

УДК 579.64

ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ ПОЧВ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOTOBACTER*

Вагнер Александра Валерьевна

МКОУ Коченёвская СОШ №2, р.п. Коченево, Новосибирская область,

sanjavagner2006@list.ru

Аннотация: работа посвящена изучению влияния различных концентраций хлорида натрия на физиологическую активность бактерий рода *Azotobacter*

Ключевые слова: рост колоний; стимулирующая активность

A. Vagner (Russia) THE INFLUENCE OF SOIL SALINIZATION ON THE PHYSIOLOGICAL ACTIVITY OF BACTERIA OF THE *GENUS* *AZOTOBACTER*

Annotation: this work is dedicated to the study of influence of various concentrations of sodium chloride on the physiological activity of bacteria of the genus *Azotobacter*.

Keywords: colony growth; stimulation activity

1. ВВЕДЕНИЕ

В России широко распространены засоленные почвы [8]. Одним из самых обширных является регион Западной Сибири, площадь засоленных почв составляет 10,2 млн. га [3]. Часто наблюдается расширение вторичного засоления в связи с антропогенным воздействием [8], что ведет к изменению окружающей среды и как результат - исчезновение видов, невозможность ведения сельскохозяйственной деятельности на больших территориях. В результате засоления, создаются неблагоприятные условия и для жизнедеятельности почвенных микроорганизмов, что неизбежно приводит к ухудшению свойств почвы, снижению её плодородия [6].

По степени засоления почвы делятся на: слабозасоленные, средnezасоленные, сильнозасоленные, очень сильнозасоленные. Одна из распространенных солей участвующих в засолении - хлорид натрия. Это

вещество токсично из-за его физиологической активности и высокой растворимости (264 г/л) [7].

Засоленные почвы — это своеобразные природные экосистемы, в которых высокие концентрации солей и недостаток влаги создают особую среду для существования живых организмов, здесь формируются специфические микробсообщества [5]. Микроорганизмы, обитающие в засоленных экосистемах, способны проявлять максимальный рост в условиях пониженной водной активности, что обусловлено высоким осмотическим давлением почвенных растворов, которое создается в результате растворения больших количеств солей. Такие условия способствуют отбору специфических толерантных к соли бактерий [5]. Например, *Azotobacter chroococcum* дает группы с разным осмотическим давлением в клетках в зависимости от местообитания. Описанный Н.Н. Сушкиной для засоленных почв вид *Azotobacter galophilium* представляет собой солеустойчивую форму *Az. Chroococcum* [2].

В связи с этим, особый интерес представляют штаммы азотфиксирующих бактерий, способные выжить и сохранить свою физиологическую активность в таких экстремальных условиях. Если учесть способность бактерий *p. Azotobacter* фиксировать азот, продуцировать биологически активные вещества, стимулирующие рост и развитие растений [4], то их использование могло бы поддержать видовое разнообразие флоры засоленных территорий, вернуть плодородие вторично засоленным почвам.

Поэтому **целью** работы стало: экспериментальное изучение влияния различных концентраций хлорида натрия на рост и стимулирующую активность бактерий *рода Azotobacter*.

Задачи:

1. Выделить штаммы бактерий *p. Azotobacter* и описать условия их обитания.
2. Определить влияние различных концентраций хлорида натрия на рост колоний.
3. Выяснить стимулирующую активность штаммов бактерий *рода Azotobacter*, выращенных с избытком хлорида натрия.

Объект: штаммы бактерий *p. Azotobacter*, **предмет:** зависимость их роста и стимулирующей активности от степени засоления.

Гипотеза: хлорид натрия оказывает отрицательное влияние на рост колоний и стимулирующую активность бактерий *рода Azotobacter*.

2. ОТБОР ОБРАЗЦОВ ПОЧВЫ

Дата полевых работ: 23.10.2021 г. Место: окрестности рабочего поселка Коченево (географические координаты: N55E82). Местность равнинная, вдали от автострады.

Образцы почв отбирали из поверхностных почвенных разрезов по общепринятой методике [9] из слоя 0-10 см. В работе было исследовано 5 образцов: №1 (Тополевая лесополоса), №2 (Молодая берёзовая роща, возраст не более 12 лет, хорошо развита луговая растительность, в основном с. Злаки), №3 (Пшеничное поле), №4 (Березовый колок), №5 (Поле, заросшее Икотником серозелёным (сем. Крестоцветные)).

Все почвы отличаются по механическому составу: №1 тяжелосуглинистый, №2-4 среднесуглинистый, №5 – легкосуглинистый. рН среды сходна и близка к нейтральной. Карбонаты отсутствуют. По данным критериям почвы соответствуют условиям обитания бактерий *p. Azotobacter*.

3. МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Выделение штаммов бактерий *p. Azotobacter* и описание условий их обитания

Для выявления микроорганизмов *p. Azotobacter* комочки просеянной и увлажненной почвы помещали на питательную среду Эшби [9], в трехкратной повторности. Развитие колоний происходило при комнатной температуре. На шестые сутки подвели итоги.

Результаты и их обсуждение. Установлен высокий процент обрастания почвенных комочков в образцах №2,3 (90-92%), что можно увидеть на рисунке 1.

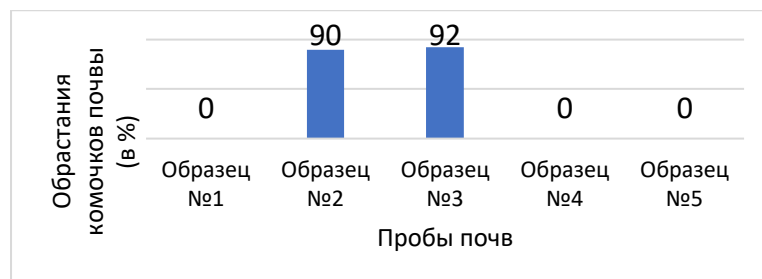


Рис 1. Результаты обрастания (в %)

Отсутствие бактерий *p. Azotobacter* в образце №1 может быть связано с тем, что тополя самые быстрорастущие древесные породы с высоким уровнем транспирации, с мощным развитием физиологически активных корней, что приводит к иссушению и истощению почвы. Имеются данные о том, что под пологом тополя усиливается общая биохимическая активность почвы, но почти полностью подавляется ее нитрификационная способность [10].

Отсутствие бактерий в образце №4, объясняется тем, что на плоских недренированных равнинах, покрытых березовыми колками, могут формироваться солоди [11] – почвы, в которых бактерии *p. Azotobacter* не встречаются [2].

Известно, что растительные ткани Икотника серо-зелёного содержат дубильные вещества, алкалоиды, и фурукумарины [1] - все эти вещества могут подавлять развитие азотобактера. Возможно, поэтому мы не встретили его и в образце №5.

Самыми благоприятными для развития бактерий оказались почвы, с растительными остатками в виде соломы: в образце №2 преобладают луговые злаковые растения, в образце №3 –культурные злаковые.

3.2. Влияние различных концентраций хлорида натрия на рост колоний бактерий *p. Azotobacter*

Сделали растворы хлорида натрия (NaCl): на 100 мл питательной среды Эшби взяли 1, 2, 3 и 4 г. Стандартная среда Эшби в том же объеме выступила в качестве контроля. Колонии бактерий диаметром 1 мм разместили на подготовленные среды. Поставили по 3 параллельных эксперимента.

Наблюдение происходило в комнатных условиях в течение 4-х дней (табл. 1).

Таблица 1

Влияние различных концентраций хлорида натрия на рост колоний бактерий *p. Azotobacter* (указан диаметр в мм)

Сутки	Контроль	№1 (1г NaCl)	№2 (2г NaCl)	№3 (3г NaCl)	№4 (4г NaCl)
1	4-5	3-4	1-2	1	1
2	6-7	4-5	2	1	1
3	7-10	5-6	2-3	1-2	Колонии высохли
4	12-14	8-10	5	Колонии высохли	-

Результаты и их обсуждение. В растворе №1 размер колоний меньше контрольных на 4 мм, в растворе №2 – на 7 мм, №3 – колонии подросли до 2 мм и на 4-ый день высохли, №4 – колонии не росли, на 3-ий день высохли.

Установлено, что при повышении концентрации хлорида натрия рост колоний замедляется, а при концентрации соли 3 г на 100 мл среды Эшби и выше - жизнедеятельность колоний невозможна.

Эксперимент показал, что избыточное содержание хлорида натрия в среде оказывает отрицательное влияние на рост бактериальных колоний. Это объясняется высокой токсичностью соли [7].

3.3. Стимулирующая активность штаммов бактерий *p. Azotobacter*, выращенных с избытком хлорида натрия

Использовали метод биотестирования образцов с помощью семян кресс-салата. Кресс-салат – однолетнее растение семейства Крестоцветные, обладающее повышенной чувствительностью к воздействию факторов внешней среды. Отличается быстрым прорастанием семян и почти стопроцентной всхожестью, не требует большой площади рабочего места [12].

Для эксперимента сделали суспензии (на 40 мл. воды брали слизистую пленку колоний бактерий размером с горошину):

- №1: из бактерий, выращенных без добавления хлорида натрия,
- №2: из бактерий, выращенных с добавлением 1 г хлорида натрия на 100 мл ср. Эшби,
- №3: из бактерий, выращенных с добавлением 2 г хлорида натрия на 100 мл ср. Эшби.

В качестве субстрата использовали фильтровальную бумагу, однократно увлажненную суспензией. В контрольном образце субстрат смачивали водопроводной водой. Для высева брали по 15 одинаковых по размеру семян на чашку Петри. Проращивание происходило в комнатных условиях. Каждый вариант закладывали в трёх повторностях.

Двое суток наблюдали за прорастанием семян по следующим критериям: энергия прорастания, максимальная длина корешка, ростовая сила. Проросшие семена поместили в торфяные стаканчики со стерильной почвой, для наблюдения за развитием проростков.

Результаты и их обсуждение. Установлены незначительные отличия энергии прорастания семян по сравнению с контрольным образцом (2%), (табл. 2).

Таблица 2

Энергия прорастания семян (в %)

Варианты	Первые сутки	Вторые сутки
Контроль	98	100
№1	98	98
№2	96	98
№3	98	100

Максимальная длина корешка во всех образцах в первые сутки больше на 1-2 мм по сравнению с контрольным. На вторые сутки в образцах №1, 2 длина корешка больше на 4 мм по сравнению с контрольным, в образце №3 - на 2 мм (рис. 2). Во всех образцах с азотфиксирующими бактериями проросшие семена обладали ростовой силой – фильтровальная бумага заметно приподнималась, корни упирались в субстрат.

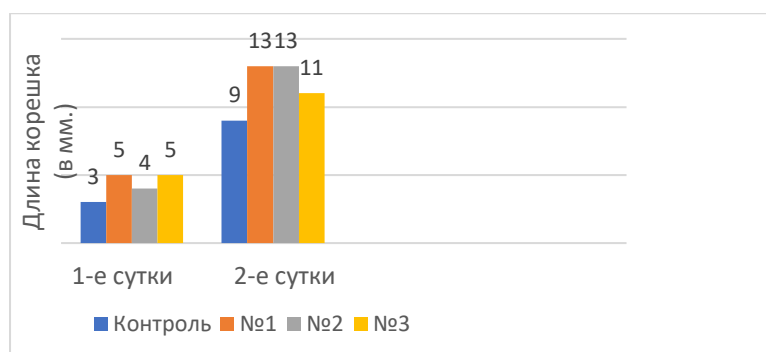


Рис 2. Максимальная длина корешка (в мм)

Наблюдая за развитием проростков, установили морфологические отличия растений кресс-салата в контрольном образце: задержка роста, уменьшение длины надземной и подземной частей растений, деформация стеблей (Приложение рис. 1, 3 (1)).

Наилучшее развитие проростков и их корневых систем наблюдается в присутствии бактерий *p. Azotobacter*. Длина стебля и главного корня выше значения контроля во всех образцах на 10-20 мм (табл. 3, Приложение рис. 2, 3 (2,3,4)), что доказывает стимулирующую активность выделенных штаммов.

Таблица 3

Биометрические показатели проростков

Признаки	Контроль	№1	№2	№3
Длина стебля (мм)	15-50	15-70	15-70	50-70
Длина главного корня (мм)	До 30	До 40	До 50	До 50

ВЫВОДЫ

1. По механическому и химическому составу исследуемые почвы подходят для обитания бактерий *p. Azotobacter*, но в образцах №1 (тополевая лесополоса), №4 (березовый колок), №5 (поле с Икотником серо-зеленым) они не обнаружены.
2. Повышенное содержание хлорида натрия: от 1 до 3 грамм на 100 мл питательной среды Эшби замедляет рост колоний бактерий *p. Azotobacter*; 4 г - для них губительно.
3. Хлорид натрия не оказывает отрицательного влияния на стимулирующую активность выживших штаммов.

Данные работы могут быть использованы для проведения исследований по изучению штаммов, устойчивых к повышенному содержанию различных солей и их применение для поддержания продуктивности засоленных почв.

Образцы штаммов и почв вошли в базу данных Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

СПИСОК ИНФОРМАЦИОННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Андреева В.Ю., «Элементный состав экстракта *Berberoa incana*», Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI Веке» №11, Томск, 2011. Дата обращения: 24.10.2021
<https://cyberleninka.ru/article/n/elementnyy-sostav-ekstrakta-berberoa-incana>
2. Бабьева И.П., Зенова Г. Н., Биология почв – М.: Изд Московского университета, 1983
3. Засоление почв: проблема и пути решения. Дата обращения: 24.10.2021
<https://agriecomission.com/base/zasolenie-pochv-problema-i-puti-resheniya>
4. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв: Учебник. — 3-изд., испр. и доп.— М.: Изд-во МГУ, 2005. — 445 с., илл. — (Классический университетский учебник)
5. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М. Актиномицеты засоленных и щелочных почв. 2007. Дата обращения: 21.11.21 <https://uchebnikfree.com>
6. Ибраева М.А., Шаухарова Д.Е., Джуманова М. «Влияние засоления почв на микробиологическую активность», Почвоведение и агрохимия № 2, 2020
7. Лопатовская О.Г. Мелиорация почв. Засоленные почвы.: учеб. пособие /О.Г. Лопатовская, А.А. Сугаченко. – Иркутск: Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2010
8. О проблеме оценки засоленности почв и методике крупномасштабного цифрового картографирования засоленных почв. Панкова Е.И., Конюшкова М.В., Горохова И.Н. Дата обращения: 21.11.2021г
<https://cyberleninka.ru>
9. Охотник за микробами. Методические рекомендации и инструкции по применению набора, 2022 г.
10. Редько Г.И. Биология и культура тополей. Л., Изд-во Ленингр. ун-та, 1975
11. Чибилев А.А. Экологическая оптимизация степных ландшафтов. АН СССР, Урал. отд-ние. - Свердловск: Ин-т экологии растений и животных, 1992. Дата обращения: 21.11.21 г. <https://www.activestudy.info/solodi-soloney-solonchaki/>
12. Экологический мониторинг: Учебно-методическое пособие. Изд. 3-е, испр. и доп. / Под ред. Т.Я. Ашихминой. М.: Академический Проект, 2006.



Рис 1. Развитие проростков на 4-е сутки (контроль)



1



2



3

Рис 2. Развитие проростков на 4-е сутки (1-№1, 2-№2, 3-№3)



1



2



3



4

Рис 3. Развитие проростков на 4-е сутки
(1-контроль, 2-№1, 3-№2, 4-№3)