

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЭКОЛОГИИ И ЭВОЛЮЦИИ ИМ. А. Н. СЕВЕРЦОВА
РАН

На правах рукописи

Самойлова Екатерина Сергеевна

**ОСОБЕННОСТИ ЭКОЛОГИИ ПИТАНИЯ
ЛИЧИНОК ЖУКОВ-ЩЕЛКУНОВ (Coleoptera, Elateridae)
СО СМЕШАННЫМИ ПИЩЕВЫМИ РЕЖИМАМИ**

03.02.05 Энтомология
(биологические науки)

Диссертация на соискание учёной степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Член-корр. РАН
Доктор биологических наук Б.Р. Стриганова

Москва
2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1. Биология и экология личинок жуков-щелкунов.....	9
1.1.1. Питание личинок жуков-щелкунов.....	20
1.1.2. Место проволочников в почвенных пищевых сетях.....	27
1.2. Интестинальные микроорганизмы насекомых и почвенных беспозвоночных.....	30
1.2.1. Пищеварение насекомых и роль интестинальных микроорганизмов.....	30
1.2.2. Интестинальные микробные сообщества насекомых и почвенных беспозвоночных.....	43
1.2.3. Интестинальные микробные сообщества проволочников.....	50
ГЛАВА 2. РАЙОН ИССЛЕДОВАНИЯ, МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.....	52
2.1. Район исследования.....	52
2.2. Сбор материала.....	53
2.3. Микробиологические методы.....	54
2.3.1. Лабораторное содержание и вивисекция проволочников.....	54
2.3.2. Люминесцентная микроскопия.....	56
2.3.3. Посевы на твёрдые среды.....	57
2.3.4. Мультисубстратное тестирование.....	59
2.3.5. Газовая хроматография.....	60
2.3.6. Исследование почвенных образцов.....	61
2.4. Изотопный анализ.....	63
2.5. Статистическая обработка результатов.....	64
ГЛАВА 3. МЕСТО ЛИЧИНОК ELATERIDAE (ПРОВОЛОЧНИКОВ) В ПОЧВЕННЫХ ПИЩЕВЫХ СЕТЯХ.....	66
3.1. Особенности биотопического распределения проволочников.....	66
3.2. Численность проволочников в степных местообитаниях и их место в структуре почвенной мезофауны.....	67
3.3. Трофические ниши встреченных видов проволочников.....	69
3.4. Биотопические различия трофических ниш проволочников.....	73
3.5. Возрастные изменения трофических ниш проволочников.....	74
3.6. Обсуждение результатов.....	76
ГЛАВА 4. ИНТЕСТИНАЛЬНЫЕ МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА ПРОВОЛОЧНИКОВ.....	80
4.1. Общая характеристика интестинальных микробных сообществ проволочников.....	80
4.1.1. Общая численность микроорганизмов.....	80
4.1.2. Численность физиологически активных клеток.....	81
4.1.3. Таксономическая структура комплекса сапротрофов.....	83

4.1.4. Таксономическая структура комплекса азотфиксаторов.....	86
4.1.5. Функциональное разнообразие микробных сообществ.....	86
4.2. Аборигенные и транзитные компоненты интестинальных сообществ.....	89
4.3. Микробная азотфиксация в кишечнике проволочников.....	92
4.4. Индивидуальные вариации состава сообществ интестинальных микроорганизмов.....	93
4.5. Устойчивость интестинального микробного сообщества при изменении рациона.....	95
4.6. Зональные особенности сообществ интестинальных микроорганизмов проволочников.....	100
4.7. Влияние активности проволочников на почвенное микробное сообщество.....	101
4.8. Обсуждение результатов	109
4.8.1. Характеристика интестинальных микробных сообществ проволочников.....	109
4.8.2. Влияние активности проволочников на почвенное микробное сообщество.....	115
4.8.3. Особенности интестинального микробного сообщества проволочников–миксофагов.....	117
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	120
ВЫВОДЫ.....	123
БЛАГОДАРНОСТИ.....	124
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	126
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	153

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы:

Личинки жуков-щелкунов (проволочники) – один из облигатных компонентов почвенной мезофауны в почвах разных природных зон от типичной тундры до степей. В комплексах мезопедобионтов они составляют существенную часть зоомассы. Многие виды проволочников являются экономически значимыми сельскохозяйственными вредителями, повреждающими клубни картофеля и молодые проростки зерновых растений. Поэтому изучение биологии проволочников, в первую очередь, их питания, представляет интерес для оценки их роли в потоке энергии через почвенную систему, а также для разработки мер контроля.

Однако проведение количественной оценки пищевых потребностей личинок Elateridae и даже указание их пищевых объектов связано с методическими трудностями. Проволочники потребляют жидкую пищу, которую пропускают через оральные фильтры, в их кишечнике отсутствуют оформленные твердые частицы (Стриганова, 1966). Поэтому принятые методы изучения питания путем исследования содержимого кишечника или экскрементов к этой группе неприменимы.

Известно, что ряд видов проволочников являются облигатными хищниками и некрофагами, а большинство видов сочетают различные пищевые режимы: фитофагию, сапрофагию, некрофагию, хищничество, что было установлено в лабораторных опытах при индивидуальном содержании (Долин, 1963, 1964). Было показано, что многие виды, ранее считавшиеся фитофагами, проявляют склонность к хищничеству и не могут завершить развитие в отсутствие животной пищи. Однако лабораторные опыты не позволяют определить реальные трофические ниши проволочников в природных сообществах, их положение в пищевых сетях. Склонность к хищничеству ряда видов, считавшихся фитофагами, была подтверждена анализом стабильных изотопов (Traugott et al., 2008).

В лабораторных экспериментах показано, что пищевые предпочтения проволочников *Agriotes* и *Selatosomus* различаются в зависимости от биотопа, в котором были собраны личинки (Долин, 1963). Анализ стабильных изотопов показывает, что внутри популяции *Agriotes obscurus* наряду с растительноядным большинством существуют личинки, ведущие преимущественно хищный образ жизни (около 7%) (Traugott et al., 2008).

Таким образом, есть основания считать, что для личинок–миксофагов характерна внутривидовая вариабельность пищевых преферендумов.

Ключом к пониманию механизмов смены пищевой ниши проволочниками–миксофагами может являться интестинальное микробное сообщество.

Микроорганизмы могут служить пищей для насекомых, участвовать в пищеварении, служить источником доступного азота, снабжать насекомое витаминами, незаменимыми аминокислотами, стеролами (Henry, 1962; Douglas, 2009). Таким образом, интестинальное микробное сообщество непосредственно связано с питанием насекомых. Однако предыдущие работы, касающиеся микробных сообществ кишечника проволочников, были немногочисленны и носили сугубо прикладной характер (Zqacharuk, 1973; Lacey et al., 2007; González, 2009; Danismazoglu et al., 2012).

В данной работе для исследования питания проволочников использованы современные подходы, включающие анализ содержания стабильных изотопов азота и углерода, и количественные исследования структуры и функционирования микрофлоры кишечника.

Целью работы является исследование трофических ниш проволочников–миксофагов в степных местообитаниях и изучение особенностей их зоомикробных отношений.

Для достижения цели в работе были поставлены следующие **задачи**:

1. Провести сравнительные исследования содержания стабильных изотопов $\delta^{15}\text{N}$ и $\delta^{13}\text{C}$ у проволочников разных трофических групп с целью определения их трофических ниш в различных степных сообществах.

2. Изучить структурные особенности ИМС у проволочников разных трофических групп, оценить стабильность ИМС.

3. Изучить ключевые функциональные особенности ИМС проволочников: интенсивность потребления различных органических субстратов, кишечной азотфиксации.

4. Изучить влияние пищевой и локомоторной активности проволочников на состав почвенного микробного сообщества и активность микробных процессов.

В настоящей работе на примере степных биотопов (пойменные и зональные почвы трех подзон Европейской степи) была выявлена вариабельность трофических ниш у наиболее массовых видов проволочников–миксофагов: *S.aeneus*, *S.latus*, *A.obscurus*, *A.lineatus*.

Исследования интестинального микробного сообщества (ИМС) личинок жуков-щелкунов трёх видов выявили: 1. группы микроорганизмов, встречающиеся только в кишечнике, (аборигенные) и транзитные формы, встречающиеся также в почве и древесине, и 2. особенности интестинального микробного сообщества личинок различных трофических групп.

У хищной личинки *A.putorius* групповой состав ИМС и его функциональное разнообразие были наиболее бедными, более половины численности сапротрофных микроорганизмов составляли транзитные формы, характерными для древесины. У обоих видов миксофагов (*A.obscurus* и *S.aeneus*) аборигенные формы составляли около 70 % от общей численности, отмечалось более высокое групповое и функциональное разнообразие. Кроме того, у проволочников–миксофагов в кишечнике доминировали представители родов *Tsukamurella* и *Microbacterium*, не типичные ни для почвы, ни для кишечника беспозвоночных. Это позволяет судить о большей специфичности ИМС проволочников–миксофагов и продвинутости зоомикробных отношений.

Исследования индивидуальной вариабельности ИМС проволочников–миксофагов и его изменений при краткосрочной смене пищевого рациона показали его относительную стабильность.

Впервые экспериментально выявлена высокая активность азотфиксации в кишечнике проволочников–миксофагов (*A.obscurus* и *S.aeneus*) на фоне высокой численности азотфиксаторов в кишечнике (по сравнению с хищной личинкой). Это также говорит о продвинутой зоомикробных отношений у проволочников–миксофагов.

Показано, что жизнедеятельность личинок Elateridae (*A.obscurus* и *S.aeneus*) влияет на состав почвенной микрофлоры, подавляя активность микромицетов и повышая функциональное разнообразие и устойчивость бактериокомплексов.

Научная новизна:

Впервые проведено комплексное исследование ИМС проволочников, оценены внутривидовая изменчивость, особенности проволочников различных трофических групп.

Выявлены транзитные и «аборигенные» компоненты ИСМ.

Показана биотопическая вариабельность трофических ниш наиболее массовых видов степной зоны.

Для одного из наиболее хозяйственно-значимых видов – *A.obscurus* – впервые показана смена пищевых преферендумов в течение жизненного цикла, зависящая от поведения личинки, а не от доступности предпочитаемого корма.

Для личинок массовых видов *A.obscurus* и *S.aeneus* была показана активная кишечная азотфиксация.

Теоретическое и практическое значение работы

Результаты работы позволяют уточнить и расширить представления о зоомикробных отношениях в почве, т.к. проволочники являются группой почвенной мезофауны, сочетающей различные типы питания, тогда как большинство ранее имевшихся представлений о зоомикробных отношениях в почве основывались на исследованиях сапрофагов.

Результаты работы уточняют пищевые ниши массовых видов проволочников, что позволяет более адекватно оценивать потоки вещества в детритных пищевых сетях степных почв.

Полученные выводы могут быть использованы при разработке комплексных мер борьбы с проволочниками. В работе рассматриваются главным образом виды *A.obscurus* и *S.aeneus*, имеющие высокую хозяйственную значимость как полевые вредители, особенно в степной зоне.

Положения, выносимые на защиту:

1) У проволочников–миксофагов в условиях степной зоны выявлена вариабельность трофических ниш – сдвиг от фитофагии и сапрофагии к хищничеству в более сухих условиях, а также возрастная смена трофической ниши (у *Agriotes obscurus*).

2) ИМС проволочников–миксофагов характеризуется высоким групповым и функциональным разнообразием, устойчивостью и высокой долей (~70%) аборигенных форм, по сравнению с более бедным микробным сообществом облигатного хищника, состоящим по большей части из транзитных форм.

3) Относительное богатство ИМС проволочников–миксофагов рассматривается как основа формирования мутуалистических связей с микроорганизмами кишечника, позволяющих им варьировать трофические ниши.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Биология и экология личинок жуков-щелкунов

Личинки жуков-щелкунов (проволочники) – это обитатели почвы и разлагающейся древесины. Поэтому в целом основное направление их адаптаций – это приспособление к передвижению в плотных субстратах. В зависимости от способа передвижения габитус проволочников сильно варьирует, в связи с чем выделяют три морфо-экологических типа (Гиляров, 1942; Определитель..., 1964).

Личинки первого типа несколько сжаты в дорсо-вентральном направлении, имеют хорошо развитые урогомфы и/или хорошо выраженную площадку на каудальном сегменте для опоры. Головная капсула сильно склеротизирована, клиновидная с развитым назале, участвующем в рытье. Тело сильно склеротизировано, особенно дорсальная поверхность. Такие личинки (например, *Athouini*) активно рыхлят субстрат и прокладывают ходы в почве. При ударе вперёд задний конец тела закрепляется в почвенном ходе за счёт увеличения анального сегмента и происходящего при этом втыкания склеротизированных урогомф в потолок хода. Отвалы почвенного материала, образуемые при рытье мандибулами и назале пропускаются вдоль брюшной стороны тела назад, чему способствуют работа вооружённых шипиками ног и уплощённая, слегка вогнутая с брюшной стороны форма тела. В конечном итоге проволочники этого типа замуровывают ход за собой этим почвенным материалом при помощи работы заднего конца тела (Гиляров, 1949). При прокладывании хода в почве проволочник вынужден преодолевать две силы: силу сопротивления движению вперёд, направленная назад, и силу, направленную вверх, возникающую при отгребании отвала под себя. Урогомфы каудального сегмента направлены по равнодействующей этих сил, таким образом, угол под которым они втыкаются в потолок хода оптимален для преодоления этих сил (Бобинская и др., 1965). Личинки второго типа имеют гладкое менее склеротизированное цилиндрическое тело, без опорных приспособлений на конце. Эти личинки (например, *Agriotini*) способны к рытью, но чаще передвигаются по уже имеющимся в субстрате

скважинам. При таком типе передвижения ход не замуровывается. Это облегчает нападение хищников и способствует высыханию. Потому такой способ передвижения оказывается менее продвинутым.

Личинки третьего типа (*Cardiophorini*) имеют длинное змеевидное очень слабо (за исключением головы и переднегруди) склеротизированное тело. При передвижении они способны сильно изгибаться и менять свой диаметр для передвижения по скважинам подобно люмбрицидам. Для раздвигания субстрата у них имеются лишь хорошо развитые направленные вперёд двуветвистые мандибулы.

Представители сем. *Elateridae* характеризуются продолжительными (более года) циклами развития (Медведев, 2005). Наиболее длительное (до 6 лет) развитие характерно для северных видов. В южных областях полный цикл развития большинства видов щелкунов завершается за 2-4 года. Например, за два года завершают своё развитие щелкуны рода *Adrastus* (Burakovski, 1993). Более коротким циклом развития обладают, как правило, также виды, имеющие маленькие размеры. Виды с широким ареалом обычно имеют в разных зонах различную продолжительность развития: большую на севере, меньшую на юге. Основную часть жизни насекомое проводит в стадии личинки – неспособные зимовать в стадии имаго щелкуны проводят в стадии имаго только 4-5 месяцев, способные – около года. Самцы, как правило, живут меньше, отмирая сразу после спаривания (Гурьева, 1979). Предпочтения личинки при выборе биотопа определяются как требованиями к абиотическим условиям, так и наличием подходящей кормовой базы.

Самки ряда видов щелкунов, главным образом, населяющих открытые пространства, выходят из куколок с созревшими ооцитами: без дополнительного питания они готовы спариваться и откладывать яйца, хотя иногда они используют пищевые ресурсы для компенсации потерь влаги. Самки, обитающие в лесных биотопах, выходят с недозревшими яйцами и должны питаться для завершения их созревания. Обычно через 10-15 дней после выхода на поверхность самки уже откладывают яйца. Их число варьирует от 70 до 660 на особь. Обычно яйца

откладываются кучками по 5-10 (также возможна откладка одиночных яиц и длинных цепочек) на глубину 1-5 см, хотя обитающие во влажных биотопах виды (*Ctenicera cuprea*) способны откладывать яйца на поверхность. При выборе места для яйцекладки самки в первую очередь ориентируются на почвенные условия (Космачевский, 1962; Furlan, Toffanin, 1996). Эмбриональное развитие продолжается 2-4 недели (Бобинская и др., 1965), яйца проволочников относятся к неклеидоническому типу, первые 3-4 дня они активно поглощают воду из почвы, увеличивая свою массу, в дальнейшем – не поглощают (Космачевский, 1962). Скорость развития эмбриона в яйце сильно зависит от температуры. При оптимальной температуре 25-29°C развитие занимает порядка двух недель, тогда как в более холодных условиях (15°C) затягивается до 45 дней (Космачевский, 1959; Космачевский, 1962; Furlan, Toffanin, 1996).

Появившаяся личинка быстро растет и многократно (до 15 и более раз) линяет. Число линек и, соответственно, количество возрастов зависят от температуры, влажности, условий питания. Первые 3-6 дней после линьки личинка пребывает в пещерке, не двигается и не питается, проницаемость её покровов минимальна. Следующие 15-20 дней личинка активно передвигается в поисках пищи и интенсивно питается. Проницаемость кутикулы в этот период повышается. В последующие 5-15 дней активность питания снижается, и проволочник активно передвигается в поисках оптимальных температуры, влажности и аэрации для линьки, проницаемость кутикулы ещё сильнее увеличивается. 5-10 дней накануне линьки личинка проводит в специальной пещерке, прекращает передвижения, хотя может незначительно передвигаться по ходам к пещерке. Проницаемость кутикулы в этот период максимальна, личинка активно адсорбирует воду, увеличиваясь в массе на 20-30%, что необходимо для последующей линьки (Космачевский, 1959). Таким образом, в среднем 25-30% жизни личинка проводит в неактивном состоянии (Космачевский, 1950). Проволочники поздних возрастов линяют реже.

При более высоких температурах переход личинки в следующий возраст происходит быстрее (Космачевский, 1959; Космачевский, 1962; Furlan, Toffanin,

1996). Также есть сведения, что проволочники развиваются быстрее в зависимости от качества доступной пищи (Evans, Gough, 1942).

Для зимовки проволочники мигрируют в более глубокие горизонты почвенного профиля. Более холодостойкие виды зарываются относительно неглубоко, тогда как чувствительные к низким температурам – на 0,5 м и более (Семеняк, 1969). Например, личинки *S. latus* остаются в верхнем почвенном горизонте – 5-30 см, *A. gurgistanus* мигрируют на глубину 30-50 см, а *A. sputator* – на 40-80 см. Смертность проволочников во время зимовок невелика. После летнего максимума, связанного с вылуплением молодых личинок, ежегодный минимум численности для элатерид наблюдался осенью, тогда как для других групп мезофауны – весной (Бухкало и др., 2008).

По завершению развития личинка окукливается в куколочной колыбельке. Стадия куколки длится от недели до месяца.

Виды жуков-щелкунов делятся на две группы по стадиям, в которой проходит последняя зимовка. Представители первой группы (*Agriotes gurgistanus*, *A. ustulatus*, *A. litigiosus*, *Hemicrepidius niger*) зимуют только на стадии личинки, окукливаются и выходят весной-летом и к осени отмирают, обычно самки выходят с созревшими ооцитами и не нуждаются в дополнительном питании. Представители второй группы (*Agriotes obscurus*, *A. lineatus*, *A. sputator*, *Selatosomus aeneus*, *S. latus*) окукливаются осенью и последний раз зимуют как имаго, обычно внутри куколочной колыбельки. Иногда они выходят на поверхность, а к зиме вторично зарываются в почву. Обычно это происходит только в случае чрезвычайных ситуаций (Burakovski, 1993). Самки второй группы обычно могут обходиться без дополнительного питания, но в таких случаях становятся менее плодовитыми. Такое деление на группы не всегда строго – у видов с широким ареалом последнее окукливание может происходить по-разному на северных и южных его границах. Лёт имаго разных видов проходит либо с весны (может быть как коротким, так и растянутым), либо во вторую половину лета. Причём между разницей между сроками для щелкунов северных и южных районов ареалов может достигать декады (Тугушева, 1972).

Для завершения развития шелкоунам необходима определённая сумма тепла (температур выше 12°C). Для вылупления из яйца – около 3000°, для развития личинки – 30000°-40000°, для метаморфоза – 1000°-2000°, для созревания яиц в самке – 2000°-3000° (Космачевский, 1959).

Развитие личинок шелкоунов протекает в разных средах. Некоторые виды связаны с лесными местообитаниями и развиваются в гнилой древесине и полостях под корой пней, валежин, отмирающих и мертвых деревьев (типичные представители – *Agrypnus*, *Stenagostus*, *Denticollis*, *Diacanthous*, *Calambus*, *Ampedus*), другие – во влажной лесной почве, лесной подстилке и под моховым покровом под пологом леса (например, *Athous subfuscus* Müll, *Cidnopus minutus* L., *Liotrichus affinis* Payk., *Paraphotistus impressus* F., *Dalopius marginatus* L.). Значительная доля видов, развивается в луговых и степных почвах, а также на пахотных землях (многие *Athous*, *Ctenicera*, *Selatosomus*, *Adrastus*, *Agriotes*, *Melanotus*, *Cardiophorus*). К песчаным почвам пустынь приспособлены некоторые виды *Cardiophorus* и *Neocardiophorus*. Обособлена группа видов (в основном, из подсемейства Negastrinae), освоившая местообитания по побережьям горных рек, где проволочники развиваются на галечниковых отмелях в почве и полостях под камнями.

Некоторые виды (*Selatosomus gloriosus* (Kishii), *Sericus brunneus* (L.), *Hypnoidus rivularius* (Gyll.), *Oedostethus latissimus* (Tsher.), *Ascoliocerus hyperboreus* (Gyll.) и др.) способны обитать в суровых условиях тундры и высокогорий, развиваясь под моховым покровом и полостях под камнями. Наконец, известны виды (*Neotrichophorus turanicus* (Rtt.), *Selatosomus messorobius* (Dolin)), обитающие в норах грызунов и муравейниках (Гурьева, 1989).

В почве проволочники – важный компонент мезофауны. Они часто составляют большую долю зоомассы, занимают в почвенном сообществе разные трофические ниши. Большинство проволочников – многоядные фитофаги и сапрофаги (Гурьева, 1965) с многолетними циклами развития (Гиляров, 1965), поэтому ключевым фактором при выборе местообитания является не растительность, а свойства почвы – влажность, засоленность, содержание гумуса

и т. д. М.С. Гиляров (1949) проиллюстрировал это анализом зонального распределения *Agriotes* в агроценозах. В пределах определенной природной зоны на полевых землях доминирование вида проволочников не зависит от выращиваемой культуры.

Для почвообитающих проволочников характерен очаговый характер распределения, как в естественных биотопах, так и в агроценозах (Скляревский, 1962). В агроценозах очаги возникают под влиянием режима чередования культур и рельефа местности. Численность проволочников в очагах превышает таковую на соседних пространствах в 4-5 раз (Надворный, 1969; Чопикашвили, 1969). Вышедшие самки, особенно не требующие дополнительного питания, по крайней мере, первую партию яиц откладывают неподалёку от места своего окукливания. Лишь затем или в случае необходимости активных поисков пищи происходит расселение самок и откладка яиц в других местах с подходящими эдафическими условиями (Долин, 1967). Таким образом, сохраняются очаги высокой численности щелкунов в наиболее благоприятных условиях, мало изменяющие свои контуры с течением лет. Искусственно создаваемые в подходящих условиях очаги приживаются.

Проволочники довольно требовательны к почвенной влажности. Мощные сильно склеротизированные покровы тела защищают организм только от разнообразных механических воздействий почвенной среды, но не препятствуют потерям воды. Слой эпикутикулы, отвечающий за влагоизоляцию насекомых у проволочников, за исключением некоторых ксерофильных видов, развит крайне слабо (Семёнова, 1958; Шванвич, 1949). Кроме того замыкательный аппарат дыхалец проволочников как и других почвенных личинок не позволяет эффективно препятствовать испарению. Через свои водопроницаемые покровы они легко отдают влагу в сухих условиях и впитывают — во влажных. Положительной стороной такой проницаемости кутикулы являются возможности для кожного дыхания, что позволяет переносить затопление почвы. Эти возможности были подтверждены опытами М.С. Гилярова над обездвиженными булавками личинками *Actenicerus sjaelandicus* с заклеенными дыхальцами и с

подводным дыханием личинок *Agriotes* и *Athous* (Гиляров, 1949). В природе проволочники выносят продолжительное весеннее половодье и сохраняют высокую численность на пойменных лугах с длительностью затопления 25-30 дней (Ненароков, 1956).

Степные виды более устойчивы к недостатку влаги – например, *S. latus* более устойчив, чем *S. aeneus*, а *A. sputator* – чем *A. obscurus*, а внутри вида с широким ареалом приуроченные к более засушливым условиям популяции – чем остальные (Овчинникова, 1960).

Недостаток влаги губителен для яиц, личинок, куколок, вынутых из колыбелек и даже для имаго некоторых видов (видов, которые ведут скрытный образ жизни, например, рода *Agriotes*) (Бобинская и др., 1965; Космачевский, 1962).

При недостаточной почвенной влажности элатериды погибают ещё на стадии яйца (Космачевский, 1959). Наиболее чувствительны к недостатку влаги личинки первых возрастов. Взрослые личинки также плохо переносят низкие значения почвенной влажности: по наблюдениям А.И.Черепанова (1965) *Agriotes obscurus* в воздушно-сухой почве погибает на 1-4-й день, *A.sputator* – на 1-2-й день. Однако до определённого момента проволочники могут компенсировать сильные потери влаги, усиленным питанием (Langenbuch, 1932; Campbell, 1937; Lees, 1943; Гиляров, 1937). Высокая потребность во влаге вынуждает жуков-щелкунов искать наиболее влажные участки не только для откладки яиц, но и для окукливания (Космачевский, 1954). При затоплении почвы проволочники погибают от недостатка кислорода, так как прилегающий к их телу уплотнённый субстрат препятствует газообмену (Гиляров, 1949), либо мигрируют на поверхность почвы. Высокая почвенная влажность также неблагоприятна, так как способствует развитию энтомопатогенных микроорганизмов, ограничивает доступ кислорода и наносит физиологический вред организму, так как вода через легко проницаемую кутикулу начинает в больших объёмах поступать в тело проволочника (Гиляров, 1949). Высокая проницаемость кутикулы проволочников для воды доказывается опытами с запаиванием ротового и анального отверстий

личинки и помещением её в гипотонические и гипертонические растворы. При этом изотоническим для проволочников является 2% раствор (Subklew, 1934).

Сильная потребность в определённых величинах почвенной влажности удовлетворяется проволочниками главным образом с помощью поведенческих механизмов: прежде всего вертикальных миграций и получения воды из сочных корней растений. Проволочники обладают гигрорецепторами на антеннах, нижнечелюстных и нижнегубных щупиках и имеют положительный гигротаксис, предпочитая 100% относительную влажность воздуха (Гиляров, 1949). Проволочники рода *Agriotes* (Lees, 1943) при понижении влажности начинают более интенсивно питаться, в то время как *Ctenicera* (Zacharuk, 1962) – наоборот.

Следствием высокой чувствительности к почвенной влажности зачастую является требовательность к гранулометрическому составу почвы. Чем больше в почвенном горизонте глинистых фракций, тем лучше он удерживает воду. Соответственно в более сухих частях ареала проволочники избирают более тяжёлые почвы, в более северных и влажных – песчаные. М.С.Гиляровым (1939) была показана подобная закономерность для *Agriotes obscurus*, который за полярным кругом встречается только на песчаных почвах.

Проволочники разных видов в различной степени адаптированы к недостатку влаги. Например, степные *Selatosomus latus* и *Agriotes sputator* имеют менее проницаемую ко влаге кутикулу (Гриванов, 1964). При смене условий увлажнения состав населения проволочников участка меняется. Например, при орошении полей Таджикистана, на них поселяются *Agriotes meticulosus*, *A. tadzhikistanicus*, *Melanotus conicicollis* (Данияров, 1969).

Кутикула элатерид хорошо проницаема не только для воды, но и для ионов солей. Проволочники очень легко подвергаются осмосу, набухая в гипотонических растворах и теряя вес в гипертонических. Диффузия происходит, через покровы, а не через дыхальца, т.к. последние постоянно заполнены воздухом (Бобинская и др., 1965). Концентрация солей внутри тела проволочников зависит от таковой в почвенном растворе, поэтому проволочников можно считать пойкилоосмическими животными (Гиляров, 1949). Проницаемость

покровов для ионов солей легко подтверждается криоскопическим методом (увеличение массы тела при понижении температуры замерзания после помещения в гипертонические растворы), методом меченых атомов (радиоактивность внутреннего содержимого личинки после помещения в гипертонический раствор соли с мечеными атомами) (Овчинникова, 1960), изменением концентрации осмотически активного вещества после погружения в раствор личинки (Замбин, 1954). Методом меченых атомов было показано, что эта проницаемость более высока для лесных видов в сравнении со степными (Черепанов, 1965) и для обитателей поверхностных почвенных горизонтов более, чем глубоких. Наименьшая проницаемость кутикулы для ионов показана для *Pleonomus tereticollis* (Овчинникова, 1960). Среди других почвенных личинок ложнопроволочники имеют гораздо менее проницаемую для ионов кутикулу. К примеру, после погружения личинки *Pedinus femoralis* в раствор фосфата с меченым фосфором, внутреннее содержимое её тела совершенно не обладало радиоактивностью.

Среди катионов наиболее легко проникают через кутикулу и, следовательно, являются наиболее токсичными ионы NH_4^+ . За ними следуют K^+ , Na^+ , Ca^{2+} . Анионы по возрастанию токсичности показаны в ряду Cl^- , NO_3^- , PO_4^{3-} . Проницаемость ионов увеличивается с интенсификацией обмена веществ. В целом, губительными для проволочников являются концентрации солей в природе встречающиеся только в особых случаях (например, в солончаках).

В то же время содержание ионов в почвенном растворе влияет на численность и видовой состав проволочников. Так в чернозёмах Каменной Степи (Воронежская область) с повышенным содержанием Na^+ численность проволочников снижается, а явных эудоминантов не выделяется, тогда как при более низких значениях общая численность достигает порядка 35 экз./м² и явно доминируют проволочники рода *Agriotes* (Говоров и др., 2007).

Следует учитывать, что в разные периоды жизни проницаемость кутикулы проволочников для влаги и ионов почвенного раствора не одинакова. Так в первые 3-6 дней после линьки кутикула мало проницаема, личинка практически

не обводняется и не высыхает при помещении в экстремальные условия. Затем, в периоды активного питания и передвижения, проницаемость кутикулы растёт и становится максимальной накануне следующей линьки, когда для осуществления последней личинке необходимо адсорбировать воду в объёмах около 20-30% собственного (Космачевский, 1959).

По отношению к температуре проволочники более толерантны. При приближении температуры к 0°C проволочники впадают в холодное оцепенение, теряют раздражимость (Черепанов, 1965). При отрицательных температурах личинки погибают. Наблюдения Хокинса за *Agriotes mancus* Say показали, что последние погибают при температурах ниже -20°C за три часа, при -3°C же остаются в живых, однако в наблюдениях Фалконера личинки *Agriotes* погибали уже при -3°C (Hawkins, 1936; Falconer, 1945). С. Г. Бобинская с соавторами (1965) оценивали нижнюю температурную границу в -3°C для южных видов и в -10°C для северных. При температурах выше температуры оцепенения, но ниже 10°C, проволочники активно передвигаются, но не питаются, при попадании в среду с благоприятной температурой, они начинают интенсивно питаться, прибавляя до 15% массы на вторые сутки.

Исследования способности проволочников переносить низкие температуры по методу И.В. Кожанчикова (1961) показали, что личинки *Selatosomus* (*S. latus*) способны выносить температуру -6,6°C не менее десяти суток (Семеняк, 1969). В то же время личинки *Agriotes* гибнут и при более высоких температурах: *A. gurgistanus* – при 3,9°C, *A. sputator* – при -3,9°C, а частично при 0,7°C. При этом чем менее холодостоек вид проволочника, тем на большая глубина миграций на зиму для него характерна.

Оптимальными температурами для развития являются 23-26°C. Верхним порогом развития для *A. litiginosus* является 31°C (Космачевский, 1958). При температурах около 40°C наблюдается тепловое оцепенение (Космачевский, 1959). Обеспеченные пищей проволочники предпочитают более высокие температуры, чем голодающие (Zacharuk, 1962). Температура окружающей почвенной среды влияет на поведение проволочников – они совершают активные

миграции в поисках оптимальной температуры, высокие температуры заставляют их более активно избегать участков с низкой влажностью, для *Agriotes* (Falconer, 1945) и *Ctenicera* (Zacharuk, 1962) с ростом температуры отмечено увеличение интенсивности питания.

Относительно влияния pH почвы на обитающих в ней проволочников нет однозначных данных как полевых исследований (Bulger, 1928; Flachs, 1929; Langenbuch, 1932; Cohen, 1942; Бобинская, 1937; Принц, 1937), так и экспериментальных (Черепанов, 1965). Живые проволочники, посаженные в сосуды с градиентом pH, показывают условно равномерное распределение во всех слоях и нечёткость реагирования проволочников (Mail, 1932; Принц, 1937). Для проволочников рода *Agriotes* показано, что в очагах наибольшей численности почвы обычно кислые (pH 4—5.2) (Langenbuch, 1932), однако в целом *Agriotes* обитают как в кислых, так и в нейтральных и слабощелочных почвах. Лангенбух также показывает, что очаги наибольшей численности проволочников рода *Limoni*us приходятся на слабощелочные почвы.

Вероятно, проволочники не имеют определённых предпочтений к этому фактору среды, развиваясь в почвах с диапазоном реакции pH от слабо-щелочной до кислой, а имеющиеся преферендумы различны для разных видов. Однако Замбин (1954) показывал, что пребывание в щелочной среде, начиная с pH 8, уменьшает и так слабые способности проволочников к осморегуляции. Вероятно, с этим связано хорошо известное из практики сельского хозяйства снижение численности проволочников при известковании кислых почв (Бобинская и др., 1965).

По отношению к загрязнению тяжёлыми металлами проволочники проявляют высокую устойчивость. Они сохраняются даже в сильно деградированных ландшафтах, иногда даже увеличивают свою численность (Некрасова, 1993; Воробейчик, 1995; Зенкова, 2000). Вероятно, это объясняется тем, что проволочники по большей части являются неспециализированными миксофагами; комплексы проволочников также довольно устойчивы, так как обычно являются полидоминантными. Однако при сильном загрязнении почв

популяции проволочников претерпевают некоторые структурные изменения: увеличивается доля личинок средних возрастов по сравнению с проволочниками фоновых территорий – большее число насекомых гибнет на стадии яйца и в первых возрастах, зато среди выживших больше процент достигающих окукливания. Для имаго шелконов известно также об изменении половой структуры – на загрязнённых территориях сильнее преобладание самок, кроме того, в яичниках этих самок созревают яйца в среднем меньшего диаметра и с большим разбросом по диаметру (Середюк, 2004).

1.1.1. Питание личинок жуков-шелконов

Проволочники приспособлены к потреблению пищи в жидкой консистенции вне зависимости от её природы (Стриганова, 1966). Неподвижно сросшиеся с лабиумом максиллы проволочников образуют единую пластинку, снабжённую со внутренней стороны так называемым «оральным фильтром» – комплексом густых щетинок, фильтрующим жидкую пищу. Всасывание пищи обеспечивается сокращением глоточных мышц. Мощные мандибулы служат только для рыхления субстрата и разрывания пищи, но не для пережёвывания.

Проволочники подсемейства *Agrypninae*, а также некоторые представители других – специализированные хищники. В связи с этим, они обладают сильно склеротизированной прогнатической головой с длинными мандибулами, массивными и треугольными в поперечном сечении в основании и серповидными уплощёнными в дистальной части. Атака жертвы производится колющими ударами, поэтому мандибулы острые на концах и гладкие по внутренней поверхности.

Для большинства проволочников характерен производный от вышеописанного режущий тип ротового аппарата. «Хищный» облик головной капсулы и лабиомаксиллярный комплекс сохраняются, однако с переходом к растительной пище изменяется форма мандибул. Они становятся пирамидальными с отношением длины к ширине 3:2. Жидкая пища добывается не

колющими ударами кончиков, а разрезанием краями мандибул. Поэтому медиальная сторона мандибул вооружена зубцами.

В умеренном климате проволочники имеют два периода питания: весна – начало лета и конец лета – осень (Burrage, 1963), это связано с зависимостью активности питания от температуры и влажности (Keaster et al., 1975, Zacharuk, 1962). Длительность периода питания больше для личинок младших возрастов, меньше для старших (Traugott et al., 2015).

Первые публикации, касающиеся питания проволочников относятся к XVIII веку (Bjerkander, 1777). С тех пор было накоплено множество сведений о питании проволочников как неспециализированных фитофагов, сапрофагов и хищников (Черепанов, 1957, 1965, Долин, 1963, Tóth, 1989, Blot et al., 1999), выяснено, что многие виды, считающиеся факультативными сапрофагами, для развития нуждаются в живой растительной пище, а многие растительноядные – в животной (Долин, 1960а, 1960б). Ныне известно, что личинки только некоторых родов жуков-щелкунов являются выраженными фитофагами, и ещё меньшее число способно завершить своё развитие, не получив животной пищи (Долин, 1963). Проволочники различаются по типу питания в зависимости от вида и отчасти внутри вида – популяции из различных биотопов различаются по пищевым предпочтениям. Последнее особенно справедливо для популяций триб Athouini и Agriotini. Кроме того, проволочники отчасти меняют режим своего питания по мере взросления. Например, вылупляющиеся ранней весной личинки *Agriotes* сперва являются сапрофагами (питаются гнилыми корнями в отсутствие живой растительности), затем становятся фитофагами, а в старших возрастах могут проявлять себя как хищники.

В. Г. Долин (1963, 1964) выделял пять трофических групп проволочников.

Всеядные с сильно выраженной фитофагией. К этой группе относятся проволочники рода *Agriotes*. Представители этой группы питаются преимущественно растительной пищей и являются единственными в семействе, кто может нормально развиваться исключительно на ней. Также у них отмечена некрофагия, сапрофагия и хищничество, причём выраженность того или иного

типа питания зависит от качества и обеспеченности растительной пищей, а также от популяции проволочников. Личинки шелконов одних и тех же видов *Agriotes*, собранные в лесных сообществах и на сельскохозяйственных полях имеют различные пищевые предпочтения. Полевые – выраженные фитофаги, тогда как лесные виды предпочитают гнилые растения и трупы насекомых, а личинки старших возрастов хищничают.

Известны опыты, в которых личинки *Agriotes* питались почвенным органическим веществом (Hemerik, 1999, Космачевский, 1958). При высоком содержании гумуса в почве и достаточной влажности они меньше повреждают растения (Langenbuch, 1932; Schaerffenberg, 1942). Однако, лишённые таким образом растительной пищи проволочники не могут накапливать жировые резервы (Бобинская и др., 1965), а при таком питании в течение длительного срока (более двух месяцев) – погибают (Черепанов, 1965; Evans, Gough, 1942; Furlan, 1998; Космачевский, 1958).

Существуют даже свидетельства питания почвенным органическим веществом хищных личинок *Athous subfuscus* (Strey, 1972; Wolters, 1989).

Наиболее предпочитаемым кормом для проволочников фитофагов являются корневищные злаки (*Cynodon dactylon*, *Elytrigia repens*), а также молодые растения пшеницы (Бобинская и др., 1965, Добровольский, 1961). Так в опыте Соболевой-Докучаевой (1967) на поле, засаженном разными культурами (пшеница, рожь, овёс, кормовые бобы, люпин, клевер, гречиха, свёкла) наибольшее количество повреждений от проволочников приходилось на пшеницу, рожь и овёс. Напротив, постоянно питаться исключительно растительной пищей с низким содержанием белка не могут даже проволочники с выраженной фитофагией. Так выращивание *A. litigiousus* на картофеле со второго возраста приводит к неизбежной смерти проволочников, а начиная с двенадцатого возраста – заканчивается окукливанием, однако личинки испытывают задержки в развитии, мало прибавляют в весе, развиваются более 500 дней (в отличие от выращиваемых на пшенице, успевающих за 300), вышедшие самки менее плодовиты (Космачевский, 1958, Космачевский, 1959). В экспериментах Hemerik

et al. (2003) *Agriotes obscurus* предпочитали растения *L. perenne* и *H. lanatus* и отвергали *F. rubra*.

Всеядные с сильно выраженной фитофагией, но требующие для нормального развития белков животного происхождения. Представители этой группы – виды родов *Selatosomus*, *Ctenicera*, *Sericus*, *Dalopius*, *Melanotus*, *Ectinus* и др.

S. aeneus и *S. latus* являются столь выраженными фитофагами, что известны как опасные вредители сельского хозяйства, но даже они периодически употребляют в пищу живых и мёртвых насекомых. При отсутствии же животной пищи у личинки отстают в развитии, не окукливаются, наблюдается высокая смертность. Лесные популяции более склонны к хищничеству, чем полевые.

Всеядные со слабо выраженной фитофагией, предпочитающие гнилые растительные остатки и хищничество, повреждающие живые растения при отсутствии животной пищи или недостатке влаги. Представители этой группы – виды родов *Limonius*, *Hypnoidus*, *Melanotus*, *Athous*, *Actenicerus*.

A. tartarus, *A. hirtus*, *A. jejunos* способны к фитофагии, воспитываемые только на растительной пище первое время выживают, некоторые даже способны один раз перелинять, но на второй месяц погибают. Пищевые предпочтения представителей видов рода *Athous* сильно варьируют в зависимости от биотопа: лесные проволочники предпочитают питание трупами и куколками насекомых, а огородные – к питанию гнилыми растениями и семенами. *L. aeruginosus* питается преимущественно гнилыми растениями, *L. suturalis* и *A. pliginskyi* – экскрементами грызунов.

M. fuscipes, *M. punctolineatus*, *M. brunnipes* – используют в пищу живые растения только после длительного лишения животной пищи и гнилых растений.

Хищники и некрофаги с хорошо выраженной способностью к сапрофагии, в обычных условиях не повреждающие живые растения. Представители этой группы – виды родов *Prosternon*, *Melanotus*, *Athous*, *Cardiophorus*, *Ampedus*.

A. tauricus, *A. haemorrhoidalis*, *A. pliginskyi* – хищники и некрофаги, *P. tessellatum*, *M. crassicollis*, *M. tenebrosus* – хищники, способные длительное время выживать, питаюсь гнилыми растениями.

Представители трибы Cardiophorini являются хищниками, нападающими на неподвижные и малоподвижные жертвы. Особая форма их мандибул как раз и предназначена для разрушения куколочных колыбелек. В отсутствие животной пищи выживают на гнилых растительных остатках.

Представители трибы Ampedini обитают в мёртвой древесине, разрушаемой жуками других семейств. Наиболее предпочтительная пища – трупы последних, также Ampedini хищничают, а какое-то время могут успешно выживать, питаюсь оставляемой древогрызками трухой. В необитаемой гнилой древесине Ampedini не выживают более 1,5 месяцев.

Облигатные хищники. Представители этой группы – виды родов *Agrypnus*, *Adelocera*, *Drasterius*, *Heteroderes*, *Hypoganus*, *Calambus*.

Облигатные хищники подсемейства Agrypninae – охотники-засадники, нападающие на движущихся жертв. Они предпочитают личинок жесткокрылых и двукрылых, а дождевых червей поедают крайне неохотно. Личинки *A. murinus* реагируют на движущуюся шерстяную нитку, но редко трогают куколки насекомых, молодые личинки охотятся на нематод. Хищники трибы Ctenicerini, напротив, ищут малоподвижную добычу, поедают куколки.

Параллельно с В.Г. Долиным в 60е годы проводил исследования по питанию проволочников в лабораторных условиях Р.И. Захарук (Zacharuk, 1963). В его работе личинкам разных видов проволочников предлагались на выбор растительная пища и опарыши. Из двенадцати обследованных вида шесть являлись преимущественными хищниками, но потребляли и растительную пищу: *Ctenicera aenea*, *Ctenicera destructor*, *Athous haemorrhoidalis*, *Dalopius marginatus*, *Melanotus rufipes*, *Agrypnus murinus*. По его данным *Agrypnus murinus* способен потреблять растительную пищу. Видимо, его пищевые предпочтения зависят от условий местообитания. *Hypolithus riparius*, *Agriotes obscurus* и *A. lineatus* активно потребляли как животную, так и растительную пищу, *Limonius minutus* потреблял

только растительную пищу, *Lepturoides linearis* – только животную, а *Ampedus nigrinus* практически только животную пищу.

Есть данные о том, что некоторые виды личинок Elateridae (например, *Prosternon tessellatum*) используют в пищу почвенные грибы (Karuscinski, 1956; Козловская, Марьина, 1966), древообитающие личинки тесно связаны с базидиомицетами (Гончаров, Тиунов, 2013).

При недостатке пищи необходимого типа проволочники всех пяти типов проявляют беспокойство, совершают активные передвижения и практикуют каннибализм. Обычно происходят нападения на личинку, готовящуюся к линьке, по возможности личинки старших возрастов нападают на младших. Космачевским (1958) было показано выращивание до имаго личинок *A. litigiosus*, питавшихся только такими же личинками. Только что отродившиеся личинки при отсутствии питания не нападают друг на друга, обычно это происходит в результате недостатка питания после того как личинки уже начали питаться. Исключением являются виды трибы Cardiophorini, личинки которых способны питаться только малоподвижной добычей, а потому не могут нападать друг на друга.

В поисках пищи проволочники осуществляют значительные вертикальные и горизонтальные миграции, в которых ориентируются с помощью губных и челюстных щупиков. В отсутствие конкуренции *Agriotes* мигрируют по градиенту количества корней, в случае скученности могут уходить из богатых корнями участков. (Sonnemann et al., 2014).

Проволочники *Agriotes sp.* реагируют на градиент концентрации углекислого газа в поисках корней, реакция тем слабее, чем ближе срок линьки (Doane et al., 1975; Doane and Klingler, 1978). Около 70 минут требуется личинке, чтобы отыскать источник углекислого газа, расположенный в 20 см от неё. Эффект наблюдается при концентрациях 360-15000 ppm. При завышенных концентрациях может происходить отпугивание.

Из органических соединений проволочников привлекают некоторые сахара, пептон, триолеин, танин, мочеви́на, ряд кислот и амидов (Thorpe et al., 1946, Crombie and Darrah, 1947).

Любые обонятельные реакции проволочников на предполагаемый источник пищи усиливаются после семидневного голодания (Thorpe et al., 1946).

Не все аттракторы вызывают кусательную активность и задержку возле источника. Среди жиров – только триолеин (Thorpe et al., 1946), среди белков – только белки животного происхождения. Белки растительного происхождения укусов не провоцируют, хотя при их денатурации могут получаться фрагменты, которые провоцируют, однако отдельные аминокислоты, опять же, не провоцируют (Thorpe et al., 1946).

Также известно, что проволочников привлекают альгинат, шестиуглеродные альдегиды (гексаналь и непредельные) (Barsics, 2016), лизин и глютаминовая кислота, активно выделяемые семенем при прорастании (Пономаренко, 2000). Положительный таксис на пищу у проволочников сильнее, чем отрицательный на низкую влажность и высокую температуру (Zacharuk, 1962). Таксис на корни предпочитаемых растений сильнее, чем таксис на количество корней (Schallhart et al., 2012; Sonnemann et al., 2012). При отсутствии конкуренции *Agriotes* мигрируют по градиенту количества корней: в случае скученности они могут уходить из богатых корнями участков. (Sonnemann et al., 2014).

Проволочники способны без вреда для себя обходиться без пищи до 20 дней (Космачевский, 1958). По данным Бобинской (1965) *Agriotes obscurus* способен переносить и более длительные сроки – после вывода из 60-дневного голодания смертность достигает лишь 20%. Однако личинки, не получавшие пищи в течение первых 10ти дней после вылупления, хотя потом и начинают активно питаться, после испытывают задержки в развитии и неизбежно гибнут. В неблагоприятных условиях проволочники впадают в диапаузу и в таком состоянии могут голодать в течении 3-6 месяцев (Космачевский, 1959). В отличие от спонтанно голодающих, проволочники в диапаузе не начинают питаться, если им предлагается корм.

Обычно диапауза наступает, когда уже пришло время линьки, а влажности почвы не хватает, чтобы личинка могла адсорбировать необходимое для линьки количество воды (Космачевский, 1950).

1.1.2. Место проволочников в почвенных пищевых сетях

Личинки элатерид являются важным компонентом почвенных пищевых сетей.

В почве они являются пищей для пауков, псевдосcorpиионов, муравьёв, личинок Therevidae и Asilidae (прежде всего *Leptogaster cylindrica*) из двукрылых, Reduviidae из клопов. Из Coleoptera личинками элатерид питаются другие проволочники и жуужелицы. Масштабы поедания проволочников жуужелицами велики. Один жук *Pterostichus melanarius* съедает за сутки в среднем 0,55 проволочника, *Pterostichus cupreum* – 0,43, *Harpalus rufipes* – 0,58, *Broscus cephalotes* – 2,7 проволочника (Самерсов, 1988). Активно поедают личинок щелкунов также жуужелицы родов *Carabus*, *Calosoma*, *Poecilus*, *Nebria* (Арнольди, 1954, Гиляров, 1949, Биология..., 1991). Некоторые виды *Dyshirius*, *Clivina*, *Bembidion* питаются личинками первых возрастов и яйцами. Гибель проволочников после механической обработки почвы в большой степени связана именно с облегчением доступа к ним жуужелиц. Кроме того, проволочники массово поедаются позвоночными животными (птицы, кроты, землеройки, рептилии и амфибии) (Прокофьева, 2008; Бобинская и др., 1965).

Сами проволочники являются в основном миксофагами с различными предпочтениями – от фитофагии и фито-сапрофагии до хищничества (Долин, 1964), что подробно разбиралось выше. Вместе с тем достоверно оценить роль проволочников в пищевых сетях как консументов представляется крайне сложным. Питание жидкой пищей делает невозможным изучение содержимого кишечника, поэтому для определения положения проволочников в пищевой цепи используется метод стабильных изотопов (Pázmándi, Traugott, 2005; Traugott et al., 2008).

К настоящему моменту накоплен большой опыт исследований пищевых сетей в целом и роли отдельных групп методом анализа стабильных изотопов азота и углерода.

Содержание стабильных изотопов азота и углерода в тканях животного даёт представление о его трофической нише (Тиунов, 2007). Ткани животных, питающихся C₄ растениями, а также сапрофагов обогащены ¹³C. Чем более высокого порядка консументом является животное, тем более его ткани обогащены тяжёлым азотом. С каждым трофическим уровнем происходит обогащение тканей ¹⁵N примерно на 2‰ (McCutchan et al., 2003).

Анализ стабильных изотопов позволил исследовать роль в детритных пищевых сетях коллембол – группы также трудно поддающейся изучению классическими методами. Была показана значительная трофическая дифференциация среди этих животных в лесных биоценозах (Chahartaghi et al., 2005). Метод позволил выделить группы *фи́кофагов*, предположительно питающихся водорослями, *первичных сапрофагов*, предположительно потребляющих свежий опад с сапротрофными микроорганизмами и *вторичных сапрофагов*, в рационе которых существенную долю составляет детрит. Некоторые коллемболы, предположительно, были отнесены к некрофагам или хищникам (Кузнецова и др. 2014). Для коллембол сапрофагов было показано, что пищевым объектом для них являются не растительные остатки, а микроорганизмы (Potapov et al., 2014).

Применительно к проволочникам анализ стабильных изотопов применялся в нескольких работах для уточнения трофических ниш.

При помощи анализа стабильных изотопов было уточнено положение *Hemicripidius niger* в трофической сети. Ткани личинок этого вида обогащены тяжёлым азотом в большей степени, чем ткани облигатного хищника *Agrypnus murinus* (Pázmándi, Traugott, 2005; Traugott et al., 2008), следовательно *H. niger* сам является выраженным хищником. Также статус хищников был уточнён для ряда других видов: *Athous subfuscus*, *A. bicolor*, *Adrastus pallens*, *A. montanus* (в порядке снижения доли ¹⁵N) (Traugott et al., 2008).

Была подтверждена склонность к фитофагии у проволочников рода *Agriotes* (*A.obscurus*, *A.ustulatus*, *A.sordidus*, *A.lineatus*, *A.sputator*) (Traugott et al., 2008), однако показано, что внутри одной популяции *A.obscurus* отдельные особи специализируются как явные хищники (около 8%). Также показано, что при доступности кукурузы и СЗ-растений (рудералы) часть особей *A.obscurus* специализируется на кукурузе, а часть – на СЗ растениях, при этом на засорённых полях повреждаемость кукурузы проволочниками снижается (Traugott et al., 2008). Выяснено, что длительное голодание (128 дней) не изменяет соотношения изотопов в тканях *A.obscurus* и *A.sputator*, в то время как смена рациона вызывает изменения уже через 14 дней (Traugott et al., 2007).

В лабораторных экспериментах показано, что относительно изотопного состава пищи (пшеница), изотопный состав *A.obscurus* и *A.sputator* по углероду не изменяется, а по азоту – обогащается ^{15}N на $1.63 \pm 0.24\text{‰}$ (Traugott et al., 2007). Вместе с тем, в исследованиях проволочников из таёжной зоны, европейских широколиственных лесов и некоторых луговых биотопов наблюдалось обогащение тканей проволочников тяжёлым углеродом относительно почвы и опада, обычно примерно на 2‰, реже до 5‰ (Crotty et al., 2014; Neilson, Hamilton, 1998; Гончаров, Тиунов, 2013; Pollierer et al., 2005; Halaj et al., 2005; Ponsard, Ardit, 2000). Таким образом, фракционирование изотопов углерода при питании проволочников находится под вопросом, что затрудняет указание пищевых объектов.

Касаемо полувековой дискуссии о том, питаются ли *Agriotes* почвенным органическим веществом или нет (см. выше), анализ стабильных изотопов показывает, что в природе его доля в питании *Agriotes* незначительна (Traugott et al., 2008).

Таким образом, несмотря на огромный интерес исследователей к питанию личинок элатерид и экономическую значимость ряда представителей семейства, питание проволочников остаётся плохо исследованным. В целом экономически значимые виды проволочников являются миксофагами, с разной степенью склонности к фитофагии. Однако их реальные пищевые объекты в почве

неизвестны, имеющиеся в литературе свидетельства часто противоречат друг другу. Во многом это связано с методическими трудностями – проволочники ведут скрытый образ жизни, длительные жизненные циклы затрудняют постановку лабораторных экспериментов, а питание жидкой пищей затрудняет исследование содержимого кишечника и экскрементов. Исходя из анализа литературных данных можно судить о том, что для проволочников–миксофагов характерен широкий спектр пищевых предпочтений от фито- и сапрофагии до хищничества, имеются отдельные свидетельства внутривидовой и внутривидовой вариативности трофических ниш.

1.2. Интестинальные микроорганизмы насекомых и почвенных беспозвоночных

Одним из инструментов, позволяющих проволочникам–миксофагам варьировать трофические ниши, могут являться интестинальные микробные сообщества (ИМС). Для ряда насекомых было показано, что ИМС играют важную роль в их жизнедеятельности. Микроорганизмы могут служить пищей для насекомых, участвовать в пищеварении, служить источником доступного азота, снабжать их витаминами, незаменимыми аминокислотами, стеролами, микроэлементами (Henry, 1962; Douglas, 2009). Таким образом, изучение ИМС может быть ключом к пониманию механизмов смены проволочниками пищевой ниши.

1.2.1. Пищеварение насекомых и роль интестинальных микроорганизмов

Пищеварительный тракт насекомых состоит из передней, средней и задней кишки. Передняя и задняя кишки развивались как впячивания эктодермы и потому на всём протяжении жизни выстланы тонкой кутикулярной оболочкой – интимой. Средняя кишка развивается из тянущихся из концов этих впячиваний в желточный мешок клеточных лент, не имеет интимы, расположение мышц – внутри кольцевые, снаружи продольные (Шванвич, 1949).

Из ротовой полости пища попадает в переднюю кишку. Стенки передней кишки наименее проницаемы, мышцы внутри продольные, снаружи – кольцевые. Верхний отдел передней кишки – глотка – обладает развитой мускулатурой и принимает наиболее активное участие в проглатывании пищи, глотка продолжается пищеводом. Также выделяют зоб – отдел для хранения пищи – и провентрикулюс – отдел для дополнительного измельчения. Оканчивается передняя кишка кардиальным клапаном.

Поверхность средней кишки складчатая, выстлана столбчатым эпителием, осуществляющим выделение пищеварительных секретов, перитрофической мембраны и всасывание. Клетки эпителия покрыты реснитчатым слоем – рабдориумом. Эпителий средней кишки постоянно обновляется, во время линек сбрасывается рабдориум (Шванвич, 1949).

Средняя кишка в самом начале имеет выросты, в которых начинается выработка перитрофической мембраны. В дальнейшем перитрофическая мембрана покрывает пищу чехлом на всём протяжении средней кишки. Перитрофическая мембрана пористая и проницаемая. Так у саранчи размер пор 150-200 нм, сквозистость около 60%. Такая пористость обеспечивает свободное прохождение любых молекул, кроме самых крупных. Перитрофическая мембрана состоит из хитиновой сетки и белково-углеводного матрикса (Richards, Richards, 1977; Peters, 1992). Перитрофическая мембрана вырабатывается у большинства насекомых, за исключением клопов и трипсов. У жуков перитрофическая мембрана тонкая, незаметная и жидкая в передней части (перитрофический гель) (Ferreira, Terra, 1989). У кровососущих комаров перитрофической мембраной обволакивается только сгусток крови, большую же часть жизни имаго – при питании нектаром – мембрана отсутствует (Ягужинская, 1940; Левитанская, 1947).

Перитрофическая мембрана выделяется всем эпителием (или его большей частью) средней кишки, (тараканы, жуки, многие перепончатокрылые, чешуекрылые и двукрылые), либо узким рядом клеток в передней части кишки (некоторые двукрылые и чешуекрылые) (Peters, 1992).

Белки перитрофической мембраны делятся на четыре класса (Tellam et al., 1999) по прочности связывания: 1 – белки, отделяемые физиологическими буферами (пищеварительные ферменты и слабосвязанные белки пищи). 2 - белки, отделяемые мягкими ПАВами (как минимум у чешуекрылых – это белки пузырьков, отделившихся от рабдориум). 3 – белки (перитрофины) с сильными денатурирующими агентами, богатые цистеином, связывающие хитин, обеспечивающие прочную связь с матрицей перитрофической мембраны. 4 – структурные белки перитрофической мембраны.

Перитрофическая мембрана разделяет полость средней кишки на эндоперитрофическое и эктоперитрофическое пространство. Способность перитрофической мембраны к такой компартментизации зависит от её проницаемости. Некоторые ферменты могут быть ассоциированы непосредственно с перитрофической мембраной. Исследование с *Spodoptera frugiperda* показало, что около 13% амилазной и 18% трипсиновой активности приходится на мембрану (Ferreira et al., 1994).

Перитрофическая мембрана выполняет в пищеварении насекомых различные функции. Она предотвращает контакт крупных молекул с ферментами мембран клеток, потерю пищеварительных ферментов с пищевым комком, разрешает образование мономеров только в непосредственной близости от эпителиальных клеток, отвод продуктов реакции (олигомеров) из эндоперитрофического пространства для увеличения скорости реакции, удержание белков, которые могут быть ингибиторами эктоперитрофических ферментов в эндоперитрофическом пространстве.

Помимо пищеварительных функций перитрофическая мембрана защищает кишку от механических повреждений и бактерий, а также, возможно, участвует в связывании токсинов (таннины). Для большинства насекомых функция защиты от бактерий не важна, поскольку специализированные паразиты приспособлены прорывать перитрофическую мембрану при помощи хитиназ или протеаз. Считается, что первичной функцией перитрофической мембраны была

механическая защита, а пищеварительные функции появились позже в процессе эволюции (Terra, Ferreira, 2012).

Задняя кишка делится на пилорический отдел с пилорическим клапаном, в который открываются мальпигиевые сосуды, тонкую кишку и прямую кишку с ректальным клапаном. Мускулатура задней кишки менее развита и менее упорядочена. Пилорический клапан представляет собой кольцевую складку. Его сокращения открывают доступ к задней либо средней кишке, либо к мальпигиевым сосудам. Интима задней кишки тоньше, чем передней, поэтому возможно всасывание воды (Шовен, 1953).

Общее строение пищеварительного тракта зависит от типа питания насекомого и сильно различается по отрядам и семействам. У проволочников пищеварительный тракт трубковидный, без дополнительных выростов (Гиляров, Семёнова, 1977). Кишечник короткий, его длина примерно равна длине тела. Клетки эпителия средней кишки у проволочников цилиндрические, выделение пищеварительных секретов происходит по апокринному типу.

Простая и изящная концепция пищеварения в средней кишке состоит в следующем:

Начальный этап пищеварения (расщепление крупных полимеров на олигомеры) протекает в эндоперитрофическом пространстве, промежуточный этап (гидролиз олигомеров до димеров и мономеров) – в эктоперитрофическом пространстве, финальный – внутри клеток кишечного эпителия. Впервые эта концепция была проверена на личинках *Rhynchosciara americana* (Diptera: Sciaridae) (Terra et al., 1979). Косвенно она подтверждается тем, что в содержимом средней кишки личинок бомбицид дисахарида есть, а в отрыгиваемом материале – нет (Horie, 1959).

У жесткокрылых большая часть пищеварения протекает в эндоперитрофическом пространстве (Dermestidae, Tenebrionidae) (Baker, 1981, Terra et al., 1985).

У личинок Carabidae, Dityscidae и, по крайней мере, *Pyrearinus termitilluminans* из Elateridae начальная стадия пищеварения происходит

внекишечно под действием отрыгиваемых ферментов. Эволюционный тренд внутри отряда выражается в развитии слепых отростков средней и структур задней кишок, такая ситуация наблюдается у Scarabaeidae, что, вероятно, связано с расщеплением целлюлозы (Terra, 1990).

В средней кишке происходит постоянная циркуляция жидкости. Из эндоперитрофического пространства удаляются пищеварительные ферменты. По крайней мере, 80% ферментов переносятся из пищевого комка в эктоперитрофическое пространство перед переходом в заднюю кишку.

Эпителий средней кишки состоит из нескольких типов клеток: столбчатые клетки выполняют функции всасывания воды и экскреции воды, выделения пищеварительных ферментов, пищеварения с участием ферментов, ассоциированных с рабдориумом, всасывания питательных веществ (Ribeiro et al., 1990); регенерационные клетки – мелкие эмбриональные клетки, склеенные в регенерационные крипты. Они делятся либо непрерывно, либо периодически, у некоторых насекомых полное обновление эпителия происходит каждую линьку, у некоторых - только при окукливании (Шовен, 1953); клетки, назначение которых неясно могут выполнять эндокринные функции (Chapman, 1985).

Специализированные клетки в свою очередь делятся на бокаловидные клетки (найденные у Lepidoptera), кислотопродуцирующие (Diptera-Cyclorrhapha и Hemiptera) (Terra et al., 1988).

Пищеварительные ферменты синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме, обрабатываются в аппарате Гольджи и отшнуровываются в лизосомах.

Секреция пищеварительных ферментов происходит с потерей части клетки (части ворсинки) (апокринная секреция), либо с потерей всей клетки (голокринная), либо в виде отдельных пузырьков (экзоцитоз или мерокринная секреция). Обычно при апокринной секреции теряется около 10% цитоплазмы. У проволочников установлена секреция апокринного типа (Гиляров, Семенова, 1977).

pH содержимого кишечника серьёзно различается у разных насекомых, от 3,1 у мусцид, до свыше 10 у личинок скарабейд, некоторых гусениц и длинноусых двукрылых (Terra, Ferreira, 1994).

У жуков чаще всего более низкие значения pH (5-7) наблюдаются в передней кишке и начале средней, более высокие – в задней части (7-9). В связи с этим градиентом в передней части средней кишки наблюдается интенсивная карбогидразная активность, а в задней – протеазная. Дифференциации, вероятно, способствуют нестабильность карбогидраз в присутствии протеаз (Terra, 1990).

Показано, что pH кишечника у насекомых определяется не столько его диетой, сколько диетой его предка: pH средней кишки хорошо коррелирует с филогенетическим положением, но не всегда с диетой насекомого (Terra, Ferreira, 1994; Clark, 1999).

Высокие значения pH могут препятствовать отравлению таннинами растительных насекомых (в более кислой среде таннины связываются с белками, в том числе с пищеварительными ферментами) (Berenbaum, 1980). Кроме того, гусеницам *Erinnyis ello* щелочная среда, вероятно, помогает выделять гимицеллюлозы.

Показано, что многие пищеварительные ферменты ассоциированы с ворсинками эпителиальных клеток – с мембраной либо захвачены ветвями гликокаликса – (Terra, Ferreira 1994). У жесткокрылых количество таких ферментов невелико, в отличие от двукрылых.

Мембрана ворсинок различных насекомых отличается по плотности (которая по сути отражает соотношение белки/липиды), обычно более плотная у более примитивных насекомых (Terra et al., 2006).

Исследования ферментного спектра насекомых выявили группы ферментов, расщепляющих белки, углеводы и жиры.

Протеазы включают в себя протеиназы и экзопептидазы. Протеазы делятся по каталитическому механизму и по оптимальному pH.

Сериновые протеиназы содержат в активном центре серин, аспарагиновую кислоту или гистидин. К сериновым протеиназам относятся трипсины, которые

преимущественно расщепляют белковые цепочки, начиная с карбоксильного конца с аргинина или лизина. Свойства трипсинов насекомых в целом схожи со свойствами трипсинов позвоночных. Но трипсины насекомых не активируются и не стабилизируются ионами кальция, нестабильны в кислой среде, чувствительны к природным ингибиторам трипсинов. Природные ингибиторы трипсинов вырабатываются многими растениями, если они встречаются в пище, насекомое-фитофаг пытается производить больше трипсинов. У насекомых не было найдено прекурсоров трипсина или трипсина в неактивной форме. Вероятно, клетки эпителия насекомых секретируют уже активный трипсин, а регуляцию осуществляют связыванием его с мембраной ворсинок (Terra, Ferreira, 1994). Трипсины встречаются у большинства насекомых, за исключением некоторых равнокрылых, *Circulionidae* и родственных семейств.

Химотрипсины (сериновые протеиназы) преимущественно расщепляют белковые цепочки с карбоксильного конца ароматических аминокислот. У насекомых они так же широко распространены, как и трипсины (Applebaum, 1985). Отмечено сходство химотрипсинов насекомых и позвоночных, включая человека (Jany et al., 1978; Lecadet, Dedonder, 1966; Jany et al., 1983; Baumann, 1990).

Цистеиновые протеиназы содержат в активном центре цистеин и ингибируются ртутью. Аспарагиновые оптимально работают при pH ниже 5 из-за вовлечённости в катализ карбоксильных кислотных остатков.

Среди цистеиновых протеиназ наиболее известен катепсин В, гидролизующий внутренние пептидные связи белков. Впервые обнаружен у клопов, играет огромную роль в их пищеварении. Вероятно это связано с утратой трипсинов при переходе к сосущему типу питания (трипсины встречаются только в секретах слюнных желез). У большинства жуков цистеиновые протеиназы также играют большую роль, хотя у *Elateridae* они отсутствуют (Terra, Cristofolletti, 1996). Значение цистеиновых протеиназ в пищеварении насекомых рассматривают, как наследие от предков, питавшихся растениями с высоким содержанием природных ингибиторов трипсина. Доминирование цистеиновых

протеиназ в пищеварении характеризует ферментную систему насекомых как примитивную.

Аспарагиновые протеиназы активны при кислых рН (3-3,5), расщепляют внутренние пептидные связи белков. Наиболее известны животные аспарагиновые протеазы пепсин и катепсин D. Пепсиноподобные ферменты характерны для личинок *Cyclorhapha* с очень кислой средой средней кишки. Вероятно, личинки, живущие в среде, богатой болезнетворными бактериями, нуждаются в совокупном действии низкого рН, лизоцима и аспарагиновых протеаз для умерщвления бактерий. Аспарагиновые протеиназы обнаружены также у ряда семейств жуков.

Металлопротеиназы требуют для катализа ион металла, они ингибируются хелатирующими агентами, такими как ЭДТА.

Металлопротеазу обнаружили у платяной моли *Tineola bisselliella* с оптимальным рН 9,4.

Аминопептидазы ассоциированы с мембранами ворсинок (аминопептидазы N и A) или содержатся в цитозоле энтероцитов (лейцинаминопептидаза, аминопептидаза B, трипептидаминопептидаза).

Аминопептидазы в кишечнике насекомых играют роль в промежуточных этапах расщепления белков. На примере *Rhynchosciara americana* показано, что в белках пищевого комка при действии протеиназ отщепляются олигопептиды, способные пройти через перитрофическую мембрану. Олигопептиды диффундируют в эктоперитрофическое пространство. В слепых отростках средней кишки олигопептиды расщепляются аминопептидазами до дипептидов, а дипептиды до аминокислот – дипептидазами (см. ниже). Аминопептидазы, отщепляют от N-конца аспарагиновые и глютаминовые кислоты.

Карбоксипептидазы отщепляют одиночные аминокислоты с C-конца и делятся на три класса по каталитическому механизму. Сериновые пептидзы наиболее активны в кислотной среде. У насекомых наиболее распространены карбоксипептидазо А-подобные ферменты, они были обнаружены у ряда отрядов – прямокрылых, жуков, двукрылых и бабочек. У кожееда *Attagenus megatoma*

обнаружена карбоксипептидаза А, сходная с карбоксипептидазой А млекопитающих (Ramos et al., 1993). У некоторых двукрылых выделяют карбоксилазо В-подобные ферменты. В лизосомах клопов вероятно вырабатываются цистеиновые карбоксипептидазы.

Дипептидазы гидролизуют дипептиды и подразделяются по субстратам. У позвоночных выделяют карнозиназу, пролиновую дипептидазу, дипептидную гидролазу. Дипептидазная активность обнаружена в кишечниках саранчовых, пиррхокорид, жуужелиц, двукрылых. Дипептидазы вырабатываются эпителиальными клетками средней кишки, однако у некоторых жуков и прямокрылых дипептидазы были найдены в мальпигиевых сосудах (Schlottke E., 1937).

Экзопептидазы включают ферменты, которые отщепляют одну аминокислоту с амино- (аминопептидазы) или карбокси- (карбоксипептидазы) конца пептидной цепи, а также ферменты, специализированные на расщеплении дипептидов.

Несколько работ подтверждают, что у насекомых встречаются эластазоподобные протеазы (Terra, Ferreira, 2012).

Карбогидразы – ферменты, осуществляющие полный гидролиз углеводов до моносахаридов. Они классифицируются по субстратам.

α -амилазы гидролизуют связи в цепочках крахмала и гликогена в случайном порядке, *β -амилазы* отщепляют последовательные мономеры мальтозы, *глюкоамилазы* – последовательные мономеры глюкозы с неальдегидного конца. Амилазы хорошо различаются по анализу продуктов гидролиза. Colepicolo-Neto с соавторами (1986) выделили *α -амилазу* из проволочников *Pyrearinus termitilluminans*.

Целлюлазы хорошо изучены на примере грибов, широко распространено мнение, что насекомые целлюлаз не вырабатывают и в переваривании целлюлозы участвуют симбионты. Однако есть данные о способности насекомых секретировать ферменты, расщепляющие кристаллическую целлюлозу (Slaytor,

1992). Несколько целлюлаз было выделено из кишечника личинок усачей и термитов.

Гемицеллюлазы – ферменты, расщепляющие гемицеллюлозу, смесь полисахаридов, ассоциированных с целлюлозой в клеточных стенках растений. Эти ферменты плохо изучены у насекомых, хотя известно, что гемицеллюлозы насекомыми усваиваются (Terra et al., 1987).

Пектиновые ферменты расщепляют пектиновые полисахариды клеточных стенок растений. Возможно, они встречаются у прямокрылых, ручейников, жуков, двукрылых и клопов, хотя ещё не были выделены. Вместе с тем известно, что у ряда прямокрылых, жуков и тараканообразных этих ферментов нет (Vonk, Western, 1984).

Хитинолитические ферменты включают хитиназы, гидролизующие случайные связи хитиновой цепочки. Хитинолитические ферменты широко распространены у членистоногих и играют важную роль в линьке. Возможно, они также участвуют в пищеварении.

Лизоцимы – ферменты расщепляющие связи между мономерами муреина. Особенно широко применяются для умерщвления и переваривания клеток бактерий личинками *Cyclorhapha*.

α -Глюкозидазы отщепляют концевой неальдегидный α -1,4-связанный мономер от ди- и олиго- сахаридов. Их часто называют мальтазы и сахаразы, хотя это и не вполне корректно, поскольку в гидролизе сахарозы также принимают участие β -фруктозидазы. Растворимые α -глюкозидазы насекомых выделялись только из целого тела насекомого. Например, α -глюкозидаза с Mr 82 кДа была обнаружена в голове, брюшке и мёде медоносной пчелы. Также α -глюкозидазы были найдены у *Scaptotrigona bipunctata*, клопов, двукрылых, чешуекрылых и ряда жесткокрылых, включая *Pyrearinus termitilluminans* из Elateridae (Colepicolo-Neto et al., 1986). α -глюкозидаза клопов *Dysdercus peruvianus* была выделена из средней кишки будучи связанной с мембраной ворсинок. α -глюкозидаза комара *Aedes aegypti* сходна с мальтазой дрожжей.

β -глюкозидазы были выделены из ряда насекомых, в том числе *Pyrearinus termitilluminans*, среди других – саранчовые, сциариды, чешуекрылые).

β -фруктозидазы активно расщепляют сахарозу и рафинозу. Свидетельств об активности β -фруктозидаз у насекомых мало, они обнаружены у тараканов, кожеедов, чешуекрылых. В основном гидролиз сахаров у насекомых осуществляется α -глюкозидазой. Наиболее изучена β -фруктозидаза средней кишки бражника *Erinnyis ello*, её роль – помощь в гидролизе сахарозы листьев (гусеницы) и нектара (имаго), с которым не справляется α -глюкозидаза (Terra et al., 1987; Santos, Terra, 1986).

Трегалазы – наиболее распространённые гликозидазы в организме насекомых, встречающиеся в средней кишке, мускулатуре, жировом теле и лабиальных железах, у многих насекомых выделены из целого тела.

У многих насекомых найдены трегалазы в содержимом средней кишки в эндо- и экто- перитрофическом пространствах, у некоторых также найдены трегалазы, связанные с мембранами рабдориума (*Trichosia pubescens*, *Musca domestica*, *Bombyx mori*, *Erinnyis ello*). Согласно Wyatt (1967) главная роль трегалаз в средней кишке – предотвращение потерь глюкозы из трегалоз гемолимфы, которые диффундируют в кишечник. Однако зависимости между активностью трегалаз в средней кишке и концентрации трегалоз в гемолимфе не найдено (Terra, Ferreira, 1994).

Липазы, расщепляющие жиры. Это карбоксилэстеразы – липазы, эстеразы и фосфолипазы, – фосфомоноэстеразы (фосфатазы) и фосфодиэстеразы.

Липазы функционируют только на границе раздела вода-жир. Поэтому их активность значительно увеличивается при создании эмульсии. Эмульгаторы насекомых представлены фосфолипидами, включая лизолецитин. Липазы преимущественно разрывают внешние связи триацилглицеринов. Вероятно, липазы играют главную роль в переваривании жиров. Кроме того, они обеспечивают противовирусную защиту, повреждая оболочки вирусов (Terra, Ferreira, 2012).

Карбоксилэстеразы разрывают эфирные связи липидов и атакуют отдельные растворённые в воде молекулы.

Фосфолипазы отщепляют жирную кислоту от фосфолипида, превращая его в лизофосфолипид. Фосфолипаза A1 отщепляет внешнюю жирную кислоту, а фосфолипаза 2 – внутреннюю. Лизофосфолипиды более стабильны в виде мицелл, чем на мембранах, мицеллы лизофосфолипидов играют важную роль эмульгатора, необходимого для работы липаз.

Фосфатазы насекомых слабо изучены, часто встречаются в цитоплазме эпителиальных клеток и на их мембране, реже в содержимом кишечника.

Кишечник насекомых сохраняет перистальтическую активность в растворе хлоридов в течение 13 часов, а также у обезглавленных насекомых. В зобе наблюдаются сокращения перистальтические, антиперистальтические и всей задней трети. Сокращения зоба, по-видимому, не регулируются ЦНС. Перистальтические сокращения начинаются у пищевода и распространяются до проventрикулюса, проventрикулюс также сокращается самостоятельно, под контролем грудных ганглиев (Шовен, 1953).

В пищеварительном тракте насекомых и других почвенных беспозвоночных обнаружены многочисленные микроорганизмы, которые являются транзитными формами или постоянными обитателями кишечника (аборигенные формы). Это – бактерии, дрожжи и протисты. Микроорганизмы либо обитают в просвете кишки, либо связаны с перитрофической мембраной, либо связаны со стенкой кишки. Внутриклеточные бактерии обычно обитают в специализированных клетках, организованных в специальные образования – мицетомы (например, у равнокрылых) (Terra, Ferreira, 2012).

Общая численность микроорганизмов кишечнике одного насекомого может достигать 10^7 - 10^9 клеток (Broderick et al., 2004; Egert et al., 2005; Hongoh et al., 2006).

Микроорганизмы принимают непосредственное участие в питании насекомых. Более столетия известно, что стерильные личики *Calliphora vomitoria* на стерильной пище нормально не развиваются (Bogdanov, 1906, 1908). В ряде

экспериментов с лишением насекомых кишечных микроорганизмов (например, при использовании антибиотиков), апосимбиотические особи отличались от нормальных. Они могли быть меньше и светлее (*Sitophilus*), увеличивались смертность и длительность развития (*Triatoma* и *Coptosoma*, *Rhodnius* – редко дорастает до имаго), возникал дефицит витаминов В (*Lasioderma* и *Stegobium*). При оптимальных условиях апосимбиотические особи слабо отличались от нормальных, но сильно отличались от них в неоптимальных условиях (Richards, Brooks, 1958).

О физиологической роли интестинальных микроорганизмов известно мало. Микроорганизмы вырабатывают свои собственные гидролазы. Они либо секретируют их, либо гидролазы попадают в кишечную среду после смерти клетки. Выше перечислялось множество ферментов, выделенных из средней кишки насекомых, может оказаться, что многие из них выделяются микроорганизмами (Terra, Ferreira, 2012).

Существует мало исследований, показывающих, что ферменты микроорганизмов вносят недвусмысленный вклад в пищеварение. Наиболее яркие примеры найдены среди насекомых, питающихся древесиной или гумусом – термитов, личинок типулид и скарабейд. Если эти насекомые и могут переваривать целлюлозу своими собственными целлюлазами, то лигнин способны расщеплять лишь грибы и некоторые бактерии кишечника (Terra, Ferreira, 2012).

Кроме участия в пищеварении, микроорганизмы могут нейтрализовывать растительные токсины (алкалоиды и агликоны), поставлять части молекул феромонов и препятствовать размножению патогенов. Кровососущим насекомым они могут поставлять витамины группы В, насекомым, питающимся флоэмой – незаменимые аминокислоты (Dillon, Dillon, 2004; Genta et al., 2006).

Микроорганизмы могут быть патогенами, сами служить пищей для насекомых, участвовать в пищеварении, препятствовать размножению патогенов, снабжать насекомое витаминами, аминокислотами, стеролами, доступным азотом (Henry, 1962). Из-за особенностей биохимии насекомые неспособны синтезировать 9 необходимых аминокислот и стеролы. Считается, что

большинство насекомых получает эти вещества с пищей. Однако насекомые питающиеся соком растений получают незаменимые аминокислоты от симбионтов, живущих в мицетомах, а ряд насекомых (муравьи-листорезы, жуки-точильщики) получают от симбионтов стеролы (Douglas, 2009). Наиболее известные эндосимбионты – *Wolbachia* и *Buchnera spp.*

Некоторые насекомые (муравьи трибы Attini) используют интестинальных симбионтов для детоксикации пищи. Жужелицам-фитофагам кишечные симбионты помогают переваривать растительные зёрна (Lundgren, Lehman, 2010).

1.2.2. Интестинальные микробные сообщества насекомых и почвенных беспозвоночных

Среди насекомых наиболее детально изучены интестинальные микроорганизмы у форм, потребляющих целлюлозу (термиты, тараканы, Cerambycidae) (Schloss et al., 2006; Breznak, Brune, 1994).

Численность бактерий в кишечнике термитов – 10^9 - 10^{10} кл./мл. Это представители сем. Enterobacteriaceae, *Staphilococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, строгие анаэробы – *Bacteroides*, *Fusobacterium* и азотфиксаторы - *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans*. По данным Colman и др. (Colman et al., 2012), энтеробактерии составляли лишь незначительную часть микробного сообщества кишечника (около 0,4%), вместе тем, микробное сообщество содержимого кишечника термитов обладало наибольшим по сравнению с другими насекомыми видовым разнообразием и включало больше всего штаммов бактерий, не встречающихся у других животных. У ряда таксонов насекомых, включая отряд жесткокрылых, в содержимом кишечника доминируют Firmicutes и Proteobacteria (Colman et al., 2012).

Обычно численность микроорганизмов растёт от передней кишки к задней, по крайней мере у сверчков, тараканов, личинок скарабейд и диплопод обнаруживалось увеличение численности от около миллиарда в передней кишке до десятков и сотен миллиардов в задней (Cazemier et al., 1997).

На термитах показано, что бактериальные симбионты осуществляют азотфиксацию и денитрификацию (Голиченков и др., 2002), участвуют в минимизации потерь азота с мочевой кислотой, переваривании трупов мёртвых членов колонии, а также вырабатывают некоторые аминокислоты (Breznak, 1982). Симбионтов-простейших мы в настоящем обзоре не касаемся.

Симбионты *Lasioderma serricorne* вырабатывают витамины и стеролы (Jurzitza, 1969; Jurzitza, 1974).

У личинок типулид в содержимом кишечника доминирует сем. *Entherobacteriaceae* (Чернышёва А.Н., Костина Н.В., личное сообщение).

Муравьям рода *Tetraponera* кишечные симбионты помогают в реализации цикла азота (van Borm et al., 2002). Пчёлы получают от кишечных бактерий большую часть своих гидролаз (Pavlovsky, Zarin, 1922). Оводы *Hypoderma lineatum* (Simmons, 1939) и мухи *Phormia regina* (Fletcher, Haub, 1933) также используют микробные карбогидразы. Личинки восковой моли *Galleria mellonella*, могут усваивать воск благодаря (по крайней мере частично) активности кишечных бактерий (Dickman, 1933).

В жизни равнокрылых большую роль играют внутриклеточные симбионты (Мкртчян, Макарян, 2013; Douglas, 1998). Так показано, что бактерии рода *Buchnera* участвуют в снабжении тлей аминокислотами, а также выполняют некоторые функции не связанные с питанием. Например, повышают устойчивость тлей к инсектицидам.

Для некоторых насекомых типична передача бактериальных симбионтов из поколения в поколение. Например, у оливковой мухи *Dacus oleae* задняя кишка и яйцеклад разделены перепонкой с продольной щелью. Через эту щель интестинальные бактерии попадают в микропиле каждого яйца (Petri, 1909; Petri, 1910). У других насекомых новое поколение получает микроорганизмы из окружающей среды. Так нимфы клопа *Riptortus clavatus* (Alydidae) вылупляются стерильными и должны усвоить/получить симбионта *Burkholderia sp.* из окружающей среды (Kikuchi et al., 2007). Точная роль этой бактерии в жизни клопов неизвестна, но без неё насекомые вырастают достоверно менее крупными.

На микробное сообщество кишечника могут оказывать влияние диета насекомого, возраст, среда обитания, особенности насекомого, pH (Santo Domingo et al., 1998; Schmitt-Wagner et al., 2003; Hongoh et al., 2005; Mohr, Tebbe 2006; Behar et al., 2008). Существуют свидетельства того, что смена диеты может менять как функциональную, так и таксономическую структуру микробного сообщества (Kane, Breznak, 1991; Santo Domingo et al., 1998; Broderick et al., 2004). В целом существуют статистически достоверное сходство микробных комплексов как у насекомых разных трофических групп внутри одного отряда, так и внутри одной трофической группы у представителей разных отрядов. Второе особенно справедливо для насекомых-ксилофагов (Colman et. al., 2012).

Среди растительноядных личинок жуков интестинальная микрофлора наиболее хорошо изучена на примере колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata*. Общая численность бактерий в содержимом кишечника – порядка 10^6 клеток/г, дрожжей не обнаружено, численность актиномицетов и грибов незначительная. Функциональный и таксономический состав бактерий стабилен и не изменяется при десятидневном голодании. Микробиологическое сообщество обладает разнообразными физиологическими группами микроорганизмов с выраженной ферментативной активностью в расщеплении углеводов. 66-75% численности микроорганизмов составляют пектолитические бактерии. Гемолимфа личинок *L. decemlineata* в норме стерильна. Гемолимфа и отчасти содержимое кишечника обладают выраженной антибактериальной активностью. Выделенные из содержимого кишечника культуры такой активностью не обладали (Шивокене, Малукас, 1988; Шивокене, 1989).

Обширные исследования касались изучения зоомикробных отношений почвенных беспозвоночных – кивсяков и люмбрицид. В частности была исследована киллерная активность этих животных, в результате которой умирают микроорганизмы типичные для почвы и опада, а выживают типичные обитатели желудочно-кишечного тракта. Таким образом, серьезно изменяется структура микробного сообщества в субстрате после прохождения через кишечник.

В целом в содержимом средней и задней кишки кивсяков встречается множество типично почвенных бактерий – *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, etc. – некоторые типично кишечные – *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Plesiomonas*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Vibrio* (Baleux, Vivares, 1974; Szabo et al., 1983; Contreras, 1990; Byzov, 2006), ассоциированные с растениями – *Erwinia* (Byzov, 2006), а также ряд актиномицетов (Dzingov et al., 1982; Szabo et al., 1983; Jager et al., 1983; Chu et al., 1987) и грибов (Taylor, 1982). В содержимом кишечника кивсяков *Trigoniulus lumbricinus* доминируют аборигенные нокардиоподобные бактерии (Szabo et al., 1992). Также показано, что кивсякам присущи штаммы неких разновидностей *Pseudomonas stutzeri*.

В частности была исследована киллерная активность этих животных, в результате которой элиминируются микроорганизмы типичные для почвы и опада, а выживают типичные обитатели желудочно-кишечного тракта.

В экспериментах по смешиванию содержимого кишечника беспозвоночных с микробными культурами показано, что содержимое среднего отдела кишечника кивсяков и люмбрицид обладают выраженной киллерной активностью (Byzov et al., 1998), которая существенно существенно меняет структуру микробного сообщества в субстрате после прохождения через кишечник.

В кишечной жидкости *Pachyiulus flavipes* наблюдалась гибель 15 видов бактерий, 15 видов дрожжей и 4 видов микромицетов. Повреждения и гибель клеток детектировались и по нарушениям морфологии. Задний отдел кишечника киллерной активностью не обладал.

Известно, что киллерная активность кивсяков и люмбрицид обеспечивается небелковыми агентами: безбелковая фракция содержимого кишечника обеспечивает схожие показатели гибели и угнетения дыхания бактерий и дрожжей как у цельной жидкости. Гибель живой клетки под действием киллерных веществ индуцирует её автолиз и облегчает переваривание (Уголев, Цветкова, 1984). Хотя, конечно, разрушение клеток и переваривание происходят только в цельной жидкости (с присутствием ферментов). Тогда период полуразрушения колонии бактерий или дрожжей составляет от 15 минут до часа и

снижается с ростом температуры. Индуцированный автолиз объясняет, почему живые бактерии перевариваются лучше мёртвых, а также высокие скорости прохождения материала через кишечник при эффективном усвоении, свойственные почвенным сапрофитам.

Антибактериальная активность содержимого кишечника кивсяков, мокриц и люмбрицид видо- и штаммоспецифична. Обычно погибают клетки микроорганизмов, типичных для почвы и опада и хорошо сохраняются типичные обитатели кишечного тракта. Чем обеспечивается селективность — ориентацией молекул-киллеров на свойства мембраны или приспособительными свойствами устойчивых бактерий — точно неизвестно, Б.А. Бызов (2005) склоняется к первому варианту. Селективная антибактериальная активность содержимого кишечника и стабильность состава микробного сообщества кишечника показаны также для личинок насекомых наземных сообществ (Шивокене, Малукас, 1988).

Содержимое кишечника и экскременты почвенных беспозвоночных сильно отличаются по составу микроорганизмов от потребляемого субстрата (Reyes, Tiedji, 1976; Anderson, Bignell, 1980; Shaw, Pawluk, 1986). Одна из наиболее общих закономерностей происходящих изменений — уменьшение доли грибов и увеличение численности бактерий (Schönholzer et al., 1999). Это согласуется с представлением о грибах как о главном источнике пищи для почвенных сапрофагов. Среди грибов, по крайней мере в случае люмбрицид, сильнее сокращается численность светлоокрашенных (Domshe, Banse, 1972). С дрожжевыми грибами, как правило, при прохождении через кишечник животных происходит полное элиминирование или снижение численности в 10^2 - 10^4 раз (Бызов, 2005). При пассаже через кишечник *P. flavipes* популяции дрожжей происходит элиминирование дрожжей приуроченных к опад и филоплане и обогащение дрожжами, типичными для кишечника при сохранении общей численности. При пассаже через кишечник *E. foetida* и мокриц *A. vulgare* происходит элиминирование всех дрожжей (Byzov et al., 1993). *Lumbricus rubellus* обогащает экскременты дрожжами *Trichosporum* spp.

Численность бактерий, детектируемая методом посевов (КОЕ/г) после пассажа через пищеварительный тракт люмбрицид и кивсяков возрастает примерно на порядок. Причём в передней кишке численность бактерий даже меньше, чем в корме, в средней и задней — плавно возрастает, в экскрементах резко увеличивается. По данным люминесцентной микроскопии численность (клеток/г) также возрастает, но лишь в 2-3 раза.

Общая численность бактерий при прохождении через кишечник люмбрицид меняется слабо, однако прорастают споры бацилл и увеличивается число физиологически активных клеток, регистрируемых методом FISH (Drake et al., 2006). При прохождении пищи через пищеварительный тракт *Lumbricus terrestris* изменяется таксономическая структура микробного сообщества — уменьшается доля β - и γ - протеобактерий, увеличивается доля группы Cytophaga-Flavobacterium (Schönholzer et al., 2002)

При прохождении через пищеварительный тракт возможно размножение псевдомонад и коринеподобных бактерий. Для кивсяков *P. flavipes* показано, что в содержимом кишечника по сравнению с кормом увеличивается численность коринеподобных бактерий, сокращается численность бацилл, доля наиболее многочисленной группы грамотрицательных аэробных бактерий снижается с 65% до 50%. У люмбрицид *E. foetida*, напротив, увеличивается доля грамотрицательных аэробов. В обоих случаях на стенках кишечника (и на перитрофической мембране у кивсяков) тотально доминируют грамотрицательные факультативно-анаэробные бактерии, отсутствующие как в корме, так и в экскрементах.

Численность бактерий в содержимом кишечника диплопод около $2,8 \cdot 10^9$ КОЕ/г, наличие симбиотических отношений не доказано, при помощи сканирующего микроскопа на поверхности эпителия обнаружены бактерии всевозможных групп. У ряда исследованных видов определена численность дрожжей — около 10^4 КОЕ/г.

В содержимом кишечника мокриц обнаружено — $2,7 \cdot 10^8$ КОЕ/г протеобактерий и $3,8 \cdot 10^7$ КОЕ/г актиномицетов.

У кивсяков и мокриц в содержимом кишечника доминируют представители сем. *Enterobacteriaceae* (Marialigeti et al., 1985; Ineson, Anderson, 1985; Griffiths, Wood, 1985), у кивсяков – преимущественно *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* (Ineson, Anderson, 1985). По данным ряда исследователей для кивсяков также типичны нокардиоподобные бактерии *Promicromonospora* sp. (Szabo et al. 1983, Jager et al., 1983) и стрептомицеты (Бабкина, 1995).

Из кишечника мокриц разными авторами выделялись бактерии *Arthrobacter* sp., *Azotobacter agilis*, *Bacillus* sp., *Bacillus cereus*, *Bacteroides* sp., *Citrobacter freundii*, *Corynebacterium* sp., *Desulphotomaculum ruminis*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus* sp., *Flavobacterium* sp., *Klebsiella pneumonia*, *Micrococcaceae*, *Mollicutes*, *Neisseria* sp., *Paracoccus* sp., *Plesiomonas*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* sp., *Shevanella* sp. (Kostanjšek et al., 2012). Кроме того, не обнаружены в кишечнике, но выделялись из экскрементов: *Cytophaga* sp., *Chromobacterium violaceum*, *Mycobacteriaceae*, ряд видов *Streptomyces*, *Spirilaceae*. Не обнаружены в кишечнике, но выделялись из гепатопанкреаса: *Citrobacter freundii* и *Rhabdochlamydia porcellionis*. Роль бактерий, обитающих в гепатопанкреасе достоверно неизвестно, однако считается, что целлюлолитики гепатопанкреаса участвуют в переваривании сложных органических веществ (Zimmer, 2002).

Также как у насекомых, у кивсяков выделяют пристеночное и полостное микробное сообщество. Согласно Третьяковой и др. (1996) пристеночное сообщество представлено аборигенными обитателями кишечника кивсяка, а полостное является транзитным. Основные представители пристеночного сообщества – *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* (Byzov et al., 1996, Третьякова и др., 1996).

В кишечнике люмбрицид доминируют сем. *Enterobacteriaceae* и сем. *Vibrionaceae* (Marialigeti, 1979; Третьякова, 1993; Contreras, 1980), в пристеночном сообществе также *Aeromonas* sp. У *Eisenia lucens* – 73% разнообразия составляют *Vibrio* spp. (Marialigeti, 1979). Также обнаруживали представителей сем. *Enterobacteriaceae*: *Klebsiella pneumoniae* и *Plesiomonas* sp.

Среди грамположительных бактерий в кишечнике беспозвоночных встречаются *Bacillus*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Cytophaga*, а также Мухобacterales (Добровольская, 2002).

1.2.3. Интестинальные микробные сообщества проволочников

До настоящей работы зоомикробные отношения проволочников системно не исследовались.

Личинки элатерид не относятся к жукам, имеющим мицетомы (Douglas, 1989). Микроорганизмы, ассоциированные с их кишечником, обитают в просвете кишечника, а не в специализированных клетках.

В поисках эффективных агентов для биоконтроля *A. lineatus* Danismazoglu и др. (2012) выделили 19 культур из кишечника проволочника:

Paenibacillus sp., *Cellulomonas* sp., *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus* sp., *Enterococcus mundtii*, *Staphylococcus* sp., *Sphingobacterium* sp., *Staphylococcus pasteurii*, *Arthrobacter gandensis*, *Bacillus* sp., *Chryseobacterium* sp., *Streptomyces* sp., *Oerskovia turbata*, *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Oerskovia jenensis*, *Arthrobacter gandavensis*, *B. thuringiensis* и *Pseudomonas plecoglossicida*. Из них *A. gandavensis*, *B. thuringiensis* и *P. plecoglossicida* оказались патогенными для *A. lineatus* третьего возраста.

Angélica Асуña González (2009) исследовала в Коста-Рике культуры бактерий и грибов, выделенные из кишечника личинок жуков, собранных в разлагающейся древесине, в том числе трёх особей проволочников (видовая принадлежность не указана). Из проволочников было выделено 11 культур бактерий: *Paenibacillus* sp., *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides*, *Bacillus* sp. (Firmicutes); *Tsukamurella pulmonis* (Actinobacteria) *Chryseobacterium* sp. (Flavobacteria); *Enterobacter hormaechei*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas citronellolis* (Gamaproteobacteria).

Кроме того, из двух личинок было выделено 7 культур грибов: *Coprinellus disseminatus* (Agaricales); *Arthrographis cuboidea* (Dothideomycetes); *Trichoderma asperellum* и *Lanatonectria flocculenta* (Hypocreales); *Graphium basitruncatum*

(Microascales); *Sporothrix lignivora* (Ophiostomatales); *Pestalotiopsis microspora* (Xylariales).

Lacey и др. (2007) выделили 86 культур бактерий из кишечника *Limoni*
canus: *Enterobacter* (4), *Erwinia* (1), *Klebsiella* (1), *Pantoea* (2), *Rahnella* (4), *Serratia*
(3), другие представители сем. Enterobacteriaceae (7); *Chryseobacterium* (4);
Leucobacter (1); *Micrococcus* (1); *Acinetobacter* (3); *Paenibacillus* (6);
Cellulosimicrobium (2); *Pseudomonas* (23); *Bacillus* (22) и *Exiguobacterium* (2).

Известны грибные заболевания проволочников, вызываемые такими
возбудителями как *Beauveria bassiana* и *Metarhizium anisopliae* (Kuhar et al., 2003).
Metarhizium anisopliae вызывает наиболее частое заболевание – зелёную
мускардину, поражающее *Selatosomus aeneus*, *Agriotes obscurus*, *Limoni*
aeruginosus и др. Смертность личинок от зелёной мускардины при заражении в
искусственных условиях достигает 32-72% особей (Бобинская, 1937), а куколок и
имаго – 100% (Егина, 1969).

Бактерии *Pseudomonas aeruginosa* повреждают эпителий кишечника
проволочников (Zqacharuk, 1973).

Двигательная и пищевая активность проволочников влияет на почвенное
микробное сообщество – усиливает метаболическую активность микроорганизмов
и ускоряет минерализацию опада (Wolters, 1989).

Таким образом, ИМС могут играть существенную роль во многих аспектах
жизни насекомых и почвенных беспозвоночных. Однако до настоящего времени
интерес исследователей был сосредоточен преимущественно вокруг насекомых-
ксилофагов и почвенных беспозвоночных – сапрофагов. Зоомикробные
отношения представителей других трофических групп изучены слабо. В
частности работы, касающиеся ИМС проволочников эпизодические и носят
сугубо прикладной характер.

ГЛАВА 2. РАЙОН ИССЛЕДОВАНИЯ, МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

2.1. Район исследования

Сбор личинок жуков-щелкунов проводили в природных экосистемах трёх подзон европейской степи на территории Саратовской области – разнотравно-дерновинно злаковой (луговой), ковыльно-разнотравной (типичной) и сухой.

Расположение пробных участков:

Площадка 1. Разнотравно-дерновинно злаковая степь, плакор (51.916693 N, 44.678374 E, д. Октябрёвка).

Пырейно-разнотравная ассоциация и Типчаково-кострецово-разнотравная растительная ассоциация.

Площадка 2. Разнотравно-дерновинно злаковая степь, пойма р. Аткара (51.913040 N, 44.679404 E, д. Октябрёвка).

Пырейно-кострецово-разнотравная ассоциация.

Площадка 3. Ковыльно-разнотравная степь, плакор, (51.313470 N, 45.414252 E, с. Рыбушка).

Ковыльно-типчаково-разнотравная ассоциация.

Площадка 4. Ковыльно-разнотравная степь, пойма р. Карамыш (51.304925 N, 45.406957 E, с. Рыбушка).

Пырейно-кострецово-разнотравная ассоциация.

Площадка 5. Сухая степь, плакор (50.698190 N, 47.051233 E, к востоку от с. Лепехинка).

Ковыльно-житняковая ассоциация с парцеллами пырея, проволочники в основном собирались под пыреем.

Площадка 6. Сухая степь, пойма р. Солянка (50.707975 N, 47.081445 E, к востоку от с. Лепехинка).

Пырейно-разнотравная ассоциация.

2.2 Сбор материала

Сбор проволочников и количественный учёт мезофауны проводился ручной разборкой почвенных проб 25*25 см (Гиляров, 1975). Дополнительно проволочников собирали в ловушки, представляющие искусственно увлажнённые участки, покрытые полиэтиленовой плёнкой (Parker, Howard, 2001). Личинок *A. rotundus* собирали вручную из разлагающейся древесины.

Проволочников и других беспозвоночных для анализа стабильных изотопов азота и углерода фиксировали в 70% спирте, живых проволочников для микробиологических исследований содержали индивидуально в стаканчиках с почвой ёмкостью 50 мл.

Для анализа стабильных изотопов на площадках дополнительно отбирали образцы почвы, подстилки и корней доминирующих растений.

Для исследований изменчивости микробного сообщества кишечника проволочников, требовавших большого количества личинок, дополнительно использовали серии личинок, собранные в Подмосковье: *Agriotes obscurus*, (на садовом участке) и *Selatosomus aeneus* (в плодовых телах грибов).

Проволочников определяли по определителю (Долин, 1978), либо дорастивали до имаго.

Полевые учёты и сборы в Саратовской области проводили в течение полевых сезонов 2013 и 2014, в Подмосковье – в полевой сезон 2015 года. Образцы для анализа стабильных изотопов отбирались в течение полевого сезона 2013 года.

Для исследования биотопических предпочтений различных видов проволочников использовались как материалы полевых сборов в Саратовской области 2013 года, так и материалы полевых сборов в Тюменской области 2008, 2009, 2011 годов. Сравнивалось население проволочников пойменных и плакорных биотопов.

Общий объём работы приведён в таблице 1.

Таблица 1. Общий объём работы:

Проведены учёты почвенной мезофауны в течение одного полевого сезона	6 биотопов, по 5 повторностей.
Исследовано население проволочников в долинных биотопах Западной Сибири	27 биотопов, по 5 повторностей
Анализ содержания стабильных изотопов в тканях проволочников	118 личинок
Анализ содержания стабильных изотопов в тканях других групп почвенной мезофауны	260 животных
Анализ содержания содержания стабильных изотопов в почве, подстилке, корнях растений	300 образцов
Эксперимент по определению трофического фракционирования	15 личинок
Оценка индивидуальной изменчивости интестинального микробного сообщества проволочников	20 личинок
Эксперимент с краткосрочным изменением питания <i>S.aeneus</i>	Три группы, всего 60 личинок
Сравнение интестинальных микробных сообществ трёх трофических групп	Три вида, по две повторности, одна повторность – смешанный образец из ~3 личинок
Влияние активности проволочников на почвенное микробное сообщество	Исследовались смешанные образцы, 1 образец – 5 контейнеров из-под индивидуально содержащихся проволочников
Исследование несимбиотической азотфиксации в кишечнике проволочников	11 личинок / пар личинок

2.3. Микробиологические методы

2.3.1. Лабораторное содержание и вивисекция проволочников

Живых проволочников содержали индивидуально в стаканчиках с почвой ёмкостью 50 мл. Личинок содержали при комнатной температуре и влажности почвы около 60% от полной влагоёмкости. В качестве корма использовали свежие и разлагающиеся проростки пшеницы.

На примере серии личинок *Selatosomus aeneus* исследовали изменчивость микробного сообщества кишечника под влиянием условий питания. Этих личинок содержали в трёх вариантах условий: почва с проростками пшеницы, дефаунированная (посредством нагревания до ~40°C) почва, увлажненный после стерилизации (посредством автоклавирования) речной песок. Таким образом,

первая группа питалась проростками и микрофауной, вторая могла питаться только почвой, а третья – голодала. Эксперимент проводили в течение 10 сут. – до появления визуальных различий в облике и поведении личинок. Из литературы известно, что проволочники способны голодать гораздо более длительные сроки – 60 и более суток (Бобинская и др., 1965, Traugott et al, 2007), т.е. десятисуточное голодание не могло привести к необратимым нарушениям.

Для микробиологических исследований ИМС готовили суспензию из содержимого кишечника. Кишечник проволочника брали целиком, вместе с окружающими тканями и гемолимфой. Ряд исследователей считали, что в гемолимфе насекомых (двукрылых, тлей, чешуекрылых) могут содержаться собственные бактерии (Lilly, 1931; Paillot, 1933; Cameron, 1934). Однако по другим данным, гемолимфа насекомых стерильна (Шивокене, Малукас, 1988).

В районе каудального сегмента проволочника делали надрез глазными ножницами, при помощи двух пинцетов кишечник извлекали в пробирку, доводили стерильной водой до требуемого разведения, тщательно иссекали пинцетом и встряхивали на лабораторном встряхивателе типа «Вортекс». Ножницы и пинцеты протирали 70% спиртом.

Для исследования азотфиксации в живых проволочниках брали три группы *A. obscurus* и восемь групп *S. aeneus* по две личинки в каждой.

Для сравнения микробного сообщества кишечника проволочников разных трофических групп исследовали смешанные образцы из 3-5 личинок *A. obscurus*, *S. aeneus* и *Ampedus pomorum*, собранных в пойме р. Карамыш, в двух повторностях.

A. obscurus представляет в нашей работе вид с наиболее выраженной склонностью к фитофагии, *S. aeneus* – вид, сочетающий сапрофагию с фитофагией и хищничеством, *A. pomorum* – хищника (Долин, 1963).

Для исследования индивидуальной изменчивости проволочников использовали серии по десять личинок *A. obscurus* и *S. aeneus*, собранные в Подмоскowie. *S. aeneus* собирали в плодовых телах базидиомицет и предварительно выдерживали 10 суток в огородной почве.

Для исследования изменчивости микробного сообщества под влиянием питания 27 личинок *S. aeneus*, содержали в почве с ростками, 9 личинок – в дефаунированной почве и 27 личинок – во влажном песке в течение 10 суток. Через 10 суток у большинства личинок содержащихся в песке визуально заметно изменилось поведение (стали более вялыми), одна личинка погибла.

В качестве контроля исследовали образцы почвы и древесины, в которых содержались проволочники, по стандартным методикам.

2.3.2. Люминесцентная микроскопия

Общую численность микроорганизмов оценивали методом люминесцентной микроскопии, для чего почвенную суспензию (1:100) наносили по 10 мкл в трёхкратной повторности на предметное стекло, фиксировали, окрашивали акридиновым оранжевым, после чего на люминесцентном микроскопе подсчитывали численность бактериальных клеток и длину грибных гиф (Методы, 1991).

Дополнительно оценивали численность отдельных размерных групп бактерий методом «каскадной» фильтрации (Полянская и др., 2013). Для этого 10 мл суспензии 1:1000 с акридиновым оранжевым пропускали через ряд фильтров с разным диаметром, после чего на каждом фильтре подсчитывали численность бактерий на люминесцентном микроскопе.

Смешанные образцы суспензии из *A. obscurus* и *S. aeneus* однократно исследовали методом *Fluorescent in situ hybridization* (FISH), чтобы оценить численность метаболически активных клеток микроорганизмов содержимого кишечника.

Определялась общая численность метаболически активных эубактерий и архей, а также двух таксонов эубактерий – гамма-протеобактерий и актинобактерий. Изучение численности гамма-протеобактерий представляло интерес, поскольку в эту секцию входит сем. *Enterobacteriaceae*, представители которого типичны для ИМС почвенных беспозвоночных, а актинобактерий,

поскольку нами была выявлена высокая численность коринеподобных бактерий в посевах на твёрдые питательные среды.

Идентификацию бактерий методом FISH проводили в образцах почвы и содержимого кишечника личинок. Почвенную суспензию (1:10) обрабатывали ультразвуком, отделяли клетки микроорганизмов центрифугированием и фиксировали их формальдегидом. Поскольку при исследовании содержимого кишечника проволочников мы работали с малыми навесками, готовили суспензии больших разведений. Суспензию из фиксированных клеток раскапывали в окошки предметного стекла для гибридизации. Проводили гибридизацию с соответствующими флуоресцентно-мечеными рРНК-специфичными олигонуклеотидными зондами согласно общепринятой методике (Манучарова, 2014). Полученные препараты микроскопировали с использованием люминесцентного микроскопа. Данные микроскопирования пересчитывали на грамм субстрата. Чтобы избежать искажающего (завышающего) влияния микронавесок в случае суспензий из кишечника проволочников, для пересчёта на грамм мы использовали поправочные коэффициенты (Полянская и др., 2000). Зависимость коэффициентов от дополнительного разведения была аппроксимирована экспоненциальной функцией при помощи программы «IGOR PRO». Были вычислены коэффициенты пересчёта для дополнительных разведений – 9,25 для разведения в 44,5 раз (смешанный образец из *A. obscurus*) и 6,46 для разведения в 26,7 раз (*S. aeneus*).

2.3.3. Посевы на твёрдые питательные среды

Таксономическую структуру ИМС исследовали методом посева на твёрдые питательные среды. Выявлялись аэробные и факультативно-анаэробные бактерии.

Облигатные анаэробы не исследовались. Считается, что у беспозвоночных с простым трубковидным кишечником встречаются лишь факультативные анаэробы (Reyes, Tiedje, 1976), а облигатные анаэробы типичны для типулид, термитов и других насекомых со сложным строением кишечника (Добровольская, 2002).

В качестве основной среды использовали глюкозо-пептонно-дрожжевую среду.

Дополнительно сравнивали таксономическую структуру комплекса азотфиксаторов у трёх трофических групп проводочников, собранных в пойме р. Карамыш, методом посева на безазотную среду Эшби.

Учитывая возможную связь личинок *Ampedus* с древесными микромицетами (Гончаров, Тиунов, 2013), суспензии из кишечника *A. pomorum* и гниющей древесины также высевали на микологические питательные среды – минеральную среду Чапека для грибов и на сусло-агар (Методы..., 1991).

Чашки Петри с бактериальными посевами инкубировали в термостате при 28°C, с грибными – при 25°C около 7 суток. Число колониеобразующих единиц (КОЕ) подсчитывали вручную, с чашек выделялись чистые культуры для дальнейшего определения.

Определение культур бактерий проводили по морфологическим и физиолого-биохимическим признакам (Определитель..., 1997; Лысак и др., 2003), культуры грибов определяли по современным определителям для соответствующих групп и родов.

Определение видовой принадлежности доминирующих бактерий проводили методом секвенирования нуклеотидной последовательности 16S рРНК генов. Выделение ДНК проводили стандартным фенол-хлороформным методом. Амплификацию осуществляли на термоциклере Mastercycler (Eppendorf, Германия) с помощью праймеров EUB f933 и EUB r1387 вида:

5"-GCACAAGCGGTGGAGCATGTGG-3",

5"-GCCCCGGGAACGTATTACCG-3"

Температура отжига составляла 60°, длительность денатурации, отжига и элонгации – по 30 секунд в течение 27 циклов. Секвенирование ампликонов проводилось компанией Синтол (Москва, Россия) методом Сенгера. Анализ сиквенсов проводили с помощью электронной базы PubMed по алгоритму BLAST2.

2.3.4. Мультисубстратное тестирование

Для исследования функционального разнообразия микробных сообществ почвы, древесины и содержимого кишечника использовали метод мультисубстратного тестирования (МСТ) (Горленко, Кожевин, 2005). При анализе почвы и древесины брали навески по 0,7 г, в случае содержимого кишечника брали смешанный образец из 3-5 личинок (до 0,01 г). Тестируемую суспензию доводили до 35 мл фосфатным буфером (рН 6,5), содержимое стаканчика обрабатывали на лабораторном встряхивателе типа «ВОРТЭКС- V-3» (3400 об/мин) 1,5 мин. Около 40 мл полученной суспензии отбирали в центрифужные пробирки и центрифугировали 2 минуты (ЦУМ-8, 2000 об/мин). 20 мл супернатанта помещали в кювету дозатора и добавляли 2 мл раствора индикатора (трифенилтетразолий). Содержимое кюветы распределяли в тест-планшет «Эко-Лог», содержащий набор из 47 тест-субстратов. Для этого использовали 8ми канальный дозатор ППМ-8 с одноразовыми сменными наконечниками, установленный на розлив 200 мкл.

Планшеты инкубировали в термостате при 28°C до появления визуально регистрируемой окраски ячеек (около 72 часов). Оптическую плотность ячеек планшетов измеряли с использованием слайдсканера. При этом интенсивность потребления субстратов (окраска каждой ячейки) была представлена значением в диапазоне от 0 до 3000. Массив данных, полученный в результате фотометрического измерения значений оптической плотности по всем ячейкам представляет собой спектр потребления субстратов для данного почвенного микробного комплекса. При анализе спектра потребления субстратов использовано программное обеспечение «Эко-лог», которое позволяет автоматически вычислить традиционные параметры биоразнообразия (индекс Шеннона H, выравненность E, количество потребленных субстратов N, удельную метаболическую работу W), коэффициенты устойчивости микробного сообщества и коэффициенты ранговых распределений спектров потребления субстратов.

Для этого строится трехпараметрическая модель рангового распределения потребления субстратов:

$$\ln(yN)=E_0 - be^n d^{-n}, \quad (1)$$

где: $n = \ln(N)$, N - номер ранга, yN – интенсивность потребления субстрата ранга N , e – основание натурального логарифма, E_0 , b , d – параметры.

Подобранные константы E_0 , b и d характеризуют микробное сообщество. Наиболее информативен из них параметр d , который тем больше, чем в менее устойчивом состоянии находится сообщество (Горленко, Кожевин, 2005).

Функциональное разнообразие оценивается по интегральному индексу витальности:

$$G = (N/N_{\max} * 100)/d, \quad (2)$$

где $N_{\max}$ – количество тест-субстратов (47), N – количество потребляемых субстратов.

По значению параметра d микробные сообщества делятся на благополучные избыточные системы, имеющие максимальный запас прочности (d от 0.01 до 0.1); устойчивые стабильные (0.1 – 0,4); системы с истощенными ресурсами или находящимся под обратимым воздействием какого-либо нарушающего фактора (0.4 – 0.8); кризисные дестабилизированные системы (0.8 – 1); необратимо нарушенные системы, потерявшие функциональную целостность (>1).

2.3.5. Газовая хроматография

Активность микробиологических процессов трансформации азота и углерода оценивали методами газовой хроматографии (Методы..., 1991, Степанов, Лысак, 2002).

Для определения актуальной азотфиксации ацетиленовым методом личинок помещали в пенициллиновые флаконы с влажной фильтровальной бумагой, вводили ацетилен (1 мл) и инкубировали в термостате в течение двух часов. Затем, из флаконов шприцем отбирали пробу (1 мл) и на хроматографе «Кристалл – 2000» с пламенно-ионизационным детектором определяли количество образовавшегося этилена. Характеристики прибора: длина колонки – 1м, диаметр – 3мм, наполнитель – Porapak N 80/100, температура колонки – 60°C,

температура детектора – 160°C, температура испарителя – 100°C, расход газаносителя (N₂) – 50 мл/мин, воздуха – 280 мл/мин, водорода – 28 мл/мин.

Также оценивали активность азотфиксации в экскрементах проволочников. Для этого живых проволочников содержали в течение суток в одноразовых чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге. Затем собранную бумагу исследовали на хроматографе.

Значения актуальной азотфиксации в экскрементах проволочников не обнаруживались нашими методами, в работе приводятся только значения активности потенциальной азотфиксации. Для определения потенциальной активности азотфиксации в пенициллиновые флаконы с фильтровальной бумагой, добавляли раствор глюкозы, флаконы закрывали ватной пробкой и помещали в термостат при температуре 28°C на сутки. Через сутки инкубации флаконы укупоривали резиновой пробкой, вводили ацетилен (1 мл) и инкубировали в термостате в течение двух часов.

Измерения проводили в трёхкратной повторности.

2.3.6. Исследование почвенных образцов

Дополнительно сравнивали структуру микробного сообщества гумусового горизонта почвы, в которой длительно содержались проволочники, с контрольной почвой, отобранной непосредственно с пробной площадки и прошедшей двухнедельную сукцессию перед опытом. Исследовали влияние на почвенное микробное сообщество жизнедеятельности *A.obscurus* и *S.aeneus*.

Для исследований подготавливали смешанные образцы почв из пяти индивидуальных контейнеров с личинками (для газовой хроматографии – по два смешанных образца, для других исследований – по одному).

Почвенные микробные сообщества исследовали методами люминесцентной микроскопии, посева на глюкозо-пептонно-дрожжевую среду, МСТ и газовой хроматографии как описано выше.

Всеми методами исследовали почву из гумусового горизонта поймы р. Карамыш. Методом люминесцентной микроскопии также исследовали почва из

поймы луговой степи до и после пребывания в ней личинок *A.obscurus*. Методами газовой хроматографии исследовалось влияние *A.obscurus* и *S.aeneus* на пойменные почвы луговой и типичной типов степи, а также влияние *S.aeneus* на плакорные почвы. Кроме того сравнивали влияние краткосрочного и длительного пребывания проволочников.

Для определения актуальной и потенциальной активности азотфиксации навески почвы по 5 г исследовали как описано выше для личинок.

Для определения потенциальной активности денитрификации навески почвы (5 г) помещали в пенициллиновые флаконы, вносили глюкозу (из расчета 2,5 мг на г воздушно-сухой почвы), нитраты (1 мл 0,4% KNO_3) и добавляли 3 мл стерильной воды, флаконы укупоривали резиновой пробкой. Для создания микроаэрофильных условий воздух из флаконов вытесняли аргонном в течение 2 минут, затем шприцем вводили 1 мл ацетилена для ингибирования редуктазы закиси азота. Флаконы тщательно встряхивали и помещали в термостат при 28° С на сутки, после чего проводили измерение концентрации N_2O . Анализ газа проводили на газовом хроматографе «Кристалл – 2000» с детектором электронного захвата. Характеристика прибора: длина колонки – 1м, диаметр – 3мм, наполнитель – Porapak N 80/100, температура колонки – 50°С, температура детектора - 240°С, испарителя – 100°С, расход газа-носителя (N_2) – 90 мл/мин. Определение активности денитрификации проводили в 5-кратной повторности. Активность денитрификации выражали в мкг N_2O /г час.

Для определения эмиссии метана навески почвы (5 г), помещали в пенициллиновые флаконы, укупоривали резиновой пробкой, воздух из флаконов вытесняли аргонном в течение 2 минут, и помещали в термостат при температуре 28° С на 7 суток. Затем, из флаконов отбирали пробу (1 мл), и на хроматографе «Кристалл – 2000» с пламенно-ионизационным детектором определяли количество образовавшегося метана.

Для определения потенциального метаногенеза во флаконы предварительно добавляли раствор глюкозы (в расчете 1 % глюкозы от массы воздушно-сухой почвы).

Все измерения проводили в трёхкратной повторности.

2.4. Изотопный анализ

Для измерения содержания стабильных изотопов азота и углерода в образцах образцы высушивали при температуре 60°C в течении 48 часов. Образцы почвы, подстилки и корней растений измельчали на мельнице Retsch MM 200.

Для определения изотопного состава проволочников брали каудальный сегмент, как рекомендовано в работе Traugott и др. (2007). У люмбрицид брали образцы мышечных тканей, у мелких беспозвоночных брали всё тело целиком за исключением кишки. Образцы тканей беспозвоночных измельчали пинцетом. Отобранные сухие образцы взвешивали на весах «Mettler Toledo MX5» с точностью до 1 мкг и заворачивали в гильзы из оловянной фольги.

Анализ стабильных изотопов проводили на комплексе оборудования, состоящем из элементного анализатора «Thermo Flash EA 1112» и изотопного масс-спектрометра «Thermo-Finnigan Delta V Plus». Содержание изотопов азота и углерода ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, ‰) выражали в тысячных долях отклонения от международного стандарта (атмосферный азот и VPDB) согласно уравнению:

$$\delta X(\text{‰}) = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}})-1] \times 1000, \quad (3)$$

где R – отношение тяжёлого изотопа к лёгкому. Для калибровки масс-спектрометра использовали глутаминовую кислоту USGS 40 и USGS 41. Аналитическая погрешность определения изотопного состава азота и углерода $\pm 0.2 \delta$.

Обогащение тканей проволочников тяжёлыми изотопами азота и углерода по сравнению с пищей исследовалось Traugott и др. (2007) на примере проволочников *A.obscurus* и *A.lineatus*. Ткани проволочников были обогащены тяжёлым азотом на $1.63 \pm 0.2\text{‰}$, то есть на величину типичную для животных (Тиунов, 2007). В то же время обогащения тяжёлым углеродом не наблюдалось. В литературе известны случаи как отсутствия обогащения тяжёлым углеродом у беспозвоночных (Oelbermann, Scheu, 2002; Haubert et al. 2006), так и наоборот –

обогащения на 0.5–1‰ (Post et al., 2007; McCutchan et al., 2003; Caut et al., 2009) или больше (~3,6‰) (Potapov et al., 2013; Korobushkin et al., 2014). Поэтому в рамках работы мы уточняли величину обогащения ^{13}C экспериментально на примере личинок *A. obscurus*, собранных в пойме р.Карамыш.

Личинки *A. obscurus* в литературе рассматриваются как преимущественно фитофаги (Traugott, 2008; Долин, 1963), либо как сапрофаги (Долин, 1963; Черепанов, 1965), поэтому были взяты три серии личинок по пять личинок в каждой. Каждая личинка содержалась в индивидуальном контейнере на 50 мл, на половину заполненном почвой поймы р.Карамыш. Первую группу личинок кормили свежими проростками пшеницы (*Triticum vulgare*), первые сутки после прорастания, проростки заменялись регулярно. Вторую серию кормили разлагающимися проростками пшеницы, т.е. после появления на них мицелия грибов или стрептомицетов. Третья группа была контрольной, личинок содержали в контейнерах с почвой без корма. Эксперимент продолжался в течение четырёх месяцев (сентябрь-декабрь 2013). За это время наблюдалось питание личинками обоими типами корма, каждая личинка перелиняла минимум один раз.

При сравнении $\delta^{15}\text{N}$ у животных из разных биотопов, проводилась нормализация $\delta^{15}\text{N}$ по $\delta^{15}\text{N}$ корней *Eletryia repens* – растения, встречавшегося во всех исследованных биотопах. То есть из $\delta^{15}\text{N}$ животного вычиталась $\delta^{15}\text{N}$ корней пырея ползучего того же биотопа.

2.5. Статистическая обработка результатов

Показатели описательной статистики, такие как среднее, дисперсия, стандартное отклонение, рассчитывались в программах STATISTICA 8 и MS Excel 2003.

Для оценки сходства микробных сообществ кишечника различных личинок применялся анализ ANOSIM в программе PAST 1.79. Для сообществ попарно рассчитывали индексы сходства. При сравнении комплексов микроорганизмов по групповому составу – индекс Жаккара, по численности и интенсивности

потребляемых субстратов – индекс Брея-Кёртиса. Для оценки сходства населения проволочников в различных биотопах попарно рассчитывался индекс Охайи, также в программе PAST 1.79.

Для проверки гипотез о равенстве средних проводились тесты LSD и HSD в программе STATISTICA 8. При невозможности удостовериться в нормальности распределения использовался тест Mann-Whitney U.

ГЛАВА 3. МЕСТО ЛИЧИНОК ELATERIDAE (ПРОВОЛОЧНИКОВ) В ПОЧВЕННЫХ ПИЩЕВЫХ СЕТЯХ

3.1. Особенности биотопического распределения проволочников

Видовой состав проволочников в пойменных и плакорных биотопах различается и в степной зоне (приложение, таблица 1) и в лесных почвах южной тайги (приложение, таблица 2).

В поймах могут обитать лишь виды педобионтов, устойчивые к периодическим затоплениям и подтоплениям. Это особенно характерно для проволочников, имеющих многолетние циклы развития. Проволочники живут в одном и том же месте на протяжении нескольких сезонов, а значит, неизбежно переживают все фазы водного режима реки.

Из общего числа видов проволочников, обитающих в пойменных почвах (приложение, таблица 3), наиболее часто в поймах встречаются *A.obscurus*, *A.lineatus*, *D.marginatus*, *S.aeneus*, *Agripnus murinus*, *Sinaptus filiformis*, *A.sjaelandicus*, *Paraphotistus nigricornis* и *Athous subfuscus*.

На территории Саратовской области было отмечено 28 видов почвообитающих элатерид (Сажнев, 2007). Из них 19 видов могут встречаться в пойменных почвах (68%). В то же время в подзоне южной тайги Западной Сибири (Тюменская обл.) из 39 почвообитающих вида (Бухкало и др., 2011) в поймах встречается 21 вид (54%). Обитатели разлагающейся древесины здесь не рассматривались (*Ampedus*, *Melanotus*).

Видовой состав личинок Elateridae на катене лесостепной зоны был достаточно полно изучен (Стриганова, Емец, 1998) на примере Воронежского биосферного госзаповедника. Там из встреченных 25 видов почвенных личинок лишь 16 встречались на аккумулятивных позициях (64%).

Возможно, в более аридных условиях—степной зоны, пойменные виды составляют бóльшую долю от населения проволочников. Фауна Саратовской области исследована недостаточно, поэтому нельзя утверждать с уверенностью, что доля пойменных видов значительно различается в степи и в южной тайге.

Анализ сходства по видовому составу показал отсутствие значимых различий между комплексами проволочников пойменных и плакорных биотопов как в степной зоне, так и в южной тайге (p превышал 0,1).

3.2. Численность проволочников в степных местообитаниях и их место в структуре почвенной мезофауны

Численность представителей различных групп почвенной мезофауны пойм и плакоров европейской степи, а также трофическая структура почвенной мезофауны представлены в приложении (таблица 1).

Общая численность почвенной мезофауны на плакорах варьировала от 40 до 200 экз./м², а в пойменных биотопах была существенно выше – от 400 до 800 экз./м².

В пойменных и зональных биотопах значительную долю в комплексе почвенной мезофауны составляют проволочники (рис. 1). Исключение составляет лишь участок на плакоре типичной степи.

Численность элатерид на плакорах составляла: в сухой степи 40,5 экз./м² (21% от общей численности мезофауны), в типичной степи – 1,6 экз./м² (3%), в луговой степи – 26 экз./м² (17%). В пойменных биотопах составляла: в сухой степи – 59 экз./м² (10%), в типичной – 260 экз./м² (34%) и в луговой – 76 экз./м² (18%).

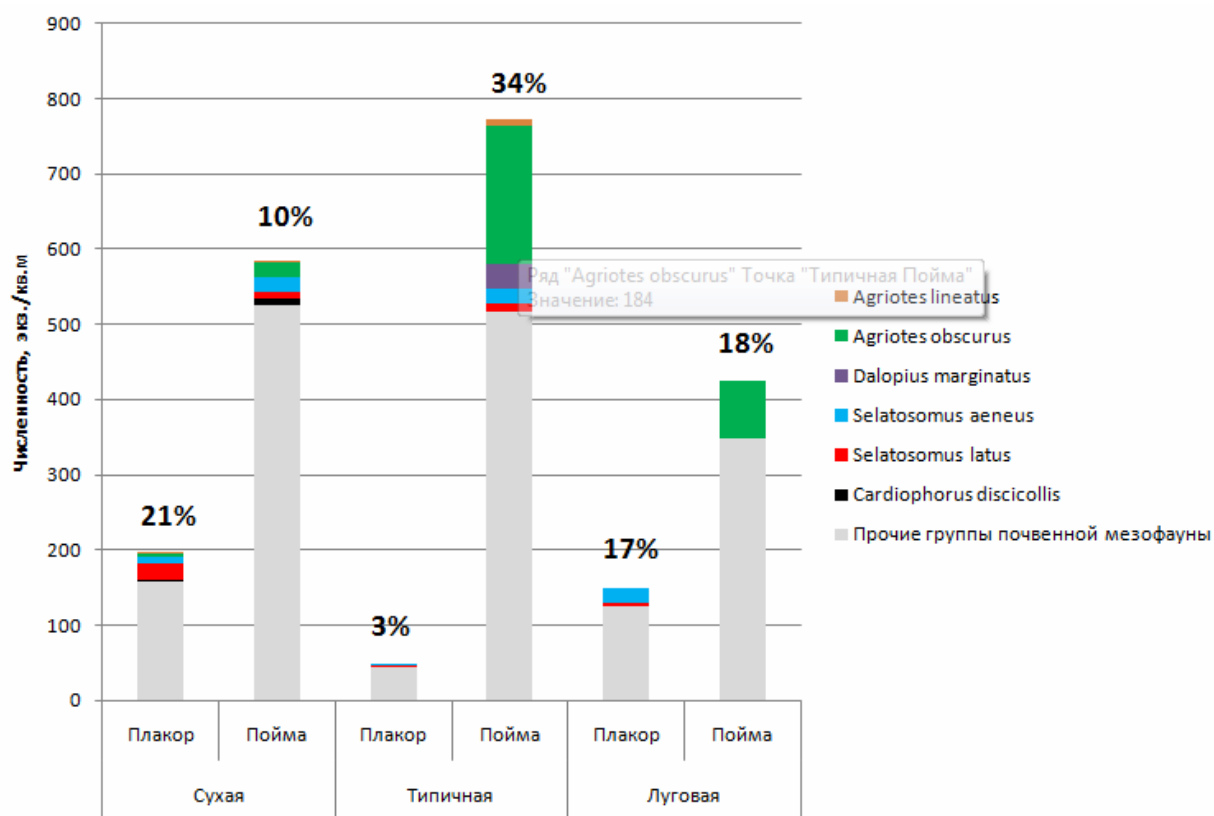


Рис. 1. Численность личинок жуков-щелкунов в сравнении с общей численностью почвенной мезофауны различных биотопов европейской степи на примере Саратовской области. Числа над столбиками показывают долю проволочников (по численности) в комплексе почвенной мезофауны.

Численность элатерид была максимальной в пойменных биотопах. В состав доминантов элатериды выходили в пойменной почве типичной степи (р.Карамыш) и на плакоре в сухой степи. На плакоре в сухой степи элатериды встречались преимущественно в парцеллах под пыреем (*Elytrigia repens*).

Численность проволочников в поймах была выше за счёт многочисленных представителей рода *Agriotes*. На плакорах *Agriotes* встречались единично или агрегациями и исключительно в парцеллах с пыреем.

Среди других встреченных видов лишь *Selatosomus aenus* и *S.latus* встречались как в поймах, так и на плакорах. Представители рода *Cardiophorus* обитали преимущественно в плакорных биотопах, а *Dalopius marginatus* встречался лишь в пойменных биотопах типичной степи.

На рис. 2 приведена трофическая структура почвенной мезофауны на шести исследованных позициях.

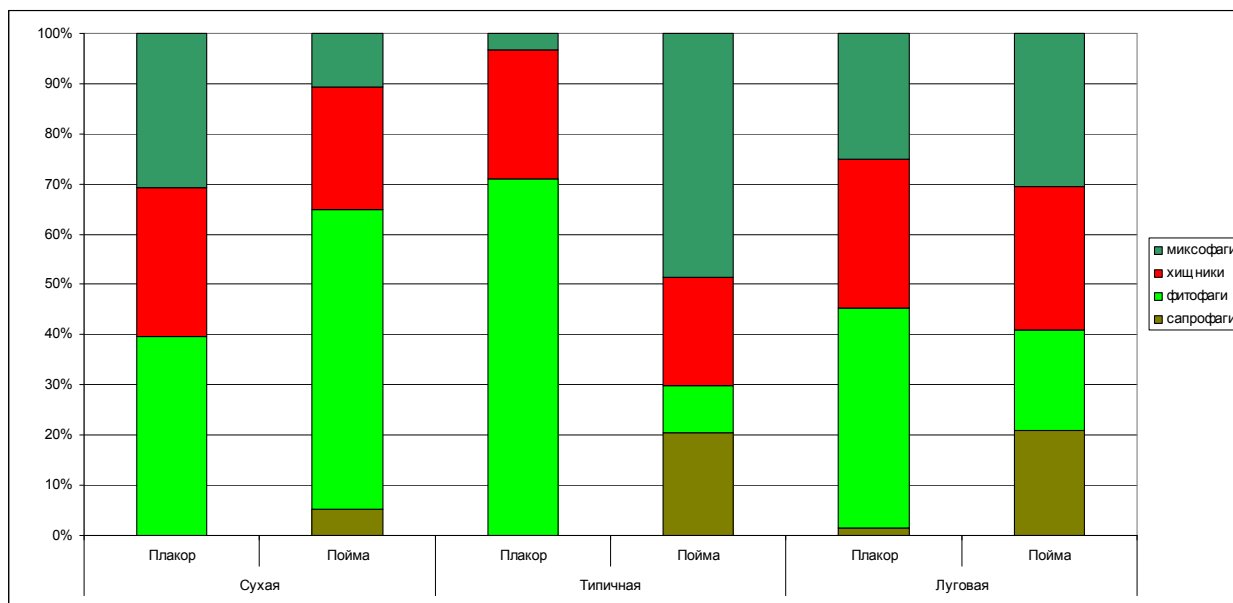
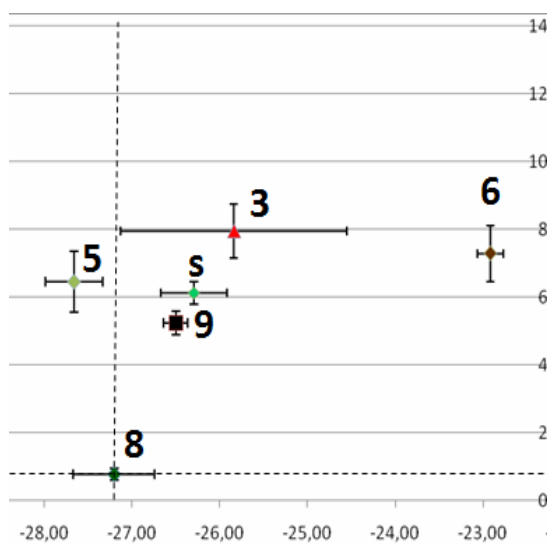


Рис. 2. Трофическая структура почвенной мезофауны (относительное обилие основных трофических групп).

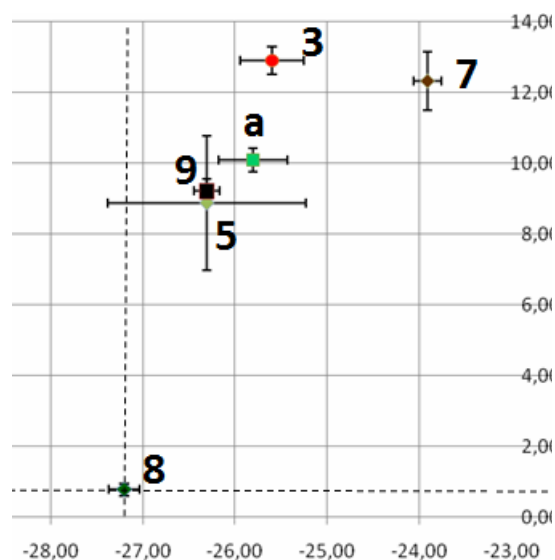
Обозначенная на рис. 2 группа миксофагов представлена по большей части проволочниками (от 60% обилия в пойме луговой степи до 100% на плякоре типичной степи). По литературным данным, у проволочников отмечены различные пищевые режимы: фитофагия, сапрофагия, хищничество, некрофагия (Долин, 1964). Ввиду высокой численности проволочников в почвах степных биотопов, трофические ниши отдельных видов и популяций нуждаются в уточнении, для того, чтобы охарактеризовать трофическую структуру почвенной мезофауны.

3.3. Трофические ниши исследованных видов проволочников

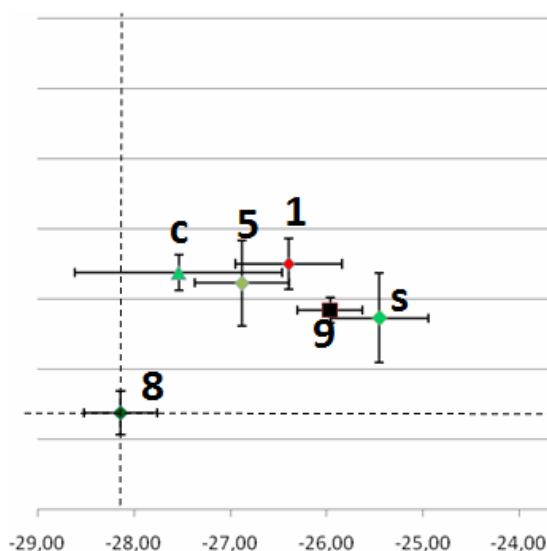
О предполагаемых трофических нишах проволочников можно судить по изотопным подписям их тканей, представленных на рис. 3. Проволочники *A.obscurus* и *A.lineatus* имеют сходные трофические ниши согласно литературным данным (Долин, 1964). На рис. 3 они представлены единой точкой. Аналогично – с *S.aeneus* и *S.latus*.



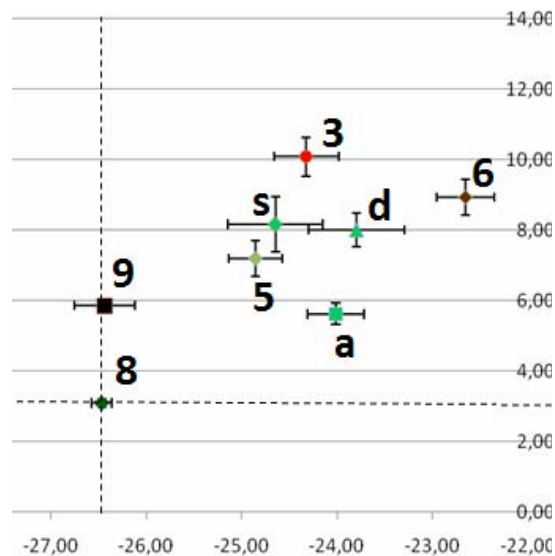
А. Луговая степь - плакор



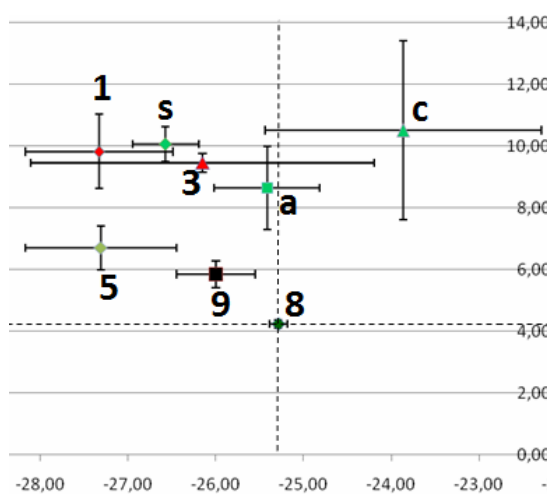
Б. Луговая степь - пойма



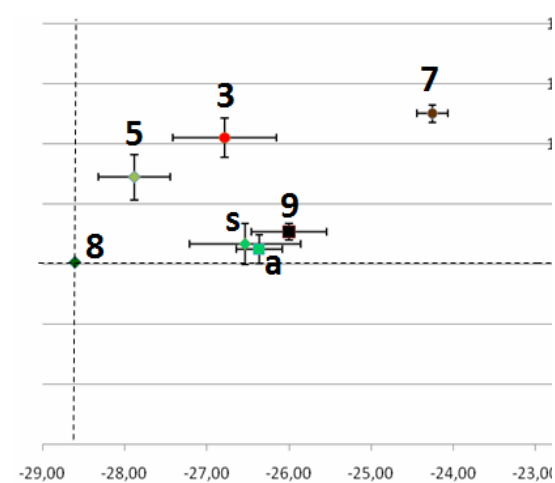
В. Типичная степь - плакор



Г. Типичная степь - пойма



Д. Сухая степь - плакор



Е. Сухая степь - пойма

Рис. 3. Изотопные подписи основных групп почвенной мезофауны в исследованных биотопах. По оси абсцисс – $\delta^{13}\text{C}$, ‰; по оси ординат – $\delta^{15}\text{N}$, ‰.

Примечание. s – *Selatosomus* spp.; a – *Agriotes* spp.; c – *Cardiophorus discicollis*; d – *Dalopius marginatus*, 1 – Asilidae; 2 – Therevidae; 3 – Geophilidae; 4 – Lithobiidae; 5 – Curculionidae; 6 – Enchytraeidae; 7 – *Aporrectodea rosea*, 8 – корни пырея (*Elytrigia repens*), 9 – почва.

Изотопные подписи проволочников сравнивали с подписями типичных почвенных фитофагов (личинки долгоносиков), сапрофагов (энхитреиды и люмбрициды) и хищников (хищные личинки ктырей и теревид, хилоподы).

В плакорных биотопах луговой степи встречались проволочники *S.aeneus*. Содержание тяжёлого изотопа N было близко к таковому у личинок долгоносиков, хотя проволочники были слегка обогащены тяжёлым углеродом. Таким образом, в этих биотопах *S.aeneus* ведут себя как фитофаги со склонностью к сапрофагии.

То же самое характерно для *S.aeneus* плакорных почв типичной степи. В типичной степи также встречался *Cardiophorus discicollis*, он занимал промежуточное положение между личинками ктырей и долгоносиков.

В плакорной почве сухой степи было встречено пять видов проволочников: *S.aeneus*, *S.latus*, *C.discicollis*, *A.obscurus*, *A.lineatus*. Их изотопные подписи находятся в той же области, что и подписи почвенных хищников – геофилид и ктырей.

В пойме луговой степи встречались лишь проволочники *A.obscurus*. Они проявляли себя как фитофаги, их позиция была близка к личинкам долгоносиков.

В пойме типичной степи *A.obscurus* и *A.lineatus* были обеднены тяжёлым азотом и обогащены тяжёлым углеродом относительно фитофагов (личинок долгоносиков), таким образом, они занимали позицию первичных сапрофагов (Potapov et al., 2014). Личинки *S.aeneus*, *S.latus* и *D.marginatus* были обогащены тяжёлым азотом относительно агриот, то есть проявляли большую склонность к хищничеству. В целом их позиция в пищевой сети находилась между растительноядными личинками долгоносиков и хищными геофилидами.

В пойме сухой степи *A.obscurus*, *A.lineatus* и *S.latus* занимали положение близкое к коллемболам-первичным сапрофагам (Potapov et al., 2014). Исключение составляли личинки *S.aeneus*, которые занимали позицию близкую к личинкам долгоносиков, т.е. предположительно выступали в роли фитофагов.

Сравнение изотопных подписей различных видов проволочников из одного и того же биотопа представлено на рис. 4.

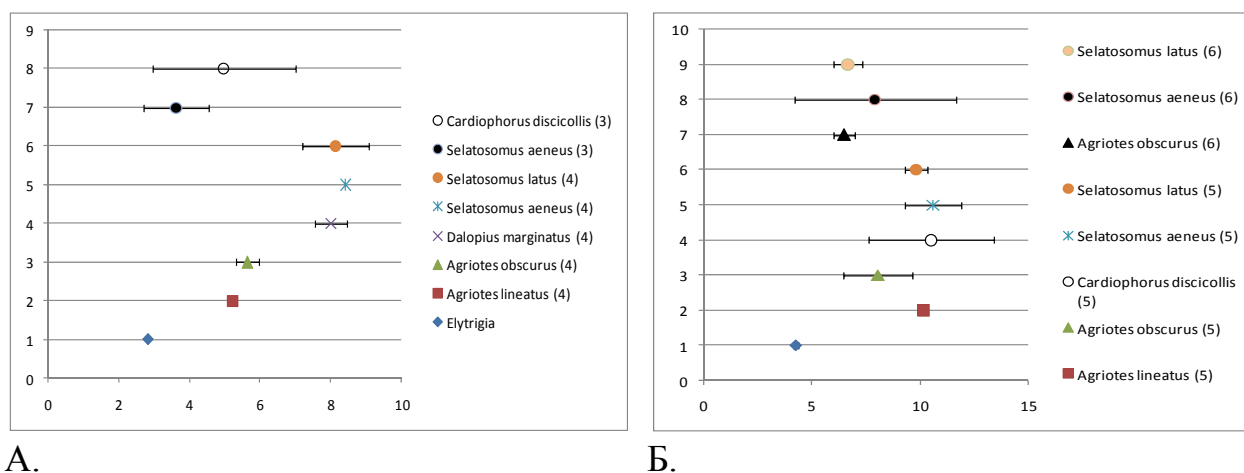


Рис 4. Содержание ^{15}N в тканях различных видов проволочников, ‰.

А: типичной степи (площадки 3 и 4),

Б: сухой степи (площадки 5 и 6)

В исследованных биотопах сухой степи (плакор и пойма) все встреченные виды проволочников имели сходное содержание тяжёлого азота. Это относится и к предполагаемым фитофагам *Agriotes*, и к предполагаемым облигатным хищникам и некрофагам *Cardiophorus*.

В пойме типичной степи оба вида *Selatosomus* занимают сходную позицию с предполагаемым хищником *Dalopius marginatus*, тогда как оба вида *Agriotes* обеднены тяжёлым азотом по сравнению с ними. Таким образом, в пойме типичной степи проволочники отчётливо разделяются на две группы – с большей и меньшей склонностью к хищничеству.

3.4. Биотопические различия трофических ниш проволочников

У всех видов проволочников, встречающихся и на плакоре, и в пойме, содержание тяжёлого азота, нормированное по корням пырея, выше в плакорных биотопах. У других исследованных групп животных такого не наблюдается (рис. 5).

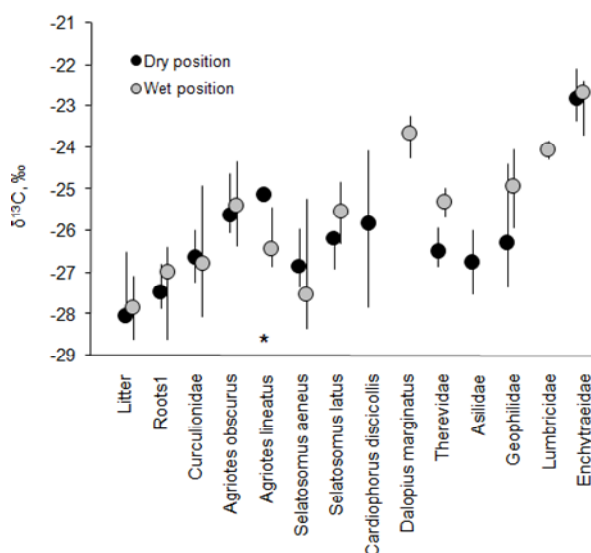


Рис.5 А. Содержание ^{13}C в тканях различных животных – медианы для плакоров и пойм.

Примечание.

Обозначены квартили, * - значимо согласно тесту Mann-Whitney U.

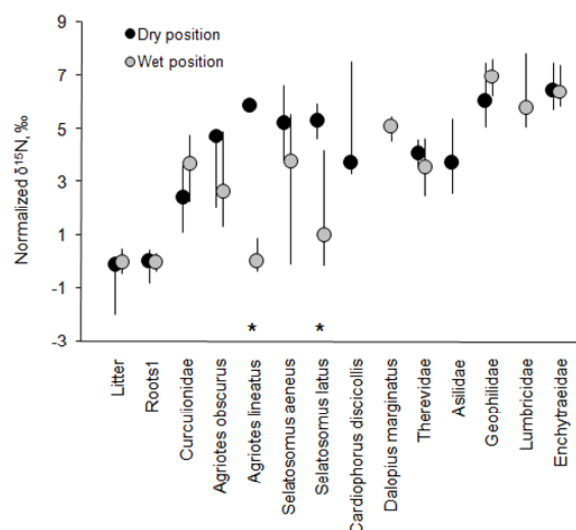


Рис.5 Б. Содержание ^{15}N , нормированное по корням пырея, в тканях различных животных – медианы для плакоров и пойм.

Примечание.

Обозначены квартили, * - значимо согласно тесту Mann-Whitney U.

Наибольшее количество материала было собрано в биотопах сухой степи (рис. 6). Там же собраны все четыре вида проволочников–миксофагов.

Для всех четырёх видов проволочников–миксофагов характерно более низкое содержание тяжёлого азота в пойменных биотопах, а для *S. aeneus* также пониженное содержание ^{13}C . Тогда как на плакоре встреченные виды занимают трофическую нишу, сходную с почвенными хищниками – геофилидами, в пойме *S. aeneus* занимает позицию близкую к фитофагам – личинкам жуков-долгоносиков, а остальные три вида – позицию близкую к первичным сапрофагам.

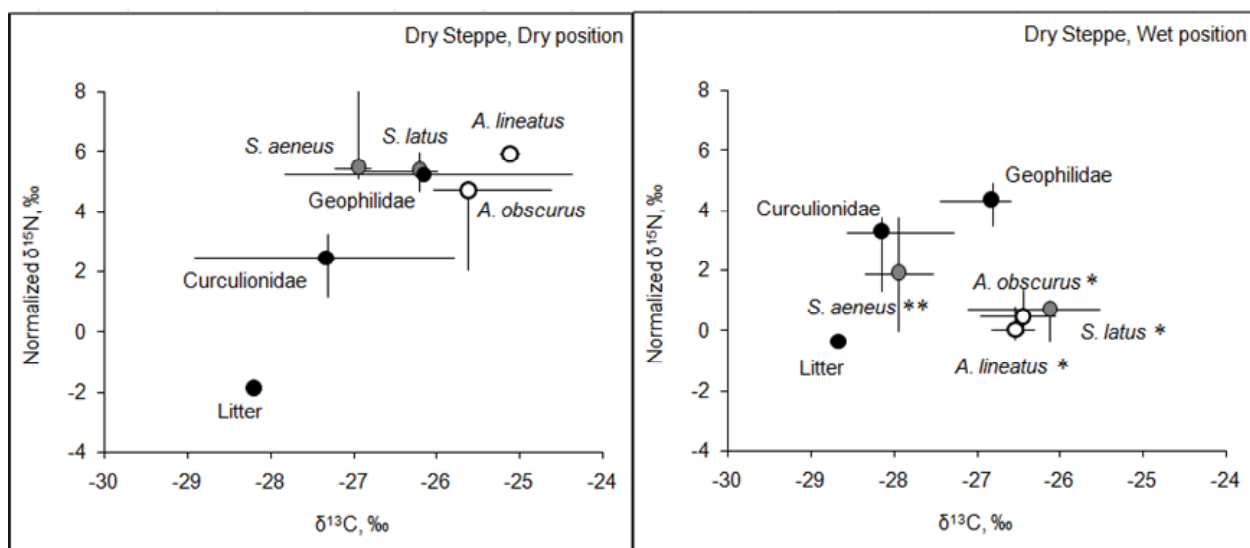


Рис 6. Трофические ниши проволочников в плакорном (слева) и пойменном (справа) биотопах сухой степи. Обозначены медианы и квартили.

* - содержание ^{15}N , нормированное по корням пырея, значительно отличается между проволочниками плакора и поймы, ** - также значительно отличается содержание ^{13}C . Mann-Whitney U тест.

3.5. Возрастные изменения трофических ниш проволочников

Исследовали зависимость изотопной подписи проволочников от возраста проволочников–миксофагов: *S.aeneus* (18 экз.), *S.latus* (31 экз.), *A.lineatus* (10 экз.) и *A.obscurus* (51 экз.). В качестве косвенной меры оценки возраста была использована длина тела личинок. В скобках указано число валидных повторностей для каждого вида.

У *S.aeneus*, *S.latus* и *A.lineatus* не обнаружено корреляции между возрастом и содержанием тяжёлого углерода или азота (значения r^2 были меньше 0.01).

Значения $\delta^{13}\text{C}$ личинок *A. obscurus* колебались от -27.2‰ до -22.8‰. Обнаружена сильная отрицательная корреляция ($r^2 = 0.5$, $a = -0.31$) между длиной тела и значениями $\delta^{13}\text{C}$ (Рис. 7А) для дата-сета личинок из всех биотопов.

Нормализованные значения $\delta^{15}\text{N}$ с длиной тела не коррелировали ($r^2=0.031$, $a = 0.077$) в случае дата-сета личинок из всех биотопов.

Дополнительно по той же схеме исследовали личинок *A.obscurus* отдельно из поймы сухой степи (площадка с наибольшей выборкой проволочников этого

вида). Между значениями $\delta^{13}\text{C}$ и длиной тела личинок одного биотопа также обнаружена сильная отрицательная корреляция ($r^2=0.6$, $a = -0.21$).

Кроме того, для личинок собранных в одном биотопе, обнаружена зависимость $\delta^{15}\text{N}$ от длины тела ($r^2=0.5$, $a = 0.33$) (рис. 7В). Вероятно, в дата-сети из личинок всех биотопов подобная зависимость не обнаруживается из-за сильных межбиотопических различий или из-за большой погрешности, вносимой нормализацией.

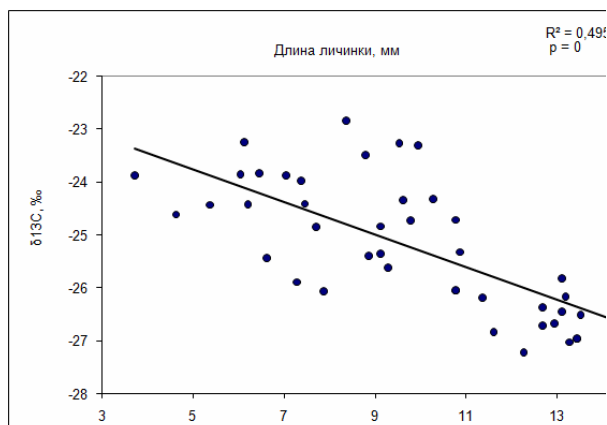


Рис. 7А. Зависимость $\delta^{13}\text{C}$ *A.obscurus* от длины тела (возраста личинки)

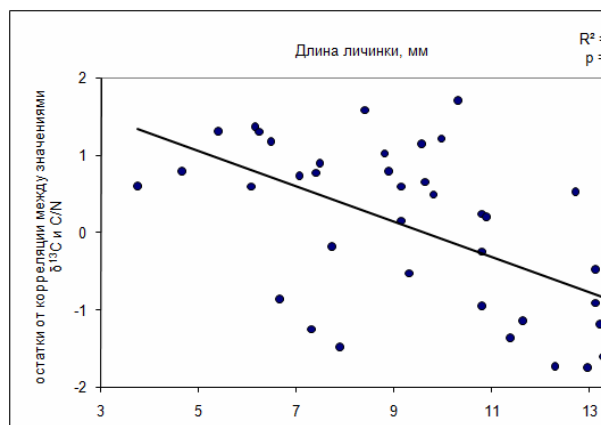


Рис. 7Б. То же, после удаления дисперсии, обусловленной C/N (содержанием жира)

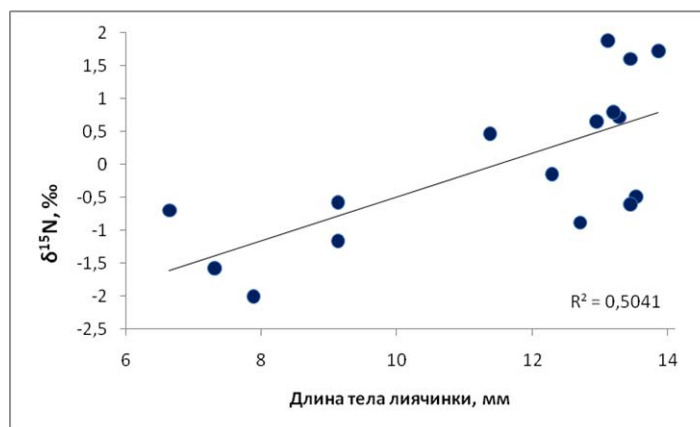


Рис. 7В. Зависимость $\delta^{15}\text{N}$ от длины тела личинки (пойма, сухая степь)

$\delta^{13}\text{C}$ может изменяться с возрастом не только потому, что личинка меняет свои пищевые предпочтения, но и потому, что с возрастом увеличивается содержание жиров в тканях (Potapov et al., 2014; Tsurikov et al., 2015).

Используя массовое соотношение C/N в качестве косвенной меры содержания жиров, мы рассчитали, какая доля дисперсии объясняется

изменением содержания жиров, а какая – сменой пищевого предпочтения (рис. 7В).

Значительная часть дисперсии объясняется содержанием жиров, но большая часть всё-таки сменой пищевых предпочтений.

3.6. Обсуждение результатов

Определяя позицию проволочников в трофических сетях, прежде всего, следует отметить, что их положение различается на основных геоморфологических позициях – в поймах и на плакорах.

Лишь ряд видов проволочников способен выживать в пойменных условиях – при регулярных затоплениях и подтоплениях почвы, что было показано на основании собственных результатов и анализа литературы.

В обеих исследованных нами зонах комплексы проволочников пойм и плакоров значимо не различаются (ANOSIM). Однако для пойменных биотопов всегда типична относительно высокая численность проволочников рода *Agriotes*. Для пойменных биотопов Западной Сибири также типичны личинки *Limonius parallelus*, на плакорах не встречающиеся. И наоборот, нередко что вид, встречающийся на плакоре в поймы не заходит, что показано на примере Западной Сибири для ряда видов (*Cardiophorus vestigialis*, *Prosternon tessellatum*, *Liotrichus affinis*).

Из-за особенностей строения кутикулы, хорошо пропускающей влагу (Семёнова, 1958; Гиляров, 1970) почвенная влажность является основным фактором, определяющим распространение проволочников. При движении с севера на юг снижается как абсолютная численность проволочников, так и их доля в комплексе почвенной мезофауны. В подзоне сухой степи они уступают своё место личинкам и имаго чернотелок (Сахаров, 1947).

Таким образом, в степной зоне различия в населении проволочников пойменных и зональных биотопов объясняются недостатком почвенной влаги, тогда как в таёжной зоне – толерантностью видов к периодическим затоплениям и подтоплениям почвы. Это подтверждается тем, что (1) по градиенту нарастания

аридности климата, в региональной фауне возрастает доля видов проволочников, встречающихся в поймах (в тайге – 54%, в лесостепи – 64%, в степи – 68%) и (2) в степи численность проволочников всегда выше в пойменных биотопах, чем в зональных, а в южной тайге такой закономерности не наблюдается.

Почвенная влажность определяет не только видовой состав и численность проволочников в том или ином биотопе, но и характер питания проволочников.

Нами обнаружены биотопические различия трофических ниш проволочников–миксофагов наиболее массовых видов.

Проволочники–миксофаги в зональных биотопов содержат больше тяжёлого азота, что свидетельствует о большей склонности к хищничеству. В целом позиция проволочников на плакоре близка к позиции типичных хищников – геофилид, личинок ктырей и лжектырей. Это было показано как для *S.aeneus* и *S.latus*, так и для иногда встречающихся на плакорах *Agriotes*, по литературным данным обладающих выраженной склонностью к фитофагии.

В пойменных условиях личинки *Agriotes* и *Selatosomus* обладают пониженным содержанием тяжёлого азота, а значит и меньшей склонностью к хищничеству. Однако, в пойменных условиях их уточнённая трофическая ниша не всегда ясна. В пойме луговой степи встреченные *Agriotes* были близки к фитофагам – личинкам долгоносиков. *Agriotes* в типичной степи занимали позицию, близкую к первичным сапрофагам.

Selatosomus в пойме типичной степи занимал промежуточное положение между хищниками-геофилидами и фитофагами – личинками долгоносиков. При этом его позиция совпадала с таковой *Dalopius marginatus*, по литературе считавшегося типичным хищником (Долин, 1964). А в пойме сухой степи *S.aeneus* занимал положение близкое к фитофагам – личинкам долгоносиков, в то время, как *S.latus*, *A.obscurus* и *A.lineatus* занимают позицию, типичную для первичных сапрофагов (Potapov et al., 2014).

По всей видимости, в зональных биотопах проволочники–миксофаги переходят к более энергозатратному типу питания – хищничеству – в связи с недостатком питания и/или влаги, которые они способны получать из подстилки и

корней растений в пойменных условиях. Среди беспозвоночных животных нет известных примеров перехода к хищничеству для восполнения недостатка влаги. Хотя известно, что вороны при недостатке воды хищничают на черепахах и перестают при появлении возможности питья (Hanks et al., 2009). Переход к хищничеству также может быть вызван недостатком азота, что было показано как для позвоночных (Caris, 1958; Estók, 2011), так и для беспозвоночных (Raubenheimer et al., 2007; Lewis, 1965) животных.

Иным возможным объяснением может являться большая доступность на плакорах подходящих жертв. Однако среди представителей мезофауны на плакорах не наблюдается бóльшего обилия подходящих по размерам групп (приложение, таблица 1), а количественные учёты микроартропод и энхитреид не проводились.

Обнаруженные различия в пищевых предпочтениях проволочников–миксофагов на плакорах и в поймах типичны для степной зоны. Однако не следует распространять наши выводы на более северные природные зоны, поскольку в таёжной зоне смена населения проволочников при движении по катене носит иной характер – не наблюдается однозначного роста численности и разнообразия проволочников в пойме, как в степной зоне.

Обнаружена также возрастная смена пищевых предпочтений у личинок *A.obscurus*. У них с возрастом уменьшается доля тяжёлого углерода, в связи со сменой пищевых предпочтений (по крайней мере, частично).

Это свидетельствует о переходе от сапрофагии или хищничества на сапрофагах к фитофагии или хищничеству на фитофагах.

Это соотносится с прямыми наблюдениями того, как молодые личинки весной питаются разлагающимися растительными тканями, а потом переходят на питание молодыми проростками (Черепанов, 1965). Однако впервые возрастная смена питания была обнаружена у личинок собранных одновременно, в одном и том же месяце, что говорит о том, что подобная смена происходит из-за

предпочтений личинки, а не из-за доступности корма, как считали ранее (Черепанов, 1965).

Положительная корреляция между содержанием тяжёлого азота в тканях и возрастом, обнаруженная у личинок *A.obscurus* из одного биотопа (пойма, сухая степь) является свидетельством в пользу того, что склонность к хищничеству у *A.obscurus* увеличивается с возрастом.

Обнаруженная нами вариабельность трофических ниш проволочников–миксофагов представляет интерес и нуждается в отдельном объяснении. В литературе имеются свидетельства варьирования трофических ниш у других животных, например, питания литобиид опадом (Lewis, 1965) или хищничество коллембол–микофагов (Chernova et al., 2007). В случае проволочников–миксофагов вариабельность ещё шире, и должен существовать механизм, позволяющий переваривать столь различные пищевые субстраты. Вместе с тем, пищеварительный тракт проволочников простой, трубковидный, по строению близкий к хищным личинкам (Гиляров, Семёнова, 1977) и не различается у различных трофических групп.

ГЛАВА 4. ИНТЕСТИНАЛЬНЫЕ МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА ПРОВОЛОЧНИКОВ

4.1. Общая характеристика интестинальных микробных сообществ проволочников

4.1.1. Общая численность микроорганизмов

Сравнительные исследования общей численности клеток микроорганизмов в кишечнике проволочников (*A.obscurus*, *S.aeneus*, *A. pomorum*) и в средах их обитания (пойменная почва и гниющая древесина) проводили с использованием метода люминесцентной микроскопии. В кишечнике личинок количество микроорганизмов было на 1-2 порядка меньше, чем в гумусовом горизонте почвы и разлагающейся древесине (в случае *A.pomorum*). Общая численность бактериальных клеток в почве составляла порядка 1,7 млрд/г, в древесине – 7,5 млрд/г, тогда как у проволочников она колебалась от 10^7 до $1,5 \cdot 10^8$ клеток/г, что составляло в пересчёте на одну личинку – от 20 до 300 тысяч клеток.

Общая длина грибных гиф в почве и древесине составляла соответственно— 120 м/г и 6000 м/г. В содержимом кишечника проволочников гифы были единичны, а у *A.obscurus* вовсе отсутствовали.

Видоспецифичных различий в общей численности интестинальных микроорганизмов у трёх исследованных видов методом прямого счёта выявлено не было (рис. 8).

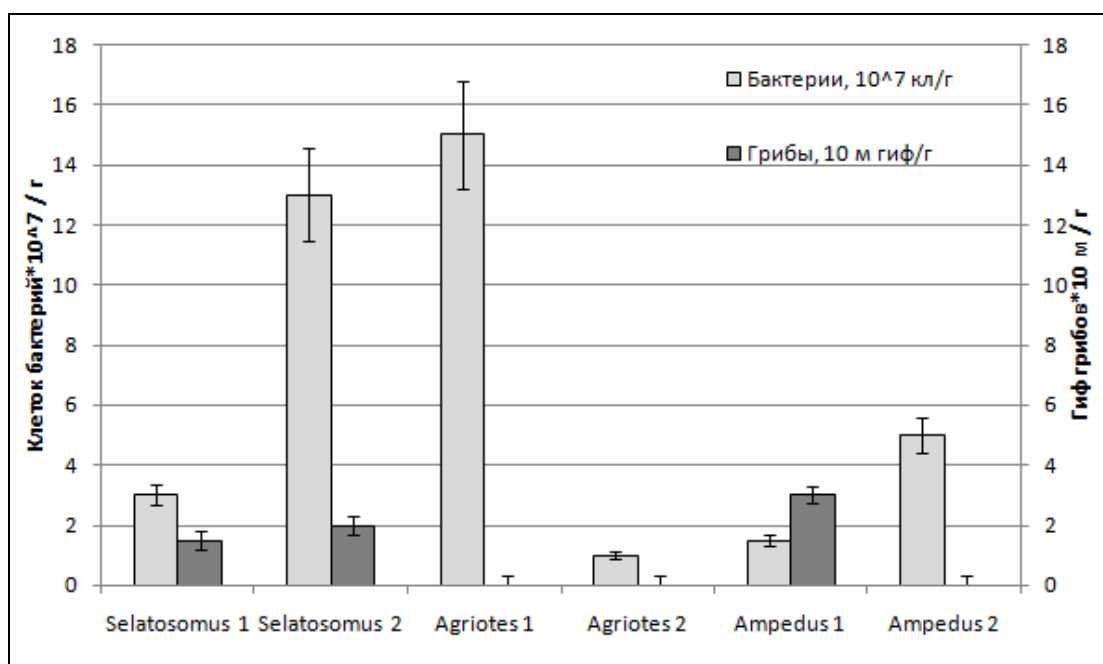


Рис. 8 Общая численность клеток бактерий и гиф грибов в содержимом кишечника проволочников, измеренная методом прямого счёта, в пересчёте на грамм.

4.1.2. Численность физиологически активных клеток

Суммарную численность физиологически активных клеток определяли у почвенных личинок методом FISH. В почве количество физиологически активных клеток составляло $0,424 \pm 0,068$ млрд клеток на г, в содержимом кишечника *A. obscurus* – $0,802 \pm 0,26$, в содержимом кишечника *S. aeneus* – $1,11 \pm 0,143$. (Рис. 9).

В образцах содержимого кишечника проволочников число физиологически активных клеток было выше, чем в почве (рис. 9), тогда как общая численность (прямой счёт) – ниже примерно на порядок. Таким образом, если в почве лишь менее половины эубактериальных клеток являются физиологически активными и идентифицируемыми зондами EUB338-mix, то в содержимом кишечника они составляют подавляющее большинство: физиологически активных архей, актинобактерий и гамма-протеобактерий в содержимом кишечника значительно больше, чем в почве.

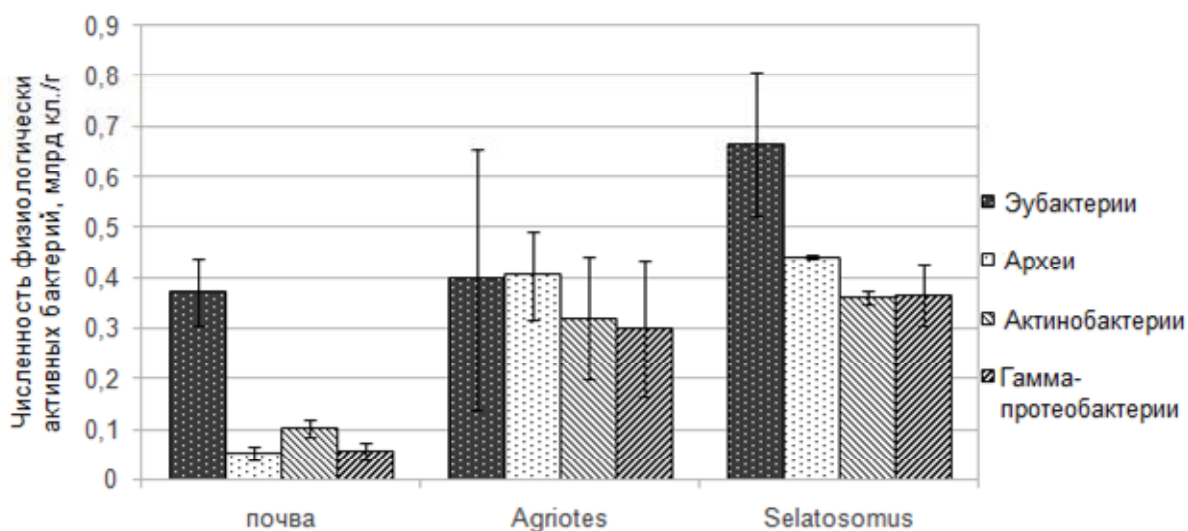


Рис. 9. Численность физиологически-активных клеток различных таксонов микроорганизмов, измеренная методом FISH.

Число физиологически активных клеток актинобактерий и гамма-протеобактерий в кишечнике проволочников распределялось примерно поровну. Среди физиологически активных клеток в кишечнике проволочников большую роль играют археи (рис. 9), численность которых на порядок выше, чем в почве. У *A. obscurus* археи преобладают по числу клеток, а у *S. aeneus* они составляют около 40 %. В составе эубактериального населения многочисленны группы актинобактерий и гамма-протеобактерий. Актинобактерии широко распространены в почвенных и водных сообществах, большинство – аэробы, участвующие в разложении клетчатки и хитина. Гамма-протеобактерии включают группы энтеробактерий и псевдомонад. Среди них известно много симбиотических форм, связанных преимущественно с водными беспозвоночными.

В исследованных почвенных образцах актинобактерии составляли примерно треть общей численности активного бактериального сообщества, а обилие гамма-протеобактерий было на порядок ниже. В кишечнике почвенных личинок численность актинобактерий и гамма-протеобактерий соотносилась примерно 1:1. В сумме численность обеих групп в кишечнике выше, чем в почве.

Видоспецифических различий в численности интестинальных бактерий методом FISH не было обнаружено.

4.1.3. Таксономическая структура комплекса сапротрофов

Определение таксономической структуры сообщества сапротрофных микроорганизмов кишечника проволочников проводили путем посева на глюкозо-пептонно-дрожжевую среду (ГПД), которая использовалась в других исследованиях ИМС беспозвоночных (Добровольская, 2002).

При посевах на ГПД число КОЕ сапротрофных форм бактерий в почве и древесине было одного порядка ($1.1 \cdot 10^7$ и $1.7 \cdot 10^7$ КОЕ/г соответственно).

Численность КОЕ сапротрофов, выделенных из содержимого кишечника личинок разных видов была сходной. У *A. pomorum* $0,12-1 \cdot 10^7$ КОЕ/г, у *S. aeneus* – $0,57-2 \cdot 10^7$ КОЕ/г, у *A. obscurus* – $1,8-3,5 \cdot 10^7$ КОЕ/г.

Таксономический состав и структура сапротрофного бактериального населения в кишечнике личинок и среде их обитания кардинально различались (рис. 10). В почве доминировали группы гидролитического комплекса – стрептомицеты, бациллы, миксобактерии, а также коринеподобные бактерии. В древесине состав сапротрофной микрофлоры обеднен в сравнении с почвой, хотя общая численность в полтора раза выше. В ней присутствовали все встречавшиеся в почве группы гидролитического комплекса, а также бактерии рода *Cytophaga*.

В кишечнике *A. obscurus* из почвенных групп были многочисленны миксобактерии и коринеподобные бактерии, при этом показатели абсолютной численности последних были на порядок выше, чем в почве.

В почве коринеподобные бактерии были представлены *Corynebacterium spp.*, а в кишечнике почвенных личинок они были представлены родами, которые в почве не встречались.

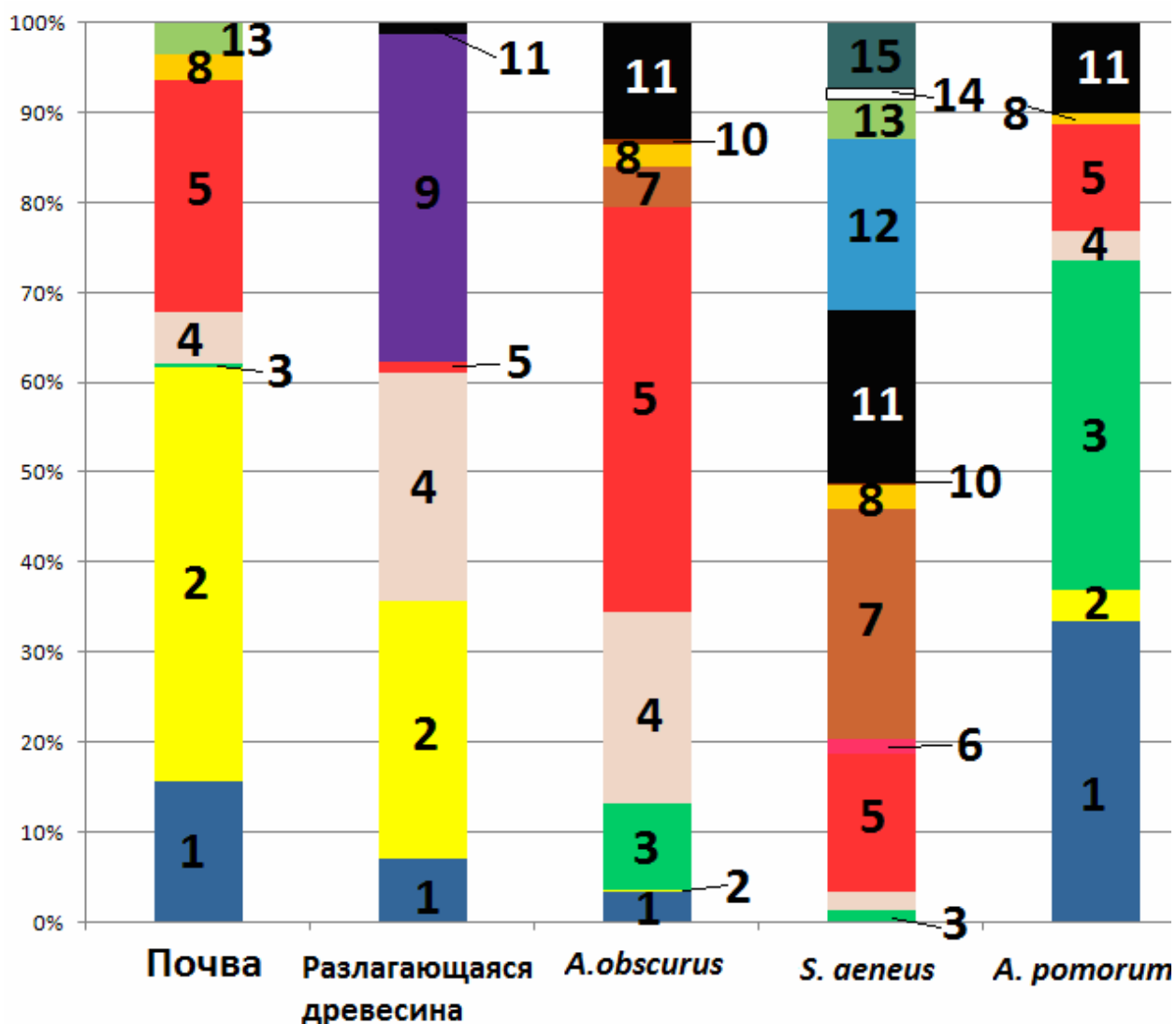


Рис. 10. Таксономическая структура комплекса сапротрофов кишечника исследованных видов проволочников и субстратах

1 – *Streptomyces* spp., 2 – *Bacillus* spp., 3 – грамположительные кокки (*Micrococcus luteus* и др.), 4 –пор. Мухосcoccales, 5 – коринеподобные бактерии, 6 – *Nocardioidees plantarum*, 7 – *Acinetobacter* sp., 8 – *Erwinia* spp., 9 – *Cytophaga* spp., 10 – *Xanthomonas* spp., 11 – сем. Enterobacteriaceae, 12 – *Aquaspirillum* spp., 13 – *Gluconobacter* spp., 14 – сем. Vibrionaceae, 15 – *Mesorhizobium amorphae*.

У *A. obscurus* доминировали *Microbacterium paraoxydans*, *M. oxydans* и *Tsukamurella tyrosinolvens* (или *T. pulmonis*). У этих личинок выявлено также высокое обилие бактерий, характерных для кишечника животных, представленных кокками, *Acinetobacter* spp. и представителями сем. Enterobacteriaceae. Кокки встречались и в почве в незначительном количестве, а две последние группы в ней отсутствовали. В кишечнике отмечены также *Xanthomonas* spp. и *Erwinia* spp., встречающиеся на растительности.

В кишечнике *S. aeneus* общая численность сапротрофных бактерий была вдвое ниже, чем у *A. obscurus*. Стрептомицеты и бациллы отсутствовали вовсе, миксобактерии представлены в незначительном количестве. Обилие коринеподобных бактерий было практически такое же, как в почве, среди них доминировала *Tsukamurella tyrosinolvans*, встречающаяся и в кишечнике *A. obscurus*. Среди кишечных форм, кроме кокков, *Acinetobacter* и бактерий из сем. Enterobacteriaceae встречались представители сем. Vibrionaceae, не обнаруженные в почве и у *A. obscurus*. У *S. aeneus* групповое разнообразие интестинальных микроорганизмов выше по сравнению с *A. obscurus*. В частности, у них найден *Gluconobacter*, связанный с очагами разложения сахаристых продуктов и встречающийся в почве в незначительном количестве, а также обитатели растительных тканей *Nocardioides plantarum* и *Mesorhizobium amorphae* и водные *Aquaspirillum* spp.

В кишечнике древесного хищника *A. pomorum* обилие сапротрофной микрофлоры втрое ниже, чем в древесине, у них не выделялись *Cytophaga* spp., в гидролитическом комплексе представлены только стрептомицеты. В древесине формы, типичные для кишечника беспозвоночных, не обнаружены, а в кишечнике личинок они были представлены грамположительными кокками и энтеробактериями (2.1 млн КОЕ/г). Численность коринеподобных бактерий в кишечнике была значительно выше, чем в древесине, культуры не определялись до вида.

Из одного смешанного образца содержимого кишечника *A. obscurus*, на ГПД была выделена монокультура пигментообразующих *Pseudomonas* sp. Результаты по этому образцу не представлены на гистограммах.

Разнообразие бактериальных культур было минимальным в содержимом кишечника *A. pomorum*: величина индекса Шеннона составляла у него 2,25, тогда как у *A. obscurus* и *S. aeneus* – 3,11 и 3,2 соответственно, а в почве и разлагающейся древесине – 3,72 и 1,4.

4.1.4. Таксономическая структура комплекса азотфиксаторов

Структура комплекса азотфиксирующих организмов по результатам посева на безазотную среду Эшби у *A.obscurus* и *S.aeneus* была сходной: у них доминировали коринеподобные бактерии *Microbacterium oxydans* (*Microbacterium foliorum*, *Microbacterium maritipicum*).

У *S.aeneus* общая численность бактерий на среде Эшби достигала 10^8 КОЕ/г. Структура комплекса отличалась монодоминантностью: около 98% составляли *M.oxydans*, около 2% представители пор. Мухососcales, единично встречались *Tsukamurella tyrosinolvens*.

У *A.obscurus* общая численность азотфиксаторов составляла $2,4-5,4 \cdot 10^6$ КОЕ/г, и таксономическое разнообразие было несколько выше. Лишь 68-70% составляли *M. oxydans*; также были обнаружены ещё три культуры коринеподобных бактерий, в том числе *T. tyrosinolvens* (по 1-3%), представители пор. Мухососcales (10-14%), *Flavobacterium* sp. (4-10%), актиномицеты (6-7%), *Micrococcus luteus* (единично).

В отличие от почвенных личинок, у *A.pomorum* общая численность азотфиксаторов была низкой – $1,2-3,6 \cdot 10^5$ КОЕ/г. Таксономическая структура также кардинально отличалась от таковой у почвенных личинок: 66-67% составляли бациллы и 33% грамположительные кокки (*M. luteus* и др.).

4.1.5. Функциональное разнообразие микробных сообществ

Параметры функционального разнообразия и устойчивости микробных сообществ кишечника личинок, определенные методом МСТ, приведены в таблице 2.

Таблица 2. Параметры функционального разнообразия микробных комплексов

	N*	W	E	H	d	G
<i>A.obscurus</i>	32-34	1980-2657	0,983-0,993	4,914-5,05	0,89-0,359	95,72-222,84
<i>S.aeneus</i>	20-32	1427-2624	0,981-0,985	4,24-4,93	1,769-0,6	28,26-133,3
<i>A.potomum</i>	18-24	1299-1322	0,955-0,986	4,1-4,52	1,79-1,785	21,3-33,61
Почва	21	2356,05	0,96	4,217	0,709	74,05
Древесина	37	3162,24	0,986	5,14	0,045	2055,56

N – число потребляемых субстратов, W – средняя интенсивность потребления субстратов, E – выравненность, H – индекс Шеннона, d – параметр, обратно пропорциональный устойчивости, G – интегральный индекс витальности.

* два числа – два проанализированных образца

Устойчивость и функциональное разнообразие ИМС возрастали в ряду *A.potomum* – *S.aeneus* – *A.obscurus*, что соответствует повышению склонности личинок к растительной пище, согласно определению пищевых режимов проволочников В.Г.Долина (1964).

Минимальные значения параметров функционального разнообразия и устойчивости были характерны для ИМС древесных личинок *A.potomum*, в то время как в древесине эти параметры достигали максимальных значений.

У микробных сообществ кишечника *S.aeneus* и *A.obscurus* наблюдается сходное потребление ряда групп субстратов (рис. 11). Вместе с тем, олигозы и аминокислоты активнее потребляются микрофлорой *A.obscurus*, а азотсодержащие соединения (кроме аминокислот) более активно потребляются микроорганизмами кишечника *S.aeneus*. Микробное сообщество кишечника *A.potomum* значительно менее интенсивно потребляет все группы субстратов, кроме полимеров (крахмал, твин, декстран).

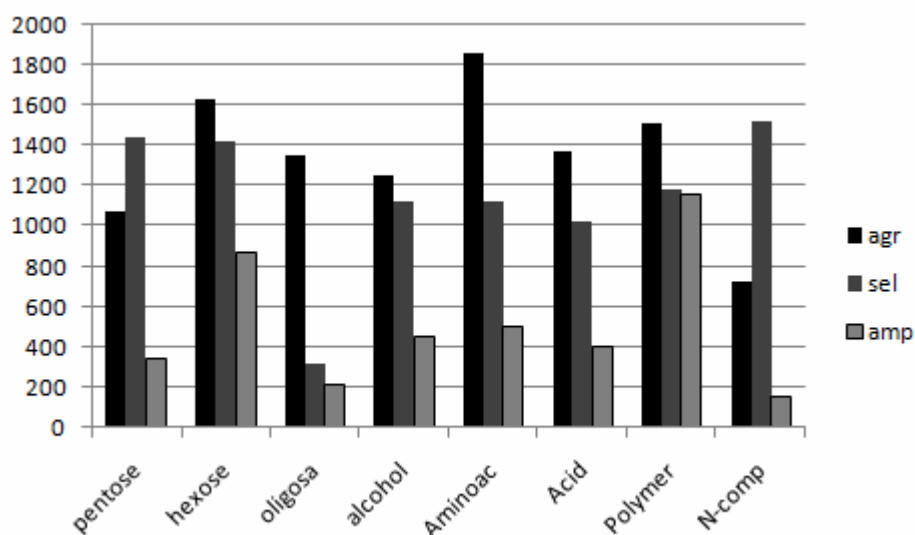


Рис. 11 Потребление групп субстратов ИМС проволочников.

Список субстратов, использованных для МСТ, включал 14 аминокислот, 8 солей карбоновых кислот, 13 сахаров. Оптическая плотность потребляемых субстратов варьировала от 400 до 4500. на этой шкале были выделены 4 степени активности потребления субстратов: 1 – до 1200, 2 – 1400-2000, 3 – 2200-3000 и 4 – более 3200.

Из 14 тестируемых аминокислот ИМС *Agriotes* потреблял все субстраты, *Selatosomus* – 13, *Ampedus* – 9 аминокислот. У *Agriotes* отмечена бимодальная активность в отношении разных аминокислот с пиками в областях самой высокой и самой низкой степеней потребления (рис. 12). У *Selatosomus* для большей части аминокислот отмечена 2-я степень и у *Ampedus* – 1-я степени активности потребления.

Из 8-и тестируемых солей органических кислот ИМС *Agriotes* и *Selatosomus* потребляли все, а *Ampedus* – всего 6. При этом большая часть солей у первых двух видов потреблялась с наименьшей активностью (2 и 1-я степени), а у *Ampedus* – с максимальной.

Все тестируемые сахара потреблялись ИМС всех трёх видов, у *Agriotes* большая часть – на уровне второй степени активности, у *Selatosomus* и *Ampedus* – с максимальной активностью.

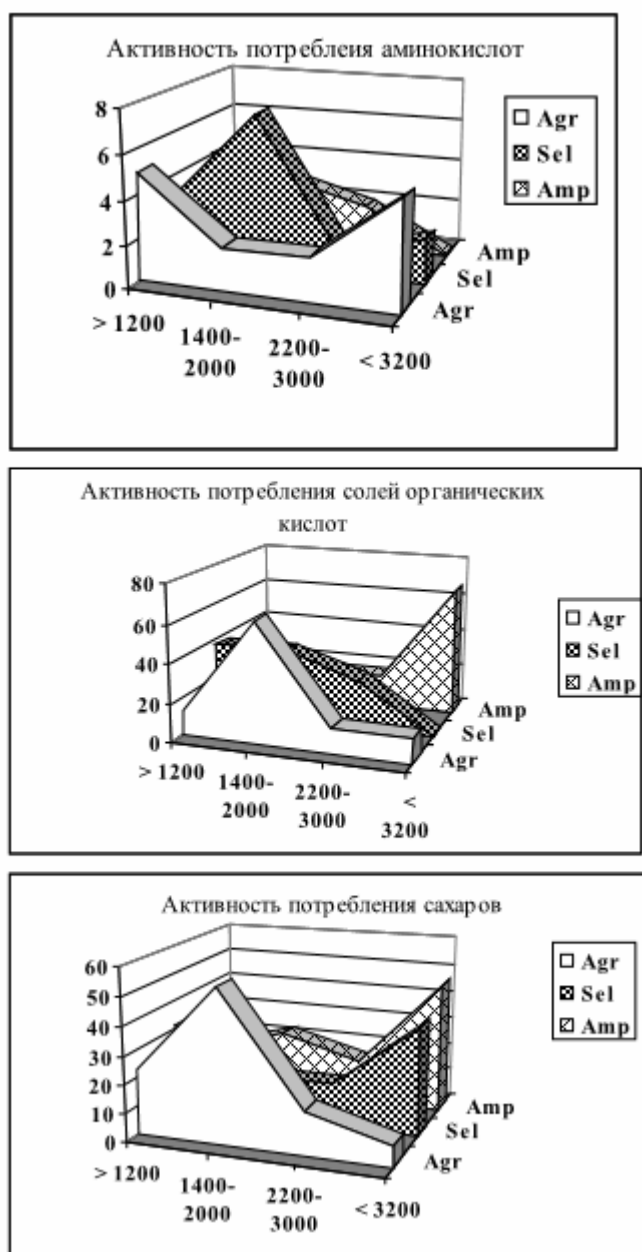


Рис. 12. Активность потребления ИМС субстратов различных групп. По оси ординат отмечена доля субстратов, потреблявшихся с указанной интенсивностью (оптическая плотность), от общего числа предложенных субстратов данной группы.

4.2. Аборигенные и транзитные компоненты интестинальных сообществ

В ИМС выделялись «аборигенные» и «транзитные» компоненты. Аборигенными назывались группы микроорганизмов, нетипичные для окружающей проволоочника среды, имманентные компоненты флоры кишечника.

Транзитными назывались формы, типичные для субстрата, попадающие в кишечник случайно с пищей.

Согласно нашим данным «аборигенные» компоненты в комплексе сапротрофов кишечника почвенных проволочников составляли от 60 до 90 % (рис. 13). Сходные результаты были получены для проволочников тех же видов и из подзоны южной тайги. Там доля «аборигенных» бактерий в сапротрофном комплексе составляла около 70%.

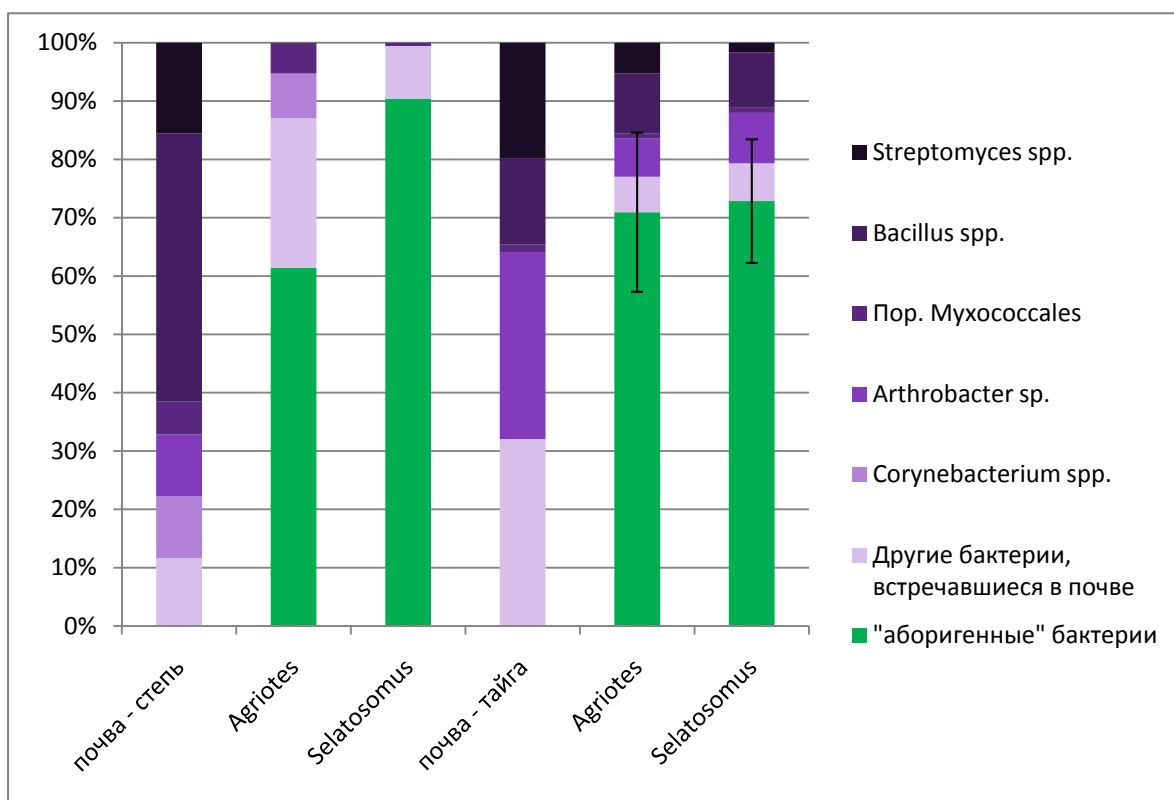


Рис. 13 Доля «аборигенных» бактерий в структуре комплекса интестинальных сапротрофов проволочников. Планками погрешностей обозначены $\pm SD$.

Таким образом, доля «аборигенных» компонентов в интестинальном комплексе сапротрофов исследованных проволочников–миксофагов составляет около 70% без биотопических и видоспецифических различий. Реальная доля аборигенных компонентов может быть ещё выше, поскольку, например, все бактерии рода *Arthrobacter*, обнаруженные в кишечнике мы считали транзитными культурами, тогда как, возможно, существуют штаммы *Arthrobacter*,

встречающиеся только в кишечнике. То же справедливо для стрептомицетов, бацилл и др. Таким образом, приведённая оценка является лишь нижней границей.

«Аборигенные» компоненты сапротрофного комплекса кишечника древесных личинок *A. pomorum* составляют лишь около 50% (рис. 13). Они представлены преимущественно грамположительными кокками (*Micrococcus* и др.) и энтеробактериями. Половину численности сапротрофных бактерий в кишечнике составляют культуры, предположительно привносимые из древесины – стрептомицеты, бациллы и др. Вместе с тем, бактерии рода *Cytophaga*, доминировавшие в разлагающейся древесине (более 35%) в кишечнике *A. pomorum* не встречались.

У всех проволочников сходство сообщества сапротрофов кишечника и среды обитания было низким: коэффициент Брея-Кёртиса, учитывающий численность группы для пары кишечник-среда у *A. obscurus* оставлял 0.23, у *S. aeneus* – 0.25, у *A. pomorum* – 0.16. Низкое сходство микробных сообществ кишечника *A. pomorum* и разлагающейся древесины объясняется обилием в древесине бактерий *Cytophaga* spp. и высокой общей численностью бактерий.

У древесных личинок *A. pomorum* дополнительно исследовали состав интестинальных микромицетов. В литературе имеются данные о связи личинок Elateridae с базидиомицетами (Гончаров, Тиунов, 2013). Кроме того, согласно нашим данным, полученным с помощью люменисцентной микроскопии (рис. 8), численность грибов была максимальной именно у *Ampedus pomorum*.

Из кишечника *A. pomorum* были выделены микромицеты *Trichoderma harsianum*, *Aspergillus clavatus*, *Penicillium citrinum*. Коэффициент разнообразия (по Шеннону) составлял 1,31. Все микромицеты встречались единично, не более чем на одной чашке. Все три обнаруженных вида встречались также и в гниющей древесине, в которой обитали *Ampedi* (таблица 3).

В древесине разнообразие грибов было существенно выше: найдено 9 видов, величина индекса Шеннона составляла 2,51.

Таблица 3. Численность микромицетов в кишечнике *A.pomorum* и в разлагающейся древесине (КОЕ/г).

	Сусло-агар		Минеральная среда Чапека для грибов	
	древесина	<i>Ampedus</i>	древесина	<i>Ampedus</i>
<i>Rhizopus oryzae</i>	2000			
<i>Trichoderma harsianum</i>	7320	2000	1600	
<i>Trichoderma koningi</i>	1320			
<i>Penicillium citrinum</i>	2000		400	400
<i>Penicillium decumbens</i>	2000			
<i>Aspergillus clavatus</i>	3320		6000	400
<i>Aureobasidium sp.</i>	660			
<i>Clonostachys sp.</i>	660			

Таким образом, можно считать, что все микромицеты, встречающиеся в кишечнике *A.pomorum* являются транзитными компонентами

4.3. Микробная азотфиксация в кишечнике проволочников

В кишечниках проволочников обнаружены высокие значения азотфиксации. Без поправки на проницаемость покровов в личинках *A.obscurus* из пойменных почв обнаружена нитрогеназная активность микроорганизмов на уровне 0,075 (типичная степь) и 0,073 (луговая степь) мкг(C₂H₄)/ч*г(личинки).

В кишечнике у личинок *S.aeneus*, собранных на плакоре азотфиксация составляла 0,28 (типичная степь) и 0,12 мкг(C₂H₄)/ч*г (луговая степь). У личинок *S.aeneus*, собранных в пойменных почвах обнаружена менее интенсивная азотфиксация – 0,11 (типичная степь) и 0,04 (луговая степь) мкг(C₂H₄)/ч*г.

Учитывая, что вес кишечника личинок не превышает 13% общего веса личинки, величины интенсивности микробной азотфиксации для реального содержимого кишечника в 7 и более раз выше приведённых.

В результате эксперимента с содержанием проволочников на влажной фильтровальной бумаге выяснено, что экскременты одной личинки *A.obscurus*, выделяемые за сутки имеют нитрогеназную активность около 0,17нг C₂H₄ этилена в час, а одной личинки *S.aeneus* – 0,154 нг C₂H₄/ч. Средняя масса использованной личинки *A.obscurus* – 0,008 г, а *S.aeneus* – 0,055 г.

Выявленная активность микробной азотфиксации в кишечнике проволочников значительно превышает активность в почвах (таблица 4).

Таблица 4. Активность актуальной и потенциальной микробной азотфиксации в почвах и кишечнике и экскрементах личинок Elateridae

Подзоны степи	Почвы	N ₂ -фиксация, нг(C ₂ H ₄)/ч*г)		<i>S.aeneus</i>		<i>A.obscurus</i>	
		акт *	пот **	акт	Экскреты 1 лич./сут. нг(C ₂ H ₄)/ч.	акт	Экскреты 1 лич./сут. нг(C ₂ H ₄)/ч.
Луговая	Чернозём типичный	0,6 ± 0,2		120.0			
	Пойма р.Аткара	0,82 ± 0,37	6,59 ± 0,31	40.0		73.0	
Ковыльно-разнотравная	Чернозём южный	0,8 ± 0,15		280.0			
	Пойма р.Карамыш	0.2 ± 0.06	48,6 ± 3,73	110.0	0.154	75.0	0,17

* акт - актуальная азотфиксация, ** пот – потенциальная азотфиксация

Контрольные образцы почв значимо различались по содержанию азота по массе (%): в типичном черноземе – 0.56±0,1 в черноземе южном – 0.3±0,06, в пойме р. Аткара – 0.32±0,05, р. Карамыш – 0.51± 0,12. При попарном сравнении плакорных и пойменных почв в пределах одной подзоны в почвах с меньшим содержанием азота отмечена более высокая активность азотфиксации.

4.4. Индивидуальные вариации состава сообществ интестинальных микроорганизмов

Проведена оценка индивидуальной вариабельности ИМС у личинок, собранных в одинаковых условиях. Это необходимо для интерпретации экспериментальных результатов и отработки методики: оценки минимального необходимого числа повторностей и возможности использования смешанных образцов.

Оценивали индивидуальные различия ИМС личинок *A.obscurus* и *S.aeneus*.

Для каждого вида исследовали содержимое кишечника 10 личинок методом посева на среду ГПД.

У всех личинок *A.obscurus* в кишечнике доминировали коринеподобные бактерии. Всего выделялось 8 штаммов коринеподобных бактерий, из них 6 беспигментных, но в дальнейшем они не определялись. Также у семи из 10 личинок выделялись *Tsukamurella pseudospumae* (или *Tsukamurella spumae*), а у 9 из 10 – *Erwinia* sp. Стрептомицеты встречались в 9 из 10 личинок, бациллы – в 6 из 10. Эти группы далее не определялись. В половине личинок встречались грамположительные кокки (*Micrococcus*, *Enterococcus*) и бактерии группы *Flavobacterium-Cytophaga*.

Бактерии сем. Enterobacteriaceae и пор. Мухососcales встречались в 2 из 10 личинок.

Всего из *A.obscurus* выделено 18 культур. Сходство бактериальных сообществ между кишечниками отдельных личинок было оценено при помощи коэффициента Жаккара. В среднем коэффициент Жаккара при попарном сравнении личинок составлял 0,35.

Для личинок *S. aeneus* также были типичны *Tsukamurella pseudospumae* (или *Tsukamurella spumae*) – встречались во всех личинках. *Arthrobacter pectinolytic* (*Arthrobacter siccitolerans*) встречался в 8 из 10 личинок, *Promicromonospora* sp. – в 4 из 10.

Бациллы встречались в 8 из 10. В большинстве личинок встречались грамотрицательные бактерии *Rahnella aquatilis* (*Serratia grimesii*, *Yersinia kristensenii*), *Erwinia* sp. и штаммы сем. Enterobacteriaceae. Бактерии рода *Vibrio* и стрептомицеты встречались в 4 из 10 личинок. Пять штаммов грамотрицательных палочек встречались в 1-3 личинках из 10.

В целом, ИМС *S.aeneus* отличались большим разнообразием – всего было выделено 25 бактериальных культур. В среднем коэффициент сходства бактериальных комплексов (по Жаккару) между парами личинок составлял 0,33.

В целом, внутривидовая дисперсия была ниже, чем межвидовая (рис. 14). Коэффициент сходства бактериальных комплексов между личинками разных видов в среднем составлял 0,21.

По результатам анализа сходства (ANOSIM) ИМС двух видов не сходны. По коэффициенту Жаккара, учитывающему только наличие/отсутствие вида/группы $R=0,67$, по индексу Брэя-Кёртиса, учитывающему также численность КОЕ $R=0,71$. Для обоих результатов p меньше 0.0001.

Для сравнения исследовалась почва, из которой были собраны личинки *A.obscurus*, и в которой содержались оба вида личинок. В почве доминировали бактерии рода *Arthrobacter*, бациллы, стрептомицеты и один штамм грамотрицательных бактерий, не встречающийся в личинках.

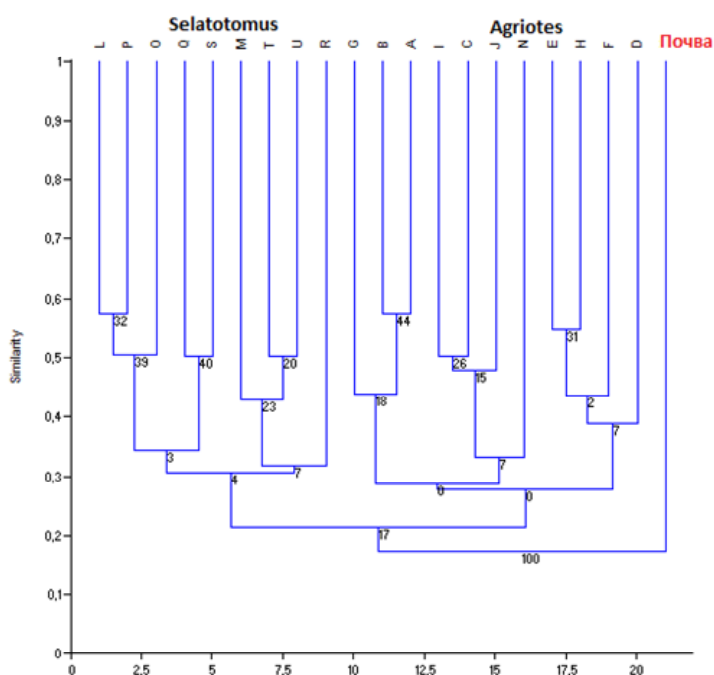


Рис. 14 Кластерный анализ (к. Жаккара) сходства ИМС личинок двух видов. Примечание: A-J – *A.obscurus*, L-U – *S.aeneus*, для сравнения приведено микробное сообщество почвы, в которой содержались личинки. Boot N = 10000

4.5. Устойчивость интестинального микробного сообщества при изменении рациона

В дальнейшем мы оценивали, насколько ИМС проволочников–миксофагов стабильно и насколько подвержено действию внешних факторов. В качестве

внешнего факторы было выбрано 10-ти суточное изменение режима питания, в качестве модельного вида – *S.aeneus*. Сравнивались три группы личинок: содержащиеся в нормальной почве с проростками пшеницы (корм), содержащиеся в дефаунированной почве (почва) и содержащиеся на влажном песке (голод).

Анализ по методу МСТ выявил некоторые отличия между сытыми и голодными проволочниками. Их ИМС значимо отличались по потреблению ряда субстратов, значимость оценивалась при помощи LSD-теста и поправки методом Бенджамина — Хохберга (Рис. 15).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	инозит [1]	L+ арабиноза [2]	L+ рамноза [3]	Дульцит [4]	D+ сорбит [5]	лактоза [6]	D- маннит [7]	D+ мальтоза [8]	D+ глюкоза [9]	Сахароза [10]	Ксилоза [11]	гуллулан [12]
B	Ацетат [13]	Аспарат [14]	Цитрат [15]	Сукцинат [16]	Мялениат [17]	целлобиоза [18]	октаиноат [19]	глицин [20]	Пролин [21]	Рибоза [22]	Галактоза [23]	Манноза [24]
C	норлейцин [25]	1-глюкозофосфат [26]	Гистидин [27]	норвалин [28]	Треонин [29]	Аланин [30]	аспарагин [31]	D-L валин [32]	Серин [33]	Г-фенилаланин [34]	лактат [35]	Г-глутамин [36]
D	Г-аргинин [37]	L-лизин [38]	Тимидин [39]	Ацетилглюкозамин [40]	твин 80 [41]	Путресцин [42]	крахмал [43]	Фруктоза [44]	Рафиноза [45]	Глицерин [46]	креатин [47]	Контроль [48]

Рис. 15 Субстраты МСТ, потребление которых значимо отличалось у ИМС сытых и голодных проволочников (отмечены красным).

В целом спектры потребления субстратов ИМС сытых и голодных проволочников значимо отличались, что показывают результаты анализа сходства по индексу Брея-Кёртиса (R для пары голодные–сытые: 0,33, для пары голодные – дефаунированная почва: 0,59, $p < 0,05$).

ИМС сытых проволочников и проволочников из дефаунированной почвы по спектрам потребления субстратов не различались ($R < 0$).

В то же время индексы функционального разнообразия и устойчивости сообщества МСТ у личинок трёх групп значимо не различаются (LSD, HSD). Индекс Шеннона колеблется от 4,5551 до 5,3608, а интегральный индекс витальности – от 34 до 259.

По биомассе, общей численности и численности различных размерных групп бактерий ИМС сытых и голодных проволочников не различались (LSD, HSD). Анализ сходства по индексу Брея-Кёртиса показал сходство между ИМС сытых и голодных проволочников ($R=0,15$, $p \gg 0,05$).

На рис. 16 приведена численность бактерий различных размерных групп.

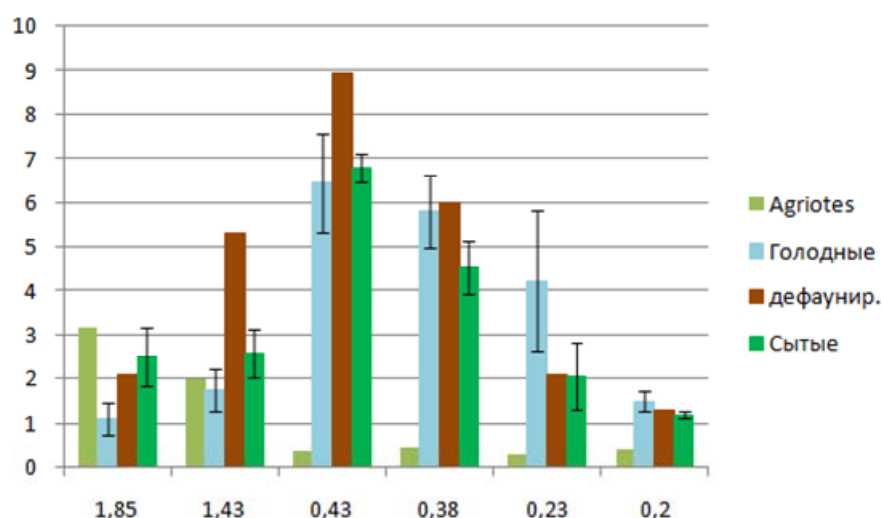


Рис. 16 Численность бактерий различных размерных групп в кл.*10⁷/г. По оси абсцисс отмечены размерные группы в мкм (нижняя граница). Указаны SD.

На рис. 17 и рис. 18 приведены общая численность и биомасса бактерий размерами меньше 1,43 мкм. Мы суммировали только данные по бактериям размерных групп меньше 1,43 мкм, поскольку из-за большого количества жира и эукариотических клеток фильтры на 1,85 мкм и отчасти 1,43 мкм сильно загрязнялись. Вероятно, часть клеток при этом систематически не учитывалась, что делает результаты по бактериям размерных групп 1,85-1,43 мкм и >1,85 систематически заниженными, что затрудняет сравнения с результатами учета более мелких размерных групп.

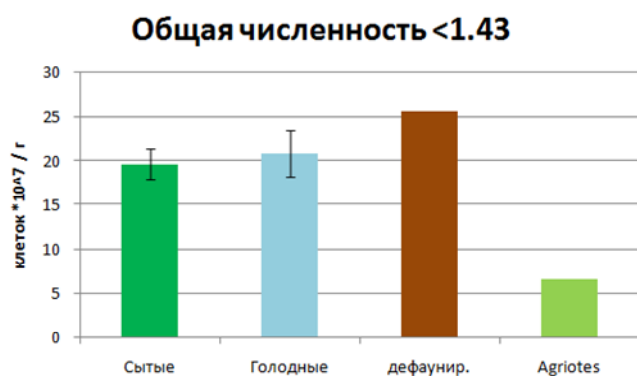


Рис. 17. Общая численность бактерий меньше 1,43 мкм. Указаны SD.

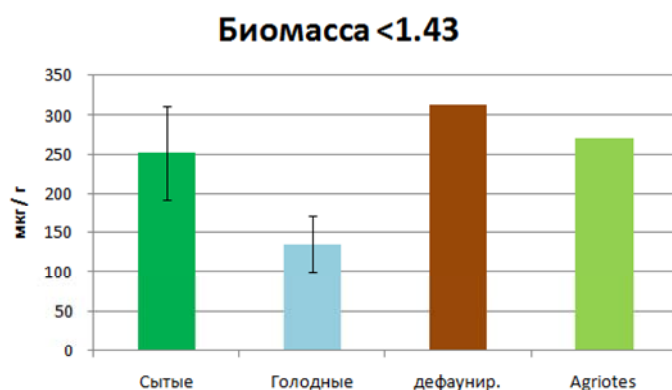


Рис. 18. Биомасса бактерий меньше 1,43 мкм. Указаны SD.

Таксономическая структура интестинальных сообществ сапротрофов, определённая методом посева на ГПД, различается у голодных проволочников и остальных экспериментальных групп. Анализ сходства по коэффициенту Жаккара показывает отличие ИМС голодных проволочников от остальных групп ($R = 0,53-0,54$, $p < 0,05$). Сходство личинок разных экспериментальных групп друг с другом по коэффициенту Жаккара отражено на рис. 19.

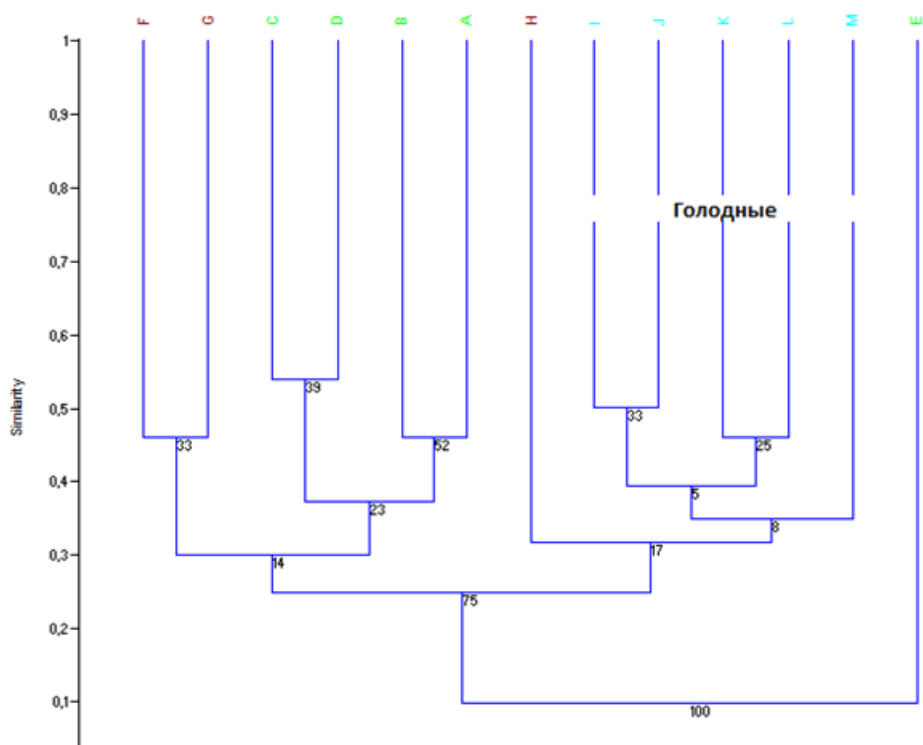


Рис. 19. Сходство отдельных личинок трёх экспериментальных групп по таксономическому составу сообщества сапротрофов (коэффициент Жаккара).

Примечание: А-Е – сытые проволочники, F-H – содержащиеся в дефаунированной почве без корма, I-M – голодные. Boot N = 10000

У всех трёх групп личинок постоянно встречались бактерии *Erwinia* sp., *Flavobacterium* sp., *Tsukamurella pseudospumae* (или *Tsukamurella spumae*) и *Tsukamurella* sp.

У личинок, нормально питающихся и содержащихся в дефаунированной почве без корма, таксономический состав интестинального сообщества сапротрофов не различался (ANOSIM R=0,17 $p \gg 0,05$).

Голодавшие личинки, напротив, значительно отличались как от сытых, так и от содержащихся в дефаунированной почве (ANOSIM R=0,54).

В кишечнике питавшихся личинок были типичны *Sphingobacterium siyangense* (*Sphingobacterium caeni*) и крупные коринеподобные палочки, среди которых наиболее многочисленными были *Arthrobacter woluwensis*. Эти бактерии отсутствовали у голодных личинок.

Краткосрочное (10 суток) изменение диеты проволочников не приводит к каким-либо значимым изменениям ИМС. Питания даже дефаунированной почвой, т.е. крайне неблагоприятным субстратом, достаточно, чтобы сохранить все исследовавшиеся параметры на том же уровне, что и у личинок, получавших полноценное питание.

Полное голодание оказывает значимое влияние на состав и структуру интестинального комплекса сапротрофов и на потребление отдельных органических субстратов.

Вместе с тем основные параметры микробного сообщества – общая численность, функциональное разнообразие, устойчивость сообщества – не изменялись ни при смене диеты, ни при голодании.

4.6. Зональные особенности сообществ интестинальных микроорганизмов проволочников

ИМС проволочников–миксофагов, собранных в степной и таёжных зонах в целом сходны между собой.

Общая численность бактерий ИМС личинок двух природных зон варьирована в схожих пределах, хотя измерялась отличающимся методом люминесцентной микроскопии.

У *A.obscurus* из степной зоны общая численность колебалась от 1 до 15 *10⁷кл./г, у *S.aeneus* – от 3 до 13 *10⁷кл./г

Структура сообществ сапротрофов на уровне групп сходна для личинок двух природных зон (рис. 20).

Как у степных, так и у таёжных личинок основными доминантами в комплексе сапротрофов были коринеподобные бактерии рода *Tsukamurella*.

Однако у степных личинок это был вид *Tsukamurella tyrosinolvans* (или *T. pulmonis*), а у таёжных – *Tsukamurella pseudospumae* (или *Tsukamurella spumae*). Также есть множество других отличий на уровне отдельных родов – *S.aeneus* степной зоны содержали множество *Aquaspirillum* sp. и *Acinetobacter* sp., отсутствовавших, либо встречавшихся единично у *S.aeneus* южной тайги.

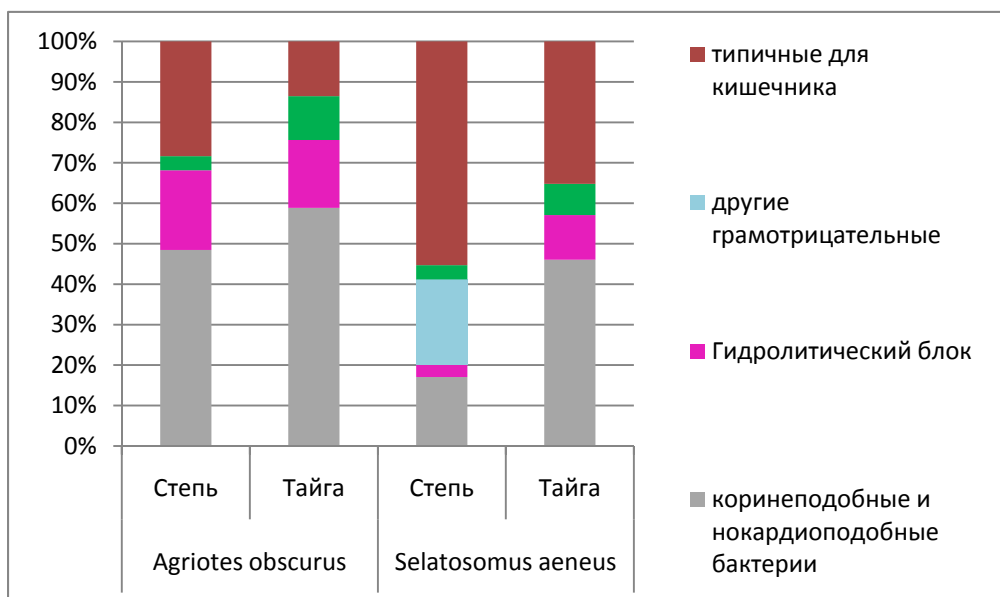


Рис. 20. Структура комплекса сапротрофов личинок *A. obscurus* и *S. aeneus* из степных и таёжных биотопов (по группам)

В обоих регионах ИМС *S. aeneus* отличалось большим видовым разнообразием и большей долей грамотрицательных бактерий.

Коэффициенты функционального разнообразия и устойчивости МСТ ИМС *S. aeneus* двух регионов находились в тех же пределах. Так коэффициенты Шеннона *S. aeneus* степной зоны составляли 4,24–4,93, а интегральный индекс витальности – 28–133.

4.7. Влияние активности проволочников на почвенное микробное сообщество

На примере *A. obscurus* и *S. aeneus* оценивалось, как активность проволочников влияет на почвенное микробное сообщество.

В контрольных образцах пойменной почвы из луговой и типичной степи определяли число бактериальных клеток и общую длину грибного мицелия. В контрольной почве из обоих исследованных биотопов обилие бактерий и грибов было практически одинаковым (1.7 и 1.8 млрд клеток/ 1 г почвы и 120 м/г почвы). После длительного пребывания личинок *Agriotes* в почве общая численность бактерий увеличилась в 2-5 раз (рис. 21). Грибные гифы в опытных контейнерах

были полностью повреждены, о чём можно судить по их красному свечению после окрашивания акридиновым оранжевым (Карнаухов, 2004).

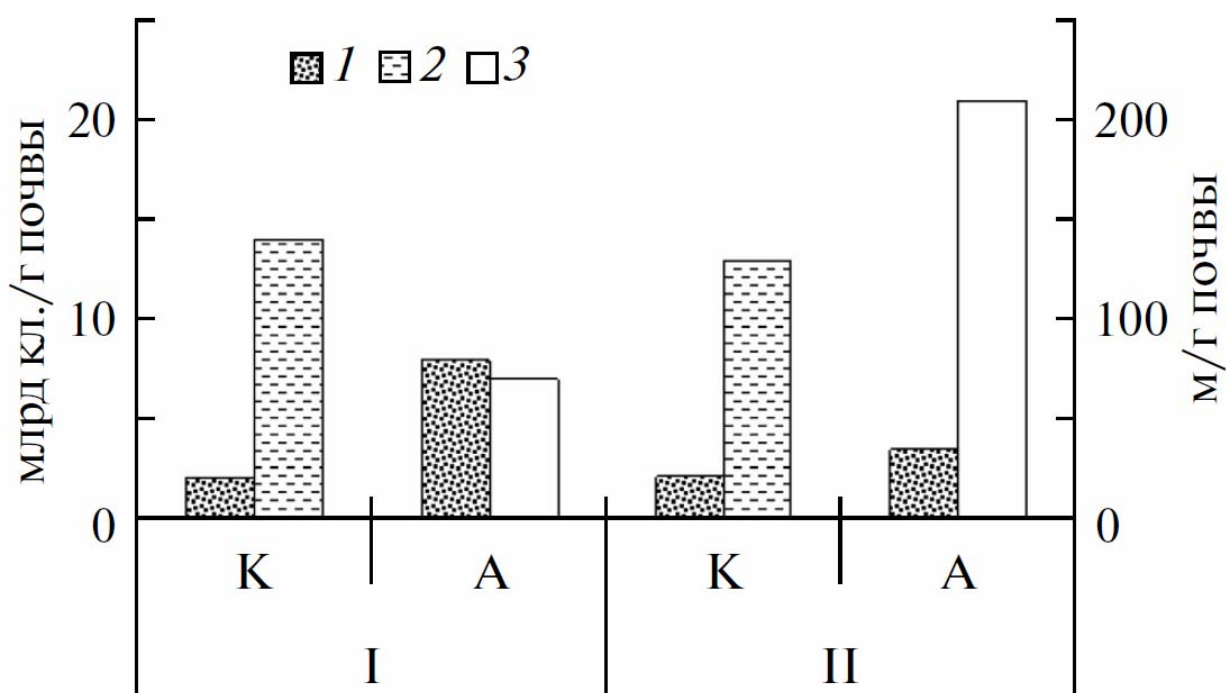


Рис. 21. Влияние активности личинок *Agriotes* на обилие бактерий и грибов. I – луговая степь, II – типичная степь; К – контроль, А – почва, кондиционированная личинками *Agriotes*; 1 – численность бактериальных клеток, 2 и 3 – суммарная длина неповрежденных и поврежденных грибных гиф соответственно.

Кроме того, сравнивали влияние личинок *A. obscurus* и *S. aeneus* на численность почвенных сапротрофов. Определяли число КОЕ методом посева на твердую глюкозо-пептонно-дрожжевую (ГПД) среду (5 повторностей).

В почве типичной степи число КОЕ составляло $1.42 \pm 0.2 \times 10^7$ / 1 г почвы. В присутствии личинок *A. obscurus* обилие микроорганизмов сокращается до $5.1 \pm 1 \times 10^6$ КОЕ/ 1 г почвы, а в присутствии *S. aeneus* число КОЕ повышалось до $5.76 \pm 4.9 \times 10^7$ /г почвы. Однако при этом наблюдалась высокая дисперсия между отдельными чашками. Поэтому это повышение недостоверно.

Изучение таксономической структуры микробного сообщества проводилось в контрольных пробах пойменной почвы типичной степи. На рис. 22 приведена групповая структура микроорганизмов, высеваемых на ГПД из контрольных и

экспериментальных образцов почвы. В контрольной почве преобладали коринеподобные бактерии, составляющие в сумме около 50 % от общей численности. Это – грамположительные, неспорообразующие палочковидные формы, хемоорганогетеротрофы, свободноживущие и паразиты, как правило, не гидролитики (Нестеренко и др., 1985). В их составе представители *Corynebacterium* занимают 20 %. Второе место по численности занимают бациллы, высокое обилие которых характерно для черноземных степных почв. Это – грамположительные спорообразующие крупные палочки, сильные гидролитики. В состав доминантов включаются также стрептомицеты, сильные гидролитики.

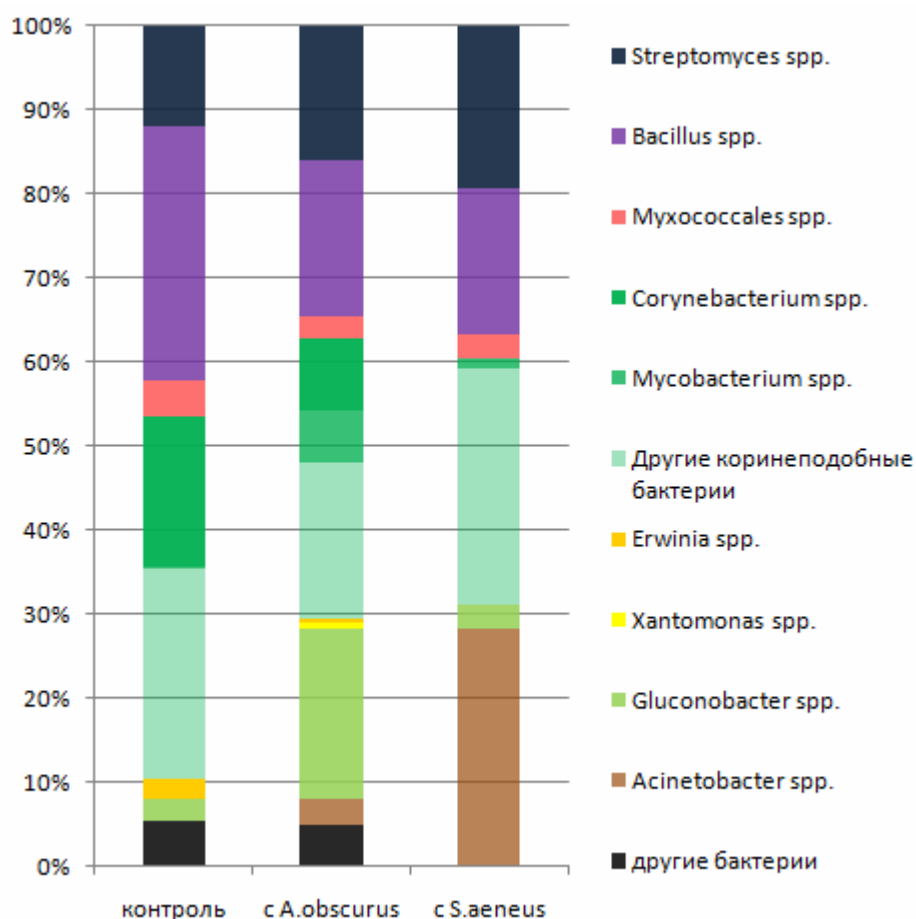


Рис. 22. Структура комплекса почвенных сапротрофов после кондиционирования личинками *A. obscurus* и *S. aeneus*.

Пребывание в почве личинок *Agriotes* практически не изменяет структуру доминирования бактериального населения: коринеподобные бактерии составляли

почти половину общей численности. Но в их составе появлялись представители рода *Mycobacterium*, отсутствовавшие в контрольной почве. Доля бацилл немного снижалась. В то же время почти вдвое увеличивалась численность стрептомицетов. В составе сообщества в значительном количестве появлялись бактерии рода *Acinetobacter*: это – граммотрицательные палочки, обычно свободноживущие, не гидролитики (Starr et al., 1981). Среди прочих групп бактерий следует отметить появление в незначительных количествах *Xantomonas* spp. и снижение относительной численности *Erwinia* spp.. В присутствии личинок *Selatosomus* в почве резко снижалась доля коринеподобных бактерий (до 30 %), а представители родов *Corynebacterium* и *Mycobacterium* встречались единично. При этом доля негидролитиков оставалась на прежнем уровне за счет повышения относительного обилия *Acinetobacter* spp.. Доля бацилл и *Streptomyces* spp. составляла около 20 %. Представители *Erwinia* spp. исчезали. Таким образом, по сравнению с контрольными образцами, в почве после содержания проволочников в комплексе почвенных сапротрофов наблюдается увеличение доли стрептомицетов за счет уменьшения доли бацилл.

Высокая доля коринеподобных бактерий в почве после содержания проволочников сохраняется, однако уменьшается представленность типично почвенных видов *Corynebacterium* и увеличивается численность коринеподобных бактерий других родов. Доля бактерий пор. Мухососcales остаётся неизменной. В почве после пребывания в ней проволочников регистрируется заметное количество *Acinetobacter* sp., а в вариантах с личинками *Selatosomus* они входят в состав доминантов. В целом наиболее существенная перестройка таксономического состава почвенного микробного сообщества происходит в результате жизнедеятельности *Selatosomus*.

Методом мультисубстратного тестирования было изучено изменение функционального разнообразия микробного населения почвы путем оценки потребления бактериями различных органических субстратов. Контролем служила пойменная почва типичной степи, в которой содержали личинок *A.obscurus* и *S.aeneus*.

Микробное сообщество почвы в присутствии личинок Elateridae интенсивнее потребляет спирты, поли- и олигосахариды (рис. 23). *A.obscurus* повышает интенсивность потребления m-Инозита (в 2,2 раз), D-маннита (в 3,7 раз), маннитозы (в 4 раза), D-фруктозы (в 3,4 раза), в то время, как *S.aeneus* стимулирует потребление раффинозы (в 2,2 раза), L-рамнозы (в 2,8 раза), б-лактозы (в 1,8 раз).

Выявлено видоспецифическое воздействие личинок Elateridae на потребление почвенными микроорганизмами азотсодержащих соединений. В присутствии *A.obscurus* снижается потребление мочевины и креатинина в 2.1-2.5 раз, а *S.aeneus* увеличивает их потребление в 1,3 и в 2,5 раза соответственно.

Наименее значимые изменения отмечены в потреблении карбоновых кислот и аминокислот за исключением аргинина. В почве с личинками *Agriotes* интенсивность потребления аргинина снижается в 3.5 раза, а в присутствии *Selatosomus* она возрастает в 1.3 раза.

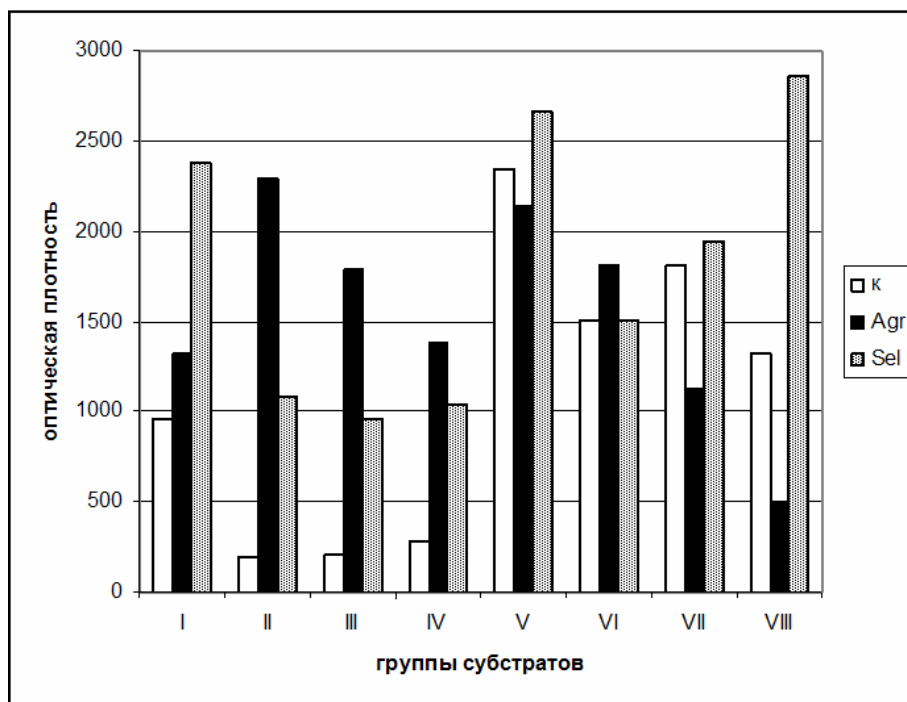


Рис. 23. Влияние личинок Elateridae на потребление органических субстратов микроорганизмами в пойменной почве.

Примечание. к – контрольная почва, Agr – почва с личинками *Agriotes*, Sel – почва с личинками *Selatosomus*;

группы субстратов - I – пентозы, II – гексозы, III - олигосахариды, IV – спирты, V - аминокислоты, VI – соли карбоновых кислот VII – полимеры, VIII - азотсодержащие органические субстраты (амины, амиды, нуклеотиды).

На основании полученных данных по спектрам и интенсивности потребления субстратов рассчитаны показатели функционального разнообразия: количество потребляемых субстратов, разнообразие потребляемых субстратов (по Шеннону) и выравненность в интенсивности потребления субстратов.

В таблице 5 приведены параметры, характеризующие функциональный потенциал микробных сообществ при воздействии на них личинок Elateridae.

Таблица 5. Параметры функционального разнообразия (по данным МСТ) бактериальных сообществ пойменной почвы типичной степи

	N	H'	E	d	G
Почва-контроль	21	4,22	0,96	0,71	74,05
Почва + <i>A.obscurus</i>	27	4,64	0,98	0,33	202,1
Почва + <i>S.aeneus</i>	29	4,76	0,98	0,55	130,87

Примечание: N – число потребляемых субстратов, H' – индекс Шеннона, E – выравненность, d – параметр трехпараметрической модели рангового распределения потребления субстратов, обратно пропорциональный устойчивости сообщества, G – интегральный индекс витальности.

Жизнедеятельность проволочников повышает функциональное разнообразие и устойчивость бактериального сообщества. В опытных образцах резко снижаются показатели параметра d, что свидетельствует об увеличении стабильности микробного сообщества. Согласно модели (Горленко, Кожевин, 2005), по величине параметра d контрольная почва попадает в категорию систем с истощёнными ресурсами (0,4-0,8), тогда как после пребывания *A.obscurus* она переходит в категорию устойчивых систем (0,1-0,4). В почве с *A.obscurus* также отмечен максимальный индекс витальности.

Исследовано также влияние личинок Elateridae на интенсивность процессов трансформации азота (азотфиксация, денитрификация) и углерода (метаногенез). В таблице 6 показаны изменения скорости микробных процессов в аллювиально-

луговой пойменной почве типичной степи после 2-месячного пребывания личинок *Agriotes* и *Selatosomus*. Интенсивность актуальной азотфиксации повышалась примерно в четыре раза, достигая 0,85 нгC₂H₄/ч*г. В то же время потенциальная азотфиксация подавлялась, причём наиболее существенное снижение отмечено в вариантах с личинками *Agriotes*.

Таблица 6. Изменение активности микробиологических процессов (2 месяца) в пойменной почве типичной степи в присутствии личинок Elateridae

Процесс	Контроль	С <i>A.obscurus</i>	С <i>S.aeneus</i>
Актуальная азотфиксация, нгC ₂ H ₄ /ч*г	0,2 ± 0,06	0,85 ± 0,18	0,85 ± 0,23
Потенциальная азотфиксация, нгC ₂ H ₄ /ч*г	48,6 ± 3,73	0,95 ± 0,09	15,0 ± 6,0
Потенциальная денитрификация, мкгN ₂ O/ч*г	18,79 ± 1,53	14,21 ± 1,2	13,5 ± 1,2
Актуальный метаногенез, нгCH ₄ /сут*г	3,13 ± 2,09	1,78 ± 0,44	1,51 ± 0,49
Потенциальный метаногенез, нгCH ₄ /сут*г	5,18 ± 0,33	1,59 ± 0,39	2,055 ± 0,11

В зональных почвах в присутствии личинок *S.aeneus* интенсивность актуальной азотфиксации снижалась, в отличие от пойменных почв. В контрольных образцах южного и типичного черноземов актуальная азотфиксация была в 2-3 раза выше, чем в пойменных образцах и составляла соответственно 0,6 и 0,8 нг C₂H₄/ч*г. В опытах с присутствием личинок *S.aeneus* актуальная азотфиксация снижалась до 0,4-0,45 нг C₂H₄/ч*г. *A.obscurus* в зональных почвах не встречался.

В 6-месячном модельном опыте сравнивали влияние личинок *A.obscurus* на микробную активность в пойменных почвах разных подзон степи, которые различались по содержанию азота и углерода (таблица 7). В менее обеспеченных азотом почвах луговой степи отмечена более высокая интенсивность актуальной азотфиксации, и, в то же время, более низкие скорости потенциальной азотфиксации и денитрификации. Полученные нами значения интенсивности азотфиксации в контрольных почвах типичной степи ниже границ, известных из литературы для данной зоны (0,55 – 0,84 нгC₂H₄/ч*г) (Умаров, 1986), а

потенциальная активность денитрификации была выше известной для данных почв (около 5 мкг N₂O/г*ч) (Умаров и др., 2007).

Таблица 7. Влияние личинок *A. obscurus* на микробные процессы в аллювиально-луговых почвах разных подзон степи (6 месяцев).

подзоны степи	луговая*		типичная**	
процессы	Контроль	<i>A. obscurus</i>	Контроль	<i>A. obscurus</i>
Актуальная азотфиксация, нгC ₂ H ₄ /ч*г	0,82 ± 0,37	0,19 ± 0,07	0,19 ± 0,06	0,16 ± 0,05
Потенциальная азотфиксация, нгC ₂ H ₄ /ч*г	6,59 ± 0,31	0,38 ± 0,03	44,5 ± 3,73	0,94 ± 0,24
Потенциальная денитрификация, мкгN ₂ O/ч*г	8,7 ± 0,21	11,31 ± 0,46	14,07 ± 0,57	9,83 ± 0,31
Потенциальный метаногенез, нг CH ₄ /сут*г	23,43 ± 15,01	1,2 ± 0,54	2,95 ± 0,25	1,29 ± 0,35

Примечание: * содержание по массе N: 0,32±0,05 %, C: 3,6±0,36%; ** содержание N: ,51±0,12%, C: 6,3±0,89 %.

В опытных контейнерах с *A. obscurus* в почве луговой степи активность актуальной азотфиксации резко снижалась. Небольшое снижение азотфиксации зарегистрировано и в почве типичной степи, в противоположность результатам 2-месячного опыта, где наблюдался её значительный рост (таблица 6). Потенциальная азотфиксация в присутствии *A. obscurus* снижалась в обоих вариантах почв. Показатели потенциальной активности денитрификации и метаногенеза под влиянием *A. obscurus* в обеих исследованных почвах были близкими вне зависимости от интенсивности этих процессов в контрольных образцах.

4.8. Обсуждение результатов

4.8.1. Характеристика интестинальных микробных сообществ проволочников

На фоне сходной общей численности микроорганизмов кишечника представители трёх исследованных трофических групп проволочников существенно различаются между собой по другим параметрам ИМС.

Наиболее склонный к хищничеству из исследованных видов – *A.pomorum* – отличался наиболее низким разнообразием сапротрофных бактерий, а также наиболее низкими значениями параметров функционального разнообразия и устойчивости микробного сообщества (МСТ). В целом, показатели функционального разнообразия и устойчивости микробного сообщества возрастали в ряду *A.pomorum* – *S.aeneus* – *A.obscurus*, т.е., от наиболее склонного к хищничеству до наиболее склонного к фитофагии вида.

Полученные результаты показывают, что ИМС отдельных видов проволочников избирательны по отношению к разным группам органических соединений, не столько по широте спектра потребленных субстратов, сколько по активности их потребления. Самая высокая степень потребления аминокислот характерна для *Agriotes* с наиболее выраженной фитофагией и наименьшая – у хищной личинки *Ampedus*. В то же время соли органических кислот и сахара потребляются с минимальной активностью у вида наиболее склонного к фитофагии – *Agriotes*, получающего эти соединения с пищей в формах, которые сразу же включаются в метаболические процессы.

Таксономический состав кишечных бактерий у исследованных нами видов проволочников достоверно отличался от микрофлоры окружающей среды. Более половины сапротрофных бактериальных клеток у личинок представлены группами, отсутствующими в почве и древесине, в том числе, ИМС включали специфические кишечные формы. Сходство состава почвенной микрофлоры и кишечного сообщества (по Bray-Curtis) у *A. obscurus* оставляет всего 0.23, а у *S.aeneus* – 0.25; сходство микробного сообщества древесины и кишечника *A.*

potorum – 0.16. У *A.obscurus* доля кишечных форм составляла 31 % от общей численности; среди них преобладали кокки и энтеробактерии. У *S.aeneus* доля кишечных групп достигала 67 %, с доминированием энтеробактерий, и *Acinetobacter spp.* Кроме того, у обоих видов значительную роль в кишечнике играли коринеподобные бактерии, представленные родами, отсутствовавшими в почве. В этом случае доля аборигенных форм в комплексе интестинальных бактерий превышала две трети от общего обилия. В кишечнике *S.aeneus* обнаружена также высокая численность *Aquaspirillum spp.*, водных форм, которые могут развиваться и в анаэробных условиях, используя нитраты вместо кислорода. У древесного хищника *A.potorum* на фоне очень низкой численности сапротрофных бактерий лишь 37 % составляли предположительно кишечные формы, представленные кокками.

Таким образом, ИМС личинок жуков включают и специфические кишечные группы, и транзитные микроорганизмы, типичные для субстрата, переходящие к обитанию в кишечнике педобионтов с оптимизированными для них условиями дыхания и питания. Такой переход микроорганизмов из почвы и воды в кишечник почвенных животных неоднократно отмечался для сапрофагов. Например, в северных областях центральной России в кишечнике дождевых червей *Nicodrilus caliginosa* в качестве облигатного обитателя встречаются *Aspergillus fumigatus* и *Penicillium roqueforti*, который в этом регионе в почве вымерзает в зимнее время (Striganova et al., 1989). В кишечнике диплопод была отмечена высокая численность *Promicromonospora spp.*, которые встречались в почве единично (Szabo et al., 1983). Очевидно, что кишечник личинок Elateridae также представляет благоприятную нишу для обитания ряда групп микроорганизмов, особенно в открытых местообитаниях с регулярными периодами дефицита влаги в почве. В кишечнике эти формы участвуют в пищеварении.

У проволочников–миксофагов среди интестинальных сапротрофных бактерий формы, привнесенные из почвы, составляют не более 30%.

Среди «аборигенных» бактерий у проволочников–миксофагов преобладают энтеробактерии, ряд коринеподобных бактерий таких видов как *Microbacterium*

paraoxydans (*M. testaceum*), *M. oxydans* (*M. oleivorans*) и *Tsukamurella tyrosinosolvens*, у почвенных личинок, собранных в таёжной зоне – *Tsukamurella pseudospumae* (*Tsukamurella spumae*).

У древесных личинок *A.pomorum* аборигенные бактерии были представлены преимущественно грамположительными кокками. Доля же транзитных компонентов может достигать 50 %.

У *A.obscurus* и *S.aeneus* впервые была обнаружена микробная азотфиксация в кишечнике. Активность азотфиксации на 2-3 порядка превышает таковую в почве. У *S.aeneus* показатели актуальной азотфиксации существенно выше, что позволяет предположить бóльшую продвинутость его синергических взаимоотношений с несимбиотическими азотфиксаторами. Также установлена высокая численность азотфиксаторов в кишечнике проволочников–миксофагов, что может объяснять высокую активность азотфиксации. Это в свою очередь может объяснять высокую активность трансформации азотсодержащих соединений комплексом интестинальных бактерий. В почве, переработанной личинками Elateridae из лесных экосистем, было также показано повышение численности микрофлоры, связанной с азотсодержащими соединениями, в частности, аммонификаторов (Козловская, 1976). Выявленный комплекс азотфиксаторов был необычайно сходным у обоих исследованных видов.

Кишечная азотфиксация *S.aeneus* была выше у личинок, собранных на плакоре. В то же время, согласно приведённым выше данным, у личинок на плакоре выше содержание тяжёлого азота. Поскольку азотфиксация не приводит к сильному фракционированию по азоту (Макаров и др., 2011), обогащение тяжёлым азотом происходило из-за смены диеты. Можно предположить, что рост активности азотфиксации и склонность к хищничеству на плакорах – следствие дефицита азота вследствие ускоренного развития в неблагоприятных или тёплых условиях. Ускорение личиночного развития на плакоре представляется весьма вероятным, учитывая, что длительность личиночной стадии проволочников может варьировать и снижаться при более высоких температурах (Космачевский,

1950, 1959, 1962, Furlan, Toffanin, 1998). Кроме того, существуют свидетельства ускорения развития в южных частях ареала проволочников (Тугушева, 1972).

Активность азотфиксации в кишечнике была определена также у дождевых червей (Стриганова и др., 1993). Для сравнения активности азотфиксации у личинок шелкоунов и дождевых червей, наши данные (таблица 4) были переведены в единицы фиксированного молекулярного азота по отношению: $C_2H_4 / N_2 = 3/1$ (Hardy, Knight, 1967) и пересчитаны на вес кишечника, исходя из ориентировочной оценки в 13% от массы тела. У *A.obscurus* средняя масса личинок, использованных в опыте, составляла 0,008 г, а у *S.aeneus* - 0.055 г. Таким образом, реальная интенсивность азотфиксации в содержимом кишечника была значительно выше: максимальное количество связанного азота у *A.obscurus* (пойма) составляло 192.2 нг N_2 /ч/1 г веса кишечника и у *S.aeneus* (южный чернозем) – 717.7 нг N_2 /ч/1 г. Эти цифры существенно превышают скорость азотфиксации у дождевых червей (Стриганова и др., 1993).

На рис. 24 показано сравнение скоростей азотфиксации в почве и/или в подстилке, где обитали исследованные педобионты, и в их кишечнике. Если у личинок шелкоунов активность кишечной азотфиксации превышала активность почвенной на 1-2 порядка, то у дождевых червей эта разница не превышала 8 раз. Следует отметить, и очень низкую активность азотфиксации в степной почве с низким уровнем ее обеспеченности энергетическими ресурсами.

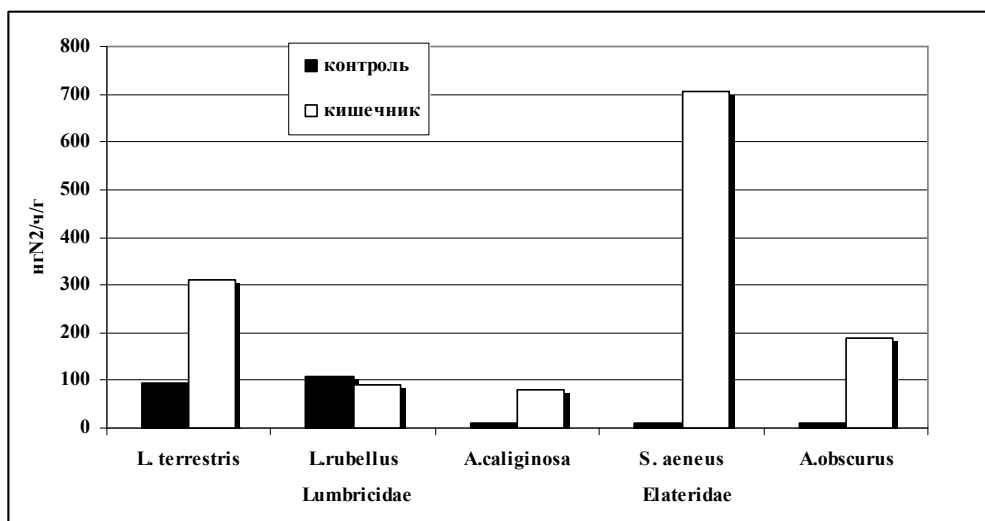


Рис. 24. Сравнение скорости актуальной азотфиксации в почве и кишечнике животных

Микрофлора кишечника проволочников исследована лишь на немногих видах. У личинок *A. lineatus* с Черноморского побережья восточной Турции выявили 19 штаммов бактерий принадлежащих к 12 родам (Danismazoglu et.al., 2012). Большинство из них были ранее выделены из насекомых, и только два вида впервые изолированы из кишечника насекомых (*Arthrobacter gondensis* и *Pseudomonas plecoglossicida*). Выявлено относительно высокое сходство бактериальных комплексов исследованных нами проволочников и личинок Elateridae из Коста-Рики (Gonzales, 2009): в задней кишке личинок доминировали гамма-протеобактерии, актиномицеты и Firmicutes. Всего было выделено 11 культур бактерий, среди которых четыре вида бацилл, энтеробактерии, *Acinetobacter sp.* и *Tsukamurella pulmonis*. Таким образом, таксономический состав аналогичен обнаруженному у исследованных нами видов проволочников.

Детально исследована также микрофлора кишечника личинок *Limoniussanus*, вредителя картофеля в штате Орегон (Lasey, 2007). Идентифицировано 15 родов, из которых общими с нашим материалом являются бактерии родов *Erwinia* и *Acinetobacter*. В кишечнике *Limoniussanus* доминировали *Bacillus megaterium* и *Ranella aquaticus*. Последний принадлежит к группе гамма-протеобактерий, многочисленных также и у личинок из Республики Коста-Рика и у почвенных личинок из российской степи.

Следует отметить высокое α - и β - разнообразие ИМС у всех исследованных видов личинок щелкунов. Сходство бактериального населения проявляется только на уровне высоких таксонов. Остается невыясненным вопрос, являются ли различия родового и видового состава кишечных микроорганизмов следствием географической удаленности отдельных популяций, либо определяются биотопическими и пищевыми адаптациями. Возможно, что широкие географические вариации в составе ИМС у представителей одного и того же вида зависят от различий преференции в отношении разных групп растений.

Кишечник насекомых представляет аттрактивную нишу для поселения микроорганизмов, что в процессе эволюции стимулировало развитие

симбиотических отношений (Dillon, Dillon, 2004). Микробная трансформация сложных органических соединений в кишечнике насекомых позволила им использовать широкий круг трудно усваиваемых ресурсов, в частности, структурные компоненты растительных тканей. Среди насекомых различаются группы с разной степенью развития симбиотических отношений с микроорганизмами. У ксилофагов и некоторых почвенных сапрофагов имеются сложные комплексы симбионтных микроорганизмов, облигатных анаэробов, формирующих интестинальные пищевые цепочки (термиты, таракановые) и обеспечивающих хозяев энергоресурсами, витаминами, незаменимыми аминокислотами. У ряда форм в кишечнике развиты специальные морфологические структуры, в которых концентрируются эндосимбионты (Tipulidae, Anobiidae, Cerambycidae) (Breznak, 1982). В то же время у многих почвенных сапрофагов с простым трубковидным кишечником (диплоподы, мокрицы) нет строгих анаэробов, большинство микроорганизмов относится к факультативным анаэробам (Reyes, Tiedje, 1976; Добровольская, 2002). У диплопод и дождевых червей даже в пристеночном сообществе представлены факультативные анаэробы (виды *Klebsiella* и *Enterobacter*) (Byzov et al., 1996; Третьякова и др., 1996). У личинок Elateridae все кишечные формы относятся к факультативным анаэробам. Это свидетельствует об определенной «молодости» формирования симбиотических отношений проволочников с почвенной микрофлорой в процессе приспособления их к фитофагии.

Проанализировав результаты по индивидуальной изменчивости кишечных микробных комплексов, мы пришли к выводу, что личинки одного вида проволочников, собранные в одинаковых условиях, обладают сходными ИМС. Одни и те же группы бактерий встречаются в кишечниках большинства личинок. Почти у всех личинок были обнаружены *Tsukamurella pseudospumae* и *Erwinia* sp., а у *S. aeneus* – ещё ряд культур.

Вместе с тем межвидовое сходство ИМС существенно меньше внутривидового.

Полученные результаты позволят в последующих исследованиях ИМС проволочников пользоваться малыми выборками и смешанными образцами.

Вместе с тем известно, что в течение жизненного цикла проволочники неоднократно прекращают питание, а также могут менять свой рацион. Поэтому представляет интерес определение влияния краткосрочных изменений режима питания проволочников на ИМС. Если краткосрочные изменения в питании проволочников существенно влияют на ИМС, малые выборки и смешанные образцы могут привести к серьёзным ошибкам.

Согласно нашим данным, полученным для *S.aeneus*, ИМС сытых и голодных личинок обладают рядом значимых отличий.

Однако присутствие бактерий *Tsukamurella pseudospumae*, общая численность и биомасса бактерий и параметры их функционального разнообразия не различаются у сытых и голодных особей.

Сытые проволочники и проволочники, содержащиеся в дефаунированной почве без корма, значимо не отличались ни по одному из параметров.

ИМС проволочников одного вида, собранных в различных природных зонах, по большинству параметров сходны между собой. Наиболее примечательное сходство – наличие специфической флоры – мелких коринеподобных бактерий, представителей *Tsukamurella pseudospumae* в таёжной зоне, представителей родов *Tsukamurella* и *Microbacterium* в степной зоне.

4.8.2. Влияние активности проволочников на почвенное микробное сообщество

Наиболее кардинальным изменением состава микробного населения почвы в присутствии личинок Elateridae является исключение активности микромицетов: после проживания проволочников все гифы грибов в почве оказываются нежизнеспособными. Значительное повышение численности бактериального населения на фоне выпадения грибного компонента сдвигает микробную сукцессию в сторону ускорения минерализации органических веществ.

В бактериальном сообществе почвы, сформированном в присутствии личинок Elateridae, отмечено много форм, потребляющих поли- и олигосахара, спирты и другие и воднорастворимые соединения, о чем свидетельствуют результаты МСТ. В целом, в присутствии личинок Elateridae в почверастут функциональное разнообразие и устойчивость почвенного микробного сообщества.

Наиболее сложные изменения микробных процессов в присутствии личинок жуков были связаны с трансформацией азота. Из свободноживущих азотфиксаторов для степных почв широко известны представители *Azotobacter*. Но в степных черноземах *Azotobacter* встречается только весной во влажный период и рассматривается, как эфемер (Мишустин, 1975). В то же время в наших опытах более высокая активность азотфиксации была обнаружена в зональных почвах на водоразделах, хотя их влажность была ниже, чем в пойменных. Очевидно, здесь имеет большее значение лимитация доступного углерода для свободноживущих азотфиксаторов. 4-кратное повышение скорости азотфиксации в присутствии личинок жуков в пойменной почве типичной степи сочетается с резким повышением потребления микроорганизмами моно- и олигосахаров и спиртов в опытных сосудах в сравнении с контролем. Как правило, олигосахара при освобождении мгновенно потребляются в почве микрофлорой. Повышение их потребления в опытных сосудах свидетельствует об увеличении активности микробных форм, расщепляющих полимеры.

Влияние личинок Elateridae на почвенную микрофлору ранее исследовали на примере двух лесных видов – *Actenicerus sajelandicus* и *Selatosomus costalis*. Личинки обоих видов имеют смешанные пищевые рационы с участием хищничества и детритофагии. Показано, что эти виды прежде всего влияют на группы микроорганизмов, метаболизирующих азотсодержащие соединения (Козловская, 1976). В коротких опытах длительностью в несколько суток было зарегистрировано значимое повышение численности аммонификаторов. При этом резко повышалось обилие споровых, а также флуоресцирующих бактерий и олигонитрофилов. Среди последних имелись азотфиксаторы.

Стимуляция почвенных групп микроорганизмов, связанных с азотом, сочетается с данными по азотфиксации в кишечнике личинок этих жуков, скорость которой на порядок превышает таковую в почве.

Таким образом, активность личинок Elateridae стимулирует повышение обилия бактериального населения, его групповое и функциональное разнообразие, и, в конечном счете, ускорение минерализации органических соединений. Кроме того, в присутствии личинок повышается устойчивость микробного сообщества.

Данные по актуальной азотфиксации, полученные в разных экспериментах, варьируют в зависимости от наличия доступных энергетических ресурсов и от уровня содержания в почве связанного азота. Изменения состава микробного населения и микробных процессов в почве под влиянием жизнедеятельности степных и лесных видов личинок Elateridae имеют общую направленность, что позволяет предполагать специфическую для данной группы форму зоомикробных взаимодействий.

Общая тенденция к снижению интенсивности процессов денитрификации, метаногенеза, потенциальной азотфиксации под влиянием жизнедеятельности личинок обусловлена изменениями обилия, таксономической структуры и функционального разнообразия бактериальных сообществ почвы. На примере длительных опытов с *A. obscurus* показано, что в почвах интразональных биотопов, где этот вид встречался в массовом количестве, его активность приводит скорости микробных процессов трансформации азота и углерода к близким значениям. Это свидетельствует о высокой способности личинок к кондиционированию среды путем регуляции состава микробного сообщества.

4.8.3. Особенности интестинального микробного сообщества проволочников–миксофагов

Общая численность бактерий в кишечнике сходна у всех трёх видов и заметно ниже, чем в окружающей среде. Однако по основным структурным и

функциональным характеристикам ИМС миксофаги отличаются от хищника и демонстрируют большую сложность микробных комплексов (таблица 8).

Таблица 8. Основные структурные и функциональные характеристики интестинальных микробных сообществ проволочников.

Свойство ИМС	миксофаги	хищник
Численность сапротрофов, КОЕ/г	10^6 - 10^7	10^7
Доля аборигенных форм в комплексе сапротрофов	65-95%	50%
H' (сапротрофы)	3,1-3,2	2,25
Доминирование специфичных коринеподобных бактерий (сапротрофы)	+	—
Численность азотфиксаторов, КОЕ/г	10^6 - 10^8	10^5
Доминирование специфичных коринеподобных бактерий (азотфиксаторы)	+	—
Кишечная азотфиксация	+	нет данных
Функциональное разнообразие	Среднее	Низкое
Устойчивость сообщества	Средняя	Низкая

Комплекс сапротрофов личинок–миксофагов в среднем на 70% состоял из «аборигенных» форм, то есть бактерий, не встречающихся в почве. Среди них доминировали сем. *Enterobacteriaceae*, *Vibrio* spp., *Acinetobacter* sp., а также специфичный для проволочников компонент – мелкие коринеподобные палочки родов *Tsukamurella* и *Microbacterium*.

Эти особенности состава бактериальных сообществ могут объясняться тем, что у проволочников–миксофагов ИМС характеризуется высокой устойчивостью и многочисленными связями между видами. В пользу этой гипотезы говорит более высокое разнообразие встреченных культур у проволочников–миксофагов, а также более высокие функциональное разнообразие и стабильность сообщества,

согласно МСТ (таблица 2). Транзитные бактерии, попадающие в кишечник из почвы не выдерживают конкуренции с кишечными.

Кроме того, не исключена возможность наличия у почвенных личинок киллерных веществ, убивающих транзитные бактерии, как это показано на примере диплопод (Бызов, 2005).

Доминирование специфичных коринеподобных бактерий в кишечнике проволочников –миксофагов не является артефактом, связанным с несовершенством метода посевов на твёрдые питательные среды. Реальная численность активных клеток актинобактерий, определённая методом FISH, была не ниже численности γ -протеобактерий, к которым относится сем. *Entherobacteriaceae* (рис. 9).

Минимальные значения параметров функционального разнообразия и устойчивости были характерны для ИМС древесных личинок *A. pomorum*. У ИМС проволочников–миксофагов кишечника наблюдается сходное потребление ряда групп субстратов и относительно высокие устойчивость и функциональное разнообразие (таблица 2).

У проволочников–миксофагов также обнаружена высокая численность азотфиксаторов. Структура комплекса азотфиксаторов была сходна у обоих видов, основываясь на доминировании специфичных коринеподобных бактерий *Microbacterium oxydans*. На фоне этого у личинок–миксофагов была выявлена интенсивная микробная азотфиксация.

Высокое групповое и функциональное разнообразие, устойчивость сообщества, преобладание аборигенной флоры, наличие специфичных компонентов в ИМС, а также активная микробная азотфиксация в кишечнике проволочников–миксофагов свидетельствуют о продвинутой зоомикробных отношениях. Перечисленные факты позволяют предполагать наличие мутуалистических отношений между проволочниками и их интестинальным бактериальным населением, которые позволяют проволочникам менять трофические ниши в зависимости от условий среды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Активные исследования питания личинок Elateridae были начаты в первой половине 20го века в связи с тем, что проволочники – экономически значимые вредители с/х культур, в первую очередь – зерновых. Основной целью работ по изучению биологии питания и размножения проволочников была разработка методов контроля их численности.

Было установлено, что пищевые потребности различаются у личинок отдельных видов Elateridae, среди которых был выделен ряд трофических групп (Долин, 1964).

Большинство проволочников имеют смешанный тип питания с различной степенью сочетания фитофагии, сапрофагии, хищничества.

При этом было показано, что ряд видов, известных, как потребители корней растений, наносящие серьёзный ущерб сельскому хозяйству, нуждаются в животной пище для завершения развития (Долин, 1963). Позже склонность к хищничеству ряда видов, ранее считавшихся фитофагами была подтверждена анализом стабильных изотопов (Traugott, 2008).

Установлено, что занимаемая проволочниками трофическая ниша может варьировать в зависимости от биотопических особенностей, в частности влажности (Гиляров, 1949). В лабораторном эксперименте было показано, что проволочники *A.obscurus*, *S.aeneus*, *S.latus* имеют различные пищевые предпочтения в зависимости от типа биотопа, в котором они были собраны (лесной или открытый) (Долин, 1963). Методом анализа стабильных изотопов мы подтвердили вариабельность трофических ниш этих видов. В пойменных и плакорных биотопах проволочники этих видов занимают различные позиции в пищевой сети, что, вероятно, связано с почвенной влажностью. В более сухих плакорных почвах у исследованных видов склонность к хищничеству выражена сильнее.

Имевшиеся в литературе упоминания возрастной смены трофических ниш проволочниками рода *Agriotes* (Черепанов, 1965) подтверждаются анализом

стабильных изотопов. Возрастная смена выявлена на примере серии проволочников *A.obscurus*, собранных в одинаковые сроки. Таким образом, нами показано, что смена рациона определяется предпочтениями личинок, а не доступностью молодых проростков, как считалось ранее (Черепанов, 1965).

Выявленное направление возрастной смены трофических предпочтений – переход от сапрофагии или хищничества на сапрофагах к фитофагии или хищничеству на фитофагах. Также по нашим данным есть основания полагать, что склонность к хищничеству у *A.obscurus* растёт с возрастом.

Следует отметить, что такая возрастная смена пищевого режима характерна не только для личинок Elateridae. Она была описана для растительноядных личинок, в частности Alleculidae (Стриганова, 1961).

Особый интерес для понимания вопросов питания проволочников представляют зоомикробные взаимодействия. Микроорганизмы могут использоваться как пищевой объект, т.к. они могут проходить через оральные фильтры, а также участвовать в переваривании растительной и животной пищи в качестве симбионтов. Однако лишь немногие исследования касались интестинальных микроорганизмов проволочников, и те носили сугубо прикладной характер (Zqacharuk, 1973; Lacey et al., 2007; González, 2009; Danismazoglu et al., 2012).

В данной работе впервые комплексно исследовано ИМС, что позволило выявить ряд особенностей ИМС личинок различных трофических групп.

Комплекс бактерий кишечника хищных личинок *A.pomorum* отличался низкой общей численностью, групповым и функциональным разнообразием, низкой устойчивостью сообщества, а среди выявленных сапротрофов более половины составляли предположительно транзитные формы бактерий. Всё это свидетельствует о том, что у наиболее склонного к хищничеству вида зоомикробные отношения развиты наиболее слабо.

Проволочники–миксофаги (*A.obscurus* и *S.aeneus*) демонстрировали сходство с хорошо изученными почвенными сапрофагами. Сходство заключалось

в уровне общей численности микроорганизмов и в доминировании бактерий сем. *Entherobacteriaceae* в составе комплекса сапротрофов. Вместе с тем, для этих проволочников типично доминирование мелких коринеподобных палочек родов *Tsukamurella* и *Microbacterium*, не отмечавшихся у других почвенных беспозвоночных. Бактерии рода *Tsukamurella* выделялись из личинок обоих видов, собранных как в степной, так и в таёжной зонах, а также из неопределённого вида из Республики Коста-Рика (González, 2009).

Впервые была обнаружена кишечная азотфиксация у проволочников *A.obscurus* и *S.aeneus*. Ранее подобный процесс был показан для термитов (Голиченков и др., 2002) и дождевых червей (Стриганова и др., 1993).

ИМС проволочников–миксофагов, отличающиеся высоким разнообразием и устойчивостью, вероятно, позволяют личинкам легко менять свою трофическую нишу в зависимости от условий внешней среды, что подтверждается результатами анализа стабильных изотопов.

Влияние активности проволочников на почвенное микробное сообщество отмечалось для видов *Athous subfuscus* (Wolters, 1989), *Actenicerus sjaelandicus* и *Selatosomus costalis* (Козловская, 1976). Нами впервые было изучено влияние на почвенное микробное сообщество жизнедеятельности видов типичных для степной зоны – *S.aeneus* и *A.obscurus*. Основное направление влияния проволочников – увеличение численности бактерий и снижение численности грибов. Это характерно и для других групп почвенных беспозвоночных, в основном сапрофагов (Бызов, 2005), что сдвигает почвенную сукцессию в сторону ускорения процессов минерализации растительных остатков. При этом следует отметить рост параметров функционального разнообразия после кондиционирования проволочниками почвы.

Таким образом, представленные в данной работе результаты с одной стороны разрешают поставленные ранее вопросы вариабельности пищевых предпочтений у проволочников и механизмах этого процесса, а с другой стороны дают ключ к углублению понимания места проволочников в почвенной фауне и их воздействия на окружающую среду.

ВЫВОДЫ

1. У проволочников–миксофагов обнаружены внутривидовые различия трофических ниш в зависимости от условий биотопа. Если в пойменных биотопах для проволочников характерна сапрофагия и фитофагия, то в плакорных биотопах проявляется бóльшая склонность к хищничеству.

2. На примере личинок *A.obscurus* из поймы сухой степи выявлены возрастные изменения содержания стабильных изотопов, которые свидетельствуют о смене пищевого режима в ходе развития и заметном сдвиге от сапрофагии к хищничеству.

3. Интестинальные микробные сообщества у видов–миксофагов (*A.obscurus* и *S.aeneus*) отличаются высоким групповым и функциональным разнообразием, относительно высокой устойчивостью, высокой долей аборигенных форм (62-90%) по сравнению с хищными личинками (*A.pomorum*) с низким групповым и функциональным разнообразием, низкой устойчивостью и заметно меньшей долей (50%) аборигенных форм. Это свидетельствует о более сложном ИМС у проволочников–миксофагов и позволяет предполагать у них развитые мутуалистические связи с микроорганизмами кишечника.

4. Основные доминанты в кишечнике проволочников-миксофагов – коринеподобные бактерии родов *Tsukamurella* и *Microbacterium*, не типичные ни для других почвенных беспозвоночных, ни для почвы. Эти бактерии встречаются в кишечнике проволочников различных видов из различных биотопов.

5. У проволочников–миксофагов впервые обнаружена активная азотфиксация в кишечнике (0,04 до 0,3 мкг(C₂H₄) ч⁻¹ г⁻¹ массы тела личинки), что коррелирует с высокой численностью азотфиксирующих *M. oxydans* (10⁷-10⁸ КОЕ/г).

6. У проволочников индивидуальная вариабельность интестинальных микробных сообществ в пределах одного биотопа незначительна, краткосрочные изменения питания проволочников слабо влияют на интестинальное микробное сообщество, что свидетельствует о его стабильности.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит Стриганову Б.Р., без которой работа не была бы выполнена, Тиунова А.В. за проведение изотопного анализа и полезные советы, кафедру биологии почв ф-та почвоведения МГУ и лично Костину Н.В., Горленко М.В., Полянскую Л.М., Манучарову Н.А., Иванову А.Е. за помощь в проведение микробиологических анализов, Самойлова В.К., Михайлова К.М., Барне А.Ж., коллектив Саратовского филиала ИПЭЭ им. Северцова и коллектив Тобольской биостанции УрОРАН за помощь в сборе образцов.

Работа была поддержана РФФИ (проект № 14-04-01116а) и грантом Президента РФ для поддержки ведущих научных школ (НШ-5975.2014.4).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГПД – глюкозо-пептонно-дрожжевая среда

ИМС – интестинальное микробное сообщество

КОЕ – колониеобразующая единица

МСТ – мультисубстратное тестирование

FISH – fluorescent *in situ* hybridization

д. – деревня

пор. – порядок

р. – река

с. – село

сем. – семейство

экз. – экземпляр

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арнольди Л.В. Почвенные личинки р. Урала и Волжско-Уральского междуречья // Зоол. инст. АН СССР – 1954 XVI. С. 159-195.
2. Бабкина Н.И. Судьба актиномицетов в кишечном тракте почвенных беспозвоночных: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1995. 24 с.
3. Биология, селекция и возделывание подсолнечника. / Под общей редакцией В.М. Пенчукова. Москва. ВО «Агропромиздат». 1991. 281с.
4. Бобинская С.Г. Поведение проволочников в зависимости от почвенных условий // Итоги работ ВИЗРа – Л., 1937. С. 43-46.
5. Бобинская С.Г., Григорьева Т.Г., Персин С.А. Проволочники и меры борьбы с ними. Л.: «Колос» 1965. 224 с.
6. Бухкало С.П., Галич Д.Е., Сергеева Е.В. Динамика населения почвообитающих беспозвоночных подзоны южной тайги Западной Сибири // Почвенные сообщества: от структуры к функциям: Материалы XV всероссийского совещания по почвенной зоологии. Москва, 2008. С. 16-18
7. Бухкало С.П., Галич Д.Е., Сергеева Е.В., Алемасова Н.В. Конспект фауны жуков южной тайги Западной Сибири (в бассейне нижнего Иртыша). Товарищество научных изданий КМК. М.: 2011. 267 с.
8. Бызов Б.А. Зоомикробные взаимодействия в почве М., Геос, 2005 213 с.
9. Веремеев, В. Н. Почвенная мезофауна пойменных лугов юго-востока Беларуси в условиях недостатка влаги в летний период как экологическая модель их антропогенной трансформации // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія. Днепропетровск, 2008. №16. С. 41-45.
10. Веремеев В.Н., Гулаков А.В. 2013 Комплексы почвообитающих беспозвоночных пойменной экосистемы в условиях сенокосно-пастбищного использования // Известия Гомельского государственного университета им. Ф. Скорины, No 5(80), 2013 С. 38-44.

11. Воробейчик Е.Л. Реакция почвенной биоты лесных экосистем Среднего Урала на выбросы медеплавильных комбинатов // Автореф. дисс.... канд. биол. наук. Екатеринбург. – 1995. 24 с.
12. Гиляров М.С. Факторы, определяющие вредоносность почвенных вредителей, и их значение для культуры каучуконосов. Защита растений, №13: 1937. С. 41-53.
13. Гиляров М.С. Влияние почвенных условий на фауну почвенных вредителей // Почвоведение. – 1939. – Т. 9. – С. 121-138.
14. Гиляров М.С. О причинах дивергентной эволюции обитающих в почве личинок шелкоунов // Докл. АН СССР. – 1942. – Т. 36. – №. 8. – С. 268-270.
15. Гиляров М.С. Особенности почвы как среды обитания и её значение в эволюции насекомых. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1949. 280 с.
16. Гиляров М.С. Зоологический метод диагностики почв. – М.: «Наука», 1965. – 276 с.
17. Гиляров М.С. Закономерности приспособления членистоногих к жизни на суше. М.: «Наука». 1970. 275 с.
18. Гиляров М.С. Учёт крупных почвенных беспозвоночных (мезофауны) // Методы почвенно-зоологических исследований. М.: «Наука». 1975. С. 12-30.
19. Гиляров М.С., Курчева Г.В. Личинки шелкоуна *Synaptus filiformis* F. и место этого рода в системе Agriotini // Зоологический журнал. - 1953. - Т. 32, № 6. - С. 1156-1161
20. Гиляров М.С., Семёнова Л.М. Особенности пищеварительной системы почвенных личинок насекомых с разным типом питания // Адаптация почвенных животных к условиям среды: Сборник статей. М.: Наука, 1977. - 192 с.
21. Говоров В.В., Негрובה Е.А., Ахтырцев Б.П. Почвенно-зоологическая характеристика степной катены (на примере Каменной степи) // Вестник Воронежского государственного университета. Серия Химия.

Биология. Фармация. — Воронеж, 2007. — № 1. - С. 66-72.

22. Голиченков М.В., Костина Н.В., Ульянова Т.А., Добровольская Т.Г., Умаров М.М. Особенности азотфиксации и денитрификации у термитов *Neotermes castaneus*, *Zootermopsis angusticollis* и *Reticulitermes lucifugus* // Известия РАН. Серия биологическая. — 2002. — № 2. — С. 214–218.

23. Гончаров А.А., Тиунов А.В. 2013 Трофические цепи в почве // Журнал Общей Биологии. 2013. Т.74, №6. С. 450-462.

24. Горленко М.В., Кожевин П.А. Мультисубстратное тестирование природных микробных сообществ // М., МАКС Пресс 2005. 88 с.

25. Гриванов К.П. Видовой состав щелкунов (Coleoptera, Elateridae) Юго-Востока Европейской части СССР в связи с результатами исследований по борьбе с ними // Энтомологическое обозрение Т. XLIII вып. 4 «Наука» АН СССР всесоюзное энт. общ-во. 1964. с. 832-844.

26. Гурьева Е.Л. Очерк фауны жуков-щелкунов (Coleoptera, Elateridae) Центрального Казахстана // Энтомологическое обозрение 1965 т. XLIV, 1. 1965. С. 100-105.

27. Гурьева, Е. Л. Жуки-щелкуны (Elateridae). Подсемейство Elaterinae. Трибы Megapenthini, Physorhinini, Ampedini, Elaterini, Pomachiliini // Фауна СССР. Жесткокрылые. - Л.: Наука, 1979. - Т. 12, вып. 4. - 453 с.

28. Гурьева Е.Л. Жуки-щелкуны (Elateridae). Подсемейство Athoinae. Триба Stenicerini. // Фауна СССР. Жесткокрылые. - Л.: Наука. 1989. - Т. 12, вып. 3. - 295 с.

29. Данияров Ю.Р. Жесткокрылые как показатели изменений почвенного режима при освоении целинных земель // Проблемы почвенной зоологии. Материалы Третьего Всесоюзного Совещания. Казань: «Наука» 1969. С.60.

30. Добровольская Т.Г. Структура бактериальных сообществ почв. — М.: ИКЦ «Академ-книга», 2002. — 282 с.

31. Добровольский Б.В. Борьба с проволочниками. Выставка

достижений народного хозяйства СССР. Москва. 1961. 15 с.

32. Долин В.Г. Личинки жуков-щелкунов рода *Melanotus* Esch. (Coleoptera, Elateridae) Украинской ССР. // Зоол. журн., т.39. вып. 7, 1960а. С. 1032-1038.

33. Долин В.Г. Личинки щелкунов рода *Athous* Esch. (Coleoptera, Elateridae) Украинской ССР. // Зоол. журн., т.39, вып. 8, 1960б. С. 1156-1168.

34. Долин В.Г. К вопросу о трофических связях личинок жуков-щелкунов (проволочников) // Материалы к изучению фауны и экологии насекомых центральных районов лесостепи Украины: Сб. трудов. Киев: Изд-во КГУ, 1963. С. 116-147.

35. Долин В.Г. Личинки жуков-щелкунов (проволочники) европейской части СССР. Киев, "Урожай" 1964, 206 с.

36. Долин В.Г. Причины стойкости очагов проволочников // Зоологический журнал 1967, т. LXVI, вып. 1. с. 83-87.

37. Долин В.Г. 1978 Определитель личинок жуков-щелкунов фауны СССР Изд-во "Урожай", Киев, 1978, 124 с.

38. Егина К.Я. Биологический метод в борьбе с щелкунами // Проблемы почвенной зоологии. Материалы Третьего Всесоюзного Совещания. Казань: «Наука» 1969. С.73.

39. Замбин И.М. О воздействии почвенных растворов на личинок щелкунов // Труды института биологии. вып.5, №2. М.: Издательство АН СССР. 1954. С. 79-86.

40. Зенкова И.В. Структура сообществ беспозвоночных животных в лесных подзолах Кольского полуострова. Автореф. дис... канд. биол. наук. Петрозаводск, 2000. - 34с.

41. Кабанов, В. А. О питании и миграции плавневого щелкуна // Зоология: сб. стат. в помощь учителям биологии и агрономам. Краснодар: Изд-во КГПИ, 1966.-С. 96-97.

42. Карнаухов В.Н. Люминесцентный анализ клеток. - Пущино: Электронное издательство "Аналитическая микроскопия" (Под ред. проф.

А.Ю. Буданцева), 2004. - 131 с.

43. Кисенко Т. И., Жуков А. В. Почвенная мезофауна поймы р. Самара-Днепровская // Вестн. Днепропетр. ун-та. – Сер. Биология и экология – Вып. 7. – Д. – 2000. – С. 62–68.

44. Кожанчиков И.В. Методы исследования экологии насекомых.- М.: "Высш. шк.". 1961. 286 с.

45. Козловская Л.С., Марьина Н. М. Влияние личинок элатерид (Coleoptera, Elateridae) на почвенную микрофлору (в лесных ценозах Зап. Сибири) // Фауна и экология членистоногих Сибири. Новосибирск, 1966. С. 33-35.

46. Козловская Л.С. Роль беспозвоночных в трансформации органического вещества болотных почв // Ленинград: Наука. 1976. 211 с.

47. Колесникова А.А., Таскаева А.А., Лаптева Е.М., Дегтева С.В. Вертикальное распределение Collembola, Lumbricidae и Elateridae в аллювиальных почвах пойменных лесов // Сибирский экологический журнал, изд-во Сибирского отделения РАН (Новосибирск) 2013. - № 1. С. 45-55.

48. Космачевский А.С. Влияние температуры и влажности на скорость развития шелкоунов // Доклады Академии Наук СССР. 1950, т. LXXIII, №5. С. 1101-1103.

49. Космачевский А. С. Вопросы экологии вредных почвенных насекомых. // Третья экологичная конференция. Тезисы докладов, Киев: No 1, 1954. с. 118–122.

50. Космачевский А.С. К вопросу о питании личинок жуков-шелкоунов (Coleoptera, Elateridae) // Энтомологическое обозрение, 37, 4. 1958. С. 798-806.

51. Космачевский А.С. Биология крымского (*Agriotes litigiosus* var. *Tauricus* Heyd.) и посевного (*Agriotes sputator* L.) шелкоунов (Coleoptera, Elateridae) // Энтомологическое обозрение. XXXVIII, 4, 1959. С. 738-749.

52. Космачевский А.С. Биология и экология туркестанского шелкоуна (*Agriotes meticulosus* Cand.) // Труды научно-исследовательского ин-та защиты растений. 1962 т.7. Алма-Ата. С. 405-408.

53. Кузнецова Н.А., Семенина Е.Э., Короткевич А.Ю., Тиунов А.В. Изотопные методы и структурно-функциональный подход в экологии сообществ: новая жизнь старой методологии (на примере таксоцена коллембол). Потоки вещества и энергии в трофических сетях: современные методы изучения. Доклады на XXIII чтениях памяти академика В.Н. Сукачева. 2014. С. 57–93.
54. Левитанская П. Б. Перитрофическая перепонка у комаров и ее значение для развития малярийных паразитов. // Мед. паразитол., 1947, т. 16, вып. 2, С. 64—71.
55. Лысак Л.В., Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н. Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий. М.: МАКС Пресс 2003. 120 с.
56. Макаров М.И., Малышева Т.И., Ермак А.А., Онопченко В.Г., Меняйло О.В., Степанов А.Л. Симбиотическая азотфиксация в сообществе альпийской лишайниковой пустоши Северо-Западного Кавказа (Тебердинский заповедник) // Почвоведение, № 12. 2011. С. 1504-1512.
57. Манучарова Н.А. Молекулярно-биологические методы в почвоведении и экологии. М.: «Университетская книга». 2014. 68 с.
58. Матвеева В.Г. Комплексы проволочников пойменных лугов в ландшафтных зонах европейской территории СССР // Московский государственный институт. Фауна и экология беспозвоночных животных. Сборник трудов. ч.1 М. 1976. С.56-79.
59. Медведев А.А. Фауна европейского Северо-Востока России. Жуки-щелкуны. Т.VIII, ч.1. – СПб.: Наука, 2005. 174 с.
60. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Под ред. Д.Г.Звягинцева. М.: МГУ, 1991. 303 с.
61. Мишустин Е. Н. Ассоциации почвенных микроорганизмов // М.: Наука. 1975. 106 с.
62. Мкртчян, Л. П., Макарян, С. Р. Симбионты араратской кошенили *Porphyrophora hamelii* Brandt (Homoptera, Coccinea, Margarodidae). // Biological

journal of Armenia 2013. V. 65. Issue 1. P. 72-76.

63. Надворный В.Г. О причинах возникновения очагов проволочников (Col., Elateridae) на полевых угодьях // Проблемы почвенной зоологии. Материалы Третьего Всесоюзного Совещания. Казань: «Наука» 1969. С.116-117.
64. Некрасова Л.С. Влияние медеплавильного производства на почвенную мезофауну // Экология. №5. 1993. С. 83-85.
65. Ненароков М.И. Защита посевов сельскохозяйственных культур от проволочника. Воронежское книжное издательство. 1956. 48с.
66. Нестеренко О.А., Квасников Е.И., Ногина Т.М. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии // Киев: «Наукова думка». 1985. 335 с.
67. Овчинникова И.А. Некоторые физиологические показатели, характеризующие различные экологические группы личинок щелкунов (Elateridae, Coleoptera) // Журнал общей биологии. т. XXI, №1 1960. С.40-47.
68. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейнли, С. Уилльямса [пер. с англ. под ред. акад. РАН ГА Заварзина] М.: «Мир» 1997. Т.1–2. 800 с.
69. Определитель обитающих в почве личинок насекомых / Под общ. рук. М.С. Гилярова. – М.: Наука, 1964. – 921 с.
70. Орлов В.Н. Распределение почвообитающих жуков-щелкунов (Coleoptera, Elateridae) в прибрежных биотопах среднего течения реки Псекупс // Актуальные вопросы энтомологии на Кубани. Кубанский государственный аграрный университет. Краснодар, 2007. С.36-41.
71. Полянская Л.М., Оразова М.Х, Бурканова О.А., Звягинцев Д.Г. Микронавески ризосферной почвы и лабораторные артефакты // Микробиология. 2000. Т. 69. №4. С. 581-585.
72. Полянская Л. М., Городничев Р. Б., Звягинцев Д. Г. Размеры клеток бактерий в почвах, определяемые методом «каскадной фильтрации» // Известия РАН. Серия Биологическая. – 2013. – №. 2. – С. 144
73. Пономаренко В.А. Биологическая активность чернозёма

обыкновенного при защите посевов от почвообитающих фитофагов (Coleoptera, Elateridae). Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ростовский ун-т. 2000. 23 с.

74. Принц Я.И. Влияние кислотности почвы на распределение в ней личинок хрущей майского, июньского, мраморного, хлебного жука и проволочников. // Итоги научно-исследовательских работ ВИЗР за 1936 год. 1937, Ч. I, с. 208-211.

75. Прокофьева И.В. О поедании жуков-щелкунов Elateridae // Русский орнитологический журнал 2008, т.17, Экспресс-выпуск 411. С.544-548.

76. Рощиненко В.И. Фауна щелкунов в поймах рек Камы, Чепцы и Кильмези // Проблемы почвенной зоологии. Материалы Третьего Всесоюзного Совещания. Казань: Наука 1969. с.139-140

77. Сажнев А.С. Каталог жесткокрылых (Coleoptera) Саратовской области [Электронный ресурс] www.zin.ru/animalia/coleoptera/rus/colesar1.htm 2007.

78. Сажнев А.С., Аникин В.В. Эколого-фаунистическая характеристика прибрежных жесткокрылых (Insecta: Coleoptera) некоторых водоемов Саратовского Заволжья // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. Т. 14. Вып. 2. Саратов, 2014. С. 89–96.

79. Самерсов В.Ф. Интегрированная система защиты зерновых культур от вредителей – Минск: Ураджай. – 1988. 207 с.

80. Сахаров Н.Л. Вредные насекомые Нижнего Поволжья. ОГИЗ Саратовское областное издательство. 1947. С. 1-94.

81. Семёнова Л.М. Особенности кутикулы почвенных насекомых в сравнении с водными и наземными. АН СССР, ин-т морфологии животных им. Северцева. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. Институт морфологии животных им. А.Н. Северцова АН СССР 1958г. 17 с.

82. Семеняк С.А. Зависимость миграции некоторых видов проволочников от их холодостойкости // Проблемы почвенной зоологии.

Материалы Третьего Всесоюзного Совещания. Казань: «Наука» 1969. С.146-147.

83. Середюк С. Д. Экологические особенности, популяционная структура и видовые сообщества семейства Elateridae в зонах техногенного воздействия. Дис... канд. биол. наук – Казань. Казан. гос. ун-т им. В.И. Ульянова-Ленина. 2004. 136 с.

84. Складчиков М.А. Очажность распределения проволочников в полях севооборотов и их выявление // Научная конференция Харьковского с/х института. Тезисы докладов, вып. 4. Харьков 1962. С. 28-29.

85. Степанов А.Л., Лысак Л.В. Методы газовой хроматографии в почвенной микробиологии. М.: МАКС Пресс, 2002. 88 с.

86. Стриганова Б.Р., Пантош-Деримова Т.Д., Тиунов А.В. Сравнительная оценка активности азотфиксации в кишечнике разных видов дождевых червей // Известия АН СССР, сер. биол. 1993. № 3. С. 257-263.

87. Стриганова Б.Р. Морфологические особенности и определительная таблица личинок пыльцев (Alleculidae, Coleoptera) // Зоологический журнал, т. 40, Вып.2. 1961. С. 193-200.

88. Стриганова Б. Р. «Закономерности строения органов питания личинок жесткокрылых». — М.: Наука. 1966. 128 с.

89. Стриганова Б.Р., Емец В.М. 1998 Закономерности пространственно-временной динамики разнообразия почвенной мезофауны на примере жуков-щелкунов (Elateridae, Coleoptera) // Известия РАН, сер.биол. 1998. № 6 С. 717-724.

90. Тиунов А.В. Стабильные изотопы углерода и азота в почвенно-экологических исследованиях // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2007 №4. С. 475-489.

91. Третьякова Е.Б. Сообщества бактерий, ассоциированные с почвенной мезофауной: Дисс. ...канд. биол. наук. М., 1993. 161 с.

92. Третьякова Е.Б., Добровольская Т.Г., Бызов Б.А., Звягинцев Д.Г. Сообщества бактерий, ассоциированные с почвенными беспозвоночными //

Микробиология. 1996. Т.65, №1. С. 102-110.

93. Тугушева Р.С. Фауна жуков-щелкунов (Coleoptera, Elateridae) Казахстана. автореф. канд. дисс. Алма-Ата. 1972. 21 с.

94. Уголев А.М., Цветкова В.А. Индуцированный автолиз как важный механизм начальных стадий пищеварения в естественных условиях // Физиологический журнал СССР им.И.М.Сеченова 1984 т.70 №11 С. 1542-1550.

95. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация // М.: Изд-во МГУ. 1986. 132 с.

96. Умаров М.М., Кураков А.В., Степанов А.Л. Микробиологическая трансформация азота в почве // М.: Изд-во ГЕОС. 2007. 138 с.

97. Черепанов А.И. Жуки-щелкуны Западной Сибири (Coleoptera, Elateridae). Новосибирское Книжн. Изд-во: 1957. 382 с.

98. Черепанов А.И. Проволочники Западной Сибири. М.: Наука, 1965. 190 с.

99. Черепанов А.И. Новый вид рода *Agriotes* Eschz. (Coleoptera, Elateridae) // Новые и малоизвестные виды фауны Сибири. Новосибирск, 1965а. С.35-38.

100. Чопикашвили Л.В. Вредность проволочников и ложнопроволочников на северных склонах Центрального Кавказа // Проблемы почвенной зоологии. Материалы Третьего Всесоюзного Совещания. Казань: «Наука» 1969. С.192.

101. Чопикашвили Л.В. Жуки-щелкуны (Elateridae) влажных биотопов в долинах рек бассейна Терека // Зоологический журнал 1971 Т.1, вып.5. С. 775-776.

102. Шванвич Б. Н. Курс общей энтомологии. М.-Л.: Советская наука, 1949. 899с.

103. Шивокене Я.С. Симбионтная микрофлора пищеварительного тракта насекомых и её роль в их патогенезе. (5. Физиолого-биохимическая и антибактериальная активность кишечных бактерий, гемолимфы и отдельных

органов гусениц капустной белянки) // Труды АН ЛитССР. В. - №2 – 1989. С. 65-69.

104. Шивокене Я.С., Малукас Э.З. Симбионтная микрофлора пищеварительного тракта насекомых и её роль в их патогенезе. 3. Физиолого-биохимическая и антибактериальная активность кишечных микроорганизмов и отдельных органов личинок колорадского жука. // «Труды АН ЛитССР», 1988, В, № 2/102. С.101-107.

105. Шовен Р. Физиология насекомых. В переводе Хвостовой В.В. Изд. Иностранной Литературы, М. 1953. 496 с.

106. Ягужинская Л. В. Перитрофическая перепонка взрослой самки анофелес. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 9 (6). 1940. С. 601—603.

107. Anderson I.M., Bignell D.E. Bacteria in the food, gut content and ffeeces of the litter feeding millipede *Glomeris marginata* // Soil Biol.Biochem. V.12. 1980. P. 251-254.

108. Applebaum S. W. Biochemistry of digestion. // Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology. Edited by Kerkut G.A. and Gilbert L.I., Vol. 4, New York, Pergamon Press. 1985. P. 279-311.

109. van Borm S., Buschinger A., Boomsma J.J., Billen J. *Tetraponera* ants have gut symbionts related to nitrogen-fixing rootnodule bacteria. Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences, 269, 2002. P. 2023—2027.

110. Baker J. E. Localization of proteolytic enzymes in the midguts of larvae of the black carpet beetle. J. Georgia entomol. Soc. 16, 1981. P. 495-500.

111. Baleux B., Vivares Ch.P. Étude preliminiare de la flore bactérienne intestinale de *Schizophyllum sabulosum* var. *rubripes* LAT. (Myriopoda, Diplopoda). // Bull. Soc. zool. France 99: 1974. P. 771- 779.

112. Barsics F., Delory B.M., Delaplace P., Francis F., Fauconnier M.L., Haubruge É., Verheggen F.J. Foraging wireworms are attracted to root-produced volatile aldehydes. // Journal of Pest Science. 2016. P. 1-8.

113. Baumann E. Isolation and partial characterization of a chymotrypsin-

like endoprotease from cockroach intestinal system. // Insect Biochem. 20, 1990. P. 761-768.

114. Behar A., Yuval B., Jurkevitch E. Community structure of the mediterranean fruit fly microbiota: seasonal and spatial sources of variation. Israel Journal of Ecology & Evolution, 54, 2008. P. 181–191.

115. Berenbaum, M. Adaptive significance of midgut pH in larval Lepidoptera. // Am. Natural., 115, 1980. P. 138–146.

116. Bjerkander C. Rön om rot-masken. - Kongl. Vetenskaps Academiens Handlingar, 38: 1777. P. 29-43.

117. Blot Y., Brunel E., Courbon R. Survey on the infection of wheat and maize by larvae of wireworms of *Agriotes* and *Athous* genera (Coleoptera: Elateridae) in some areas of West France. // Annales de la Societe Entomologique de France 35, 1999. P. 453–457.

118. Bogdanov E.A. Über das Züchten der Larven der gewöhnlichen Fleischfliege (*Calliphora vomitoria*) in sterilisierten Nahrungsmitteln. // Pflügers Arch. ges. Physiol. 113, 1906. P. 97-105.

119. Bogdanov E.A. Über die Abhängigkeit des Wachstums der Fliegenlarven von Bakterien und Fermenten und über Variabilität und Vererbung bei den Fleischfliegen. // Arch. Anat. Physiol. Jahr 1908, Suppl., P. 173-200.

120. Breznak J. A. Intestinal microbiota of termites and other xylophagous insects // Ann. Rev. Microbiol. 36. 1982. P. 323-343.

121. Breznak J. A., Brune A. Role of microorganisms in the digestion of lignocellulose by termites // Annual review of entomology 39. 1994. P. 453-87.

122. Broderick N.A., Raffa K.F., Goodman R.M., Handelsman J. Census of the bacterial community of the gypsy moth larval midgut by using culturing and culture-independent methods. Applied and Environmental Microbiology, 70, 2004. P. 293–300.

123. Bulger J.W. Studies on elemental sulfur as a soil insecticide. // Ohio Journal of Science. V. 28, Issue 1. 1928. P. 1-42

124. Burakovski B. Laboratory methods for rearing soil beetles (Coleoptera)

// Memorabilia zoologica. Polska Akademia Nauk Muzeum i Instytut Zoologii.
Warszawa. 1993. 70 p.

125. Burrage R.H. Seasonal Feeding of Larvae of *Ctenicera destructor* and *Hypolithus bicolor* (Coleoptera: Elateridae) on Potatoes Placed in the Field at Weekly Intervals // *Annals of the Entomological Society of America*, Volume 56, Number 3, May 1963. P. 306-313.

126. Byzov B.A. Intestinal Microbiota of Millipedes // *Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates Soil Biology*. V 6 2006. P. 65-88

127. Byzov B.A., Vu Nguyen Thanh, Bab'eva I.P. Yeasts associated with soil invertebrates // *Biol. Fertil. Soils*. 1993 V.16. P. 183-187.

128. Byzov, B.A., Claus, H., Tretyakova, E.B., Zvyagintsev, D.G., Filip, Z. Effects of soil invertebrates on the survival of some genetically engineered bacteria in leaf litter and soil. *Biology and Fertility of Soils* 23. 1996. P. 221-228.

129. Byzov B.A., Kurakov A.V., Tretyakova E.B., Vu Nguyen Thanh, Nguyen Duc To Luu, Rabinovich Ya.M. Principles of the digestion of microorganisms in the gut of soil milipedes: specifity and possible mechanisms // *Appl. Soil Ecol*. 1998 №9. P.145-151.

130. Cameron G.R. Inflammation in the caterpillars of Lepidoptera. *J. Path. Bact.*, 38, 1934. P. 441-466.

131. Campbell R.E. Temperature and moisture preferences of wireworms // *Ecology*. – 1937. – T. 18. – №. 4. – C. 479-489.

132. Caris J.L. Great tit killing and carrying goldcrest // *Br. Birds*. – 1958. – T. 51. – C. 355.

133. Catalogue of Palaearctic Coleoptera, volume 4, (Elateroideci – Derodontoidea – Bosirichoidea Lymexyloidea – Cleroidea – Cueujoidea). Edited by I.Löbl & A.Smetana Apollo Books: Denmark, 2007. 935 p.

134. Caut S., Angulo E., Courchamp F. Variation in discrimination factors ($\Delta^{15}\text{N}$ and $\Delta^{13}\text{C}$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. // *Journal of Applied Ecology*, 46(2), 2009. P. 443-453.

135. Cazemier A.E. , J.H.P. Hackstein, H.J.M. Op den Camp, J. Rosenberg, C. van der Drift 1997 Bacteria in the Intestinal Tract of Different Species of Arthropods // Microbial ecology 33:189-197
136. Chahartaghi M., Langel R., Scheu S., Ruess L. Feeding guilds in Collembola based on nitrogen stable isotope ratios // Soil Biology and Biochemistry. – 2005. – T. 37. – №. 9. – C. 1718-1725.
137. Chapman R. F. Structure of the digestive system. // Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology. Edited by Kerkut G.A. and Gilbert L.I., Vol. 4, New York, Pergamon Press. 1985. P. 165-211.
138. Chernova N.M., Bokova A.I., Varshav E.V., Goloshchapova N.P., Savenkova Yu. Yu. Zoophagy in Collembola // Entomological Review. – 2007. – T. 87. – №. 7. – C. 799-811.
139. Chu T.L., Szabo I.M., Szabo I. Nocardioform gut actinomycetes of *Glomeris hexasticha* BRANDT (Diplopoda). // Biol. Fertil. Soils 3. 1987. P. 113 – 116.
140. Clark, T. M. Evolution and adaptive significance of larval midgut alkalization in the insect superorder Mecopterida. // J. Chem. Ecol., 25, Clark, 1999. P. 1945–1960.
141. Cohen M. Observations on the biology of *Agriotes Obscurus* L. // Annals of Applied Biology. – 1942. – T. 29. – №. 2. – C. 181-196.
142. Colepicolo-Neto P., Bechara E. J. H., Ferreira C., Terra W. R. Evolutionary considerations of the spatial organization of digestion in the luminescent predaceous larvae of *Pyrearinus termitillumihans* (Coleoptera: Elateridae). Insect Biochem. 16, 1986 P. 811-817.
143. Colman D. R. , E. C. Toolson, C. D. Takacs-Vakacs-Vesbach 2012 Do diet and taxonomy influence insect gut bacterial communities? // Molecular Ecology (2012) 21, 5124–5137
144. Contreras E. Studies on the intestinal actinomycetes flora of *Eisenia lucens* (Annelida, Oligochaeta) // Pedobiol. 1980. Vol.20, N 4. P. 243-250.
145. Contreras E. Intestinal bacterial communities of *Megaphyllum*

projection Verh. and *Cylindroiutus boleti* (Koch) (Diplopoda). // LESEL, R. (ed.), Microbiology in poecilotheims: Elsevier, Amsterdam. 1990. P. 119 -122.

146. Crombie A.C., Darrah J.H. The chemoreceptors of the wireworm (*Agriotes* spp.) and the relation of activity to chemical constitution // Journal of Experimental Biology. – 1947. – T. 24. – №. 1-2. – C. 95-109.

147. Crotty F.V., Blackshaw R.P., Adl S.M., Inger R., Murray P.J. Divergence of feeding channels within the soil food web determined by ecosystem type // Ecology and evolution. – 2014. – T. 4. – №. 1. – C. 1-13.

148. Danismazoglu M., Demir I., Sevim A., Demirbağ Z., Nalçacıoğlu R. An investigation on the bacterial flora of *Agriotes lineatus* (Coleoptera: Elateridae) and pathogenicity of the flora members. Crop Protection 40: 2012. P. 1–7.

149. Dickman A., Studies on the waxmoth, *Galleria mellonella*, with particular reference to the digestion of wax by the larvae. // J. Cellular Comp. Physiol. 3: 1933. P. 223-246.

150. Dillon R. J., Dillon V. M. The insect gut bacteria: An overview. // Annu. Rev. Entomol., 49, 2004. P. 71–92.

151. Doane J.F., Klingler J. Location of CO₂-receptive sensilla on larvae of the wireworms *Agriotes lineatus-obscurus* and *Limonius californicus* // Annals of the Entomological Society of America. – 1978. – T. 71. – №. 3. – C. 357-363.

152. Doane J. F., Lee Y. W., Klingler J., Westcott N. D. The orientation response of *Cteniera destructor* and other wireworms (Coleoptera: Elateridae) to germinating grain and to carbon dioxide // The Canadian Entomologist. – 1975. – T. 107. – №. 12. – C. 1233-1252.

153. Domshe K.H., Banse M. Mykologische Untersuchungen Am Regenwurm Exkrementen // Soil Biol. Biochem. 1972. V. 4. P. 31-38.

154. Douglas A. E. Mycetocyte symbiosis in insects // Biological Reviews 12; 64(4): 1989. P. 409-34.

155. Douglas A.E. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: Aphids and their Symbiotic Bacteria *Buchnera* // Annu. Rev. Entomol. 43: 1998. P. 17-37.

156. Douglas A. E. The microbial dimension in insect nutritional ecology // Functional Ecology 23, 2009. P. 38–47.
157. Harold L. Drake H.L., Schramm A., Horn M.A. Earthworm Gut Microbial Biomes: Their Importance to Soil Microorganisms, Denitrification, and the Terrestrial Production of the Greenhouse Gas N₂O // Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates Soil Biology V 6 2006. P. 65-88.
158. Dzingov A., Marialigeti K., Jager K., Contreras E., Kondics L., Szabo I.M. Studies on the microflora of millipedes (Diplopoda) I. A comparison of actinomycetes isolated from surface structures of the exoskeleton and the digestive tract // Pedobiologia 24: 1982. P. 1-7.
159. Egert M., Stingl U., Bruun L.D., Pommerenke B., Brune A., Friedrich M.W. Structure and topology of microbial communities in the major gut compartments of *Melolontha melolontha* larvae (Coleoptera: Scarabaeidae). Applied and Environmental Microbiology, 71, 2005. P. 4556–4566.
160. Estók P. Present status of a rare bat species, *Nyctalus lasiopterus* (Schreber, 1780), in Hungary // Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy. – 2011. – T. 22. – №. 1. C. 99-104.
161. Evans, A.C., Gough, H.C. Observations on some factors influencing growth in wireworms of the genus *Agriotes* Esch. // Annals of Applied Biology, 29, 1942. P. 168–175.
162. Falconer D.S. On the behavior of wireworms of the genus *Agriotes* Esch. (Coleoptera, Elateridae) in relation to the temperature. // J. Exp. Biol. 21, 1945. P. 17-32.
163. Ferreira C., Terra W.R. Spatial organization of digestion, secretory mechanisms and digestive enzyme properties in *Pheropsophus aequinoctialis* (Coleoptera: Carabidae). Insect Biochem. 19, 1989. P. 383-391.
164. Ferreira C., Capella A. N., Sitnik R. and Terra W. R. Digestive enzymes in midgut cells, endo and ectoperitrophic contents, and peritrophic membranes of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera) larvae. // Archs. Insect Biochem. Physiol. 1994. V. 26, Issue 4. P. 299–313.

165. Flachs K. Experimentell-biologische Studien an Drahtwürmern // Z. angew. Entomol. – 1929. – T. 14. – P. 514-528.
166. Fletcher F., Haub J.T. Digestion in blowfly larvae, *Phormia regina* Meigen, used in the treatment of osteomyelitis. // Ohio J. Sci. 33: 1933. P. 101-109.
167. Furlan, L. The biology of *Agriotes ustulatus* Schaller (Col., Elateridae). II. Larval development, pupation, whole cycle description and practical implications. // Journal of Applied Entomology, 122(1 - 5), 1998. P. 71-78.
168. Furlan, L., Toffanin, F. Suscettibilita di alcune colture erbacee agli attacchi di diverse specie del genere *Agriotes* e valutazione dell'efficacia di alcune strategie di protezione agronomica. // ATTI. Giornate Fitopatologiche, 1, 1996. P. 215–222.
169. Furlan L., Toffanin F. Effectiveness of new insecticides used as seed dressing (imidacloprid and fipronil) against wireworms in controlled environment (*Zea mays* L.-*Beta vulgaris* L.-Veneto) // Atti delle Giornate Fitopatologiche (Italy). 1998. P. 195–200
170. Genta, F. A., Dillon, R. J., Terra, W. R., Ferreira, C. Potential role for gut microbiota in cell wall digestion and glucoside detoxification in *Tenebrio molitor* larvae. // J. Insect Physiol., 52, 2006. P. 593–601.
171. González A.A. Estudio de la diversidad de hongos y bacterias asociados al intestino de larvas de coleópteros y determinación de sus propiedades lignocelulíticas. Informe para optar al título de Bachiller en Ingeniería en Biotecnología. Cartago, 2009. 51 p.
172. Griffiths B.S., Wood S. Microorganisms associated with the hindgut of *Oniscus asellus* (Crustacea, Isopoda) // Pedobiol. 1985. Vol.28, N 6. P. 377-381.
173. Halaj, J., Peck, R.W., Niwa, C.G. Trophic structure of a macroarthropod litter food web in managed coniferous forest stands: a stable isotope analysis with d¹⁵N and d¹³C. // Pedobiologia 49, 2005. P. 109–118.
174. Hanks L. M., Barbour J.D., Kratz K., Webb W.C. Ad libitum water source for a Common Raven // The Wilson Journal of Ornithology. – 2009. – T. 121. – №. 1. – C. 210-212.

175. Hardy F.W., Knight E.I. ATP-dependent reduction of acid and YCN by N-fixing enzymes *Azotobacter vinnelandii* and *Clostridium pasterianum* // Biochem.Biophys. Acta. 1967. P. 69.
176. Haubert D., Häggblom M.M., Langel R., Scheu S., Ruess L. Trophic shift of stable isotopes and fatty acids in Collembola on bacterial diets // Soil Biology and Biochemistry. – 2006. – T. 38. – №. 7. – C. 2004-2007.
177. Hawkins J.H. The bionomics and control of wireworms in Maine. Maine Agricultural Experimental Station Technology Bulletin No. 381. 1936. 146 p.
178. Hemerik L., de Fluiter R. No preference of the wireworm *Agriotes lineatus* for four grass species. // Proc. Exp. Appl. Entomol. Neth. Entomol. Soc. 10. 1999. P. 175-181.
179. Hemerik, L.; Gort, G.; Brussaard, L. Food preference of wireworms analyzed with multinomial logit models // Journal of insect behavior V.16, N.5, 2003. P. 647-665.
180. Henry S.M. The significance of microorganisms in the nutrition of insects // Transactions of the New York Academy of Sciences Volume 24, Issue 6 Series II, 1962. P. 676–683.
181. Hongoh Y, Deevong P, Hattori S et al. Phylogenetic diversity, localization, and cell morphologies of members of the candidate phylum TG3 and a subphylum in the phylum Fibrobacteres, recently discovered bacterial groups dominant in termite guts. Applied and Environmental Microbiology, 72, 2006. P. 6780–6788.
182. Hongoh Y., Deevong P., Inoue T., Moriya S., Trakulnaleamsai S., Ohkuma M., Vongkaluang C., Noparatnaraporn N., Kudo T. Intra- and interspecific comparisons of bacterial diversity and community structure support coevolution of gut microbiota and termite host. // Applied and Environmental Microbiology, 71, 2005. P. 6590–6599.
183. Horčíčko I. Stability of beetle occurrence inside floodplain forest // Biologica. – 2001. – T. 39. – P. 65-79.
184. Horie Y. Physiological studies on the alimentary canal of the silkworm,

Bombyx mori -- II. Carbohydrases in the digestive fluid and in the midgut tissue. // Bull. seric, exp. Stn Tokyo 15, 1959. P. 365-382.

185. Ineson P., Anderson J.M. Aerobically isolated bacteria associated with the gut and faecales of the litter feeding macroarthropodes *Oniscus asellus* and *Glomeris marginata* // Soil Biol. And Biochem. 1985 Vol.17 142, N 11. P. 3253.

186. Jagemann E. Fauna CSR, Svazek, 4. Kovarikoviti — Elateridae Râd. Brouci — Coleoptera, Nakladatelstvi ceskoslovenské Akademie věd, Praga. 1955. P. 1–302.

187. Jager K., Marialigeti K., Hauck M., Barabas G. *Promicromonospora enlerophila* sp. nov., a new species of monospore actinomycetes. // Int. J. Syst. Bacteriol. 33: 1983. P. 525 – 531.

188. Jany K. D., Haug H., Pfeleiderer G., Ishay J. Enzymatic and chemical properties of an endopeptidase from the larva of the hornet *Vespa crabro*. // Biochemistry 17, 1978. P. 4675-4682.

189. Jany K. D., Bekelaer K., Pfeleiderer G. and Ishay J. Amino acid sequence of an insect chymotrypsin from the larvae of the hornet, *Vespa orientalis*. // Biochem. biophys. Res. Commun. 110, 1983. P. 1-7.

190. Jurzitza G. The vitamin requirement of normal and aposymbiotic *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera, Anobiidae) and the significance of the symbiotic fungi as a source of vitamins for the hosts // Oecologia. – 1969. – T. 3. – C. 70-83.

191. Jurzitza G. Über die Lieferung von Sterinen durch die hefeartigen Endosymbionten von *Lasioderma serricorne* F.(Coleoptera, Anobiidae) und die ökologische Bedeutung dieser Leistung für den Wirt // Oecologia. – 1974. – T. 16. – №. 2. – C. 163-172.

192. Kane M.D., Breznak J.A. Effect of host diet on production of organic-acids and methane by cockroach gut bacteria. // Applied and Environmental Microbiology, 57, 1991. P. 2628–2634.

193. Kapuscinski S. Welniak (*Prosternon tessellatum* L.) (Coleoptera, Elateridae) - szkodnik grzyba prawdziwego (*Boletus edulus* Bull.) // Polskie pismo

entomol. 1956. V. 24. P. 157-163.

194. Keaster A.J.; Chippendale G.M., Pill B.A. Feeding Behavior and Growth of the Wireworms *Melanotus depressus* and *Limonius dubitans*: Effect of Host Plants, Temperature, Photoperiod, and Artificial Diets // Environmental Entomology, V. 4, N.4, August 1975. P. 591-595.

195. Kikuchi Y., Hosokawa T., Fukatsu T. Insect-Microbe Mutualism without Vertical Transmission: a Stinkbug acquires a beneficial gut symbiont from the environment every generation // Applied and Environmental Microbiology, vol. 73. No 13 2007. P. 4308-4316.

196. Korobushkin D.I., Gongalsky K.B., Tiunov A.V. Isotopic niche ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values) of soil macrofauna in temperate forests. // Rapid Communications in Mass Spectrometry, 28(11), 2014. P. 1303-1311.

197. Kostanjšek R., Štrus J., Lapanje A., Avguštin G., Rupnik M., Drobne D. Intestinal Microbiota of Terrestrial Isopods // Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates Soil Biology. V 6. 2012. P. 115-132.

198. Kuhar T. P., Speese J., Whalen J., Alvarez J., Alyokhin A., Ghidiuf G., Spellmang M.R. Current status of insecticidal control of wireworms in potatoes // Pesticide Outlook. – 2003. – T. 14. – №. 6. – C. 265-267.

199. Lacey L.A., Unruh T.R., Simkins H., Thomsen-Archer, K. Gut Bacteria Associated with the Pacific Coast Wireworm, *Limonius canus*, Inferred from 16s rDNA Sequences and Their Implications for Control // Phytoparasitica 2007 Oct., v. 35, no.5. P. 479-489.

200. Langenbuch, R. Beitrage zur Kenntniss der Biologie von *Agriotes lineatus* L. und *Agriotes obscurus* L. Zeitschrift für angewandte // Entomologie 19, 1932. P. 278–300

201. Lecadet M.M., Dedonder R. Les protrases de *Pieris brassicae*. II. Sprcificit& Bull. Soc. Chim. Biol. 48, 1966. P. 661-691.

202. Lees A.D. On the behavior of wireworms of the genus *Agriotes* Esch. (Coleoptera, Elateridae) II. Reaction to moisture // J. Exp. Biol. 20. 1943. P. 54-60.

203. Lewis J.G.E. The food and reproductive cycles of the centipedes

Lithobius variegatus and *Lithobius forficatus* in a Yorkshire woodland //

Proceedings of the Zoological Society of London. – Blackwell Publishing Ltd, 1965. – T. 144. – №. 2. – C. 269-284.

204. Lilly J.H. A preliminary study of the presence of bacteria in the blood of the house fly *Musca domestica*. Univ. of Wisconsin, B.S. Thesis, 1931. 30 p.

205. Lundgren J.G., Lehman R.M. Bacterial gut symbionts contribute to seed digestion in an omnivorous beetle. // PLoS ONE. 2010, 5 (5): e10831-10.1371/journal.pone.0010831.

206. Mail A. G. pH and wireworm incidence // Journal of Economic Entomology. – 1932. – T. 25. – №. 4. – C. 836-840

207. Marialigeti K. On the community structure of the gut-microbiota of *Eisenia lucens* (Annelida, Oligochaeta) // Pedobiol. 1979. Vol. 19. P. 213-220.

208. Marialigeti K., Contreras E., Barabas G., Heydrich M., Szabo I.M. True Intestinal Actinimycetes of Millipedes (Diplopoda) // J. of Invertebrate Pathol. 1985. Vol. 19. P. 213-220.

209. McCutchan J.H., Lewis W.M., Kendall C., McGrath C.C. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur // Oikos. 2003. V.102. P. 378–390.

210. Mohr K.I., Tebbe C.C. Diversity and phylotype consistency of bacteria in the guts of three bee species (Apoidea) at an oilseed rape field. // Environmental Microbiology, 8, 2006. P. 258–272.

211. Neilson R., Hamilton D., Wishart J., Marriott C.A., Boag B., Handley L.L., Scrimgeour C.M., Robinson, D. Stable isotope natural abundances of soil, plants and soil invertebrates in an upland pasture // Soil Biology and Biochemistry. – 1998. – T. 30. – №. 13. – C. 1773-1782.

212. Oelbermann K., Scheu S. Stable isotope enrichment ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) in a generalist predator (*Pardosa lugubris*, Araneae: Lycosidae): effects of prey quality // Oecologia. – 2002. – T. 130. – №. 3. – C. 337-344.

213. Paillot A. L'Infection chez les insectes, G. Patissier, Trévoux. 1933. 535 p.

214. Parker W.E., Howard J.J. The biology and management of wireworms (*Agriotes* spp.) on potato with particular reference to the UK // Agricultural and Forest Entomology. – 2001. – T. 3. – №. 2. – C. 85-98.
215. Pavlovsky E.N., Zarin E.J. On the structure of the alimentary canal and its ferments in the bee (*Apis mellifera* L.). // Quart. J. micr. Sci. 66: 1922. P. 509—556.
216. Pázmándi C., Traugott M. A stable isotope analysis of wireworms puts new light on their dietary choices in arable land // IOBC/wprs Bulletin. – 2005. – T. 28. – №. 2. – C. 127-132.
217. Peters W. Peritrophic membranes. – Springer Science & Business Media, 1992. 237 p.
218. Petri L. Recherche sopra I batteri intestinali della *Mosca olearia*. // Mem. Staz. Patol. Vegetale, Roma, 4, 1909. P. 1-130.
219. Petri L. Untersuchungen uber die Darm-bakterien der Olivenfliege. // Zentr. Bakt. Parasitenk. Infert., II, 26, 1910. P. 357-367.
220. Pollierer M.M., Langelb R., Scheu S., Maraun M. Compartmentalization of the soil animal food web as indicated by dual analysis of stable isotope ratios ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) // Soil Biology & Biochemistry 41 2005. P. 1221–1226.
221. Ponsard, S., Ardit, R. What can stable isotopes (d^{15}N and d^{13}C) tell about the food web of soil macro-invertebrates? Ecology 81, 2000. P. 852–864.
222. Post D.M., Layman C.A., Arrington D.A., Takimoto G., Quattrochi J., Montana C.G. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. // Oecologia, 152(1), 2007. 179-189.
223. Potapov A.M., Semenina E.E., Kurakov A.V., Tiunov A.V. Large $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and small $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ isotope fractionation in an experimental detrital foodweb (litter–fungi–collembolans). // Ecological research, 28(6), 2013. P. 1069-1079.
224. Potapov A.M., Semenyuk I.I., Tiunov A.V. Seasonal and age-related changes in the stable isotope composition ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of millipedes and collembolans in a temperate forest soil. // Pedobiologia, 57(4), 2014. P. 215-222.

225. Ramos A., Mahowald A., Jacobs-Lorena M. Gut-specific genes from the black-fly *Simulium vittatum* encoding trypsin-like and carboxypeptidase-like proteins. // Insect molec. Biol. 1, 1993. P. 149-163.
226. Raubenheimer D., Mayntz D., Simpson S. J., Tøft S. Nutrient-specific compensation following diapause in a predator: implications for intraguild predation // Ecology. – 2007. – T. 88. – №. 10. – C. 2598-2608.
227. Reyes V.G., Tiedje J.M. Ecology of the gut microbiota of *Tracheoniscus rathkei* (Crustacea, Isopoda) // Pedobiology. 1976. Vol. 16, N1. P. 62-74.
228. Ribeiro A. F., Ferreira C., Terra W. R. Morphological basis of insect digestion. // Animal Nutrition and Transport Processes (Edited by J. Mellinger), Karger, Basel. Vol. 1, 1990. P. 96-105.
229. Richards A.G., Brooks M.A. Internal Symbiosis in Insects // Annual Review of Entomology Vol. 3. 1958. P. 37-56.
230. Richards A.G., Richards P.A. The peritrophic membranes of insects. // A. Rev. Entomol. 22, 1977. P. 219-240.
231. Santo Domingo J.W., Kaufman M.G., Klug M.J., Holben W.E., Harris D., Tiedje J.M. (1998) Influence of diet on the structure and function of the bacterial hindgut community of crickets. Molecular Ecology, 7, 761–767
232. Santos C.D., Terra W.R. Midgut α -glucosidase and β -fructosidase from *Erinnyis ello* larvae and imagoes. Physical and kinetic properties. // Insect Biochem. 16, 1986. P. 819-824.
233. Schaerffenberg B. Die Elateridenlarven der Kiefernwaldstreu // Zeitschrift für Angewandte Entomologie. – 1942. – T. 29. – №. 1. – C. 85-115.
234. Schallhart N., Tusch M.J., Wallinger C., Staudacher K., Traugott M. Effects of plant identity and diversity on the dietary choice of a soil-living insect herbivore. // Ecology 93: 2012. P. 2650–2657.
235. Schloss P.D., Delalibera I., Handelsman J., Raffa K.F. Bacteria Associated with the Guts of Two Wood-Boring Beetles: *Anoplophora glabripennis* and *Saperda vestita* (Cerambycidae). // Environmental Entomology 2006. Volume

35, Issue 3. P. 625 – 629.

236. Schlottke E. Z. Distribution of digestive enzymes in gut and Malpighian tubes: Carabidae // *vergl. Physiol.*, 24, 1937. P. 210-247.

237. Schmitt-Wagner D., Friedrich M.W., Wagner B., Brune A. Axial dynamics, stability, and interspecies similarity of bacterial community structure in the highly compartmentalized gut of soil-feeding termites (*Cubitermes* spp.). // *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 2003. P. 6018–6024.

238. Schönholzer F., Hahn D., Zeyer J. Origins and fate of fungi and bacteria in the gut of *Lumbricus terrestris* L. studied by image analysis // *FEMS Microbiology Ecology*. – 1999. – T. 28. – №. 3. – C. 235-248.

239. Schönholzer F., Hahn D., Zarda B., Zeyer J. Automated image analysis and in situ hybridization as tools to study bacterial populations in food resources, gut and cast of *Lumbricus terrestris* // *L. J Microbiol Meth* 48: 2002. P. 53–68.

240. Shaw C., Pawluk S. Faecal microbiology of *Octolasion tyrtaeum*, *Aporrectodea turgida* and *Lumbricus terrestris* and its relation to the carbon budgets of three artificial soils. // *Pedobiologia* 29. 1986. P. 377-389

241. Simmons S.W. Digestive enzymes of the larva of the cattle grub *Hypoderma lineatum* (de Villiers). // *Ann. Entomol. SOC. Am.* 32: 1939. P. 621-627.

242. Slaytor M. Cellulose digestion in termites and cockroaches: what role do symbionts play? // *Comp. Biochem. Physiol.* 103B, 1992. P. 775-784.

243. Sonnemann I., Baumhaker H., Wurst S.. Species specific responses of common grassland plants to a generalist root herbivore (*Agriotes* spp. larvae). // *Basic Appl. Ecol.* 13: 2012. P. 579–86.

244. Sonnemann I., Grunz S., Wurst S. Horizontal migration of click beetle (*Agriotes* spp.) larvae depends on food availability. // *The Netherlands Entomological Society Entomologia Experimentalis et Applicata* 150: 2014. P. 174–178.

245. Starr M.P., Stolp H., Trüper H.G., Balows A., Schlegel H.G. The Prokaryotes. A handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria //

Berlin- Heidelberg . Springer-Verlag. 1981. 1258 p.

246. Strey G. Okoenergetische Untersuchungen an *Athous subfuscus* Müll. und *Athous vittatus* Fbr. (Elateridae, Coleoptera) in Buchenwäldern. Dissertation, Göttingen. 1972. 148 p.

247. Striganova B.R., Marfenina O.E., Ponomarenko V.A. Some aspects of the effect of earthworms on soil fungi. // Biol. Bull. Acad. Sci. USSR 15. 1989. P. 460-463.

248. Subklew W. Physiologisch-experimentelle untersuchungen an einigen elateriden // Zoomorphology. – 1934. – T. 28. – №. 2. – C. 184-228.

249. Szabo I.M., Jager K., Contreras E., Marialigeti K., Dzingov A., Barabas G., Pobojsn M.Y. Composition and properties of the external and internal microflora of millipedes (Diplopoda). // Lebrun, Ph. et al. (eds.), New trends in soil biology: Dieu- Brichart, Ottignies-Lou vain- la- Neuve, Belgium. 1983. P. 197–206.

250. Szabo I.M., Nasser El-G.A., Striganova B.R., Rakhmo Y.R., Jäger K., Heydrich M. Interactions among Millipedes (Diplopoda) and their Intestinal Bacteria. // Berichte des Naturwissenschaftlich-medizinischen Vereins in Innsbruck, Supplementum 10: 1992. P. 289-296.

251. Taylor E.C. Fungal preference by a desert millipede *Orthoporus ornatus* (Spirostreptidae). // Pedobiologia 23: 1982. P. 331–336.

252. Tellam, R.L., Wijffels, G., Willadsen, P. Peritrophic matrix proteins. // Insect Biochem. Mol. Biol., 29, 1999. P. 87–101.

253. Terra W. R. Evolution of digestive systems of insects. // A. Rev. Entomol. 35, 1990. P. 181-200.

254. Terra, W.R., Costa R.H., Ferreira C. Plasma membranes from insect midgut cells. // An. Acad. Bras. Cien., 86, 2006. P. 1–15.

255. Terra W.R., Cristofolletti P.T. Midgut proteinases in three divergent species of Coleoptera // Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology V. 113, Issue 4, April 1996. P. 725–730.

256. Terra W.R., Espinoza-Fuentes F.P., Ribeiro A.F., Ferreira C. The larval midgut of the housefly (*Musca domestica*): ultrastructure, fluid fluxes and ion

secretion in relation to the organization of digestion. // J. Insect Physiol. 34, 1988. P. 463-472.

257. Terra W.R., Ferreira C. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function // Comp. Biochem. Physiol. Elsevier Science Ltd. V. 109B, No.1. 1994. P. 62.

258. Terra W. R., Ferreira C. Biochemistry and molecular biology of digestion // Insect molecular biology and biochemistry. – 2012. – C. 365-418.

259. Terra W.R., Ferreira C., Bastos F. Phylogenetic considerations of insect digestion. Disaccharidases and the spatial organization of digestion in the *Tenebrio molitor* larvae. // Insect Biochem. 15, 1985. P. 443-449.

260. Terra W.R., Ferreira C., de Bianchi A.G. Distribution of digestive enzymes among the endo- and ectoperitrophic spaces and midgut cells of *Rhynchosciara* and its physiological significance. // J. Insect Physiol. 25, 1979. P. 487-494.

261. Terra W.R., Valentin A., Santos C.D. Utilization of sugars, hemicellulose, starch, protein, fat and minerals by *Erinnyis ello* larvae and the digestive role of their midgut hydrolases. // Insect Biochem. 17, 1987. P. 1143-1147.

262. Thorpe W.H., Crombie A.C., Hill R., Darrah J.H. The behaviour of wireworms in response to chemical stimulation. // J. Exp. Biol., 23 (3-4). 1946. P. 234-266.

263. Tóth Z. Click beetles (Elateridae) in the soils of Central Europe—Their distribution and description. Part II (Gen: *Melanotus*, *Adrastus*, *Selatosomus*, *Athous*, *Lacon*, *Limonius*, *Synaptus*, *Cardiophorus*). // Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae. 19, 1984. P. 327–345.

264. Traugott M., Pazmandi C., Kaufmann R., Juen A.. Evaluating $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio analysis to investigate trophic relationships of elaterid larvae (Coleoptera: Elateridae). // Soil Biol. Biochem. 39: 2007. P. 1023–1030.

265. Traugott M., Schallhart N., Kaufmann R., Juen A. The feeding ecology of elaterid larvae in central European arable land: new perspectives based on naturally occurring stable isotopes. // Soil Biol. Biochem. 40: 2008. P. 342–49.

266. Traugott M., Benefer C.M., Blackshaw R.P., van Herk W.G., Vernon R.S. Biology, Ecology, and Control of Elaterid Beetles in Agricultural Land // Annual review of entomology. – 2015. – T. 60. – C. 313-334.
267. Tsurikov S.M., Goncharov A.A., Tiunov A.V. Intra-body variation and ontogenetic changes in the isotopic composition ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) of beetles (Coleoptera). // Entomological Review, 95(3), 2015. P. 326-333.
268. Vonk H.J., Western J.R.H. Comparative Biochemistry and Physiology of Enzymatic Digestion. London: Academic Press. 1984. 512 p.
269. Wolters V. The influence of omnivorous elaterid larvae on the microbial carbon cycle in different forest soils // Oecologia 1989. 80. P. 405-413
270. Wyatt G.R. The biochemistry of sugars and polysaccharides in insects. // Adv. Insect Physiol. 4, 1967. P. 287-360.
271. Zacharuk R.Y. Seasonal behavior of larvae of *Ctenicera* spp. And other wireworms (Coleoptera, Elateridae) in relation to temperature, moisture, food and gravity // Canadian Journal of Zoology v.40, №5, 1962. P. 697-718
272. Zacharuk R.Y. Comparative food preferences of soil-, sand-, and wood-inhabiting wireworms (Coleoptera, Elateridae) // Bulletin of entomological research. – 1963. – T. 54. – №. 02. – P. 161-165.
273. Zimmer M. Nutrition in terrestrial isopods (Isopoda: Oniscidea): an evolutionary ecological approach. // Biol Rev 77 2002. P. 455–493.
274. Zqacharuk R.Y. Ultrastructural changes in the midgut epithelium of an elaterid larva (Coleoptera) infected enterically with *Pseudomonas aeruginosa* // Can. J. Microbiol. 19: 1973. P. 811-821.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1. Численность представителей почвенной мезофауны в парах пойма-плакор трёх подзон европейской степи и трофическая структура комплексов почвенной мезофауны, экз./м²

	Сухая		Типичная		Луговая	
	Плакор	Пойма	Плакор	Пойма	Плакор	Пойма
<i>Lumbricidae</i>						
<i>Aporrectodea rosea</i>		30		8		68
<i>Aporrectodea caliginosa</i>				76	2	16
<i>Lumbricus rubellus</i>				12		
Oniscoidea	4,9			8		
Diplopoda				44		4
Lithobiidae	3,7			68		16
Geophilidae	6,2	7		14	2	52
Aranea	12,3	129	3,8	36	8	32
Diplura	1,2	3		68		52
Coleoptera						
<i>Staphylinidae (i.)</i>	13,5	1		20	2	12
<i>Anthicidae (i.)</i>	4,9	32	0,4	8		
<i>Carabidae (i.)</i>	4,9		2,3			
<i>Amara</i>		96		4	4	
<i>Harpalus</i>		16	0,8		4	
<i>Carabidae (l.)</i>	1,2		0,4			8
<i>Scarabaeidae (i.)</i>	2,5	8				
<i>Scarabaeidae (l.)</i>		1	0,4	4		
<i>Meloidae (l.)</i>	2,5					
<i>Elateridae (l.)</i>						

<i>Selatosomus latus</i>	22,1	8	0,4	12	6	
<i>Selatosomus aeneus</i>	7,4	20	0,8	20	20	
<i>Agriotes obscurus</i>	4,9	20		184		76
<i>Agriotes lineatus</i>	2,5	3		8		
<i>Dalopius marginatus</i>				32		
<i>Cardiophorus discicollis</i>	1,2	8	0,4			
<i>Elateridae (i.)</i>	1,2					
<i>Agriotes sp.</i>	1,2			4		
<i>Tenebrionidae (i.)</i>	2,5	6	0,4		6	4
<i>Blaps sp.</i>					2	
<i>Tenebrionidae (l.)</i>	4,92	10	1,5	4	2	
<i>Cylindronotus</i>		2				
<i>Curculionidae (i.)</i>	2,4	162				32
<i>Curculionidae (l.)</i>	6,1	2	25,5	36	38	24
<i>Chrysomelidae (p.)</i>	2,5		3			
<i>Chrysomelidae (i.)</i>			0,4			4
<i>Alticini (i.)</i>						12
<i>Cerambycidae</i>						
<i>Dorcadion sp.(l.)</i>		4				
<i>Col. varia</i>	13,5			4		
<i>Col. varia (l.)</i>	6,2				6	
Lepidoptera (l.)	22,2	1				4
Heteroptera	24,6					
<i>Aelia sp.</i>			0,8			
<i>Lygaeidae</i>		8	0,8			
Nabidae	1,2		0,4			

Diptera (l.)	12,3	5	5,3	8	26	
Hymenoptera (l.)		2				4
Cicadinea		1				
Gastropoda						4
всего	196,9	585	47,25	772	150	424
Трофические группы						
хищники	88,6 (45%)	178 (30%)	13,5 (29%)	300 (39%)	64 (43%)	120 (28%)
фитофаги	59,1 (30%)	361 (62%)	33 (70%)	252 (32%)	56 (37%)	160 (38%)
сапрофаги	9,8 (5%)	82 (14%)	1,125 (2%)	220 (28%)	30 (20%)	104 (24%)

Таблица 2. Видовой состав и численность (экз./м²) проволочников в долине Иртыша

	Абалак					Тобольский район										Миссия, долина Иртыша													
	Коренная терраса					Коренная терраса										Пойма Иртыша							Коренная терраса		Пойма Бартака				К.т.
№№	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	1	2	23	24	25	26	27	17	28	18	19	20	21	22	
<i>Cardiophorus vestigialis</i>							+				2,4	6,4																	
<i>Limonius parallelus</i>															+		+	263,7							+				
<i>Hemicrepidius niger</i>																				+						+			
<i>Athous subfuscus</i>		4,8		3,2		5,6		2,4					11,2	22,4		1,07	+							14,9				4,8	
<i>Ctenicera cuprea</i>																		3,2											
<i>Prosternon tessellatum</i>							+			3,2																			
<i>Hypogano-morphus laevicoilis</i>																	2,13												
<i>Paraphotistus impressus</i>													+																
<i>Paraphotistus nigricornis</i>				3,2						7,5		1,1	11,2	8	+	1,07	+		1,4	2,7	4,8	+	+		19,2		3,2		
<i>Selatosomus punctatissimus</i>																		+				+							
<i>Selatosomus aeneus</i>						4	8,5			3,2			9,6				19,2					14,4		+					
<i>Aplotarsus incanus</i>																										5,12			
<i>Ampedus balteatus</i>																							+						
<i>Ampedus nigrinus</i>																								+				+	
<i>Dalopius marginatus</i>		35,2		3,2		16,8		10,4								2,4	5,3		4,3			3,2	+	9,6				11,2	
<i>Agriotes</i>	24		6,4				56,5			5,3	60,8	40,5					5,3		8,2	5,9	+	+			13,6	+			

[illegible]

Обозначения биотопов:

- 1) Уватский район. Левый берег Иртыша. Средняя пойма. Осоково-болотничинная разнотравно-гусиноплачатковая ассоциация.
- 2) Уватский район. Левый берег Иртыша. Верхняя пойма. Шиповниково-ивовая вейниково-разнотравная ассоциация.
- 3) Тобольский район, окрестности с. Абалак. Разнотравный луг (антропогенного происхождения) на коренной террасе Иртыша. Используется в качестве сенокоса.
- 4) Тобольский район, окрестности с. Абалак. Берёзово-осиново-липовый лес с редкими елями, на коренной террасе Иртыша.
- 5) Тобольский район, окрестности с. Абалак. Пырейная залежь (5-летняя) с редким осотом и бобовыми.
- 6) Тобольский район, окрестности с. Абалак. Елово-пихтовый зеленомошно-кисличный лес на коренной террасе Иртыша.
- 7) Тобольский район, окрестности с. Абалак. Пырейно-осотово-бобовая залежь (10-летняя), на коренной террасе Иртыша. Периодически используется в качестве сенокоса.
- 8) Тобольск. Липовый злаково-разнотравный лес паркового типа на коренной террасе Иртыша.
- 9) Тобольск. Злаково-полынно-разнотравный склон коренной террасы восточной экспозиции.
- 10) Тобольск. Памятник природы «Киселёвская гора с Чувашским мысом». Березняк папоротниково-осоковый, паркового типа. Предвершинная часть пологого склона северной экспозиции коренной террасы Иртыша.
- 11) Тобольск. Чувашский мыс, злаково-разнотравный луг на коренной террасе Иртыша, в 500 м от склона южной экспозиции. Используется для выпаса скота.
- 12) Тобольск. Чувашский мыс, разнотравный луг в 5-7 м от кромки склона коренной террасы южной экспозиции.
- 13) Тобольск. Чувашский мыс, злаково-разнотравное ложе неглубокого оврага на склоне южной экспозиции коренной террасы Иртыша. Проектное покрытие 100%.
- 14) Тобольск. Чувашский мыс, ксерофитный полынно-злаковый, с редким низкорослым шиповником, склон коренной террасы Иртыша южной экспозиции. Проектное покрытие 50%, крутизна склона 30-350.
- 15) Тобольский район. Сосняк средневозрастной зеленомошный на первой надпойменной террасе Иртыша.
- 16) Тобольский район, окрестности д. Винокурова. Кедрово-елово-пихтовый зеленомошно-кустарничковый лес на первой надпойменной террасе Иртыша.
- 17) Уватский район. Березняк средневозрастной хвощево-злаково-разнотравный паркового типа на поверхности коренной террасы.
- 18) Уватский район. Левый берег р.Бартак, смешанный берёзово-осиновый елово-пихтовый, осоково-разнотравный лес. Пологий склон (шлейф) у основания коренной террасы.
- 19) Уватский район. Левый берег р. Бартак, берёзово-осиновый осоково-злаковый лес. Высокая пойма.
- 20) Уватский район. Разнотравный заливной луг на вершине бугра левого берега р. Бартак. Средняя пойма.
- 21) Уватский район. Правый берег р. Бартак осоково-сабельниковая ассоциация. Низкая пойма.
- 22) Уватский район. Сосново-елово-пихтовый с одиночными кедрами, берёзово-осиновый кустарничково-зеленомошный лес. На поверхности останца коренной террасы р. Бартак.
- 23) Уватский район. Сосново-берёзовый, кустарничково-разнотравный лес. Высокая пойма.
- 24) Уватский район. Левый берег р. Иртыш, злаково-разнотравный луг. Высокая пойма.
- 25) Уватский район. Левый берег р. Иртыш, ивняк кустарниковый. Высокая пойма.
- 26) Уватский район. Левый берег р. Иртыш, ивняк разреженный, хвощево-злаково-разнотравный. Средняя пойма.
- 27) Уватский район. Хвощево-разнотравная (череда, горец) низкая пойма на границе с пляжем.
- 28) Уватский район. Сосняк сфагново-кустарничковый на первой надпойменной террасе.

Таблица 3. Виды проволочников, встречающиеся в пойменных биотопах.

Г – голарктический, П – палеарктический, ЕС – европейско-сибирский, Е – Европа, С – Сибирь, ЗК – Закавказье, СА – Средняя Азия, ДВ – Дальний Восток, Э – эфиопская зона; п – полизональный, б – бореальный, н – неморальный, лст – лесостепь, ст – степь, пс – пустыни и полупустыни; б.п. – биотопический преферендум, лс – лесной, лг – луговой, по – полевой, гр – горный, предгорный. Для указания ареалов дополнительно использовался Каталог жесткокрылых Палеарктики (Catalogue..., 2007).

Вид проволочника	Ареал	б.п.	Работы, в которых упоминаются находки в поймах
<i>Agrypnus murinus</i> (Linnaeus, 1758)	Гп	лс, по	Ронищенко, 1969, Матвеева, 1976, Кисенко, Жуков, 2000, Horčíčko, 2001, Орлов, 2007, Веремеев, 2008, Веремеев, Гулаков, 2013
<i>Compsolacon crenicollis</i> (Ménétriés, 1832)	П	гр	Чопикашвили, 1971, Орлов, 2007
<i>Aeolosomus rossii</i> (Germar, 1844)	П		Долин, 1978, Сажнев, Аникин, 2014
<i>Aeoloides grisescens</i> (Germar, 1844)	П, Э		Долин, 1978
<i>Aeoloderma crucifer</i> (Rossi, 1790)	П		Сажнев, Аникин, 2014
<i>Drasterius aegyptiacus</i> Buysson, 1905	П		Долин, 1978, Орлов, 2007
<i>Drasterius figurarius</i> (Germar, 1844)	ЗК, СА	по, гр	Долин, 1978
<i>Zorochros dermestoides</i> (Herbst 1806)	П	гр	Долин, 1978
<i>Zorochros meridionalis</i> (Laporte de Castelnau, 1840)	П		Чопикашвили, 1971, Орлов, 2007
<i>Zorochros murinus</i> (Reitter, 1895)	Е, СА		Орлов, 2007
<i>Zorochrus quadriguttatus</i> (Laporte de Castelnau, 1840)	Е		Орлов, 2007
<i>Zorochros flavipes</i> (Aube, 1850)	Е		Jagemann, 1955
<i>Fleutiauxellus maritimus</i> (Curtis, 1840)	Е		Jagemann, 1955
<i>Ligmargus depressus</i> (Gebler, 1847)	С, ДВ, Китай		Долин, 1978
<i>Hypnoidus alticola</i> Gurjeva, 1963*	СА	гр	Долин, 1978
<i>Hypnoidus rivularius</i> Gyllenhal, 1808	П		Колесникова и др., 2013
<i>Liotrichus affinis</i> (Paykull, 1800)	П	лс	Колесникова и др., 2013
<i>Aplotarsus incanus</i> (Gyllenhal, 1827)	П		Ронищенко, 1969, Колесникова и др., 2013, наши данные
<i>Nothodes parvulus</i> (Panzer, 1799)	Е		Horčíčko, 2001
<i>Denticollis linearis</i> (Linnaeus, 1758)	ЕС б	лс	Horčíčko, 2001
<i>Stenagostus rhombeus</i> (Olivier, 1790)	Е		Horčíčko, 2001

<i>Athous subfuscus</i> (Mueller, 1767)	П б	лс	Ронищенко, 1969, Матвеева, 1976, Horčíčko, 2001, наши данные
<i>Athous vittatus</i> (Fabricius, 1793)	П б	лс	Матвеева, 1976, Стриганова, Емец, 1998, Horčíčko, 2001
<i>Athous haemorrhoidalis</i> (Fabricius, 1801)	П б	лс, лг, по	Матвеева, 1976, Стриганова, Емец, 1998, Кисенко, Жуков, 2000, Horčíčko, 2001
<i>Athous bicolor</i> (Goeze, 1777)	Е	лг, по	Horčíčko, 2001
<i>Athous circassiensis</i> (Reitter, 1905)	Е (РФ)	лс	Орлов, 2007
<i>Hemicrepidius niger</i> (Linnaeus, 1758)	П п	лс, лг, по	Ронищенко, 1969, Матвеева, 1976, Стриганова, Емец, 1998, Орлов, 2007, Колесникова и др., 2013
<i>Hemicrepidius hirtus</i> (Herbst, 1784)	П б	лг, лс, по	Horčíčko, 2001
<i>Limonius minutus</i> (Linnaeus, 1758)	П п	лс, лг	Ронищенко, 1969, Матвеева, 1976, Стриганова, Емец, 1998, Horčíčko, 2001
<i>Cidnopus aeruginosus</i> (Olivier, 1790)	ЕС, СА лс, лст	лг, по	Ронищенко, 1969
<i>Cidnopus parallelus</i> (Motschulsky, 1860)	С, ДВ	лс	наши данные
<i>Paraphotistus nigricornis</i> (Panzer, 1799)	П б	лг, лс	Ронищенко, 1969, Гурьева, 1989, Долин, 1978, наши данные
<i>Paraphotistus auronebulosus</i> (Reitter, 1896)*	СА	лс, гр	Долин, 1978
<i>Paraphotistus impressus</i> (Fabricius, 1792)	ЕС н	лс	Матвеева, 1976, Колесникова и др., 2013
<i>Selatosomus confluens</i> (Gebler, 1829)	ЕС, СА		Гурьева, 1989
<i>Selatosomus aeneus</i> (Linnaeus, 1758)	П п	лс, по	Ронищенко, 1969, Матвеева, 1976, Стриганова, Емец, 1998, Колесникова и др., 2013, наши данные
<i>Selatosomus latus</i> (Fabricius, 1801)	П лст-ст	лг, лс, по	Матвеева, 1976, Веремеев, Гулаков, 2013, наши данные
<i>Selatosomus punctatissimus</i> (Ménétriés, 1851)	С н, лст, ст	лс, по	Черепанов, 1965
<i>Selatosomus melancholicus</i> (Fabricius, 1798)	П	лс	Колесникова и др., 2013
<i>Selatosomus cruciatus</i> (Linnaeus, 1758)	Г б	лс	Колесникова и др., 2013
<i>Pseudanostirus globicollis</i> (Germar, 1843)	Е		Матвеева, 1976
<i>Anostrius purpureus</i> (Poda, 1761)	Е		Долин, 1978
<i>Ctenicera cuprea</i> (Fabricius, 1775)	ЕСб	лс	Матвеева, 1976, Гурьева, 1989, наши данные
<i>Ctenicera pectinicornis</i> (Linnaeus, 1758)	ЕС н, лст	лс, лг, по	Ронищенко, 1969, Матвеева, 1976, Гурьева, 1989
<i>Ctenicera virens</i> (Schrank, 1781)	Г	лг	Гурьева, 1989, Долин, 1978

<i>Actenicerus aerosus</i> (Lewis, 1879)	ДВ	лс, лг	Гурьева, 1989
<i>Actenicerus orientalis</i> (Candèze, 1889)	Китай, ДВ		Гурьева, 1989
<i>Actenicerus sjaelandicus</i> (Mueller, 1764)	Г п	лс, лг	Черепанов, 1965б, Ронищенко, 1969, Матвеева, 1976, Гурьева, 1989, Стриганова, Емец, 1998
<i>Prosternon tessellatum</i> (Linnaeus, 1758)	П б	лс	Ронищенко, 1969, Матвеева, 1976
<i>Hypoganomorphus laevicollis</i> Mannerheim, 1852	С, ДВ	лс	наши данные
<i>Adrastus dolini</i> Wellschmied, 1978*	П		Долин, 1978, Гурьева, 1979, Орлов, 2007
<i>Adrastus limbatus</i> (Fabricius, 1776).	П	лг	Чопикашвили, 1971, Долин, 1978, Гурьева, 1979
<i>Adrastus montanus</i> (Scopoli, 1763)	Е	лг, лс	Гурьева, 1979
<i>Adrastus sekerae</i> Reitter, 1910*	Е	гр	Долин, 1978
<i>Adrastus circassicus</i> Reitter, 1896	Кавказ	лс	Чопикашвили, 1971
<i>Adrastus longicornis</i> Gurjeva, 1976	Кавказ		Орлов, 2007
<i>Synaptus filiformis</i> (Fabricius, 1781)	П	лс, лг	Гиляров, Курчева, 1953, Черепанов, 1965, Ронищенко, 1969, Чопикашвили, 1971, Долин, 1978, Гурьева, 1979, Орлов, 2007, Веремеев, Гулаков, 2013
<i>Betarmon bisbimaculatus</i> (Fabricius, 1803)	П		Долин, 1978, Гурьева, 1979
<i>Dalopius marginatus</i> (Linnaeus, 1758)	ЕС б	лс	Ронищенко, 1969, Стриганова, Емец, 1998, Кисенко, Жуков, 2000, Horčičko, 2001, Колесникова и др., 2013, Самойлова, Стриганова, 2013, здесь
<i>Agriotes rugipennis</i> Schwarz, 1891	Китай	лг	Гурьева, 1979
<i>Agriotes lineatus</i> (Linnaeus, 1758)	Г п	лс, лг, по	Черепанов, 1965, Матвеева, 1976, Гурьева, 1979, Стриганова, Емец, 1998, Веремеев, 2008, Веремеев, Гулаков, 2013, наши данные
<i>Agriotes sputator</i> (Linnaeus, 1758)	П п	лг, лс, по	Ронищенко, 1969, Матвеева, 1976, Стриганова, Емец, 1998, Horčičko, 2001, Орлов, 2007
<i>Agriotes obscurus</i> (Linnaeus, 1758)	П	лг, по	Черепанов, 1965, Ронищенко, 1969, Матвеева, 1976, Веремеев, 2008, Веремеев, Гулаков, 2013, Колесникова и др., 2013, наши данные
<i>Agriotes nadezhdae</i> Tsherepanov, 1965	Алтай		Черепанов, 1965а, Гурьева, 1979
<i>Agriotes caspicus</i> Heyden, 1883	СА, пс		Гурьева, 1979
<i>Agriotes medvedevi</i> Dolin, 1960	Е		Долин, 1964, Гурьева, 1979
<i>Agriotes modestus</i> Kiesenwetter, 1858	Е	лг	Кабанов, 1966, Долин, 1978, Гурьева, 1979

<i>Agriotes ustulatus</i> (Schaller, 1783)	Е	по	Норчи́чко, 2001
<i>Agriotes tauricus</i> Heyden, 1882	Е	лг, по	Орлов, 2007
<i>Agriotes stepanovorum</i> Orlov, 1997	Е (РФ)		Орлов, 2007
<i>Agriotes reitteri</i> Schwarz, 1891	Кавказ		Орлов, 2007
<i>Agriotes brevis</i> Candèze, 1863	Е	лг, по	Норчи́чко, 2001
<i>Tropihypnus bimargo</i> (Reitter, 1896)*	СА		Долин, 1978
<i>Oedostethus tenuicornis</i> (Germar 1824)	ЕС		Черепанов, 1965, Колесникова и др., 2013
<i>Oedostethus quadripustulatus</i> (Fabricius 1792)	Г		Матвеева, 1976, Колесникова и др., 2013
<i>Oedostethus sachalinensis</i> (Dolin, Katyukha, 1977)	ДВ		Долин, 1978
<i>Oedostethus nubilus</i> (Bessolitzina, 1974)	С		Долин, 1978
<i>Oedostethus ghilarovi</i> (Dolin, 1978)*	ДВ		Долин, 1978
<i>Quasimus minutissimus</i> (Germar, 1823)	П		Орлов, 2007
<i>Negastrius arenicola</i> (Boheman 1852)	Е		Орлов, 2007
<i>Dicronychus blandus</i> (Solsky, 1881)	СА пс		Долин, 1978
<i>Paracardiophorus opacus</i> (Lewis, 1894)	ДВ		Долин, 1978
<i>Paracardiophorus musculus</i> (Erichson, 1840)	ЕС		Чопикашвили, 1971, Долин, 1978
<i>Cardiophorus ruficollis</i> (Linnaeus, 1758)	ЕС б	лс, лг	Стриганова, Емец, 1998
<i>Cardiophorus rufipes</i> (Goeze, 1777)**	П лст,ст		Долин, 1978
<i>Cardiophorus asellus</i> (Erichson, 1840)	Е		Долин, 1978
<i>Cardiophorus pellitus</i> Schwarz, 1892	СА		Долин, 1978
<i>Cardiophorus contiguus</i> Faldermann, 1835**	ЗК	лс	Долин, 1978
<i>Eanus guttatus</i> (Germar, 1817)*	Е		Долин, 1978

Примечания: *по берегам горных рек и ручьёв, **к настоящему моменту невозможно определить, какой точно вид, согласно современному состоянию систематики семейства, имел в виду автор (А.С. Просви́ров, личное сообщение).