

Ханты-Мансийский автономный округ — Югра  
Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение гимназия г. Советский

## **Проект Исследование почвы**

*Выполнили:* Жепская М. Б. учитель химии и биологии  
Виноградская Элина, ученица 9б класса;  
Гарагуль Антон, ученик 9б класса;  
Дорошева Татьяна, ученица 11а класса;  
Жепская Виктория, ученица 6в класса;  
Мирзезаде Зехра, ученица 9б класса;  
Тынянов Максим, ученик 9б класса.

г. Советский  
2022 г.

## Оглавление.

### Оглавление

Оглавление. ....	2
Введение. ....	3
Таблица 1. Цели и задачи проекта. ....	4
Описание проекта. ....	5
Проект выполняют: ....	5
План реализации проекта. ....	5
Реализация проекта. ....	6
Сбор почвенных образцов. ....	6
Таблица 2. Информация об участках. ....	6
Подготовка образцов для исследований. ....	7
Изучение механического состава почвы. ....	8
Изучение химического состава почв. ....	8
Таблица 3. Качественные реакции на неорганические ионы. ....	8
Таблица 4. Качественные реакции на органические вещества. ....	9
Изучение биологического состава почвы. ....	10
Изучение дыхания почвы. ....	10
Заключение. ....	11
Список используемой литературы. ....	12
Приложение. ....	13
Приложение 1. Методика работы с почвенными разрезами. ....	13
Приложение 2. Методика отбора проб почвы. ....	14
Приложение 3. Исследование механического состава почвы. ....	16
Таблица 5. Механический состав почвы. ....	16
Приложение 4. Определение Кислотности среды почвенной вытяжки. ....	17
Инструкция по определению pH почвенной вытяжки: ....	17
Приложение 5. Посев и наблюдение за ростом колоний бактерий <i>Azotobacter</i> . ....	18
Подготовительный этап: ....	18
Приготовление вспомогательного раствора: ....	18
Приготовление среды Эшби (200 мл): ....	18
Подготовка почвы для анализа: ....	19
Посев: ....	19
Наблюдаемые эффекты: ....	20
Описание результатов: ....	21

## Введение.

Получать знания полезно и важно. Но получать знания можно по-разному. Можно изучать множество книг о мире вокруг тебя и делать выводы исходя из фактов указанным в книгах, которые ты прочитал. Можно получать знания эмпирически — верить и делать выводы исключительно тем фактам, которые наблюдаешь сам. Можно в разной степени совмещать эти варианты. В наше время легко доступной информации, которая при этом еще и не всегда достоверна, идеальным вариантом становится как раз совмещение этих подходов — когда знания, полученные из книг, можно подтвердить и углубить проведением собственных исследований. Поэтому, когда Фонд поддержки проектов в области образования Новосибирской области предоставил нашей школе возможность провести проект по исследованию почвы я, не раздумывая, согласилась участвовать в нем.

Исследования сами по себе представляют интерес для меня, так как для меня это первый такой проект, и он позволил мне под руководством Фонда освоить основные методы ведения исследовательского проекта, учитывая его специфику. Мои ученики, участвовавшие в проекте, получили умения работы в исследовательских проектах, понимание важности работы по изучению почвы, а также понимание важности и хрупкости самой почвы. Для Фонда поддержки проектов в сфере образования данный проект позволил впервые в России провести масштабные исследования почв и составить почвенный атлас микроорганизмов. Также исследования представляют интерес для пользователей почвы, ведь в ходе изучения мы получаем информацию о химических и биологических особенностях почвы, что важно при ее сельскохозяйственном использовании.

Данный проект все еще в процессе выполнения. В связи с ситуацией с коронавирусом и периодическими карантинами как всей школы в целом, так и отдельных классов в частности, работа над проектом в какое-то время замерла и ее выполнение возобновилось лишь недавно. В результате на данный момент времени не все этапы проекта выполнены в полном объеме, часть исследований еще не начата, но будет проведена в ближайшее время. Поэтому в ходе описания работы в какой-то момент я начну говорить лишь о предполагаемых результатах и мои описания станут теоретическими.

Следует также учесть, что данная работа предполагает наличие оборудования, которое не присутствует в школьных лабораториях химии и физики. Поэтому данная работа является лишь школьным проектом по изучению почвы с ограничениями. К примеру, мы не можем с точностью определить химический состав почвы, можем лишь определить наличие некоторых соединений. Также точность нашей работы целиком и полностью зависит от количества данных веществ в почвенном растворе — работать с сухой почвой для определения ее химического состава мы не можем. В случае, если количество веществ недостаточно для химической реакции, нашим результатом будет полное отсутствие данных веществ.

При работе с биологическими объектами в почве следует учитывать, что сбор почв был проведен позже оптимального времени. Так, к примеру, благоприятным временем для сбора почв является время, когда температура воздуха составляет не менее +5 градусов по Цельсию. Мы собирали образцы почв при температуре -5 градусов по Цельсию, что могло сказаться как на химическом составе почвы, в меньшей степени, так и на ее биологическом многообразии, в большей степени. Также мы не смогли как следует изучить состав растительного сообщества, располагающегося на данной почве. А значит часть выводов потеряны для нас, так как знание о растениях, вырастающих в почве, могут дать объяснение ее механическому, химическому и биологическому составу.

Основные цели проекта я решила представить небольшой таблицей (Таблица 1), в которой также укажу и основные методы достижения каждой цели.

Таблица 1. Цели и задачи проекта.

№	Наименование цели	Наименование задачи	Методы достижения	Критерии достижения
1	Изучение механического состава почвы для лучшего понимания процессов, происходящих в почве.	Согласно методике определения механического состава почвы определить тип почвы	Методика определения механического состава почвы	Определен механический состав почвы и ее тип
2	Изучение химического состава почвы для лучшего понимания процессов разложения органических остатков и питания растений.	<ol style="list-style-type: none"> <li>Используя качественные реакции определить преобладающие неорганические соединения: нитраты, фосфаты, карбонаты и т. Д</li> <li>Используя качественные реакции определить преобладающие органические соединения: спирты, фенолы, органические кислоты, белки, жиры и т. Д</li> <li>Определение кислотности почвы</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Определение состава смеси используя качественные реакции различных элементов и соединений.</li> <li>Определение кислотности почвы специальным оборудованием (индикатор, датчик кислотности)</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Определено наличие или отсутствие соединений по списку.</li> <li>Определена кислотность почвы: относительная (при использовании индикаторов) или численная (при использовании датчика кислотности)</li> </ol>
3	Изучение биологического состава почвы для лучшего понимания процессов, происходящих в почве и понимания процесса дыхания почв.	<ol style="list-style-type: none"> <li>Определение наличия азотофиксирующих бактерий.</li> <li>Определение наличия отличной от азотофиксирующих бактерий.</li> <li>Определение видового состава микрофлоры и фауны.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Посев и наблюдение за ростом микроорганизмов</li> <li>Микроскопическое исследование организмов.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Определено наличие/отсутствие микроорганизмов</li> <li>Определен видовой состав микроорганизмов (в случае наличия таковых)</li> </ol>
4	Изучение дыхания почвы для понимания особенностей понимания важности почвы при формировании экосистемы.	Подтвердить дыхание почвы и критерии, при которых оно осуществимо	Измерение количества и соотношения кислорода и углекислого газа в атмосфере над почвой в закрытой таре	<ol style="list-style-type: none"> <li>Записи измерения содержания кислорода</li> <li>Записи измерения содержания углекислого газа</li> <li>Список действий, которые привели к исчезновению почвенного дыхания.</li> </ol>
5	Предоставление образцов для составления «Атласа почвенных микроорганизмов».	Отправка образцов в Фонд поддержки проектов в области образования, для дальнейшего изучения	—	Почвы отправлены. Получено подтверждение от Фонда развития образования

## Описание проекта

Проект представляет собой комплексное исследование почвы: ее механического, химического и биологического состава. Результатом проекта является предоставление данных Фонду развития образования в специальной форме, а также предоставление почвенных образцов для дальнейших исследований.

### Проект выполняют:

- Жепская Мария Борисовна, куратор проекта, учитель химии и биологии;
- Виноградская Элина, ученица 9б класса;
- Гарагуль Антон, ученик 9б класса;
- Дорошева Татьяна, ученица 11а класса;
- Жепская Виктория, ученица 6в класса;
- Мирзезаде Зехра, ученица 9б класса;
- Тынянов Максим, ученик 9б класса.

Так как группа имеет разноуровневые знания в области биологии и химии, часть занятий по проекту посвящена повторению и изучению материала, на основании которого выполняется проект. Это позволяет повторить и углубить знания по данному направлению, а также освежить в памяти те данные, которые необходимы при работе над проектом. При повторении используется принцип наставничества, то есть старшие помогают младшим в освоении материала.

К знаниям необходимым при проведении проекта относятся:

1. Строение почвы, значение почвенных горизонтов, причины образования почвенных горизонтов.
2. Понятие о процессах, происходящих в почве: дыхание почвы, гниение, питание растений.
3. Понятие химического вещества, химической реакции.
4. Понятие неорганического и органического вещества, их различия.
5. Понятие о качественных химических реакциях, знание качественных реакция для основных групп веществ.
6. Понятие кислотности, умение определять кислотность раствора.
7. Понятие об экосистеме, растительных сообществах, связях в сообществах.
8. Понятие о микроорганизмах и их роли в природе.
9. Умение работать с химическим оборудованием.
10. Знание правил техники безопасности при работе с химическим и биологическим оборудованием.
11. Умение работать с микроскопом
12. Умение создавать микропрепараты для работы с микроскопом.

В ходе проекта мы должны придерживаться определенного плана исследований, для лучшего понимания способов дальнейшего исследования.

### План реализации проекта

1. Сбор почвенных образцов
2. Подготовка образцов для исследования
3. Изучение механического состава почвы
4. Изучение химического состава почвы
5. Изучение биологического состава почвы.
6. Изучение дыхания почвы

Для проекта используется большое количество методик, адаптированных под школьные условия. Часть используемых методик являются полностью функционирующими и не подвергшимися изменениям. Большинство методик предоставлены Фондом развития образования Новосибирской области в ходе реализации проекта «Всероссийский атлас микроорганизмов».

## Реализация проекта

### Сбор почвенных образцов.

Образцы почвы мы собирали примерно за месяц до начала исследований, так как в более поздние сроки сбор был бы проблематичным — к началу проведения проекта выпал снег. Согласно методике сбора образцов мы создали почвенный разрез (рис 1, рис 2.)



Рисунок 1. Почвенный разрез образца 0861 с расстояния 0,5 м.



Рисунок 2. Почвенный разрез образца 0861 вблизи.

Данные разрезы относятся к категории поверхностных, так как в нашей местности гумусовый горизонт почв не большой и составляет не более 0,5 метров. Также такая глубина почвенного разреза обусловлена заморозками в период начала подготовки к проекту.

В результате было собрано два образца почвы, с каждым из которых работала несколько учеников. Перед подготовкой почвенного разреза было проведено исследование близлежащей территории. Полученные результаты приведены в Таблице 2.

Таблица 2. Информация об участках

Номер образца	0861	0862
Дата забора образца	28.10.2021	30.10.2021
Глубина забора образца от поверхности земли	15.00 см	20.00 см
Интересные наблюдения	Почва была взята уже после того, как выпал снег и земля пролежала под снегом около недели	Почва была взята уже после того, как выпал снег и земля пролежала под снегом около недели
Горизонт	A0 подстилка	A1 гумусовый горизонт
Координаты места забора образца	61° 22' 8.2092", 63° 31' 8.022"	61° 22' 34.7916", 63° 30' 12.1716"
<b>Детали участка</b>		
Текущее использование земли	Смешанные лиственные и хвойные породы	Усадьбы
Растительность	Иван-чай, Ель, Шиповник, Береза, Пырей	нет
Фауна	кошки, собаки, куры	нет
История использования земельного участка	На земле долгое время лежал навоз и куча дров. Потом и то и другое	5 лет назад участок занимал лес. Его вырубил и на участке был построен дом. После этого в течение 2-х лет участок не



	убрали, все засыпали песком.	использовался никаким образом. Последние 2 года участок обрабатывается, на нем выращивали картофель.
Метод определения истории	Рассказ очевидца	рассказ очевидца
Севооборот	×	×
Обработка почвы	нет	да
Пожары	×	×
Затопления	×	×
<b>Данные окружения</b>		
Средняя годовая температура	3.30С	3.30С
Средний годовой объем осадков	565.00мм	565.00мм
<b>Детали образца</b>		
рН почвы	0,01	0,01
Метод определения рН	индикатор (лакмус)	

### *Подготовка образцов для исследований*

Почва была механически измельчена и высушена в комнате с низкой влажности без использования нагревательных элементов (печей, духовок и т. д.)



После сбора почвы она была обработана по специальной методике сохранения для того, чтобы в будущем можно было ее изучать. Методика предоставлена Фондом развития образования.

### *Изучение механического состава почвы.*

Следующим нашим шагом стало определение механического состава почвы. В результате проведенных исследований было определено, что оба образца относятся к среднесуглинистому типу почв.



Рисунок 3. Результат исследования образца 0862



Рисунок 4. Результат исследования образца 0861

Это говорит нам о том, что в нашей почве преобладают глинистые структуры, а значит она хорошо задерживает воду. Это объясняет наличие большого количества болот в нашей местности. Также, это говорит нам о том, что обильный ежедневный полив при наших почвах не нужен.

### *Изучение химического состава почв.*

Эта часть работы была разделена на два этапа: обнаружение неорганических веществ и обнаружение органических веществ в почвенном растворе.

Перед этими исследованиями были проведены замеры кислотности почв с использованием индикатора — почва оказалась нейтральной.

Для обнаружения органических веществ была использована методика качественных реакций.

**Таблица 3. Качественные реакции на неорганические ионы.**

№	Ион	Используемый реактив	Результат качественной реакции	Результат для образца 0861	Результат для образца 0862
1	Ba <sup>2+</sup>	BaCl <sub>2</sub>	Белый мелкодисперсный осадок	Нет осадка	Нет осадка
2	Ag <sup>+</sup>	BaCl <sub>2</sub>	Белый творожистый осадок	Нет осадка	Нет осадка
3	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NaOH, нагревание, индикатор	Специфический запах аммиака.	Нет запаха	Нет запаха
4	Al <sup>3+</sup>	NaOH	Белый осадок	Нет осадка	Нет осадка
5	Zn <sup>2+</sup>	NaOH	Белый осадок	Нет осадка	Нет осадка
6	Mg <sup>2+</sup>	NaOH	Белый осадок	Нет осадка	Нет осадка



7	$\text{Cr}^{3+}$	NaOH	<i>Серо-зеленый осадок</i>	Нет осадка	Нет осадка
8	$\text{Fe}^{2+}$	$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	Образование турнбулевой сини	Нет окрашивания	Небольшое окрашивание раствора
9	$\text{Fe}^{3+}$	$\text{NH}_4\text{CNS}$	<i>Кроваво-красное</i> окрашивание раствора	Нет окрашивания	Небольшое окрашивание раствора.
10	$\text{Cu}^{2+}$	NaOH, нагревание	<i>Ярко-голубой студенистый осадок</i>	Нет осадка	Нет осадка
11	$\text{Cl}^-$	$\text{AgNO}_3$	<i>Белый творожистый осадок</i>	Нет осадка	Нет осадка
12	$\text{Br}^-$	$\text{AgNO}_3$	<i>Светло-желтый осадок</i>	Нет осадка	Нет осадка
13	$\text{I}^-$	$\text{AgNO}_3$	<i>Желтый осадок</i>	Нет осадка	Нет осадка
14	$\text{NO}_3^-$	$\text{H}_2\text{SO}_4$ (конц.), Cu (стружка), при нагревании	<i>Бурый газ</i>	Нет газа	Нет газа
15	$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{BaCl}_2$	<i>Белый мелкодисперсный осадок</i>	Нет осадка	Нет осадка
16	$\text{CO}_3^{2-}$	HCl	<i>Газ без цвета и запаха,</i>	Нет газа	Нет газа
17	$\text{PO}_4^{3-}$	$\text{AgNO}_3$	<i>Желтый осадок</i>	Нет осадка	Нет осадка

Таким образом были определено, что в наших образцах нет сульфатов, нитратов, карбонатов, фосфатов, галогенидов (хлоридов, бромидов, йодидов). Так же не были обнаружены ионы меди, хрома, магния цинка, алюминия, аммония, серебра бария. В образце 0862 были обнаружены следы железа. При обсуждении с учениками выяснилось, что на месте взятия почвенного образца, некоторое время назад находился склад старых досок с оставшимися в них гвоздями, а также ржавые трубы.

Обнаружение в почвенном растворе органических веществ также проходило путем качественных реакций на отдельные классы органических веществ. Данные реакции мы проводили исходя из возможностей нашего кабинета химии.

**Таблица 4. Качественные реакции на органические вещества.**

№	Класс для определения	Используемый реактив	Результат качественной реакции	Результат для образца 0861	Результат для образца 0862
	Белок	$\text{HNO}_3$ (конц.);	появляется желтое окрашивание р-ра;	Есть окрашивание	Есть окрашивание
		Свежеосажденный $\text{Cu}(\text{OH})_2$	сине-фиолетовое окрашивание р-ра	Есть окрашивание	Есть окрашивание
	Ацетаты	$\text{FeCl}_3$	окрашивание р-ра в красно-бурый цвет	Есть окрашивание	Есть окрашивание
	Муравьиная кислота	Аммиачный р-р $\text{Ag}_2\text{O}$	«серебряное зеркало» на стенках сосуда	Нет осадка	Нет осадка

	Карбоновые кислоты	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	выделение $\text{CO}_2$	Нет газа	Нет газа
	Этанол	$\text{CuO}$	выделение металлической меди, специфический запах ацетальдегида	Нет осадка, запах определен частично	Нет осадка, запах определен частично
	Ацетилен	Аммиачный р-р $\text{Ag}_2\text{O}$	образование осадка (ацетиленид серебра) белого цвета	Нет осадка	Нет осадка
	альдегиды, глюкоза	Аммиачный р-р $\text{Ag}_2\text{O}$	образование блестящего налета $\text{Ag}$ («серебряное зеркало») на стенках сосудов	Нет осадка	Нет осадка
	Муравьиная кислота	Аммиачный р-р $\text{Ag}_2\text{O}$	образование блестящего налета $\text{Ag}$ («серебряное зеркало») на стенках сосудов	Нет осадка	Нет осадка

Таким образом, было достоверно определено наличие белка в почве и под сомнением наличие спирта. Во втором случае частички меди увидел только один из участников проекта, двое почувствовали специфический запах. Остальные соединения или находятся в количестве недостаточном для реакции или не присутствовали в почвенном растворе.

#### *Изучение биологического состава почвы.*

Изучение биологического состава почвы не завершено. В данный момент лишь заложены посевы микроорганизмов и ведется наблюдение за чашками петри. Для изучения биологического состава почвы для каждого образца были сделаны посевы микроорганизмов. Посев осуществлялся на двух различных средах; первая среда дает возможность обнаружить азотофиксирующие бактерии, вторая — среда для развития всех организмов в целом. Образцы были помещены в темное теплое место.

На данный момент культуры бактерий растут плохо, не каждая из частичек земли дала колонию микроорганизмов. В чашках петри, благоприятных для развития азотофиксирующих бактерий не наблюдается ни одной колонии. На следующем занятии будет предпринята вторая попытка посева микроорганизмов для определения наличия азотофиксирующих бактерий.

#### *Изучение дыхания почвы.*

Данный этап работы также еще не был начат, так как для лучшего понимания процесса дыхания и зависимости этого процесса необходимо представлять хотя бы примерное количество микроорганизмов в почве и их видовой состав. Данная работа будет проводиться согласно методике, предоставленной Фондом поддержки проектов в области образования.

## Заключение

На данный момент, исследование все еще не завершено. Но в ходе исследования были получены интересные данные, часть из которых дала лучшее понимание процессам происходящим в почве и влиянии этих процессов на территорию, на которой данная почва располагается.

Стало понятно, что в нашем регионе почва суглинистого характера, что вместе с большим количеством осадков объясняет большое количество болот в нашем регионе. Также такой характер почвы объясняет ежегодные проблемы в городе при наступлении весны с затоплением некоторых улиц — глина в почве не дает воде уходить быстро и в период таяния снега вода образует огромные лужи.

Был изучен химический состав почвы. Согласно полученным результатам в нашей почве чрезвычайно мало неорганических соединений, поэтому вырастить на нашей почве урожай без дополнительной подкормки невозможно. Также в почве были обнаружены лишь следы белка, а также, возможно, спиртов. Это говорит о бедности химического состава почвы, а также может служить результатом неправильного времени для сбора образцов. Для исключения последней возможности данные опыты необходимо провести в осенний период (сентябрь).

Проект не закончен, поэтому были представлены лишь промежуточные выводы. Но так как работа по сбору образцов и их первоначальным исследованиям завершена, все данные отправлены в Фонд поддержки проектов в области образования. Ограниченность химической и биологической лаборатории школы не дало провести полноценные исследования почвы, но тем не менее после завершения всех исследований можно будет продолжить проект используя эту почву для посадки растения и исследуя ее в процессе формирования растительного покрова при уходе за почвой — внесении удобрений, периодического полива, освещения специальными лампами, в тепле.

## Список используемой литературы.

1. Методические рекомендации к Проекту по поиску азотфиксирующих бактерий «Охотник за микробами», предоставлена Фондом поддержки проектов в области образования (не издавалась).
2. Серия вебинаров по проекту:
  - a. Представление программы "Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов"
  - b. Тьюторский подход к организации проектной работы школьников
  - c. Почвенные исследования
  - d. Азотобактер и его особенности
  - e. Работа с набором реактивов и расходных материалов
  - f. Приготовление микропрепаратов и микроскопия
  - g. База почвенных образцов
3. Химия. 9 класс - Рудзитис Г.Е., Фельдман Ф.Г.
4. Рудзитис Г.Е. Химия. Органическая химия. 10 класс. Учебник: Базовый уровень - Рудзитис Г.Е., Фельдман Ф.Г.: М.: Просвещение, 2016 г.
5. Пасечник В. В. Биология: Многообразие покрытосеменных растений. бкл: учебник/ В. В. Пасечник. — 4-е изд., стереотип. — М.: Дрофа, 2016 г.

## Приложение

### Приложение 1. Методика работы с почвенными разрезами.

Почвенные разрезы бывают трех типов:

- основные (полные) разрезы;
- контрольные (проверочные или полуямы);
- поверхностные (прикопки).

*Основные (полные) разрезы* закладывают до такой глубины, чтобы вскрыть верхние горизонты неизменной материнской породы. Обычно эта глубина в среднем составляет 1-2 метра. Такие разрезы служат для специального детального изучения морфологических свойств почв и взятие образцов для физического и химического анализа.

*Контрольные разрезы* закладываются на глубину от 0,75 до 1,5 метра. По данному типу разрезов изучают мощность гумусовых горизонтов. Если при описании полуямы обнаружился признаки, ранее неотмеченные для данной геолокации, то на почвенном участке необходимо закладывать полный разрез.

*Поверхностные разрезы* обычно закладываются в местах предположительной смены одной почвы другой. Глубина почвенных разрезов колеблется от 0,40 до 0,70 метра.

Правила, которые необходимо соблюдать при подготовке почвенного разреза (Рисунок 5):

- Разрез обычно располагают таким образом, чтобы его лицевая стенка (на Рисунке 5 на лицевой стенке среза изображены буквы) была обращена к солнцу чтобы избежать солнечных бликов, мешающих правильной оценке окраски почвы;
- Три стенки разреза должны быть вертикальными, четвертая со ступеньками;
- По стороне, с которой находится, лицевая стенка не стоит ходить во избежание искажения результатов исследования;
- При закладывании разреза почву необходимо выбрасывать на его боковые стороны, а не на лицевую сторону. Верхний (гумусовый) горизонт выбрасывают на одну сторону, а нижние слои на другую сторону разреза, чтобы не смешивать с верхним плодородным слоем.

В ходе реализации проекта «Охотник за микробами» мы рекомендуем исследовать поверхностные разрезы. Для закладывания основных и контрольных разрезов требуется значительный опыт и физическая сила.

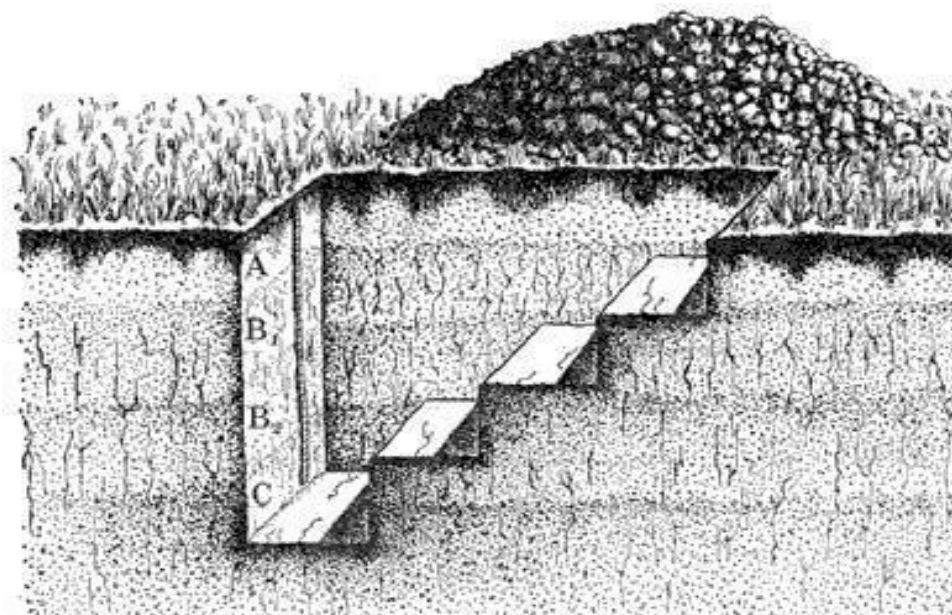


Рисунок 1. Почвенный разрез

## Приложение 2. Методика отбора проб почвы.

Настоящий раздел посвящен первому этапу работы: отбору проб почвы.

На данном этапе работ потребуются следующие компоненты:

- Перчатки;
- Полимерные пакеты с zip-lock – пакеты 18\*25 см для транспортировки и хранения проб.

**Цель «охоты»:** представители рода *Azotobacter*

**Где можно найти представителей рода *Azotobacter*:** идеальная среда обитания для представителей *Azotobacter* — влажная почва с рН близким к нейтральному значению<sup>1</sup>, хорошим доступом воздуха и наличием солей кальция, фосфора и калия. Оптимальная температура роста бактерий *Azotobacter* 25-30°C.

Уникальный штамм бактерий можно найти в совершенно неожиданном месте – во дворе своего дома или школы, близлежащем лесу и даже в парке.

**Инструкция по поиску и отбору проб почвы:**

1. Проанализируйте, в каких близлежащих для вас почвенных объектах вероятнее всего встретить *Azotobacter*;
2. Заведите лабораторный журнал – тетрадь или блокнот, в котором вы будете фиксировать все свои действия, связанные с «охотой». Грамотное и регулярное заполнение лабораторного журнала – залог успешной исследовательской работы;
3. Заложите почвенный разрез согласно правилам, описанным в приложении 1;
4. Сфотографируйте почвенный разрез на фотоаппарат или мобильный телефон;
5. Сфотографируйте местность, в которой сделан почвенный разрез так, чтобы были видны растительность и рельеф;
6. Присвойте разрезу номер, зафиксируйте его в журнале и укажите для него место сбора, GPS-координаты (можно сделать с помощью карты в телефоне) и опишите рельеф;  
*При составлении описания рельефа можно воспользоваться литературой, представленной в сети интернет. Организаторы программы могут выслать вам электронные версии специализированной литературы по электронной почте, если вы направите запрос.*
7. Зафиксируйте в журнале дату и погоду, в которую сделан разрез;
8. Возьмите пакет с zip-lock 180\*250 мм и подпишите на нем перманентным маркером ФИО человека (лидера команды или наставника), который совершает отбор почвы, номер образца, дату, глубину отбора в сантиметрах и краткое описание местности, в которой сделан разрез.
9. *Пример надписи на пакете:*  
**ВЕН-01, 01.09.2021, 5 см, сосновый лес.**
10. Зафиксируйте расшифровку данных, указанных на пакете, в журнале;  
**ВЕН-01, 01.09.2021, 5 см, сосновый лес** = Воронина Елена Николаевна, номер образца 1, собран 01 сентября 2021 года, глубина 5 см, в сосновом лесу.
11. Заполните почвой на не менее 2/3 объема пакета;
12. Сфотографируйте пакет с образцом так, чтобы все надписи на пакете были видны;
13. Принесите пакет с почвой в кабинет;
14. Высыпьте содержимое пакета на белую бумагу или кальку (**нельзя использовать газету**);
15. Разравняйте почву и уберите крупные включения (камни, корни, травинки), измельчите крупные комочки пальцами;
16. Отложите 500 граммов почвы для дальнейших исследований;
17. Высушите почву на воздухе (в помещении);

<sup>1</sup> Значение рН для нейтральных растворов равно 7



***Важно:** процесс сушки следует осуществлять не на открытом солнце, без ветра, не близко к нагревательным приборам и батареям. Почва должна высохнуть за 2-3 дня.*

18. После того, как почва полностью просохнет (комочки при надавливании пальцами должны рассыпаться), перенесите её в чистый и сухой пакет. **Масса пакета с почвой должна быть не менее 100 грамм;**
19. На пакет с сухим образцом почвы наклейте этикетку со кодом и плотно закройте;
20. Создайте электронную таблицу (можно использовать MS Office Word, Excel или аналогичные программы) и перенесите в неё следующие данные:
  - код, указанный на этикетке;
  - номер образца (с вашего пакета);
  - дату забора образца;
  - координаты места разреза;
  - фотографии места разреза,
  - фотографии местности;
  - описание рельефа.

*Внесенная в таблицу информация потребуется организаторам проекта для проведения дальнейших исследований отобранных Вами образцов.*

По мере выполнения исследований, заносите результаты исследования почвы в таблицу (механический состав, кислотность, наличие карбонатов, общее количество обрастаний на 4, 7 и 10 день посева и т.д.).

### Приложение 3. Исследование механического состава почвы.

В данном разделе представлена инструкция по определению механического состава почвы. Данные эксперименты можно выполнять как в месте отбора почвы, так и в лаборатории.

1. Для определения механического состава почвы в полевых условиях следует насыпать ~1 столовую ложку в ладонь. С помощью пипетки Пастера к почве необходимо приливать воду и тщательно перемешивать воду с почвой до получения как можно более вязкого «теста». Из полученного «теста» следует скатать шарик диаметром 2-3 см и попробовать растянуть его в жгут (Рисунок 6). Результаты соотнести с данными таблицы 1 и сделать вывод о механическом составе исследуемой почвы.

*Если к почве был добавлен избыток воды, то полученная смесь станет жидкой, текучей и начнет расплываться. В таком случае следует добавить еще одну порцию почвы.*



Рисунок 2. Шарик (справа) и жгут (слева) из увлажненной почвы

**Таблица 5. Механический состав почвы**

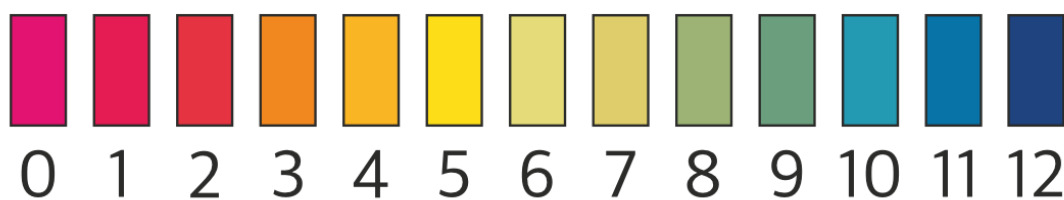
Механический состав	Вид в лупу/микроскоп	При скатывании
Песчаный	Состоит почти исключительно из песчаных зерен	Не скатывается в шарик
Супесчаный	Преобладают песчаные частицы с небольшой примесью глины	Не скатывается, но лепится в непрочные шарики
Легкосуглинистый	Среди глинистых частиц преобладают песчаные частицы	Образует непрочный шарик, в жгут не раскатывается, образует отдельные колбаски или цилиндрики
Среднесуглинистый	Среди глинистых частиц заметны песчаные частицы	Образует сплошной жгут, который при сгибании в кольцо разламывается
Тяжелосуглинистый	Крупные песчаные зерна отсутствуют	Образует длинный жгут, при сгибании в кольцо которого образуются трещины
Глинистый	Песчаные зерна отсутствуют	Дает гладкий шарик и длинный жгут

*Приложение 4. Определение Кислотности среды почвенной вытяжки.*

В данном разделе представлена инструкция по определению рН почвенной вытяжки в лабораторных условиях.

**Инструкция по определению рН почвенной вытяжки:**

1. Заполнить ~ половину объема пробирки типа «эппендорф» исследуемым образцом почвы;
2. Оставшийся свободный объем пробирки заполнить водой;
3. Пробирку плотно закрыть крышкой;
4. Перемешать содержимое пробирки, интенсивно встряхивая пробирку в течение 5 минут;
5. Дождаться полного осаждения взвеси почвы на дно пробирки;
6. Опустить индикаторную бумагу в почвенную вытяжку<sup>2</sup>;
7. Сравнить окрашивание индикаторной бумаги со шкалой, приведенной на Рисунке 7 и зафиксировать приблизительное значение рН для исследуемой вытяжки в лабораторном журнале.



*Рисунок 7. Окрашивание индикаторной бумаги при различных значениях рН раствора*

---

<sup>2</sup> Почвенной вытяжкой называют экстракт, который получен после обработки почвы водой или раствором заданного состава.

## Приложение 5. Посев и наблюдение за ростом колоний бактерий *Azotobacter*

В данном разделе представлены инструкции по посеву и контролю процесса роста колоний бактерий *Azotobacter*. Для выполнения работ потребуются компоненты:

- Чашки Петри – емкость для посева колоний;
- Соли для приготовления среды Эшби –  $K_2SO_4$ ,  $K_2HPO_4$ ,  $NaCl$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $CaCO_3$ ;
- Органические компоненты среды Эшби – агар и глюкоза;
- Пипетка Пастера
- Зубочистки – вспомогательный инструмент для распределения комочков земли;

### Подготовительный этап:

Чашка Петри в наборе состоит из двух частей: чашки (глубокой, с меньшим диаметром) и крышки (часть с большим диаметром).

1. Возьмите белый лист бумаги и обведите на нем контур чашки Петри (части с меньшим диаметром);
2. Нарисуйте в контуре чашки Петри трафарет (Рисунок 12);
- 3.

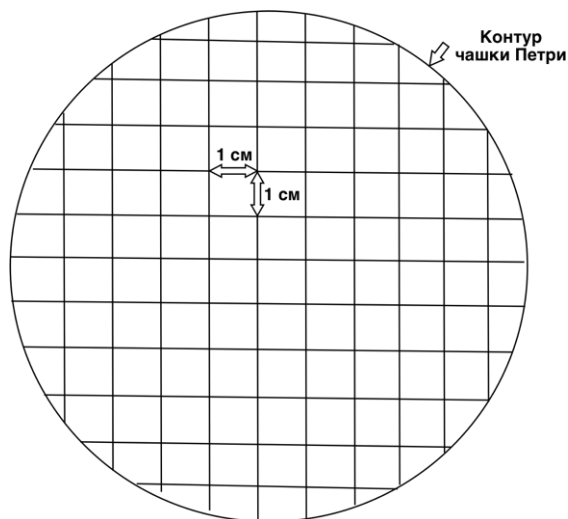


Рисунок 12. Трафарет

### Приготовление вспомогательного раствора:

Вспомогательный раствор солей готовят один раз и используют для создания сред в течение всего исследования.

1. В мерную колбу объемом 1 литр налейте 300-400 мл воды;
2. Высыпьте в колбу с водой всё содержимое флаконов с  $NaCl$ ,  $K_2SO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  и  $K_2HPO_4$  и перемешайте смесь;
3. Доведите объем раствора до отметки 1 литр и проконтролируйте, что все соли полностью растворились (об этом свидетельствует отсутствие осадка на дне колбы);

Если в вашей лаборатории нет мерной колбы, то вы можете воспользоваться мерным стаканом (химическим или бытовым) для отбора нужного объема жидкости.

Для исследования роста колоний на одном образце почвы следует поставить 3 параллельных эксперимента в 3-х чашках Петри. На каждую чашку Петри потребуется 20 мл среды Эшби.

### Приготовление среды Эшби (200 мл):

Если в вашей лаборатории нет аналитических весов, то для подготовки навесок вы можете использовать бытовые (кухонные) весы.

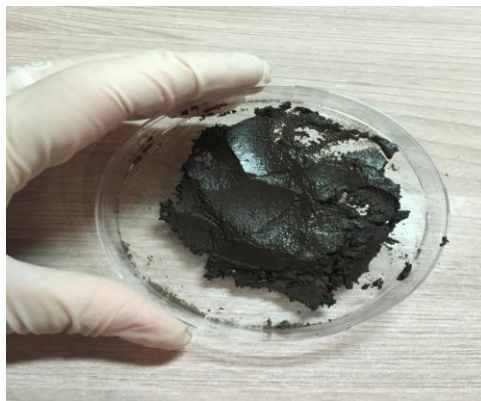
1. На весах подготовьте навески:
  - 1а) 1 г  $CaCO_3$ ;

- 1б) 3 г Агара;  
1в) 4 г глюкозы;
2. В химический стакан налейте 200 мл вспомогательного раствора;
  3. В стакан с раствором перенесите навески  $\text{CaCO}_3$ , Агара и глюкозы;
  4. Смесь в стакане перемешать до состояния однородной взвеси;
  5. Смесь вскипятить на плите или в микроволновой печи до максимального растворения компонентов (часть взвеси не растворится, однако большая часть компонентов должна перейти в раствор);
  6. Смесь охладите до  $50-60^\circ\text{C}$  и заполните ей чашки Петри<sup>3</sup> так, чтобы смесь полностью покрывала дно (должно уйти ~25 мл на одну чашку);

*Если смесь успела охладиться и застыть в стакане, то вы можете повторно растопить её на плитке или в микроволновой печи.*

#### **Подготовка почвы для анализа:**

1. Образцы почвы высушить, убрать крупные остатки растительности, камни, мусор;
2. *Рекомендуем также просеять почву через сито с диаметром ячеек 1-2 мм.*
3. Перенести ~3 грамма почвы в пустую чашку Петри или любую другую емкость с бортиком;
4. К почве с помощью пипетки Пастера по каплям добавлять дистиллированную воду до получения пастообразной массы;
5. Увлажненную почву (полученную пасту) тщательно перемешать с помощью зубочистки (Рисунок 13).
- 6.



*Рисунок 13. Внешний вид увлажненной почвы (пастообразная масса)*

#### **Посев:**

1. Из увлажненной почвы отделить 40-50 комочком диаметром ~3-4 мм;
2. Чашку Петри, заполненную застывшей средой, разместить на трафарете, совместив края чашки с контуром трафарета;
3. В чашке Петри в узлах трафарета разместите подготовленные комочки земли так, как показано на Рисунке 14;
4. *Процесс размещения комочков земли в узлах трафарета удобно осуществлять с помощью зубочисток.*

---

<sup>3</sup> Средой стоит заполнять часть чашки Петри с меньшим диаметром

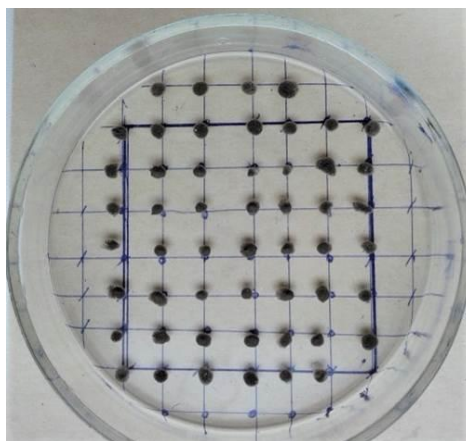


Рисунок 14. Схема расположения комочков земли в чашке Петри

5. Чашки Петри накрыть крышками и оставить на 3-4 дня при комнатной температуре.  
*Желательно хранить чашки Петри во влажной атмосфере. Для создания более влажной среды можно накрыть чашки «колпаками» из пластиковых бутылок.*

**Наблюдаемые эффекты:**

1. Через 3-4 дня после посева вокруг комочков должны появиться обрастания (Рисунок 15);



Рисунок 15. 4-х суточные культуры

2. Через 6-8 дней обрастания должны приобрести окрашивание (Рисунок 16);  
*Наиболее распространенный и хорошо изученный *Azotobacter chroococcum* (обитает в почвах всех типов, кроме кислых) образует колонии с бурым, почти чёрным пигментом. Для *Azotobacter agilis* характерны бесцветные колонии. *Azotobacter vinelandii* образует колонии с флуоресцирующую желтовато-зеленоватой окраской.*

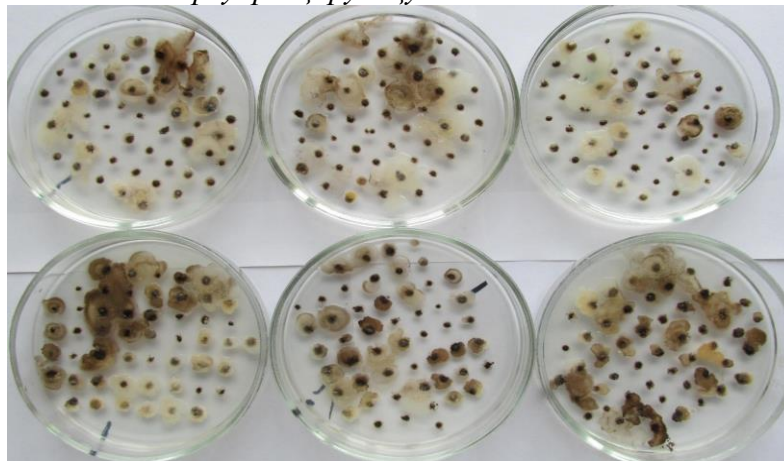


Рисунок 16. Внешний вид колоний на 7-8 день после посева



**Описание результатов:**

1. Сфотографируйте содержимое чашек Петри через 4, 7 и 10 дней после посева;
2. Зафиксируйте данные своих наблюдений в лабораторном журнале. Данные следует фиксировать в виде таблицы (Таблица 2).

*Таблица 6. Описание развития колоний бактерий*

№ образца		
Дата отбора		
Дата посева		
Число дней после посева	4	Запишите общее количество обрастаний, их % обросших комочков, число потемневших колоний и их % от числа обрастаний для 4, 7 и 10 дня
	7	
	10	