

метаболизма костной ткани / О.М. Лесняк, О.Ю. Санникова // Русский Медицинский Журнал ND10 №07-00910.

3. Панин, Л.Е. Влияние хонгурина как кормовой добавки на показатели обмена веществ кур. / Л.Е. Панин, Т.А. Третьякова, А.А. Розуменко // Сб. научн. Трудов: Физико-химические и медико-биологические свой-

ства природных цеолитов. – Новосибирск, 1990. – С. 67 – 71.

4. Прохончуков А.А. Проблемы космической биологии. Гомеостаз костной ткани в норме и при экстремальном воздействии / А.А. Прохончуков, Н.А. Жижина, Р.А. Тигронян // В кн. Проблемы космической биологии – М.: Наука, 1984, т.49. 200 с.

УДК 631.472.56

ОБЩИЕ И ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ЧЕРТЫ МИКРОБИОЦЕНОЗА ПРОМЫШЛЕННОЙ ВЕРМИКУЛЬТУРЫ *EISENIA FETIDA ANDREI* (BOUCHE, 1972) И ЕЕ ПРИРОДНОГО АНАЛОГА *EISENIA FETIDA* (SAVIGNY, 1826)

Романова Елена Михайловна, доктор биологических наук, Заслуженный работник Высшей школы РФ, профессор кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология» E-mail: vvr-emr@yandex.ru

Мухитова Минзифа Эминовна, кандидат биологических наук, ассистент кафедры «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология». E-mail: Muhitova_79@mail.ru

ФГБОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия». 432063, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1. тел. 8(84663) 55-95-38

Титова Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Лесное хозяйство»

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет. Институт медицины, экологии и физической культуры».

г. Ульяновск, Набережная р.Свияга, 106/1 тел (8422) 32-73-24 E-mail: leshos@sv.ulsu.ru

Ключевые слова: вермикультура, кишечный микробиоценоз, симбиотная микробиота.

Статья посвящена исследованию перспектив использования природных люмбрицид вида *E. fetida*, выделенных из почв Средневолжского региона, в биотехнологии вермикультивирования. В работе приведены результаты сравнительной оценки микробиоценоза кишечного тракта промышленной вермикультуры *E. fetida andrei* и природных люмбрицид вида *E. fetida* Средневолжского региона. Охарактеризована симбиотная микробиота кишечника обеих вермикультур и ее роль в процессах биотрансформации органических субстратов из отходов сельскохозяйственного производства.

Организм многоклеточных вполне обоснованно можно рассматривать как сложный саморегулирующийся биоценоз с огромным количеством структурных компонентов, представленных симбиотной микробиотой [15], поскольку, по данным американских исследователей, у высших млекопитающих только около 10% клеток

являются собственными, остальные 90% принадлежат бактериям, населяющим различные биотопы организма [18]. Безусловно, все эти бактерии – симбиотная микробиота.

Это хорошо согласуется с идеей, постулирующей, что симбиоз является основой выживания биосферы. Согласно биосфер-

ной концепции В.И. Вернадского именно микроорганизмы связывают воедино все компоненты биотического круговорота, осуществляют фиксацию азота, регулируют круговорот многих неорганических веществ, обеспечивают разложение отмершей органики, дополняя новыми звеньями пищевые цепи экосистем.

В связи с новым взглядом на фундаментальную роль микробиоты в поддержании устойчивости биосферы, в жизнедеятельности многоклеточных организмов в последнее время отмечается повышенный интерес к исследованиям **микробиоценоза у животных разных таксонов.**

Дождевые черви вносят большой вклад в поддержание устойчивости биосферы, поскольку симбионтная микробиота их кишечника играет доминирующую роль в процессах почвообразования и повышения плодородия почв. У дождевых червей существует биологическое равновесие между организмом хозяина и симбионтной микробиотой, сформировавшей эволюционно сложившийся, устойчивый микробиоценоз [16].

Представители вида *E. fetida* распространены в России повсеместно, их естественная среда обитания – широколиственные леса, однако в условиях современной цивилизации они приспособились осуществлять биотрансформацию гниющих органических остатков антропогенного характера в биогумус. Основываясь на этой способности, в Америке была создана промышленная вермиккультура *Eisenia fetida andrei* (Bouche, 1972). Эта гибридная форма дождевых червей создавалась как промышленная линия вермиккультуры для получения биогумуса.

В России эту вермиккультуру, чаще называемую калифорнийским гибридом, стали использовать сравнительно недавно и недостаточно широко. Для этого есть объективные причины. Круглогодичная вермиккультура *Eisenia fetida andrei* (Bouche, 1972) в российских условиях требует крытых отапливаемых помещений. Эти условия делают высокзатратным использование калифорнийского гибрида большую часть года, т.е. осенью, зимой и весной.

В этой связи целесообразно вести поиск местных природных морозоустойчивых аналогов калифорнийских червей, способных выживать в зимний период и эффективно перерабатывать органику при пониженных температурах. С этой целью мы выделили из почвенных ценозов Средневолжского региона дождевых червей вида *E. fetida* (Savigny, 1826), культивировали их в лабораторных условиях, нарабатываем достаточное количество биомассы для вермиккультивирования [3].

Целью нашей работы было сравнительное исследование структуры микробиоценоза кишечника любрицид калифорнийской промышленной линии *E.f. andrei* и их природных аналогов *E.fetida* Средневолжского региона, а также сравнительная характеристика их симбионтной микробиоты, обеспечивающей эффективную деструкцию органических субстратов из отходов животноводства. Для контроля проводились исследования микробиоты субстрата, подготовленного для вермиккультивирования.

Для оценки численности систематических и физиологических групп микроорганизмов проводили посевы на селективные питательные среды, учет численности аммонифицирующих микроорганизмов проводили на МПА, нитрифицирующих микроорганизмов – на среде Виноградского, целлюлолитических микроорганизмов – на среде Гетчисона, актиномицетов - на крахмально аммиачном агаре, грибов – на среде Чапека, микроорганизмов, мобилизующих органические фосфаты – на среде Менкиной [7].

В данной работе мы оценивали общее количество микробиоты в кишечнике калифорнийских червей, природных компостных червей и в субстрате для вермиккультивирования.

Микробиоценоз кишечника природных дождевых червей *E. fetida* – сложная саморегулирующаяся сбалансированная система симбионтных микроорганизмов-деструкторов, которые перерабатывают и реутилизируют продукты обмена животных и погибшие микроорганизмы [2, 12]. Этот микробиоценоз стабилен даже в условиях смены режимов питания и состоит из ми-

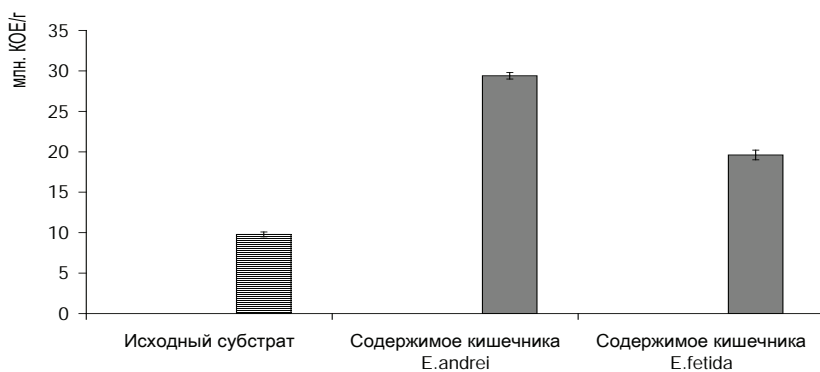


Рис. 1. Численность микробиоты в субстрате и кишечнике любрицид

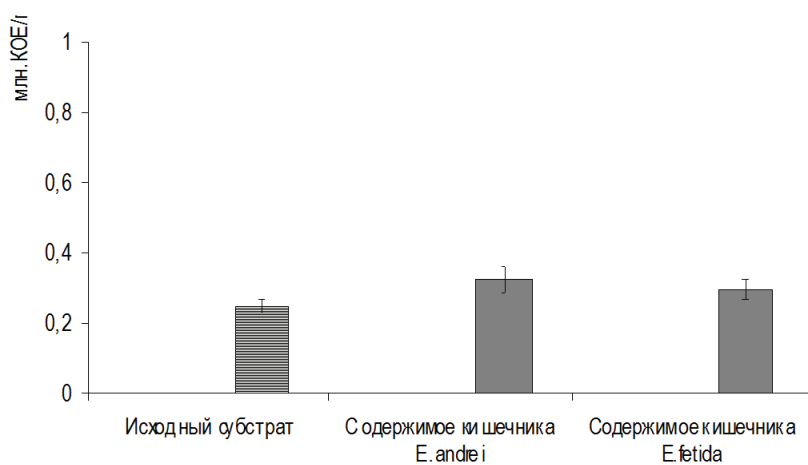


Рис. 2. Численность целлюлозолитической микробиоты

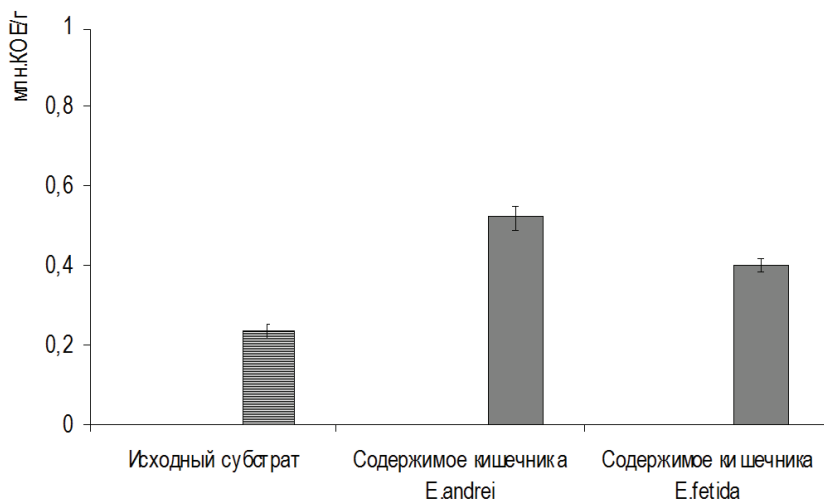


Рис. 3. Численность сапрофитных грибов

микробиоты пристеночной зоны и микробиоты кишечного содержимого. Пристеночная микробиота – это представители семейств *Enterobacteriaceae* и *Vibrionaceae*, которые населяют внутреннюю поверхность эпителия и кутикулы всех отделов кишечника [14].

Наши исследования показали, что кишечный микробиоценоз любрицид включает значительно больше микробиоты, чем субстрат. В частности, у промышленной вермикультуры *E.f. andrei*, численность симбионтной микробиоты в 3 раза, а у природных червей *E. fetida* в 2 раза больше, чем в субстрате (рис. 1), следовательно, у природных дождевых червей – *E. fetida* – общее количество микробиоты меньше, чем у промышленной линии калифорнийских червей.

Учет численности целлюлозолитической микрофлоры. Проведенные нами исследования целлюлозолитической микрофлоры показали, что количественные различия микроорганизмов в кишечнике *E.f. andrei* и в кишечнике *E. fetida* не существенны. При количественном сравнении целлюлозолитической микробиоты кишечного содержимого червей *E.f. andrei*, *E. fetida* и субстрата установлено, что в кишечном микробиоценозе *E.f. andrei* микробиоты на 30% больше, а в кишечном микробиоценозе *E. fetida* на 20% больше, чем в субстрате. Результаты представлены на рис. 2.

Возникает вопрос, чем обусловлена такая ситуация? Любрициды по способу питания относятся к сапрофитам, которые потребляют разлагающиеся части растений и животных, детрита, экскрементов и жидких продуктов разложения; мертвое органическое вещество не может служить основным источником их пищи [9]; они не способны самостоятельно переваривать целлюлозу, это осуществляют симбионтные

целлюлозолитические бактерии и ферменты перевариваемых грибов [8].

Учет численности сапрофитных грибов. Низшие сапротрофные грибы играют большую роль в биотрансформации субстрата. Сапротрофные грибы видов *Fusarium lactis*, *Fusarium nivale*, *Trichoderma lignorum*, *Alternaria tenuis*, *Stremphylium botryosum* вместе с бактериями осуществляют разложение лигнина. В разложении пектина совместно с бактериями принимают участие грибы родов *Rhizopus*, *Alternaria*, *Gonabotrys*; в разложении хитина – *Aspergillus*, *Mortierella*; в разложении жира – плесневые грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*. Грибы родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Gladosporium* вместе с бактериями принимают участие в процессах нитрификации и в разложении органических форм азота [1, 7].

В ходе собственных исследований при оценке численности сапрофитных грибов было установлено, что в кишечном микробиоценозе калифорнийского гибрида *E. andrei* численность сапрофитных грибов больше, чем у природных компостных. Если сравнивать с содержанием в субстрате, то в кишечном содержимом калифорнийских червей *E. andrei* сапрофитных грибов в 2,2 раза, а в содержимом кишечника *E. fetida* в 1,7 раза ($p < 0,05$) больше, чем в субстрате (рис. 3). Субстрат в кишечнике калифорнийских червей обогащается сапрофитными грибами на 120%, а в кишечнике природных *E. fetida* на 70%.

Согласно данным литературных источников, при вермикультивировании увеличивается общая численность грибов и изменяется структура сообщества микробиоценоза в сторону увеличения доли сапротрофных грибов *Trichoderma*, и сокращения патогенных грибов [10, 17]. Таким же эффектом обладают бактерии рода *Pseudomonas* в отношении фитопатогенных грибов [11, 13].

Оценка численности актиномицетов. Актиномицеты – обязательный структурный

компонент кишечного микробиоценоза дождевых червей, они обладают миколитической активностью, а отмирающие тела самих бактерий служат источником питания [5]. За счет образования актиномицетами антибиотических веществ кишечный микробиоценоз дождевых червей обладает устойчивостью к колонизации чужеродными микроорганизмами [4].

Результаты проведенных нами исследований свидетельствуют, что численность актиномицетов в кишечном микробиоценозе калифорнийских червей *E. andrei* достоверно выше, чем у компостных *E. fetida*. По сравнению с численностью актиномицетов в субстрате в кишечном микробиоценозе калифорнийских червей *E. andrei* их в 2 раза больше, а в микробиоценозе компостных червей *E. fetida* больше на 20% ($p < 0,05$) (рис. 4).

Экологическая роль актиномицетов заключается в разложении сложных субстратов, а также в синтезе и разложении гумусовых веществ, в трансформации лигнина, хитина; в сообществе с низшими сапротрофными грибами они переводят нерастворимые соединения фосфорной кислоты в растворимые, осуществляют фиксацию азота и участвуют в разложении органофосфатов [7].

Оценка численности микробиоты, разлагающей органофосфаты.

Органические соединения фосфора разлагаются бактериями родов *Pseudomonas*, *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. mesen-*

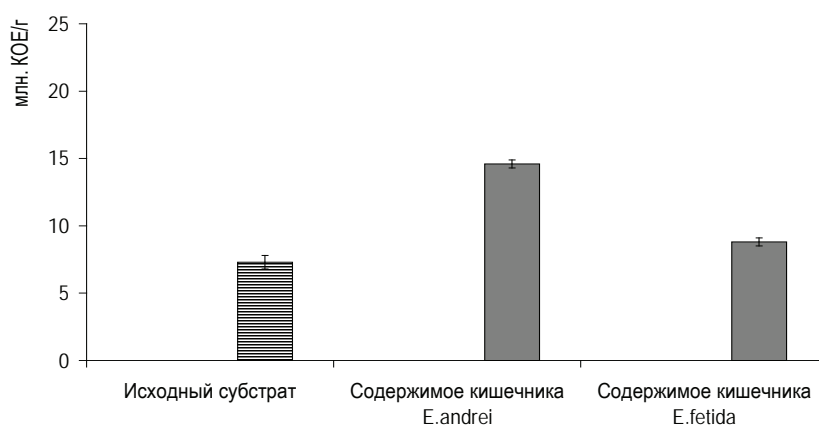


Рис. 4. Численность актиномицетов

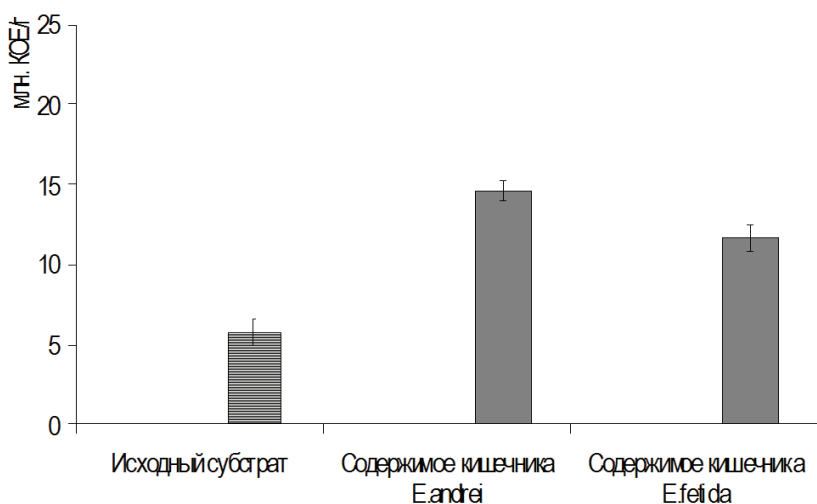


Рис. 5. Численность микробиоты, мобилизующей органофосфаты

tericus), грибами, некоторыми актиномицетами, дрожжами (*Candida*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula* и другие) [7].

Мы установили, что микробиоты, мобилизующей органофосфаты, в кишечном микробиоценозе *E.f. andrei* в 2,5 раза больше, а в кишечном микробиоценозе компостных червей *E. fetida* больше в 2 раза ($p < 0,05$), чем в субстрате. Результаты представлены на рис. 5. Таким образом, симбионтная микрофлора люмбрицид трансформирует субстраты, обогащая их микробиотой, эффективно растворяющей фосфаты, находящиеся в субстрате в недоступной для растений форме [1].

Оценка численности аммонифицирующей микробиоты.

Аммонификацию, т.е. превращение органических белков в аммиачный азот осуществляют в основном микроорганизмы родов: *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, они выделяют протеолитические ферменты (протеазы и пептидазы), под действием которых белки гидролизуются до аминокислот, которые, поступая в клетку, дезаминируются с образованием аммиака, органических кислот и других продуктов [7].

Исследование численности аммонифицирующей микробиоты показало, что

ее больше в микробиоценозе калифорнийских червей, чем компостных.

В содержимом кишечника калифорнийских червей ее в 2,3 раза больше, а в содержимом кишечника компостных червей *E. fetida* в 2,2 раза больше, чем в субстрате ($p < 0,05$). Результаты представлены на рис. 6.

Оценка численности нитрифицирующей микробиоты.

Одной из наиболее важной для люмбрицид групп микроорганизмов, обеспечивающих защиту от повышенных концентраций аммиака, являются нитрификаторы. Нитрификация – процесс окисления аммиака до азотистой, а затем азотной кислот, проходит в две фазы при участии бактерий семейства *Nitrobactericidae* [7, 11]. Угнетение деятельности нитрифицирующей микрофлоры приводит к массовой гибели червей уже на 2-3 день культивирования.

Результаты наших исследований показали, что в кишечном микробиоценозе калифорнийских червей нитрифицирующей микробиоты в 2,4 раза, а в содержимом кишечника *E. fetida* в 2,2 раза больше, чем в субстрате ($p < 0,05$) (рис. 7).

Эффекты от взаимодействий симбионтной микробиоты, формирующей микробиоценоз люмбрицид реализуются в процессах разложения и минерализации органического вещества, мобилизации-иммобилизации, круговороте углерода, азота и биогенных элементов, формировании водно-воздушного режима почвы и образования гумуса.

Согласно литературным данным, в бактериофауне ферментативного слоя подстилки доминируют те же микроорганизмы, что и в копролитах люмбрицид [14]. Люмбрициды, пропуская почву через кишечный тракт, проводят селективный отбор почвенной микробиоты, формируя структуру почвенного микробиоценоза [2, 6, 11].

Подводя итог проведенным иссле-

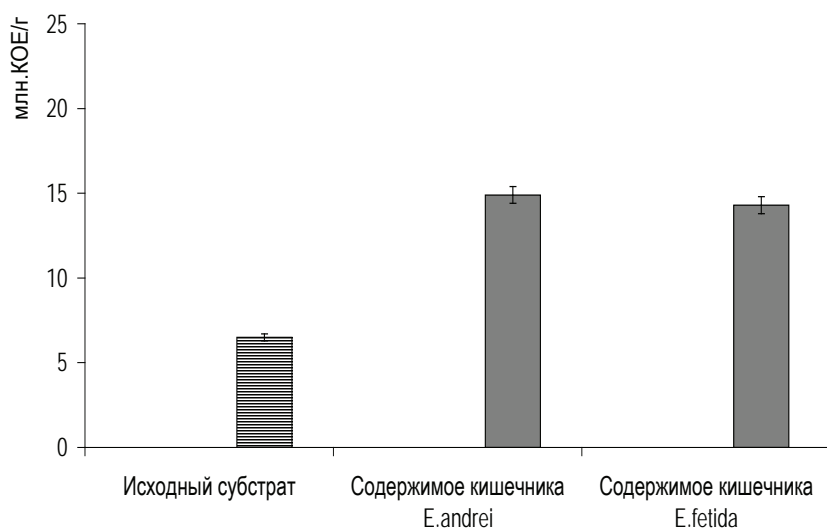


Рис. 6. Численность аммонифицирующей микробиоты

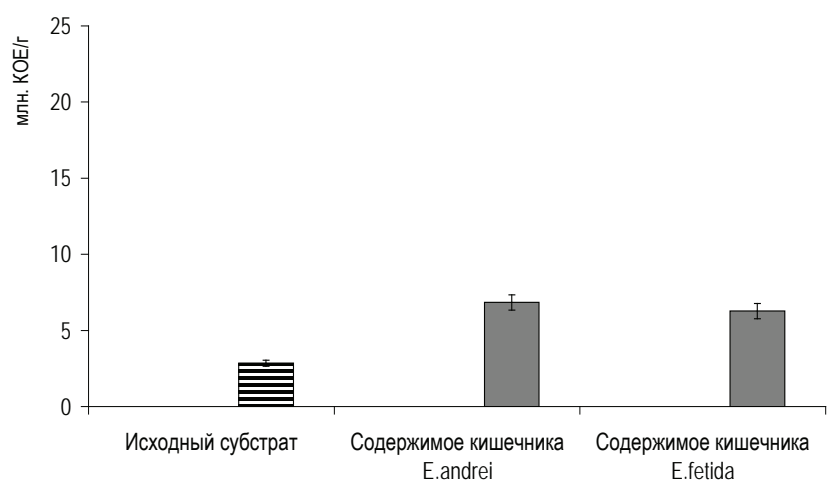


Рис. 7. Численность нитрифицирующей микробиоты

дованиям, необходимо отметить, что исследуемая нами вермиккультура дождевых червей Средневолжского региона *E. fetida*, выделенных из природной среды, по характеристикам кишечного микробиоценоза идентична *E. fetida andrei*, хотя и содержит меньше (в количественном отношении) симбионтной микробиоты всех групп, обеспечивающей эффективную деструкцию органических субстратов и способной осуществить эффективную биотрансформацию субстрата.

Высокий уровень идентичности групп микроорганизмов кишечного микробиоценоза промышленного калифорнийского гибрида и люмбрицид Средневолжского региона *E. fetida* позволяет рекомендовать при-

родных люмбрицид *E. fetida* Средневолжского региона для использования в качестве перспективной вермиккультуры, эффективность которой можно значительно повысить направленной селекцией.

Библиографический список

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

2. Бызов Б.А. Регуляция микрофауны биомассы и активности почвенных микроорганизмов / Б.А. Бызов, Е.Б. Третьякова, Т.Г. Добровольская, Д.Г. Звягинцев. – Микробиология. - №5, том 62. – 1993. – С. 916-927.

3. Всеволодова-Перель Т.С. Дождевые черви фауны России: Кадастр и определитель / Т.С. Всеволодова-Перель. - М.: Наука, 1997.-102 с.

4. Ву Нгуен Тхань Судьба дрожжей в ассоциациях с почвенными беспозвоночными / Ву Нгуен Тхан // Автореф. дисс. канд. биол. наук. – 1993. – Изд-во МГУ. – 24с.

5. 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.

6. Звягинцев Д.Г. Количественная оценка влияния беспозвоночных животных на рост микроорганизмов в почве / Д.Г. Звягинцев Н.С. Паников, А.Ю. Горбенко// Почвенная фауна и плодородие. Труды 9-й междунар. коллоквиума по почвенной зоо-

логии. – Под. ред. Стригановой Б.Р. – М.: Наука, 1987. – С. 63-67.

7. Мухитова М.Э. Характеристики микробиоценоза вермикомпостов люмбрицид / М.Э. Мухитова // Объединенный научный журнал. - Москва: Изд-во АНП - №12. – 2008. – С. 45-47.

8. Паников Н.С. Количественная оценка влияния мезофауны на скорость разложения растительного опада / Н.С. Паников, А.Ю. Горбенко, Д.Г. Звягинцев // Вестн. МГУ, сер почвоведение. - №3. – 1985. – С. 37-45.

9. Стриганова Б.Р. Питание почвенных сапрофагов / Б.Р. Стриганова. - М.: Наука, 1980. – 242 с.

10. Стриганова Б.Р. Роль почвенных животных в процессах разложения растительных остатков / Б.Р. Стриганова // Проблемы почвенной зоологии Матер. V Всесоюзн. Сов. – Вильнюс, 1975. – С. 32-35.

11. Терещенко Н.Н. Взаимоотношения между микрофлорой пищеварительного тракта дождевого червя и сапрофитными микроорганизмами перерабатываемого им торфонавозного субстрата / Н.Н. Терещенко, Н.Н. Наплекова // Торф и сельское хозяйство. Сборник научных трудов СибНИИТ. – Томск, 1994. – С. 134.

12. Терещенко Н.Н. Влияние различных экологических групп дождевых червей на интенсивность азотофиксация / Н.Н. Те-

рещенко, Н.Н. Наплекова // Известия РАН сер. Биологическая. – 2002. - №6. – С.763.

13. Терещенко Н.Н. Эколого-микробиологические аспекты вермикультивирования / Н.Н. Терещенко. – Новосибирск: Изд-во Россельхозакадемии. Сиб. Отд-ние, 2003. – 166 с.

14. 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.

15. Goodacre R. Metabolomics of a superorganism / R. Goodacre // J Nutr. – 2007. - № 137(1 Suppl). – P. 259–266.

16. 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.

17. 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.

18. Turnbaugh P.J. The human microbiome project / P.J. Turnbaugh, R.E. Ley, M. Hamady, C.M. Fraser-Liggett, R. Knight, J.I. Gordon // Nature. – 2007. – № 449 (7164) - P. 804–810.

УДК 636

СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД ПРИ ОЦЕНКЕ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ В БИОТЕХНОЛОГИЯХ ПОЛУЧЕНИЯ СПЕРМОПРОДУКЦИИ

Романова Елена Михайловна, доктор биологических наук, Заслуженный работник Высшей школы РФ, профессор, заведующая кафедрой «Биология, ветеринарная генетика, паразитология и экология» E-mail: vvr-emr@yandex.ru

Романов Василий Васильевич, кандидат технических наук, доцент, заведующий кафедрой информатики

ФГБОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия».

432063, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1. тел. 8(8422) 55-95-92. E-mail: vvr-emr@yandex.ru

Ключевые слова: биотехнология в животноводстве, быки-спермодоноры, репродук-