

Муниципальное автономное учреждение дополнительного образования
«Центр туризма и детского творчества города Ялуторовска»

Зависимость содержания азотфиксирующих бактерий в почве различного
происхождения.

Выполнила:
обучающаяся объединения «Жизнь земли»

Краева Екатерина, 8 кл

Научный руководитель:
педагог дополнительного образования
Прибыткова Татьяна Александровна

Ялуторовск 2025

Содержание

Введение.....	3
Обзор литературы.....	5
Материалы и методы исследования.....	7
Результаты исследования.....	8
Выводы.....	9
Список литературы и интернет-ресурсов.....	10
Приложение.....	11

Введение

Один из процессов, определяющих биологическую продуктивность, - фиксация молекулярного азота. Круговорот азота в природе - ключевое звено биогеохимических циклов нашей планеты. Также следует заметить, что атмосфера Земли по объему почти на 80% состоит из этого химического элемента и является его основным источником. Азот входит в состав белков и других молекул, составляющих основу структурной организации всех уровней живого. Человек и животные способны усваивать азот в виде протеинов животного и растительного происхождения, а растения же - в виде нитратов и ионов аммония.

Экономический и экологический кризис, снижение качества продукции растениеводства, падение естественного плодородия почв обуславливают всевозрастающее внимание к биологическому земледелию, суть которого заключается в использовании потенциальных возможностей естественных экосистем, в частности микроорганизмов азотфиксаторов.

Цель работы- проведение поиска азотфиксирующих бактерий в почвах разного происхождения.

Задачи:

- 1) отбор почвенных образцов на различных участках
- 2) получение колоний азотфиксирующих бактерий в питательной среде Эшби
- 3) Микроскопическое исследование видов азотфиксирующих бактерий
- 4) проведение сравнительного анализа (проверка гипотезы).

Объекты исследования:

Образцы почвы, взятые в различных районах (Анисимовские дачи, плодпитомник, приусадебный участок, район школы №3, район «Новостройка», с. Памятное)

Предмет исследования: азотфиксирующие бактерии в различных образцах почвы

Гипотеза исследования: исследуемые образцы почв равноценны по содержанию азотфиксирующих бактерий.

Обзор литературы

Аэробные неспорообразующие грамотрицательные бактерии, фиксирующие молекулярный азот, были впервые выделены из почвы М.Бейеринком в 1901 году. Ученый дал им имя *Azotobacter chroococcum*. Уже само название говорит о том, что эти бактерии способны к концентрации азота, для них характерен коричневый пигмент – *chroo* и они создают кокковидные клетки – *coccum*. В 1903 году Лимпаном был охарактеризован еще один вид азотфиксирующих бактерий - *Azotobacter vinelandii* Lipman (Приложение, рис.2).

В 1904 году он охарактеризовал *Azotobacter beijerinckii* Lipman, название которого было дано в честь Мартина Бейеринка. В середине XX века, в 1949 году, Н.А. Красильников охарактеризовал вид *Azotobacter nigricans*, Krasilnikov, который в 1981 году Томпсон и Скирман разделили на 2 подвида: *Azotobacter nigricans* subsp. *Nigricans* Krasilnikov, и *Azotobacter nigricans* subsp. *Achromogenes* Thompson and Skerman. Практически в это же время эти ученые охарактеризовали вид *Azotobacter armeniacus* Thompson and Skerman. Позднее, в 1991 году, Пейджем и Шивпрасадом были описаны особенности вида *Azotobacter salinestrans* Page and Shivprasad. Сначала их относили к семейству *Azotobacteraceae* Pribram, но чуть позднее их определили к *Pseudomonadaceae* на основании изучения нуклеотидных последовательностей РНК. В 2004 году было проведено генетическое исследование и ученые выяснили, что *Azotobacter vinelandii* принадлежат к одному и тому же классу с бактерией *Pseudomonas aeruginosa*. В 2007 году ученые предположили близость родов *Azotobacter*, *Azomonas* и *Pseudomonas*. Род *Azotobacter* включал в себя такие виды как *Azotobacter agilis*, *Azotobacter macrocytogenes* и *Azotobacter*.

Представители рода *Azotobacter* чаще всего обитают в нейтральных и слабощелочных почвах, а также в пресноводных водоемах и солонатоводных болотах. В литературе приводятся противоречивые данные о присутствии азотобактеров в почвах, богатых перегноем. С одной

стороны, различные перегнойные вещества не всегда могут усваиваться азотобактером. Следовательно, в почвах, которые богаты перегноем, азотобактеры не размножаются. С другой стороны, если в почве присутствуют органические соединения, а также продукты распада клеток растений и животных, азотобактер будет достаточно хорошо сформирован. А также он быстро размножается в почвах, которые были удобрены соломой и навозом.

Следует отметить, что Азотобактер очень чувствителен к кислотности почвы. Наиболее приемлемая для него сфера обитания - pH 7.2-8.2. В то же время он может быть на средах с pH от 4,5 до 9,0. Кислая окружающая среда отрицательно влияет на формирование колоний. Исследования показывают, что из кислых почв поступают неактивные формы азотобактерий – формы, потерявшие способность к фиксации молекулярного азота.

Азотобактер в торфяниках присутствует в небольших количествах. В достаточно увлажненных черноземах он развивается хорошо, и максимальное количество азотобактера образуется весной. В почвах России в основном имеется *Azotobakter Chroococcum*.

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.

Азотобактер используют и в экологическом мониторинге. Например, бактерии рода *Azotobacter* традиционно используются как индикаторы химического загрязнения почвы.

Материалы и методы исследования.

Весь эксперимент выполнялся в соответствии с требованиями, указанными в методических рекомендациях.

Образцы почвы отбирались из поверхностных почвенных разрезов на различных территориях:

- 1) Анисимовские дачи,
- 2) район Плодопитомника
- 3) приусадебный участок
- 4) район школы №3
- 5) район «Новостройка»
- 6) село Памятное)

Максимальная глубина достигала 0,4 метра.

Образцы почвы были высушены, также были убраны крупные остатки растительности, камни, мусор. Затем почвы были просеяны через сито с диаметром 1-2 мм.

Для выявления азотобактера в почве и определения его относительного содержания пользуются методом посева почвы на питательную среду Эшби (приложение 1). Колонии азотобактеров растут на плотной питательной среде Эшби, которая готовилась из вспомогательного раствора – это раствор солей хлорида натрия, сульфатов калия и магния, гидрофосфата калия и суспензии, включающей карбонат кальция, агар, глюкозу. Образцы почвы помещали в питательную среду. По истечении этого времени вокруг комочков почвы появились обрастания. Наблюдение за ростом колоний проходило ежедневно (приложение 2).

После этого проводили микроскопическое исследование почвенных колоний на предмет обнаружения азотфиксирующих бактерий.

Результаты исследования

Из представленных данных видно, что на 4 день колонии *Azotobacter agilis* присутствуют в большем количестве в образцах почвы, отобранной с плодopитомника и Анисимовские дачи, незначительное обрастание у почвы, отобранной в районе школы №3 и район «Новостройка». Это позволяет сделать вывод о том, что самыми активно растущими оказались штаммы азотобактеров в образце почвы с плодopитомника. Так же нами были получены колонии *Azotobacter chroococcum*, которые образуют колонии с бурым, почти чёрным пигментом.

Для знакомства с азотобактером из блестящих слизистых колоний был приготовлен препарат-мазок, окрашенный фуксином (приложение 3). Микроскопия показала, что азотобактерии присутствуют не во всех анализируемых образцах почвы. К примеру наблюдается практически полное отсутствие азотобактеров в образце почвы «Район школы №3», а также район «Новостройка». Это можно объяснить тем, что почва постоянно утаптывается, рядом располагается большое количество автомобильных дорог, а следовательно и низкое содержание органического вещества для азотобактера. Наиболее насыщенной по содержанию азотфиксирующими бактериями оказалась образцы почвы с Плодopитомника и Анисимовских дач. Это можно объяснить тем, что эта почва богата органическими веществами, так как на ней весьма продолжительное время произрастали плодовые деревья и кустарники. А также в почву регулярно вносили удобрения. Незначительное содержание азотфиксирующих бактерий обнаружено в образцах почвы на приусадебном участке, так как почва интенсивно используется. Следовательно, органические вещества быстро расходуются, поэтому азотфиксирующие бактерии накапливаются медленнее и основная их часть используется растениями.

Выводы:

1. Был произведен отбор почвы на различных участках -Анисимовские дачи, плодopитомник, приусадебный участок, район школы №3 (болото), район «Новостройка», с. Памятное
2. Выращены колонии азотфиксирующих бактерий в питательной среде Эшби
3. Произведено микроскопическое исследование азотфиксирующих бактерий. Всего выявлено 8 видов азотфиксирующих бактерий: *Azotobakter chrococum*, *Azotobaktervinelandii*, *Azotobakter agilis*, *Pseudomonas wancouverensis*, *Rhizobium rasemformans*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Paenibacillus agaridevorans*, *Sphingobacteriaceae*.
4. Результаты анализа на содержание азотфиксирующих бактерий показывают, что содержание этих бактерий в почве разное. Наиболее насыщенной по содержанию азотфиксирующими бактериями оказались образцы почвы с Плодopитомника и Анисимовских дач, практически полное отсутствие бактерий в почвенных образцах «район школы №3»

Список литературы

1. Игнатов В.В. Биологическая фиксация азота и азотфиксаторы // Сорос. образоват. журн. — 1998. — № 9. — С. 28–33.
2. Мишустин, Е. Н. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. М.: Наука, 2013. – 240 с
3. Новикова Н. И. Современные представления о филогении и систематике клубеньковых бактерий // Микробиология. – 2016. – № 4. – С. 437 – 450.
4. Степанян Т. У. Использование клубеньковых бактерий в ассоциации с почвенными свободноживущими бактериями для инокуляции бобовых растений // Биолог. журн. Армении. – №3. – 2016. – С. 18 – 23.
5. Селивановская С. Ю. Микроорганизмы в круговороте биогенных элементов. Казань: Казан. ун–т, 2014. – 38 с. 26.
6. Пацко Е. В. Перспективность использования ассоциаций азотфиксирующих микроорганизмов для повышения урожайности растений // Бюл. Моск. общ. исп. прир. – 2014. – №. 2. – С. 84 – 86.
7. Пробиотики для растений: как накормить растущий мир. URL: <https://biomolecula.ru/articles/probiotiki-dlia-rastenii-kak-nakormit-rastushchii-mir>
8. Трифонова Т.А., О.Н. Сахно, О.Н. Забелина, И.Д. Феоктистова Сравнительная оценка состояния городских почв по их биологической активности // Вестн. Моск. Ун-та. сер. 17. Почвоведение. 2014. №3. С. 23-27.

Приготовление питательной среды Эшби



Выращивание культур азотфиксирующих бактерий



1. Анисимовские дачи



2. Район Плодопитомника



3. Приусадебный участок



4. Район школы №3

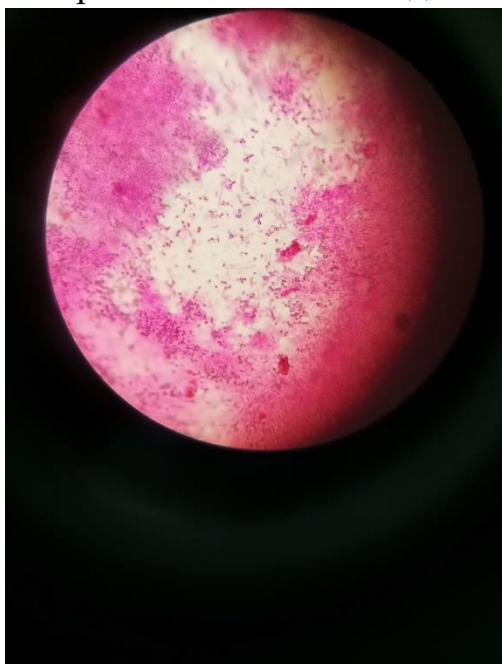


5. Район «Новостройка»

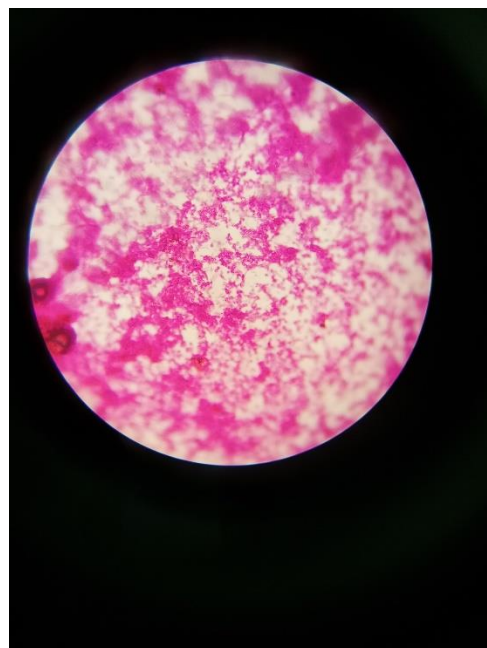


6. Село Памятное

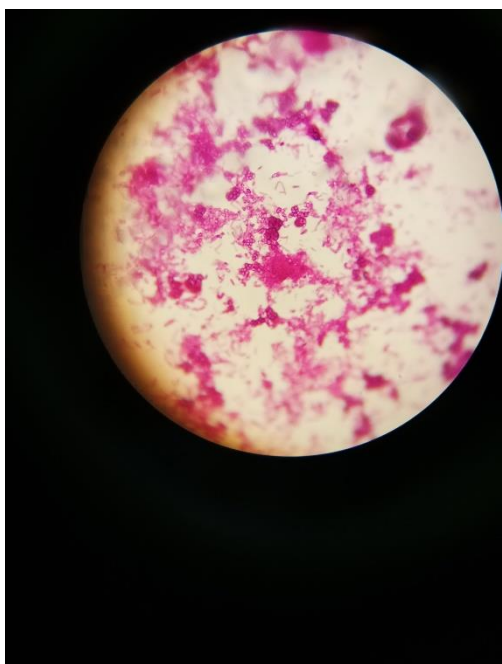
Микроскопическое исследование азотфиксирующих бактерий



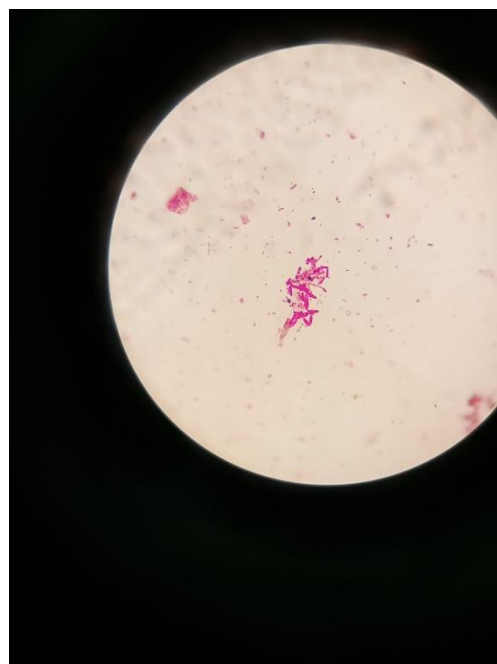
Анисимовские дачи



Плодопитомник

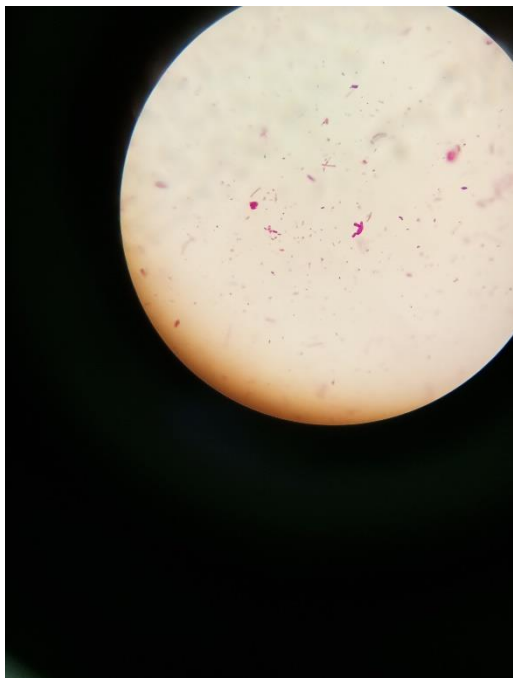


Приусадебный участок

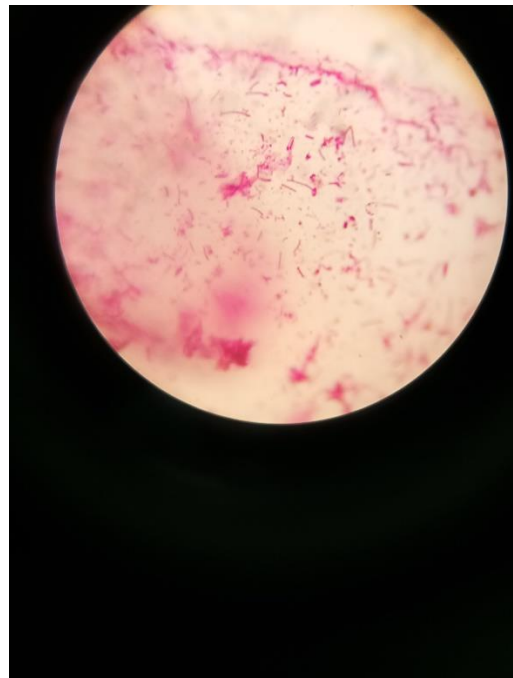


район школы №3

Микроскопические исследование азотфиксирующих бактерий



Район «Новостройка»



с. Памятное

Клетки бактерий рода *Azotobacter* имеют овальную форму (окрашены в розовый цвет), располагаются одиночно, парами и неправильными скоплениями

Выявленные виды азотфиксирующих бактерий

№	Виды азотфиксирующих бактерий	№ исследуемого участка					
		1	2	3	4	5	6
1	<i>Azotobacter chroococcum</i>	+	+	+	-	+	-
2	<i>Azotobacter vinelandii</i>	+	+	-	+	-	-
3	<i>Azotobacter agilis</i>	+	+	+	-	-	-
4	<i>Pseudomonas wancouverensis</i>	-	+	+	-	-	+
5	<i>Rhizobium rasemformans</i>	+	+	-	-	-	-
6	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	+	-	-	-	-	-
7	<i>Paenibacillus agaridevorans</i>	+	+	+	-	+	-
8	Sphingobacteriaceae	+	+	-	+	-	+

+ наличие бактерий

-отсутствие бактерий