

БИОЛОГИЯ

УДК 595.142.3

ВЛИЯНИЕ ВНОСИМОГО В ПОЧВУ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА, ЖЕЛАТИНЫ И БАКТЕРИАЛЬНОГО ПЕПТОНА НА УСПЕХ РАЗМНОЖЕНИЯ ЭНХИТРЕИД (OLYGOSCHAETA, ENCHYTRAEDIAE)

© 2008 г. И.А. Горшкова¹

Изучение влияния чужеродного белка на животных-детритофагов существенно не только для оценки роли ресурсов белка в регулировании их популяций, но и для решения практической задачи переработки животных отходов. В работе использована методика экотоксикологического тестирования бычьего сывороточного альбумина, бактериального пептона и желатины с модельным видом энхитреид (*Olygochaeta*, *Enchytraeidae*) *Enchytraeus crypticus*. Альбумин достоверно стимулирует размножение в большей степени, чем бактериальный пептон и желатина. Альбумин вызывает максимальный прирост числа молодых особей при концентрации внесенного белка 1 мг/г почвы, желатина – при концентрации 1,8 мг/г, а бактериальный пептон – 3,2 мг/г почвы. Важнейшую роль в стимуляции размножения энхитреид играет питательная ценность белка.

Ключевые слова: бычий сывороточный альбумин, бактериальный пептон, желатина, экотоксикологическое тестирование, энхитреиды, почва.

Правило минимума Либиха давно выделило азот, наряду с фосфором, как элемент, регулирующий структуру сообществ почвенных организмов [1, 2]. В отличие от растений и микроорганизмов животные способны усваивать только органические формы азота в виде аминокислот, витаминов и белков. Минеральные формы азота являются для них токсичными, что подтверждается практикой внесения азотных удобрений [3, 4]. Влияние чужеродного белка на животных-детритофагов экспериментально не рассматривалось, хотя это существенно не только для оценки роли ресурсов белка в регулировании их популяций, но и для решения такой практической задачи, как переработка животных отходов [5, 6].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для оценки воздействия чужеродного белка на животных-детритофагов в почве использовали методику, применяемую в экотоксикологическом тестировании с модельным видом энхитреид *Enchytraeus crypticus* Westheide, Graefe, 1992 [7–9]. В качестве субстрата в эксперимен-

те использовали дерново-подзолистую почву из ельника в окрестностях Сатинской географической учебной станции (Боровск, Калужская обл., 55°13' с.ш., 36°22' в. д.). Почву перед использованием освобождали от корней и других органических остатков. После этого просеивали через сито (размер ячеек 2 мм) и смешивали с белком в концентрациях 1,8; 3,2; 5,6 и 10 мг/г в пересчете на сухую массу. Почва без добавления белка служила контролем. Использовали три вида белка, различающихся по полноценности аминокислотного состава [10]: бактериальный пептон (Диа-М), пищевую желатину (Химмед) и бычий сывороточный альбумин (БСА) (Sigma).

Почву увлажняли до 60% максимальной влагоемкости и раскладывали по 100-миллилитровым пластиковым сосудам из расчета 10 г почвы (в сухой массе) на сосуд. В каждый сосуд вносили по 10 взрослых энхитреид. В соответствии с методикой экотоксикологического тестирования в контроле было 8 и в опытных вариантах по 4 повторности. Поскольку опыты с различными видами белка проводили последовательно, то для каждой серии был заложен собственный контроль. Сосуды с *E. crypticus* помещали в термошкаф при температуре 20±2 °С. Опыт продолжался четыре недели. Через две недели взрослых особей удаляли, а

¹ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, 119071, Москва, Ленинский пр-т, 33; e-mail: panchenko@yandex.ru.

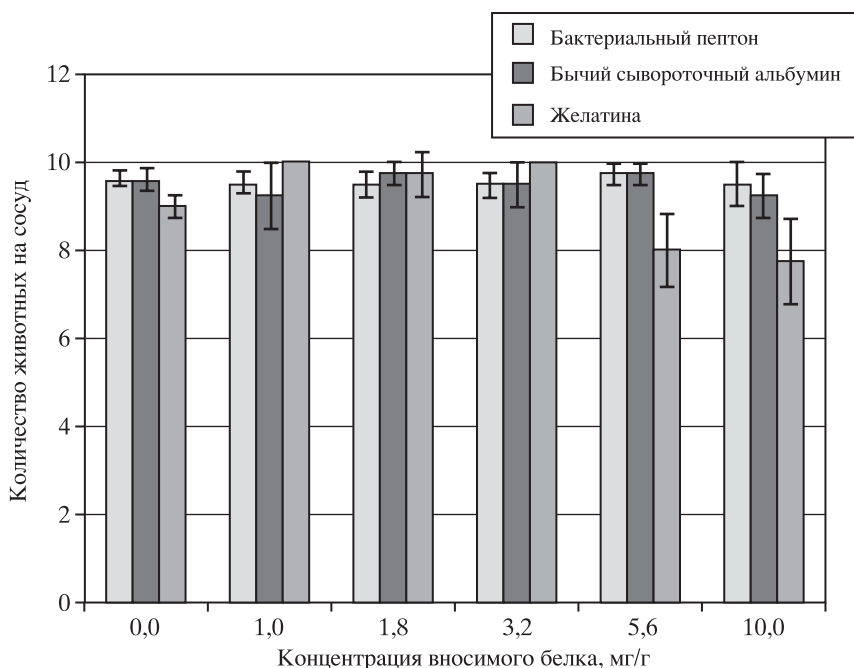


Рис. 1. Влияние белков (бактериального пептона, бычьего сывороточного альбумина и желатины) на выживание *E. crypticus*

спустя еще две недели в каждый сосуд добавляли по 10 мл спирта и по несколько капель 1%-ного раствора бенгалроз. Результаты эксперимента оценивали по показателю «успех размножения» – количество молодых особей энхитреид на день подсчета. Сосуды оставляли на сутки, после этого подсчитывали число молодых особей. Данные эксперимента обрабатывали с помощью статистического пакета Statistica for Windows 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Практически все взрослые особи выживали в диапазоне концентраций вносимых белков, за исключением желатины, где при концентрации 5,6 и 10 мг/г выживаемость особей была ниже, чем в остальных вариантах, включая контрольный (рис. 1).

Спустя четыре недели максимальное число молодых особей было отмечено в варианте с внесением альбумина в концентрации 1 мг/г, тогда как в случае с внесением желатины максимум пришелся на концентрацию 1,8 мг/г, пептона – на 3,2 мг/г почвы. Успех размножения в контроле при внесении любого белка был ниже в сравнении с опытом, за исключением концентрации пептона 10 мг/г (рис. 2).

При нормировании числа молодых особей в почве в вариантах с различными концентрациями белка в процентах по отношению к средне-

му числу молодых особей в контроле оказалось, что достоверных различий между максимальной величиной успеха размножения в варианте с внесением БСА и таковой в варианте с внесением пептона не обнаружено. Желатина оказывается наименее «питательным» белком по сравнению с другими при подобном нормировании [11].

Сравнивая отношение молодые/взрослые особи, можно отметить, что пептон и БСА в концентрации 10 мг/г заметно снижают «плодовитость» энхитреид, тогда как для желатины этот показатель заметно уменьшается при концентрации 3,2 мг/г и практически не меняется при увеличении концентрации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее существенной особенностью вносимых в почву белков оказалось их положительное влияние на энхитреид в меньших концентрациях, чем исходная концентрация белка в почве. Максимальный эффект от БСА был достигнут в концентрациях 20–40%, желатины – 40% и пептона – 60% от исходной в почве. Это говорит о том, что белок почвы мало доступен для энхитреид, что и доказывает их низкая плодовитость в контроле. Таким образом, внесенные белки увеличили ресурсы доступного белка и были использованы энхитреидами. Различия в оптимальных концентрациях определяются пита-

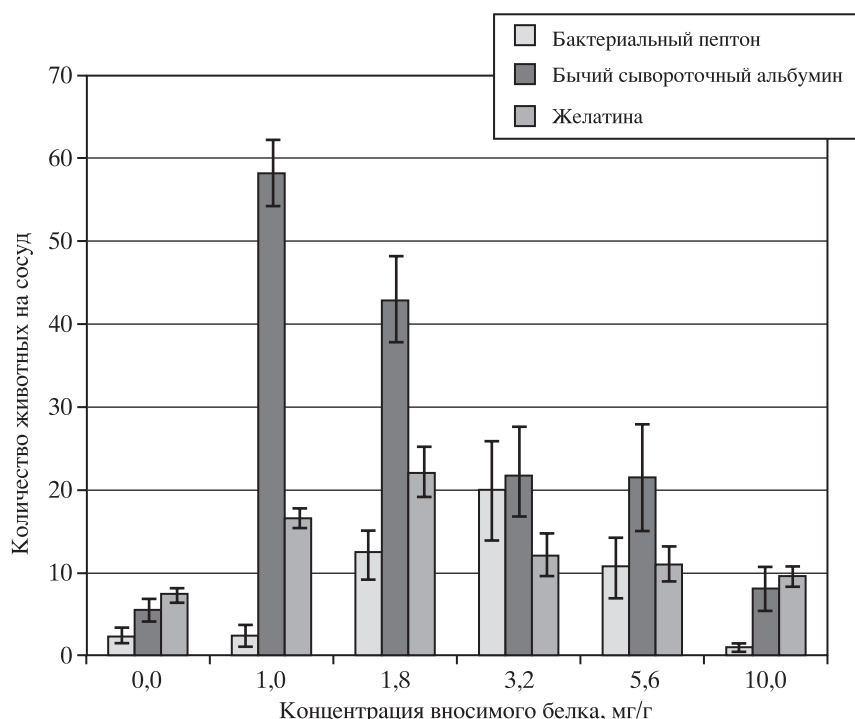


Рис. 2. Влияние белков (бактериального пептона, бычьего сывороточного альбумина и желатины) на успех размножения *E. crypticus*. Результаты дисперсионного анализа: для БСА $F = 8,17$; $p = 0,0002$; для желатины $F = 28,01$; $p < 0,0001$; для БП $F = 7,95$; $p = 0,0002$

тельными свойствами разных белков и, вероятно, скоростью их деградации в почве [11]. БСА, по качеству близкий к яичному альбумину [11], оказался и наиболее «питательным», вызвав скачок размножения уже в концентрации 1 мг/г почвы, тогда как пептон и желатина в этой концентрации еще практически не влияли на размножение. Низкая «пищевая ценность» желатины, которая содержит не весь набор незаменимых аминокислот [10], определила максимум размножения при ее внесении только в концентрации 1,8 мг/г почвы, когда, вероятно, количество доступного белка стало соответствовать его качеству. Максимальное размножение энхитреид при внесении пептона в концентрации 3,2 мг/г объясняется, возможно, тем, что этот частично гидролизированный белок хорошо доступен и для протеолитической микрофлоры, в отличие, например, от желатины, разрушающейся в почве в течение нескольких недель [12]. Соответственно пока разложение пептона не приводит к образованию большого числа токсичных продуктов, он требуется в больших количествах, чем БСА и желатина, из-за «конкуренции» между энхитреидами и протеолитической микрофлорой.

Очевидно, что при увеличении концентрации доступного белка в почве происходит и увеличение продукции токсичных продуктов его разло-

жения, основным из которых является аммиак [12, 13]. Пептон как наиболее доступный белок для микроорганизмов вызывает более заметный токсический эффект на «успех размножения», чем желатина и БСА. Это заметно при концентрации 10 мг/г. Вероятно, продукты разрушения желатины токсичны и для взрослых, и для молодых особей, тогда как БСА и пептон практически не влияют на взрослых особей. Тем не менее, концентрация 10 мг/г почвы является, вероятно, критической для энхитреид при внесении разных белков.

Следовательно, добавление животного белка компенсирует недостаток питательных веществ в почве и стимулирует размножение *E. crypticus* до определенного уровня, когда токсичные продукты распада избыточного белка не начинают подавлять размножения. При этом важнейшую роль в стимуляции размножения играет питательная ценность белка. Таким образом, сапротрофные организмы способны усваивать животный белок, подобно многим растительноядным беспозвоночным.

Благодарности. Автор благодарен безвременно ушедшему научному руководителю проф. А.Д. Покаржевскому.

Исследование проведено при финансовой поддержке РФФИ (грант № 06-05-64902).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Покаржевский А.Д., Криволицкий Д.А. Круговорот элементов и структура сообществ животных в лесостепи // Экология. 1981. № 4. С. 67–77.
2. Покаржевский А.Д. Геохимическая экология наземных животных. М.: Наука, 1985. 298 с.
3. Тишлер Т. Сельскохозяйственная экология. М.: Колос, 1971. 455 с.
4. Abrahamsen G., Thompson W.N. A long-term study of the enchytraeid (Oligochaeta) fauna of a mixed coniferous forest and the effects of urea fertilization // Oikos. 1979. V. 32. P. 318–327.
5. Mondini C., Cayuela M.L., Sinicco T., Monedero M.A.S., Bertolone E., Bardi L. Soil application of meat and bone meal. Short-term effects on mineralization dynamics and soil biochemical and microbiological properties // Soil Biology and Biochemistry. 2008. V. 40. P. 462–474.
6. Pokarzhevskii A.D., van Straalen N.M., Zaboev D.P., Zaitsev A.S. Microbial links and element flows in nested detrital food-webs // Pedobiologia. 2003. V. 47 (3). P. 213–224.
7. Römcke J., Moser T. Report on an International Ringtest with the Enchytraeid Reproduction Test // UBA-Test 4/99. 1999. 373 p.
8. Filimonova Z.V., Pokarzhevskii A.D. Enchytraeid *Enchytraeus crypticus* as a test organism for crude oil contamination of soil // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2000. V. 65. № 3. P. 407–414.
9. Römcke J. *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae, Oligochaeta) as a Test Organism in Terrestrial Laboratory Systems // Archives of Toxicology. (Supplement). 1989. P. 402–405.
10. Семенов С.М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов: Справочник. М.: Агропромиздат, 1990. 240 с.
11. Черников М.П. Протеолиз и биологическая ценность белков. М., 1975. 231 с.
12. Alexander M. Introduction to Soil Microbiology. N.Y.: John Wiley and Sons, 1977. 544 p.
13. Кемпбелл Дж. У. Выделение продуктов азотистого обмена // Сравнительная физиология животных / Под ред. Л. Проссера. М., 1977. С. 536–591.

THE EFFECT OF BACTERIAL PEPTONE, BOVINE SERUM ALBUMIN AND GELATINE ADDITION TO SOIL ON ENCHYTRAEID (OLYGOCHAETA, ENCHYTRAEIDAE) REPRODUCTION SUCCESS

I.A. Gorshkova

The study of the effect of alien proteins on detritophagous animals is essential for two reasons. First, to estimate the role of protein resources in soil in regulation of their populations. Second, as a practical measure when processing animal remains in meat industry. In the study, an ecotoxicological testing by means of *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta, Enchytraeidae) was applied to bacterial peptone, bovine serum albumin and gelatine. Albumin stimulated reproduction to a larger degree than the other two proteins. The maximal number of juvenile abundance was observed when adding 1 mg g⁻¹ of albumine, 1,8 mg g⁻¹ of gelatine, and 3,2 mg g⁻¹ of peptone. The nutritive value of protein played the main role in stimulative effect on enchytraeid reproduction.

Key words: Bacterial peptone, bovine serum albumin, gelatine, ecotoxicological testing, enchytraeidae, soil.

REFERENCES

1. Pokarzhevskiy A.D., Krivolutskiy D.A. 1981. [Circulation of the elements and structure of animal communities in the forest]. *Ekologiya*. (4): 67–77. (In Russian).
2. Pokarzhevskiy A.D. 1985. *Geokhimicheskaya ekologiya nazemnykh zhivotnykh*. [Geochemical ecology of terrestrial animals]. Moscow, Nauka Publ.: 298 p. (In Russian).
3. Tishler T. 1971. *Sel'skokhozyaystvennaya ekologiya*. [Agricultural ecology]. Moscow, Kolos Publ.: 455 p. (In Russian).
4. Abrahamsen G., Thompson W.N. 1979. A long-term study of the enchytraeid (Oligochaeta) fauna of a mixed coniferous forest and the effects of urea fertilization. *Oikos*. 32: 318–327.
5. Mondini C, Cayuela M.L., Sinicco T., Monedero M.A.S., Bertolone E., Bardi L. 2008. Soil application of meat and bone meal. Short-term effects on mineralization dynamics and soil biochemical and microbiological properties. *Soil Biology and Biochemistry*. 40: 462–474.
6. Pokarzhevskii A.D., van Straalen N.M., Zaboev D.P., Zaitsev A.S. 2003. Microbial links and element flows in nested detrital food-webs. *Pedobiologia*. 47(3): 213–224.
7. Römbke J., Moser T. 1999. Report on an International Ringtest with the Enchytraeid Reproduction Test. *UBA-Test 4/99*. 373 p.
8. Filimonova Z.V., Pokarzhevskii A.D. 2000. Enchytraeid *Enchytraeus crypticus* as a test organism for crude oil contamination of soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 65(3): 407–414.
9. Römbke J. 1989. *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae, Oligochaeta) as a Test Organism in Terrestrial Laboratory Systems. *Archives of Toxicology. (Supplement)*. P. 402–405.
10. Semenov S.M. 1990. *Laboratornye sredy dlya aktinomitssetov i gribov. Spravochnik*. [Laboratory environment for actinomycetes and fungi. Directory]. Moscow, Agropromizdat Publ.: 240 p. (In Russian).
11. Chernikov M.P. 1975. *Proteoliz i biologicheskaya tsennost' belkov*. [Proteolysis and biological value proteins]. Moscow: 231 p. (In Russian).
12. Alexander M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. N.Y., John Wiley and Sons: 544 p.
13. Campbell J.W. 1977. [Isolation of products of nitrogen metabolism]. In: *Sravnitel'naya fiziologiya zhivotnykh*. [Comparative physiology of animals]. (Ed L. Prosser). Moscow: 536–591. (In Russian).