

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 579.25:630*1
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-3-183-197>

Поступила в редакцию 15.05.2024
Received 15.05.2024

**В. А. Ярмолевич¹, С. В. Пантелеев², И. А. Хархасова², К. В. Зенюк¹,
Л. О. Иващенко¹, А. В. Константинов², О. Ю. Баранов³**

¹Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

²Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

³Отделение биологических наук НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВИДОВАЯ СТРУКТУРА МИКОБИОМОВ КОРНЕЙ САМОСЕВА И СЕЯНЦЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ И ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ

Аннотация. В статье изложены результаты молекулярно-генетической идентификации видового состава микобиомов корневых систем 1–2-летних растений сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.), произрастающих в лесных питомниках и естественных насаждениях. Установлены показатели биоразнообразия (обилие видов, индекс доминирования, индекс разнообразия Шеннона) и приведена сравнительная характеристика исследованных микобиомов.

Выявлено, что основные видовые комплексы микориз ювенильных растений сосны и ели образованы сходными грибными видами, относящимися к родам *Wilcoxina*, *Phialocephala*, *Helotiaceae* и др. При этом для самосева характерна и моновидовая микориза, представленная базидиомицетами родов *Russula*, *Rhizopogon*, *Laccaria*. Наибольшие значения показателей видового разнообразия грибных сообществ отмечались для самосева как ели европейской ($H_{\max} = 2,6$), так и сосны обыкновенной ($H_{\max} = 2,5$). Ведущим фактором, определяющим видовую структуру микобиомов в естественных условиях и в питомниках, являлись локальные почвенно-биотические условия.

Ключевые слова: микобиом, самосев, сеянцы, сосна обыкновенная, ель европейская, микориза, патогены

Для цитирования: Видовая структура микобиомов корней самосева и сеянцев сосны обыкновенной и ели европейской / В. А. Ярмолевич [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2024. – Т. 69, № 3. – С. 183–197. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-3-183-197>

**Vasili A. Yarmalovich¹, Stanislav V. Panteleev², Irina A. Kharkhasova², Karalina V. Zeniuk¹,
Liubou A. Ivashchanka¹, Andrey V. Konstantinov², Oleg Yu. Baranov³**

¹Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus

²Forest Research Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus

³Department of Biological Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

SPECIES STRUCTURE OF NATURAL REGENERATION AND SEEDLING ROOT MYCOBIOMES OF SCOTS PINE AND NORWAY SPRUCE

Abstract. Mycobiomes of roots of 1–2-year-old *Pinus sylvestris* L. and *Picea abies* (L.) Karst. plants in forest nurseries and natural woods were studied using molecular genetic methods. Biodiversity indicators were established (species abundance, dominance index, Shannon diversity index) and comparative characteristics of the studied mycobiomes were provided.

It was revealed that the main species complexes of mycorrhizae of juvenile pine and spruce plants were formed by a similar list of fungal species from the genera *Wilcoxina*, *Phialocephala*, *Helotiaceae*, etc. At the same time, natural regeneration was also characterized by monospecies mycorrhiza represented by basidiomycetes from the genera *Russula*, *Rhizopogon*, *Laccaria*. In fungal communities the highest level of species diversity indicators values was observed for Norway spruce ($H_{\max} = 2.6$) and Scots pine ($H_{\max} = 2.5$) seedlings from forest stands. The leading factor determining the species structure of mycobiomes, both in natural conditions and in nurseries, was local soil-biotic conditions.

Keywords: mycobiome, natural regeneration, seedlings, Scots pine, Norway spruce, mycorrhiza, pathogens

For citation: Yarmalovich V. A., Panteleev S. V., Kharkhasova I. A., Zeniuk K. V., Ivashchanka L. A., Konstantinov A. V., Baranov O. Yu. Species structure of natural regeneration and seedling root mycobiomes of Scots pine and Norway spruce. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2024, vol. 69, no. 3, pp. 183–197 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-3-183-197>

Введение. Изучение особенностей формирования микобиомов корневых систем растений представляет собой важную, но достаточно сложную научную задачу, успешное выполнение которой позволяет раскрывать основные механизмы и закономерности функционирования почвенных биоценозов. Сложность анализа в значительной степени обусловлена трудоемкостью точной

идентификации ассоциированных с корнями грибов при использовании доступных для исследователей микробиологических и микроскопических методов. Практическая значимость изучения видового состава микобиомов корней растений заключается в разработке агротехнологических методов его регулирования и направленного формирования, что позволяет сократить удельный вес патогенной микрофлоры и увеличить содержание целевых симбиотических микроорганизмов.

Научные исследования фитопатогенной микобиоты, в том числе возбудителей болезней корневых систем, широко представлены в литературе, и их количество постоянно увеличивается. Особую актуальность в последнее время приобрели направления мониторинга появления агрессивных рас космополитных и инвазивных видов, а также ранее не описанных видов микромицетов [1, 2].

Явление микоризы впервые было описано в 1879 г. биологом Ф. М. Каменским [3], а сам термин был введен ботаником А. Б. Франком в 1885 г. [4]. В то же время, несмотря на практическую значимость данного типа симбиоза, механизмы формирования микоризных ассоциаций, в том числе на древесных видах, описаны недостаточно полно [5].

Одним из факторов, ограничивающих изучение микоризной микрофлоры, является отсутствие эффективных способов культивирования микобионтов, в частности трудоемкость получения и депонирования культур *in vitro* для последующего описания. В связи с интенсивным развитием молекулярно-генетических технологий анализа микроорганизмов видовой перечень идентифицированных микоризообразователей начал существенно расширяться [6, 7], что позволило перейти от изучения функциональной роли отдельных таксонов симбиотических грибов к определению свойств и характеристик их ассоциаций. Так, например, изучение эктомикоризы (ЭКМ) как одного из наиболее распространенных типов грибного симбиоза позволило разработать препараты и технологии микоризации, что имеет особое значение в программах по лесовосстановлению с использованием методов инокуляции посадочного материала в лесных питомниках и культурах. Искусственная микоризация показала свою актуальность при разработке стратегии защиты лесов от последствий изменения климата [8].

Видовое богатство и таксономическое разнообразие микоризных симбионтов существенно: около 7–10 тыс. видов грибов образуют ЭКМ примерно с 8 тыс. видов растений, произрастающих на большей части земного шара и представляющих преимущественно лесные экосистемы [9]. В качестве примера можно привести сосну обыкновенную – основную лесообразующую породу Беларуси, которая способна вступать в микоризный симбиоз почти с 300 видами ЭКМ-грибов [10–13]. Необходимость микоризного взаимодействия обусловлена участием ЭКМ-грибов в круговороте биогенных элементов, а также их способностью оптимизировать метаболизм растений, усиливать у последних минеральное питание и устойчивость к ряду неблагоприятных факторов среды: засухе, засолению, воздействию тяжелых металлов и патогенов [14, 15]. Грибной мицелий в составе микоризы позволяет увеличить всасывающую поверхность корней растений, мобилизовать в почве труднорастворимые соединения фосфора, калия и других минеральных элементов, синтезировать ряд биологически активных веществ. В свою очередь, грибы, будучи гетеротрофными организмами, получают от растений органический углерод [14, 16, 17]. Особая роль в интеграции сообществ растений и грибов в многоуровневую коммуникационную сеть [18], а также в повышении плодородия почвы отводится грибам-микоризообразователям [19–21].

Микоризные микобиомы, как правило, характеризуются большим видовым разнообразием (от 20 до 35 таксонов) даже в случае монокультур лесных древесных растений. Большинство исследователей объясняют данную особенность микрофлоры высокой конкуренцией за ресурсы и активным межвидовым взаимодействием [22]. Аналогичная ситуация и в лесных питомниках, где отмечается постоянное антропогенное воздействие на среду обитания. Анализ микобиомов корней лесного посадочного материала, проведенный в 23 питомниках Польши, показал, что сеянцы даже однолетних растений практически полностью колонизированы. В целом в обследованных питомниках выявлено 29 таксонов грибов. При этом в пределах корневой системы одного растения видовое разнообразие варьировалось от 3–10 таксонов для однолетних сеянцев до 6–13 таксонов для двухлетних сеянцев. Выявлено, что в грибных сообществах микоризных грибов однолетних сеянцев преобладали представители Ascomycota, в частности *Wilcoxina mikolae*.

В то же время у двулетних растений происходила трансформация структуры видовых сообществ корней с заменой представителей Ascomycota на Basidiomycota (*Suillus luteus*, *Rhizopogon roseolus*, *Thelephora terrestris*, *Hebeloma crustuliniforme* и др.) [23].

Дальнейшее развитие молекулярно-генетических методов анализа грибных организмов дало возможность выполнять идентификацию микобиомов на новом качественном уровне: проводить диагностику на уровне штаммов или отдельных генотипов, оценивать количественное содержание генетического материала грибов, типировать моно- и полиинфекции, анализировать биологические образцы, представленные в следовых количествах, и др.

Применение технологий высокопроизводительного секвенирования и интенсивное накопление в базах данных генетической информации определили высокую популярность метагенетического подхода к анализу сообществ микроорганизмов, в том числе грибов. В отличие от метагеномного скрининга, в ходе метагенетических исследований данные, полученные в результате диагностирования участков ортологичных (баркодинговых) генов микроорганизмов, анализируются непосредственно в изучаемом материале. Одними из преимуществ генетических подходов идентификации (перед микробиологическими) являются учет и количественная оценка некультивируемых (как правило, биотрофных) патогенов наряду с культивируемыми микроорганизмами. Кроме того, молекулярно-генетический анализ микобиомов позволяет идентифицировать все находящиеся в биологическом образце виды грибов независимо от их таксономической принадлежности и долевого участия [24].

Цель исследований – проведение метагенетического анализа микобиомов корней молодых растений сосны обыкновенной и ели европейской и последующий сравнительный анализ видовой структуры изученных ассоциаций.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являлись 1–2-летние растения сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. и ели европейской *Picea abies* (L.) Karst., произрастающие на территории Беларуси в 10 лесных питомниках и 10 естественных насаждениях. Растения, собранные в лесных питомниках, были обозначены нами как «сеянцы», в естественных насаждениях – как «самосев». Перечень мест коллектирования экспериментального материала представлен в табл. 1.

Образцы из питомников были представлены посадочным материалом с открытой корневой системой, выращиваемым в условиях открытого (посевное отделение) и защищенного (теплицы, короба) грунта. Отбор самосева под пологом леса осуществляли на территориях лесничеств, где располагались питомники, т. е. в пределах аналогичного географического расположения. Растения на участках выращивания отбирали равномерно, максимально сохраняя корневые системы. Коллектирование производили с июля по октябрь 2022 г.

Пробоподготовка. В полевых условиях производили поверхностную очистку корневых систем от частиц почвы и внешних примесей стороннего биологического материала в проточной воде, а затем в 70%-ном этаноле. Образцы упаковывали в одноразовые полиэтиленовые пакеты и в течение 3–12 ч помещали на первичное хранение (до 1 сут) в морозильную камеру ($T = -18\text{ }^{\circ}\text{C}$). Долгосрочное хранение (до 6 мес.) осуществлялось при температуре $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Для последующего анализа в лабораторных условиях было отобрано 258 фрагментов корневых систем размером 1–5 мм от визуально здоровых, хорошо развитых растений. Препарированный материал промывали дистиллированной водой и помещали в центрифужные пробирки типа Eppendorf (1,5 мл).

ДНК-анализ. Препараты ДНК получали с помощью СТАВ-метода [25] с измененным режимом этапа экстракции ($T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

В качестве маркерного локуса для метагенетического анализа микобиомов использовали внутренний транскрибируемый спейсер ITS1 рДНК [24, 26].

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) осуществляли с помощью набора ArtMix Форез (2X) (АртБиоТех, Беларусь) согласно инструкции фирмы-производителя, ПЦР-амплификацию маркерного локуса – с применением праймеров ITS1F/ITS2FAM [26].

На первом этапе исследований с использованием генетического анализатора Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, США) проводили электрофоретический

Т а б л и ц а 1. Места коллектирования биологических образцов

T a b l e 1. Field material collection sites

Геоботаническая подзона	Лесхоз (учреждение) / лесничество (питомник)	Местоположение (квартал/выдел), тип леса, возраст, отделение питомника	Древесный вид	Возраст, растений, лет
Самосев (под пологом леса)				
I (широколиственно-еловые леса)	Полоцкий учебно-опытный / –	177/2, С. мш., 104 года	С. об.	2
			Е. евр.	2
	Двинская ЭЛБ / Подевильское	32/20, С. ор., 65 лет 1/60, С. ор., 120 лет	С. об.	2
			Е. евр.	2
II (елово-грабовые дубравы)	Негорельский учебно-опытный / Центральное	77/24, С. ор., 75 лет 33/1, С. ор., 130 лет	С. об.	2
			Е. евр.	2
	Жорновская ЭЛБ / Жорновское	156/25, С. ор., 75 лет		2
III (грабовые дубравы)	Речицкий опытный / Речицкое	24/25, С. кис., 140 лет		2
	Корневская ЭЛБ / Корневское	163/8, С. ор., 83 года 173/20, С. мш., 68 лет 402/7, С. ор., 78 лет	С. об.	1–2
				1
				1–2
Сеянцы (в лесных питомниках)				
I (широколиственно-еловые леса)	Двинская ЭЛБ / врем. питомник	Посевное и закрытого грунта	С. об.	1
			Е. евр.	2
	Островецкий опытный / пост. питомник	Посевное	Е. евр.	1
II (елово-грабовые дубравы)	Воложинский / пост. питомник	Посевное	С. об.	2
	Любанский / пост. питомник	Посевное	Е. евр.	1
	Любанский / кулисный питомник	Посевное	С. об.	2
	Любанский / тепличное хозяйство	Короб	Е. евр.	1
	Негорельский УОЛ	Посевное	С. об.	2
	Осиповичский опытный / пост. питомник	Посевное и закрытого грунта	С. об.	1
			Е. евр.	1
	Узденский / пост. питомник	Посевное	С. об.	2
III (грабовые дубравы)	Корневская ЭЛБ	Посевное	С. об.	1
Всего	10 питомников	10 насаждений		–

анализ всего спектра получаемых ПЦР-продуктов образцов. Интерпретацию полученных данных выполняли с помощью программного пакета GeneMapper v. 4.1 (Thermo Fisher Scientific, США).

Для установления видовой принадлежности ампликонов все их размерные варианты (по 3 шт. от разных образцов) отсекали по отдельности с применением праймера ITS1F на базе генетического анализатора Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколам фирмы-производителя. Видовую идентификацию секвенированных нуклеотидных последовательностей образцов грибов осуществляли в базе данных NCBI GenBank (США), используя онлайн-сервис BLAST [27].

Полученные данные идентификации грибов (на основе результатов секвенирования и размера маркерного региона ITS1) заносили в таблицу для составления молекулярно-генетического атласа-определителя. Последующий анализ атласа-определителя показал, что все выявленные в микобиомах виды грибов характеризовались уникальным (видоспецифичным) размером маркерного региона ITS1, что обуславливало информативность данного молекулярного признака.

В случае отсутствия в базе данных NCBI GenBank для депозитов ITS1-маркера соответствующих им видовых названий грибов или непосредственно самих искомым последовательностей обозначение данных таксонов микромицетов при проведении сравнительной оценки микобиомов производили по значению молекулярного размера маркерного региона ITS1 (например, *Uncultured fungus 230* или *Uncultured fungus 288*).

Для оценки видовой структуры и видового разнообразия микобиомов использовали следующие показатели: обилие видов (частоты встречаемости), индекс доминирования, индекс разнообразия Шеннона [28]. Математико-статистическую обработку и кластерный анализ сходства структуры микобиомов выполняли с помощью пакета Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты и их обсуждение. В результате молекулярно-генетических исследований корневых окончаний сеянцев сосны обыкновенной и ели европейской было идентифицировано 163 варианта ITS-маркера, для 120 из которых была установлена видовая принадлежность. При последующем анализе нуклеотидные последовательности с уровнем сходства $\geq 97\%$ были объединены в 102 операционные таксономические единицы (ОТЕ). Большинство (70,5 %) выявленных ОТЕ относилось к отделу Ascomycota, остальные – к представителям отделов Basidiomycota (26,5 %) и Zygomycota (3 %). Наибольшее количество (85,3 % от всего числа) ОТЕ было обнаружено в образцах корней сосны, для ели их состав был менее разнообразным – 64,7 %. При этом 51 (50,0 %) ОТЕ была обнаружена как у ели, так и у сосны, а другая половина – в корнях сеянцев только одной из пород (15 (14,7 %) и 36 (35,3 %) шт. соответственно).

Количество нередких (усредненная частота встречаемости $>1\%$) ОТЕ для сосны обыкновенной составило 31 шт., или 35,6 % от ее общего разнообразия. При этом доминирующая группа (усредненная частота встречаемости $>10\%$) была представлена двумя ОТЕ: *Wilcoxina mikolae* (референсный депозит в NCBI GenBank OM238173.1) и *Helotiaceae* sp. (референсный депозит в NCBI GenBank MF789678). Аналогичные показатели для ели европейской составили: нередкие ОТЕ – 24 (36,4 %) шт., доминирующие – 2 (3 %) шт. Как и у сосны обыкновенной, у ели европейской группа доминантов также была представлена указанными выше космополитными микоризными видами грибов – *Wilcoxina mikolae* и *Helotiaceae* sp. Усредненная частота их встречаемости для изученных хвойных пород была сходной и составила 21 и 11,7 % у сосны обыкновенной, 27,3 и 14,5 % – у ели европейской соответственно. Сравнительный анализ перечней нередких ОТЕ грибов у сосны обыкновенной и ели европейской показал, что 16 из них были нередкими у обеих пород, 18 являлись нередкими для одной породы и редкими для другой. Пять ОТЕ были идентифицированы только у одной из пород: три (*Laccaria* sp., *Rhizopogon roseolus*, *Exophiala* sp.) у сосны обыкновенной, две (*Leotiomyces* sp., *Mrakia* sp.) у ели европейской. Согласно литературным данным, перечисленные таксоны грибов не являются узкоспециализированными и их отсутствие у сеянцев одной из древесных пород, по всей видимости, связано с локальными особенностями выборок [29, 30].

Все идентифицированные таксоны грибов были разделены на две функциональные группы: микоризные и условно-патогенные (факультативные паразиты). Отнесение грибных организмов к той или иной группе было опосредованным – осуществлялось исходя из их таксономического названия и базировалось на результатах исследований разных авторов [31, 32]. Согласно проведенной систематизации микобиоты, порядка 60 % были отнесены к симбиотическим видам, образующим устойчивые ассоциации с корневыми окончаниями хвойных пород, остальные – к естественным компонентом микобиома растений, оказывающим негативное влияние в случае ослабления организма хозяина стрессовыми факторами [33, 34].

Проведенный анализ попарных сочетаний грибных таксонов не позволил установить влияние отдельных элементов микобиома друг на друга, что выражалось в отсутствии прямой или обратной корреляции значений показателей долевого участия (представленности) ОТЕ в образцах корневых окончаний. Также не установлено достоверной взаимосвязи наличия или отсутствия тех или иных микромицетов в образцах. Так, в табл. 2 представлен фрагмент базы данных структуры микобиомов образцов корней, полученной на основании метагенетического анализа грибных сообществ.

Несмотря на наличие в табл. 2 отдельных образцов, представленных сверх- и монодоминантными сообществами [35], входящие в их состав ОТЕ могли участвовать в формировании и других вариантов ассоциаций, существенно отличающихся как по таксономическому составу, так и по представленности тех или иных грибных организмов.

Отсутствие, по результатам анализа, статистически достоверных закономерностей формирования видового состава микобиомов, на наш взгляд, не может указывать на нейтральный характер взаимоотношений между разными грибными организмами, а, по всей видимости, объясняется целым рядом стохастических факторов – локальными особенностями структуры микобиоты почв (в том числе «эффектом основателя»), викаризмом, штаммовым разнообразием (включая их свойства) одних и тех же видов грибов, заселением разных участков корней в пределах сеянца

Т а б л и ц а 2. Видовая структура микобиомов корней сеянцев сосны обыкновенной по данным метагенетического анализа (фрагмент базы данных)

T a b l e 2. Species structure of mycobiomes of Scots pine seedling roots based on the metagenetic analysis data (database fragment)

Обозначение микромицета	Номер образца растения								
	1	2	3	71	75	126	128	149	150
<i>Akanthomyces muscarius</i>	0	0	1,92	0	0	0	0	0	0
<i>Archaeorhizomyces</i> sp.	7,76	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cadophora</i> sp.	0	0	0	0	0,81	0	0	0	0
<i>Clonostachys</i> sp.	0	5,15	11,21	0	0	0	0	0	0
<i>Dactylonectria</i> sp.	2,82	4,36	14,5	0,29	0,91	0	0	0,33	0,5
<i>Fusarium</i> sp.	6,83	0	6,47	0	14,91	0	0	0	11,3
<i>Hebeloma naviculosporum</i>	0	0	1,54	0	0	0	0	0	0
<i>Helotiaceae</i> sp.	0	8,3	1,02	5,49	3,91	0	100	24,9	41,33
<i>Hyaloscypha hepaticicola</i>	0	0	2,31	28,34	4,62	0	0	0	0
<i>Lactarius</i> sp.	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0
<i>Meliniomyces variabilis</i>	0	0	0	0	2,01	0	0	0	0
<i>Mollisia</i> sp.	0	0	0	0	8,26	0	0	0	0
<i>Mortierella humilis</i>	0	0	0	4,03	0	0	0	0	0
<i>Nemania serpens</i>	0	0	4,61	0	0	0	0	0	0
<i>Oidiodendron</i> sp.	0	0	0	4,8	5,57	0	0	0	4,27
<i>Peniophora cinerea</i>	0	0	0	7,47	16,51	0	0	0	0
<i>Peziza</i> sp.	62,67	0	0	0	0	0	0	38,06	0
<i>Phialocephala fortinii</i>	14,73	7,34	0	7,71	13,08	0	0	0	0
<i>Phoma</i> sp.	0	0	0	1,93	0	0	0	0	0
<i>Pustularia</i> sp.	0	0	0	3,35	8,16	0	0	0	0
<i>Russula</i> sp.	0	0	0	0,57	0	100	0	0	0
<i>Suillus luteus</i>	3,76	0	0	1,83	5,13	0	0	0	0
<i>Talaromyces ruber</i>	0	1,83	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tetracladium furcatum</i>	0	0	1,11	0	0	0	0	0	0
<i>Tomentella</i> sp.	0	0	0	1,27	0	0	0	0	0
<i>Trechisporales</i> sp.	0	2,12	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tricholoma</i> sp.	0	0	0	2,45	0	0	0	0	0
<i>Tuber</i> sp.	0	0	1,58	0	0	0	0	0	0
<i>Tylospora asterophora</i>	0	29,44	20,87	0	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 18p</i>	0	18,72	0	0	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 18n</i>	0	0	0	5,5	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus MW215033.1</i>	0	1,98	0	0	6,81	0	0	0	0
<i>Wilcoxina mikolae</i>	0	13,79	21,71	0	0	0	0	36,71	41,33
<i>Uncultured fungus 225</i>	0	0	0	4,84	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 230</i>	0	4,82	0	0	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 231</i>	0	0	7,37	0	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 232</i>	0	0	0	0	6,71	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 238</i>	0	0	0	1,81	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 242</i>	0	0	0	3,09	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 260</i>	0	2,16	0	0	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 285</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1,27
<i>Uncultured fungus 294</i>	0	0	0	0,72	0,53	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 316</i>	0	0	3,78	0	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 335</i>	0	0	0	14	0	0	0	0	0
<i>Uncultured fungus 358</i>	0	0	0	0	2,09	0	0	0	0

П р и м е ч а н и е. Жирным шрифтом выделены ОТЕ с долевым участием в образце $\geq 10\%$.

разными видами грибных организмов, трансформацией микобиомов во времени и на разных стадиях онтогенеза растений.

Изучение сеянцев из различных регионов Беларуси также не выявило значимых различий в структурах анализируемых групп, что, вероятно, указывает на более значительный вклад локальных особенностей мест сбора образцов в формирование микобиомов корневых систем растений.

В то же время проведенный анализ микобиомов в разрезе особенностей произрастания (естественных или при выращивании в питомниках) позволил выявить ряд отличий как в видовой структуре, так и применительно к параметрам, описывающим биоразнообразие.

Анализ уровня дифференциации структур микобиомов (на основе усредненных частот встречаемости грибных видов) показал, что наибольшим сходством обладали группы с одинаковыми условиями произрастания (рис. 1).

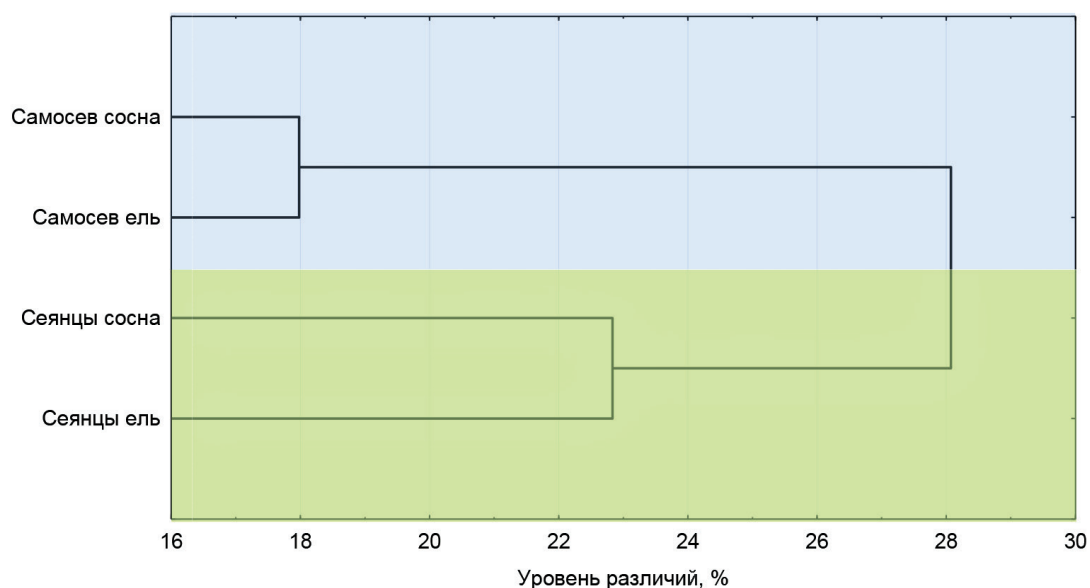


Рис. 1. Дендрограмма степени дифференциации видовых структур микобиомов корней самосева и сеянцев

Fig. 1. Dendrogram of species differentiation of natural regeneration and seedling root mycobiomes structures

У отмеченных на дендрограмме двух отдельных кластеров (естественные насаждения (самосев) и лесные питомники (сеянцы)) наименьший уровень различий выявлен среди объектов естественного происхождения, что, вероятно, обусловлено более низкими значениями усредненных частот встречаемости, доминирующих в микобиомах ОТЕ. Так, медиана значений индекса доминирования для сеянцев сосны из естественных насаждений и лесных питомников составила 0,25 и 0,34 соответственно, для ели – 0,39 и 0,44 (рис. 2).

Особенностью самосева сосны являлось значительное число (22,7 %) выявленных образцов с моновидовыми микоризами (индекс доминирования – 1). При этом в качестве монодоминантных микоризообразователей у разных образцов могли выступать альтернативные виды-симбионты: характерные для взрослых растений базидиомицеты родов *Russula*, *Rhizopogon*, *Laccaria* и ассоциированные, как правило, с молодыми растениями аскомицетные грибы *Wilcoxina mikolae*, *Helotiaceae* sp. В корневых системах всех изученных сеянцев были идентифицированы в основном комплексные по составу микобиомы, содержащие два и более вида грибов одновременно.

Распределение значений индекса доминирования среди микобиомов сеянцев сосны характеризовалось определенной асимметричностью (рис. 3). В то же время для грибных ассоциаций самосева никаких закономерностей в распределении данного показателя не выявлено.

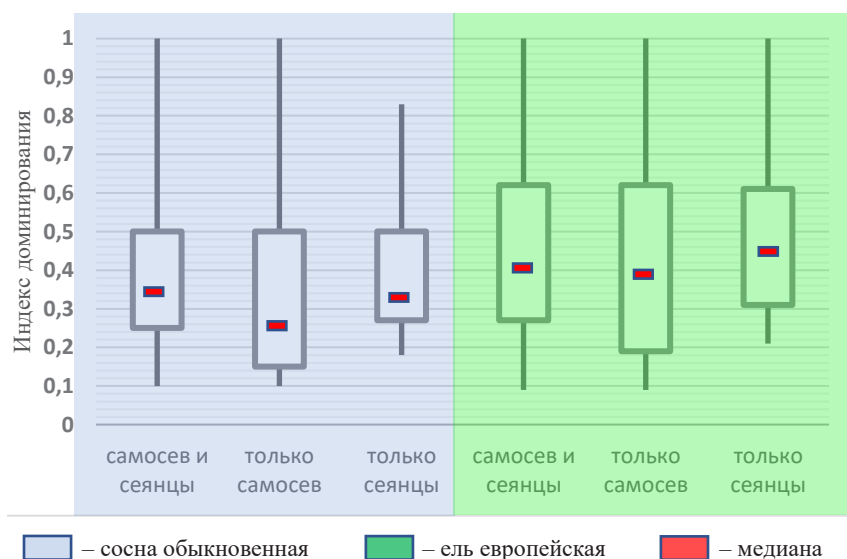


Рис. 2. Распределение значений индекса доминирования среди проанализированных групп образцов
 Fig. 2. Distribution of dominance index values among the analyzed groups of samples

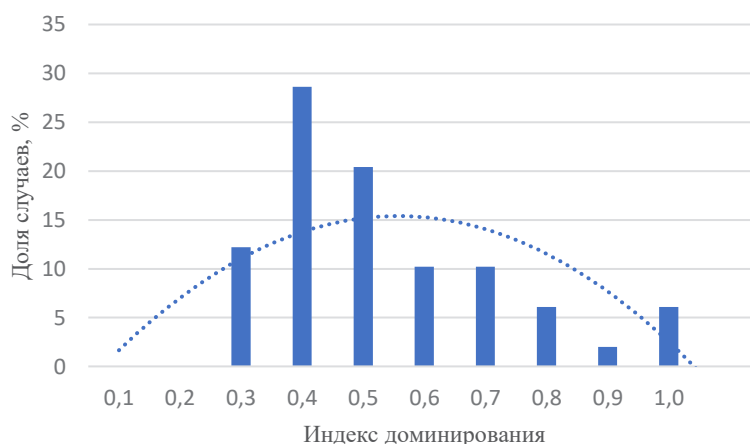


Рис. 3. Распределение значений индекса доминирования среди микобиомов сеянцев сосны
 Fig. 3. Distribution of dominance index values among the mycobiomes of pine seedlings

Для ели европейской как в группе самосева, так и у сеянцев выраженные закономерности распределения значений индекса доминирования отсутствовали. На наш взгляд, полученные результаты для ели европейской в целом, а также для группы самосева сосны обыкновенной указывают на гетерогенность обобщенных выборок, связанную с локальными особенностями мест сбора экспериментального материала.

Изучение параметров, описывающих уровень биологического разнообразия микобиомов, показало, что в целом микоризы самосева сосны и ели являются более разнородной группой (в пределах как индивидуальных образцов растений, так и их совокупности) по сравнению с грибными ассоциациями, идентифицированными в условиях лесных питомников. Так, медиана значения индекса разнообразия Шеннона для самосева сосны обыкновенной составила 1,65, а для условий питомника не превысила 1,35. Для ели европейской значения данного параметра составили 1,35 и 1,05 соответственно. Диапазон значений индекса разнообразия Шеннона для самосева сосны и ели также был более широкий по сравнению с таковым у сеянцев из лесных питомников (рис. 4).

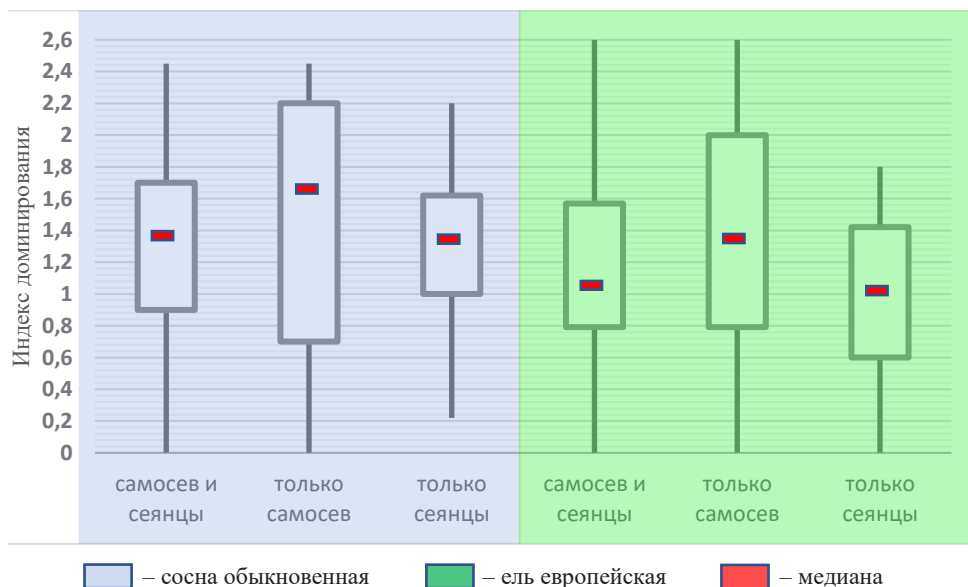


Рис. 4. Распределение значений индекса Шеннона среди проанализированных групп образцов

Fig. 4. Distribution of Shannon Diversity Index among the analyzed groups of samples

Кроме того, проведенный анализ индивидуальных значений индекса Шеннона в каждой из групп растений показал, что для самосева и сеянцев ели европейской, а также для самосева сосны выраженные закономерности в распределении значений показателей отсутствовали, а их распределение среди микобиомов, относящихся к питомникам, в целом отличалось определенной асимметричностью (рис. 5).

Как и в случае с индексом доминирования, выявляемая гетерогенность структур обобщенных выборок, по всей видимости, подтверждает наше предположение о значимой роли локальных особенностей произрастания растительного материала в формировании структуры микоризных комплексов. Данный факт подтверждается и результатами сравнительного анализа степени дифференциации структур выявляемых микобиомов. Так, на рис. 6, где представлена дендрограмма, иллюстрирующая уровень различий видовых структур образцов микориз сеянцев ели европейской из различных лесных питомников, видно, что кластеризация образцов в основном соответствует местам расположения питомников, но не дифференцирует их отдель-

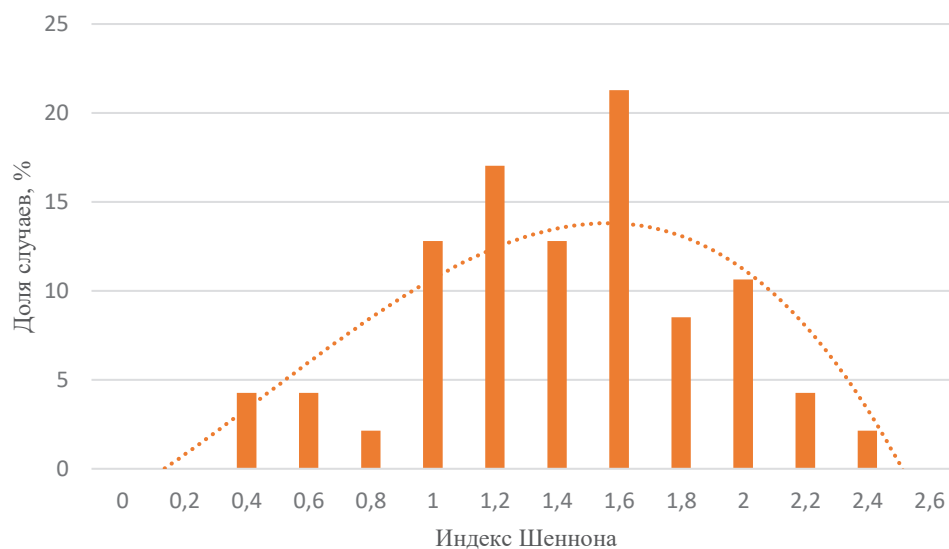


Рис. 5. Распределение значений индекса Шеннона в выборке микобиомов корней сеянцев

Fig. 5. Distribution of Shannon Diversity Index among the samples of seedling root mycobiomes

ные участки (теплица, открытый грунт, короба). Следует также отметить, что даже в случае вхождения отдельных образцов в структуру кластеров других питомников их расположение на дендрограмме являлось пограничным с соответствующей им по происхождению группой. Так, например, образец 18 семени ели (Двинская экспериментальная лесная база) на дендрограмме оказался в общем кластере с образцами, относящимися к Осиповичскому опытному лесхозу. В то же время образец 18 на дендрограмме граничит с образцом 19 кластера Двинской экспериментальной базы.

Детальный анализ полученных результатов показал, что сходство видовых структур обеспечивается в основном за счет «маркерных» таксонов – общих для почвенных условий каждого питомника.

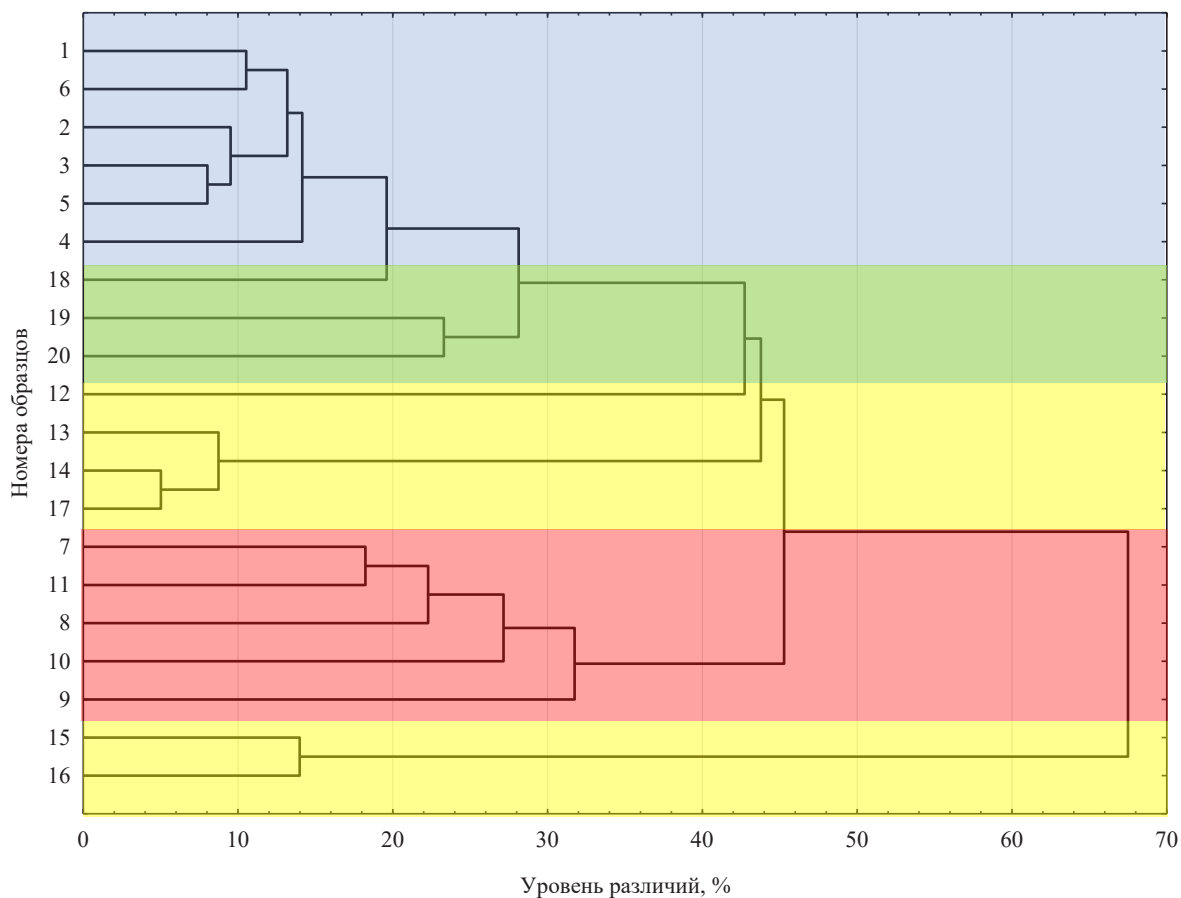


Рис. 6. Дендрограмма степени дифференциации видовых структур микобиомов корней сеянцев ели европейской из различных питомников. Места взятия образцов: 1–3 – Осиповичский опытный лесхоз (закрытый грунт), 4–6 – Осиповичский опытный лесхоз (открытый грунт); 7–11 – Островецкий лесхоз (открытый грунт); 12–14 – Любанский лесхоз (открытый грунт, короба); 15–17 – Любанский лесхоз (открытый грунт); 18–20 – Двинская экспериментальная лесная база Института леса НАН Беларуси (временный питомник, открытый грунт)

Fig. 6. Dendrogram of differentiation of species mycobiome structures among the roots of Norway spruce seedlings from various nurseries. Sampling locations: 1–3 – Osipovichi experimental forestry enterprise (closed ground), 4–6 – Osipovichi experimental forestry enterprise (open ground); 7–11 – Ostrovets forestry (open ground); 12–14 – Lyuban forestry (open ground, box); 15–17 – Lyubansky forestry enterprise (open ground); 18–20 – Dvinsk experimental forest base of the Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (temporary nursery, open ground)

Так, общим таксоном микобиомов сеянцев ели европейской являлся микромицет *Wilcoxina mikolae*, частота встречаемости которого для большинства образцов варьировалась от 13,1 до 100 % (в среднем – 39,4 %, медиана – 36,7 %). В качестве «маркерной» ОТЕ микориз питомников Осиповичского опытного лесхоза и Двинской экспериментальной базы можно выделить *Helotiaceae* sp. (30,1–63,4 %). В питомниках других лесхозов данная ОТЕ не выявлена. В качестве

«маркерного» таксона питомника Островецкого лесхоза выступал микромицет *Phialocephala fortinii* (26,8–54,4 %). Его встречаемость в других питомниках была единичной, а долевое участие в микоризах сеянцев не превысило 1,6 %. Еще одной ОТЕ, характеризующей питомник Островецкого лесхоза, является *Tylospora asterophora*, которая зачастую хоть и не имела доминирующего положения в микоризах (1,42–27,6 %), но не была нами идентифицирована в других локациях. *Hyaloscypha hepaticicola* в данном питомнике также выявлена в умеренном количестве (4,2–6,9 %) и обнаружена только в единичном случае за пределами Любанского лесхоза.

Сходные результаты получены и для сеянцев сосны обыкновенной. Так, на рис. 7 представлена дендрограмма, иллюстрирующая уровень сходства видовых структур микориз сеянцев из открытого грунта питомников трех лесхозов. Несмотря на то что уровень различий между образцами во многих случаях превышал 50 %, в целом характер кластеризации на дендрограмме соответствовал местам произрастания растений, что также подтверждает наличие особенностей у видовых структур данных выборок. При этом следует отметить, что определенный вклад в структуру дендрограмм (см. рис. 6, 7) помимо «маркерных» (общих для локации) видов вносили и особенности всей совокупности распределения таксонов в образцах (включая частоты представленности и сочетание отдельных элементов микросообществ).

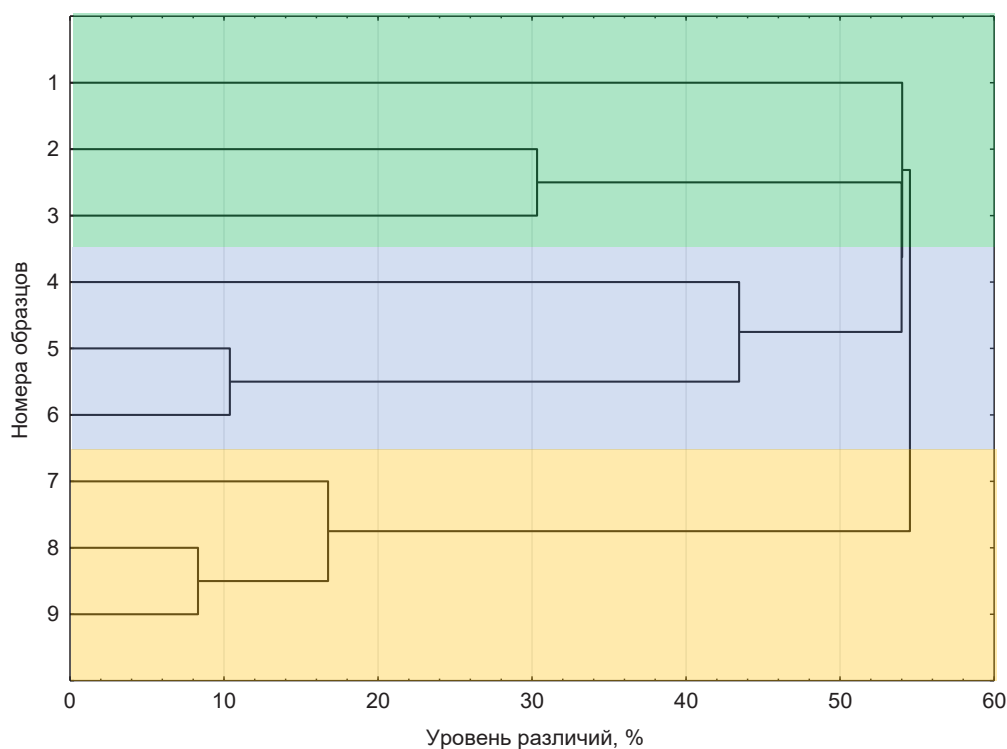


Рис. 7. Фрагмент дендрограммы, показывающей степень дифференциации видовых структур микобиомов корней сеянцев сосны обыкновенной из различных питомников (открытый грунт). Места взятия образцов: 1–3 – Узденский лесхоз, 4–6 – Осиповичский опытный лесхоз, 7–9 – Воложинский лесхоз

Fig. 7. Dendrogram (fragment) of differentiation among mycobiome structures of Scots pine seedling roots collected in open ground of various nurseries. Sampling locations: 1–3 – Uzda forestry enterprise, 4–6 – Osipovichi experimental forestry, 7–9 – Volozhinsky forestry enterprise

Совокупный анализ структуры микобиомов образцов корней сеянцев обеих пород (сосны обыкновенной и ели европейской) также подтвердил преобладающую роль локальных почвенно-биотических особенностей в формировании структуры грибных ассоциаций (рис. 8). Как видно из дендрограммы, представленной на рис. 8, основной характер кластеризации в первую очередь связан с местом произрастания. Так, наибольшее сходство структуры микобиомов корней, как правило, имели сеянцы, произрастающие на территории одного и того же питомника (6–11, 5-10-12 – Осиповичский опытный лесхоз, 2-7, 3-9-8 – Двинская экспериментальная база).

Отсутствие значимых различий между образцами сосны и ели обусловлено главным образом доминирующей составляющей микоризы семянцев – грибными видами, имеющими широкую специализацию – *Helotiaceae* sp. и *Wilcoxina mikolae*, а также наличием в корнях сходной условно-патогенной микрофлоры – *Dactylonectria* sp. (доля инфицированных растений: сосна – 86,2 %, усредненное содержание в микобиоте – 10,55 %, ель – 76,4 и 6,74 % соответственно).

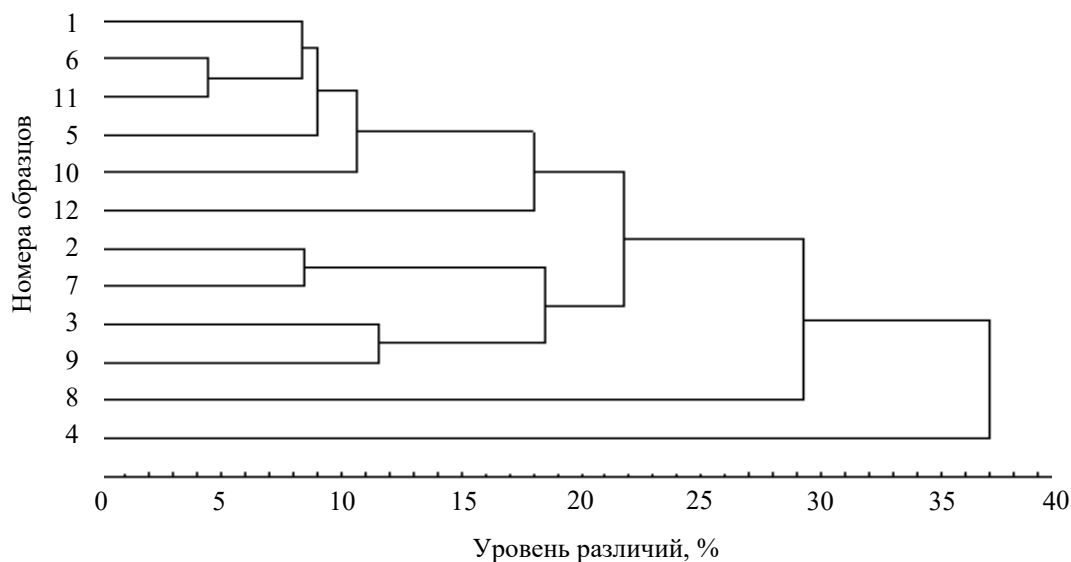


Рис. 8. Фрагмент дендрограммы, показывающей степень дифференциации видовых структур микобиомов корней семянцев сосны обыкновенной и ели европейской из различных питомников. Места взятия образцов: 1–3 – Двинская экспериментальная база (сосна), 4–6 – Осиповичский опытный лесхоз (сосна), 7–9 – Двинская экспериментальная база (ель), 10–12 – Осиповичский опытный лесхоз (ель)

Fig. 8. Dendrogram (fragment) of differentiation among mycobionte structures of Scots pine and Norway spruce seedling roots collected in various nurseries. Sampling locations: 1–3 – Dvina experimental base (pine), 4–6 – Osipovichi experimental forestry enterprise (pine), 7–9 – Dvina experimental base (spruce), 10–12 – Osipovichi experimental forestry enterprise (spruce)

Учитывая фитопатологический аспект, отметим, что кроме *Dactylonectria* в корневых системах самосева и семянцев сосны и ели идентифицирован широкий круг облигатных и факультативных паразитов, относящихся к родам *Apiospora*, *Coniochaeta*, *Eleutheromyces*, *Epicoccum*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Nemania*, *Peniophora*, *Phoma* и *Rhizoctonia*. При этом количество инфицированных растений среди самосева (сосна – 50,3 %, ель – 64,2 %) было ниже, чем у семянцев, выращиваемых в условиях питомника (сосна – 100 %, ель – 81,2 %). Долевое участие патогенной микрофлоры в микобиоме для самосева и семянцев сосны было примерно одинаковым – 14,4 и 15,1 % соответственно. Для ели данный показатель был выше для самосева (20,6 %), чем для семянцев (4,7 %).

Заключение. Изучение видовой структуры микобиомов корней самосева и семянцев сосны и ели показало следующее: основные видовые комплексы микориз ювенильных растений сосны и ели образованы сходными грибными видами, а наибольшие значения показателей разнообразия грибных сообществ отмечаются у растений, произрастающих в естественных насаждениях. При этом для самосева, собранного под пологом леса, могут формироваться моновидовые микоризы, представленные базидиомицетными грибами – симбионтами взрослых растений; ведущим фактором, определяющим видовую структуру микобиомов как в естественных условиях, так и в питомниках, являются локальные почвенно-биотические условия. Исходя из этого, контролируемое формирование почвенной микобиоты является обоснованным направлением в совершенствовании агротехники выращивания лесного посадочного материала и позволяет создать устойчивые почвенные ассоциации грибов-микоризобразователей для последующей биотизации растений.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке БРФФИ, грант № B22-002.

Acknowledgements. The work was supported by the BRFFR, grant No. B22-002.

Список использованных источников

1. The emergence of new aggressive leaf rust races with the potential to supplant the resistance of wheat cultivars / R. I. Omara [et al.] // *Biology (Basel)*. – 2021. – Vol. 10, N 9. – Art. 925. <https://doi.org/10.3390/biology10090925>
2. Comparative analysis of secondary metabolites in *Diplodia corticola* strains with different virulence degrees associated with canker and dieback of *Quercus* spp. / M. M. Salvatore [et al.] // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28, N 17. – Art. 6302. <https://doi.org/10.3390/molecules28176302>
3. Kamienski, F. Les organes végétatifs du *Monotropa hypopitys* L. / F. Kamienski // *Mémoires de la Société nationale des Sciences Naturelles et Mathématiques de Cherbourg*. – 1882. – Vol. 26. – P. 1–40.
4. Frank, A. B. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze / A. B. Frank // *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* – 1885. – Bd. 3. – S. 128–145.
5. Three new species of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*) and *Acaulospora gedanensis* revised / P. Niezgoda [et al.] // *Front. Microbiol. (Sec. Microbial Symbioses)*. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1320014. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1320014>
6. Henrion, B. Typing truffle species by PCR amplification of the ribosomal DNA spacers / B. Henrion, G. Chevalier, F. Martin // *Mycol. Res.* – 1994. – Vol. 98. – P. 37–43. [https://doi.org/10.1016/s0953-7562\(09\)80333-x](https://doi.org/10.1016/s0953-7562(09)80333-x)
7. Молекулярно-генетическая диагностика микоризообразующей микрофлоры сосны и ели в лесных питомниках и культурах / С. В. Пантелеев [и др.] // *Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы: материалы V Междунар. науч. конф., посвящ. 135-летию со дня рождения Н. И. Вавилова, Минск, 21–25 нояб. 2022 г. / Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси*. – Минск, 2022. – С. 66.
8. Seb, J. Role of ectomycorrhiza in forest ecosystems: a review / J. Seb, T. Ajungla // *Int. J. Adv. Res.* – 2018. – Vol. 6, N 8. – P. 866–873. <https://doi.org/10.21474/ijar01/7588>
9. Taylor, A. F. S. The ectomycorrhizal symbiosis: life in the real world / A. F. S. Taylor, I. J. Alexander // *Mycologist*. – 2005. – Vol. 19, N 3. – P. 102–112. <https://doi.org/10.1017/s0269915x05003034>
10. Hintikka, V. On the macromycete flora in oligotrophic pine forests of different ages in South Finland / V. Hintikka // *Acta Bot. Fenn.* – 1988. – Vol. 136. – P. 89–94.
11. Continuity of ectomycorrhizal fungi in self-regenerating boreal *Pinus sylvestris* forests studied by comparing mycobiont diversity on seedlings and mature trees / L. Jonsson [et al.] // *New Phytol.* – 1999. – Vol. 142, N 1. – P. 151–162. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00383.x>
12. Abundance, diversity, and vitality of mycorrhizae of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in lignite recultivation sites / B. Münzenberger [et al.] // *Mycorrhiza*. – 2004. – Vol. 14. – P. 193–202. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0257-2>
13. Shifts in taxonomical and functional structure of ectomycorrhizal fungal community of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) underpinned by partner tree ageing / M. Rudawska [et al.] // *Pedobiologia*. – 2018. – Vol. 71. – P. 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2018.08.003>
14. Smith, S. E. *Mycorrhizal symbiosis* / S. E. Smith, D. J. Read. – 3rd ed. – New York: Academic Press, 2008. – 787 p.
15. Read, D. J. The structure and function of the vegetative mycelium of mycorrhizal roots / D. J. Read // *The ecology and physiology of the fungal mycelium: Symposium of the British Mycological Society Held at Bath University, April 11–15, 1983* / ed.: D. H. Jennings, A. D. M. Rayner. – Cambridge, 1984. – P. 215–240.
16. Benito, B. Unravelling potassium nutrition in ectomycorrhizal associations / B. Benito, M. Gonzalez-Guerrero // *New Phytol.* – 2014. – Vol. 201, N 3. – P. 707–709. <https://doi.org/10.1111/nph.12659>
17. Siddiqui, Z. A. *Mycorrhizae: Sustainable agriculture and forestry* / Z. A. Siddiqui, M. S. Akhtar, K. Futai. – Dordrecht: Springer, 2008. – 359 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8770-7>
18. Bruns, T. D. Host specificity in ectomycorrhizal communities: what do exceptions tell us / T. D. Bruns, M. I. Biddartondo, D. L. Taylor // *Integ. Comp. Biol.* – 2002. – Vol. 42, N 2. – P. 352–359. <https://doi.org/10.1093/icb/42.2.352>
19. Landis, T. D. Inoculate with mycorrhizae, rebuild your soil, and help stop global warming / T. D. Landis, M. A. Amaranthus // *Forest Nursery Notes*. – 2009. – Vol. 29, N 1. – P. 13–16.
20. Application of network theory to potential mycorrhizal networks / D. Southworth [et al.] // *Mycorrhiza*. – 2005. – Vol. 15, N 8. – P. 589–595. <https://doi.org/10.1007/s00572-005-0368-z>
21. Mukerji, K. G. Mycorrhizae in the integrated pest and disease management / K. G. Mukerji, A. Ciancio // *General concepts in integrated pest and disease management* / ed.: A. Ciancio, K. G. Mukerji. – Dordrecht, 2007. – P. 245–266. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6061-8_10
22. Bruns, T. D. Thoughts on the processes that maintain local species diversity of ectomycorrhizal fungi / T. D. Bruns // *The significance and regulation of soil biodiversity: Proceedings of the International Symposium on Soil Biodiversity, held at Michigan State University, East Lansing, May 3–6, 1993* / ed.: H. P. Collins, G. P. Robertson, M. J. Klug. – Dordrecht, 1995. – P. 63–73. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0479-1_5
23. Rudawska, M. Ectomycorrhizal fungal assemblages of nursery grown scots pine are influenced by age of the seedlings / M. Rudawska, T. Leski // *Forests*. – 2021. – Vol. 12, N 2. – Art. 134. <https://doi.org/10.3390/f12020134>
24. Падутов, В. Е. Метагеномный анализ грибных фитопатогенов посадочного материала берез / В. Е. Падутов // *Наука и инновации*. – 2022. – № 3. – С. 66–70. <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2022-3-66-70>
25. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – Минск: Юнипол, 2007. – 176 с.

26. Gardes, M. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application of the identification of mycorrhizae and rusts / M. Gardes, T. D. Bruns // *Mol. Ecol.* – 1993. – Vol. 2, N 2. – P. 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1993.tb00005.x>
27. BLAST [Electronic resource]. – Mode of access: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. – Date of access: 04.12.2022.
28. Magurran, A. E. Ecological diversity and its measurement / A. E. Magurran. – New Jersey: Princeton University Press, 1988. – 179 p.
29. Mueller, G. M. Systematics of *Laccaria* (*Agaricales*) in the continental United States and Canada, with discussions on extralimital taxa and descriptions of extant types / G. M. Mueller // *Fieldiana Botany*. – 1992. – Vol. 30. – P. 1–158.
30. Zeller, S. M. Rhizopogon in North America / S. M. Zeller, C. W. Dodge // *Ann. Missouri Bot. Gard.* – 1918. – Vol. 5, N 1. – P. 1–30; 32–36. <https://doi.org/10.2307/2990021>
31. The fungal community. Its organization and role in the ecosystem / ed.: J. Dighton, J. F. White. – 4th ed. – Boca Raton: CRC Press, 2017. – 652 p.
32. Watkinson, S. C. The fungi / S. C. Watkinson, L. Boddy, N. Money. – UK: Academic Press, 2016. – 478 p.
33. Фундаментальная фитопатология / С. Ф. Багирова [и др.]; под ред. Ю. Т. Дьякова. – М.: КРАСАНД, 2023. – 512 с.
34. Федоров, Н. И. Лесная фитопатология / Н. И. Федоров. – Минск: БГТУ, 2004. – 462 с.
35. Работнов, Т. А. Фитоценология / Т. А. Работнов. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 1992. – 352 с.

References

1. Omara R. I., Nehela Y., Mabrouk O. I., Elsharkawy M. M. The emergence of new aggressive leaf rust races with the potential to supplant the resistance of wheat cultivars. *Biology (Basel)*, 2021, vol. 10, no. 9, art. 925. <https://doi.org/10.3390/biology10090925>
2. Salvatore M. M., Russo M. T., Nicoletti R., Mahamedi A. E., Berraf-Tebbal A., Cimmino A., Masi M., Andolfi A. Comparative analysis of secondary metabolites in *Diplodia corticola* strains with different virulence degrees associated with canker and dieback of *Quercus* spp. *Molecules*, 2023, vol. 28, no. 17, art. 6302. <https://doi.org/10.3390/molecules28176302>
3. Kamienski F. Les organes végétatifs du *Monotropa hypopitys* L. *Mémoires de la Société nationale des Sciences Naturelles et Mathématiques de Cherbourg*, 1882, vol. 26, pp. 1–40.
4. Frank A. B. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 1885, Bd. 3, S. 128–145.
5. Niezgoda P., Błaszczkowski J., Błaszczkowski T., Stanisławczyk A., Zubek S., Milczarski P. [et al.]. Three new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) and *Acaulospora gedanensis* revised. *Frontiers in Microbiology* (Sec. Microbial Symbioses), 2024, vol. 15, art. 1320014. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1320014>
6. Henrion B., Chevalier G., Martin F. Typing truffle species by PCR amplification of the ribosomal DNA spacers. *Mycological Research*, 1994, vol. 98, pp. 37–43. [https://doi.org/10.1016/s0953-7562\(09\)80333-x](https://doi.org/10.1016/s0953-7562(09)80333-x)
7. Panteleev S. V., Kharkhasova I. A., Konstantinov A. V., Ostriкова M. Ya., Ivashchenko L. O., Yarmolovich V. A., Baranov O. Yu. Molecular genetic diagnostics of mycorrhiza-forming microflora of pine and spruce in forest nurseries and artificial stands. *Genetika i biotekhnologiya XXI veka: problemy, dostizheniya, perspektivy: materialy V Mezhduнародnoi nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 135-letiyu so dnya rozhdeniya N. I. Vavilova, Minsk, 21–25 noyabrya 2022 goda* [Genetics and biotechnology of the 21st century: problems, achievements, prospects: materials of the V International scientific conference dedicated to the 135th anniversary of the birth of N. I. Vavilov, Minsk, November 21–25, 2022]. Minsk, 2022, p. 66 (in Russian).
8. Seb J., Ajungla T. Role of ectomycorrhiza in forest ecosystems: a review. *International Journal of Advanced Research*, 2018, vol. 6, no. 8, pp. 866–873. <https://doi.org/10.21474/ijar01/7588>
9. Taylor A. F. S., Alexander I. J. The ectomycorrhizal symbiosis: life in the real world. *Mycologist*, 2005, vol. 19, no. 3, pp. 102–112. <https://doi.org/10.1017/s0269915x05003034>
10. Hintikka V. On the macromycete flora in oligotrophic pine forests of different ages in South Finland. *Acta Botanica Fennica*, 1988, vol. 136, pp. 89–94.
11. Jonsson L., Dahlberg A., Nilsson M-C., Kårén O., Zackrisson O. Continuity of ectomycorrhizal fungi in self-regenerating boreal *Pinus sylvestris* forests studied by comparing mycobiont diversity on seedlings and mature trees. *New Phytologist*, 1999, vol. 142, no. 1, pp. 151–162. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00383.x>
12. Münzenberger B., Gollack J., Ullrich A., Schmincke B., Hüttl R. F. Abundance, diversity, and vitality of mycorrhizae of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in lignite recultivation sites. *Mycorrhiza*, 2004, vol. 14, pp. 193–202. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0257-2>
13. Rudawska M., Gollack J., Ullrich A., Schmincke B., Hüttl R. F. Shifts in taxonomical and functional structure of ectomycorrhizal fungal community of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) underpinned by partner tree ageing. *Pedobiologia*, 2018, vol. 71, pp. 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2018.08.003>
14. Smith S. E., Read D. J. *Mycorrhizal symbiosis*. New York, Academic Press, 2008. 787 p.
15. Read D. J. The structure and function of the vegetative mycelium of mycorrhizal roots. *The ecology and physiology of the fungal mycelium: Symposium of the British Mycological Society Held at Bath University, April 11–15, 1983*. Cambridge, 1984, pp. 215–240.
16. Benito B., Gonzalez-Guerrero M. Unravelling potassium nutrition in ectomycorrhizal associations. *New Phytologist*, 2014, vol. 201, no. 3, pp. 707–709. <https://doi.org/10.1111/nph.12659>
17. Siddiqui Z. A., Akhtar M. S., Futai K. *Mycorrhizae: Sustainable agriculture and forestry*. Dordrecht, Springer Publ., 2008. 359 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8770-7>

18. Bruns T. D., Bidartondo M. I., Taylor D. L. Host specificity in ectomycorrhizal communities: what do exceptions tell us. *Integrative and Comparative Biology*, 2002, vol. 42, no. 2, pp. 352–359. <https://doi.org/10.1093/icb/42.2.352>
19. Landis T. D., Amaranthus M. A. Inoculate with mycorrhizae, rebuild your soil, and help stop global warming. *Forest Nursery Notes*, 2009, vol. 29, no. 1, pp. 13–16.
20. Southworth D., He X.-H., Swenson W., Bledsoe C. S., Horwath W. R. Application of network theory to potential mycorrhizal networks. *Mycorrhiza*, 2005, vol. 15, no. 8, pp. 589–595. <https://doi.org/10.1007/s00572-005-0368-z>
21. Mukerji K. G., Ciancio A. Mycorrhizae in the integrated pest and disease management. *General concepts in integrated pest and disease management*. Dordrecht, 2007, pp. 245–266. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6061-8_10
22. Bruns T. D. Thoughts on the processes that maintain local species diversity of ectomycorrhizal fungi. *The significance and regulation of soil biodiversity: Proceedings of the International Symposium on Soil Biodiversity, held at Michigan State University, East Lansing, May 3–6, 1993*. Dordrecht, 1995, pp. 63–73. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0479-1_5
23. Rudawska M., Leski T. Ectomycorrhizal fungal assemblages of nursery grown scots pine are influenced by age of the seedlings. *Forests*, 2021, vol. 12, no. 2, art. 134. <https://doi.org/10.3390/f12020134>
24. Padutov V. E. Metagenomic analysis of fungal phytopathogens of birch planting growth material. *Nauka i innovatsii* [Science and innovations], 2022, no. 3, pp. 66–70 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2022-3-66-70>
25. Padutov V. E., Baranov O. Yu., Voropaev E. V. *Methods of molecular genetic analysis*. Minsk, Ynipol Publ., 2007. 176 p. (in Russian).
26. Gardes M., Bruns T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application of the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 1993, vol. 2, no. 2, pp. 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1993.tb00005.x>
27. BLAST. Available at: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (accessed 04.12.2022).
28. Magurran A. E. *Ecological diversity and its measurement*. New Jersey, Princeton University Press Publ., 1988. 179 p.
29. Mueller G. M. Systematics of *Laccaria* (*Agaricales*) in the continental United States and Canada, with discussions on extralimital taxa and descriptions of extant types. *Fieldiana Botany*, 1992, vol. 30, pp. 1–158.
30. Zeller S. M., Dodge C. W. Rhizopogon in North America. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 1918, vol. 5, no. 1, pp. 1–30; 32–36. <https://doi.org/10.2307/2990021>
31. Dighton J., White J. F. *The fungal community. Its organization and role in the ecosystem*. 4th ed. Boca Raton, CRC Press, 2017. 652 p.
32. Watkinson S. C., Boddy L., Money N. *The fungi*. UK, Academic Press Publ., 2016. 478 p.
33. Bagirova S. F., Dzhavakhiya V. G., Ozeretskoykaya O. L., Provorov N. A., Tikhonovich I. A., Shcherbakova L. A. *Fundamental phytopathology*. Moscow, KRASAND Publ., 2023. 512 p. (in Russian).
34. Fedorov N. I. *Forest phytopathology*. Minsk, Belarusian State Technological University, 2004. 462 p. (in Russian).
35. Rabotnov T. A. *Phytocenology*. 3rd ed. Moscow, Moscow State University Press, 1983. 352 p. (in Russian).

Информация об авторах

Ярмолович Василий Александрович – канд. биол. наук, доцент. Белорусский государственный технологический университет (ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yarm@belstu.by

Пантелеев Станислав Викторович – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: stasikdesu@mail.ru

Хархасова Ирина Алексеевна – мл. науч. сотрудник. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: harhasova18@mail.ru

Зенюк Каролина Владимировна – аспирант. Белорусский государственный технологический университет (ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kvzeniuk@belstu.by

Иващенко Любовь Олеговна – мл. науч. сотрудник. Белорусский государственный технологический университет (ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ivashchenko@belstu.by

Константинов Андрей Вячеславович – науч. сотрудник. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: avkonstantinof@mail.ru

Баранов Олег Юрьевич – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, академик-секретарь НАН Беларуси (пр-т Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: betula-belarus@mail.ru

Information about the authors

Vasili A. Yarmalovich – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlov Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yarm@belstu.by

Stanislav V. Panteleev – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: stasikdesu@mail.ru

Irina A. Kharkhasova – Junior Researcher. Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: harhasova18@mail.ru

Karalina V. Zeniuk – Postgraduate student. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlov Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kvzeniuk@belstu.by

Liubou A. Ivashchanka – Junior Researcher. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlov Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ivashchenko@belstu.by

Andrey V. Konstantinof – Researcher. Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: avkonstantinof@mail.ru

Oleg Yu. Baranov – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Academician-Secretary of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: betula-belarus@mail.ru