

С. А. СИМОНЯН, Т. О. МАМИКОНЯН

К ИЗУЧЕНИЮ МИКРОМИЦЕТОВ ФИЛЛОПЛАНЫ ГВОЗДИКИ РЕМОНТАНТНОЙ
И КАЛЛЫ БОЛОТНОЙ

Филлоплана (поверхность листьев растений) представляет своеобразную экологическую нишу для развития эпифитных организмов. Видовой состав микроорганизмов филлопланы здоровых и больных растений, зависимость видового состава от возраста листьев, закономерности формирования микосинузий, взаимоотношения организмов филлопланы с болезнетворными видами представляют интерес с точки зрения экологии грибов, а также возможностей использования явлений антагонизма в практических целях, для борьбы с болезнетворными видами.

Изучением микроорганизмов филлопланы занимаются сравнительно недавно (термин "филлоплана" предложен в 1961 г., Ruinen, 1961), и исследования проводятся в различных аспектах. Изучение эпифитной микрофлоры здоровых листьев растений различной систематической принадлежности, проведенное Т.Т.Кузнецовой (1973), показало, что микроскопические грибы, главным образом несовершенные из группы *Dematiaceae*, являются естественными обитателями листьев высших растений и компонентами их эпифитной микрофлоры. Ее качественный и количественный состав и динамика на листьях зависят от вида растений (Kerling, 1964), возраста листьев (Dickinson, 1967; Kowalski, Lang, 1983), их физиологического состояния, наличия на их поверхности пыли (Purkayastha, Bhattacharyya, 1982), метеорологических условий, среди которых важнейшее значение имеет относительная влажность (Leben, 1965; Hayes, 1983), времени года, фитонцидной активности растения-хозяина, выделяемых растением фитоалексинов (Cruickshank, 1963; Вернер, 1964; Вернер, Кузнецова, 1967; Делова, Кузнецова, 1973; Chwalinski, 1984). Прямое воздействие на микробный состав филлопланы оказывает загрязнение атмосферы сернистым газом, углекислотой, а также частицами некоторых металлов (Purkayastha, Bhattacharyya,

1982). На микрофлору листьев влияет также применение фунгицидов (Hislop, Cox, 1969) или других химических веществ (Crosse, Garrett, Burchill, 1968; Blakeman, 1973; Van den Ende, 1980). Делались попытки подавления вредоносных для растений грибов с помощью микромицетов филопланы (Кашьяп, Левкина, 1977; Narayana, Monga, 1980; Purkayastha, Battacharya, 1982; Гринько, 1983 и др.).

В качестве объектов исследований перечисленными авторами использовались листья древесных, травянистых, культурных и дикорастущих растений, при этом оказались почти не охвачены цветочные культуры.

В 1984–1985 гг. в Институте ботаники АН АрмССР проводились исследования по изучению микромицетов филопланы цветочных растений закрытого грунта для выявления видового состава, путей и источников его формирования, влияния некоторых экологических факторов на развитие грибов и поиска антагонистов с практической целью.

Материал и методика. В качестве объектов исследования брались гвоздика ремонтантная (*Dianthus caryophyllus* L.), как растение, подверженное многим грибным заболеваниям (материал был собран из теплиц Ереванского ботанического сада, а также получен из подсобного хозяйства Аванского солекомбината, цветочного хозяйства г.Эчмиадзина, из теплиц швейного производственного объединения г.Спитака, из теплиц цветовода-любителя из г.Октемберяна) и калла болотная (*Calla aethiopica* L.), как растение сравнительно устойчивое к грибным заболеваниям (из Ереванского ботанического сада).

Образцы листьев со здоровых растений и с признаками увядания, пятнистостей, отбирались в стерильные мешочки из бумаги Крафта по 3 в каждый (с этикеткой), отдельно для верхней и нижней поверхностей листьев, с учетом возраста листьев. В качестве питательных сред использовались среда Чапека–Докса (ЧД), сусло-агар (СА), картофельный агар (КА).

Видовой состав грибов филопланы определялся следующими методами.

1. Методом отпечатков (Делова, 1973). Листья отдельно верхней и нижней поверхностью прикладывались к питательной среде в чашках Петри и стерильным шпателем плотно прижимались к среде, после чего удалялись. Чашки помещались в термостат при температуре 24–25°C.

2. Методом смыва и разведения (Литвинов, 1969). 10 г листьев

взбалтывались в 100 мл стерильной дистиллированной воды в течение 15 минут, затем отстаивались несколько секунд, разводились в 10^{-1} - 10^{-4} раз и высевались в теплый агар.

3. Методом мацерации (Литвинов, 1969). Листья нарезались, растирались в ступке, суспензия разводилась в 10^{-1} - 10^{-4} раз и высевалась в чашки.

4. Методом накопления во влажных камерах (Методы экспериментальной микологии, 1973). В чашки Петри с увлажненной стерильной водой бумагой и 2 слоями марли помещались кусочки листьев, предварительно промытые многократно в стерильной воде.

Микофлористический состав воздуха культивационных помещений определялся путем 20-минутной экспозиции открытых чашек Петри с агаром Чапека-Докса в непосредственной близости от исследуемых растений.

Видовой состав микромицетов ризосферы гвоздики выясняли методом разведения почвенных образцов по Литвинову (1969), взятых непосредственно из-под изучаемых растений. Пробы взяты из различных почвенных горизонтов - с поверхности и с глубины 20-25 см.

Все опыты ставились в трех повторностях. Просмотр культур и идентификацию начинали через 5 дней.

Результаты и обсуждение. Систематический состав микромицетов филопланы гвоздики, каллы, а также воздуха культивационных помещений и ризосферы указанных растений представлен в таблице.

Всего обнаружено 154 вида грибов, из коих 41 явился новым для Армянской ССР. Выделенные грибы относятся к 2 классам: Zygomycetes (2 семейства, 5 родов, 7 видов), Deuteromycetes (3 порядка, 6 семейств, 40 родов, 147 видов). Из общего числа обнаруженных видов грибов 129 выделено из филопланы (гвоздики - 106, каллы - 64), 34 - из воздуха культивационных помещений, 63 - из ризосферы. Общими для всех трех станций у гвоздики оказались 8 видов грибов (из родов *Cladosporium*, *Alternaria*, *Ulocladium*), у каллы - 1 вид (*Cladosporium oxysporum*). Для обоих растений характерны общие виды грибов на листьях верхнего яруса и в воздухе, а также нижнего яруса и почвы.

Гвоздика ремонтантная подвержена поражению большим количеством патогенных микромицетов. Заселенность листовой поверхности ее эпифитной микофлорой высокая, почти в 2 раза превышает таковую каллы болотной, которая в условиях Армянской ССР почти не поражается грибными болезнями. Вероятно, это связано с различием метаболитов, выделяемых данными растениями.

С возрастом листьев как у гвоздики, так и у каллы количест-

Таблица

Систематический состав микофлоры филлопланы гвоздики, каллы,
их ризосферы и воздуха культивационных помещений

Новые виды	Виды грибов	Местообитание					
		гвоздика			калла		
		ф.	р.	в.	ф.	р.	в.
I	2	3	4	5	6	7	8
	Класс Zygomycetes						
	Семейство Mortierellaceae						
✳	Mortierella lignicola			+			
	Семейство Mucoraceae						
✳	Absidia coerulea	+					
	Rhizopus nigricans	+	+		+		+
	Mucor globosus	+					+
✳	M.laxorhizus	+					
	M.racemosus	+	+		+		
	Actinomucor elegans		+				
	Класс Deuteromycetes						
	Порядок Hyphomycetales						
	Семейство Moniliaceae						
✳	Acremonium charticola				+		
✳	A.kiliense		+	+	+		
✳	A.polychromum		+				
✳	A.roseum		+				
✳	Sporotrichum pruinolum				+		
	Gonatobotrys flava				+		
✳	Oedocephalum glomerulosum	+					
	Cephalosporium roseum	+					
✳	Gliocladium atrum	+					
✳	G.roseum		+				
✳	G.verticilloides	+					
	Aspergillus candidus	+	+				+
	A.flavipes	+	+				
	A.flavus		+			+	
	A.fumigatus	+	+		+		
	A.niger	+	+		+	+	
	A.ochraceus	+	+		+		
	A.sulphureus	+	+		+		
	A.terreus				+		
	A.versicolor	+					

I	2	3	4	5	6	7	8
✱	<i>A. zonatus</i>	+					
	<i>A. wentii</i>	+	+				
	<i>Paecilomyces varioti</i>	+					
	<i>Penicillium</i> sp.	+				+	
	<i>P. adametzi</i>	+					
	<i>P. adametzioides</i>	+					
✱	<i>P. aeneum</i>					+	
	<i>P. albicans</i>	+		+			
✱	<i>P. albo-cinereascens</i>	+	+				
	<i>P. arenicola</i>	+					
	<i>P. atrovenetum</i>	+					
	<i>P. camemberti</i>	+	+			+	
✱	<i>P. canadense</i>	+					
	<i>P. canescens</i>	+					
	<i>P. capsulatum</i>	+					
	<i>P. casei</i>	+					
	<i>P. claviforme</i>	+					
	<i>P. coeruleo-viride</i>	+				+	
	<i>P. commune</i>	+					
	<i>P. concavo-rugulosum</i>	+	+				
	<i>P. corymbiferum</i>	+					
	<i>P. cyaneo-fulvum</i>		+				
	<i>P. decumbens</i>	+					
✱	<i>P. diversum</i>	+	+			+	+
✱	<i>P. diversum var. aureum</i>					+	
	<i>P. expansum</i>					+	
	<i>P. fellutanum</i>	+	+			+	+
	<i>P. frequentans</i>	+		+		+	+
	<i>P. glauco-lanosum</i>	+	+			+	
	<i>P. griseolum</i>		+	+		+	+
	<i>P. griseo-purpureum</i>		+			+	
	<i>P. humili</i>	+	+				+
	<i>P. implicatum</i>	+					
	<i>P. janthinellum</i>	+	+			+	
	<i>P. lanoso-griseum</i>	+					
	<i>B. lanosum</i>	+					
	<i>P. madriti</i>	+					
	<i>P. melini</i>						
	<i>P. multicolor</i>					+	
						+	

I	2	3	4	5	6	7	8
	<i>P. notatum</i>	+	+		+		
✖	<i>P. olsoni</i>	+					
	<i>P. palitans</i>				+		
	<i>P. paxilli</i>	+					
✖	<i>P. proteolyticum</i>	+	+				
✖	<i>P. purpurascens</i>	+					
	<i>P. purpurogenum</i>				+		
	<i>P. racoborskii</i>	+					
	<i>P. radulatum</i>				+		
	<i>P. raistrickii</i>	+					
	<i>P. restrictum</i>		+				
	<i>P. roseo-purpureum</i>		+				
	<i>P. simplicissimum</i>	+			+		+
	<i>P. spinulosum</i>	+					
✖	<i>P. syriacum</i>				+		
	<i>P. variabile</i>		+				
	<i>Trichoderma viride</i>	+	+		+	+	
	<i>Botrytis cinerea</i>	+		+	+		
	<i>Verticillium album</i>		+		+		+
	<i>V. albo-atrum</i>			+			
	<i>V. dahliae</i>	+				+	
✖	<i>V. fūexii</i>		+			+	
	<i>V. glaucum</i>					+	
	<i>V. lateritium</i>	+	+		+	+	
	<i>Mycogone roseum</i>				+		
	<i>Trichothecium roseum</i>	+			+		
	Семейство Dematiaceae						
	<i>Torula herbarum</i>	+					
	<i>Aureobasidium pullulans</i>	+	+	+	+		
✖	<i>Phialophora alba</i>		+				
✖	<i>Scytalidium thermophilum</i>	+	+				
	<i>Oidiodendron tenuissimum</i>	+					
	<i>Humicola grisea</i>	+					
	<i>Gilmaniella humicola</i>	+					
	<i>Echinobotryum atrum</i>	+					
✖	<i>Xylohypha nigrescens</i>	+					
	<i>Tetracoccusporium paxianum</i>	+			+		+
	<i>Diplococcum spicatum</i>			+			
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+	+		+		+

I	2	3	4	5	6	7	8
	<i>C.herbarum</i>	+	+	+	+	+	
	<i>C.macrocarpum</i>	+					
	<i>C.oxysporum</i>	+	+	+	+	+	+
	<i>C.tenuis</i>				+		
	<i>C.tenuissimum</i>	+	+	+	+		+
*	<i>C.variabile</i>	+	+	+	+		+
	<i>Stachybotrys atra</i>		+				
*	<i>S.oenanthos</i>		+				
*	<i>S.parvispora</i>	+					
*	<i>Taeniolaella exilis</i>				+		
*	<i>Curvularia prasadii</i>	+					
*	<i>Stysanus stemonitis</i>	+					
	<i>Alternaria alternata</i>	+	+	+	+		+
	<i>A.chlamydospora</i>	+					
	<i>A.dianthi</i>	+					
	<i>A.dianthicola</i>	+		+			
*	<i>A.phragmospora</i>	+					
	<i>A.tenuis</i>	+			+	+	
	<i>A.tenuissima</i>	+			+		+
	<i>Stemphylium botryosum</i>	+		+	+		
	<i>S.ilicis</i>	+	+		+		+
	<i>Ulocladium atrum</i>	+	+	+	+		
	<i>U.botrytis</i>	+		+	+		+
	<i>U.chartarum</i>	+	+		+		
*	<i>U.chlamydosporum</i>	+					
	<i>U.consortiale</i>	+	+	+	+		+
*	<i>U.oudemansii</i>	+			+		
	CemeHOTBO Stilbellaceae						
*	<i>Dendrostilbella byssina</i>		+				
	<i>Isaria brachiata</i>		+	+		+	
	CemeHOTBO Tuberculariaceae						
*	<i>Dendrodochium gracile</i>		+				
*	<i>D.toxicum</i>					+	
	<i>Fusarium aquaeductum var.dimerum</i>					+	
	<i>F.avenaceum</i>	+	+				
	<i>F.culmorum</i>						+
	<i>F.gibbosum</i>					+	
	<i>F.gibbosum var.bullatum</i>	+				+	
	<i>F.javanicum var.radicicola</i>					+	

I	2	3	4	5	6	7	8
	<i>F.moniliforme</i>	+	+				
	<i>F.moniliforme</i> var. <i>lactis</i>	+					+
	<i>F.oxysporum</i>	+	+				
	<i>F.oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i>	+					
	<i>F.sambucinum</i>					+	
	<i>F.semitectum</i> var. <i>majus</i>	+				+	+
	<i>F.sporotrichiella</i> var. <i>poae</i>		+				
	Порядок <i>Mycelia sterilia</i>						
✳	<i>Papulaspora</i> sp.		+				
	Порядок <i>Sphaeropsidales</i>						
	Семейство <i>Sphaeropsidaceae</i>						
	<i>Phyllosticta dianthi</i>	+					
	<i>Phoma</i> sp.	+		+			
✳	<i>P.eupyrena</i>		+				
	<i>P.herbarum</i> f. <i>dianthi</i>	+					
	<i>P.macrostromum</i>	+					
✳	<i>Ascochyta dianthi</i>	+					

Примечание: ф.- филоплана, р.- ризосфера, в.- воздух культивационных помещений.

венный состав микромицетов в филоплане увеличивается. Заспoreнность микроорганизмами старых листьев по сравнению с молодыми в обоих случаях повышается.

У гвоздик на верхней поверхности молодых и зрелых листьев обнаруживается больше видов грибов (37 и 73), чем на нижней (29 и 53). Что касается старых листьев, то здесь с нижней поверхности выделялось больше грибов, чем с верхней (43 и 40 видов соответственно). Обратная картина наблюдалась в филоплане калл. На верхней поверхности старых листьев обнаружено больше грибов (24). У зрелых и молодых листьев каллы с верхней поверхности выделялось меньше грибов (8), чем с нижней (6).

Исходя из полученных результатов, а также сходства видового состава, можно заключить, что формирование микрофлоры молодых (верхний ярус) и зрелых (средний ярус) листьев происходит за счет оседания на их верхнюю поверхность диаспор из воздуха, а старых листьев (нижний ярус) - почвенных микроорганизмов.

Эксперименты показали, что для получения более полной картины видового состава микромицетов филопланы желательно сочетать

все перечисленные методы их выделения, т.к. как количественный, так и качественный состав грибов филопланы гвоздики и каллы находился в прямой зависимости от методов, применяемых для выделения грибов. Наибольшее число изолятов микромицетов выделялось методом отпечатков. Методом мацерации было выделено 6 видов грибов (*Cephalosporium roseum*, *Penicillium arenicola*, *P. corymbiferum*, *P. raixilli*, *P. raistrickii*, *P. lanosum*), не обнаруженных методом отпечатков. И, наоборот, большая часть грибов, обнаруженная методом отпечатков, не выделялась при использовании метода мацерации. Методом накопления на питательную среду выделялись те грибы, которые вырастали непосредственно на листьях и т.д.

Видовой и количественный состав микосинузий меняется в течение вегетации. В результате исследований оказалось, что с повышением температуры воздуха в теплицах в летний период (от 20 до 40°C) бесцветные гифомицеты (из родов *Penicillium*, *Verticillium*) сменялись темноокрашенными (из родов *Alternaria*, *Stemphylium*), которые становились преобладающими.

Изменение температуры сказывалось также и на количественном составе микромицетов: в мае с филопланы гвоздики было выделено 11 видов грибов, в июне — 18 видов. С постепенным понижением температуры снижалось количество выделенных грибов. В ноябре их численность достигала всего 10.

Подобная картина наблюдалась в отношении качественного и количественного состава микромицетов филопланы каллы.

Сходные данные в отношении увеличения численности микромицетов филопланы яблони в течение вегетации получены Стадельманом и Швинном (*Stadelmann, Schwinn, 1976*).

Такие изменения, происходящие в численном и качественном составе микромицетов в филоплане растений, можно увязать, с одной стороны, видимо, с колебанием температуры воздуха культивационных помещений, с другой — с возрастом и состоянием самих растений.

В процессе изучения микромицетов филопланы гвоздик и калл проводились наблюдения над взаимоотношениями, складывающимися между грибовыми организмами. Всего было отмечено 102 случая одновременного развития двух, трех и более видов грибов. 47 случаев из общего числа отмечено в филоплане гвоздики, 52 — каллы.

В процессе работы выделены 6 типов реакций взаимодействия компонентов микосинузий в филоплане исследуемых растений (Симо-
нян, Мамиконян, 1982). Среди взаимоотношений, складывающихся между микромицетами, чаще всего наблюдались реакции, при которых

компоненты не оказывали друг на друга отрицательного воздействия (тип реакции А, В₁// *Rhizopus nigricans* в сочетаниях с *Penicillium diversum*, *P. decumbens*, *Aspergillus niger* и др.). В других типах взаимоотношений один из компонентов в некоторой степени подавлял развитие другого гриба (реакции Д, Е) (*Cladosporium variabile* и *C. oxysporum*, *Penicillium notatum* и *Aspergillus niger* и др.). Меньше всего был распространен взаимный антагонизм членов микосинузий (реакция С). Этот тип реакции наблюдался лишь у грибов *Alternaria dianthi* с *Ulocladium oudemansii* и *Penicillium diversum* с *P. multicolor*.

Заключение. В филоплане гвоздики и каллы преобладают микромицеты из несовершенных грибов, в основном гифомицеты. Численность и видовой состав грибов в течение вегетации меняются: с повышением температуры общее число видов возрастает и на смену бесцветным гифомицетам приходят более приспособленные к экстремальным условиям окрашенные. На формирование микофлоры филопланы большое влияние оказывает видовой состав микромицетов воздуха культивационных помещений и ризосферы. Между отдельными компонентами филопланы наблюдались главным образом индифферентные взаимоотношения или очень слабое подавление одного микромицета другим. Изредка встречался их взаимный антагонизм.

ЛИТЕРАТУРА

- Вернер А.Р. В кн.: Фитонциды в народном хозяйстве, Киев, 1964.
 Вернер А.Р., Кузнецова Т.Т. В сб.: Микроорганизмы и зеленое растение, Новосибирск, 1967.
 Гринько Н.Н. Автореф. канд. дис., 1983.
 Делова Г.В. В сб.: Микофлора растений и почв, Новосибирск, 1973.
 Делова Г.В., Кузнецова Т.Т. В сб.: Микофлора растений и почв, Новосибирск, 1973.
 Кашйап У., Левкина Л.М. "Изучение грибов в биогеоценозах". Тез. докл., Л., 1977.
 Кузнецова Т.Т. В сб.: Микофлора растений и почв, Новосибирск, 1973.
 Литвинов М.А. Методы изучения почвенных микроскопических грибов. Л., 1969.
 Методы экспериментальной микологии. Под ред. В.И. Билай, Киев, 1973.
 Симонян С.А., Мамиконян Т.О. Микол. и фитопатол., 1982, т. 16, № 3.

- Blaceman J.P. *Pestic.Sci.*, 1973, 4, 4.
- Chwalinski K. *Zebz.pobl.post.nauc.rol.*, 1984, 289.
- Crosse J.E., Garret C.M.E., Buchill R.T. *Ann.appl.Biol.*, 61, 1968.
- Cruickshank J.A.M. *Ann.Rev.Phytopathol.*, 1, 1963.
- Dickinson G.H. *Canad.J.Bot.*, 45, 6, 1971.
- Van den Ende G. *Integrated control Insect Pests Netherlands, Wageningen*, 1980.
- Hayes A.J. *Nova Hedwigia*, 37, 1983.
- Hislop E.C., Cox T.W. *Trans.Brit.Mycol.Soc.*, 52, 1969.
- Kerling L.C.P. *Landbauwhogeschool en de Opzoekingsstation van the Staat te Gent.Deel* 29, 3, 1964.
- Kowalski T., Lang K.J. *Phytopathol.Z.*, 1983, 107, 1.
- Leben G. *Canad.J.Microbiol.*, 2, 1965.
- Narayana H.S., Monga A.K. *Curr.Sci.*, 1980, 49, 18.
- Purkayastha R.P., Bhattacharyya B. *Sci.and.Cult.*, 1982, 48, 6.
- Ruinen J. *Plant and Soil*, 15, 1961.
- Stadelmann F., Schwinn F.J. *Trans.Brit.Mycol.Soc.*, 1976, 66,1.