

В. П. Приставко

К ПОЗНАНИЮ МИКРОФЛОРЫ ЛИЧИНОК КОЛОРАДСКОГО ЖУКА  
*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY (COLEOPTERA,  
CHRYSOMELIDAE)[V. P. PRISTAVKO. CONTRIBUTIONS TO THE KNOWLEDGE  
OF THE MICROFLORA OF THE LARVAE OF COLORADO BEETLE *LEPTINOTARSA*  
*DECEMLINEATA* SAY (COLEOPTERA, CHRYSOMELIDAE)]

Изучение микроорганизмов, связанных в той или иной мере с насекомыми, привлекает в настоящее время внимание не только медиков, ветеринаров и фитопатологов, но и специалистов в области микробиологического метода борьбы с вредными насекомыми. Имеющиеся капитальные сводки, обобщающие накопленный обширный материал (Штейнхауз, 1950, 1952; Steinhaus, 1963), довольно полно отражают состояние проблемы. Очевидным является, что наши познания как о составе микрофлоры большинства насекомых, так и о взаимоотношениях между насекомыми и микробами все еще остаются весьма недостаточными.

При исследовании микрофлоры насекомых, в частности бактериальной флоры кишечника, приходится преодолевать значительные трудности, связанные с определением вида у бактерий. Этот сам по себе трудоемкий процесс усложняется еще за счет того, что имеющиеся в таксономической литературе описания характерных свойств видов бактерий основаны на изучении культур бактерий, выделенных главным образом не из насекомых, а из других источников. Необходимо также отметить, что многие бактерии, встречающиеся у насекомых, относятся к семейству кишечных бактерий *Enterobacteriaceae*, систематика которого является предметом острых дискуссий.

О микрофлоре колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say в литературе имеется немного данных. Первое указание о связи бактерий с колорадским жуком мы находим у Смита (Smith, 1896), который пришел к выводу, что колорадский жук в определенной степени ответствен за распространение заболевания картофеля, вызываемое бактериями *Pseudomonas solanacearum* Erw. Smith. По-видимому, насекомые способны переносить бактерии с частицами корма на поверхности тела. Подобное наблюдение сделал и Лист (List, 1942), установивший, что колорадский жук может переносить на поверхности тела бактерии *Phytophthora* *serpentina* Mgr., патогенные для картофеля.

Уайт (White, 1928, 1935) описал явление септицемии у колорадского жука, вызываемое бактерией, названной им *Bacterium leptinotarsae* White. Заражение насекомых путем кормления происходило с трудом, что привело к мнению о бесперспективности использования этой культуры бактерий для борьбы с колорадским жуком. Более поздними исследованиями *B. leptinotarsae* White была сведена в синонимы *Aerobacter cloacae* (Jrd.) Bergeet et al. (Breed et al., 1948).

Штейнхауз (Steinhaus, 1941) выделил из кишечника имаго колорадского жука следующие бактерии: *Pseudomonas ovalis* Chester, *P. septica* Bergee et al., *Flavobacterium acidificum* Steinhaus, *Achromobacter delicatulus* (Jrd.) Bergee et al., *Aerobacter aerogenes* (Kr.) Bjrck., *Aerobacter* или *Klebsiella*, *Bacterium intrinsectum* Steinhaus и *Bacillus subtilis* Cohn.

Лысенко (Lysenko, 1959a) выделил из погибших жуков бактерию *Alcaligenes recti* (Frđ.) Bergee et al.

Исследование микрофлоры проводилось нами у личинок колорадского жука, собранных в окрестностях г. Мукачево Закарпатской области. Культуры микроорганизмов выделялись в Мукачевской ветеринарно-бактериологической лаборатории, там же исследовалась их патогенность для колорадского жука. Изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств микробов и определение их таксономического положения производилось в Лаборатории биологических методов борьбы с вредными насекомыми Украинского научно-исследовательского института защиты растений и в Отделе бактериозов растений Института микробиологии и вирусологии АН УССР в г. Киеве. Для исследования брались личинки IV возраста. У насекомых спинная поверхность стерилизовалась 70%-м спиртом, выступившая после укола тонкой иглой гемолимфа высевалась в чашки Петри на картофельный агар. Затем насекомое полностью обрабатывалось с поверхности спиртом, остаток которого сжигался в пламени горелки, растиралось целиком в стерильной ступке, и капля полученной суспензии высевалась аналогично гемолимфе. Посевы производились в трехкратной повторности и таким образом, чтобы предоставить достаточно места для роста отдельных колоний микробов.

Микрофлора была исследована индивидуально у 60 личинок колорадского жука.

После 48-часовой инкубации в аэробных условиях при 23—27° колонии микробов дифференцировались путем просматривания с помощью стереоскопического микроскопа в проходящем и отраженном свете. Из различающихся морфологически колоний на косой агар выделялись чистые культуры микроорганизмов. Через несколько дней посевы просматривались повторно для выявления медленно растущих микробов. После детального сличения колоний, окраски по Граму и микроскопирования, выделенные культуры были сведены к 37 типам, подлежащим дальнейшему диагностированию.

Морфология колоний, окраска и морфология микробной клетки, рост бактерий в бульоне (МПБ), желатине, на агаре и картофеле определялись по Омелянскому (1940); подвижность устанавливалась путем микроскопирования в темном поле, окраска кристаллов у кристаллообразующих бацилл — по Швецовой (1962); усвоение углеводов, гидролизация крахмала, реакция с метилротом и реакция на ацетил-метил-карбинол (Вогес-Проскауэра) у неспоровых бактерий — по Израильскому (1960) и Ивингу (Ewing, 1962); реакция на ацетил-метил-карбинол у спорообразующих бактерий, рост на средах с цитратами, в МПБ с 7% NaCl и средах с молоком, pH молока и сред с глюкозой, образование индола, сероводорода, редукция нитратов и лакмуса, а также общий порядок анализов — по Лорду (Lord, 1960). pH измерялось ламповым pH-метром ЛП-58. Патогенность и средние летальные дозы бактерий устанавливались по Мартиньони и Штейнхаузу (Martignoni a. Steinhaus, 1961), вид у бактерий — по Красильникову (1949), Берджи (Breed et al., 1948, 1957), а также по работам Кауфмана (1959), Бюхера (Bucher, 1959a, 1959b, 1959c), Скермана (Skerman, 1959) и Лысенко (Lysenko, 1958, 1959a, 1959b).

Микрофлора личинок колорадского жука, растущая на агаре, в подавляющем большинстве была представлена бактериями. Ниже приводятся сведения о видовом составе, основных морфологических, культуральных и биохимических особенностях, частоте встречаемости и патогенности обнаруженных нами у личинок колорадского жука микроорганизмов.

### Семейство ENTEROBACTERIACEAE Rahn

Представители семейства кишечных бактерий были наиболее обычными в микрофлоре личинок колорадского жука.

Бактерии представляли собой мелкие короткие часто коккобациллярные граммотрицательные палочки с перитрихальным жгутикованием и другими характерными признаками семейства. Свойственная бактериям этого семейства вариабельность и отсутствие четких разграничений между отдельными группами чрезвычайно затрудняют определение вида.

Триба *ESCHERICHIAE* Bergee et al.Род *ESCHERICHIA* Castellani et Chalmers

Один вид: *Escherichia freundii* Braak.

Рост быстрый, колонии серого цвета, круглые, 2.0—2.5 мм в диаметре. В проходящем свете желтоватые, уплотненные в центре. Поверхность колоний слизистая, блестящая, слегка приподнята в центре, края гофрированные. Клетки представляют собой мелкие коккобациллярные палочки размером 0.4—0.5×0.6—0.7 м.

Энергично сбраживают почти все углеводы с образованием кислоты и газа (старые культуры медленно ферментировали лактозу без образования газа), но не усваивают инозит и дульцит.

Рост на картофеле умеренный до обильного, не диффузный, черта выпуклая, блестящая, грязно-белого цвета. В МПБ — приствольное кольцо и муть, молоко не изменяется в течение двух недель, но затем створаживается при нагревании.

Основные биохимические свойства бактерий приведены в табл. 1.

Таблица 1

Биохимическая характеристика *Escherichiae*

Среда	Штаммы <i>Escherichia freundii</i>					Штаммы <i>Aerobacter cloacae</i>		Штаммы <i>Aerobacter aerogenes</i>	
	10	111	132	140	28	37	46	124	160
Инозит . . . . .	—	—	—	—	—	—	—	+	+
Дульцит . . . . .	—	—	—	—	—	+	+	—	—
H <sub>2</sub> S . . . . .	+	+	+	+	—	+	—	+	+
Желатина . . . . .	(+)	—	—	+	—	—	—	+	+
Молоко . . . . .	Ств.	Ств.	Ств.	Ств.	Ств.	—	—	Ств.	Ств.
Метил-рот . . . . .	—	—	—	—	—	—	—	Пеп.	Пеп.
Вогес-Прокс. . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Рамноза . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Глюкоза . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Лактоза . . . . .	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Сахароза . . . . .	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
Маннит . . . . .	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
Арабиноза . . . . .	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
Крахмал . . . . .	—	—	(+)	(+)	—	—	Н	+	+
Сорбит . . . . .	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	+	+	⊕	+
Среда Козера . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HNO <sub>2</sub> . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Каталаза . . . . .	+	+	+	+	(+)	+	—	+	+
Проба Эйкмана . . . . .	—	+	+	+	(+)	—	(+)	—	—

Условные обозначения в табл. 1—7: + — реакция положительная, образование кислоты. ⊕ — реакция положительная, образование кислоты и газа. — — реакция отрицательная, среда без изменения. (+) — реакция замедленная, нехарактерная или непостоянная. Ств. — створаживание (свертывание) молока. Пеп. — пептонизация молока. Н — проверка не производилась.

При определении вида мы ограничились распространенным в литературе видовым названием *E. freundii* Braak, хотя имеются более сложные таксономические разграничения бактерий данной группы: *Cloaca* типа А, *Citrobacter* и *Escherichia* (Bucher, 1959a).

Бактерии по своим свойствам несколько отличались от описания вида, приведенного в определителе Берджи (Breed et al., 1948). По Берджи, *E. freundii* Braak не образует ацетил-метил-карбинол, но указывается, что с помощью альфа-нафтола в ряде случаев последний может быть уловлен. Наши культуры давали положительную реакцию на ацетил-метил-карбинол с альфа-нафтолом, что согласуется с данными Бюхера (1959a) для *E. freundii* из прямкрылых. В отличие от наших культур, культуры Бюхера не выделяли сероводород.

Бактерии обнаружены у 46 личинок колорадского жука. Не патогенны при пероральном и парентеральном введении личинкам.

По Штейнхаузу (1950) и Бюхеру (1959с), бактерии встречаются в кишечнике некоторых чешуекрылых и прямокрылых.

#### Род АЕРОБАКТЕР Bjrк.

Два вида: *Aerobacter cloacae* (Jrd.) Bergee и *A. aerogenes* (Kruse) Bjrк. Бактерии, отнесенные нами к роду *Aerobacter*, по своим биохимическим свойствам очень близки к *Escherichia freundii* Braak.

Поверхность колоний более выпуклая, чем у *E. freundii* Braak, блестящая, гладкая, колонии непрозрачные, структура гомогенная, края фестончатые. Рост на картофеле обильнее, сочный, грязно-белого цвета. В МПБ — пристольное кольцо и интенсивная муть. *A. aerogenes* Bjrк. створаживает через сутки молоко с последующей пептонизацией. *A. cloacae* Bergee молоко не изменяет.

Клетки представляют собой изящные одиночные и парные палочки размером  $0.3-0.4 \times 0.8-1.5$  м. Биохимическая характеристика видов приведена в табл. 1.

По Красильникову (1949) и Берджи (Breed et al., 1948, 1957), *A. aerogenes* Bjrк. не разжижает желатину. Наши культуры желатину разжижали, равно как и культуры *A. aerogenes*, выделенные Бюхером (1959а) из прямокрылых. Культуры *A. cloacae* соответствуют описанию нескольких штаммов, выделенных из насекомых (Lysenko, 1958). *A. cloacae* Bergee были обнаружены у 24 личинок колорадского жука, *A. aerogenes* Bjrк. — у 14.

*A. aerogenes* Bjrк. представляет особый интерес, поскольку этот вид, по определению Бюхера (1959с, 1963), потенциально патогенен для ряда насекомых и при некоторых условиях вызывает гибель последних от септицемии. Наши культуры *A. aerogenes* Bjrк. были высокопатогенны для личинок колорадского жука при парентеральном введении, средняя летальная доза составляла 10—50 клеток бактерий. При пероральном введении патогенность их не сказывалась, исключая скармливания в огромных дозах. *A. cloacae* Bergee были непатогенны как при пероральном, так и при парентеральном введении личинкам колорадского жука.

#### Триба ERWINIAE Winslow et al.

##### Род ERWINIA Winslow et al.

Бактерии рода *Erwinia* — одни из наиболее часто встречающихся у личинок колорадского жука, они были обнаружены у 33 личинок.

От других представителей семейства кишечных бактерий отличались образованием воднонерастворимого и нефлюоресцирующего желтого пигмента, а также некоторыми биохимическими особенностями (табл. 2).

Рост быстрый, колонии круглые, равномерно выпуклые, гомогенные, слабопрозрачные, слизистые, тянущиеся, поверхность зеркально-блестящая, края ровные или волнистые. Одиночные или парные подвижные палочки размером  $0.4-0.7 \times 1.2-1.6$  м с перитрихальным жгутикованием.

Бактерии хорошо усваивали большинство углеводов с образованием кислоты. Лактоза сбраживалась медленнее остальных сахаров, старые культуры иногда не ферментировали лактозу. Не усваивали инузит, не росли на дигратной среде Козера, давали отрицательную реакцию с метил-ротом и медленную, запоздалую реакцию Вогес-Проскауэра. Не разлагали крахмал, не выделяли сероводорода, не росли на среде Эндо. Рост на картофеле умеренный, диффузный, черта плоская, слизистая, желтого или грязно-желтого цвета. В МПБ — толстая пленка и муть, молоко не изменялось или створаживалось на 20—25-й день, рН молока —

Биохимическая характеристика *Egwinia* и *Serratia*

Среда	Штаммы <i>Egwinia</i> spp.						<i>Serratia marcescens</i> , штамм 301
	18	22	25	29	107	112	
Инозит . . . . .	—	—	—	—	—	—	(+)
Лактоза . . . . .	(+)	+	—	(+)	—	(+)	—
Глюкоза . . . . .	+	+	+	+	+	+	+
Сахароза . . . . .	+	+	+	+	+	+	+
Маннит . . . . .	+	+	+	+	+	+	(+)
Мальтоза . . . . .	+	+	+	+	+	+	(+)
Арабиноза . . . . .	+	+	+	+	+	+	(+)
Сорбит . . . . .	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+
Раминоза . . . . .	+	+	+	+	+	+	—
Дульцит . . . . .	—	—	—	—	—	—	—
Крахмал . . . . .	—	—	—	—	—	—	—
Желатина . . . . .	—	(+)	—	—	(+)	(+)	+
H <sub>2</sub> S . . . . .	—	—	—	+	—	—	—
Молоко . . . . .	Ств.	Ств.	—	Ств.	—	Ств.	Пен.
Метил-рот . . . . .	—	—	—	—	—	—	—
Вогес-Прокс. . . . .	+	(+)	+	(+)	+	(+)	+
HNO <sub>2</sub> . . . . .	+	+	+	+	+	+	+
Среда Козера . . . . .	—	—	—	—	—	—	(+)
Каталаза . . . . .	+	+	+	+	+	+	+
Проба Эйкмана . . . . .	H	—	—	H	(+)	(+)	—

5.9—6.2. Желатина разжижалась медленно, некоторые штаммы при посеве уколом желатину не разжижали.

Систематика рода *Egwinia* к настоящему времени разработана слабо, что затрудняет определение вида. Многие бактерии из этого рода патогенны для растений и вызывают опасные заболевания целого ряда сельскохозяйственных культур (Израильский, 1960). В литературе имеются указания на связь бактерий из этого рода с некоторыми насекомыми и на распространение последними заболеваний растений (Штейнхауз, 1950). В связи с этим роль колорадского жука как распространителя заболеваний растений заслуживает изучения.

Основные биохимические свойства наших культур *Egwinia* соответствуют характеристике рода у Берджи (Breed et al., 1957) и совпадают с данными Бюхера (1959a). Недостаточность наших знаний о бактериях данной группы и несовершенство имеющейся классификации не позволили нам довести определение до вида. Показательно, что глубокое исследование Бюхером бактерий у прямокрылых Канады было все же недостаточным для определения им вида у *Egwinia* (Bucher, 1959a, 1959b, 1959c).

Все выделенные нами культуры рода *Egwinia* были непатогенны для личинок колорадского жука при пероральном и парентеральном введении.

### Триба *SERRATIEAE* Bergeet et al.

#### Род *SERRATIA* Bizio

Один вид: *Serratia marcescens* Bizio.

От других представителей семейства кишечных бактерий культуры *S. marcescens* Bizio отличались образованием красного пигмента продигнозина. Пигмент хорошо растворяется в спирте и хлороформе. У свежесделанных интенсивно пигментированных культур пигмент диффундирует через агар, что указывает на некоторую способность растворяться в воде.

Колонии на картофельном агаре вначале белого цвета, но затем приобретают оранжево-красную окраску. Около 2 мм в диаметре, выпуклые, гладкие, блестящие, однородные.

Бактерии представляют собой подвижные грамтрицательные палочки, иногда коккобациллярной формы. Размер клетки  $0.5-0.7 \times 1.0-1.5 \mu$ , жгутикование перитрихальное.

В МПБ образуют муть, серый осадок и красную пленку. Бульон сверху окрашивается в красный цвет. Рост на картофеле обильный, вначале белого, а через несколько дней красного цвета. Молоко створаживается с последующей пептонизацией. Основные биохимические реакции приведены в табл. 2.

Этот вид бактерий был выделен из гемолимфы двух личинок колорадского жука из числа 10, которым перорально была введена миллиардная доза бактерий *Bacillus cereus* Frankland et Frankland — кристаллообразующих споровых бактерий, выделенных нами из личинок колорадского жука. По-видимому, *S. marcescens* Vizio проникли в гемолимфу, которая является благоприятной средой для их размножения, из кишечника под влиянием отравления токсинами *B. cereus* Fr. et Fr.

Бактерии были непатогенны при пероральном введении, но вызвали полную гибель насекомых при парентеральном введении 200 000 клеток личинкам IV возраста.

Средняя летальная доза не была определена, однако, по литературным данным, *S. marcescens* Vizio вызывает гибель многих насекомых при инокуляции чрезвычайно малого количества клеток (Штейнхауз, 1950, 1952; Bucher, 1959a, 1960).

Роль *S. marcescens* Vizio как возбудителя заболеваний насекомых широко освещена в литературе (Masega, 1936; Steinhaus, 1959; Bucher, 1960, 1963). Неоднократные попытки использовать *S. marcescens* Vizio в борьбе с вредными насекомыми (Steinhaus, 1959), несмотря на успех некоторых из них, не привели к применению их в практике. Дальнейшее изучение взаимоотношений между *S. marcescens* Vizio и насекомыми может успешно разрешить эту проблему.

#### Триба *PROTEEAЕ* Castellani et Chalmers

##### Род *PROTEUS* Hauser

Бактерии этой группы были обнаружены у 5 личинок колорадского жука и отличались от остальных бактерий сем. *Enterobacteriaceae* образованием характерных амeboидных роящихся колоний и отсутствием способности ферментировать лактозу. Бактерии быстро ферментировали сахарозу и мальтозу с выделением значительного количества газа, что позволило отнести их к виду *Proteus vulgaris* Hauser.

Бактерии по своим свойствам соответствовали описанию, приведенному у Берджи (Breed et al., 1948, 1957).

Патогенность бактерий не проверялась. По литературным данным, *P. vulgaris* Hauser встречается в кишечнике таракана (*Blattella germanica* L.), воцинной моли (*Galleria mellonella* L.), комнатной мухи (*Musca domestica* L.), кукурузного мотылька (*Pyrausta nubilalis* Hbn.) и других насекомых, в том числе прямокрылых, и патогенен для воцинной моли и прямокрылых при парентеральном введении (Штейнхауз, 1950; Bucher, 1959c).

#### Семейство *BACILLACEAE* Fisher

Споровые бактерии или бациллы были второй после семейства кишечных бактерий большой группой, наиболее часто встречающейся у личинок колорадского жука.

Род *BACILLUS* Cohn

Все выделенные нами споровые бактерии относились к роду *Bacillus* и соответствовали описанию рода, приведенному у Красильникова (1949) и Берджи (Breed et al., 1948, 1957).

Бактерии могут быть разделены на 2 группы: с поперечным диаметром вегетативной клетки более  $0.9 \mu$  — группа *Bacillus cereus* Fr. et Fr. — *B. megaterium* De Bary, и группа *B. subtilis* Cohn. с диаметром клетки менее  $0.9 \mu$ .

ГРУППА *BACILLUS CEREUS* FR. et FR.

Бациллы с диаметром более  $0.9 \mu$  были представлены у личинок колорадского жука следующими видами: *Bacillus cereus* Fr. et Fr., *B. mycoides* Flügge, *B. megaterium* De Bary, *B. tumescens* Zopf. и *B. brevis* Migula, биохимическая характеристика которых приведена в табл. 3.

*B. cereus* Fr. et Fr. обнаружены у 33 личинок колорадского жука.

Таблица 3

Биохимическая характеристика группы *Bacillus cereus* — *B. megaterium*

Среда	Штаммы <i>B. cereus</i>		Штаммы <i>B. brevis</i>	Штаммы <i>B. megaterium</i>		Штаммы <i>B. tumescens</i>		<i>B. mycoides</i> , штамм 115
	6	118	41	52	139	137-1	137-2	
Арабиноза	—	—	—	+	+	—	—	—
pH глюкозы	4.2	4.35	6.25	5.0	4.6	5.55	5.4	H
Метил-рот	+	+	—	(+)	(+)	—	—	+
Вогес-Проек.	+	+	—	—	—	—	—	+
Цитраты	(+)	(+)	+	+	+	(+)	+	(+)
Молоко	Ств. Пеп.	Ств. Пеп.	—	Пеп.	Пеп.	Пеп.	Пеп.	Пеп.
Желатина	+	+	+	+	+	(+)	—	+
Крахмал	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)
HNO <sub>2</sub>	+	+	+	—	—	+	+	+
Каталаза	+	+	+	(+)	+	+	+	+
Пленка в МПБ	+	+	+	—	—	—	—	—

Колонии неправильной или эллипсоидной формы, восковидные, непрозрачные, плоские или слегка выпуклые со слабо заметным валиком по краю колонии и чуть приподнятым центром. Края колоний мицелиальные, но без характерного для *B. mycoides* Flügge ветвления.

В культурах бактерии образуют длинные цепочки и пары правильных грамположительных палочек с закругленными концами. Размер клеток  $1.2-1.5 \times 2.7-3.6 \mu$  размер спор  $1.0-1.3 \times 1.8-2.0 \mu$ . При спорообразовании форма клетки не изменяется.

Кроме спор, бактерии образовывали так называемые параспоральные тела или кристаллы в основном правильной ромбовидной формы, хорошо заметные при окраске фуксином по рекомендации Швецовой (1962).

В МПБ — толстая пленка, муль и осадок; рост на картофеле скудный до умеренного, черта плоская, блестящая, белого или грязно-белого цвета.

Образование культурами *B. cereus* Fr. et Fr. кристаллических включений заслуживает особого внимания, поскольку с наличием кристаллов связывается патогенность этой группы бактерий для насекомых (Hannaу, 1953). Кристаллообразующие формы бактерий являются основой отечественных и зарубежных бактериальных препаратов, применяющихся в борьбе с вредными насекомыми.

Четкие отличия *B. cereus* Fr. et Fr. от других крупных бацилл — образование ацетал-метил-карбинола, подвижность, неризондный рост на агаре, неспособность сбраживать арабинозу — позволяют легко идентифицировать этот вид.

В последнем издании определителя Берджи (Breed et al., 1957) бациллы с аналогичными вышеописанным морфологическими и биохимическими свойствами разделяются на 2 вида: сапрофитные — *B. cereus* Fr. et Fr., и патогенные для насекомых, кристаллообразующие — *B. thuringiensis* Berliner. В то же время некоторые исследователи считают большинство имеющихся в наше время культур энтомопатогенных кристаллообразующих бацилл лишь разновидностями *B. cereus* Fr. et Fr. (Toumanoff et Le Corroller, 1959).

Мы провели сравнение некоторых биохимических особенностей наших культур *B. cereus* Fr. et Fr. с особенностями культуры *B. cereus* var. *galleriae* Isak., полученной из Всесоюзного института защиты растений (ВИЗР), и *B. thuringiensis* Berliner, полученной из Института Пастера в Париже. Наши культуры слабо или совсем не росли на среде с лимоннокислым натрием в качестве источника углерода. Культура из ВИЗР также не росла на среде с цитратом натрия. *B. thuringiensis* Berliner росла на среде с цитратами так же хорошо, как и культуры *B. megaterium* De Bary, которые отличались весьма активным ростом на цитратных средах для бацилл. *B. thuringiensis* Berliner давали слабую и запоздалую реакцию на ацетил-метил-карбинол, у *B. cereus* var. *galleriae* Isak. эта реакция была более выраженной. Наши культуры давали быструю и четкую положительную реакцию на ацетил-метил-карбинол. По-видимому, мы имеем дело с какой-то новой разновидностью *B. cereus* Fr. et Fr., дальнейшее изучение свойств которой заслуживает внимания.

Патогенность наших культур *B. cereus* Fr. et Fr. для личинок колорадского жука при пероральном введении сказывалась лишь после скармливания миллионных доз бактерий. Средняя летальная доза при парентеральном введении составляла 10—25 тыс. бактерий. Роль *B. cereus* Fr. et Fr. и иных споровых энтомопатогенных бактерий в проблеме микробиологической борьбы с насекомыми широко освещена в литературе (Heimpel a. Angus, 1963).

*B. mycoides* Flügge хорошо дифференцируется по характерному ризондному росту на агаре. Бактерии обнаружены у 4 личинок колорадского жука и не патогенны при пероральном и парентеральном введении личинкам. Встречаются у домашней пчелы (*Apis mellifera* L.), тутового шелкопряда (*Bombyx mori* L.), прямокрылых и некоторых других насекомых (Штейнхауз, 1950; Bucher, 1959c).

*B. megaterium* De Bary отличается чрезвычайной вариабельностью колоний, встречались как R так и S и M формы. В основном колонии крупные, до 7 мм в диаметре, равномерно выпуклые, серые, слизистые, тянущиеся. Поверхность колоний гладкая, тускло-блестящая, края ровные. В МПБ бактерии образовывали цепочки крупных неподвижных грамположительных клеток размером  $1.5-1.8 \times 2.7-5.4$  м. Размер спор 0.9—2.0 м. При спорообразовании форма вегетативной клетки не изменяется. Рост на МПА обильный, в МПБ — умеренный, без пленки. На картофеле рост обильный, серого цвета. Заметно отличались от других бацилл по активному росту на среде с цитратами.

Бактерии обнаружены у 9 личинок колорадского жука. Не патогенны при пероральном и парентеральном введении личинкам. Встречаются у тутового шелкопряда, акациевой ложнощитовки *Lecanium corni* Bouché, сибирского шелкопряда *Dendrolimus sibiricus* Tschtv. (Штейнхауз, 1950; Гукасян, 1960).

*B. tumescens* Zopf. не усваивали арабинозу, реакции с метил-ротом и на ацетил-метил-карбинол отрицательные, желатину не разжижали или разжижали медленно, медленно разлагали крахмал. Форма колоний



чрезвычайно вариабильна и с трудом может использоваться для целей таксономии.

В определителе Берджи (Breed et al., 1948) *B. tumescens* Zopf. сводится в синонимы *B. megaterium* De Bary. Мы сочли возможным оставить для наших культур этих бактерий видовое название *B. tumescens* Zopf., поскольку оно встречается в отечественной литературе по микробиологии насекомых (Гукасян, 1963). Обнаружены у 7 личинок колорадского жука, не патогенны при пероральном и парентеральном введении личинкам.

У *B. brevis* Migula при спорообразовании клетки увеличивались в диаметре, принимая боченкообразную форму. Размер спор  $1.5 \times 2.6 \mu$ , спора занимает клетку почти полностью. В старых культурах спорангии часто не отделялись друг от друга, а сохранялись в виде цепочек.

Этот вид бактерий обнаружен у 5 личинок, бактерии не патогенны при пероральном и парентеральном введении личинкам колорадского жука.

#### ГРУППА *BACILLUS SUBTILIS* COHN.

Три вида: *B. pumilis* Gottheil, *B. subtilis* Cohn., *B. mesentericus* Trevisan.

Диаметр клеток менее  $0.9 \mu$ . Форма колоний, ввиду ее вариабильности, с трудом может быть использована для определения таксономического положения бактерий.

Биохимическая характеристика бактерий этой группы приведена в табл. 4.

Т а б л и ц а

Биохимическая характеристика группы *Bacillus subtilis* Cohn.

Среда	Штаммы <i>B. pumilis</i>		Штаммы <i>B. subtilis</i>		Штаммы <i>B. mesentericus</i>		
	26	151	5	27	33	133	143
Арабиноза	+	+	—	—	+	—	—
Сахароза	(+)	(+)	+	+	(+)	+	+
Мальт	+	+	+	+	—	(+)	—
Сорбит	—	—	+	+	—	+	—
Лактоза	—	—	—	—	—	—	—
Крахмал	—	—	+	+	+	+	+
Метил-рот	+	+	—	—	—	—	—
Вогес-Проск.	+	+	+	+	+	+	+
Молоко	Пеп.	Пеп.	Пеп.	Пеп.	Пеп.	Пеп.	Пеп.
Желатина	+	+	+	+	+	+	+
Нитраты	+	+	+	(+)	+	(+)	(+)
pH глюкозы	5.1	4.9	5.7	5.9	5.9	5.95	5.7
МПБ + 7% NaCl	+	+	+	+	+	+	+
HNO <sub>2</sub>	—	—	+	—	+	+	—

*B. pumilis* Gottheil образует на агаре колонии бледно-коричневого цвета. В МПБ — мусть и приствольное кольцо, рост на картофеле скудный до умеренного, черта тонкая, плоская, желтого цвета. Бактерии красились по Граму, разжижали желатину, пептонизировали молоко, хорошо усваивали нитраты в качестве источника углерода. Обнаружены у 26 личинок колорадского жука.

*B. subtilis* Cohn отличались от *B. pumilis* Gottheil серым цветом колоний, обильным ростом на картофеле, способностью гидролизировать крахмал, редуцировать нитраты в нитриты. В МПБ — мусть и пленка; молоко пептонизировалось медленнее, чем у предыдущего вида. Обнаружены у 6 личинок колорадского жука.

*B. mesentericus* Trevisan по своим свойствам соответствует описанию вида, приведенному в определителе Красильникова (1949), исключая

реакцию с крахмалом, который нашими культурами гидролизировался. Бактерии обнаружены у 5 личинок колорадского жука.

Все бактерии этой группы были непатогенны для личинок колорадского жука при пероральном и парентеральном введении.

*B. subtilis* Cohn и *B. mesentericus* Trevisan являются по Штейнхаузу (1950) обитателями кишечника многих насекомых. *B. pumilis* Gottlieb обнаружены в кишечнике гусениц сибирского шелкопряда (Гукасян, 1960).

#### ДРУГИЕ БАЦИЛЛЫ

У личинок колорадского жука мы обнаружили также *Bacillus polytuxa* Migula, *B. coagulans* Hamm., *B. circulans* Jord. и *B. laterosporus* Laub., которые встречались единично. Бактерии по своим основным свойствам соответствовали описаниям, приведенным у Красильникова (1949) и Берджи (Breed et al., 1948, 1957). Не патогенны для личинок колорадского жука при пероральном и парентеральном введении.

#### Семейство MICROCOCCACEAE Pribram

По частоте встречаемости у личинок колорадского жука представители этого семейства бактерий могут быть поставлены на третье место.

Бактерии представляли собой неподвижные грамположительные кокки, удовлетворительно растущие на картофельном агаре в аэробных условиях. Не образовывали индол, сероводород, ацетил-метил-карбинол. Реакция с метил-ротом отрицательная.

#### Род MICROCOCCUS Cohn.

Три вида: *Micrococcus flavus* Trevisan, *M. citreus* Migula, *M. candidus* Cohn.

Грамположительные кокки, не образующие цепочек в жидких средах.

*M. flavus* Trevisan обнаружен у 8 личинок, *M. candidus* Cohn — у 8 и *M. citreus* Migula — у 7.

Размер клеток у *M. flavus* Trevisan  $0.5-0.7 \times 0.5-0.7 \mu$ ; у *M. citreus* Migula  $0.9 \times 0.9 \mu$ ; у *M. candidus* Cohn  $0.7 \times 0.7 \mu$ . В МПБ бактерии образовывали слабую муть, рост на картофеле скудный (рост *M. flavus* Trevisan на картофеле не обнаруживался).

Основные биохимические показатели бактерий приведены в табл. 5.

Таблица 5

Биохимическая характеристика Micrococcaceae

Среда	<i>Micrococcus flavus</i> , штамм 9	<i>M. citreus</i> , штамм 14	<i>M. candidus</i> , штамм 16	<i>Sarcina flava</i> , штамм 50-B-2
Пигмент	Желтый	Желтый	—	Желтый
HNO <sub>2</sub>	—	+	—	—
Желатина	(+)	—	—	(+)
Цитраты	—	—	—	—
Молоко	Пеп.	Ств.	—	—
Крахмал	—	+	—	—
Сахароза	—	+	—	—
Каталаза	+	+	+	+
Редукция лакмусовой сыворотки	—	—	—	—

Бактерии не были патогенны для личинок колорадского жука при пероральном и парентеральном введении личинкам.

По имеющимся литературным данным указанные виды бактерий являются распространенными обитателями кишечника многих двукрылых (*Diptera*), чешуекрылых (*Lepidoptera*), прямокрылых (*Orthoptera*) и жесткокрылых (*Coleoptera*) насекомых (Штейнхауз, 1950; Гукасян, 1960; Bucher, 1959c).

Род *SARCINA* Goodsir.

Один вид: *Sarcina flava* De Bary.

Крупные грамположительные кокки, соединенные в пакеты. Размер клеток  $1.6-1.8 \times 1.6-1.8 \mu$ . Рост на агаре лимонно-желтого цвета. Основные биохимические особенности приведены в табл. 5. Бактерии обнаружены у 15 личинок колорадского жука. Не патогенны при пероральном и парентеральном введении личинкам.

Обнаружены у озимой совки *Agrotis segetum* Schiff. (Штудер и Взорв, 1926), сибирского шелкопряда (Гукасян, 1960) и некоторых прямокрылых (Bucher, 1959c).

Семейство *LACTOBACTERIACEAE* Orla-Jensen

Род *STREPTOCOCCUS* Rosenbach

Два вида: *Streptococcus faecalis* Andr. et Hld. и *Streptococcus* sp.

Колонии бактерий серые, равномерно выпуклые, слабо прозрачные или непрозрачные. Поверхность колоний гладкая, тускло-блестящая, края ровные. Клетки неподвижные, грамположительные, величиной  $0.8 \times 0.8 \mu$  у *S. faecalis* Andr. et Hld. и  $0.9 \times 0.9 \mu$  у *Streptococcus* sp. В мазке с твердых сред клетки расположены беспорядочно, в мазке с жидких сред видны короткие цепочки. В МПБ образуют приствольное кольцо и равномерную муть. Рост на картофеле обильный, *Streptococcus* sp. — в виде сухой складчатой серой пленки, а *S. faecalis* Andr. et Hld. на картофеле растет в виде выпуклой, сочной черты желтого цвета. Молоко створаживается без сыворотки и последующего разжижения сгустка. Лакмус перед створаживанием редуцируется. Бактерии хорошо растут на среде Козера. Основные биохимические реакции приведены в табл. 6.

Таблица 6

Биохимическая характеристика *Lactobacteriaceae* и *Brevibacteriaceae*

Среда	Штаммы <i>S. faecalis</i>		Streptococcus sp. Штамм 130	Штаммы <i>Brevibacterium</i> spp.,	
	122	129		149	130
Желатина . . . . .	—	—	—	(+)	(+)
Глюкоза . . . . .	+	+	+	—	—
Сахароза . . . . .	—	—	—	—	—
Дульцит . . . . .	(+)	(+)	—	—	—
Арабиноза . . . . .	(+)	(+)	(+)	—	+
Лактоза . . . . .	(+)	(+)	—	—	—
Сорбит . . . . .	—	—	—	+	+
Маннит . . . . .	+	+	—	—	—
Крахмал . . . . .	—	—	—	—	+
Метил-рот . . . . .	—	—	—	—	—
Вогес-Прокс . . . . .	—	—	—	—	—
Редукция лакмуса . . . . .	+	+	+	—	—
Молоко . . . . .	Ств.	Ств.	Ств.	—	—
Среда Козера . . . . .	+	+	+	—	—
+45° . . . . .	+	+	—	—	—
Среда Эндо . . . . .	+	+	+	—	—
HNO <sub>2</sub> . . . . .	+	+	—	—	—
H <sub>2</sub> S . . . . .	—	—	—	—	—
Каталаза . . . . .	+	+	+	+	+

*Str. faecalis* Andr. et Hrd. обнаружены у 31 личинки, *Streptococcus* sp. — у 4 личинок колорадского жука. Не патогенны при пероральном введении. При парентеральном введении патогенность сказывалась лишь при инокуляции более 250 тыс. клеток бактерий.

Семейство **BREVIBACTERIACEAE** Breed

Бактерии этого семейства на картофельном агаре образовывали стекловидные точечные колонии серого цвета (в проходящем свете — желтоватого). Некоторые штаммы после 2—3-дневной инкубации приобретали желтую окраску. Клетки представляли собой неподвижные одиночные и парные грамположительные палочки. Размер клеток 0.4—0.5×1.2—1.8 м. В старых культурах бактерии часто принимают изогнутую, запятовидную форму. Рост на картофеле скудный, серо-розовый или желтый. Штамм 8 на картофеле рос обильно, черта плоская, сухая, желтого цвета.

Биохимическая характеристика двух штаммов бактерий этого семейства приведена в табл. 6. Бактерии были непатогенны при пероральном и парентеральном введении личинкам колорадского жука. Обнаружены у 10 личинок. Систематика сем. *Brevibacteriaceae* к настоящему времени разработана очень слабо. Судя по литературным данным, бактерии этой группы встречаются в пищеварительном канале многих насекомых (Lysenko, 1959a).

Семейство **PSEUDOMONADACEAE** Winslow et al.

Род **PSEUDOMONAS** Migula

Два вида: *Pseudomonas septica* Bergee et al. и *P. fluorescens* Migula.

Грамотрицательные одиночные и парные подвижные палочки с монотрихальным жгутикованием. Бактерии обладали ограниченной способностью образовывать кислоту на средах Гисса с углеводами и не выделяли газ. *P. septica* Bergee образует серые, в проходящем свете желтоватые колонии с уплотнением в центре. Колонии выпуклые, с приподнятым центром, поверхность колониальная гладкая, блестящая, края ровные или слабо

лопастные. Размер клеток 0.6—0.8×1.8—2.0 м. Рост на картофеле обильный, черта выпуклая, сочная, блестящая, желтого цвета. *P. fluorescens* Migula образует колонии зеленоватого цвета. Культура окрашивает агар в зеленовато-коричневый цвет. Рост на картофеле обильный, серовато-коричневого цвета. В МПБ оба вида образуют тонкую пленку и равномерную муть. Основные биохимические реакции приведены в табл. 7. *P. septica* Bergee et al. и *P. fluorescens* Migula по определению Бюхера потенциально патогенны для многих насекомых и при соответствующих условиях вызывают гибель последних, проникая в полость тела из кишечника и размножаясь в гемолимфе (Bucher, 1960).

Таблица 7

Биохимическая характеристика *Pseudomonadaceae*

Среда	Штаммы <i>Pseudomonas septica</i>		<i>P. fluorescens</i> , штамм 155
	123	159	
Глюкоза . . . . .	+	(+)	+
Арабиноза . . . . .	+	+	(+)
Маннит . . . . .	+	—	+
Сорбит . . . . .	—	—	—
Рамноза . . . . .	—	+	—
Инозит . . . . .	—	—	—
Сахароза . . . . .	(+)	+	—
Лактоза . . . . .	—	—	—
Крахмал . . . . .	—	—	—
Молоко . . . . .	Пеп.	Пеп.	—
Метил-рот . . . . .	—	—	—
Вогес-Прокс. . . . .	—	—	—
+42° . . . . .	—	—	—
Среда Козера . . . . .	+	(+)	+
HNO <sub>2</sub> . . . . .	—	—	+

Наши культуры были безвредны для личинок колорадского жука при пероральном введении, но чрезвычайно патогенны при парентеральном введении в гемолимфу. Средняя летальная доза *P. septica* Bergee et al. составляла 40—275 клеток, *P. fluorescens* Migula — 2500 клеток для личинок колорадского жука IV возраста.

*P. septica* Bergee обнаружены у 13 личинок колорадского жука. Этот же вид бактерий найден у колорадского жука Штейнхаузом (1941). Штуцер и Взоров (1926) выделили этот вид из озимой совки. Бактерии были парентерально патогенны и, по мнению авторов, являлись одним из возбудителей эпидемического заболевания озимой совки.

*P. fluorescens* Migula, по литературным данным, является широко распространенным обитателем кишечника многих насекомых (Штейнхауз, 1950; Bucher, 1959c; Lysenko, 1959b).

### Семейство ACHROMOBACTERIACEAE Breed

#### Род ALCALIGENES Castellani et Chalmers

Один вид: *Alcaligenes faecalis* Castellani et Chalmers.

Колонии крупные, до 3 мм в диаметре, серые, непрозрачные, выпуклые, слизистые, тянущиеся. Поверхность колоний гладкая, зеркально-блестящая. Одноточные и парные подвижные грамтрицательные палочки размером  $0.4 \times 1.0$ — $1.8$  м. В МПБ равномерная муть, тонкая пленка и осадок. Рост на картофеле умеренный, черта выпуклая, слизистая, блестящая, коричневого цвета. Бактерии не образовывали кислоты и газ на всех средах с углеводами, не разлагали крахмал, не образовывали ацетил-метил-карбинол. Реакция с метил-ротом отрицательная. Росли на среде Козера, развивались при  $+42^\circ$ , образовывали каталазу. Реакция молока после недельной инкубации — pH 7.5. Обнаружены у 9 личинок колорадского жука. Не патогенны при пероральном и парентеральном введении личинкам. По литературным данным, бактерии этого вида встречаются в кишечнике мух и прямокрылых (Штейнхауз, 1950; Bucher, 1959c).

#### Род FLAVOBACTERIUM Bergee et al.

Один вид: *Flavobacterium* sp.

Колонии желтые, гомогенные, непрозрачные. Одноточные и парные грамтрицательные неподвижные палочки размером  $0.5 \times 2.0$  м. В МПБ — слабая равномерная муть, рост на картофеле скудный, черта желтого цвета. Бактерии не образовывали кислоты и газа на средах с углеводами, исключая медленное кислотообразование на среде с глюкозой. Молоко и лакмусовая сыворotka не изменялись, желатина разжижалась медленно. Обнаружены у 5 личинок колорадского жука. Не патогенны для личинок при пероральном и парентеральном введении. По литературным данным, бактерии этого рода встречаются в кишечнике многих насекомых (Штейнхауз, 1950).

### ДРУГИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Кроме отмеченных выше бактерий, у личинок колорадского жука были найдены также актиномицеты и грибы.

Актиномицеты из рода *Actinomyces* Nagz. заметно отличались от других микроорганизмов по характерному росту на агаре, образуя срастающиеся с агаром колонии. Обнаружены у 5 личинок колорадского жука. Патогенность не проверялась. В литературе имеется указание о связи некоторых актиномицетов с клещами (Штейнхауз, 1950).

У 4 личинок колорадского жука были обнаружены грибы из рода *Beauveria* Vuill. Проверка патогенности не производилась. По имеющимся

обширным литературным данным, грибы из рода *Beauveria* Vuill., в частности *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., являются весьма распространенными факультативными паразитами колорадского жука и многих других насекомых во всех частях земного шара (Штейнхауз, 1950, 1952; Steinhauз, 1963).

Ряд других микроорганизмов, обнаруженных нами в посевах из личинок колорадского жука, являлись обычными лабораторными контаминантами или случайно попадали из почвы и в данном обзоре не приводятся.

Приведенные данные свидетельствуют о разнообразии и богатстве микрофлоры личинок колорадского жука. Многие культуры бактерий по ряду особенностей отличаются от имеющих в литературе описаний, что следует учитывать при определении вида бактерий.

Бактерии, по-видимому, не приносят вреда личинкам колорадского жука, находясь в кишке, в то же время некоторые из них вызывают гибель насекомых, попадая в полость тела даже в чрезвычайно малом количестве. С этой точки зрения условия, способствующие проникновению кишечной микрофлоры в полость тела насекомого, заслуживают изучения.

Присутствие в кишке личинок колорадского жука бактерий из родов *Erwinia* и *Pseudomonas*, среди которых имеется много возбудителей бактериальных заболеваний растений, выдвигает задачу изучения роли колорадского жука как переносчика заболеваний растений.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Г у к а с я н А. Б. 1960. Микрофлора сибирского шелкопряда и перспективы ее использования в условиях Западной Сибири. В сб.: Сибирский шелкопряд, Новосибирск, Сиб. отд. АН СССР: 35—46.
- Г у к а с я н А. Б. 1963. Бактериологический метод борьбы с сибирским шелкопрядом в Туве. Изв. АН СССР, сер. биол., 1: 115—125.
- И з р а и л ь с к и й В. П. 1960. Бактериальные болезни растений. Сельхозгиз, М.: 1—468.
- К а у ф м а н Ф. 1959. Семейство кишечных бактерий. Медгиз, М.: 1—354.
- К р а с и л ь н и к о в Н. А. 1949. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд. АН СССР, М.: 1—830.
- О м е л я н с к и й В. Л. 1940. Практическое руководство по микробиологии. Изд. АН СССР, М.: 1—431.
- Ш в е ц о в а О. И. 1962. Биологическое обоснование эффективности бактериального препарата Энтобактерин-3 для борьбы с вредными насекомыми. Журнал общей биологии, XXIII, 5: 381—390.
- Ш т е й н х а у з Э. 1950. Микробиология насекомых. ИЛ, М.—Л.: 1—767.
- Ш т е й н х а у з Э. 1952. Патология насекомых. ИЛ, М.—Л.: 1—839.
- Ш т у ц е р М. И. и В. И. В з о р о в. 1926. Опыт изучения инфекций гусениц озимой совки (*Euxoa segetum* Schiff.). Бюлл. Воронежской станции защиты растений, 7: 76—101.
- B r e e d R. S., E. G. D. M u r r a y a. A. P. H i t c h e n s. 1948. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Baltimore, Md., 1: 1529.
- B r e e d R. S., E. G. D. M u r r a y a. N. R. S m i t h. 1957. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 7th ed. Baltimore, Md.: 1—1094.
- B u c h e r G. E. a. J. M. S t e p h e n s. 1959a. Bacteria of grasshoppers of Western Canada, I. The Enterobacteriaceae. *Journ. Insect Path.*, 1: 356—373.
- B u c h e r G. E. a. J. M. S t e p h e n s. 1959a. Bacteria of grasshoppers of Western Canada, II. The Pseudomonadaceae, Achromobacteriaceae, Lactobacillaceae, Brevibacteriaceae, and less important families. *Journ. Insect Path.*, 1: 374—390.
- B u c h e r G. E. 1959c. Bacteria of grasshoppers of Western Canada, III. Frequency of occurrence, pathogenicity. *Journ. Insect Path.*, 1: 391—405.
- B u c h e r G. E. 1960. Potential bacterial pathogens of insects and their characteristics. *Journ. Insect Path.*, 2: 172—195.
- B u c h e r G. E. 1963. Nonsporulating bacterial pathogens. В кн.: *Insect Pathology — An Advanced Treatise*. (Ред. Е. А. Steinhauз). Academic Press, New York a. London, 2: 117—147.

- Ewing W. H. 1962. Enterobacteriaceae. Biochemical methods for group differentiation. U. S. Dept. Health, Educ. a. Welfare, Atlanta, Georgia : 1—48.
- Hannay C. L. 1952. Crystalline inclusions in aerobic spore-forming bacteria. *Nature*, 172 : 1004.
- Heimpel A. M. a. T. A. Angus. 1963. Diseases caused by certain sporeforming bacteria. В кн.: *Insect Pathology — An Advanced Treatise*. (Ed. E. A. Steinhaus). Academic Press, New York a. London, 2 : 21—73.
- List G. M. a. W. A. Kreuzer. 1942. Transmission of the causal agent of the ring-rot disease of potatoes by insects. *Journ. Econ. Ent.*, 35 : 455—456.
- Lord T. H. 1960. Determinative bacteriology. Laboratory manual. Burgess Publ. Co., Minneapolis, Minn.
- Lysenko O. 1958. Contribution to the taxonomy of *Coccobacillus acridiorum* d'Herelle. *Folia Biologica*, IV, 6 : 342—347.
- Lysenko O. 1959a. The occurrence of species of the genus *Brevibacterium* in insects. *Journ. Insect. Path.*, 1 : 34—42.
- Lysenko O. 1959b. Report on diagnosis of bacteria isolated from insects. *Entomophaga*, IV, 1 : 15—22.
- Martignoni M. E. a. E. A. Steinhaus. 1961. Laboratory exercises in insect-microbiology and insect pathology. Burgess Publ. Co., Minneapolis, Minn. : 1—74.
- Masera E. 1936. Il «*Bacillus prodigiosus* Flugge» nella patologia del baco da seta e degli insetti. *Ann. R. Staz. Bacol. Sper. Padova*, XLVIII : 409—416.
- Skerman V. B. D. 1959. A guide to the identification of the genera of bacteria. Baltimore, Md. : 1—217.
- Smith E. F. 1896. A bacterial disease of the tomato, eggplant and Irish potato (*Bacillus solanacearum* n. sp.). U. S. Dept. Agr. Div. Physiol. Path. Bull., 12 : 5—29.
- Steinhaus E. A. 1941. A study of the bacteria associated with thirty species of insects. *Journ. Bact.*, 42 : 757—790.
- Steinhaus E. A. 1959. *Serratia marcescens* Bizio as an insect pathogen. *Hilgardia*, 28 : 351—380.
- Steinhaus E. A. (Ed.). 1963. *Insect Pathology — An Advanced Treatise*. Vol. 1 : 1—661; vol. 2 : 1—689; Academic Press, New York a. London.
- Toumanoff C. et Y. Le Corroller. 1959. Contribution à l'étude de *Bacillus cereus* Frankland et Frankland cristallophores et pathogènes pour les larves de Lepidoptères. *Ann. Inst. Pasteur*, 96 : 680—688.
- White G. F. 1928. Potato beetle septicemia, with the proposal of a new species of bacterium. *Proc. Ent. Soc. Wash.*, 30 : 71—27.
- White G. F. 1935. Potato beetle septicemia. *Journ. Agr. Res.*, 51 : 223—234.

Український науково-дослідницький  
інститут захисту рослин,  
г. Київ.

#### SUMMARY

Thirty one species of the microorganisms, mainly bacteria, belonging to nine families, were isolated from sixty Colorado beetle larvae *Leptinotarsa decemlineata* Say. Morphological, cultural and biochemical features, frequency of occurrence and pathogenicity of the isolates are given in the paper.

*Aerobacter aerogenes* (Kruse) Bjrck., *Serratia marcescens* Bizio, *Pseudomonas septica* Bergeee, *P. fluorescens* Migula and *Bacillus cereus* Frankland et Frankland (crystal-bearing form) were found to be pathogenic, being inoculated into the body cavity of the insects.