

# **ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНКУРС**

Юных исследователей окружающей среды  
имени Б.В. Всесвятского  
(с международным участием)



**Областная государственная бюджетная нетиповая  
образовательная организация «Дворец творчества детей и молодёжи»**

**Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение  
города Ульяновска  
«Средняя школа №48 имени Героя России Д.С. Кожемякина»**

**Номинация: Ландшафтная экология и почвоведение**

## **Биоремедиация урбанизированных почв на территории Железнодорожного района города Ульяновска**

**Автор: Копачева Мирослава Николаевна, 9 класс,  
обучающаяся детского объединения «Агротехнологии»**

**Руководитель: Вихирева Светлана Владимировна, педагог ОГБН ОО «ДТДМ»,  
учитель биологии МБОУ СШ №48 им. Героя России Д.С. Кожемякина**

Ульяновская область  
2025

## Оглавление

1. Введение	
1.1. Проблема и ее анализ .....	3
1.2. Обзор литературы по проблеме исследования	
1.2.1. Формирование городских почв .....	4
1.2.2. Источники загрязнения урбанизированных почв .....	5
1.2.3. Понятие о ремедиации урбанизированных почв .....	6
1.2.4. Состояние и использование земель в Ульяновской области .....	7
2. Методики проведенных исследований	
2.1 Методика отбора почвы для химического анализа .....	8
2.2. Методика подготовки водной почвенной вытяжки (ГОСТ 26423-85) .....	9
2.3. Методика выделения чистых культур .....	9
3. Результаты исследований и их обсуждение	
3.1 Отбор почвы для химического анализа .....	10
3.2 Подготовка водной почвенной вытяжки .....	13
3.3. Приготовление разбавленной LB-среды .....	13
3.4. Посев на первичную среду .....	14
3.5. Приготовление скрининговых сред и пересев колоний .....	16
3.6. Выделение чистых культур .....	16
3.7. Биотестирование	
3.7.1. Оценка степени загрязнения почвы и уровня естественной биоремедиации .....	17
3.7.2. Оценка активности деструкторов .....	18
4. Выводы .....	19
5. Заключение .....	20
6. Список использованной литературы .....	20
7. Приложение .....	24

## 1. Введение

### 1.1. Проблема и ее анализ

**Проблема.** Процессы урбанизации приводят к антропогенной деградации ландшафтов, формированию антропогенных комплексов, характеризующихся разной степенью преобразования природных компонентов, в том числе и почвы.

Загрязнение почв на урбанизированных территориях происходит в основном вследствие выбросов вредных химических соединений от промышленных предприятий и транспорта. Одним из главных загрязнителей городских ландшафтов являются тяжелые металлы, что обусловлено повсеместным участием их в промышленном производстве. (Ельшаева, 2025) Интенсивным источником загрязнения почв являются несанкционированные свалки промышленных и бытовых отходов. (Ладыгина, 2025)

**Актуальность.** В связи с несовершенными системами очистки тяжелые металлы попадают в окружающую среду, в том числе и в почву, загрязняя и отравляя ее. Почва в свою очередь, служит источником вторичного загрязнения приземного воздуха, а также почвенных и грунтовых вод. Во многих регионах техногенное загрязнение почв достигло достаточно высокого уровня, чтобы представлять серьезную опасность для человека, и требует проведения ремедиационных мероприятий. (Графкина, 2025)

**Существующие решения.** Технологии ремедиации можно разделить на две большие группы: *in situ* и *ex situ*. Технологии *ex situ* предусматривают физическое удаление загрязненного материала для проведения процесса его очистки, то есть обработку выкопанной почвы. Напротив, методы *in situ* обеспечивают обработку загрязненного материала на месте.

Традиционные физико-химические методы ремедиации характеризуются высокой энергоемкостью, значительными экономическими затратами и риском образования вторичных загрязнений.

**Альтернативные решения.** Биоремедиация, основанная на использовании живых организмов для деградации загрязняющих веществ, представляет собой перспективную альтернативу.

Важнейшее преимущество этих технологий заключается в их безопасности для окружающей среды: они основаны на процессах самоочищения живой природы, и, как правило, при этом отсутствуют вторичные отходы, образующиеся при других методах ремедиации.

**Цель.** Поиск штаммов бактерий-деструкторов для локальной биоремедиации урбанизированных почв на территории Железнодорожного района города Ульяновска.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи**:

1. Изучение литературы по проблеме исследования.
2. Сбор почвенных образцов на территориях с повышенной вероятностью обнаружения штаммов с целевой активностью – металлоустойчивостью.
3. Культивирование штаммов микроорганизмов, способных к биоремедиации.
4. Оценка степени загрязнения почвы и уровня естественной биоремедиации на исследуемых участках методом биотестирования.

5. Оценка активности деструкторов.

**Объект.** Штаммы бактерий на урбанизированных почвах.

**Предмет.** Металлоустойчивость полученных штаммов.

**Гипотеза.** Мы предполагаем, что бактерии, длительное время существующие в почве, загрязненной ионами тяжелых металлов, выработали резистентность к воздействию данных поллютантов и способны к ремедиации.

**Практическая значимость работы.**

Поиск и характеристика отечественных штаммов микроорганизмов способствует:

- Созданию национальной коллекции биоремедиационных штаммов: Формирование стратегического резерва микроорганизмов для решения экологических проблем без зависимости от зарубежных поставщиков.

- Развитию российских биотехнологий: Отечественные штаммы становятся основой для создания конкурентоспособных российских биопрепаратов.

- Импортозамещению в сфере экологических технологий: Снижение зависимости от зарубежных биоремедиационных решений.

- Экспортному потенциалу: Уникальные российские штаммы могут стать основой для экспорта биотехнологических решений.

**Я являюсь участником Всероссийского проекта «Гражданская наука и генетические технологии для сельского хозяйства»** - масштабного проекта по поиску микроорганизмов для биоремедиации. Краудсорсинговый проект предоставляет уникальную возможность внести вклад в развитие российской биотехнологической отрасли, используя стандартизированную методологию скрининга при работе с реальными экологическими проблемами своего региона.

Проект реализуется Фондом «Поддержка проектов в области образования» совместно с Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (ИХБФМ СО РАН) в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1085 от 29.09.2021).

## **1.2. Обзор литературы по проблеме исследования**

### **1.2.1. Формирование городских почв**

Почвы в городе согласно статье 1 Федерального закона «Об охране окружающей среды» могут быть охарактеризованы, с одной стороны, как природные объекты, локализованные преимущественно в лесопарковых зонах и особо охраняемых природных территориях, с другой, как природно-антропогенные объекты, к которым могут быть отнесены все остальные почвы города, включая искусственно созданные почвогрунты. (Чурагулова, 2019)

Урбанизированные (городские) почвы — это искусственные образования, возникшие в результате антропогенной деятельности на урбанизированных территориях и утратившие значительную часть свойств естественных природных почв. (Гончарова, 2021)

Темпы урбанизации продолжают расти, что приводит к увеличению площади городских земель и повышению плотности населения в городах.

Урбанизация приводит к нарушению, изменению и перемещению почвы человеком. Поскольку городское население зависит от почвы как источника многих экосистемных услуг, прямая связь между здоровьем человека и качеством городской почвы очевидна. (Scharenbroch Bryant C., 2022)

Почвы городов формируются под действием тех же факторов почвообразования, что и естественные почвы, но антропогенный фактор на урбанизированных территориях является главным.

Григорьева Е. Е. подчеркивает, что в городах антропогенное воздействие становится преобладающим над естественными факторами почвообразования, формируя в новых экологических условиях специфические типы почв и почвоподобные тела. В широком понимании городская почва – это любая почва или почвоподобное тело, функционирующее в окружающей среде города. (Григорьева, 2016)

Урбанозем – искусственно образованная в процессе формирования городской среды почва.

Большое значение в развитие этой проблематики внесли исследования Сорокина С. Н. и Вайшля О. Б., исследовавших формирование урбаноземов на антропогенно-нарушенных или антропогенно-преобразованных (с инородными включениями, нарушенным сложением и т. д.) грунтах, не подвергавшихся целенаправленной биологической рекультивации. (Бородин, 2022; Сорокин, 2023)

### **1.2.2. Источники загрязнения урбанизированных почв**

Проблема экологической безопасности в городах становится все более актуальной вследствие увеличения антропогенной нагрузки и необходимости сохранения естественных природных ландшафтов. (Кряжевских, 2023)

Исследование Ладыгиной О.В. выявляет зависимость между строительномонтажными работами, благоустройством территорий и расширением транспортной сети, что неизбежно сопровождает урбанизацию, и искусственным изменением высотных отметок, нарушением естественного дренажа. (Ладыгина, 2025)

Крайне актуальной проблемой в условиях современных крупных населенных пунктов является химическое загрязнение почв и грунтов. Непрерывный рост содержания поллютантов, в том числе токсичных элементов 1 и 2 классов опасности (мышьяк, ртуть, никель и др.) в пределах городских территорий связан с ростом количества автотранспортной техники, выбросами промышленных предприятий и энергетических установок. (Астанин, 2024)

Основные источники загрязнения почв – промышленные предприятия, транспортные объекты, отходы производства и потребления.

Решение проблемы своевременного выявления загрязненных участков почвенного покрова в пределах населенных пунктов и недопущение перехода загрязнения в «чрезвычайно опасную» категорию является принципиально важной задачей грамотного экологического менеджмента. Ковалевская Н.Ю. отмечает, что решение проблемы осложняется тем фактом, что трансформация состава и состояния компонентов природной среды, в том числе почвенного покрова, в условиях урботехногенной нагрузки происходит непрерывно. В связи

с этим, основополагающим аспектом экологического менеджмента урбанизированных территорий для своевременной ремедиации Ковалевская Н.Ю. выделяет мониторинг состояния почвенного покрова. (Ковалевская, 2023)

### 1.2.3. Понятие о ремедиации урбанизированных почв

Процессы самовосстановления и самоочищения природы уже не справляются с поступающими в нее загрязняющими веществами, которые из атмосферы и водной среды переходят в почву и аккумулируются в ней. Соответственно растет востребованность технологий очистки почв. Их выбор определяется не только тем, что требующие очистки территории отличаются друг от друга по количеству загрязнений, почвенным и климатическим условиям, но и целями и задачами очистки, то есть планируемому использованию очищенной территории. (Янкевич, 2015)

Для ремедиации почв успешно применяют технологии, которые воздействуют на сам загрязнитель, при этом происходит деструкция или окисление токсичных веществ или их трансформация в менее токсичные соединения. (Силачи, 2018)

Для ремедиации загрязненных почв широко применяются механические и физико-химические методы рекультивации. Однако у методов, относящихся к этим группам, есть ряд значительных недостатков, что актуализирует разработку новых методов (преимущественно биологических), поскольку они более экологически чистые, экономически выгодные, менее трудозатратные и не требуют использования технических мощностей.

**Биоремедиация** — способ очистки загрязненных территорий с помощью растений, бактерий и грибов. Применяется для очистки сточных вод, разливов нефти и промышленных загрязнений. (Созина, 2023)

Преимущества биоремедиационных технологий связаны с возможностями живых систем, особенно микроорганизмов, метаболизировать большое число различных органических веществ, с мягкостью воздействия на очищаемую среду, не приводящую к существенным изменениям основных почвенных показателей, и с относительно низкой стоимостью работ. К недостаткам биоремедиации почв относится низкая скорость биodeградации токсикантов и необходимость проведения тщательного предварительного обследования загрязненного участка для уточнения режимов биотехнологических работ.

Существует два основных вида биоремедиации:

- биоремедиация *Ex situ* – обработка вне загрязненной территории. Включает в себя извлечение загрязненной земли и ее обработку в другом месте. Например, на специальном полигоне, в компосте или биореакторе. При проведении обработки землю перемешивают с водой и питательными компонентами, что позволяет создать оптимальные условия для жизнедеятельности бактерий. После разложения загрязнителей очищенную землю возвращают обратно;
- биоремедиация *In situ* обеспечивают обработку загрязненного материала на месте. Технологии очистки *in situ* имеют многочисленные преимущества перед технологиями *ex situ*: не требуют затрат на транспортирование, менее дороги, часто являются более щадящими для

загрязненной почвы и подземных вод, могут применяться к широко распространенным загрязняющим веществам, имеющим невысокую концентрацию. (Romantschuk Martin, 2023)

Разберем характеристики основных методов биоремедиации (Terry J. Gentry, 2021):

- фиторемедиация. Основана на использовании растений для удаления или разложения загрязняющих веществ. Некоторые растения способны накапливать или разрушать загрязнители благодаря своим клеткам или микроорганизмам, находящимся в их корневой системе. Такой способ подходит, когда загрязненные участки труднодоступны или условия почвы неблагоприятны;
- биоаугментация, или микробная биоремедиация. Представляет собой процесс добавления в загрязненную среду специальных биопрепаратов, содержащих микроорганизмы для разложения загрязнителей. Этот метод особенно эффективен в случаях, когда естественная популяция бактерий недостаточна для полноценного разложения. Микроорганизмы расщепляют и преобразуют загрязняющие вещества в менее опасные соединения. Биостимуляция. Включает внесение в почву питательных веществ, которые способствуют росту микроорганизмов. Например, гуматы можно использовать для поддержания активности и жизнеспособности бактерий. Этот подход особенно полезен в условиях, когда почва бедна питательными элементами, и местные микроорганизмы не могут функционировать на полную мощность. Биостимуляция ускоряет процесс восстановления природы;
- микоремедиация. Это когда для очищения территории используют грибы. Они ускоряют процесс биоразложения и повышает общую эффективность метода;
- биостимуляция – улучшение условий для уже существующих организмов.

Преимущество биоремедиационных технологий связано с широчайшими возможностями живых систем, особенно микроорганизмов, метаболизировать в той или другой степени огромное число различных органических веществ. Кроме того, очень важно, что применение биоремедиационных технологий предполагает мягкое воздействие на очищаемую среду, не приводящую к существенным изменениям основных почвенных показателей. (Коршунова, 2019)

#### **1.2.4. Состояние и использование земель в Ульяновской области**

Управлением Росреестра по Ульяновской области на ежегодной основе составляется Доклад о состоянии и использовании земель в Ульяновской области.

(<https://rosreestr.gov.ru/open-service/statistika-i-analitika/12/informatsionno-analiticheskaya-informatsiya/>)

Согласно данным Росреестра, Земельный фонд Ульяновской области на 01.01.2025 составил 3178,1 тыс.га.

В целях вовлечения земельных участков и территорий в оборот для жилищного строительства на 01.01.2025 выявлено 2908 земельных участков (с учетом вовлеченных), площадь которых составляет 3535,68 га.

В рамках мониторинга состояния земель осуществляется наблюдение за изменением количественных и качественных характеристик земель, в том числе с учетом данных результатов наблюдений за состоянием почв, их загрязнением, захламлением, деградацией, нарушением земель, оценка и прогнозирование изменений состояния земель.

В соответствии с Информационно-аналитической запиской по Мониторингу земель Ульяновской области за 2024 год, выявлено загрязнение почв тяжелыми металлами.

Комплексное изучение состояния урбанизированных территорий проводилось в июле 2016 г. Цель исследования – анализ степени загрязнения почвенного покрова города Ульяновска тяжелыми металлами: свинцом, кадмием, медью, цинком, никелем. Объектом изучения послужили пробы почвы 4-х районов г. Ульяновска (Заволжский, Железнодорожный, Ленинский, Засвияжский). Всего было проанализировано 9 образцов почв. Количественное содержание валовых и подвижных форм тяжелых металлов в почвах определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии. Оценку эколого-геохимической ситуации в районе исследования осуществляли с использованием суммарного показателя загрязнения (ZC) по оценочной шкале. Наиболее загрязнены тяжелыми металлами почвы Железнодорожного и Ленинского районов, менее загрязненными являются почвы Засвияжского района. В Заволжском районе зафиксированы самые низкие концентрации изучаемых тяжелых металлов.

Изучение содержания ТМ на реперных участках показало высокое содержание и превышение фоновых концентраций для всех значимых металлов-поллютантов для города Ульяновск.

Тяжелые металлы имеют множество путей поступления в организм человека, способны накапливаться в организме и вызывать неблагоприятные последствия для здоровья человека. Поэтому необходимо постоянно вести мониторинг содержания тяжелых металлов в окружающей среде для проведения своевременной ремедиации. (Маркова, 2019)

## **2. Методики проведенных исследований**

### **2.1. Методика отбора почвы для химического анализа (ГОСТ 17.4.4.02-84, переиздание 2008)**

Отбор проб проводят для оценки качественного состояния почв естественного и нарушенного сложения.

Пробы почвы, в зависимости от необходимости проведения тех или иных определений, отбирают в стеклянные (пластиковые) емкости или полиэтиленовые пакеты.

Необходимым условием отбора проб почв является их предохранение от вторичного загрязнения (в том числе атмосферными осадками) на всех этапах отбора проб.

1. Разместить участок по принципу «конверта» для отбора 5 точечных проб почвы: по одной из 4 углов и 1 из центра.

Метод конверта (ГОСТ Р 58586-2019) Метод, при котором из точек контролируемой площадки берут 5 почвенных проб. При этом точки должны быть расположены так, чтобы мысленно соединенные прямыми линиями, давали рисунок запечатанного конверта.

2. Подготовить кусок чистого полиэтилена размером приблизительно 50x50 см.

3. Удалить растительный слой методом срезания или соскабливания.

4. В каждой точке с глубины 0-20 см провести отбор проб почвы массой от 0,5 до 1 кг (точечные пробы) и высыпать ее на полиэтилен.

5. Составить объединенную пробу путем смешивания 5 точечных проб, отобранных на одной пробной площадке.

6. Полученную объединенную пробу массой не менее 1 кг необходимо поместить в заготовленную для нее емкость и плотно закрыть.

7. Пробу необходимо доставить в лабораторию в течение суток. До доставки пробы ее необходимо хранить в темном и прохладном месте.

## 2.2. Методика подготовки водной почвенной вытяжки (ГОСТ 26423-85)

Пробы почвы массой 1 г помещают в флаконы с 50 мл дистиллированной воды. Плотно закрывают крышкой и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. Затем осаждают крупные частицы в течение 5 мин.

## 2.3. Методика выделения чистых культур

Рассев петлей (метод истощающего штриха) предполагает высев бактериологической петлей из накопительной культуры на поверхность агаризованной среды в чашках Петри. На первом этапе петлей с культурой наносят ряд параллельных штрихов на агаризованной среде.

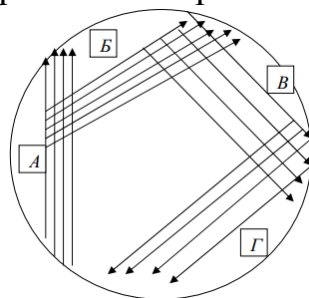


Рис.1. Схема рассева бактерий штрихами для получения изолированных колоний

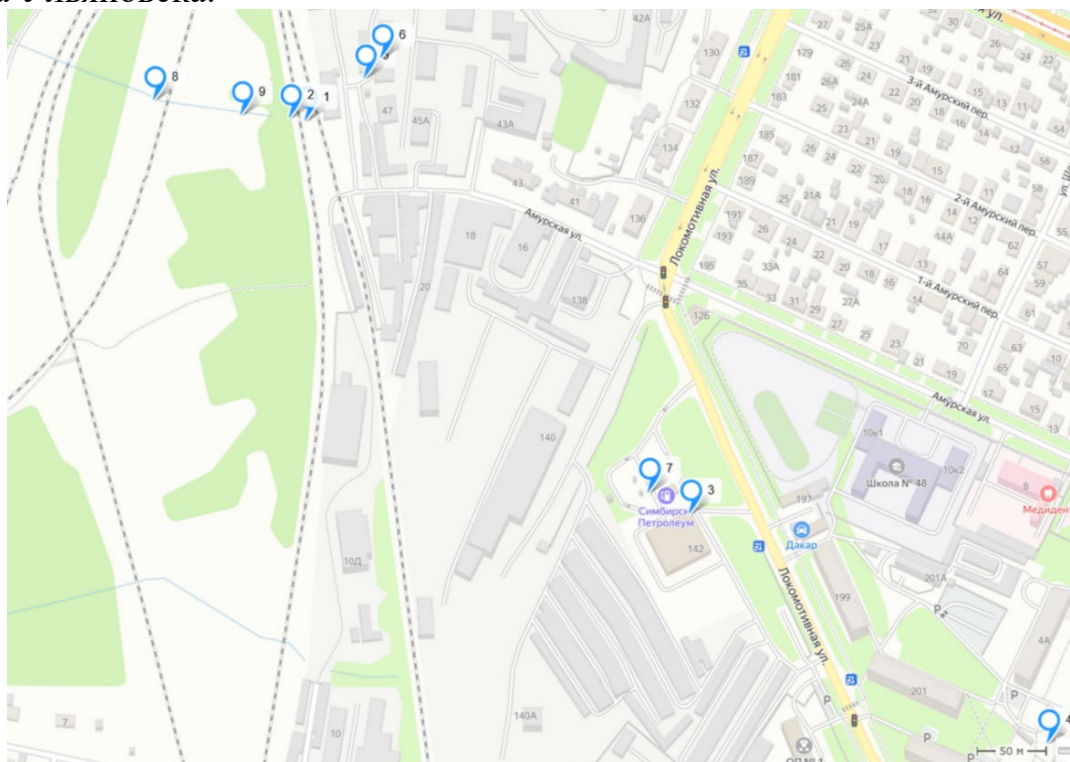
Петлю стерилизуют, остужают о незасеянную часть агаризованной среды и проводят серию штрихов в направлении, перпендикулярном первым. Затем петлю вновь стерилизуют, остужают и штрихи наносят в направлении В, а после очередной стерилизации – в направлении Г. Чашки помещают в термостат и через определенное время учитывают результаты. Обычно на штрихах А и Б вырастает большое число колоний (иногда сплошной рост), тогда как на штрихах В и Г формируются изолированные (отдельные) колонии.

Полученный материал используют для дальнейших исследований.

### 3. Результаты исследования и их обсуждение

#### 3.1. Отбор почвы для химического анализа

Почвенные образцы отбирались на территории Железнодорожного района города Ульяновска.



<https://yandex.ru/maps/?um=constructor%3A04dab5636181b3fd97a297d211929e7e203ebf21006e7b3c5f7e86ed01b64f39&source=constructorLink>

Рис.2. Карта отбора почв







Отбор почвенных образцов производился для наилучшей оценки на площадках с повышенной вероятностью обнаружения штаммов с целевыми активностями.

№	Место отбора	Рекомендуемые локации
1.	Железнодорожные пути	Территории железнодорожных депо и сортировочных станций. Почва возле путей, мест стоянки цистерн, ремонтных мастерских. Смесь нефтепродуктов, металлов, химикатов для обработки древесины
2.	30 м от железной дороги	
3.	Автомойка	Автозаправочные станции и паркинги. Почва возле топливных колонок, под местами стоянки старых машин. Постоянные микроразливы нефтепродуктов создают селективное давление
4.	Несанкционированная свалка	Старые городские свалки и полигоны ТБО. Зрелые участки свалок (закрытые >5 лет), зоны фильтрации стоков. Максимальное разнообразие органических и неорганических загрязнителей
5.	Металлобаза	Старые автомобильные кладбища и металлоприемные пункты. Почва под старыми автомобилями, места слива технических жидкостей. Коррозия металлов
6.	30 м от металлобазы	
7.	Автозаправочная станция	Автозаправочные станции и паркинги. Почва возле топливных колонок, под местами стоянки старых машин. Постоянные микроразливы нефтепродуктов создают селективное давление
8.	30 м от очистного канала	Территории бывших промышленных предприятий. Почва возле фундаментов старых цехов, бывшие очистные сооружения.

		Десятилетия смешанных загрязнений создали универсальные микробные сообщества
9.	Очистные сооружения	Промышленные зоны с химическими производствами. Территории возле химзаводов, складов реактивов, очистных сооружений. Комбинация различных химических загрязнителей требует универсальных ферментных систем
10.	Школьный плодовый сад	Контроль

Всего было проанализировано 10 образцов почв.

Таблица 1. Отбор почвенных образцов

№	Описание локации	Сбор материала	Образец почвы
1	Железнодорожные пути		
2	30 м от железной дороги		
3	Автомойка		

4	Несанкционированная свалка		
5	Металлобаза		
6	30 м от металлобазы		
7	Автозаправочная станция		
8	30 м от очистного канала		

9	Очистные сооружения		
10	Школьный плодовый участок КОНТРОЛЬ		

### 3.2 Подготовка водной почвенной вытяжки

Эта процедура предназначена для извлечения микроорганизмов из почвенных агрегатов и создания однородной суспензии, в которой клетки микроорганизмов равномерно распределены среди почвенных частиц.



Рис.3-4. Почвенная вытяжка

### 3.3. Приготовление разбавленной LB-среды



Рис.5-6. Приготовление разбавленной LB-среды

LB (англ. Lysogeny broth) – питательная среда в микробиологии, богатая питательными веществами. Автор прописи – Джузеппе Бертани.

В эксперименте мы используем разбавленную LB-среду для создания условий выращивания разных штаммов бактерий.

### 3.4. Посев на первичную среду

Этот метод помогает вырастить много хороших бактерий, создавая для них лучшие условия. Он включает в себя контроль температуры, влажности и других важных факторов. Благодаря этому методу можно получить чистые бактерии, которые используются для исследований.

Культивирование бактерий осуществлялось в Биологической лаборатории «ANRO expert» при температуре +25°C и влажности 85%.



Рис.7-8. Посев на чашки Петри



Рис.9. Мониторинг КОЕ на чашках Петри



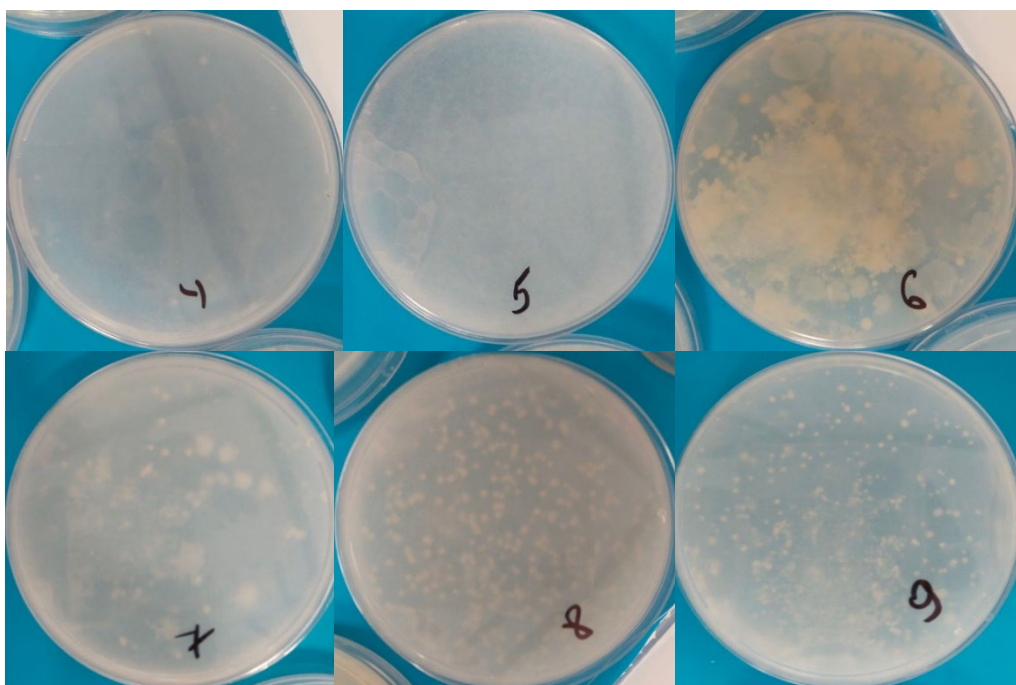


Рис.10-18. Образование колоний на LB-среде на 3 день

Таблица 2. Описание колоний

Образец №	Изменения		
	2 день	3 день	4 день
№1	Появляются молодые отдельно стоящие колонии	Образованы белые отдельно стоящие колонии, есть скопления	Нет видимых изменений
№2	Появляются колонии желтоватого цвета	пигментированные бактерии желтого цвета	Нет видимых изменений
№3	Появление колоний, близко расположенных между собой	Скопление молодых колоний в большом количестве	Нет видимых изменений
№4	Появляются молодые колоний	Образовались молодые отдельно стоящие колонии	Нет видимых изменений
№5	Появляются слизистые колонии, образуются скопления	Появились молодые слизистые колонии в скоплении	Нет видимых изменений
№6	Появляются слизистые колонии желтоватого цвета	Образовались слизистые, пигментированные колонии в скоплении	Нет видимых изменений
№7	Появление колоний, начинают появляться скопления	Есть редкие белые колонии, имеются скопления колоний	Нет видимых изменений
№8	Нет видимых изменений	Образованы молодые отдельно стоящие колонии	Развитие колоний
№9	Нет видимых изменений	Образованы молодые отдельно стоящие колонии	Развитие колоний
№10 КОНТРОЛЬ	Образованы молодые отдельно стоящие колонии	Развитие разнообразных колоний	Развитие колоний

### 3.5. Приготовление скрининговых сред и пересев колоний

Поиск металлоустойчивых бактерий важен для изучения механизмов устойчивости микроорганизмов к тяжёлым металлам. Это необходимо для разработки методов биоремедиации – использования естественных или специально введённых организмов для потребления и расщепления загрязнителей окружающей среды.

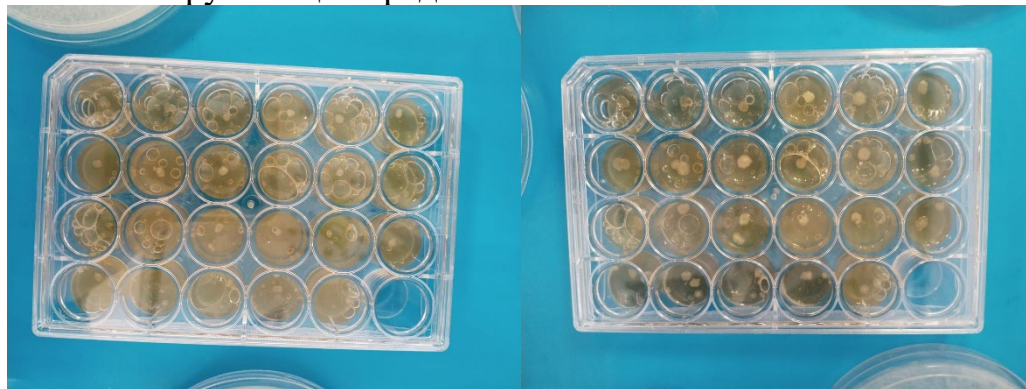


Рис.19. Изменения в скрининговой среде

Скрининг выявил образование металлоустойчивых бактерий во всех планшетных ячейках (100%). Наиболее отличные штаммы в А1, А2, А3, А4, А5, А6, В1, В2, В3, В5, С3, С4, С6, D1, D3 (65%). Более низкие показатели в В4, В6, С1, С2, С5, D2, D4, D5 (35%).

### 3.6. Выделение чистых культур

Большие и интересные колонии (слизистые, пигментированные и молодые) первичного посева высеяны на LB среде методом истощающего штриха для получения чистых культур.

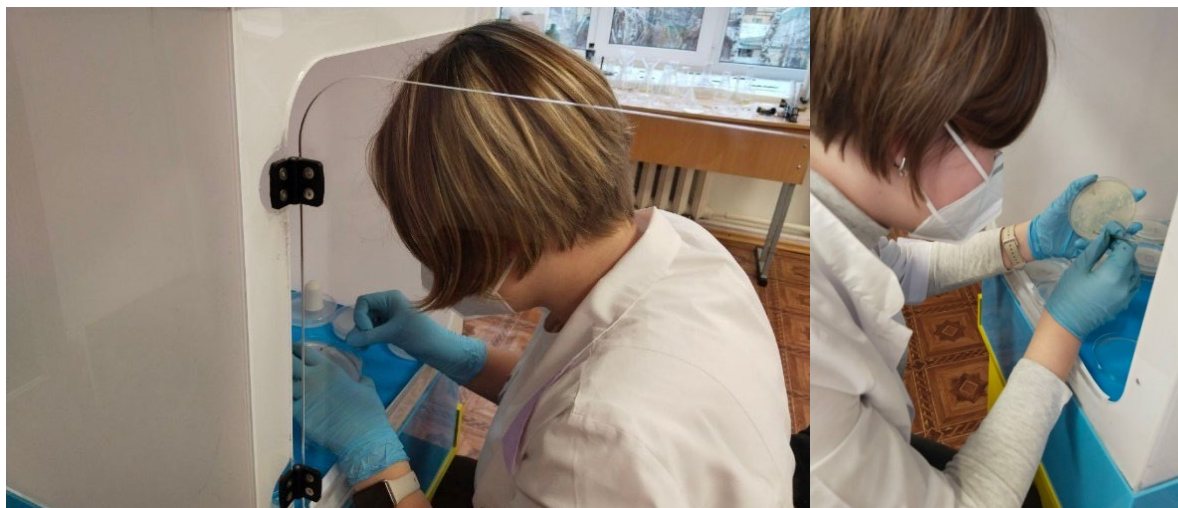


Рис.20. Посев на среду с помощью микробиологической петли

Культивирование бактерий осуществлялось в Биолоборатории «ANRO expert» при температуре +25°C и влажности 85%.

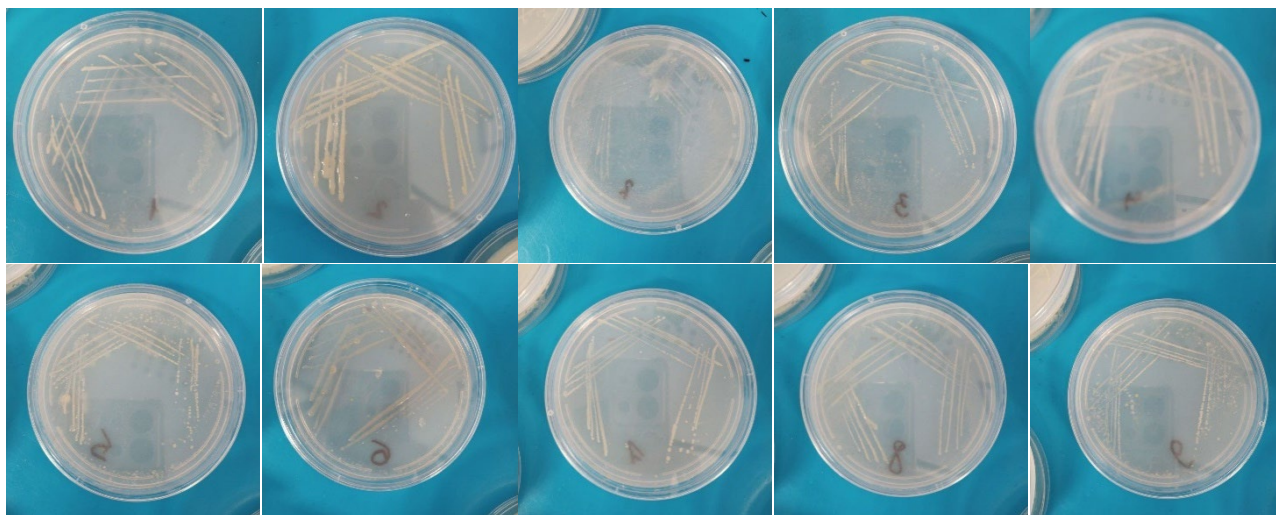


Рис.21-30. Образование чистых культур на 2 день

На чашках 1, 3, 5, 7, 9, 10: В последних секторах четко видны единичные, дискретные колонии. Это очень хороший знак, показывающий, что техника истощения была проведена успешно.

На чашках 2, 4, 6, 8: Колоний в последних секторах меньше, они более мелкие и менее выраженные. Это может указывать на то, что в исходном образце более низкое число КОЕ.

Полученные культуры смыты на 4 день дистиллированной водой и перенесены в стерильные бутылки для дальнейших экспериментов.

### 3.7. Биотестирование

#### 3.7.1. Оценка степени загрязнения почвы и уровня естественной биоремедиации

Кресс-салат применяется в биотестировании для определения уровня токсичности образцов окружающей среды. Это однолетнее растение из семейства крестоцветных, которое чувствительно к загрязнению почвы, воды и воздуха. Высажено по 10 семян.

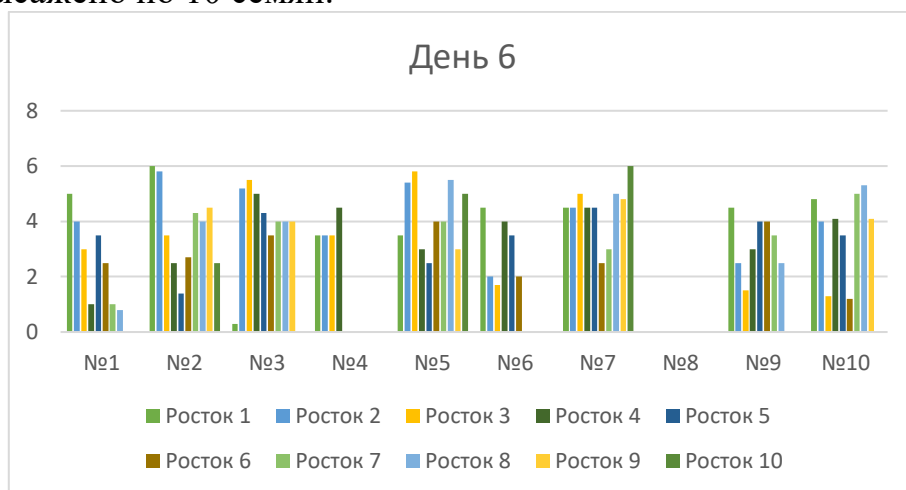


Рис.31. Результаты биотестирования на 6 день

Таблица 4. Результаты биотестирования на 6 день

№ образца	Всхожесть, %	Средний морфометрический показатель, см
1.	80	2,08

2.	100	3,72
3.	90	3,58
4.	40	1,5
5.	<b>100</b>	<b>4,17</b>
6.	60	1,77
7.	<b>100</b>	<b>4,43</b>
8.	0	0
9.	80	2,55
<b>10. КОНТРОЛЬ</b>	<b>100</b>	<b>4,8</b>

Результаты биотестирования (оценка всхожести семян и морфобиометрические показатели) показали минимальный уровень токсичности в образцах №5 (металлобаза) и №7 (автозаправочная станция).

### 3.7.2. Оценка активности деструкторов

**Цель.** Исследовать эффективность культивированных бактерий-деструкторов для интоксикации загрязнений тяжелыми металлами.

Для оценки активности деструкторов мы смоделировали процесс загрязнения почвы ионами тяжелых металлов. В качестве экспериментальных образцов мы взяли образцы №5,7, так как они показали минимальный уровень токсичности. Контроль – почва из плодового сада.

**Оборудование и реактивы:** почва, 4 контейнера, семена кресс-салата, раствор сульфата цинка ( $ZnSO_4$ ), раствор сульфата меди ( $CuSO_4$ ).

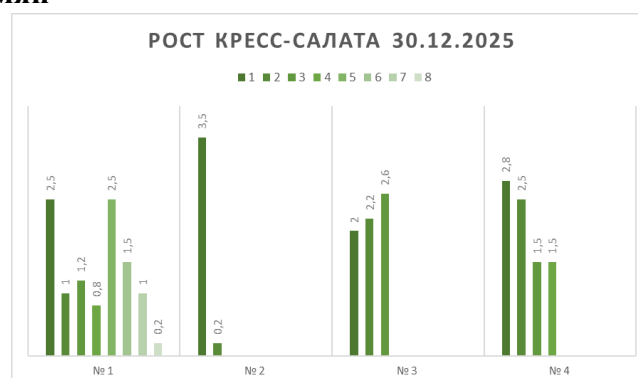
Исследуемые образцы почвы	
№1	почва под металлобазой (№5)
№2	почва с территории автозаправочной станции (№7)
№3	почва из плодового сада (контроль) (№10)
№4	почва из плодового сада (контроль) (№10)

Метод проведения эксперимента

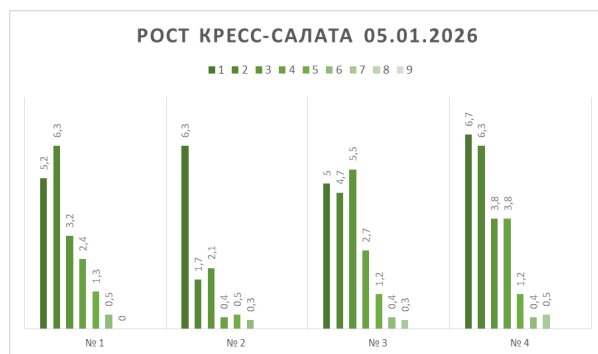
- Подготовка почвенных образцов массой 100 г
- Посев по 10 семян кресс-салата в каждый образец
- Обработка образцов растворами:
  - №1 и №3 – раствором сульфата цинка ( $ZnSO_4$ )
  - №2 и №4 – раствором сульфата меди ( $CuSO_4$ )
- Ежедневный полив
- Размещение образцов в одинаковых условиях

#### Рост семян

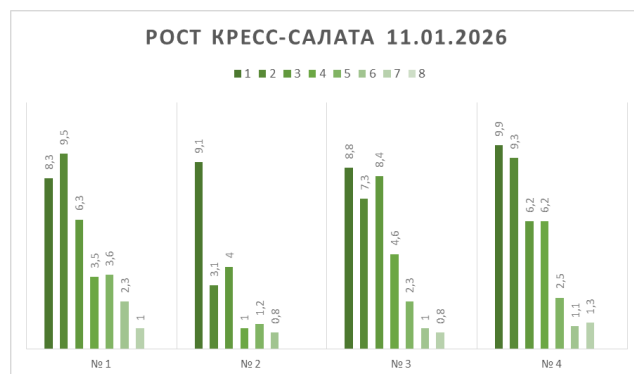
30.12				
1	3.5	3.5	4	4.8
2	1.5	1.5	3.2	4.5
3	2.5	2.5	3.8	2.5
4	1.5		1.5	2.5
5	2.5		0.5	0.5
6	3			
7	2			
8	0.8			
Дисперсия	0,783	1,0	2,345	3,058



05.01				
1	5,2	6,3	5,8	6,7
2	6,3	1,7	4,7	6,3
3	3,2	2,1	5,5	3,8
4	2,4	0,4	2,7	3,8
5	1,3	0,5	1,2	1,2
6	0,5	0,3	0,4	0,4
7			0,3	0,5
8				
Дисперсия	5,32	5,242	5,359	6,950



11.01				
1	8,3	9,1	8,8	9,9
2	9,5	3,1	7,3	9,3
3	6,3	4,0	8,4	6,2
4	3,5	1,0	4,6	6,2
5	3,6	1,2	2,3	2,5
6	2,3	0,8	1,0	1,1
7	1		0,8	1,3
8				
Дисперсия	10,031	10,012	11,986	13,201



Коэффициенты Стьюдента:

Образец №1:  $t = 0.7$  (различия не значимы)

Образец №2:  $t = 0.4$  (различия не значимы)

Образец №3:  $t = 1.3$  (различия не значимы)

Образец №4:  $t = 1.3$  (различия не значимы)

В результате:

1. Наблюдается значительная вариабельность роста семян в разных образцах.
2. Максимальная дисперсия отмечена в контрольных образцах. Контрольные образцы показывают более стабильную динамику роста.
3. Коэффициент Стьюдента лежит в зоне незначимости, различия морфометрических значений незначительны. Следовательно, бактерии-деструкторы хорошо справились с загрязняющим фактором.

#### 4. Выводы

В результате проделанной работы получены штаммы бактерий-деструкторов для локальной биоремедиации урбанизированных почв на территории Железнодорожного района города Ульяновска.

1. Выяснено, что биоремедиация является наиболее перспективным, экологически безопасным и экономически выгодным методом восстановления нарушенных почв.

2. Почвенные образцы для исследования отбирались на площадках с повышенной вероятностью обнаружения штаммов с целевой активностью – металлоустойчивостью: вблизи железной дороги, автозаправочной станции, несанкционированной свалки, металлоприемного пункта и очистных сооружений.

3. Скрининг выявил образование металлоустойчивых бактерий во всех планшетных ячейках (100%).

4. Оценка степени загрязнения почвы и уровня естественной биоремедиации на исследуемых участках проводилась методом биотестирования. Результаты биотестирования (оценка всхожести семян – 100% и морфобиометрические показатели - 4,17-4,43) показали минимальный уровень токсичности в образцах №5 (металлобаза) и №7 (автозаправочная станция).

Для подтверждения достоверности полученных результатов необходимы дополнительные итерации.

5. При исследовании активности деструкторов наблюдается значительная вариабельность роста семян в разных образцах. Максимальная дисперсия отмечена в контрольных образцах. Контрольные образцы показывают более стабильную динамику роста.

Коэффициент Стьюдента лежит в зоне незначимости, различие морфометрических значений невелико.

Следовательно, гипотеза «Бактерии, длительное время существующие в почве, загрязненной ионами тяжелых металлов, выработали резистентность к воздействию данных поллютантов и способны к ремедиации» подтверждена.

Полученные данные сведены в общую таблицу. (Приложение 1)

Результаты проведенных исследований внесены в единую сетевую электронную базу данных проекта «Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов» ([atlas.niboch.nsc.ru](http://atlas.niboch.nsc.ru)). Полученные образцы металлоустойчивых штаммов отправлены для идентификации в ИХБФМ СО РАН.

## **5. Заключение**

Биоремедиация представляет собой стратегически важную междисциплинарную область, объединяющую достижения микробиологии, экологии, биотехнологии и инженерии для решения актуальных экологических проблем России и мира. В условиях возрастающего экологического давления и появления новых классов загрязнителей систематический поиск микроорганизмов с уникальными метаболическими способностями становится критически важным для обеспечения экологической безопасности и технологической независимости.

## **6. Список использованной литературы**

1. ДОКЛАД о состоянии и использовании земель Ульяновской области за 2024 год. URL: <https://rosreestr.gov.ru/open-service/statistika-i-analitika/12/informatsionno-analiticheskaya-informatsiya/>
2. Информационно-аналитическая записка по Мониторингу земель Ульяновской области за 2024 год. URL: <https://rosreestr.gov.ru/open-service/statistika-i-analitika/12/informatsionno-analiticheskaya-informatsiya/>
3. Астанин, С.С. Физико-химические свойства и биологическая активность почвы рекреационных зон Воронежа / С.С. Астанин, И.Д. Свистова, К.Е. Стекольников // Проблемы и состояние почв городских и лесных

- экосистем / материалы III научно-практической конференции. / Под. ред. Б.В. Бабилова, Д.А. Данилова, А.А. Яковлева. – Санкт-Петербург: СПбГЛТУ, 2024.
4. Бородин, С.Н. Подходы к содержанию понятия «урбанизированная территория» в современных экономических исследованиях // РЭиУ. 2022. №4 (72). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/podhody-k-soderzhaniyu-ponyatiya-urbanizirovannaya-territoriya-v-sovremennyh-ekonomicheskikh-issledovaniyah>.
  5. Гончарова, О.Ю. Исследование почв на урбанизированных территориях: анализ методических аспектов и подходов (на примере г. Москвы) / О.Ю. Гончарова, О.В. Семенюк, Г.В. Стома // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. 2021. №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/issledovanie-pochv-na-urbanizirovannyh-territoriyah-analiz-metodicheskikh-aspektov-i-podhodov-na-primere-g-moskvy>.
  6. Графкина, М.В. Проблемы экологического мониторинга содержания тяжелых металлов в почвах / М.В. Графкина, А.В. Питрюк, Е.Ю. Свиридова // Экология урбанизированных территорий. 2025. №3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/problemy-ekologicheskogo-monitoringa-soderzhaniya-tyazhelyh-metallov-v-pochvah>.
  7. Григорьева, Е.Е. Экология городской среды : учебное пособие / Е. Е. Григорьева, А. А. Челноков, Л. Ф. Ющенко, К. Ф. Саевич. — Минск : Вышэйшая школа, 2016.
  8. Ельшаева, И.В. Особенности экологической оценки почвенных свойств городских экосистем // МНИЖ. 2025. №2 (152). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-ekologicheskoy-otsenki-pochvennyh-svoystv-gorodskih-ekosistem>.
  9. Ковалевская, Н.Ю. Экологические аспекты развития урбанизированных территорий / Н.Ю. Ковалевская, Б.М. Бедин // Baikal Research Journal. 2023. №3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ekologicheskie-aspekty-razvitiya-urbanizirovannyh-territoriy>.
  10. Коршунова, Т.Ю. Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения (обзор) / Т.Ю. Коршунова, С.П. Четвериков, М.Д. Бакаева, Е.В. Кузина, Г.Ф. Рафикова, Д.В. Четверикова, О.Н. Логинов // Прикладная биохимия и микробиология, 2019, Т. 55, № 4, с. 338-349.
  11. Кряжевских, К.А. Проблема загрязнения городов и пути решения / К.А. Кряжевских, Д.А. Дорофеева // Вопросы российской юстиции. 2023. №24. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/problema-zagryazneniya-gorodov-i-puti-resheniya>
  12. Ладыгина, О.В. Влияние антропо-инфраструктурных изменений на рельеф малых городов / О.В. Ладыгина, А.В. Калинин, В.А. Шилов // Экология урбанизированных территорий. 2025. №1. URL:

- <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-antropo-infrastrukturnyh-izmeneniy-na-relief-malyh-gorodov>.
13. Маркова, А. В. Оценка загрязнения почв территории города Ульяновска тяжелыми металлами / А.В. Маркова, С.В. Ермолаева, А.П. Гончаренко // Экология урбанизированных территорий. 2019. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-zagryazneniya-pochv-territorii-goroda-ulyanovska-tyazhelymi-metallami>.
  14. Мониторинг, охрана и восстановление почвенных экосистем в условиях антропогенной нагрузки : материалы Международной молодежной научной школы (Ростов-на-Дону, 27–30 сентября 2022 г.) ; Южный федеральный университет. – Ростов-на-Дону ; Таганрог : Издательство Южного федерального университета, 2022. – 662 с.
  15. Силачи А.Ю. Биоремедиация почв в промышленных зонах города / А.Ю. Силачи, М.А. Сигналова, И.Ю. Шлёкова // Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. 2018. №2 (13). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/bioremediatsiya-pochv-v-promyshlennyh-zonah-goroda>.
  16. Созина, И.Д. Микробиологическая ремедиация нефтезагрязненных почв / И.Д. Созина, А.С. Данилов // Записки Горного института. 2023. №260. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiologicheskaya-remediatsiya-neftezagryaznennyh-pochv>.
  17. Сорокин, С.Н. Создание городских биогеоценозов на нарушенных землях: проблемы и пути решения / С.Н. Сорокин, О.Б. Вайшля, И.С. Недбаев // Russian Journal of Ecosystem Ecology. 2023. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sozdanie-gorodskih-biogeotsenozov-na-narushennyh-zemlyah-problemy-i-puti-resheniya>.
  18. Чурагулова, З.С. О состоянии почв и растительности урбанизированных территорий г. Уфы / З.С. Чурагулова, Р.Р. Султанова, А.М. Мингажева // Биология растений и садоводство: теория, инновации. 2019. №150. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/o-sostoyanii-pochv-i-rastitelnosti-urbanizirovannyh-territoriy-g-ufy>.
  19. Янкевич, М.И. Биоремедиация почв: вчера, сегодня, завтра / М.И. Янкевич, В.В. Хадеева, В.П. Мурыгина // Биосфера. 2015. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/bioremediatsiya-pochv-vchera-segodnya-zavtra>.
  20. Romantschuk Martin, Lahti-Leikas Katariina, Kontro Merja, Galitskaya Polina, Talvenmäki Harri, Simpanen Suvi, Allen John A., Sinkkonen Aki. Bioremediation of contaminated soil and groundwater by in situ biostimulation // Frontiers in Microbiology. Volume 14 – 2023. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2023.1258148>.

21. Scharenbroch Bryant C., Trammell Tara L., Paltseva Anna, Livesley Stephen J., Edmondson Jill. Urban soil formation, properties, classification, management, and function // *Frontiers in Ecology and Evolution*. Volume 10 – 2022. URL: <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.987903>
22. Terry J. Gentry, Jeffrey J. Fuhrmann and David A. Zuberer. *Principles and Applications of Soil Microbiology*, 2021. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/bioremediation>.

## 7. Приложение

Приложение 1. Таблица 3. Общая таблица

№	Тип почвы	Уровень рН	Посев на первичную среду (КОЕ)	Скрининг (%)	Выделение чистых культур (%)	Биотестирование (на 6 день)
1	Железнодорожные пути	7,53	98	A1, A2, A3 (65)	80	Всхожесть 80% Средний морфометрический показатель 2,08 см
2	30 м от железной дороги	7,55	65	A4, A5, A6 (65)	50	Всхожесть 100% Средний морфометрический показатель 3,72 см
3	Автомойка	7,53	201	B1, B2, B3 (65)	70	Всхожесть 90% Средний морфометрический показатель 3,58 см
4	Несанкционированная свалка	7,30	146	B5 (65), B4 (35)	40	Всхожесть 100% Средний морфометрический показатель 4,17 см
5	Металлобаза	7,48	147	B6, C1 (35)	65	Всхожесть 40% Средний морфометрический показатель 1,5 см
6	30 м от металлобазы	7,25	81	C3, C5 (65), C6 (35)	45	Всхожесть 60% Средний морфометрический показатель 1,77 см
7	Автозаправочная станция	7,38	68	C6, D1 (65)	75	Всхожесть 100% Средний морфометрический показатель 4,43 см
8	30 м от очистного канала	7,52	186	D2 (35), D3 (65)	46	Всхожесть 0% Средний морфометрический показатель 0 см
9	Очистные сооружения	7,54	120	D4, D5 (35)	68	Всхожесть 80% Средний морфометрический показатель 2,55 см

10	Школьный яблочный сад	7,2	235			Всхожесть 90% Средний морфометрическ ий показатель 3,48
----	--------------------------	-----	-----	--	--	---