

Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии  
и физиологии растений

## АССОЦИАТИВНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ТЛЕЙ

### АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студент 2 курса 242 группы  
направления подготовки магистратуры 060401 Биология  
биологического факультета  
Макарова Никиты Олеговича

Научный руководитель  
к.б.н., доцент

\_\_\_\_\_

Е. В. Глинская

дата, подпись

Заведующий кафедрой  
д.б.н., профессор

\_\_\_\_\_

С. А. Степанов

дата, подпись

Саратов 2016

## **Введение**

**Актуальность темы.** Изучение микробоценозов тлей – это важный этап разработки новых микробиологических методов ограничения численности насекомых. Существующие биопрепараты на основе облигатных энтомопатогенов мало эффективны и имеют ряд недостатков. Причина заключается в малой эффективности биопрепаратов, которые несут гибель насекомым путем отмирание самих возбудителей бактериозов. Эти недостатки микробных инсектицидов могут быть устранены с помощью методов генной инженерии. Решением проблемы может стать введение генов, обеспечивающих синтез токсических веществ в широко распространенные сапрофитные бактерии [1].

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы являлось изучение ассоциативных микроорганизмов злаковой тли и кормового растения.

Для достижения указанной цели были определены следующие задачи.

1. Установить видовой состав и количественные показатели ассоциативных микроорганизмов злаковой тли.
2. Изучить микробиологические показатели ассоциативных микроорганизмов растений ржи и пшеницы в разные физиологические периоды.
3. Определить биологические свойства выделенных микроорганизмов.

**Материал и методы исследования.** Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений и лаборатории молекулярной биологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского в период с 2016 по 2017 гг.

Проводились бактериологические посеvy злаковой тли, поверхности и внутренней среды кормового растения. В дальнейшем были изучены морфологические, культуральные и биохимические свойства выделенных изолятов, проведена фенотипическая и идентификация выделенных ассоциантов [2-6].

**Структура и объём работы.** Работа изложена на 54 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников, приложение. Работа проиллюстрирована 11 таблицами и 8 рисунками. Список использованных источников включает 52 наименований.

**Научная новизна.** Впервые установлен видовой состав и доминирующие виды микробоценоза злаковой тли и кормового растения, их биологические свойства, показано влияние микрофлоры кормового растения на структуру микробоценоза злаковой тли.

**Научная значимость.** Полученные результаты существенно расширяют представления о роли тлей в циркуляции бактерий в природе. Выявленная способность некоторых фитопатогенных бактерий сохраняться в организме тли позволит фитопатологам более точно прогнозировать распространение вызываемых ими бактериозов растений.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Микробоценоз злаковой тли и кормового растения включает 12 видов бактерий, среди которых преобладают бактерии рода *Bacillus*.

2. Наиболее распространёнными ассоциантами злаковой тли и кормового растения являются *Bacillus pseudomycooides*, *B. horikoshi*, *B. flexus*, *Kurthia sibirica*, *Micrococcus lylae*

3. Успешность выживания бактерий в организмах насекомых зависит от их способности адаптироваться к специфическим условиям этих биотопов: щелочной реакции среды, высокой концентрации сахарозы и недостатку азотных соединений.

**Основное содержание работы**

В главе «Основная часть» представлен анализ литературных данных об особенностях биологии злаковой тли, о систематическом положении и морфологии, о жизненном цикле, об особенностях питания, о симбиотических микроорганизмах этих насекомых, об участии тлей в сохранении и распространении фитопатогенных микроорганизмов.

В главе «Результаты исследования» изложены экспериментально полученные данные о структуре микробоценоза злаковой тли, его динамике, влиянии на него микрофлоры кормового растения, о биологических свойствах бактерий-ассоциантов.

В результате проведенных исследований из 600 особей злаковой тли и кормовых растений выделено 76 штаммов. На основании изучения морфологических, культуральных и биохимических признаков было идентифицировано 12 видов. Выделенные бактерии были представлены кокками и

граммотрицательными палочками, грамположительными споровыми и неспоровыми палочками. При анализе общей структуры микробоценозов выявлено, что наиболее разнообразно в микробной ассоциации злаковой тли представлены роды *Bacillus* – 5 видов, род *Kurthia* – 2 вида, род *Micrococcus* – 3 вида и род *Listeria* – 2 вида.

Для изучения влияния микрофлоры кормового растения на микробную ассоциацию злаковой тли было проведено параллельное исследование микрофлоры 100 насекомых и микрофлоры их кормовых растений.

Учитывая, что многие выделенные штаммы бактерий содержались в насекомых в очень больших количествах, можно предположить, что они будут оказывать определенное влияние на своего хозяина.

Тли питаются флоэмным соком, содержащим высокие концентрации углеводов, прежде всего сахарозы, в связи с чем подвергаются постоянному осмотическому стрессу. Известно несколько механизмов, позволяющих насекомым избегать обезвоживания [8].

Одним из механизмов осморегуляции может служить потребление сахаров в качестве источника углерода и энергии бактериями, обитающими в пищеварительном канале тли. Показано, что сахароза входит в число углеводов, наиболее активно используемых бактериями-ассоциантами.

Устойчивость тлей к неблагоприятным факторам среды также связывают с симбиотическими бактериями этих насекомых.

Диапазон рН, в котором росли все исследованные штаммы, колебался от 6 до 10. Можно предположить, что ассоциативные микроорганизмы злаковой тли будут активны при колебаниях рН внутренней среды насекомого от слабокислой до щелочной.

Наши исследования показали, что организм злаковой тли является средой обитания как для широкого круга сапрофитических бактерий, так и для фитопатогенных. Насекомое обеспечивает этих бактерий пищевым субстратом, сглаживают негативные влияния факторов внешней среды.

Ассоциативные бактерии же, в свою очередь, могут участвовать в решении ряда физиологических проблем тли, связанных с питанием растительными соками.

## Выводы

1. Микробоценоз злаковой тли включает 11 видов бактерий, среди которых преобладают бактерии рода *Bacillus*. Количественные показатели ассоциантов варьируют от  $10^3$  до  $2 \times 10^4$  КОЕ в пробе. Индекс встречаемости находится в диапазоне 10 – 80%.

2. Бактерии-ассоцианты растений ржи сорта «Волжанка» включают 12 видов, количественные показатели которых составляют  $10^3 - 2 \times 10^5$  КОЕ, а индекс встречаемости доминирующих видов достигает 100%. Фаза развития растений ржи оказывает влияние как на видовой состав ассоциативных бактерий, так и на их количественные показатели.

3. Микробоценоз филлосферы и ризосферы растений пшеницы сорта «Жемчужина Поволжья» представлен 12 видами. Максимальные количественные показатели бактерий достигают  $4 \times 10^5$  КОЕ, индекс встречаемости – 90%. Разнообразие ассоциантов увеличивается от 4 видов в период колошения до 6 – в период молочной спелости.

4. Ассоциативные бактерии злаковой тли и кормового растения способны: ферментировать цитрат натрия (66,7% штаммов), маннит (41,6%), сахарозу (33,3%), желатин (41,6%), казеин (50%); к росту при широком диапазоне температур (10 - 43°C) и pH среды (6 - 10); к гидролизу целлюлозы (75%) и фиксации молекулярного азота (75%).

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Щеголев, В. Н. Сельскохозяйственная энтомология / В. Н. Щеголев. М.: Сельхозгиз, 1980. 450 с.
2. Tsuchida, T. Symbiotic Bacterium Modifies Aphid Body Color / T. Tsuchida, R. Koga, M. Horikawa et al. *Science*. 2010. Vol. 330, № 6007. P. 1102-1104.
3. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта, И. Крига, П. Синта, Д. Стейми: в 2 Т. М.: Мир, 1997. Т.1. 432 с.
4. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта, И. Крига, П. Синта, Д. Стейми: в 2 Т. М.: Мир, 1997. Т.2. 368 с.
5. Brenner, D. J. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* / D. J. Brenner, J. T. Staley, D. R. Boone. USA: Springer, 2001. Vol. 1. 1450 p.
6. Brenner, D. J. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* / D. J. Brenner, J. T. Staley, D. R. Boone. USA: Springer, 2005. Vol. 2. 1106 p.
7. Пивоваров, Ю. П. Санитарно-значимые микроорганизмы (таксономическая характеристика и дифференциация) / Ю. П. Пивоваров, В. В. Королик. М.: ИКАР, 2000. 268 с.
8. Ashford, D. A. Living on a high sugar diet: the fate of sucrose ingested by a phloem-feeding insect, the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* / D. A. Ashford, W. A. Smith, A.E. Douglas. *Journal of Insect Physiology*. 2000. Vol. 46, № 3. P. 335-341.
9. Macdonald, S. J. The central role of the host cell in symbiotic nitrogen metabolism / S. J. Macdonald, G. G. Lin, C. W. Russell, G. H. Thomas. *Biological Sciences*. 2012. Vol. 279, № 1740. P. 2965-2973.