

Муниципальное бюджетное учреждение дополнительного образования
«Детский эколого-биологический центр» г. Колпашево

Исследовательская работа
«Бактерии рода *Azotobacter* и их влияние на рост и урожайность томата»

Работу выполнили:
Петренко Арианна,
Репников Михаил,
Стариков Дмитрий
обучающиеся группы №52
«Наука и окружающий мир»

Руководитель:
Селецкая Анастасия Андреевна,
педагог дополнительного образования

Консультант:
старш. науч. работник
СибНИИСХиТ – филиала СФНЦА РАН,
кан. с/х наук Литвинчук Ольга Васильевна

Оглавление

Введение.....	3
1. Обзор литературы.....	4
1.1 Бактерии рода <i>Azotobacter</i>	4
1.2 Морфологические и физиолого-культуральные характеристики.....	4
1.3 Взаимодействие с растениями и значение в агросистемах.....	4
1.4 Характеристика объекта исследования.....	5
2. Материал и методика.....	6
3. Результаты исследования.....	10
3.1 Характеристика отобранных площадок и оценка антропогенной нагрузки	10
3.2 Полевые экспедиционные изыскания.....	11
3.3 Лабораторные исследования почвенных образцов.....	13
3.3.1 Первичное исследование образцов.....	13
3.3.2 Квартавание почвенных образцов.....	13
3.3.3 Посев и наблюдение за ростом колоний азотфиксирующих бактерий.....	14
3.3.4 Идентификация выделенных штаммов.....	15
3.3.5 Эксперимент «Влияние инокуляции азотфиксирующими бактериями на рост и урожайность томатов».....	15
Выводы.....	21
Список использованных источников и литературы.....	22
Приложение А Результаты первичного исследования почвенных образцов.....	23

Введение

Почва является основой сельскохозяйственного производства, от её здоровья напрямую зависит качество растительной продукции и, как следствие, здоровье человека [3]. Широкое применение химических азотных удобрений для повышения урожайности имеет серьёзный побочный эффект – накопление нитратов в растениях. Регулярное потребление такой продукции вместо пользы может нанести вред здоровью, вызывая нарушения в работе сердечно-сосудистой и нервной систем [10].

В то же время, азот абсолютно необходим растениям для роста и развития. Решением этой проблемы может стать использование биологического азота, который фиксируется из атмосферы специфическими микроорганизмами. Среди свободноживущих почвенных бактерий этой способностью в высокой степени обладают представители рода *Azotobacter*. Они не только переводят молекулярный азот в доступную для растений форму, но и синтезируют ряд биологически активных веществ (фитогормоны, витамины), стимулирующих рост растений [3].

Таким образом, поиск, изучение и применение азотфиксирующих бактерий – актуальная задача для развития устойчивого и безопасного сельского хозяйства. Данная исследовательская работа проводится в рамках проекта «Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов» (Фонд «Образование» и ИХБФМ СО РАН, рецензия: https://disk.yandex.ru/i/i_Z_xhAvEf40bw) и направлена на изучение влияния местных штаммов *Azotobacter* на сельскохозяйственную культуру.

Цель работы: изучение влияния штаммов азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter* на рост и урожайность томата.

Объект исследования: азотфиксирующие бактерии рода *Azotobacter*.

Предмет исследования: почвы г. Колпашево и его окрестностей с различной антропогенной нагрузкой как источник штаммов бактерий.

Гипотеза: штаммы *Azotobacter*, выделенные из почв с разной антропогенной нагрузкой, обладают различной способностью влиять на рост и урожайность томата.

Задачи исследования:

1. По литературным данным изучить бактерии рода *Azotobacter* и их роль в азотфиксации.
2. Подобрать и описать участки почв в окрестностях г. Колпашево с разным уровнем антропогенной нагрузки.
3. Отобрать почвенные образцы, выделить из них культуры азотфиксирующих бактерий и идентифицировать штаммы.
4. Оценить влияние обработки семян томата выделенными штаммами на рост и урожайность растений в условиях эксперимента.

1. Обзор литературы

1.1 Бактерии рода *Azotobacter*

Бактерии рода *Azotobacter* – это свободноживущие, аэробные, грамотрицательные почвенные микроорганизмы, способные к азотфиксации, то есть переводу молекулярного азота (N_2) из атмосферы в растворимую форму, доступную для растений [8]. Типовым видом является *Azotobacter chroococcum*, впервые описанный М. Бейеринком в 1901 году [4]. По современной систематике род относится к домену Bacteria, типу Proteobacteria, классу Gammaproteobacteria, семейству Pseudomonadaceae [9].

1.2. Морфологические и физиолого-культуральные характеристики

Клетки *Azotobacter* относительно крупные (1-2 мкм), плеоморфные (от палочковидных до кокковидных), подвижные за счёт перитрихальных жгутиков. Эндоспор не образуют, но могут формировать устойчивые цисты [4, 7]. На плотных питательных средах образуют слизистые колонии диаметром 5-10 мм. Важной особенностью является пигментообразование: колонии могут быть бесцветными, коричневыми (*A. chroococcum*) или флуоресцирующими желтовато-зелёными (*A. vinelandii*), что используется для первичной идентификации [1], рисунок 1.

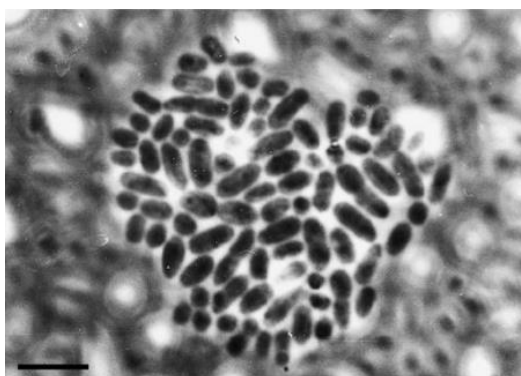


Рисунок 1 – Vegetативные клетки *Azotobacter chroococcum* (фазово– контрастная микроскопия), линейка = 10 μm [7]

Ключевым физиологическим свойством является способность к фиксации атмосферного азота с помощью нитрогеназного комплекса, для работы которого необходим молибден (или ванадий) [6]. Помимо этого, бактерии рода *Azotobacter* синтезируют ряд биологически активных веществ: витамины группы B, фитогормоны (например, ауксины) и фунгициды, что положительно влияет на растения [5].

1.3. Взаимодействие с растениями и значение в агросистемах

Развиваясь в ризосфере (прикорневой зоне) растений, *Azotobacter* выполняет две основные функции: улучшение азотного

питания за счёт биологической фиксации N_2 и стимуляция роста растений благодаря синтезу фитогормонов, которые активируют ферментативную активность корней, ускоряют прорастание семян и усиливают рост [1, 3].

Таким образом, применение *Azotobacter* рассматривается как перспективный приём биологизации земледелия, позволяющий частично заменить минеральные азотные удобрения и повысить устойчивость растений.

1.4. Характеристика объекта исследования

Для эксперимента был выбран суперскороспелый сорт томата черри «Снегирёк» (фото на рисунке 2). Его основные характеристики:

1. Срок созревания: техническая спелость плодов наступает на 80–90-й день после появления всходов.
2. Высота растения: компактное растение высотой 25–30 см.
3. Листья: небольшие, ярко-зеленые.
4. Соцветия: простые, на каждом соцветии формируется 6–7 плодов.
5. Плоды: вес каждого плода составляет около 25 грамм. Они обладают очень сладким вкусом, содержат большое количество сухих веществ, много мякоти и мало семян.
6. Урожайность: высокая — 3,0–4,5 кг с квадратного метра.

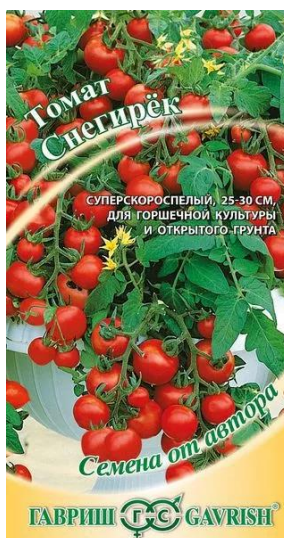


Рисунок 2 – Упаковка семян томата «Снегирёк», фото из архива авторов

Сорт идеально подходит для выращивания в контейнерах, что определило его выбор для нашего эксперимента. Томат, как и большинство культур, требователен к азотному питанию на всех этапах роста, особенно в период наращивания вегетативной массы и плодообразования [1]

2. Материал и методика

В исследовании использованы как практические, так и теоретические методы:

1. **Отбор площадок.** Выбраны три участка (площадки) в г. Колпашево и его окрестностях, различающихся по типу землепользования и, как следствие, уровню антропогенной нагрузки:

Площадка №1: «Колпашевский кедровый парк» (условно-фоновый участок, низкая нагрузка).

Площадка №2: Территория Детского эколого-биологического центра (городская зона с зелёными насаждениями, средняя нагрузка).

Площадка №3: Сельскохозяйственное поле СибНИИСХиТ (высокая агротехническая нагрузка).

Уровень антропогенной нагрузки оценивался качественно по 5 показателям (целостность почвенного покрова, внесение удобрений, близость дорог и свалок, интенсивность использования, характер растительности) по 2-балльной шкале с последующим расчётом среднего балла для каждой площадки.

2. Отбор почвенных образцов

В течение трёх дней полевых экспедиционных изысканий происходил отбор проб на выбранных территориях. Отобрано по 15 образцов почвы в 5-ти точках и 3-ёх полевых проворностях путём заложения почвенного разреза (прикопки) на каждой площадке.

Каждый образец упаковывался в индивидуальный зип-пакет, ему присваивался индивидуальный номер, который дублировался на пакете, на стикере, который клался в пакет, а также данные по нему заносились в дневник наблюдений (фото на рисунке 3).

Все образцы в количестве 45 штук высушены на воздухе при комнатной температуре, избегая открытого солнца и ветра, подальше от нагревательных элементов для дальнейших исследований.

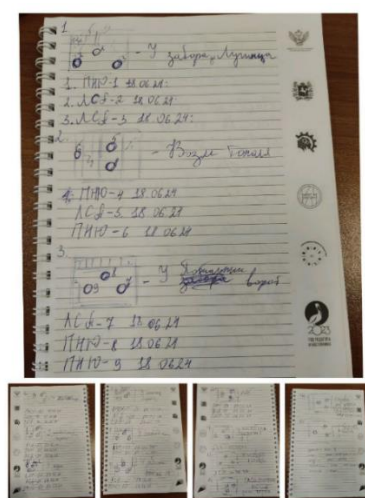








Рисунок 3 – Дневник полевых экспедиционных наблюдений, фото из архива авторов

3. Первичное исследование почвенных образцов

С композитными образцами проведено первичное исследование и определены:

1. Механический состав мокрым методом через сравнение полученного результата с данными таблицы 1.

Таблица 1 – Механический состав почвы

Механический состав	При скатывании	Схематичная иллюстрация
Песчаный	Не скатывается в шарик	
Супесчаный	Не скатывается, но лепится в непрочные шарики	
Легкосуглинистый	Образует непрочный шарик, в жгут не раскатывается, образует отдельные калбаски или цилиндрики	
Среднесуглинистый	Образует сплошной жгут, который при сгибании в кольцо разламывается	
Тяжелосуглинистый	Образует длинный жгут, при сгибании в кольцо которого образуются трещины	
Глинистый	Даёт гладкий шарик и длинный жгут	

2. Агрегатный состав согласно классификации Н.И. Саввинова и путём просеивания образца через сито с диаметром ячейки 0,2-0,5 мм.

3. Солёность методом высушивания капли почвенной вытяжки на предметном стекле и определения наличия или отсутствия белёсого налета на месте капли.

4. Цвет – путём сравнения цвета образца с треугольником почвенных красок по Захарову С.А., фото на рисунке 4.



Рисунок 4 – Треугольник почвенных красок по Захарову С.А. [2]

5. рН – погружением в почвенную вытяжку индикаторной бумаги и сравнением окрашивания индикаторной бумаги со шкалой, приведенной на рисунке 5.

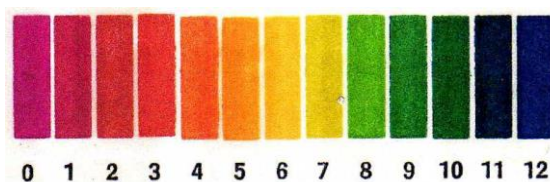


Рисунок 5 - Окрашивание индикаторной бумаги при различных значениях рН раствора [2]

6. Наличие карбонатов методом добавления к образцу 10% HCl (соляной кислоты). Если в почве находится значительное количество карбонатов, то на поверхности образца будет наблюдаться «вскипание» (похоже на вспенивание: выделение пузырьков на поверхности почвы).

7. Квартавание образцов. Для упрощения анализа и сокращения количества исследуемых образцов применялся метод квартования. Три полевые повторности, взятые из одной точки отбора, объединялись в единый композитный образец.

Процесс объединения заключался в тщательном перемешивании почвенных образцов, взятых из одной точки, с последующим формированием одного среднего образца. Полученные композитные образцы стали основой для последующих лабораторных исследований.

4. Посев и наблюдение за ростом колоний азотфиксирующих бактерий. В чашках Петри на питательной среде Эшби провели трёхкратный посев почвенных комочков образцов и наблюдали за ростом колоний азотфиксирующих бактерий на 4-ый и 10-ой день.

5. Определение штаммов выросших колоний. Штаммы определялись на 10-ый день по приобретению колониями характерной окраски и микроскопическому исследованию образцов путем окрашивания препаратов красителями (тушь и фуксин Циля).

6. Подготовка и инокуляция семян томата «Снегирёк». Семена томатов были тщательно отсортированы вручную, чтобы исключить поврежденные экземпляры. После визуального осмотра семена подверглись дополнительной обработке раствором хлоргексидина. Инокуляцию проводили следующим образом: с помощью стерильной зубочистки небольшие колонии выращенных штаммов бактерий наносились непосредственно на поверхность семян.

7. Посев семян томата «Снегирёк». Для эксперимента использовались горшки объемом 3 литра. Посев проводился стандартным способом: семена помещались в предварительно увлажненный грунт на глубину около 1 см. Горшки размещались в хорошо освещенном месте с оптимальной температурой для прорастания томатов (около 20–25 °С) и регулярным поливом.

8. Наблюдение за ростом растений. Наблюдали за ростом растений сначала каждый второй день, затем раз в неделю.

9. Оценка урожайности. Урожайность томатов оценивалась путем подсчета общего количества плодов, собранных с каждого растения, а также измерением средней массы одного плода. Методика оценки урожайности:

Сбор урожая: плоды томатов собирались по мере их созревания. Учитывалось общее количество плодов, собранных с каждого растения.

Вес плодов: средняя масса одного плода определялась путем взвешивания всех собранных плодов и деления полученного значения на количество плодов. Это позволило оценить влияние инокуляции на размер и массу плодов.

Сравнение с контролем: урожайность инокулированных растений сравнивалась с урожайностью контрольной группы, чтобы оценить эффект от применения азотофиксирующих бактерий.

10. **Замеры длин растений и взвешивание биомассы.** Растения извлекли и произвели замеры длин корней, побегов и общей длины. Также взвесили общую биомассу, корни и зелёную массу.

Литературные источники обрабатывались путём реферирования глав из книг и статей из журналов, а также Интернет – источников. Иллюстративный материал взят из литературных источников, сети Интернет и личного архива педагога Селецкой А.А.

Консультационная и информационная поддержка в течение исследования велась старшим научным работником СибНИИСХиТ – филиала СФНЦА РАН, кандидатом сельскохозяйственных наук Литвинчук Ольгой Васильевной.

3. Результаты исследования

3.1. Характеристика отобранных площадок и оценка антропогенной нагрузки

Качественная оценка трёх отобранных площадок показала чёткую градацию уровня антропогенного воздействия (Таблица 2).

Таблица 2 – Уровень антропогенной нагрузки на исследуемых площадках

Площадка	Описание и местоположение	Фото	Средний балл	Уровень нагрузки
№1	Территория «Колпашевского кедрового парка». Участок леса с преобладанием хвойных пород, низкая рекреационная активность.		0,45	Низкий
№2	Территория МБУ ДО «ДЭБЦ». Городской участок с зелёными насаждениями, газонами, цветниками. Внесение органических и минеральных удобрений.		1,20	Средний
№3	Сельскохозяйственное поле СибНИИСХиТ. Активное агротехническое использование, ежегодное внесение минеральных удобрений.		1,73	Высокий

Таким образом, отобранные площадки репрезентативно отражают градиент антропогенного воздействия: от условно-фонового (лес) через городскую среду до интенсивного сельскохозяйственного использования.

3.2 Полевые экспедиционные изыскания

В июне 2024 года проведено исследование посредством организации полевых, экспедиционных изысканий на трёх выбранных площадках с целью отбора проб почв.

В первый экспедиционный день происходил отбор проб на Площадке №2, расположенной на территории, прилегающей к зданию Муниципального бюджетного учреждения дополнительного образования «Детский эколого-биологический центр» г. Колпашево. Отобрано 15 образцов почвы в 5-ти точках и 3-ёх полевых проворностях путём заложения почвенного разреза (фото на рисунках 6, 7, 8).



Рисунки 6, 7, 8 – отбор проб на Площадке №2, расположенной на территории МБУ ДО «ДЭБЦ», фото из архива авторов

Во второй экспедиционный день происходил отбор проб на Площадке №1, которая расположена на территории «Колпашевского кедрового парка». Отобрано 15 образцов почвы в 5-ти точках и 3-ёх полевых проворностях путём заложения почвенного разреза (фото на рисунках 9, 10, 11).



Рисунки 9, 10, 11 – отбор проб на Площадке №1, расположенной на территории «Колпашевского кедрового парка», фото из архива авторов

В третий экспедиционный день происходил отбор проб на Площадке №3, которая является одним из сельскохозяйственных полей Сибирского научно-исследовательского института сельского хозяйства и торфа-филиала Сибирского федерального научного центра агробιοтехнологий Российской академии наук (СибНИИСХиТ – филиал СФНЦА РАН). Отобрано 15 образцов почвы в 5-ти точках и 3-ёх полевых проворностях путём заложения почвенного разреза (фото на рисунках 12, 13).



Рисунки 12, 13 – отбор проб на Площадке №3, расположенной на территории СибНИИСХиТ – филиал СФНЦА РАН, фото из архива авторов

Каждый образец упаковывался в индивидуальный зип-пакет, ему присваивался индивидуальный номер, который дублировался на пакете, на стикере, который помещался в пакет.

Все образцы в количестве 45 штук высушены на воздухе при комнатной температуре, избегая открытого солнца и ветра, подальше от нагревательных элементов (фото на рисунке 14). Затем образцы помещены обратно в зип-пакеты для дальнейших исследований.



Рисунок 14 – Сушка почвенных образцов, фото из архива авторов

3.3 Лабораторные исследования почвенных образцов

3.3.1 Первичное исследование образцов

15 октября 2024 года с отобранными образцами проведено первичное исследование. Определены: механический и агрегатный составы, солёность, цвет, рН водной вытяжки, наличие карбонатов (фото на рисунках 15, 16, 17).



Рисунки 15, 16, 17 – Первичное исследование образцов почвы, фото из архива авторов

Результаты анализа (Приложение А) показали, что почвы площадок №1 и №3 представлены преимущественно суглинистыми разновидностями с удовлетворительным агрегатным составом. Почва площадки №2 характеризовалась более лёгким гранулометрическим составом и менее устойчивой структурой. Реакция среды (рН) на всех площадках была близка к нейтральной (6-8), что является благоприятным для развития *Azotobacter*.

3.3.2 Квартавание почвенных образцов

Поскольку по результатам первичного исследования образцов было установлено, что полевые повторности в каждой точке имеют примерно одинаковые значения, было решено применить метод квартавания для упрощения анализа и сокращения количества исследуемых образцов (рисунок 18).



Рисунок 18 – Процесс квартавания полевых повторностей, фото из архива авторов

3.3.3 Посев и наблюдение за ростом колоний азотфиксирующих бактерий

Посев почвенных комочков на селективную среду Эшби (фото на рисунках 19, 20) показал значительные различия в скорости роста и количестве колоний азотфиксирующих бактерий (Таблица 3).



Рисунки 19, 20 – Посев почвенных комочков, фото из архива авторов

Таблица 3 – Результаты выделения азотфиксирующих бактерий с разных площадок

Площадка	Появление первых колоний (день)	Интенсивность обрастания*	Общий вывод
№1	14-й	Единичные колонии ($\leq 9\%$)	Низкая численность или активность бактерий
№2	7-й	Обильное обрастание (23-91%)	Наиболее благоприятные условия для <i>Azotobacter</i>
№3	14-й	Единичные колонии ($\leq 9\%$)	Низкая численность или активность бактерий

*Процент обрастания почвенных комочков на 10-14-й день.

На основании этих данных для дальнейшей работы были отобраны образцы с площадки №2, показавшей максимальную активность азотфиксирующей микрофлоры.

3.3.4 Идентификация выделенных штаммов

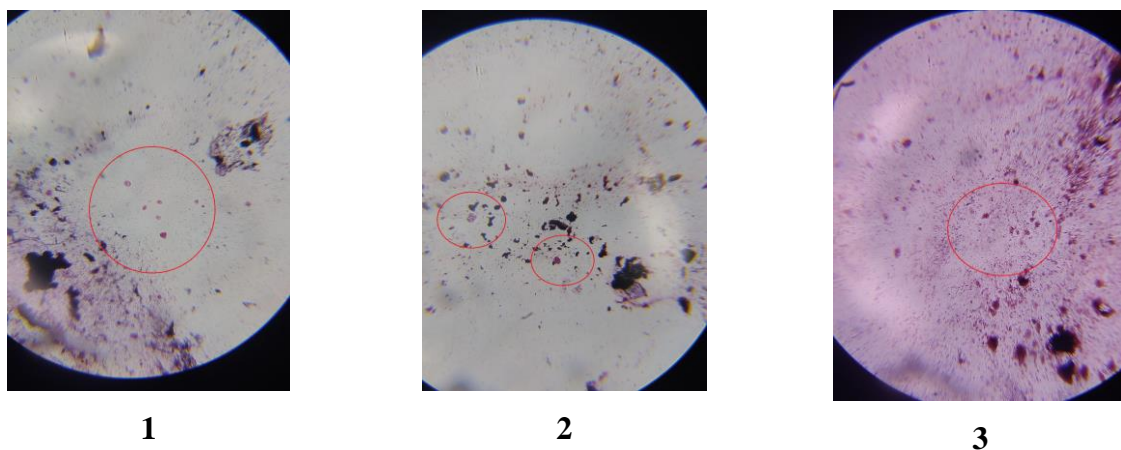
На 10-й день культивирования по цвету колоний было выделено три морфотипа: коричневые (44%), белые (40%) и флуоресцирующие (16%) 9 фото на рисунках 21, 22, 23).



Рисунки 21, 22, 23 – Окрашивание обростаний на 10-ый день наблюдений (площадка №2), фото из архива авторов

Микроскопия подтвердила принадлежность к роду *Azotobacter* (фото на рисунках 24, 25, 26). На основе культуральных и морфологических признаков [1, 4, 7] штаммы были предварительно идентифицированы как:

1. **Коричневые колонии** – *Azotobacter Chroococcum*.
2. **Белые колонии** – *Azotobacter Agilis*.
3. **Флуоресцирующие колонии** – *Azotobacter Vinelandii*.



Рисунки 24, 25, 26 – Штаммы *Azotobacter* водная иммерсия x400, фото из архива авторов. Примечание: 1 – *A. Chroococcum*; 2 – *A. Vinelandii*; 3 – *A. Agilis*.

3.3.5 Эксперимент «Влияние инокуляции азотфиксирующими бактериями на рост и урожайность томатов»

Семена томатов были тщательно отсортированы вручную, чтобы исключить поврежденные экземпляры (фото на рисунке 27).



Рисунок 27 – Сортировка семян томата «Снегирёк»

После визуального осмотра, 60 здоровых семян подверглись дополнительной обработке для повышения их жизнеспособности и защиты от патогенных микроорганизмов. В качестве антисептика использовался раствор хлоргексидина.

Для эксперимента использовались горшки объемом 3 литра. Посев проводился стандартным способом: семена помещались в предварительно увлажненный грунт на глубину около 1 см (фото на рисунках 28, 29).



Рисунки 28, 29 – Посев инокулированных семян томата «Снегирёк», фото из архива авторов

Горшки накрыли плёнкой для создания комфортных условий прорастания семян, разместили в хорошо освещенном месте с оптимальной температурой для прорастания томатов (около 20–25 °С), каждые два дня горшки менялись местами для оптимизации освещения. Регулярный полив обеспечивал необходимую влажность почвы, создавая комфортные условия для роста и развития растений.

Наблюдения за процессом прорастания семян начинались с первого дня после посева и проводились каждые два дня. Основное внимание уделялось подсчету количества проросших семян.

Первые всходы появились через 8 дней в двух горшках с *A. Chroococcum*. и трёх горшках с *A. Vinelandii*.

С полученными данными можно ознакомиться в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты наблюдения за прорастанием семян томата «Снегирёк»

Дата/Штамм	Контроль	<i>A. Chroococcum</i>	<i>A. Agilis</i> .	<i>A. Vinelandii</i>
10.03.25	0	4	0	4
12.03.25	2	6	4	5
15.03.25	5	10	6	6
17.03.25	8	13	7	7

Таким образом, процент всхожести семян составил 58%. Быстрее всего и в большем объёме взошли семена с *A. chroococcum* – 87% и в меньшем количестве семена с *A. Vinelandii* – 47%. Дольше всходили семена контрольной группы и с *A. Agilis* 53% и 47% соответственно. Не взошли семена в трёх горшках: контроль, *A. Vinelandii* и *A. Agilis*.

Далее проведена процедура выборки, целью которой являлось оставление в каждом горшке только одного самого сильного растения. Процедура проходила следующим образом:

1. Визуальный осмотр: каждый горшок был внимательно осмотрен для оценки состояния всех проростков.
2. Выбор сильнейших: среди всех проростков в одном горшке выбиралось самое крепкое и здоровое растение.
3. Удаление слабых: остальные, менее развитые растения аккуратно удалялись, чтобы освободить место для дальнейшего роста выбранного саженца.

После процедуры выборки осталось 17 горшков, в каждом из которых находилось по одному самому сильному и здоровому растению: 5 горшков с *A. Chroococcum*, и по 4 горшка *A. Vinelandii*, *A. Agilis* и контроль.

Далее наблюдения проводились раз в две недели. Основная задача этих наблюдений состояла в измерении длины побегов и оценке зеленой массы путём подсчёта количества листьев. Измерялась длина основного стебля от основания до верхушки растения с точностью до миллиметра, а также подсчитывалось общее количество сформировавшихся листьев на каждом растении, с полученными данными можно ознакомиться в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты измерений длин побегов и оценки зелёной массы побегов томата «Снегирёк»

Дата	Штамм	Длина побега (среднее значение, см)	Количество листьев (среднее значение, шт)
28.03.25	Контроль	3,28	5
	<i>A. Chroococcum</i>	3,96	5
	<i>A. Agilis</i>	4,65	5,25

	<i>A. Vinelandii</i>	5,55	5,75
08.04.25	Контроль	5,2	6,25
	<i>A. Chroococcum</i>	6,25	6,6
	<i>A. Agilis</i>	6,75	6,75
	<i>A. Vinelandii</i>	8,25	7
15.04.25	Контроль	10,4	6,6
	<i>A. Chroococcum</i>	11,4	6,6
	<i>A. Agilis</i>	11,75	7
	<i>A. Vinelandii</i>	12,9	7,25
22.04.25	Контроль	13	7
	<i>A. Chroococcum</i>	14,7	7,4
	<i>A. Agilis</i>	14	7,75
	<i>A. Vinelandii</i>	19,5	8,3

Анализируя полученные данные, на данном этапе наблюдений можно сделать следующий вывод: наибольшие показатели наблюдаются у растений, инокулированных штаммом *A. Vinelandii*. Эти растения демонстрируют максимальный прирост длины побегов и количества листьев, что свидетельствует о положительном воздействии данного штамма на развитие растений.

Побеги, инокулированные штаммами *A. Agilis* и *A. Chroococcum*, показывают немного меньшие значения, однако всё равно превосходят контрольную группу. Это указывает на то, что эти штаммы также оказывают положительное влияние на рост растений, хотя и в меньшей степени, чем штамм *A. Vinelandii*.

Контрольная группа, не подвергшаяся инокуляции, демонстрирует наименьшие значения по обоим параметрам.

После завершения периода плодоношения с растений был собран весь урожай. Для оценки общего влияния инокуляции на продуктивность и развитие растений были проведены финальные измерения биомассы. Растения аккуратно извлечены из грунта, очищены от почвы и разделены на составляющие: корневую систему, зеленую массу (побеги и листья) и плоды. Каждая фракция была взвешена отдельно. Результаты представлены в Таблице 6 и на Рисунке 30.

Таблица 6 – Морфометрические показатели и урожайность томата «Снегирёк» в конце эксперимента

Показатель / Группа	<i>Контроль</i> (4 растения)	<i>A. Chroococcum</i> (4 растения)	<i>A. Agilis</i> (4 растения)	<i>A. Vinelandii</i> (3 растения)
Общая масса корней, г	233	392	209	260
Общая зелёная масса, г	1852	1607	1653	1377

Общая масса плодов, г	2074	2624	3265	1948
Средняя масса корней на 1 растение, г	58,3	98,0	52,3	86,7
Средняя зелёная масса на 1 растение, г	463,0	401,8	413,3	459,0
Средняя масса плодов на 1 растение, г	518,5	656,0	816,3	649,3

Наибольший общий и средний урожай продемонстрировали растения, инокулированные штаммом *A. Agilis* (белые колонии) – 3265 г и 816,3 г на растение соответственно. Растения с *A. Chroococcum* (коричневые) также показали результат, значительно превышающий контроль (656,0 г против 518,5 г). Штамм *A. Vinelandii* (флуоресцентные) показал урожайность на уровне контроля. Таким образом, штаммы *A. Agilis* и *A. Chroococcum* оказали наиболее выраженное положительное влияние на продуктивность томатов.

Наибольшую массу корней сформировали растения, обработанные штаммом *A. Chroococcum* (392 г, 98,0 г/растение), что более чем в 1,6 раза превысило показатель контрольной группы. Это свидетельствует о сильном стимулирующем эффекте данного штамма на рост корней, что могло способствовать лучшему усвоению воды и питательных веществ.

Контрольная группа имела наибольшую общую и среднюю зелёную массу. Однако важно отметить, что у инокулированных растений, особенно с *A. Agilis* и *A. Chroococcum*, значительная часть ресурсов растения, судя по данным, была направлена на генеративную фазу (формирование плодов), что и привело к более высокой урожайности при несколько меньшей листовой массе.

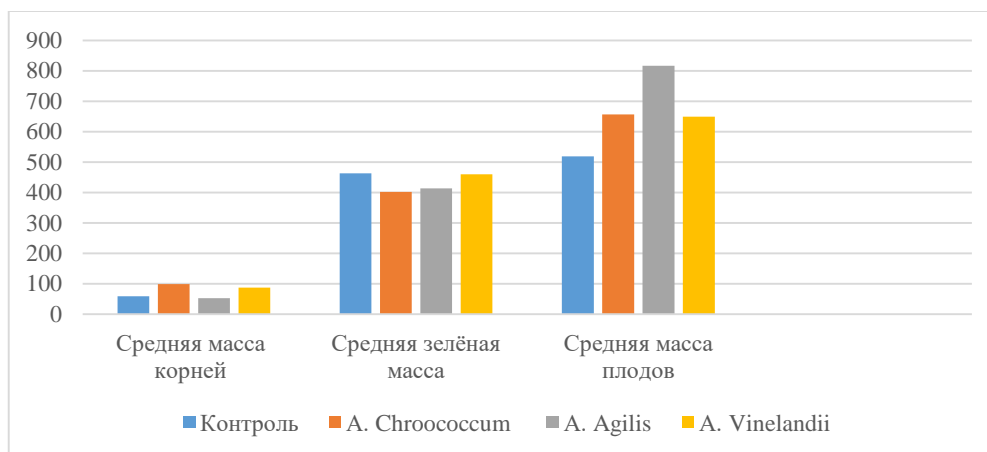


Рисунок 30 – Сравнительная диаграмма средних значений морфометрических показателей, собранных в разных опытных группах

Таким образом, инокуляция семян томата штаммами азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter* оказала значимое влияние на конечную урожайность и морфометрию растений.

Наиболее эффективным по влиянию на урожайность (массу плодов) оказался штамм *A. Agilis* (белые колонии). Растения этой группы сформировали урожай на 57% выше, чем контрольная группа.

Штамм *A. Chroococcum* (коричневые колонии) показал наилучший результат в стимуляции развития корневой системы и также существенно повысил урожайность (на 26% относительно контроля).

Штамм *A. Vinelandii* (флуоресцентные колонии) не показал значительного преимущества в урожайности над контрольной группой в данных условиях эксперимента.

Полученные результаты подтверждают выдвинутую гипотезу о том, что различные штаммы бактерий рода *Azotobacter* обладают разной способностью влиять на рост и продуктивность растений-хозяев.

Выводы

В результате проделанной работы по литературным данным изучены бактерии рода *Azotobacter*, их свойства и влияние факторов внешней среды. Совместно с научным консультантом отобраны три площадки с разным уровнем антропогенной нагрузки в г. Колпашево. В ходе полевых экспедиций собраны почвенные образцы, из которых методом посева на среду Эшби выделены и идентифицированы три штамма азотфиксирующих бактерий: *A. Chroococcum*, *A. Agilis* и *A. Vinelandii*.

Проведён эксперимент по инокуляции семян томата сорта «Снегирёк» выделенными штаммами. В ходе исследования установлено:

- наибольший процент всхожести семян отмечен в группе с *A. Chroococcum* (87%);

- на ранних этапах вегетации наибольший прирост побегов наблюдался у растений, обработанных штаммом *A. Vinelandii*;

- ключевым результатом исследования является положительное влияние инокуляции на конечную урожайность. Наибольшая масса плодов с растения зафиксирована в группах с *A. Agilis* (816,3 г) и *A. Chroococcum* (656,0 г), что на 57% и 26% соответственно превышает показатель контрольной группы (518,5 г);

- штамм *A. Chroococcum* оказал наиболее сильное стимулирующее действие на развитие корневой системы растений.

Таким образом, гипотеза исследования подтвердилась: штаммы *Azotobacter*, выделенные из почв с разной антропогенной нагрузкой, действительно обладают различной способностью влиять на рост и урожайность томата. Наиболее перспективными для дальнейшего изучения и потенциального применения в качестве биопрепарата показали себя штаммы *A. Agilis* и *A. Chroococcum*.

Список использованных источников и литературы

1. Блинков Г. Н. Азотобактер и его значение для высших растений / Г. Н. Блинков, д-р биол. наук проф. – Томск : Изд-во Том. ун-та, 1959. – 254 с.
2. Дарзник Ю. О. Условия жизнедеятельности азотобактера в почвах Мургабского оазиса под хлопчатником : Автореферат дис. на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Акад. наук Каз. ССР. Объедин. учен. совет ин-тов почвоведения, ботаники, микробиологии и вирусологии. – Ашхабад : [б. и.], 1962. – 19 с.
3. Звягинцев Д. Г. Биология почв: Учебник. – 3-изд., испр. и доп. / Д. Г. Звягинцева, И. П. Бабьева, Г. М. Зенова. – М.: Изд-во МГУ, 2005. –
4. Колешко О. И. Экология микроорганизмов почвы : лаб. практикум : [для биол. спец. ун-тов] / О. И. Колешко. – Минск : Вышэйш. школа, 1981. – 176 с.
5. Мишке И. В. Микробные фитогормоны в растениеводстве / И. В. Мишке; АН ЛатвССР, Ин-т микробиологии им. А. Кирхенштейна. –Рига : Зинатне, 1988. – 150,[2] с.
6. Мишустин, Е. Н. Биологическая фиксация атмосферного азота / Е. Н. Мишустин, В. К. Шильникова ; АН СССР. Ин-т микробиологии. Моск. с.-х. акад. им. К. А. Тимирязева. – Москва : Наука, 1968. - 531 с. 445 с.
7. Хоулт Дж. Определитель бактерий Берджи / , Н. Криг, П. Снит . – М. : «Мир», 1997. – 800 с.
8. Шлегель Г. Общая микробиология : пер. с немец. / Л. В.Алексеевой, канд. биол. наук Г. А. Куреллы и канд. мед. наук Н. Ю. Несытовой ; под ред. чл.-корр. АН СССР Е.Н. Кондратьевой. – М. : «Мир», 1987. – 559 с.
9. Сайт Catalogue of Life [Электронный ресурс] : род: Azotobacter URL: <https://www.catalogueoflife.org/?taxonKey=36XM> (дата обращения: 12.03.2024).
10. Сайт Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека [Электронный ресурс] : О вреде нитратов. – URL: <http://04.rospotrebnadzor.ru/index.php/san-nadzor/43-san-ottel/4739-22052015.html> (дата обращения: 04.03.2024).
11. Сайт Яндекс. Карты [Электронный ресурс] : Карта Колпашевского района. – URL: <https://yandex.ru/maps/11349/kolpashevo/?ll=82.902679%2C58.311384&z=12> (дата обращения: 5.03.2024).

Приложение А
(обязательное)

Результаты первичного исследования почвенных образцов

Параметр	Точка 1			Точка №2			Точка №3			Точка №4			Точка №5		
Площадка №1															
Повторность	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Гранулометр. состав	Сугл. лёг.	Сугл. лёг.	Сугл. лёг.	Сугл. лёг.	Сугл. лёг.	Сугл. ср.	Сугл. ср.	Сугл. ср.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. ср.	Сугл. ср.	Сугл. ср.
Агрегатный состав	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл
Солёность	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Цвет	серая	серая	серая	серая	серая	серая	бурая	бурая	бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая
рН водной вытяжки	7	7	6	8	7	7	7	7	6	7	6	6	7	7	6
Наличие карбонатов	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Площадка №2															
Повторность	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Гранулометр. состав	Сугл. лёг.	Сугл. лёг.	Сугл. ср.	Сугл. ср.	Сугл. лёг	Сугл. лёг	Сугл. лёг	Сугл. ср.	Сугл. ср.	Сугл. ср.	Сугл. ср.	Сугл. лёг	Сугл. тяж.	Сугл. ср.	Сугл. ср.
Агрегатный состав	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.	Неуд.
Солёность	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Цвет	св. бурая	св. бурая	св. бурая	св. бурая	св. бурая	св. бурая	св. бурая	св. бурая	св. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая
рН водной вытяжки	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8	8	8	8	8	8

Наличие карбонатов	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Площадка №3															
Повторность	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Гранулометр. состав	Сугл. ср.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. ср.	Сугл. тяж.	Сугл. ср.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.	Сугл. тяж.
Агрегатный состав	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл	удовл
Солёность	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Цвет	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая	тёмн. бурая
рН водной вытяжки	8	7	7	8	7	8	8	8	7	8	7	7	7	7	8
Наличие карбонатов	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

