

中国叶围煤污菌初探

II. 毛白杨叶围煤污菌的研究

鲍晓明* 郑是琳 姜广正

(山东农业大学植保系,泰安 271018)

对毛白杨 (*Populus tomentosa* Carr.) 叶围煤污菌 (sooty moulds) 群落组成及演替进行了探讨,分析了叶面营养物及其变化。结果表明,叶面真菌的分离物密度随叶片的衰老而增加。对毛白杨叶面真菌分离鉴定,属于煤污菌有 8 种真菌: 链格孢 (*Alternaria alternata*), 芽枝状枝孢 (*Cladosporium cladosporioides*), 球孢枝孢 (*Cladosporium sphaerospermum*), 尖孢枝孢 (*Cladosporium oxysporum*), 出芽短梗霉 (*Aureobasidium pullulans*), 棕黑腐质霉 (*Humicola tuscoatra*), 伏克盾壳霉 (*Coniothyrium juckelii*) 和直立枝顶孢 (*Acremonium strictum*)。不同生长期叶面真菌群落组成及优势种不同,叶面出现黑霉层后,以 3 种煤污菌为优势种 即出芽短梗霉、链格孢和芽枝状枝孢。不同的菌表现一定的演替模式,定殖及达到峰值的时间不同。毛白杨叶面含有多种营养物,其含量及组分随生长期不同而异,与叶面真菌分离物密度呈显著性相关。此外,对蚜虫的发生、叶面营养物含量、煤污菌三者的关系进行了讨论。

关键词 毛白杨;叶围煤污菌;叶面营养物

煤污菌是一类特殊的叶面真菌,常附生于植物叶面,形成肉眼可见的黑霉层,是叶面真菌的重要类群。它无明确的分类学意义,组成复杂,以半知菌为主要类群。它分布广泛,没有严格的寄主范围,森林、园林、花卉、蔬菜及大田作物等绿色植物叶面上均可发生^[1-4]。煤污菌干扰叶片的光合作用^[5],加速叶片老化,使植物提前落叶,降低农果作物的产量和质量^[3,6];它不仅影响园林的空气净化能力,而且大大降低林木花卉的观赏价值。

国内对煤污菌的分类和分布已有研究^[1,7],作者试以毛白杨为材料探讨叶面煤污菌的演替模式,为叶面真菌生态学及煤污菌的防治提供参考。

供试毛白杨为山东农业大学校园绿化林立木叶片,12 年树龄。

(二) 定株定期采样

在绿化林荫道上每隔 5—10m 选择 10 株采样树。根据泰安地区毛白杨物候期从 1987 年 4 月初的萌芽期始到 11 月底完全落叶期止,每月采样一次;采样高度 4—5 m,采集不同方向的叶片,混合均匀,随机抽取少量用于分离真菌,其余叶片在叶柄断口处封蜡,以防伤流液溢出。

(三) 叶面营养物分析

取上述断口封蜡的叶片 500g,加蒸馏水 2000—3000ml,浸泡 2 小时,浸泡液减压浓缩至 10ml 左右,定量浓缩液。蒽酮

材料和方 法

(一) 材料

本文于 1990 年 9 月 1 日收到。

本文承山东大学微生物研究所王祖农教授指正,并修改原稿,特此致谢。

* 现在山东大学微生物学系工作。

法 630nm 比色测定碳水化合物总量; 茚三酮抗坏血酸法 580nm 比色测定氨基酸总量; 氨基酸自动分析仪 (日立 835) 分析氨基酸组分与含量。

另取样品 500g, 同样方法浸泡、抽滤, 滤液浓缩至干, 对固体干样进行乙酰化, 气相色谱仪 (103 型气相层析仪) 分析可溶性糖的组分与含量。

(四) 叶面真菌的分离纯化及鉴定

用直径 0.5cm 打孔器避开粗大叶脉, 打取叶圆片, 每张叶片打取 1—2 个叶圆片, 共取 50 个小叶圆片, 放于 20ml 无菌水中, 振荡洗涤 30 分钟, 得到菌悬液。取 1ml 菌悬液平板稀释计数, 在 0.5% 酵母膏的查氏培养基上, 25℃ 下培养 7—10 天, 记菌落数。同时随机挑取 200 个分离物用于鉴定。为抑制细菌, 培养基中加链霉素 40 单位/ml。菌种纯化用单孢子分离法及菌丝尖端分离法, 并按有关专著鉴定^[8-12]。以单位叶面积的菌落数表示分离物密度; 以某种菌占鉴定菌总株数 (200) 的百分比表示相对分离频率。

结 果

(一) 叶面营养物

1. 碳水化合物和氨基酸总量: 毛白杨不同生长期叶面碳水化合物和氨基酸总量的变化规律 (图 1) 表明, 二者总的趋势是随着叶片的展叶、成熟、衰老而逐渐上升。落叶时有一个骤然上升的高峰。碳水化合物的含量始终高于氨基酸含量, 且前者在 8 月份呈现一峰值, 后者不具这一峰值。由于植物不同生长期的生理状态不同, 芽、幼叶及早期成熟叶处于活跃生长状态, 合成代谢旺盛, 外排营养物较少。随着叶片的衰老, 合成代谢逐渐转向分解代谢, 细胞透性增加, 外排营养物增加。此时, 叶面营养物含量达到高峰。我们在取样的同时, 注

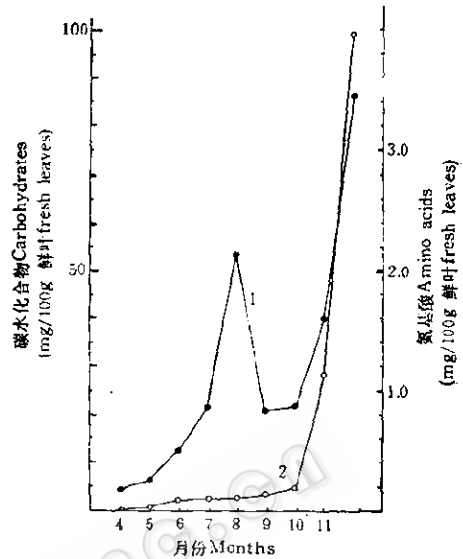


图 1 毛白杨叶面淋溶物的碳水化合物和氨基酸总量

Fig. 1 The contents of carbohydrate and amino acids in leachate on *Populus tomentosa* Carr. leaf

1. 碳水化合物 Carbohydrates
2. 氨基酸 Amino acids

意观察蚜虫发生, 7 月上旬叶面出现少量蚜虫, 8 月份虫口密度大增, 9 月份蚜虫所剩无几。对照图 1, 碳水化合物在 8 月份的峰值与蚜虫大量出现有关, 是蚜虫蜜露造成的。Auclair 分析指出, 蚜虫蜜露主要成份是糖。图 1 还显示氨基酸变化不出现这一峰值, 说明这种蚜虫蜜露不含或少含氨基酸。

2. 氨基酸及可溶性糖的组分及含量:

表 1 显示不同生长期叶面氨基酸的组分及含量, 除 4 月份芽表面没有检测到氨基酸外, 其它各生长期的叶面上均检测到一定量的氨基酸, 并且从幼叶到衰老叶氨基酸的种类及含量都有所增加, 多数氨基酸含量呈上升趋势, 落叶时达到高峰, 少数几种氨基酸呈其它的变化规律。

表 2 显示不同生长期叶面可溶性糖组

表 1 毛白杨叶面淋溶物氨基酸组分及含量
Table 1 The component of amino acids in leachate on *Populus tomentosa* Carr. leaves

时间 Time (1987)	氨基酸 (10mg/100g 鲜叶) Amino acids (10mg/100g fresh leaves)																	
	APS	THR	SER	GLU	PRO	GLY	CYS	VAL	MET	ILE	LEU	TYR	PHE	LYS	HIS	ARG	ALA	
4.11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5.15	0.21	0.04	0.14	—	—	0.02	0.29	0.16	0.04	—	—	0.1	—	—	—	—	0.03	
6.20	1.32	0.31	0.28	1.15	—	1.37	1.00	1.47	0.38	0.10	—	0.42	0.32	0.16	—	—	0.36	
7.14	1.06	0.44	0.70	5.40	—	1.32	1.73	2.28	0.88	0.62	0.88	0.49	0.44	0.11	—	—	3.12	
8.17	4.41	0.59	0.97	30.4	—	0.46	1.01	1.12	3.28	4.62	0.42	0.26	0.19	0.33	—	—	1.77	
9.14	21.7	—	8.27	48.1	—	13.9	—	38.1	4.09	10.4	1.86	2.97	1.67	2.04	—	—	188.	
10.18	39.7	—	21.5	114.	6.34	22.7	22.2	46.6	12.2	16.9	25.3	11.6	15.8	8.32	24.1	74.1	37.4	
11.10	1020	—	27.0	277.	20.8	28.5	5.29	10.3	68.6	133.	94.1	14.2	82.3	0.98	18.3	307	83.4	
11.24	2906	—	103	736	33.9	74.4	109	181	168	496	115	72.2	342	—	139	1305	303	
落叶 (Fallen leaves)																		

表 2 毛白杨叶面可溶性糖组分及含量

Table 2 The component and content of soluble sugars on *Populus tomentosa* Carr. leaves

时 间 Time (1987)	可溶性糖 (mg/100g 鲜叶) Soluble sugars (mg/100g fresh leaves)					
	鼠李糖 Rhamnose	阿拉伯糖 Arabinose	木糖 Xylose	甘露糖 Mannose	葡萄糖 Glucose	未知糖* Unnamed sugars
4.11						+
5.15			±			++
6.20			±			++
7.14			2.781		5.671	++
8.17			6.037		10.786	+++
9.14			2.793		6.432	+++
10.18			±		7.261	+++
11.10			±		12.792	+++
11.24 落叶 (Fallenleaves)	±**	±	±	±	37.884	+++

* 缺乏标样,根据峰面积分为三个等级“+, ++, +++”。

Lack of standard samples, three grades are determined according to peak area “+, ++, +++”.

** 由于峰面积太小,以“±”表示可溶糖含量甚微。

Because of peak area too small, “±” means that the content of soluble sugars are very little.

分及含量,各个时期的主要糖为葡萄糖、木糖和未知糖,落叶时糖的组分增加,出现鼠李糖、阿拉伯糖,而且葡萄糖含量达到高峰。

(二) 叶面真菌

1. 毛白杨叶面真菌的种类:从毛白杨各生长期叶面上共获 1800 个分离物,鉴定出 16 属 19 种真菌,其中 1 属 2 种为子囊菌,其余均为半知菌。属于 Hughes^[12] 煤污菌的有 6 属 8 种真菌:链格孢、出芽短梗霉、芽枝状枝孢、尖孢枝孢、伏克盾壳霉、棕黑腐质霉和直立枝顶孢。属于土壤真菌的有 8 种:楸子茎点霉、葡萄穗霉、紫附球菌、德氏霉属、青霉属、曲霉属、卷顶毛壳菌和类生毛壳菌,这些土壤真菌常见于植物叶面,上述煤污菌也常在土壤中分离到^[9]。其余 3 种为植物病原菌:粉红单端孢、杨烂皮壳孢和茄病镰刀菌^[8]。

2. 叶面煤污菌分离物密度及其与叶面

营养物质含量的相关分析:毛白杨不同生长期叶面真菌分离物密度的测定结果(图 2)表明,随着叶片的成熟衰老,真菌分离物密度呈上升趋势。相关分析表明,真菌分离物密度与叶面碳水化合物呈极显著性正相关($P < 0.01$),与叶面氨基酸呈一般显著性正相关($P < 0.05$),说明叶面真菌群落的发生发展依赖于叶面营养物质消长。图 2 显示 4 月份芽体表面的真菌分离物密度有一峰值,但图 1 表明 4 月份芽体表面的营养物质含量很低,这与 Campbell^[14] 报道的结果一致。Campbell 认为,许多冬季休眠的微生物在叶片展开前以芽原基为保护过冬,某些植物病原菌更是如此。本实验采用的是平板计数法,不能区分休眠和活跃生长状态,4 月份分离的真菌包括处于休眠状态的。芽体展开,叶面积增加大于叶面上真菌的增殖,因而 5 月份出现波谷,叶面真菌分离物密度低于 4 月份。

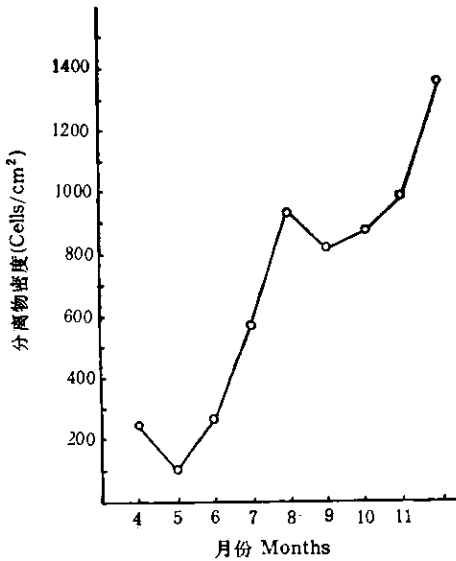


图2 毛白杨煤污菌分离物密度

Fig. 2 The isolation density of phyllosphere sooty moulds of *Populus tomentosa* Carr.

许多研究结果表明,叶面煤污菌的发生发展与蚜虫等昆虫的蜜露有关,本研究也观察到这一现象。7月份出现少量蚜虫,此时叶面上尚未形成煤污菌的黑霉层,8月份虫口密度大增,叶面上出现黑霉层,图2显示8月份的这一峰值。由于蚜虫蜜露提供了丰富的营养,又因为8月份气温适宜,空气湿润,利于真菌的生长、蔓延,于是叶面上形成肉眼可见的黑霉层,并持续到落叶。落叶后,叶面各种营养物大增,由于土壤接种物的介入使叶面真菌密度达到高峰。11月份泰安地区气温降至 0°C 左右,已不是真菌生长的最适温度,此时的峰值也包括处于休眠状态的真菌。Stor^[15]也报道了真菌在叶面上达到高峰时的气温并非菌的最适生长温度。

3. 叶面煤污菌的组成及演替: 不同生长期叶面真菌群落组成不同,优势种不同(表3)。4、5、6、7月份优势种不定,8月份叶面出现黑霉层,三种主要的煤污菌占

优势,即出芽短梗霉、芽枝状枝孢和链格孢,这种优势一直持续到落叶。落叶时叶面真菌不仅分离物密度达到高峰(图2),而其组成也最为复杂,由于土壤接种物的介入,真菌种类增至11种。

表3还表明了不同真菌的演替模式。出芽短梗霉在芽期定殖,9月份达到高峰,一直持续到落叶。链格孢在6月份开始发生,随后呈上升趋势,落叶时仍继续增长。芽枝状枝孢在7月份开始分离到,11月份达到高峰,随后分离频率下降,直立枝顶孢出现在4—8月份的叶面上,9月份后不再分离到。青霉属和曲霉属菌在整个生长季节都可分离到,峰值在早期,8月份叶面出现黑霉层后,这两属菌的分离频率下降,这一现象与李荣禧^[6]报道的结果一致。其它真菌没有明显的变化规律。

讨 论

大量研究表明绿色植物叶面含有微生物生存的基本营养条件^[12,16-18],一般认为有四个来源:①叶片组织外渗营养;②大气尘埃、花粉及土壤颗粒在叶面上的沉积;③蚜虫等昆虫蜜露;④叶面栖居者的排泄分泌物。煤污菌所依赖营养来源的复杂性,决定了其群落组成的复杂,不仅受寄主植物的影响,更主要受环境条件的制约。叶面真菌分离物密度与叶面营养的相关性,表明叶面真菌的发生发展依赖于叶面营养物的消长,哪种营养物为煤污菌的生长限制因子还有待于进一步研究。

寄主不同生长期叶面真菌群落组成及优势种不同,叶面出现黑霉层时,三种主要的煤污菌(链格孢、出芽短梗霉、芽枝状枝孢)成为优势种,而且一直持续到落叶。落叶后,由于土壤接种物的介入,使叶面群落组成复杂,分离到11种真菌,而且分离物密度达到高峰。真菌在叶面上达到高峰时

的气温并非菌的最适生长温度。

不同菌表现出不同的演替模式, 在叶面上定殖和达到高峰的时间均不同, 造成这一现象的决定因素有待于进一步研究。不同植物叶面真菌的演替模式各不相同^[18,19], 说明不同植物、不同地理环境, 叶面真菌表现不同的演替模式。

参 考 文 献

- [1] 姜广正等: 微生物学报, 30(3): 201—209, 1990.
 [2] Friend, R. J.: *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 48(3): 367—370, 1965.
 [3] Stover, R. H.: *ibid.*, 65(2): 328—329, 1975.
 [4] Katumoto, K.: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, 26: 285—293, 1985.
 [5] Tedlers, W. J. et al.: *J. of Eco. Ento.*, 69(4): 551—553, 1976.
 [6] Blackeman, J. P.: *Microbial Ecology of the Phylloplane*, (ed. Blackeman, J. P.) Academic Press, London, pp. 245—263, 1981.
 [7] 李荣禧等: 内蒙古农牧学院学报, 8(1): 87—95, 1987.

- [8] 魏景超: 真菌鉴定手册, 上海科技出版社, 上海, 1979.
 [9] Dosch, K. H. et al.: *Compendium of Soil Fungi*. Volume 1, Academic Press, London, 1980.
 [10] Ellis, M. B.: *Dematiaceous Hyphomycetes*. Eastern Press, Ltd., London, 1971.
 [11] Ellis, M. B.: *More Dematiaceous Hyphomycetes*. The Cambrian News Ltd., London, 1976.
 [12] Hughes, S. J.: *Mycol.*, 58: 693—820, 1976.
 [13] Auclair, J. H. et al.: *Ann. Revi. of Ento.*, 8: 439—490, 1963.
 [14] Campbell, R.: *Plant Microbiology*. Edward Arnold Ltd., London, 1985.
 [15] Stott, M. A.: *Ecology of Leaf Surface Microorganisms* (ed. Preece, T. F.) Academic Press, London, pp. 203—210, 1971.
 [16] Dickinson, C. H.: *Microbiology of Aerial Plant Surface*, (ed. Dickinson, C. H. et al.) Academic Press, London, p. 203, 1976.
 [17] Turkey, H. B.: *Ecology of Leaf Surface Microorganism*, (ed. Preece, T. F. et al.) Academic Press, London, p. 67, 1971.
 [18] Macauley, B. J. et al.: *The Fungal Community its Organization and Rol in Ecosystem*, (ed. Wicklow, D. T. et al.) New York. p. 501, 1981.
 [19] Wildman, H. G. et al.: *Can. J. Bot.*, 57: 2800—2811, 1979.

AN INVESTIGATION ON PHYLLOSPHERE SOOTY MOULDS OF CHINA

II. INVESTIGATION OF PHYLLOSPHERE SOOTY MOULDS OF *POPULUS TOMENTOSA* CARR.

Bao Xiaoming Zheng Shilin Jiang Guangzheng

(Shandong agricultural University, Taian 271018)

The sooty moulds of *Populus tomentosa* Carr. are studied from April to November, 1987. The isolation density of sooty moulds increases with the aging leaves. Eight species of sooty moulds are determined i.e. *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pulluans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Cladosporium oxysporum*, *Coniothyrium fuckelii*, *Humicola fuscoatra* and *Acremonium strictum*. The population and predominant species of sooty moulds vary with leaf growth. Analysis of phyllophere

nutrient changes shows that amino acids and carbohydrates are present on leaf surfaces and isolation density of sooty moulds are correlated significantly with content of nutrients on leaf surfaces. The interaction among aphids, phyllophere nutrients and sooty moulds is also discussed.

Key words

Populus tomentosa; Phyllospere sooty moulds; Phyllospere nutritients