



МБОУ «Гатчинская СОШ №12
«Центр образования»
Юннатский клуб «Симбиоз»

Оценка микробной активности почв разных экосистем в полевых условиях аппликационным методом

Автор: Короткова Виктория,
ученица 8 класса
Руководитель: Гуськова С.А.,
учитель биологии

Гатчина, 2025



Цель: Провести анализ микробной активности почв разных экосистем в полевых условиях аппликационным методом, а именно, методом чайных пакетиков – «Tea Bag Index»

Задачи:

- Найти и проанализировать информацию по теме
- Освоить методику анализа микробной активности почв аппликационным методом
- Провести анализ и сравнение микробной активности почв пяти экосистем, используя аппликационный метод исследования

«МЫ ЗНАЕМ БОЛЬШЕ О ДВИЖЕНИИ
НЕБЕСНЫХ ТЕЛ, ЧЕМ О ПОЧВЕ ПОД НОГАМИ»

ЛЕОНАРДО ДА ВИНЧИ

В ОДНОЙ ЧАЙНОЙ
ЛОЖКЕ ЗДОРОВОЙ
ПОЧВЫ БОЛЬШЕ
ЖИВЫХ
ОРГАНИЗМОВ...



...ЧЕМ ЛЮДЕЙ НА
ПЛАНЕТЕ ЗЕМЛЯ



Почва - это сложный и динамичный биотоп, предоставляющий разнообразные условия для жизни.

Эдафобионты - организмы, живущие в почве, включая бактерии, грибы, простейшие, водоросли, беспозвоночных животных и даже некоторых позвоночных. Их деятельность оказывает значительное влияние на физико-химические свойства почвы, ее плодородие и структуру.



Почвенные животные (голозойный способ питания)

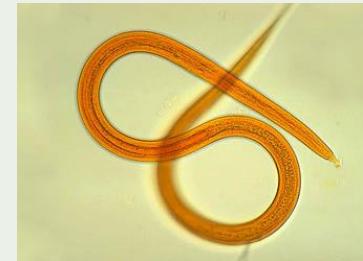
Микрофауна – мелкие животные (менее 0.2 мм), обитающие в основном в заполненных водой почвенных порах: простейшие, мелкие нематоды



Амёба



Инфузория



Нематода



Клещ



Нематода



Коллембola

Макрофауна – почвенные беспозвоночные размером более 2 мм



Сколопендра



Дождевой червь



Медведка



Крот



Слепыш

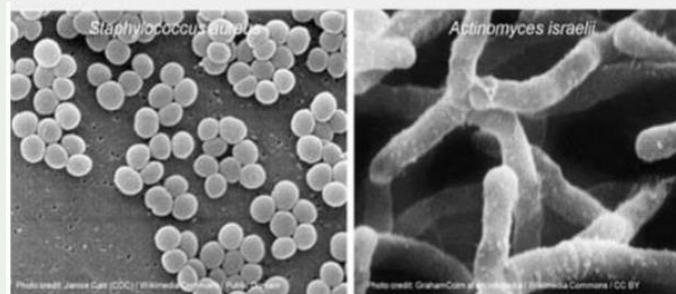


Землеройка

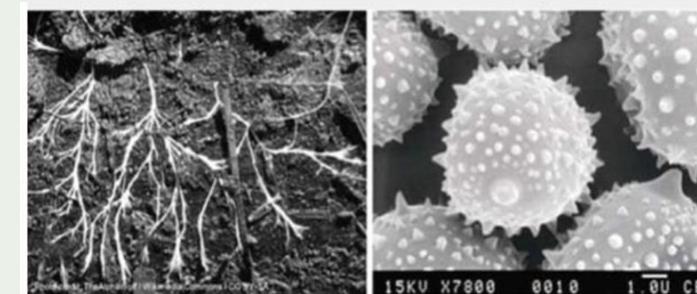
Мезофауна – подвижные животные небольшого размера (0.2-2.0 мм): крупные нематоды, мелкие членистоногие

Почвенные микроорганизмы (голофитный способ питания)

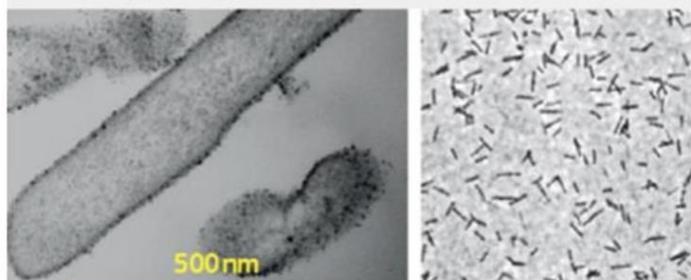
Бактерии – прокариоты, преимущественно одноклеточные и нитчатые организмы. Автотрофный и гетеротрофный тип питания



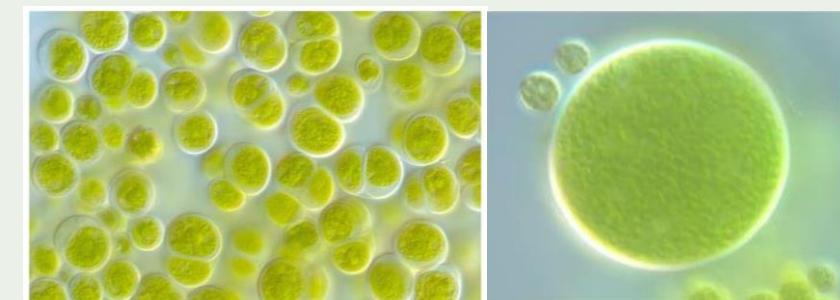
Микроскопические грибы – эукариоты, одноклеточные, многоклеточные и мицелиальные организмы. Гетеротрофный тип питания.



Археи – прокариоты, имеют ряд отличительных особенностей по сравнению с другими микроорганизмами. Только археи способны продуцировать метан. Экстремофилы.



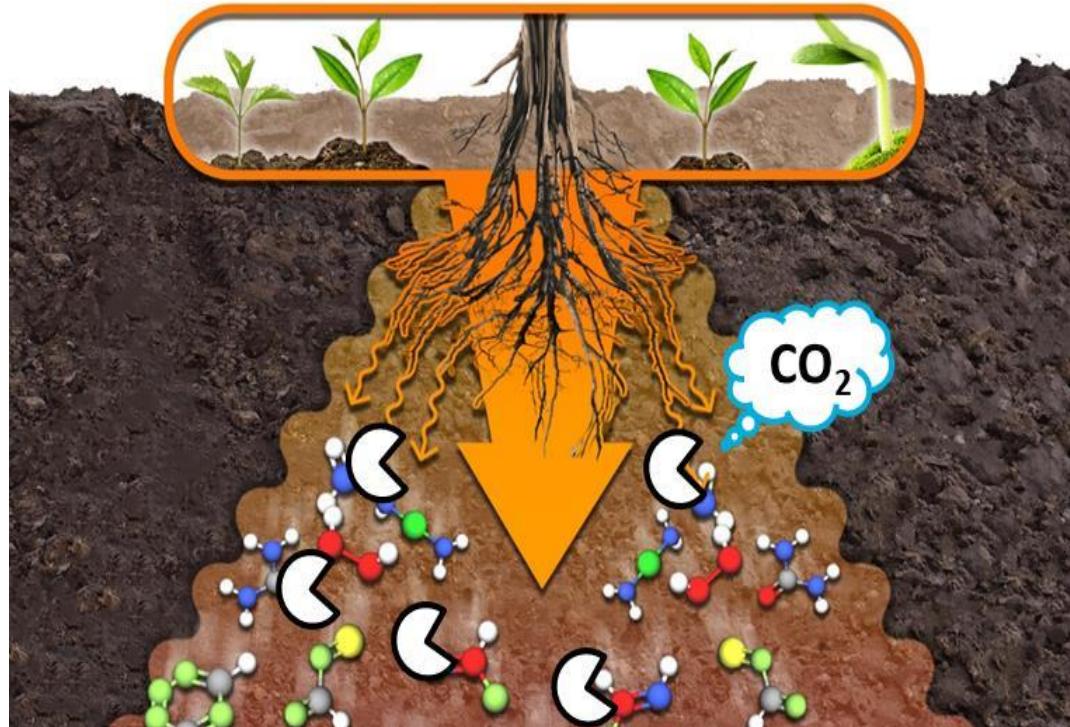
Микроводоросли – одноклеточные, многоклеточные и колониальные фототрофные микроорганизмы. Встречаются прокариоты (цианобактерии) и эукариоты (зеленые, диатомовые и др.). Автотрофы, некоторые из них переходят на гетеротрофный тип питания в толще почвы.



Микробиом почвы – совокупность всех микроорганизмов почвы

Биоразнообразие	Функции в почве
Разнообразие почвенной микрофaуны и микроорганизмов огромно: в 1 г почвы может содержаться от 2 000 до 50 000 видов . Известна лишь небольшая их часть (менее 7%) от общего количества видов микробиома почвы	Почвенные микроорганизмы выполняют различные функции: участвуют в круговороте углерода, азота, фосфора . Микроорганизмы с гетеротрофным типом питания перерабатывают органические остатки растительного и животного происхождения , поступающие в почву

В результате такой работы формируется почвенное органическое вещество, высвобождаются элементы питания, необходимые для роста растений и выделяются парниковые газы из почвы в атмосферу



ДЫХАНИЕ НАЗЕМНОЙ И
ПОЧВЕННОЙ БИОТЫ ОБЕСПЕЧИВАЕТ
56% ОТ ОБЩЕЙ ЭМИССИИ CO_2

В.Н. КУДЕЯРОВ, 2015

Почвенные микроорганизмы влияют на газовый состав приземного слоя атмосферы, тем самым, вносят определённый вклад в регуляцию климата. Важно знать не только о количестве живых организмов в почве их разнообразии, но и понимать, насколько они активны.

Методы определения активности почвенных микроорганизмов

В ЛАБОРАТОРИИ



В ПОЛЕ: ИЗМЕРЕНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЭМИССИИ CO_2



Аппликационный метод. Метод чайных пакетиков «Tea Bag Index»

- специальная «приманка» для микроорганизмов - любой органический материал: льняная или хлопчатобумажная ткань, опад – отмершие части растений.
- органический материал определенной массы помещают в почву, через время его вынимают
- по убыли массы оценивают, насколько активны микроорганизмы.

Метод позволяет унифицировать и упростить оценку микробной активности почв в полевых условиях в большом пространственном масштабе. Метод предложен группой европейских ученых и опубликован в 2013 году (*Keuskamp et al., 2013*)

Основан на применении стандартного образца растительного материала, который имитирует более сложный «одревесневший» опад (ройбуш: листья и побеги *Aspalathus linearis*) и более простой для микробного разложения лиственый опад (зеленый чай: листья *Camellia sinensis*)



Aspalathus linearis (Burm.f.)

Camellia sinensis (L.)



Исследуемые экосистемы

1. Смешанный лес: берёзы, ели
2. Берег реки: осока, берёза
3. Разнотравный газон без деревьев
4. Клумба в городе, береза
5. Парник с огурцами



Практическая часть. Подготовка пакетиков

1. Для подготовки образцов понадобится:

- Пакетики зеленого чая и чая ройбуш (2 повторности на каждую экосистему)
- Аналитические весы
- Ведомость с номерами образцов и зафиксированной массой
- Ножницы, скотч, маркер, ценники

2. Согласно методике предварительно пакетики с чаем высушивать не нужно (допускается, что они воздушно-сухие).

- Взвесить пакетик с веревкой и этикеткой, фиксировать массу каждого пакетика в ведомости (с точностью до 3 знака после запятой)
- Пронумеровать пакетики 1G , 2G , 1R , 2R и т.д (G-зеленый, R-ройбуш)

3. После фиксации массы наклеить ценник на этикетку чайного пакетика, подписать номер маркером и зафиксировать скотчем.

Практическая часть.

Подготовка пакетиков

4. Отдельно необходимо зафиксировать массу исходной этикетки с веревкой:

- от 4 чайных пакетиков отрезать веревку до основания пакетика и взвесить, записать массу и рассчитать среднее значение из 4-х. Должно быть два средних значения – отдельно (веревка+этикетка) для зеленого чая и ройбуша.

Масса этикетки с верёвкой

Чай	1	2	3	4	Среднее значение
Зелёный	0,090	0,093	0,0899	0,091	0,091
Ройбуш	0,091	0,090	0,090	0,092	0,090

Ведомость массы чайных пакетиков

Зелёный чай		Ройбуш	
№	масса,г	№	масса,г
1G	2.193	1R	2.171
2G	2.220	2R	2.421
3G	2.568	3R	2.345
4G	2.370	4R	2.120
5G	2.521	5R	2.113
6G	2.021	6R	2.167
7G	2.398	7R	2.427
8G	2.064	8R	2.128
9G	2.484	9R	2.161
10G	2.368	10R	2.179
11G	2.523	11R	2.138
12G	2.497	12R	2.386

Практическая часть. Подготовительный этап

5. Связать пакетики с полипропиленовой веревкой крест-накрест, в центре привязать садовый колышек.

Расстояние от колышка до чайного пакетика около 25 см

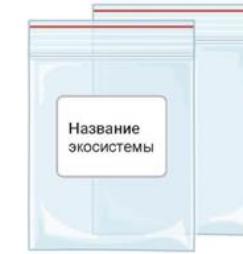
6. Подготовить комплект для проведения эксперимента перед выходом в поле.



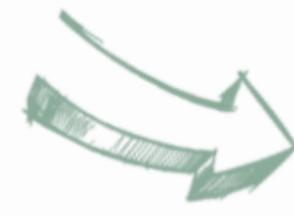
Перчатки



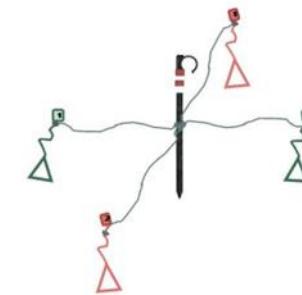
Лопата с отметкой «8см»



Пакетики с этикеткой для отбора образцов почвы



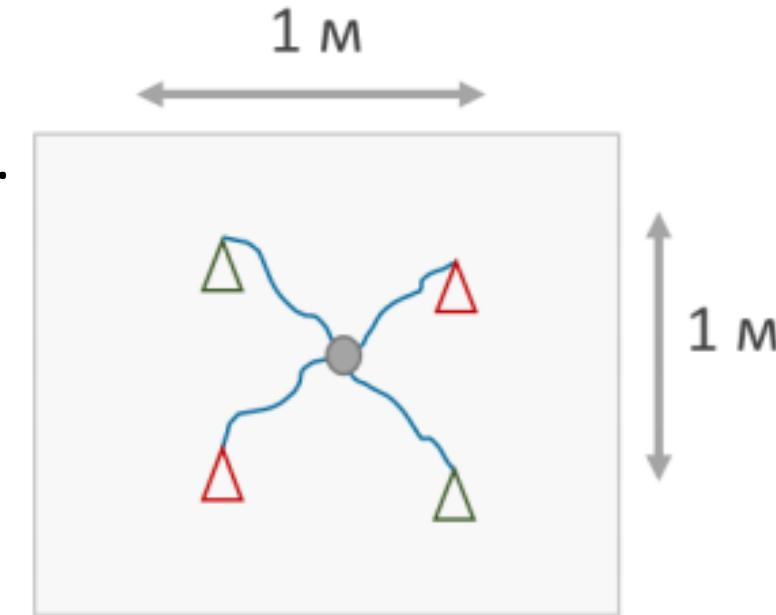
Мобильный телефон с камерой и приложением для определения местоположения



Комплекты с подготовленными чайными пакетиками

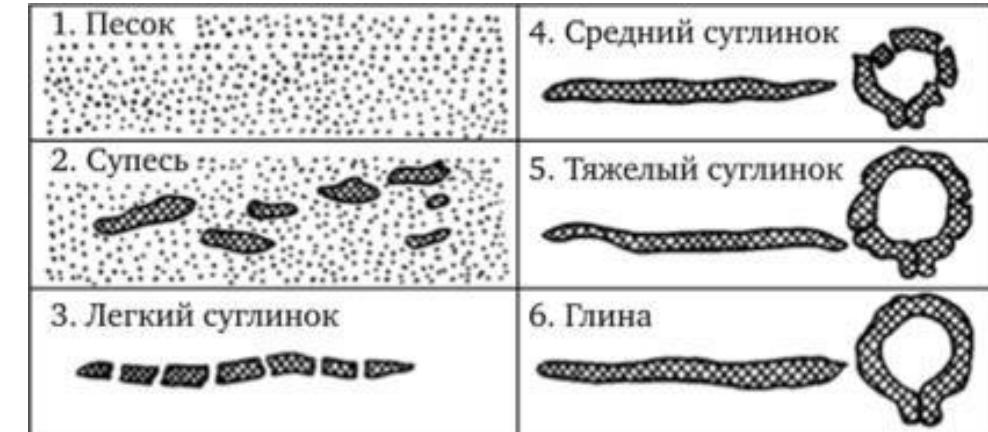
Практическая часть. Полевая работа

1. Выбрать в экосистеме ровную площадку размером 1×1 м.
2. Сделать горизонтальную фотографию с общим видом экосистемы.
3. Расположить подготовленную связку чайных пакетиков на площадке согласно схеме:
4. Записать в полевой дневник идентификационные номера ройбуша и зеленого чая для каждой экосистемы. Сфотографировать горизонтально площадку исследования.
5. Сделать лунки глубиной 8 см и закопать чайные пакетики. В дневнике отметить визуальные ориентиры места установки пакетиков. Замаскировать веревку и колышек.
6. Записать дату установки чайных пакетиков в полевой дневник.
7. Не отходя от площадки, зафиксировать географические координаты с помощью мобильного приложения MAPS.ME., записать координаты в полевой дневник.



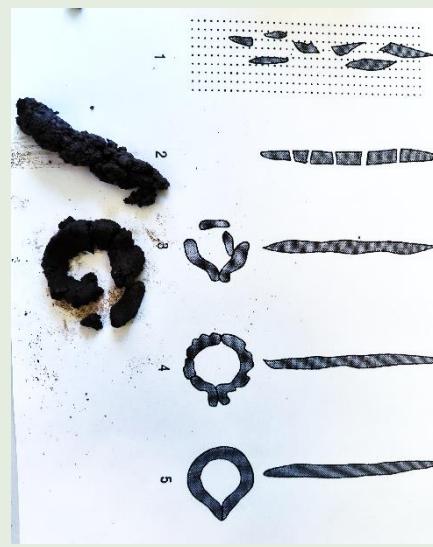
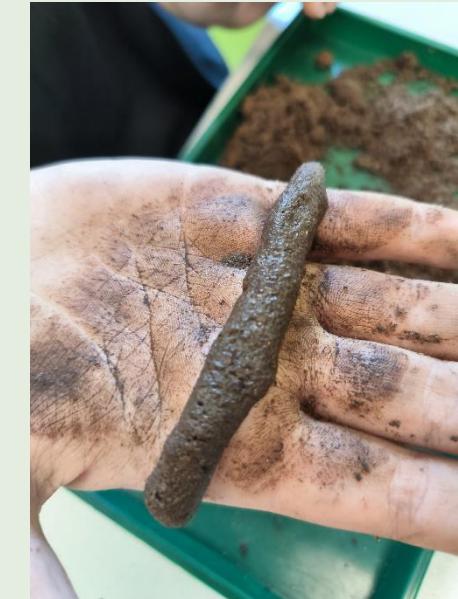
Практическая часть. Определение гранулометрического состава почвы (по Н.А.Качинскому)

1. Отобрать образцы почвы в углах квадрата площадки рядом с закопанными чайными пакетиками. Поместить смешанный образец из 4-х точек («углов» площадки) в пакет.
2. Подписать этикетку: название экосистемы, локация. Тщательно перемешай образец.
2. Определить гранулометрический состав в лаборатории.
3. Небольшое количество почвенного образца в ладони смешать с небольшим количеством воды. После получения однородной почвенной пастообразной массы, раскатать ее, чтобы получить шнур диаметром 0.5-1.0 см. Соединить в кольцо концы шнура, если это возможно, и определить гранулометрический состав согласно схеме.



- 1 — «шнур» не образуется
- 2 — зачатки «шнура»
- 3 — «шнур» дробится при раскатывании
- 4 — «шнур» сплошной, кольцо распадается при свертывании
- 5 — «шнур» сплошной, кольцо с трещинами
- 6 — «шнур» сплошной, кольцо стойкое

Практическая часть. Определение гранулометрического состава почвы (по Н.А.Качинскому)



Дневник наблюдений. Экосистема №1. Смешанный лес, берёзы, ели

Чай	№ пакетика	Ориентир / Дата установки чайных пакетиков	Географические координаты, с.ш. / в.д	Гранулометрический состав
Зелёный	1G	Окраина леса за границей дачного участка 17.06.2025	59.164847, 30.405544	Средний суглинок
Зелёный	2G			
Ройбуш	1R			
Ройбуш	2R			

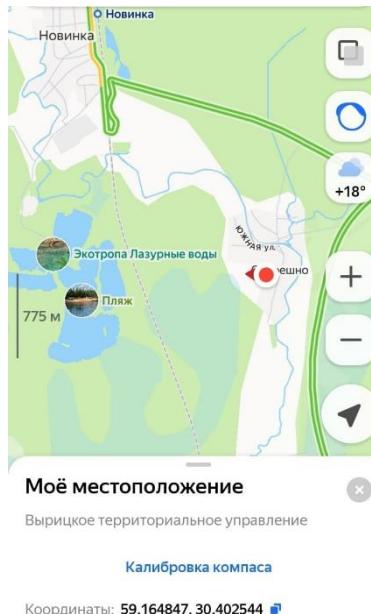


Фото 1. Общий вид экосистемы



Фото 2. Площадка исследования



Дневник наблюдений. Экосистема №2. Берег реки, осоки, берёза

Чай	№ пакетика	Ориентир / Дата установки чайных пакетиков	Географические координаты, с.ш. / в.д	Гранулометрический состав
Зелёный	5G	Левый берег реки Тёплая, за мостом, одиночная высокая берёза	59.576748 30.096984	Лёгкий суглинок
Зелёный	6G			
Ройбуш	5R			
Ройбуш	6R			



Фото 1. Общий вид экосистемы



Фото 2. Площадка исследования



Дневник наблюдений. Экосистема №3.

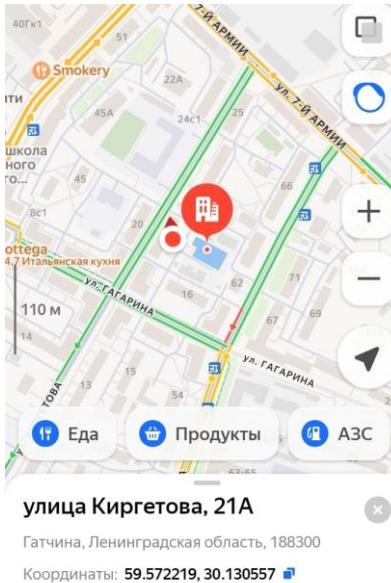
Разнотравный газон без деревьев

Чай	№ пакетика	Ориентир / Дата установки чайных пакетиков	Географические координаты, с.ш. / в.д	Гранулометрический состав
Зелёный	3G			
Зелёный	4G	Дачный участок	59.449298, 30.112321	
Ройбуш	3R	17.06.2025		
Ройбуш	4R			Средний суглинок



Дневник наблюдений. Экосистема №4. Клумба в городе, береза

Чай	№ пакетика	Ориентир / Дата установки чайных пакетиков	Географические координаты, с.ш. / в.д	Гранулометрический состав
Зелёный	7G	Во дворе многоквартирного дома, ул. Киргетова, д.21А	85.572219, 30.130557	Лёгкий суглинок
Зелёный	8G			
Ройбуш	7R			
Ройбуш	8R			



Дневник наблюдений. Экосистема №5. Парник с огурцами

Чай	№ пакетика	Ориентир / Дата установки чайных пакетиков	Географические координаты, с.ш. / в.д	Гранулометрический состав
Зелёный	9G	Садовый участок, 17.06.2025	59.166015, 30.406565	Средний суглинок
Зелёный	10G			
Ройбуш	9R			
Ройбуш	10R			

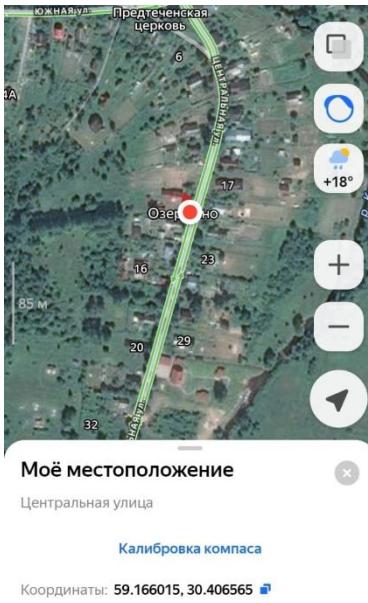


Фото 1. Общий вид экосистемы



Фото 2. Площадка исследования



Практическая часть.

Анализ и расчёт потери массы

1. Выкопать чайные пакетики, положить их в индивидуальную упаковку, очистить их от почвы и корней.
2. В лабораторных условиях срезать веревку с этикеткой по основание пакетика, поместить пакетик в металлический бюкс или другую термостойкую емкость, подписать бюкс для идентификации чайного пакетика.
3. Далее бюкс с пакетиком поставить в сухожаровой шкаф и высушить в течение **48 ч при $t=70^{\circ}\text{C}$**
4. Взвесить высушенный пакетик.

Убыль массы чая рассчитывается по формуле:

$$У = (М_{\text{Ип}} - М_{\text{вэ}}) - М_{\text{вп}}$$

М_{Ип}, масса исходного чайного пакетика с веревкой и этикеткой

М_{вэ}, средняя масса веревки с этикеткой

М_{вп}, масса высушенного пакетика с чаем

У, убыль массы, т.е. кол-во разложившегося растительного материала

5. Среднюю скорость разложения растительного материала можно рассчитать, разделив У на количество дней нахождения пакетика в почве.

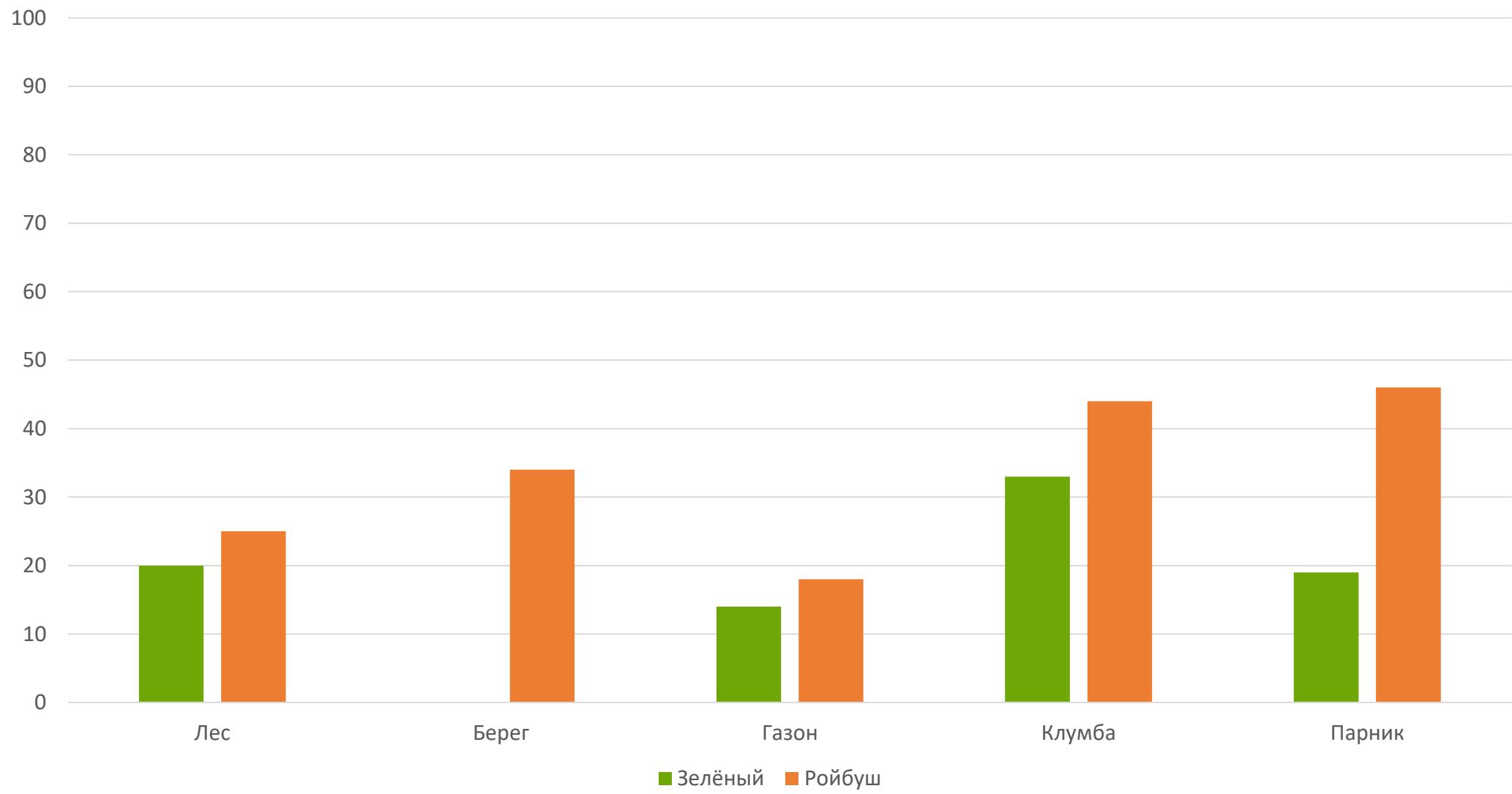


Ведомость расчёта убыли массы чайных пакетиков

Зелёный чай					Ройбуш				
№	Мип	Мвэ	Мвп	У	№	Мип	Мвэ	Мвп	У
1G	2.523	0.095	1.406	1.022	1R	2.171	0.097	1.775	0.299
2G	2.220	0.096	1.214	0.910	2R	2.421	-	-	-
3G	2.568	0.099	1.246	1.223	3R	2.345	0.099	1.925	0.321
4G	2.370	-	-	-	4R	2.120	0.095	1.695	0.330
5G	2.521	-	-	-	5R	2.113	-	-	-
6G	2.021	-	-	-	6R	2.167	0.094	1.568	0.505
7G	2.398	0.094	1.166	1.138	7R	2.427	0.100	1.837	0.490
8G	2.064	0.097	1.216	0.751	8R	2.128	0.098	1.695	0.335
9G	2.484	-	-	-	9R	2.161	0.096	1.882	0.183
10G	2.368	0.091	1.293	0.984	10R	2.138	0.095	1.673	0.415

«-» - пакетики не обнаружены

Убыль массы чайных пакетиков, %



Данные получены за вегетационный период, т.е. в теплое время года. Однако недавние исследования показали, что **в холодный период из почвы выделяется до 20-30% годового количества CO₂**. Такие высокие величины, возможно, связаны с тем, что микроорганизмы активно **разлагают растительные остатки, поступившие в почву осенью**. Эту гипотезу мы проверим в рамках реализации 2 этапа нашего проекта. На 2-ом этапе исследования мы хотим оценить микробную активность почвенного микробиома в зимний период года на тех же локациях.

Вывод: Почва исследуемых экосистем обладает разным уровнем микробной активности. По убыли массы органического вещества в полевых экспериментах составлен рейтинг активности микробиома почвы исследуемых экосистем в порядке убывания: парник,клумба,берег,лес,газон.

Выражаем благодарность за помощь в реализации исследования команду
Всероссийского проекта «ЗакопайЧай»

Исследовательский проект "ЗакопайЧай", запущенный Молодежной Лабораторией карбомониторинга наземных экосистем Института физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, нацелен на получение новых данных об активности микроорганизмов почв с различных уголков нашей страны с помощью чайных пакетиков.

В исследовательской работе с разрешения организаторов проекта использованы теоретические материалы, опубликованные на странице сообщества в сети Интернет.

Подробности на сайте <https://carbo-lab.ru/tbi/>



Источники информации

1. Родин Л.Е. Динамика органического вещества и биологический круговорот в основных типах растительности / Л.Е. Родин, Н.И. Базилевич. М.; Л.: Наука, 1965. - 249 с.
2. Базилевич Н.И. Биологическая продуктивность экосистем Северной Евразии / Н.И. Базилевич. М.: Наука, 1993.- 293 с.
3. Глазовская М. А. Геохимические функции микроорганизмов / М.А. Глазовская, Н.Г. Добровольская. М.: Изд-во МГУ, 1984. - 42 с.
4. Методы биохимических исследований растений / под ред. Л.И. Ермакова. - Л.: Агропромиздат, 1987. - 161-162 с.
5. Стриганова Б.Р. Современные аспекты изучения процессов разложения растительных остатков в почве / Б.Р. Стрига-нова, Л.С. Козловская; под ред. М.С. Гилярова, Б.Р. Стриганова. - М.: Наука, 1985. - С. 5
6. Теппер Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер. М.: Агропромиздат, 1987. - С.23.