

ЗМІНИ КОНЦЕНТРАЦІЇ РОЗЧИННИХ ТА МЕМБРАННИХ БІЛКІВ В ТКАНИНАХ ЧЕРВ'ЯКІВ EISENIA FOETIDA ПІД ВПЛИВОМ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ

В. Т. СМЕТАНІН, К. І. ТИМЧИЙ

Український державний хіміко-технологічний університет

В. С. НЕДЗВЕЦЬКИЙ, В. В. РУДЕНКО

Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара

Исследовали эффект воздействия лазерного облучения на содержание фракций цитозольных и структурных белков в тканях особей Eisenia foetida местной популяции. Исследовано действие различных по времени экспозиций облучения от 5 до 30 минут, лазером типа ЛГН - 208Б (мощностью - 1 мВт). Возраст особей, подвергались воздействию действия лазера был менее репродуктивной зрелости. После этого особи в равном количестве были перенесены на субстраты: субстрат 1 - (сапрпель) субстрат 2 - (почвенная смесь). По достижению репродуктивной зрелости, а именно признаки образования на теле особей поясе, определяли содержание цитозольных и мембранных белков в тканях червей с помощью метода Лоури. Выявлено, что экспозиция лазерного облучения в разных дозах индуцировала достоверный рост концентрации изученных белков.

Растворимые белки, мембранные белки, субстрат, сапрпель, экспозиция облучения

Среди глобальных проблем человечества существующих на сегодняшний день проблема истощения почв и способов рекультивации становится все более актуальной. Особенно остро на сегодняшний день эта проблема стоит и перед Украиной, страной обладающей уникальными черноземами. Чрезмерное использование химических удобрений и средств защиты растений, а также возделывание монокультуры и изменение климата являются факторами ускоряющими это явление, которое выражается в снижении гумусосодержания и потере почвами структуры. Приостановление деградации почв может быть достигнуто внедрением органооборотных систем земледелия.

Одним из достаточно эффективных и апробированных способов такого земледелия является использование вермикультивирования,

одного из примеров интенсивной биотехнологии, основанной на разведении червей, которое было предложено в США и нашло широкое применение во всем мире [6].

Задачей вермикультивирования является промышленное производство биогумуса при помощи червей. При этом появляется возможность производить биогумус в десятки раз быстрее, чем это происходит в природе, используя для этого различные органические отходы, включая сельскохозяйственные. Процесс их биотрансформации при правильно организованном вермикультивировании, может быть осуществлен за 3-4 месяца [6].

Важной особенностью использования данной биотехнологии, наряду с повышением качества почв, является и детоксикация органического субстрата при образовании биогумуса. Данный эффект биотрансформации позволяет использовать для введения в агрокультуру иловые отложения, а также использовать продукты такого биотехнологического процесса при организации органического земледелия для выращивания экологически чистых культур, идущих на производство диетических и детских продуктов питания.

Ряд исследователей, [8] характеризуя биогумус, отмечают, что необходимые растениям питательные вещества находятся в нем не только в формах доступных для их усвоения, но и в оптимально сбалансированных концентрациях, усваиваемых растениями. Ни в каких других удобрениях этого не показано. Бесспорно, что названный феномен является продуктом многовековой эволюции симбиотических отношений почвенных микро- и зооценозов с дикой и культурной флорой, что требует более глубокого и подробного изучения.

Eisenia foetida – основной культивируемый в неволе вид червей, который относится к семейству Lumbricidae и отличается от других видов биологическими особенностями и требованиями к экологическим условиям.

Несмотря на привлекательность и распространение вермикультивирования в различных странах, в Украине оно не получило должной оценки и освоения. На наш взгляд, это связано с климатическими условиями, при которых комфортные температурные режимы для червя ограничены в некоторых регионах нашей страны четырьмя-пятью месяцами, а также отсутствием должной селекционной работы по созданию адаптированных к конкретным условиям популяций *Eisenia foetida*.

Поэтому представляется весьма интересным изучить возможность создания популяции червей специализированной на биотрансформации сапропелей (сапропели являются одним из резервов органополнения почв, к сожалению, почти не используемый) и не традиционных более «жестких» субстратов –

отходов сельскохозяйственного производства, в т.ч. свиного и птичьего навоза в условиях Днепропетровской области.

Селекционная работа с *Eisenia foetida* имеет заметные отличия от традиционных сельскохозяйственных животных и усугубляется биологическими особенностями вида – сложностью идентификации фенотипов, гермафродитизмом и, в то же время, необходимостью наличия для нормального процесса репродукции полового партнера и др.

Учитывая тот факт, что воздействия различной природы стимулируют выживание особей с преобладанием механизмов защиты против таких стрессовых факторов, лазерное излучение может быть перспективным инструментом для отбора.

Для оценки потенциальной устойчивости к действию стрессовых факторов и ассоциированных с физиологическими характеристиками генетических модификаций, обеспечивающих формирование в популяции *Eisenia foetida* новых качеств, используемое в нашей работе облучение животных лазером с различным временным режимом экспозиции представляется перспективным направлением в изучении их биологических и продуктивных особенностей.

Целью исследования было изучение динамики экспрессии цитозольных и структурных белков популяции *Eisenia foetida* при воздействии генно модифицирующего фактора – лазерного излучения (длиной волны 0,63 мкм).

Материалы и методы исследований. Исследования проводились на кафедре биотехнологии и БЖД ДВНЗ УДХТУ. Методика, включала в себя экспериментальное облучение животных *Eisenia foetida* лазером типа ЛГН-208 Б с длиной волны 0,63 мкм и мощностью излучения 1 мВт. Для этого были отобраны 120 особей, которые разделели на шесть опытных групп по 20 червей в каждой, время экспозиции воздействия лазером в них было различным и составляло: 5, 10, 15, 20, 25 и 30 минут. В качестве контроля использовались аналогичные животные, не подвергавшиеся воздействию лазера. Облучению подвергались животные, не достигшие в своем развитии признаков репродуктивной зрелости.

По достижению особями половой зрелости, а именно ярко выраженного образования та теле – пояска, из каждой опытной группы были отобраны по три среднеразвитых особи, а из контрольной – 12. Из их тканей по общепринятым методам [9] получили нативные растворы в которых и была определена концентрация растворимых и мембранных белков в группах животных следующих экспозиций облучения: контрольной, 5, 15, 25 и 30 минут. Исследования фракций растворимых и мембранных белков полученных из ткани червя проводили на кафедре Биохимии и биофизики Днепропетровского

национального университета им. О. Гончара. Обработку полученных данных проводили методами математической статистики.

Результаты исследований. Концентрация растворимых и мембранных белков в тканях червя в соответствии с экспозициями лазерного облучения и относительно субстратов – среды обитания (сапропель, грунт) представлена в табл. 1.

Действие низкоинтенсивного лазерного излучения на живые организмы, вызывает интерес исследователей практически с момента изобретения лазера. Однако до настоящего времени нет единой теории объясняющей все эффекты, возникающие при действии света лазера на биологические объекты. Это связано с относительной сложностью биологических систем и трудностями анализа закономерностей преобразования энергии в живых тканях. Считается установленным фактом стимулирующее влияние света лазера на многие физиологические процессы в организмах животных и растений.

Полученные нами результаты свидетельствуют подтверждением этому предположению. Математическая обработка данных для построения диаграммы изменения концентрации белков в тканях червей содержащихся на субстратах (сапропель, грунт) представлена на рисунках 1 и 2. Средняя величина концентрации по экспозициям наглядно показывает, что лазерное воздействие на ткани червей, оказало влияние на изменение концентрации растворимых и мембранных белков в организме червей на клеточном уровне.

Как показано на диаграммах оптимальное изменение концентрации растворимых и мембранных белков произошло в диапазоне лазерного облучения 15-25 минут.

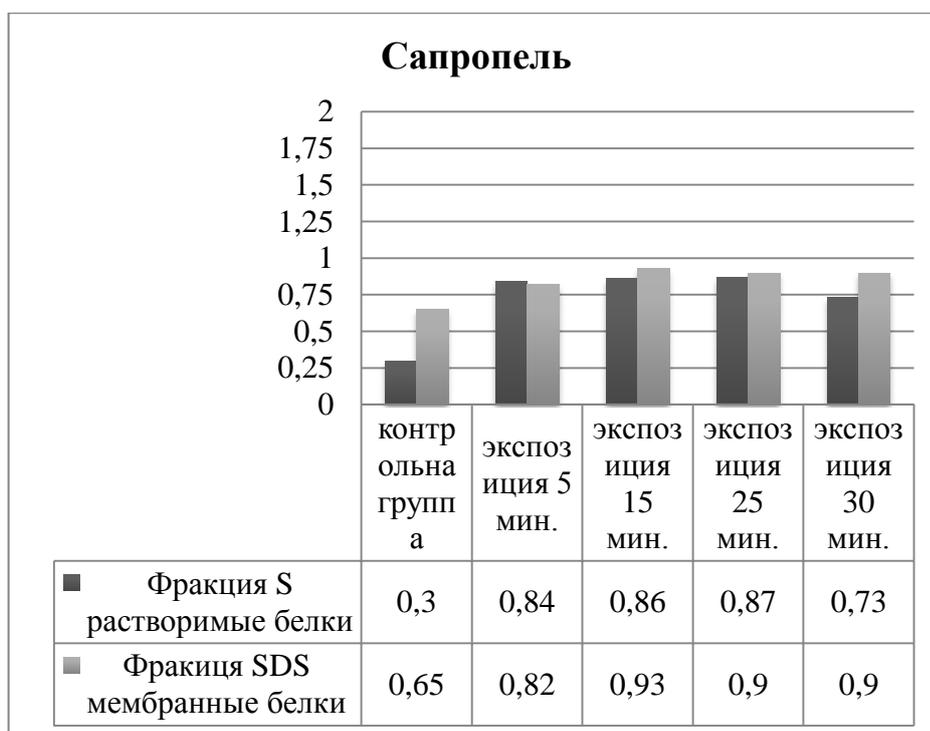


Рис.1. Средняя величина изменения концентрации мембранных и растворимых белков после воздействия лазерного облучения на ткани *Eisenia foetida* субстрат сапропель

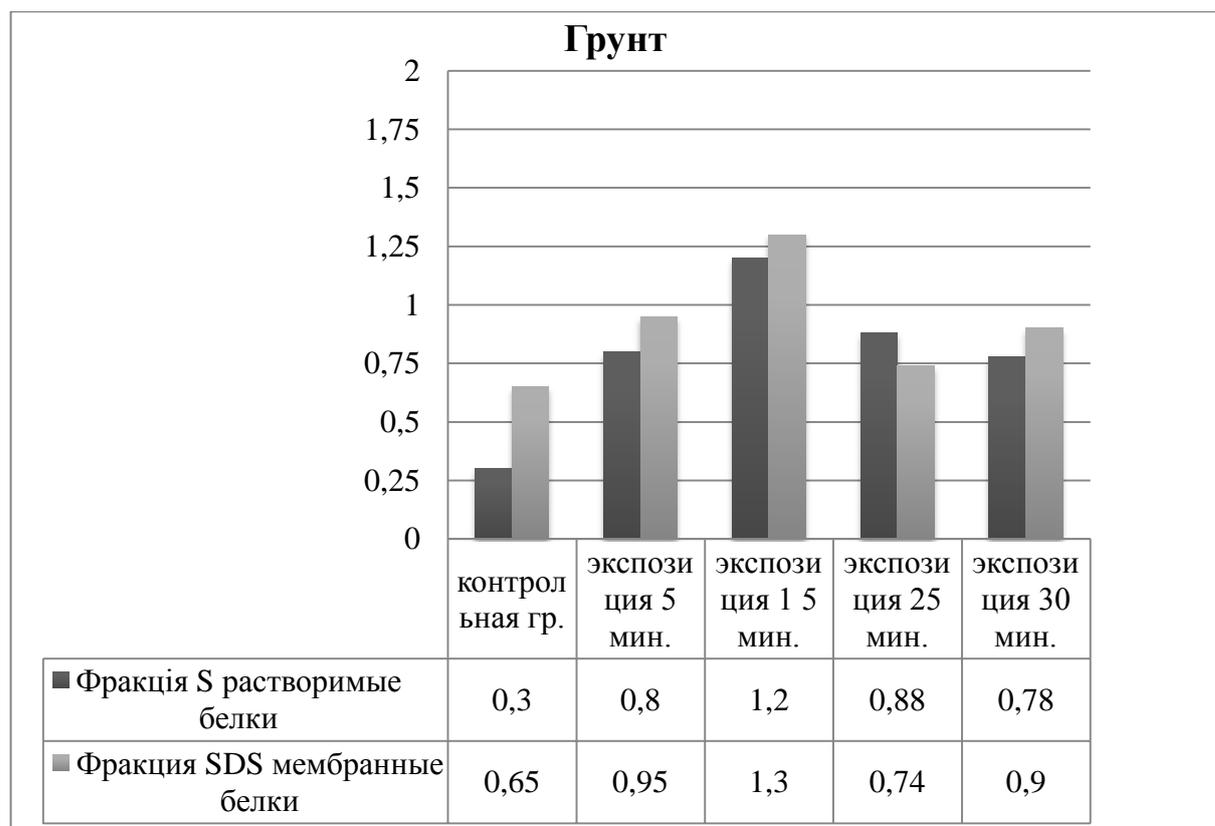


Рис.2. Средняя величина изменения концентрации мембранных и растворимых белков после воздействия лазерного облучения на ткани *Eisenia foetida* субстрат грунт сапропель

Также нами проведен подсчет показателя репродуктивности между экспозициями. Первое потомство появилось практически одновременно во всех экспозициях, но по истечении четырех месяцев показатель репродуктивности экспозиции 25 минут лазерного воздействия превышал показатели остальных экспозиций в 2,5 раза. Таким образом, ранние показатели модуляции экспрессии белков основных фракций в животных клетках могут быть предикторными факторами генных модификаций в организме *Eisenia foetida*.

Представленные результаты указывают на то, что лазерное излучение может быть перспективным инструментом для стимуляции механизмов природной резистентности, повышения жизнеспособности и продуктивности беспозвоночных *Eisenia foetida*.

Проведенные исследования могут послужить концепцией для возможности создания биологического разнообразия в популяции *Eisenia foetida* с целью получения неспецифической стойкости в условиях действия не благоприятных факторов.

Список литературы

1. Девятков Н. Д. Физико-химические механизмы биологического действия лазерного излучения / Н. Д. Девятков, С. М. Зубкова, И. Б. Лапрун, Н. С. Макеева // Успехи современной биологии. 1987. – Т. 103. вып. 1. – С.31-43.
2. Лобко В. В., Кару Т. Й., Летохов В.С. Существенна ли когерентность низкоинтенсивного лазерного света при его воздействии на биологические объекты / В. В. Лобко, Т. Й. Кару, В. С. Летохов // Биофизика. 1985. — Т. 30. Вып.2. – С. 366-371.
3. Медведев В. В. Физическая деградация черноземов / Медведев В. В. // – Харьков: КП «Городская типография». – 2013. – 323 с.
4. Моргун Ф. Т. Почвозащитное земледелие / Ф. Т. Моргун // – К., «Урожай». 1988. – 46 с.
5. Кокунин В. А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В. А. Кокунин // Укр. био – хим. журн. – 1975. – 7, №6. – С.776-791.
6. Chaoui, I. H. Effet de déjections de lombricset le compost sur l'activité microbienne et l'absorption des nutriments des plantes / I. H. Chaoui, L. M. Zibilskeet, S. Ohno // Soil Biology and Biochemistry, vol. 35, no 2 – p. 295-302.
7. Сендецький В. М. Технологічні та екологічні аспекти органічного землеробства в Україні / В. М. Сендецький., І. П. Мельник В. С. Гнидюк // Агроекологічний журнал. – К., 2009. - С.206-208.
8. Сендецький В. М. Виробництво органічних добрив нового покоління «Біогумус» з органічних відходів агропромислового комплексу методом вермикультивування і його вплив на урожайність сільськогосподарських культур / В. М. Сендецький // Збірник наукових праць Білоцерківського

національного аграрного університету. Агробіологія. – 2010. – №4 (80). – С.72-78.

9. Miller G. L. Protein determination for large numbers of samples / G. L. Miller // Anal.Chem. – 1959. – 31, No. 5. – P.964-966.

Досліджували ефект впливу лазерного опромінення на вміст фракцій цитозольних та структурних білків в тканинах особин Eisenia foetida місцевої популяції. Досліджено дію різних за часом експозицій опромінення: від 5 до 30 хвилин, лазером типу ЛГН – 208Б (потужністю – 1мВт). Вік особин, які піддавались впливу дії лазера, не досягав репродуктивної зрілості. Після цього особини в рівній кількості були перенесені на субстрати: субстрат 1 –(сапропель) субстрат 2 – (грунтова суміш). По досягненню репродуктивної зрілості, а саме ознаки утворення на тілі особин пояску, визначали вміст цитозольних та мембранних білків в тканинах черв'яків за допомогою методу Лоурі. Виявлено, що експозиція лазерного опромінення в різних дозах індукувала достовірне зростання концентрації вивчених білків.

Розчинні білки, мембранні білки, субстрат, сапропель, експозиція опромінення

The possibilities of obtaining non-specific stability of, to create bio variety in the population Eisenia foetida, under the influence of unfavorable factors. We researched the effect of laser irradiation on the content of protein composition, in tissue of individuals Eisenia foetida at local population. It was done six exposition of irradiation: 5, 10, 15, 20, 25, and 30 minutes, by laser, which has type LGN – 208B. Age of individuals who was exposed to laser action did not reach reproductive maturity. After this, individuals in equal amounts were transferred to the equals in composition 1 - "Sapropel", 2 - "Simple soil". Upon reaching reproductive maturity, signs such as formation of bands (circles) on the body of an individual conducted by the method of Lowry assessed concentrations of soluble and membrane proteins in the tissues of worms. It was established that laser irradiation different doses led to noticeably growing concentrate of the studied proteins.

Soluble proteins, cytoskeleton proteins, substrate, sapropel, irradiation's exposure