



DOI: 10.21178/2079–6080.2025.4.75  
УДК 630.632.4:631.523

## Микромицеты хвои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на Северо-Западе России

© Г.В. Калько<sup>1</sup>, Д.С. Каржаев<sup>1,2</sup>, Д.А. Шабунин<sup>1,2</sup>, М.С. Якунин<sup>1,2</sup>

### Micromycetes of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles in Northwest Russia

G.V. Kalko, D.S. Karzhaev, D.A. Shabunin, M.S. Jakunin (Saint Petersburg Forestry Research Institute; Saint Petersburg State Forest Technical University)

Fungal diseases cause damage and premature shedding of pine needles, worsening the condition of seedlings and young trees. Diagnosis of needle diseases is crucial for the implementation of timely protective measures during artificial pine reforestation. The micromycetes species composition of pine needles has been insufficiently studied, especially due to the increase in the number of invasive fungi in recent decades. The goal of the research was to investigate the species composition of micromycetes of pine needles in the North-West of Russia. Samples of affected pine needles were collected in the Leningrad, Novgorod, and Pskov regions and the Republic of Karelia from natural and artificial forest stands. Pure cultures of fungi were isolated from symptomatic needles using mycological methods. Micromycetes were identified by microscoping of sporulations and sequencing of the ITS region of the ribosomal RNA gene cluster. The causative agent of needle blight type disease (*Calvophomopsis rubenticola* Tanney & Seifert) and the causative agent of olive mold associated with the needles of different species of the *Pinaceae* family (*Cladosporium perangustum* Bensch, Crous & U. Braun), new to Northwest Russia, have been identified. Invasive fungus belonging to the species complex *Neocatenulostroma germanicum* / *Neocatenulostroma abietis* was revealed for the first time in northwestern Russia. Using a combination of methods, dangerous (or potentially dangerous) species of phytopathogenic fungi, causative agents of pine common needle blight and sclerophomosis, were identified: *Lophodermium seditiosum* Minter, Staley & Millar, and *Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll, respectively. Morphological methods were used to identify the phytopathogenic species *Truncatella hartigii* (Tubef) Steyaert, *L. pinastri* (Schrad.) Chevall., *Aureobasidium pullulans* (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud, and *Apiospora arundinis* (Corda) Pintos &

P. Alvarado. *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., and *Cladosporium* spp. and other associated fungi species were identified.

**Key words:** *Pinus sylvestris* L., needles, phytopathogenic micromycetes, identification, internal transcribed spacer region (ITS-region)

### **Микромицеты хвои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в лесных насаждениях Северо-Запада России**

**Г.В. Калько, Д.С. Каржаев, Д.А. Шабунин, М.С. Якунин**

Грибные болезни приводят к повреждению и преждевременному опадению хвои сосны, ухудшая состояние сеянцев и молодых деревьев. Диагностика заболеваний хвои весьма актуальна для организации своевременных защитных мероприятий при искусственном лесовосстановлении сосны. Видовой состав грибных микромицетов хвои сосны исследован недостаточно, особенно в связи с увеличением числа инвазивных грибов в последние десятилетия. Цель работы – изучение состава микромицетов хвои сосны на Северо-Западе России. Сбор образцов пораженной хвои сосны проводили в Ленинградской, Новгородской и Псковской областях и Республике Карелия в естественных и искусственных лесных насаждениях. Чистые культуры микромицетов выделяли с пораженной хвои микологическими методами. Идентификацию грибов проводили с помощью микроскопии спорношений и молекулярным методом по последовательностям нуклеотидов ITS-региона кластера генов рибосомальной РНК. Идентифицированы возбудитель болезни типа шютте (*Calvophomopsis rubenticola* Tanney & Seifert) и возбудитель оливковой плесени (*Cladosporium perangustum* Bensch, Crous & U. Braun), ассоциированный с хвоей разных видов семейства Pinaceae, новые для Северо-Запада России. Также был выявлен изолят микромицета, принадлежащего к инвазивному комплексу видов *Neocatenulostroma germanicum* / *Neocatenulostroma abietis* впервые на Северо-Западе России. В результате применения комплекса методов были определены опасные (или потенциально опасные) виды фитопатогенных грибов, возбудителей обыкновенного шютте сосны (*Lophodermium seditiosum* Minter, Staley & Millar) и склерофомоза (*Sydowia polyspora* (Bref. & Tavel) E. Müll). Морфологическими методами идентифицированы фитопатогенные виды *Truncatella hartigii* (Tubefuf) Steyaert, *L. pinastri* (Schrad.) Chevall., *Aureobasidium pullulans* (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud, *Apiospora arundinis* (Corda) Pintos & P. Alvarado. Идентифицированы чистые культуры *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp. и других сопутствующих грибов.

**Ключевые слова:** *Pinus sylvestris* L., хвоя, фитопатогенные микромицеты, идентификация, внутренний транскрибируемый спейсер (ITS-регион)

Калько Галина Валентиновна – начальник научно-исследовательского отдела генетики и биотехнологий, канд. биол. наук

E-mail: gkalko@spb-niilh.ru

Каржаев Дмитрий Сергеевич – научный сотрудник НИО генетики и биотехнологий; аспирант

E-mail: karzhaevd@gmail.com

Шабунин Дмитрий Александрович – ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела селекции, воспроизводства и химического ухода за лесом, канд. биол. наук

E-mail: d.shabunin@spb-niilh.ru

Якунин Михаил Сергеевич – лаборант-исследователь научно-исследовательского отдела генетики и биотехнологий

E-mail: m.jakunin@spb-niilh.ru

<sup>1</sup>ФБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства»

194021, Санкт-Петербург, Институтский пр., 21

Телефон: (812) 552–80–21

Факс: (812) 552–80–42

<sup>2</sup>ФГБУ ВО «Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова»

194021, Санкт-Петербург, Институтский пер., 5

Телефон: +7 (812) 670–92–46

### **Введение**

Грибные болезни – самая большая группа заболеваний лесных пород. Среди наиболее значимых типов грибных патологий, представляющих опасность для лесных насаждений в лесах ряда областей России, в настоящее время кроме сосудистых и некрозно-раковых ряд авторов упоминает болезни хвои типа шютте [3, 23].

Патогены ассимилирующего аппарата сосны обыкновенной, одной из лесообразующих пород Северо-Запада России, вызывают повреждение и гибель хвои, что особенно опасно для сеянцев и подроста. Взрослые деревья, обычно от патогенов хвои сильно не страдают, но накапливают инфекцию. При значительном повреждении кроны происходит ослабление деревьев, ведущее к усилению восприимчивости к воздействию неблагоприятных факторов, что негативно сказывается на устойчивости насаждений [3].

Видовой состав возбудителей болезней хвои сосны в Российской Федерации в последние годы изучался фрагментарно, в основном в отдельных локациях Средней Сибири [10, 11], Республики Карелия [7, 8], Калининградской [12], Московской [13] и Мурманской [7, 9] областей.

Актуальность восполнения пробелов в информации о наличии грибных патогенов хвои сосны обыкновенной на Северо-Западе России возрастает в связи с изменением климата и появлением на севере Европы большого числа инвазивных микромицетов [5, 21].

Заболевания хвои вызывают дефолиацию, повышают восприимчивость растений к другим болезням и вредителям, снижают продуктивность насаждений и могут приводить к гибели деревьев. Ареалы инвазивных видов грибов, являющихся известными вредоносными патогенами в мире и Европе, быстро расширяются из-за изменения климата, а также торговли растениями, имеющими скрытую инфекцию [21].

Целью настоящего исследования является изучение состава микромицетов хвои лесо-

образующей породы сосна обыкновенная, имеющей признаки поражения грибными патогенами, на Северо-Западе России.

### **Материалы и методы**

Сбор образцов хвои сосны обыкновенной с симптомами поражения патогенами проводился в двенадцати местах в естественных и искусственных насаждениях, а также в питомниках Северо-Запада России. Места сбора образцов на карте показаны на рисунке 1.

В камеральных условиях проводилось микроскопическое исследование собранных образцов с помощью световых микроскопов МБИ-2 и МБИ-15. При диагностике возбудителей заболеваний использовались макроскопический, микроскопический и микологический методы.

Идентификация грибов микроскопическими методами велась с использованием общепринятой справочной литературы [16, 31, 32]. При определении учитывался тип спорношения, строение плодовых тел, размер спор и характер их расположения. Латинские наименования видов грибов указаны в соответствии с базой данных Index Fungorum [24].

Изоляты грибов выделяли на агаризованных питательных средах (голодный агар, морковный агар) после поверхностной стерилизации хвоинок фламбированием или путём погружения иголок сосны в этанол и (или) 10 % перекись водорода.

Голодный агар содержал водопроводную воду и 1,5 % бактериологического агара. Морковная питательная среда содержала 1,5 % агара, экстракт корнеплодов моркови (100 г/л воды, кипятить в течение 30 минут, затем морковь удалить и довести объем до 1 л) и 2 % сахарозы.

Для выделения ДНК мицелий грибов культивировали на жидкой морковной питательной среде (без агара). Время инкубации зависело от скорости роста мицелия грибов. После инкубации мицелий отделяли от среды и высушивали при комнатной температуре.

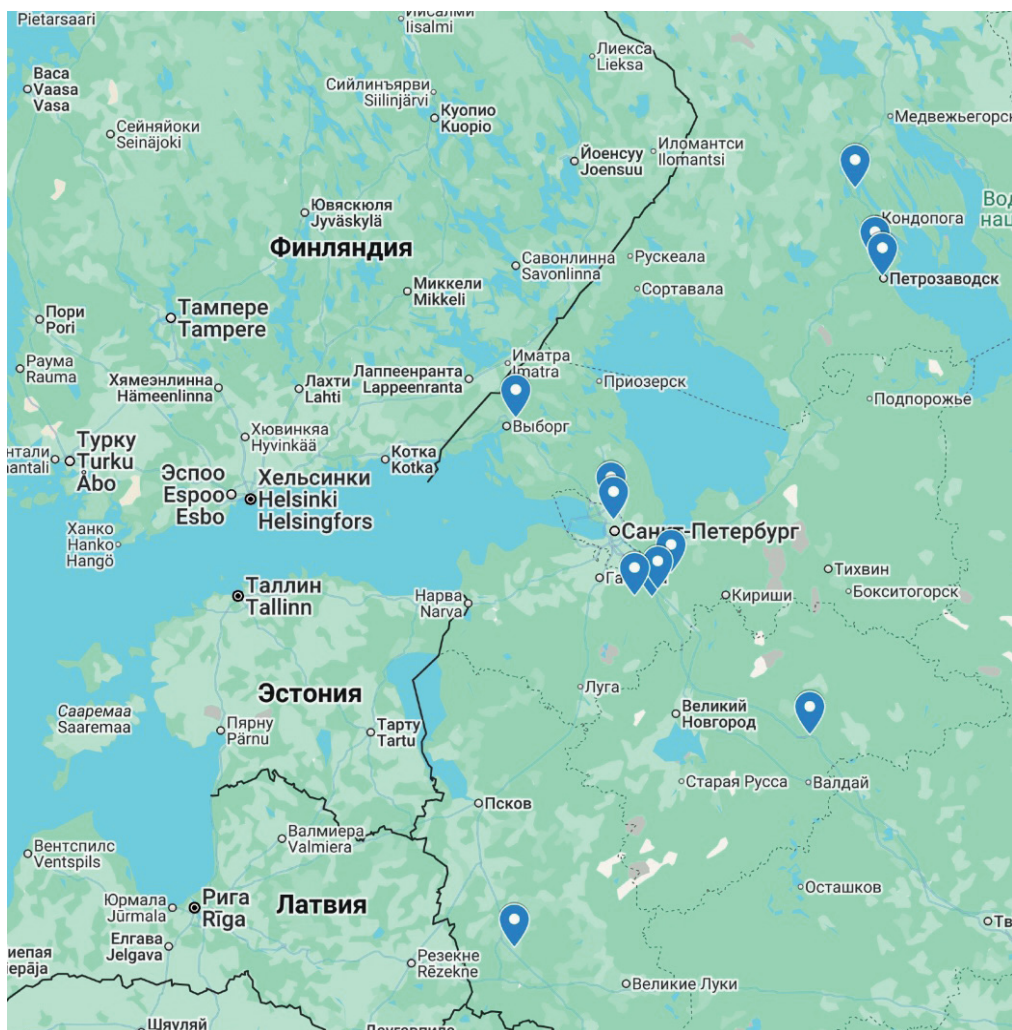


Рис. 1. Места сбора образцов

Для выделения ДНК 40 мг высушенного мицелия гриба переносили в стерильную 2 мл пробирку и досушивали в лиофильной сушке Free Zone Plus 2.5L (производитель: Labconco Corporation, США) в течении суток.

После сушки материал образцов перемалывали с помощью двух стеклянных шариков диаметром 5 мм в гомогенизаторе Precellys 24 (Bertin Technologies, Франция) при 4 тыс. об/мин в течение 45 секунд.

Выделение ДНК проводили с помощью модифицированного СТАВ-метода [30]. К гомогенизированному материалу добавляли 700 мкл модифицированного СТАВ-буфера (2 % СТАВ масса/объем, 20 мМ EDTA pH 8,0, 1,4 М NaCl, 100 мМ tris-HCl pH 8,0, 5 мМ аскорбиновой кислоты, 4 мМ диэтилдитиокар-

бамат натрия и 2 % поливинилпирролидон-40), 3,2 мкл меркаптоэтанола и 0,4 мкл РНКазы А, и перемешивали содержимое пробирки с помощью вортекса V-1 plus (BioSan, Латвия) в течение 3–5 секунд. Пробирку со смесью инкубировали в термошейкере при температуре +37 °С в течение 15 минут при 400 об/мин для обеспечения работы РНКазы, после чего температуру повышали до +65 °С и инкубировали смесь еще в течение 45 минут.

Для очистки образцов от клеточного дебриса и белкового загрязнения к каждому образцу добавили 800 мкл хлороформ-изоамиловой смеси (24:1), содержимое пробирки перемешивали с помощью мультитротатора Grant Bio PTR 360° (BioSan, Латвия) в течение 5 минут и центрифугировали в центрифуге D1524R

(DLAB Scientific, Китай) при 10 тыс. об/мин в течение 15 минут. Затем супернатант переносили в стерильную 1,5 мл пробирку. Очистку хлороформ-изоамиловой смесью проводили дважды. В каждую пробирку добавляли 600 мкл охлажденного изопропилового спирта и кратко перемешивали. Полученную смесь охлаждали в морозильнике при  $-80^{\circ}\text{C}$  в течение 15 минут. Пробирки с смесью центрифугировали при 12 тыс. об/мин в течение 15 минут при  $4^{\circ}\text{C}$ , после чего супернатант выливался. Осадок, содержащий ДНК, промывали 500 мкл 80 % этилового спирта, затем пробирки центрифугировали при 15 тыс. об/мин в течении 5 минут. Спирт удаляли аспиратором FTA-1 (BioSan, Латвия), осадок высушивали от остатков спирта в течение 5 минут и растворяли в 100 мкл воды.

Для дополнительной очистки от белков выделенную ДНК осаждали с ацетатом аммония. В каждую пробирку добавляли 50 мкл 10 М ацетата аммония, содержимое пробирки перемешивали с помощью вортекса в течение 3–5 секунд. Пробирки помещали на лед на 20 минут, затем центрифугировали при 12 тыс. об/мин в течение 15 минут при  $4^{\circ}\text{C}$  и переносили супернатант в стерильную 1,5 мл пробирку. В каждую пробирку добавляли 500 мкл 96 % этилового спирта и кратко перемешивали. Полученную смесь охлаждали в морозильнике при  $-80^{\circ}\text{C}$  в течение 15 минут. Пробирки со смесью центрифугировали при 12 тыс. об/мин в течение 15 минут при  $4^{\circ}\text{C}$ , после чего супернатант выливался. Осадок, содержащий ДНК, промывали 200 мкл 80 % этилового спирта, пробирки центрифугировали при 15 тыс. об/мин в течение 5 минут.

Спирт удаляли аспиратором, высушивали осадок от остатков спирта в течение 5 минут и растворяли в 100 мкл воды.

Качество выделенной ДНК определяли с помощью спектрофотометрии и проведения гель электрофореза. Чистота и концентрация выделенной ДНК определялась с помощью спектрофотометра SPECTROstar NANO (BMG LABTECH, Германия). Образцы, имеющие соотношение поглощений  $260/280 > 1,8$ , считались чистыми, а имеющие более 20 нг/мкл – имеющими достаточную концентрацию для дальнейших исследований.

Высокомолекулярность полученной ДНК определяли методом электрофореза в агарозном геле, в качестве интеркалирующего красителя использовали бромистый этидий. Электрофорез проводили в 1 % агарозном геле на основе TBE буфера при напряжении 90 В в течение 45 минут. Электрофорограмму анализировали с помощью системы гель-документации ChemiDoc MP (BioRad, США). По результатам электрофореграмм образцы, имеющие продукт размером  $> 20000$  п.н., считали высокомолекулярными и подходящими для дальнейшей работы.

Для идентификации грибов, для которых не было выявлено спораношений на агаризованных питательных средах, использовали секвенирование по Сэнгеру локусов ITS.

Выделенную ДНК использовали для проведения ПЦР с праймерами, нацеленными на ITS-локус (ITS1 F, ITS4). Последовательности и характеристики использованных праймеров приведены в таблице 1.

Таблица 1  
Характеристика праймеров, использованных для идентификации грибных патогенов хвои сосны обыкновенной

Название праймера	Последовательность (5'–3')	Размер продукта, п.н.	Участок генома	Специфичность праймеров	Ссылка
ITS1F	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	450–800	ITS	грибной	[22]
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC			универсальные	[35]

ПЦР проводилась в объеме 25 мкл. Реакционная смесь содержала следующие компоненты: 1X Taq Turbo буфер, 0,5 ед. HS Taq ДНК-полимеразы, dNTP 0,2 мМ каждого, праймеров 0,2 мкМ ITS1F и ITS4. В качестве матрицы для проведения ПЦР использовали примерно 100 нг выделенной ДНК.

Аmplификацию проводили в термоциклах T100 или C1000 фирмы Bio-Rad, США. Программа амплификации включала начальную денатурацию при 95 °С в течение 15 минут, 30 циклов, состоящих из следующих этапов: денатурация при температуре 95 °С в течение 30 с, отжиг праймеров при 57 °С в течение 30 с и элонгация при 72 °С в течение 60 с и финальную элонгацию при температуре 72 °С в течение 5 минут. Успешность проведения ПЦР проверяли с помощью проведения геля электрофореза.

Очистка ампликонов перед секвенированием проводилась с помощью 0,8 объема магнитных частиц VANTS (Vazime, Китай) согласно протоколу производителя. Концентрацию очищенных ПЦР продуктов измеряли с помощью спектрофотометра, после чего ПЦР продукты переносили в стерильные пробирки в объеме, определенном согласно их концентрации, длине продукта и инструкции оператора секвенирования ООО «СИНТОЛ». К каждому образцу добавляли 320 нМ прямого (или обратного) праймера, нацеленного на ITS-локус, содержимое пробирок лиофильно высушивали в течение 1 часа и затем передавали на секвенирование по Сэнгеру.

Обработка результатов секвенирования. Результаты секвенирования передавались в формате ab1, который содержит как электрофореграмму и консенсусную последовательность ПЦР-продуктов. Мы визуальную электрофореграмму в программе Ugene [29] и выбирали наиболее качественный участок полученного прочтения. Обычно исключались первые 20 нуклеотидов и 10–20 последних нуклеотидов, суммарно исключалось не более 5 % прочтения. Полученный участок анализировался с помощью алгоритма

BLASTn с функцией megablast в геномной базе NCBI.

### Результаты и их обсуждение

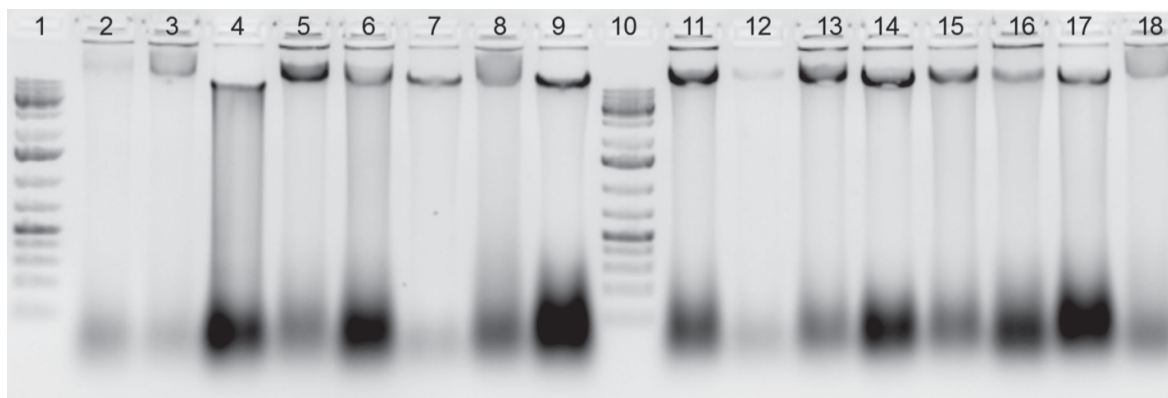
На пораженной хвое во всех обследованных регионах были обнаружены спороношения возбудителя обыкновенного шютте сосны *Lophodermium pinastri* (Schrad.) Chevall., который считают вторичным патогеном. Спороношения *L. seditiosum* Minter, Staley & Millar, наиболее патогенного из комплекса грибов рода *Lophodermium* [20, 28] встречались реже и были обнаружены только в образцах хвой, собранных в Опочечком районе Псковской области, Окуловском районе Новгородской области, Выборгском и Тосненском (село Ушаки) районах Ленинградской области (см. рис. 1).

По спороношениям чистых культур грибов на агаризованной среде предварительно, до подтверждения молекулярными методами, были идентифицированы патогенные грибы *Truncatella hartigii* (Tubeuft) Steyaert в Тосненском районе Ленинградской области (в окрестностях д. Андрианово), *Aureobasidium pullulans* (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud – в Тосненском районе Ленинградской области (окрестности д. Андрианово) и *Apiospora arundinis* (Corda) Pintos & P. Alvarado – в г. Санкт-Петербурге (Институтский проспект, Сад Серебряный пруд). Также были идентифицированы сопутствующие грибы *Alternaria* spp. – в Новгородской и Ленинградской областях (Тосненский район, д. Андрианово; Всеволожский район, экотропа Южковские камы), *Cladosporium* spp. – в Тосненском районе Ленинградской области (окрестности д. Андрианово) и в Прионежском районе Республики Карелия (Шуйское лесничество, испытательные культуры), cf. *Trimmatostroma* sp. – в Прионежском районе Республики Карелия (Шуйское лесничество, испытательные культуры).

Было выделено 192 чистые культуры грибов, отличающихся скоростью роста и други-

ми культуральными признаками. Спороношения у чистых культур гриба на агаризованной питательной среде выявляли редко. ДНК экстрагирована из 126 чистых культур грибов.

На рисунке 2 показаны результаты электрофореза образцов геномной ДНК изолятов чистых культур грибов в 1 % агарозном геле.

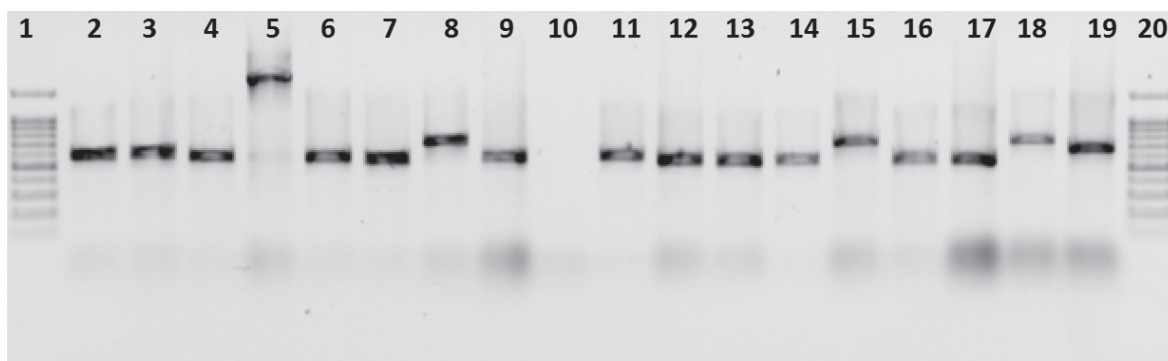


1, 10 – молекулярный стандарт 1000 п.н., 2–9, 11–18 – образцы ДНК

Рис. 2. Электрофореграмма образцов ДНК, выделенных из чистых культур грибов

Для проведения молекулярной идентификации грибов выделенную ДНК использовали для проведения ПЦР с праймерами, нацеленными на ITS-регион, первичный баркод, рекомендованный для идентификации грибов [36].

Успешность амплификации проверяли с помощью проведения геля электрофореза. Как видно из рисунка 3, разные виды грибов отличаются по длине ПЦР-продуктов из-за различий последовательности нуклеотидов в ампликонах.



1, 20 – молекулярный стандарт 100 п.н., 2–19 – ПЦР-продукты

Рис. 3. Электрофореграмма ПЦР-продуктов, полученных с помощью ПЦР ITS-локуса у различных видов грибов

Список таксонов, идентифицированных на основе последовательностей ITS-региона представлен в таблице 2.

С помощью молекулярных методов (табл. 2) был идентифицирован возбудитель обыкновенного шютте сосны *L. seditiosum*,

патоген, вызывающий периодические эпифитотии в странах северной [23, 25] и центральной Европы [34] и во многих регионах Российской Федерации: Московской области [13], Средней Сибири [10, 11], Карелии [7, 8] и др.

Таблица 2

Результаты идентификации чистых культур грибов по последовательности ITS-локуса

Результаты идентификации	Место сбора образцов
<i>Lophodermium seeditiosum</i>	Новгородская область, Окуловский район
<i>Sydowia polyspora</i>	Ленинградская область, Тосненский район, д. Андрианово, Республика Карелия, под Петрозаводском, около плантации ели
<i>Cladosporium perangustum</i>	Новгородская область, Окуловский район
<i>Calvophomopsis rubenticola</i>	Ленинградская область, Шапкинский питомник, постоянный лесосеменной участок сосны
<i>Alternaria alternata</i>	Ленинградская область, Тосненский район, д. Андрианово
<i>Truncatella conorum-picea/ Heterotruncatella spartii/ Pestalotiopsis</i> sp.	Ленинградская область, Тосненский район, д. Андрианово
<i>Neocatenulostroma germanicum/ Neocatenulostroma abietis</i>	Новгородская область, Окуловский район
<i>Alternaria alternata</i>	Новгородская область, Окуловский район; Ленинградская область, Тосненский район, д. Андрианово
<i>Alternaria</i> sp.	Псковская область, Опочецкий район, д. Бабынино; Новгородская область, Окуловский район; Ленинградская область, Всеволожский район, Юкковское сельское поселение, экотропа Юкковские камы
<i>Fusarium</i> sp.	Ленинградская область, Тосненский район, д. Андрианово
<i>Cladosporium</i> sp.	Ленинградская область, Тосненский район, д. Андрианово; Республика Карелия, Прионежский район, Шуйское лесничество, испытательные культуры
<i>Lophium</i> sp.	Ленинградская область Шапкинский питомник, постоянный лесосеменной участок сосны
<i>Endoconidioma populi</i>	Ленинградская область Шапкинский питомник, постоянный лесосеменной участок сосны
<i>Dumontinia tuberosa</i>	Ленинградская область Шапкинский питомник, постоянный лесосеменной участок сосны
<i>Bjerkandera adusta</i>	Псковская область, Опочецкий район, д. Бабынино
uncultured fungus	Республика Карелия, Кондопожский район государственный заповедник Кивач
<i>Stagonosporopsis</i> sp.	Ленинградская область, Тосненский район, д. Андрианово
<i>Mycoacia fuscoatra</i>	Республика Карелия, Кондопожский район государственный заповедник Кивач
<i>Paraphaeosphaeria michotii</i>	Ленинградская область, Тосненский район, д. Андрианово
Uncultured <i>Alternaria</i>	Ленинградская область, Тосненский район, д. Андрианово
<i>Trichoderma</i> sp.	Республика Карелия под Петрозаводском, около плантации ели

Идентифицированный нами возбудитель склерофомоза *Sydowia polyspora* также был одним из часто обнаруживаемых видов на хвое сосны в Республике Беларусь [2], в Эстонии и Норвегии [15] и Литве [26]. В Московской области гриб также массово встречался [13].

Нами было выявлено два новых для Северо-Запада России вида грибов. Микромицет *Cladosporium perangustum*, также был диагностирован с помощью секвенирования ITS-локуса Т.В. Бедрицкой и соавторами в Республике Бурятия [1]. Микромицет был найден ими на хвое сосны кедровой сибирской и ели сибирской. На сосне кедровой наблюдалось поражение, начинающееся с кончиков хвои и заканчивающееся полным засыханием хвоинок. Л.А. Головченко и соавторы с побегов и хвои сосны выделяли другие виды этого рода *C. ramotenellum* K. Schub., Zalar, Crous & U. Braun и *C. cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries [2].

Микромицет *Calvophomopsis rubenticola*, выявленный нами на хвое сосны обыкновенной, также обнаруживали на хвое пихты сибирской в Республике Бурятия [1] и на хвое *Picea rubens* в восточной Канаде [33]. Гриб способен вызывать болезнь хвои типа шютте, относится к семейству *Phacidiaceae*.

Среди выделенных нами чистых культур грибов есть изоляты однозначно не определенные. Такие результаты можно объяснить свойствами ITS-региона, обладающего низкой разрешающей способностью в ряде таксонов [36].

Нами был выделен интересный гриб со 100 % идентичностью с видами *Truncatella conorum-picea* / *Heterotruncatella spartii* / *Pestalotiopsis* sp по последовательности ITS-региона.

В Германии частота выделения *T. conorum-picea* с побегов сосны обыкновенной в 105 хвойных естественных насаждениях умеренной зоны была выше 10 % [19]. Немецкие авторы не отмечали сильных патогенных

свойств у этого гриба в опытах *in vivo* на фоне совместной инокуляции *T. conorum-picea* и *Sphaeropsis sapinea*, возбудителя диплоидоза [18].

Микромицеты родов *Pestalotiopsis* и *Heterotruncatella* были найдены в Калининградской области на хвое сосны [12]. Грибы рода *Pestalotiopsis* являются возбудителями песталоциевого усыхания (некроза) побегов хвойных пород [4, 12]. Еще одним возбудителем этого заболевания является гриб *Truncatella hartigii*, обнаруженный в Белоруссии [2] и Московской области [13]. Требуется уточнение определения выделенных культур.

Нами был выявлен гриб, относящийся к роду *Neocatenulostroma*, инвазивному комплексу видов *Neocatenulostroma germanicum* / *Neocatenulostroma abietis*. Литовские авторы идентифицировали вид *Neocatenulostroma germanicum* на основе результатов секвенирования ITS и генов *LSU*, актина и фактора элонгации трансляции *TEF1a*. Ими доказана патогенность одного литовского изолята *N. germanicum*, способного вызывать ожог хвои [27].

Об обнаружении гриба *N. germanicum* сообщали белорусские [2] и польские [17] авторы. В России гриб был выявлен в Крыму на сосне крымской [14].

Требуется уточнение диагностики ряда чистых культур грибов, определенных на уровне таксонов «семейство», «порядок». Особенно перспективна идентификация культур, отнесенных к родам *Truncatella*, *Heterotruncatella*, *Pestalotiopsis*, среди которых могут оказаться опасные виды.

Было выделено несколько изолятов, отнесенных на основе анализа последовательностей нуклеотидов в локусе ITS к роду *Stagonosporopsis*. По литературным данным, среди представителей этого рода есть фитопатогенные грибы, в том числе и карантинные на территории России. Вид *S. andigena* (Turkenst.) Aveskamp, Gruyter & Verkley, возбудитель черного ожога (фомозной пятнистости

листьев картофеля), на территории страны отсутствует. Микромицет *S. chrysanthemi* (F. Stevens) Crous, N. Vaghefi & P.W.J. Taylor, возбудитель аскохитоза хризантем, распространен ограниченно [6]. Сведений о выделении грибов этого рода с хвой видов сосны нам обнаружить не удалось.

С хвой сосны с симптомами поражения грибными патогенами также были выделены грибы *Alternaria alternata*, *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Lophium* sp., *Endoconidioma populi* Tsuneda, Hambl. & Currah, *Dumontinia tuberosa* (Bull.) L.M. Kohn, *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst., *Mycoacia fuscoatra* (Fr.) Donk, *Paraphaeosphaeria michotii* (Westend.) O.E. Erikss, *Trichoderma* sp. и два изолята некультивируемых грибов (Uncultured *Alternaria* и uncultured fungus).

*Alternaria alternata* выделяли с хвой сосны и в Белоруссии [2]. Об обнаружении грибов рода *Fusarium* на хвое сосны в Калининградской области сообщали российские исследователи [12] и авторы из Республики Беларусь [2].

Ряд изолятов требует дополнительной молекулярной диагностики с использованием других локусов (вторичных баркодов).

### Заключение

В результате проведенных работ выявлено два новых для Северо-Запада РФ гриба-возбудителя болезней хвой сосны (*Cal. rubenticola* и *Cl. perangustum*). Впервые на обследованной территории был зарегистрирован изолят инвазивного комплекса видов *N. germanicum* / *N. abietis*.

Также было идентифицировано два вида патогенных опасных (или потенциально опасных) гриба, возбудителей обыкновенного шютте сосны и склерофомоза: *L. seditiosum* и *S. polyspora*, соответственно.

На хвое с симптомами поражения, кроме патогенных грибов, также были обнаружены виды, не являющиеся возбудителями заболеваний хвой сосны: *E. populi*, *D. tuberosa*, *B. adusta*, *M. fuscoatra* и *P. michotii*. Выявлены изоляты, идентифицированные до рода: *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Lophium* sp. и *Trichoderma* sp.

*Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета в рамках государственного задания ФБУ «СПбНИИЛХ» на проведение прикладных научных исследований от 26.12.2024 № 053–00005–25–00 по теме «Разработка экспресс-методики ПЦР-диагностики комплекса патогенов в пораженной хвое сосен на Северо-Западе России» (шифр 2-Г25 экспресс-методика).*

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бедрицкая, Т.В. Результаты молекулярно-генетического анализа для фитосанитарной диагностики лесообразующих пород Байкальской природной территории / Т.В. Бедрицкая, А.А. Воинков, М.А. Арефьева, Т.И. Антонова // Лесохозяйственная информация. – 2024. – № 2. – С. 79–96.
2. Головченко, Л.А. Современные сведения о микобиоте хвой и побегов сосны обыкновенной в Республике Беларусь / Л.А. Головченко, Н.Г. Дишук, С.В. Пантелеев, О.Ю. Баранов // Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике : материалы третьей Всероссийской конференции с международным участием. – Красноярск : Институт леса СО РАН, 2022. – С. 51–52.
3. Жуков, А.М. Развитие лесной фитопатологии и новые угрозы для лесов России / А.М. Жуков, Ю.И. Гниненко // Лесохозяйственная информация. – 2014. – № 4. – С. 13–24.
4. Жуков, А.М. Опасные малоизученные болезни хвойных пород в лесах России / А.М. Жуков, Ю.И. Гниненко, П.Д. Жуков. – изд. 2-е, испр. и доп. – Пушкино : ВНИИЛМ, 2013. – 128 с.
5. Звягинцев, В.Б. Оценка рисков биологических инвазий дендропатогенных организмов на территории Беларуси, пути их прогнозирования и контроля / В.Б. Звягинцев, Д.Б. Беломесяцева, А.Г. Прохорова [и др.] // Ботаника. Исследования. – 2024. – № 54. – С. 30–56.

6. Копина, М.Б. Виды рода *Stagonosporopsis* в карантинном перечне ЕАЭС, разработка методов видовой идентификации / М.Б. Копина, О.В. Синкевич, Т.А. Сурина // Растениеводство и луговодство : сборник статей Всероссийской научной конференции с международным участием 18–19 октября 2020 г., Москва. – М. : Издательство ЭЙПиСиПаблицинг, 2020. – С. 486–490.
7. Крутов, В.И. Грибные болезни хвойных пород в искусственных ценозах таежной зоны Карело-Кольского региона : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Крутов Виталий Иванович. – СПб., 1995. – 50 с.
8. Крутов, В.И. Грибы и насекомые – консорты лесообразующих древесных пород Карелии / В.И. Крутов, В.И. Шубин, О.О. Предтечинская [и др.]; Отв. ред. А.В. Полевой. – Петрозаводск : Карельский научный центр РАН, 2014. – 216 с. – ISBN 978–5–9274–0628–9.
9. Руоколайнен, А.В. Афиллофоровые и фитопатогенные макро и микромицеты лесов заповедника «Пасвик» (Мурманская область) / А.В. Руоколайнен, В.И. Крутов, Ю.Р. Химич // Труды КарНЦ РАН. – 2011. – № 2. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/afilloforovyе-i-fitopatogennyе-makroi-mikromitsety-lesov-zapo-vednika-pasvik-murmanskaya-oblast> (дата обращения: 07.07.2025).
10. Сенашова, В.А. Болезни хвои, вызванные фитопатогенными грибами, в Средней Сибири / В.А. Сенашова // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. – 2012. – Вып. 200. – С. 275–284.
11. Сенашова, В.А. Эпифитная микрофлора здоровой и пораженной хвои древесных пород Средней Сибири / В.А. Сенашова, Т.И. Громовых, Н.Д. Сорокин // Лесоведение. – 2012. – № 4. – С. 24–30.
12. Сурина, Т.А. Карантинные и особо опасные микозы хвои сосны / Т.А. Сурина, М.Б. Копина, А.В. Смирнова // Проблемы лесной фитопатологии и микологии : Материалы XI международной конференции, Петрозаводск, 10–14 октября 2022 года / Под ред. О.О. Предтечинской, В.Г. Стороженко. – Петрозаводск : КарНЦ РАН, 2022. – С. 92–94.
13. Шишкина, А.А. Видовой состав патогенных микромицетов на лесосеменных плантациях сосны обыкновенной в Московской области / А.А. Шишкина, Н.Н. Карпун // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. – 2025. – Вып. 251. – С. 78–96.
14. Шишкина, Анастасия А. Новые поражения растений в хвойных лесах России, связанные с микромицетами / Анастасия А. Шишкина, Анна А. Шишкина // Микология сегодня / под ред. А.В. Куракова и А.Ю. Сергеева. – М. : Национальная академия микологии, 2022. – Том 4. – С. 30–41. – DOI: 10.14427/mt.2022.iv.30.
15. Agan, A. Seasonal dynamics of fungi associated with healthy and diseased *Pinus sylvestris* needles in Northern Europe / A. Agan, H. Solheim, K. Adamson [et al.] // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9 (8). – P. 1757. – URL: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081757> (дата обращения: 14.05.2025).
16. Barnett, H.L. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, forth ed. / H.L. Barnett, Barry B. Hunter. – Minnesota : American Phytopathological Society, 1998. – 218 p.
17. Behnke-Borowczyk, J. Fungi associated with *Cyclaneusma* needle cast in Scots pine in the west of Poland / J. Behnke-Borowczyk, H. Kwaśna, B. Kulawinek // Forest Pathology. – 2019. – Vol. 49 (2). – P. e12487.
18. Blumenstein, K. *Sphaeropsis sapinea* and associated endophytes in scots pine: interactions and effect on the host under variable water content / K. Blumenstein, J. Bußkamp, G.J. Langer [et al.] // Frontiers in Forests and Global Change. – 2021. – Vol. 4. – P. 655769.
19. Bußkamp, J. *Sphaeropsis sapinea* and fungal endophyte diversity in twigs of Scots pine (*Pinus sylvestris*) in Germany / J. Bußkamp, G.J. Langer, E.J. Langer // Mycological Progress. – 2020. – Vol. 19 (9). – P. 985–999.
20. Diwani, S.A. Pathogenicity of three *Lophodermium* species on *Pinus sylvestris* L. / S.A. Diwani, C.S. Millar // European journal of forest pathology. – 1987. – Vol. 17 (1). – P. 53–58.
21. Drenkhan, R. Epidemiological investigation of pine foliage diseases by the use of the needle trace method / R. Drenkhan. – Eesti Maaülikool, 2011. – 208 p.

22. Gardes, M. ITS primers with enhanced specificity for *Basidiomycetes*: application to identification of Mycorrhizae and rusts / M. Gardes, T.D. Bruns // *Mol. Ecol.* – 1993. – № 2. – P. 113–118.
23. Hanso, M. Retrospective analysis of *Lophodermium seditiosum* epidemics in Estonia / M. Hanso, R. Drenkhan // *Acta Silv. Lign. Hung., Spec. Edition.* – 2007. – С. 31–45.
24. Index Fungorum Partnership : baza dannyh. – URL: <https://indexfungorum.org/?ItemID=9> (дата обращения: 26.09.2025).
25. Lilja, A. Fungal diseases in forest nurseries in Finland / A. Lilja, M. Poteri, R.L. Petäistö [et al.] // *Silva Fennica.* – 2010. – Vol. 44 (3). – P. 525–545.
26. Marčiulyrienė, D. Principal drivers of fungal communities associated with needles, shoots, roots and adjacent soil of *Pinus sylvestris* / D. Marčiulyrienė, A. Marčiulynas, V. Mishcherikova [et al.] // *Journal of Fungi.* – 2022. – Vol. 8 (10). – P. 1112.
27. Markovskaja, S. First record of *Neocatenulostroma germanicum* on pines in Lithuania and Ukraine and its co-occurrence with *Dothistroma* spp. and other pathogens / S. Markovskaja, A. Kačergius, K. Davydenko, S. Fraser // *Forest pathology.* – 2016. – Vol. 46 (5). – P. 522–533.
28. Minter, D.W. Four species of *Lophodermium* on *Pinus sylvestris* / D.W. Minter, J.M. Staley, C.S. Millar // *Transactions of the British Mycological Society.* – 1978. – Vol. 71, no. 2. – P. 295–301.
29. Okonechnikov, K. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit / K. Okonechnikov, O. Golosova, M. Fursov // *Bioinformatics.* – 2012. – Vol. 28. – P. 1166–1167. – DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091,
30. Rahimah, A.R. Freeze-drying of oil palm (*Elaeis guineensis*) leaf and its effect on the quality of extractable DNA / A.R. Rahimah, S.C. Cheah, S. Rajinder // *J. OIL PALM RES.* – 2006. – Vol. 18. – P. 296–304. – ISSN 1511–2780.
31. Singlair, Wayne A. Diseases of trees and shrubs / Wayne A. Singlair, H. Lyon Howard. – N. Y. : Cornell university Press, Sage House, 2005. – 660 p.
32. Smith, R.S. Diseases of Pacific coast conifers / R.S. Smith, R.F. Scharpf. – USDA Forest Service, 1993. – 133 p.
33. Tanney, J.B. *Phacidiaceae* endophytes of *Picea rubens* in Eastern Canada / J.B. Tanney, K.A. Seifert // *Botany.* – 2018. – Vol. 96 (9). – P. 555–588.
34. Tkaczyk, M. Review of the most important fungal diseases occurring in forest nurseries in Poland in 2012–2021 / M. Tkaczyk, K. Sikora, H. Szmidla, T. Jablonski // *Folia Forestalia Polonica. Series A. Forestry.* – 2025. – Vol. 67 (1). – P. 23–34.
35. White, T.J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / T.J. White, T.D. Bruns, S.B. Lee, J.W. Taylor // In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (Eds.), *PCR Protocols – a Guide to Methods and Applications.* – Academic Press, San Diego, CA, 1990. – P. 315–322.
36. Xu, J. Fungal DNA barcoding / J. Xu // *Genome.* – 2016. – Vol. 59(11). – P. 913–932.

#### REFERENCES

1. Bedritskaya T.V., Voinkov A.A., Arefieva M.A., Antonova T.I. Results of molecular genetic analysis for phytosanitary diagnostics of forest-forming species of the Baikal natural territory. *Forestry information [Lesohozjajstvennaja informacija]*, 2024, no. 2, pp. 79–96. (In Russian).
2. Golovchenko L.A., Dishuk N.G., Panteleev S.V., Baranov O.Ju. Modern information on the mycobiota of needles and shoots of Scots pine in the Republic of Belarus. *Monitoring and biological methods of control of pests and pathogens of woody plants: from theory to practice. Proceedings of the third All-Russian conference with international participation [Monitoring i biologicheskie metody kontrolja vreditelej i patogenov drevesnyh rastenij: ot teorii k praktike : materialy tret'ej Vserossijskoj konferencii s mezhdunarodnym*

- uchastiem*]. Krasnoyarsk, Forest Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2022, pp. 51–52. (In Russian).
3. Zhukov A.M., Gninenko Ju.I. Development of forest phytopathology and new threats to Russian forests / A.M. Zhukov, Yu.I. Gninenko. *Forestry information [Lesohozhajstvennaja informacija]*, 2014, no. 4, pp. 13–24. (In Russian).
  4. Zhukov A.M., Gninenko Ju.I., Zhukov P.D. Dangerous poorly studied diseases of coniferous species in the forests of Russia. 2nd ed., corrected. and add. Pushkino, VNIILM, 2013, 128 p. (In Russian).
  5. Zvyagintsev V.B., Belomesyasheva D.B., Prokhorova A.G. Ivaschenko L.O., Shabashova T.G. Risk assessment of biological invasions of dendropathogenic organisms on the territory of Belarus, ways of their forecasting and control. *Botany. Research. [Botanika. Issledovanija]*, 2024, no. 54, pp. 30–56. (In Russian).
  6. Kopina M.B., Sinkevich O.V., Surina T.A. Species of the genus *Stagonosporopsis* in the quarantine list of the EAEU, development of methods for species identification. *Plant growing and meadow farming: collection of articles from the All-Russian scientific conference with international participation [Rasteniyevodstvo i lugovodstvo. Sbornik statey Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem 18–19 oktyabrya 2020 g., Moskva]*, October 18–19, 2020, Moscow, Publishing House APC Publishing, 2020, pp. 486–490. (In Russian).
  7. Krutov V.I. Fungal diseases of conifers in artificial cenoses of the taiga zone of the Karelian-Kola region: Extended abstract of Doctor's thesis for biological sciences, Saint Peterburg, 1995, 50 p. (In Russian).
  8. Krutov V.I., Shubin V.I., Predtechenskaja O.O., Ruokolajnen A.V., Kotkova V.M., Polevoj A.V., Humala A.Je., Jakovlev E.B. Fungi and insects – consorts of forest-forming tree species of Karelia. Ed. A.V. Polevoy. Petrozavodsk, Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences, 2014, 216 p. ISBN 978–5-9274–0628–9. (In Russian).
  9. Ruokolajnen A.V., Krutov V.I., Himich Ju.R. Aphyllphoraceous and phytopathogenic macro- and micromycetes of the forests of the Pasvik Nature Reserve (Murmansk Region). *Proceedings of the Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences [Trudy KarNC RAN]*, 2011, no. 2, URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/afilloforovye-i-fitopatogennye-makroi-mikromitsety-lesov-zapo-vednika-pasvik-murmanskaya-oblast> (date of access: 07.07.2025). (In Russian).
  10. Senashova V.A. Conifer diseases caused by phytopathogenic fungi in Central Siberia. *Bulletin of the St. Petersburg Forest Engineering Academy [Izvestija Sankt-Peterburgskoj lesotekhnicheskoy akademii]*, 2012, Issue 200, pp. 275–284. (In Russian).
  11. Senashova V.A., Gromovyh T.I., Sorokin N.D. Epiphytic microflora of healthy and diseased needles of tree species in Central Siberia. *Forestry [Lesovedenie]*, 2012, no. 4, pp. 24–30. (In Russian).
  12. Surina T.A., Kopina M.B., Smirnova A.V. Quarantine and especially dangerous mycoses of pine needles. *Problems of forest phytopathology and mycology. Proceedings of the XI international conference [Problemy lesnoj fitopatologii i mikologii Materialy KHI mezhdunarodnoy konferentsii, Petrozavodsk, 10–14 oktyabrya 2022 goda]*. Ed. O.O. Predtechenskaya, V.G. Storozhenko. Petrozavodsk: Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences., Petrozavodsk, October 10–14, 2022, pp. 92–94. (In Russian).
  13. Shishkina A.A., Karpun N.N. Vidovoj sostav patogennyh mikromicetov na lesosemennyh plantacijah sosny obyknovennoj v Moskovskoj oblasti. [Izvestija Sankt-Peterburgskoj lesotekhnicheskoy akademii], 2025, no 251, p. 78–96. (In Russian).
  14. Shishkina Anastasia A., Shishkina Anna A. New plant diseases in Russian coniferous forests associated with micromycetes. *Mycology today [Mikologija segodnja]*. Edited by A.V. Kurakov and A.Yu. Sergeev. Moscow, National Academy of Mycology, 2022, vol. 4, pp. 30–41. DOI: 10.14427mt.2022.iv.30. (In Russian).
  15. Agan A., Solheim H., Adamson K., Hietala A.M., Tedersoo L., Drenkhan R. Seasonal dynamics of fungi associated with healthy and diseased *Pinus sylvestris* needles in Northern Europe. *Microorganisms*, 2021, vol. 9 (8), p. 1757. DOI.org/10.3390/microorganisms9081757 (date of access: 14.05.2025).

16. Barnett H.L., Hunter Barry B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, forth ed., Minnesota, 1998, 218 p.
17. Behnke-Borowczyk J., Kwaśna H., Kulawinek B. Fungi associated with *Cyclaneusma* needle cast in Scots pine in the west of Poland. *Forest Pathology*, 2019, vol. 49 (2), p. e12487.
18. Blumenstein K., Bußkamp J., Langer G.J., Schlößer R., Parra Rojas N.M., Terhonen E. *Sphaeropsis sapinea* and associated endophytes in scots pine: interactions and effect on the host under variable water. *Frontiers in Forests and Global Change*, 2021, vol. 4., pp. 655–769.
19. Bußkamp J., Langer G.J., Langer E.J. *Sphaeropsis sapinea* and fungal endophyte diversity in twigs of Scots pine (*Pinus sylvestris*) in Germany. *Mycological Progress*, 2020, vol. 19 (9), pp. 985–999.
20. Diwani S.A., Millar C.S. Pathogenicity of three *Lophodermium* species on *Pinus sylvestris* L. *European journal of forest pathology*, 1987, vol. 17 (1), pp. 53–58.
21. Drenkhan R. Epidemiological investigation of pine foliage diseases by the use of the needle trace method. Eesti Maailikool, 2011, 208 p.
22. Gardes M., Bruns T.D. ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes: application to identification of Mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.*, 1993, no. 2, pp. 113–118.
23. Hanso M., Drenkhan R. Retrospective analysis of *Lophodermium seditiosum* epidemics in Estonia. *Acta Silv. Lign. Hung., Spec. Edition*, 2007, pp. 31–45.
24. Index Fungorum Partnership. Baza danych. URL: <https://indexfungorum.org/?ItemID=9> (accessed: 26.09.2025).
25. Lilja A., Poteri M., Petäistö R.L., Rikala R., Kurkela T., Kasanen R. Fungal diseases in forest nurseries in Finland. *Silva Fennica*, 2010, vol. 44 (3), pp. 525–545.
26. Marčiulyrienė D., Marčiulynas A., Mishcherikova V., Lynikienė J., Gedminas A., Franic I., Menkis A. Principal drivers of fungal communities associated with needles, shoots, roots and adjacent soil of *Pinus sylvestris*. *Journal of Fungi*, 2022, vol. 8 (10), pp. 11–12.
27. Markovskaja S., Kačergius A., Davydenko K., Fraser S. First record of *Neocatenulostroma germanicum* on pines in Lithuania and Ukraine and its co-occurrence with *Dothistroma* spp. and other pathogens. *Forest pathology*, 2016, vol. 46 (5), pp. 522–533.
28. Minter D.W., Staley J.M., Millar C.S. Four species of *Lophodermium* on *Pinus sylvestris*. *Transactions of the British Mycological Society*, 1978, vol. 71, no. 2, pp. 295–301.
29. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 2012, vol. 28, pp. 1166–1167.
30. Rahimah A.R., Cheah S.C., Rajinder S. Freeze-drying of oil palm (*Elaeis guineensis*) leaf and its effect on the quality of extractable. *J. OIL PALM RES.*, 2006, vol. 18, pp. 296–304. ISSN 1511–2780.
31. Singlair, Wayne A., Lyon H. Diseases of trees and shrubs, New York, 2005, 660 p.
32. Smith R.S., Scharpf R.F. Diseases of Pacific coast conifers, 1993, 133 p.
33. Tanney J.B., Seifert K.A. *Phacidiaceae* endophytes of *Picea rubens* in Eastern Canada. *Botany*, 2018, vol. 96 (9), pp. 555–588.
34. Tkaczyk M., Sikora K., Szmidla H., Jablonski T. Review of the most important fungal diseases occurring in forest nurseries in Poland in 2012–2021. *Folia Forestalia Polonica. Series A. Forestry*, 2025, vol. 67 (1), pp. 23–34.
35. White T.J., Bruns T.D., Lee S.B., Taylor J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols a Guide to Methods and Applications*, San Diego, 1990, pp. 315–322.
36. Xu J. Fungal DNA barcoding. *Genome*, 2016, vol. 59 (11), pp. 913–932.