

MIKROSKOPINIŲ GRYBŲ IŠSKYRIMO IŠ DEKORATYVINIŲ AUGALŲ RIZOSFEROS METODIKA IR REZULTATAI

Antanina Stankevičienė

*Vytauto Didžiojo universiteto Kauno Botanikos sodas
Ž. E. Žilibero 6, LT-46324 Kaunas, el. paštas antanina.stankeviciene@vdu.lt*

Recenzentė: dr Vilija Snieškienė, Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sodas

Anotacija

Straipsnyje pateikiami 1989–2012 m. Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode atliktų dekoratyvinių augalų rizosferos mikroskopinių grybų įvairovės tyrimai. Mikroskopiniai grybai buvo išskirti taikant biologinį grynų kultūrų išskyrimo metodą. Analitiniu–teoriniu metodu atlikus Kauno botanikos sode auginamų dekoratyvinių augalų rizosferos mikologinius tyrimus, nustatyta grybų komplekso priklausomybė nuo augalo rūšies, būklės, aplinkos sąlygų.

Raktiniai žodžiai: dekoratyviniai augalai, mikroskopiniai grybai, rizosfera.

Įvadas

Šiuolaikinės technologijos leidžia gilintis į organizmo vidinę sandarą, funkcijas, struktūrą. Dėl polimorfizmo, greito dauginimosi, gebėjimo įsisavinti įvairius substratus, mikroorganizmai tapo patogiu molekulinės biologijos, biotechnologijos, biomedicinos ir kt. tyrimo objektu (Lugauskas ir kt., 2003; Jankevičius, Liužinas, 2007). Pagrindinė terpė, kurioje gyvena mikroorganizmai: heterogeninis substratas – dirvožemis bei vanduo.

1960 m. vadovaujant dirvožemio mikrobiologijos tyrimų pradininkui Lietuvoje, prof. A. Lugauskui buvo pradėti Vilniuje Botanikos institute augalų rizosferos grybų įvairovės ir praktinio pritaikymo tyrimai (Lugauskas, 2012), o 1989 m. Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode pradėti dekoratyvinių augalų rizosferos tyrimai (Stankevičienė, 2016).

Augalų būklė didele dalimi priklauso nuo mikrobiologinių procesų vykstančių jų aplinkoje (Stankevičienė, Lugauskas, 2007). Mikobiotos ir kitų organizmų santykiai nuolat kinta, juos sąlygoja organizmų biologiniai savitumai, aplinkos veiksniai. Gamtoje nuolat funkcionuojančių grybų rūšių pažinimas, jų veiklos reguliavimo galimybių paieška yra svarbi mokslinė ir praktinė problema (Lugauskas, 2003).

Darbo tikslas – apibendrinti dekoratyvinių augalų rizosferos mikologinės būklės tyrimus Lietuvoje.

Metodika (metodai)

1989–2012 m. Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode (VDU KBS) buvo atliekami dekoratyvinių augalų rizosferos mikroskopinių grybų įvairovės tyrimai.

Tyrimo objektas. VDU Kauno botanikos sodo oranžerijoje ir lauko kolekcijose augantys dekoratyviniai augalai.

Mėginio paruošimas. Ėminiai imami iš 4 augalo rizosferos vietų ir dedami į polietileninius maišelius (konteinerius) su etikete (ėmimo vieta, laikas, pastabos). Atliekant šiuos darbus būtina laikytis sterilumo: 96% stiprumo spiritu dezinfekuoti įrankius. Siekiant paimti

ėminį iš gilesnių rizosferos sluoksnių (iki 50 cm), naudojamas kiauraviduris zondas su atviru per visą ilgį šonu. Mėginiai analizuojami tą pačią dieną, o nesant galimybei jie laikomi šaldytuve prie 4 °C ir analizuojami po 1–4 parų (ne vėliau).

Terpės paruošimas. Į sterilias kolbas (ne daugiau 0,5 talpos) pripilti pirmo varymo nealkoholinės bemielės alaus misos, atskiestos steriliu distiliuotu vandeniu iki 7% cukringumo (matuoti sacharometru). Įdėti 25 g agarą į 1 l vandens. Kaitinti autoklave 0,5 val. prie 0,5 atm (arba kaitinimo spintoje 112 °C temperatūroje 0,5 val.). Šiuo metu galima įsigyti paruoštų terpių supilstytų į kolbas arba į Petri lėkšteles.

Pasiruošimas grybų grynų kultūrų išskyrimui. Grybų kultūrų išskyrimas atliekamas taikant biologinį grynų kultūrų išskyrimo metodą, laikantis sterilumo. Jungtinis (vienas) bandinys sudaromas iš 4 gerai sumaišytų ėminių, paimtų iš numatytų tirti augalų šaknyne zonos vietų. Po to kiekvieno bandinio analizė atliekama trimis pakartojimais, taikant nuplovimo – praskiedimo metodą. 10 g susmulkinto dirvožemio suberiama į 100 ml sterilaus distiliuoto vandens kolbą. Ji intensyviai purtoma 15 min. Iš gautos suspensijos ruošama skiedimų serija iki 10 000 (šis skiedimas yra optimalus dekoratyvinių augalų rizosferos tyrimams). Pasiruošiama kiekvienam bandinio pakartojimui po 3 mėgintuvėlius su 10 ml sterilaus distiliuoto vandens: į pirmąjį mėgintuvėlį įpilame 1 ml suspensijos iš kolbos. Siekiant duomenų tikslumo suspensija šiame mėgintuvėlyje sumaišoma, t.y. tris kartus neištraukiant pipetės įtraukiama į pipetę ir keičiant jos panardinimo gylį išpilama. Po to 1 ml pernešamas iš šio mėgintuvėlio į antrą mėgintuvėlį, o iš jo – į trečią, atliekant juose sumaišymo procedūrą.

Grybų kolonijų auginimas drėgnų kamerų būdu. 1 ml suspensijos iš trečio mėgintuvėlio supilama į Petri lėkštelę ir sukamuoju judesiu išsklaidoma. Užpilama 10 ml agarizuotos, atvėsintos iki 30–40 °C (prilietus prie kūno šilta), išlydytos terpės. Taip paruošiamos 4 lėkštelės (pakartojimai). Palaukiama, kol gerai sustings terpė, o po to apvertus lėkštelę pasėliai dedami į termostatą. Lėkšteles apverstus dugnu į viršų būtina, kad susikaupęs kondensatas netrukdytų augti grybui. Pasėliai 5–7 paras inkubuojami termostate 26±2 °C temperatūroje, tamsoje.

Grybų kolonijų apskaita. Jei lėkštelėje išaugę daug kolonijų, reikia markeriu ant apatinės lėkštelės pusės pažymėti atskirus plotus, o vėliau susumuoti juose esančių kolonijų skaičių. Skaičiuoti atidžiai ir iš lėkštelės viršaus, ir iš apačios.

Grybų pradų skaičiaus nustatymas. Nustatomas absoliučiai sausas svoris. Kiekvieno ėminio atsverama po 1 g. Atviruose biuksiukuose jie kaitinami 105±2 °C temperatūroje iki pastovaus svorio 0,0001 tikslumu. Išėmus iš kaitinimo spintos biuksiukus reikia uždengti ir dėti į eksikatorius (kad neprisigertų drėgmės iš oro) ir sverti. Pradų skaičius 1 g absoliučiai sauso svorio substrate (a) apskaičiuojamas pagal formulę:

$a = bcd/e$, čia: b – vidutinis kolonijų skaičius lėkštelėje; c – skiedimas iš kurio atliktas sėjimas (10000); d – suspensijos kiekis pasėtas į Petri lėkštelę (1 ml); e – absoliučiai sauso dirvožemio svoris, paimtas analizei.

Grybų rūšių identifikavimas. VDU KBS kolonijos buvo išgrynintos iki monokultūros ir identifiкуotos pagal kultūrinius ir morfologinius požymius auginant ant salyklo ekstrakto agarą terpės su antibiotiku (250 mg/l – chloamfenikolio, streptomicino ar kt.). Iškilus neaiškumams identifiкуojant grybus, dar galima auginti sintetinėje Čapeko ir kukurūzų ekstrakto terpėse. Botanikos instituto Biodestruktorių tyrimo laboratorijoje (vėliau FTMC Chemijos institute) buvo atliekamas grybų rūšių identifikavimas. Morfologiniai požymiai tirti šviesinės mikroskopijos metodais. Grybų rūšys identifiкуotos vadovaujantis įvairių autorių (Domsch et al., 1980; Ellis, 1971; 1976; Ramirez, 1982; Lugauskas ir kt., 2002 ir kt.) apbūdintojais. Kiekvieno tirtu objekto vyraujančioms tipiškomis gentims ir rūšims nustatyti apskaičiuotas aptinkamumo dažnis (procentinė išraiška santykio tarp pavyzdžių, kuriuose aptikta grybo rūšis ir iš viso tirtų pavyzdžių skaičius) ir populiacijos tankio (procentinė išraiška santykio tarp tam tikros grybo rūšies izoliuotų ir iš viso aptiktų izoliuotų skaičiaus) (Мирчинк, 1988).

Grybai sistematiškai aprašyti pagal D. L. Hawksworth ir kt (1995), jų vardai aprašyti pagal interaktyvų sąvadą www.indexfungorum.org.

Rezultatai

VDU KBS dekoratyvinių augalų rizosferos mikrobiotos tyrimai pradėti 1989 m. Tyrimams vadovavo dirvožemio mikologijos Lietuvoje pradininkas prof. A. Lugauskas (Botanikos institutas). Pradžioje tyrimo objektas buvo tikrasis gvazdikas, po to interjere auginami augalai, lauko kolekcijose auginami dekoratyviniai augalai su pažeista antžemine dalimi ir t.t. Rezultatai pateikti 1 lentelėje.

1 lentelė. Mikroskopinių grybų įvairovė dekoratyvinių augalų rizosferoje, 1989–2012 m.

Table 1. Fungal diversity of ornamental plant rhizosphere, 1989–2012

Tyrimo objektas (literatūra)	Rezultatai
1989–1993 m. – tikrojo gvazdiko veislė 'Red Sim' (<i>Dianthus caryophyllus</i> L. 'Red Sim') (Grincevičienė, Lugauskas, 1993; Snieškienė, Stankevičienė, 1997; Stankevičienė, 2000; Stankevičienė et al., 2006; Лугаускас и др., 1991)	Identifikuota 138 rūšys, 43 gentys. Rūšių įvairovė vegetacijos metu mažėjo, o didėjo atskirų rūšių aptinkamumo dažnis. Antroje vegetacijos pusėje buvo aptinkami patogeninių grybų pradai: <i>Fusarium</i> spp. – 2,33–6,98%, o pačioje vegetacijos pabaigoje 5,88–47,06%; <i>Verticillium</i> spp. 2,33–23,53%; <i>Sclerotinia</i> sp. – 10,37–23,26%; <i>Botrytis cinerea</i> – 3,51–11,76%
1991 m. – antagonisto <i>Trichoderma viride</i> Pers. poveikis tikrojo gvazdiko šaknų patogenams (<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl., <i>F. solani</i> (Mart.) Sacc., <i>Umbelopsis isabellina</i> (Oudem.) W. Gams (sin. <i>Mortierella isabellina</i>), <i>Verticillium albo-atrum</i> Reinke & Berthold). (Grincevičienė, Snieškienė, 1993; Stankevičienė, 2000; Stankevičienė, Lugauskas, 1999; Stankevičienė, Snieškienė, 2003; Снешкене, Гринцявичене, 1991)	Augalų, į kurių substratą buvo įterpta grybo antagonisto pradai būklė pastebimai buvo geresnė.
1997–2012 m. – vazonuose auginami dekoratyviniai augalai (Stankevičienė ir kt., 1999).	Pradėjus į Lietuvą įvežti įvairius interjero dekoratyvinius augalus, didelę dalį jų sudarė šilkmedinių šeimos (<i>Moraceae</i>) <i>Ficus</i> L. augalai.
1997–2008 m. – trijų adaptacijos grupių augalai auginti optimaliomis ir nepalankiomis sąlygomis (Stankevičienė et al., 2008; 2009; Stankevičienė, Lugauskas, 2003a, b; Stankevičienė, Snieškienė, 2010, 2010a; Stankevičienė, Varkulevičienė, 2006a; Снешкене и др., 2004; 2006; Stankevičienė, Lugauskas, 2007). Ypatingai dekoratyvūs augalai: <i>Dizygotheca elegantissima</i> (Veitch.) Vig. et Guillaumin ir <i>Schefflera arboricola</i> (Hayata) Merr. (Stankevičienė ir kt., 2010). Įvairių taksonominių grupių augalai: <i>Dieffenbachia</i> , (Snieškienė, Stankevičienė, 1999); <i>Bromeliaceae</i> (Stankevičienė, 2007; Varkulevičienė, Stankevičienė, 2005), <i>Agavaceae</i> (Stankevičienė, Lugauskas, 2001; Stankevičienė et al., 2003; Stankevičienė ir kt., 2006), <i>Dracaena</i> (Stankevičienė, Snieškienė, 2011), <i>Marantaceae</i> (Varkulevičienė, Stankevičienė, 2004).	Silpstant augalui, patogenų veikla suintensyvėja. Ištyrus 46 taksonus sunkios, 26 – vidutiniškos, 25 lengvos adaptacijos augalus, jų rizosferoje dominavo <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> spp., <i>Verticillium</i> spp. grybai. <i>Vriesea splendens</i> (Brongn.) Lem.(sunkios adaptacijos) rizosferoje identifikuotos grybų 55 rūšys, 22 gentys ir 4 rūšys, 16 genčių anamorfinių. Identifikuota 33 rūšių, 15 genčių grybai-saprotrofai ir patogenai: <i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> sp., <i>Sclerotinia</i> sp., <i>Myrothecium</i> sp. Nustatyta, kad grybų kompleksai šaknyne zonoje skyrėsi tarpusavyje, t.y. šaknų metabolitai įtakoją grybų įvairovę rizosferoje.
1999–2007 m. – augalai augantys penkiose oranžerijos sekcijose (atogrąžų – 18 ėminių, drėgnųjų atogrąžų – 15, dykumų-pusdykumių – 14, šiltųjų paatogrąžių – 11, vėsiųjų paatogrąžių – 10 ėminių) (Stankevičienė, 2008; Stankevičienė, Lugauskas, 2006, 2008)	Identifikuota 115 rūšių, 36 gentys, 3 šeimos, 3 eilės, 3 klasės, 3 skyriai ir anamorfiniai: 94 rūšys, 30 genčių. mažiausiai rūšių išskirta vėsiųjų paatogrąžių sekcijoje (43), daugiausiai drėgnųjų atogrąžų (58).

<p>2002 m. – skirtingų ekologinių poreikių augalai (<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>, <i>Ficus elastica</i>, <i>Cyclamen persicum</i>, <i>Euphorbia trigona</i>): 6 mėnesius augo optimaliose sąlygose, substrato prisotintame lėtai tirpstančių maisto medžiagų (Stankevičienė ir kt., 2008; Stankevičienė, 2012).</p>	<p>Pradų skaičius buvo atvirkščiai proporcingas maisto medžiagų kiekiui, t. y. senkant maisto medžiagų atsargoms, daugėjo grybų pradų skaičius šaknyne. Identifikuota 82 rūšys, 30 genčių, 3 šeimos, 1 klasė, 1 skyriui ir anamorfiniai grybai: 71 rūšis, 24 gentys.</p>
<p>2010 m. – daugiamečiai arekinių šeimos (<i>Areceaceae</i>) augalai, augantys ilgai nekeičiant substrato (iki 20–40 metų) (Stankevičienė, Lugauskas, 2011; Varkulevičienė, Stankevičienė, 2011).</p>	<p>Identifikuota 47 rūšys, 26 gentys grybų; dominavo: <i>Mucor</i> (50%), <i>Mortierella</i> (35,4%), <i>Trichoderma</i> (35,4%), <i>Aspergillus</i> (33,3%) ir <i>Penicillium</i> (23%). Nedidelis aptinkamumo dažnis (nuo 2,1 iki 22,9%).</p>
<p>2008–2010 m. – ruošiamo komposto mikrobiotos analizė (Stankevičienė, 2013)</p>	<p>Įvairovė nedidelė: 21 rūšis, 13 genčių, o vyravo, kaip įprasta substratuose <i>Penicillium</i> spp. – 5 rūšys</p>
<p>2006–2009 m. – augalai su pažeista antžemine dalimi – sumedėję (<i>Abies balsamea</i>, <i>Picea</i> sp., <i>Thuja</i> sp., <i>Rhododendron</i> spp.) ir žoliniai (<i>Dahlia</i> sp., <i>Paeonia</i> spp.) (Stankevičienė, Snieškienė, 2010b, c; Stankevičienė ir kt., 2010; Stankevičienė, Varkulevičienė, 2006b; Varkulevičienė, Stankevičienė, 2006). <i>Paeonia lactiflora</i> x <i>hibridus</i> hort veislės 'Virgilijus' ir 'Darius-Girėnas'</p>	<p>Identifikuoti grybai priklausantys 62 rūšims, 26 gentims, 5 šeimoms, 4 eilėms, 3 klasėms bei 3 skyriams ir anamorfinių grybai: 20 genčių, 54 rūšys. Aptikti patogenai: <i>Fusarium oxysporum</i> bei <i>Botrytis cinerea</i> (pavojingas bijūno pažeidėjas).</p>
<p>2010–2012 m. – intensyviai plintantis Europoje agresyvus patogenas (<i>Phytophthora</i> spp.): <i>Rhododendron</i> sp., <i>Pieris</i> sp., <i>Alnus glutinosa</i> rizosfera (Snieškienė ir kt., 2012; Vitas et al., 2012)</p>	<p>Genominės DNR, išskirtos iš dirvožemio, koncentracija (svyravo nuo 5,8 iki 10,0 ng/ml), patvirtino, kad šių augalų šaknyne yra <i>Phytophthora</i> spp. pradai.</p>

Analitiniu – teoriniu metodu atlikus 1989–2012 m. VDU KBS auginamų dekoratyvinių augalų rizosferos mikologinius tyrimus, nustatyta priklausomybė nuo augalo rūšies, būklės, aplinkos sąlygų. Nustatyta, kad daugiamečių augalų (*Dianthus caryophyllus*) vegetacijos eigoje grybų rūšių įvairovė mažėjo, o didėjo aptinkamumo dažnis. Ištyrus trijų adaptacijos grupių augalų auginimo sąlygų įtaką (auginti optimaliomis ir nepalankiomis sąlygomis) nustatyta, kad silpstant augalui, patogenų veikla suintensyvėja. Ištyrus 46 taksonus sunkios (*Bromeliaceae* šeimos augalai, *Maranta* spp., *Dierffenbachia* spp., *Spathiphyllum* spp. ir kt.), 26 – vidutiniškos (*Echeveria* sp., *Ficus* spp., *Schefflera* spp. ir kt.) ir 25 lengvos adaptacijos (*Yucca* sp., *Dracaebna* spp., *Agave* spp. ir kt.) augalus, dominavo *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Verticillium* spp. grybai. *Vriesea splendens* (Brongn.) Lem.(sunkios adaptacijos) rizosferoje identifikuota 55 rūšys, 22 gentys grybų ir 4 rūšys, 16 genčių anamorfiniai grybai. Atlikus maisto medžiagų įtaką rizosferoje funkcionuojantiems grybams nustatyta, kad skirtingų ekologinių poreikių augalų (*Hibiscus rosa-sinensis*, *Ficus elastica*, *Cyclamen persicum*, *Euphorbia trigona*) rizosferoje pradų skaičius buvo atvirkščiai proporcingas maisto medžiagų kiekiui, t. y. senkant maisto medžiagų atsargoms, daugėjo grybų pradų skaičius šaknyne. 6 mėnesius auginti optimaliomis sąlygomis augalai, kurių substratas buvo prisotintas lėtai tirpstančių maisto medžiagų, identifikuota 82 rūšys, 30 genčių grybai priklausantys 3 šeimoms, 1 klasei, 1 skyriui ir anamorfiniai grybai: 71 rūšis, 24 gentys. Tiriant *Areceaceae* šeimos augalus nustatyta, kad ilgalaikis auginimas, nekeičiant substrato, sąlygoja augalų šaknų metabolitų įtaką – mažėja įvairovė, dominuoja rūšys, būdingos tai augalo rūšiai. Patogeninių grybų pradai aptinkami dar augalui esant geros būklės. Lauko kolekcijose augančių augalų (*Abies balsamea*, *Picea* sp., *Thuja* sp., *Rhododendron* spp., *Dahlia* sp., *Paeonia* spp.) su antžeminės dalies pažeidimais, šaknyne zonoje aptikti patogenai: *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea*, *Phoma exiqua* ir kt.

Jau 2003 m. prof. A. Lugauskas nuogaštavo, kad atliekama mažiau dirvožemio mikroorganizmų tyrimų, be kurių sunku įvertinti procesus, kurie vyksta rizosferoje veikiant įvairiems antropogeniniams veiksniams (Lugauskas, 2003). Šiuo metu Lietuvoje dekoratyvinių augalų rizosferos tyrimai neatliekami.

Išvados

1989–2012 m. analitiniu – teoriniu metodu atlikus Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode auginamų dekoratyvinių augalų rizosferos mikologinius tyrimus, nustatyta rizosferos mikobiotos priklausomybė nuo augalo rūšies, būklės, aplinkos sąlygų. Nustatyta, kad daugiamečių augalų (*Dianthus caryophyllus*) vegetacijos eigoje grybų rūšių įvairovė mažėjo, o didėjo aptinkamumo dažnis. Ilgalaikis auginimas, nekeičiant substrato, sąlygoja stiprią augalų šaknų metabolitų įtaką – mažėja grybų rūšių įvairovė, dominuoja rūšys, būdingos augalo rūšiai. Patogeninių grybų pradai aptinkami dar augalui esant geros būklės. Lauko kolekcijose augančių augalų (*Abies balsamea*, *Picea* sp., *Thuja* sp., *Rhododendron* spp., *Dahlia* sp., *Paeonia* spp.) su antžeminės dalies pažeidimais, rizosferoje aptikti patogenai: *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea*, *Phoma exigu* ir kt.

Literatūra

1. Domsch K., Gams W., Anderson T. H. 1980. Compendium of soil fungi. London
2. Ellis M. B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Kew-Surrey.
3. Ellis M. B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Kew-Surrey
4. Grincevičienė, A., Lugauskas, A. Fungi pevalence in the rhizosphere of pinks grown in warmhouse. *Fungi and lichens in the Baltic region: 12 International Conference on Mycology and Lichenology: Abstracts*. Vilnius, 1993, p. 23.
5. Grincevičienė A., Snieškienė, V. *Trichoderma* genus fungi against the rot agents of the remontant pinks. *Fungi and Lichens in the Baltic region*. Materials of the 12 International Conference on Mycology and Lichenology: Abstracts. Vilnius, 1993, p. 23.
6. Haksword D. L., Kirk, P. M., Sutton, B. C., Pegler, D. N. *Dictionary of the fungi*. Cambridge: University Press, 1995, 616 p.
7. Jankevičius K., Liužinas R. 2007. Mikroorganizmai ir aplinka. *Žvilgsnis į mikroorganizmų pasaulį*. p. 40–48. Vilnius.
8. *Index fungorum* [Interaktyvus]. Prieiga per internetą: 2016. <http://www.indexfungorum.org/names/names.as>
9. Lugauskas A. 2003. Natūraliomis aplinkos sąlygomis egzistuojančių mikromicetų įvairovės tyrimai. Lietuvos biologinė įvairovė (būklė, struktūra, apsauga). Vilnius, p. 47–48.
10. Lugauskas A. 2012. Bibliografija. Vilnius.
11. Lugauskas A., Paškevičius A., Repečkienė J. 2002. Patogeniški ir toksiški mikroorganizmai žmogaus aplinkoje. Vilnius.
12. Ramirez C. 1982. Manual and atlas of the Penicilia. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam.
13. Snieškienė V., Stankevičienė, A. Fitopatogeninių mikroorganizmų išskirtų iš gvardikų tarpusavio santykiai. *Ecological effects of Microorganism action*. International conference: Materials: Vilnius, 1997, p. 305–308.
14. Snieškienė V., Stankevičienė A. Phytopathogenic evaluation of *Dieffenbachia* grown in Kaunas Botanical Garden. *Plant genefund accumulation, evaluation and protection in the Botanical Gardens*. Vilnius, 1999, p. 84–85.
15. Snieškienė V., Vitas A., Stankevičienė A. *Phytophthora* genties grybų tyrimai Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode. *Dekoratyvųjų ir sodo augalų sortimento, technologijų ir aplinkos optimizavimas: mokslo darbai*, 2012, 3(8), p. 92–97.
16. Stankevičienė A. Mycological characteristics of substrata used for flower cultivation in greenhouses. 2000.
17. Stankevičienė A. Micromycete diversity in the rhizosphere of the *Bromeliaceae* family pot-plants. *Botanica Lithuanica*, 13(4), 2007, p. 257–260.
18. Stankevičienė A. Patogeninių mikromicetų įvairovė skirtingos adaptacijos dekoratyvinių tropikų augalų rizosferoje. *Žmogaus ir gamtos sauga: tarptautinės mokslinės – praktinės konferencijos medžiaga*, 2 dalis. LŽŪU. Akademija, 2008.05.14–17, p. 110–113.
19. Stankevičienė, A. Mikroskopinių grybų rūšių įvairovė uždaramame grunte auginamų augalų rizosferoje. *Vytauto Didžiojo universiteto botanikos sodo raštai*, 2012, 16, p. 85–96.
20. Stankevičienė A. Substratui ruošti naudojamo komposto cheminė ir mikologinė būklė. *Vytauto Didžiojo universiteto botanikos sodo raštai*, 2013, 17, p. 177–186.
21. Stankevičienė A. 2016. Mikroskopinių grybų, funkcionuojančių augalų šaknyje, įvairovės tyrimai Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode. *Žmogaus ir gamtos sauga* 2016, p. 59–62. ASU.
22. Stankevičienė A., Lugauskas A. *Trichoderma viride* Pers. against pathogenic microorganisms of *Dianthus* L. *Bulletin of the Polish academy of sciences. Biological Sciences*, 1999, 47(2–4), p. 207–215.
23. Stankevičienė A., Lugauskas A. Mycological state of imported sick plants of the family *Agavaceae*.

- Biologija*, 2001, Nr. 3, p. 51–53.
24. Stankevičienė A., Lugauskas A. Micromycetes of the *Fusarium* genus associate with pot-plants. *Sodininkystė ir daržininkystė: mokslo darbai*, 2003a, 22(3), p. 222–229.
 25. Stankevičienė A., Lugauskas A. Micromycetes of the *Pythium* genus associated with pot-plants. *Botanica Lithuanica*. 2003b, 9(2), p. 185–189.
 26. Stankevičienė A., Lugauskas A. Kauno botanikos sodo oranžerijoje tropinių augalų rizosferoje funkcionuojančių mikromicetų rūšių įvairovė. *Vagos: mokslo darbai. LŽŪU*, 2006, 69, p. 72–77.
 27. Stankevičienė A., Lugauskas A. 2007. *Vriesea splendens* augalo rizosferoje funkcionuojančių mikromicetų rūšių įvairovė. *Žvilgsnis į mikroorganizmų pasaulį*. Vilnius, p. 82–88.
 28. Stankevičienė A., Lugauskas A. Mikromicetų įvairovė augalų rizosferoje skirtingose oranžerijos sekcijose. *Vytauto Didžiojo universiteto botanikos sodo raštai*. 2008, 12, p. 84–93.
 29. Stankevičienė A., Lugauskas A. *Arecaceae* šeimos augalų, augančių Vytauto Didžiojo Universiteto Kauno botanikos sode, rizosferoje aptinkamų mikroskopinių grybų įvairovė. *Vytauto Didžiojo universiteto botanikos sodo raštai*, 2011, 15, p. 104–112.
 30. Stankevičienė A., Lugauskas A., Snieškienė V. Mikromicetų rūšių įvairovė ir kaita skirtingose ekologinėse sąlygose vazonuose augančių tropinių augalų rizosferoje. *Vagos: mokslo darbai. LŽŪU*, 2008, 80(33), p. 102–107.
 31. Stankevičienė A., Lugauskas A., Snieškienė V. Introdukuojamų dekoratyviųjų augalų (*Dizygotheca elegantissima* (Veitch). Vig. et Guillaumin ir *Schefflera arboricola* (Hayata) Merr.) būklę įtakojantys veiksniai. *Žmogaus ir gamtos sauga: tarptautinės mokslinės – praktinės konferencijos medžiaga. LŽŪU: Akademija*, 2010, I dalis, p. 141–144.
 32. Stankevičienė A., Lugauskas A., Snieškienė V., Juronis V., Varkulevičienė J. *Verticillium* sp. in the rhizosphere of pot plants. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych. Nowe patogeny roślin*. Warszawa: Instytut Sadownictwa i kwiaciarnictwa w Skierniewicach, 2008, p. 201–205.
 33. Stankevičienė A., Snieškienė V. *Trichoderma viride* against some of pink rot and wilt agents. *Sodininkystė ir daržininkystė: mokslo darbai*, 2003, 22(3), p. 395–400.
 34. Stankevičienė A., Snieškienė V. The diversity of pathogenic fungi in the rhizosphere of hardly adapting tropical plants. *Plant protection under protected ground conditions: perspectives of the XXI century: informational bulletin, IOBC/EPRS*. Nesvyž, 2010, 41, p. 89–94.
 35. Stankevičienė A., Snieškienė V. Mikroskopiniai grybai, įtakojantys *Rhododendron* L. būklę želdynuose: VDU Kauno botanikos sodo pavyzdžiu. *Miestų želdynų formavimas: mokslo darbai. Klaipėda*, 2010a, 1(7), p. 160–165.
 36. Stankevičienė A., Snieškienė V. Mikroskopinių grybų rūšių įvairovė ir paplitimas *Rhododendron* L. rizosferoje. *Dekoratyviųjų ir sodo augalų sortimento, technologijų ir aplinkos optimizavimas: mokslo darbai*, 2010b, 1(6), p. 150–154.
 37. Stankevičienė A., Snieškienė V. Aplinkos veiksnių ir mikroskopinių grybų poveikis introdukuojamų *Dracena* Van. ex L. augalų būklei. *Žmogaus ir gamtos sauga: tarptautinės mokslinės – praktinės konferencijos medžiaga. LŽŪU: Akademija*, 2011, 1 dalis, p. 135–138.
 38. Stankevičienė A., Snieškienė V., Juronis V. Micromycete diversity in the rhizosphere of the *Agavaceae* family pot-plants. *Botanica Lithuanica*, 2003, 9(2), p. 191–194.
 39. Stankevičienė A., Snieškienė V., Lugauskas A. Mikromicetai, išskirti iš *Ficus* genties augalų rizosferos. *Botanica Lithuanica*, 1999, Suppl. 3, p. 27–32.
 40. Stankevičienė A., Snieškienė V., Lugauskas A. Mikroskopinių grybų įvairovė pažeistų augalų, augančių Kauno botanikos sodo kolekcijose, rizosferoje. *Vytauto Didžiojo universiteto botanikos sodo raštai*. 2010, 14, p. 169–175.
 41. Stankevičienė A., Snieškienė V., Varkulevičienė J. The diversity of pathogenic fungi in the rhizosphere of pot-plants of different phytopathologic state. *Agronomy Research*. Saku, Estonia: Rebellis, 2009, Vol. 7, Sp. Iss. 1, p. 505–510.
 42. Stankevičienė A., Survilienė E., Valiuškaitė A. Micromycete Diversity in the Rhizosphere of the Clove Pink (*Dianthus caryophyllus* L.) Plants. *Vagos: mokslo darbai. LŽŪU*, 2006, 69, p. 78–83.
 43. Stankevičienė A., Varkulevičienė J. Pathogenic micromycete species functioning in the rhizosphere of sick pot-plants growing in peat substrate. *Agronomy research*, 2006a, Vol. 4, Special iss., p. 393–396.
 44. Stankevičienė A., Varkulevičienė J. Research of Lithuanian cultivars and hybrids of *Paeonia lactiflora* in Kaunas botanical garden. *Baltic botanic gardens in 2004–2006: Estonia, Latvia, Lithuania*. Kaunas: Vytauto Didžiojo universiteto leidykla, 2006b, p. 34–39.
 45. Varkulevičienė J., Stankevičienė A. Introduction and research of *Marantaceae* family plants in Kaunas botanical garden. *Baltic botanic gardens in 2002–2003: Estonia, Latvia, Lithuania*. Tartu: Tartu University Press, 2004, p. 27–31.
 46. Varkulevičienė J., Stankevičienė A. Bromelijinių (*Bromeliaceae*) šeimos augalų introdukcija ir tyrimai Kauno botanikos sode. *Lietuvos biologinė įvairovė: būklė, struktūra, apsauga: mokslinių straipsnių rinkinys*.

- Vilnius: Vilniaus pedagoginis universitetas. 2005, 1, p. 134–138.
47. Varkulevičienė J., Stankevičienė A. *Arecaceae* šeimos augalų, augančių Vytauto Didžiojo Universiteto Kauno botanikos sode, rizosferoje aptinkamų mikroskopinių grybų įvairovė. *Vytauto Didžiojo universiteto botanikos sodo raštai*. 2011, 15, p. 104–112.
 48. Varkulevičienė J., Stankevičienė A. Lietuvoje sukurtų bijūnų veislių ir hibridų introdukcija ir tyrimai Kauno botanikos sode. *Vytauto Didžiojo universiteto botanikos sodo raštai*. 2006, 11, p. 36–42.
 49. Vitas A., Oszako T., Nowakowska J., Sikora K., Stankevičienė A. First records of *Phytophthora* sp. based on DNA analysis in Lithuania. *Folia forestalia Polonica, series A - forestry*. Raszyn, Poland: Forest research institute, 2012, Vol. 54(1), p. 25–31.
 50. Лугаускас А., Гринцявичене А., Микульскене А. Микромицеты в тепличных торфяных субстратах занятых гвоздикой. *Торф в народном хозяйстве*. Томск, 1991, с. 221.
 51. Мирчинк Т. Г. *Почвенная микология*. Москва: Наука, 1988. 220 с.
 52. Снешкене В., Юронис В., Станкявичене А. Возбудители фузариозов в rizosfere импортируемых в Литву интерьерных растений. *Биологические науки Казахстана*. Павлодар: Павлодарский государственный педагогический институт, 2004, 3–4, p. 69–73.
 53. Снешкене В., Юронис В., Станкявичене А. Патогенез ввозимых из заграницы в Литву цветочных растений. *Hortus Botanicus: международный журнал ботанических садов* [elektroninis išteklius]. 2006, 4, p. 1–4. Prieiga per internetą: <http://hortus.karelia.ru/bgm/hb.htm>
 54. Снешкене В., Гринцявичене А. Грибы рода *Trichoderma* против грибной и бактериальной инфекции гвоздики ремонтантной. *Вопросы теории и практики защиты интродуцированных растений от вредителей, болезней*. Киев, 1991, с. 45.

METHODS AND RESULTS OF ISOLATION OF MICROSCOPIC FUNGI FROM THE RHIZOSPHERE OF ORNAMENTAL PLANTS

Antanina Stankevičienė

*Kaunas Botanical Garden of Vytautas Magnus University,
Ž. E. Žiliberio str. 6, 46324 Kaunas, e-mail: antanina.stankeviciene@vdu.lt*

Peer reviewer: dr Vilija Snieškienė, Kaunas Botanical Garden of Vytautas Magnus University

Summary

Article presents the research data of microscopic fungi studies on rhizosphere of ornamental plants, carried out during 1989–2012 at Kaunas Botanical Garden of Vytautas Magnus University. Microscopic fungi were isolated by applying biological isolation method of pure cultures. The dependence between plant species, status, environmental conditions were assessed using analytical-theoretical research method during the mycological study (1989–2012) on rhizosphere of ornamental plants grown at Kaunas Botanical Garden of Vytautas Magnus University. Study disclosed the decreasing variety of fungi species and increasing detection frequency during vegetation stage of perennial plants (*Dianthus caryophyllus*). The long term growth at one substrata results plant root metabolite – diversity decreases, prevail species specific to species of this plant. The rudiments of pathogenic fungi are detected while the plant is still healthy. At the root zone of plants with over ground injuries (*Abies balsamea*, *Picea* sp., *Thuja* sp., *Rhododendron* spp., *Dahlia* sp., *Paeonia* spp.) grown at the outdoor collections there were detected pathogens: *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea*, *Phoma exiqua*, etc.

Key words: ornamental plants, microscopic fungi, rhizosphere.

Gauta: 2017 m. vasario mėn. 22 d.
Gauta recenzija: 2017 m. vasario mėn. 22 d.
Priimta: 2017 m. balandžio mėn. 4 d.

Received: February 22, 2017.
Revision received: February 22, 2017.
Accepted: April 4, 2017.