

Удмуртская Республика  
Муниципальное бюджетное образовательное учреждение  
дополнительного образования «Центр внешкольной работы»  
Завьяловского района  
Объединение «Мир растений в опытах и экспериментах»

Всероссийский конкурс юных исследователей окружающей среды  
имени Б.В. Всесвятского (с международным участием)

Номинация «Юные исследователи»

Исследовательская работа

**АКТИВНОСТЬ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ  
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЗАСОРЕННОСТИ  
БОРЩЕВИКОМ СОСНОВСКОГО НА РАЗНЫХ ТИПАХ ПОЧВЫ**

Выполнила: Мухаммад Фарид Мухаммад  
Талха, учащаяся 7 класса МБОУ  
«Первомайская СОШ им. А.Н. Сабурова»,  
обучающаяся МБОУ ДО «ЦВР» Завьяловского  
района

Руководитель: Тронина Любовь Олеговна,  
педагог дополнительного образования  
МБОУДО «Центр внешкольной работы»

с. Завьялово, 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение .....	3
1. Обзор литературы.....	4
1.1 История появления борщевика Сосновского в селе Первомайский .....	4
1.2 Биологические особенности и вредоносность борщевика Сосновского .....	5
1.3 Методы борьбы с борщевиком Сосновского .....	7
1.4 Знакомство с <i>Azotobacter</i> .....	8
2. Методика исследований .....	10
3. Результаты исследований .....	11
Выводы.....	15
Заключение.....	16
Список использованных источников.....	17

## Введение

Одной из особенностей села Первомайский Завьяловского района Удмуртской Республики является высокая засоренность борщевиком Сосновского так как в 60-х годах здесь был региональный центр его возделывания в качестве кормовой культуры для крупного рогатого скота [14]. В настоящее время растение проявляет себя как агрессивный вид – заселяет придорожные полосы, луга, берега водоемов, подступает к домам, вытесняя естественную растительность. На коже человека фурукумарины сока борщевика провоцируют сильнейшие ожоги I II степени. Гербицидная обработка борщевика вредна для человека и биологического разнообразия фитоценозов [10, 12, 18]. Поэтому чрезвычайно важно найти эффективные биологические методы борьбы с агрессором в населенных пунктах и заповедниках.

Так как борщевик Сосновского вытесняет другие виды растений, мы предполагаем, что выделения его корней и плодов также подавляют и жизнедеятельность микроорганизмов, в том числе азотфиксирующих.

Цель исследований – изучить активность азотфиксирующих бактерий в моновидовых зарослях борщевика Сосновского на разных типах почв Удмуртской Республики. Выявить уникальные бактерии, устойчивые к воздействию борщевика Сосновского, которые можно будет использовать для разработки биологических методов борьбы с ним.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Отобрать почвенные образцы на трех типах почв: дерново-подзолистые, пойменные дерновые и светло-серые лесные с двух горизонтов 0-10 и 10-20 см.
2. Определить физические и химические свойства отобранных образцов: механический состав, кислотность, наличие карбонатов.
3. Определить содержание органического вещества и биологическую активность почвы абсорбционным методом по Шаркову (1984).
4. Посеять и наблюдать за ростом колоний азотфиксирующих бактерий на селективной среде Эшби с контролем их развития через 4, 7 и 10 дней после посева.
5. Отобрать пробы из выделившихся колоний для обнаружения клеток *Azotobacter*.

Исследования проводились в 2023 г. на территории села Первомайский Завьяловского района Удмуртской Республики. Нами было отобрано 30 почвенных образцов на трех типах почв в моновидовых зарослях борщевика, а также на луговом участке, где борщевик постоянно уничтожается жителями путем скашивания и гербицидной обработки, и на пойменном участке, где борщевик никогда не рос, не смотря на многолетние пограничные его заросли.

Объект исследования – аэробные свободноживущие бактерии рода *Azotobacter*.

## 1. Обзор литературы

### 1.1. История появления борщевика Сосновского в селе Первомайский

В тяжелые послевоенные годы необходима была культура, способная быстро и качественно укрепить кормовую базу сельскохозяйственных животных. Борщевик Сосновского идеально подходил по всем параметрам. Это многолетнее растение абсолютно не требует затрат на возделывание, не нуждается в уходе, безразличен к плодородию почвы, устойчив к болезням и вредителям, хладоустойчив, быстро отрастает весной, формирует огромную биомассу, богатую углеводами, протеином, витаминами и микроэлементами.

Борщевик Сосновского был найден в Грузии и описан в 1944 г. Идой Манденовой. Свое ботаническое название этот вид получил в честь исследователя флоры Кавказа Дмитрия Ивановича Сосновского (1885–1952). А свое родовое название *Heracleum* - за высоту стебля до 3-4 м и большой размер листа до 1 м. Естественные места произрастания – восточная часть Большого Кавказа, Восточное и Юго-Восточное Закавказье, Северо-Восток Турции, где этот вид растёт в горных лесах и на субальпийских лугах [7, 11, 15, 16, 18].

В Кабардино-Балкарской АССР было предложено использование борщевика Сосновского для силосования, и в 1947 г. в Полярно-Альпийском ботаническом саду этот вид был введен в первичную культуру, изучен и рекомендован для выращивания, как кормовое растение. Исследования, проводившиеся в Ереване, Киеве, Минске, Петрозаводске, Санкт-Петербурге, Москве и Сыктывкаре показали, что Нечерноземная и Черноземная зоны нашей страны являются лучшими для выращивания этой высокопродуктивной и устойчивой культуры. [11, 16].



Рисунок 1 - Уборка борщевика Сосновского на силос, 1960-е гг.

В 1956 г. вид был включён в список растений, подлежащих полупроизводственным испытаниям в качестве силосного растения. В 1960-е – 1970-е гг. началась масштабная интродукция борщевика Сосновского по всему Советскому Союзу. Наряду с крупными научно-производственными организациями большую роль играли региональные сельскохозяйственные опытные станции. Например, в 1973–1976 гг. нашей Удмуртской

сельскохозяйственной опытной станцией было реализовано колхозам и совхозам республики около 17 ц семян, и этого было достаточно, чтобы засеять более 100 гектаров. Исследования по изучению продуктивности новых силосных

растений, в т.ч. борщевика на базе Удмуртской опытной станции, располагавшейся на территории села Первомайский Завьяловского района, велись с 1964 г. Так в 1966 г. на экспериментальных посевах борщевик Сосновского на третьем году жизни за 2 укоса дал 95,5 т/га зеленой массы. Это втрое больше средней урожайности кукурузы в нашем регионе. [11, 15, 16].

Борщевик Сосновского массово выращивали по всей стране, невзирая на то, что большим тормозом в распространении борщевика в культуре являлось свойство сока растений провоцировать ожоги на коже человека. Предполагалось, что этот «недостаток» будет исправлен в ходе селекционной работы. Но селекционная работа с борщевиком Сосновского продолжалась до 1980-х гг. и закончилась ничем, так как наличие фотодинамически активных фурукумаринов в растениях является доминантным признаком. Лишь межвидовое скрещивание растения с другими представителями рода *Heracleum* позволило получить гибриды, лишённые фурукумаринов, однако эти гибриды отличались меньшими размерами и не представляли интереса.

В начале 1980-х гг. было доказано, что фурукумарины сока *H. sosnowskyi* сохраняются в силосе и влияют на качество молока, ослабляя кислотомолочные процессы и придавая горький вкус. Постепенно выяснилось, что специфический запах борщевика сохраняется в мясе и молоке животных, а при наличии других кормов коровы плохо поедают силос из этого растения. Кроме того, стала очевидной опасность борщевика из-за ожогов. В итоге, в 80-е гг. его выращивание прекратилось [11].

## 1.2. Биологические особенности и вредоносность борщевика Сосновского

Борщевик Сосновского – многолетнее монокарпическое растение (т.е. цветущее один раз в жизни). В первый год он формирует розетку листьев и сильную корневую систему, на второй или последующие годы образует соцветие с огромным количеством семян и после плодоношения отмирает. Легко захватывать новые территории борщевик Сосновского помогают следующие биологические особенности:

1. От 20-25 до 100 тысяч семян образует 1 растение!
2. На следующий год прорастают только 20-70 % семян, остальные находятся в почве, не теряя всхожести 2-3 года, а по некоторым данным 5-8 до 15 лет.
3. Фурукумарины сока *H. Sosnowskyi* подавляют прорастание семян других растений. Быстрый рост и огромная площадь листовой поверхности, а также способность расти скученно обуславливают его высокую конкурентную способность.
4. Сочный мощный стебель богатый питательными веществами позволяет семенам дозреть даже на скошенных растениях после оплодотворения цветков.

5. Растения борщевика быстро восстанавливаются после механических повреждений за счет почек возобновления, расположенных на подземной части побега на глубине около 10 см.

6. Корень борщевика Сосновского при ежегодном скашивании без посемена сохраняет жизнеспособность до 10-12 лет. Соответственно скашивание – это самый неэффективный способ борьбы с борщевиком [10, 12, 18].

За период возделывания борщевик Сосновского получил широкое распространение во многих хозяйствах не только Удмуртской Республики, но и всей Европейской части СССР, был завезён в Сибирь и на Дальний Восток. За эти годы он приобрёл способность к самораспространению, вторгаясь в природные экосистемы и проявляя себя как агрессивный вид [11, 12].

В 90-е гг. в связи с разрушением агропромышленного комплекса РФ расселение этого вида вышло из-под контроля и приобрело характер экологического бедствия. Растение заселяет нарушенные экосистемы, в том числе неиспользуемые сельскохозяйственные угодья и придорожные участки, встречается в долинах рек. Образует моновидовые заросли на больших площадях, уничтожая привычный облик ландшафтов. Наиболее уязвимы луговые кормовые и лекарственные растения, которые быстро исчезают из фитоценоза.



Рисунок 2 -Участок луга засоренный борщевиком Сосновского

В связи с выпадением из травостоя корневищных, корнеотпрысковых растений, их заменой на борщевик со стержнекорневой системой, не способной образовывать плотную дернину и удерживать почвенный слой, усилилось разрастание оврагов и размыв береговой части поймы. В последние годы борщевик Сосновского окружает деревни, проникает в крупные города, парки и даже заповедники. Кроме того, массовое распространение этого вида по берегам водоемов может вскоре привести к их непригодности для рекреационного использования [5, 10, 11, 12, 18].

Для человека растение является ядовитым – способно вызывать ожоги I-й и II-й степени. Первичным признаком ожога борщевиком является, как правило, небольшое покраснение кожи с умеренным зудом. Поначалу на это можно и не обратить внимания. Но если не предпринять мер, на пораженном месте нарастает отек. Усиливается покраснение кожи с постепенным образованием прозрачных пузырей, заполнен-



Рисунок 3 -Ожог на коже человека в результате контакта с соком борщевика Сосновского

ных жидкостью. Дело в том, что все части растения содержат фурукумарины – вещества, которые при попадании на кожу резко повышают ее чувствительность к ультрафиолету. Поэтому в ясную погоду ожоги бывают сильнее и болезненнее [2, 10, 11, 12, 18].

С тех пор как стало ясно, что борщевик Сосновского несоизмеримо более вредное растение, чем полезное, было положено начало разработке мер борьбы с ним, включающих механический, химический и биологический методы.

### **1.3. Методы борьбы с борщевиком Сосновского**

Учитывая особенности биологии борщевика Сосновского, эффективными способами борьбы с ним на больших территориях являются ежегодная вспашка или химическая обработка гербицидами. Лучшая борьба с борщевиком – это интенсивное землепользование, например, возделывание картофеля, которое включает и вспашку, и гербицидные обработки, и окучивание, и уборку с использованием подкапывающих орудий. Но поскольку борщевик занимает в основном обочины дорог, склоны оврагов и другие неудобья, которые невозможно обработать техникой, наиболее эффективна химическая обработка при помощи ранцевых опрыскивателей [2, 12, 18, 23].

Лучшим способом борьбы с единичными растениями является выкапывание. Стержнекорневая система борщевика достигает глубины 2 м, основная масса корней располагается в слое до 30 см, а выкапывать достаточно 10-15 см. На этой глубине располагается подземная часть побега с почками возобновления, из которых растение быстро восстанавливается. Эффективно также срезание соцветий с уже образовавшимися семенами. Растение думает, что уже выполнило свою генеративную функцию и естественным образом отмирает. На небольших участках используют также геополотно и плотную черную пленку: укрывают засоренный участок и засыпают слоем незасоренного грунта [2, 22].

Наряду с кошением борщевика, перепашкой занятых им земель, предлагается использовать овец и мелкий рогатый скот для уничтожения борщевика (в первую очередь – молодых растений) [5].

Большинство авторов сходятся во мнении, что механические меры борьбы (скашивание и выкопка растений; перепашка площадей, занятых борщевиком; применение затеняющих материалов и т. п.) не могут обеспечить полного их подавления. Механические методы могут быть эффективными лишь в случае применения на начальных стадиях заселения борщевиком территорий для уничтожения единичных экземпляров растений и при отсутствии большого почвенного запаса его семян. При массовом разрастании борщевика требуется применение химического метода, который позволяет обеспечить достаточно длительное его подавление, включая предотвращение прорастания семян [2].

В качестве одной из вспомогательных мер борьбы с борщевиком Сосновского обсуждается использование насекомых-фитофагов. Видовой состав вредителей борщевика Сосновского изучен мало. За годы наблюдений на борщевике Сосновского выявлено 14 видов насекомых, повреждающих листья и соцветия. Среди них по многочисленности и вредоносности выделяются следующие виды: борщевичная пестрокрылка (буравница) (*Euleia heraclei* L.), борщевичная фитомиза (*Phytomyza sphondylii* R.-D.), совка зонтичная (*Dasypolia templi* T.) и пастернаковая моль (*Dessaria radiella* G.) [2, 3, 13]. Биологические методы борьбы с вредным объектом обычно направлены лишь на сокращение его численности, а не на полное уничтожение. Заросли борщевика Сосновского быстро восстанавливаются после проведения любых методов борьбы с ним, за исключением химического.

Важной проблемой при выяснении механизмов быстрого восстановления и захвата новых территорий борщевиком Сосновского является свойство его потенциальной аллелопатической активности, в основе которого могут находиться содержащиеся в органах борщевика вторичные соединения из группы фурукумаринов. Воздействие растений друг на друга, а также взаимовлияние растений и микроорганизмов, растений и животных, осуществляющиеся через выделяемые продукты обмена веществ, получили название *аллелопатии*. [17].

Изучение взаимодействия борщевика Сосновского с почвенными микроорганизмами представляет научный интерес для разработки биологических мер борьбы с агрессором. В связи с этим, актуально изучение развития в моновидовых зарослях борщевика Сосновского аэробной свободноживущей бактерии *Azotobacter chroococcum*, которая участвует в формировании почвенных свойств, осуществляет продукционные, средообразующие, санитарные функции в экосистеме [1].

#### 1.4. Знакомство с *Azotobacter*

Род *Azotobacter* был описан в 1901 году голландским микробиологом и ботаником, одним из основоположников экологической микробиологии Мартином Бейеринком на основании впервые выделенного и описанного им *Azotobacter chroococcum*, первого аэробного свободноживущего азотфиксатора [20].

Азотобактер (*Azotobacter*) – род бактерий, живущих в почве и способных в результате процесса азотфиксации переводить газообразный азот в растворимую форму, доступную для усваивания растениями. Азотфиксация играет большую роль в круговороте азота в природе. 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, используется человеком для производства азотных биоудобрений. Представители рода *Azotobacter* также способны к биоразложению некоторых пестицидов, способствуют самоочищению почв, загрязнённых тяжёлыми металлами, например, кадмием, ртутью и свинцом [21].

Представители рода обитают в нейтральных и щелочных почвах, воде и в ассоциации с некоторыми растениями. *Azotobacter* 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. Образуют особые покоящиеся формы – цисты, не образуют спор. Клетки бактерий рода *Azotobacter* относительно крупные (1-2 мкм в диаметре), обычно овальные, но обладают плеоморфизмом, то есть могут иметь разную форму – от палочковидной до сферической. На микроскопических препаратах клетки могут располагаться одиночно, парами, неправильными скоплениями или, изредка, цепочками различной длины (рисунок 4).

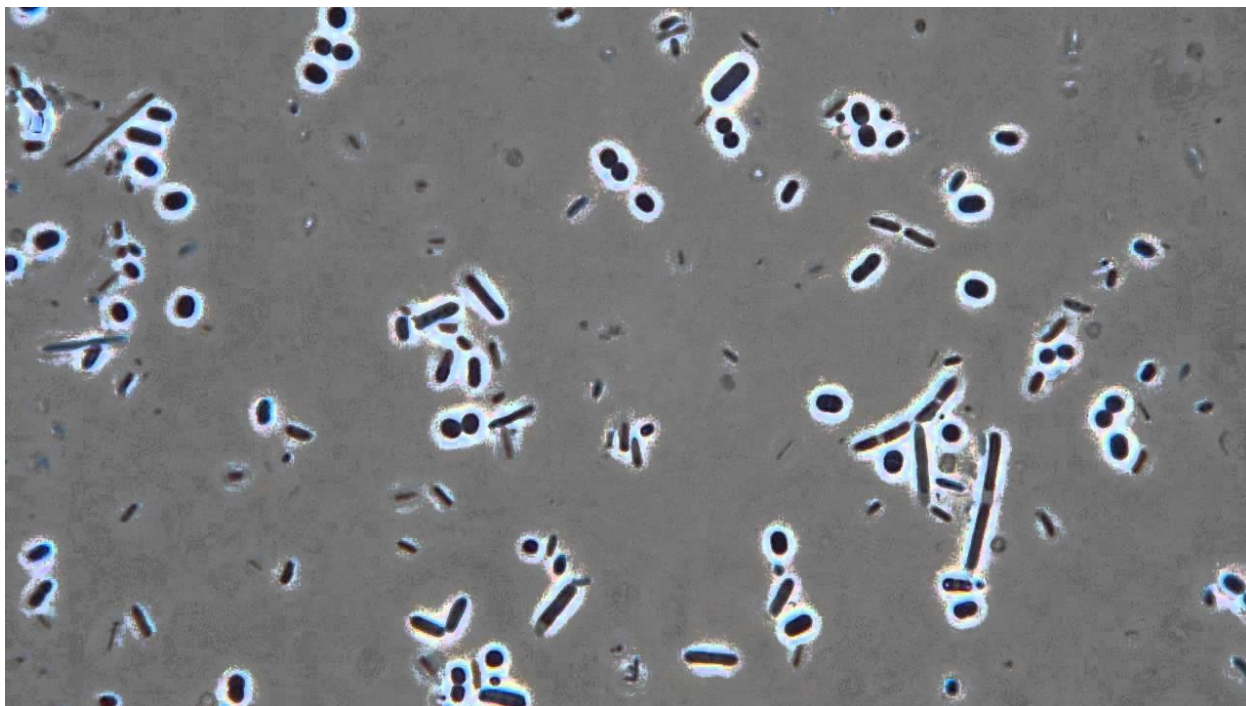


Рисунок 4 - Бактерии рода *Azotobacter*

Свободноживущие азотфиксирующие бактерии выделяют на безазотистых средах, например на среде Эшби, содержащей источник углерода (маннит, сахароза или глюкоза) и необходимые микроэлементы (источник фосфора, серы и т. д.). На плотных питательных средах представители рода образуют плоские, слизистые колонии пастообразной консистенции диаметром 5-10 мм, в жидких питательных средах образуют плёнки. Оптимальная температура для роста *Azotobacter* 20-30 °С.

Представители рода *Azotobacter* продуцируют пигменты. Например, типовой вид рода *Azotobacter chroococcum* продуцирует тёмно-коричневый водорастворимый пигмент меланин. Наиболее активно этот процесс наблюдается при высоких уровнях дыхания во время фиксации азота. Другие виды рода *Azotobacter* также продуцируют пигменты от жёлто-зелёного до пурпурного цвета [19-21].

## 2. Методика исследований

Схема опыта включала пять участков:

1. Почва пойменная дерновая не засорена борщевиком
2. Почва пойменная дерновая под монозарослями борщевика
3. Почва дерново-подзолистая не засорена борщевиком
4. Почва дерново-подзолистая под монозарослями борщевика
5. Почва светло-серая лесная под монозарослями борщевика

Тип почвы мы определили на основании почвенной карты из Удмуртского НИИ сельского хозяйства. На рисунке 5 отмечены точки отбора образцов.

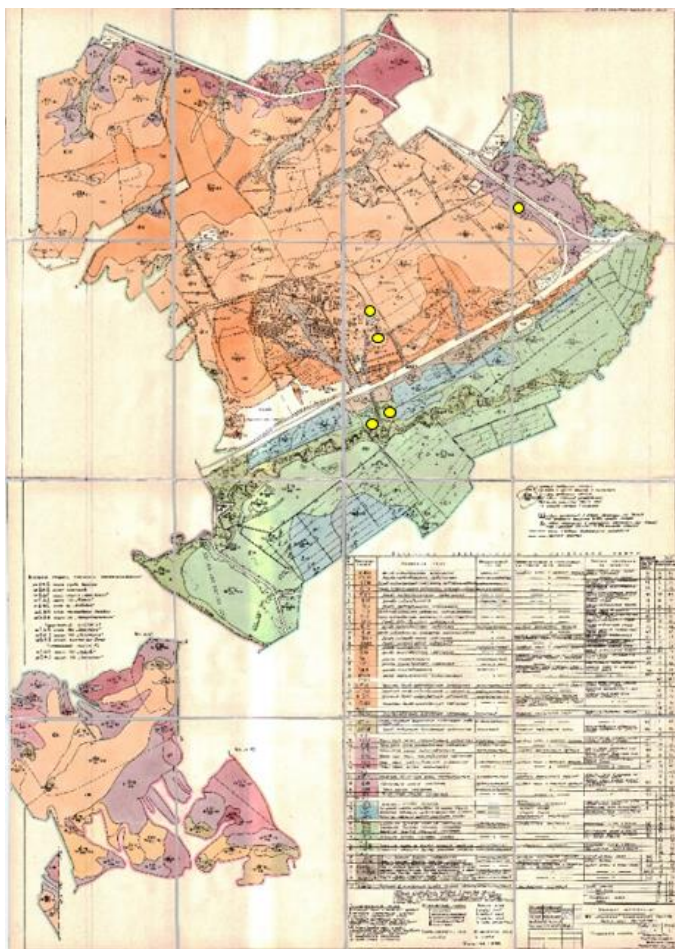


Рисунок 5 – Почвенная карта ОПХ "Ижевское" Завьяловского района Удмуртской Республики, 1986 г.

Почвенные образцы были отобраны 6 и 7 апреля с двух горизонтов 0-10 и 10-20 см. Для этого мы делали поверхностные разрезы глубиной до 30-40 см. Все пробы были отобраны из гумусового горизонта.

Механический состав почвы определяли полевым методом, наличие карбонатов – химическим методом, кислотность среды почвенной вытяжки – с использованием индикаторной бумаги, определение органического вещества в почве проводили колориметрическим методом по шкале Дрябловой А. для оценки содержания углерода в почве, биологическую активность почвы определяли абсорбционным методом по Шаркову (1984). Посев колоний азотфиксирующих бактерий проводили на селективной среде Эшби, контроль за ростом колоний осуществляли через 4, 7 и 10 дней после посева. Отобрали пробы из выделившихся колоний для дальнейшего

исследования клеток *Azotobacter*. Статистическая обработка экспериментальных данных проведена с использованием дисперсионного анализа по Б.А. Доспехову (1985) с помощью программы Microsoft Office 2010.

### 3. Результаты исследований

Пойменный участок незасоренный борщевиком отличался тяжелосуглинистым механическим составом и высоким содержанием органического вещества относительно других почвенных образцов. Пойменная дерновая почва под борщевиком Сосновского содержала меньше органического вещества и механический состав в зависимости от глубины отбора почвенной пробы изменялся от среднесуглинистого до тяжелосуглинистого. Дерново-подзолистая почва луга, исторически сенокосного участка обладала наименьшим содержанием органического вещества, тяжело- и среднесуглинистым механическим составом. Дерново-подзолистая почва под монозарослями борщевика Сосновского имела среднесуглинистый механический состав и одинаковое невысокое содержание органического вещества на разной глубине. Светло-серая лесная почва имела самый легкий механический состав, при этом содержание органического вещества отмечено на уровне пойменной почвы.

Почвенные образцы имеют кислую и слабокислую реакцию среды, не содержат карбонатов. При определении кислотности с помощью лакмусовой бумаги pH равен 5.

Таблица 1 – Активность азотфиксирующих бактерий в зависимости от засоренности борщевиком Сосновского на разных типах почвы в верхнем слое гумусового горизонта (0-10 см)

Вариант	Механический состав	Содержание органического вещества, мг С/кг почвы	Объем CO <sub>2</sub> , мг/100 г почвы	Количество об-растаний, %		
				4	7	10
Почва пойменная дерновая не засорена борщевиком	тяжело-суглинистый	>2200	45,76	96	98	98
Почва пойменная дерновая под монозарослями борщевика	средне-суглинистый	2000	45,06	71	79	80
Почва дерново-подзолистая не засорена борщевиком	средне-суглинистый	1600	33,79	68	75	75
Почва дерново-подзолистая под монозарослями борщевика	средне-суглинистый	1600	34,85	1	1	1
Почва светло-серая лесная под монозарослями борщевика	легко-суглинистый	2100	38,02	50	51	62
НСР <sub>05</sub>				5,0	3,9	3,1

В полученных образцах мы изучали почвенное дыхание по количеству углекислого газа (CO<sub>2</sub>) которое выделяет почва. Для этого анализа мы использовали пробы только из верхнего десятисантиметрового слоя. Наибольшее количество углекислого газа 45,76 и 45,06 мг/100 г выделяла пойменная почва, раствор фенолфталеина даже слабо окрашивал щелочь после инкубирования. Потребовалось всего 18 и 22 капли соляной кислоты для обесцвечивания раствора. На дерново-подзолистой почве бедной органическим веществом интенсивность дыхания была ниже 33,79 и

34,85 мг / 100 г почвы. Следует отметить, что на этом типе почвы под монозарослями борщевика интенсивность дыхания увеличивалась на 1,06 мг / 100 г почвы. Что свидетельствует о росте биологической активности в зарослях этого растения на дерново-подзолистой почве. Биологическая активность светло-серой лесной почвы занимала промежуточное значение.

Таблица 2 – Активность азотфиксирующих бактерий в зависимости от засоренности борщевиком Сосновского на разных типах почвы в нижнем слое гумусового горизонта (10-20 см)

Вариант	Механический состав	Содержание органического вещества, мг С/кг почвы	Количество образований, %		
			4	7	10
Почва пойменная дерновая не засорена борщевиком	тяжело-суглинистый	2100	92	93	93
Почва пойменная дерновая под монозарослями борщевика	тяжело-суглинистый	2000	70	81	82
Почва дерново-подзолистая не засорена борщевиком	тяжело-суглинистый	1000	5	5	5
Почва дерново-подзолистая под монозарослями борщевика	средне-суглинистый	1600	0	0	0
Почва светло-серая лесная под монозарослями борщевика	средне-суглинистый	2000	19	23	26
НСР <sub>05</sub>			3,5	4,6	5,1

На плодородной пойменной почве свободной от борщевика Сосновского выросло наибольшее число колоний азотобактера, 92-96 % комочков обросли уже на 4 день. Следует также отметить, что на этом типе почвы развитие бактерий не зависело от глубины отбора образца. Под монозарослями борщевика отмечено существенное снижение интенсивности обрастания на 11 и 18 % в нижнем и верхнем слое соответственно.

На бедной органическим веществом дерново-подзолистой почве наблюдалась существенная разница интенсивности обрастаний по слоям почвы. На образцах из верхнего десятисантиметрового слоя обрастало 75 % комочков, а на образцах из нижнего слоя 10-20 см – только 5 %. При этом на почве, сильно засоренной борщевиком выросла всего одна колония в верхнем слое гумусового горизонта. В образцах из нижнего слоя гумусового горизонта рост колоний *Azotobacter* не наблюдался. Следует отметить, что на свободном от борщевика участке дерново-подзолистой почвы в 2021 г. была проведена химическая обработка системным гербицидом сплошного действия (Торнадо, ВР 3 л/га), но действие гербицида не было столь пагубным для бактерий рода *Azotobacter*, как зарастание борщевиком Сосновского.

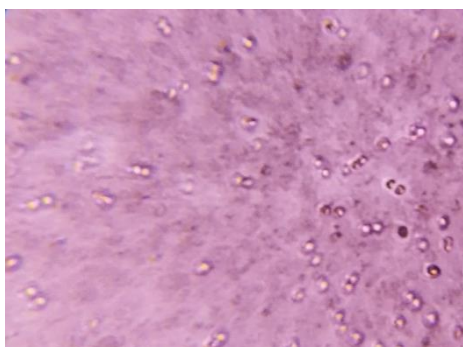
Наиболее наглядно развитие колоний по слоям отбора почвенных проб показывает рисунок 6.



Рисунок 6 - Развитие колоний *Azotobacter* на 14 день после посева в зависимости от типа почвы, глубины отбора образца и засоренности участка борщевиком Сосновского

На светло-серой лесной почве также отмечена послойная разница, однако на образцах из нижнего горизонта обросло уже 26 % комочков. Следует также отметить, что это был самый светлый посев. На 10 день потемнело всего 16 % колоний против 100 % на пойменной почве.

Из наиболее интересных колоний были изготовлены временные препараты для микроскопического исследования на 7 день после посева культуры бактерий. Пробы колоний окрашивались фуксином Циля и тушью. Готовые препараты с использованием водной иммерсии были исследованы при увеличении x800 (объектив 40, окуляр 20).



Наше внимание привлекла единственная розовая колония во всем эксперименте, выросшая на образце с светло-серой лесной почвой. Клетки бактерии расположены парами, похоже идет активный процесс деления, слизистой капсулы бактерии пока не имеют.

Рисунок 7- клетки *Azotobacter*, выделенные из светло-серой лесной почвы под монозарослями *H. Sosnowskyi*

Самые тёмноокрашенные колонии отмечены на образце пойменной почвы под зарослями борщевика в верхнем слое. Окрашивание тушью помогло нам увидеть слизистую капсулу вокруг спаренных клеток бактерий в этом образце, что говорит о более развитом их состоянии.

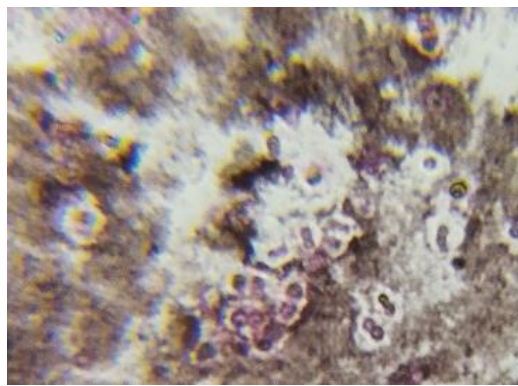


Рисунок 8- клетки *Azotobacter Chorococcum*, выделенные из пойменной дерновой почвы

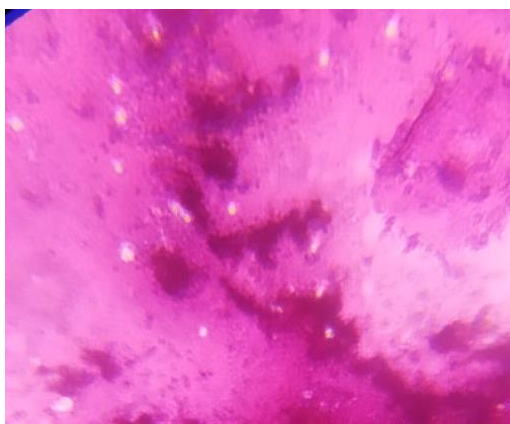


Рисунок 9 - Клетки *Azotobacter Chorococcum*, выделенные из дерново-подзолистой почвы под монозарослями *H. Sosnowskyi*

Также мы выбрали единственную колонию, выросшую на дерново-подзолистой почве сильно засоренной борщевиком. Здесь процесс деления еще не начался.

Образцы этих колоний были отобраны, упакованы в соответствии с методическими рекомендациями [8, 9] и отправлены для дальнейшего исследования в Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН).

## Выводы

Таким образом, проведенные исследования нам позволяют сделать следующие выводы:

1. Почвенные образцы были отобраны на пяти экспериментальных площадках (на трех типах почв в моновидовых зарослях борщевика Сосновского и свободных от него участках) с двух горизонтов (0-10 и 10-20 см) в трехкратной повторности, всего 30 образцов.

2. Дерново-подзолистые, пойменные дерновые и серые лесные почвы Удмуртской Республики кислые и слабокислые, не содержат карбонатов, имеют механический состав от легкосуглинистого до тяжелосуглинистого и в целом пригодны для жизнедеятельности азотфиксирующих микроорганизмов. В верхнем десятисантиметровом слое азотфиксирующие бактерии развиваются интенсивнее;

3. Пойменные дерновые почвы обладают более высоким содержанием органического вещества и более высокой биологической активностью. Бактерии рода *Azotobacter* на этой почве, свободной от борщевика развивались интенсивнее, обрастали от 93 до 98 % комочков и колонии быстро темнели уже на 4 день (на 10 день потемнели почти 100 % колоний);

4. Борщевик Сосновского на дерновой пойменной почве подавлял рост колоний *Azotobacter* на 11-18 %, интенсивность дыхания микроорганизмов также снижалась на 0,7 мг/100 г почвы. Однако на бедной органическим веществом дерново-подзолистой почве под монозарослями борщевика интенсивность дыхания наоборот увеличивалась на 1,06 мг/100 г почвы. При этом на селективной среде Эшби из 194 комочков выросла всего 1 колония. Следовательно, на этом типе почвы борщевик Сосновского действительно подавляет жизнедеятельность азотфиксирующих бактерий, но способствует развитию других микроорганизмов. На светло-серой лесной легкосуглинистой почве отмечено развитие разных видов свободноживущих аэробных бактерий рода *Azotobacter*.

5. С помощью светового микроскопа при 800 кратном увеличении исследованы клетки *Azotobacter* выделенные из дерново-подзолистой, серой лесной и пойменной дерновой почвы под монозарослями *H. Sosnowskyi*. Наиболее развитые клетки *Azotobacter* отмечены на образце, выделенном из пойменной дерновой почвы.

## Заключение

Данную работу выполнила проектная команда учеников 7 класса МБОУ «Первомайская СОШ имени Героя Советского Союза А.Н. Сабурова», обучающихся в МБОУДО «Центр внешкольной работы» по программе естественно-научной направленности «Мир растений в опытах и экспериментах» в составе:

1. Мухаммад Фарида Мухаммад Талха
2. Андрианов Михаил Алексеевич
3. Алексеева Вероника Юрьевна
4. Попова Анна Олеговна
5. Килина Ирина Олеговна
6. Мамаджонов Искандар Исраилджанович

Ответственный исполнитель – Мухаммад Фарида Мухаммад Талха.

Руководитель – педагог дополнительного образования Тренина Любовь Олеговна.

Исследования проводились в рамках проекта «Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов» и по методическим рекомендациям, которые предоставил ФОНД Образование. Полученные результаты являются частью гражданской науки, занесены в электронную базу данных по адресу <https://atlas.niboch.nsc.ru/>. Образцы наиболее интересных колоний *Azotobacter* направлены для исследования в ИХБФМ СО РАН. В Институте химической биологии и фундаментальной медицины из полученных образцов выделяют чистые культуры бактерий, а затем получают геномную ДНК и методом секвенирования определяют последовательность ее небольшого участка. Полученные данные о геноме позволят ученым определить конкретный вид полученных нами *Azotobacter* и сделать вывод об уникальности полученных нами культур.

## Список использованных источников

1. Артамонова В.С., Бортникова С.Б. О развитии *Azotobacter chroococcum* Beijerinck в старовозрастных отвалах антрацита // Теоретическая и прикладная экология, 2018. №1. С. 60-72.
2. Егоров А.Б., Павлюченкова Л.Н., Партолина А.Н., Постников А.М., Бубнов А.А. Методы контроля распространения борщевика Сосновского (*Heracleum Sosnowskyi* Manden.) на землях лесного фонда // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. 2020. № 3. С. 4-20.
3. Зубайдуллозода Ш.А., Ступин А.С. Биологические методы в борьбе с борщевиком Сосновского / Научные приоритеты развития АПК, лесного хозяйства и сферы гостеприимства. Министерство сельского хозяйства российской Федерации Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева». 2023. С. 69-73.
4. Кривошеина М.Г. Насекомые – вредители борщевика Сосновского в Московском регионе и перспективы их использования в биологической борьбе // Российский журнал биологических инвазий. – 2011. – № 1. – С. 44–50.
5. Ламан Н.А., Прохоров В.Н., Масловский О.М. Гигантские борщевики – опасные инвазивные виды для природных комплексов и населения Беларуси. – Минск, 2009. – 40 с
6. Маганов И.А., Антипина Г.С. Апробация методов борьбы с растениями борщевика Сосновского первого года жизни // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Материалы XV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Книга 2. (г. Киров, 4–6 декабря 2017 г.). – Киров: ВятГУ, 2017. – С. 242–246.
7. Манденова И.П. Фрагменты монографии кавказских борщевиков // Заметки по систематике и географии растений, 1944, 12, с. 15-19.
8. Методические рекомендации к стартовому набору: сбор и первичное исследование образцов почвы / Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов, 2023. 13 с.
9. Методические рекомендации к набору для исследования азотфиксирующих бактерий / Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов, 2023. 26 с.
10. Методические рекомендации по борьбе с неконтролируемым распространением растений борщевика Сосновского / Ин-т биологии Коми НЦ УрО РАН. – Сыктывкар, 2008. – 28 с
11. Озерова Н.А., Кривошеина М.Г. Особенности формирования вторичных ареалов борщевика Сосновского и Манатегазци (*Heracleum Sosnovskyi*, *H. Mantegazzianum*) на территории России //Российский Журнал Биологических Инвазий, 2018. № 1. – С. 78-87.

12. Рекомендации по борьбе с борщевиком Сосновского на территории Новгородской области. - Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Российский сельскохозяйственный центр» по Новгородской области. - Великий Новгород, 2019. – 18 с.

13. Ступин, А.С. Биологическая регуляция численности сорняков // Комплексный подход к научно-техническому обеспечению сельского хозяйства: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной памяти члена-корреспондента РАСХН и НАН КР академика МАЭП и РАВН Бочкарева Я.В. – Рязань, 2020. – С. 111-115.

14. Тиунов Д.Н., Ефимик Е.Г. Влияние борщевика Сосновского на биоразнообразии сосудистых растений ООПТ «Липовая гора» (г. Пермь) - Вестник Пермского университета. Сер. Биология, 2020. Вып. 4. С.272–279.

15. Фурлаев П.Г. Некоторые приемы возделывания и биологические особенности борщевика Сосновского на пойменных почвах Удмуртской АССР: Автореферат дис. На соискание ученой степени канд. с.-х. наук/ Перм. с.-х. ин-т им. акад. Д.Н. Прянишникова. Пермь, 1975. – 21 с.

16. Фурлаев П.Г. Семеноводство борщевика Сосновского в Удмуртской АССР // Тезисы Всесоюзного совещания по технологии возделывания новых кормовых культур. Саратов; Энгельс, 1978. Ч. 1. С. 198–200.

17. Холмкина Я.И., Пашков А.Н., Карташова Н.М., Чепрасова А.А., Парфенова Н.В. Влияние аллелопатических свойств борщевика Сосновского (*Heracleum Sosnowskyi* Manden) на прорастание семян сорных и культурных растений: Материалы Всероссийских (национальных) научно-практических конференций ГНИИ "Нацразвитие". Сборник избранных статей Всероссийских (национальных) научно-практических конференций ГНИИ «Нацразвитие». Санкт-Петербург, 2021. С. 16-18.

18. Эсенкулова О. В., Строт Т. А., Коробейникова О. В., Юшкова О.В. Методические рекомендации по борьбе с борщевиком Сосновского в Удмуртской Республике. Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2019. 27 с.

19. Ahmad F., Ahmad I., Khan M. S. Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of Azotobacter and Fluorescent Pseudomonas in the Presence and Absence of Tryptophan // Turkish Journal of Biology. – 2005. - № 29. – С. 29-34.

20. Beijerinck M. W. Ueber Oligonitrophile Mikroben // Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Abteilung II. – 1901. - № 7. – С. 561-582.

21. Chen J. H., Czajka D. R., Lion L. W., Shuler M. L., Ghiorse W. C. Trace metal mobilization in soil by bacterial polymers. // Environmental Health Perspectives. – 1995. – Т. 103, № 1. – С. 53-58.

22. Vanaga I., Gurcina J., Triecale O., Priecule I., Pugacova J. Influence of *Heracleum sosnowskyi* control measures on weed diversity in agricultural fields in Latvia // Agronomy Research. – 2006. – Issue 4. – P. 433–436.

23. Wytyczne dotyczące zwalczania barszczu Sosnowskiego (*Heracleum sosnowskyi*) i barszczu Mantegazziego (*Heracleum mantegazzianum*) naterenie Polski. [Электронный ресурс] – URL:

[www.gdos.gov.pl.Wytyczne\\_dotyczace\\_zwalczania\\_barszczu\\_Sosnowskiego\\_Heracleum\\_sosnowskyi\\_i\\_barszczu\\_Mantegazziego\\_Heracleum\\_mantegazzianum\\_na\\_terenie\\_Polski.pdf](http://www.gdos.gov.pl/Wytyczne_dotyczace_zwalczania_barszczu_Sosnowskiego_Heracleum_sosnowskyi_i_barszczu_Mantegazziego_Heracleum_mantegazzianum_na_terenie_Polski.pdf) (дата обращения: 16.03.2023). – Загл. с экрана. – Яз. пол.