

ЗАВИСИМОСТЬ МИКРОБИОТЫ ПОЧВОПОДОБНОГО СУБСТРАТА ОТ СПОСОБА ОБРАБОТКИ СОЛОМЫ ПШЕНИЦЫ¹

Представлены результаты оценки воздействия обработанной различными способами пшеничной соломы на индикаторные группы микроорганизмов в почвоподобном субстрате для выращивания высших растений.

Установлено достоверное изменение в почвоподобном субстрате численности всех групп микроорганизмов в различных вариантах опыта.

Ключевые слова: солома пшеницы, микробиота почвоподобного субстрата, индикаторные группы микроорганизмов, минерализация.

O.V. Sysoeva, L.S. Tirranen,
S.A. Ushakova, G.S. Kalacheva

THE DEPENDENCE OF SOIL-LIKE SUBSTRATE MICROBIOTA ON THE WHEAT STRAW PROCESSING METHOD

The impact assessment results of the processed by different methods wheat straw on the microorganism test groups in the soil-like substrate for the higher plant cultivation are presented.

The trustworthy change in soil-like substrate of all microorganism group number in a variety of experiments is determined.

Key words: wheat straw, soil-like substrate microbiota, microorganism indicated groups, mineralization.

Введение. Работы по созданию биолого-технических систем жизнеобеспечения (БТСЖО) человека начались в нашей стране в середине XX в. [2, 5]. Ранее несъедобные растительные отходы выносились из системы. Увеличение замкнутости БТСЖО по массообмену возможно за счет включения отходов растений в круговорот веществ в системе [10; 12; 13].

N.S. Manukovsky и другими [11] предложена переработка растительных отходов в почвоподобный субстрат (ППС) с достаточно высоким плодородием, позволяющим культивировать на нем растения в искусственных условиях.

Ю.А. Куденко и Р.А. Павленко [3] разработали метод окисления отходов растений и человека перекисью водорода в электромагнитном поле, позволяющим получить питательные растворы для выращивания высших растений.

Оценка воздействия обработанной различными способами пшеничной соломы на индикаторные группы микроорганизмов в почвоподобном субстрате для выращивания высших растений являлась **целью нашей работы**.

Материалы и методы. При изучении влияния способа обработки соломы на индикаторные группы микроорганизмов объектом исследований являлась микробиота почвоподобного субстрата, на котором выращивали культуру редиса *Raphanussativus*L. Растения редиса (сорт Вировский белый) культивировали в вегетационной камере при нормальной концентрации CO₂, круглосуточном освещении и температуре воздуха, равной 24°C. Для освещения использовали лампы ДМ-3. Растения выращивали в вегетационных сосудах из нержавеющей стали объемом 5 л и поверхностью 0,032 м², в каждом – 700 г ППС (в расчете на сухую массу, 21,88 кг/м²). Редис убирали в 30-суточном возрасте, так как он отличается быстрыми темпами роста. Фоном служила проба ППС без растений редиса и обработанной пшеничной соломы.

В период проведения эксперимента перед посевом семян редиса в каждый вегетационный сосуд с почвоподобным субстратом вносили несъедобную биомассу – 40 г соломы пшеницы, обработанной одним из следующих способов:

1. Солому пшеницы минерализовали физико-химическим способом по методу Ю.А. Куденко и Р.А. Павленко [3]. Полученный раствор в течение всего периода вегетации равномерно добавляли в ирригационный раствор для полива растений.

¹ Работа выполнена в Институте биофизики СО РАН, г. Красноярск.

2. Вносили в ППС сухую пшеничную солому, не подвергавшуюся какой-либо обработке.
3. Солому предварительно замачивали, выдерживали в термостате при температуре 50°C, отжимали и отжим равномерно добавляли в ирригационный раствор для полива в процессе вегетации редиса.

В работе использованы общепринятые методы посева, выделения и учета микроорганизмов [7, 8]. Для получения более полного представления о качественном и количественном составе микробиоты ППС пробы брали из среднего слоя субстрата (с глубины 5–10 см) из нескольких точек в стерильную чашку Петри, затем перемешивали и стерильно отбирали среднюю пробу для разведений.

Статистическая обработка данных проведена по Г.Ф. Лакину [4] с помощью программы Microsoft Excel. Влияние различных методов обработки вносимой соломы пшеницы оценивали по критерию достоверности различий между численностью микроорганизмов в исследуемых пробах. Критерием оценки служила стандартная величина нормированного отклонения ($t_{\text{Стьюдента}}$), с которой сравнивалось фактическое значение этого критерия ($t_{\text{эксп}}$) для $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$.

Результаты исследований и их обсуждение. Для определения возможных причин угнетения или усиления роста микроорганизмов в почвоподобном субстрате была сделана водная вытяжка соломы и в ней с помощью масс-спектрометра были идентифицированы органические вещества, растворимые в хлороформе (табл. 1).

Таблица 1

Органические соединения, входящие в состав водной вытяжки соломы

Соединение	Содержание в 500 мл отжима*, мг
Фенольные соединения, всего	40,453
Углеводороды	10,186
4-метилфениловый эфир уксусной кислоты	8,022
Фталаты	7,711
3, 5, 5-триметил-4 (3-оксибутил)-2-циклогексен-1-он	4,587
Прочие органические соединения	34,246
Всего	105, 205

Примечание: * или 100 г соломы.

В таблице 1 представлено содержание в вытяжке ряда соединений фенольной природы, количество которых в почвоподобном субстрате может существенно возрасти при микробиологическом разложении лигнина, содержащегося в соломе.

Действие фенолов неспецифично и обуславливается их содержанием в среде. В низких концентрациях они могут стимулировать эти процессы, а в высоких – тормозить и полностью подавлять [1,6].

В таблице 2 показано изменение численности индикаторных групп микроорганизмов в ППС, выделенных на плотных питательных средах.

Таблица 2

Численность микроорганизмов в почвоподобном субстрате в зависимости от способа обработки соломы

Группа микроорганизмов	Вариант опыта*			
	Фон	1-й	2-й	3-й
Бактерии, усваивающие органический азот, 1×10^6	0,55 ± 0,07	4,88 ± 0,71	4,51 ± 0,41	4,37 ± 0,41
Бактерии группы кишечной палочки, 1×10^3	8,93 ± 0,91	13,56 ± 1,31	4,32 ± 0,48	7,94 ± 1,08
Фитопатогенные бактерии, 1×10^3	8,93 ± 0,65	6,09 ± 0,58	18,79 ± 0,29	13,89 ± 0,25
Бактерии-анаэробы, 1×10^4	1,15 ± 0,10	1,58 ± 0,12	1,65 ± 0,17	2,44 ± 0,18
Микроскопические грибы, 1×10^3	3,57 ± 1	9,14 ± 1,85	12,51 ± 0,88	18,55 ± 0,33
Бактерии, усваивающие минеральный азот, 1×10^5	4,47 ± 0,25	7,62 ± 0,25	1,88 ± 0,25	1,98 ± 0,25

* 1 – солома, минерализованная физико-химическим методом; 2 – сухая солома; 3 – предварительно замоченная солома.

Полученные данные свидетельствуют о зависимости численности исследованных групп микроорганизмов в ППС от способа обработки пшеничной соломы. Наименьшее количество микроорганизмов выявлено в фоне (см. табл. 2), что, видимо, вызвано отсутствием питательных веществ, поступающих с корневыми выделениями растений редиса.

По сравнению с фоном внесение в почвоподобный субстрат соломы пшеницы, обработанной любым из трех способов, увеличило количество бактерий, усваивающих органический азот (см. табл. 2).

Высокая численность бактерий группы кишечной палочки (БГКП) в варианте с минерализованной физико-химическим методом соломы пшеницы является результатом присутствия в растворе легкодоступных для бактерий форм азота [3]. Снижение численности БГКП в варианте с высушенной соломой может свидетельствовать об отсутствии необходимых питательных веществ для роста бактерий.

По сравнению с фоном внесение высушенной соломы в почвоподобный субстрат привело к росту численности фитопатогенных бактерий и микроскопических грибов (см. табл. 2).

Замачивание соломы перед внесением в ППС способствовало значимому увеличению численности фитопатогенных бактерий, бактерий-анаэробов и микроскопических грибов.

Достоверность изменений численности исследованных групп микроорганизмов приведена в таблице 3.

Таблица 3

Критерий достоверности различий ($t_{\text{экс}}$ *) между численностью микроорганизмов в фоне и разных вариантах опыта

Группа микроорганизмов	Вариант опыта		
	1-й	2-й	3-й
Бактерии, усваивающие органический азот	4,19	4,63	4,75
Бактерии группы кишечной палочки	2,90	4,48	0,70
Фитопатогенные бактерии	3,26	13,85	7,12
Бактерии-анаэробы	2,75	2,54	6,26
Микроскопические грибы	2,65	6,95	14,23
Бактерии, усваивающие минеральный азот	8,91	7,33	7,04

* $t_{\text{экс}}$ – критерий разности достоверен при $t_{\text{экс}} \geq t_{\text{ст}}$ ($t_{\text{ст}} = 2,78$ для $p = 0,05$; $t_{\text{ст}} = 4,60$ для $p = 0,01$; $t_{\text{ст}} = 8,61$ для $p = 0,001$). Варианты опыта: см. табл. 2.

На рисунке 1 показано соотношение общего количества бактерий, усваивающих органический азот, и спорообразующих бактерий в стадии спор.

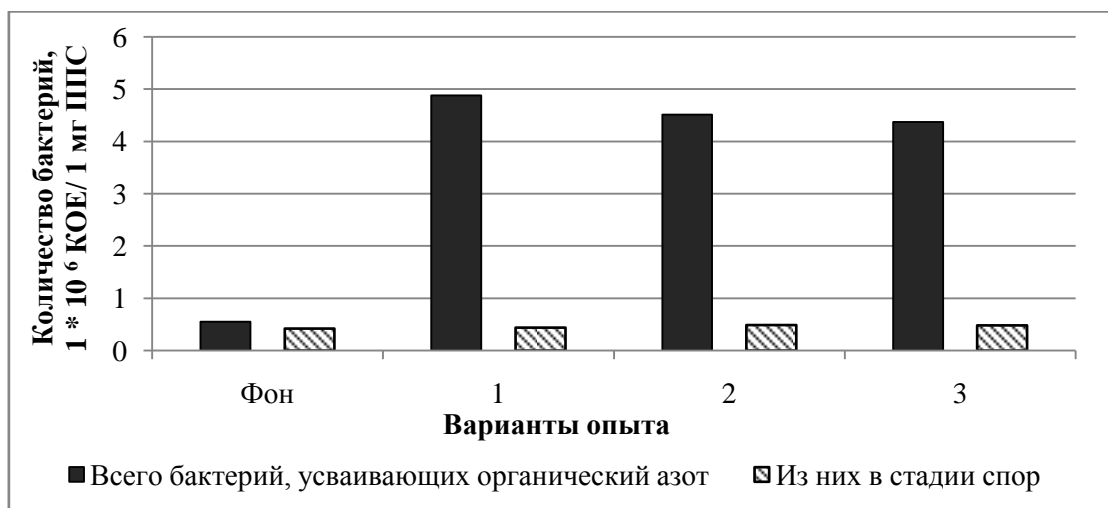


Рис. 1. Численность бактерий в зависимости от способа обработки соломы пшеницы: 1 – солома, минерализованная физико-химическим методом; 2 – сухая солома; 3 – предварительно замоченная солома. КОЕ – колониеобразующие единицы

Количество споровых бактерий в стадии спор между вариантами опыта и фоном достоверно не отличалось (см. рис. 1). В фоне на момент отбора проб основную массу бактерий, усваивающих органический азот, составляли бактерии в стадии спор (до 76 %), тогда как в вариантах опыта с добавлением соломы пшеницы их в среднем было 10 %.

Полагаем, что внесение переработанной соломы пшеницы любым из использовавшихся способов снизило процент спорообразующих бактерий во всех вариантах опыта (рис. 2).

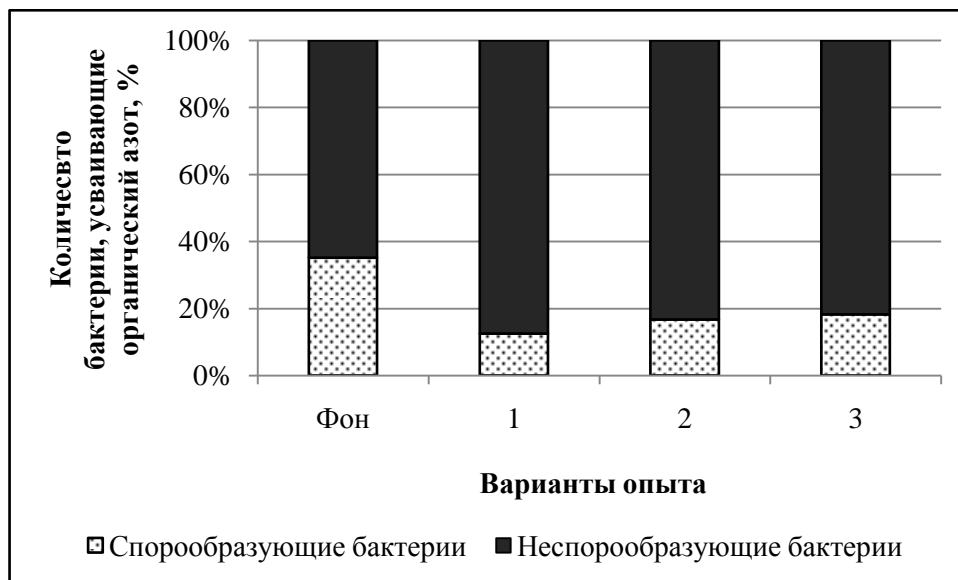


Рис. 2. Численность бактерий, усваивающих органический азот, в зависимости от способа обработки соломы пшеницы: обозначения см. рис. 1

Предполагаем, что высокий процент спорообразующих бактерий в фоне (см. рис. 2) указывает на присутствие большего количества трудноокисляемых органических веществ, чем в других вариантах опыта.

В таблице 4 представлены данные об изменении численности физиологических групп микроорганизмов, выделенных на жидких питательных средах.

Таблица 4

Численность микроорганизмов в почвоподобном субстрате на жидких питательных средах в зависимости от способа обработки соломы

Вариант опыта	Микроорганизмы			
	Аммонифицирующие, 1×10^5	Денитрифицирующие		Целлюлозоразрушающие, 1×10^3
		косвенные, 1×10^3	истинные, 1×10^3	
Фон	13,40	44,70	2,23	2,23
1	7,62	7,62	0,08	3,77
2	93,90	35,70	0,28	28,18
3	179,00	9,93	3,77	9,14

Примечания: 1 – солома, минерализованная физико-химическим методом; 2 – сухая солома; 3 – предварительно замоченная солома. Статистическая обработка проведена при расчете количества микроорганизмов по таблице Мак-Креди.

Количество микроорганизмов различных физиологических групп также зависело от способа обработки соломы.

Внесение в ППС соломы, минерализованной физико-химическим методом [3], значительно снизило численность аммонификаторов, косвенных и истинных денитрификаторов (в 1,8; 5,9 и 28,6 раза соответ-

венно по сравнению с фоном), что предотвращает потери азота в почвоподобном субстрате при выращивании растений. Количество целлюлозоразрушающих микроорганизмов увеличилось в 1,7 раза по сравнению с фоном произошло это, вероятно, благодаря присутствию в растворе трудноокисляемых органических соединений.

Добавление в почвоподобный субстрат сухой соломы значительно увеличило численность аммонифицирующих и целлюлозоразлагающих микроорганизмов, снизило количество косвенных и истинных денитрификаторов, что согласуется с литературными данными [9].

Использование отжима соломы пшеницы (предварительно замоченной) для ирригационного раствора также отразилось на численности физиологических групп микроорганизмов. Численность аммонификаторов и истинных денитрификаторов увеличилась по сравнению с фоном в 13,36 и 1,69 раза соответственно, что может свидетельствовать о загрязнении субстрата органическими веществами.

Различные способы обработки соломы влияют и на продуктивность растений редиса, культивируемых на почвоподобном субстрате (табл. 5).

Таблица 5

Масса корнеплодов редиса, выращенных на ППС с добавлением соломы после различной обработки*

Вариант опыта	Масса корнеплода, г				Процент сухого вещества, %
	сырая	$t_{\text{эксп}}$	сухая	$t_{\text{эксп}}$	
1-й	44,18 ± 6,87		3,52 ± 0,55		7,96
2-й	10,08 ± 3,27	4,48	0,78 ± 0,27	4,47	7,77
3-й	22,58 ± 1,38	3,08	1,75 ± 0,11	3,16	7,75

Примечания: $t_{\text{эксп}}$ – критерий разности достоверен при $t_{\text{эксп}} \geq t_{St}$ ($t_{St} = 2,78$ для $p \leq 0,05$). * Варианты опыта: см. табл. 4.

Из таблицы 5 видно, что наиболее благоприятным режимом выращивания растений редиса было культивирование растений на почвоподобном субстрате с внесением минерализованной соломы [10].

Сырая и сухая масса корнеплодов редиса при внесении минерализованной соломы была достоверно выше по сравнению с другими вариантами.

Выводы

1. Добавление переработанной физико-химическим методом соломы пшеницы в ирригационный раствор достоверно увеличивает численность бактерий, усваивающих минеральный азот, целлюлозоразлагающих бактерий и достоверно уменьшает количество аммонифицирующих, денитрифицирующих, фитопатогенных микроорганизмов и бактерий-анаэробов в почвоподобном субстрате по сравнению с другими вариантами опыта.

2. Масса корнеплодов редиса, выращенного на почвоподобном субстрате в варианте 1 (минерализованная пшеничная солома), в 4,38 раза больше, чем в варианте 2 (сухая пшеничная солома), и в 1,96 раза больше, чем в варианте 3 (отжим соломы пшеницы).

Литература

1. Богдан Г.П. Влияние физиологически активных веществ на листовую аппарат растений // Химическое взаимодействие растений: сб. науч. ст. / АН Украинской ССР. – Киев, 1981. – С. 38–43.
2. Экспериментальные экологические системы, включающие человека / И.И. Гительзон [и др.] // Проблемы космической биологии. – М., Наука, 1975. – Т.28. – 312 с.
3. Пат. 2111939 Российская Федерация, 6 С 05 F 3/00. Способ утилизации отходов жизнедеятельности человека и несъедобной биомассы растений, приводящий к получению из них удобрений / Ю.А. Куденко, Р.А. Павленко. – № (21) 96114242/13; заявл. 10.07.96; опубл. 27.05.98, Бюл. № 15. – 6 с.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 1990. – С.270–271.
5. Ничипорович А.А. Автотрофные организмы как компоненты замкнутых экологических систем // Проблемы создания замкнутых экологических систем. – М.: Наука, 1967. – С. 5–17.

6. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. – М.: Колос, –1976. – 256 с.
7. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов [и др.]; под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
8. Теплер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для вузов / под ред. В.К. Шильниковой. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.
9. Применение соломы зерновых культур на удобрение в Томской области: рекомендации / ГНУ СибНИИТ СО РАСХН, Департамент социально-экономического развития села Томской области. – Томск, 2004. – 10 с.
10. Kudenko A.Y., Gribovskaya I.A., Zolotukhin I.G. Physical-Chemical treatment of wastes: a way to close turnover of elements in LSS // Acta Astron. – 2000. – Vol. 46 (9). – PP. 585–589.
11. Waste Bioregeneration in life support CES: development of soil organic substrate / N.S. Manukovsky [et al.] // Adv. Space Res. – 1997. – № 20(10). – P. 1827–1832.
12. Material balance and diet in bioregenerative life support systems: connection with coefficient of closure / N.S. Manukovsky [et al.] // Advances in Space Research. – 2005. – № 35. – P. 1563–1569.
13. Evaluation of the Possibility of Using Human and Plant Wastes in Bioregenerative Life Support Systems / A.A. Tikhomirov [et al.] // SAE Technical Paper 2005-01-2981, 2005, doi:10.4271/2005-01-2981. URL: <http://papers.sae.org/2005-01-2981>.



УДК 577.359

К.В. Шадрин, В.Г. Пахомова,
А.П. Рупенко, И.И. Моргулис

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПОДГОТОВКИ И ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА НА ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ИЗОЛИРОВАННОЙ ПЕРФУЗИРУЕМОЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ

В настоящем исследовании определяли влияние условий перфузии (длительность подготовительного периода, норадреналин и молочная кислота) на показатели функционирования изолированной печени крысы.

Ключевые слова: перфузия изолированной печени, метаболизм, норадреналин, глюконеогенез, гипоксия.

K.V. Shadrin, V.G. Pakhomova,
A.P. Rupenko, I.I. Morgulis

THE INFLUENCE OF PREPARATION AND EXPERIMENT CONDUCTING CONDITIONS ON THE FUNCTIONING CHARACTERISTICS OF THE ISOLATED PERFUSED RAT LIVER

The effect of the perfusion conditions (duration of the preparatory period, noradrenaline and lactic acid) on the characteristics of isolated rat liver functioning is determined in the present research.

Key words: isolated liver perfusion, metabolism, noradrenaline, gluconeogenesis, hypoxia.

Введение. Исследование метаболизма печени и нахождение пределов функционирования этого органа – очень важная задача современных исследований в фармакологии, физиологии и медицине. Для решения таких задач подходит метод перфузии изолированных органов [1, 6]. Он позволяет в реальном времени отслеживать реакцию органа на различные воздействия, а также дает уникальную возможность поддерживать его гомеостаз [8]. При этом оценивают содержание различных метаболитов [10, 11], медиаторов [7, 9], факторов, которые регулируют накопление гликогена и выброс глюкозы в среду [4, 5]. Однако не уделено достаточно внимания функционированию печени как самостоятельного целостного органа, в частности тому, как влияет длительность ишемического периода на качество перфузии, как осуществляется метаболизм печени при стимуляции и как этот орган в условиях изолированной перфузии выполняет одну из присущих ему метаболических функций, например производство глюкозы из молочной кислоты [2, 3]. Несомненно,