

Анализ активности микроорганизмов почвы в пяти экосистемах

Лейтланд М,И.

Биология

7 «Ш» класс, МАОУ СОШ №17 г. Долгопрудный Московской области

Научный руководитель: Леонидова Татьяна Викторовна,

ФНЦ «ВИК им. В.Р.Вильямса» г. Лобня Московской области

Введение. В течении нескольких лет мой интерес к биологии набирает оборот. Начиная с простых наблюдений и сравнений, я перешёл к изучению и формированию выводов из полученной информации. Высаживая разные виды культур, исследуя несколько сортов, проводя наблюдения в разных условиях, делаешь для себя небольшие, но интересные открытия.

В этом году было принято решение поучаствовать в исследовательском проекте "ЗакопайЧай", запущенным Молодежной Лабораторией карбомониторинга наземных экосистем Института физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН. Проект нацелен на получение новых данных об активности микроорганизмов почв с различных уголков нашей страны с помощью чайных пакетиков. Исследовательский проект включает в себя метод чайных пакетиков "Tea Bag Index" предложенный группой европейских ученых, чтобы унифицировать и упростить оценку микробной активности почв в полевых условиях на больших территориях. Учёные предложили использовать два вида чая: зеленый (G) и фиточай-ройбуш (R) (в работе возможны либо обозначения чая, либо буквы). Они различаются по химическому составу и, следовательно, разлагаются микроорганизмами с разной скоростью.

В своей работе я представлю данные по изучению деятельности микроорганизмов в почве.

Цель работы: поиск новых данных активности микроорганизмов почв в различных экосистемах с помощью чайных пакетиков.

Задачи:

1. Изучить литературу по почвоведению и агрохимическому анализу почвы;
2. Взвесить и закопать чайные пакетики ройбуш ВкусВилл и зелёный чай Berton; по окончании опыта извлечь чайные пакетики из почвы, высушить и взвесить;
3. Определить гранулометрический состав почвы в домашних условиях;
4. Провести анализ почвы, сравнить результаты и сделать выводы.

Научная новизна: эксперимент уникален, так как основан на личных наблюдениях, выводах и позволяет отследить активность почвенного микробиома с помощью подручных средств. Разнообразие экосистем способствует охвату большей исследуемой территории. Возможность проведения исследования в два этапа (осенне-зимний сезон и весенне-летний сезон) позволяет детально отследить активность почвенных бактерий.

Практическое применение и значимость: полученные результаты исследования являются актуальными, поскольку почвенная микробиота мало изучена и каждое исследование увеличивает объём информации в этой сфере.

Методы исследований:

1) теоретический, 2) наблюдательный, 3) сравнительный, 4) экспериментальный.

Объект исследования: микробиота почвы в пяти экосистемах: сад (яблони, сливы), газон, огород (теплица), хвойный лес (ель), лиственный лес (берёза).

Предмет исследования: активность микроорганизмов почвы с помощью чайных пакетиков.

Место проведения работы: пять экосистем, находящиеся в городе Долгопрудный, микрорайон Шереметьевский.

Время проведения работы: ноябрь 2024 года - сентябрь 2025 года

Литературный обзор. Почва как среда обитания и продукт жизнедеятельности микроорганизмов представляет собой сложную систему, включающую разнообразные по физиологии виды, обеспечивающие биологический круговорот веществ, процессы формирования почв и их

устойчивость к природным и антропогенным факторам. Этим определяется теоретическое и прикладное значение экологических исследований микробных сообществ [1].

"Дыхание почвы" - процесс образования углекислого газа в результате разложения и окисления органического вещества почвенными микроорганизмами и корнями растений [2].

Вклад почвенной биоты по разным оценкам в её дыхание составляет по разным оценкам в среднем от 50 до 90% [3].

Некоторые особенности процесса газообмена:

1. Если газообмен между почвенным воздухом и атмосферой хороший, то вместо поглощённого кислорода почва выделяет в эквивалентном количестве CO₂. Чем хуже газообмен, тем меньше выделяется углекислого газа.

3. Введено понятие коэффициента дыхания — отношения выделившегося кислорода к поглощённому CO₂. У хорошо аэрируемых почв он приближается к единице, а у почв с плохим газообменом — значительно выше.

Интенсивность почвенного дыхания и выделения CO₂ зависит от свойств почвы, характера растительности, температуры и влажности, состава растительного покрова, содержания химических веществ.

Для изучения процесса почвенного дыхания и выделения CO₂ используются различные методы: диффузионные, камерные.

Метод чайных пакетиков связан с дыханием почвы, так как позволяет оценить скорость разложения органического вещества почвенными микроорганизмами. Суть метода: чайные пакетики сначала взвешивают, а затем закапывают в почву на определённое время (1 этап - 6 месяцев, 2 этап - 3 месяца). После этого пакетики извлекают, высушивают и повторно взвешивают. По разнице между исходной и конечной массой оценивают, сколько чая (органического вещества) в пакетике разложилось. Разлагая органические вещества, микробы выделяют углекислый газ — осуществляют так называемое микробное дыхание, — и служат одним из основных биогенных источников поступления парниковых газов в атмосферу. Уровень активности этих микробов

оказывает огромное влияние на плодородность грунта, характер захоронения в нем органических останков, его влажность и количество выделяемых парниковых газов, что заставляет учёных наблюдать за активностью почвенной микрофлоры [4].

Экспериментальная часть. Методика исследований

Чайные пакетики взвешивались в ФНЦ «ВИК им. В.Р.Вильямса» на аналитических весах (приложение 3).

В рамках исследования были выбраны пять разных экосистем: сад (яблони, сливы), газон, огород (теплица), хвойный лес (ель), лиственный лес (берёза). Эти экосистемы можно разделить на природные (естественные) и искусственные. Природные экосистемы возникают естественным образом без влияния человека. К ним относятся хвойный лес (ель) и лиственный лес (берёза). Искусственные системы создаются и поддерживаются людьми. Это экосистема сад (слива, яблоня), газон, огород (теплица). Выбранные экосистемы имеют свой гранулометрический (механический) состав и другие особенности, которые тесно связаны с активностью микроорганизмов и выделения ими углекислого газа.

Гранулометрический состав почвы был определён в домашних условиях. Для этого небольшое количество почвенного образца брали в ладонь, добавляли немного воды и полученную смесь пастообразной массы раскатывали в виде шнура диаметром 0,5-1,0 см. Далее соединяли концы шнура и определяли гранулометрический состав (таблица 4).

Для большей достоверности опыт проводился в двукратной повторности. Были выбраны по две площадки 1x1 м в каждой экосистеме. Площадки для опыта выбирались максимально «усреднённые», типичные, ничем не примечаемые. В каждой экосистеме закапывались по две связки чайных пакетиков. В одной связке было по два пакетика зелёного чая и два пакетика чая ройбуш. Всего в каждой экосистеме - две связки и по 4 пакетика зелёного чая, 4 пакетика чая ройбуш. Чайные пакетики помещались в почву на глубину 8 см, через определённое время пакетики были выкопаны из почвы, подсушены и отправлены в лабораторию в

ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса», где проводилось взвешивание и исследование почвы (приложение 3, 4).

Опыт проводился в два этапа – в разные сезоны года (приложение 1, 2). Это даёт более полно исследовать подвижность микроорганизмов в разные сезоны в условиях Подмосковья с выраженным сезонным климатом.

Первый этап: осенне-зимне-весенний сезон, начало этапа - 3 ноября и 9 ноября 2024 года, конец этапа – 4 мая 2025 года (6 месяцев).

Второй этап: летний сезон, начало этапа – 3 июня 2025 года, конец этапа – август 2025 года (три месяца). Этот даёт возможность оценить микробную активность почвенного микробиома в летний период.

Результаты исследований и математическая обработка данных

В первом этапе исследования после извлечения чайных пакетов были утеряны два чайных пакета. Это произошло в экосистеме газон, чайный пакет 25R (ройбуш) и в экосистеме лиственный лес (берёза), чайный пакет 40R (ройбуш). Это не сильно повлияет на опыт, так как было дополнительно взяты несколько образцов.

Извлечённые из почвы пакеты были высушены в сушильном шкафу в лабораторных условиях при температуре +60 С и взвешены мною на аналитических весах.

В таблице 2 представлены средние данные результатов в % уменьшения веса пакетиков.

Таблица 2

Средние показатели уменьшения веса пакетиков. 1 и 2 этапы

	Экосистема	1 этап	2 этап
		Уменьшение, %	
Зеленый чай G	Сад (яблоня, слива)	34,92	52,95
	Газон	32,45	60,93
	Огород (теплица)	25,01	58,40
	Хвойный лес (ель)	39,66	55,39
	Лиственный лес (береза)	16,32	48,47
	Сад (яблоня, слива)	13,05	24,44

Чай ройбуш R	Газон	20,64	29,28
	Огород (теплица)	17,85	31,10
	Хвойный лес (ель)	18,13	18,62
	Лиственный лес (береза)	9,19	12,67

В результате анализа таблицы было установлено, что активность микроорганизмов во втором этапе, т.е. в летнее время выше, чем в первом этапе (осень-зима-весна). Причина такого изменения связана с температурой и влажностью. Хотя зима 2024-2025 года была теплой, но температура все-равно ниже, чем летом.

Разложение пакетиков чая наблюдалось в течение всего времени нашего эксперимента, даже в осенне-зимние-весенние периоды. Это может быть связано с тем, что микроорганизмы активно разлагают растительные остатки, поступившие в почву осенью.

Если сравнивать по отдельности естественные и искусственные экосистемы, то максимальное разложение чая в природных экосистемах во все периоды проведения опыта было отмечено в хвойном лесу. Самое минимальное под березой. Это можно объяснить гранулометрическим составом почвы. В еловом – супесь, в березовом – тяжелосуглинистая.

В искусственные экосистемы наибольшее разложение зеленого чая было отмечено на участке, занятым газоном. Возможно, это связано с тем, что здесь наименьшее воздействие антропогенных факторов – внесения удобрений, частой перекопки почвы.

Была проведена компьютерная математическая обработка результатов взвешивания чайных пакетиков с использованием критериев Фишера и Стьюдента с помощью программы Stadia 8.0 по двум этапам эксперимента. Согласно проведенной математической обработки результатов взвешивания пакетиков чай ройбуш существенные отличия есть в экосистеме березовый лес как в 1, так и во 2 этапах по сравнению с другими экосистемами. В этом варианте самая низкая активность микроорганизмов.

Зеленый чай более интенсивно подвергается разложению под действием микроорганизмов, чем чай ройбуш. Для того чтобы понять, почему в почве

зелёный чай и ройбуш разлагаются по-разному, составили таблицу, в которой соберём информацию о различиях свойств двух видов чая (таблица 3).

Таблица 3

Различие свойств двух видов чая

	Красный африканский чай ройбуш	Зеленый чай
1.	Ферментированный (подвергается окислению)	Минимальная степень ферментации
2.	Производится из иголок и побегов Аспалатуса линейного (<i>Aspalathus linearis</i>), кустарникового растения	Производится из молодых, нежных верхних листочков Камелии китайской (<i>Camellia sinensis</i>)
3.	Содержит природные сахара	Не содержит природные сахара
4.	Не содержит кофеина	Содержит кофеин
5.	Имеет низкий уровень танинов (дубильные вв.) менее 5 %	Имеет средний уровень танинов 10-30%

Листья ройбуша содержат сложные органические вещества и сахара, поэтому разложение такого чая займёт больше времени, чем зелёного чая, у которого минимальная степень ферментации. Чай ройбуш изготовлен из более плотного растительного сырья, который разлагается дольше. Наличие кофеина в зеленом чае стимулирует микроорганизмы в почве, улучшает циркуляцию питательных веществ и воды к корням. Зелёный чай имеет значительное количество танинов, по сравнению с ройбушем. Дубильные вещества положительно влияют на разложение образцов и обогащение почвы органикой.

Таким образом, мы подтвердили, что зеленый чай разлагается быстрее, чем ройбуш.

В лабораторных условиях вместе с моим научным руководителем было проведено определение кислотности почвы в солевой вытяжке по ГОСТ 26483-85. На диаграмме 2 представлены результаты определения pH сол в почве и изменение веса пакетиков чая.

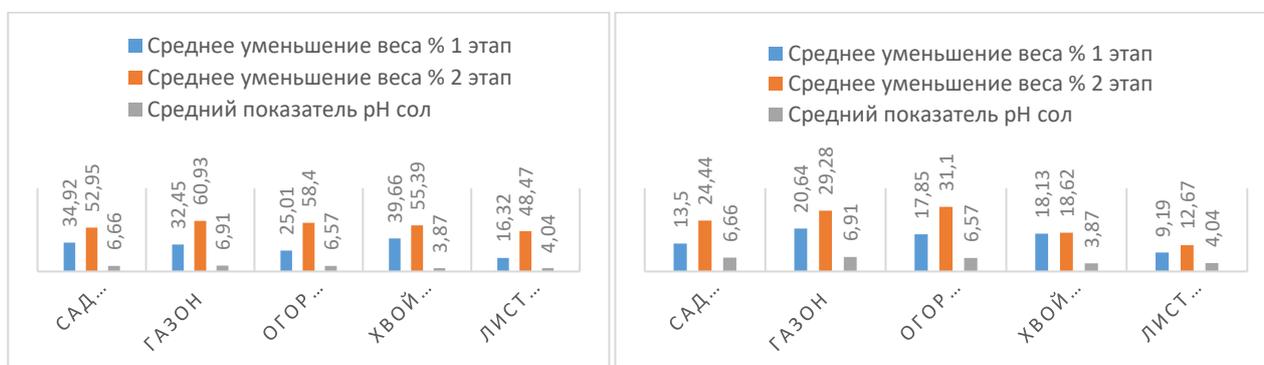


Диаграмма 2. Изменение веса пакетиков чая и pH сол зеленого и ройбуш

В результате исследований было установлено, что в саду, газоне и теплице, т.е. в искусственных экосистемах кислотность почвы нейтральная. На нейтральной или слабокислой почве лучше всего произрастает большая часть растений. В естественных экосистемах, в хвойном лесу (ель) и лиственном лесу (берёза) кислотность почвы очень сильноокислая.

В наших исследованиях четкой зависимости активности микроорганизмов от кислотности почвы мы не обнаружили.

Определение гумуса, азота фосфора и калия проводили в лаборатории аналитических методов исследований без моего участия. Эти данные были мне предоставлены для изучения. После их изучения мной были сделаны выводы (таблица 4).

Таблица 4

Агрохимический анализ почвы

Экосистема	рН сол	Гумус, %	N,%	P2O5	K2O	Гранулометрический состав
				Мг/кг почвы		
Сад	6,66	2,95	0,352	453,41	99,15	Легкий суглинок
Газон	6,91	3,63	0,321	465,50	176,5	Легкий суглинок
Теплица	6,57	6,80	0,643	806,21	158,5	Супесь
Хвойный лес	3,87	3,12	0,281	44,04	103,2	Супесь
Лиственный лес	4,04	1,46	0,199	23,86	72,3	Тяжелый суглинок

Наибольшее содержание элементов питания отмечено в теплице. Это связано с постоянным внесением удобрений.

Подводя к завершению исследовательскую работу, которая длилась более 9 месяцев, хочется отметить плюсы и минусы метода «чайных пакетиков». Для этого составим таблицу 5.

Таблица 5

Плюсы и минусы метода «чайных пакетиков»

плюсы	минусы
<ol style="list-style-type: none"> 1. Полевой способ не нуждается в профессиональном, дорогостоящем оборудовании. 2. Экологически чистый, органический метод. 3. Возможность детально исследовать почву на территории всей России любому волонтеру. 4. Метод дает возможность отделить дыхание микроорганизмов и корней растений т.к. разложение чайных пакетиков происходит с помощью микроорганизмов. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Метод не исключает возможности повреждения и потери опытных чайных пакетиков. 2. Метод не исключает возможности не полного очищения чайных пакетиков от остатков почвы и как следствие, неточностей в данных.

<p>5. Метод выявляет реальную активность микроорганизмов в разные сезоны.</p> <p>6. Метод может применяться регулярно для мониторинга состояния почв.</p>	
---	--

Выводы

1. Зелёный чай разлагается быстрее, чем ройбуш.
2. Максимальное разложение зелёного чая в природной экосистеме отмечено в хвойном лесу. Самое минимальное под берёзой.
3. В искусственных экосистемах наименьшее разложение зеленого чая в теплице. Очевидно, это связано с антропогенным влиянием – внесением удобрений, частой перекопкой почвы. В почвенных образцах, отобранных в этом варианте, отмечается большое содержание азота, фосфора, калия и гумуса.
4. Согласно проведенной математической обработке, наименьшая активность микроорганизмов, по сравнению с другими вариантами опыта, в течение всего периода проведения эксперимента была отмечена в экосистеме «березовый лес».
5. На активность микроорганизмов влияют такие факторы, как температура, влажность почвы, гранулометрический состав почвы, вид экосистемы и антропогенное влияние.
7. Метод с чайными пакетиками является простым индикатором экологического состояния почвы, но он не идеален.

Литература

1. Круглов Ю.В. Микробное сообщество почвы: физиологическое разнообразие и методы исследования// Сельскохозяйственная биология. 2016, том 51, ¹ 1, с. 46-59
 2. Агрехимия/ Под ред. Б.А. Ягодина. - М.: Колос, 2002. - 584 с.: ил. (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений).
- Семенченко А. А. Дыхательная активность песчаных субстратов в северной тайге западной Сибири// Выпускная квалификационная работа (магистерская диссертация.05.04.06 Экология и природопользование) г.Тюмень. 2021. 84 с.

3. Апарин Б.Ф./Почвоведение: учебник для образоват. учреждений сред. проф. образования. - М.: Издательский центр «Академия», 2012. - 256 с., [16] с. цв. ил.:ил.: ил. ISBN 978-57695-7259-3.

4. ГОСТ 26483-85. Почвы. Приготовление солевой вытяжки и определение её pH по методу ЦИНАО.

Приложение



Приложение 1. Взвешивание пакетиков в лабораторных условиях



Приложение 2. Закапывание чайных пакетиков в почву



Приложение 3. Выкапывание чайных пакетиков



Приложение 4. Определение кислотности почвы в лабораторных условиях