

Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение города Воронеж

«Лицей №15»

Тема индивидуального проекта:

**«ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА
ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ ПРИ
ВЫРАЩИВАНИИ РАСТЕНИЙ»**

Выполнила:

Заволокина О.О.

ученица 10 «Б» класса

Руководители проекта:

Чернышова Н.В.

учитель химии

Наливайко Ю.И.

учитель биологии

г. Воронеж, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Глава 1. Общие сведения о микробиологических удобрениях	4
1.1 Типы почвенных бактерий	5
1.2. Значение азота для растений	6
1.3. Стратегия азотфиксации	7
Глава 2. Исследовательская работа	8
Заключение	13
Список литературы	14

ВВЕДЕНИЕ

Факторы окружающей среды, такие как засуха, засоление почвы, экстремальные температуры и многие другие представляют собой серьезные сельскохозяйственные проблемы, вызывающие стресс у растений и приводящие к значительным потерям урожая во всем мире. Засуха одно из самых распространенных и разрушительных явлений, связанных с окружающей средой. Она может привести к потере до 50% урожая, особенно в регионах с недостаточным количеством осадков. Избыток соли в почве может быть вызван различными причинами, включая засоление грунтовых вод и неправильное орошение. Это может привести к снижению урожайности сельскохозяйственных культур до 50%. Стресс влияет на биохимические, физиологические и морфологические процессы растений. Он уменьшает размер листьев, удлиняет стебель, подавляет рост корней, снижает фотосинтез, изменяет соотношение питательных веществ и воды.

Одной из стратегий повышения стрессоустойчивости растений является внедрение бактерий полезных для растений, которые благотворно влияют на показатели роста, биомассу и содержание хлорофилла в условиях стресса.

Актуальность

Повышение стрессоустойчивости растений при неблагоприятных условиях с помощью азотфиксирующих бактерий.

Цель.

Исследовать влияние условий окружающей среды на эффективность микробных удобрений.

Задачи для достижения результата.

1. Анализ литературных данных.
2. Анализ физиологической активности бактерий.
3. Получение чистых культур бактерий.
4. Нарботка биомассы.
5. Обработка ростков бактериальными культурами.
6. Анализ влияния условий окружающей среды.

ГЛАВА 1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ УДОБРЕНИЯХ

Микробиологические 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 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 вносимого инокулянта, а также условий окружающей среды, в которых проводится эксперимент (осадки, температура почвы и воздуха, влажность).

Данный набор направлен на выявление особенностей влияния микробиологических удобрений на рост и развитие исследуемых вами растений в разных почвенно-климатических условиях.

Применение минеральных удобрений во второй половине двадцатого века было одним из основных факторов, способствовавших развитию растениеводства, однако несбалансированное внесение удобрений может оказывать негативное влияние на его устойчивость и экологическую безопасность. Другим следствием является нарушение разнообразия почвенного микробиома, что также приводит к снижению плодородия. В настоящее время применение бактерий, благоприятно влияющих на рост растений, является перспективным направлением исследований по повышению плодородия почв и стимуляции урожайности. Бактерии, стимулирующие рост растений, естественным образом напрямую и косвенно усиливают рост растений в результате фиксации атмосферного азота, синтеза растительных гормонов, сидерофоров, стимулируя усвоение растениями питательных веществ или угнетая вредителей. Что еще более важно, такие бактерии могут взаимодействовать с корнями растений и повышать устойчивость к абиотическим стрессам.

1.1. Типы почвенных бактерий

Азотфиксирующие бактерии – это бактерии, фиксирующие атмосферный азот (N_2), обитают в тканях растений (например, в клубеньках, корнях) и на границе раздела почва–ризосфера и могут поставлять значительные количества минерального азота, необходимого для роста. Считается, что симбиотические бактерии клубеньков бобовых являются наиболее важным компонентом биологической фиксации атмосферного азота. Данных о несимбиотических азотфиксирующих почвенных бактериях значительно меньше, в основном публикации посвящены зерновым культурам, например, кукурузе, рису и пшенице. Литературные сведения свидетельствуют о том, что, когда минеральный азот доступен в почве, свободноживущие азотфиксаторы могут использовать его, а не фиксировать азот. Свободноживущие азотфиксирующие бактерии могут быть облигатными анаэробами, факультативными анаэробами или облигатными аэробами и, таким образом, существуют в различных средах, при разном содержании молекулярного кислорода.

Бактерии, солюбилизирующие фосфаты - это фосфатсолюбилизирующие бактерии, которые увеличивают биодоступность фосфора из почвы для растений: они растворяют неорганические фосфаты и минерализуют нерастворимые органические формы фосфора. Кроме бактерий, способность к солюбилизации фосфатов описана и у грибов, образующих микоризу. Большинство фосфатсолюбилизаторов выделено из ризосферы, где они проявляют метаболическую активность.

Бактерии, секретирующие сидерофоры – это микроорганизмы, которые могут получать ионы железа за счет секреции сидерофоров. Они являются низкомолекулярными соединениями (500–1500) и обладают высоким сродством к $Fe(III)$. Основная функция сидерофоров – перевод железа в доступную для микроорганизмов форму, сидерофоры, продуцируемые почвенными микроорганизмами, обеспечивают растения железом и стимулируют их рост.

1.2. Значение азота для растений

Азот является незаменимым элементом для питания любого растения. Не зря его называют «кормильцем человечества», поскольку именно азот - ключевой компонент белка, который, в свою очередь, является основой жизни на нашей планете. Поэтому переоценить его значение в системе применения удобрений сложно.

Азот входит в состав всех простых и сложных белков, которые являются главной составной частью протоплазмы растительных клеток. Он также находится в составе нуклеиновых кислот (рибонуклеиновая - РНК и дезоксирибонуклеиновая - ДНК), играющих исключительно важную роль в обмене веществ в организме.

Азот жизненно необходим растениям для правильного развития, в первую очередь, корневой системы. Он также влияет на метаболизм растений и является строительным элементом для формирования нуклеиновых кислот и других важных соединений.

Все обменные процессы, происходящие в организме растения, от синтеза хлорофилла до усвоения витаминов активизируются благодаря азоту. Недостаток азота может привести к неполноценному урожаю или даже гибели растения.

Азот содержится в хлорофилле, фосфатидах, алкалоидах и входит в состав многих других органических веществ растительных клеток. При недостаточном снабжении растений азотом они плохо растут и развиваются, листья приобретают светло-зеленую окраску. Синтез структурных - сложных и ферментных - белков затормаживается или вовсе приостанавливается, как это имеет место, когда в почве находится слишком мало азота в подвижном состоянии.

Увеличение урожая. Подходящий уровень азота в почве способствует увеличению урожайности растений.

Укрепление стеблей и листьев. Азот способствует образованию прочной клеточной структуры в стеблях и листьях растений, что делает их более крепкими и устойчивыми к внешним условиям.

1.3. Стратегия азотфиксации

Фиксацию азота проводят только микроорганизмы. Фиксацию осуществляет комплекс ферментов нитрогеназы-редуктазы.

Процесс можно записать как:

Атмосферный азот восстанавливают 4Н до промежуточного соединения НН-НН, затем 2Н образуют Н₂Н-НН₂. Далее, с затратой ещё 2Н, происходит образование 2NH₃. На этой стадии затрачивается 16 АТФ, с образованием 16 АМФ + 16 неорганического фосфора энергетически-движущая сила фиксации атмосферного азота.

На ферментативном уровне:

4 пирувата превращаются в 4 ацетилКоА + 4СО₂ (выделение 2Н'). Пируват восстанавливает флаводоксин, который принимает на себя 2Н и 2e⁻ 4Флаводоксина превращается в 4 флаводоксина восстановленного. Электроны с флаводоксина переносятся на 4 редуктазадегидрогеназу (окисл.) до восстановления фермента. Необратимо ингибируется кислородом.

4 редуктазадегидрогеназа (восст.) снова окисляется с выделением 8e⁻. Затрата 16АТФ

Денитрогеназа (окисл.) восстанавливается при помощи 8e⁻ до денитрогеназы (восст.)

8 электронов и протонов идут на 2N₂ = 2NH₃ с выделением 2e⁻

На каждый перенос электронов затрачивается 2 АТФ.

Денитрогеназа содержит железо-молибденовый кофактор и участвует в восстановлении азота. У *Methanosarcina barkeri*, нитрогеназа содержит молибден, вольфрам и железо в нитрогеназе.

ГЛАВА 2. ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ЧАСТЬ

Ход работы:

В начале эксперимента приготовили питательную среду Эшби (Рис. 1) для выведения азотфиксирующих бактерий *Azotobacter*. Для этого растворили в 1 л дистиллированной воды следующие компоненты: сахарозу — 20,0 г; калий сернокислый — 0,2 г; калий фосфорнокислый двузамещённый — 0,2 г; кальций углекислый — 5,0 г; магний сернокислый — 0,2 г; натрий хлористый — 0,2 г и агар-агар — 15,0 г (Рис. 2). Затем перемешали и довели до кипения в водяной бане для растворения агар-агара (Рис. 3).

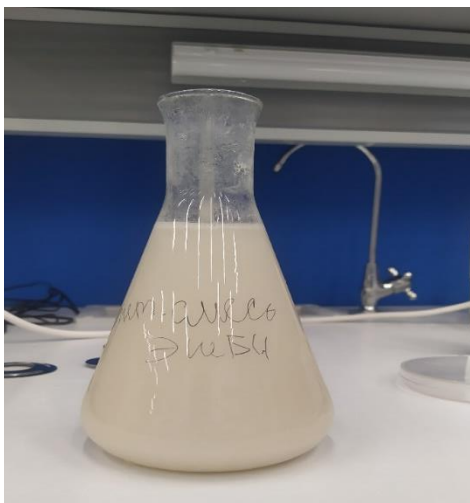


Рисунок 1. Питательная среда Эшби



Рисунок 2. Компоненты для приготовления питательной среды Эшби

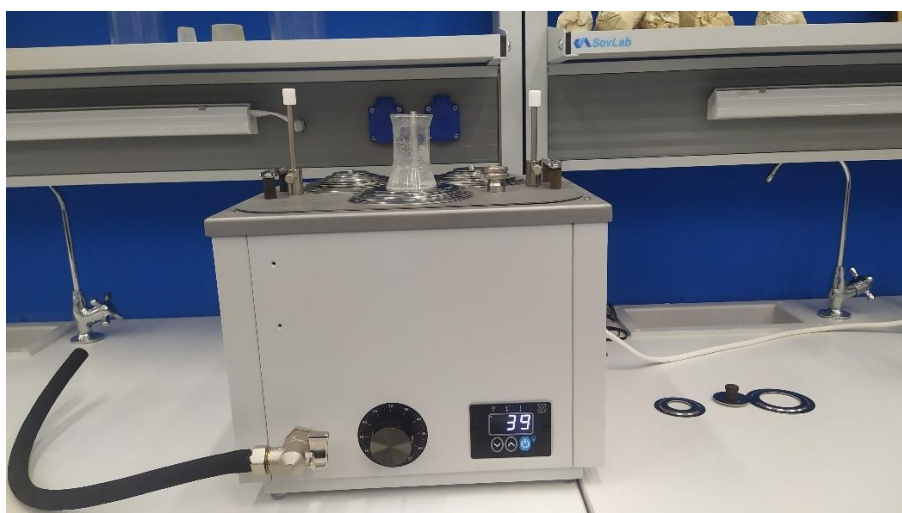


Рисунок 3. Нагрев питательной среды на водяной бане

Приготовленную среду перелили в стерильную чашу Петри для выведения бактерий и дали ей остыть до комнатной температуры. После остывшую питательную среду заразили почвой для наработки колоний азотфиксирующих бактерий (Рис.4). И оставили в теплом месте без доступа прямых солнечных лучей на три дня. По истечении времени проверили рост колоний азотфиксирующих бактерий под микроскопом (Рис.5). Проверка показала, что нам удалось вывести колонии азотфиксирующих бактерий (Рис.6).



Рисунок 4. Зараженная почвой питательная среда

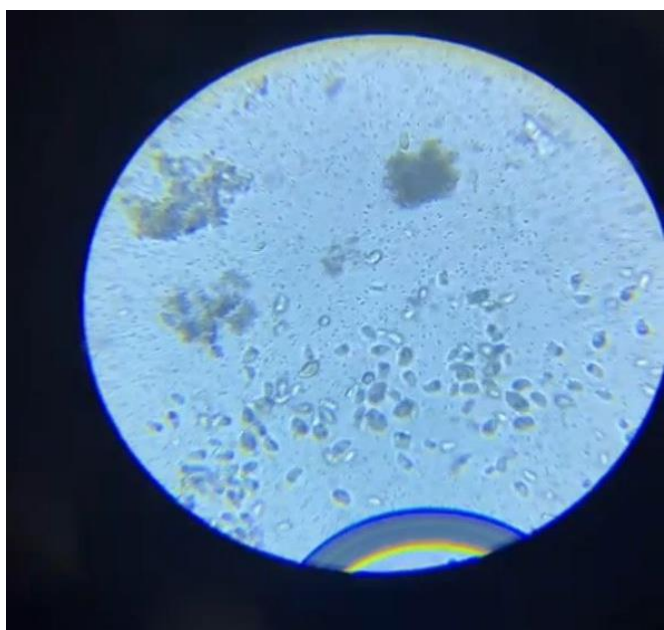


Рисунок 5. Колонии азотфиксирующих бактерий под микроскопом



Рисунок 6. Колонии азотфиксирующих бактерий

Заранее проростили пшеницу в двух разных контейнерах с почвой. Один из них заразили азотфиксирующим бактериями, а второй оставили контрольным образцом.

Оба контейнера оставили без полива в теплом месте без доступа прямых солнечных лучей на пять дней для роста пшеницы. Фиксирование результатов провели через пять дней. С помощью линейки измерили длину стебля в образце с азотфиксирующими удобрениями и контрольном образце (Рис.7-8) Полученные результаты внесли в журнал наблюдений (Таблица 1).



Рисунок 7. Контейнер с бактериями

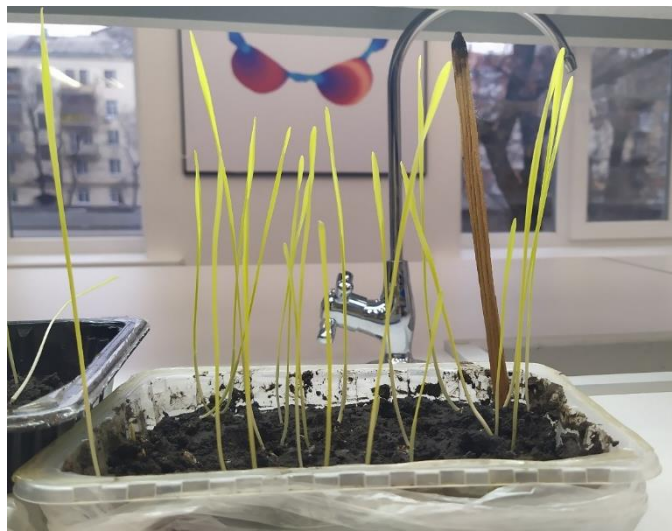


Рисунок 8. Контрольный образец

Далее приготовили раствор для засоления почвы, для этого использовали растворенный в воде хлорид натрия в соотношении 50 мл H₂O на 40 г NaCl. В контейнеры с пшеницей внесли раствор хлорида натрия. Один контейнер с бактериями, второй контейнер оставили контрольным образцом. Оба контейнера находились в течении пяти дней в теплом и темном месте. По истечению времени провели замеры стебля пшеницы. Полученные результаты внесли в журнал наблюдений (Таблица 1).



Рисунок 9. Контейнер с бактериями



Рисунок 10. Контрольный образец

Параллельно с пшеницей в два других контейнера с почвой внесли бактерии: один контейнер с зараженной почвой, а второй остался для контроля. И сразу же посадили семена редиса. Оба контейнера оставили в теплом и хорошо освещенном помещении на пять дней. По истечению срока провели замеры и внесли их в журнал наблюдений (Таблица 2).



Рисунок 11. Контрольный образец



Рисунок 12. Контейнер с бактериями

Затем, контейнер с зараженной почвой повторно заразили бактериями, а другой оставили контрольным образцом. Оба контейнера оставили на балконе при температуре от -5 до 0 градусов Цельсия на пять дней. По истечении времени провели замеры и внесли результаты в журнал наблюдений (Таблица 2).



Рисунок 13. Контрольный образец



Рисунок 14. Контейнер с бактериями

Журнал наблюдений

Таблица 1. Показатели пшеницы

Показатели	Контроль+засуха	Бактерии+засуха	Контроль+соль	Бактерии +соль
Время	5 дней	5 дней	10 дней	10 дней
Длина зеленой части	9-10	13	9	14
Длина корней	4	6	2	3
Длина всего	13-14	18	11	17
Масса всего	1,2	2,7	0,7	2,2
Взошло семян	23 из 40	32 из 40	23 из 40	32 из 40

Таблица 2. Показатели редиса

Показатели	Контроль	Бактерии	Контроль+мороз	Бактерии +мороз
Время	5 дней	5 дней	10 дней	10 дней
Длина зеленой части	1-2	3	3-4	6
Длина корней	0,5	1	2	3
Длина всего	1,5-2,5	4	5-6	9
Масса всего	0,9	1,2	1,4	2,1
Взошло семян	15 из 20	18 из 20	15 из 20	18 из 20

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты показывают, что при засоленности почвы уменьшается длина корней пшеницы, то есть угнетается подземная часть, а при засухе замедляется рост растений. В контрольном контейнере, где росла пшеница, при засухе и засоленности почвы растения погибли. При выращивании редиса с экстремальной температурой в контейнере с бактериями растения продолжали активно расти. В контрольном образце рост редиса заметно замедлился.

На основе полученных результатов можно сделать вывод, что *Azotobacter*, выделенный из техногрунта, может способствовать росту пшеницы в условиях солевого стресса и редиса при неблагоприятных условиях. А ещё, так же можно добавить, что бактерии могут быть использованы в качестве биоинокулянта на сельскохозяйственных полях, подверженных воздействию засолению почв и сильных морозах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кумар Света Бинод, Калвасиньска А., Бжезинска М. Свионтек, Врубель М. Использование галофильных *Azotobacter chroococcum* W4ii из техногенных почв для снижения солевого стресса у пшеницы / Света Бинод Кумар, А. Калвасиньска, М. Свионтек Бжезинска, М. Врубель // National Library of Medicine
2. Тимофеева А. М, Галямова М. Р, Седых С. Е. Биологическая активность почвенных бактерий, стимулирующих рост растений: фиксация азота, солюбилизация фосфата, синтез сидерофоров. перспективы разработки микробных консорциумов / А. М. Тимофеева, М. Р. Галямова, С. Е. Седых // Агрехимия, 2024, № 5, с. 85–95
3. Aquilanti L. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples / L. Aquilanti, F. Favilli, F. Clement // Soil Biol. Biochem. – 2004 – Vol. 36 – pp. 1475–1483.
4. «Нетрусов А.И. Лекция по микробиологии.01.10.2020г. МГУ им. М. В. Ломоносова»