

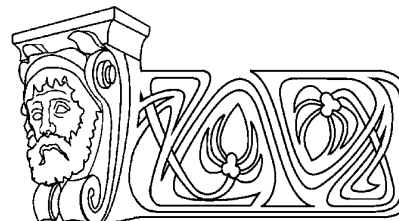


УДК 632.752.2 (470.44)

МИКРОБОЦЕНОЗ ЯБЛОННОЙ ТЛИ (*APHIS POMI* DEG.) В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

А.М. Петерсон, Е.В. Глинская, Н.Ф. Пермякова

Саратовский государственный университет,
кафедра микробиологии и физиологии растений
E-mail: ElenaVG-2007@yandex.ru



Проведено изучение микробоценоза пищеварительного тракта яблонной тли *Aphis pomi* Deg. на территории Саратовской области. Выявлено 23 вида бактерий, принадлежащих к 15 родам, среди них *Curtobacterium flaccumfaciens*, вызывающий заболевания у растений.

Ключевые слова: тли, симбионты, бактерии

Microbial Ecological Systems of *Aphis Pomi* Deg. in Saratov Region

A.M. Peterson, E.V. Glinskay, N.F. Permyakova

Microbial ecological systems of *Aphis pomi* Deg. digestive tract in territory of the Saratov region was studied. 23 bacteria species belonging to 15 genera was revealed. *Curtobacterium flaccumfaciens* causing diseases at plants was among them.

Key words: aphids, symbionts, bacteria

Тли (Aphidinea) – один из подотрядов равнокрылых насекомых (Homoptera), который включает 12 семейств и около 2500 видов. На территории бывшего СССР известно более 800 видов [1]. Зеленая яблонная тля *Aphis pomi* (Deg., 1773) относится к семейству Aphididae.

Жизненный цикл вредителя состоит из ряда поколений, отличающихся друг от друга не только по физиологическим особенностям, но и по морфологическим и включает самок-основательниц, бескрылых и крылатых девственниц, нормальных самок, бескрылых и крылатых самцов [2, 3]. Зеленая яблонная тля широко распространена по всей Голарктике. Основным кормовым растением ей служат разные виды дикой лесной яблони, с которых она переходит на культурные сорта яблони и другие растения: грушу, рябину, боярышник, сливу, абрикос и др. В Средней и Южной России при благоприятной для тли погоде у нее бывает 14–17 поколений [4].

Тли питаются исключительно соками растений. Жить на этой скудной диете им позволяет удачный симбиоз с бактериями, которые синтезируют для них аминокислоты, витамины и другие вещества. Более того, как показывают последние исследования, генетические особенности симбионтов могут сильнее всего сказываться на жизнеспособности и экологических характеристиках всего симбиотического комплекса. Наиболее изученными симбионтами тлей являются бактерии рода *Buchnera*, живущие в специализированных клетках хозяина – бактериоцитах. Установлено, что именно они обеспечивают устойчивость тлей к высоким температурам [5].

Интерес к изучению микробных сообществ пищеварительного тракта тлей в значительной степени обусловлен их способностью передавать возбудителей болезней растений. Большинство работ в этой области посвящено участию тлей в циркуляции фитопатогенных вирусов [6]. Роль тлей в распространении фитопатогенов бактериальной природы остается мало изученной.

Наша работа была направлена на выявление микробоценоза пищеварительного тракта яблонной тли с целью выявления потенциальной возможности этих сосущих насекомых переносить различные фитопатогенные бактерии.

Работа проводилась в июне 2007 г. Было исследовано 100 бескрылых самок яблонной тли, собранных с молодых побегов яблонь в садах в черте г. Энгельса Саратовской области. Идентификация насекомых проводилась по определителю насекомых [7], правильность определения подтверждена кандидатом сельскохозяйственных наук, профессором ка-



федры энтомологии Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова Б.С. Якушевым.

Непосредственно перед бактериологическим посевом насекомых усыпляли, обрабатывали в 96% этаноле в течение 5 мин для уничтожения микроорганизмов, обитающих на внешних покровах тлей, затем дважды промывали в стерильном физиологическом растворе. Десять экземпляров тлей, обработанных таким образом, растирали в ступке с 0,5 мл физиологического раствора. Средняя масса 10 самок тлей составляла 0,005 г, таким образом, получали разведение 10^{-2} . По 0,1 мл полученной суспензии засеивали на ГРМ-агар, картофельную среду и среду ВЯ следующего состава: вытяжка из яблоневых листьев (10%), яблочный сок (10%), пептон (1%), глюкоза (1%), фруктоза (1%), неорганические соли NaCl, FeSO₄, KNO₃, K₂HPO₄, MgSO₄, CaCO₃ (по 0,1%), голодный агар (3%), pH = 6. Последняя среда являлась экспериментальной и была разработана и апробирована нами для выделения микроорганизмов, приспособленных к обитанию в пищеварительном тракте растительоядных насекомых.

Посевы инкубировали при температуре 28°C в течение двух суток. Для идентификации выделенных культур проводили изучение их морфологических, культуральных, биохимических свойств. Видовую принадлежность устанавливали по определителю бактерий Берджи [8, 9] и определителю зоопатогенных микроорганизмов [10].

В результате проведённых исследований было выявлено обитание в пищеварительном тракте яблонной тли 23 видов бактерий, принадлежащих к 15 родам (табл. 1). Оказалось, что наиболее разнообразно в видовом отношении представлен род *Bacillus* (6 видов), за ним по видовому разнообразию следуют роды *Staphylococcus* (3 вида) и *Aureobacterium* (2 вида). Остальные роды представлены единичными видами.

Количественные показатели бацилл варьировали от 10^3 до 10^4 КОЕ в пробе из 10 особей тли. Наиболее часто обнаруживались бактерии *B. megaterium*. Достаточно богатый видовой состав выявлен среди грам-

Таблица 1

**Микробоценоз пищеварительного тракта
яблонной тли**

Виды	Среды выделения	Количественные показатели*	Встречаемость в пробах, %
Грамположительные споровые палочки			
<i>Bacillus azotoformans</i>	КС	10^3	10
<i>B. cereus</i>	КС	10^4	10
<i>B. circulans</i>	ВЯ	10^3	10
<i>B. megaterium</i>	КС, ВЯ	10^3	20
<i>B. thuringiensis</i>	ВЯ	10^3	10
<i>B. psychrosacharolyticus</i>	ГРМ-агар	10^3	10
Грамположительные неспоровые палочки			
<i>Aureobacterium barkeri</i>	ГРМ-агар	10^3	10
<i>A. testaceum</i>	ГРМ-агар	10^3	10
<i>Cellulomonas</i> sp.	ГРМ-агар	10^4	10
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	ГРМ-агар	10^3	10
<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	ВЯ	10^3	10
<i>Microbacterium imperiale</i>	ГРМ-агар	10^3	10
<i>Pimelobacter simplex</i>	ВЯ	10^3	20
Грамположительные кокки			
<i>Deinococcus radiopugnans</i>	ГРМ-агар	10^3	10
<i>Micrococcus agilis</i>	ГРМ-агар	10^3	10
<i>Kocuria rosea</i>	ГРМ-агар, ВЯ	10^3	60
<i>Kytococcus sedentarius</i>	КС, ВЯ	10^3	20
<i>Planococcus citreus</i>	ГРМ-агар, ВЯ	10^3	70
<i>Staphylococcus cohnii cohnii</i>	ГРМ-агар	10^3	30
<i>S. shleiferi shleiferi</i>	ГРМ-агар, ВЯ	$10^3 - 10^4$	30
<i>S. saprophiticus</i>	ГРМ-агар, ВЯ	10^3	20
Грамотрицательные палочки			
<i>Aeromonas hydrophila</i>	ГРМ-агар	10^3	10
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	ВЯ	10^3	10

* Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в 10 особях.



положительных палочек (7 видов), однако и их численность не превышала 10^4 КОЕ в пробе. Грамположительные кокки были представлены в основном аэробными микроорганизмами, относящимися к 5 родам. В большинстве проб были обнаружены бактерии *Kocuria rosea* и *Planococcus citreus*. Среди факультативно-анаэробных кокков нами выделены 3 вида, принадлежащих к роду *Staphylococcus*. Количественные показатели кокковых микроорганизмов составляли $10^3 - 10^4$ КОЕ в пробе. Небольшим видовым разнообразием отличалась группа грамотрицательных аэробных палочек (2 вида).

В процессе идентификации выделенных штаммов было проведено изучение их биохимической активности (табл. 2–6). Большинство выделенных микроорганизмов были каталазоположительными и оксидазоотрицательными. Способностью к росту в анаэробных условиях обладали 12 видов. Обращает на себя внимание относительно низкая сахаролитическая активность исследуемых штаммов. Способность использовать глюкозу выявлена у 13 (56%) видов, остальные углеводы расщеплялись лишь единичными видами. Относительно высокой сахаролитической активностью обладали *Bacillus circulans*, *Sta-*

Таблица 2

Биохимическая активность бацилл, выделенных из пищеварительного тракта яблонной тли

Виды	Подвижность	Рост в анаэробных условиях	Каталаза	Образование кислоты из				Образование ацетона	Редукция нитратов	Использование цитрата	Гидролиз	
				глюкозы	ксилозы	арабинозы	маннита				крахмала	желатин
<i>Bacillus azotoformans</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>B. cereus</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>B. circulans</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+
<i>B. megaterium</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>B. thuringiensis</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>B. psychro-sacharolyticus</i>	+	+	+	+	+ _{сл}	-	-	-	+	-	+	-

Примечание. «+» – положительная реакция; «+_{сл}» – слабopоложительная реакция; «-» – отрицательная реакция.

Таблица 3

Биохимическая активность грамположительных неспоровых палочек, выделенных из пищеварительного тракта яблонной тли

Виды	Пигмент	Подвижность	Рост в анаэробных условиях	Оксидаза	Каталаза	Уреаза	Желатиназа	Образование кислоты из	
								глюкозы	маннита
<i>Aureobacterium barkeri</i>	ж	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>A. testaceum</i>	ж	+	+ _{сл}	-	+	-	+	-	-
<i>Cellulomonas sp.</i>	-	+	+	-	+	-	-	+	-
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	р	+	-	-	+	-	+	-	-
<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	-	+	+	-	+	-	+	-	-
<i>Microbacterium imperiale</i>	ор	+	-	-	+	-	-	+	-
<i>Pimelobacter simplex</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-

Примечание. ж – жёлтый; р – розовый; ор – оранжевый; +_{сл} – слабopоложительная реакция.



Таблица 4

Биохимическая активность грамположительных аэробных кокков, выделенных из пищеварительного тракта яблонной тли

Виды	Пигмент	Подвижность	Рост в анаэробных условиях	Оксидаза	Каталаза	Желатиназа	Образование кислоты из глюкозы	Редукция нитратов	Использование цитрата	Рост при	
										5% NaCl	15% NaCl
<i>Deinococcus radiopugnans</i>	р	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>Micrococcus agilis</i>	-	+	-	-	+	+	+сл	-	-	+	-
<i>Kocuria rosea</i>	р	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-
<i>Kytococcus sedentarius</i>	ж	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-
<i>Planococcus citreus</i>	ж	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+

Примечание. Обозначения см. в табл. 1, 2.

Таблица 5

Биохимическая активность стафилококков, выделенных из пищеварительного тракта яблонной тли

Виды	Пигмент	Подвижность	Рост в анаэробных условиях	Оксидаза	Каталаза	Образование кислоты из								Образование ацетона	Редукция нитратов	Рост при					
						глюкозы	кейлозы	арабинозы	маннита	мальтозы	маннозы	фруктозы	сахарозы			лактозы	10 °C	37 °C	43 °C	5% NaCl	7,5% NaCl
<i>Staphylococcus cohnii cohnii</i>	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>S. shleiferi shleiferi</i>	кр	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. saprophiticus</i>	ж	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+

Примечание. кр – красный; остальные обозначения см. в табл. 1, 2.

Таблица 6

Биохимическая активность граммотрицательных палочек, выделенных из пищеварительного тракта яблонной тли

Виды	Пигмент	Подвижность	Рост в анаэробных условиях	Оксидаза	Каталаза	Образование кислоты из								Образование ацетона	Редукция нитратов	Использование цитрата	Гидролиз		Рост при			
						глюкозы	кейлозы	арабинозы	маннита	мальтозы	маннозы	сахарозы	лактозы				крахмала	желатин	10 °C	37 °C	43 °C	15% NaCl
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+сл	-	-	+	+	-	-
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-

Примечание. Обозначения см. в табл. 1, 2.

phylococcus shleiferi shleiferi, *S. saprophiticus* и *Aeromonas hydrophila*.

Часть штаммов, выделенных на ГРМ-агаре и среде ВЯ, в дальнейшем не удалось культивировать ни на одной из использованных сред. По морфологии они представляли грамположительные кокки (2 штамма), грам-

положительные палочки (2 штамма) и граммотрицательные палочки (2 штамма). Вероятно, в организме насекомого эти бактерии использовали продукты метаболизма других симбионтов, и для их культивирования в лабораторных условиях требуются более сложные питательные среды.



Большинство выделенных видов являются широко распространенными в окружающей среде сапрофитами. Интересен факт обнаружения в пищеварительном тракте тли бактерий *Bacillus thuringiensis*, характеризующихся продукцией кристаллообразных протеиновых включений, обуславливающих патогенность для некоторых насекомых. *Aureobacterium barkeri*, *A. testaceum*, *Microbacterium imperiale* являются типичными обитателями организма насекомых [11]. Особый интерес представляет обнаружение в тле *Curto bacterium flacumfaciens*, вызывающего бактериальные гнили некоторых сельскохозяйственных культур, в том числе у фасоли [12].

Библиографический список

1. Бей-Буенко Г.Я. Общая энтомология. М.: Высш. шк., 1980. 416 с.
2. Мордовилко А.К. Фауна России и сопредельных стран. Петроград, 1919. Вып.2. С.237–508.
3. Ивановская О.И. Тли Западной Сибири. Новосибирск: Наука, 1977. Ч.II. С.70–71.
4. Бергун С.А. Экологические аспекты мониторинга зеленой яблонной тли (*aphis pomi deg.*) в яблоневых садах центральной зоны Краснодарского края: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ставрополь, 2004. 22 с.
5. Dunbar H.E., Wilson A.C., Ferguson N.R., Moran N.A. Aphid Thermal Tolerance Is Governed by a Point Mutation in Bacterial Symbionts // PLoS Biol. 2007. №5. P.96.
6. Дьяков Ю.Т. Фитопатогенные вирусы. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1984. 178 с.
7. Плавильщиков Н.Н. Определитель насекомых. М.: Топикал, 1994. С.119.
8. Определитель бактерий Берджи: В 2 т. / Под ред. Дж. Хоулта и др. М.: Мир, 1997. Т.1. 432 с.
9. Определитель бактерий Берджи: В 2 т. / Под ред. Дж. Хоулта и др. М.: Мир, 1997. Т.2. 368 с.
10. Сидоров М.А., Скородумов Д.И., Федотов В.Б. Определитель зоопатогенных микроорганизмов. М.: Колос, 1995. 319 с.
11. Пивоваров Ю.П., Королик В.В. Санитарно-значимые микроорганизмы. М.: Икар, 2000. 268 с.
12. Mundel H.H., Kiehn F.A., Huang H.C. et al. Resolute great northern bean // Canad. J. Plant Sc. 2005. Vol.85, №2. P.393–395.