



2. ЛЕСОВОССТАНОВЛЕНИЕ. ЛЕСНАЯ СЕЛЕКЦИЯ, СЕМЕНОВОДСТВО ЛЕСНАЯ ГЕНЕТИКА

УДК 577.212:632.4

МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ СМЕШАННЫХ ИНФЕКЦИЙ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА В ЛЕСНЫХ ПИТОМНИКАХ

¹Баранов О.Ю., ¹Пантелеев С.В., ²Ярмолович В.А.

¹Институт леса НАН Беларуси

(г. Гомель, Беларусь)

²Белорусский государственный технологический университет

(г. Минск, Беларусь)

На основании использования метагеномного подхода в диагностике смешанных инфекций, проведено исследование по определению основных типов ассоциаций патогенов, выявляемых в лесных питомниках. Установлено, что формирование комплексов фитопатогенных грибов напрямую связано с экологическими свойствами видов, их представленностью в изучаемых объектах и не зависит от уровня таксономического родства микромицетов.

ВВЕДЕНИЕ

Современная стратегии лесозащиты должна быть экономически обоснованной и направлена на минимизацию последствий вызываемых патогенными

ми микроорганизмами, что в свою очередь может быть обеспечено только наличием эффективной системы прогнозирования возникновения и развития заболеваний с целью своевременной разработки и проведения санитарно-профилактических и защитных мероприятий [1].

Исходными данными настоящей работы явились результаты проведенного ранее молекулярно-фитопатологического обследования посадочного материала в 35 лесных питомниках из различных регионов Беларуси, в ходе которого для большинства образцов растительных тканей с различной степенью инфекционной нагрузки были получены мультивидовые ДНК-спектры, свидетельствующие о комплексной природе возникновения и развития инфекционных заболеваний. При этом, несмотря на мультивидовой характер ассоциаций, наибольшим удельным весом характеризовались один или несколько доминирующих альтернативных видов патогенной микрофлоры [2]. Кроме того, для доминирующих видов микромицетов были отмечены устойчивые ассоциации, имеющие корреляцию с теми или иными видами заболеваний и характером поражения растений: единичные, очаговые и эпифитотийные формы, что указывает на ведущую роль видовых комплексов, а не отдельных патогенов в формировании большей части инфекционных заболеваний растений.

Исходя из полученных результатов, с целью дальнейшей разработки фундаментальных аспектов и конкретных профилактических и защитных мероприятий растений, необходимым явилось проведение комплексного молекулярно-генетического анализа микробиоты, позволяющего получить сведения о полном видовом составе и биологии патогенов, входящих в фитоценотический комплекс в качестве его постоянных компонентов; исследование закономерности динамики популяций возбудителей заболеваний, а также установление взаимоотношений и трофических связей между ними и растениями. Кроме того, изучение процессов, протекающих в популяциях паразитов создаёт теоретическую основу для возможного создания гомеостатических систем [3].

Наиболее современными и перспективными способами изучения фитопатогенов являются методы, основанные на анализе молекул ДНК [4]. К настоящему времени ДНК-маркеры нашли свое широкое применение и получили длительную апробацию в различных областях медицины - для выявления и профилактики инфекционных, врожденных и онкологических заболеваний. Преимуществами ДНК-маркеров перед остальными группами методов являются ранняя диагностика болезней, точность определения и быстрота выполнения анализов. Особую актуальность имеет применение современных молекулярно-генетических технологий в питомниках, теплицах и др. ДНК-маркеры могут быть использованы как для непосредственной оценки зараженности выращиваемого материала, так и в ходе проведения профилактических мероприятий, анализа потенциальных источников инфекции – почвы, воды, используемой для полива, или насекомых, как переносчиков заболеваний.

В последнее время рядом авторов было показано, что наиболее успешным методологическим подходом в молекулярно-генетической диагностике

видовых ассоциаций патогенов является метагеномный анализ, позволяющий анализировать биологический (растительный) материал, полученный в результате прямого диагностирования генов и геномов всех присутствующих в инфицированной ткани микроорганизмов [5]. Основным отличием при использовании метагеномного подхода является учет и количественная оценка некультивируемых в искусственных условиях (имеющих выраженную специализацию к живым тканям микроорганизмов) наряду с культивируемыми видами патогенов. Данный способ анализа в широкой степени реализован в медицине и экологических исследованиях микроорганизмов. Однако, в большинстве проведенных исследований, использовались дорогостоящие технология, связанные с секвенированием метагеномов. В ходе данной работы были использованы разработанные Институтом леса НАН Беларуси диагностикумы основных групп фитопатогенов лесных пород, что позволило более быстрым и дешевым способом проводить метагеномный анализ видовых ассоциаций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальный материал для анализа был собран в лесных питомниках Гомельского, Минского, Могилевского и Брестского ГПЛХО, был представлен образцами хвои 1-2 летних сеянцев сосны обыкновенной и ели европейской и 3-4 летних саженцев ели европейской. Общее число образцов составило 390 шт. Образцы фиксировались в 70% спирте и хранились при -20 °С.

Выделение суммарной ДНК из тканей хвои было выполнено СТАВ-методом [6]. Для установления видовой принадлежности изолятов была проведена амплификация и секвенирование региона рДНК, включающего 18S рРНК – ВТС1 – 5,8S рРНК – ВТС2 – 28S рРНК [7]. ПЦР-анализ был выполнен на основании использования DreamTaq™ Green PCR Master Mix (Fermentas, Литва) при следующих параметрах реакции: начальная денатурация 5 мин. при 95°C, последующие 35 циклов 20 сек. при 95 °С, 25 секунд при 67 °С, и 45 секунд при 72°C, и финальная элонгация 8 мин при 72°C. Для амплификации были использованы праймеры ITS1 и ITS4 [7]. Предварительный анализ продуктов амплификации был выполнен с помощью электрофоретического фракционирования в 2,5% агарозном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и рестрикционным анализом. Альтернативные по размеру и рестрикционным спектрам (MspI, AluI, TaqI, RsaI, HhaI) ампликоны отобраны для последующего секвенирования. Секвенирующая реакция была выполнена на основании использования набора BigDye Terminator Sequence Kit v.1.1 (Applied Biosystems, США) согласно протокола компании-изготовителя. Электрофоретическое фракционирование проведено с помощью генетического анализатора ABI Prism 310 (Applied Biosystems, США), интерпретация результатов – программного обеспечения Sequence Analysis 5.1.1 (Applied Biosystems, США). Для установления (подтверждения) видовой принадлежности образцов, нуклеотидная структура секвенированных ампликонов была проанализирована с помощью программы BLAST в

GenBank NCBI [8]. Обозначение видов производилось в соответствии с существующей систематикой грибов. В случае отсутствия видовой информации в базе данных GenBank NCBI, образцам присваивалось родовое название дополняемое индивидуальным цифровым индексом.

Метагеномный анализ инфицированных тканей был основан на сравнительном электрофоретическом анализе ПЦР-спектров универсальных локусов рДНК. Для амплификации диагностических локусов рДНК были использованы пары праймеров ITS1 и ITS2 (локус BTC1), ITS3 и ITS4 (локус BTC2) [7], при этом праймеры ITS2 и ITS3 на 5'-конце содержали флуоресцентный краситель FAM. Электрофоретическое фракционирование высокой степени разрешения было выполнено с применением генетического анализатора ABI Prism 310 (Applied Biosystems, США), интерпретация результатов основывалась на оценке размера и количества амплифицированных фрагментов с помощью программного обеспечения GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems, США) и идентификацией в электронной базе данных «Молекулярно-генетический определитель возбудителей микозов посадочного материала древесных видов в лесных питомниках» (ГНУ «Институт леса НАН Беларуси») [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе обследования лесных питомников в растительных образцах было идентифицировано 105 различных видов фитопатогенных грибов, из которых 38 являлись наиболее распространенными. При этом следует отметить, что большинство выявленных заболеваний, было связано с поражением хвои и ассоциировано с некротрофными микромицетами. Среди них доминирующее число возбудителей было представлено родами: *Phoma* – 34%, *Cladosporium* – 31%, *Alternaria* – 29%, *Epicoccum* – 24%, *Aureobasidium* – 23,5% [10]. Большинство представителей выявленных родов вызывают оппортунистические инфекции, связанные с первичным ослаблением растений со стороны сторонних факторов, что в целом определяет неспецифический характер инфекции, не носит направленного характера, может носить вначале пятнистый характер (микроочаги инфекции приурочены к локальным участкам рельефа или воздействия негативного фактора), а при дальнейшем развитии, распространение заболевания, происходит уже вторично за счет разлета спор, и приобретает массовый характер.

Ослабление посадочного материала растений, в том числе и хвойных видов, является сложным процессом, характеризующегося зачастую сходной внешней симптоматикой, в тоже время изначально затрагивающих различные органы и ткани, но как следствие заключительные этапы заболеваний сводятся к общим механизмам деградации фотосинтетического аппарата, изменению окраски растения, и усыханию хвои. При этом окраска пораженных сеянцев и саженцев может определяться как собственной пигментной системой, так и метаболитами образуемыми патогенами. Развитие того или иного вида заболеваний может быть обусловлено разными причинами: климатиче-

скими, титра патогена, онтогенетическими особенностями растения, типа и стадии (степени) ослабления растения и его физиологического статуса.

Полученные данные о видовом составе, частоте встречаемости патогенов в различных регионах и питомниках, представленности в растительных образцах были использованы для определения устойчивых ассоциаций микромицетов. При этом изучение возможности формирования видовых ассоциаций было исследовано на различных уровнях пространственной организации: отделения питомника, отдельного растения и органа или частях органа. Следует также отметить, что в основе модели формирования микробных ассоциаций, доминирующее место отводилось наличие синергичным и антагонистическим эффектам, а также микросукцессионных процессам патофлоры.

Изучение ассоциаций на макроуровне выявило следующие постоянно присутствующие виды патогенов в инфицированном материале хвойных видов (таблица 1).

Таблица 1 – Доминирующие виды патогенов в отделениях питомников (макроуровень) на основании полученных результатов молекулярно-генетической диагностики

Наименование лесхоза	Виды патогенов
Калинковичский	<i>Sydowia polyspora</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Phoma macrostoma</i>
Милошевичский	<i>Sphaeropsis sapinea</i> , <i>Phoma sp. 1</i> , <i>Cladosporium sp. 1</i>
Октябрьский	<i>Phoma sp. 2</i> , <i>Alternaria sp. 1</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Epicoccum nigrum</i>
Борисовский	<i>Alternaria sp. 2</i> , <i>Cladosporium sp. 2</i> , <i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Coleophoma cylindrium</i>
Вилейский	<i>Alternaria sp. 2</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Cladosporium sp. 3</i> , <i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Epicoccum nigrum</i> , <i>Phaeocryptopus gaeumannii</i> , <i>Phoma sp.3</i>
Клецкий	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Cladosporium sp. 4</i> , <i>Phoma sp. 4</i> , <i>Alternaria sp. 3</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Cladosporium sp. 4</i> , <i>Epicoccum nigrum</i>
Молодечненский	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Cladosporium sp. 5</i> , <i>Epicoccum nigrum</i> , <i>Phoma pomorum</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Cladosporium sp. 5</i> , <i>Cyclaneusma minus</i> , <i>Pestalotiopsis sp. 1</i> , <i>Sydowia polyspora</i> , <i>Truncatella sp. 1</i>
Старобинский	<i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Cladosporium sp. 6</i> , <i>Epicoccum nigrum</i> , <i>Sydowia polyspora</i> , <i>Wilcoxina sp. 1</i> , <i>Alternaria sp. 4</i> , <i>Cladosporium sp. 7</i> , <i>Sphaeropsis sapinea</i>
Быховский	<i>Sphaeropsis sapinea</i> , <i>Phoma pomorum</i> , <i>Alternaria sp. 5</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Sclerophoma pithya</i>
Глусский	<i>Alternaria sp. 5</i> , <i>Cladosporium sp. 7</i>
Могилевский	<i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Rhodotorula sp. 1</i>
Чаусский	<i>Cladosporium sp. 8</i> , <i>Alternaria sp. 6</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Cladosporium herbarum</i>
Барановичский	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Cladosporium sp. 9</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i>

Как видно из таблицы 2 большинство родов фитопатогенных грибов в различных питомниках представлено разными видами, что может быть обусловлено наличием определенной географической изоляцией, и как следствие формирование специфических видов доминантов. При этом, как видно из полученных результатов, перечень сочетания родов в большинстве изученных объектов совпадал. Принимая во внимание видовую уникальность в каждом отдельном случае дальнейшее изучение видовых ассоциаций на макроуровне не представлялось возможным. Вследствие этого поиск дальнейших ассоциаций проводили на уровне рода, а не вида.

На следующем этапе исследований, используя частоты встречаемости представителей идентифицируемых родов, был проведен сравнительный анализ наблюдаемых и ожидаемых (расчетных) показателей представленности тех или иных ассоциаций на макроуровне (отделении питомника), представленных в таблице 2. При этом в основе данной модели были использованы только битаксонные группы.

Таблица 2 – Частота встречаемости ассоциаций патогенов в отделениях питомников (макроуровень)

	<i>Sydowia</i>	<i>Phoma</i>	<i>Sphaeropsis</i>	<i>Epicoccum</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Aureobasidium</i>
<i>Sydowia</i>		0,16	0	0	0	0	0
<i>Phoma</i>	0,12		0,16	0,31	0,38	0,38	0,31
<i>Sphaeropsis</i>	0,05	0,12		0,08	0,15	0,15	0,08
<i>Epicoccum</i>	0,09	0,21	0,09		0,38	0,38	0,23
<i>Cladosporium</i>	0,20	0,46	0,20	0,33		0,62	0,23
<i>Alternaria</i>	0,16	0,37	0,16	0,27	0,59		0,31
<i>Aureobasidium</i>	0,09	0,21	0,09	0,15	0,33	0,27	

Примечание: ожидаемая частота – внизу, наблюдаемая частота – сверху

Как видно из таблицы, частота встречаемости тех или иных родовых комплексов в большинстве случаев (кроме *Sydowia-Cladosporium*, *Sydowia-Alternaria*) на макроуровне совпадает с расчетными значениями, что по всей видимости может свидетельствовать об отсутствии прямого синергического эффекта некротрофных грибов в развитии очагов инфекции. В свою очередь, среди основных факторов, определяющих частоту встречаемости отдельных видов наибольшее влияние, оказывают инфекционное начало и условия среды, благоприятные для развития определенной экологической группы фитопатогенных организмов. Таким образом, изучение состава фитопатогенов на макроуровне не позволяет произвести оценку взаимоотношений различных групп фитопатогенных организмов, а по всей вероятности указывает на сходство условий среды для их развития.

На следующем этапе исследований была проведена оценка видовых ассоциаций на организменном уровне. При этом проводилась оценка как доминирующих, так и всех детектируемых видов микроорганизмов. Изучение было выполнено на основании амплификации и фракционирования коротких (< 350 п.н.)

фрагментов рДНК. При этом обозначение образцов производилось на основании использования значения молекулярного размера ампликонов (таблица 3).

Следует отметить, что в таблице 3 приведены только те виды фитопатогенных микромицетов, содержание генетического материала которых в изучаемых тканях растений являлось достоверно диагностируемым ($Ct \leq 35$) и представлено на денситограммах четкими пиками (зонами амплификации). Как видно из таблицы общее число детектируемых микроорганизмов для каждого из растений составляло 15-20 видов.

Таблица 3 – Видовые спектры некротрофных грибов в суммарных образцах хвои 3-летних саженцев ели европейской (ГЛХУ «Быховский лесхоз»)

образец патоген	1	2	3	4	5	6	7	8	9
174	0,01	0	0	0	0	0	0	0,02	0
175	0	0,01	0	0,01	0,02	0,02	0,01	0	0,01
176	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,09	0	0,02
179	0	0	0	0	0	0,01	0,01	0	0,01
189	0	0,01	0	0	0	0	0,01	0,01	0
191	0	0	0	0	0	0,18	0	0	0
194	0	0	0	0	0	0,01	0,02	0,01	0
195	0	0,07	0	0	0	0	0	0	0,02
196	0	0	0,05	0	0,03	0	0	0	0
203	0	0	0,02	0	0	0	0	0	0
205	0	0	0	0	0	0,01	0,01	0	0
206	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0
207	0	0,01	0	0	0	0	0	0	0
211	0	0	0	0,01	0	0,04	0	0	0
212	0	0	0	0	0	0	0	0,23	0
213	0	0	0	0	0	0	0,25	0	0
214	0	0,28	0	0,21	0	0,15	0	0,23	0,14
215	0,12	0	0,1	0	0,22	0	0	0	0
220	0	0	0	0	0	0,02	0,01	0	0
221	0,19	0	0	0,01	0	0	0	0	0
222	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0
223	0	0,06	0	0	0	0	0	0	0
224	0	0	0	0	0,03	0	0	0	0
225	0,06	0	0	0	0	0	0	0	0,16
229	0	0	0	0	0	0,06	0	0	0
231	0	0	0,13	0,33	0	0	0,12	0,23	0,13
232	0,40	0	0	0	0,21	0	0	0	0
233	0	0,43	0	0	0,24	0,02	0,03	0	0,18
238	0,02	0	0	0	0	0	0	0,01	0
240	0	0	0	0	0,01	0	0	0	0
241	0	0	0,02	0,1	0	0,11	0,11	0	0,05
242	0	0,03	0	0	0	0	0	0	0
244	0,02	0	0,03	0	0,02	0	0	0,05	0
247	0	0	0	0	0	0,01	0,01	0,01	0,01
251	0	0,01	0	0	0,03	0	0	0	0
253	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0
255	0,01	0	0	0,05	0,01	0	0,02	0	0,01
258	0	0	0	0,11	0,06	0,19	0,15	0	0,12
259	0	0,03	0,38	0	0	0	0	0	0

Продолжение таблицы 3

260	0,07	0	0	0	0	0	0	0,13	0
266	0	0	0	0,01	0	0	0	0	0,02
267	0	0,01	0	0	0	0	0	0	0
268	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
271	0	0	0,03	0,07	0,04	0,13	0,11	0	0,08
273	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0
278	0,02	0	0	0,01	0	0	0	0	0
279	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02
281	0	0,01	0	0	0	0	0	0	0
285	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
287	0	0,03	0	0	0	0	0	0	0
288	0	0	0	0,01	0	0	0	0	0
289	0	0	0,01	0	0	0	0	0	0
290	0	0	0	0,02	0,03	0	0	0	0
291	0	0	0	0	0	0,01	0,01	0	0,01
292	0	0	0	0	0	0	0	0,01	0
297	0	0	0	0	0	0	0	0,01	0
299	0	0	0	0,01	0	0	0	0	0
309	0	0	0	0,01	0	0	0	0	0
310	0	0	0,01	0	0,01	0,01	0	0	0
312	0	0	0	0	0,01	0	0,01	0	0,01
321	0	0	0,01	0	0	0	0	0	0
322	0	0	0	0,01	0	0	0	0	0
323	0	0	0	0	0,01	0,01	0	0	0
324	0	0	0	0	0	0	0,01	0,01	0

При этом число доминирующих видов (выделены цветом, частота встречаемости $\geq 10\%$ от общей микрофлоры) не превышало 5 для одного растения. На основании частоты встречаемости доминирующих микроорганизмов в отдельных растениях были рассчитаны коэффициенты видового сходства/различий и построена диаграмма, иллюстрирующая степень дифференциации ассоциаций патогенов среди изученных растений (рисунок 1).

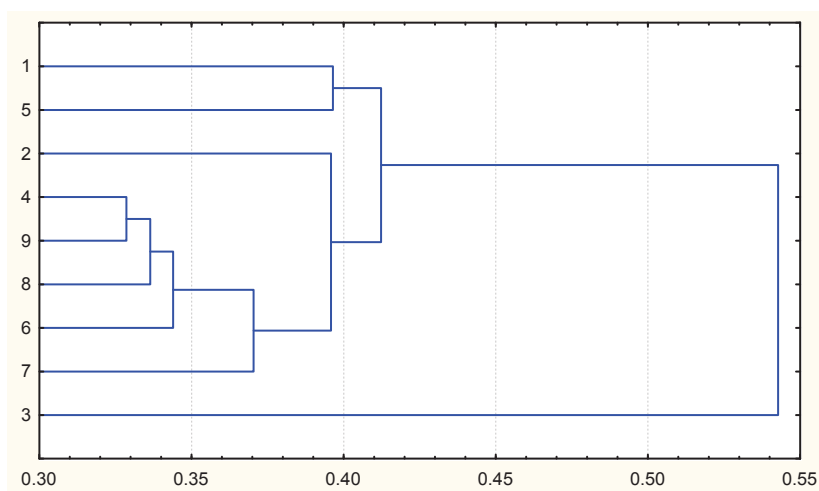


Рисунок 1 – Дендрограмма, иллюстрирующая степень дифференциации ассоциаций патогенов среди изученных образцов саженцев ели европейской

Как видно из структуры дендрограммы видовые ассоциации для различных образцов хвои варьируют в широкой степени, что может быть связано, как со стохастическими процессами (пространственной и временной направленности) в ходе начальной колонизации, так и обусловлено широким перечнем эколого-физиологических факторов, включая микросукцессионные смены сообществ микромицетов, взаимодействия между организмами, степень вирулентности штаммов, индивидуальную устойчивость инфицированных растений.

Следует отметить, что при изучении инфекций, вызываемых биотрофными и эндофитными грибами, электрофоретические спектры были представлены основной доминирующей (ODS > 85%) фракцией патогена в разных частях хвои.

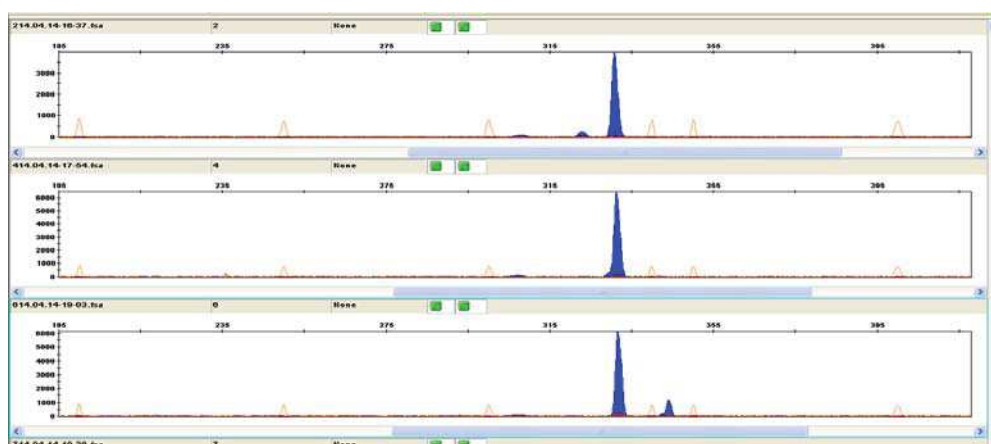


Рисунок 2 – Электрофоретический спектр инфицированных 1-летних семян сосны (доминирующий вид – некультивируемый *Cladosporium* sp.)

На следующем этапе исследований было проведено изучение микроразнообразия структуры распределения грибных ассоциаций относительно оси семян (рисунок 3). Как видно из рисунка, изменение видовых спектров микрофлоры в хвое по направлению от базипетальной к акропетальной части семени не имело явно выраженной направленности. В тоже время в большей части образцов хвои из различных микроярусов выявлялись практически однотипные микромицетные спектры, что, по всей видимости указывает на ведущую роль межвидовых взаимодействий микроорганизмов в формировании ассоциаций (включая и патогенетические состояния). Так, например, на фрагментах хвои (длина 7-9 мм) выявлялись устойчивые комплексы *Alternaria alternata* и *Cladosporium herbarum*. Аналогичные результаты были получены в случае диплоидоза хвойных для видового комплекса *Sphaeropsis sapinea* и *Phoma rotatum*.

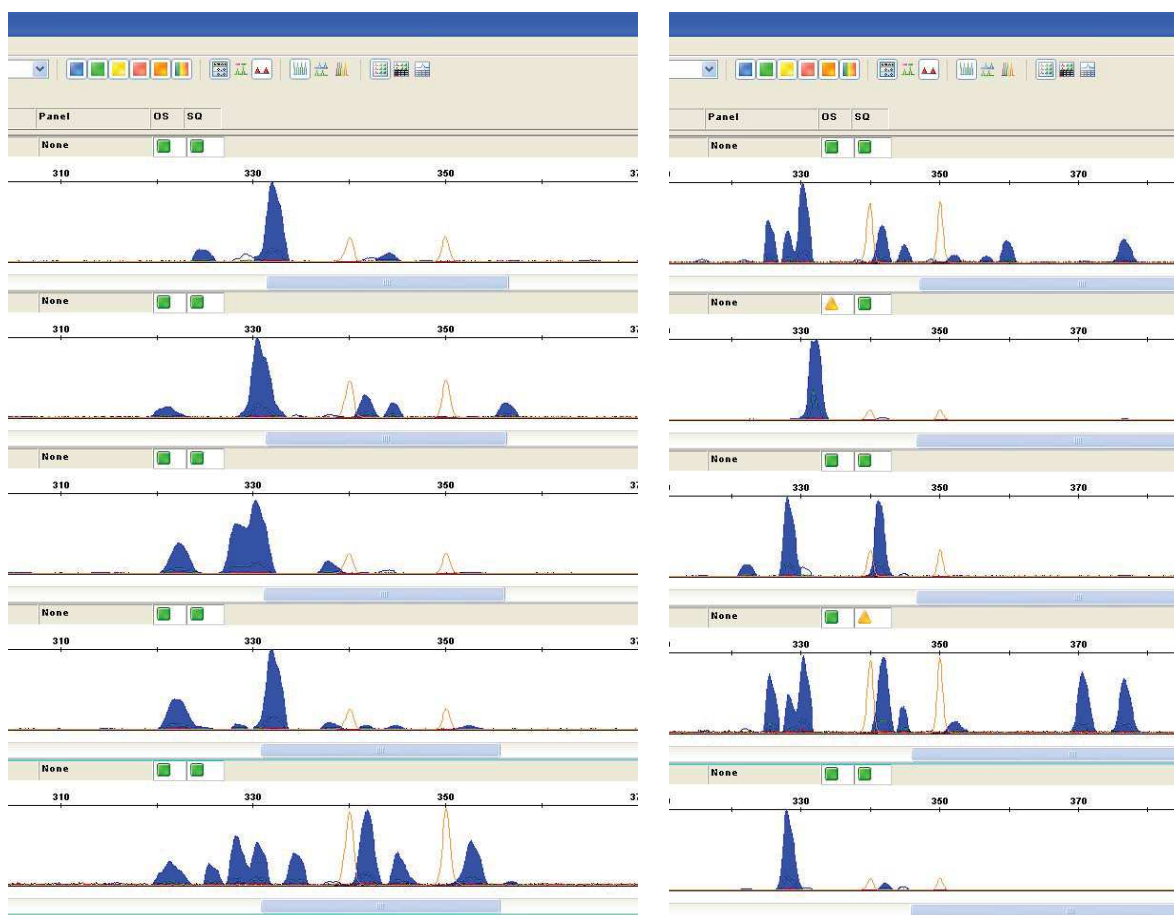


Рисунок 3 – Электрофоретические спектры некротрофных грибов из инфицированной хвои 2-летнего сеянца сосны (последовательность распределения образцов базипетальное→акропетальное)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования определен доминирующий видовой состав фитопатогенов – возбудителей заболеваний посадочного материала в лесных питомниках. Изучены основные типы ассоциаций патогенных грибов на различных уровнях исследования. На экспериментальных данных показано, что формирование фитопатогенных комплексов протекает в соответствии с экологическими свойствами микромицетов, их представленности на анализируемой площади, условий среды, и не зависит от уровня таксономического родства грибов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Weiland J.E. Influence of isolation method on recovery of *Pythium* species from forest nursery soils in Oregon and Washington. // Plant Dis. – 2011. – Vol. 95. – P. 547-553.

2 Молекулярно-генетическая диагностика грибных болезней в лесных питомниках / О.Ю. Баранов [и др.] // Лесное и охотничье хозяйство. – 2012. – № 6. – С. 21-29.

3 Чулкина В.А. Биологические основы эпифитотииологии. – М.: ВО Агропромиздат, 1991. – 288 с.

4 Падутов В.Е., Баранов О.Ю., Воропаев Е.В. Методы молекулярно-генетического анализа, – Мн.: Юнипол, 2007. – 176 с.

5 Charles T. Metagenomics: Theory, Methods and Applications.– Caister Academic Press, 2010. – 212 p.

6 Основы молекулярно-генетического анализа: лабораторный практикум / О.Ю. Баранов [и др.]. – Могилев: УО «МГУ им. А.А. Кулешова», 2011. – 44 с.

7 Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / T.J. White [et al.] // in PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White eds.). – New York: Academic Press Inc. – 1990. – P. 315-322.

8 Генный банк Национального центра / биотехнологической информации США, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>

9 Пантелеев С.В. Методологические основы разработки молекулярно-генетического определителя возбудителей основных заболеваний в лесных питомниках // Сб. науч. тр. / Ин-т леса НАН Беларуси. – Гомель, 2010. – Вып. 70: Проблемы лесоведения и лесоводства. – С. 290-299.

10 База данных номенклатуры грибных видов/ <http://www.mycobank.org/>

METAGENOMIC ASSAY OF MIXED INFECTIONS OF PLANTING MATERIAL IN FOREST NURSERIES

Baranov O.Yu., Panteleev S.V., Yarmolovich V.A.

Based on the use of metagenomic approach in the diagnosis of mixed infections, conducted a study to determine the main types of associations pathogens detected in forest nurseries. The formation of complexes of pathogenic fungi directly related to the ecological properties of species, their representation in the objects being studied and is not dependent on the level of taxonomic relatedness micromycetes.

Статья поступила в редколлегию 16.04.2014 г.

