

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
ПОД ДЕЙСТВИЕМ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА БАЙКАЛ-ЭМ-1 В
УСЛОВИЯХ ГЕРБИЦИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студенки 4 курса 422 группы

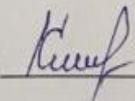
Направления подготовки 06.03.01 Биология

Биологического факультета

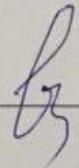
Храмовой Дианы Дмитриевны

Научный руководитель

доцент кафедры микробиологии

и физиологии растений, к.б.н., доцент  О.Ю. Ксенофонтова

Зав. кафедрой микробиологии

и физиологии растений, д.б.н., профессор  С.А. Степанов

Саратов 2018

ВВЕДЕНИЕ

В сельском хозяйстве распространены различные средства защиты растений- пестициды.

К сожалению, данные средства имеют химический состав, это негативно влияет не только на мишени их воздействия, но и отражается на плодородии почв и качестве самих культур.

Сложившиеся проблемы могут решить биопрепараты на основе полезных для растительности естественных почвенных микроорганизмов, например, таких как азотофиксаторы. Они связывают атмосферный азот и поставляют его сельскохозяйственным культурам в виде легко усвояемых форм.

Однако, эффективность применения биоудобрений в загрязненной пестицидами почве может снижаться из-за их ингибирующего действия. Систематическое применение одних и тех же химических препаратов, нередко приводит к накоплению токсичных веществ в почве, что пагубно сказывается на микробиоте и на почвенном плодородии.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы являлось изучение динамики численности почвенных микроорганизмов под действием бактериального препарата Байкал-ЭМ-1 в условиях гербицидного загрязнения.

Для достижения указанной цели были определены следующие задачи.

1. Изучить жизнеспособность микроорганизмов, содержащихся в биопрепарате в почве и в условиях конкуренции с аборигенной микрофлорой;
2. Определить динамику численности микроорганизмов биопрепарата «Байкал-1ЭМ» в почве, загрязненной гербицидом «Ураган»;
3. Выявить влияние растений на динамику численности микроорганизмов почве после внесения биопрепарата «Байкал-1-ЭМ» и гербицида «Ураган».

Материалы исследования. В качестве объектов исследования использовались: почва, бактериальный препарат «Байкал-Эм-1» и гербицид «Ураган».

Почва с экспериментальных полей НИИ «Юго-Востока» (г.Саратов) типа Южный чернозём.

Байкал ЭМ-1 - микробиологическое удобрение, IV класс опасности, предназначенное для улучшения плодородия почвы [1].

Ураган – это эффективный неселективный гербицид широкого спектра действия [2].

Структура бакалаврской работы. Диплом изложен на 43 страницах и содержит такие структурные элементы: Содержание, Введение, Основная часть, Заключение, Выводы и Список использованных источников. В свою очередь основная часть содержит такие главы:

1. Биопрепараты, пестициды и их использование в сельском хозяйстве, в которой рассматривались микроорганизмы, входящие в состав биопрепаратов, их достоинства и недостатки, применение биоудобрений в загрязнённой пестицидами почве, характеристика пестицидов.

2. Материалы и методы исследований, в которой рассматривались объекты и методы исследований.

3. Результаты исследований, в которых определяется динамика микроорганизмов биопрепарата в стерильной почве, условиях конкуренции и при моделировании гербицидного загрязнения. Так же изучается влияние растений на численность микроорганизмов.

Научная новизна. Динамика численности почвенной микрофлоры под действием бактериального препарата «Байкал-Эм-1» в условиях загрязнения гербицидом «Ураган» ранее не изучена.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Отбор проб почвы и подготовка к эксперименту. Для исследований использовали почву с экспериментальных полей НИИ «Юго-Востока» (г.Саратов), массой 2400 г почвы типа южный чернозем. Отбор проб почв проводили по стандартной методике (ГОСТ 17.4.4.02-84). В лаборатории материал подвергали очистке, делили на 12 проб и помещали в 6 герметичных контейнеров из пластика по 200г в каждый отсек. Для получения стерильной почвы, пробы стерилизовали в автоклаве при 1 атм в течении 20 мин. В один из двух отсеков каждого контейнера засеивали по 100 зерновок пшеницы сорта «Саратовская 36» для определения влияния растительности на микрофлору почвы.

Внесение пестицида и биопрепарата в почву. Бактериальный препарат и гербицид разводили в дистиллированной воде до необходимой концентрации. Объем полученных растворов был равным для соблюдения одинакового увлажнения всех проб

Выделение почвенных микроорганизмов. Выделение почвенных микроорганизмов проводили методом серийных разведений с последующим

Высев почвенных проб для учета численности микроорганизмов проводили на 1, 11, 21 и 60 – е сутки.

Исследования почвенных проб были направлены на определение численности аммонифицирующих, целлюлозоразрушающих, азотфиксирующих, амилолитических бактерий и грибов, так как именно эти группы обеспечивают самоочищающую способность почвы и участвуют в почвообразовательных процессах [5].

Аммонифицирующие бактерии выявляли на ГРМ-агаре, азотфиксирующие бактерии на среде Эшби, аэробные целлюлозоразрушающие бактерии учитывали на плотной питательной среде Хетчинсона и Клейтона,

амилолитические бактерии на крахмалло-аммиачном агаре, грибы на среде Сабуро [6].

Культивирование осуществляли в термостате при 28 °С. После инкубации посевов проводили количественный учет выросших колоний и определяли количество колониобразующих единиц (КОЕ) в 1 г почвы. Динамику численности микроорганизмов рассчитывали в процентах по отношению к контролю, принятому за 100 %. За контроль была принята численность микроорганизмов в нетронутой (исходной) почве.

Определяли pH среды экспериментальной почвы на электродном pH-метре

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием пакетов прикладных программ «Statistica 8.0 for Windows».

Изучение динамики численности микроорганизмов в почве, содержащей биопрепарат «Байкал –ЭМ-1». В нашей работе мы намеренно использовали препарат с истекающим сроком годности с целью изучения активности микроорганизмов, входящих в его состав, после 1 года хранения. Для изучения жизнеспособность микроорганизмов биопрепарата мы использовали стерильную почву, которая подвергли стерилизации в автоклаве для снижения численности автохтонной микрофлоры. Присутствие в почве автохтонной микрофлоры является естественным барьером для размножения интродуцентов. В связи с этим, мы изучили численность микроорганизмов в стерильной и нестерильной почвах после внесения биопрепарата «Байкал-ЭМ-1». Полученные данные представлены на рисунках 1 и 2.

Изучение численности основных агроценных групп микроорганизмов в стерильной почве показало увеличение их количества почти в 10 раз в первые дни после внесения биопрепарата(рисунок 1). Это говорит о высокой жизнеспособности бактерий после 1 года хранения биопрепарата. Такая

биологическая активность почвы сохранялась почти 20 дней, затем численность изучаемых микроорганизмов постепенно снижалась.

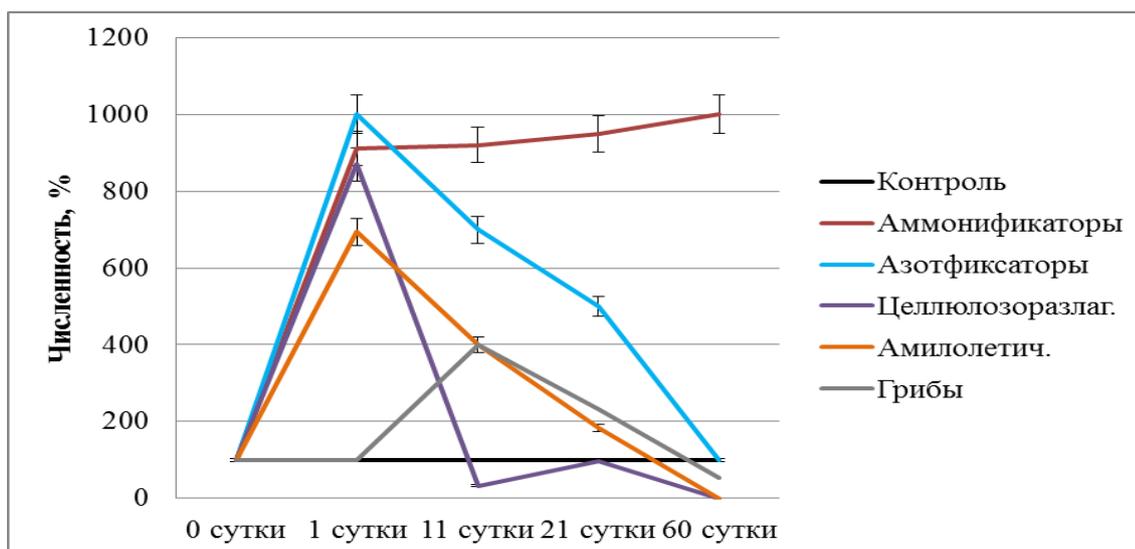


Рисунок 1- Численность микроорганизмов в стерильной почве, содержащей биопрепарат «Байкал –ЭМ-1»

Присутствие в почве аборигенной микрофлоры не оказывало ингибирующего влияния на численность интродуцентов (рисунок 2). Количество азотфиксирующих, целлюлозоразрушающих, аммонифицирующих и амилолитических бактерий было на том же уровне, что и в стерильной почве и превышала контроль в 10 раз. Следовательно, бактерии биопрепарата хорошо приживаются в почве и выдерживают конкуренцию за питательный субстрат.

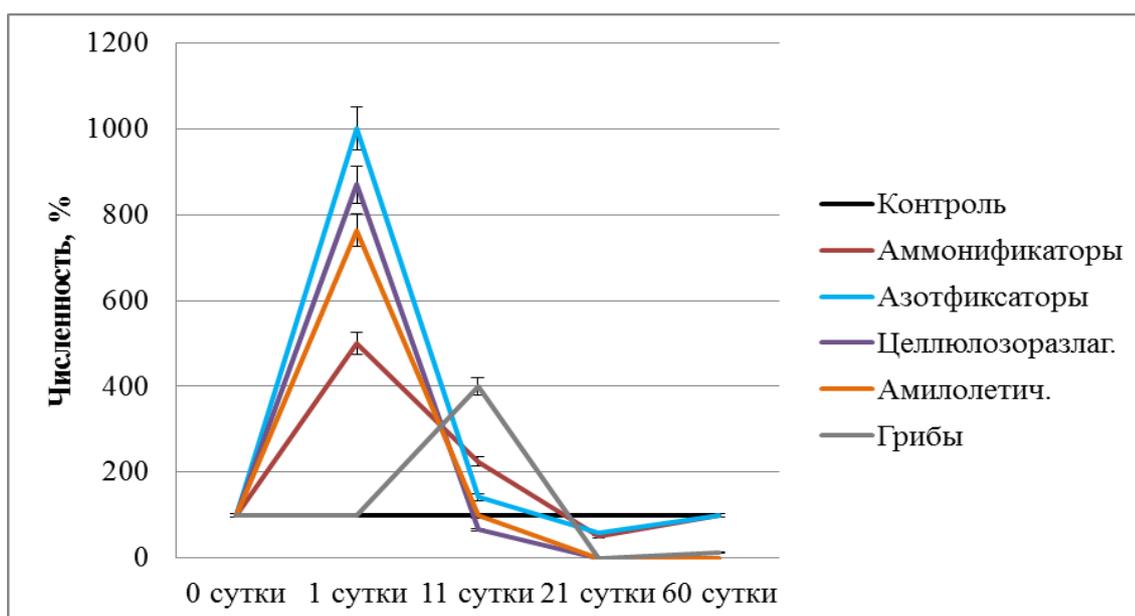


Рисунок 2 - Численность микроорганизмов в исходной почве, содержащей биопрепарат «Байкал –ЭМ-1»

Изучение динамики численности микроорганизмов в почве, содержащей биопрепарат и гербицид. Так как в предыдущих экспериментах при внесении биопрепарата выявлен резкий подъем биологической активности почвенных микроорганизмов, было интересно посмотреть, сохраняется ли активность микрофлоры в условиях пестицидного загрязнения почвы. Для этого мы изучили численность аналогичных групп микроорганизмов в почве, содержащей гербицид «Ураган». Для создания высокого пестицидного загрязнения, гербицид вносили в концентрации, в 100 раз превышающую допустимую (100 ПДК, 50 мг/кг). Полученные результаты представлены на рисунках 3 и 4.

Анализ динамики численности микроорганизмов биопрепарата, показал, что высокую жизнеспособность в загрязненной почве из интродуцентов проявили только аммонификаторы. Видимо, они оказались устойчивы к токсическому действию гербицида, а он в свою очередь явился для них дополнительным органическим субстратом. Остальные группы оказались чувствительны к гербициду. Можно предположить, что это было вызвано снижением pH почвенного раствора. Так же, возможно, в результате активной жизнедеятельности аммонификаторов к 11 суткам эксперимента произошло снижение токсического действия пестицида, что привело к активации микромицетов, азотфиксирующих и амилолитических бактерий (рисунок 3).

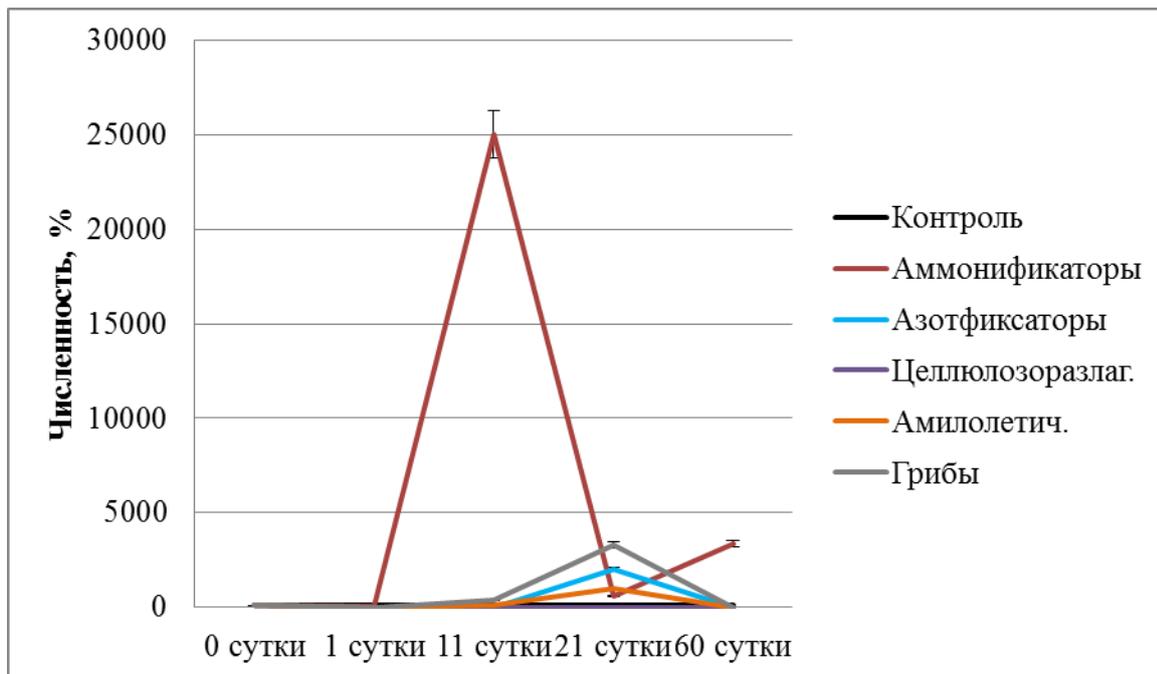


Рисунок 3 - Численность микроорганизмов в стерильной почве, содержащей биопрепарат и гербицид

Сравнительная оценка численности интродуцированных микроорганизмов в условиях пестицидного загрязнения и конкуренции показала, что биологическая активность биопрепарата сохраняется и в почве, где присутствовали аборигенные микроорганизмы (рисунок 4). Интродуцированные бактерии совместно с аборигенными быстро адаптировались к пестицидному загрязнению. Доминирующей популяцией в данных условиях явились микромицеты, особенно дрожжеподобные грибы, численность которых на 11 сутки эксперимента выросла в 40 раз по сравнению с контролем. Видимо, это связано с изменением рН среды, которое сдвигается в кислую сторону при внесении гербицида. А грибы, как известно, устойчивы к пониженным значениям рН. Высокие темпы размножения, были выявлены у аммонифицирующих и амилолитических бактерий. Остальные группы микроорганизмов не значительно превышали контрольные значения аналогичных групп в исходной почве.

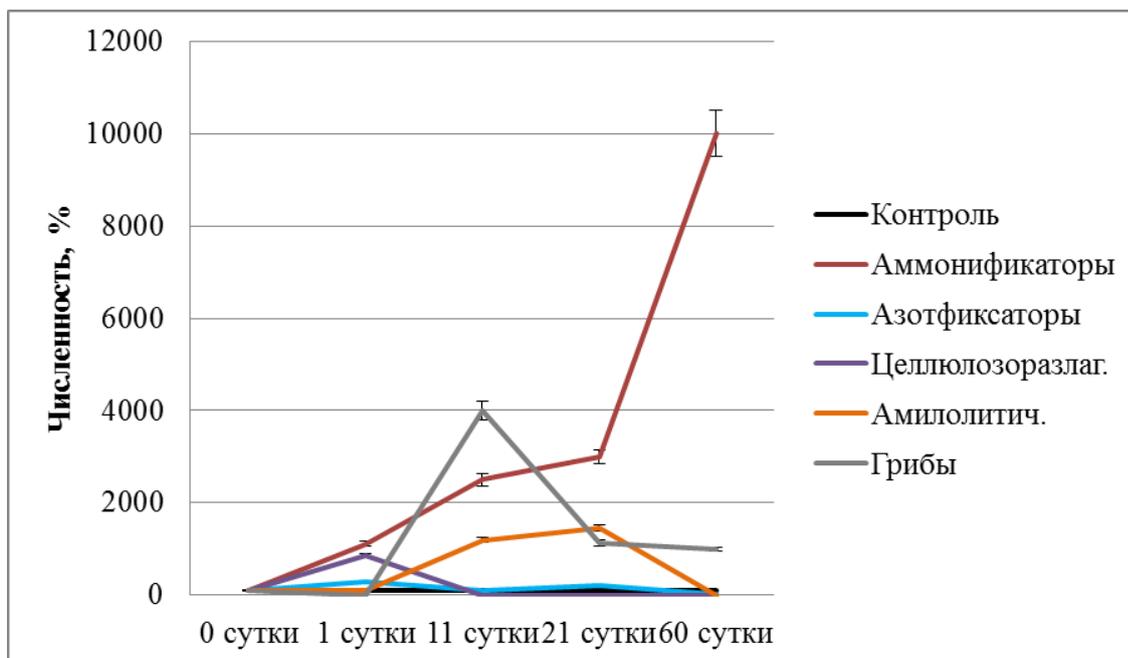


Рисунок 4 - Численность микроорганизмов в исходной почве, содержащей биопрепарат и гербицид

Изучение динамики численности микроорганизмов в почве, содержащей биопрепарат, гербицид и проростки пшеницы. Экспериментально доказано, что растения стимулируют рост и развитие почвенных микроорганизмов. В связи с этим, нам было интересно изучить биологическую активность почвы после внесения биопрепарата в условиях пестицидного загрязнения и культивирования растений пшеницы. Полученные данные представлены на рисунках 5 и 6.

Как видно на рисунке 5 численность аммонифицирующих микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата в присутствии проростков пшеницы на 11 сутки была выше в 10 раз (рисунок 5) по сравнению со значениями данной группы в таких же условиях, но без растений (рисунок 3). На остальные группы микроорганизмов присутствие растений оказывало слабое стимулирующее влияние.

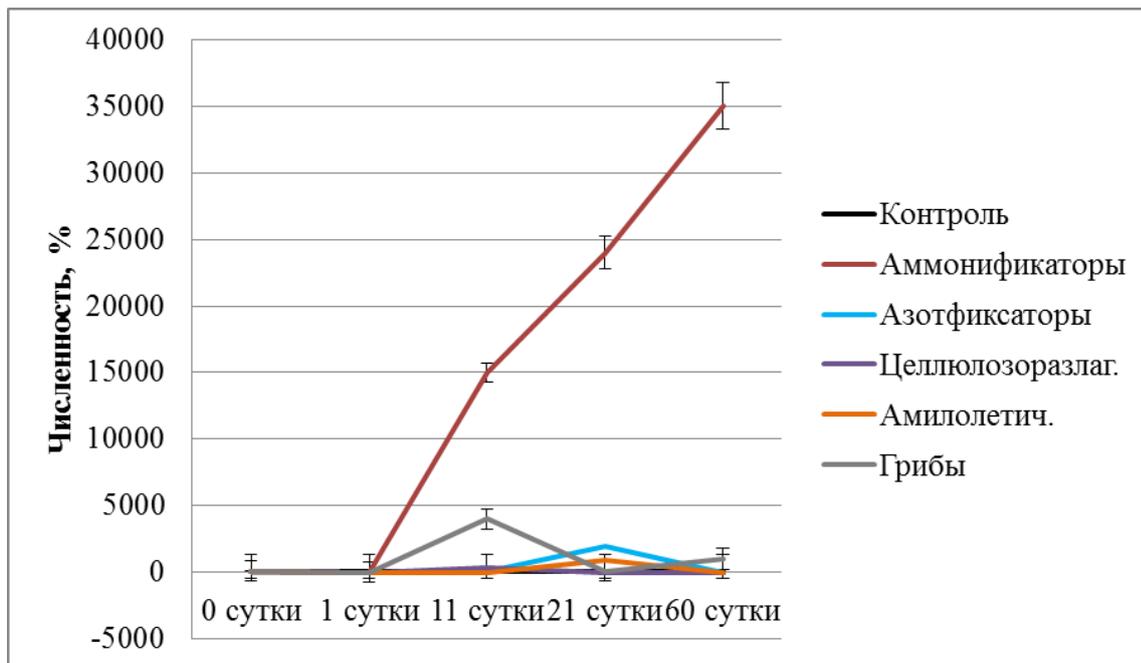


Рисунок 5 - Численность микроорганизмов в стерильной почве, содержащей биопрепарат, гербицид и проростки пшеницы

Изучение влияния растений на интродуцированные микроорганизмы биопрепарата в условиях гербицидного загрязнения и конкуренции с аборигенными микроорганизмами (рисунок 6) показало, что в данных условиях аммонификаторы, так же как и в предыдущем эксперименте, занимали доминирующее положение, но их количество было в 2 раза меньше чем вне конкуренции (рисунок 5), но выше в 8 раз, чем без растений (рисунок 4). Следовательно, растения, повышают биологическую активность интродуцированных и автохтонных микроорганизмов даже в загрязненной гербицидом почве.

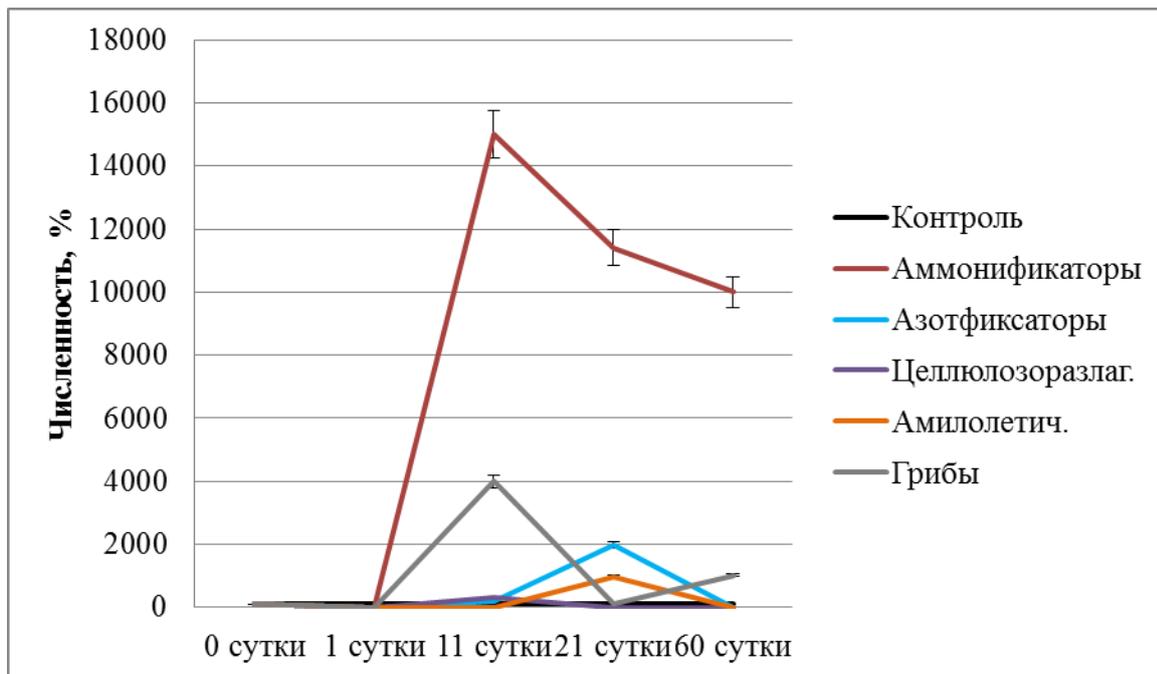


Рисунок 6 - Численность микроорганизмов в исходной почве, содержащей биопрепарат, гербицид и проростки пшеницы

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение численности основных агроценных групп микроорганизмов в стерильной почве показало увеличение их количества почти в 10 раз в первые дни после внесения биопрепарата. Это говорит о высокой жизнеспособности бактерий после 1 года хранения биопрепарата.

Присутствие в почве аборигенной микрофлоры не оказывало ингибирующего влияния на численность интродуцентов. Следовательно, бактерии биопрепарата хорошо приживаются в почве и выдерживают конкуренцию за питательный субстрат.

Анализ динамики численности микроорганизмов, содержащихся в биопрепарате, в условиях гербицидного загрязнения показал, что азотфиксирующие, амилитические и целлюлозоразрушающие бактерии чувствительны к гербициду. А аммонификаторы наоборот проявляют высокую жизнеспособность. Видимо, они оказались устойчивы к токсическому действию гербицида, а он в свою очередь явился для них дополнительным органическим субстратом.

Оценка численности интродуцированных микроорганизмов в условиях пестицидного загрязнения и конкуренции показала, что их биологическая активность несколько ниже, чем без присутствия автохтонной микрофлоры. Однако, численность всех почвенных микроорганизмов была выше чем в почве, в которую биопрепарат и гербицид не вносили. Следовательно, внесение биопрепарата даже в загрязненную гербицидом почву, стимулирует биологическую активность почвы

Изучение влияния растений на интродуцированные микроорганизмы биопрепарата в условиях гербицидного загрязнения и конкуренции с аборигенными микроорганизмами показало, что в данных условиях аммонификаторы, так же как и в предыдущем эксперименте, занимали доминирующее положение, но их количество было в 2 раза меньше чем вне конкуренции, но выше в 8 раз, чем без растений. Следовательно, растения,

повышают биологическую активность интродуцированных и автохтонных микроорганизмов даже в загрязненной гербицидом почве.

Таким образом, анализ полученных данных показал, внесение биопрепарата повышает биологическую активность почвы даже в условиях пестицидного загрязнения. Присутствие растений в данных условиях, увеличивает стимулирующую способность биопрепарата и увеличивает численность аммонифицирующих бактерий.

ВЫВОДЫ

1. Внесение биопрепарата «Байкал-ЭМ-1» в рекомендованной дозе в течение 10 дней увеличивает численность азотфиксирующих бактерий в 10 раз, аммонифицирующих и целлюлозоразрушающих бактерий в 9 раз, амилалитических бактерий – в 7 раз, а микромицетов - в 4 раза. В условиях конкуренции с автохтонной микрофлорой численность этих групп микроорганизмов немного снижается, но остается довольно высокой.

2. Микроорганизмы биопрепарата «Байкал-ЭМ-1» в условиях гербицидного загрязнения менее активны, по сравнению с автохтонными микроорганизмами. Среди интродуцированных с биопрепаратом микроорганизмов только аммонифицирующие бактерии активно размножались, увеличивая свою численность в 25 раз. Количество интродуцированных микроскопических грибов, азотфиксирующих и амилалитических бактерий увеличивалось в 2-4 раза только на 20 сутки.

3. Присутствие растений в условиях гербицидного загрязнения почвы в 10 раз увеличивает стимулирующее влияние как на интродуцированные, так и на автохтонные микроорганизмы. Доминирующее положение среди всех изученных групп в данных условиях занимают аммонифицирующие микроорганизмы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Юркевич, М.Г. Воспроизводство почвенного плодородия пахотных земель при применении биоудобрений / М.Г. Юркевич, З.П. Котова // Современные проблемы и стратегия развития аграрной науки Европейского Севера России: сб. статей. 2015. С. 71-74
2. Пименова, Е.В. Оценка микробной детоксикации гербицида Торнадо на основе глифосата методом фитотетирования / Е. В. Пименова, Г. А. Козлова, М. В.Буркова. // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Химическая технология и биотехнология. 2011год. С. 160-163
3. Долженко, О. А. Применение гербицидов на основе глифосата в посадках картофеля / О. А. Долженко, Ш.Б. Байрамбеков // Сельское и лесное хозяйство. Т. 1, №3. С. 90-93
4. Егоров, Н. С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии/ Егоров Н. С. // Москва:Изд-во МГУ, 1995. – 222 с.
5. Звягинцев, Д.Г. Биология почв/ Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. // Москва:Изд-во МГУ, 2005. – 445 с.
6. Нетрусов, А.И. Большой практикум по микробиологии /Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Учеб.пособие для студ. высш. учеб. заведений Москва: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.

