

# Изучение развития сапротрофных микромицетов филлопланы

Автор работы: **Царелунга Алексей**

Научные руководители:

к.б.н. Благовещенская Екатерина Юрьевна

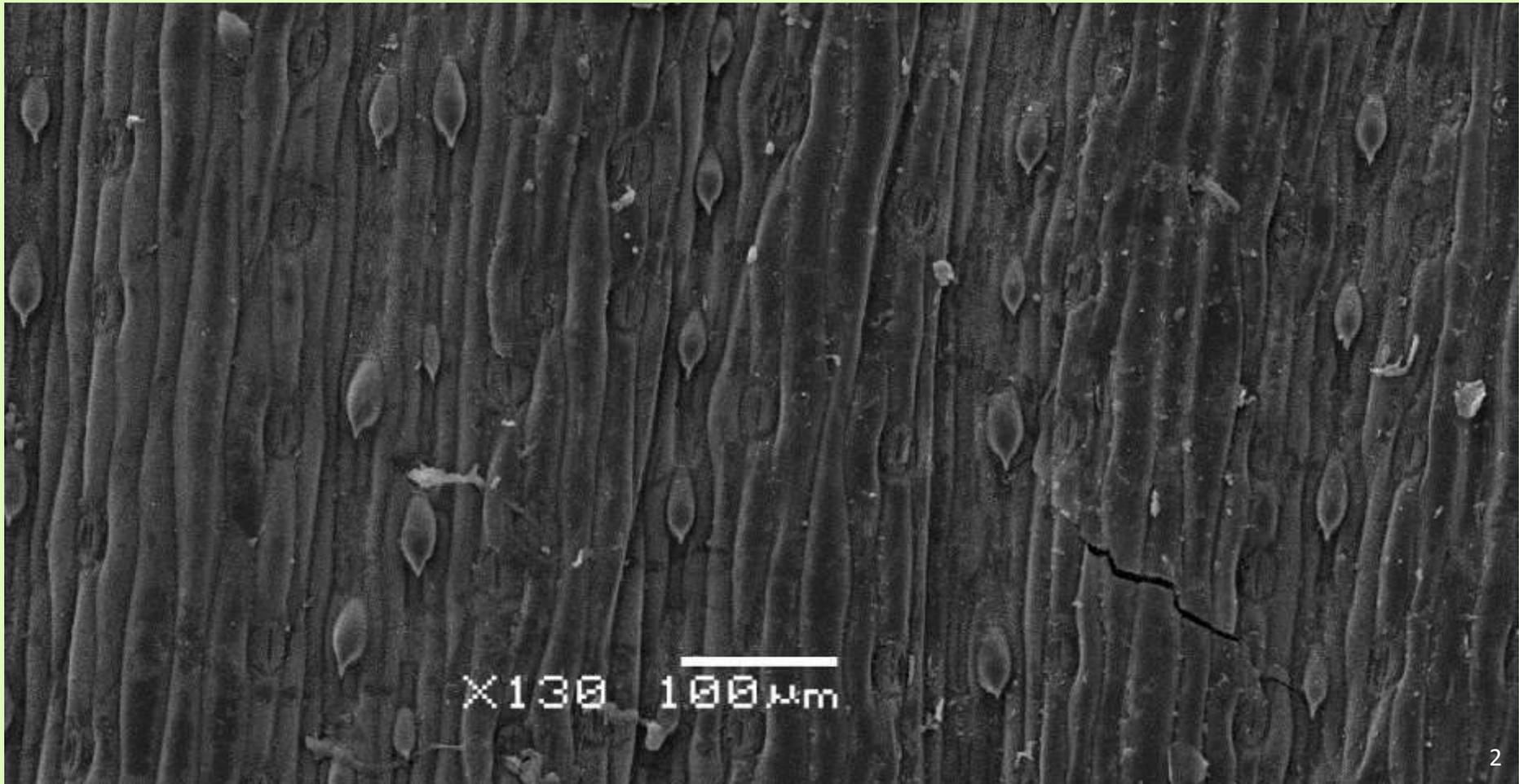
д.б.н. Александрова Алина Витальевна

кафедра микологии и альгологии  
Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова  
2021

# Поверхность растения и эпифиты

**Филлосфера** – поверхность надземных органов растения

**Филлоплана** – строго поверхность листьев



# Сажистые грибы, или Чернь

**Carnodiales**

Dothideomycetes

Pezizomycotina

Ascomycota



*Carnodium*

(Бондарцев, 1931)



*Carnodium*

(Chomnunti, 2011)<sub>3</sub>

# Сажистые грибы, или Чернь

**Capnodiales**

Dothideomycetes

Pezizomycotina

Ascomycota



*Eucallipterus tiliae* L.

Aphididae

Hemiptera

Insecta

**Цель работы:** изучить развитие сапротрофных микромицетов филопланы различных растений, а также выявить их видовой состав, в сравнении с микромицетами почвы и воздуха.

### **Задачи:**

- 1) провести сбор образцов растений и почвы;
- 2) провести исследование поверхности здоровых растений и растений, на которых было отмечено развитие сажистого налета, прямыми методами;
- 3) провести выделение чистых культур грибов с поверхности листьев растений, из почвы и из воздуха;
- 4) идентифицировать видовую принадлежность полученных культур;

**Цель работы:** изучить развитие сапротрофных микромицетов филлопланы различных растений, а также выявить их видовой состав, в сравнении с микромицетами почвы и воздуха.

### **Задачи:**

- 5) выявить таксоны грибов, наиболее представленные в филлоплане;
- 6) проанализировать влияние постановки дополнительных отпечатков одного и того же листа на выявление видов эпифитных грибов.
- 7) оценить сходство комплексов видов эпифитных грибов, выявляемых в разных вариантах опыта;
- 8) оценить сходство видового состава грибов филлопланы, с видовыми составами микромицетов, выделяемых из почвы и из воздуха.



*Dactylis  
glomerata*



*Trifolium pratense*



*Taraxacum officinale*



<https://www.plantarium.ru/>

*Acer platanoides*

Кроме того были отобраны:

- почвенные образцы;
- пробы воздуха

# Район сбора образцов

Биологический  
факультет МГУ им.  
М.В. Ломоносова



*Tilia cordata*

Дарвиновский  
музей



# Прямые методы

## Световая микроскопия

- ✓ Препараты пленки клея БФ-6 в воде
- ✓ Препараты прозрачного скотча в реактиве Шира

## Электронная сканирующая микроскопия

- 1) *Dactylis glomerata*
- 2) *Taraxacum officinale*
- 3) *Trifolium pratense*
- 4) *Acer platanoides*
- 5) Листья с сажистым налетом

Инкубация во  
влажной камере

Без инкубации

- 1) Фиксация в 4% **формалине**
- 2) Фиксация в **формидроне**

Jeol GSM; Camscan-S2

# Выделение чистых культур

- ✓ Выделение грибов из филлопланы методом отпечатков  
(2018 год – 15 растений, 3 отпечатка; 2020 год – 20 растений, 9 отпечатков)
- ✓ Выделение сажистых грибов уколами  
(10 растений, 3 укола)
- ✓ Выделение из воздуха методом седиментации  
(30 чашек, 10 минут экспонирования)
- ✓ Выделение из почвы методом серийных разведений  
(5 образцов, 2 разведения, 3 питательные среды – повторность 5 чашек)

## Идентификация изолятов

- ✓ По морфолого-культуральным признакам
- ✓ Молекулярно-генетическими методами (ITS1, ITS4)

# Бутстреп моделирование в программе MS Excel

**Макросы**

Записать макрос...

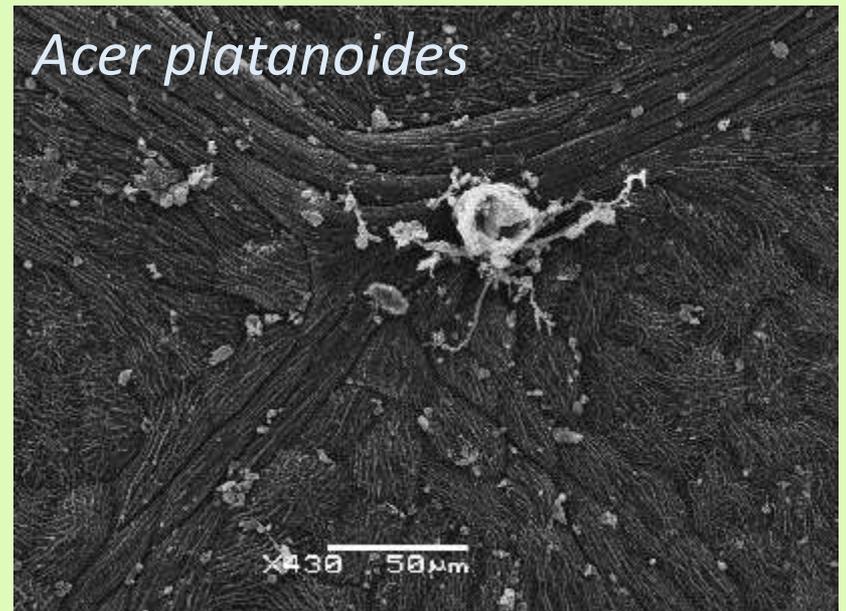
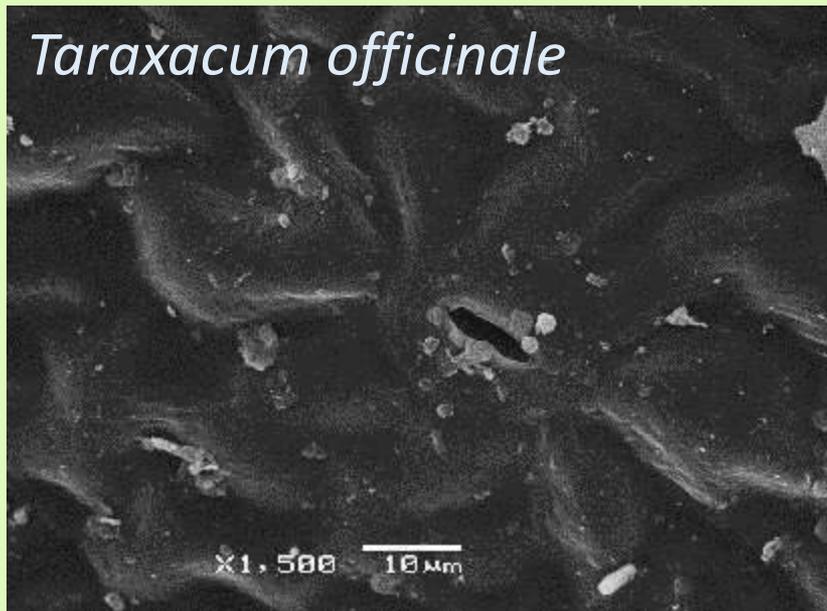
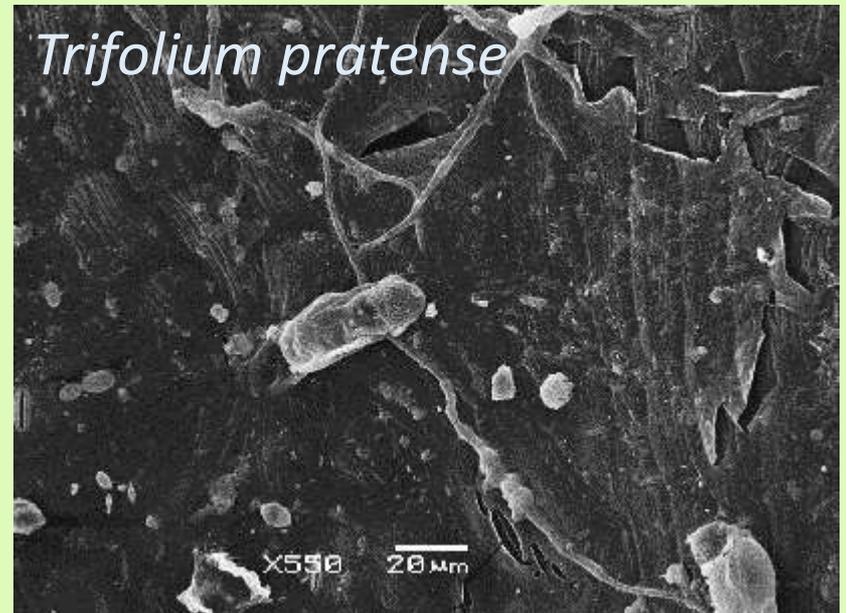
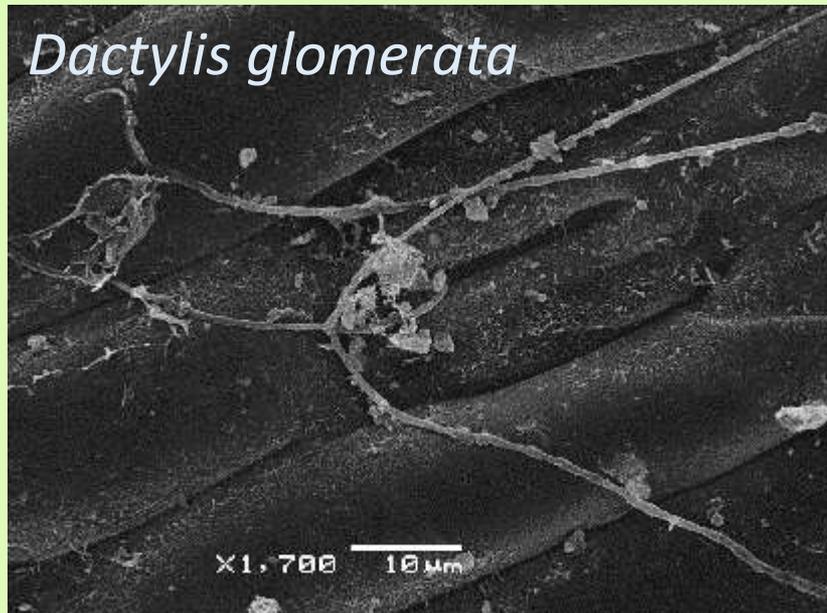
**Записать макрос**

Запись макроса.

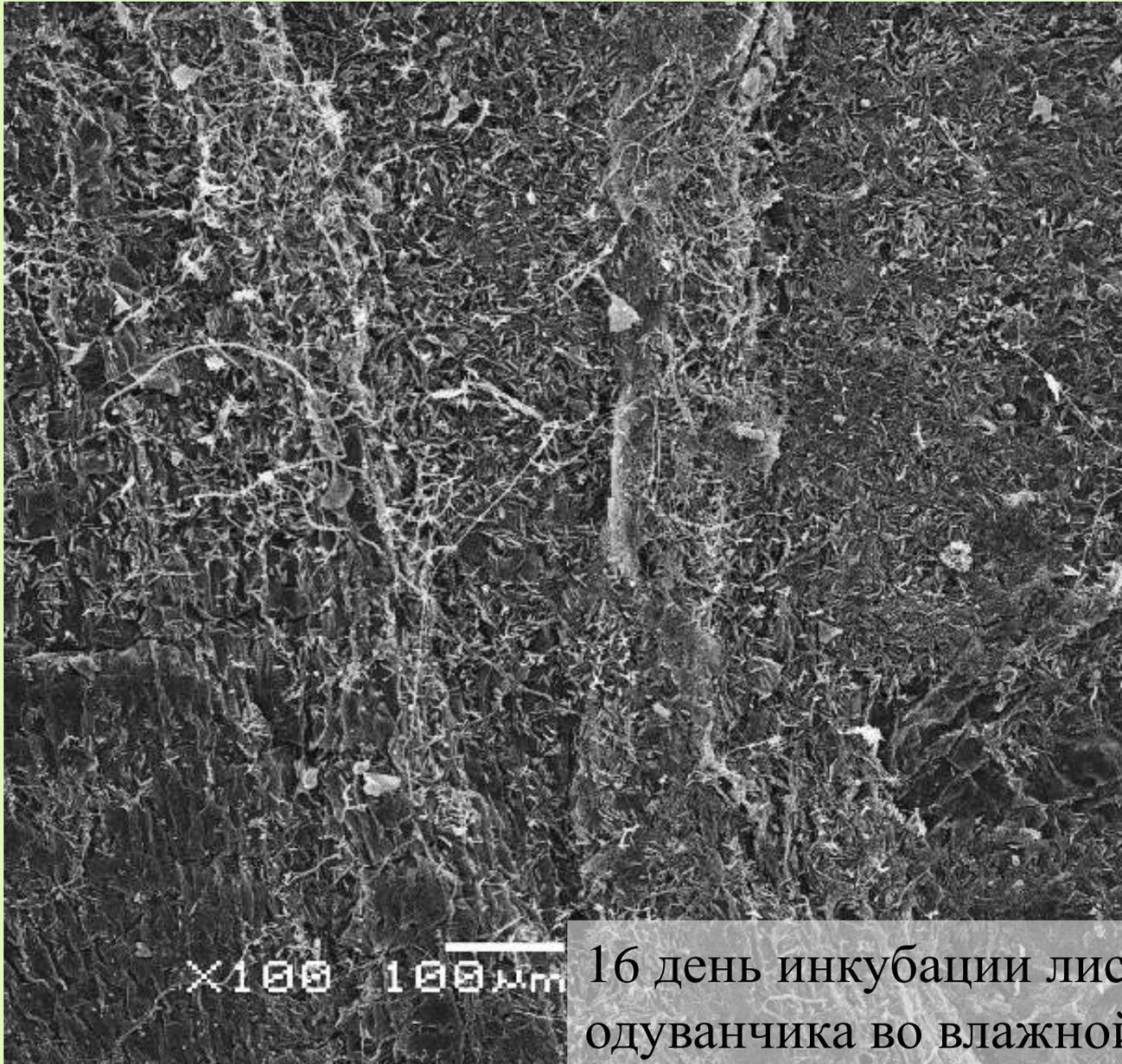
Каждая выполненная команда будет записана в макрос, что позволит запустить эти команды повторно.

Q23	PI	Pr	Sp1	Sp2	Sp3	Sp4	Sp5	Sp6	Sp7	Sp8	Sp9	Sp10	Sp11	Sp12	МАКР
1	0,0168	15	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
2	0,8767	3	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
3	0,2262	10	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1
4	0,1809	13	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
5	0,9402	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
6	0,9511	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0,844	4	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
8	0,3565	7	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
9	0,3188	8	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
10	0,6994	5	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
11	0,2009	11	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
12	0,1857	12	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1
13	0,4885	6	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0,0937	14	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
15	0,2273	9	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1
16															
17															
18	PI	Pr	Sp1	Sp2	Sp3	Sp4	Sp5	Sp6	Sp7	Sp8	Sp9	Sp10	Sp11	Sp12	МАКР
19	1		1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	5
20	2		1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	8
21	3		1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	9
22	4		1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	9
23	5		1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	9
24	6		1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	9
25	7		1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	10
26	8		1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	10
27	9		1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	10
28	10		1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	10

# Результаты

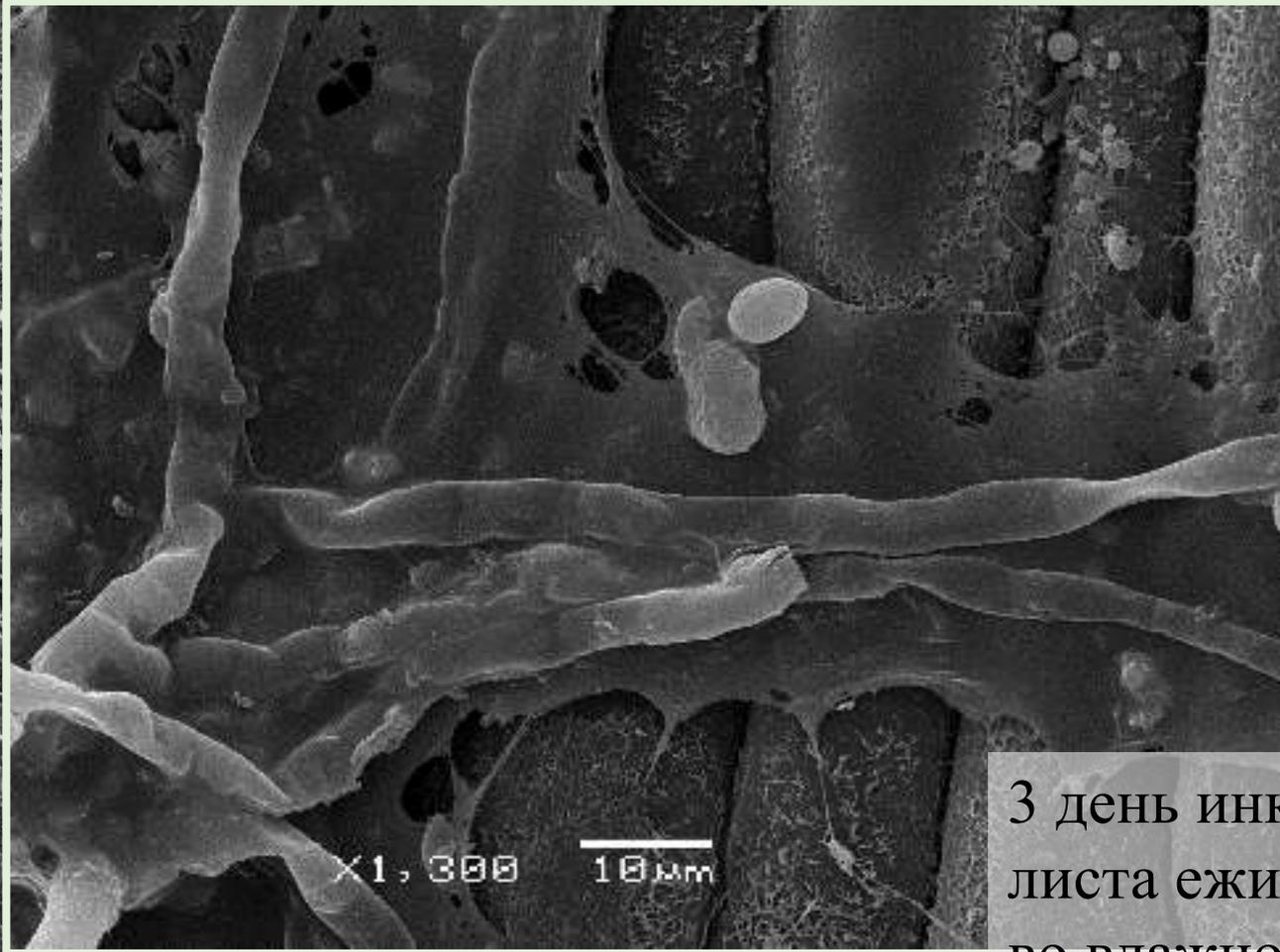


# Результаты



16 день инкубации листа  
одуванчика во влажной камере

# Результаты

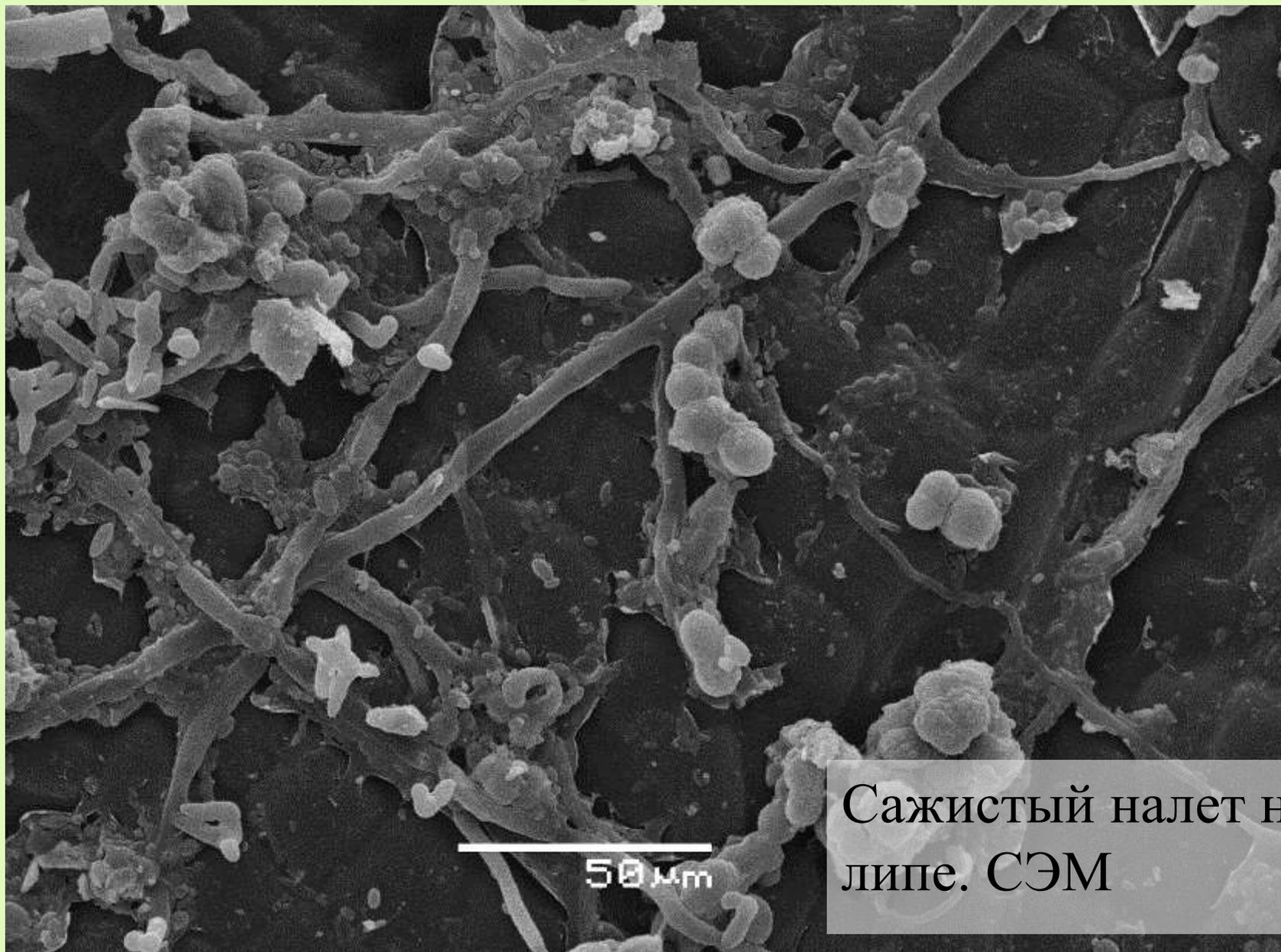


3 день инкубации  
листа ежи сборной  
во влажной камере

x100 100µm

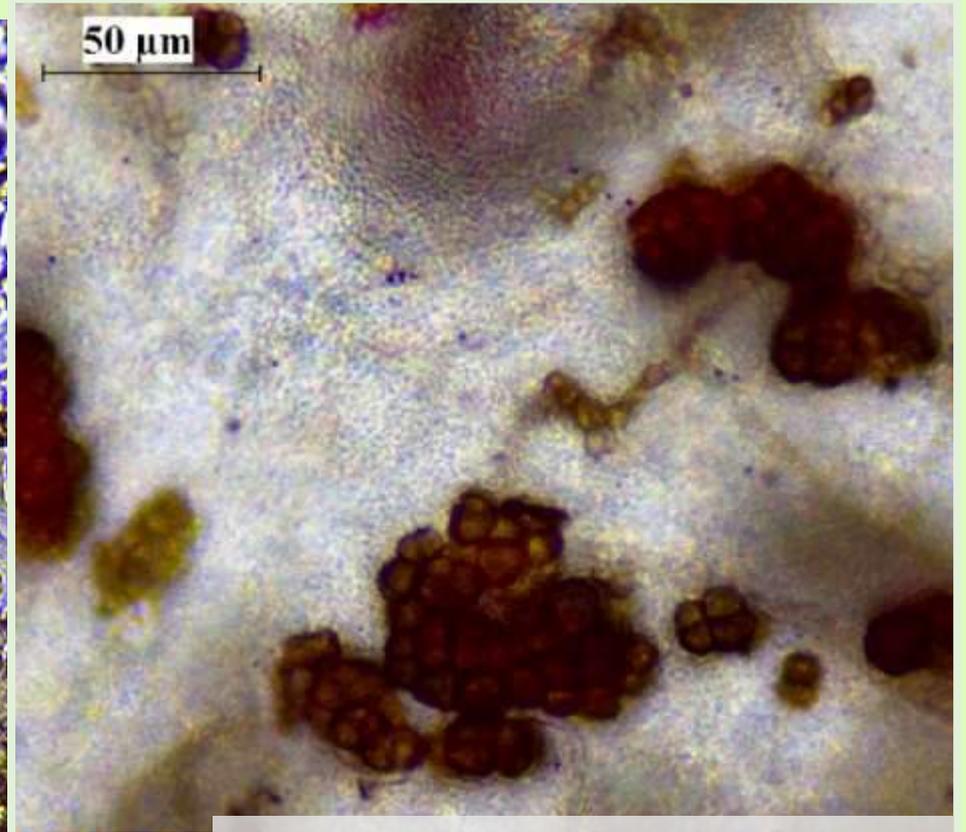
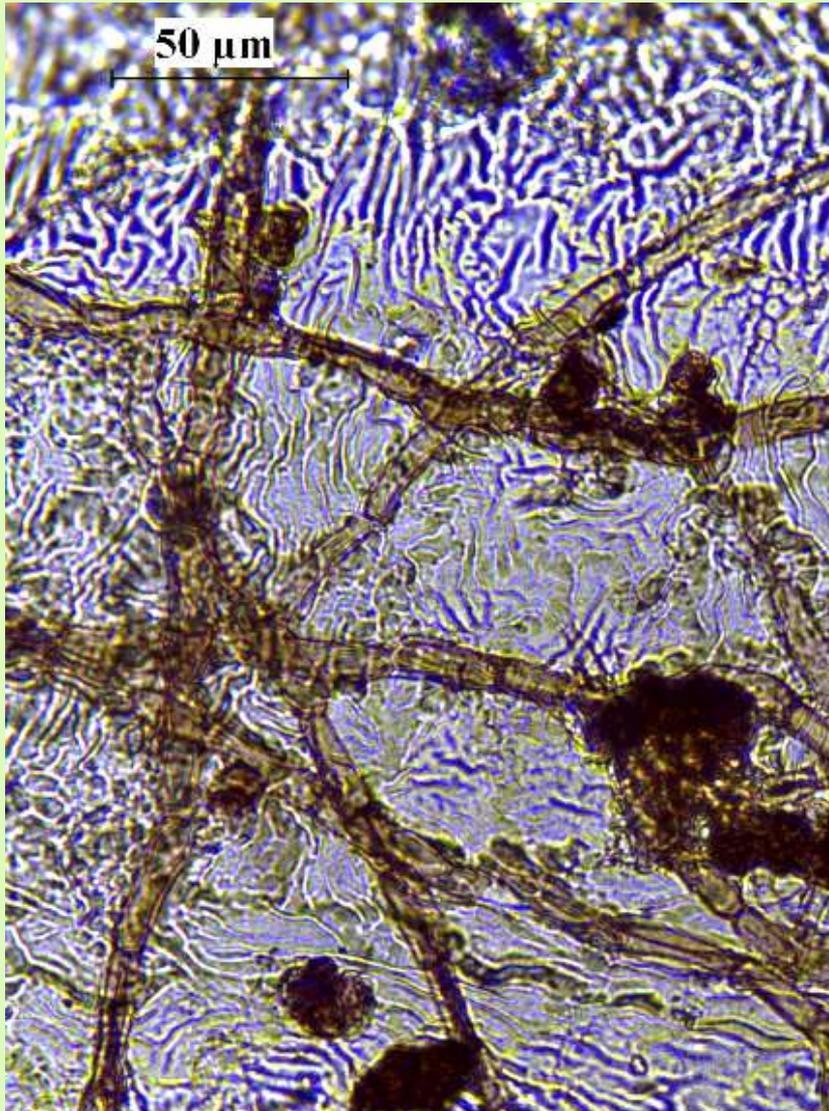
16 день инкубации листа  
одуванчика во влажной камере

# Результаты



Сажистый налет на  
липе. СЭМ

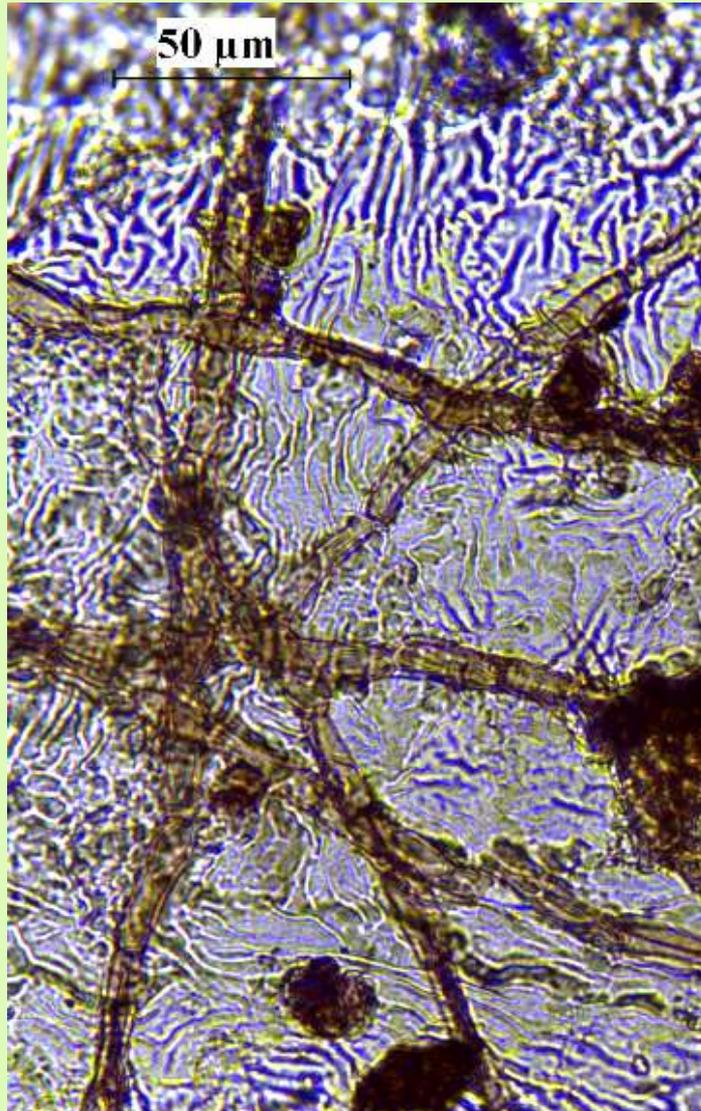
# Результаты



Скопления хламидоспор,  
предположительно  
*Carpodium* sp.

Пленка клея БФ-6. Отпечаток сажистого налета

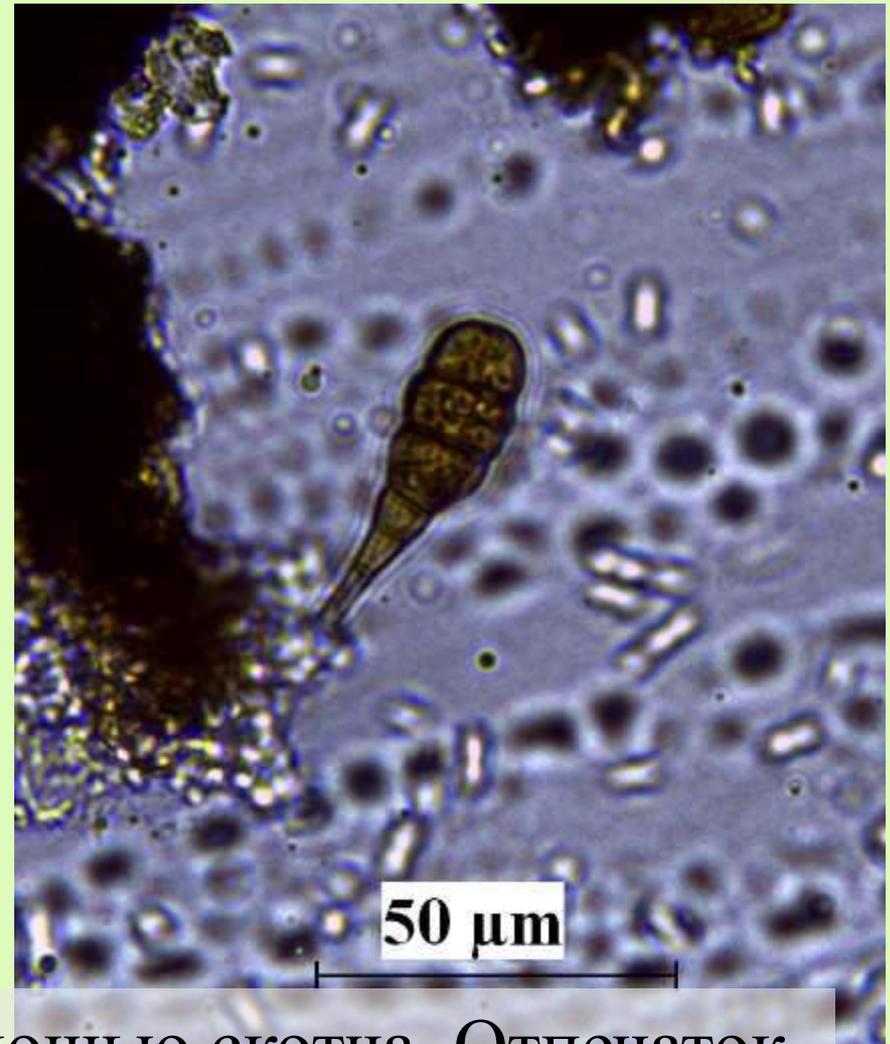
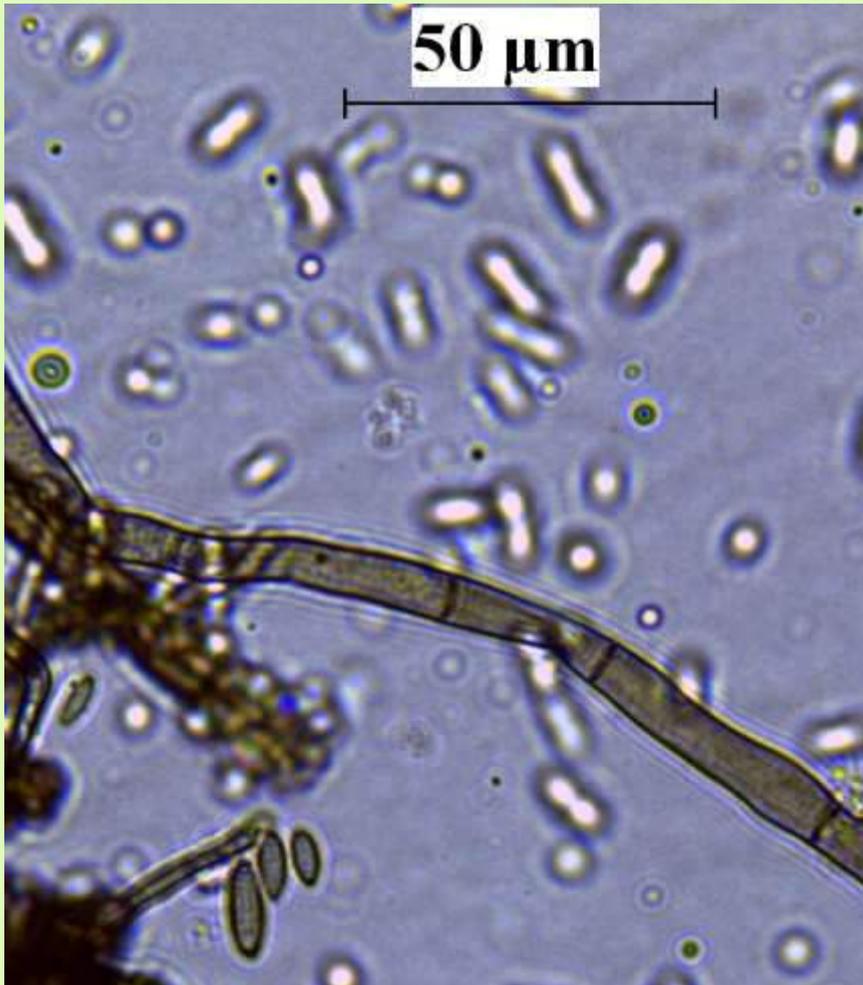
# Результаты



Множество клеток, похожих на дрожжи или бактерии

Пленка клея БФ-6. Отпечаток сажистого налета

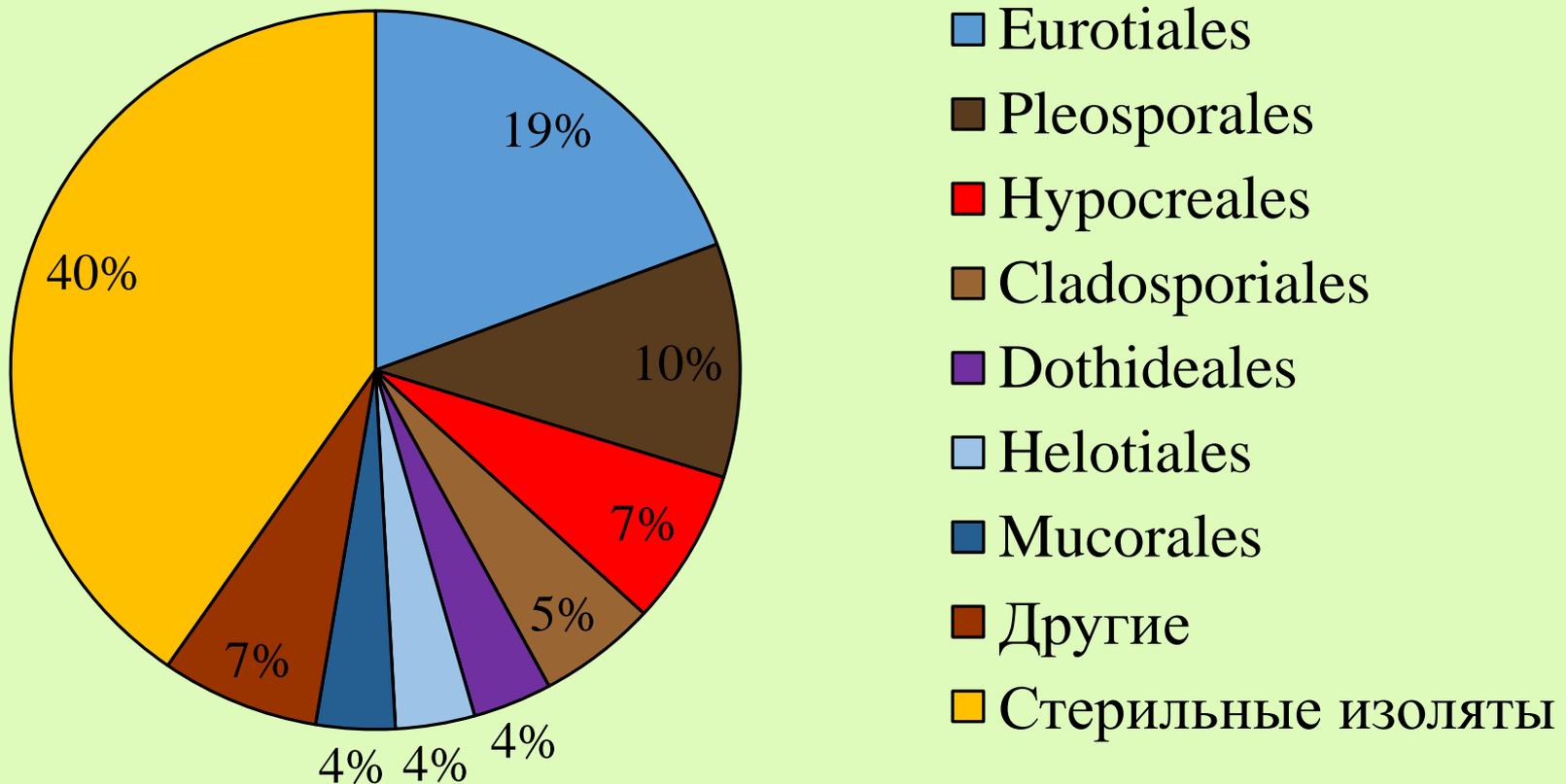
# Результаты



Препарат, сделанный с помощью скотча. Отпечаток сажистого налета с листа липы

# Результаты

**Всего с филлопланы различных растений выделено 34 вида грибов; 23 изолята на настоящий момент не идентифицированы до вида.**



# Результаты

## Общая встречаемость видов эпифитов по всем растениям

Встречаемость, %



*На диаграмме  
представлены только  
виды со встречаемостью  
выше 10%*

Aureobasidium pullulans  
Rhodotorula sp.  
Cladosporium herbarum  
Cladosporium cladosporioides  
Epicoccum nigrum  
Alternaria alternata  
Coniothyrium sp.  
Phoma sp.3  
Clonostachys rosea  
Aspergillus niger  
Penicillium jenseni  
Pseudopithomyces chartarum  
Aspergillus japonicus  
Penicillium adametzii  
Aspergillus flavus  
Colletotrichum sp.  
Penicillium cyclopium

# Наиболее часто встречаемые виды

*Aureobasidium pullulans*  
(de Bary) G. Arnaud

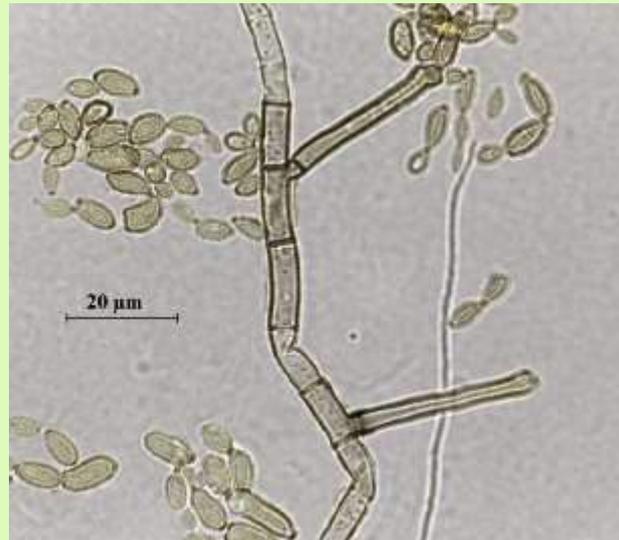


*Alternaria alternata*  
(Fr.) Keissl.

# Наиболее часто встречаемые виды

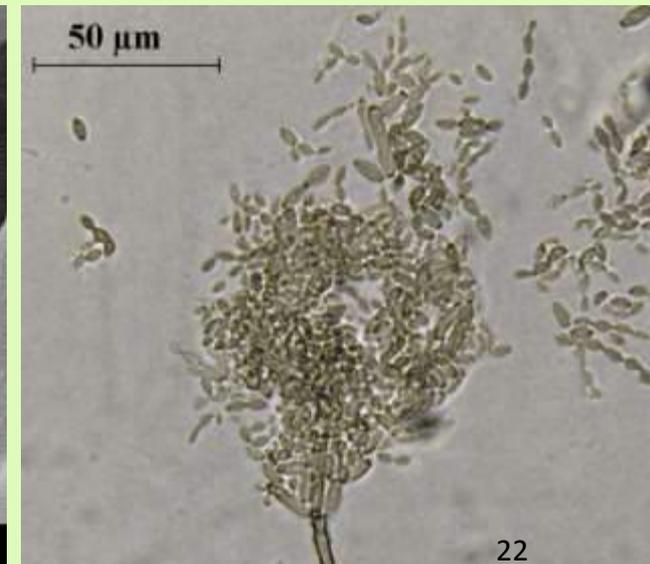
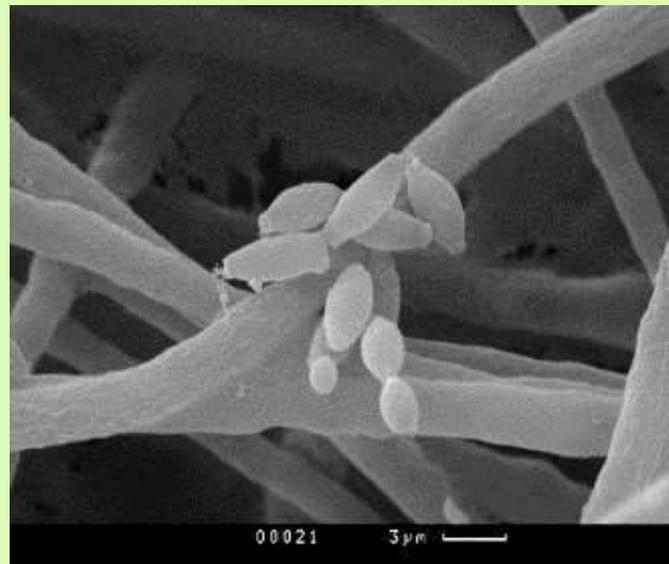
*Cladosporium*  
*herbarum* (Pers.)

Link



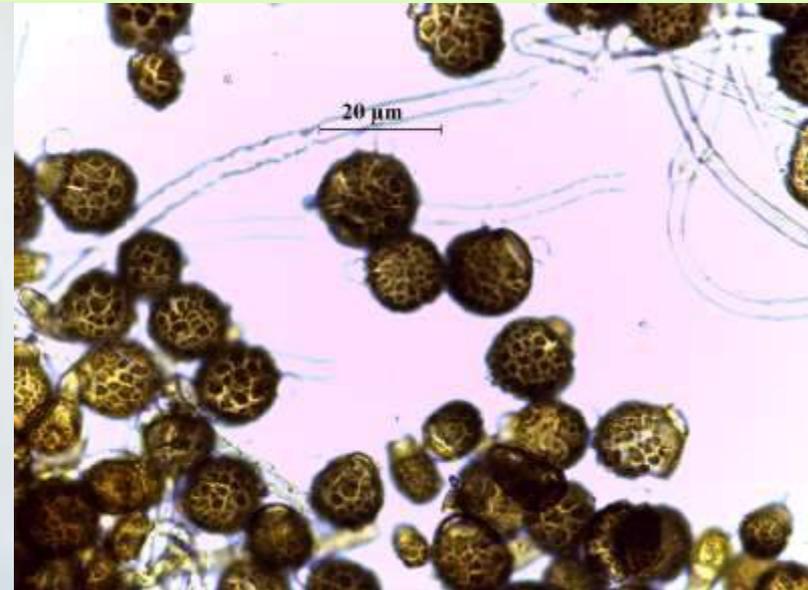
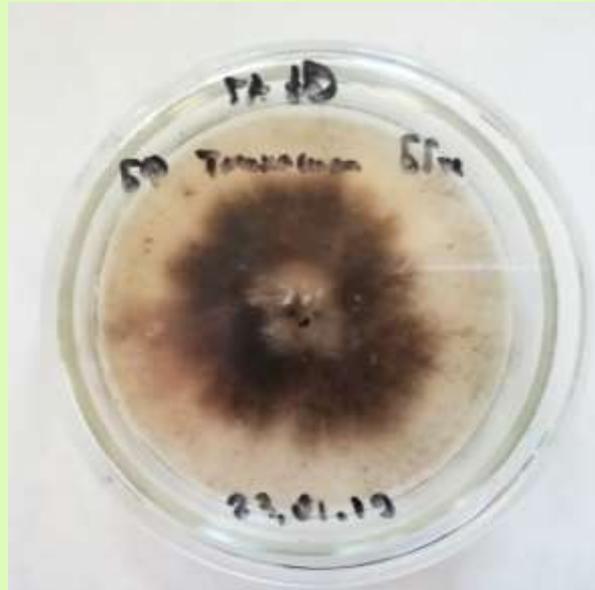
*C. cladosporioides*  
(Fresen.) G.A. de

Vries

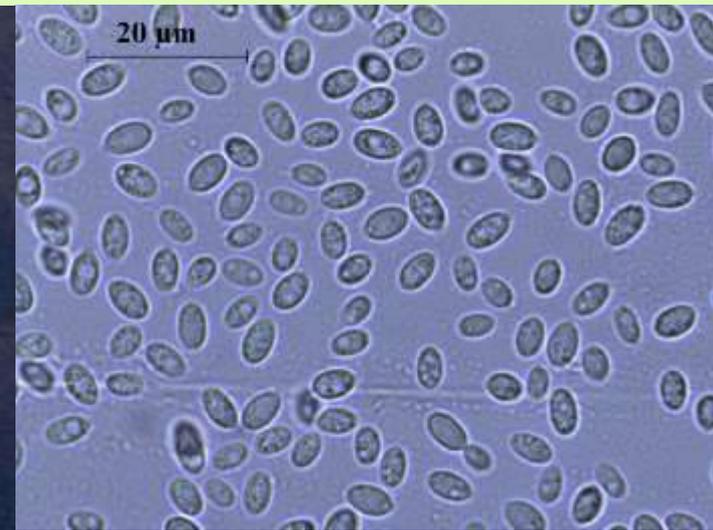


# Наиболее часто встречаемые виды

*Epicoccum  
nigrum* Link

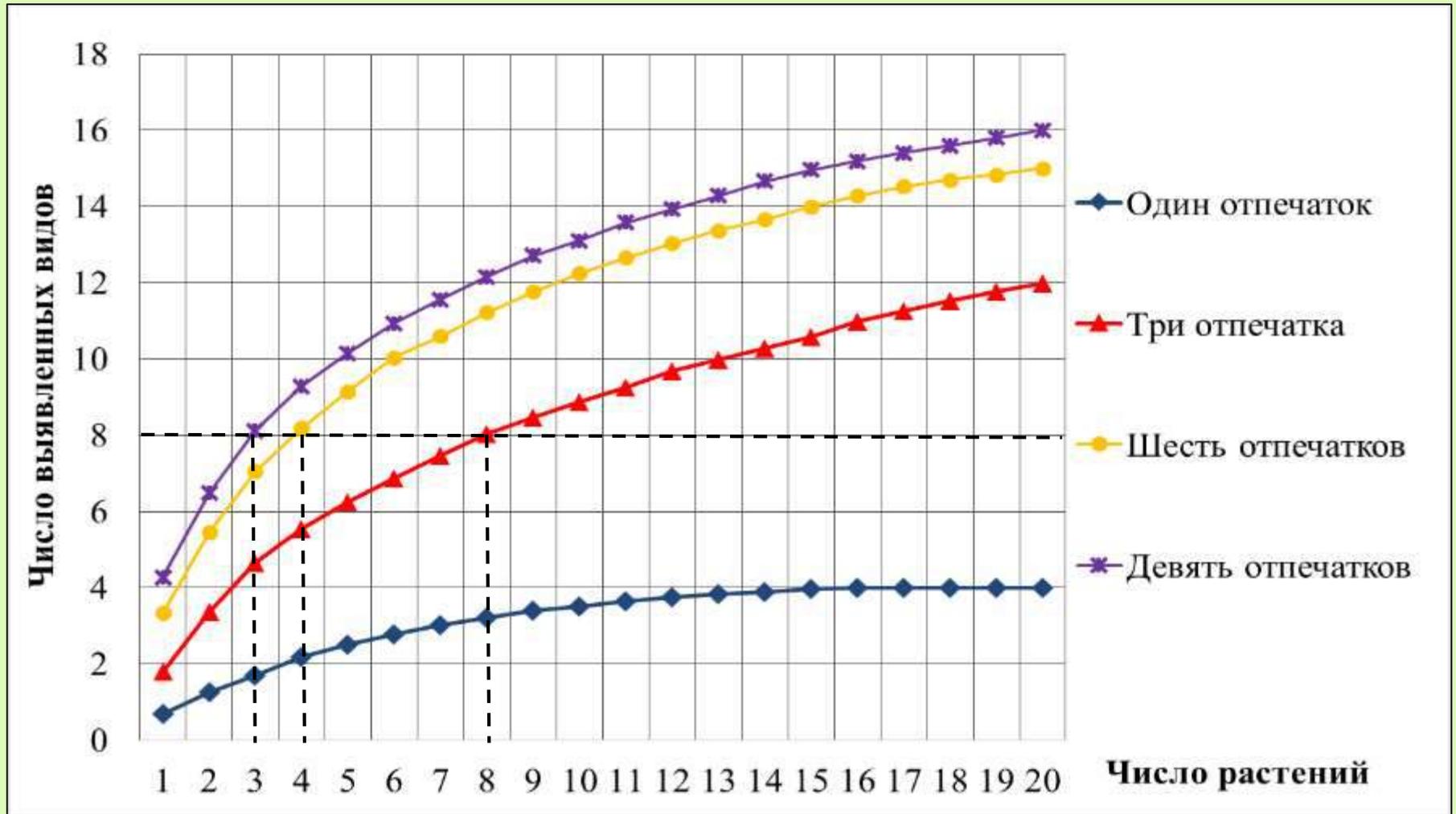


*Rhodotorula* sp.



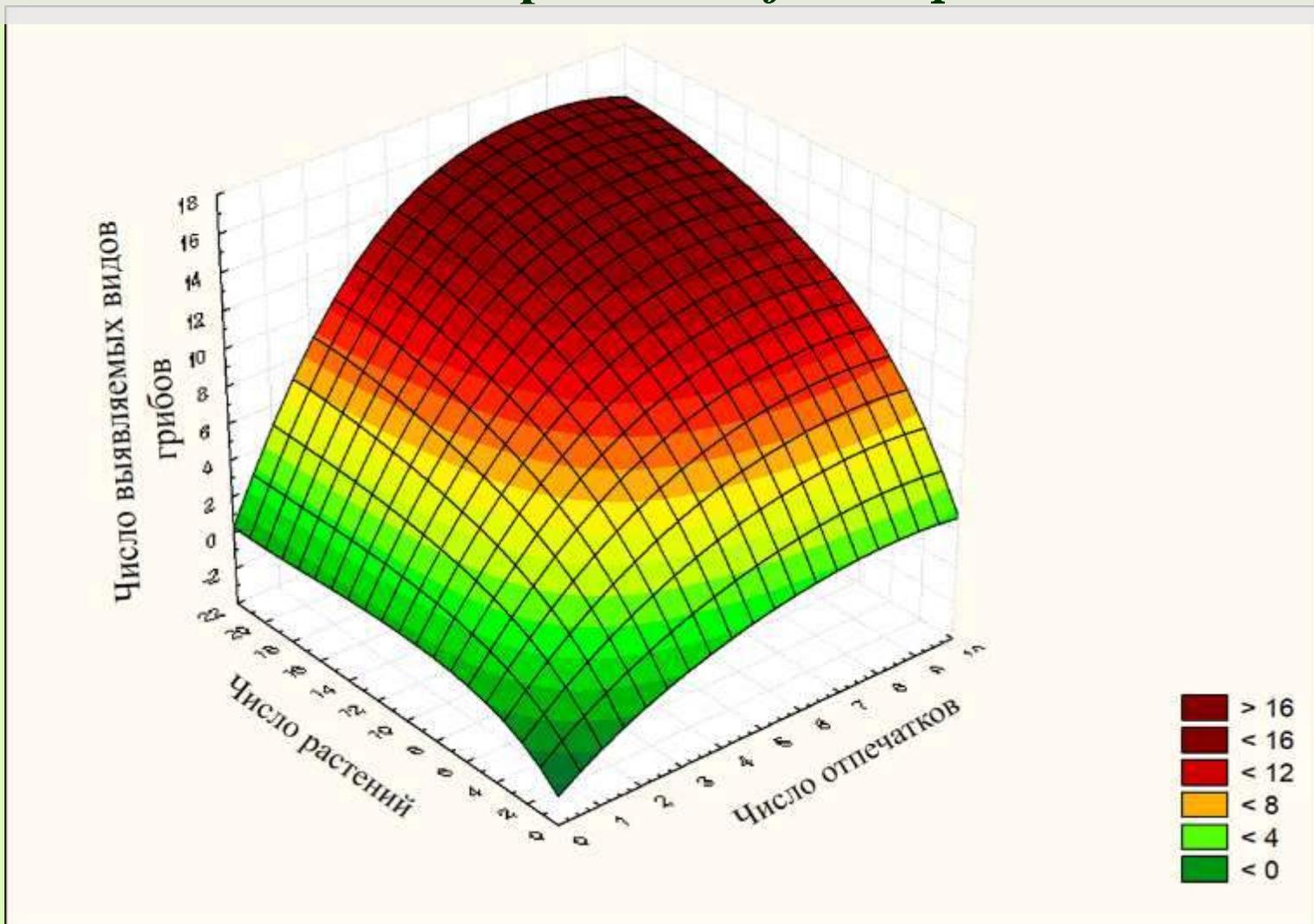
# Результаты

## *Trifolium pratense* 2020



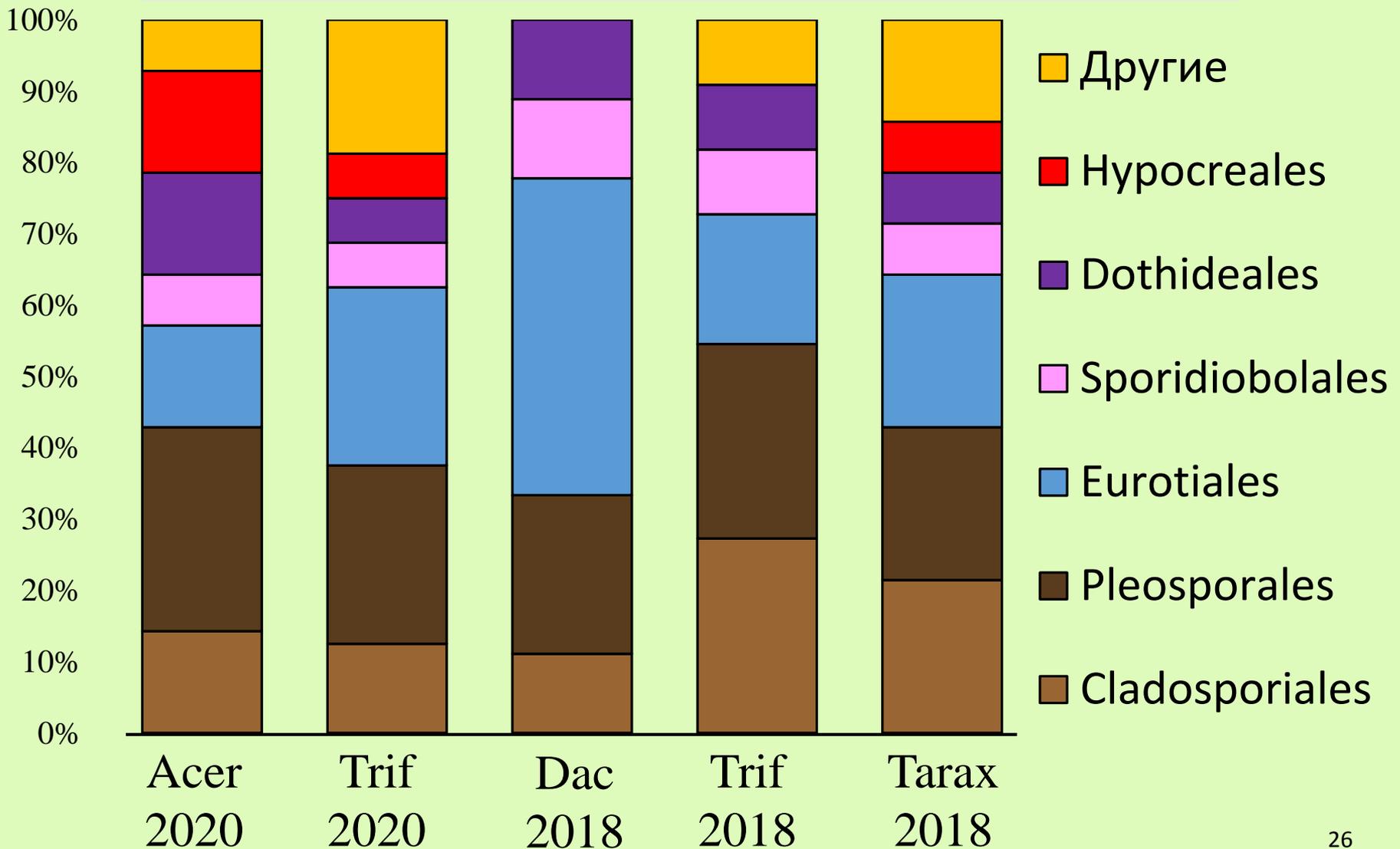
# Результаты

Зависимость числа выявляемых видов от количества растений и числа отпечатков для образцов *Trifolium pratense* 2020



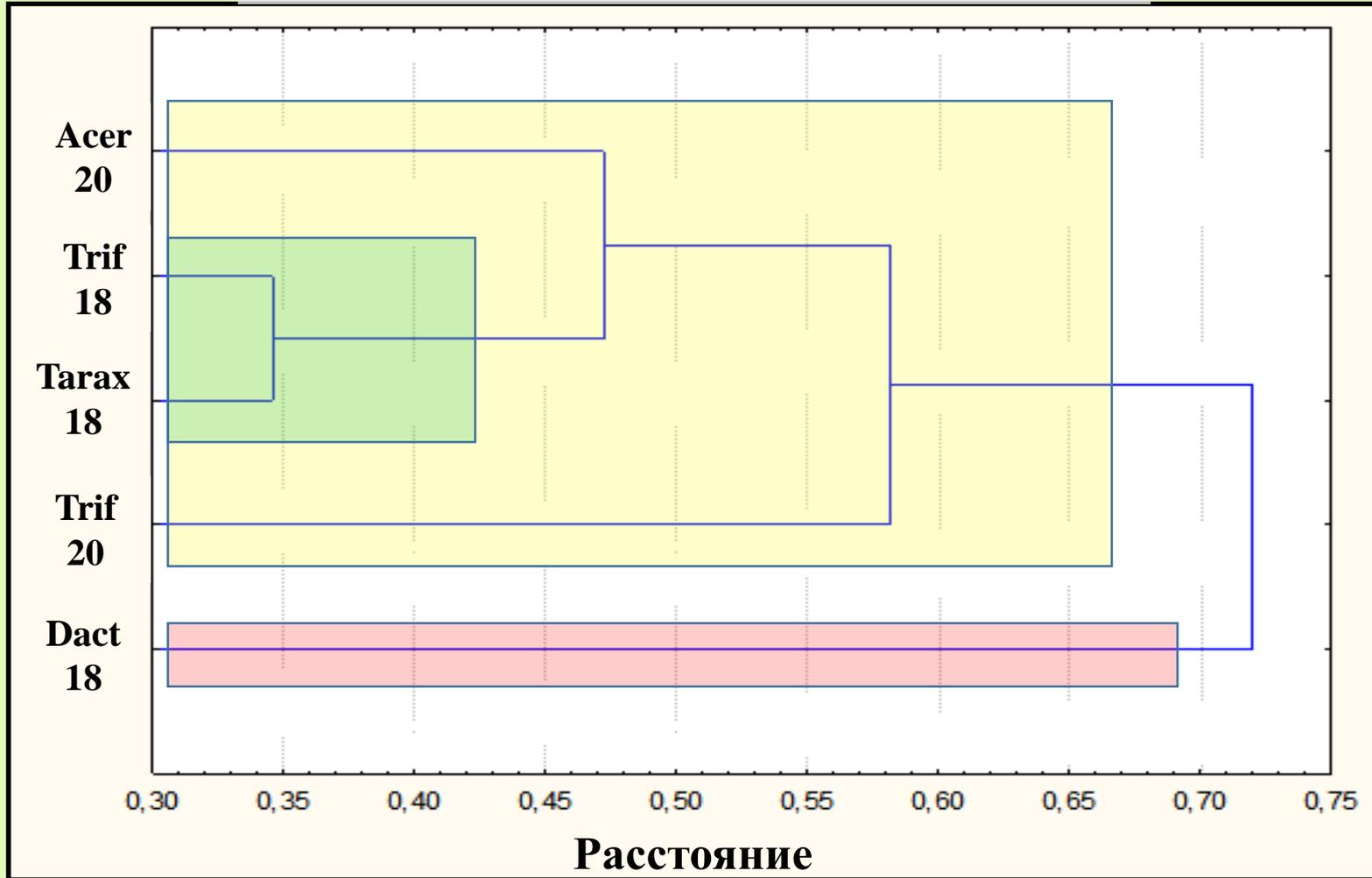
# Результаты

## Качественное сравнение растений по порядкам



# Результаты

## Кладограмма видового сходства



Acer 20, Trif 20 – соответствует *A. platanoides* и *T. pratense* 2020 года; Tarax 18, Trif 18, Dact 18 – *T. officinale*, *T. pratense* и *D. glomerata* 2018 года соответственно 27

# Результаты

## Общая встречаемость видов выделяемых из воздуха

Встречаемость, %

70

60

50

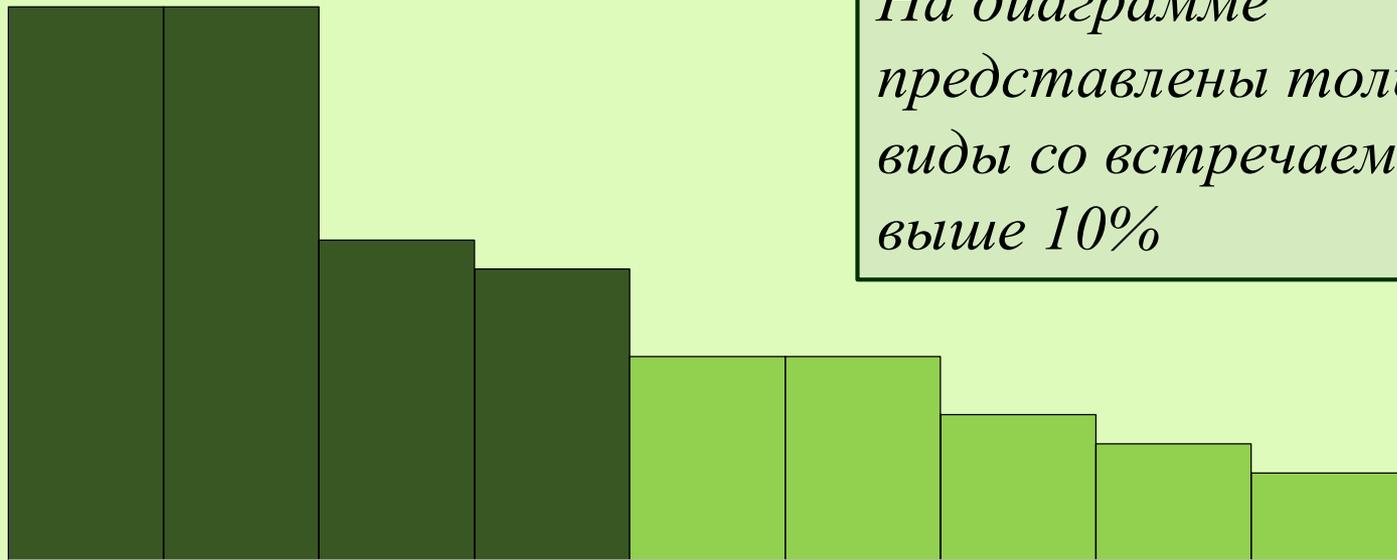
40

30

20

10

0



*На диаграмме  
представлены только  
виды со встречаемостью  
выше 10%*

Aureobasidium pullulans

Cladosporium macrocarpum

Rhodotorula sp.

Rhizopus stolonifer

Botrytis cinerea

Penicillium aurantiogriseum

Cladosporium cladosporioides

Epicoccum nigrum

Trichoderma viride

# Результаты

## Общая встречаемость видов выделяемых из почвы

Встречаемость, %

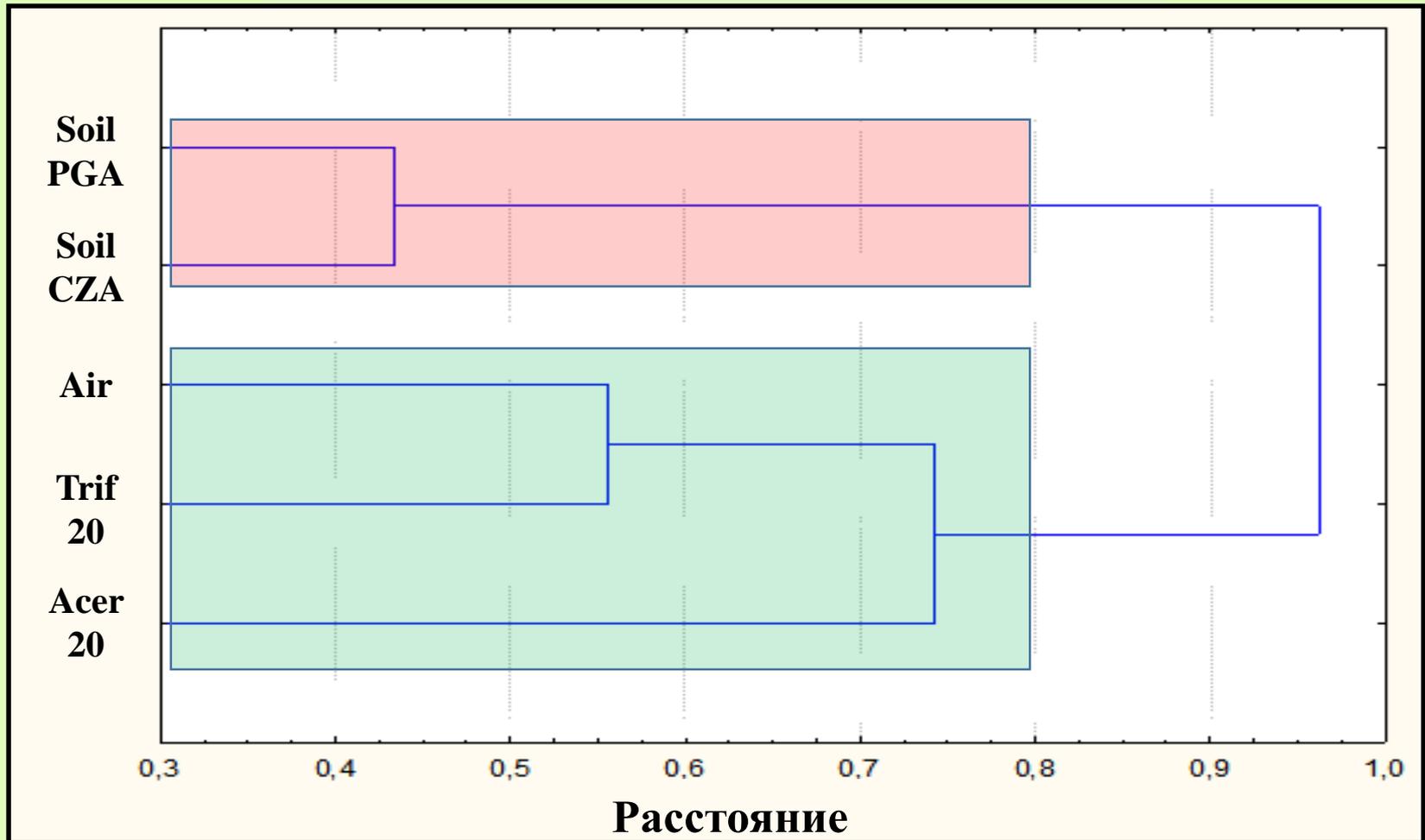


*На диаграмме  
представлены только  
виды со встречаемостью  
выше 10%*

Penicillium brevi-compactum  
Penicillium nigricans  
Rhizopus stolonifer  
Trichoderma koningii  
Penicillium discolor  
Aureobasidium pullulans  
Penicillium melinii  
Penicillium restrictum  
Unknown species  
Penicillium glandicola

# Результаты

## Кладограмма видового сходства



Soil PGA, Soil CZA – микромицеты почвы, выделенные на среды [КГА+СА] и СА, соответственно; Air – микромицеты воздуха; Acer 20, Trif 20 – соответствует *A. platanoides* и *T. pratense* 2020 года

# Выводы

- 1. В филлоплане различных видов растений обыкновенно присутствуют грибы, как в виде спор, так и в виде мицелия.**
- 2. Сажистые грибы формируют довольно сложное сообщество на поверхности листьев липы, где кроме своего рода «средообразующих» грибов могут присутствовать минорные виды дрожжей и мицелиальных грибов.**
- 3. Такие порядки, как Eurotiales, Pleosporales, Нурocreales и Cladosporiales являются наиболее представленными в филлоплане различных растений.**
- 4. Преобладают среди эпифитов такие темноспоровые виды как *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides* и *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, а также яркоокрашенные дрожжи (*Rhodotorula* sp.).**

# Выводы

- 5. Увеличение числа отпечатков одного листа позволяет более полно выявить видовое богатство эпифитных грибов даже при меньшей выборке растений.**
- 6. Видовой состав выявляемой микобиоты зависит от вида исследуемого растения и времени исследования.**
- 7. Видовой состав выявляемых микромицетов филлопланы близок к видовому составу микромицетов, выделяемых из воздуха и значительно отличается от видового состава микромицетов почвы.**

50  $\mu$ m

Спасибо за  
внимание!