



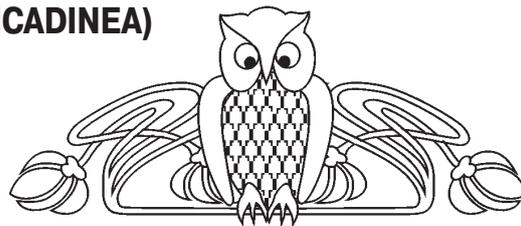
17. Розанцев Э. Г., Гольдфейн М. Д., Пулин В. Ф. Органические парамагнетики. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2000.
18. Hanafy K. A. ALS and other Neuron Disorders // Med. Sci. Monit. 2001. Vol. 7, № 4. P. 801–819.
19. Davies M. J. Electron Paramagnetic Resonance // Cambridge J. Royal Soc. of Chem. 2002. Vol. 18. P. 47–73.
20. Петухов М. С., Рычков Г. А., Серрано Л. Методы регистрации и химические особенности NO // Бреслеровские чтения : молекулярная генетика, биофизика и медицина сегодня. СПб. : Изд-во ПИЯФ РАН, 2002. Вып. 1. С. 148–168.
21. Бободжанов П. Х. Изучение структуры и молекулярной динамики хлопковой целлюлозы и глобулярных белков методом спиновых меток и зондов : дис. ... д-ра хим. наук. М., 2003.
22. Hausmann O. N. NO, nitrotyrosine and cyclic GMP in signal transduction // Spinal Cord. 2003. Vol. 41, № 7. P. 369–378.
23. Koltover V. K. Theory of reability and biological aging // Carbon. 2004. Vol. 42, № 5. P. 1179–1183.
24. Furukawa Y., O'Halloran T. V. Biological effects of CCS in the abtstnce of SOD 1 enzyme // Antioxid. Redox Signal. 2006. Vol. 8, № 5. P. 847–867.
25. Vanin A. F., Bevers L. M., Mikoyan V. D., Poltorakov A. P., Kubrina L. N., Faassen van E. Application complexes Fe-DTK by spin-trapping for NO // Nitric Oxide. 2007. Vol. 16, № 1. P. 71–81.
26. Гольдфейн М. Д., Иванов А. В., Маликов А. Н. Концепции современного естествознания. Курс лекций / под ред. проф. М. Д. Гольдфейна. М. : Изд-во РГТЭУ, 2009.
27. Гольдфейн М. Д., Урсул А. Д., Иванов А. В., Маликов А. Н. Основы естественнонаучной картины мира / под ред. проф. М. Д. Гольдфейна. Саратов : Изд-во СИ (филиал) РГТЭУ, 2011.

УДК 579.26

АССОЦИАТИВНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ НАСЕКОМЫХ ПОДОТРЯДА ЦИКАДОВЫЕ (НОМОПТЕРА, CICADINEA)

Е. В. Глинская, А. Ю. Тяпкин, А. М. Петерсон,
Н. О. Макаров, Р. А. Верховский

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



Изучены видовой состав, количественные показатели и встречаемость ассоциативных микроорганизмов трех видов цикадовых (*Cicadella viridis*, *Athysanus argentarius*, *Lepyronia coleoprata*) в окрестностях озера Став (Саратовская область). Из организмов цикадовых выделено 15 видов бактерий, количественные показатели которых варьировали от 10^2 до 10^5 КОЕ в пробе, индексы встречаемости – от 20 до 60%. Бактерии рода *Gluconobacter* присутствовали как в растительном соке, так и в пищеварительном тракте *Lepyronia coleoprata*.

Ключевые слова: ассоциативные микроорганизмы, насекомые, цикадовые.

Associative Microorganisms of Cicadinea (Homoptera)

E. V. Glinskay, A. Yu. Tyapkin, A. M. Peterson,
N. O. Makarov, R. A. Verchovskii

Species composition, quantitative indicators and occurrence of associative microorganisms of *Cicadella viridis*, *Athysanus argentarius*, *Lepyronia coleoprata* around Lake Staw (Saratov region) were studied. 15 bacteria species were revealed. Quantitative indicators varied from 10^2 to 10^5 CFU per sample, index of occurrence – from 20 to 60%. *Gluconobacter* was present in the vegetable juice and digestive tract of *Lepyronia coleoprata*.

Key words: associative microorganisms, insects, Cicadinea.

Насекомые подотряда цикадовые (Homoptera, Cicadinea) широко распространены и многочисленны во многих растительных ассоциациях, особенно в травяном ярусе. Положительная роль цикадовых в природных биоценозах заключается в том, что они являются пищевыми объектами для других животных, главным образом, для насекомоядных птиц [1–2]. Однако будучи облигатными фитофагами, цикадовые являются серьезными вредителями сельскохозяйственных культур: древесно-кустарниковых пород, пастбищных и декоративных растений. Кроме того, большой вред цикадовые наносят как переносчики фитопатогенных микроорганизмов [3–4].

Актуальной проблемой в настоящее время является изучение ассоциативных микроорганизмов различных групп насекомых, однако сведения, посвященные микробиоценозам насекомых, в том числе цикадовых, в современной литературе практически отсутствуют [5].

Целью настоящей работы являлось изучение ассоциативных микроорганизмов насекомых подотряда цикадовые (Homoptera, Cicadinea).



Работа проводилась на кафедре микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского в период с 2012 по 2013 гг.

Сбор насекомых проводился в июле 2012–2013 гг. в окрестностях озера Став (Саратовская область) методом кошения энтомологическим сачком в густой травянистой растительности. Для исследования были отобраны 3 вида насекомых, относящихся к 2 семействам подотряда цикадовые (табл. 1). Видовая принадлежность насекомых определялась доктором биологических наук, профессором кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского В. В. Аникиным по [6].

Таблица 1

Объекты исследования

Семейство	Вид
Cicadellidae	<i>Cicadella viridis</i> L., 1758
	<i>Athysanus argentarius</i> Metcalf, 1955
Aphrophoridae	<i>Lepyronia coleoptrata</i> L., 1758

В ходе экспериментальной работы было исследовано по 10 особей каждого вида цикадовых.

Для изучения возможностей проникновения микроорганизмов в пищеварительный тракт цикадовых из внешней среды было проведено изучение микробной обсемененности поверхности листьев и сока кормового растения насекомых – коротконожки перистой (*Brachypodium pinnatum* L., Beauv., 1812).

Непосредственно перед бактериологическим посевом в лаборатории насекомых усыпляли. После чего поверхность каждого насекомого обрабатывали 70%-ным спиртом для исключения попадания посторонних микроорганизмов с покровов тела и дважды промывали в физиологическом растворе. Далее насекомых вскрывали под биноклем и с помощью скальпеля и энтомологической иглы отделяли пищеварительный

тракт, который гомогенизировали в ступке с 5 мл физиологического раствора и высевали по 0.1 мл суспензии на питательные среды: ГРМ-агар (Россия, Оболенск), картофельная среда (200 г картофеля на 1 л среды + 2% голодного агара).

Бактериологический посев поверхности листьев кормового растения *Brachypodium pinnatum* проводили методом отпечатков на чашки Петри с ГРМ-агаром и картофельной средой. После этого листья обрабатывали в 70%-ном спирте в течение 10 мин, затем дважды промывали в физиологическом растворе, после чего 0.1 г листьев растирали в ступке с 0.9 мл физиологического раствора. Полученную суспензию засеивали на ГРМ-агар и картофельную среду.

Бактериологические посева культивировали при температуре 28°C в течение 3 суток.

Далее проводили количественный учет выросших колоний микроорганизмов и отсеив выделенных штаммов на скошенные питательные среды.

Индекс встречаемости выделенных штаммов рассчитывали как число проб, в которых обнаружены бактерии данного вида, к общему числу проб, выраженное в процентах [7].

Первоначальная идентификация выделенных штаммов осуществлялась по фенотипическим признакам. Видовая принадлежность доминирующих штаммов подтверждалась секвенированием 16S рРНК в сервисной лаборатории «Синтол» (г. Москва).

На первом этапе работы нами проводилось изучение основных микробиологических показателей (видовой состав, численность, индекс встречаемости) пищеварительного тракта цикадовых.

В результате проведенных исследований из 3 исследованных видов цикадовых, собранных на исследуемой территории в июле 2012 г., было выделено 7 видов бактерий, из которых 1 – грамотрицательные палочки, 2 – грамположительные кокки, 4 – грамположительные палочки (табл. 2).

Таблица 2

Микробиологические показатели пищеварительного тракта цикадовых (2012 г.)

Вид бактерий	Вид цикадовых	Среда выделения	КОЕ/г органа	Индекс встречаемости, %
<i>Aureobacterium liquefaciens</i>	<i>Cicadella viridis</i>	ГРМ-агар	10 ³	40
<i>Aureobacterium superdae</i>	<i>Athysanus argentarius</i>	ГРМ-агар	10 ⁵	20
<i>Kurthia sibirica</i>	<i>Lepyronia coleoptrata</i>	ГРМ-агар	10 ³	30
<i>Listeria murrayi</i>	<i>Cicadella viridis</i>	ГРМ-агар	10 ⁵	20
<i>Micrococcus lylae</i>	<i>Cicadella viridis</i>	Картофельная среда	10 ²	20
<i>Shineria luteimonas</i>	<i>Lepyronia coleoptrata</i>	ГРМ-агар	10 ³	30
<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Cicadella viridis</i>	ГРМ-агар	10 ⁵	30



Из пищеварительного тракта *Cicadella viridis* изолировано 4 вида, из *Athysanus argentarius* – 1 вид, из *Lepyronia coleoptrata* – 2 вида бактерий. Микроорганизмов, общих для исследуемых видов насекомых, обнаружено не было.

Индекс встречаемости был невысоким и для большинства выделенных штаммов не превышал 20–30%. Количественные показатели бактерий варьировала от 10^2 до 10^5 КОЕ/г органа, наибольшие значения были характерны для *Staphylococcus*

hominis, *Listeria murrayi* и *Aureobacterium superdae* (10^5 КОЕ/г органа), наименьшие – для *Micrococcus lylae* (10^2 КОЕ/г органа).

Из пищеварительного тракта насекомых, собранных в окрестностях озера Став в 2013 г., было выделено 8 видов бактерий, представленных 4 видами грамотрицательных палочек, 3 видами грамположительных спорообразующих палочек и 1 видом грамположительных кокков (табл. 3).

Таблица 3

Микробиологические показатели пищеварительного тракта цикадовых (2013 г.)

Вид бактерий	Вид цикадовых	Среда выделения	КОЕ/г органа	Индекс встречаемости, %
<i>Acidovorax delafieldii</i>	<i>Lepyronia coleoptrata</i>	Картофельная среда	10^4	20
<i>Bacillus gibsonii</i>	<i>Cicadella viridis</i>	ГРМ-агар	10^5	30
<i>Bacillus horti</i>	<i>Cicadella viridis</i>	ГРМ-агар	10^2	10
<i>Bacillus okuhidensis</i>	<i>Cicadella viridis</i>	ГРМ-агар	10^2	10
<i>Gluconobacter</i> sp.	<i>Lepyronia coleoptrata</i>	Картофельная среда	10^3	30
<i>Erwinia carotovora</i>	<i>Cicadella viridis</i>	Картофельная среда	10^3	20
	<i>Lepyronia coleoptrata</i>	Картофельная среда	10^3	20
<i>Erwinia</i> sp.	<i>Cicadella viridis</i>	Картофельная среда	10^5	60
<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Cicadella viridis</i>	ГРМ-агар	10^3	30

Из пищеварительного тракта *Cicadella viridis* изолировано 6 видов бактерий, включающих в основном грамположительные палочки и кокки. Грамотрицательные бактерии были более характерны для другого вида цикадок – *Lepyronia coleoptrata*. Из организма *Athysanus argentarius* ассоциативные микроорганизмы выделены не были.

Споровые палочки, изолированные из насекомых, были представлены 3 видами рода *Bacillus*, грамотрицательные бактерии – микроорганизмами, относящимися к родам *Erwinia*, *Acidovorax*, *Gluconobacter*; грамположительные кокки – 1 видом рода *Staphylococcus*. Сравнительный анализ видового состава микроорганизмов, выделенных из пищеварительного тракта разных видов цикадок, показал, что только один

вид бактерий рода *Erwinia* являлся общим для двух исследуемых видов насекомых.

Численность выделенных бактерий варьировала от 10^2 до 10^5 КОЕ/г органа. Максимальные количественные показатели зарегистрированы для бактерий *Bacillus gibsonii* и *Erwinia* sp., изолированных из пищеварительного тракта *Cicadella viridis*.

Индекс встречаемости варьировал от 10 (*Bacillus okuhidensis*) до 60% (*Erwinia* sp.)

На следующем этапе работы нами проводился анализ микробиологических показателей кормового растения цикадовых – *Brachypodium pinnatum*.

В результате проведенных исследований было выделено 4 вида бактерий (табл. 4).

Таблица 4

Микробиологические показатели кормового растения цикадовых *Brachypodium pinnatum*

Виды бактерий	Объект выделения	Среда выделения	КОЕ/г органа	Индекс встречаемости, %
<i>Aureobacterium testaceum</i>	Поверхность листа	ГРМ-агар	10^5	20
<i>Gluconobacter</i> sp.	Растительный сок	ГРМ-агар, картофельная среда	10^5	40
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Растительный сок	ГРМ-агар, картофельная среда	10^5	40
<i>Staphylococcus capitis</i>	Поверхность листа	ГРМ-агар	10^5	10

В растительном соке коротконожки перистой присутствовали только грамотрицательные палочки, с поверхности листьев изолировались грамположительные палочки и кокки.

В ходе микробиологического анализа не обнаружены бактерии, встречающиеся как на поверхности растения, так и в его сосудистой системе.



Численность выделенных бактерий во всех исследуемых органах кормового растения была высокой и достигала 10^5 КОЕ/г органа.

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что видовой состав бактерий поверхности листьев и сосудистой системы кормового растения отличается от микробных ассоциаций пищеварительного тракта исследуемых видов ци-

кадовых (табл. 5). Только один вид бактерий рода *Gluconobacter* присутствовал как в растительном соке, так и в пищеварительном тракте *Lepyronia coleoptrata*. Однако численные показатели вида в организме насекомого были незначительными (10^2 КОЕ), что может свидетельствовать о неблагоприятных для указанных бактерий условиях в организме насекомого.

Таблица 5

Микроорганизмы, выделенные из пищеварительного тракта различных видов цикадовых и растения *Brachypodium pinnatum*

Вид бактерий	<i>Cicadella viridis</i>	<i>Athysanus argentarius</i>	<i>Lepyronia coleoptrata</i>	<i>Brachypodium pinnatum</i>
<i>Acidovorax delafieldii</i>	–	–	+	–
<i>Aureobacterium liquefaciens</i>	+	–	–	–
<i>Aureobacterium superdae</i>	–	+	–	–
<i>Aureobacterium testaceum</i>	–	–	–	+
<i>Bacillus gibsonii</i>	+	–	–	–
<i>Bacillus horti</i>	+	–	–	–
<i>Bacillus okuhidensis</i>	+	–	–	–
<i>Gluconobacter</i> sp.	–	–	+	+
<i>Ervinia carotovora</i>	+	–	+	–
<i>Ervinia</i> sp.	+	–	–	–
<i>Kurthia sibirica</i>	–	–	+	–
<i>Listeria murrayi</i>	+	–	–	–
<i>Micrococcus lylae</i>	+	–	–	–
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	–	–	–	+
<i>Shineria luteimonas</i>	–	–	+	–
<i>Staphylococcus capitis</i>	–	–	–	+
<i>Staphylococcus hominis</i>	+	–	–	–
<i>Staphylococcus hyicus</i>	+	–	–	–

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований можно сделать вывод о видоспецифичности микробных ассоциаций пищеварительного тракта различных видов цикадовых и необходимости их дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Ануфриев Г. А. Состав фауны цикадовых (Homoptera, Cicadinea) заповедников ассоциации «Средняя Волга» // Наземные и водные экосистемы : сб. науч. тр. Н. Новгород : НГУ, 1999. Вып. 15. С. 99–115.
2. Бей-Биенко Г. Я. Общая энтомология. М. : Высш. шк., 1980. 416 с.
3. Дмитриев Д. А. Цикадовые (Homoptera, Cicadina)

Центрально-Черноземного региона : дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2000. 308 с.

4. Беляев И. П. Вредители зерновых культур. М. : Колос, 1974. С. 117–174.
5. Глинская Е. В., Тяпкин А. Ю., Петерсон А. М., Макаров Н. О. Микробные ассоциации цикадовых (Homoptera, Cicadinea) на территории Энгельского района Саратовской области // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье : сб. науч. тр. Вып. 11. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2013. С. 131–134.
6. Емельянов А. Ф. Подотряд Cicadinea (Auchenorrhyncha) – Цикадовые // Определитель насекомых Европейской части СССР : в 3 т. Т. 3. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1964. 240 с.
7. Беклемишев В. Н. Биоценологические основы сравнительной паразитологии. М. : Наука, 1970. 501 с.