

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 44.03.05 Педагогическое образование
Профили подготовки Биология. Химия
Форма обучения очная

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
на тему:
«РАЗВИТИЕ КРАУДСОРСИНГОВОГО НАУЧНОГО ПРОЕКТА
“ОХОТНИКИ ЗА МИКРОБАМИ”»

Студент

Ситникова Ольга Андреевна

Руководитель

Заплатин Б.П.

Нормоконтролер

Клыченков С.В.

Работа допущена защите (протокол заседания кафедры от 04.06.25 № 13а)

Заведующий кафедрой

Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой

отлично
(протокол заседания ГЭК от 09.07.25 № 12)

Секретарь ГЭК

Клыченков С.В.

Пенза, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1. Проектная деятельность как инновационная технология современного школьного биологического образования	6
1.1.1. Цели, задачи и содержание проектно-исследовательской деятельности.....	6
1.1.2. Управление в системе проектно-исследовательской деятельности	10
1.1.3. Порядок организации проектно-исследовательской деятельности.	13
1.1.4. Оптимальные условия и критерии эффективности для исследовательской проектной работы детей	15
1.1.5. Особенности организации проектной деятельности на уроках биологии и во внеурочное время с сопровождающим нормативно- правовым ресурсом	17
1.2. Роль материала о прокариотах в школьном курсе биологии	19
1.2.1. Наличие и содержание информации о прокариотах в школьном курсе	19
1.2.2. Изучение бактерий рода <i>Azotobacter</i> в школьном курсе биологии .	21
1.3. Понятие об азотофиксирующих бактериях	22
1.3.1. Общая микробиологическая характеристика	22
1.3.2. Механизмы активности <i>Azotobacter</i>	24
1.3.3. Использование <i>Azotobacter</i> в промышленности и образовательном процессе.....	26
1.3.4. Использование бактерий в хозяйственной деятельности	28
1.3.5. Микробиологические методы исследования азотфиксирующей активности	30
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	33

ГЛАВА 3. РЕАЛИЗАЦИЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПРОЕКТА	
«ОХОТНИКИ ЗА МИКРОБАМИ» — КРАУДСОРСИНГОВЫЙ НАУЧНЫЙ ПРОЕКТ	37
3.1. Методика организации проектной деятельности	37
3.2. Полученные результаты и их обсуждение	48
3.3. Методические рекомендации по организации проектной деятельности по биологии	60
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	63
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	64

ВВЕДЕНИЕ

В наши дни наука все активнее использует возможности заинтересованных в той или иной области людей для сбора и обработки информации. Краудсорсинг является примером, когда множество людей объединяются для решения научных задач. Он набирает популярность благодаря развитию цифровых технологий.

Проект «Охотники за микробами» отлично демонстрирует, как краудсорсинг работает в микробиологии и биоинформатике. Он привлекает к изучению микромира, как и профессиональных специалистов, так и просто увлеченных людей. Тем самым пополняются не только научные знания, но и пробуждается интерес к микробиологии и науке в целом.

Актуальность данного проекта обусловлена тем, что важно искать способы взаимодействия между действующими учеными и обществом. Чтобы проект «Охотники за микробами» развивался, необходимо оценить его текущие результаты, выявить слабые места и выбрать пути развития данного проекта. И в этом исследовании объектом исследования в данном проекте стал *Azotobacter*. Можно сказать, что данный род был определен для исследований не случайно, так как переоценить его роль, например, для сельского хозяйства, да и в природе в целом, довольно трудно.

В сельском хозяйстве *Azotobacter* ценен именно тем, благодаря ему можно сократить потребление химических удобрений, что делает сельскохозяйственную отрасль более экологичной. Помимо этого, он способствует повышению урожайности, так как улучшает питание растений и тем самым способствует более активному росту сельскохозяйственных культур. А также некоторые штаммы могут подавлять патогены, и тем самым защищают растения от заболеваний.

Да и в природе он играет огромную роль, потому что *Azotobacter* способен преобразовывать атмосферный азот в ту форму, которая доступна

для растений (нитраты) и является важнейшей частью круговорота азота в природе. Благодаря своей деятельности *Azotobacter* улучшает плодородие почвы, повышая ее биологическую ценность без применения удобрений.

Поэтому выбор *Azotobacter* как объекта исследования понятен. Ведь благодаря этому обучающиеся смогу не только развить интерес к науке, но и получить понимание биологических процессов, а также в формировании экологического мышления.

Целью работы является анализ текущего состояния краудсорсингового проекта «Охотники за микробами» и разработка предложений по его развитию.

Для достижения цели поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить теоретические основы краудсорсинга в науке и в сфере образования;
2. Проанализировать структуру и функционирование проекта "Охотники за микробами";
3. Выявить сильные и слабые стороны текущей модели;
4. Изучить данные, полученные школьниками-участниками проекта;
5. Провести собственное исследование и провести сравнительный анализ;
6. Предложить вариант углубления проекта, который может быть использован в образовательном процессе;
7. Предложить меры по усилению вовлеченности участников и повышению научной эффективности проекта.

Объектом исследования является краудсорсинговая модель научной деятельности в образовательной деятельности школы, а **предметом** – особенности реализации проекта «Охотники за микробами» как формы научного краудсорсинга.

Практическая значимость работы заключается в разработке рекомендаций, которые могут быть использованы для оптимизации подобных инициатив в области образовательного процесса.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Проектная деятельность как инновационная технология современного школьного биологического образования

1.1.1. Цели, задачи и содержание проектно-исследовательской деятельности

Проектно-исследовательская деятельность представляет собой важный компонент образования и научных исследований, направленный на развитие навыков и умений у участников в области анализа, поиска решений и реализации инновационных идей [5].

Цели проектно-исследовательской деятельности включают определенные аспекты.

Во-первых, развитие научно-исследовательских навыков у обучающихся. То есть важно развивать у обучающихся способность проводить научные исследования, систематически собирать данные, анализировать их, формулировать выводы и представлять результаты. Это способствует созданию глубоких знаний и умения работать с научной информацией.

Еще одним важным аспектом является подготовка к будущей профессиональной деятельности. Проектно-исследовательская деятельность способствует профессиональному становлению, ведь обучающиеся учатся решать сложные задачи, ориентироваться в разных областях знаний, а также работать в команде.

Помимо этого, включается стимулирование творческого и инновационного подхода. Задача состоит в том, чтобы создать условия для формирования нестандартного, креативного мышления у ребенка, что способствует инновационному поиску решений и идей.

В ходе проектно-исследовательской деятельности обучающиеся развивают способности к непредвзятой и критической оценке информации. Они учатся ее анализировать, сравнивать различные точки зрения и формулировать заключение.

Важную роль играет формирование знаний и навыков из различных областей. Использование знаний из разных дисциплин позволяет находить больше вариантов решения проблем.

Однако не стоит забывать, что первостепенная задача проектно-исследовательской деятельности – определение и анализ проблемы. На этом этапе необходимо понять суть проблемы и собрать необходимую информацию по интересующему вопросу. Изучаются как научные публикации, так и анализируются реальные условия.

Затем формируется научная гипотеза. На основе анализа выдвигается предположения. И эти предположения проверяются на практике. Гипотеза должна быть обоснованной, логичной и проверяемой.

Далее разрабатывается план исследования. Он должен быть подробным и включать выбор методов.

Ключевым этапом является сбор информации. Информация должна использоваться для подтверждения или опровержения гипотезы.

После сбора информации проводится само исследование в виде эксперимента. Происходит практический сбор данных. И на основе полученной информации проводится их анализ, для того чтобы определить подтвердили они гипотезу или нет.

Не менее важно уметь предоставить результаты в доступной форме. Это могут быть отчеты, доклады и презентации. Главная информация должна содержать выводы и значимость полученных данных.

И в заключении проводится оценка и обсуждение полученных результатов. Анализируется их применимость и перспективность для

дальнейшей реализации. Также учитываются помешавшие ограничения и происходит корректировка плана с их учетом.

Следует уточнить, что информация должна быть актуальной, научно-обоснованной и взята из надежных источников. Рекомендуются к использованию научные статьи, учебники, учебно-методические пособия и базы данных. Это позволяет более углубленно изучить тему, а также ознакомиться с новыми методами и методиками.

Таким образом, проектно-исследовательская деятельность играет ключевую роль в развитии у участников научного подхода, критического мышления и способности решать реальные проблемы. Цели и задачи этой деятельности охватывают различные аспекты, от теоретического анализа проблемы до практической реализации решений, что способствует личностному и профессиональному развитию участников [3].

В современном образовательном процессе метод проектов занимает одну из лидирующих позиций. Если говорить о том, что представляет собой проектная деятельность в рамках школьного образования, то можно сказать, что это совместная деятельность учащегося и учителя, направленная на достижение определенных целей и задач. И конкретной целью проектного обучения можно считать создание условий, в которых учащийся способен будет проявить уже полученные и приобретенные знания для решения практических, теоретических и творческих проблем и задач. Такая деятельность способствует проявлению учениками самостоятельности, способности самому познать окружающий мир, самому получать и отбирать информацию, но с помощью помощи учителя.

Отличительной особенностью проектной деятельности от исследовательской является получение принципиально нового и конкретного материального продукта. И перед тем, как начать проектную деятельность, следует помнить, одним из важным условий является представление о

конечном продукте деятельности. Это нужно для того, чтобы в ходе работы четко определить цели и задачи проекта [5].

Изучив литературные источники, можно сделать вывод о том, что организация проектно-исследовательской деятельности обучающихся может включать в себя три этапа: подготовительный, экспериментальный и аналитико-результативный, которые обусловлены структурой данных видов деятельности.

Первый этап – подготовительный – включает изучение и анализ литературы по проблеме; выбор и теоретическое осмысление темы; определение исходных позиций; разработку экспериментальной части; подготовку к проведению эксперимента.

Этап эксперимента подразумевает практическую проверку гипотезы. В ходе этого используются различные методики и методы, которые были найдены при анализе литературы.

Заключительным этапом является анализ оценка данных, их оформление и презентация.

Однако не стоит забывать, что в проектно-исследовательской деятельности необходимо учитывать ряд требований. Первостепенное значение имеет формулировка проблемы и задач. Важна практическая ценность и значимость полученных результатов. Акцент делается на самостоятельной деятельности обучающихся. Необходимо четко определить планируемые результаты. А также обязательно использование актуальных методик.

Роль учителя же в проектно-исследовательской деятельности контролирующая и направляющая. Для начала он должен активировать познавательную деятельность учащихся, а уже затем обеспечить ее реализацию. Учитель должен уметь ставить задачи, знать структуру и этапы исследования, обладать терпимостью, а также должен предлагать свою помощь, если ученик не может продвинуться в своей работе [3].

Если брать конкретный пример, то в биологии на школьном уровне проектная деятельность может охватывать изучение довольно больших и обширных тем. Учащиеся могут сравнивать одни явления с другими. Объектом исследования могут выступать не только живые организмы, но и различные процессы, которые происходят в них. И эти проекты могут быть как описательными, так и практическими, результаты которых можно реализовать в ходе урока и во внеурочной деятельности.

1.1.2. Управление в системе проектно-исследовательской деятельности

Управление в системе проектно-исследовательской деятельности школы включает организацию и координацию всех процессов, направленных на реализацию исследовательских и проектных задач учащихся. Это важный элемент образовательного процесса, способствующий развитию критического и творческого мышления, а также навыков самостоятельной работы [20].

Управление проектно-исследовательской деятельностью в школе требует эффективного подхода со стороны педагогического состава, школьной администрации, а также взаимодействия с внешними партнерами.

В управлении проектной исследовательской деятельности в школьной среде можно выделить ряд ключевых целей. Прежде всего, это развитие у обучающихся навыков обучения и проведения исследований, что включает в себя формирование умений самостоятельно работать, критически оценивать информацию, а также собирать и обрабатывать данные.

Создание благоприятной обстановки для творческого поиска и решения актуальных проблем с помощью проектной и исследовательской работы способствует повышению научно-исследовательской активности учащихся. Поддержка инициатив обучающихся в научной, технической и гуманитарной областях стимулирует их интерес к научной и творческой деятельности.

Развитие социальных и коммуникативных навыков подразумевает формирование умений работать в команде, организовывать работу и представлять результаты.

Основные задачи управления проектно-исследовательской деятельности в школе включают: разработку стратегии и планирования (определение направлений, целей и задач на разных уровнях), организацию работы педагогов и учащихся (распределение ролей, вовлечение в проектной и исследовательские работы), информационно-методическую поддержку (обеспечение необходимыми материалами и ресурсами), оценку и контроль результатов (мониторинг, помощь в исправления ошибок, оценка качества) и мотивацию учащихся (поощрение инициативы, созданию условий для самостоятельной реализации проектов).

В процессе проектно-исследовательской деятельности можно выделить несколько этапов.

Первоначальный этап – подготовительный. Здесь происходит выбор тем и направления исследований. Учебный план включает разнообразные темы, соответствующие интересам учащихся всей программе. Также осуществляется планирование, разработку условий с учетом времени и ресурсов, привлечение экспертов при необходимости, распределения ролей и задач между учащимися.

Следующий этап – реализация проектов и исследований, который включает в себя исследовательскую деятельность (эксперименты, сбор данных, работа с источниками, анализ), проектную деятельность (разработка моделей, макетов, презентаций) и регулярный мониторинг работы со стороны педагога.

Завершающий этап – защита проектов. Учащиеся представляют свои работы перед педагогами и одноклассниками в форме презентаций, докладов или демонстрации созданных продуктов, обсуждая результаты и анализируя сильные и слабые стороны.

Заключительным является этап оценки и обратной связи. На этом этапе важно оценить работу учащихся, используя различные методы: письменные отчеты, устные защиты, портфолио. Обсудить с учениками результаты работы, дать рекомендации для дальнейших исследований. А также поддержать тех, кто не достиг желаемых результатов, и поощрить успешных участников.

Организационной структурой управления проектно-исследовательской деятельности в школе являются школьная администрация, педагоги и непосредственно ученики.

Администрация школы определяет стратегию и направления проектной деятельности на уровне всей школы, обеспечивает материально-техническую базу и доступ к необходимым ресурсам и координирует взаимодействие между различными предметами и учителями.

Педагогами являются либо учителя предметники, либо руководители исследовательских организаций.

Каждый учитель в своей предметной области помогает учащимся в разработке и реализации проектов, дает методические рекомендации по исследовательской деятельности.

Руководителями исследовательских проектов могут быть как отдельные учителя, так и специализированные научные руководители, которые занимаются только проектами.

Ученики – обучающиеся, активно вовлеченные в данный процесс. Они определяют интересующие их темы для исследования и разработки проектов, проводят эксперименты, анализируют результаты, готовят отчеты.

В рамках проектно-исследовательской работы можно выделить несколько ключевых методов: организация работы в команде, методы самоконтроля и взаимооценки, применение современных информационных инструментов и методы анализа и обсуждения итогов.

Командная работа эффективно организуется благодаря распределению ролей. Определяются ответственные за конкретные задачи. Происходит коллективное обсуждение для детального решения проблем. Предполагается самоконтроль и взаимная оценка обучающимися. Внедрение и использование онлайн-серверов для организации деятельности. Заключительным же является всесторонний анализ полученных данных, где оцениваются достигнутые результаты. Выясняется, где возникли трудности и достигнуты ли были успехи, а также обсуждаются дальнейшие перспективы.

Оценка эффективности складывается из ряда критериев. В их число входит уровень вовлеченности обучающихся, развитие навыков и компетенций, развитие критического, а также повышение интереса. Повышение интереса к конкретным изучаемым дисциплинам происходит с применением как раз таки проектной деятельности.

Управление проектной деятельностью и исследовательской работой представляет собой взаимодействие всех участников процесса. Участниками процесса могут выступать как обучающиеся, так и педагоги. Особое место занимает администрация. Их слаженная работа обеспечивает приобретение необходимых профессиональных навыков.

1.1.3. Порядок организации проектно-исследовательской деятельности

Организация проектной исследовательской деятельности в образовательном учреждении включает ряд ключевых шагов, обеспечивающих продуктивное развитие исследовательских и творческих начинаний обучающихся [20].

Рассмотрим последовательность этого процесса.

Первый этап – начальный или подготовительный. Здесь определяются цели и задачи, то есть преподаватель или группа учителей совместно с

учениками выбирают темы и цели исследования, которые соответствуют возрасту и интересам обучающихся. Также происходит обучение исследовательским методом. Важно, чтобы учащиеся овладели основными приемами научной работы, такими как сбор данных, анализ информации, эксперименты и документирование результатов.

Далее следует выбор темы проекта. Тема должна быть не только актуальной, но и вызывать интерес у детей, а также иметь отношение к образовательному процессу. Приветствуется и междисциплинарный подход, где интегрируются знания из разных областей, например, как химия и биология.

Следующий шаг состоит в разработке плана реализации проекта. Определяется последовательность действий, с указанием временных рамок. Предусматриваются возможные трудности и идеи для их преодоления.

После происходит проведение исследования и сбор необходимой информации. Школьники самостоятельно изучают вопрос, проводя эксперимент. Используются различные источники информации. Это могут быть бумажные носители или интернет-ресурсы.

Когда исследование завершено, создаются продукт проекта. Продукт может быть представлен в виде модели, либо при помощи презентации с отчетом.

Важно дать ребенку реализоваться, поэтому нужно позволить ребенку выступить для аудитории и представить свой проект. Это может быть в виде доклада или на выставке. Это будет завершающим этапом работы. Главное научить обучающегося четко доносить и излагать свои мысли.

В заключение необходимо дать оценку проделанной работе. Она может быть осуществлена как самим учеником, так и учителем. Рефлексия позволяет понять, что получилось хорошо, а что можно улучшить и доработать в дальнейшем. А также, желательно, чтобы результаты проекта нашли практическое применение или могли быть использованы для дальнейших

исследований. Обучающиеся могут предложить свои решения существующих проблем. В ходе работы важен также междисциплинарный подход, способствующий интеграции знаний из разных областей и развитию навыков работы в команде, критического мышления и решения проблем.

1.1.4. Оптимальные условия и критерии эффективности для исследовательской проектной работы детей

Для успешного выполнения исследовательской проектной работы детьми необходимо создать оптимальные условия, которые способствуют развитию их творческих и аналитических способностей, а также обеспечивают поддержку на каждом этапе проекта [22].

Ключевым фактором успеха проектной деятельности является всесторонняя поддержка со стороны преподавателей. Педагоги сопровождают учеников на всех стадиях – от выбора проблематики до презентации результатов. Важно не диктовать решения, а направление, предоставляя свободу для самостоятельного поиска. Необходимо обучать школьников исследовательским навыкам по работе с доступными источниками информации, анализу и оформлению результатов.

Обучающиеся должны иметь возможность пользоваться широким спектром информации. Это могут быть образовательные ресурсы, библиотечные носители или издания. Необходимо также техническое оснащение. Это предположительно компьютеры и проекторы. Также необходимо и лабораторное оборудование, если предполагаются опыты с ними.

Однако стоит помнить о том, чтобы заинтересовать обучающихся. Для этого разрабатывают и формируют интересные темы. Могут быть привлечены опытные специалисты, которые поделятся своим опытом. Стоит помнить о

том, чтобы сделать процесс захватывающим и увлекательным для детского восприятия.

Работа над проектом может осуществляться как в команде, так и индивидуально. Работа в команде позволяет развить социальные навыки. За счет групповой работы они могут распределять задачи и ответственно. Но не все ребята проявят желание работать с кем-то, поэтому их можно направить в индивидуальное русло. Учащийся в таком формате сможет научиться мыслить самостоятельно и критически по отношению к себе.

Необходимо учитывать временные рамки и наличие подходящего пространства для работы. Проектная деятельность требует достаточного времени для сбора информации, проведения экспериментов и анализа полученных данных. Важно заранее планировать график работы. Пространство должно быть комфортным и оснащенным всем необходимым для проведения исследований.

Преподаватель должен регулярно давать конструктивный отзывы и рекомендации, позволяющие учащимся корректировать свою работу и избегать ошибок. Важно, чтобы дети имели возможность обсуждать результаты, оценивать прогресс и определять области, требующие дополнительной обработке.

Работа должна быть доступна для всех учащихся, вне зависимости от уровня подготовки. Использование дифференцированного подхода позволяет каждому ребёнку проявить свои сильные стороны. Необходимо создавать условия для участия в проектной деятельности детей с особыми образовательными потребностями таким образом, оптимальной условий для проектной работы – это педагогическое, материальная и эмоциональная поддержка, мотивирующие среда и возможность самостоятельного поиска решений.

Критерии эффективности исследовательской проектной деятельности в школе позволяют оценить, насколько успешно учащиеся справляются с

поставленными задачами, а также насколько высоки результаты их работы в рамках проекта. Оценка эффективности охватывает не только конечный результат, но и процесс выполнения проекта [4].

Собственно оценка проектной деятельности базируется на следующих критериях:

1. Содержательная части исследования;
2. Методология исследования;
3. Структура и оформление проекта;
4. Самостоятельность;
5. Практическая значимость;
6. Представление результатов;
7. Самоанализ;
8. Организация работы.

При групповом проекте выделяют дополнительный критерий – работа в команде.

Данные критерии обеспечивают комплексную оценку проектной деятельности, учитывая как качества исследования, так и развитие личных и социальных навыков.

1.1.5. Особенности организации проектной деятельности на уроках биологии и во внеурочное время

Организация проектной деятельности на уроках биологии и во внеурочное время требует учета специфики предмета и возраста учащихся. Биология как наука о живой природе предоставляет богатые возможности для проведения как исследовательских, так и творческих проектов. Процесс проектной работы на уроках и во внеурочное время имеет свои особенности, которые можно выделить в несколько ключевых аспектов [4].

На уроках биологии проектная деятельность может быть встроена в учебный процесс как элемент познавательной активности.

Во-первых, должны учитываться актуальные темы для проектов. Среди них могут быть проекты, посвященные охране окружающей среды, исследованию загрязнения воздуха, воды, почвы, а также анализу экосистем и их изменения под воздействием человека. Можно провести исследование флоры и фауны, изучение редких видов растений и животных, их место в экосистемах. Проекты, связанные с изучением органов и систем организма, здоровья человека, питания и спорта являются не менее актуальными.

Методы, которые могут использоваться как на уроках, так и во внеурочное время являются лабораторные и практические работы. Они могут быть частью проекта, например, в рамках исследования роста растений, наблюдения за поведением животных или экспериментов по биохимии.

Также может быть использована работа с живыми объектами (к примеру, использование растений, животных (например, насекомых) для наблюдений и проведения экспериментов).

Применение современных технологий, таких как компьютерные программы, имитационное моделирование и интерактивные лаборатории, способствует более детальному и всестороннему изучению биологических явлений.

В рамках внеклассной работы, проектная деятельность по биологии характеризуется широким спектром доступных тем и возможностью проведения углубленных исследований, что благоприятно сказывается на формировании исследовательских компетенций у обучающихся.

Наиболее востребованными формами внеурочной проектной работы являются научные клубы и кружки, выставки и конкурсы, исследовательские проекты, экологические акции.

Среди основных достоинств проектной деятельности в области биологии следует отметить то, что происходит совершенствование

исследовательских умений. Учащиеся приобретают навыки наблюдения, анализы, проведения экспериментов, что стимулирует развитие критического мышления и аналитических способностей. Также проектная работа позволяет учащимся не просто осваивать теоретический материал, но и применять его на практике, решая конкретные задачи. Помимо этого, работы над проектом способствуют развитию навыков сотрудничества, ответственности и распределение обязанностей внутри группы. А также за счёт того, что есть возможность самостоятельного выбора темы и проведения собственного исследования – происходит стимулирование учащихся к более глубокому изучению биологии, повышается мотивация и интересы в этой области.

Таким образом, организация проектной деятельности на уроках биологии и во внеурочное время помогает учащимся не только расширять свои знания, но и развивать практические навыки, которые будут полезны в научной, социальной и личной жизни [27].

1.2. Роль материала о прокариотах в школьном курсе биологии

1.2.1. Наличие и содержание информации о прокариотах в школьном курсе

Современная школа ставит перед собой главную задачу формирования личности, обладающей универсальной системой знаний и опытом самостоятельной деятельности, имеющих значение не только в рамках школьного образования. В этом контексте, одним из ключевых элементов в курсе биологии являются знания о бактериях, которые представляют собой обширную группу микроорганизмов, не имеющих окруженного оболочкой клеточного ядра и обладающих крайне малым размером.

Анализ существующих учебников по биологии показывает, что информация о бактериях, их разнообразии и заболеваниях микробной природы в курсах основной школы является фрагментарной. В 6-7 классах

преобладает описательный материал, который ставит перед собой задачу раскрыть роль микроорганизмов в практической деятельности человека. В 8 классе внимание сосредоточено на прокариотических организмах, которые являются возбудителями заболеваний человека. В данном курсе представлена информация о болезнетворных бактериях, которая включает данные по микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. Основная идея заключается в понимании важности профилактики инфекционных заболеваний для поддержания здоровья. Курс общей биологии основывается на основных теоретических обобщениях, основанных на эмпирическом материале о строении клеток прокариот и эукариот, их жизнедеятельности, роли микроорганизмов в экосистемах, химических круговоротах, происхождении жизни на Земле и ее развитии.

Указанные сведения служат фундаментом для осознания принципов, лежащих в основе биотехнологических процессов.

Для результативного усвоения материала и формирования всестороннего представления о прокариотических организмах, необходимо выявить подходы, благоприятствующие эффективности учебного процесса. Помимо этого, факультативные обобщающие занятия по разделу «Бактерии» в старших классах могут оказаться полезными для закрепления и расширения информации о прокариотах. Подобные активности особенно значимы, принимая во внимание требования к уровню образования выпускников, которые проверяются на экзаменах, и охватывают знания о бактериях, их значении в окружающей среде, а также о болезнетворных агентах, поражающих живые организмы. Существенно, чтобы обучающийся не только владел этими знаниями, но и был способен применять их в повседневных ситуациях. К тому же, познания в области микробиологии позволяет детально вникнуть и оценить экологические и общественно-этические проблемы, с которыми мы сталкиваемся.

1.2.2. Изучение бактерий рода *Azotobacter* в школьном курсе биологии

Включении изучения *Azotobacter* в школьную программу биологии имеет важное значение для понимания процесса фиксации азота, взаимосвязи в экосистемах и роль микроорганизмов в круговороте веществ. Эти микроорганизмы играют ключевую роль в азотном цикле. Они преобразуют азот в доступную для организмов форму. Это оказывает большое влияние на сельское хозяйство. Также благодаря этому придерживается стабильное экосистем.

Azotobacter имеет первостепенное значение для азотного цикла, который является фундаментальным процессом для поддержания жизни на Земле. Он осуществляет фиксацию азота из атмосферы, трансформируя его в пригодную для растений форму. Это необходимо для поддержания плодородия почвы и обеспечения растений необходимыми питательными веществами.

Участвуя в азотном цикле, *Azotobacter* способствует естественному обогащению почвы азотом. Тем самым он снижает потребность в азотных удобрениях и поддерживает устойчивое земледелие. Поэтому изучение азотобактерий в школьном курсе позволит обучающимся понять значимость микроорганизмов в функционировании экосистем. А также ознакомится с процессами биологической фиксации азота и биологическими циклами в целом.

Эта тема обладает ключевыми биологическими аспектами. В первую очередь, благодаря этой теме дети смогут развить экологическое и научное мышление. Помимо этого, важно использование практических занятий, а также выполнять проекты по данному разделу.

Знания об азотобактериях тесно связаны с актуальными проблемами экологии и сельского хозяйства. Это способствует повышению уровня мотивации учащихся и помогает им понять, как биологические процессы влияют на их повседневную жизнь.

1.3. Понятие о азотофиксирующих бактериях

1.3.1. Общая микробиологическая характеристика

Азотофиксирующие бактерии — это группа микроорганизмов, способных фиксировать молекулярный азот (N_2) из атмосферы и превращать его в доступные для растений соединения (в первую очередь аммиак, NH_3). Этот процесс называется биологической фиксацией азота и имеет ключевое значение в круговороте азота в природе. Данный процесс осуществляется благодаря ферменту нитрогеназе. БФА играет ключевую роль в глобальном круговороте азота, пополняя запасы доступного азота в почве и водных экосистемах. Азотофиксаторы встречаются в самых разных экологических нишах: почвах, пресных и морских водоемах, в ассоциации с растениями [28].

Азотофиксирующие бактерии относятся к разным таксономическим группам, включая:

1. Симбиотические бактерии:

- Род *Rhizobium* (семейство *Rhizobiaceae*, класс *Alphaproteobacteria*) — образуют клубеньки на корнях бобовых растений.
- *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium* — родственные роды *Rhizobium*.
- *Frankia* (актиномицеты) — вступают в симбиоз с некоторыми древесными растениями.

2. Свободноживущие азотофиксаторы:

- *Azotobacter* (грамотрицательные аэробы, класс *Gammaproteobacteria*).
- *Clostridium* (облигатные анаэробы, класс *Clostridia*).
- *Cyanobacteria* (цианобактерии) — например, *Anabaena*, *Nostoc*, содержащие специализированные клетки — гетероцисты.

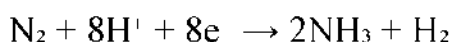
3. Ассоциативные бактерии:

- *Azospirillum* (живут в ризосфере, взаимодействуют с корнями растений, особенно злаков).

Морфология же варьируется в зависимости от рода, но обычно от кокков до бацилл:

- *Rhizobium* — грамотрицательные, подвижные палочки.
- *Azotobacter* — крупные, капсулированные палочки.
- *Clostridium* — спорообразующие анаэробные палочки.
- *Cyanobacteria* — нитчатые или колониальные формы с пигментами и гетероцистами.

Все азотофиксирующие бактерии содержат фермент нитрогеназу, который катализирует превращение азота:



Для того, чтобы фермент «работал», нужны определенные условия.

Во-первых, анаэробные или микроаэрофильные условия, так как нитрогеназа чувствительна к кислороду. Некоторые бактерии защищают фермент структурно (например, гетероцисты у цианобактерий или высокая дыхательная активность у *Azotobacter*).

Во-вторых, процесс достаточно энергозатратный, поэтому требуется много АТФ (примерно 16 АТФ на 1 молекулу N_2) [13].

А также следует учитывать различные формы дыхания у различных родов. Например, *Azotobacter* имеет аэробный метаболизм, в то время как *Clostridium* — анаэробный. В свою очередь *Rhizobium* в симбиозе имеет микрофациальные условия в клубеньках.

1.3.2. Механизмы активности *Azotobacter*

Механизмы активности азотобактера можно выделить следующие [28]:

1. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФИКСАЦИЯ АЗОТА

Фиксация атмосферного азота — это процесс превращения инертного азота (N_2) в аммиак (NH_3) с помощью фермента нитрогеназы, который затем используется для синтеза аминокислот, нуклеиновых кислот и других азотсодержащих соединений. Именно этот механизм является основным.

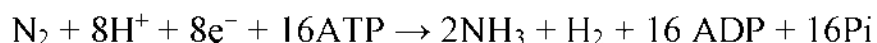
Ферментный аппарат данного процесса представлен следующим образом:

1. **Нитрогеназа** — главный ферментный комплекс, состоящий из двух компонентов:

2. **Fe-белок** (димер ферредоксина): переносит электроны;

3. **MoFe-белок** (молибден-железо-серный белок): катализирует восстановление N_2 .

Общее уравнение реакции выглядит так:



Это энергозатратный процесс (требует 16 молекул АТФ на одну молекулу азота), что требует интенсивного метаболизма.

2. ЗАЩИТА НИТРОГЕНАЗЫ ОТ КИСЛОРОДА

Azotobacter — аэроб, однако нитрогеназа разрушается при наличии свободного кислорода. Бактерии используют несколько механизмов защиты фермента:

1) **Интенсивное дыхание** (дыхательный барьер): *Azotobacter* обладает очень высокой скоростью дыхания. Это быстрое потребление кислорода снижает его концентрацию внутри клетки, создавая микроанаэробные условия, при которых нитрогеназа активна.

2) **Образование слизистого слоя:** выделяют экзополисахариды, формирующие защитную капсулу. Капсула снижает диффузию кислорода к клетке.

3) **Специальные кислород-связывающие белки:** *Azotobacter* синтезирует белки, аналогичные леггемоглобину (у симбиотических бактерий), которые связывают кислород и предотвращают его контакт с нитрогеназой.

3. УСВОЕНИЕ И ПЕРЕРАБОТКА ФИКСИРОВАННОГО АЗОТА

Продуктом действия нитрогеназы является аммиак (NH_3). Аммиак быстро включается в органические соединения, а именно:

- Синтез аминокислот (глутамин, аспарагин);
- Построение белков, ДНК, РНК;

Избыточный аммиак может выделяться в почву, обогащая её доступным азотом.

4. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ *Azotobacter*

К дополнительной активности можно отнести синтез факторов роста растений. То есть *Azotobacter* способен продуцировать фитогормоны и витамины: **Ауксины** (IAA), которые стимулируют рост корней, **Гиббереллины**, которые способствуют прорастанию семян и росту побегов, **Цитокинины**, которые участвуют в делении клеток, а также **Витамины группы В** (B_1 , B_2 , B_6 , B_{12}), которые способствуют росту как самой бактерии, так и растений.

Еще одной активностью можно считать биологическую защиту растений. Он продуцирует антагонисты патогенных грибов и бактерий. И конкурирует за ресурсы в ризосфере, снижая риск фитозаболеваний.

И, наконец, участвует в образовании плодородной структуры почвы. Слизистые выделения бактерий улучшают структуру почвы, способствуют агрегации частиц, увеличивая воздухо- и водопроницаемость.

5. СПОСОБНОСТЬ К ОБРАЗОВАНИЮ ЦИСТ

Azotobacter при неблагоприятных условиях (недостаток углерода, высыхание) образует цисты — толстостенные покоящиеся клетки. Эти цисты устойчивы к высушиванию, УФ-излучению, температурным колебаниям, а также они обеспечивают выживание в почве и сохранение популяции [31].

6. УСЛОВИЯ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ *Azotobacter*

Для активной фиксации азота *Azotobacter* нуждается в:

- Органических соединениях (источник энергии) — сахара, органические кислоты;
- Слабо-кислой или нейтральной pH-среде (pH 6.5–7.5);
- Аэробных условиях, но с возможностью создания микрозон с пониженным кислородом;
- Благоприятной температуре (оптимум 25–30°C).

*1.3.3. Использование *Azotobacter* в промышленности и образовательном процессе*

Azotobacter — это свободноживущая аэробная бактерия, широко используемая в различных отраслях благодаря своей способности фиксировать атмосферный азот, продуцировать физиологически активные вещества, улучшать структуру почвы и стимулировать рост растений.

Её использование охватывает сельское хозяйство, промышленную биотехнологию, образование и науку.

Использование *Azotobacter* в промышленности происходит в следующих аспектах:

А. Биологическое сельское хозяйство и производство биопрепаратов

Azotobacter входит в состав многих микробиологических удобрений, применяемых для повышения плодородия почвы, особенно в условиях ограниченного использования минеральных азотных удобрений. Например,

Азотобактерин — один из первых биоудобрений, созданных на основе *Azotobacter*. Помимо этого, широкое распространение имеют Азотофиксин, Азогран, Азобактерин П, Бактогум, Байкал ЭМ-1 (в составе консорциума).

Функции в удобрениях базируются на фиксации атмосферного азота и его доставка растениям, синтезе фитогормонов (ауксины, гиббереллины), улучшении структуры почвы за счёт выделения полисахаридов, повышении устойчивости растений к болезням и стрессам [31].

Б. Производство метаболитов (биотехнология)

Azotobacter способен синтезировать вещества с промышленным потенциалом. Полисахариды и биополимеры, в том числе альгинаты, используемые в пищевой промышленности, медицине и косметике (как загустители, стабилизаторы). Витамины группы В (особенно В₁₂) — важны для медицины и фармацевтики. Пигменты обладают антибактериальной активностью. А Сидерофоры — вещества, связывающие железо и подавляющие развитие фитопатогенов.

В. Ремедиация загрязнённых почв

Благодаря высокой выживаемости и способности перерабатывать органические вещества, *Azotobacter* участвует в биоремедиации. Также участвует в разложении органических загрязнителей, может способствовать восстановлению загрязнённой агропочвы.

Помимо промышленного использования *Azotobacter* применяют и внедряют в образовательном процессе. *Azotobacter* широко используется в школьном, среднеспециальном и вузовском образовании как модельный микроорганизм.

В учебной микробиологии используется в следующих целях:

- Культивирование на безазотистых средах (аспект азотфиксации);
- Выращивание на агаре с образованием слизистых колоний — демонстрация полисахаридной активности;
- Окрашивание по Граму, изучение морфологии;

- Наблюдение цист — демонстрация способности к образованию покоящихся форм;
- Изучение нитрогеназы и других ферментативных систем.

В образовательном процессе имеет широкое распространение и области применения благодаря тому, что *Azotobacter* не требует симбиоза, может жить в любых типах почв, безопасен для человека и окружающей среды, а также рост в культивировании и может сохранять активность в неблагоприятных условиях.

Помимо этого, используется и **в лабораторной практике** для:

- Определение азотфиксирующей активности (АРА-тест);
- Изучение влияния факторов среды (рН, температура, углеродные источники) на рост и фиксацию азота;
- Модель для исследований по биологической защите растений.

В проектах и олимпиадах *Azotobacter* включается в школьные и студенческие проекты по биотехнологии, экологии, аграрным наукам. Используется для моделирования природных процессов — азотного цикла, почвообразования.

1.3.4. Использование бактерий в хозяйственной деятельности

Бактерии — неотъемлемая часть биосферы и играют важную роль в различных отраслях народного хозяйства. Благодаря своим биохимическим способностям, разнообразию метаболических путей и устойчивости к условиям среды, они широко применяются в сельском хозяйстве, пищевой промышленности, экологии, медицине, энергетике и строительстве.

В сельском хозяйстве используется для так называемой биологизация земледелия. Азотфиксирующие бактерии (*Azotobacter*, *Rhizobium*, *Azospirillum*) фиксируют атмосферный азот, обеспечивая растения доступным азотом. Фосфатмобилизующие бактерии (*Bacillus megaterium*) делают

нерастворимые фосфаты доступными для растений. Калиймобилизующие бактерии растворяют силикатные минералы, повышая доступность калия [31].

Также для **повышения урожайности и здоровья растений**. Продукция фитогормонов (ауксины, гиббереллины) стимулирует рост растений. Некоторые бактерии подавляют рост патогенов за счёт антибиотикоподобных веществ, конкуренции за питательные вещества и выработки ферментов [24].

В животноводстве бактерии применяются для силосования кормов — ферментация повышает питательную ценность и срок хранения. Пробиотики (например, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) улучшают микрофлору кишечника животных. Бактериальные закваски используются в кормопроизводстве и производстве кормовых добавок.

В пищевой промышленности так же имеют широкое применение. Например, молочнокислые бактерии (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*) используются для производства йогуртов, кефира, сыра, сметаны, творога, Квашеной капусты, солений, кваса. Уксуснокислые бактерии (*Acetobacter*) — производство уксуса. Бактерии-ферментаторы — выработка органических кислот, спиртов, витаминов, аминокислот. Бактериальные закваски применяются в хлебопечении, виноделии, пивоварении.

Бактерии повсеместно используются и для **очистка сточных вод**. Существуют аэробные и анаэробные бактерии, которые разлагают органические вещества в очистных сооружениях. Метаногенные бактерии участвуют в анаэробном сбраживании, выделяя биогаз.

Биоочистка загрязнённых объектов возможна при разложении нефти, пестицидов, тяжёлых металлов с помощью бактерий рода *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alcaligenes*. Используются они и для восстановления почв после химических загрязнений.

Используются и **в энергетике**. Метаногенные бактерии (*Methanobacterium*, *Methanosarcina*) участвуют в производстве биотоплива (биогаза) из органических отходов. Водородпродуцирующие бактерии исследуются как источники биоводорода.

В медицине и фармацевтике продуцентами антибиотиков являются: *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudomonas* — источники стрептомицина, тетрациклина, бацитрацина и др. Производство вакцин, иммунобиологических препаратов, пробиотиков происходит также благодаря им [8].

Бактерии используются и **в строительстве и производстве**, для биоцементации, или другими словами, для укрепления грунтов и восстановления трещин в бетоне (*Sporosarcina pasteurii*). Применяются в биологической очистке производственных выбросов (биофильтры, биоскрабберы).

1.3.5. Микробиологические методы исследования азотфиксирующей активности

Азотфиксирующая активность — это способность микроорганизмов преобразовывать молекулярный азот (N_2) из атмосферы в доступную для живых организмов форму (чаще всего аммиак, NH_3). Изучение этой активности важно в агрономии, экологии, микробиологии, биотехнологии и при создании биоудобрений. Для оценки и исследования азотфиксации применяют качественные, количественные и молекулярно-генетические методы (таблица 1).

Таблица 1 — Характеристика микробиологических методов.

НАЗВАНИЕ МЕТОДА	ПРИНЦИП	ПРИМЕР СРЕДЫ И ПРОВЕДЕНИЕ	ПОКАЗАТЕЛИ	ДОСТОИНСТВА / НЕДОСТАТКИ
1. КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ				
Выращивание на безазотистых средах	Азотфиксирующие бактерии способны расти на средах, не содержащих связанный азот (нитраты, аммиак и др.), используя атмосферный азот.	Среда Ашби — для <i>Azotobacter</i> (содержит сахар, соли, но нет азота); Среда Нистера — для симбиотических бактерий; Среда Малицева — для ассоциативных бактерий.	Рост микроорганизма — признак азотфиксации; Можно визуально оценивать образование слизистых колоний или клубеньков.	Простота, дешевизна. Недостатки: качественный метод, не определяет количество зафиксированного азота.

Таблица 1. Продолжение

2. БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ				
Ацетиленредуктаз ный тест (АРА- тест)	Фермент нитрогеназа способен восстанавливать не только N_2 , но и ацетилен (C_2H_2) до этилена (C_2H_4). Измеряя количество этилена, можно судить о ферментативной активности бактерий.	В сосуд с азотофиксирующи ми бактериями вводят ацетилен. Инкубируют. Отбирают газовую пробу.	Определяют содержание этилена с помощью газовой хроматографии.	Преимущества: Высокая чувствительность. Можно использовать in vivo и in vitro. Относительная простота. Недостатки: Не всегда точно отражает фиксацию азота. Зависит от условий инкубации.
3. КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ				
Определение общего содержания связанного азота	Измеряют количество азота, зафиксированного в биомассе бактерий или субстрате (почва, культуральная среда) после инкубации.	Метод Кельдаля — классический способ определения общего азота в органических веществах. Фотометрические методы — определение аммиака, нитратов, нитритов. Потенциометрия и ионометрия.	Измеряют количество азота для оценки эффективности биоудобрений. При почвенных исследованиях.	Надежный и стандартный метод, но трудоемкий.
5. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ				
1. ПЦР-анализ nif- генов (генов нитрогеназы)	Выявление генов, кодирующих компоненты нитрогеназы (например, nifH, nifD, nifK), с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).	Позволяет определить наличие азотофиксирующих генов.	Позволяет исследовать экосистемы, почвы, корни растений.	Применим к некультивируемы м микроорганизмам.
2. Метагеномика и секвенирование	Прямое секвенирование ДНК из природных образцов	Позволяет оценить структуру и активность микробных сообществ, включая потенциальных азотофиксаторов.	Является генетическим.	Высокая точность, но не отражает активность ферментов.

Таблица 1. Продолжение

6. ИЗОТОПНЫЕ МЕТОДЫ				
Метод с использованием стабильного изотопа азота ^{15}N	Инкубация бактерий (или растений с бактериями) в атмосфере с молекулярным азотом $^{15}\text{N}_2$. После фиксации азота измеряют содержание ^{15}N в образцах с помощью масс-спектрометрии.	Позволяет определить количество реально зафиксированного азота.	Измеряют содержание ^{15}N в образцах с помощью масс-спектрометрии.	Преимущества: Самый точный метод; Недостатки: Дорогостоящее оборудование; Сложность проведения.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования стали образцы почв и культуры колоний азотобактера, выделенные из них. Почвы были собраны 04.04.2023 обучающимися МБОУ СОШ №71 под руководством Сурковой Оксаны Евгеньевны на территории Пензенской области, с различной растительностью. С выбором объекта исследования обучающимся помогла Фатюнина Юлия Александровна, которым стал «Ольшанский солонец». Выбран он был не случайно, так как в последнее время происходит частый мониторинг ценопопуляции вида на Ольшанском солонце необходим для оценки современного состояния и прогноза в целях ее сохранения.

Объект исследования: представители рода *Azotobacter*.

Azotobacter — это род свободноживущих грамотрицательных бактерий, обитающих в почве. *Azotobacter chroococcum* был впервые выделен в чистой культуре голландским ученым М. Бейеринком в 1901 г.

Учёный выделил из почвы аэробную неспорообразующую грамотрицательную бактерию, обладающую способностью фиксировать молекулярный азот, и назвал её *Azotobacter chroococcum*. В родовом названии отражена способность бактерии к фиксации азота, а видовое название связано с её свойством синтезировать коричневый пигмент (*chroo*) и образовывать кокковидные клетки (*coccus*). *Azotobacter* является примером свободноживущих микроорганизмов, то есть организмов, которые могут существовать независимо от наличия растений поблизости.

Azotobacter развивается нормально при условии, что почва достаточно увлажнена, имеет нейтральную или слабощелочную реакцию, а также содержит простые органические соединения, фосфор, кальций и несколько микроэлементов, таких как молибден, магний и железо. Его распространение ограничено из-за высокой чувствительности к составу почвы и внешним условиям.

В торфяниках *Azotobacter* встречается в небольших количествах, а в солонцах и солончаках присутствуют солеустойчивые виды. В кислых подзолистых почвах колонии азотобактера, если и встречаются, то обычно имеют низкую активность.

Микробиологическая активность наиболее выражена в черноземах, особенно весной и в начале лета, когда температура почвы и ее влажность находятся в оптимальном диапазоне. Поэтому наибольшее количество этой культуры образуется весной. В огородных, хорошо окультуренных почвах *Azotobacter* встречается в больших количествах [1].

Таким образом, можно заключить, что *Azotobacter* является индикатором уровня окультуренности почвы. В почвах России преобладает вид *Azotobacter chroococcum* [2].

Azotobacter chroococcum является самым распространенным видом, но это не значит, что он единственный. Еще одним представителем рода *Azotobacter* является *Azotobacter vinelandii*, который растет при более высоких температурах и более устойчив к различным условиям окружающей среды.

Также есть достаточно известный вид, который был назван в честь Мартина Бейеринка, *Azotobacter beijerinckii*. Он отличается высокой активностью азотфиксации, однако менее устойчив к неблагоприятным условиям, чем *Azotobacter chroococcum*.

Существует и такой вид, который ассоциирован с корнями некоторых тропических трав — *Azotobacter paspali*. Данный вид лучше себя чувствует в тропических и субтропических почвах, и он более специализирован на взаимодействии с растениями.

Реже других встречается *Azotobacter armeniacus*, а также является менее изученным по сравнению с другими видами.

Представители рода *Azotobacter* чаще всего обитают в нейтральных и слабощелочных почвах, а также в пресноводных водоемах и солоноватоводных болотах. Однако, некоторые представители *Azotobacter*

были обнаружены и в экстремальных условиях: в почвах северного и южного полярного и антарктического региона *Azotobacter* нередко образуют симбиотическую связь с растениями и живут в ризосфере – узком слое почвы, прилегающем к корням растения толщиной около 2-5 мм. Представители данного рода получают энергию в ходе окислительно-восстановительных реакций, используя углеводы, спирты и соли органических кислот. Азотфиксаторы способны фиксировать по крайней мере 10 микрограмм (микрограмм = 10^{-6} грамм) азота на один грамм потреблённой глюкозы. Бактерии *Azotobacter* способны расти и осуществлять процесс фиксации азота в диапазоне pH от 4,8 до 8,5, а оптимальным для жизнедеятельности данных организмов считается диапазон pH 7,0 — 7,5.

Дефицит питательных элементов, засоление почв, наличие тяжелых металлов, биоциды, ограниченная влажность и сочетание всех вышеперечисленных неблагоприятных условий может приводить к исчезновению популяции азотфиксаторов и изменению микробиоценоза почвы. Задача поиска штаммов азотфиксаторов, устойчивых к дефицитным (стрессовым) условиям, является очень актуальной. Современные исследователи регулярно находят и описывают новые азотфиксирующие бактерии, однако их внедрение в сельское хозяйство затрудняется низкой азотфиксирующей активностью в стрессовых условиях.

В рамках данной работы участникам проводилось исследование почвенных образцов, собранных на территории Пензенской области и азотобактерий, которые в них обитают.

Планируемые этапы работы:

1. Проанализировать в каких близлежащих почвенных объектах вероятнее всего встретить *Azotobacter*;
2. Завести лабораторный журнал – тетрадь или блокнот, в котором можно фиксировать все свои действия;
3. Заложить почвенный разрез;

4. Присвоить разрезу номер, зафиксировать его в журнале и указать него место сбора, GPS-координаты;
5. Указать в журнале, как используется исследуемый почвенный участок почвы в данный момент;
6. Определить механический состав почвы;
7. Определить наличие карбонатов в почве;
8. Из среза с помощью лопатки отобрать образец почвы и перенести в пакет из полимерных материалов с zip-lock.

ГЛАВА 3. РЕАЛИЗАЦИЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПРОЕКТА «ОХОТНИКИ ЗА МИКРОБАМИ» — КРАУДСОРСИНГОВЫЙ НАУЧНЫЙ ПРОЕКТ

3.1. Методика организация проектной деятельности

Данная работа проводилась и организовывалась совместно с учениками МБОУ СОШ №71, которых сплотила прекрасный педагог, учитель высшей категории этой школы Суркова Оксана Евгеньевна.

В рамках проекта «Охотник за микробами» рекомендовалось проводить исследование поверхностных разрезов почв (такие разрезы обычно выполняются в местах, где ожидается смена одного типа почвы на другой, глубина почвенных разрезов составляет от 0,40 до 0,70 метра.). Объяснялось это тем, что для создания основных (это те разрезы, которые закладывают до глубины материнских пород) и контрольных (это те разрезы, по которым обычно изучают мощность гумусовых горизонтов) разрезов необходимы как опыт, так и физическая подготовка.

Поэтому выбор пал на закладывание поверхностных разрезов. С их помощью возможно детальное изучение морфологических свойств почвы, а также взятие образцов для физического и химического анализа впоследствии.

Перед тем как начать исследование было преодолено несколько важных этапов. Одним из них являлось планирование этапов работы.

Планируемые этапы работы выглядели следующим образом:

1. Проанализировать в каких близлежащих почвенных объектах вероятнее всего встретить *Azotobacter*;
2. Завести лабораторный журнал – тетрадь или блокнот, в котором можно фиксировать все свои действия;
3. Заложить почвенный разрез;
4. Присвоить разрезу номер, зафиксировать его в журнале и указать него место сбора, GPS-координаты;

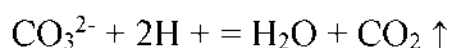
5. Указать в журнале, как используется исследуемый почвенный участок почвы в данный момент;
6. Определить механический состав почвы;
7. Определить наличие карбонатов в почве;
8. Из среза с помощью лопатки отобрать образец почвы и перенести в пакет из полимерных материалов с zip-lock.

Начальный работы был посвящен отбору и первичному исследованию почв. В ходе исследования были использованы такие компоненты как: 0,1М раствор HCl, пипетки Пастера, полимерные пакеты с zip-lock.

Первичное исследование предполагало использование определенных методик.

Например, 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.

А также особая методика по определению карбонатов в почве. Нужно было открыть флакон с 0,1 М HCl и набрать кислоту в пипетку Пастера. С помощью пипетки нанесите кислоту на почвенный срез на разной глубине: на 10 см, 20 см, 30 и 40 см. Если в почве находится значительное количество карбонатов, то на срезе будет наблюдаться вспенивание. Карбонаты способны реагировать с соляной кислотой по следующей реакции:



В результате реакции выделяется углекислый газ, который и обуславливает вспенивание.

На следующем этапе следовал посев и контроль процесса роста колоний бактерий *Azotobacter*.

Этот этап включал в себя следующие разделы:

1. Подготовительный этап:

На подготовительном этапе понадобились Чашки Петри, которые состояли из двух частей: чашки (глубокая часть, с меньшим диаметром) и крышки (часть с большим диаметром).

Перед началом работы с объектом исследования следовало сначала вырастить колонии азотобактерий.

Для этого на белом листе бумаги следовало обвести контур чашки Петри, т.е. той части, у которой меньший диаметр, и нарисовать трафарет в клетку фиксированным размером 1х1 см. (рис. 1).

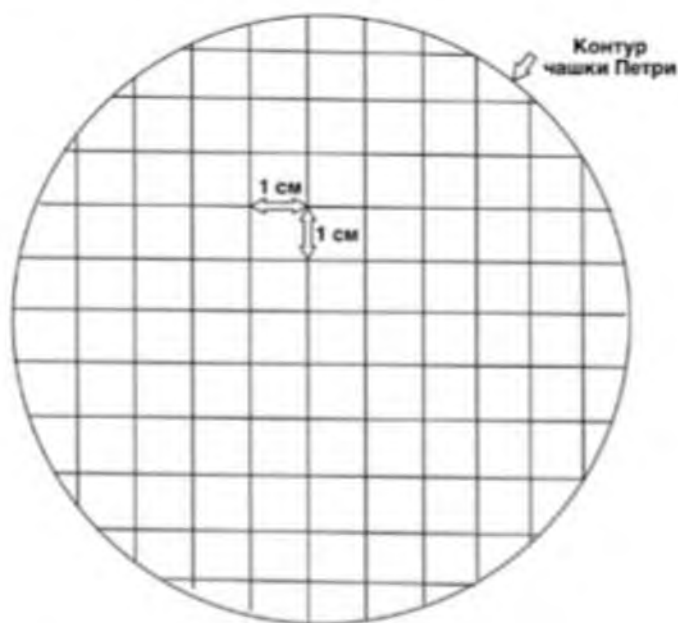


Рисунок 1. Трафарет для рассадки колоний

2. Приготовление вспомогательного раствора;

Приготовление вспомогательного раствора производилось только единожды, и использовался в течение всего исследования.

Для его приготовления потребовалась мерная колба объемом 1 литр, в которую предварительно было налито 300-400 мл воды.

Далее в колбу высыпалось содержимое флаконом с NaCl , K_2SO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и K_2HPO_4 и перемешать содержимое до полного растворения

осадка. После довести раствор до метки водой, вновь перемешать, и убедиться в отсутствии осадка.

3. Приготовление среды Эшби;

Для приготовления среды сначала следовало приготовить навески, взвешенные на аналитических весах: 1 г CaCO_3 , 3 г Агара и 4 г глюкозы.

Перенести навески в химический стакан, где предварительно было налито 200 мл вспомогательного раствора. Полученную смесь перемешивать до состояния однородной взвеси.

Далее полученную смесь ставят на плиту и кипятят до максимального растворения компонентов, после охлаждают до 50-60⁰С и заполняют ей чашки Петри так, чтобы она покрывала дно. Таким образом на каждую чашку уходило где-то 20-25 мл смеси.

4. Подготовка почвы для анализа;

Предварительно образцы почв просеивали через сито, для того чтобы убрать лишние комки, остатки растительности, камни и мусор, а также высушивали.

Отмеряли приблизительно 3 грамма почвы и помещали в пустую чашку Петри. К ней по каплям с помощью пипетки Пастера добавляли дистиллированную воду, чтобы в конечном итоге получилась пастообразная масса, которую после перемешивали при помощи зубочистки (рис. 2).



Рисунок 2. Внешний вид пастообразной массы

5. Посев колоний;

Из увлажненной почвы отделяли 40-50 комочком диаметром ~3-4 мм. Чашку Петри, заполненную застывшей средой, размещали на трафарете, совместив края чашки с контуром трафарета.

В чашке Петри в узлах трафарета размещали подготовленные комочки земли. Для размещения комочков использовалась зубочистка (рис. 3).

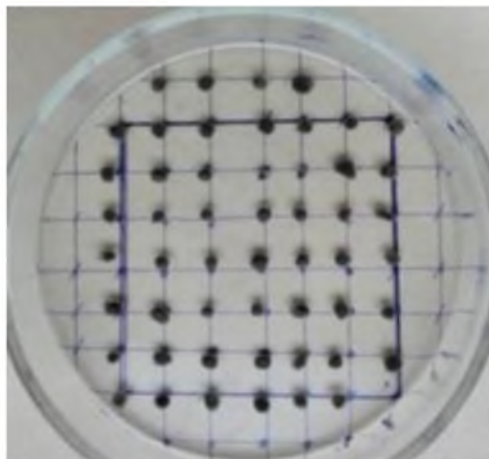


Рисунок 3. Схема расположения комочков в чашке Петри

Чашки Петри накрывали крышками и оставляли на 3-4 дня при комнатной температуре, в немного влажной среде.

6. Наблюдаемые эффекты после посева;

По истечению 3-4 дней вокруг комочков появились обрастания (рис. 4).



Рисунок 4. Обрастания в чашках спустя 3-4 дня

А через 6-8 дней обрастания приобретали окрашивание (рис. 5).

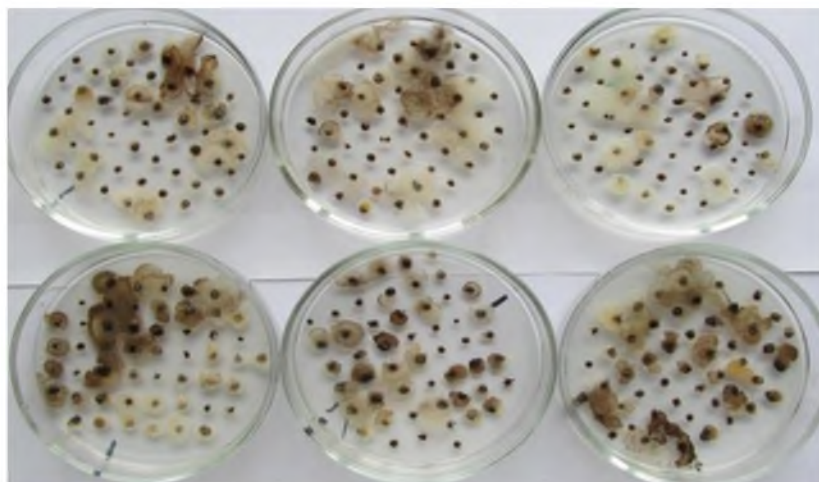


Рисунок 5. Обрастания в чашках спустя 6-8 дней

Azotobacter chroococcum, который обитает во всех типах почв (кроме кислых), образует колонии с темным бурым пигментом. Для *Azotobacter agilis* характерны бесцветные колонии. *Azotobacter vinelandii* образует колонии с флуоресцирующую желтовато-зеленоватой окраской.

7. Описание результатов и фиксирование их в таблицу;

В ходе описания были зафиксированы фотографии содержимого чашек после обрастания спустя 3-4 дня и 6-10 дней. А также данные были занесены в таблицу по описанию развития колоний.

8. Микроскопическое исследование полученных образцов;

Данный этап работы проводился через 6-7 дней после посева культуры бактерий.

Первостепенно нужно было протереть предметное стекло спиртовой салфеткой для удаления загрязнений и жирового слоя. Далее в чашках Петри, засеянных 6-7 дней назад, выбрать несколько колоний («обрастаний») с разной окраской.

После отбора пробы от заинтересовавших колоний для микроскопического исследования: с помощью зубочистки извлекли небольшое количество биомассы. Отобранный образец колоний перенесли на предметное стекло, размазали по центральной части предметного стекла.

С помощью пипетки Пастера на предметное стекло в центр площади, покрытой образцом, наносили каплю фуксина Циля;

При нанесении красителей (туши и фуксина Циля) важно было наносить минимально возможный объем красителя – это предотвращало сильное растекание образца по стеклу.

Далее в тоже место, что и фуксин Циля, с помощью пипетки Пастера, наносили каплю туши. Зубочисткой перемешали красители и биомассу, находящиеся на стекле, до равномерного тонкого слоя грязно-розового цвета.

Получившийся препарат высушить на воздухе. Процесс сушки занимал от 10 до 30 минут.

После высушивания, на препарат наносили каплю воды, и приступали к изучению полученного препарата с помощью светового микроскопа при увеличении $\times 100$ (объектив 40, окуляр 10) и делали микрофотографии полученных образцов (рис. 6).

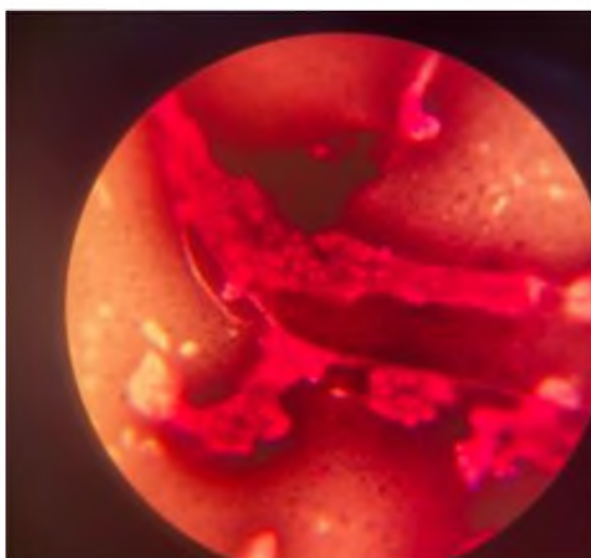


Рисунок 6. Микрофотографии полученных образцов

9. Подготовка образцов к дальнейшим исследованиям.

Дальнейшее исследование образцов проводилось в научно-исследовательском центре.

Для успешной доставки образцов в научно-исследовательский центр следовало провести следующие подготовительные процедуры:

- 1) Взять остатки приготовленной среды Эшби;
- 2) Подписать пробирки, указав название/номер образца и название команды;
- 3) Наливали в пробирку 1 мл среды Эшби;
- 4) Дожидались застывания среды;
- 5) Зубочисткой отбирали небольшое количество «обрастания» (колонии, которую планируется послать на исследование);
- 6) Застывшую в пробирке среду Эшби прокалывали зубочисткой, на которой находится образец колонии бактерий. Операцию прокалывания можно было повторять несколько раз, для того чтобы поместить в среду достаточное количество бактерий;
- 7) Пробирку плотно закрывали;
- 8) Квадратный фрагмент ленты Parafilm разрезали на 5 фрагментов;
- 9) Отделяли защитный бумажный слой от фрагмента ленты;
- 10) Внутренней частью (той, которая была защищена бумажным слоем) прикладывали ленту к крышке пробирки;
- 11) Обматывали горло и крышку пробирки несколько раз, растягивая один фрагмент ленты Parafilm, так как нужно было максимально герметично замотать место соприкосновения крышки и горла пробирки;
- 12) Пробирку вложить в пакет с zip-lock;

После участия в первоначальном этапе исследования и отбора почвенных образцов, было принято решение продолжить экспериментальную работу непосредственно на кафедре. В рамках данной работы были проведены лабораторные исследования, включающие отбор проб, подготовку водных вытяжек и качественный анализ на содержание ионов.

Пробоотбор осуществлялся заранее в различных точках, с обязательным пронумерованным образцом. Для подготовки почвы к дальнейшему анализу удалялись посторонние включения (камни, растительные остатки), тщательно

разминала образец и, при наличии возможности, просеивала его через сито с ячейкой 2 мм (иногда использовался обычный кухонный дуршлаг).

Высушивание образцов проводилось на воздухе в течение 1–2 суток, в зависимости от температуры помещения. Почва размещалась в кюветах или поддонах, обеспечивающих равномерное испарение влаги.

Далее следовал этап приготовления вытяжек. Для приготовления вытяжки я отвешивала на технических весах 10 г воздушно-сухой почвы, помещают навеску в колбу объемом 100 мл, добавляла 50 мл дистиллированной воды, после чего герметично закрывали резиновой пробкой. Смесь периодически взбалтывалась в течение 3-х минут.

Перед фильтрацией колбу встряхивала, чтобы взвесить осадок, и переливала содержимое на фильтр. Для этого мы использовали плотный фильтр и поверх него — складчатый фильтр, соответствующий размеру воронки (на 0,5–1 см ниже края). Иногда применялись двойные фильтры для ускорения процесса. Почва, задерживая коллоидные частицы, способствовала получению прозрачного фильтрата.

Важно было следить за тем, чтобы края фильтра не выходили за край воронки, так как это могло привести к капиллярному подъему раствора и искажению результатов. Для предотвращения испарения вытяжки при медленной фильтрации воронку накрывали покровным стеклом, а горлышко колбы — ватным тампоном.

После фильтрации отбирались 25 мл прозрачного фильтрата, используя мерный цилиндр, и переносили его в стеклянный стакан объемом 50 мл для анализа.

И заключительным этапом был качественный анализ содержания ионов и определение реакции среды.

Для анализа использовались следующие приборы и реактивы:

– Колбы (100 мл), пробирки (5 мл), мерные пипетки (10 мл), газовая горелка;

– Реактивы: 10% H_2SO_4 , 5% AgNO_3 , 10% HCl , 10% BaCl_2 , 10% CH_3COOH , 4% $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$, фенолфталеин, метилоранж.

1. Определение хлорид-ионов (Cl^-):

В пробирку вносились 5 мл вытяжки, подкисляла 2 каплями 10% H_2SO_4 и добавлялись несколько капель 5% раствора AgNO_3 . По появлению белого осадка AgCl оценивалось наличие хлоридов.

2. Определение сульфат-ионов (SO_4^{2-}):

В аналогичную пробирку вносились 5 мл вытяжки, добавлялись 2 капли 10% HCl и 2–3 капли 5% BaCl_2 . По появлению осадка BaSO_4 судили о присутствии сульфатов.

3. Определение кальций-ионов (Ca^{2+}):

К 5 мл вытяжки добавляли каплю 10% CH_3COOH и 2–3 капли 4% раствора $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$. По степени образования осадка CaC_2O_4 делали вывод о концентрации кальция.

4. Определение реакции среды:

В колбу объёмом 100 мл наливали 10 мл вытяжки и добавляли каплю фенолфталеина. Появление розового цвета указывало на наличие соды (щелочная реакция).

При нейтральной окраске раствор упаривался над горелкой на одну треть объема. Появление розовой окраски свидетельствовало о наличии бикарбонатов. Также проводили дополнительный тест с метилоранжем: добавление 1–2 капель к новой порции вытяжки окрашивало ее в розовый или желтый цвет, в зависимости от кислотности раствора.

Все результаты были оформлены в виде таблиц.

Наше участие в проекте заключалось в том, чтобы, используя оборудование и реактивы кабинета микробиологии, оказать практическую и методическую помощь в проведении анализов проекта.

Непосредственно наше участие заключалось в приготовлении вспомогательного раствора, который уже впоследствии использовался на

протяжении всего исследования. И одно из использований понадобилось для приготовления среды Эшби, которая использовалась как питательная среда для роста азотобактерий. При этом параллельно с наглядной демонстрацией происходило и теоретическое объяснение и разъяснение каждого этапа работы. К примеру, рассказывались правила работы с лабораторной посудой и приборами, а работы в самой лаборатории (рис. 7).



*Рисунок 7. Реализация проекта «Охотники за микробами» на кафедре
«Общая биология и биохимия»*

Совместно с обучающимися происходила подготовка почвы для анализа. И уже после производился непосредственный посев колоний с заранее приготовленной и застывшей средой Эшби. После того как колонии были посеяны, чашки с образцами были оставлены на некоторое время для роста колоний.

Следующим шагом было проведено микроскопическое исследование образцов. Для этого использовалась методика окраски бактерий по Грамму (рис. 8). По всем образцам были сделаны микрофотографии, по которым производился их последующий анализ.

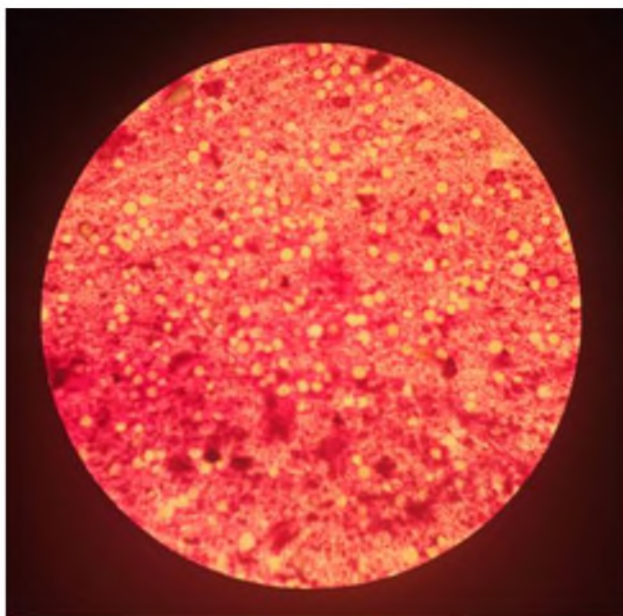


Рисунок 8. Микроскопический препарат *Azotobacter*, выделенный из анализируемых образцов почв

3.2. Полученные результаты и их обсуждение

В ходе работы была проведена оценка почв на территории Пензенской области. Образцы были взяты с 10 разных точек в 3-х повторностях. По механическому составу их можно отнести преимущественно к среднесуглинистым и тяжелосуглинистым почвам, средняя кислотность которых колеблется от 6,9 pH (слабокислые). Минимальный порог кислотности 6,8 (таблица 2).

Представители рода *Azotobacter* выделены во всех образцах. Так как *Azotobacter* живет в нейтральных почвах (pH 7-8), то можно предположить, что выделенные бактерии относятся к виду *Azotobacter chroococcum*, который обитает в почвах всех типов, кроме кислых и образует колонии с бурым, почти черным пигментом. Для *Azotobacter agilis* характерны бесцветные колонии. *Azotobacter vinelandii* образует колонии с флуоресцирующую желтовато-зеленоватой окраской.

Таблица 2 — Усредненные показатели по полученным образцам.

тип растительности	координаты	№ образ-ца	4 д. СВЕТЛЫЕ (%) обрастание	4 д. темные (%) обрастание	7 д. СВЕТЛЫЕ (%) обрастание	7 д. темные (%) обрастание	10 д. СВЕТЛЫЕ (%) обрастание	10 д. темные (%) обрастание	*Всего % обрастаний на 10й день	Содержание органики (2%; мкгС/кг)	Содержание органики (5%; мкгС/кг)	Дыхание почвы (мг/100г почвы)	pH	Шифр почвы	Почва 04.04.2023	Точка
Засолённый луг	53.096543, 45.008791	1	22	0	63	11	5	76	81	300	300	1,15	6,8	1,3		1 (23ПО2731 - 23ПО2733)
Остепнённый луг	53.097310, 45.008169	2	17	2	26	13	16	43	59	300	600	0,54	6,9	1,0		2 (23ПО2734 - 23ПО2736)
Засолённый луг	53.096774, 45.008380	3	2	0	50	0	44	13	57	660	600	0,56	6,9	1,0		3 (23ПО2737 - 23ПО2739)
Засолённый луг	53.096888, 45.008660	4	36	0	73	0	45	36	81	300	1000	2,34	7,1	1,0		4 (23ПО2740 - 23ПО2742)
Остепнённый луг	53.097065, 45.008737	5	32	0	86	2	17	70	87	300	1600	1,54	7,1	1,3		5 (23ПО2743 - 23ПО2745)
Влажный луг	53.097026, 45.010140	6	0	0	0	0	3	0	3	300	300	1,83	7,1	2,7		6 (23ПО2746 - 23ПО2748)
Влажный луг	53.098052, 45.011359	7	19	0	85	0	27	61	88	600	1000	2,19	7,1	2,3		7 (23ПО2749 - 23ПО2751)
Влажный луг	53.098451, 45.012048	8	17	0	64	0	35	41	76	600	600	1,21	7,1	2,7		8 (23ПО2752 - 23ПО2754)
Остепнённый луг	53.098681, 45.015620	9	37	0	67	11	27	60	87	1600	2200	0,08	6,9	4,0		9 (23ПО2755 - 23ПО2757)
Ковыльная степь	53.099355, 45.016743	10	2	2	26	4	31	4	35	2000	2200	1,92	6,9	3,7		10 (23ПО2758 - 23ПО2760)

Карбонаты в почвах не обнаружены. Для данных почв характерен недостаток фосфора, поэтому наиболее активно азотобактерии развивались в почвах, в которые были внесены минеральные удобрения, содержащие, помимо азота, фосфор, калий, магний, кальций. Можно предположить, что в образце почвы, на которых не произошло разрастание колоний, содержится избыточное количество удобрений.

То, что касается роста колоний, можно говорить о том, что прослеживаются определенные закономерности. Например, в зависимости от гранулометрического состава почвы, прослеживается закономерность, если образец почвы легко-среднесуглинистого типа, то рост колоний достаточно интенсивный, если средне-тяжелосуглинистый – рост колоний почти незначительный на протяжении длительного времени.

Так же можно утверждать о том, что рост колоний зависит и от содержания органики в почве. Чем ниже содержание органики, тем ниже интенсивность роста. Это связано с тем, что азотобактер в процессе жизнедеятельности использует углерод органических соединений, поэтому плохо развивается на обедненных почвах (рис. 9).

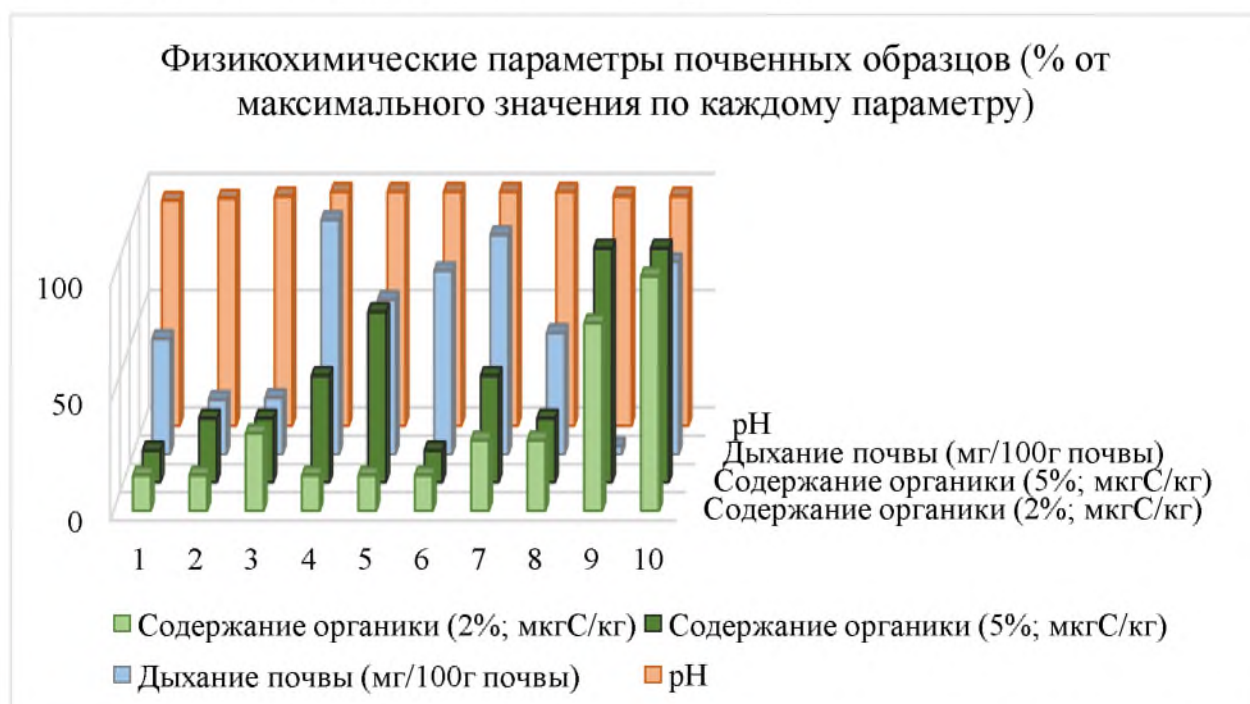


Рисунок 9. Физикохимические параметры почвенных образцов

Однако азотобактер смог вырасти на каждом образце почвы, и уже в последующем было проведено микроскопирование (рис. 10).

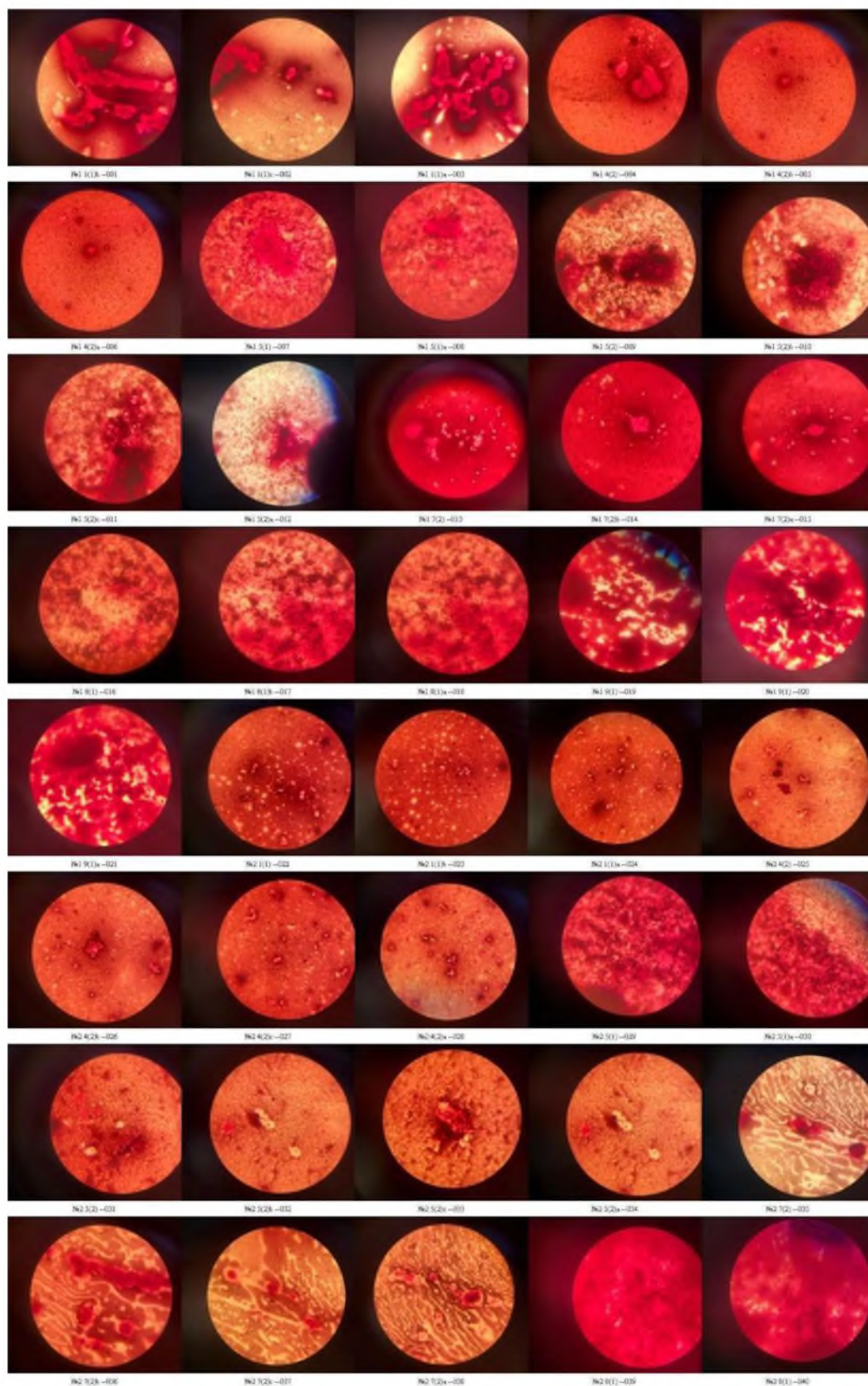


Рисунок 10. Фотографии микропрепаратов по изученным образцам почв

Если говорить о форме азотобактера, то преимущественно преобладали кокки и палочковидные формы.

Выбранные в процессе работы образцы почв и выделенных бактерий были отправлены на исследования. Внесены данные по почвенным и бактериальным образцам в базу данных атласа почвенных микроорганизмов.

Касательно личного вклада, следует сказать о том, что была оказана помощь в освоении методики работы с микробиологическими объектами. Мы показали, как готовить не только вспомогательный раствор, но и среду Эшби, и каким образом производить посев колоний на ней.

Ученики познакомились с оборудованием кафедры, проведена профориентационная работа – ученики были заинтересованы, учитель выразил благодарность (рис. 11).



*Рисунок 11. Реализация проекта «Охотники за микробами» на кафедре
«Общая биология и биохимия»*

В дальнейшем изучении почвенных образцов проводилось исследование на содержание ионов, а именно Cl-ионов, SO₄-ионов, Ca-ионов, в трех повторностях для каждой точки сбора (рис. 12).

Таблица 3 — Данные по исследованию почвенных образцов на содержание ионов.

Содержание Cl-ионов					
Номер точки	Номер повторности	Вид осадка	в мг 100 мл выжимки (г)	в г 100 г почвы	Количество мл выжимки для определения Cl-ионов
1	1(1)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
	1(2)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
	1(3)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
2	2(1)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
	2(2)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
	2(3)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
3	3(1)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
	3(2)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
	3(3)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
4	4(1)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
	4(2)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
	4(3)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
5	5(1)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
	5(2)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
	5(3)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
6	6(1)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
	6(2)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
	6(3)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
7	7(1)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
	7(2)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
	7(3)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
8	8(1)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
	8(2)	опавшие листья	1-0,1	0,001-0,009	10
	8(3)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
9	9(1)	элементарный а	>10	0,1-0,9	10
	9(2)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
	9(3)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
10	10(1)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10
	10(2)	элементарный а	>10	0,1-0,9	10
	10(3)	сильная муть	10-5	0,01-0,09	10

Содержание SO ₄ -ионов					
Номер точки	Номер повторности	Вид осадка	в мг 100 мл выжимки (г)	в г 100 г почвы	Количество мл выжимки для определения SO ₄ -ионов
1	1(1)	большой осадок, с	50	0,1-0,9	10
	1(2)	большой осадок, с	50	0,1-0,9	10
	1(3)	большой осадок, с	50	0,1-0,9	10
2	2(1)	большой осадок, с	50	0,1-0,9	10
	2(2)	большой осадок, с	50	0,1-0,9	10
	2(3)	большой осадок, с	50	0,1-0,9	10
3	3(1)	большой осадок, с	30	0,1-0,9	10
	3(2)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	3(3)	большой осадок, с	50	0,1-0,9	10
4	4(1)	большой осадок, с	30	0,1-0,9	10
	4(2)	большой осадок, с	30	0,1-0,9	10
	4(3)	большой осадок, с	30	0,1-0,9	10
5	5(1)	большой осадок, с	50	0,1-0,9	10
	5(2)	большой осадок, с	50	0,1-0,9	10
	5(3)	большой осадок, с	30	0,1-0,9	10
6	6(1)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	6(2)	большой осадок, с	50	0,1-0,9	10
	6(3)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
7	7(1)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	7(2)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	7(3)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
8	8(1)	большой осадок, с	30	0,1-0,9	10
	8(2)	мут, помешан	1-0,1	0,001-0,009	10
	8(3)	мут, помешан	1-0,1	0,001-0,009	10
9	9(1)	мут, помешан	1-0,1	0,001-0,009	10
	9(2)	медленно помешан	10-5	0,01-0,09	10
	9(3)	медленно помешан	10-5	0,01-0,09	10
10	10(1)	медленно помешан	1-0,1	0,001-0,009	10
	10(2)	медленно помешан	1-0,1	0,001-0,009	10
	10(3)	медленно помешан	1-0,1	0,001-0,009	10

Содержание Ca-ионов					
Номер точки	Номер повторности	Вид осадка	в мг 100 мл выжимки (г)	в г 100 г почвы	Количество мл выжимки для определения Ca-ионов
1	1(1)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
	1(2)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
	1(3)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
2	2(1)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	2(2)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
	2(3)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
3	3(1)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
	3(2)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	3(3)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
4	4(1)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
	4(2)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
	4(3)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
5	5(1)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
	5(2)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
	5(3)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
6	6(1)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	6(2)	большой осадок, в	>50	0,1-0,9	10
	6(3)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
7	7(1)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	7(2)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	7(3)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
8	8(1)	большой осадок, с	>50	0,1-0,9	10
	8(2)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	8(3)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
9	9(1)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	9(2)	слабая муть, помешан	1-0,1	0,001-0,009	10
	9(3)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
10	10(1)	слабая муть, помешан	1-0,1	0,001-0,009	10
	10(2)	мут, помешан	10-1	0,01-0,09	10
	10(3)	слабая муть, помешан	1-0,1	0,001-0,009	10

В общем можно сказать, что значительного различия между повторностями не наблюдалось (рис. 12). В частности, можно говорить о том, что для легкосуглинистых почв характерно содержание SO₄-ионов и Ca-ионов, нежели Cl-ионов. В то время как для тяжелосуглинистых образцов характерно приблизительно одинаковое содержание всех ионов.

Содержание ионов Ca в целом, положительно влияет на рост азотобактерий. Но только в умеренном количестве, его избыток замедляет рост.

Ионы Cl положительно влияют в малых количествах. Его избыточное содержание ведет к засолению почвы.

Положительно влияют и SO₄-ионы, если они в умеренном количестве. Его избыток приводит к замедлению роста.

Также важно и соотношение ионов. В большинстве своем смотрят на соотношение SO₄-ионов и Cl-ионов. Если один начинает преобладать над другим, то это может привести к нарушению осмотического баланса почвы.

Угнетаются ферменты, которые необходимы для жизнеспособности организмов. Теряется вода из бактериальных клеток.

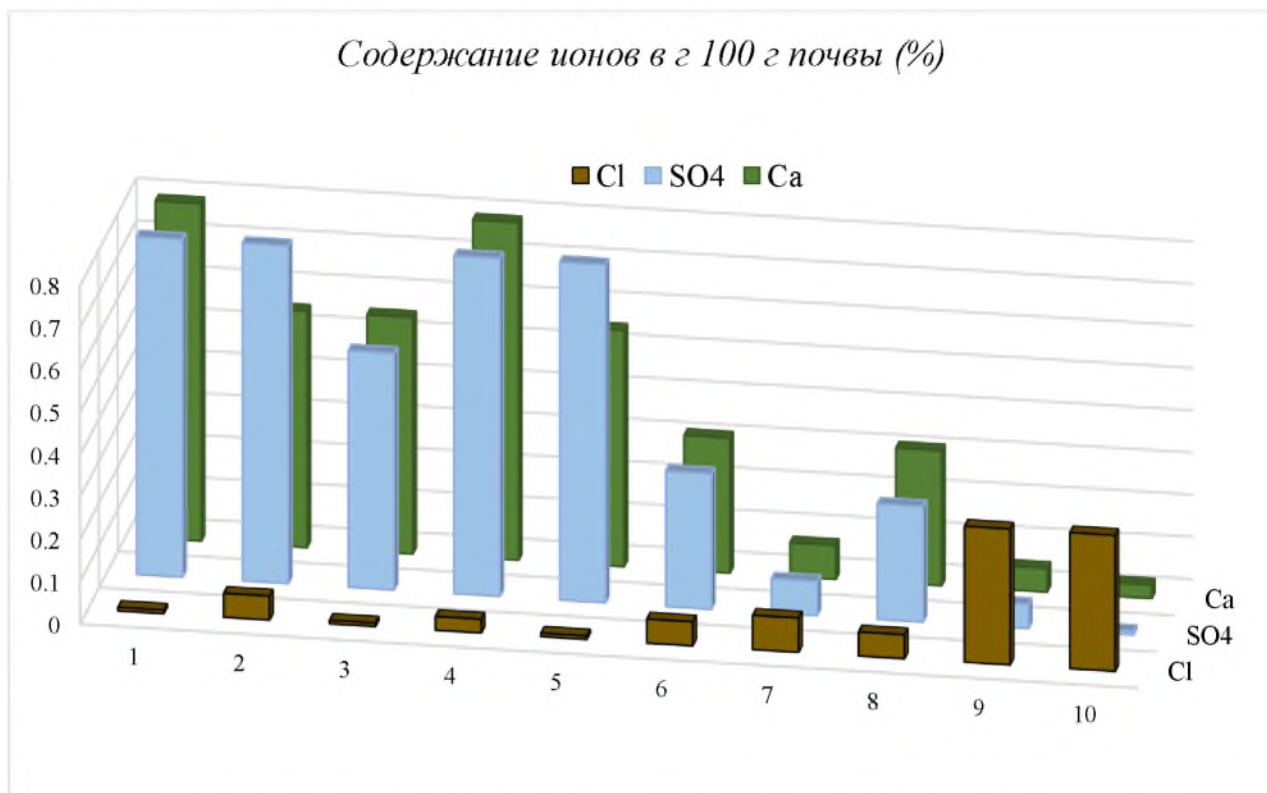


Рисунок 12. Содержание ионов в г 100 г почвы (%)

У среднесуглинистых образцов данные варьируются от точек сбора, к примеру, если содержание Cl-ионов больше в сравнении с другими, то в другом случае наблюдается преобладание SO₄-ионов и Ca-ионов над Cl-ионами.

У глинистых образцов заметное преобладание Cl-ионов над другими.

В целом преобладание Cl-ионов говорит о повышенной засоленности почв. можно говорить о том, что ухудшается структура почвы, и можно предположить, что и повышается содержание Na-ионов, которые указывают на возможность щелочного засоления. Это будет свидетельствовать в дальнейшем о том, что почва будет становиться более плотной и аэрация будет становиться хуже. То есть есть риск токсичности и снижения плодородия.

Преобладание SO₄-ионов может говорить о сульфатном засолении почв, оно менее токсичное, нежели хлоридное. Однако в больших количествах

может угнетать рост растений. Данный тип засоления тесно связан с содержанием кальция в почве, что будет свидетельствовать о нарушенном катионном балансе, неблагоприятном для растений.

Преобладание Са-ионов показывает низкую степень засоления, так как кальций обычно присутствует в почве в качестве карбонатов и гипса, токсичности он не вызывает. В целом кальций способствует агрегации почвенных частиц, тем самым улучшая структуру почвы. Это, в свою очередь, повышает водо- и воздухопроницаемость почв. Соответственно щелочное засоление как таковое отсутствует, что указывает на благоприятные условия для большинства культур.

Полученные данные соответствуют литературным, поэтому в ходе проделанной работы можно сделать следующие выводы.

Во-первых, говоря о характеристике почвы, содержание органики благоприятно влияет на дыхание почвы, повышая урожайность сельхозкультур. Почвенное дыхание связано с содержанием органического вещества почвы и микробиологической активностью почвы: то есть, чем активнее и плодороднее почва, тем выше уровень дыхания и выше выбросы CO_2 . Чрезмерное использование органических удобрений нарушают течение вегетации растений и ухудшают структуру почвы. Это приводит к снижению плодородия почвы, что, в свою очередь, снижает урожайность. В работе фигурировали такие показатели как «содержание органики (2%; мкгС/кг)» и «содержание органики (5%; мкгС/кг)». Общее содержание органического вещества в почве – около 10%. Собственно 2% – это довольно низкое содержание, а значит необходимо дополнительное внесение удобрений в почву для повышения ее плодородия. А 5% процентов – удовлетворительное значение, и плодородие почвы значительно повышать не требуется.

Данные закономерности наблюдаются в точках 40-42 (Засоленный луг), 49-51 (Влажный луг), 43-45 (Остепненный луг).

Во-вторых, говоря про обрастание, можно заметить, что между темными и светлыми образцами видна значительная разница. Интенсивность обрастания светлых значительно превышает темные на 4 и 7 дни. Однако на 10 день же наоборот, наблюдается резкое повышение обрастания темными в сравнении со светлыми.

Наиболее интенсивное обрастание наблюдается в точках 43-45, 55-57, 49-51, 40-42. Наименьшее обрастание наблюдается в точках 46-48, 58-60, 37-39.

Карбонаты в почвах не обнаружены. Для данных почв характерен недостаток фосфора, поэтому наиболее активно азотобактерии развивались в почвах, в которые были внесены минеральные удобрения, содержащие, помимо азота, фосфор, калий, магний, кальций. Можно предположить, что в образце почвы, на которых не произошло разрастание колоний, содержится избыточное количество удобрений, или же недостаточное их количество. То, что касается роста колоний, можно говорить о том, что прослеживаются определенные закономерности. Например, в зависимости от гранулометрического состава почвы, прослеживается закономерность, если образец почвы легко-среднесуглинистого типа, то рост колоний достаточно интенсивный, если средне-тяжелосуглинистый – рост колоний почти незначительный на протяжении длительного времени. Так же можно утверждать о том, что рост колоний зависит и от содержания органики в почве. Чем ниже содержание органики, тем ниже интенсивность роста, и наоборот. Это связано с тем, что азотобактер в процессе жизнедеятельности использует углерод органических соединений, поэтому плохо развивается на обедненных почвах.

Наиболее характерные почвы в точках сбора можно разделить на четыре группы: засоленный луг, остепененный луг, влажный луг, ковыльная степь. И для каждой группы характерна своя растительность. Например, для засоленного луга характерны такие растения как галофиты: Крестовник

Швецова, Осока светлая, Белозор, Василёк луговой, Бровник. Для остепненного луга характерны такие растения как Вейник наземный, Девясил иволистный, Хвощ, Стальник. Для влажных лугов характерны Девясил иволистный, Белозор болотный, Посконник коноплевый, Хвощ полевой, Крестовник Швецова.

Однако стоит учитывать, что заинтересованность участников-школьников может повыситься лишь тогда, когда они сами смогут интерпретировать полученные результаты. Для этого нужна предварительная теоретическая подготовка.

Важно именно понимание того, какие факторы влияют на рост азотобактерий в целом, и каким образом это происходит.

К примеру, кислотность почв является одним из ключевых факторов, которые оказывают влияние на рост азотобактера. Оптимальный интервал кислотности — 7,2-8,2, то есть ближе к нейтральной. Если среда кислая, то есть снижает активность и может привести к утрате способности фиксировать азот.

Азотобактерии являются мезофилами, и оптимальная для них температура где-то 25-30°C. Если температура становится выше, то наблюдается значительное снижение жизнеспособности клеток.

Также они требуют высокой влажности, так как ее недостаток ограничивает способность к азотофиксации. В минеральном составе предпочитают такие ионы, как фосфор, кальций, молибден, железо и другие.

В ходе работы использовалась и методика обработки статистических данных. Статистический анализ важная часть биологических исследований. Правильный выбор методов обеспечивает достоверность результатов. Частота и продолжительность наших измерений определялись конечной целью эксперимента и особенностями роста азотобактерий.

После окончания экспериментов, полученные данные были обработаны методами статического анализа данных, для определения различий между

образцами и полученными нами колоний азотобактерий. Для этого использовались такие методы как:

1. Графический анализ: помог нам интерпретировать полученную информацию в графическую форму, что наглядно показывает результат (рис. 13).

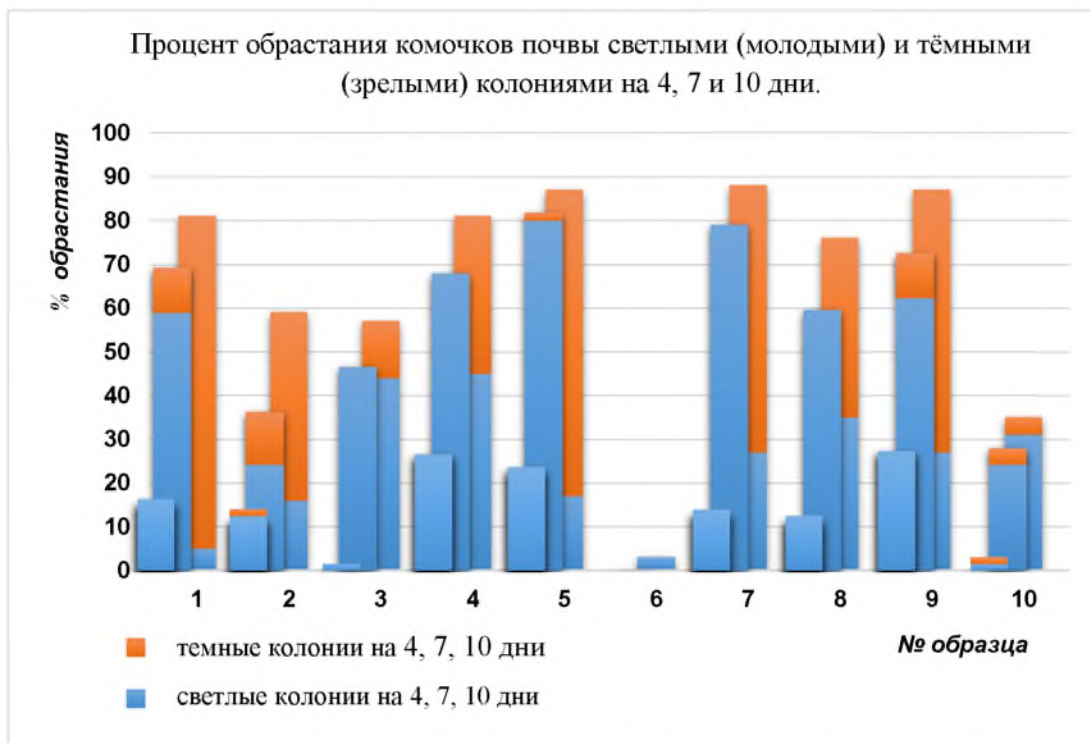


Рисунок 13. Процент обростаения комочков почвы светлыми и тёмными колониями на четвертый, седьмой, десятый дни

Из графика видно, что обростаение на образцах почв неравномерное. На четвертый день самая маленькая динамика скорости нарастания. Это можно увидеть по образцам №3 и №6. Самые большие показатели наблюдаются у образцов №4 и №9. Но это касается только обростаением темными колониями. В то время как светлые колонии есть только у образцов №2 и №10.

На седьмой день динамика обростаения меняется. Заметно увеличивается обростаение темными колониями у образцов №1, №3, №4, №5, №7, №8 и №9. Хуже это происходит у образцов №2 и №10. У образца №6 рост не наблюдался. Рост светлых колоний увеличился на образцах №1 и №9.

На десятый день увеличилось обрастание светлыми колониями на всех образцах, где почти на всех они преобладали. За исключением таких образцов, как №3, №4 и №10, где преобладали темные.

В конечном итоге общий процент обрастания наблюдается у образцов №5, №7 и №9. В каждом этом образце на четвертый и на седьмой день сначала преобладали темные колонии, на десятый уже светлый. Наименьший же процент обрастания у образцов №10 и №6. На №10 преобладают темные колонии и видна небольшая скорость и динамика роста. В то время как на №6 рост остановился уже на четвертый день.

Наименьший рост на четвертый день, в котором была лаг-фаза, связан с привыканием к условиям среды, поэтому рост медленный. В последующих днях бактерии находились в экспоненциальной фазе, где скорость нарастания массы была максимальной.

Различную скорость и динамику можно объяснить тем, что азотобактер не всегда равномерно распределяется в окружающей среде. Среда могла быть загрязнена другими микроорганизмами, которые вытеснили азотобактерии. Также неравномерное распределение по концентрации углерода в среде, неподходящая температура. А также короткое время инкубации.

2. Т-критерий Стьюдента: с помощью данного метода мы сравнивали среднее значение повторности для одного образца почвы, по количеству обросших комочков бактериями. Этот критерий помог нам определить местоположение образца с наилучшим и наихудшим ростом *Azotobacter*.

3. Дисперсионный анализ: данный метод позволил оценить какие из измеряемых нами факторов, оказывают влияние на рост исследуемых бактерий и насколько существенна разница между вариантами опыта (таблица 4).

Таблица 4 — Двухфакторный дисперсионный анализ с повторениями по всем исследованным параметрам. исследованных точек.

Дисперсионный анализ								
	Источник вариации	SS	df	MS	F	P-Значение	F критическое	
	ТОЧКИ Выборка	4508838	9	500982	1497555	0	1,926925325	
	ПОКАЗАТЕЛИ Столбцы	35408775	9	3934308	11760587	0	1,926925325	
	Взаимодействие	19988656	81	246773,5	737665	0	1,344750464	
	Внутри	66,90667	200	0,334533				
	Итого	59906336	299					

Результаты дисперсионного анализа показывает, что нулевая гипотеза отвергается. На самом высоком уровне, так как *P*-значение равно нулю, *F* критическое меньше *F* Фактического. Таким образом, статистически доказано, что на показатели всех точек сбора почвы и, в том числе, на рост азотобактера влияют все исследованные факторы.

Установлено, что почвы по этим показателям в разных точках отличаются достоверно. Существует взаимозависимость между показателями. Соотношение ионов в каждой точке взаимозависимо, пропорции ионов коррелируются между собой.

4. Среднее арифметическое значение: использовалось для определения среднего роста *Azotobacter*.

Для измерения роста *Azotobacter* мы использовали метод колониеобразования. Он в свою очередь позволил нам оценить количество жизнеспособных клеток бактерий на среде Эшби.

3.3. Методические рекомендации по организации проектной деятельности по биологии

Современный учитель сталкивается с задачей обучить учащихся осуществлять оптимальный выбор индивидуального образовательного

маршрута и способов его прохождения, что можно назвать "навигацией в образовании". Значимость проектной деятельности в образовательной практике имеет огромное значение, так как её правильная организация способна раскрыть творческие способности учащихся, сформировать ключевые компетенции, расширить социокультурное образовательное пространство и способствовать развитию одарённых детей.

Внедрение метода проектов в образовательный процесс подразумевает, что учитель должен осознавать важность готовности организовать проектную деятельность учащихся и управлять процессом проектирования для достижения успеха в обучении. Начинать следует с выбора темы учебного проекта, его типа и определения количества участников. Темы могут возникать спонтанно, быть выбранными из методической и справочной литературы, а также быть результатом наблюдений окружающего мира или желания сделать его лучше. Учащимся могут быть предложены как краткосрочные, так и средней и долгосрочные проекты.

В малочисленных классах становится критически важным активное участие каждого ученика в проектной работе. Учитель выступает в роли наставника. Он координирует работу учеников. Для того, чтобы получился наилучший результат, необходимо четко сформулировать проблемный вопрос. Из этого вытекают конкретные цели и задачи. А также непосредственно выбирается направление деятельности. Успешная реализация зависит от способностей обучающихся искать информацию.

Помимо этого, необходим контроль со стороны педагога за ходом работы. То есть обсуждение промежуточных результатов, а также помощь, если у ученика возникли вопросы.

Подготовка презентации проекта и создание логичной системы аргументации является ключевыми шагами. Крайне важно, чтобы ученики чётко понимали требования к оформлению проектной работы.

Окончанием проектной деятельности является защита проектов, коллективное обсуждение и оценка работ. Защита проектов позволяет школьникам развивать умения коммуникации, самооценки и оценки других. Во время защиты проектных работ учащиеся заполняют лист оценки проектной работы.

Для повышения эффективности учебно-воспитательного процесса используется проектный метод как на уроках, так и во внеурочной деятельности. Метод проектов во внеурочной деятельности позволяет реализовывать более продолжительные проекты и обеспечивает более глубокое и всестороннее обучение.

Именно данная работа достаточно интересна для школьников и учителей, так как она может быть использована как во внеурочной и внеклассной работе, но и быть развита в научный проект. Направления работы могут быть абсолютно разными: продолжить изучать почвы и их влияние на рост различных бактерий, выявить виды способные существовать на данных почвах, исследовать новые территории для сравнения с уже имеющимися результатами.

Однако вовлеченность обучающихся могла бы значительно возрасти, если бы они смогли самостоятельно интерпретировать полученные результаты. Это можно бы было сделать при их собственной постановки цели и условий опыта. Составляли бы самостоятельно таблицы и графики по количеству колоний по дням. Определяли бы как связаны условия среды с ростом бактерий. Объясняли бы наблюдаемое и сравнивали бы образцы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключении можно сказать о том, что в ходе работы была проанализирована концепция краудсорсинга на примере проекта «Охотники за микробами». Установлено, что вовлечение широкой аудитории, а именно от учащихся до профессиональных исследователей, способствует расширению географии микробиологических наблюдений, повышает научную грамотность и усиливает интерес к биотехнологиям и экологии.

И исходя из проделанной работы можно сделать следующие выводы:

1. Проект продемонстрировал высокий потенциал как образовательной, так и исследовательской платформы.
2. Благодаря использованию цифровых инструментов и доступных методик сбора проб, участники проекта смогли внести вклад в изучение микробного разнообразия азотфиксаторов, а также смогли выявить закономерности, факторы и комбинаций факторов, влияющих на рост азотобактерий. Из таких можно выделить такие факторы, как кислотность почвы, температура, влажность, минеральный состав, органическое вещество, растительный покров.
3. Развитие проекта требует более углубленного анализа собранных данных и более тесной интеграции с профессиональной лабораторией.
4. Вовлеченность обучающихся могла бы значительно возрасти, если бы они смогли самостоятельно интерпретировать полученные результаты. Это можно было сделать с помощью оформления научных работ, где были бы описаны цели, условия опыта, различные графики и таблицы.

Таким образом, проект «Охотники за микробами» представляет собой значимый шаг в развитии научного мышления и восприятия между обществом и научным сообществом, а именно делает их взаимоотношения более открытыми и доступными.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акименко Ю.В. Оценка устойчивости экологических функций почв к загрязнению антибиотиками / Ю.В. Акименко, К.Ш. Казеев, С.И. Колесников, Т.В. Минникова // Известия Самарского научного центра РАН., 2017. С. 207-210.
2. Алешковский И.А., Андриянов А.В., Антипов Е.А. Материалы международного молодежного научного форума «Ломоносов-2019». М.: МАКС Пресс, 2019. 512 с.
3. Байбородова Л.В. Проектная деятельность школьников в разновозрастных группах: пособие для учителей общеобразовательных организаций. М.: Просвещение, 2012. 160 с.
4. Белова Т.Г. Исследовательская и проектная деятельность учащихся в современном образовании. СПб.: РГПУ им. А.И. Герцена, 2017. 180 с.
5. Блесман А.И., Полещенко К.Н., Семенюк Н.А., Теплоухов А.А. Основы проектной деятельности: методическое пособие. Омск: ОмГТУ, 2015. 112 с.
6. Васюков В.М., Саксонов С.В. Флора Волжского бассейна // Конспект флоры Пензенской области. Тольятти: Анна. 2020. С. 32-35.
7. Вяль Ю.А., Новикова Л.А., Карпова Г.А., Лойко С. В. Особенности генезиса гипсоносных луговых почв в условиях Пензенской области // Нива Поволжья. 2013. №2 (27). С. 21-27.
8. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология: учебник для студ. биол. специальностей вузов. М.: Академия, 2003. 512 с.
9. Игнатов В.В. Биологическая фиксация азота и азотфиксаторы // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 9. С. 28-33.
10. Ипатов В.С., Мирин Д.М. Описание фитоценоза: методические рекомендации. СПб.: СПбГУ, 2000. 55 с.

11. Заплатин Б.П. Биометрия с Excel: учебно-методическое пособие по курсу «Математические методы в биологии». Пенза: ПГПУ им. В. Г. Белинского, 2008. 92 с.
12. Колешко О.И. Азотфиксирующие бактерии (физиология развития): монография. Минск: Издательство БГУ, 1981. 120 с.
13. Корнюшенко И.Д. Проектно-исследовательская работа «Организация исследовательской и проектной деятельности обучающихся в условиях реализации ФГОС». М.: Урок.РФ, 2018. 72 с.
14. Корчагина В.А. Биология: растения, бактерии, грибы, лишайники. М.: Академия, 2016. 256 с.
15. Котляров В.В. Системное использование препаратов на основе бактерий и грибов в защите растений и улучшении микробиологического состава почв / В.В. Котляров, Н.В. Сединина, Д.Ю. Донченко, Д.В. Котляров // Научный журнал КубГАУ, 2015. № 108 (04). С. 1-12.
16. Кожемяков, А.П. Продуктивность азотфиксации в агроценозах. Микробиол. Журн., 2017. № 4. С. 22-28.
17. Кретович, В.Л. Биохимия усвоения азота воздуха растениями. М.: Наука, 2014. 168 с.
18. Куаталиева Д.Т. Активность микроорганизмов рода *Azotobacter* в почвах города Астрахани // Научно-методический электронный журнал «Концепт». 2017. № 7. С. 51-55.
19. Методические рекомендации по реализации проекта «Охотники за микробами» [Электронный ресурс]. URL: https://drive.google.com/file/d/1ZFux5Aqw6rcR1FAIMOI_J5xY_Nhmx0 (дата обращения: 30.01.2025).
20. Мильситова Т. М. Организация проектной и учебно-исследовательской деятельности учащихся / Т.М. Мильситова, О.Ю. Перкова, Г.В. Шубина, И.А. Дробленкова, Е.И. Литаврина // М.: Дистанция, 2014. 128 с.

21. Муравьев А.Г., Пугал Н.А., Лаврова В.Н. Экологический практикум [Электронный ресурс]. URL: <https://drive.google.com/file/d/17CVuibnSBUq56SQq5ShwGLgD3Ffcasp6>. (дата обращения: 29.04.2025).
22. Муштавинская И.В., Сизова М.Б. Методические рекомендации по организации проектной деятельности в рамках реализации ФГОС. СПб.: СПбАППО, 2019. 96 с.
23. Новикова Л.А. Геоботаническая характеристика «Ольшанского солонца» в Пензенской области / Л.А. Новикова, Ю.А. Вяль, Н.А. Леонова, Д.В. Панькина // Нива Поволжья. 2014. №1 (30). С. 49-54
24. Пацко Е.В. Перспективность использования ассоциаций азотфиксирующих микроорганизмов для повышения урожайности растений // Бюллетень Моск. общества испытателей природы, 2014. С. 34-56.
25. Плешков, Б.А. Практикум по биохимии растений. М.: Колосс, 2015. 178 с.
26. Самофалова И.А., Лобанова Е.С. Мелиорация солонцовых и засоленных почв. П.: ИПЦ «Прокрость», 2020. 54 с.
27. Сафина А.Р., Камахина Р.С. Проектная деятельность учащихся на уроках биологии и во внеурочное время. Казань: Казанский университет, 2014. 120 с.
28. Селивановская С.Ю., Латыпова В.З. Микроорганизмы в круговороте биогенных элементов. Казань: Казанский университет, 2014. 38 с.
29. Смирнова О.В., Заугольнова Л.Б., Ермакова И.М. Ценопопуляции растений (основные понятия и структура). М.: Наука, 1976. 217 с.
30. Солянов А.А. Новые сборы растений, редких для Пензенской области // Известия ПГПУ. Естественные науки. 2007. № 5 (9). С. 27-28.
31. Спайка Г.А. Молекулярная биология бактерий, взаимодействие с растениями. СПб.: Лань, 2013. 256 с.

32. Степанян Т.У. Использование клубеньковых бактерий в ассоциации с почвенными свободноживущими бактериями для инокуляции бобовых растений / Т.У. Степанян // Биологический журнал Армении. 2016. № 3. С. 45-50.
33. Сытников, Д.М. Биотехнология микроорганизмов азотфиксаторов и перспективы применения препаратов на их основе / Д.М. Сытников // Биотехнология. 2013. №4. С. 16-22.
34. Тихонович И.А., Проворова Н.А. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции. СПб.: Наука, 2016. 194 с.
35. Тихонович И.А., Круглов.Ю. В. Микробиологические аспекты плодородия почвы и проблемы устойчивого земледелия / И.А. Тихонович, Ю.В. Круглов // Плодородие. 2016. № 5. С. 9-12.
36. Трифонова Т.А., О.Н. Сахно, О.Н. Забелина, И.Д. Феоктистова Сравнительная оценка состояния городских почв по их биологической активности // Вестн. Моск. Ун-та. сер. 17. Почвоведение. 2014. №3. С. 23-27.
37. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2019. 133с.
38. Умаров, М.М., Кураков, А.В., Степанов, А.Л. Микробиологическая трансформация азота в почве. М.: ГЕОС, 2007. 138 с.
39. Фатюнина Ю.А. Мониторинг состояния ценопопуляции *Herminium monorchis* (Orchidaceae) Ольшанского солонца (Пензенская область) / Ю.А. Фатюнина, Г.Ф. Можаяева, О.Е. Суркова // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2024. №1. С. 28-36.
40. Хоулт, Дж. Краткий определитель бактерий Берги. М.: Мир, 1980. 800 с.