

3. Letarov, A. Bacteriophages as a part of the human microbiome. in Bacteriophages in Health and Disease (Human and Abandoned) / A. Letarov / CAB International Press . 2012. pp. 6-20.

4. Minot, S. The human gut virome: inter-individual variation and dynamic response to diet / S. Minot, R. Sinha, J. Chen, H. Li, S.A. Keilbaugh, G.D. Wu, J.D. Lewis, F.D. Bushman // Genome Res. 2011 21:1616-25

5. de Siqueira, R.S. Evaluation of the natural virucidal activity of teas for use in the phage amplification assay / de Siqueira R.S., C.E. Dodd , C.E. Rees // Int J Food Microbiol. 2006. 111:259-262.

6. Куликов, Е.Е. Биоразнообразие и динамика бактериофагов в фекалиях лошадей / А.С. Исаева А.С., Роткина, А.А. Манькин, А.В. Летаров// Микробиология. 2007. 76, 271-278

7. Golomidova, A. The diversity of coliphages and coliforms in horse feces reveals a complex pattern of ecological interactions / A. Golomidova E. Kulikov, A. Isaeva, A. Manykin, A. Letarov // Appl Environ Microbiology. 2007. 73:5975–5981

8. Исаева, А.С. Новый метод высокоразрешающего геномного ПЦР-фингерпринтинга энтеробактерий / А.С. Исаева, Е.Е. Куликов, К.К. Тарасян, Летаров А.В. // Actanaturae. 2010. 2 (1), 82-87

9. Kasman, L.M. Barriers to coliphage infection of commensal intestinal flora of laboratory mice / Kasman, L.M. // Virol J. 2005 Apr 15;2:34.

10. Kasman, L.M. Overcoming the phage replication threshold: a mathematical model with implications for phage therapy / L.M. Kasman, A. Kasman, C. Westwater, J. Dolan, M.G. Schmidt, J.S. Norris // J Virol. 2002. 76:5557-5564

11. Kulikov, E.E. Isolation and characterization of a novel indigenous intestinal N4-related coliphage vB_EcoP_G7C / E.E. Kulikov, A.M. Kropinski, A.K. Golomidova // Virology. 2012. 426 (2012) 93–99

12. de Siqueira, R.S. Evaluation of the natural virucidal activity of teas for use in the phage amplification assay / de Siqueira R.S., C.E. Dodd , C.E. Rees // Int J Food Microbiol. 2006. 111:259-262.

УДК 631.472.56

ИССЛЕДОВАНИЕ СИМБИОНТНОЙ МИКРОБИОТЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ВИДА *LUMBRICUS TERRESTRIS* (LINNAEUS, 1758) И ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИХ В КАЧЕСТВЕ ВЕРМИКУЛЬТУРЫ ДЛЯ БИОДЕСТРУКЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

Романова Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»
e-mail: vvr-emr@yandex.ru

Игнаткин Денис Сергеевич, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»
e-mail: ignatkin82@yandex.ru

Мухитова Минзифа Эминовна, кандидат биологических наук, ассистент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»

Романов Василий Васильевич, кандидат технических наук, заведующий кафедрой «Информатика»
e-mail: vvr@ugsha.ru

Шленкина Татьяна Матвеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология»
e-mail: t-shlenkina@yandex.ru

Ключевые слова: биотрансформация органических отходов, вермикультура, микробиоценоз, симбионтная микробиота, сапрофаги, биогумус.

Статья посвящена исследованию перспектив использования дождевых червей вида *L. terrestris* в биотехнологии вермикомпостирования органических отходов сельскохозяйственного производства. Охарактеризована структура и численность микробиоты, формирующей кишечный микробиоценоз представителей вида *L. terrestris*, обитающих в природных биогеоценозах на территории Ульяновской области. Исследована структура микробиоценоза кишечника *L. terrestris*, количество симбионтной микробиоты разных функциональных групп, обеспечивающих биодеструкцию органических субстратов, проведено сравнение с микробиотой промышленной вермикультуры *E. fetida andrei*. Показана перспективность использования *L. terrestris* в качестве вермикультуры для утилизации органических отходов с высоким содержанием целлюлозы и лигнина.

Введение. Широкое видовое разнообразие почвенных организмов - педобионтов - обеспечивает их устойчивое функционирование за счет самых разнообразных ассоциаций между ними, включая все виды биотических взаимодействий, в которых доминирующая роль принадлежит симбиозу. В почвенной экосистеме дождевые черви принадлежат к мезопедобионтам. Общеизвестна их почвообразующая функция, которая является результатом деятельности их кишечной микробиоты.

На этом примере наиболее ярко проявляется тезис о биологическом равновесии, реализующемся в форме симбиоза (между макроорганизмом - хозяином и кишечной микробиотой), сформировавшегося в ходе эволюции [1]. Микробиоценоз дождевых червей формируется двумя составляющими: пристеночной микробиотой кишечника и микробиотой кишечного содержимого. По данным литературных источников, пристеночная микробиота кишечника дождевых червей представлена микроорганизмами семейств *Enterobacteriaceae* и *Vibrionaceae*, населяющими внутреннюю поверхность эпителия и кутикулы всех отделов кишечника [2].

Исследование состава и структуры микробных популяций пищеварительного тракта дождевых червей имеет важное фундаментальное значение с точки зрения генезиса почв и биосферы в целом, поскольку дождевые черви играют ключевую роль в

процессах почвообразования и повышения почвенного плодородия [3, 4]. Прикладная значимость исследований заключается в развитии биотехнологий эффективной утилизации органических отходов, в том числе и отходов сельскохозяйственного производства.

Основываясь на способности дождевых червей биотрансформировать отмершую органику в биогумус, путем селекции была создана вермикультура *Eisenia fetida andrei* (Bouche, 1972) для промышленного получения биогумуса. Эта вермикультура широко используется во многих странах с мягким климатом. В настоящее время ее считают эталонной вермикультурой и используют при создании новых промышленных гибридных линий, в том числе и в России. В суровых климатических условиях России круглогодичная вермикультура *E.f. andrei* неэффективна, поскольку требует крытых, отапливаемых помещений [5]. Поэтому поиск эффективной вермикультуры, хорошо адаптированной к Российским реалиям, актуален.

Цель работы: исследовать деструктивные способности дождевых червей вида *Lumbricus terrestris* (Linnaeus, 1758) и оценить перспективы их промышленного использования в качестве вермикультуры для переработки органических отходов животноводства и биогумус.

В задачи исследований входило: выделение из почвенных ценозов Средне-

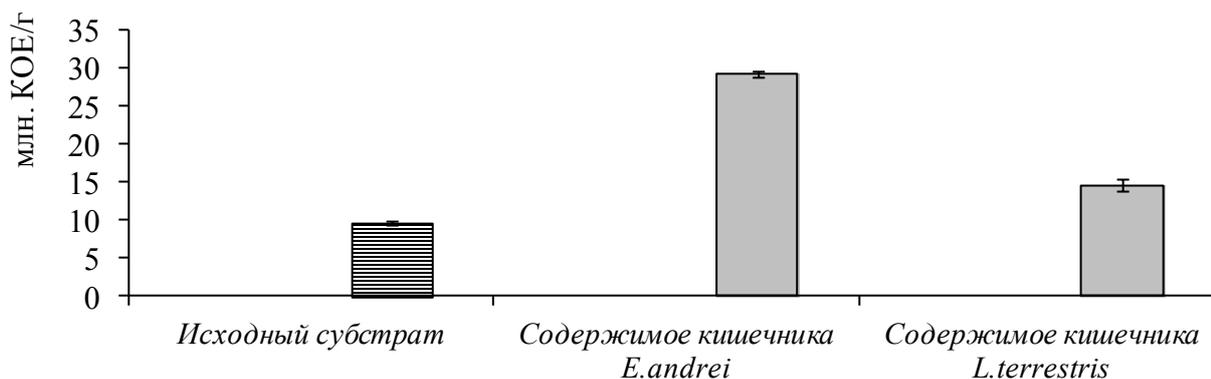


Рис. 1 – Количественные показатели микробиоты

волжского региона дождевых червей *L. terrestris*; их размножение в лабораторных условиях на специально разработанных субстратах; наращивание биомассы, достаточной для проведения вермикюльтивирования; исследование структуры кишечного микробиоценоза *L. terrestris*; характеристика функциональных групп микроорганизмов, формирующих ценоз; сравнительные исследования деструктивных способностей вермикюльтуры *L. terrestris* и промышленной линии *E.f. andrei* при переработке отходов животноводства в биогаз.

Материалы и методы исследований.

Объектом исследования являлись дождевые черви вида *L. terrestris*, структура и численность их кишечного микробиоценоза. Для оценки общей численности микроорганизмов в содержимом и стенках кишечника дождевых червей вида *L. terrestris* мы делали посеvy на МПА методом последовательных разведений. Посевы проводили обычным чашечным методом в пятикратной повторности. Инкубировали при температуре 37°C в термостате в течение 48 часов.

Для оценки численности систематических и физиологических групп микроорганизмов проводили посеvy на селективные питательные среды. Учет численности аммонифицирующих микроорганизмов проводили на МПА, нитрифицирующих микроорганизмов – на среде Виноградского, целлюлозолитических микроорганизмов – на среде Гетчисона, актиномицетов - на крахмально аммиачном агаре, грибов - на среде

Чапека, микроорганизмов, мобилизующих органические фосфаты, – на среде Менкиной [6].

В качестве субстрата для вермикюльтивирования использовали ферментированный навоз крупного рогатого скота.

Результаты исследований. На первом этапе работы мы оценивали общее количество микробиоты в кишечнике дождевых червей вида *L. terrestris* и сравнивали с количественными показателями микробиоты в субстрате для вермикюльтивирования и в кишечном содержимом промышленной линии *E.f. andrei*.

Сравнительные исследования показали, что кишечный микробиоценоз *L. terrestris* включал в 1,5 раза больше микроорганизмов, чем ферментированный субстрат, подлежащий переработке, но значительно уступал по количеству симбионтной микробиоты промышленной линии *E.f. andrei*. Результаты сравнительной оценки количественных показателей микробиоты представлены на рис. 1.

Исследование численности целлюлозолитической микробиоты.

Дождевые черви по способу питания являются сапрофитами, играющими важную роль в биотическом круговороте. Они осуществляют минерализацию органических соединений, утилизируя разлагающуюся растительную и животную органику, детрит, экскременты и др. Биодеструкцию целлюлозы дождевые черви без симбионтной целлюлозолитической микробиоты ки-

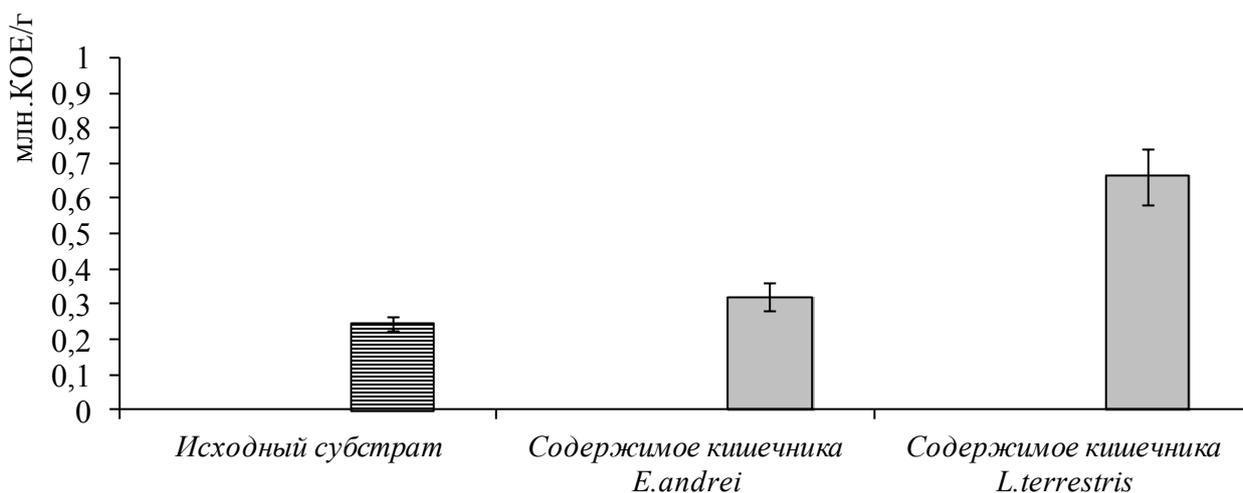


Рис. 2 – Численность целлюлозолитических бактерий

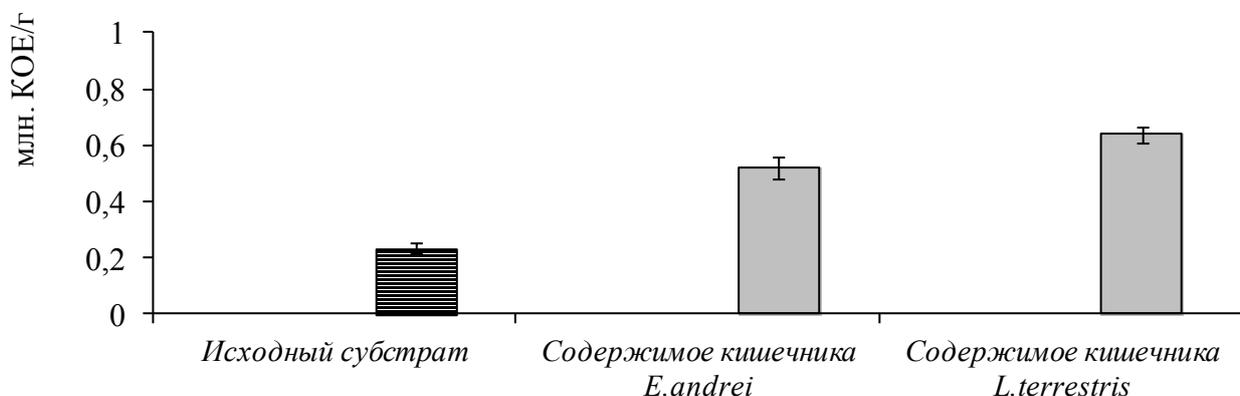


Рис. 3 – Численность сапрофитных грибов

шечника осуществлять не могут [7].

Количественные исследования целлюлозолитических бактерий показали, что в содержимом кишечника *L. terrestris* их численность в 2,7 раза была выше, чем в ферментированном субстрате, и в два раза выше, чем у промышленной вермикультуры *E.f. andrei*. Результаты представлены на рис. 2.

Исследование численности сапрофитных грибов.

По данным литературы, в ходе вермикомпостирования субстрата он претерпевает существенные изменения. В нем не только увеличивается общая численность грибов, но и изменяется структура сообщества микромицетов в сторону увеличения доли сапрофитных грибов (*Trichoderma*) за счет сокращения доли патогенных грибов [7, 8, 9, 10].

В ходе проведенных исследований нами было установлено, что численность сапрофитных грибов в микробиоценозе кишечника *L. terrestris* в 2,8 раза больше, чем в исходном субстрате. В кишечном микробиоценозе промышленной вермикультуры *E.f. andrei* численность сапрофитных грибов достоверно ниже, чем у почвенных червей (рис. 3).

Оценка численности актиномицетов.

Актиномицеты – обязательный компонент кишечного микробиоценоза дождевых червей. Благодаря актиномицетам, вырабатывающим антибиотические вещества, дождевые черви ничем не болеют [11].

По результатам наших исследований, наиболее высокая численность актиномицетов в кишечном микробиоценозе *L. terrestris*. Численность актиномицетов в

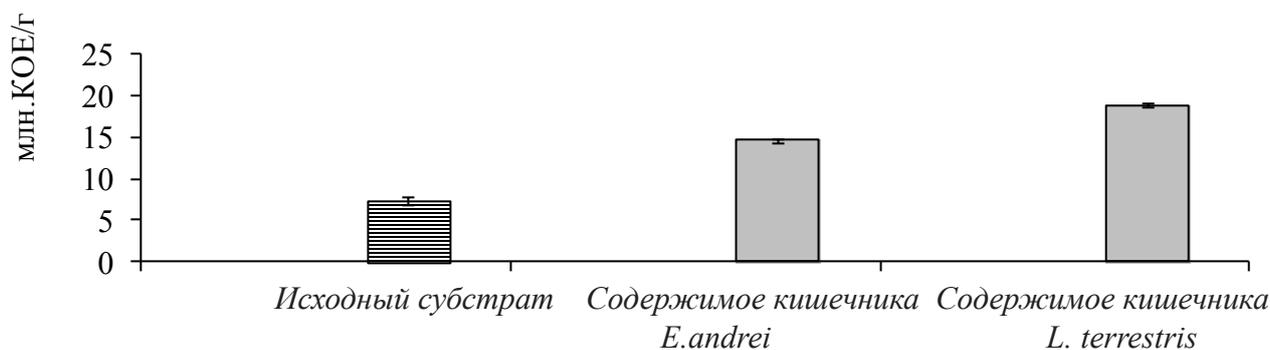


Рис. 4 – Численность актиномицетов

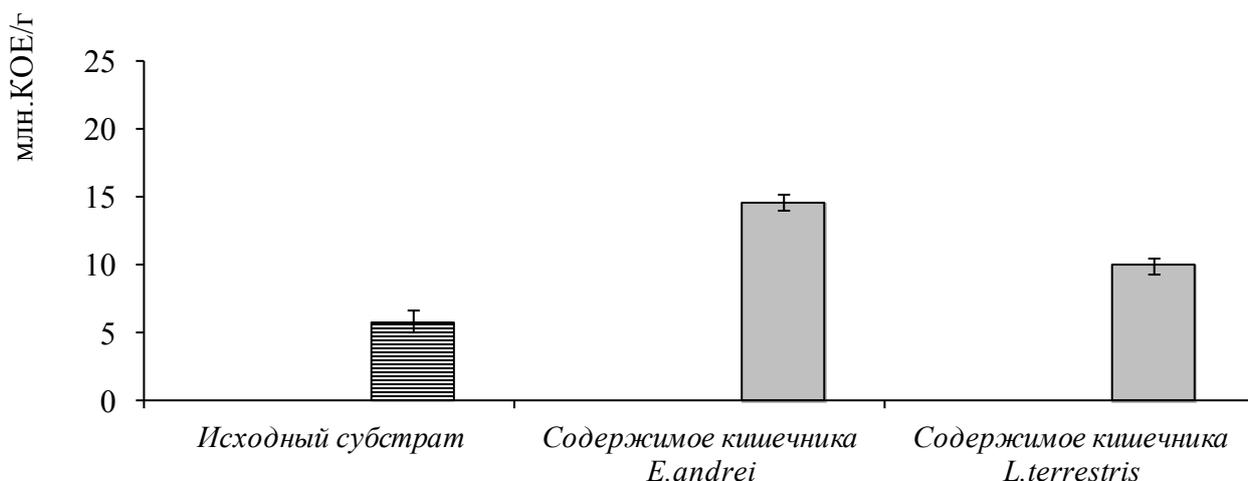


Рис. 5 – Численность микробиоты, мобилизующей органофосфаты

кишечном микробиоценозе промышленной линии *E.f. andrei* достоверно ниже, чем у *L. terrestris*. В субстрате актиномицетов в 2,6 меньше, чем в кишечном микробиоценозе *L. terrestris*, и в 2 раза меньше, чем у промышленной линии *E.f. andrei* (рис. 4.), ($p < 0,05$).

Актиномицеты – активные деструкторы сложных субстратов, которые они преобразуют в вещество гумуса [12].

Численность микробиоты, разлагающей органофосфаты.

Органические соединения фосфора разлагаются бактериями родов *Pseudomonas*, *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. mesentericus*), грибами, некоторыми актиномицетами, дрожжами (*Candida*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula* и другие) [12].

По результатам наших исследований в

кишечном микробиоценозе *L. terrestris* микробиоты, мобилизующей органофосфаты, достоверно меньше, чем в микробиоценозе кишечника промышленной линии *E.f. andrei*, однако в 1,7 раза больше, чем в субстрате, подлежащем переработке ($p < 0,05$); Результаты приведены на рис. 5.

По данным литературных источников, фосфор находится в почве в виде нерастворимых органических и минеральных соединений, на 95% недоступных растениям [13], только благодаря эффективной работе симбионтной микробиоты, которая переводит их в растворимое состояние, фосфор становится доступным.

Оценка численности аммонифицирующей микробиоты.

Биодеструкцию белков в аммиачный азот осуществляют в основном микроор-

ганизмы, относящиеся к родам: *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. aeruginosa*), *Proteus* (*P. vulgaris*), *Bacillus* (*B. mycoides*, *B. subtilis*, *B. cereus*) и *Clostridium* (*C. putrificus*, *C. sporogenes*), а также актиномицеты и грибы, выделяющие протеолитические ферменты, расщепляющие белки до аминокислот, которые в клетках дезаминируются с образованием аммиака, органических кислот и других продуктов [12].

Исследование численности аммонифицирующей микробиоты показало, что в микробиоценозе *L. terrestris* ее содержание колеблется на уровне 9-11 млн. КОЕ/г, что достоверно меньше, чем в содержимом кишечника промышленной линии *E.f. andrei*, но значительно выше (в 1,7 раза), чем в субстрате, подлежащем биодеструкции. Результаты представлены на рис. 6.

Оценка численности нитрифицирующей микробиоты.

щей микробиоты.

Нитрифицирующая микробиота является одной из важнейших для дождевых червей групп микроорганизмов, поскольку защищает их организм от повышенных концентраций аммиака. Нитрификаторы - это в основном бактерии семейства *Nitrobactericidae*, которые в два этапа осуществляют окисление аммиака до азотной кислоты [8, 12].

При оценке численности нитрифицирующей микрофлоры в кишечном микробиоценозе *L. terrestris* ее содержание колеблется и составляет около 3 млн. КОЕ/г, что в 1,3 раза больше, чем в субстрате, подлежащем деструкции, но значительно меньше, чем в микробиоценозе промышленной линии ($p < 0,05$) (рис. 7).

Не все микроорганизмы, попадая в кишечный тракт дождевых червей, в нем

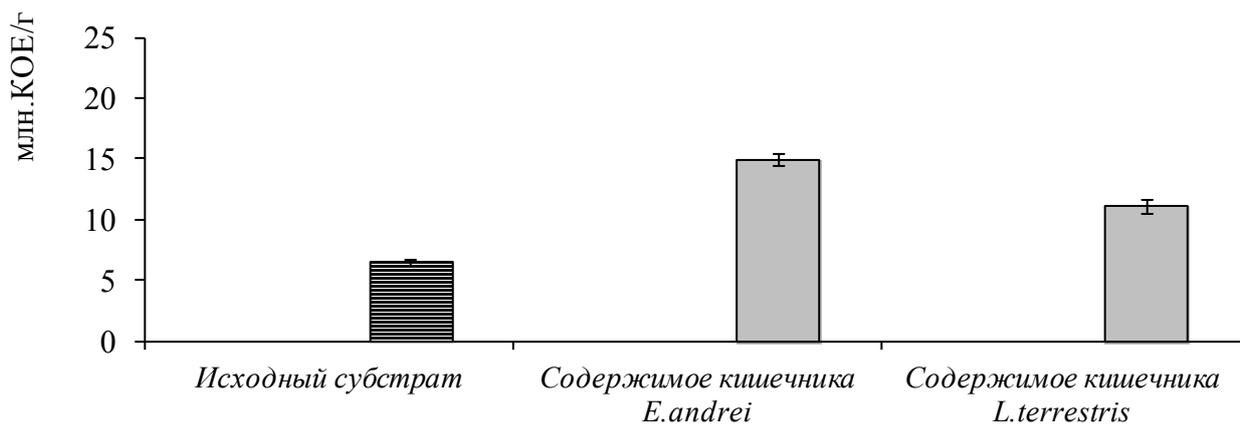


Рис. 6 – Численность аммонифицирующей микробиоты

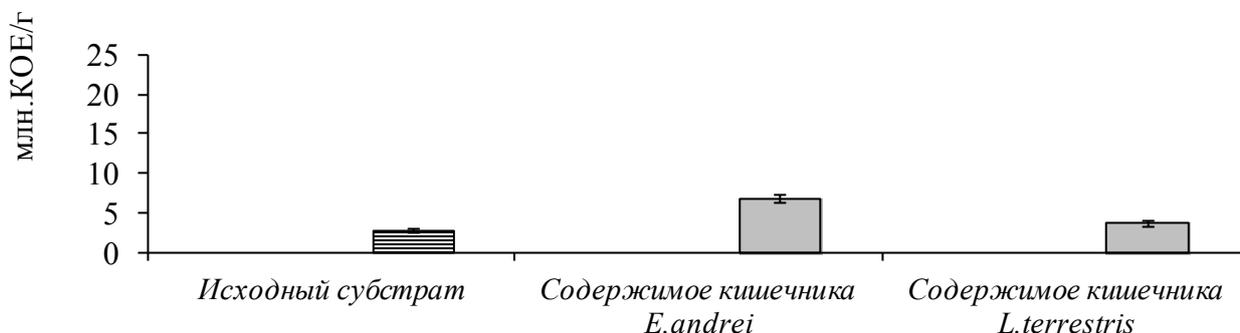


Рис. 7 – Численность нитрифицирующей микробиоты

задерживаются и выживают, преимущество получают грамотрицательные бактерии рода *Pseudomonas*, актиномицеты, сапрофитные грибы, очевидно, это связано с характером биотических взаимоотношений в микробиоценозе [14,15,16].

Выводы. Подводя итог проведенным исследованиям, необходимо отметить, что дождевые черви *L. terrestris* Средневолжского региона обладают всем спектром необходимых для вермикультуры микроорганизмов, способных осуществить эффективную биотрансформацию субстрата. По ряду показателей микробиоценоз *L. terrestris* даже богаче микробиоценоза промышленной линии *E.f. andrei*. В частности, микробиоценоз почвенных червей содержит больше целлюлозолитических бактерий, сапрофитных грибов, актиномицетов, но уступает промышленной линии по количеству микробиоты, мобилизующей органофосфаты, а также микробиоты, осуществляющей нитрификацию и аммонификацию. Все полученные результаты свидетельствуют в пользу перспективности использования представителей вида *L. terrestris* в качестве вермикультуры для утилизации отходов животноводства, содержащих повышенные количества целлюлозы и лигнина. Для расширенного эффективного использования представителей вида *L. terrestris* в качестве вермикультуры для утилизации всех видов отходов животноводства недостаточно микробиоты, ответственной за процесс быстрой биотрансформации органических и минеральных форм азота и фосфатов. Для создания промышленной линии новой вермикультуры на основе генофонда *L. terrestris* необходимо проведение селекционной работы; прогнозы в этом направлении вполне оптимистичны.

Библиографический список

1. Ley, R. Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota. / R. Ley, C. Lozupone, M. Hamady, R. Knight, J. Gordon // *Nature Rev Microbiol.* – 2008. – V. 6. – P. 776–788.
2. Третьякова, Е.Б. Сообщества бактерий, ассоциированные с почвенными беспозвоночными / Е.Б. Третьякова, Т.Г. Добровольская, Б.А. Бызов, Д.Г. Звягинцев // *Микробиология.* – №1, том 65. – 1996. – С.102–110.
3. Всеволодова-Перель, Т.С. Дождевые черви фауны России: Кадастр и определитель / Т.С. Всеволодова-Перель. – М.: Наука, 1997. – 102 с.
4. Романова, Е.М. Общие и отличительные черты микробиоценоза промышленной вермикультуры *Eisenia fetida andrei* (Bouche, 1972) и ее природного аналога *Eisenia fetida* (Sangvini, 1826) / Е.М. Романова, М.Э. Мухитова, Е.В. Титова // *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. Научно-теоретический журнал.* - №4 (16). - Ульяновск, 2011. – С. 64-70.
5. Романова, Е.М. Оптимизация плотности популяции вермикультуры в условиях пониженных температур / Е.М. Романова, Д.С. Игнаткин, М.Э. Мухитова, Т.Г. Баева, Д.А. Удод, А.К. Сибгатуллова // *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. Научно-теоретический журнал.* - №2 (22). - Ульяновск, 2013. – С. 35-39.
6. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева; под ред. В.К. Шильниковой. – М.: Дрофа, 2005. – 256 с.
7. Стриганова, Б.Р. Питание почвенных сапрофагов / Б.Р. Стриганова. - М.: Наука, 1980. – 242 с.
8. Терещенко, Н.Н. Влияние различных экологических групп дождевых червей на интенсивность азотофиксации / Н.Н. Терещенко, Н.Н. Наплекова // *Известия РАН сер. Биологическая.* – 2002. - №6. – С.763.
9. Терещенко, Н.Н. Эколого-микробиологические аспекты вермикультивирования / Н.Н. Терещенко. – Новосибирск: Изд-во Россельхозакадемии. Сиб. Отд-ние, 2003. – 166 с.
10. Mclean, M. Field evidence of the effects of the epigeic earthworm *Dendrobaena octaedra* on the microfungus community in pine forest floor / M. McLean, D. Parkinson // *Soil Biol. Biochem.* 2000. – № 32. - P. 351-360.
11. Зинин, Н.В. Особенности переваривания микроорганизмов почвенными беспозвоночными / Н.В. Зинин, Я.М. Рабинович, В.В. Демин, Б.А. Бызов // *Проблемы почвенной зоологии: Тезисы II Всеросс. совещания.* – Москва, 1999. – С. 191.

12. Емцев, В.Т. Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Колос, 1993. – 383с.

13. Бубина, А.Б. Использование гриба рода *Trichoderma* для ускорения процесса вермикультивирования методом предварительной ферментации органического субстрата / А.Б. Бубина., Н.Н. Терещенко // Матлы 2-й междуна. науч.-практ. конф. «Дождевые черви и плодородие почв». - Владимир, 2004. – С. 162.

14. Хомяков, Н.В. Реакция микроорганизмов на воздействие пищеварительной жидкости дождевых червей / Н.В. Хомяков, С.А. Харин, Т.Ю. Нечитайло, П.Н. Голышин,

А.В. Кураков, Б.А. Бызов, Д.Г. Звягинцев // Микробиология. – 2007. – № 76. – № 1. – С. 45-54.

15. Byzov, B.A. Fate of soil bacteria and fungi in the gut of earthworms / B.A. Byzov, N.V. Khomyakov, S.A. Kharin, A.V. Kurakov // European Journal of Soil Biology. – 2007. – V. 43. – P. 149-156.

16. Moody, S.A. Fate of some fungal spores associated with wheat straw decomposition on passage through the guts of *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea longa* / S.A. Moody, T.G. Pearce, J. Dighton // Soil Biol. Biochem. 1996. V. 28. P. 533-537.

УДК 575:581.144.2:581.133.8:582.683.2

ОСОБЕННОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ФОРМЫ КОРНЕВЫХ ВОЛОСКОВ У *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH. ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ГЕНОВ *CEN1* И *SAR1*

Хаблак Сергей Григорьевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Почвоведение и агрохимия»

Луганский национальный аграрный университет

e-mail: serhab_211981@rambler.ru

91008, Украина, г. Луганск, городок ЛНАУ; тел.: e-mail: serhab_211981@rambler.ru

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., корневой волосок, клеточная стенка, ген, мутация, мутантная линия, взаимодействие генов.

Представлены результаты исследования влияния взаимодействия генов *CEN1* и *SAR1* на образование формы корневых волосков у *Arabidopsis thaliana*. Установлено, что наследование формы корневых волосков у арабидопсиса при взаимодействии генов *CEN1* и *SAR1* происходит по типу комплементарного действия генов.

Введение. Корень – подземный орган растения [1]. У растений кончик корня снаружи покрыт однослойной эпиблемой (кожицей). Кожица корня всасывает воду, минеральные вещества из почвы и передает их в стебель и листья. Клетки эпиблемы способны образовывать корневые волоски. Они являются настоящими выростами внешних стенок поверхностных клеток корня, которые не ограничиваются от них перегородками [2].

Несмотря на важную роль волосков эпиблемы в поглощении воды и питательных веществ из почвы, генетический контроль их развития у растений остается практически неисследованным. Очень мало известно о молекулярно-генетических механизмах, регулирующих морфогенез выростов клеток кожицы корня.

К настоящему времени генетические исследования выявили ряд генов у *A. thaliana*, участвующих в процессе развития