



БИОЛОГИЯ

УДК 632.752.2 (470.44)

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ТЛИ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

А. М. Петерсон, Е. В. Глинская, М. С. Малышина

Саратовский государственный университет,
E-mail: elenavg-2007@yandex.ru

Проведено изучение микробных ассоциаций 3 видов тли: вишневой (*Myzus cerasi* F.) смородиновой (*Eriosoma ulmi* L.) и сливоопыленной (*Hyalopterus pruni* L.) на территории Саратовской области. Выделено 30 видов бактерий, принадлежащих к 15 родам, среди них *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Erwinia carotovora* и *Erwinia rhapsodici*, вызывающие заболевания у растений. Установлены количественные показатели и встречаемость всех выделенных видов бактерий. Проведен сравнительный анализ микробоценозов исследованных видов тли.

Ключевые слова: тля, микробные ассоциации, фитопатогенные бактерии.

Comparative Characteristics of Microbial Ecological Systems Some Species of the Plant Louse in Saratov Region

A. M. Peterson, E. V. Glinskaya, M. S. Malyshina

Microbial ecological systems of *Myzus cerasi* F., *Eriosoma ulmi* L., *Hyalopterus pruni* L. in territory of the Saratov region was studied. 30 bacteria species belonging to 15 genera was revealed. *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Erwinia carotovora* and *Erwinia rhapsodici* causing diseases of plants were among them. Quantity characteristic and occurrence of all taken bacterium species were shown. The comparative characteristics of microbial ecological systems studied species of the plant louse are presented.

Key words: plant louse, microbial ecological systems, phytopathogenic bacteria.

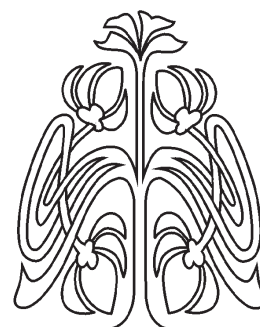
Тля наносит существенный ущерб растениеводству во многих регионах нашей страны, в том числе и в Саратовской области. Вред, причиняемый этими насекомыми растениям, не ограничивается механическими повреждениями. Тля играет большую роль в распространении фитопатогенных вирусов, бактерий, грибов в популяции растений-хозяев [1, 2].

В организме насекомого фитопатогены вступают в сложные взаимоотношения с симбиотической микрофлорой, прежде всего с микрофлорой пищеварительного тракта [3]. Нормальная микрофлора, в зависимости от качественного и количественного состава, способна влиять на выживаемость фитопатогена в организме переносчика и, в конечном счёте, на распространение инфекции в популяции растения-хозяина.

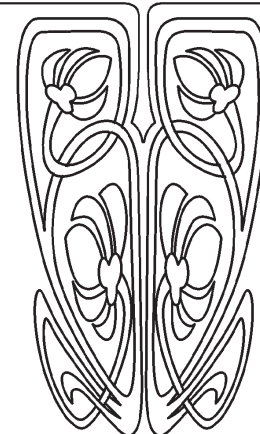
Тем не менее спонтанное микробоносительство тли изучено чрезвычайно слабо. Внимание исследователей привлекали, как правило, лишь некультивируемые бактерии рода *Buchnera*, являющиеся облигатными симбионтами тли [4].

Целью данной работы являлось выявление культивируемых видов бактерий, в том числе и фитопатогенных, способных выживать и размножаться в организме некоторых видов тли, распространённых на территории Саратовской области.

Работа проводилась в 2007–2009 гг. Объектом исследований служили бескрылые и крылатые самки тли. Было исследовано по



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





200 особей вишневой (*Myzus cerasi* F.), смородиновой (*Eriosoma ulmi* L.) и сливоопыленной (*Hyalopterus pruni* L.) тли.

Идентификация насекомых проводилась кандидатом сельскохозяйственных наук, профессором кафедры энтомологии Саратовского государственного аграрного университета им. Н. И. Вавилова Б. С. Якушевым.

Непосредственно перед бактериологическим посевом насекомых усыпляли, обрабатывали в 96%-ном этаноле в течение 5 мин для уничтожения микроорганизмов, обитающих на внешних покровах, затем дважды промывали в стерильном физиологическом растворе.

По 10 экземпляров тли растирали в ступке с 0.5 мл физиологического раствора. Средняя масса 10 самок тли составляла 0.005 г, таким образом, получали разведение 10^{-2} .

По 0.1 мл полученной суспензии засевали на ГРМ-агар (Оболенск, Россия), картофельную среду [5] и среду ВЯ следующего состава: водная вытяжка из листьев растения-хозяина тли (10%), яблочный сок (10%), пептон (1%), глюкоза (1%), фруктоза (1%), неорганические соли: NaCl, FeSO₄, KNO₃, K₂HPO₄, MgSO₄, CaCO₃ (по 0,1%), голодный агар (3%), рН6. Последняя среда являлась экспериментальной и была разработана и апробирована для выделения микроорганизмов, приспособленных к обитанию в пищеварительном тракте растительных насекомых.

Посевы инкубировали при температуре 28 °С в течение 48 ч.

Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили на основании изучения морфологических, культуральных, биохимических признаков [6, 7].

К наиболее типичным представителям микробной ассоциации того или иного вида тли относили виды бактерий, которые выделялись в течение всех лет исследований, имели индекс встречаемости не менее 30% и количественные показатели содержания в организме тли не ниже 10^5 – 10^6 колониеобразующих единиц (КОЕ) в 10 особях.

Индексы общности видового состава микробоценозов тли рассчитывали как отношение видов, общих для двух сравниваемых групп, к общему количеству выделенных из них видов, выраженное в процентах. Встречаемость рассчитывали как число проб, в которых обнаружены бактерии данного вида, к общему числу проб, выраженное в процентах [8].

В результате наших исследований из организмов трех видов тли было выделено 30 видов бактерий 15 родов.

В организме вишнёвой тли было выявлено обитание 13 видов бактерий, среди которых

4 вида рода *Bacillus*, 5 видов грамположительных неспорных палочек родов *Brochothrix*, *Curtobacterium*, *Kurthia*, *Microbacterium*, 3 вида грамположительных кокков родов *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Marinococcus*, грамотрицательные палочки были представлены одним видом – *Erwinia carotovora*. Наиболее разнообразно в видовом отношении оказались представлены роды *Bacillus* (4 вида) и *Microbacterium* (2 вида). Остальные роды включали единичные виды (табл. 1).

Таблица 1

Микробные ассоциации вишнёвой тли в 2008–2009 гг.

Виды	2008 г.		2009 г.	
	КОЕ/10 особей	Встречаемость в пробах, %	КОЕ/10 особей	Встречаемость в пробах, %
Грамположительные споровые палочки:				
<i>Bacillus brevis</i>	10^3 – 10^4	10	10^3	20
<i>B. firmus</i>	10^5	20	–	–
<i>B. marinus</i>	10^3 – 10^6	40	–	–
<i>B. medusa</i>	10^3 – 10^4	10	10^3 – 10^4	10
Грамположительные неспорные палочки:				
<i>Brochothrix campestris</i>	10^6	10	–	–
<i>Curtobacterium plantarum</i>	–	–	10^3	10
<i>Kurthia zopfii</i>	–	–	10^3	10
<i>Microbacterium arborescens</i>	10^3	10	–	–
<i>M. laevaniformans</i>	–	–	10^6	10
Грамположительные кокки:				
<i>Aerococcus viridans</i>	10^3 – 10^5	30	10^5	30
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	10^3 – 10^5	60	10^5	40
<i>Marinococcus albus</i>	10^3	10	–	–
Грамотрицательные палочки:				
<i>Erwinia carotovora</i>	10^6	10	10^5	10

Количественные показатели выделенных штаммов варьировали от 10^3 до 10^6 КОЕ в пробе из 10 особей тли. Наиболее высокие количественные показатели (10^6) были отмечены для *Bacillus marinus*, *Brochothrix campestris*, *Microbacterium laevaniformans*, *Erwinia carotovora*. Однако встречаемость большинства этих видов составляла 10%, лишь *Bacillus marinus* в 2008 г. выявлялся в 40% проб. Наиболее высокие показатели встречаемости среди бактерий были отмечены у *Enterococcus casseliflavus* (40–60%). В 30% проб изолировался *Aerococcus viridans*, в 20% проб – *Bacillus brevis*, *B. firmus*.



Индекс общности видового состава симбионтов в 2008 и 2009 гг. составил 38.4%. В течение двух лет из организмов вишнёвой тли выделялись *Bacillus brevis*, *B. medusa*, *Aerococcus viridans*, *Enterococcus casseliflavus* и *Erwinia carotovora*. Но лишь *Aerococcus viridans* и *Enterococcus casseliflavus* имели высокие показатели встречаемости (30–60%) и численности (10^5), что позволяет говорить о них как о наиболее распространённых представителях микробных ассоциаций вишнёвой тли.

В организме смородиновой тли было выявлено обитание 19 видов бактерий, принадлежащих к 12 родам. Наиболее разнообразно в видовом отношении оказался представлен род *Bacillus* (3 вида). Роды *Curtobacterium*, *Marinococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas* и *Erwinia* включали по 2 вида, остальные роды были представлены единичными видами (табл. 2).

Таблица 2

Микробные ассоциации смородиновой тли в 2008–2009 гг.

Виды	2008 г.		2009 г.	
	КОЕ/10 особей	Встречаемость в пробах, %	КОЕ/10 особей	Встречаемость в пробах, %
Грамположительные споровые палочки:				
<i>Bacillus marinus</i>	10^3	40	–	–
<i>B. schleglii</i>	–	–	10^3 – 10^6	30
<i>B. thuringiensis</i>	10^3	10	–	–
Грамположительные неспоровые палочки:				
<i>Cellulomonas sp.</i>	10^5	30	10^3 – 10^6	70
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	–	–	10^3	50
<i>C. plantarum</i>	–	–	10^3	50
<i>Kurthia zopfii</i>	–	–	10^3 – 10^6	70
Грамположительные кокки:				
<i>Aerococcus viridans</i>	10^3	50	–	–
<i>Enterococcus avium</i>	10^4	20	–	–
<i>E. casseliflavus</i>	–	–	10^3 – 10^4	70
<i>Marinococcus albus</i>	–	–	10^3	50
<i>M. halophilus</i>	–	–	10^3	60
<i>Micrococcus nishinomiyaensis</i>	–	–	10^3	50
<i>Staphylococcus cohnii cohnii</i>	10^3	10	–	–
Грамотрицательные палочки:				
<i>Erwinia carotovora</i>	10^4	20	10^6	50
<i>E. rhapontici</i>	–	–	10^3	20
<i>Pseudomonas diminuta</i>	10^3	10	10^3	20
<i>P. mendocina</i>	–	–	10^3	50
<i>Serratia plymuthica</i>	–	–	10^4 – 10^6	20

Количественные показатели выделенных штаммов бактерий варьировали от 10^3 до 10^6 КОЕ в пробе. Наиболее высокие количественные показатели (10^6) были отмечены для *Bacillus schleglii*, *Cellulomonas sp.*, *Kurthia zopfii*, *Erwinia carotovora*,

Serratia plymuthica. Наиболее высокие показатели встречаемости среди бактерий в разные годы были отмечены у *Kurthia zopfii*, *Cellulomonas sp.*, *Enterococcus casseliflavus* (70%), *Marinococcus halophilus* (60%), *Curtobacterium flaccumfaciens*, *C. plantarum*, *Marinococcus albus*, *Micrococcus nishinomiyaensis*, *Pseudomonas mendocina*, *Erwinia carotovora* (50%).

Индекс общности видового состава симбионтов в 2008 и 2009 гг. составил 15.8%. В течение двух лет из организмов смородиновой тли выделялись *Cellulomonas sp.*, *Pseudomonas diminuta*, *Erwinia carotovora*. Два из них (*Cellulomonas sp.* и *Erwinia carotovora*) имели высокие показатели встречаемости и численности в течение двух лет, и о них можно говорить как о наиболее типичных представителях спонтанного микробиоценоза смородиновой тли.

В организме сливоопылённой тли было выявлено обитание 14 видов бактерий 9 родов, среди которых 4 вида рода *Bacillus*, 6 видов грамположительных неспоровых палочек родов *Curtobacterium*, *Cellulomonas*, *Exiguobacterium*, *Kurthia*, *Microbacterium* и 4 вида грамположительных кокков родов *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Marinococcus* (табл. 3). Грамотрицательные палочки из организмов сливоопылённой тли выделены не были, хотя в других видах тли эта морфологическая группа встречалась достаточно часто.

Таблица 3

Микробные ассоциации сливоопылённой тли в 2008–2009 гг.

Виды	2008 г.		2009 г.	
	КОЕ/10 особей	Встречаемость в пробах, %	КОЕ/10 особей	Встречаемость в пробах, %
Грамположительные споровые палочки:				
<i>Bacillus alvei</i>	–	–	10^5	10
<i>B. coagulans</i>	–	–	10^5	10
<i>B. lentus</i>	10^3	10	–	–
<i>B. thuringiensis</i>	10^3	10	–	–
Грамположительные неспоровые палочки:				
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	–	–	10^5	10
<i>Cellulomonas sp.</i>	10^3 – 10^6	20	10^3	10
<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	10^3	10	–	–
<i>Kurthia zopfii</i>	–	–	10^6	10
<i>Microbacterium arborescens</i>	10^3	10	–	–
<i>M. imperiale</i>	10^3 – 10^4	20	10^3 – 10^3	20
Грамположительные кокки:				
<i>Aerococcus viridans</i>	–	–	10^3	10
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	10^3 – 10^6	30	10^3 – 10^5	30
<i>Marinococcus albus</i>	10^3 – 10^4	20	–	–
<i>M. halophilus</i>	–	–	10^4	10



Наиболее разнообразно в видовом отношении оказались представлены роды *Bacillus* (4 вида), *Marinococcus* (2 вида) и *Microbacterium* (2 вида). Остальные роды включали единичные виды.

Количественные показатели выделенных штаммов варьировали от 10^3 до 10^6 КОЕ в пробе. Наиболее высокие количественные показатели были отмечены для *Cellulomonas*, *Enterococcus casseliflavus*, *Kurthia zopfii* (10^6), *Bacillus alvei*, *B. coagulans*, *Curtobacterium flaccumfaciens* (10^5). Наиболее высокие показатели встречаемости были отмечены у *Enterococcus casseliflavus* (30%), *Cellulomonas* (20%), *Microbacterium imperiale* (20%), *Marinococcus albus* (20%).

Индекс общности видового состава симбионтов в 2008 и 2009 гг. составил 21.4%. В течение двух лет из организмов сливоопылённой тли выделялись *Cellulomonas* sp., *Microbacterium imperiale*, *Enterococcus casseliflavus*. Высокие показатели встречаемости и численности в течение двух лет были отмечены лишь у *Enterococcus casseliflavus*, что позволяет говорить о нём как о наиболее типичном представителе спонтанного микробоценоза сливоопылённой тли.

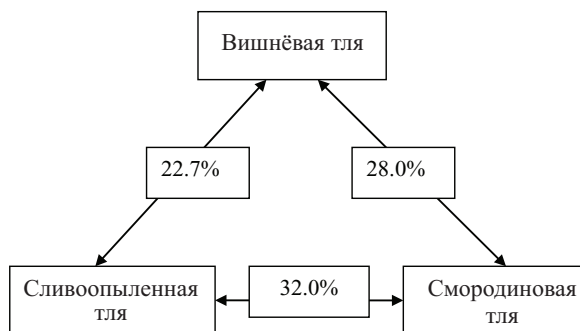
При сравнительном анализе всех выявленных микробных ассоциаций установлено, что наиболее разнообразно в видовом отношении у всех видов тли оказался представлен род *Bacillus* (9 видов), за ним следуют роды *Microbacterium* (3 вида), *Curtobacterium*, *Enterococcus*, *Marinococcus*, *Erwinia*, *Pseudomonas* (по 2 вида). Большая часть выделенных родов бактерий (8) в наших исследованиях имела единичных представителей.

Выявлена высокая вариабельность видового состава микробных ассоциаций тли. Так, даже у особой одного и того же вида, снятых с одних и тех же кормовых растений, но в разные годы, видовой состав микрофлоры сильно варьировал. Наиболее стабильным в течение нескольких лет оставался микробоценоз вишнёвой тли: индекс общности видового состава бактерий, выделенных из неё в 2008 и 2009 гг., составил 38.4%. Менее стабильными оказались микробоценозы сливоопылённой (21.4%) и смородиновой (15.8%) тли.

При сравнении встречаемости выделенных видов бактерий было установлено, что из всех исследованных видов тли выделялись *Aerococcus viridans*, *Enterococcus casseliflavus*, *Kurthia zopfii* и *Marinococcus albus*. 18 видов бактерий были изолированы лишь из одного из исследованных видов тли.

При сравнении индексов общности видового состава микробоценозов разных видов тли (рисунок) установлено, что наиболее близки микробоценозы смородиновой и сливоопылённой тли (индекс общности 32.0%), смородиновой и виш-

нёвой тли (28.0%). Более низкую степень сходства микробоценозов (22.7%) показали вишнёвая и сливоопылённая тли.



Индексы общности видового состава микробных ассоциаций различных видов тли

Наиболее широкий спектр фитопатогенных бактерий (3 вида) выделен из смородиновой тли (табл. 4), из организмов вишнёвой и сливоопылённой тли изолировано по одному фитопатогенному виду.

Таблица 4

Основные характеристики микробных ассоциаций различных видов тли

Вид тли	Количество выделенных видов бактерий	Наиболее типичные представители	Выделенные фитопатогенные виды бактерий
Вишнёвая	13	<i>Aerococcus viridans</i> <i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Erwinia carotovora</i>
Смородиновая	19	<i>Cellulomonas</i> sp. <i>Erwinia carotovora</i>	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> <i>Erwinia carotovora</i> <i>Erwinia rhapontici</i>
Сливоопылённая	14	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>

Существенную роль исследованные насекомые играют в распространении *Curtobacterium flaccumfaciens*, который был выделен из двух видов тли (смородиновой и сливоопылённой). И если из сливоопылённой тли *C. flaccumfaciens* изолировался лишь в 10% проб, то при исследовании смородиновой тли встречаемость *C. flaccumfaciens* в пробах 2009 г. составила 50%. Количественные показатели этого фитопатогена варьировали у разных видов тли от 10^3 до 10^5 КОЕ в пробе.

Erwinia carotovora был выделен из вишнёвой и смородиновой тли, причём его количественные показатели в обоих видах составляли 10^4 – 10^6 КОЕ в пробе. Встречаемость *E. carotovora* была низкой в организмах вишнёвой тли (10%) и более высокой в организмах смородиновой тли (20–50%).



Erwinia rhapontici был изолирован только из смородиновой тли, где он имел низкие количественные показатели (10^3 КОЕ в пробе) и индекс встречаемости (20%).

Среди исследованных видов смородиновая тля содержит наиболее широкий спектр фитопатогенных бактерий, и именно в этом виде насекомых фитопатогены имеют максимальные показатели численности и встречаемости. Это позволяет говорить о смородиновой тле как о наиболее вероятном переносчике фитопатогенных бактерий.

Таким образом, микробоценоз тли является чрезвычайно динамичной системой. На видовой состав и численность микроорганизмов-ассоциантов оказывают влияние как физиологические особенности тли, так и химический состав соков растения-хозяина. Поэтому организм каждого вида тли можно рассматривать как специфическую экологическую нишу для ассоциативных бактерий. Вероятно, именно особенности организма тли как среды обитания явились причиной выделения большинства видов микроорганизмов лишь из одного вида насекомых. Вместе с тем об-

наружены бактерии, которые встречаются у всех исследованных видов тли, что свидетельствует об их высокой адаптационной способности.

Список литературы

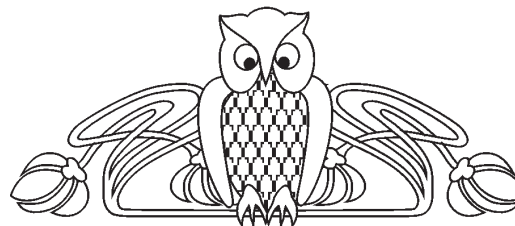
1. Ивановская О. И. Тли Западной Сибири: в 2 ч. Ч. 2. Новосибирск, 1977. 328 с.
2. Стекольников А. В. Фауна тлей (Homoptera, Aphidoidea) Астраханской области // Энтомологическое обозрение. 2005. Т. 84 (2). С. 309–333.
3. Noda H., Miyoshi T., Koizumi Y. In vitro cultivation of *Wolbachia* in insect and mammalian cell lines // In Vitro Cell Dev. Biol. Anim. 2002. Vol. 38. P. 423–427.
4. Shigenobu S. Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS. // Nature. 2000. № 8. P. 81–86.
5. Нетрусов А. И., Егорова М. А., Захарчук Л. М. и др. Практикум по микробиологии / под ред. А. И. Нетрусова. М., 2005. 608 с.
6. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. Т. 1 / под ред. Дж. Хоулта и др. М., 1997. 432 с.
7. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. Т. 2 / под ред. Дж. Хоулта и др. М., 1997. 368 с.
8. Беклемишев В. Н. Биоценологические основы сравнительной паразитологии. М., 1970. 502 с.

УДК 581.9 (470.44)

ФЛОРА ЗАСОЛЕННОГО ЛУГА У с. СТОРОЖЕВКА ТАТИЩЕВСКОГО РАЙОНА

Ю. И. Буланый, О. В. Чеботарева

Саратовский государственный университет
E-mail: batanic86@mail.ru



Изучена флора засоленного луга в окрестностях с. Сторожевка Саратовской области, расположенного в пойме р. Курдюм. Насчитывается 130 видов сосудистых растений. Отмечены виды, занесенные в Красную книгу Саратовской области.

Ключевые слова: засоленный луг, галофиты, Красная книга Саратовской области.

The Salted Meadow at with. Storozhevka Tatishchevsky Area

Yu. I. Bulany, O. V. Chebotareva

The article is devoted to the study of salted meadow in the suburbs of Saratov in Storozhevka near the Kurdyum River. It counts about 130 species of vascular plants, some of which are found in the Red Book of Saratov region.

Key words: salted meadow, halophyta, Red book of the Saratov region.

В окрестностях с. Сторожевка Татищевского района в притеррасной части поймы р. Курдюм нами отмечен засоленный луг, на котором сконцентрированы интересные галофильные растения. Площадь луга около 15 га.

Цель нашей работы – изучить галофильную флору засоленного луга.

Изучение флоры засоленного луга проводилось в полевые сезоны 2008–2010 гг. Фенологические наблюдения проводились раз в две-три недели. Одновременно с изучением флоры проводилось исследование почв. Для изучения морфологических признаков почв и отбора почвенных проб для лабораторного анализа закладывались почвенные разрезы (прикопки). Проводился качественный анализ водной вытяжки: проба на Cl^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} и на соду (Na_2CO_3). Анализ водной вытяжки проводился по общепринятой методике [1]. Названия почвам давались в соответствии с «Классификацией и диагностикой почв СССР» (1977) [2].

Ранее растительность вдоль реки Курдюм изучалась Б. А. Келлером [3] в период исследования флоры Аткарского и Саратовского уездов (1899–1901 гг.), где он отмечал появление выцветов солей на почве и галофильной растительности. Для луга