

Муниципальное автономное общеобразовательное учреждение
«Лицей» городского округа город Урюпинск
Волгоградской области

Исследование бактерий-продуцентов целлюлаз в почвах
ООПТ «Памятник природы «Черничкин сад»
городского округа город Урюпинск Волгоградской области

Работу выполнили:
ученицы 10 Б класса:
Перфильева Мария Андреевна,
Рутц Анастасия Евгеньевна
(детское объединение
«Агроэкология»)

Руководитель:
педагог дополнительного
образования МАОУ «Лицей»
Раптанова Екатерина Марковна

г. Урюпинск, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

	СТР.
Введение	3
Методика исследований	4
Результаты исследований	4
Изучение исследуемой территории по литературным данным	4
Рельеф	4
Геология	5
Климат	5
Изучение антропогенного воздействия	5
Изучение морфологических свойств исследуемых почв	5
Результаты микробиологических исследований	5
Выводы	6
Заключение	7
Список используемой литературы	7
Приложение 1	9
Приложение 2	11
Приложение 3	12

ВВЕДЕНИЕ

Целлюлозолитические микроорганизмы обладают комплексом ферментов для деградации целлюлозы и гемицеллюлозы - основных компонентов клеточных стенок растений. Эти штаммы способны разрушать структурные полисахариды, высвобождая заключенные внутри клеток питательные вещества, повышая усвояемость грубых кормов на 15-25%. Целлюлазы, превращая грубые корма в высокоэнергетические, особенно важны для жвачных животных и производства кормов из растительных отходов - жвачные животные получают больше питательных веществ из сена и соломы [5].

Источниками полезных микроорганизмов являются почвенные бактерии (например, *Bacillus subtilis*, *Azotobacter*), молочнокислые бактерии (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*), дрожжи и грибы (*Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae*) [5].

На территории города Урюпинска находится ООПТ регионального значения «Памятник природы «Черничкин сад», представляющий интерес в рамках поиска микроорганизмов с целлюлозолитической активностью, исследования их влияния на плодородие почвы. Современная территория памятника природы «Черничкин сад» почти сто лет назад представляла собой неосвоенные площади, впоследствии, на протяжении более 50 лет преобразованные, под руководством Петра Просвинова, для разведения плодово-ягодных, декоративных и лесозащитных культур. [Приложение 1]. Целлюлазная активность — интегральный индикатор скорости биологической трансформации растительных остатков в биоценозе. Многолетние наблюдения за изменениями биологической активности почв дают представления о направлении и результатах самовосстановления микробных сообществ в нарушенных местообитаниях.

Степень изученности проблемы.

Научные данные о целлюлозолитической активности фермента бактерий в почвах ООПТ «Памятник природы «Черничкин сад» не обнаружены.

Актуальность исследования.

Бактерии, дрожжи и другие микроорганизмы - постепенно заменяют химические добавки и антибиотики, создавая новую парадигму животноводства. Известно, что животные не производят целлюлазы. Использование целлюлаз в кормовых добавках для жвачных животных повышает переваримость клетчатки на 25%, что дает возможность использовать более дешевые корма, повышает энергетическую ценность сена. Поиск микроорганизмов для кормовых добавок — область, где каждое исследование может стать открытием, а каждый участник может внести свой вклад в решение глобальных проблем человечества.

Цель работы:

Определение целлюлозолитической активности фермента бактерий в исследуемых образцах почв ООПТ «Памятник природы «Черничкин сад»

Задачи работы:

1. Провести полевое описание почвы с фиксацией морфологических признаков (цвет, влажность, структура, механический состав, включения) на территории ООПТ «Памятник природы «Черничкин сад».

2. Произвести отбор почвенных проб с разных точек ООПТ «Памятник природы «Черничкин сад».
3. Произвести первичный посев почвенных микроорганизмов.
4. Осуществить скрининг целлюлазной активности почвенных бактерий.

Гипотеза: В исследуемых почвенных образцах содержатся микроорганизмы, обладающие высокой целлюлозолитической активностью фермента.

Объект исследования – образцы почв особо охраняемой природной территории регионального значения «Памятник природы «Черничкин сад» города Урюпинска Волгоградской области.

Предмет исследования – содержание бактерий-продуцентов целлюлаз в почвах ООПТ регионального значения «Памятник природы «Черничкин сад» — это территория поймы реки Хопер, преобразованная человеком, сосны и дубы высажены более ста лет назад / 3 /.

1. МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

В районе исследования для описания морфологических свойств почвы и отбора почвенных образцов, применялась методика полевого описания почв / 6 /.

Отбор почвенных образцов осуществляли из точек 1 (северного склона), точки 2 (точка расположена в 134 метрах от первой точки), точки 4 (точка находится севернее на 133 метра), точки 5 (восточного склона, расположена от первой точки на 96 метров), точки 6 (западного склона). Схема расположения отбора почвенных образцов указана на рисунке 1 /Приложение 1/.

Для первичного посева в термостойкий стакан на 500 мл отмерили: глюкозу - 2 г, пептон - 1 г, дрожжевой экстракт - 0,5 г, K_2HPO_4 - 0,2 г, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,1 г, $MnSO_4 \cdot H_2O$ - 0,03 г, агар - 1,5 г. Добавили 200 мл дистиллированной воды, перемешали до однородной взвеси. Нагревали электрической плите до полного растворения, охладили до 50-60°C; добавили 0,5 мл клотримазола,

1 мл, перемешали, разлили по чашкам Петри: по 20 мл в каждую из 10 чашек, оставив застыть на 45 минут. После появления плесени в чашках Петри с двух попыток, в третий раз повторили процедуру, но уменьшили дозировку глюкозы, дрожжевого экстракта, пептона, увеличили концентрацию клотримазола, исключили добавление молочной кислоты. На третий день после посева - появления колоний без плесени, для определения содержания целлюлазной активности: в стакан 300 мл добавили: пептон - 0,3 г, дрожжевой экстракт - 0,15 г; K_2HPO_4 - 0,06 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,03 г; $MnSO_4 \cdot H_2O$ - 0,01 г; Карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) - 0,06 г; Агар - 0,75 г. Добавили 50 мл воды. На электроплите нагревали до полного растворения компонентов. Разлили по лункам планшета - по 2 мл в каждую лунку. После застывания раствора осуществили пересев колоний / 5 /.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Изучение исследуемой территории по литературным данным

2.1.1. Рельеф

Территория городского округа город Урюпинск расположена в Окско-Донской низменности, в пределах которой, выделяется один геоморфологический район

— Хоперско-Бузулукская аккумулятивная равнина. Хоперско-Бузулукская аккумулятивная равнина возникла на месте обширного эрозионного понижения между Калачской и Приволжской возвышенностями. В среднем плейстоцене вторгшийся ледниковый язык Днепровского оледенения сnivelировал доледниковые эрозионные формы и отложил на поверхности толщу конечно-моренных и флювиогляциальных отложений мощностью до 60—70 м. В послеледниковое время ледниковая аккумулятивная равнина подверглась эрозионному расчленению. Рельеф равнины характеризуется слабой расчлененностью и мягкостью форм. Высоты междуречий колеблются в пределах от 120 до 170 м над уровнем моря и постепенно снижаются с севера на юг. Западная часть района, где находится территория ООПТ «Черничкин сад» (разрезы №1-5) с поверхности сложена песчанистыми флювиогляциальными осадками /2/.

Хоперско-Бузулукская равнина расчленена реками Хопром, Бузулуком и их притоками. Овражно-балочная сеть довольно редкая. В районе ООПТ «Черничкин сад» долина р. Хопер достигает 10 км. Территория ООПТ располагается на левом склоне р. Хопер.

2.1.2. Геология

Геологические особенности территории

Хоперско-Бузулукская равнина сложена с поверхности моренными песчано-глинистыми породами среднечетвертичного возраста с валунами карельских кристаллических пород, а также покровными глинистыми и суглинистыми образованиями являющимися продуктами элювиального преобразования ледниковых осадков /2/.

2.1.3. Климат

Климатические особенности

По агроклиматическому районированию Волгоградской области Хоперско-Бузулукская равнина расположена в умеренно-засушливой области и характеризуется недостаточным увлажнением с гидротермическим коэффициентом более 0,8. Сумма положительных средних суточных температур за период с температурой воздуха 10° около 2800°, осадков за этот же период выпадает от 230 до 250 мм. Зима умеренно холодная со средне-январскими температурами от —9,5° до —10,5° и абсолютным минимумом — 38°. Снежный покров образуется в третьей декаде ноября, но устойчивым становится в начале декабря. Средняя высота снежного покрова 20—25 см. Число дней со снежным покровом около 120. Зимой бывают оттепели. Лето жаркое, со среднеиюльской температурой 21°—21,5°, с абсолютным максимумом 40°. Безморозный период длится около 160 дней /2/.

2.2. Изучение антропогенного воздействия

Внешним источником подкисления почв могут быть атмосферные осадки, содержащие растворы кислот (угольной, серной, азотной), особенно в промышленных районах. Промышленные предприятия городского округа город Урюпинск сконцентрированы в основном в северо-западной части города.

2.3. Изучение морфологических свойств исследуемых почв

По данным Крестина В.М. /4/, лесная растительность в степи приурочена обычно к поймам рек, балкам и оврагам.

2.4. Результаты микробиологических исследований

Дата проведения скрининга: 27 октября 2025 года. Полученные данные скрининга занесены в таблицу 1.

Целлюлазная активность в образцах в точках отбора.

таблица 1.

Код образца	Точка № 1	Точка № 2	Точка № 4	Точка № 5	Точка № 6
	Точка 1: верхняя часть северного склона, 86 м над уровнем моря, с.ш. 50°. 46'. 07,6" в.д. 41°. 59'. 42,8"	Точка 2: в 134 метрах от точки 1; перепад высот 2 м; 77 м над уровнем моря; с.ш. 50°. 46'. 09,8" в.д. 41°. 59'. 47,1"	Точка 4: с.ш. 50°. 46'. 11,7" в.д. 41°. 59'. 46,1"	Точка 5: восточный склон от точки 1 на восток 96 м; высота над уровнем моря с.ш. 50°. 46'. 06,8" в.д. 41°. 49'. 47,1"	Точка 6: от точки 5 на восток 50 м, западный склон; уклон 11°; высота над уровнем моря 94 м; с.ш. 50°. 46'. 05,9" в.д. 41°. 59'. 49,3"
КА-4 25РЕМ34.1.3 КА-4 25РЕМ34.1.4 КА-4 25РЕМ34.2.4 КА-4 25РЕМ34.4.1 КА-4 25РЕМ34.4.2 КА-4 25РЕМ34.4.3 КА-4 25РЕМ34.5.2 КА-4 25РЕМ34.5.3	Средняя активность	Средняя активность	Средняя активность	Средняя активность	Не выявлено

3. ВЫВОДЫ

Изучив литературные источники, не обнаружив научные данные о целлюлозолитической активности фермента бактерий в почвах ООПТ «Памятник природы «Черничкин сад», произвели отбор почвенных проб с разных точек ООПТ «Памятник природы «Черничкин сад» (северного, восточного и западного склонов) дважды: 13 сентября и повторно 5 октября. Произвели первичный посев почвенных микроорганизмов (19 сентября, повторно 25 сентября и 17 октября). 27 октября 2025 года осуществили скрининг целлюлазной активности. Посевы культивировали в условиях комнатной температуры. Определение целлюлозолитической активности выделенных штаммов проводили путем выращивания разведений бактериальных культур на плотной питательной среде, содержащей целлюлозу, с последующей детекцией ферментативной активности добавлением к среде красителя Конго. Уровень целлюлозолитической активности оценивали по размеру зон просветления вокруг выросших колоний бактерий. Выдвинутая нами гипотеза о

микроорганизмах, обладающих высокой целлюлозолитической активностью фермента частично подтвердилась.

В почвах ООПТ регионального значения «Памятник природы «Черничкин сад» обнаружены бактерии, обладающие средней целлюлозолитической активностью фермента, возможно, потенциально способные к образованию биоактивных целлюлаз в ферментированных кормовых добавках. Из 15 рассмотренных образцов (посев из образцов 5 точек) зоны лизиса вокруг колоний на средах с карбоксиметилцеллюлозой. выявлены у 8 образцов.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Почвенный покров ООПТ «Памятник природы «Черничкин сад», расположенной в пойме реки Хопёр, преобразованной деятельностью человека более 100 лет назад, содержит микроорганизмы, обладающие средней целлюлозолитической активностью, что, на наш взгляд, представляет значительный интерес в поиске целлюлозолитических микроорганизмов для кормовых добавок.

Средняя целлюлозолитическая активность бактерий отмечена во всех образцах, кроме точки 6. В этой точке лесной опад состоял из листьев дуба черешчатого, липы мелколистной, ясеня и груши дичка, растительные остатки не имели признаки разложения. Вероятно, на активность целлюлозолитических микроорганизмов в этой точке территории повлияло сочетание факторов / 8 / , температурного, водного режима сухой среднесуглинистой почвы комковато-пылеватой структуры, с включением мелких зерен кварца.

Для отбора штаммов с высокой целлюлозолитической активностью бактерий необходим комплексный подход и мониторинг за изменениями биологической активности почв ООПТ «Памятник природы «Черничкин сад».

Список литературы

1. Володина Г.Б., Якунина И.В. Общая экология: лабораторный практикум. Тамбов: Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2005. – 104с. – ISBN 5-8285-0448-X.
2. География и экология Волгоградской области / Под ред. проф. В.А. Брылева. – Волгоград: Перемена – 2005. — 260 с. – ISBN 5-88234-746-7
3. Кадастровое дело № 002 «Черничкин сад». Памятник природы регионального значения. – Волгоград: Комитет природных ресурсов, лесного хозяйства и экологии Волгоградской области, 2020. — 30 с.
4. Кретинин В.М. Редкие и исчезающие почвы природных парков Волгоградской области. – Волгоград: Изд-во ВолГУ. – 2006. – 144 с. – ISBN: 978-5-900781-86-2
5. Лабораторная методика по поиску микроорганизмов для кормовых добавок. – Новосибирск: ООО «Живые системы», 2025. — 38 с.
6. Полевое описание почв: учебно-методическое пособие / И. А. Самофалова; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Федеральное

государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д. Н. Прянишникова». — Пермь : Прокрость, 2021. — 113 с. : ил., табл. : 29 см.; ISBN 978-5-94279-521-4.

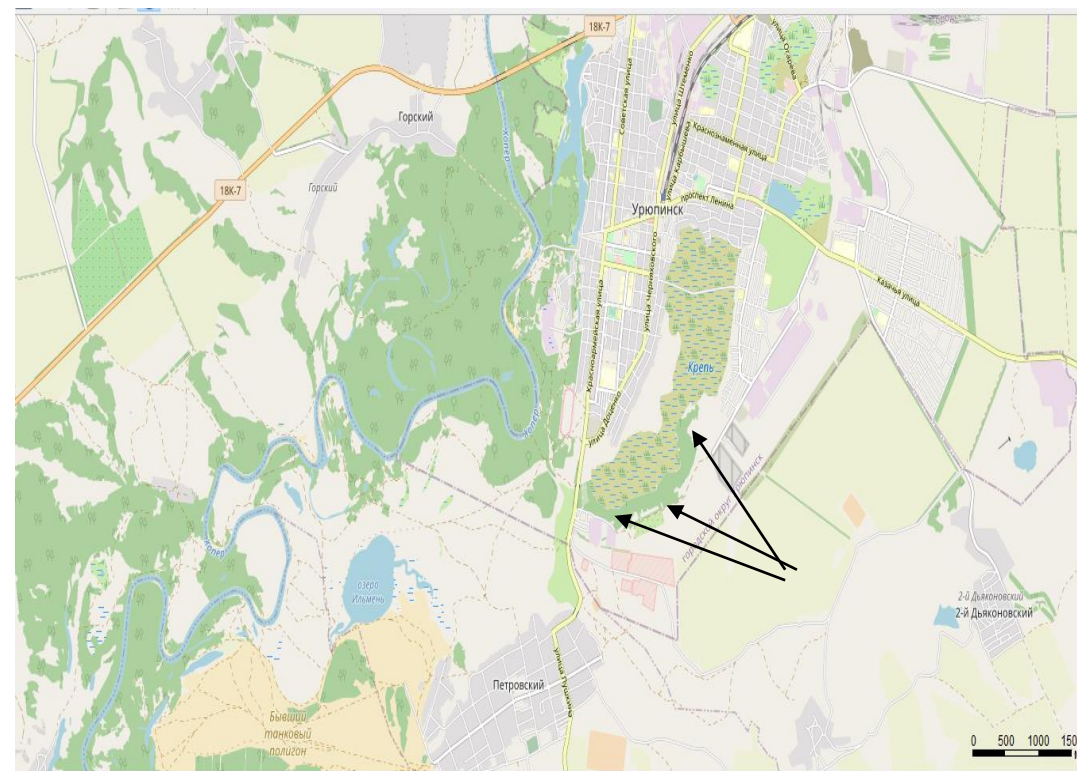
8. Плеханова Л. Н., Потапова (Прохорова) А. В. Мониторинг целлюлазной активности почв как биологического индикатора восстановления залежей степного Зауралья после введения заповедного режима // Вестник ТГУ. 2014. № 19(5). С. 1335–1339.



1880 год

Военно-топографическая карта Российской Империи 1846-1863 гг. (издавалась до 1919 г.), созданная под руководством Ф.Ф. Шуберта и П.А. Тучкова. Масштаб: 3 версты на дюйм.

Ряд: XX, лист: 20. Показаны территории: Область Войска Донского



Яндекс карта
Стрелки на карте направлены на ООПТ «Памятник природы
«Черничкин сад»

Стрелки на карте направлены на ООПТ «Памятник природы

Условные знаки к военно-топографической карте Российской империи

УСЛОВНЫЕ ЗНАКИ

**СТОЛИЧНЫЕ
ГУБЕРНСКИЕ
ОБЛАСТНЫЕ** } = № 1

**УЕЗДНЫЕ
ОКРУЖНЫЕ
ПОВЕТОВЫЕ** } = № 2

**БЕЗУЕЗДНЫЕ,
ЗАШПАТНЫЕ,
МЕСТЕЧКИ, ПОСАДЫ,
СЛОБОДЫ и СТАНИЦЫ** } = № 3

**Села, Деревни и Хутора
более 20 дворов** } = № 4

**Деревни, Околицы,
Фольварки и Хутора
менее 20 дворов** } = № 5

**Господский дом, Фольварок,
Плябль, Мыза, Сельцо,
Фабрика и Завод** } = Курсывом

Воды

Примечание: Протоки в одну и две черты выделены курсивом

Леса, кусты, луга, болота, горы, пески и пр.

Дороги

Начата Построенная
Телеграф С аллеями Без аллей Железная
С аллеями Без аллей Шоссейная
С каменными Без аллей Почтовая
Без каменн Провозная Бол. Обыкновенная
Зимняя Тропа По железной дороге
Проектированная Фабричная
Земной вал Телеграфная линия

Границы

Государственная
Губернская и
Воен. Поселений
Уездная и
Градоначальства

По железной дороге
Станция 1 кл. Станция 3 кл.
Заставы и товарные дома
Тригонометрический пункт
97,5 - его высота в сажених
Топографическая точка
47,4 - ее высота в сажених

Курсывом

Каменные Деревянные
Монастыри, Церкви, Кирки
Часовни и Мечети
Маяк (деревянный
и каменный)
Морские и речные
Пристани
Каменная
Деревянная
Каменные и деревянные
Кресты
Каменные и деревянные
верстовые столбы
Фабрики и Заводы
Кл. (Кладбище)
Кол. (Колодезь)
Ключи или родники
Минеральные воды
Рудник

На Листах Курляндии, Лифляндии и Эстляндии

Церкви и Мызы (деревни из 20 и более дворов)
Деревни (менее 20 дворов, а более 20 дворов как Больш. Деревни)
Фольварки, Пастораты
Унтер-форстмейстер
Форстмейстер
как деревни менее 20 дворов

Принятые сокращения: мв. (мыза); ф. (фольварок); паст.
(пасторат); унт. Форст. (унтер-форстмейстер); форст.
(форстмейстер), перед названиями Гр. (Грос), Кле. (Клейн).

На картах Бессарабии: Вале (В.) Овраги, Бакчи (Б.) Огороды

Примечания

Сокращение в названиях заводов и фабрик: Кирп. (Кирпичный), Пив. (Пивоваренный), Мыл. (Мыловаренный), Кож. (Кожвенный), Стекл. (Стекланный), Сах. (Сахарный), Лит. (Литейный), Колок. (Колокольный), Чуг. (Чугунный), Пор. (Пороховый), Селитр. (Селитровый), Руж. (Ружейный), Пил. (Пильный), Экипаж. (Экипажный), Фарф. (Фарфоровый), Спир. (Спиртовой), Крас. (Красильный), Бел. (Белильный), Воск. (Воскобойный), Сал. (Салотопенный), Гон. (Гончарный), Укс. (Уксусный), Кон. (Коннозаводство), Кис. (Кисельный), Зер. (Зеркальный), Каф. (Кафельный), Жел. (Железный), Фаянс. (Фаянсовая) фабрика, Шп. (Шпалерная), Сук. (Суконная), Ситц. (Ситцевая), Пол. (Полотняная), Митк. (Миткалевая), Шелк. (Шелковая), Бум. (Бумажная) и проч.

Сокращения в названиях селений и отдельных строений: Ск. дв. (Скотный двор), Пост. дв. (Постовый двор), Госп. д. (Господский дом), Корп. (Корчма), Кар. (Карантин), Колон. (Колонна), Ок. (Околица), Х. (Хутор), З. (Застенок), П. (Пасека, Пчельник), Ф. (Фольварок), М. (Могила), Кол. (Колодезь), Кур. (Курган), Кл. (Кладбище), М. (Местечко), Пос. (Посад), Сл. (Слобода), Стан. (Станица), Каз. дор. ком. (Казарма дорожной команды), Д. сб. пош. (Дом для сбора пошлины), Смыл. п. (Смолевая печь), Изв. п. (Известковая печь), Фер. (Ферма), Руд. (Рудник). *По направлениям железных дорог телеграфные линии не обозначены.

Карта составлена по проекции Бонна. Для средней параллели принята широта 52°, Пулковский меридиан принят за первый. Меридианы и параллельные круги назначены от 20° до 20°.

Подпись меридианов двойная: первая обозначает число градусов и минут от Пулкова, а вторая на 44° к Востоку – число градусов и минут от Парижа.

Размеры земли приняты: сажине 1/302,78 и большая пядь в 298853 сажени.

При гравировке не делались штрихи по строениям, огородам, садам и двойным дорогам, чтобы их не затемнять. По этой же причине не затронуты надписи при обозначении лесов, а линии и штрихи по надписям и между буквами выполнены в полтонах.

Схема расположения точек отбора почвенных образцов

рис. 1.



точка 6

точка 1

Паспорт почвенного разреза

Паспорт почвенного разреза

Растительность. Лесной культурный фитоценоз, дубрава
Дуб черешчатый. Подлесок из вяза гладкого, бересклета бородавчатого, жостера слабительного, жимолости татарской, ясеня обыкновенного, клена полевого, клен татарского, клена ясенелистного. Травянистая растительность – крапива двудомная, будра плющевидная, ландыш майский.

Краткая геоморфологическая характеристика прилегающей к разрезу территории. Нижняя часть левого склона долины р. Хопер.

Физико-географическое районирование. Восточно-Европейская равнина, степная зона, подзона умеренно-засушливых степей на черноземах, Окско-Донская провинция, Хоперско-Бузулукский район.

Привязка разреза. 50 м на юго – запад от линии электропередач 10 м на северо – восток от проселочной дороги.

Морфологическое строение почвенного профиля.

A_0 – 0-5 см – лесная подстилка, листья, мелкие ветки

A – 5-23 см – свежий, темно-серый с буроватым оттенком, комковато-пылеватый, средне-суглинистый, слабоуплотненный, мелкие и крупные корни, зерна кварца, переход постепенный.

AB – 23-51 см – свежий, темно-серый с буроватым оттенком, однородный, тяжелосуглинистый, комковато-пылеватый, среднеуплотненный, корни растений, зерна кварца, переход постепенный.

B – 51-85 см – свежий, желтовато-бурый, комковато-пылеватый, тяжелосуглинистый, уплотненный, корни растений, крупные зерна кварца.

Полевое название почвы: чернозем южный маломощный средне-суглинистый



Работа в полевых условиях в составе команды

Работа в лаборатории по теме исследования

