

Отработка методики выделения и подготовки культуры базидиомицетов для микоризации почвы

© 2020. Н. В. Богачева¹, д. м. н., профессор, Н. В. Позолотина², к. б. н., доцент,
Н. П. Савиных², д. б. н., профессор, И. А. Коновалова², н. с.,
¹Кировский ГМУ Минздрава России,
610998, Россия, г. Киров, ул. К. Маркса, д. 112,
²Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,
e-mail: bogacheva70@mail.ru

Выращивание сеянцев хвойных деревьев в искусственных условиях является перспективным направлением для решения проблемы восполнения лесных массивов. Одним из лучших агротехнических приёмов для адаптации растений к искусственным условиям считается микоризация почвы. Формирование микоризы, представляющей симбиоз мицелия гриба и корней высшего растения, приводит к улучшению физиолого-биохимического состояния растений, что способствует их приживаемости и росту.

Цель работы – отработка методики выделения и подготовки культуры базидиомицетов для микоризации почвы.

В процессе работы провели выделение и культурально-морфологическую оценку мицелия из базидиомицетов *Tricholoma equestre*, *Lactarius rufus*, *Suillus bovinus*. Отработали режимы гомогенизации выделенного мицелия грибов, которым планировалось обрабатывать почву при выращивании сеянцев хвойных деревьев в искусственных условиях. Оптимальным оказался режим 8000 об./мин в течение 2 мин, который приводил к достоверному увеличению содержания в суспензии жизнеспособного грибного мицелия.

Экспериментальным путём определили оптимальное количество фрагментов мицелия в единице объёма исследуемых грибов в пивном сусле для внесения в почву – от 10¹ до 10⁴ жизнеспособных пропагул на 1 г почвы.

Ключевые слова: выделение мицелия, микоризация почвы, сеянцы хвойных деревьев.

Checkout of methods for isolation and preparation of basidiomycete cultures for mycorrhization of soil

© 2020. N. V. Bogacheva¹ ORCID: 0000-0002-7021-6232, N. V. Pozolotina² ORCID: 0000-0003-1064-6537,
N. P. Savinykh² ORCID: 0000-0003-4996-8269, I. A. Konovalova² ORCID: 0000-0002-4534-9842,
¹Kirov SMU MOH Russia,
112, Karla Marksa St., Kirov, Russia, 610998,
²Vyatka State University,
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,
e-mail: bogacheva70@mail.ru

Cultivation of coniferous seedlings in artificial conditions is a promising direction for solving the problem of reforestation. One of the best agrotechnical methods for adapting plants to artificial conditions is mycorrhization of the soil. The formation of mycorrhiza, which is a symbiosis of the mycelium of the fungus and the roots of a higher plant, leads to an improvement in the physiological and biochemical state of plants, which contributes to their survival and growth.

Objective of the work is working out methods of selection and preparation of culture of basidiomycetes for mycorrhization of soil.

In the process of work, isolation and cultural-morphological assessment of mycelium from *Tricholoma equestre*, *Lactarius rufus*, *Suillus bovinus* basidiomycetes was performed.

The homogenization regimes of the isolated fungal mycelium were worked out, which planned to cultivate the soil when growing seedlings of conifers in artificial conditions. The optimal mode was 8000 rpm for 2 min, which led to a significant increase in the content of viable mushroom mycelium in the suspension.

The optimal range of content of mycelia suspensions of the studied fungi in beer wort for application to the soil was determined experimentally as 10¹ to 10⁴ of viable propagules per 1 g of soil.

Keywords: isolation of the mycelium, mycorrhization of soil, seedlings of coniferous trees.

По мере роста численности населения и развития промышленности происходит увеличение объёма вырубок хвойных лесов, представляющих наибольшую хозяйственную ценность, а также зарастание лесных массивов мягколиственными породами [1]. Так, в результате интенсивной лесозаготовки в Кировской области за последние 10 лет площади спелых и перестойных хвойных насаждений уменьшились на 16,4%, а их запас – на 5,8%. В мягколиственных же хозсекциях площадь спелых и перестойных древостоев увеличилась на 15,2%, а их запас – на 23,9% [2]. Всё это свидетельствует о необходимости восполнения хвойных пород деревьев в лесах региона.

В данном контексте весьма перспективным подходом представляется искусственное выращивание растений с проведением микоризации почвы для лучшей адаптации посадочного материала [3–8].

Микориза – симбиоз мицелия гриба и корней высшего растения, при котором гифы мицелия оплетают корень и могут проникать в него [9]. Известны данные о связях с древесными породами таких микоризных грибов, как *Amanita muscaria*, *Boletus edulis*, *Laccaria laccata* и др. [10].

В подземной сфере у древесных растений формируется симбиотическая адаптация, которая морфологически проявляется в заселении корней деревьев грибами и формировании особых поглощающих структур (эктомикориза) [11]. Микоризные грибы получают от растений углеводы, а растения за счёт мицелия увеличивают поглощающую поверхность корневых систем, что облегчает им поддержание водно-минерального питания [12]. Формирование эктомикориз приводит к улучшению физиолого-биохимического состояния и росту растений, увеличению всасывающей поверхности корней, формированию у растений иммунитета к заражению потенциальными почвенными паразитами [13–16].

Поэтому микоризацию почвы для семян хвойных деревьев можно использовать как один из агротехнических приёмов для улучшения адаптации, развития и роста семян в искусственных условиях питомника [17].

Всё вышесказанное объясняет актуальность и цель работы – отработать методику выделения мицелиальных культур базидиомицетов из плодовых тел грибов и этапы подготовки культуры базидиомицетов для микоризации почвы.

Объекты и методы исследования

В работе использовали мицелий базидиомицетов трёх видов грибов, собранных в Медведском бору в Нолинском районе Кировской области осенью 2018 г. Эти грибы по морфологическим признакам были идентифицированы как *Tricholoma equestre* (зеленушка), *Lactarius rufus* (горькушка) и *Suillus bovinus* (козляк) [18, 19].

Плодовые тела промыли сначала в проточной, а затем в стерильной воде, обработали 95% этиловым спиртом с последующим фламбированием. Плодовое тело каждого гриба надрезали прокалённым скальпелем в нижней части ножки вдоль волокон, после чего расщепляли в направлении разреза вместе со шляпкой. Из места перехода ножки в шляпку (наиболее толстое и стерильное место), вырезали кусочек волокон гриба длиной несколько миллиметров и помещали на плотную питательную среду. Культивирование материала проводили на сусло-агаре в течение 3–5 суток при температуре 25 ± 1 °C.

Культивирование мицелия опытных и контрольного образцов проводили на чашках Петри с сусло-агаром, содержащим пивное сусло в концентрации 8° по Баллингу при 25 ± 1 °C в течение 3–5 суток. В качестве контроля использовали готовый препарат мицелия белого гриба *Boletus pinophilus* («Грибное лукошко», Россия).

Анализ культур осуществляли путём визуальной оценки морфологии колоний.

Измельчение кусочков мицелия осуществляли на гомогенизаторе («Silent Crusher M», Украина).

Микроскопию цельного и измельчённого после гомогенизации мицелия проводили в камере Горяева, используя микроскоп «Микмед-5» (Россия) под иммерсией при увеличении $\times 1500$. При этом для каждого образца мицелия готовили три препарата и просматривали под микроскопом 5 полей зрения.

Учёт содержания фрагментов мицелия проводили до и после гомогенизации в камере Горяева по формуле (1):

$$M = \frac{a \cdot 10^3}{h \cdot S} \cdot n, \quad (1)$$

где M – содержание фрагментов мицелия в 1 см^3 (далее по тексту – пропагул/ см^3); a – среднее число фрагментов мицелия в малом квадрате камеры Горяева; 10^3 – коэффициент перевода мм^3 в см^3 ; h – глубина камеры, мм ($0,1 \pm 0,004$ мм); S – площадь

малого квадрата сетки, мм² (0,025±0,004 мм²); *n* – разведение исследуемой суспензии.

Для оценки количества жизнеспособных и нежизнеспособных гиф использовали краситель трипановый синий («AppliChem», Германия).

Кроме этого, с целью оценки жизнеспособности проводили посев гиф на почвенный субстрат («Грунт питательный для хвойных растений», «Буйский химический завод», Россия), тем самым, приближая эксперимент к естественным условиям среды обитания мицелия. Перед посевом проводили стерилизацию грунта в сухожаровом шкафу (ШСС-80п, Россия). Режим стерилизации – 60 мин при 180 °С.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования получили мицелиальные культуры базидиомицетов, являющиеся перспективными микоризообразователями хвойных деревьев.

Анализ выросших культур осуществляли путём визуальной оценки морфологии колоний по следующим признакам: характеру роста (наличию разрастания мицелия вокруг посевного материала, краю колоний); по преобладанию воздушного мицелия над субстратным мицелием, его цвету, особенности спороношения; цвету субстратного мицелия. Препараты мицелия для микроскопии готовили путём нанесения капли воды на заранее приготовленное предметное стекло, после чего в неё помещали кусочек мицелия и накрывали препарат покровным стеклом. При микроскопии оценивали нали-

чие прядек как показателя принадлежности к базидиомицетам.

Результаты оценки культурально-морфологических признаков мицелия изученных видов грибов представлены в таблице 1 (см. цв. вкладку).

На втором этапе провели отработку режимов подготовки выделенного мицелия эктомикоризообразующих грибов, которым планировалось обрабатывать почву при выращивании сеянцев хвойных деревьев в искусственных условиях.

Для этого мицелий каждого гриба, выросший на питательной среде в чашке Петри, смывали 10 мл раствора натрия хлорида с рН 7,2–7,4. Полученные суспензии гомогенизировали, используя различные режимы: 5000, 8000 и 11000 об./мин в течение 2 мин.

Процесс гомогенизации обеспечивает измельчение длинных нитей мицелия и помогает добиться увеличения количества жизнеспособных пропагул, каждая из которых может дать начало новому мицелию.

Для разделения жизнеспособных и нежизнеспособных фрагментов мицелия их окрашивали 0,5% раствором трипанового синего, смешивая суспензию мицелия с раствором красителя 1:1. В результате мёртвые фрагменты окрашивались в синий цвет, а жизнеспособные оставались бесцветными. В рамках данного исследования подсчитывали только неокрашенные фрагменты.

Результаты количественной оценки содержания жизнеспособных пропагул до и после гомогенизации мицелия при различных режимах представлены в таблице 2.

Таблица 2 / Table 2

Содержание жизнеспособных фрагментов мицелия в единице объёма, учтённое в камере Горяева до и после гомогенизации при различных режимах ($\bar{X} \pm I_{95}, n = 3$)
 The content of viable mycelium fragments saccounted in the Goryaev chamber before and after homogenization under different regimes ($\bar{X} \pm I_{95}, n = 3$)

Мицелий гриба The mycelium of the fungus	Содержание жизнеспособных пропагул (lg пр./см ³) Content of viable propagules (lg pr./cm ³)*			
	до гомогенизации before homogenization	после гомогенизации при режиме ... об. / мин в течение 2 мин / after homogenization at ... rpm. for 2 min		
		5000	8000	11000
<i>Tricholoma equestre</i>	6,6±0,01	6,6±0,01	6,9±0,01	6,3±0,01
<i>Lactarius rufus</i>	6,6±0,01	6,6±0,01	6,9±0,01	6,4±0,01
<i>Suillus bovinus</i>	7,9±0,01	7,9±0,03	8,0±0,02	8,0±0,02

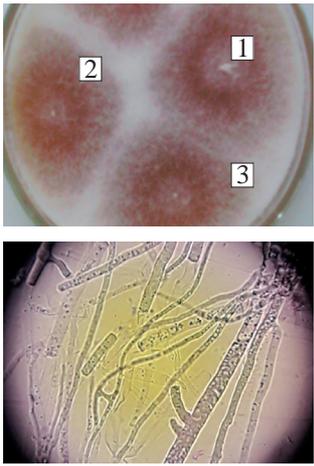
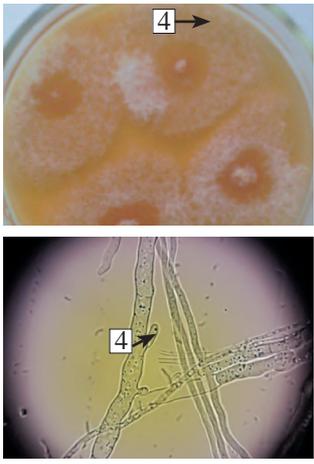
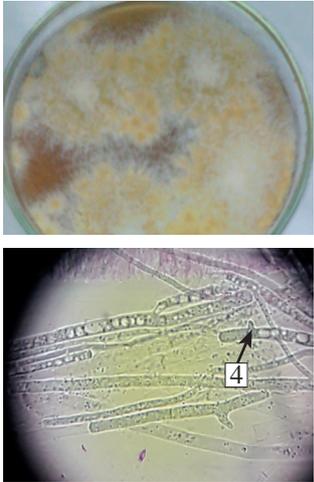
Примечания: lg пр./см³ определяли, используя десятичный логарифм от рассчитанного содержания фрагментов (число фрагментов мицелия в 1 см³ – пропагул/см³); *n* – количество подсчётов пропагул мицелия в камере Горяева, при этом каждый раз камера Горяева заполнялась вновь этой же суспензией гриба.

Notes: lg pr./cm³ was determined using a decimal logarithm from the calculated content of mycelium (the number of mycelium fragments in 1 cm³ – propagules/cm³); *n* – number of estimates of the hyphae in the Goryaev chamber, each time the Goryaev chamber was filled again by the same mushroom suspension.

Н. В. Богачева, Н. В. Позолотина, Н. П. Савиных, И. А. Коновалова
«Отработка методики выделения и подготовки
культуры базидиомцетов для микоризации почвы». С. 46.

Таблица 1 / Table 1

Культурально-морфологические свойства выделенных культур
 Cultural and morphological properties of the selected cultures

Вид базидиомцета Basidiomycete species	Морфология мицелиальных культур Morphology of mycelial cultures	Культуральные признаки мицелия The culture characteristics of mycelium	Наличие прыжков The presence of buckles
<i>Tricholoma equestre</i>		<p>Разрастание мицелия вокруг посевного материала наиболее выражено по периферии колонии, край колонии ровный, преобладает воздушный мицелий белого цвета, субстратный мицелий белый.</p> <p>The overgrowth of the mycelium around the seeding material is most pronounced along the periphery of the colony, the edge of the colony is smooth, the air mycelium of white color prevails, the substrate mycelium is white.</p>	Да Yes
<i>Lactarius rufus</i>		<p>Разрастание мицелия вокруг посевного материала присутствует, край колонии ровный, воздушный и субстратный мицелий белого цвета.</p> <p>The overgrowth of the mycelium around the seeding material is present, the edge of the colony is smooth, air and substrate mycelium white.</p>	Да Yes
<i>Suillus bovinus</i>		<p>Разрастание мицелия вокруг посевного материала присутствует, край колонии неровный, воздушный мицелий белого цвета, субстратный мицелий жёлтого цвета, цвет обратной стороны колонии желтовато-белый.</p> <p>The overgrowth of the mycelium around the seeding material is present, the edge of the colony is uneven, the air mycelium is white, the substrate mycelium is yellow, the color of the reverse side of the colony is yellowish-white.</p>	Да Yes

Примечание: 1 – посевной материал, 2 – разрастание мицелия вокруг посевного материала, 3 – край колонии, 4 – прыжки.
 Note: 1 – seeding material, 2 – the overgrowth of the mycelium around the seeding material, 3 – the edge of the colony, 4 – buckle.

Таблица 3 / Table 3

Содержание жизнеспособных фрагментов мицелия, учтённое путём высева на чашки Петри с почвой до и после гомогенизации ($\bar{X} \pm I_{95}, n = 3$)
 Content of viable mycelium fragments accounted by seeding on Petri dishes with soil before and after homogenization ($\bar{X} \pm I_{95}, n = 3$)

Мицелий гриба The mycelium of the fungus	Содержание жизнеспособных фрагментов мицелия (lg пр./см ³) Content of viable mycelium fragments (lg pr./cm ³)	
	до гомогенизации before homogenization	после гомогенизации при режиме 8000 об./мин в течение 2 мин after homogenization at 8000 rpm for 2 min
<i>Tricholoma equestre</i>	4,45±0,21	5,81±0,22
<i>Lactarius rufus</i>	3,63±0,32	4,49±0,20
<i>Suillus bovinus</i>	7,91±0,30	7,82±0,41

Анализируя данные таблицы 2, можно сделать вывод, что гомогенизация при режиме 8000 об./мин в течение 2 мин приводит к достоверному увеличению содержания жизнеспособных фрагментов мицелия у штаммов грибов *T. equestre* и *L. rufus*. Режим гомогенизации 5000 об./мин в течение 2 мин не обеспечивает достоверного увеличения. Режим 11000 об./мин в течение 2 мин, по-видимому, оказывает повреждающее действие, что приводит к уменьшению содержания жизнеспособных спор в единице объёма. Число жизнеспособных фрагментов мицелия гриба *S. bovinus* достоверно не отличалась до и после гомогенизации при различных режимах. Возможно, это связано с тем, что данный вид образует большое количество спор, которые произвольно распределяются в суспензии без дополнительной обработки.

Кроме этого, для оценки жизнеспособности фрагментов мицелия исследуемых грибов *T. equestre*, *L. rufus*, *S. bovinus* проводили высев в объёме 7,5 мл на почвенный субстрат, помещённый в чашки Петри по 25 г. Для этого выросший мицелий каждого гриба смывали с чашки Петри 10 мл пивного сусла в концентрации 8° по Баллингу и подвергали гомогенизации при выбранном на предыдущем этапе работы режиме – 8000 об./мин в течение 2 мин. В качестве контроля использовали суспензии без гомогенизации. Посевы инкубировали при 25±1 °С в течение 3–5 суток. Содержание жизнеспособного фрагментов мицелия оценивали визуально путём подсчёта отдельных островков мицелия, выросших на почве.

Результат оценки содержания жизнеспособных грибных спор после высева на чашки Петри с почвой представлен в таблице 3.

Анализируя результаты таблицы 3, можно сделать вывод о том, что гомогенизация при

режиме 8000 об./мин в течение 2 мин обеспечивает достоверное увеличение ($p \leq 0,05$) жизнеспособных фрагментов мицелия грибов *T. equestre*, *L. rufus* при выращивании на почве и не влияет на количество жизнеспособных спор *S. bovinus*.

При искусственном внесении мицелия микоризных грибов с целью улучшения развития и роста сеянцев очень важным является содержание внесённого биопрепарата-микоризообразователя, так как большое его количество может оказывать ингибирующее влияние на рост и приживаемость растений, а слишком низкое снижает вероятность образования эктомикоризы.

На следующем этапе работы опытным путём определяли наиболее оптимальные количества исследуемых грибов, вносимых в почву. Для этого из полученных до и после гомогенизации суспензий готовили ряд десятикратных разведений на пивном сусле. Исходное содержание жизнеспособного мицелия *T. equestre* составляло $(8,1 \pm 0,4) \cdot 10^7$; *L. rufus* – $(8,3 \pm 0,2) \cdot 10^7$; *S. bovinus* – $(1,3 \pm 0,2) \cdot 10^{10}$ спор/см³. Таким образом, было приготовлено 9 разведений – от 10^{-1} до 10^{-9} . Из разведений 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} и 10^{-9} проводили высев 7,5 мл сусла с мицелием на 25 г почвы, добываясь её равномерного увлажнения.

Результаты данного исследования представлены в таблице 4.

Анализируя данные таблицы 4, можно сделать вывод, что наиболее оптимальные значения содержания жизнеспособных фрагментов мицелия для внесения в почву и оценки влияния эктомикоризообразования на развитие сеянцев могут быть следующими: для *T. equestre* $(8,1 \pm 0,4) \cdot 10^4 - (8,1 \pm 0,4) \cdot 10^2$; для *L. rufus* – $(8,3 \pm 0,2) \cdot 10^4 - (8,3 \pm 0,2) \cdot 10^2$; для *S. bovinus* – $(1,3 \pm 0,2) \cdot 10^1 - (1,3 \pm 0,2)$ спор/см³.

Таблица 4 / Table 4

Особенности роста мицелия базидиомицетов, внесённого в почву в различных количествах
Features of growth of basidiomycetes mycelium introduced into the soil in different quantities

Разведение Dilution	Исходное содержание фрагментов мицелия в суспензии, вносимой в почву, пр./см ³ суспензии Initial content fragments of mycelium in the suspension introduced into the soil, pr./cm ³ suspension	Конечное содержание фрагментов мицелия в почве после их внесения, пр./г почвы The final content fragments of mycelium in the soil after application, pr./g of soil	Особенности роста Growth features
<i>Tricholoma equestre</i>			
10 ⁻¹	(8,1±0,4)·10 ⁶	(2,4±0,4)·10 ⁶	сплошной газон solid lawn
10 ⁻³	(8,1±0,4)·10 ⁴	(2,4±0,4)·10 ⁴	
10 ⁻⁵	(8,1±0,4)·10 ²	(2,4±0,4)·10 ²	18 колоний 18 colonies
10 ⁻⁷	(8,1±0,4)	(2,4±0,4)	отсутствие роста no growth
<i>Lactarius rufus</i>			
10 ⁻¹	(8,3±0,2)·10 ⁶	(2,5±0,3)·10 ⁶	сплошной газон solid lawn
10 ⁻³	(8,3±0,2)·10 ⁴	(2,5±0,3)·10 ⁴	
10 ⁻⁵	(8,3±0,2)·10 ²	(2,5±0,3)·10 ²	15 колоний 15 colonies
10 ⁻⁷	(8,3±0,2)	(2,5±0,3)	отсутствие роста no growth
<i>Suillus bovinus</i>			
10 ⁻¹	(1,3±0,2)·10 ⁹	(3,9±0,2)·10 ⁸	сплошной газон solid lawn
10 ⁻³	(1,3±0,2)·10 ⁷	(3,9±0,2)·10 ⁶	
10 ⁻⁵	(1,3±0,2)·10 ⁵	(3,9±0,2)·10 ⁴	
10 ⁻⁷	(1,3±0,2)·10 ³	(3,9±0,2)·10 ²	
10 ⁻⁹	(1,3±0,2)·10 ¹	(1,3,0±0,2)	30 колоний 30 colonies

Заключение

Таким образом, в результате работы выделены мицелиальные культуры трёх видов базидиомицетов – *T. equestre*, *L. rufus*, *S. bovinus*, отмеченных как микоризообразователи хвойных деревьев. Показана роль гомогенизации, как одного из вариантов подготовки мицелия: целесообразная для *T. equestre* и *L. rufus* и не необходимая для *S. bovinus*. Экспериментально установлен режим подготовки мицелия перспективных базидиомицетов микоризообразователей (8000 об./мин в течение 2 мин), обеспечивающий достоверное увеличение числа жизнеспособных гиф грибов *T. equestre*, *L. rufus*, что обеспечивает эффективную микоризацию почвы при минимальном введении в неё суспензии мицелия. Это является важным моментом для промышленного производства биопрепаратов на основе мицелия микоризных грибов, обеспечивающих лучшее развитие и приживаемость сеянцев хвойных деревьев. Определено оптимальное содержание жизнеспособных гиф в

суспензии, приготовленной на пивном сусле, для внесения в почву. Для выяснения роли микоризации в развитии сеянцев хвойных деревьев рекомендовано использовать суспензии мицелия *T. equestre*, *L. rufus* и *S. bovinus* с содержанием (8,1±0,4) · 10⁴–(8,1±0,4) · 10²; (8,3±0,2) · 10⁴–(8,3±0,2) · 10² и (1,3±0,2) · 10¹–(1,3±0,2)пропагул/см³ соответственно.

References

1. Ardashova E.M., Kiselev A.A., Popova O.I., Chuprova E.V., Shchukin E.A. State report on the state of the environment of the Republic of Komi in 2016. Syktyvkar: Ministerstvo promyshlennosti, prirodnih resursov, energetiki i transporta Respubliki Komi, GBU RK "TFI RK", 2017. 179 p. (in Russian).
2. Romanov E.M., Nureeva T.V., Belousov A.A. The role of artificial plantations of scots pine (*Pinus silvestris* L.) in improving the quality of the forest fund of the Kirov region // Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta lesa – Lesnoy vestnik. 2014. V. 18. No. 4. P. 29–37 (in Russian).
3. Geronina E.A. Prospects of use of synthetic mycorrhization in the cultivation of seedlings with closed

- root system // Trudy Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo hozyaystva. 2014. No. 4. P. 49–58 (in Russian).
4. Visnovsky S.B., Cummings N., Guerin-Laguet A., Wang Y., Yamada A., Kobayashi H., Kawai M., Pitman A.R. Detection of the edible ectomycorrhizal fungus *Lyophyllum shimeji* colonising seedlings of cultivated conifer species in New Zealand // Mycorrhiza. 2014. V. 24. No. 6. P. 453–463. doi: 10.1007/s00572-013-0552-5
5. Suárez J.O., Villada D., Oria de Rueda J.A., Alves-Santos F.M., Diez J.J. Effects of *Lactarius deliciosus* and *Rhizopogon roseolus* ectomycorrhizal fungi on seeds and seedlings of Scots and stone pines inoculated with *Fusarium oxysporum* and *Fusarium verticillioides* // The Forestry Chronicle. 2018. V. 94. P. 126–134.
6. Wu B., Nara K., Hogetsu T. Competition between ectomycorrhizal fungi colonizing *Pinus densiflora* // Mycorrhiza. 1999. V. 9. No. 3. P. 151–159. doi: 10.1007/s005720050300
7. Vaario L.M., Pennanen T., Sarjala T., Savonen E.-M., Heinonsalo J. Ectomycorrhization of *Tricholoma matsutake* and two major conifers in Finland – an assessment of in vitro mycorrhiza formation // Mycorrhiza. 2010. V. 20. No. 7. P. 511–518. doi: 10.1007/s00572-010-0304-8
8. McAfee B.J., Fortin J.A. Ectomycorrhizal colonization on black spruce and jack pine seedlings outplanted in reforestation sites // Plant and Soil. 1989. V. 116. No. 1. P. 9–17. doi: 10.1007/BF02327251
9. Gilyarov M.S. Biological encyclopedic dictionary. Moskva: Sovetskaya entsiklopediya, 1989. 864 p. (in Russian).
10. Darmov I.V., Savinykh N.P., Perestoronina O.N. Assessment of the prospects of creating a biological product to mycorrhization of *Pinus sylvestris* seedlings in relation to ecological and geographical conditions of Kirov region // Conservation of forest ecosystems: problems and ways of their solution: Materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferencii. 2017. P. 50–56 (in Russian).
11. Adamova R.M. A study of the degree of development of mycorrhizae species dendroflora in connection with the introduction // Yug Rossii: ekologiya, razvitie. 2009. No. 1. P. 24–28 (in Russian).
12. Shubin V.I. Ectomycorrhizal fungi: their place and significance in the structural and functional organization of forest biogeocenoses // Boreal forests: state, dynamics, ecosystem services. Petrozavodsk: KarNTS RAN, 2017. P. 327–329 (in Russian).
13. Veselkin D.V. Variability of the size of the root system and the intensity of mycorrhization in shoots of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in adaptation to habitat // Sel'skohozyaystvennaya biologiya. 2014. V. 49. No. 1. P. 63–71 (in Russian).
14. Rosinger C., Sandén H., Matthews B., Mayer M. Patterns in ectomycorrhizal diversity, community composition, and exploration types in european beech, pine, and spruce forests // Forests. 2018. V. 9. No. 8. P. 445. doi: 10.3390/f9080445
15. Smith S.E., Anderson I.C., Smith F.A. Mycorrhizal associations and phosphorus acquisition: from cells to ecosystems // Annual Plant Reviews online. 2018. V. 48. P. 409–439. doi: 10.1002/9781119312994.apr0529
16. Suz L.M., Kallow S., Reed K., Bidartondo M.I., Barsoum N. Pine mycorrhizal communities in pure and mixed pine-oak forests: abiotic environment trumps neighboring oak host effects // Forest Ecology and Management. 2017. V. 406. P. 370–380. doi: 10.1016/j.foreco.2017.09.030
17. Burtsev D.S. Foreign experience of artificial mycorrhization of seedlings of forest tree species with a closed root system // Trudy Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo hozyaystva. 2014. No. 1. P. 47–61 (in Russian).
18. Afonkin S.Yu. Large illustrated encyclopedia. Mushrooms Russia. Sankt-Peterburg: SZKEO, 2016. 224 p. (in Russian).
19. Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi Ainsworth G.C., Bisby G. R. Dictionary of the Fungi (9th edition) / Eds. P.M. Kirk, P.F. Cannon, J.C. David, J.A. Stalpers. CABI publishing, Wallingford, 2001. 655 p.
20. Iksanova A.G., Bondar O.V., Balakin K.V. Methods for the study of cytotoxicity during screening of drugs: teaching aid for practical exercises in the course “Methods of screening physiologically active substances”. Kazan: Kazan University, 2016. 40 p.
21. Nemkov P.S., Grekhova I.V. Industrial ecology. Influence of a humic preparation on coniferous seedlings // Theoretical and Applied Ecology. 2015. No. 1. P. 96–99 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-1-098-101