние азотфиксирующих микроорганизмов ООПТ «Мыс Мартьян» на укоренение черенков хризантемы садовой (*Chrysanthemum × morifolium*). **Задачи:** провести отбор почвенных образцов на ООПТ «Мыс Мартьян»; изучить физико-химические свойства почвы; произвести посев микроорганизмов на среду Эшби; определить наличие в образцах микроорганизмов рода *Azotobacter*; оценить влияние почвенных бактерий на максимальную длину корней укоренённых черенков хризантемы садовой; оценить влияние почвенных бактерий на количество порядков ветвления корней укоренённых черенков хризантемы садовой.

В данной работе проведено изучение растительно-микробных взаимодействий хризантемы садовой (*Chrysanthemum × morifolium*) и азотфиксирующих микроорганизмов ООПТ «Мыс Мартьян». В почвах ООПТ «Мыс Мартьян», сильно различающихся по уровню влажности (от 3,3 до 39,8%), гранулометрическому составу (преобладают легкосуглинистые и среднесуглинистые почвы) и являющихся бедными на нитраты, были обнаружены азотфиксирующие микроорганизмы. Выдвинуто предположение о том, что наибольшее количество азотфиксирующих бактерий содержится в относительно более увлажнённых почвах. Установлена принадлежность культивированных организмов к роду *Azotobacter*. Обнаружено достоверное стимулирующее влияние культивированных бактерий рода *Azotobacter* из почвенных образцов, взятых на ООПТ «Мыс Мартьян» на корнеобразование у зеленых черенков хризантемы садовой сорта Sabo. Установлено, что как наиболее быстро растущие себя проявляют микроорганизмы, собранные в местах, тесно связанных с источниками воды, что располагает к более детальному изучению темы.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных сокращений	4
Введение	5
Раздел 1. Краткий литературный обзор	7
1.1. Роль азота в жизнедеятельности растений. Борьба с дефицитом азота посредством внесения минеральных удобрений	7
1.2. Альтернативные методы борьбы с дефицитом азота. Биологические удобрения. Бактериальная фиксация атмосферного азота	8
.... 1.3. Хризантема садовая. Использование в озеленении	8
Раздел 2. Условия, объекты, материалы и методы исследования	9
2.1. Характеристика ООПТ «Мыс Мартьян»	9
2.2. Отбор образцов почвы. Изучение их физико-химических свойств. Проведение микробиологического посева. Микроскопия	9
2.3. Вегетативное размножение хризантем. Обработка растений бактериями	10
Раздел 3. Результаты и их обсуждение	12
3.1. Изучение физико-химических свойств образцов почвы	12
3.2. Культивирование азотфиксирующих микроорганизмов	13
3.3. Изучение влияния культивированных бактерий рода <i>Azotobacter</i> на корнеобразование хризантемы садовой	14
Выводы	16
Заключение	17
Список использованной литературы	18
Приложение А.	20
Приложение Б.	22

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

НБС–ННЦ	Федеральное бюджетное учреждение науки «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр Российской Академии Наук»
ЮБК	Южный берег Крыма
ООПТ	Особо охраняемая природная территория

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Одним из факторов, способных понизить привлекательность декоративных растений, является недостаток одного из наиболее важных для них химического элемента – азота [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Данный дефицит чаще всего восстанавливается путём регулярного внесения в почву различных агрохимикатов, например, минеральных и органических удобрений [7]. Однако данный метод негативно сказывается на экологической обстановке и не позволяет полностью устранить недостаток элемента [8]. В связи с этим активно изучается влияние биологических удобрений, содержащих азотфиксирующие организмы, на рост и развитие растений [7]. Хризантемы входят в число наиболее популярных цветочно-декоративных культур. Сорты хризантемы садовой размножаются в основном черенками, на качество укоренения которых влияет насыщение растения питательными веществами [11, 12]. Таким образом, изучение влияния азотфиксирующих микроорганизмов на укоренение черенков хризантемы садовой является актуальной задачей.

Целью данной работы было изучить влияние азотфиксирующих микроорганизмов ООПТ «Мыс Мартьян» на укоренение черенков хризантемы садовой (*Chrysanthemum × morifolium*).

В задачи входило:

1. провести отбор почвенных образцов на ООПТ «Мыс Мартьян»;
2. изучить физико-химические свойства почвы;
3. произвести посев микроорганизмов на среду Эшби;
4. определить наличие в образцах микроорганизмов рода *Azotobacter*;
5. оценить влияние почвенных бактерий на максимальную длину корней укоренённых черенков хризантемы садовой;
6. оценить влияние почвенных бактерий на количество порядков ветвления корней укоренённых черенков хризантемы садовой.

Объект: растительно-микробные взаимодействия хризантемы садовой (*Chrysanthemum × morifolium*) и азотфиксирующих микроорганизмов ООПТ «Мыс Мартьян»

Предмет: биология рода *Chrysanthemum*

Место и сроки проведения работы.

Место проведения. Почвенные образцы были собраны на ООПТ «Мыс Мартьян». Определение кислотности почвы, содержания в ней нитратов, гранулометрического состава, бактериальный посев и микроскопия проводились с использованием приборной базы «НБС–НИЦ РАН» – микроскопа OLYMPUS CX 41 с камерой OLYMPUS U-TV 0.5XC, термостата, ионометра «Экотест -120». Корнеобразование у зеленых черенков хризантемы изучали в теплично-парниковом комплексе «НБС-НИЦ РАН».

Сроки. Исследование проводилось в несколько этапов: отбор почвенных образцов на ООПТ «Мыс Мартьян» проводился в августе 2022 года, изучение их гранулометрического состава, кислотности, содержания нитрат-ионов – в октябре 2022 года. Бактериальный посев на среду Эшби и микроскопия были проведены в декабре 2022 года. Вторым этапом, проводившимся в период с апреля по июнь 2023 года, было изучение влияния азотфиксирующих микроорганизмов на укоренение черенков хризантемы садовой.

Результаты реализации: в почвах ООПТ «Мыс Мартьян» были обнаружены азотфиксирующие микроорганизмы. Почвы сильно различаются по уровню влажности (от 3,3 до 39,8%), гранулометрическому составу (преобладают легкосуглинистые и среднесуглинистые почвы), являются бедными на нитраты. Можно сделать предположение о том, что наибольшее количество азотфиксирующих бактерий содержится в относительно увлажненных почвах. Установлена принадлежность культивированных организмов к роду *Azotobacter*. Обнаружено достоверное стимулирующее влияние культивированных бактерий рода *Azotobacter* из почвенных образцов, взятых на ООПТ «Мыс Мартьян» на корнеобразование у зеленых черенков хризантемы садовой сорта Sabo. Установлено, что как наиболее быстро растущие себя проявляют микроорганизмы, собранные в местах, тесно связанных с источниками воды, что располагает к более детальному изучению подобных фитоценозов.

Практическая значимость работы: результаты работы могут быть использованы в производстве саженцев хризантемы садовой, а также позволят сделать размножение хризантем более экологичным.

РАЗДЕЛ 1. КРАТКИЙ ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Роль азота в жизнедеятельности растений. Борьба с дефицитом азота посредством внесения минеральных удобрений

В естественных условиях наземные растительные организмы в основном получают минеральные вещества, необходимые для их жизнедеятельности, из почвы. Минеральное питание является совокупностью процессов поглощения, связывания и транспорта минеральных ионов к другим клеткам и тканям растения. Юстус Либих (J. Liebig), считающийся основателем учения о минеральном питании, в 1840 г. опубликовал книгу «Химия в приложении к земледелию и физиологии». В ней он утверждал, что основа плодородия почв – это минеральные соли.

На данный момент принято разделять минеральные вещества в растениях на три группы, в зависимости от их содержания в растительных тканях в расчёте на сухую массу: макроэлементы (N, P, K, Ca, Mg, S, Si) и микроэлементы (Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, B, Cl, Ni). Содержание макроэлементов варьирует от 1,5 до 0,1%, тогда как содержание микроэлементов составляет <0,01% [1].

Азот – элемент, имеющий наибольший процент (1,5%) содержания в растительных тканях. Он входит в состав аминокислот, амидов, нуклеиновых кислот, многих простых и сложных соединений. Содержание азота в атмосфере достигает 78%. Несмотря на это, для растений этот элемент является самым дефицитным, так как они не способны усваивать атмосферный молекулярный азот (N₂) [2]. Из почвы растения получают азот главным образом в форме аниона NO₃⁻ и катиона NH₄⁺ [3].

Недостаточное насыщение растения азотом может приводить к снижению фотосинтетической активности, нарушению ассимиляции и транспорта веществ, роста и развития листьев, главных и боковых корней, способствует формированию более мощных клеточных стенок корней с более плотной сшивкой полимеров [3, 4, 5, 6]. При продолжительном азотном голодании в растениях наблюдается гидролиз белков, распад хлорофилла, а в конечном итоге появление инфильтрационных пятен и отмирание тканей [1].

В 1 га чернозёма содержится около 200 кг азота, находящегося в форме, доступной для растений. Растения нуждаются в большом количестве этого элемента: например, в год растения кукурузы (вегетативная масса 50 ц/га, средний урожай зерна 35 ц/га) потребляют 85 кг азота на 1 га в год [1].

При выращивании растений с целью получения качественного урожая или повышения привлекательности территории необходимо вносить азотные удобрения. Однако чрезмерное использование химических удобрений приводит к истощению питательных ресурсов (снижению плодородия почвы) и общему ухудшению экологической ситуации [7]. Также, в Российской Федерации использование азотных удобрений не обеспечивает полного

возвращения элемента, затраченного на выращивание растения: отрицательный баланс по азоту составляет около 1 млн тонн в год [8].

1.2. Альтернативные методы борьбы с дефицитом азота. Биологические удобрения. Бактериальная фиксация атмосферного азота

В связи с необходимостью поиска иных методов полного или частичного (при использовании вместе с минеральными удобрениями) обеспечения растений азотом, повышенное внимание уделяется разного рода микроорганизмам [9].

Большая часть азота, содержащаяся в почве в доступной для растений форме, является результатом действия различных азотфиксаторов. Они производят фиксацию молекулярного азота, используя для этого фермент нитрогеназу, и восстанавливают его до аммиака.

Азотфиксирующие микроорганизмы разделяют на симбиотические и свободноживущие. Последние были впервые описаны С. Н. Виноградским в 1893 г. На данный момент группа включает несколько родов бактерий (*Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus* др.), некоторые штаммы *Clostridium*, несколько родов цианобактерий, ряд фотосинтезирующих бактерий, археи *Methanococcus*[1].

На данный момент, как на основе симбиотических, так и свободноживущих микроорганизмов уже были созданы биопрепараты, являющиеся дополнительным источником азота для сельскохозяйственных культур [10]. Тем не менее, использование азотфиксирующих бактерий для стимуляции роста декоративных растений всё ещё не является распространённой практикой.

1.3. Хризантема садовая. Использование в озеленении

Представители рода хризантем (*Chrysanthemum*), в частности, хризантема садовая (*Chrysanthemum × morifolium*) являются одними из самых популярных цветочных культур для садово-паркового оформления и выращивания на срез. Примечательно, что культура является осеннецветущей [11].

Благоприятные природные условия ЮБК способствуют выращиванию хризантем в открытом грунте, а также селекционной работе. Показатели роста, накопления сухого вещества и содержания воды в тканях растений свидетельствует о подходящих для них условиях [12].

Как и многие другие цветочные культуры, хризантемы размножаются вегетативно (черенкованием, делением куста). Семенной метод используется только в селекционной работе, так как является достаточно сложным процессом и не позволяет сохранить качества сорта. Наиболее распространённым методом размножения является зелёное черенкование. Черенки легко укореняются в различных субстратах, однако на качественные характеристики корневой системы влияние оказывают внешние факторы, в том числе обеспеченность минеральными веществами, факт внесения удобрений, стимуляторов роста [11].

РАЗДЕЛ 2.

УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика ООПТ «Мыс Мартьян»

Природный парк «Мыс Мартьян» расположен на ЮБК, в зоне с условно субтропическим средиземноморского типа климатом, на территории засушливого и умеренно жаркого Южнобережного агроклиматического района Крыма, характеризующимся субтропической зимой и наибольшей теплообеспеченностью [14, 15]. Период с температурой выше 10°C продолжается 7 месяцев. Периода с устойчивыми отрицательными температурами нет. Опасные для растений весенние и осенние заморозки почти полностью отсутствуют. Лето засушливое, умеренно жаркое (абсолютные максимумы не превышают 36°C). Преобладающее количество осадков выпадает в холодный период года (с ноября по март). Годовая сумма осадков – 589 мм.

«Мыс Мартьян» – уникальный участок ЮБК, где сохранились почти в полной неприкосновенности типичные для Крымского субсредиземноморья природные комплексы. Становление его как природного заповедника произошло в 1973 году, а почвы, флора и фауна здесь активно изучаются более 200 лет [13]. По данным за 2018 год, на ООПТ произрастает 1141 вида растений, 555 из которых относятся к сосудистым растениям. 67 видов (45 видов сосудистых растений) являются редкими [16, 17].

Исходя из представленных данных, можно сделать вывод о том, что ООПТ «Мыс Мартьян» включает в себя множество уникальных фитоценозов, которые обеспечивают также большое разнообразие микробиомов, что позволит выявить новые штаммы азотфиксирующих бактерий. Но на данный момент таких исследований не проводилось.

2.2. Отбор образцов почвы. Изучение их физико-химических свойств. Проведение микробиологического посева. Микроскопия

Для проведения исследования был проведён отбор почвенных образцов из десяти различных фитоценозов, каждому из которых был присвоен порядковый номер:

1 – смешанный лес с преобладанием дуба пушистого (*Quercus pubescens* Willd.) и можжевельника высокого (*Juniperus excelsa* M. Bieb.);

2 – смешанный лес с преобладанием сосны крымской (*Pinus nigra* J.F. Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.));

3 – приморский экотоп;

4 – прибрежный смешанный лес с преобладанием фисташки туполистной (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica* (Fisch. & C.A. Mey.) и можжевельника высокого (*Juniperus excelsa* M. Bieb.);

5 – прибрежный смешанный лес с преобладанием фисташки туполистной (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica* (Fisch. & C.A. Mey.) и

можжевельника высокого (*Juniperusexcelsa* M. Bieb.), склон северной экспозиции;

6 – сообщество с преобладанием земляничника мелкоплодного (*Arbutusandrachne* L.) и можжевельника дельтовидного (*Juniperusdeltoides* R. P. Adams) на осыпи;

7 – сухое русло пересыхающего ручья;

8 – пушистодубовый лес (*Quercuspubescens* Willd.), под экземпляром инвазивного вида *Quercusilex* L.;

9 – пушистодубовый лес (*Quercuspubescens* Willd.), под растениями инвазивного вида *Vupleurumfruticosum* L. ;

10 – берег ручья, протекающего по дну оврага в лесу сосны крымской (*Pinusnigra* J.F. Arnolds subsp. *pallasiana* (Lamb.).

При изучении физико-химического состава и свойств почв использовались методические материалы проекта «Охотники за микробами». Исследования проводились с использованием приборной базы лаборатории цветоводства «НБС-НИЦ».

Для анализа кислотности почвы и содержания нитратов, изготавливались почвенные водные вытяжки по методике Е.В. Аринушкиной [18]. Кислотность образцов оценивалась при помощи индикаторной бумаги. Содержание нитратов изучалось при помощи ионометра «Экотест -120».

Гранулометрический состав почвы определялся скатыванием шнура по методике Н.А. Качинского [19].

Для культивирования азотфиксирующих микроорганизмов использовалась селективная среда Эшби, посев проводился с использованием метода обрастания почвенных комочков [20]. На поверхности среды в чашке Петри на равном расстоянии друг от друга располагались 50 почвенных комочков. Образцы инкубировались в термостате при температуре 27°C. Динамика роста колоний была составлена по данным за X, У, 0 день.

Микроскопия проводилась с использованием микроскопа OLYMPUS CX 41 с камерой OLYMPUS U-TV 0.5XC. Наличие микроорганизмов рода *Azotobacter* устанавливалось по характерным для данных бактерий слизистым капсулам [21]. Было проведено окрашивание фуксином Циля и тушью по методу Бурри-Гинса [22] (Приложение А).

2.3. Вегетативное размножение хризантем. Обработка растений бактериями

Вегетативное размножение хризантем осуществлялось по методу зелёного черенкования. При зелёном черенковании черенки срезают с маточного растения в период интенсивного отрастания [23].

Было отобрано 80 черенков сортов *Sabo* и *Крымское утро* (на каждый из сортов приходилось 40 черенков). Внутри каждого сорта были сформированы две группы – «Контроль» (20 черенков) и «Опыт» (20 черенков) (Приложение Б).

Перед высадкой в почвенный субстрат каждый черенок из группы «Опыт» обрабатывался бактериальной суспензией, содержащей

азотфиксирующие микроорганизмы, а каждый черенок группы «Контроль» – дистиллированной водой.

Укоренение черенков проводили в теплице на стеллаже с хорошим дренажем, в почвенном субстрате, состоящем из дерновой земли, торфа верхового и песка речного в соотношении 2:1:1.

Температура воздуха в теплице при укоренении составляла +15-20°C. Полив и опрыскивание водой проводили один раз в 3-4 дня для поддержания почвенного субстрата во влажном состоянии.

Измерение наибольшей длины корней (в двукратной повторности) и количества порядков ветвления проводилось вручную, на 56 день эксперимента (Приложение Б).

Обработку полученных данных проводили по общепринятым методам статистического анализа с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010.

РАЗДЕЛ 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Изучение физико-химических свойств образцов почвы

На территории природного парка ООПТ «Мыс Матьян» обнаружены почвы с четырьмя типами гранулометрического состава (таблица 3.1). Распределение этих типов почв неравномерное: преобладают легкосуглинистые и среднесуглинистые почвы (Рис. 3.1).

Таблица 3.1

Распределение почвенных образцов по гранулометрическому составу

Тип гранулометрического состава	Образцы
Песчаный	1
Легкосуглинистый	3,5,6
Среднесуглинистый	2,7,9
Тяжелосуглинистый	4,8

Влажность почвенных образцов находилась в диапазоне от 3,3 до 39,8% (Рис 3.1). Наибольшей влажностью обладал образец №10, а наименьшей – образец №3.

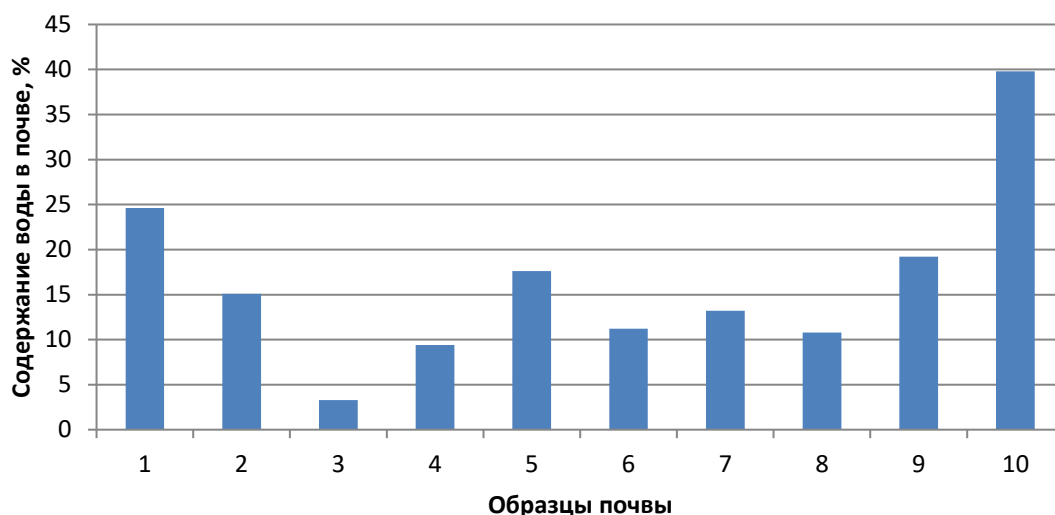


Рис 3.1. – Влажность почвенных образцов

Содержание нитратов в образцах оказалось достаточно низким, потому в 7 из 10 образцах почву можно охарактеризовать, как бедную. Достаточно резкий скачок в содержании нитратов обнаружен у образцов 1, 4, 5. Полученные результаты представлены на Рис 3.2.

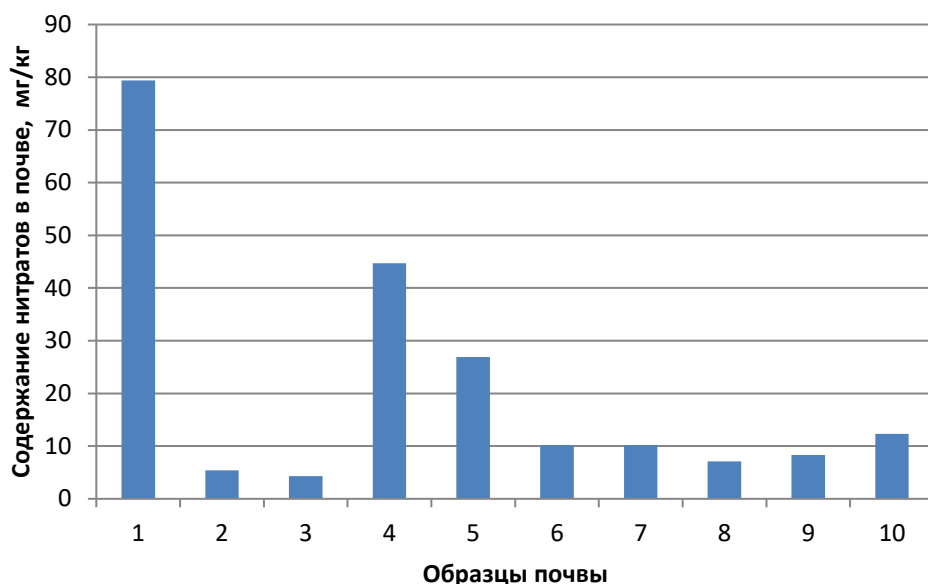


Рис. 3.2. – Содержание нитратов в почвенной вытяжке

3.2. Культивирование азотфиксирующих микроорганизмов

Для выявления азотфиксирующих организмов в собранных образцах почвы проводился бактериальный посев на селективную без азотную среду Эшби с использованием метода обрастания почвенных комочков.

Обрастание почвенных комочков началось на 4-й день у двух образцов (7 и 10). На седьмой день также было отмечено незначительное обрастание комочков в почвенном образце №3 (рис. 3.3.)

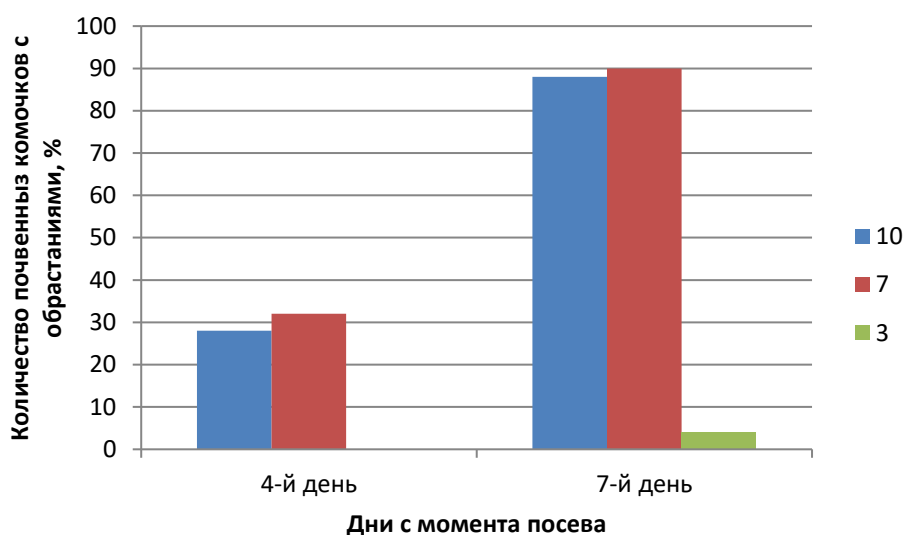


Рис. 3.3. –Динамика роста колоний с первого до седьмого дня от посева

Примечательно, что образцы 7 и 10 были собраны в местах, где протекала и/или протекает вода.

Принадлежность к роду *Azotobacter* определялась посредством окрашивания по методу Бурри-Гинса и дальнейшей микроскопии. Метод

Бурри-Гинса применяется для обнаружения слизистых капсул, которые образуются у некоторого числа бактерий, выполняя при этом защитную функцию. *Azotobacter* относится к числу микроорганизмов, способных к образованию подобных капсул, которые являются одним из их наиболее характерных признаков. Часто бактерии образуют, также, характерные структуры, напоминающие восьмёрки. Была использована безазотная среда Эшби, что позволило исключить принадлежность обнаруженных организмов к бактериям, не способным к фиксации азота.

3.3. Изучение влияния культивированных бактерий рода *Azotobacter* на корнеобразование хризантемы садовой

Было изучено влияние найденных азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter* на укоренение черенков двух сортов (Sabo, Крымское Утро) хризантемы садовой. Черенки обрабатывались бактериальной суспензией и помещались в грунт для укоренения. На 56 день от начала эксперимента был проведён подсчет количества порядков ветвления корней и измерена их максимальная длина. Результаты измерений приведены в таблице 2.

Таблица 3.2

Влияние обработки суспензией бактерий рода *Azotobacter* на параметры корневой системы при укоренении черенков хризантемы

Сорт	Средняя длина корней, см ($\mu \pm sd$)	Достоверность различий ($t_{\text{крит}} = 2.64$ при $p \leq 0.01$)	Среднее количество порядков ветвления ($\mu \pm sd$)	Достоверность различий ($t_{\text{крит}} = 2.71$ при $p \leq 0.01$)
Sabo(опыт)	10,91±2.35	Подтверждена ($t_{\text{эмп}} = 3,6$)	2,2±0.52	Подтверждена ($t_{\text{эмп}} = 2,9$)
Sabo (контроль)	8,85±2.87		1,8±0.41	
Крымское Утро (опыт)	10,66±2.02	Не подтверждена ($t_{\text{эмп}} = 1,5$)	2,75±0.44	Не подтверждена ($t_{\text{эмп}} = 1,7$)
Крымское Утро(контроль)	11,39±2.48		2,5±0.51	

Установлено, что у сорта Sabo обработка суспензией азотфиксирующих бактерий оказывала достоверное положительное влияние на среднюю максимальную длину корней и количество их порядков. Разброс максимальной длины корней у контрольных образцов составил от 2см до 15,4 см, а у опыта от 7,2см до, 17,5см. Между опытом и контролем установлены достоверные различия средних величин.

У сорта Крымское Утро достоверность различий не подтверждена. Разброс по максимальной длине корней составил от 6,3см до 17,8 см у контроля и от 6см до 15,1 см у опыта.

Таким образом, продолжение изучения влияния бактерий на корнеобразование у хризантемы садовой является перспективной задачей.

ВЫВОДЫ

1. В почвах ООПТ «Мыс Мартьян» были обнаружены азотфиксирующие микроорганизмы.
2. Почвы сильно различаются по уровню влажности (от 3,3 до 39,8%), гранулометрическому составу (преобладают легкосуглинистые и среднесуглинистые почвы), являются бедными на нитраты
3. Можно сделать предположение о том, что наибольшее количество азотфиксирующих бактерий содержится в относительно увлажненных почвах.
4. Установлена принадлежность культивированных организмов к роду *Azotobacter*.
5. Обнаружено достоверное стимулирующее влияние культивированных бактерий рода *Azotobacter* из почвенных образцов, взятых на ООПТ «Мыс Мартьян» на корнеобразование у зеленых черенков хризантемы садовой сорта Sabo.
6. Установлено, что как наиболее быстро растущие себя проявляют микроорганизмы, собранные в местах, тесно связанных с источниками воды, что располагает к более детальному изучению подобных фитоценозов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хризантемы входят в число наиболее популярных цветочно-декоративных культур, выращиваемых в разных уголках нашей страны. Сорты хризантемы садовой размножаются в основном черенками, на качество укоренения которых влияет насыщение растения питательными веществами. С помощью использования азотфиксирующих микроорганизмов можно оказать положительное влияние на корнеобразование у зеленых черенков хризантемы садовой.

Таким образом, изучение влияния азотфиксирующих микроорганизмов на укоренение черенков хризантемы садовой является актуальной задачей и имеет прикладное значение. Результаты работы могут быть использованы в производстве саженцев хризантемы садовой, а также позволят сделать размножение хризантем более экологичным.

Автор работы выражает благодарность научному отделу и отделу экосистем «НБС-ННЦ РАН» за предоставленную возможность проведения собственных исследований и опытов в полевых и лабораторных условиях.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Медведев, С. С. Физиология растений [Тест]: учебник / С. С. Медведев. – СПб.: БХВ-Петербург, 2021. – 506 с.: ил. – (Учебная литература для вузов)
2. Игнатов, В. В. Биологическая фиксация азота и азотфиксаторы [Тест]/ В. В. Игнатов – Соросовский образовательный журнал №9, 1998
3. Мейчик, Н. Р., Влияние дефицита азота на ионообменные свойства полимеров клеточных стенок корней пшеницы [Тест]/ Н. Р. Мейчик, Ю. И. Николаева, М. А. Кушунина. – Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2017. №2.
4. Cramer, M.D., The influence of NO₃[—] and NH₄⁺ nutrition on the carbon and nitrogen partitioning characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants [Тест]/ M.D. Cramer, O.A.M. Lewis. – Plant Soil. 1993. Vol. 154. N. 2. P. 289—300.
5. Wilcox, G.E., Ammonium reduction of calcium and magnesium content of tomato and sweetcorn and influence on incidence of blossom end rot of tomato fruit [Тест]/ G.E. Wilcox, J.E. Ho, C.M.J. Jones. – Am. Soc. Hort. Sci. 1973. Vol. 98. N. 1. P 86—89.
6. Kovacik, J., Changes of phenolic metabolism and oxidative status in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* plants [Тест]/ J. Kovacik, M. Backor. – Plant Soil. 2007. Vol. 297. N. 1. P. 255—265.
7. Алещенкова, З.Н. Микробные удобрения для стимуляции роста и развития растений [Тест]/ З.Н. Алещенкова. – Наука и инновации. 2015. №150.
8. Сычев, В.Г., Агрохимические свойства почв и эффективность минеральных удобрений [Тест]/ В.Г. Сычев, С.А. Шафран. – М.: ВНИИА. 2013. 296 с.
9. Завалин, А.А. Оптимизация минерального питания и продуктивности растений при использовании биопрепаратов и удобрений [Тест]/ А.А. Завалин. – Достижения науки и техники АПК. 2015. №5.
10. Тихонович, И.А., Биопрепараты в сельском хозяйстве (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве) [Тест]/ И.А. Тихонович [и др.] – М.: Россельхозакадемия, 2005. 154 с.
11. Смыкова, Н. В. Результаты применения различных стимуляторов корнеобразования и ростовых веществ при черенковании хризантемы садовой крупноцветковой [Тест]/ Н. В. Смыкова. – Бюллетень ГНБС. 2019. №131.
12. Смыкова, Н. В. Технология возделывания хризантемы садовой крупноцветковой на Южном берегу Крыма [Тест]/ Н. В. Смыкова. – Биология растений и садоводство: теория, инновации. 2017. №145.
13. Крайнюк, Е.С. Современное состояние растительного покрова природного заповедника "Мыс Мартьян" [Тест]/ Е.С. Крайнюк. – Научные записки природного заповедника «Мыс Мартьян». 2013. №4.

14. Антюфеев, В.В. Агроклиматические, микроклиматические и почвенные условия в приморской полосе Южного берега Крыма. Теоретические основы и практические рекомендации для рационального размещения растений при реконструкции насаждений [Тест]/ В.В. Антюфеев [и др.] – Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада, –2014. –Т.137.–С.5–87.
15. Черенковаю, Н.Н. Агроклиматический справочник по Крымской области [Тест]/ Отв. ред. Н.Н. Черенковаю. – Л.: Гидрометеиздат, 1959.– 135с.
16. Ежов, В.Н. Роль природного заповедника "Мыс Мартьян" в сохранении природы Крыма [Тест]/ И.И. Маслов. – Научные записки природного заповедника «Мыс Мартьян». 2013. №4.
17. Крайнюк, Е.С. Ботанические исследования в заповеднике "Мыс Мартьян": 45-летние итоги [Тест]/ Е.С Крайнюк. – Научные записки природного заповедника «Мыс Мартьян», 2018. №9.
18. Аринушкина, Е. В. Руководство по химическому анализу почв: учебник [Тест]/ Е. В Аринушкина. – М.: МГУ, 1961. - 490 с.
19. Качинский, Н.А. Физика почв. Ч.1.: учебник [Тест] – М.: Наука, 1965. 321 с.
20. Методы почвенной микробиологии и биохимии: учебника [Тест] – М.: Изд-во МГУ, 1980. 223 с.
21. Логинов, Я.О., ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ AZOTOBACTER VINELANDII И ПРЕПАРАТА "АЗОПОЛ" НА ЕГО ОСНОВЕ НА МАКРООРГАНИЗМ [Тест]/ Я.О. Логинов [и др.] – Токсикологический вестник, 2008. №3 (90).
22. Ильинский, В. В. Оценка влияния условий культивирования на способность микроорганизмов сточных вод к флокуляции [Тест]/ В. В. Ильинский [и др.] – Вестник МГТУ, 2017. №2.
23. Золотарёва, А. Г. ВЕГЕТАТИВНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ МЕЛКОЦВЕТКОВЫХ СОРТОВ И ГИБРИДНЫХ ФОРМ CHRYSANTHEMUM x MORIFOLIUM (RAMAT.) NEMSL. МЕТОДОМ ЗЕЛЕННОГО ЧЕРЕНКОВАНИЯ [Тест]/ А. Г. Золотарёва. – Биологическое разнообразие и интродукция растений. 2021. №1.
24. Селивановская, С. Ю. Микроорганизмы в круговороте биогенных элементов [Тест]/ С. Ю. Селивановская. – Казань: Казан.ун–т, 2014. – 38 с. 26.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
ПРОВЕДЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПОСЕВА И
МИКРОСКОПИИ

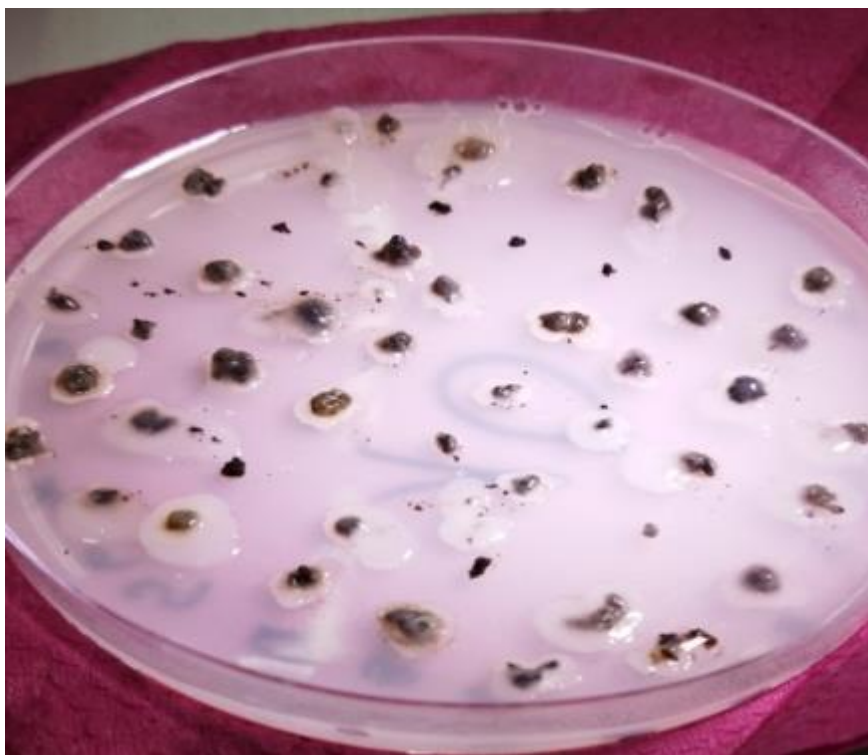


Рис А.1 – Чашка Петри с почвенными комочками, покрытыми колониями микроорганизмов.

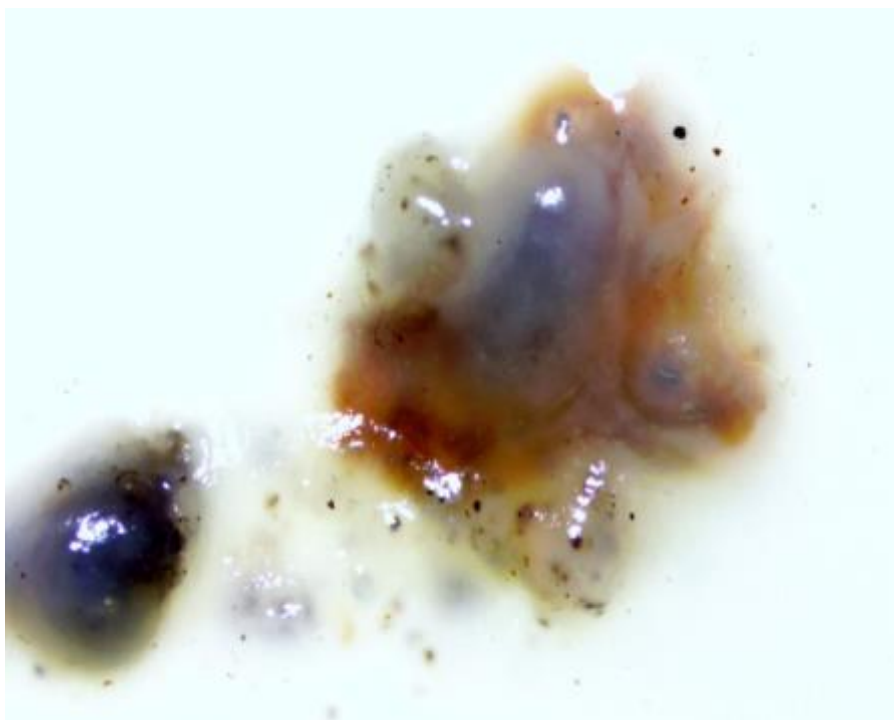


Рис А.2 – Обрастание почвенного комочка образца №10

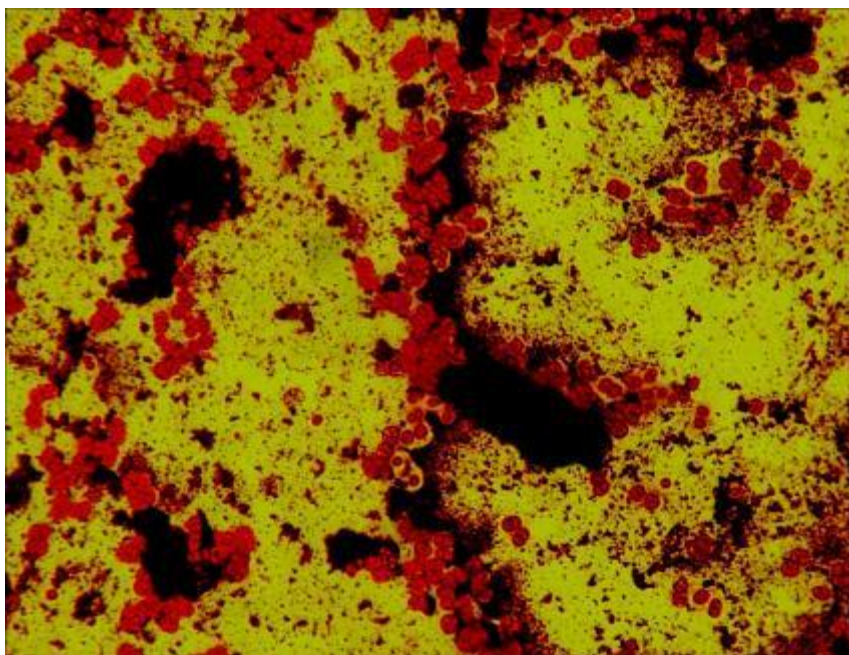


Рис А.3 – Результат микроскопии одного из штаммов образца № 10
(x1000)

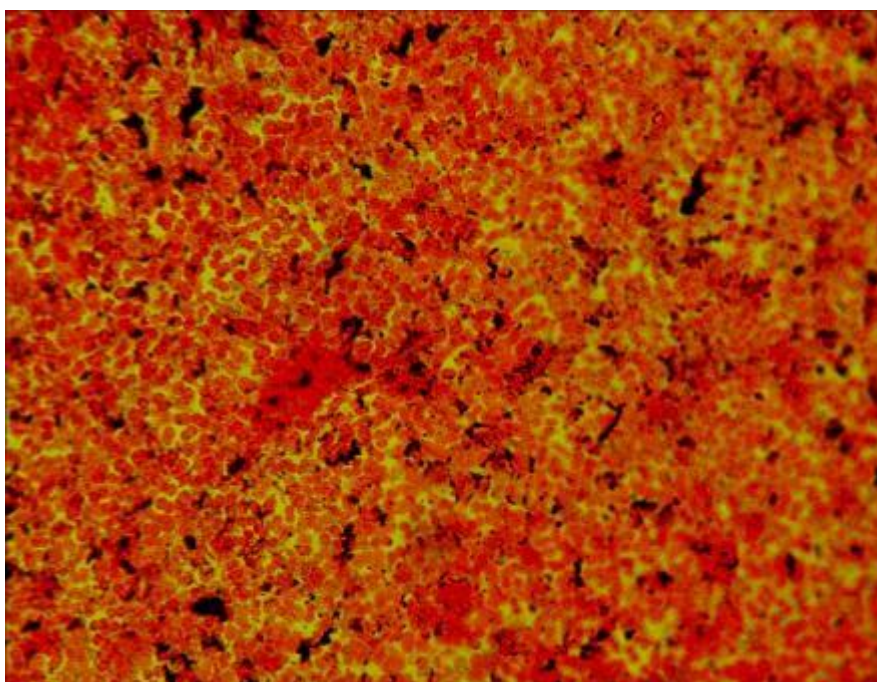


Рис А.4 – Результат микроскопии одного из штаммов образца №7
(x1000)

ПРИЛОЖЕНИЕ Б
ПОСТАНОВКА ЭКСПЕРИМЕНТА ПО УКОРЕНЕНИЮ
ХРИЗАНТЕМЫ САДОВОЙ



Рис Б.1 – Укоренённые черенки хризантем в субстрате



Рис Б.2 – Сравнение длины корней контроля (справа) и опыта (слева) сорта Sabo



Рис Б.3 – Сравнение длины корней контроля (справа) и опыта (слева) сорта Крымское утро