

Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение
«Антоновская средняя школа имени Героя Советского Союза П.И.
Ильичёва»с.АнтоновкиНижнеомского муниципального района Омской области

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

**Тема: «Влияние способа внесения микробиологических
удобрений на рост и развитие редиса Зеленая свежесть»**

Номинация «**Ботаника и экология растений**» (14 – 18 лет)

Год выполнения работы: сентябрь - ноябрь 2024 г.

Автор работы:

Калябина Наталья Алексеевна

обучающаяся 8 класса

МБОУ «Антоновская СШ»

Научный руководитель:

Девяткина Светлана Владимировна

учитель химии и биологии

Муниципальное бюджетное

общеобразовательное учреждение

«Антоновская средняя школа имени

Героя Советского Союза П.И. Ильичёва»

Оглавление

Введение.....	3
Глава 1. Кто такие микробиологические удобрения?.....	6
Глава 2. Подготовка почвы, семян, ёмкостей для посадки, разведение микробиологических удобрений.....	7
Глава 3. Редис Зелёная свежесть и посадка редиса в почву.....	8
Глава 4. Наблюдение за ростом редиса Зелёная свежесть.....	9
Заключение.....	11
Список источников	12
Приложение	13

Введение

Новизна и значимость: исследовательская работа является частью большого проекта, запущенного *Институтом химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН)* в рамках изучения азотофиксирующих бактерий Российской Федерации. Исследования проводились в рамках исследовательской программы (проекта) «Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов. Направление "Микробные удобрения"». В течение трёх лет школьники из 75 регионов под руководством педагогов-наставников помогали ученым собирать коллекцию почвенных микроорганизмов со всей страны. В 2024 - 2025 году проект вышел на новый виток: исследования посвящены изучению роли *Azotobacter* в развитии органического земледелия. Наша команда присоединилась к исследованию и стала научным волонтером! Мы исследовали влияние способа внесения микробных (микробиологических) удобрений (различных штаммов *Azotobacter*) на рост и развитие редиса в искусственной экосистеме (огород).

Актуальность: исследования последних лет показали, что почвенные бактерии, стимулирующие рост растений, в качестве биоудобрений могут сыграть важную роль в устойчивом управлении почвенными ресурсами. Фиксация атмосферного азота, солюбилизация фосфатов и повышение биодоступности железа в почве для использования растениями за счет почвенных бактерий, способствуют устойчивому развитию сельского хозяйства: повышают плодородие почвы и увеличивают урожайность сельскохозяйственных культур.

Использование таких бактерий при совместном внесении с минеральными удобрениями может в перспективе способствовать созданию технологий земледелия нового поколения, с более низким уровнем затрат и сниженным негативным эффектом для окружающей среды.

Цель исследования: исследовать влияние способа внесения микробиологических удобрений на рост редиса Зелёная свежесть.

Задачи:

1. Подготовить почву и ёмкости для посева семян, произвести посадку семян редиса Зелёная свежесть.
2. Приготовить и инкубировать микробиологические удобрения.
3. Внести микробиологические удобрения **четырьмя способами:**
замачивание семян редиса на 2 часа в суспензии удобрений непосредственно перед посевом; внесение суспензии удобрений в почву перед посадкой семян; внесение микробного удобрения после прорастания в почву; внесение микробного удобрения после прорастания на листья.
4. Вести уход и наблюдения за ростом и развитием редиса, фиксировать результаты, проанализировать полученные данные и сделать выводы.
5. Вычислить процент зелёной биомассы и корней после высушивания (питательность растения).

6. Внести в электронную базу данных «Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов, результаты исследований по направлению "Микробные удобрения"» полученные результаты исследований.

Объект исследования: редис Зелёная свежесть.

Предмет исследования: высота стебля, количество листьев, ширина и длина листовой пластинки, длина главного корня, процент потерянной влаги и процент сухого вещества зелёной биомассы и корней.

Место отбора почвы: экосистема, преобразованная хозяйственной деятельностью человека - огород.

Мы выдвинули **гипотезу:** способ внесения микробиологических удобрений влияет на рост редиса Зелёная свежесть.

Методы исследования:

- *наблюдение и фотографирование;*

- механический состав почвы определялся *скатыванием почвенного образца в шарик*, вытягиванием шарика в жгут и соединением в кольцо с последующим рассматриванием внешнего вида и сравнением с данными таблицы;

- химический анализ почв (определение *наличия карбонатов* по выделению пузырьков газа при взаимодействии с 10% - ной соляной кислотой; *кислотность среды* – по окрашиванию универсальной индикаторной бумаги и сравнению цвета окраски со шкалой);

- *метод «элективных сред»* (питательная среда Эшби не содержит жизненно необходимого элемента азота и на такой среде могут расти только организмы, которые могут усваивать необходимый для жизни азот из воздуха);

- *сравнение и анализ.*

Материально – техническое обеспечение

Набор «Оценка влияния факторов окружающей среды на эффективность бактериальных удобрений» мы получили по почте от координатора проекта «Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов. Направление "Микробные удобрения"», отправитель «ООО «Живые системы»», в котором находились необходимые материалы для проведения исследований.

1. Электронные весы
2. Ситечко
3. Пипетки стерильные – 5 шт.
4. Индикаторная бумага
5. Соль - 20 г
6. Предметные стёкла
7. Цилиндр - 25 мл
8. Микробиологическое удобрение (в пробирке эппендорф)
9. Семена пшеницы - 20 г (яровая Отборная алтайская)
10. Семена гречихи - 20 г (зелёная Отборная алтайская)
11. Семена редиса - 10 г (зелёный Зелёная свежесть)

12. Инструкция по использованию набора «Оценка влияния факторов окружающей среды на эффективность бактериальных удобрений».

Результаты исследования

Результаты командной исследовательской работы мы представили на онлайн - конференции, завершающей направление «Микробные удобрения» Всероссийского атласа почвенных микроорганизмов. [5] Участники команды получили дипломы наставника и соавторов исследовательской программы «Всероссийского атласа почвенных микроорганизмов». (Приложение 14)

Участие в проекте «Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов. Направление "Микробные удобрения"» позволило нам приобрести ценный опыт научного исследования. Вместе с научными волонтерами из других регионов страны мы вносим крупиночку в развитие органического земледелия.

Мы стали частью одной большой команды страны и приняли участие в увлекательном и практически значимом исследовании!

Глава 1. Кто такие микробиологические удобрения?

Микробиологические (микробные) удобрения – это удобрения, содержащие микроорганизмы, которые способны мобилизовать питательные вещества из почвы, превращая их из сложной органической и недоступной для растений формы посредством биологических процессов в простую неорганическую и удобную форму для поглощения корневой системой. Кроме этого, в результате своей жизнедеятельности микроорганизмы могут синтезировать и выделять активирующие вещества, которые оказывают положительное влияние на рост и стрессоустойчивость наземных растений.

Реакция на внесение в почву бактерий, способствующих росту растений, значительно варьируется в зависимости от состава биоудобрения, вида растений, типа почвы, плотности и количества вносимых микроорганизмов, а также условий окружающей среды, в которых проводится эксперимент (осадки, температура почвы и воздуха, влажность).

Бактериальные удобрения можно использовать для внесения в почву с целью повышения продуктивности сельскохозяйственных культур и снижения доз вносимых удобрений. Использование ризосферных бактерий, способных фиксировать атмосферный азот, минерализовать неорганические и органические фосфаты, повышать биодоступность нерастворимого железа, или угнетая вредителей, соответствует задачам устойчивого сельского хозяйства, повышает плодородие почвы и увеличивает урожайность сельскохозяйственных культур.

Что еще более важно, такие бактерии могут взаимодействовать с корнями растений и повышать устойчивость к абиотическим стрессам.

Совместное использование бактерий, стимулирующих рост растений, с минеральными удобрениями позволяет снизить количество вносимых удобрений, что является несомненным трендом устойчивого земледелия и эти исследования актуальны для российского сельского хозяйства. [1]

Глава 2. Подготовка почвы, семян, ёмкостей для посадки, разведение микробных удобрений

Готовую почву мы взяли у нашей команды, которая исследовала наличие Азотобактера в почве, преобразованной хозяйственной деятельностью человека, на огороде; в почву вносятся органические удобрения (навоз, птичий помёт). Почва по механическому составу среднесуглинистая, значение рН почвенной вытяжки находится в пределах 7, кислотность почвенных образцов близка к нейтральной, в почве присутствует несимбиотический азотобактер - около 30%. (Приложение 1)

Перед посадкой семена перебрали и постарались отобрать самые крупные, приблизительно одинакового размера. (Приложение 3) В пластмассовых стаканчиках предварительно сделали по 3 отверстия. (Приложение 2)

Пробирку с готовым микробным удобрением мы взяли из набора. Микроорганизмы (5 штаммов Azotobacter) находились в суспензии 10 % - ой сахарозы, что снижает их жизнедеятельность. Пробирку тщательно встряхнули. В стакане смешали 0,5 г поваренной соли (хлорид натрия «делает» изотоническим раствор удобрений, чтобы сравнять с концентрацией солей натрия в цитоплазме), 50 мл воды и суспензию бактерий. Инкубировали в тёплом месте в течение 24 часов для активации бактерий. Затем в пластиковую бутылку на 2 литра, высыпали остаток соли, вылили содержимое стакана, перемешали. Мы приготовили микробные удобрения для дальнейшего использования. (Приложение 2)

Микробиологические удобрения содержат 5 штаммов микроорганизмов, которые были выбраны учеными Новосибирского университета из коллекции почвенных микроорганизмов, собранной научными волонтерами со всей страны под руководством педагогов-наставников. Почвенные микроорганизмы были отобраны учёными, как показавшие выдающиеся особенности при изучении влияния этих бактерий на рост растений.

Прилагаем информацию о штаммах микроорганизмов, входящих в состав набора «Микробные удобрения». Штаммы указаны на прилагаемой картинке (в последнем столбце).

Наработка бактерий для эксперимента по взаимодействию почва/растение

		Фиксация азота	Продукция аминокислот	Сольбилизация фосфатов	Продукция ауксина	Продукция сидерофоров		
GMG_294	AF140-PP-B5	3,68	2,38	544,5	51,11	39,45	RCGS_S000585	<i>Rahnella aquatilis</i>
GMG_009	AF70-NN-B1	41,82	8,44	226,22	1,49	6,64	RCGS_S000573	<i>Rothia</i>
GMG_165.2	AF-ШК-497	21,14	8,4	429,32	1,05	18,96	RCGS_S000581	<i>Stenotrophomonas indicatrix</i>
GMG_664	AF-190-ПМОН-А3	16,5	1,03	409,7	2,3	72,3	RCGS_S000564	<i>Burkholderia contaminans</i>
GMG_355	AF-ШК/Н-NN-B1	6,3	5,12	292,04	127,28	27,29	RCGS_S000570	<i>Lelliottia amnigena</i>

Глава 3. Редис Зелёная свежесть и посадка редиса в почву

Редис Зелёная свежесть - небольшое растение, высота которого не превышает 4-8 см во взрослом виде. Неспелые стебли зелени имеют красно-розовый цвет с коралловым оттенком. Процесс прорастания у растений длится 6-7 дней, после появления первых всходов, уже можно собирать урожай. Можно выращивать редис Зелёная свежесть круглый год в широких ёмкостях и мисках на подоконниках.

Листья и стебли редиса обладают жгучим, но приятно сладковатым вкусом, схожим со взрослым овощем. В свежем виде растения сочные и хрустящие. Срок годности срезанных стебельков до 7 суток.

В составе зелени находятся полезные для человеческого организма витамины: В1, В2, В5, В6, В9, РР и минеральные элементы: железо, калий, кальций, фосфор, магний, а также природная клетчатка и фитонциды. В свежем редисе содержится горчичное масло, которое придает листьям редиса острый, горьковатый вкус.

Регулярное употребление в пищу возбуждает аппетит, нормализует перистальтику, улучшает цвет лица и состояние волос, снижает уровень холестерина в крови, активизирует обмен веществ, улучшает работу сердечно - сосудистой системы. Зеленый редис обладает отличными желчегонными свойствами, является хорошим противоотёчным средством, помогает справиться с сахарным диабетом, ожирением и подагрой.

Освежающий аромат и жгучий вкус редиса гармонично вписываются в практически любые блюда. Редис используется при приготовлении мясных блюд, супов, овощных салатов, бутербродов, соусов, омлетов. [2]

Последовательность действий при проведении исследований мы спланировали согласно инструкции по использованию набора «Оценка влияния экологических факторов на эффективность бактериальных удобрений при выращивании растений». [3]

Мы произвели **четыре способа обработки** почвы, семян и всходов редиса микробиологическими удобрениями: 1 – ый способ - **замачивание семян** на 2 часа в суспензии удобрений непосредственно перед посевом; 2 – ой способ - внесение суспензии удобрений **в почву перед посадкой семян**; 3 – ий способ - внесение микробного удобрения **после прорастания в почву**; 4 – ый способ - внесение микробного удобрения **после прорастания на листья** и 5 - ые образцы - это **контрольные**, без обработки микробными удобрениями. У нас получилось 5 экспериментов, в каждом по 6 повторностей (6 пластмассовых стаканчиков по 250 мл с посадочным материалом, глубина посадки семян 0,5 см). В каждом стаканчике по 3 семянки редиса). (Приложение 3)

Готовые посадки в стаканчиках поставили в поддоны, поддоны разместили на свету. Стаканчики периодически переставляли, чтобы исключить влияние неравномерного освещения на рост редиса.

Полив производили отстоявшейся водопроводной водой из – под крана по мере подсыхания почв, на 1 стаканчик 10 мл. воды.

Глава 4. Наблюдение за ростом редиса Зелёная свежесть

Посадку семян произвели 6 сентября, всходы появились на 4 – ый – 5 – ый день. Всходы дружные, одновременное появление во всех 5 экспериментах.

Мы измеряли следующие морфологические показатели: высота растения от поверхности почвы до настоящих листьев, количество листьев (семядольные листья не учитывались), длина и ширина листовой пластинки. Измерения проводили на 7 - ой день после появления всходов, 13 - ый, 18 - ый, 24 - ый дни и на конец эксперимента, 32 - ой день. (Приложение 4,5,6,7,8)

Микробное удобрение *после прорастания в почву* вносили после появления семядольных листьев. Микробное удобрение *после прорастания на листу* распыляли пульверизатором после появления двух настоящих листьев.

Все измерения сначала усредняли по одному стаканчику, а затем по 6 - и повторностям, результаты измерений вносили в таблицы.

Измерение длины корней (от поверхности почвы до кончика главного корня), взвешивание зелёной биомассы и массы корней (корни после выкапывания аккуратно отмыли от земли и промокнули фильтровальной бумагой) проводили на конец эксперимента, 32 – ой день со дня посадки семян, для всех 5 экспериментов отдельно. (Приложение 9,11,12)

Анализ итоговых результатов по измерению морфологических показателей показывает, что незначительный эффект микробные удобрения показали в 3-ем эксперименте, при внесении микробного удобрения *после прорастания в почву*. (Таблица 1. Приложение 10) При этом разница в морфологических показателях незначительная, меньше единицы. Показатели выше и в сравнении с контрольным образцом. Внесённые микробные удобрения оказали положительный эффект в течение первых двух недель, после они не выдерживают конкуренции с местными почвенными бактериями и погибают.

Затем мы высушили отдельно зелёную биомассу и вымытые корни редиса по всем 5 экспериментам в духовке при 60 градусах в течение 5 часов (до хрупкости), чтобы убрать влагу из растений. Взвешивали сухой остаток, чтобы вычислить процент потерянной влаги и процент сухого вещества зелёной биомассы и корней после высушивания. (Приложение 11,12)

Сухой остаток говорит о том, что растение в процессе своего роста накапливает различные вещества в различных частях растения. В живом растении накопленные вещества находятся в клеточном соке корней, листьев, стеблей, плодов.

Затем рассчитали по формуле процент потерянной влаги (обводнённость) и процент сухого вещества. Тем самым мы оценили важный агрономический показатель, т.е. сколько веществ в целом накопилось в растении, с точки зрения потребителя и оценки качества урожая - это *питательность растений*.

Расчет процента потерянной влаги (X1) и процент воздушно - сухого вещества (X2) произвели по формулам:

$$X_1 = \frac{(B_1 - B_2) * 100}{B_1}$$

$$X_2 = 100 - X_1$$
, где

X 1 - % потерянной влаги

B 1 - масса образца до высушивания, г

B 2 - масса образца после высушивания, г

X 2 - % воздушно - сухого вещества.

Усреднённое значение измерений, вычисление процента сухого вещества зелёной биомассы и процента сухого вещества корней после высушивания представлено в таблице 2. (Таблица 2. Приложение 13)

Анализ результатов по вычислению процента сухого вещества зелёной биомассы показывает, что микробные удобрения не показали эффекта по накоплению питательных веществ в стеблях и листьях редиса, самый высокий процент - 12%, в контрольном образце, отличия при внесении удобрений составляют меньше 1. Микробные удобрения также не повлияли на накопление питательных веществ в корнях редиса. В контрольном образце процент сухого вещества корней составил 29,1%, что в среднем на 17,1% больше по сравнению с редисом, где вносили микробные удобрения. Микробные удобрения не повлияли на накопление питательных веществ редиса.

Результаты по всем показателям представлены в итоговой таблице (Таблица 3. Приложение 13)

Заключение

Исследовав, как влияет способ внесения микробных удобрений на рост редиса Зелёная свежесть, мы получили следующие **результаты**:

1. Почва по механическому составу среднесуглинистая, кислотность близка к нейтральной (рН равно 7), в почве отсутствуют карбонаты, количество Азотобактера около 30 %.

2. Приготовили и инкубировали бактериальную суспензию микробных удобрений.

3. Внесли микробные удобрения **четырьмя способами**: замачивание семян редиса на 2 часа в суспензии удобрений непосредственно перед посевом; внесение суспензии удобрений в почву перед посадкой семян; внесение микробного удобрения после прорастания редиса в почву; внесение микробного удобрения после прорастания на листья редиса.

4. Экспериментальным путём пришли к следующим выводам: микробные удобрения **незначительно повлияли** на морфологические показатели редиса Зелёная свежесть (на высоту растения от поверхности почвы, на количество листьев, длину и ширину листовой пластинки, длину главного корня). Результаты выше контрольных получили при способе внесения микробного удобрения **в почву после прорастания**.

5. Микробные удобрения не повлияли на питательность редиса (выход сухой зелёной массы и на выход сухой массы корней).

6. В электронную базу данных «Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов, результаты исследований по направлению "Микробные удобрения"» внесены полученные экспериментальные данные проведённых исследований. [4]

Эффективность от внесения микробных удобрений **на плодородных почвах** очень мала, существенной разницы мы не выявили. Объясняем полученные результаты тем, что плодородная почва огорода насыщена питательными веществами, в том числе в почве присутствует и достаточное количество несимбиотического Азотобактера. Местные сильные почвенные бактерии подавили «пришлых», внесённых нами в составе микробиологических удобрений.

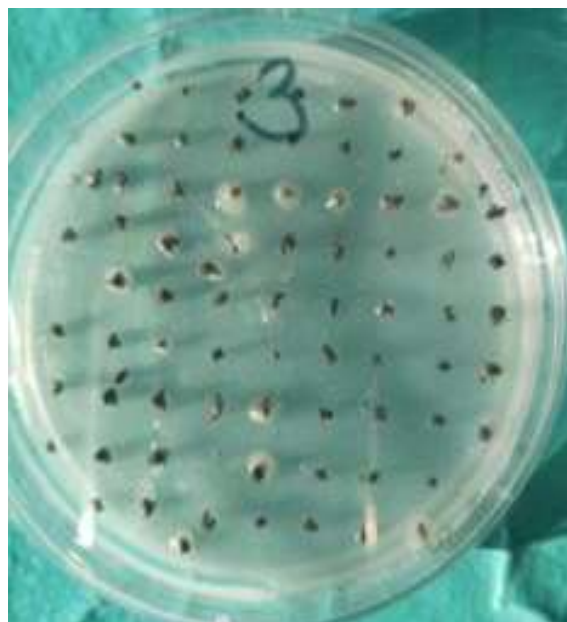
Выдвинутая нами **гипотеза**, способ внесения микробных удобрений влияет на рост редиса Зелёная свежесть, **не подтвердилась и не опроверглась**. Выявили, что микробные удобрения не показали эффекта на плодородных почвах, что они «работают» не всегда.

Возможно, в стрессовых ситуациях регионов страны микробные удобрения работают лучше: засолённость, загрязнённость почв, переувлажнение, засуха. В **перспективе** ставим задачу, исследовать влияние микробных удобрений на устойчивость к одному из стрессовых факторов; повысить в экспериментальных условиях сопротивляемость растений к стрессовому фактору.

Список источников

1. АГРОХИМИЯ, 2024, № 5, с. 85–95 **БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ, СТИМУЛИРУЮЩИХ РОСТ РАСТЕНИЙ: ФИКСАЦИЯ АЗОТА, СОЛЮБИЛИЗАЦИЯ ФОСФАТА, СИНТЕЗ СИДЕРОФОРОВ. ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ МИКРОБНЫХ КОНСОРЦИУМОВ.** © 2024 г. А. М. Тимофеева^{1,2}, М. Р. Галямова², С. Е. Седых¹.
2. <https://61fresh.ru/mikrozelen/mikrozelen-kress-redis#:~:> Редис зеленый — польза для здоровья.
3. Инструкция по использованию набора «Оценка влияния экологических факторов на эффективность бактериальных удобрений при выращивании растений». ООО «Живые системы».
4. <https://forms.gle/pKWwXZmEMZqv5ztj8> Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов, результаты исследований по направлению "Микробные удобрения".
5. https://vkvideo.ru/video-15083084_456239220 Онлайн-конференция, завершающая направление "Микробные удобрения", день 1.

Исследование механического состава почвы, кислотности почвенной вытяжки, наличия карбонатов и Азотобактера в почве



Подготовка почвы, ёмкостей для посадки, разведение микробных удобрений



Подготовка семян к посеву и посев семян



Появление всходов и всходы редиса на 7 - ой день



Растения редиса на 18- ый день



Растения редиса на 24- ый день



**Измерение морфологических показателей: высота стебля, длина
листовой пластинки на 32 - ой день**



Измерение морфологических показателей: ширина листовой пластинки, длина главного корня на 32 - ой день



Завершение эксперимента. Измерение длины главных корней



Таблица 1. Усреднённое значение морфологических показателей на конец эксперимента

№ опыта	Способ внесения микробных удобрений	Среднее значение, см				
		Высота стебля	Количество листьев	Ширина листовой пластинки	Длина листовой пластинки	Длина главного корня
1	<i>Замачивание семян на 2 часа перед посевом</i>	3,8	3,2	2,7	6,0	14,0
2	<i>В почву перед посевом</i>	3,3	3,3	2,9	5,9	13,2
3	<i>В почву после прорастания</i>	4,1	3,3	3,1	6,1	14,4
4	<i>На листу после прорастания</i>	3,2	3,1	2,5	5,8	13,0
5	<i>Контрольный опыт</i>	3,3	3,0	2,6	5,6	14,2

Взвешивание зелёной биомассы до и после высушивания



Взвешивание корней после высушивания Сухой остаток корней и зелёной биомассы после высушивания



Таблица 2. Масса зелёной биомассы и корней до и после высушивания, % выхода сухого вещества

№ опыта	Способ внесения микробных удобрений	Масса зелёной массы, г			Масса корней, г		
		до высушивания	после высушивания	выход сухого вещества, %	до высушивания	после высушивания	выход сухого вещества, %
1	<i>Замачивание семян на 2 часа перед посевом</i>	28,2	3,0	10,6	4,7	0,50	10,6
2	<i>В почву перед посевом</i>	31,0	3,4	11	5,0	0,55	11,0
3	<i>В почву после прорастания</i>	27,8	3,0	10,8	4,9	0,60	12,2
4	<i>На листву после прорастания</i>	26,2	3,0	11,5	5,2	0,75	14,4
5	<i>Контрольный опыт</i>	30,0	3,55	11,8	7,2	0,80	29,1

Таблица 3. Среднее значение измерений и вычислений на конец эксперимента

Способ внесения микробных удобрений	Среднее значение, см				Выход сухого вещества, %		
	Высота стебля	Количество листьев	Листовая пластинка		Длина главного корня	зелёной массы	корней
			ширина	длина			
<i>Замачивание семян на 2 часа перед посевом</i>	3,8	3,2	2,7	6,0	14,0	10,6	10,6
<i>В почву перед посевом</i>	3,3	3,3	2,9	5,9	13,2	11	11,0
<i>В почву после прорастания</i>	4,1	3,3	3,1	6,1	14,4	10,8	12,2
<i>На листву после прорастания</i>	3,2	3,1	2,5	5,8	13,0	11,5	14,4
<i>Контрольный опыт</i>	3,3	3,0	2,6	5,6	14,2	11,8	29,1

