

Микология и фитопатология

Mycology and Phytopathology

УДК 582. 282 (476)

Д. Б. БЕЛОМЕСЯЦЕВА¹, Т. Г. ШАБАШОВА¹,
М. Г. СИНЯВСКАЯ², В. Б. ЗВЯГИНЦЕВ³

ИНВАЗИВНЫЕ ВИДЫ ДЕНДРОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ В МИКОБИОТЕ ЮГО-ЗАПАДА БЕЛАРУСИ

¹Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича

НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: tiniti@inbox.ru

²Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, e-mail: m.sin@inbox.ru

³Белорусский государственный технологический университет,
Минск, Беларусь, e-mail: zviagintsev@belstu.by

Аннотация. В результате исследований микобиоты на территории юго-западной части Беларуси были выявлены инвазивные микромицеты: *Coleosporium complex*, *Cyclaneusma minus*, *Dothistroma septosporum*, *Erysiphe alphitoides*, *Erysiphe flexuosa*, *Gymnosporangium sabinae*, *Gymnosporangium tremelloides*, *Melampsorium betulinum*, *Melampsorium hiratsukanum*, *Passalora juniperina*, *Pestalotiopsis funereal*, *Phyllosticta paviae*, *Phoma complex*, *Rhabdocline laricis*, *Sphaeropsis sapinea*. Молекулярно-генетическими методами были выявлены эндофитные микромицеты *Diaporthe eres*, *Nectria nigrescens*, *Neofabraea alba*, *Wettsteinina mirabilis*.

Ключевые слова: инвазивные виды, дендропатогены, микромицеты, эндофиты

D. B. BELOMESYATSEVA¹, T. G. SHABASHOVA¹,
M. G. SINYAVSKAYA², V. B. ZVYAGINTSEV³

INVASIVE DENDROPATHOGENIC MICROMYCETES IN THE MICROBIOTA OF SOUTHWEST BELARUS

¹V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy
of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus, e-mail: tiniti@inbox.ru

²Institute of Genetics and Cytology, NAS of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: m.sin@inbox.ru

³Belarusian State Technological University, Minsk, Belarus,
e-mail: zviagintsev@belstu.by

Annotation. As a result of the research, invasive micromycetes were identified: *Coleosporium complex*, *Cyclaneusma minus*, *Dothistroma septosporum*, *Erysiphe alphitoides*, *Erysiphe flexuosa*, *Gymnosporangium sabinae*, *Gymnosporangium tremelloides*, *Melampsorium betulinum*, *Melampsorium hiratsukanum*, *Passalora juniperina*, *Pestalotiopsis funereal*, *Phyllosticta paviae*, *Phoma complex*, *Rhabdocline laricis*, *Sphaeropsis sapinea*. Endophytic micromycetes *Diaporthe eres*, *Nectria nigrescens*, *Neofabraea alba*, *Wettsteinina mirabilis* were identified by molecular genetic methods.

Keywords: invasive species, dendro pathogens, micromycetes, endophytes.

Введение. В списках опасных для лесных экосистем карантинных видов в странах Европейского союза, России и Украины обозначен 41 вид грибных патогенов, 40 видов насекомых и 1 вид нематод. Угроза проникновения этих видов на территорию Беларуси весьма высока [1, 2, 4–10].

В Беларуси только в условиях Минской возвышенности выявлено 84 вида инвазивных фитопатогенных микромицетов, что составило 17 % от всех известных на этой территории патогенов [7, 8]. Многие инвайдеры сформировали вторичные ареалы и оказывают существенное влияние на состояние и устойчивость лесов отдельных формаций.

Одной из важнейших проблем лесной фитопатологии стало развитие суховершинности ясеня, вызываемой инвазивным аскомицетом *Hymenoscyphus fraxineus* Baral et al. Под воздействием этой болезни площадь ясеневых насаждений страны за последние 13 лет уменьшилась более чем наполовину и продолжает сокращаться [10]. В 2014 году на территории республики впервые выявлен опасный патоген ольхи *Phytophthora alni* Brasier et S.A. Kirk. Его распространенность и вредоносность в лесах республики до настоящего времени полноценно не изучены.

Сложившаяся ситуация требует постоянного мониторинга и углубленного изучения инвазивных видов дендропатогенных организмов и путей их проникновения в биогеоценозы.

На основе результатов проведенных исследований составлен предварительный список инвазивных патогенных видов микромицетов, выявленных в юго-западной части Беларуси.

Материалы (объекты) и методы исследования. Объектами исследования являлись микромицеты, развивающиеся на древесных породах на территории Брестской области Беларуси. Сбор гербарных образцов проводился в 2019–2021 гг. в Бугско-Полесском и Неманско-Предполесском геоботанических округах, в т. ч. на территории НП «Беловежская пуща» (в Каменецком и Пружанском районах), на территории Республиканского ландшафтного заказника «Прибужское Полесье» (в Малоритском районе), также материал собирался в лесных и парковых насаждениях Брестского, Березовского, Барановичского районов (рис. 1).

Микофлористические обследования проводились выборочными методами. Материал гербаризировался по стандартным методикам [3].

Диагностика проводилась по анатомо-морфологическим и культуральным признакам методом световой микроскопии. Дополнительное молекулярно-генетическое исследование гербарного материала осуществлялось на базе Лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии НАН Беларуси. Собранные образцы грибов находятся на хранении в микологическом гербарии MSK-F ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича».

Результаты и их обсуждение. На настоящий момент нами идентифицирован и гербаризирован 91 вид микромицетов, развивающихся на древесных породах (на листьях, коре, древесине, а также древесном опаде). Таксономически все изученные деревообитающие виды микромицетов являются аскомицетами, из них 52 вида представляют собой телеоморфы

и 39 видов относятся к грибам в анаморфной стадии. Средняя видовая насыщенность родов – 1–2 вида. Наибольшее видовое разнообразие наблюдается в роде *Hypoxylon* Bull. – 6 видов.

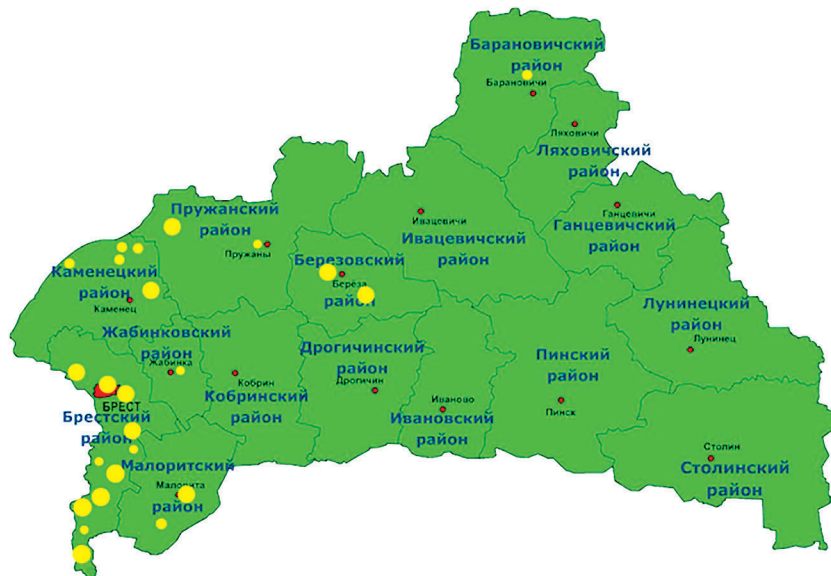


Рис. 1. Места проведения исследований в Брестской области в течение полевых сезонов 2019–2020 гг. (желтые точки)

Fig. 1. Locations of research in the Brest region during the field seasons 2019–2020 (yellow dots)

Аскомицеты в телеоморфной стадии представлены четырьмя классами: *Dothideomycetes* (15), *Sordariomycetes* (21), *Leotiomyces* (16), *Pezizomycetes* (1) и пятнадцатью порядками: *Chaetosphaeriales* (1), *Coronophorales* (2), *Diaporthales* (3), *Dothideales* (1), *Erysiphales* (3), *Helotiales* (9), *Hypocreales* (3), *Hysteriales* (5), *Pezizales* (1), *Pleosporales* (8), *Rhytismatales* (2), *Sordariales* (2), *Trichosphaeriales* (1), *Venturiales* (1), *Xylariales* (9).

Среди аскомицетов в стадии телеоморфы встречаются следующие формы плодовых тел: клейстотеции (3 вида), перитеции (21), апотеции (13) и псевдотеции (15). Чаще всего в наших сборах встречаются плодовые тела в форме перитеций – все у представителей класса *Sordariomycetes*. Апотеции встречаются в классе *Leotiomyces*. Псевдотеции развиваются у представителей *Dothideomycetes*. Мучнисторосяные грибы, плодовые тела которых представлены клейстотециями (порядок *Erysiphales*) в традиционной классификации относились к классу *Plectomycetes*, однако

согласно современным представлениям о генетической структуре перенесены в класс *Leotiomycetes* (*Erysiphaceae*, *Erysiphales*, *Leotiomycetidae*, *Leotiomycetes*).

Предварительная ревизия видового состава микобиоты древесных пород позволила установить, что из выявленных на территории юго-западных районов микромицетов 19 являются инвазивными (4 вида развивались эндофитно и были выявлены только молекулярно-генетическими методами):

Ниже приведен список инвазивных видов:

Coleosporium complex (рис. 2);

Cyclaneusma minus (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter, Eur. J. For. Path. 13(4): 208 (1983);

Diaporthe eres Nitschke, Pyrenomyc. Germ. 2: 245 (1870) (эндофитно);

Dothistroma septosporum (Dorog.) M. Morelet, Bull. Soc. Sci. nat. Arch. Toulon et du Var 177: 9 (1968);



Рис. 2. Ржавчина на хвое сосны – *Coleosporium tussilaginis*

Fig. 2. Rust on pine needles – *Coleosporium tussilaginis*

Erysiphe alphetoides (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam., Schlechtendalia 4: 5 (2000);

Erysiphe flexuosa (Peck) U. Braun & S. Takam., Schlechtendalia 4: 19 (2000) (рис. 3);

Gymnosporangium sabiniae (Dicks.) G. Winter, Pilze Deutschl. 1: 232 (1884) (рис. 4):



Рис. 3. Мучнистая роса листьев каштана – *Erysiphe flexuosa*

Fig. 3. Powdery mildew of chestnut leaves – *Erysiphe flexuosa*

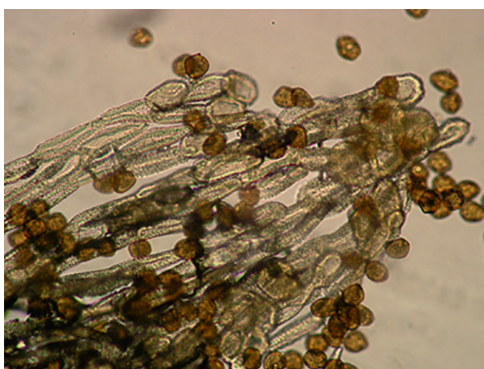


Рис. 4. Ржавчина листьев груши – *Gymnosporangium Sabina*

Fig. 4. Pear leaf rust – *Gymnosporangium sabina*

Gymnosporangium tremelloides R. Hartig, Lehrb. Baumkrankh.: 55 (1882);

Melampsoridium betulinum (Pers.) Kleb., Z. PflKrankh. PflPath. PflSchutz 9: 21 (1899);

Melampsoridium hiratsukanum S. Ito ex Hirats. f., J. Fac. agric., Hokkaido Imp. Univ., Sapporo 21: 10 (1927);

Nectria nigrescens Cooke, Grevillea 7(no. 42): 50 (1878) (эндофитно);
Neofabraea alba (E.J. Guthrie) Verkley, Stud. Mycol. 44: 125 (1999) (эндофитно);
Passalora juniperina (Georgescu & Badea) H. Solheim, Agarica 33: 78 (2013);
Pestalotiopsis funerea (Desm.) Steyaert, Bull. Jard. bot. État Brux. 19(3): 340 (1949);
Phyllosticta paviae Desm., Annls Sci. Nat., Bot., sér. 3 8: 32 (1847); (Guignardia aesculi (Peck) V.B.Stewart) (рис. 5);
Phoma complex;
Rhabdocline laricis (Vuill.) J.K. Stone, in Johnston, Seifert, Stone, Rossman & Marvanová, IMA Fungus 5(1): 106 (2014);
Sphaeropsis sapinea (Fr.) Dyko & B. Sutton, in Sutton, The Coelomycetes (Kew): 120 (1980);
Wettsteinina mirabilis (Niessl) Höhn., Sber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturw. Kl., Abt. 1 116: 635 (1907) (эндофитно).



Рис. 5. Бурая пятнистость листьев каштана – *Phyllosticta paviae*
Fig. 5. Brown leaf spot of chestnut – *Phyllosticta paviae*

Наиболее распространенными инвазивными микромицетами являются высокоспециализированные патогены, которые приходят в нашу флору с растениями-хозяевами при интродукции последних.

К этой группе относятся мучнисторосяные и ржавчинные виды грибов. Значительно реже встречаются виды, которые способны переходить к развитию на растениях-хозяевах из других родов.

Таксономически инвайдеры распределены равномерно по 3 группам: 5 видов ржавчинных грибов (*Coleosporium* complex, *Gymnosporangium sabinae*, *G. tremelloides*, *Melampsorium betulinum* *M. hiratsukanum*), 4 вида аскомицетов в телеостадии (*Erysiphe flexuosa*, *E. alphitoides*, *Dothistroma septosporum*, *Cyclaneusma minus*) и 5 аскомицетов в анаморфной стадии (*Passalora juniperina*, *Pestalotiopsis funereal*, *Phyllosticta paviae*, *Phoma* spp., *Sphaeropsis sapinea*) (рис. 6).



Рис. 6. Распределение видов-инвайдеров по основным таксонам

Fig. 6. Distribution of invader species by main taxa

Эколого-географические характеристики инвазивных видов приводятся далее:

Coleosporium complex; Эвнеморальные виды с дизъюнктивным ареалом. Облигатные биотрофы.

Cyclaneusma minus (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter, Eur. J. For. Path. 13(4): 208 (1983); Бореальный / нотобореальный вид с дизъюнктивным ареалом. Облигатный биотроф.

Dothistroma septosporum (Dorog.) M. Morelet, Bull. Soc. Sci. nat. Arch. Toulon et du Var 177: 9 (1968); Мультирегиональный / бореотропический вид. Облигатный биотроф.

Erysiphe alphitoides (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam., Schlechtendalia 4: 5 (2000); Неморальный вид североамериканского происхождения. Облигатный биотроф.

Erysiphe flexuosa (Peck) U. Braun & S. Takam., Schlechtendalia 4: 19 (2000); Неморальный вид североамериканского происхождения. Облигатный биотроф.

Gymnosporangium sabiniae (Dicks.) G. Winter, Pilze Deutschl. 1: 232 (1884); Ксерофитный европейский вид. Облигатный биотроф.

Gymnosporangium tremelloides R. Hartig, Lehrb. Baumkrankh.: 55 (1882); Бореально-монтанный европейский вид. Облигатный биотроф.

Melampsoridium betulinum (Pers.) Kleb., Z. PflKrankh. PflPath. PflSchutz 9: 21 (1899); Бореальный вид. Облигатный биотроф.

Melampsoridium hiratsukanum S. Ito ex Hirats. f., J. Fac. agric., Hokkaido Imp. Univ., Sapporo 21: 10 (1927); Неморальный вид дальневосточного происхождения. Облигатный биотроф.

Passalora juniperina (Georgescu & Badea) H. Solheim, Agarica 33: 78 (2013); Бореальный европейский вид. Облигатный биотроф.

Pestalotiopsis funerea (Desm.) Steyaert, Bull. Jard. bot. État Brux. 19(3): 340 (1949); Неморальный вид. Факультативный биотроф.

Phyllosticta paviae Desm., Annls Sci. Nat., Bot., sér. 3 8: 32 (1847); (*Guignardia aesculi* (Peck) V.B.Stewart); Неморальный вид североамериканского происхождения. Облигатный биотроф.

Phoma complex; Мультирегиональные виды. Факультативные биотрофы. (данные БГТУ).

Sphaeropsis sapinea (Fr. ex Fr.) Dyko et Sutto. Неморальный вид европейского происхождения. Облигатный биотроф.

Таким образом, проведенный эколого-географический анализ патогенов показал, что наибольшее число потенциально опасных видов относится к неморальному географическому элементу микобиоты, а также к бореальному и имеют европейское, североамериканское и дальневосточное происхождение (рис. 7).

Микгеографические элементы инвазивной микобиоты

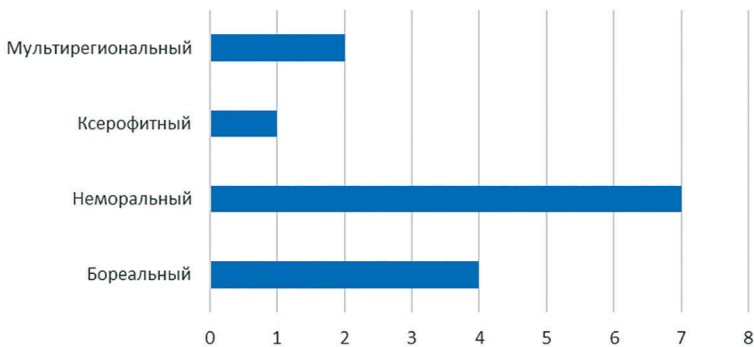


Рис. 7. Географические элементы инвазивной микобиоты

Fig. 7. Geographic elements of invasive mycobiota

Практически все выявленные инвазивные виды относятся к одной эколого-трофической группе филофильных биотрофов, за исключением экологически лабильного вида *Pestalotiopsis funereal*, встречающегося и на отмерших остатках и даже в ризосфере.

Большинство инвайдеров проникло на территорию республики расширяя свой вторичный ареал из центров непреднамеренной интродукции в странах Европы.

При сравнении инвазивного компонента микобиоты на ООПТ и территориях не имеющих природоохранного статуса, показано, что на охраняемых территориях преобладают инвайдеры, проникновение которых на территорию Беларуси зафиксировано до 2006 г. (возбудители халарового некроза, ржавчины хвои сосны), в отличие от относительно недавно появившихся видов, таких как циклонезмовое шютте сосны и шютте лиственницы вызываемое *Rhabdocline laricis* (рис. 8).



Рис. 8. Шютте хвои лиственницы, вызываемое *Rhabdocline laricis*

Fig. 8. Shute larch needles caused by *Rhabdocline laricis*

Молекулярно-генетические исследования дендропатогенов проводились в 2020 г. на базе Лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии НАН Беларуси.

В результате выделена ДНК из трех образцов микромицетов с эндодитной инфекцией, возбудители которой не идентифицировались анатомо-морфологическими методами.

Была поставлена ПЦР и получены сиквенсы отличного качества. В результате образцы, переданные для анализа, идентифицированы как виды *Neofabraea alba*, *Diaporthe eres*, *Nectria nigrescens*.

Ниже представлены результаты сопоставления полученных сиквенсов с эталонными последовательностями, представленными в GenBank.

1. Образец *Neofabraea alba* с праймером ITS4 (рис. 9)

Sequences producing significant alignments

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident.	Accession
Neofabraea alba isolate USV050330 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	872	872	100%	0.0	99.95%	EU081113.1
Phytophthora capsici isolate P-2-1 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	KY023729.1
Phytophthora capsici isolate P-2-1 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	KY023729.1
Phytophthora capsici isolate P-2-1 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	KY023729.1
Phytophthora capsici strain M292 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	K1245101.1
Neofabraea alba strain ID24 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	K1080727.1
Neofabraea alba strain IC24 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	K1080727.1
Neofabraea alba strain CR24 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	K1080727.1
Neofabraea alba strain ID24 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	K1080727.1
Unlabeled fungus clone M710 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	KF726050.1
Neofabraea alba strain USV050330 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	K1080727.1
Neofabraea alba strain CR5452.04 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	870	870	100%	0.0	99.94%	AF141110.1
Neofabraea alba isolate USV050327 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	868	868	100%	0.0	99.94%	EU081110.1
Neofabraea inaequalis CBS 320.74 ITS region from TYPE material	868	868	100%	0.0	99.18%	U8_154470.1
Phytophthora capsici genes for 18S rDNA, ITS1, 4.5S rDNA, ITS2, 28S rDNA, partial and complete sequence, strain, CR18	868	868	100%	0.0	99.30%	LC171399.1
Phytophthora capsici isolate P-2-1 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	868	868	100%	0.0	99.94%	KY023729.1
Unlabeled fungus clone 4248_223 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	862	862	88%	0.0	99.79%	MT230452.1
Phytophthora capsici strain S1_729_182 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene	862	862	88%	0.0	99.79%	KY023729.1
Phytophthora capsici strain CBS_109878 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	862	862	88%	0.0	99.79%	KR069276.1
Neofabraea alba isolate USV050330 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	860	860	100%	0.0	99.94%	EU081113.1
Neofabraea alba isolate USV050565 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene	857	857	87%	0.0	100.00%	U1081843.1
Neofabraea alba isolate USV050565 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	857	857	87%	0.0	100.00%	U1081843.1
Neofabraea alba isolate USV050565 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	857	857	87%	0.0	100.00%	U1081843.1
Neofabraea alba isolate USV050565 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	857	857	87%	0.0	100.00%	U1081843.1
Neofabraea alba isolate USV050565 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	857	857	87%	0.0	100.00%	U1081843.1
Neofabraea alba isolate USV050565 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	857	857	87%	0.0	100.00%	U1081843.1
Neofabraea alba isolate USV050565 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	857	857	87%	0.0	100.00%	U1081843.1
Neofabraea alba isolate USV050565 ITS ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and 5.8S ribosomal RNA gene	857	857	87%	0.0	100.00%	U1081843.1

Рис. 9. Сопоставление полученного сиквенса *Neofabraea alba* с последовательностями в GenBank

Fig. 9. Comparison of the obtained sequence of *Neofabraea alba* with sequences in GenBank

2. Образец *Diaporthe eres* с праймером ITS4 (рис. 10)

Sequences producing significant alignments

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Diaporthe sp. strain NYPVA1140 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain CR23	1008	1008	99%	0.0	99.13%	KU712214.1
Diaporthe eres genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 26S rRNA, partial and complete sequence; strain CR23	1008	1008	99%	0.0	99.13%	LC171693.1
Phomopsis velata isolate 204114 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain 204114	1008	1008	99%	0.0	99.13%	KU616680.1
Diaporthe eres strain VAAT-4-244 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain VAAT-4-244	1008	1008	99%	0.0	99.13%	EU671999.1
Diaporthe sp. strain KDR22-13 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain KDR22-13	1003	1003	98%	0.0	99.12%	MK012647.1
Diaporthe sp. strain KDR21-13 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain KDR21-13	1003	1003	98%	0.0	99.12%	MK012648.1
Diaporthe sp. strain KDR3-13 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain KDR3-13	1003	1003	98%	0.0	99.12%	MK012645.1
Diaporthe phaeodorum strain 473-4 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain 473-4	1002	1002	99%	0.0	99.99%	AF091021.2
Diaporthe eres strain KFRD-26 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain KFRD-26	997	997	99%	0.0	99.78%	KX986887.1
Phomopsis mali genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 26S rRNA, partial and complete sequence; strain IFD 31031	997	997	99%	0.0	99.78%	AB665315.1
Diaporthe sp. strain lo45B small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain lo45B	995	995	99%	0.0	99.82%	MK431129.1
Phomopsis mali isolate peach small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain peach	993	993	97%	0.0	99.11%	MK924526.1
Diaporthe eres strain ex08000 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain ex08000	993	993	99%	0.0	99.00%	FJ478132.1
Diaporthe eres isolate DPC_HOH ITS27 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain DPC_HOH	992	992	97%	0.0	99.11%	MK024702.1
Diaporthe eres isolate DPC_HOH ITS10 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain DPC_HOH	992	992	97%	0.0	99.11%	MK024695.1
Phomopsis mali genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 26S rRNA, partial and complete sequence; strain P41	992	992	99%	0.0	99.77%	LC171696.1
Diaporthe eres strain Phk1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain Phk1	991	991	97%	0.0	99.29%	HQ633144.1
Diaporthe eres strain Phk2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain Phk2	991	991	97%	0.0	99.29%	HQ633143.1
Atletosporium/Atletosporium sp. strain CBS 193-77 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; strain CBS 193-77	990	990	96%	0.0	99.48%	MH454925.1

Рис. 10. Сопоставление полученного сиквенса *Diaporthe eres* с последовательностями в GenBank

Fig. 10. Comparison of the obtained *Diaporthe eres* sequence with sequences in GenBank

3. Образец *Nectria nigrescens* с праймером ITS4 (рис. 11)

Также при изучении 21 образца хвои сосны из Малористского района Брестской области во всех случаях был выявлен новый для Беларуси вид *Wettsteinina mirabilis*. Род Ветштейнина (*Wettsteinina*) включает 6 видов. Наиболее известна из них *Wettsteinina mirabilis*, которая нередко встречается в странах умеренного климата Европы, Азии и Северной Америки. Псевдотеции этого гриба диаметром 120–380 мкм. Гриб произрастает на отмерших веточках различных древесных и кустарниковых растений.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1000 bits(1115)	0.0	567/572(99%)	2/572(0%)	Plus/Minus
Query 4	THCTRCTGTATCCGAGGTCAA...TTTTCAAGATTTGGGGGTTTAAACCGCAGGGCACCAGCC	82		
Sbjct 587	TCCTAGCTG-ATCCGAGGTCAAATTTCAAGAAATTTGGGGTTTAAACCGCAGGGCACCAGCC	529		
Query 63	AGGGCCCTCCAGAGCGAAGGTTTAACTACTGCGCTCGGGGCTTGGCGAGCTCGCCACTG	122		
Sbjct 528	AGGGCCCTCCAGAGCGAAGGTTTAACTACTGCGCTCGGGGCTTGGCGAGCTCGCCACTG	469		
Query 123	AATTTCAAGGCTCGCTCCTTGGTAAAGACAGTGTCCCATCAGCCAGGCGAGCTTGAAG	182		
Sbjct 468	AATTTCAAGGCTCGCTCCTTGGTAAAGACAGTGTCCCATCAGCCAGGCGAGCTTGAAG	409		
Query 183	GTGAAATGACGCTCGAAGCAGGATGCCCTCGGAAATACCGAGAGGGCGCAATGTGCGTTC	242		
Sbjct 408	GTGAAATGACGCTCGAAGCAGGATGCCCTCGGAAATACCGAGAGGGCGCAATGTGCGTTC	349		
Query 243	AAAGATTCGATGATTCAGTGAATTCGCAATTCAGCAATTTACTTATTCGCAATTCGCTGCGTT	302		
Sbjct 348	AAAGATTCGATGATTCAGTGAATTCGCAATTCAGCAATTTACTTATTCGCAATTCGCTGCGTT	289		
Query 303	CTTCATCGATGCGCCAGAACCAAGATTCGCTGTTTAAAGATTTTGAATTCATTTATGTTTTA	362		
Sbjct 288	CTTCATCGATGCGCCAGAACCAAGATTCGCTGTTTAAAGATTTTGAATTCATTTATGTTTTA	229		
Query 363	TTCTCAAGATTTCAATGTAAAGAACAGATTTGGTTGGCCCGCGCGGCTGCTCAACA	422		
Sbjct 228	TTCTCAAGATTTCAATGTAAAGAACAGATTTGGTTGGCCCGCGCGGCTGCTCAACA	169		
Query 423	CCCGGGGGTGAAGGGCCCGAAGGACCAAGTACGCGCCAGGCAAGCAATTAAGTAAAGTT	482		
Sbjct 168	CCCGGGGGTGAAGGGCCCGAAGGACCAAGTACGCGCCAGGCAAGCAATTAAGTAAAGTT	109		
Query 483	CACAAAGGGTTTCTGGATGCGCTGGGGCGGTTTCCAGCAATGATCCCTCCGCTGGTTCA	542		
Sbjct 108	CACAAAGGGTTTCTGGATGCGCTGGGGCGGTTTCCAGCAATGATCCCTCCGCTGGTTCA	49		
Query 543	CCAGCGAGACCTGTTTACGATTTTACTTCC	574		
Sbjct 48	CCAGCGAGACCTGTTTACGATTTTACTTCC	17		

Рис. 11. Сопоставление полученного сиквенса *Nectria nigrescens* с последовательностями в GenBank

Fig. 11. Comparison of the obtained sequence of *Nectria nigrescens* with sequences in GenBank

При проведении молекулярно-генетического анализа по первой полиморфной позиции Т только, по второй полиморфной позиции G- гетерозигота, можно G или С, по третьей G- только G, по четвертой Т только Т.

Была сконструирована пара праймеров к митохондриальной ДНК микромицетов к гену *cutB*. Отработаны условия ПЦР реакции и проведено секвенирование. Получены новые сиквенсы *cutB* митохондриальной ДНК.

С этой же ДНК поставлена ПЦР и сиквенсовая реакция для митохондриального гена *cutB*.

При этом на хвое не отмечалось признаков развития данного микромицета, что говорит о его эндифитном развитии.

Образцы ДНК подготовлены и переданы в Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов. Составлен акт о передаче образцов.

Данные исследования продолжаются, для более точной идентификации грибов необходим подбор дополнительных маркеров к другим областям геномов. В данном направлении ведется активная работа. Получен большой объем данных, требующих изучения.

Закключение. В результате исследований было выявлено 19 инвазивных видов микромицетов, 4 из которых развивались эндифитно и были обнаружены при проведении молекулярно-генетического анализа. Наибольшее число потенциально опасных видов относятся к неморальному

географическому элементу микобиоты, а также к бореальному и имеют европейское, североамериканское и дальневосточное происхождение.

Практически все выявленные инвазивные виды относятся к одной эколого-трофической группе филофильных биотрофов, за исключением экологически лабильного вида *Pestalotiopsis funerea*, встречающегося и на отмерших остатках и даже в ризосфере.

Большинство инвазивных видов проникло на территорию республики, расширяя свой вторичный ареал, из центров непреднамеренной интродукции в странах Европы.

Литература

1. Беломесяцева, Д. Б. Инвазивные виды фитопатогенных организмов в Беларуси и сопредельных странах / Д. Б. Беломесяцева, О. Г. Гапиенко, В. Б. Звягинцев, С. А. Жданович // Ботаника (исследования): / Сб. науч. тр. Вып. 42. / Ин-т эксп. бот. НАН Беларуси. – Минск : Колорград, 2013. – С. 87–98.
2. Беломесяцева, Д. Б. Инвазивная микобиота древесных пород в Беларуси / Д. Б. Беломесяцева, В. Б. Звягинцев, Т. Г. Шабашова // Современная микология в России. Том 8. Вып. 3. Материалы 4-го Международного микологического форума. М.: Национальная академия микологии, 2020. – С. 209.
3. Билай, В. И. Методы экспериментальной микологии: справочник / В. И. Билай [и др.]; под общ. ред. В.И. Билай – Киев: Наукова думка, 1982. – 233 с.
4. Головченко, Л. А. Инвазии чужеродных видов патогенных грибов в насаждениях Беларуси / Л. А. Головченко, Н. Г. Дишук, В. А. Тимофеева, И. В. Ярук // Роль ботанических садов и дендрариев в сохранении, изучении и устойчивом использовании разнообразия растительного мира / Материалы Международной научной конференции, посвященной 85-летию Центрального ботанического сада НАН Беларуси (6–8 июня 2017 года, г. Минск). – Минск: Мэдисонт, 2017. – С. 375–378.
5. Изменения климата Беларуси и их последствия / В. Ф. Логинов [и др.]; под общ. ред. В. Ф. Логинова. – Минск: ОДО «Тонпик», 2003. – 330 с.
6. Логинов, В. Ф. Глобальные и региональные изменения климата: причины и следствия / В. Ф. Логинов. – Минск: ТетраСистемс, 2008. – 496 с.
7. Поликсенова, В. Д. Чужеродные и инвазивные фитопатогенные микромицеты в естественных и искусственных фитоценозах Беларуси / В. Д. Поликсенова, А. К. Храмцов, М. Н. Федорович // Современная микология в России. Том 7. Материалы 4-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии, 2017. – С. 90–91.
8. Поликсенова, В. Д. Чужеродные фитопатогенные микромицеты Беларуси / В. Д. Поликсенова, А. К. Храмцов // Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Хим., биол., геогр. – 2015. – № 3. – С. 43–48.
9. Biogeographic patterns and determinants of invasion by alien forest pathogenic fungi in Europe / A. Santini et. al. // New Phytologist. – 2013. – № 197. – P. 238–250.
10. Zvyagintsev, V. B. Pathogenic fungal diseases of branches of the ash in the drying out plantations in Belarus / V. B. Zvyagintsev, O. Yu. Baranov, L. F. Melnik // Fungi and lichens in the Baltics and Beyond: XVIII Symposium of the Baltic Mycologists and Lichenologists Lithuania (Dubingiai, September 19–23, 2011). Programme and Abstracts. – Vilnius, 2011. – P. 21.

Поступила в редакцию 21.10.2021 г.