



УДК 632.752.2 (470.44)

## ВЫЯВЛЕНИЕ ФАКТОРОВ ФИТОПАТОГЕННОСТИ У БАКТЕРИЙ-АССОЦИАНТОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ТЛИ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

М. С. Малышина, А. М. Петерсон, С. Ю. Балтаева

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



Выявлены факторы фитопатогенности у бактерий-ассоциантов яблонной (*Aphis pomi* Deg.), смородиновой (*Eriosoma ulmi* L.), сливоопыленной (*Hyalopterus pruni* L.), вишнёвой (*Myzus cerasi* F.), калиновой (*Aphis viburni* Scop.) тли. Способностью к мацерации растительных тканей обладали 35% штаммов, изолированных из тли, целлюлолитической активностью – 9% штаммов-ассоциантов. Штаммы, обладающие факторами фитопатогенности, чаще выделялись из организмов яблонной (32% от общего количества изолятов), калиновой (31%), вишневой (33%), сливоопыленной (29%) тли. Реже такие штаммы изолировались из организмов смородиновой тли (13%). 6 штаммов с наибольшим количеством факторов фитопатогенности были идентифицированы как *Serratia marcescens*, *Bacillus pseudomycooides* (2 штамма), *B. funiculus*, *B. pumilus*, *Brenneria nigrifluens*.

**Ключевые слова:** тли, бактерии-ассоцианты, факторы фитопатогенности.

### Revealing of Factors Phytopatogenic in Bacteria-Associants Some Species of Aphis in Saratov Region

M. S. Malyshina, A. M. Peterson, S. Yu. Baltaeva

The factors of phytopathogenic bacteria-associants of *Aphis pomi* Deg., *Eriosoma ulmi* L., *Hyalopterus pruni* L., *Myzus cerasi* F., *Aphis viburni* Scop. was revealed. Ability of the strains isolated from aphids to macerate plant tissues was shown for 35% of isolates, cellulolytic activity – 9% strains of bacteria-associants. Strains with phytopathogenic factors more often were isolated from *Aphis pomi* Deg. (32% of isolates), *Aphis viburni* Scop. (31%), *Myzus cerasi* F. (33%), *Hyalopterus pruni* Geoffr. (29%). Less phytopathogenic strains were isolated from *Eriosoma ulmi* L. 1 (13%). 6 strains with most of phytopathogenic factors have been identified as *Serratia marcescens*, *Bacillus pseudomycooides* (2 strains), *B. funiculus*, *B. pumilus*, *Brenneria nigrifluens*.

**Key words:** aphids, bacteria-associants, factors phytopatogenic.

В последнее время регистрируется нарастающее заражение сельскохозяйственных культур фитопатогенами. Фитопатогенные бактерии могут вызывать ожоги, увядания, пятнистости, гнили, различные опухоли [1].

В России от бактериального рака, гнили и других заболеваний, вызванных фитопатогенными бактериями, погибают 70–80% плодовых деревьев, таких как яблони, груши, вишня, слива

и другие [2]. В распространении возбудителей бактериозов существенную роль могут играть насекомые, ассоциированные с растениями. В роли переносчиков наиболее часто оказываются сосущие насекомые и в частности тли. Более того, в организме насекомых некоторые возбудители могут сохраняться и трансвариально передаваться следующим поколениям [3]. Помимо хорошо известных фитопатогенных видов в последнее время многие сапрофитические виды постепенно переходят в разряд условно патогенных и патогенных. Несмотря на это, в литературе практически отсутствуют сведения о циркуляции в природе потенциальных фитопатогенов и о роли тли в их распространении.

В связи с этим целью данной работы явилось выявление факторов фитопатогенности у бактерий, ассоциированных с некоторыми видами тли в Саратовской области.

Насекомые для микробиологических исследований были собраны в Балашовском, Саратовском, Базарно-Карабулакском и Энгельском районах Саратовской области.

Объектом исследования послужили штаммы бактерий, выделенные в этих районах в 2011–2012 гг. из вишневой (*Myzus cerasi* F.), калиновой (*Aphis viburni* Scop.), сливоопыленной (*Hyalopterus pruni* Geoffr.), смородиновой (*Eriosoma ulmi* L.), яблонной (*Aphis pomi* Deg.) тли. Определение видовой принадлежности тлей проводилось кандидатом сельскохозяйственных наук, профессором кафедры энтомологии СГАУ им. Н. И. Вавилова Б. С. Якушевым.

Выделение и идентификацию бактерий-ассоциантов проводили по методикам, описанным ранее [4].

Всего было исследовано 124 изолята, которые относились к грамотрицательным палочкам, грамположительным неспоровым палочкам и грамположительным спорным палочкам (табл. 1).

Выделенные штаммы исследовались на наличие у них мацерирующей способности и целлюлолитической активности.



Таблица 1

Объекты исследования

Объект выделения (вид тли)	Морфологические формы бактерий-ассоциантов, количество штаммов			Всего штаммов
	Грамотрицательные палочки	Грамположительные		
		неспоровые палочки	споровые палочки	
Вишневая тля	7	4	13	24
Калиновая тля	4	0	7	11
Сливоопыленная тля	12	3	12	27
Смородиновая тля	3	1	11	15
Яблонная тля	13	8	26	47
Всего	39	16	69	124

Мацерация – разъединение растительных клеток в тканях при растворении или разрушении межклеточного вещества. Способность к мацерации определялась на стандартных тест-объектах. Клубни картофеля и корнеплоды моркови и свёклы промывали, высушивали. Затем стерилизовали поверхность 96% этанолом и нарезали диски растительных тканей, которые помещали в чашки Петри на увлажнённые фильтры. На каждый диск наносили суточные культуры исследуемых штаммов бактерий. Чашки помещали в термостат для культивирования на 1–3 суток при температуре 28°C. Наличие или отсутствие мацерации определяли визуально при прикосновении к дискам бактериологической петлёй.

Для выявления целлюлолитической активности – способности бактерий разлагать цел-

люлозу – исследуемые бактериальные суточные культуры засеивали медальонами на поверхность минимальной агаризированной среды, содержащей 0,1% растворимой целлюлозы и инкубировали в течении 48 ч при температуре 28°C. После этого чашки заливали 0,1% водным раствором конго красного и выдерживали 20 мин. Краситель сливали, чашки промывали 8% водным раствором хлорида натрия. Наличие светлых неокрашенных зон в местах роста бактерий или вокруг медальонов свидетельствовало о продукции целлюлолитических ферментов [5].

При выявлении мацерирующей активности было установлено, что бактерии различных морфологических групп содержали примерно одинаковое количество штаммов, способных к мацерации растительных тканей (рис. 1).



Рис. 1. Мацерирующая активность: а – грамотрицательных; б – грамположительных неспоровых; в – грамположительных споровых палочек (количество штаммов, показавших положительную реакцию, %)

Так, способностью к мацерации ткани хотя бы одного тест-растения обладали 31% штаммов грамотрицательных палочек, 36% грамположительных неспоровых палочек и 38% грамположительных споровых палочек.

Наиболее эффективно бактерии, выделенные из тли, мацерировали ткани картофеля и

свёклы, меньшее количество штаммов было способно к мацерации тканей моркови (табл. 2).

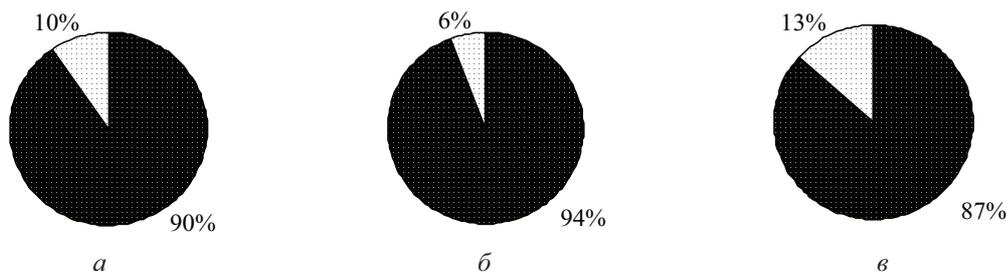
Целлюлолитическая активность была выявлена у 13% штаммов грамположительных споровых палочек, 10% штаммов грамотрицательных палочек и 6% штаммов грамположительных неспоровых палочек (рис. 2).



Таблица 2

**Способность штаммов, изолированных из тли, к мацерации различных растительных тканей**

Мацерация тканей	Количество штаммов, давших положительную реакцию					
	Грамположительные споровые палочки		Грамположительные неспоровые палочки		Грамотрицательные палочки	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Картофель	18	26	4	25	7	18
Морковь	3	5	1	7	4	11
Свёкла	15	22	6	38	7	18



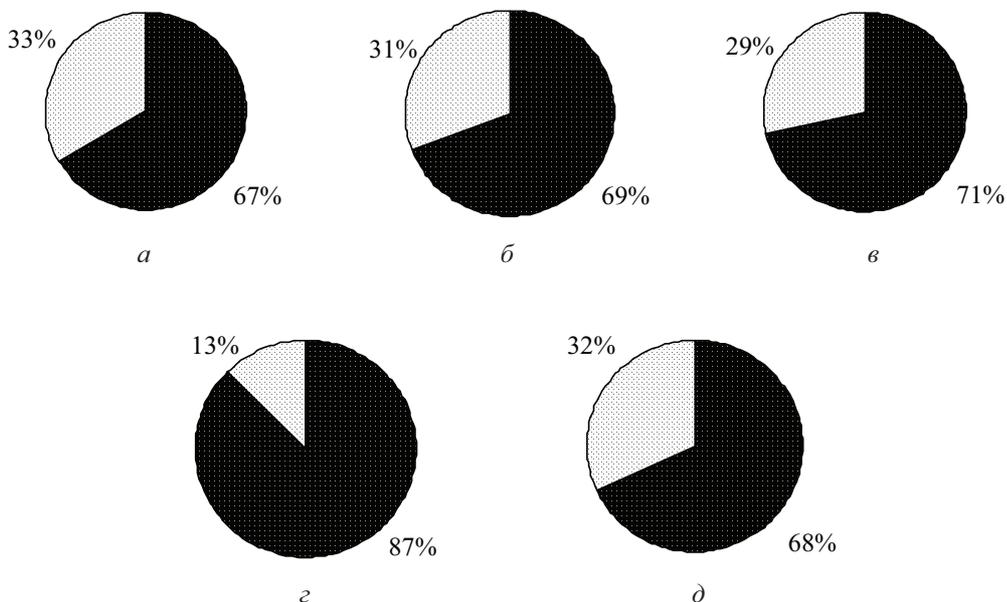
■ Штаммы, необладающие целлюлолитической активностью

□ Штаммы, обладающие целлюлолитической активностью

Рис. 2. Целлюлолитическая активность: *а* – грамотрицательных; *б* – грамположительных неспоровых; *в* – грамположительных споровых палочек (количество штаммов, показавших положительную реакцию, %)

Таким образом, и мацерирующая, и целлюлолитическая активности чаще встречались у грамположительных споровых палочек.

Мы проанализировали, из каких видов тли чаще всего выделяются бактерии, обладающие факторами фитопатогенности (рис. 3).



■ Штаммы, необладающие факторами фитопатогенности

□ Штаммы, обладающие факторами фитопатогенности

Рис. 3. Содержание штаммов (%), обладающих факторами фитопатогенности, в различных видах тли: *а* – вишневой, *б* – калиновой, *в* – сливоопыленной, *г* – смородиновой, *д* – яблонной



Было установлено (см. рис. 3), что из организмов вишневой, калиновой, сливоопылённой и яблонной тли выделялось примерно одинаковое количество штаммов с факторами фитопатогенности. Реже такие штаммы изолировались из организмов смородиновой 13% тли.

Из всего спектра штаммов, обладающих теми или иными факторами фитопатогенности, особый интерес представляют 6 штаммов, у которых выявлено 3–4 фактора фитопатогенности, и которые с наибольшей вероятностью могут оказаться патогенными для растений (табл. 3).

Таблица 3

**Штаммы, обладающие наибольшим количеством факторов фитопатогенности**

№ штамма	Объект выделения	Целлюлолитическая активность	Мацерация тканей		
			картофеля	моркови	свёклы
205	Калиновая тля	+	+	–	+
223		+	+	+	+
422	Смородиновая тля	+	+	+	+
166		+	+	–	+
547	Сливоопылённая тля	+	+	–	+
580	Вишневая тля	–	+	+	+

Наиболее активными из них оказались штаммы № 223 и 422, которые обладали целлюлолитической активностью и мацерировали все использованные в экспериментах растительные ткани.

Фенотипическая и генотипическая идентификация этих штаммов показала их принадлежность к родам *Bacillus* (штамм 223 – *B. pseudomycooides*, штамм 422 – *B. simplex*, штамм 580 – *B. pumilus*), *Serratia* (штамм 205 – *S. marcescens*), *Brenneria* (штамм 547 – *B. nigrifluens*).

Все выделенные виды рода *Bacillus* являются широко распространенными обитателями окружающей среды. *Serratia marcescens* известен как энтомопатогенный вид, вызывает бактериозы более чем у 70 видов насекомых [6]. *Brenneria nigrifluens* является возбудителем некроза коры плодовых деревьев [7, 8].

Представляло интерес проанализировать экологические особенности этих штаммов. Выявлены различия их приуроченности к тем или иным видам тли. Было установлено, что по 2 вида ассоциированы с калиновой и смородиновой тлём, по 1 виду – с вишнёвой и сливоопылённой тлём. Интересно, что штаммов с большим количеством факторов фитопатогенности не было выделено из яблонной тли, хотя именно из этих насекомых было исследовано наибольшее количество штаммов.

Определённые закономерности прослеживаются и в сроках их выделения: в мае было выделено 3 штамма, в июне – 2, и лишь 1 в 1 декаде июля. Интересно, что в более поздние сроки штаммы с большим количеством факторов фитопатогенности не выделялись, несмотря на

то что микробиологические исследования насекомых продолжались до сентября-ноября. Из литературы известно, что бактериозы у растений проявляются в основном весной в период бутонизации и в первой половине лета [9]. Тогда же у большинства видов тли происходит отрождение личинок, появление самок-основательниц и массовое размножение [10]. Совпадение сроков активной циркуляции фитопатогенных бактерий в растительных тканях и интенсивного размножения и расселения тли способствует участию этих насекомых в распространении возбудителей заболеваний растений. Наши исследования показали, что и потенциальные фитопатогены наиболее активно циркулируют в системе растение-насекомое весной и в первой половине лета.

Встречаемость в пробах анализируемых видов также сильно варьировала. Наиболее высокие показатели встречаемости были характерны для *Serratia marcescens*, который в конце мая изолировался из 100% проб калиновой тли. Высокие показатели встречаемости (60%) были отмечены и у *Bacillus pseudomycooides* в смородиновой тле в начале июля. Однако другой штамм этого же вида в калиновой тле встречался лишь в 10% проб. Низкие показатели встречаемости были характерны и для других штаммов.

Количественные показатели содержания штаммов с большим количеством факторов фитопатогенности в организмах тли варьировали от  $10^3$  до  $10^7$  КОЕ в пробе. Причём высокие количественные показатели ( $10^7$ ) были отмечены только для *Serratia marcescens*. Количественные показатели остальных штаммов не превышали  $10^5$  КОЕ в пробе. Известно, что для возникнове-



ния инфекционного процесса необходимо, чтобы восприимчивый организм получил достаточную инфицирующую дозу возбудителя. Исходя из этого можно предположить, что наибольшая вероятность стать эффективным переносчиком фитопатогена есть у калиновой тли, которая содержала *Serratia marcescens* в наиболее высокой концентрации.

Таким образом, проведенные исследования показали, что тли могут являться носителями как уже известных фитопатогенов, так и видов, которые потенциально способны вызывать патологические изменения в растительных тканях. Выделенные нами штаммы с большим количеством факторов фитопатогенности требуют дальнейшего изучения и могут существенно расширить круг уже известных возбудителей бактериозов растений.

#### Список литературы

1. Чураков Б. П., Чураков Д. Б. Фитопатология : учебник. М. : ГОУ ВПО МГУЛ, 2007. 424 с.
2. Григорьевич Л. Н., Макаревич А. И. Защита плодовых деревьев от болезней. Минск : Современное слово. 1998. 64 с.
3. Сидоров В. А. К вопросу о роли насекомых в распространении бактериоза березы // Актуальные проблемы лесного комплекса : сб. науч. тр. междунар. науч.-техн. конф. Брянск : БГИТА, 2007. Вып. 17. С. 234 – 236.
4. Петерсон А. М., Глинская Е. В., Малышина М. С. Сравнительная характеристика микробных ассоциаций некоторых видов тли в Саратовской области // Изв. Саратов. гос. ун-та. Нов. сер. 2011. Сер. Химия. Биология. Экология. Т. 11, вып. 2. С. 63–67.
5. Желдакова Р. А., Мямин В. Е. Фитопатогенные микроорганизмы : учеб.- метод. комплекс для студентов биол. фак. спец. G - 31 01 01 «Биология». Минск : БГУ, 2006. 116 с.
6. Каменек Л. К., Харина Н. И. Цитотоксическое действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis var. galleriae* на культуру клеток *Lymantria dispar* L. // Использование микроорганизмов в сельском хозяйстве и промышленности. Новосибирск : Наука, 1982. С. 72–79.
7. Brenner D. J., Krieg N. R., Garrity G. M. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology // J. T. Staley Springer. 2007. Vol. 2. 1136 p.
8. Boone D. R., Garrity G. M., Castenholz R. W., Brenner D. J., Krieg N. R. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology // J. T. Staley Springer. 2001. Vol. 3. 1450 p.
9. Воронкова Л. В. Бактериальный ожог плодовых // Фитопатогенные бактерии. Киев : Наук. думка, 1975. С. 240–243.
10. Ивановская О. И. Тли Западной Сибири. Новосибирск : Наука. Сиб. отд-ние, 1977. 328 с.

УДК 581.116 / 574.24

## ОСОБЕННОСТИ ТРАНСПИРАЦИИ ЛИСТЬЕВ ИВЫ БЕЛОЙ В УСЛОВИЯХ НЕФТЕХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Р. Ш. Ахмадуллин<sup>1</sup>, Г. А. Зайцев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Башкирский государственный педагогический университет им М. Акмуллы, Уфа  
E-mail: rust\_a@mail.ru

<sup>2</sup>Институт биологии Уфимского научного центра РАН  
E-mail: smu@anrb.ru

Изучены особенности транспирации листьев ивы белой в условиях преобладающего нефтехимического загрязнения Уфимского промышленного центра (Предуралья, Россия). Установлен факт уменьшения интенсивности транспирации листьев ивы белой в полуденные и вечерние часы и увеличение – в утренние часы, что объясняется неблагоприятными погодными условиями (высокая температура и низкая относительная влажность воздуха). В условиях загрязнения в утренние часы отмечается увеличение интенсивности транспирации по сравнению с контролем.

**Ключевые слова:** ива белая, нефтехимическое загрязнение, транспирация.



#### Features of the White Willow Leaves Transpirations in the Conditions of Petrochemical Pollution

R. Sh. Ahmadullin, G. A. Zaitsev

Features of the white willow leaves transpiration in the conditions of prevailing petrochemical pollution of the Ufa industrial center (the Cis-Urals, Russia) are studied. The decrease fact of transpiration ratio of white willow leaves in mid-day and evening clocks and the increase in morning clocks was determined, bad weather conditions (the high temperature and the low relative air humidity ) what is explained. Under conditions of contamination in morning clocks the growth of transpiration ratio in comparison with control is noted.

**Key words:** white willow, petrochemical pollution, transpiration.