

УДК 582.28

ГРИБЫ ФИЛЛОПЛАНЫ В ГОРОДСКОЙ СРЕДЕ**М.С. Зеленская¹, М.В. Сидельникова², Е.Г. Панова¹,****А.А. Паутов¹, Е.Г. Крылова¹, Я.О. Пагода¹, Д.Ю. Власов^{1, 3}**¹ Санкт-Петербургский государственный университет, ² Санкт-Петербургский государственный аграрный университет и ³ Ботанический институт РАН, Санкт-Петербург, РоссияЭл. почта: marsz@yandex.ru, kapa0505@mail.ru, elena-geo@list.ru, a.pautov@spbu.ru,
egkrilova@yandex.ru, ianinapagoda@gmail.com, dmitry.vlasov@mail.ru

Статья поступила в редакцию 28.04.2017; принята к печати 05.06.2017

Изучен состав микроскопических грибов на поверхности листьев древесных и кустарниковых растений в центре и пригородах Санкт-Петербурга. Выявлено 30 видов грибов и стерильные формы светлого и темного мицелия. Показано, что на листьях постоянно обитают микромицеты, формирующие сообщества определенной структуры. Основу таких сообществ составляют темноокрашенные анаморфные микроскопические грибы всего нескольких видов. Они формируют гифы и микроколонии, распределение которых может быть связано со структурными особенностями листьев. Микромицеты филлопланы проявляют антагонистические отношения с возбудителями мучнистой росы, которые также развиваются на поверхности листьев. Состав микобиоты филлопланы зависит как от территориального расположения насаждений, так и от состава растений. Показано, что филлофильные биопленки ассоциируются с пылевыми частицами различной формы и размеров, что приводит к формированию органо-минеральных наслоений на поверхности листьев. В формирующихся биокосных системах могут развиваться процессы кристаллизации и минералообразования. В целом, особенности формирования микобиоты филлопланы во многом определяются экологической ситуацией на конкретных территориях.

Ключевые слова: микромицеты, городская среда, поверхность листьев, деревья и кустарники, биокосные взаимодействия, антропогенное влияние.

PHYLLOPLANE FUNGI IN THE URBAN ENVIRONMENT**M.S. Zelenskaya¹, M.V. Sidelnikova², Ye.G. Panova¹, A.A. Pautov¹, Ye.G. Krylova¹,
Ya.O. Pagoda¹, D.Yu. Vlasov^{1, 3}**¹ Saint-Petersburg State University, ² Saint-Petersburg State Agrarian University, and ³ Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, RussiaE-mail: marsz@yandex.ru, kapa0505@mail.ru, elena-geo@list.ru, a.pautov@spbu.ru,
egkrilova@yandex.ru, ianinapagoda@gmail.com, dmitry.vlasov@mail.ru

The species composition of microscopic fungi (micromycetes) on the foliage surface of wood and shrub plants in the center and suburbs of Saint Petersburg was studied. Thirty species of fungi and the sterile forms of light and dark mycelium were detected. Different micromycetes permanently inhabit plant foliage and form communities having characteristic structures. The basis of these communities is constituted by dark-colored anamorphic microscopic fungi referred to a few species. They form hyphae and microcolonies, the distribution of which may be related to the structural features of foliage. Micromycetes of phylloplane fungi show antagonistic relationships with powdery mildew pathogens, which also develop on foliage surfaces. The composition of phylloplane mycobiota depends on the spatial arrangement of plantations as well as on their composition. Phyllophilic biofilms associated with dust particles of various shapes and sizes form organo-mineral layers on foliage surfaces. As a result, fungi are involved in the formation of bio-inert systems and in crystallization and mineral formation. In general, the specific features of phylloplane mycobiota development are largely determined by ecological situations in specific areas.

Keywords: micromycetes, urban environment, leaf surface, trees and shrubs, bio-inert interactions, anthropogenic impact.

ВВЕДЕНИЕ

На листовой пластинке формируются сложные по составу микробные сообщества бактерий, грибов (мицелиальных и дрожжевых) и микроскопических водорослей [11, 17, 36], образующих так называемую филлоплану. К грибам филлопланы относят микромицеты, обитающие на поверхности листьев. Основны-

ми источниками питания для них служат выделения растений, а также вещества, оседающие из атмосферы [25]. Грибы филлопланы подвергаются воздействию абиотических факторов, таких как уровень доступности влаги и питательных веществ, инсоляция, колебания температуры, загрязнение воздушной среды [18, 30]. Формирование сообществ филлопланы связано с физиологическими изменениями, происходящими в

самом растении в процессе онтогенеза или под воздействием на растение патогенных организмов, а также внешних факторов [17]. Грибы филлопланы выделяют в самостоятельную экологическую группу. Они слабо изучены относительно других групп грибов, например патогенных, которые развиваются в тканях листа [1, 2, 11, 32]. По мнению ряда авторов, микромицеты филлопланы не наносят вреда растению [14, 27]. Они обитают преимущественно на верхней поверхности листьев, хотя иногда способны развиваться и на нижней стороне листовой пластинки [35].

Сравнительно недавно грибы филлопланы рассматривали в составе сборного вида *Fumago vagans* (сажистый грибок или чернь). Описания, представленные в различных определителях, свидетельствовали о размытых таксономических признаках данного вида, которые скорее подходили сразу к нескольким видам грибов, а наиболее близки были к грибам рода *Cladosporium* [8]. Однако исследователи этой группы пришли к пониманию того, что грибы филлопланы представляют собой сложный комплекс видов, присутствие которых обусловлено совокупностью экологических факторов, трофических особенностей микромицетов, а также их взаимодействиями в филлофильном сообществе. Вместе с тем, все еще можно встретить упоминание названия *Fumago vagans* для темноокрашенных грибов, обнаруженных на поверхности органов растений [6].

В ряде работ рассмотрено видовое разнообразие грибов филлопланы, их роль в жизни растений, динамика и структура микробных сообществ на поверхности листа. Наиболее распространенными обитателями филлопланы считаются следующие грибы: *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Gliocladium viridae*, *Mucor racemosus*, *Penicillium chrysogenum*. Эти микромицеты встречаются на поверхности листьев большого числа видов растений по всему миру [11, 17, 22, 25]. Роль грибов филлопланы в жизни растений весьма существенна. Они могут защищать растения от вредных организмов, а также участвовать в разложении листьев после их опадения [32]. Некоторые из них способны к лизису компонентов целлюлозы и играют важную роль в деградации тканей растений [11].

Формируя спороношение на поверхности листьев, микромицеты филлопланы могут существенно увеличивать содержание спор в окружающей воздушной среде [30]. Дождь является самым важным фактором диссеминации спор грибов, обитающих на поверхности листьев [29, 30]. Однако известно, что в мангровых лесах распространение спор происходит преимущественно с помощью ветра, а дождь и высокая влажность могут наоборот затормозить расселение грибов [28].

Сравнительные исследования состава грибов филлопланы и окружающего воздуха были проведены на примере древесных пород *Ulmus americana* и *Quercus*

palustris [30]. В пробах с поверхности листьев и из воздушной среды были обнаружены виды родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pithomyces*. Полученные данные свидетельствуют о том, что в воздухе находится большое количество пропагул грибов, которые обычно попадают на поверхность листа случайно. Адгезия спор при взаимодействии с наружной кутикулой листовой пластинки происходит с помощью химических механизмов, а также зависит от морфологических особенностей взаимодействующих организмов [12]. Дальнейшее развитие мицелия зависит от свойств гриба, а также условий, складывающихся в конкретном местообитании. Поверхность листа содержит вещества, стимулирующие или ингибирующие прорастания спор, рост мицелия и последовательную биологическую колонизацию [17]. По некоторым данным, микромицеты филлопланы способны успешно конкурировать за питательные вещества с фитопатогенами и подавлять их, секретировав антибиотики и токсины [16]. Микромицеты филлопланы риса, хлопка, цитрусовых и других растений проявляют антагонистическую активность по отношению к патогенным организмам и предотвращают заражение растений ими [17, 33, 37–39].

У грибов, обитающих на поверхности листьев растений, наблюдаются разные пики разнообразия в течение года, что в первую очередь связано с сезонными изменениями климата, а также доступностью органических веществ [11, 14, 32, 40]. Явления смены видового состава грибов филлопланы в течение года (сезонные сукцессии) изучены в разных экологических условиях [17, 19, 36]. Например, число видов и интенсивность колонизации листьев грибами в дождливый период обычно выше, так как дожди и высокая влажность являются факторами успешного прорастания спор грибов. Встречаются виды микромицетов, присутствие которых стабильно в течение всего года. Например, *Alternaria alternata* является постоянно встречающимся грибом в филлоплане *Jartropa curcas* или на поверхности листьев *Ricinus communis* [15, 17, 40]. Есть виды грибов филлопланы, характерные для определенных природных зон. К примеру, *Cladosporium oxyporum* является общим видом для растений тропического пояса. Кроме поверхности листа он развивается на мертвых частях листьев и стволах травянистых и древесных растений [20, 21, 28]. В филлоплане растений умеренного климата чаще других встречается *Cladosporium cladosporioides* [28].

В целом, исследования грибов филлопланы в большей степени затрагивали растения, произрастающие в тропическом климате в естественных биоценозах [12, 13, 18, 26, 28, 34]. Вместе с тем, интерес вызывают микромицеты данной группы в городской среде. Исследования, проведенные в нескольких городах Рос-

сии с умеренным климатом, показали, что в них формируется особый состав аэромикоты (значительную долю составляют условно патогенные грибы), что в свою очередь может быть связано с составом грибов филлопланы [1, 3–5, 7]. Динамика микобиоты филлопланы липы и клена изучалась в Самаре, где было показано, что 13% выявленных видов являются доказанными аллергенами, а 75% – условными патогенами человека [7].

В воздушной среде городов содержится большое количество пыли, которая оседает на поверхности листьев деревьев. Частицы пыли могут иметь как природное, так и техногенное происхождение. Источником частиц природного происхождения являются продукты выветривания облицовочного камня и архитектурных построек, а также почвы. Техногенные частицы поступают в атмосферу преимущественно в виде выбросов предприятий и автомобильного транспорта. В состав пыли (пепла и сажи) входят токсичные элементы, такие как свинец, олово, хром, кобальт, никель, стронций, бериллий, ниобий, вольфрам, молибден, цинк, марганец и медь. Суммарные выбросы в атмосферу из постоянных и точечных источников в Санкт-Петербурге составили в 2012 г. – 492,3 т, включая твердые примеси – 2,9 т, SO_2 – 7,6 т, CO – 358 т, NO_x – 65,7 т, CH_x – 10,6 т¹. Установлено, что в воздухе присутствуют микроколичества меди, цинка, титана, сурьмы, бериллия, висмута, хрома, кобальта, цезия, лития, магния, никеля, рубидия, селена, стронция, и ванадия, которые относятся к токсикантам первой и второй групп опасности. Химические элементы в воздухе могут вступать в реакции с другими загрязнителями в результате фотохимических процессов [10, 23, 31]. Кроме того, в атмосферном воздухе всегда присутствует органический материал. К органическим загрязнителям воздушной среды относятся частицы растительного и животного происхождения (древесины, шерсти, волос и др.), а также химического (частицы пластмасс, химических волокон и др.). К органическим компонентам пыли можно отнести и микроорганизмы (бактерии, микроскопические грибы и водоросли), которые адсорбируются на пылевых частицах и переносятся воздушными потоками вместе с ними.

Состав пыли может оказывать влияние на формирование микобиоты филлопланы и сами растения. Очевидно, что при оседании твердых частиц на поверхность листьев они могут взаимодействовать не прямо с покровами листа, а с микробными сообществами филлопланы, которые часто плотно покрывают листовую пластинку. Осаждение пылевых частиц

способно приводить к формированию органоминеральных пленок (наслоений) на поверхности листьев. Далеко не ясно, как эти процессы могут сказаться на растении в целом.

Для оценки возможного антропогенного влияния на формирование микобиоты филлопланы особый интерес могут представлять сравнительные исследования в тех районах мегаполиса, которые различаются по уровню антропогенной нагрузки на экосистемы. К таким мегаполисам можно отнести Санкт-Петербург с окружающими его историческими парками. Стоит отметить, что микобиота древесных и кустарниковых растений в Санкт-Петербурге и пригородах изучается давно, однако целенаправленные исследования грибов филлопланы до последнего времени практически не проводились.

В настоящей работе представлены результаты сравнительных исследований микобиоты филлопланы в районах Санкт-Петербурга, различающихся по степени антропогенной нагрузки (центр города и пригородная парковая зона) и охарактеризованы особенности колонизации грибами поверхности листьев некоторых деревьев и кустарников в городской среде.

Объекты и методы исследования

Сбор материала проводили в летне-осенние периоды 2015–2016 гг. в различных районах Санкт-Петербурга и пригородов. В историческом центре были выбраны два участка: парк Обуховской больницы (Адмиралтейский район) и Летний сад (Центральный район). В пригородах пробы отбирали в парках, расположенных к югу и юго-западу от Санкт-Петербурга: Павловском и Екатерининском (Пушкинский район); Петергофском и Ораниенбаумском (Петродворцовый район). Обследование осуществлялось маршрутным методом вдоль аллей и дорожек. При отборе проб отмечали особенности произрастания растений и тип посадки (шпалера, одиночные деревья или кустарники и др.).

Материалом служили живые листья с поверхностным налетом, характерным для грибов филлопланы. Такой налет обычно имеет черный цвет. В качестве объектов исследования выбраны древесные и кустарниковые растения, произрастающие в центре города и пригородах (липа, дуб, карагана и сирень). Всего были отобраны и изучены 64 пробы листьев, каждая из которых была взята не менее чем в трехкратной повторности.

Первичный анализ образцов и световая микроскопия

Первичный анализ образцов включал фотофиксацию, бинокулярное исследование (в диапазонах увеличений от $\times 10$ до $\times 200$), составление описаний. Поверхность листовой пластины исследовали с по-

¹ Доклад об экологической ситуации в Санкт-Петербурге в 2012 году (<http://www.nacc.spb.ru/files/static-writable-ckeditor-uploads-2013-06-19-dok2012.pdf>); Защита строительных конструкций, зданий и сооружений от агрессивных химических и биологических воздействий окружающей среды (<https://gov.spb.ru/static/css/docs/1281426847.pdf>).

мощью бинокулярного стереомикроскопа Leica с фотонасадкой. Обращали внимание на структуру поверхности листа, наличие особенностей покровов, которые могли бы влиять на распределение грибов филлопланы, а также предварительно оценивали интенсивность поверхностного налета и наличие в нем частиц пыли. Обследовали как верхнюю, так и нижнюю поверхность листьев. Увеличения, получаемые при использовании обычного бинокля, позволяют определять характер колонизации грибами листовой пластинки, а также фиксировать наличие загрязнений на поверхности листа. Для детального исследования вырезали кусочки листа размером 0,5–1,0 на 0,5–1,0 см, которые в дальнейшем исследовали с использованием сканирующего электронного микроскопа, а также методом конфокальной микроскопии.

Выделение в культуру грибов с поверхности листьев проводилось несколькими способами.

1. Часть проб составили отпечатки с поверхности листьев на питательную среду Чапека-Докса, полученные с использованием стерильных бакпечаток однократного применения. Появившиеся колонии микромицетов пересевали на среду Чапека-Докса в чашки Петри диаметром 90 мм для дальнейшего определения.

2. Метод смыва с поверхности листа, с последующим посевом суспензии на среду Чапека-Докса.

3. Посев мазком с поверхности листа на питательную среду (стерильным ватным тампоном).

Сочетание различных методов изоляции микромицетов позволяет получить наиболее полную и объективную картину видового разнообразия грибов филлопланы, а также их встречаемости в пробах.

Для первичной изоляции, поддержания в культуре и идентификации микромицетов использовали среду Чапека-Докса. Получаемые культуры инкубировали в термостате при температуре +25 °С до получения спороншения, после чего проводилось изучение колоний с использованием световой микроскопии. Видовую принадлежность большинства полученных изолятов определяли при наличии выраженного спороншения с использованием отечественных и зарубежных определителей. Микроскопию препаратов мицелия и спор осуществляли с помощью лабораторного микроскопа Leica DM 500.

Верификацию видов в соответствии с современной номенклатурой проводили с использованием электронной базы данных Index fungorum (<http://www.indexfungorum.org/NAMES/NAMES.asp>).

Конфокальная микроскопия

Съемку проводили на лазерном конфокальном микроскопе Leica TCS SPE в Ресурсном центре микроскопии и микроанализа СПбГУ. В качестве источника

света на данном микроскопе служат лазеры, обладающие высокой интенсивностью и монохроматичностью излучения. В систему входят четыре твердотельных лазера с длиной волны 405, 488, 532 и 635 нм. Благодаря возможностям данного метода мы планировали оценить распределение грибов на поверхности листовой пластинки (без приготовления специальных препаратов), обратив особое внимание на послойное расположение структур микромицетов в филлофильном сообществе.

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

В целях изучения особенностей развития и взаимодействия грибов на поверхности листовой пластинки (дуба, липы, караганы, сирени) использовали метод сканирующей электронной микроскопии. Образцы листьев деревьев и кустарников (размером 1×1 см) с поверхностным налетом, предварительно отобранные при бинокулярном исследовании, подготавливали для микроскопии по следующей методике:

- фиксация образцов 4% глутаральдегидом в 0,1 М фосфатном буферном растворе в течение 2 часов;
- отмывание после фиксации в 0,1 М буферном растворе в течение 1,5 часа;
- обезвоживание с помощью проводки по этаноловой серии;
- высушивание до критической точки;
- монтаж образцов на столиках для сканирующего электронного микроскопа при помощи углеродного скотча;
- напыление золотом поверхности образцов (слой напыления проводящего покрытия 20 нм).

Образцы просматривали в сканирующем электронном микроскопе Tescan MIRA3 LMU с приставкой для энергодисперсионного микроанализа в ресурсном центре «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ. Использование данной приставки позволяет осуществлять точечный элементный анализ поверхностных загрязнений (пылевых частиц), оседающих на поверхности листа.

Статистическая обработка данных проводилась в программе Statistica 10. Для сравнения сообществ грибов филлопланы на разных породах и в разных районах города использовали метод главных компонент.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований на поверхности листьев деревьев и кустарников в Санкт-Петербурге и пригородах выявлено 30 видов микромицетов из 19 родов, а также отмечены стерильные формы светлого и темного мицелия (табл. 1). Встреченные на поверхности листьев паразитические микромицеты (например, мучнисто-росяные и ржавчинные грибы) не учитывались. Абсолютным доминантом на

Виды микромицетов, выявленные в филоплане деревьев и кустарников в центре города и пригородных парках Санкт-Петербурга (2015–2016 гг.)

Вид микромицетов	Встречаемость (%)	Группа патогенности *	Условно-патогенные грибы**
1. <i>Acremonium</i> sp.	12,5	IV (род)	+ (род)
2. <i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	87,5	IV (род)	+
3. <i>Arthrobotrys oligospora</i> Fresen.	1,5	–	–
4. <i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud	100	IV	+
5. <i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	60,9	–	+
6. <i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link	37,5	–	+
7. <i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz.	9,3	–	+
8. <i>Coniosporium</i> sp.	25,0	–	–
9. <i>Epicoccum nigrum</i> Link	7,8	–	+
10. <i>Fusarium chlamydosporum</i> Wollenw. & Reinking	3,1	IV (род)	+
11. <i>Fusarium oxysporum</i> Schltld.	10,9	IV (род)	+
12. <i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	6,2	IV (род)	+
13. <i>Fusarium</i> sp.	4,6	IV (род)	–
14. <i>Mortierella lignicola</i> (G.W. Martin) W. Gams & R. Moreau	1,5	–	+ (род)
15. <i>Mucor racemosus</i> Fresen.	3,1	IV (род)	+
16. <i>Paecilomyces divaricatus</i> (Thom) Samson, Houbraken & Frisvad	15,6	IV (род)	+
17. <i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx	1,5	IV (род)	–
18. <i>Penicillium dipodomyis</i> (Frisvad, Filt. & Wicklow) Banke, Frisvad & S. Rosend.	1,5	IV (род)	+
19. <i>Penicillium citrinum</i> Thom	3,1	IV (род)	+
20. <i>Penicillium commune</i> Thom	1,5	IV (род)	–
21. <i>Penicillium decumbens</i> Thom	14,1	IV (род)	–
22. <i>Penicillium expansum</i> Link	4,6	IV (род)	–
23. <i>Penicillium herquei</i> Bainier & Sartory	6,2	IV (род)	–
24. <i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones & Samson	1,5	IV (род)	+
25. <i>Phoma</i> sp.	1,5	IV (род)	+(род)
26. <i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.	1,5	IV (род)	+(род)
27. <i>Scytalidium lignicola</i> Pesante	3,1	–	–
28. <i>Sydowia polyspora</i> (Bref. & Tavel) E. Müll.	65,6	–	+
29. <i>Trimmatostroma</i> sp.	3,1	–	–
30. <i>Ulocladium chartarum</i> (Preuss) E.G. Simmons	15,6	IV (род)	+(род)
31. Неспороносящий светлоокрашенный гриб	67,2	–	–
32. Неспороносящий темноокрашенный гриб	18,7	–	–

Примечания.

* Группа патогенности приведена по СП 1.3.2322-08¹.

** Условная патогенность по [11, 27]. (+) – отмечен как условный патоген; (–) – патогенные свойства неизвестны.

¹ Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08. Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителей паразитарных болезней.

листьях всех изученных растений в разных местообитаниях является *Aureobasidium pullulans*. Этот гриб был отмечен во всех изученных пробах. К числу часто встречающихся видов можно отнести *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Sydowia polyspora*. Кроме того, высокой встречаемостью характеризовались изоляты стерильного светлоокрашенного мицелия. Перечисленные виды формируют ядро микобиоты филлопланы обследованных территорий. Оно мало меняется в зависимости от местообитания, породы дерева или кустарника. Доминирующим по видовому разнообразию оказался род *Penicillium* (6 видов), за которым следуют род *Fusarium* (4 вида) и род *Cladosporium* (3 вида). При этом встречаемость представителей рода *Cladosporium* оказалась несопоставимо выше, чем для других

родов. Больше трети выявленных видов составили темноокрашенные микромицеты.

Данные табл. 1 свидетельствуют о том, что среди микромицетов, выявленных в филлоплане деревьев и кустарников, большую часть составляют условные патогены человека по СП 1.3.2322-08². При этом все они отнесены к организмам IV группы патогенности (на уровне рода, за исключением *Aureobasidium pullulans*). Ряд видов, не вошедших в число условных патогенов по СП 1.3.2322-08, отнесены к этой группе другими авторами [11, 27].

Наибольшее разнообразие грибов филлопланы зафиксировано в Павловском парке, за которым следуют Летний сад и Екатерининский парк. Наименее богатой оказалась микобиота филлопланы парка Ораниенбаум.

Табл. 2

Факторная структура состава грибов филлопланы изученных локалитетов

Вид микромицетов	Factor 1	Factor 2	Factor 3
<i>Acremonium</i> sp.	-145	-901	213
<i>Arthrotrys oligospora</i>	145	901	-213
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	516	390	023
<i>Epicoccum nigrum</i>	820	-384	417
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	-679	-457	-338
<i>Fusarium oxysporum</i>	882	309	234
<i>Fusarium solani</i>	820	-384	417
<i>Fusarium</i> sp.	220	-632	-322
<i>Mortierella lignicola</i>	243	-076	911
<i>Mucor racemosus</i>	-216	-369	702
<i>Paecilomyces divaricatus</i>	324	-163	-114
<i>Penicillium brevicompactum</i>	-343	-189	-405
<i>Penicillium citrinum</i>	357	-473	-624
<i>Penicillium commune</i>	794	-410	-384
<i>Penicillium decumbens</i>	516	390	023
<i>Penicillium dipodomys</i>	794	-410	-384
<i>Penicillium expansum</i>	-048	-737	-605
<i>Penicillium herquei</i>	-743	-389	472
<i>Phoma</i> sp.	794	-410	-384
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	-343	-189	-405
<i>Rhizopus stolonifer</i>	145	901	-213
<i>Scytalidium lignicola</i>	743	389	-472
<i>Trimmatostroma</i> sp.	820	-384	417
<i>Ulocladium chartarum</i>	-243	076	-911
Неспороносящий темноокрашенный гриб	664	179	-072
FD, %	31,9	22,9	22

Примечание. Здесь и в табл. 3 CD – суммарная факторная дисперсия. Ноль и точка перед десятичными разрядами коэффициентов корреляции опущены. Жирным шрифтом выделены связи $|r| > 0,7$.

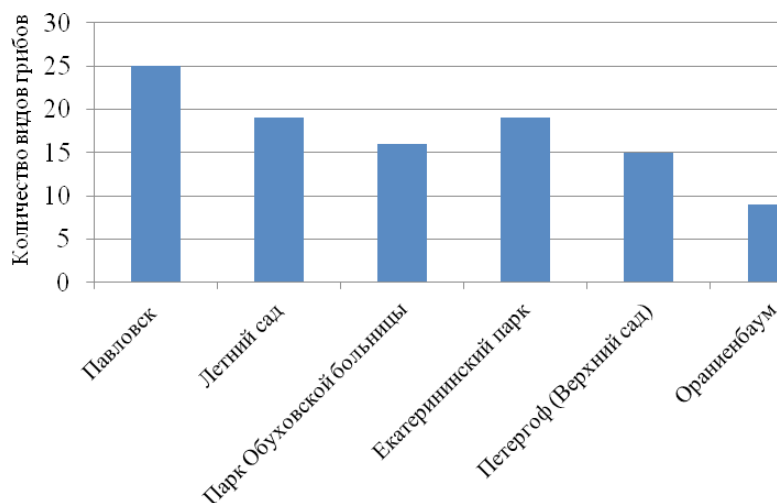


Рис. 1. Видовое разнообразие микромицетов филлопланы садов и парков Санкт-Петербурга (стерильные формы светлого и темного мицелия учтены как отдельные виды)

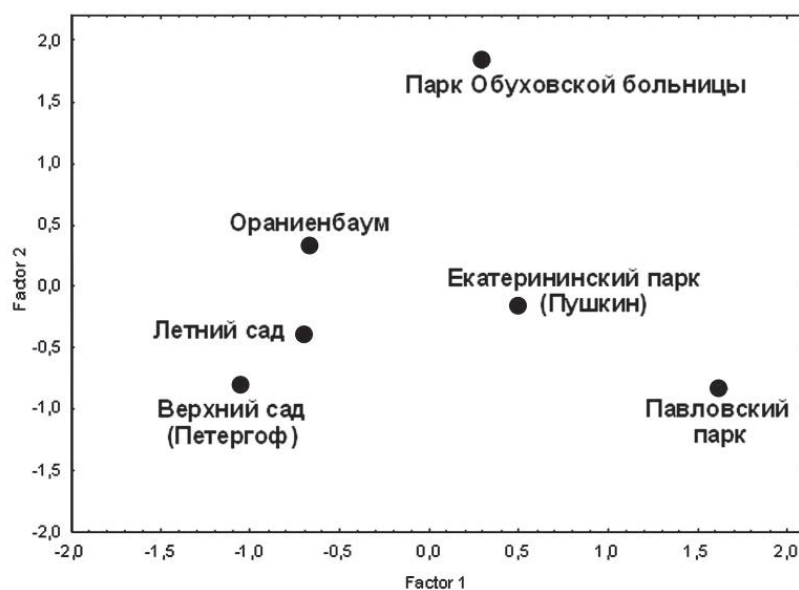


Рис. 2. Распределение парков по наличию в филлоплане древесных растений микромицетов первой (Factor 1) и второй (Factor 2) групп

Сопоставление микобиоты филлопланы изученных парков проведено с использованием компонентного анализа. Из него были исключены виды грибов, встречающиеся на всех обследованных территориях. Анализ позволил выявить три группы микромицетов (табл. 2). В состав первой из них на уровне $|r| > 0,7$ вошли *Epicoccum nigrum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Penicillium commune*, *P. dipodomyis*, *P. herquei*, *Phoma* sp., *Scytalidium lignicola*, *Trimmatostroma* sp. (табл. 2, Factor 1). Вторая группа включает на обозначенном уровне связи *Acremonium* sp., *Arthrobotrys oligospora*, *Penicillium expansum*, *Rhizopus stolonifer* (табл. 2, Factor 2), третья – *Mortierella lignicola*, *Mucor racemosus* и *Ulocladium chartarum* (табл. 2, Factor 3).

Распределение парков в пространстве первых двух факторов представлено на рис. 2. По наличию в составе сообществ филлопланы микромицетов первой группы наиболее сильно различаются, с одной стороны, Павловский парк, с другой – Верхний сад (Петергоф) и в несколько меньшей степени – парк Ораниенбаума и Летний сад. В составе сообществ филлоплан древесных растений Павловского парка присутствуют *Epicoccum nigrum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Penicillium commune*, *P. dipodomyis*, *Phoma* sp., *Scytalidium lignicola*, *Trimmatostroma* sp. Они не встречены на листьях растений Верхнего сада в Петергофе, парка Ораниенбаума и Летнего сада.

По второй группе микромицетов наиболее сильно различаются сообщества филопланы парка Обуховской больницы, с одной стороны, Верхнего сада (Петергоф) и Павловского парка – с другой. Для парка Обуховской больницы характерны, в частности, *Arthrotrrys oligospora* и *Rhizopus stolonifer*, и, напротив, не свойственны *Acremonium* sp. и *Penicillium expansum*.

Обращает на себя внимание определенное сходство сообществ филопланы в локалитетах, расположенных относительно недалеко друг от друга (Павловского и Екатерининского парков, а также парка Ораниенбаума и парка Петергофа). При этом можно отметить своеобразие сообществ филопланы удаленного от них парка Обуховской больницы. Исключение составляет сообщество филопланы Летнего сада, демонстрирующее близость с филофильными сообществами Петергофа и Ораниенбаума. Отличие между ними, в основном, по третьей группе микромицетов.

Сравнение сообществ грибов филопланы на разных породах деревьев и кустарников показало, что наибольшее количество видов микромицетов зафиксировано на листьях липы (рис. 3), где часто отмечался плотный темный поверхностный налет, который в ряде случаев практически полностью покрывал листовую пластинку.

Сопоставление микобиоты филопланы изученных деревьев и кустарников с использованием компонентного анализа позволило выявить три группы микромицетов. В состав первой из них на уровне $|r| > 0,7$ входят *Acremonium* sp., *Epicoccum nigrum*, *Fusarium* sp., *Penicillium expansum*, *Trimmatostroma* sp. (табл. 3, Factor 1), второй – *Arthrotrrys oligospora*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium brevicompactum*, *P. citrinum*, *Purpureocillium lilacinum*, *Rhizopus stolonifer* (табл. 3, Factor 2), третьей – *Fusarium chlamydosporum* (табл. 3, Factor 3). Результаты сопоставления сообществ грибов филопланы деревьев и кустарников показаны на рис. 4.

Табл. 3

Факторная структура сообществ грибов филопланы на древесных и кустарниковых растениях изученных локалитетов

Виды микромицетов	Factor 1	Factor 2	Factor 3
<i>Acremonium</i> sp.	775	-172	-063
<i>Arthrotrrys oligospora</i>	635	755	-154
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	-003	-897	-441
<i>Epicoccum nigrum</i>	-962	-061	-252
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	-446	-342	-819
<i>Fusarium solani</i>	-543	680	-463
<i>Fusarium</i> sp.	962	061	252
<i>Mortierella lignicola</i>	543	-680	463
<i>Mucor racemosus</i>	-318	-133	-617
<i>Paecilomyces divaricatus</i>	631	-344	-694
<i>Penicillium brevicompactum</i>	635	755	-154
<i>Penicillium citrinum</i>	003	897	441
<i>Penicillium commune</i>	543	-680	463
<i>Penicillium dipodomyis</i>	543	-680	463
<i>Penicillium expansum</i>	775	-172	-063
<i>Penicillium herquei</i>	631	-344	-694
<i>Phoma</i> sp.	-228	-286	-386
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	635	755	-154
<i>Rhizopus stolonifer</i>	635	755	-154
<i>Scytalidium lignicola</i>	258	508	-630
<i>Trimmatostroma</i> sp.	-702	048	252
Неспороносящий темноокрашенный гриб	631	-344	-694
FD, %	36,1	30,2	20,8

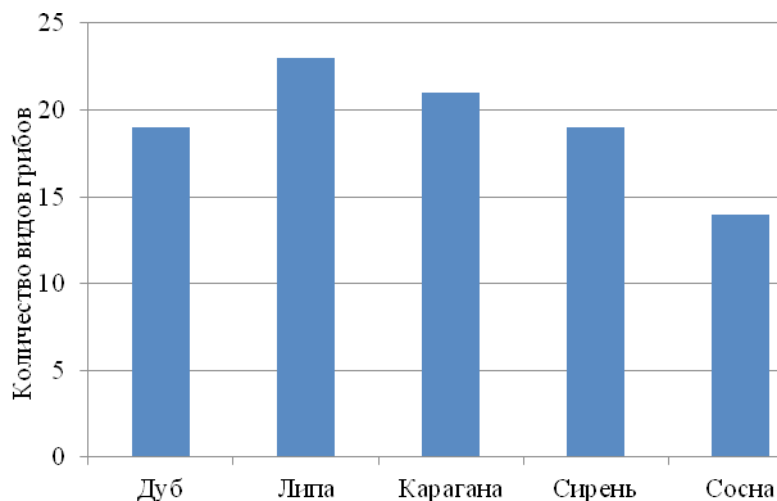


Рис. 3. Видовое разнообразие микромицетов в филлоплане различных деревьев и кустарников (стерильные формы светлого и темного мицелия учтены как отдельные виды)

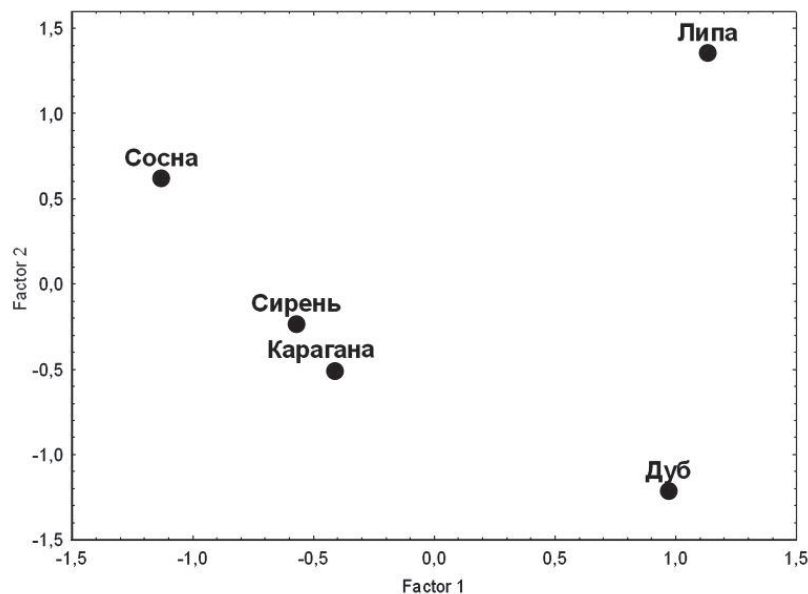


Рис. 4. Распределение древесных растений по наличию в их филлопланах микромицетов первой (Factor 1) и второй (Factor 2) групп

По наличию в филлоплане микромицетов первой группы резко различаются между собой сосна и липа с дубом. Для филлопланы широколиственных деревьев типичны *Acremonium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium expansum*, которых нет в филлоплане сосны. В свою очередь, на поверхности хвои обитают *Episcoccum nigrum* и *Trimmatostroma* sp., отсутствующие на листьях дуба и липы. Отметим сходство по первой группе микромицетов филлопланы сирени и караганы, а также липы и дуба. Два последних вида различаются по второй группе микромицетов (рис. 4).

Результаты компонентного анализа в целом свидетельствуют о том, что состав сообществ микромицетов филлопланы зависит как от территориального расположения парков, так и от состава их зеленых насаждений. Главная особенность микобиоты филлопланы состоит в выделении четко обособленного ядра доминирующих видов. В его составе есть абсолютный доминант – *Aureobasidium pullulans*, который был встречен во всех изученных пробах, а также три вида, встречаемость которых превысила 60% (*Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Sydowia*

polyspora). При этом большую часть всего видового списка составили виды, для которых встречаемость не превышала 10%. Все виды-доминанты принадлежали к темноокрашенным анаморфным грибам, обладающим высокой устойчивостью к неблагоприятным внешним воздействиям.

В ходе наблюдений за развитием сообществ филопланы нами выявлены определенные тенденции, характеризующие локализацию колоний грибов на поверхности листа разных растений (рис. 5). Так, на верхней поверхности листьев дуба (Екатерининский парк) колонии рассеяны по всей поверхности листовой пластинки, однако отмечается их концентрация вдоль основных жилок (рис. 5а). Местами такие скопления видны невооруженным глазом, а в их составе,

кроме структур грибов, хорошо заметны многочисленные включения пылевых (минеральных) частиц.

Интересно отметить, что на листьях дуба в Летнем саду на поверхности темного налета был хорошо заметен светлый тонкий мицелий, обильно разрастающийся также вдоль жилок листа (рис. 5б). Сходный тип распределения колоний грибов наблюдается и на листьях липы. Однако на липах развивается более мощный темный мицелий (рис. 5в), тогда как на листьях дуба грибные скопления преимущественно состоят из многочисленных микроколоний. Уместно отметить, что поверхность листьев липы и дуба существенно отличаются (рис. 6). У дуба она гладкая (рис. 6а), тогда как лист липы обладает складчатым микрорельефом поверхности (рис. 6б).

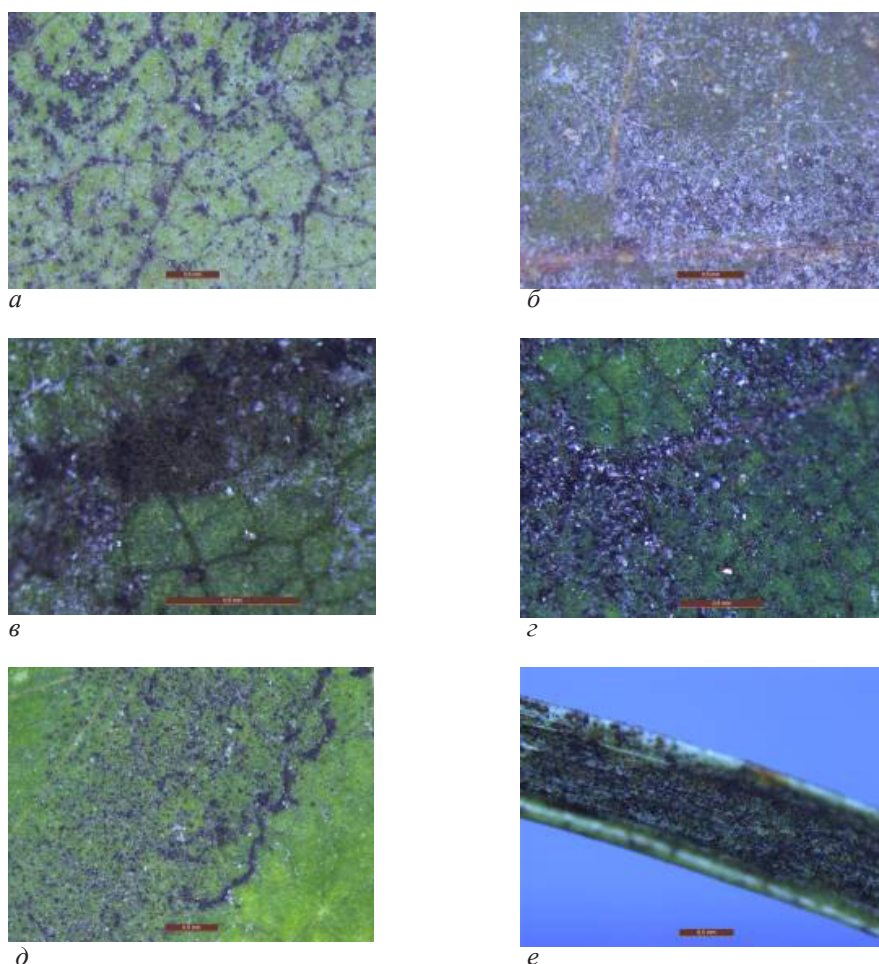


Рис. 5. Локализация грибов на листьях различных видов деревьев и кустарников (световая микроскопия):

а – Екатерининский парк, дуб, приуроченность микроколоний грибов к жилкам листа; б – Летний сад, дуб, светлый стерильный мицелий развивается по поверхности черного налета грибов; в – Летний сад, липа, разрастания темного мицелия вдоль жилок листа; г – парк Обуховской больницы, липа, скопление пылевых частиц в зоне грибного налета; д – Летний сад, карагана, видна граница роста грибов филопланы; е – Павловский парк, сосна, равномерное распределение колоний грибов на поверхности хвои

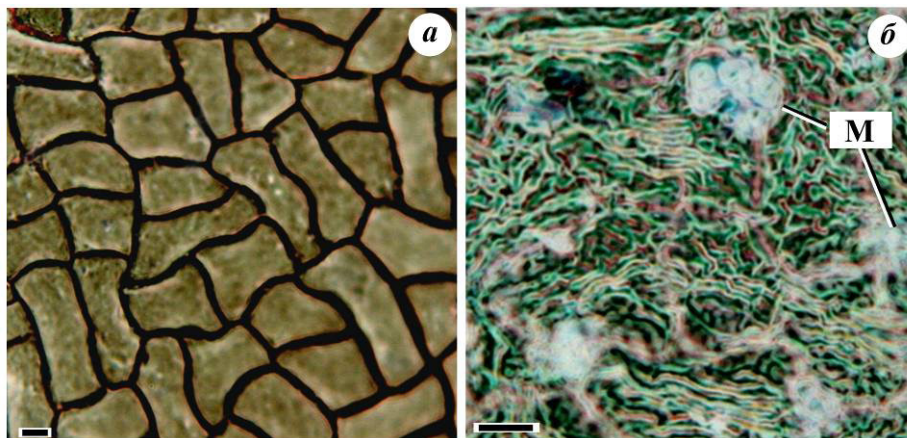


Рис. 6. Микрорельеф поверхности верхней эпидермы листа: а – дуба; б – липы. М – микромицеты. Масштабные линейки: 10 мкм

Применение метода конфокальной микроскопии подтверждает выявленные тенденции распределения микромицетов в филлоплане различных видов древесных и кустарниковых растений (рис. 7). Данный метод оказался весьма эффективным для анализа поверхности листа, колонизированной грибами, так как при нескольких режимах просмотра образцов листьев (при использовании лазера различной длины волны) темноокрашенные грибы сохраняли свой цвет (почти черный), тогда как ткани растения существенно изменяли свои цветовые характеристики. Вероятно, это обусловлено наличием и особенностями меланиновых пигментов, содержащихся в клеточной стенке темноокрашенных грибов. На полученных снимках хорошо видно, что на листьях караганы распределение грибов практически однородное (рис. 7а), причем заметны не только колонии, но и хорошо развитый темный мицелий. В то же время на листьях липы хорошо видна приуроченность микроколоний грибов к жилкам листа (рис. 7б). Темноокрашенные грибы были выявлены и на нижней стороне листьев липы (рис. 7в). При этом здесь преобладал темноокрашенный мицелий, состоящий из разветвленных гиф, которые формировали плотные сплетения. Интересно отметить, что на листьях дуба, где отмечались клейстотеции мучнисто-росяного гриба *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam., грибы филлопланы развивались достаточно слабо (рис. 7г). Вероятно, это можно объяснить конкурентными взаимоотношениями мучнисто-росяных грибов и эпифитных микромицетов. Подтверждением тому является практически полное отсутствие грибов филлопланы на листьях сирени с развитым налетом мучнисто-росяного гриба *E. syringae* Schwein. и, наоборот, отсутствие возбудителей мучнистой росы на листьях с поверхностным налетом филлофильных грибов.

Применение сканирующей электронной микроскопии позволило получить представление о существовании определенной связи в распределении скоплений пыли и колоний филлофильных грибов (рис. 8). Например, на листьях караганы в Летнем саду отмечаются многочисленные минеральные частицы, ассоциированные со структурами микромицетов (рис. 8а). При этом на срезе листа хорошо видно, что загрязнения образуют своеобразный слой, который покрывает грибную биопленку. На листьях караганы в Екатерининском парке развитие грибов филлопланы приводит к образованию биопленок слоистой структуры (рис. 8б), причем в них хорошо различимы как вегетативные, так и генеративные структуры микромицетов. Пылевые частицы в филлоплане караганы в Екатерининском парке отмечены реже, чем в Летнем саду. На липах в Летнем саду микроколонии грибов филлопланы, которые расположены по жилкам листа, повсеместно ассоциированы с пылевыми частицами (рис. 8в). На срезе листовой пластинки (рис. 8г) хорошо видно, что пылевые частицы могут оказываться под слоем микромицетов. В то же время на поверхности листьев встречаются одиночные короткие гифы (цепочки клеток), которые предположительно принадлежат виду *Aureobasidium pullulans* и также связаны с поверхностными загрязнениями (рис. 8д). Наиболее яркую картину биоминеральных взаимодействий на поверхности листьев липы удалось наблюдать в образцах, отобранных в парке Обуховской больницы (рис. 8е). Многочисленные микроколонии тесно взаимодействуют с минеральными частицами различного размера. При этом отмечено образование игольчатых кристаллов в зоне контакта клеток грибов и пылевых частиц. Вероятно, это связано с процессами кристаллизации минералов под воздействием метаболитов, выделяемых грибами. Подобную картину мы наблюдали на поверхности каменных памятников, покрытых биопленками с доминированием грибов.

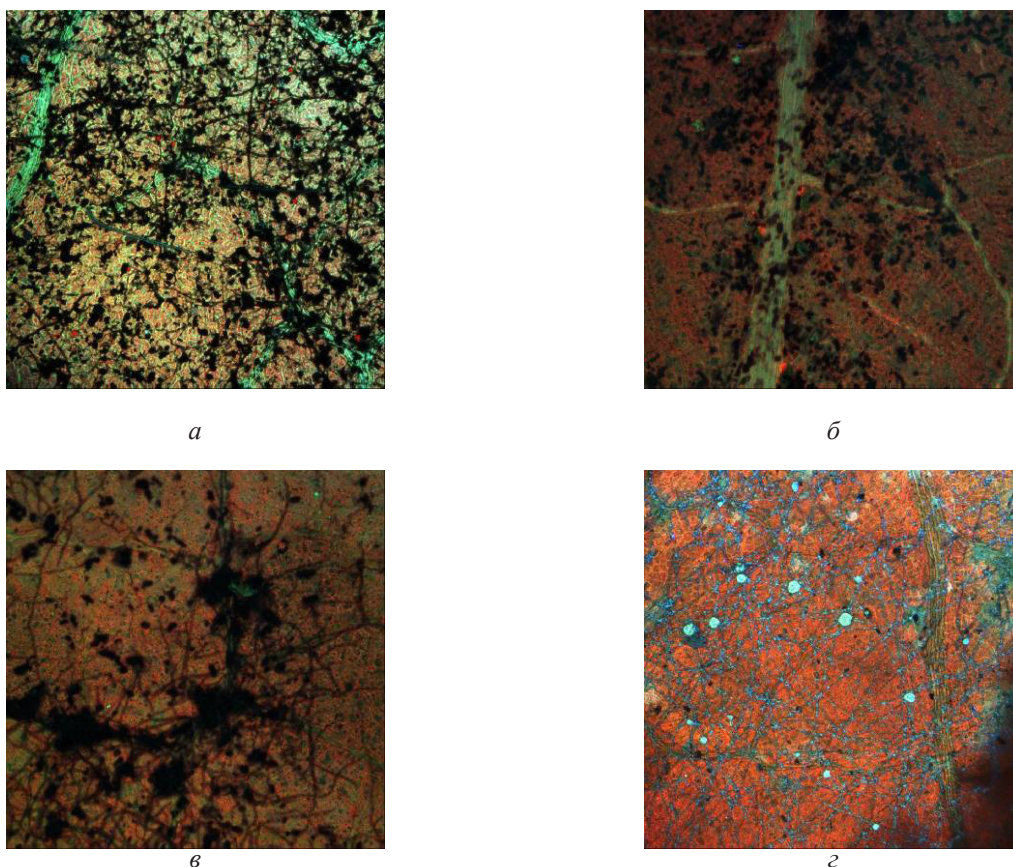


Рис. 7. Поверхность листьев деревьев и кустарников из Летнего сада, колонизированная микромицетами (конфокальная микроскопия):

а – карагана, равномерное распределение грибов на верхней поверхности листа, красные точки соответствуют пылевым включениям; *б* – липа, приуроченность микроколоний грибов к жилкам на верхней стороне листа; *в* – липа, сеть темноокрашенных гиф на нижней поверхности листа; *г* – дуб, клейстотеции (светлого цвета) и мицелий мучнисто-росяного гриба *E. alphitoides* при единичных (точечных) колониях темноокрашенных грибов

Нами отдельно изучена форма пылевых частиц, которые встречаются в центральной части Санкт-Петербурга. Отмечены частицы (зерна) различных очертаний: округлые (рис. 9), треугольные, прямоугольные, волокнистые, зерна неправильной формы. Треугольные зерна составляют 38%, округлые – 30, прямоугольной формы – 28, волокнистые – 2 и неправильной формы – 2%. В целом, следует отметить преобладание зерен остроугольной формы над окатанными частицами, что свидетельствует о значительном вкладе локальных источников пыли по сравнению с аэрозольным переносом издалека.

По минеральному составу в пыли центра Санкт-Петербурга преобладает кварц (до 60%), доля полевых шпатов достигает 35%. Биотит и мусковит составляют около 5%. В единичных случаях были встречены следующие минералы: амфибол, пироксен, кальцит, доломит, корунд, рутил, киноварь, апатит, флюорит, тальк, хлорит, алунит, каолинит и обломки пород.

Установленное распределение минералов, вероятно, определяется использованием гранитов в облицовке зданий центра Санкт-Петербурга. Вместе с тем, в филлоплане часто преобладают техногенные частицы. Именно такую картину мы наблюдали в филлоплане древесных растений в парке Обуховской больницы, где проводился масштабный ремонт, что могло приводить к повышенному содержанию строительной пыли в воздухе и ее оседанию на листьях деревьев.

В целом полученные данные указывают на то, что на поверхности листьев древесных и кустарниковых растений в центре и пригородах Санкт-Петербурга постоянно обитают микромицеты, формирующие сообщества определенной структуры. Основу таких сообществ составляют темноокрашенные анаморфные микроскопические грибы всего нескольких видов. Состав микобиоты филлопланы зависит как от территориального расположения насаждений, так и от особенностей листового аппарата древесных и ку-

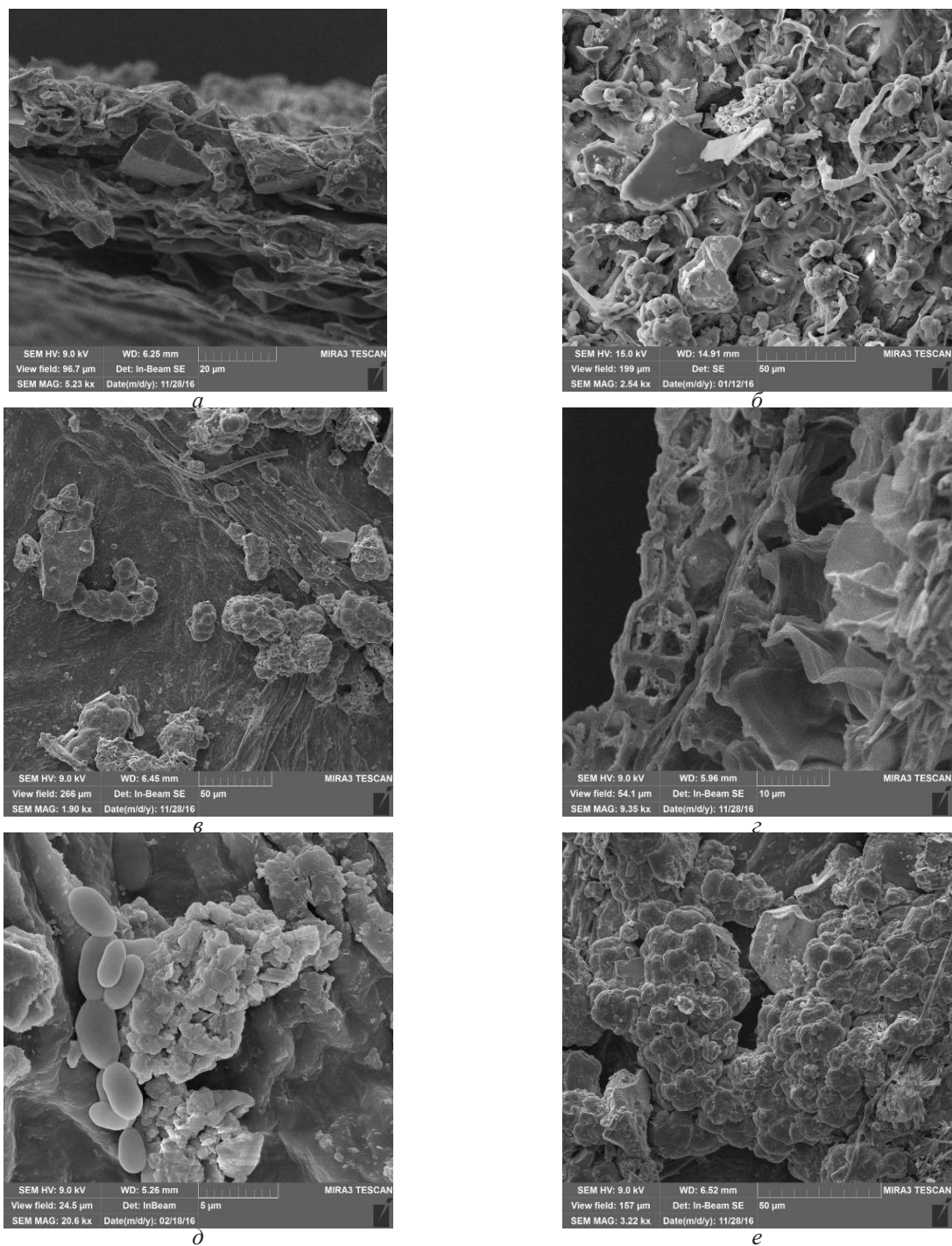


Рис. 8. Особенности развития грибов филлопланы и их связь с пылевыми загрязнениями:
 а – Летний сад, карагана, срез листа, на поверхности которого виден слой грибов и пылевых загрязнений; б – Екатерининский парк, карагана, многослойная биопленка с включениями минеральных частиц; в – Летний сад, липа, грибные микроколони и пылевые частицы вокруг жилок на верхней поверхности листа; г – Летний сад, липа, срез листа, пылевые частицы оказываются под слоем микроколоний; д – Летний сад, липа, растущая грибная гифа и поверхностные загрязнения листа; е – парк Обуховской больницы, липа, многочисленные микроколони грибов нарастают на пылевые частицы, видны мелкие игольчатые кристаллы

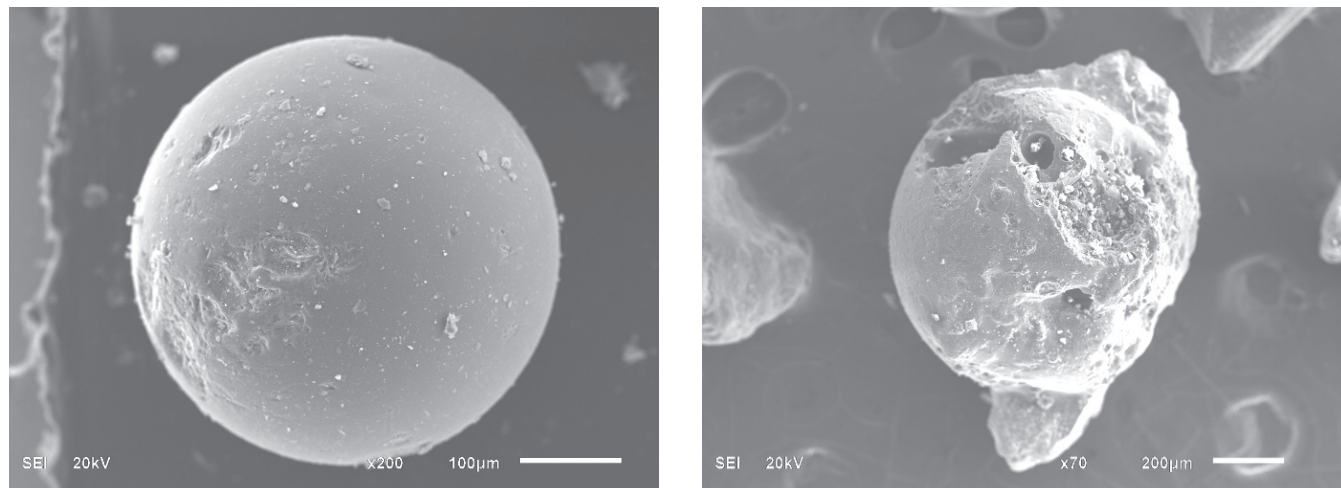


Рис. 9. Округлые пылевые частицы, встречающиеся в воздухе Санкт-Петербурга

старниковых растений. Филлофильные грибы образуют сложную систему колоний и гиф, которые покрывают листовую пластинку. При их обильном развитии появляется характерный поверхностный налет различной плотности (обычно черного цвета). В этом случае они, вероятно, могут оказывать влияние на интенсивность процессов фотосинтеза и транспирации растений. В то же время присутствие грибов филлопланы способно защищать листья от заражения патогенными микромицетами, например, от возбудителей

мучнистой росы. Формирующиеся на листьях биопленки, особенно в зонах повышенного атмосферного загрязнения, ассоциируются с пылевыми частицами, что приводит к формированию органо-минеральных наслоений, в которых развиваются процессы кристаллизации и минералообразования. Таким образом, на поверхности листьев в городской среде могут возникать своеобразные биокосные системы со своими особенностями, которые во многом определяются экологической ситуацией на конкретных территориях.

ЛИТЕРАТУРА

Список русскоязычной литературы

1. Благовещинская ЕЮ. Методы выявления грибов филлопланы. В кн.: Материалы VII всероссийской микологической школы-конференции с международным участием «Биотические связи грибов: мосты между царствами». Москва; 2015. с. 10-8.
2. Воронин ЛВ. Грибы филлопланы *Nuphar lutea* (L.) Smith в малых реках бассейна Рыбинского водохранилища. Ярославский педагогический вестник. 2010;(3):91-5.
3. Марфенина ОЕ, Иванова АЕ, Глушакова АМ, Соина ВС, Шишкова ВА, Бареева ЛФ. Грибные эпифиты древесных растений после «Ледяного дождя». Микология и фитопатология. 2012;46(6):377-84.
4. Марфенина ОЕ, Макарова НВ, Иванова АЕ. Оппортунистические грибы в почвах и приземных слоях воздуха мегаполиса (на примере района Тушино г. Москвы). Микология и фитопатология. 2011;45(5):397-407.
5. Марфенина ОЕ. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех; 2005.
6. Овчаренко НС. Консортивные связи ароматических и лекарственных растений с грибами. Труды Никитского ботанического сада. 2011;133:143-51.
7. Овчинникова ТА, Кремс ЕВ, Корчиков ЕС. Сезонная динамика микобиоты листовой поверхности древесных растений городской среды. Вестник СамГУ. 2013;107(6):188-95.
8. Пидопличко НМ. Грибы-паразиты культурных растений. Определитель. Т. 2. Несовершенные грибы. Киев: Наукова думка; 1977.
9. Саттон Д, Фотергилл А, Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир; 2001.
10. Сверлова ЛИ. Научные основы современного подхода к оценке уровня загрязнения атмосферного воздуха городов. Успехи современного естествознания. 2009;(7):20-32.

Общий список литературы/Reference List

1. Blagoveshchinskaya YeYu. [Methods for detection of phylloplane fungi]. In: Materialy VII Vserossijskoy Mikologicheskoy Shkoly-konferentsii s Mezhdunarodnym Uchastiyem «Bioticheskiye Svyazi Gribov: Mosty Mezhdru Tsarstvami». Moscow; 2015. p. 10-8. (In Russ.)
2. Voronin LV. [Phyloplane fungi *Nuphar lutea* (L.) Smith in minor rivers of Rybinsk water storage basin]. *Yaroslavskiy Pedagogicheskiy Vestnik*. 2010;(3):91-5. (In Russ.)
3. Marfenina OYe, Ivanova AYe, Glushakova AM, Soina VS, Shishkova VA, Bareyeva LF. [Fungal epiphytes of woody plants after ice rain]. *Mikologiya i Fitopatologiya*. 2012;46(6):377-84. (In Russ.)
4. Marfenina OYe, Makarova NV, Ivanova AYe. [Opportunistic fungi in soils and ground air of a megalopolice exemplified with Tushino in Moscow]. *Mikologiya i Fitopatologiya*. 2011;45(5):397-407. (In Russ.)
5. Marfenina OYe. *Antropogennaya Ekologiya Pochvennykh Gribov*. Moscow: Meditsyna dlya Vsekh; 2005. (In Russ.)
6. Ovcharenko NS. [Consortium associations of aromatic and medicinal plants with fungi]. *Trudy Nikitskogo Botanicheskogo Sada*. 2011;133:143-51. (In Russ.)
7. Ovchinnikova TA, Krems YeV, Korchikov YeS. [Seasonal dynamics of mycobiota of the foliage surfaces of woody plants in the urban environment]. *Vestnik Samarskogo Gosudartvennogo Universiteta*. 2013;107(6):188-95. (In Russ.)
8. Pidoplichko NM. *Griby-Parazity Kulturnykh Rasteniy*. Opredelitel. T. 2. Nesovershennye Griby. Kiev: Naukova Dumka; 1977. (In Russ.)
9. Satton D, Fotergill A, Rinaldi M. *Opredelitel Patogennykh i Uslovno Patogennykh Gribov*. Moscow: Mir; 2001. (In Russ.)
10. Sverlova LI. [Scientific basis of modern approaches to estimating urban air pollution]. *Uspekhi Sovremenogo Yestestvoznaniya*. 2009;(7):20-32. (In Russ.)
11. Ajay KS, Aparajita R, Das P. Fungal colonization of phylloplane of *Psidiumguineense* Sw. growing in Suryamaninagar, Tripura, Northeast India. *Int J Basic Applied Chem Sci*. 2013;3(1):62-7.
12. Andrews JH, Buck JW. Adhesion of yeasts to leaf surfaces. In: *Phyllosphere Microbiology*. APS Press: St. Paul; 2002. p. 53-68.
13. Andrews JH, Spear RN, Nordheim EV. Population biology of *Aureobasidium pullulans* on apple leaf surfaces. *Can J Microbiol*. 2002;48:500-13.
14. Bakkar GR, Frampton CM, Jaspers MV, Stewart A, Walter M. Assessment of Phylloplane microorganism populations in Canterbury apple orchards *NZ Plant Protect*. 2002;55:129-34.
15. Blakeman JP. Pathogens in the foliar environment. *Plant Pathol*. 1993;42(4):479-93.
16. Blakeman JP, Fokkema NJ. Potential for biocontrol of plant diseases on the phylloplane. *Annu Rev Phytopathol*. 1982;20:167-92.
17. Borogohain A, Das R, Chutia M. Fungal diversity in phylloplane of castor plant (*Ricinus communis* L.): the primary food plant of Eri Silkworm. *Scholarly J Agricult Sci*. 2014;4(2):82-6.
18. Breeze EM, Dix NJ. Seasonal analysis of the fungal community on *Acer platanoides* leaves. *Trans Br Mycol Soc* 1981;77:321-8.
19. Collado JG, Platas I, Gonzaloz-Pelaez F. *New Phytol*. 1999;144:525-32.
20. Ellis MB. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew, Surrey, UK: Commonwealth Mycological Institute; 1971.
21. Ellis MB. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew, Surrey, UK: Commonwealth Mycological Institute; 1976.
22. El-Said AHM. Phyllosphere and phylloplane fungi of banana cultivated in Upper Egypt and their cellulolytic ability. *Mycobiology*. 2001;29(4):210-7.
23. Fernandez-Camacho R, Rodrigues S. Ultrafine particle and fine trace metal (As, Cd, Cu, Pb and Zn) pollution episodes induced by industrial emissions in Huelva, SW Spain. *Atmospheric Environment*; 2012. p. 1-11.
24. De Hoog GS, Guarro J. *Atlas of Clinical Fungi*. Baarn: CBS; 1995.
25. Inacio J, Pereira P, de Carvalho M, Fonseca A, Amaral-Collaco MT, Spenser-Martins I. Estimation and diversity of phylloplane mycobiota on selected plants in a Mediterranean-type ecosystem in Portugal. *Microb Ecol*. 2002;44:344-53.
26. Kuthubutheen AJ. Leaf surface fungi associated with *Avicennia alba* and *Rhizophora mucronata* in Malaysia. In: *Proc. Asian Symp. on Mangrove Environment, Research and Management*; 1984 25-29 August. Kuala Lumpur; 1984. p. 133-71.
27. Langvad F. A simple and rapid method for qualitative and quantitative study of the fungal flora of leaves. *Can J Botany*. 1980;26:666-70.
28. Lee OHK, Hyde KD. Phylloplane fungi in Hong Kong mangroves: evaluation of study methods. *Mycologia*. 2002;94(4):596-606.
29. Levetin E. Bioaerosols in agricultural and outdoor settings. In: *Encyclopedia of Environmental Microbiology*. N-Y.: John Wiley and Sons; 2002.
30. Levetin E, Dorsey K. Contribution of leaf surface fungi to the air spora. *Aerobiologia*. 2006;22;3-12.
31. Levine S, Schwarz S. In-cloud and below-cloud scavenging of nitric acid vapor. *Atmospheric Environment*. 1982;16(7):1725-34.
32. Lindow SE, Brandl MT. Microbiology of the phyllosphere. *Appl Environ Microbiol*. 2003;69:1875-83.

33. Maji MD, Qadri SMH, Pal SC. Evaluation of mulberry phylloplane microorganisms for biological control of bacterial leaf spot of mulberry caused by *Xanthomonas campestris* spv. mori. *Indian J Agric Res.* 2003;37(4):307-9.
34. Osono T, Bhatta BK, Takeda H. Phyllosphere fungi on living and decomposing leaves of giant dogwood. *Mycoscience.* 2004;45:35-41.
35. Pagoda IO, Pautov AA, Zelenskaya MS, Vlasov DYu. Cork warts on leaves of *Gnetum* L. (Gnetaceae) and its phylloplane fungi. *Int J Botany.* 2015;11(1):10-20.
36. Prabakaran M, Merinal S, Panneerselvam A. Investigation of phylloplanemycoflora from some medicinal plants. *Eur J Exper Biol.* 2011;1(2): 219-25.
37. Shamim S, Naher N, Haq R. Fungi as biocontrol agents in nature: interaction of fungi on phylloplane of *Datura metel* L. and *Vignacatjang* L. *Bangladesh J Agric.* 2012;37(3):537-41.
38. Thakur S, Harsh NSK. In vitro potential of volatile metabolites of phylloplane fungi of *Piper longum* as biocontrol agent against plant pathogen. *Int J Sci Nat.* 2014;5(1):33-6.
39. Thakur S, Harsh NSK. Phylloplane fungi as biocontrol agent against *Alternaria* leaf spot disease of (Akarkara) *Spilanthesoleracea*. *Bioscience Discovery.* 2014;5(2):139-144.
40. Usha Ch, Rekha P. Diversity of fungi in the phylloplane of *Jatropha curcas* L. during summer and winter season. *Int Indexed Referred Res J.* 2012;4:28-31.

