Научная статья

УДК 632.6.04/.08

https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-1-125-138

# Изучение восприимчивости саженцев кедра сибирского (Pinus sibirica), сосны обыкновенной (Pinus sylvestris) и лиственницы сибирской (Larix sibirica) к возбудителю вилта хвойных пород – сосновой стволовой нематоде Bursaphelenchus xylophilus

Кулинич Олег Андреевич ¹, Арбузова Елена Николаевна ², Козырева Наталья Ивановна ³, Чалкин Андрей Андреевич ⁴, Щуковская Анастасия Геннадиевна ⁵, Ряскин Дмитрий Иванович <sup>6</sup>

## Аннотация

**Цель исследования** – изучить поражаемость саженцев сосны обыкновенной *Pinus sylvestris*, кедра сибирского *P. sibirica* и лиственницы сибирской *Larix sibirica* нематодами *Bursaphelenchus xylophilus* с целью выявления потенциальной опасности гибели этих хвойных пород от вилта, вызываемого данным паразитом.

**Материалы и методы.** В опыте использовали 8-летние саженцы *P. sylvestris, P. sibirica* и 4–5-летние саженцы *L. sibirica* в количестве 16 штук каждой породы (8 – зараженных *B. xylophilus* растений и 8 – контрольных образцов).

**Результаты и обсуждение**. Установлено, что сосны *P. sylvestris, P. sibirica* и лиственница *L. sibirica* восприимчивы к возбудителю вилта хвойных пород *B. xylophilus*. К концу наблюдений все растения погибли. Однако, наиболее быстрое увядание и гибель растений отмечены у саженцев лиственницы сибирской. Более интенсивное размножение нематод происходило в саженцах *P. sibirica*, при этом они погибли позже других растений. Температура, поддерживаемая в климатической камере, соответствовала среднеиюльским значениям, характерным для Сибирского региона.

Ключевые слова: сосновая стволовая нематода, хвойные, устойчивость, Сибирь

Благодарность. Исследование поддержано Государственным заданием №124030400032-1.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования**: *Кулинич О. А., Арбузова Е. Н., Козырева Н. И., Чалкин А. А., Щуковская А. Г., Ряскин Д. И.* Изучение восприимчивости саженцев кедра сибирского (*Pinus sibirica*), сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) и лиственницы сибирской (*Larix sibirica*) к возбудителю вилта хвойных пород − сосновой стволовой нематоде *Bursaphelenchus xylophilus* // Российский паразитологический журнал. 2025. Т. 19. № 1. С. 125–138.

https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-1-125-138

© Кулинич О. А., Арбузова Е. Н., Козырева Н. И., Чалкин А. А., Щуковская А. Г., Ряскин Д. И., 2025



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License. The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

<sup>1-5</sup> Всероссийский центр карантина растений (ФГБУ «ВНИИКР»), Московская область, Россия

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Институт проблем экологии и эволюции имени А. Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН), Москва, Россия

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> Всероссийский центр карантина растений Воронежский филиал (ФГБУ «ВНИИКР»), Воронеж, Россия

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> okulinich@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7531-4982

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>e.n.arbuzova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0547-2547

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> nkozyreva014@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1659-0258

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup>chalkin10@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7937-4667

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> schukovskaya.a@vniikr.ru, https://orcid.org/0000-0001-9787-8351

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> ryaskin.dmitry@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-0950-1349

## Original article

# Study of susceptibility of siberian pine (*Pinus sibirica*), scots pine (Pinus sylvestris) and siberian larch (Larix sibirica) seedlings to the pine wilt disease

Oleg A. Kulinich<sup>1</sup>, Elena N. Arbuzova<sup>2</sup>, Natalia I. Kozyreva<sup>3</sup>, Andrey A. Chalkin<sup>4</sup>, Anastasia G. Shchukovskaya<sup>5</sup>, Dmitry I. Ryaskin<sup>6</sup>

## **Abstract**

The purpose of the research is to investigate the resistance of *Pinus sylvestris, P. sibirica* and *Larix sibirica* pine seedlings to the nematode Bursaphelenchus xylophilus to assess the potential risk of death of these conifers from pine wilt disease.

Materials and methods. In the experiment, 8-year-old seedlings of P. sylvestris, P. sibirica and 4-5-year-old seedlings of L. sibirica were used in an amount of 16 seedlings of each species (8 B. xylophilus-infected plants and 8 control plants).

Results and discussion. Pines Pinus sylvestris, P. sibirica and L. sibirica were susceptible to the pine wood nematode B. xylophilus. All plants died by the end of the study, but the most rapid wilting and death of plants was observed in Siberian larch seedlings. More intensive nematode reproduction was recorded in P. sibirica, with seedlings dying later than other plants. The preliminary analysis showed that the death of conifer stands of the studied species from pine wilt disease is possible in the climatic zone of Siberia.

Keywords: pinewood nematode, conifer, resistance, Siberia

Acknowledgments. The study was supported by State Assignment No. 124030400032-1.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

For citation: Kulinich O. A., Arbuzova E. N., Kozyreva N. I., Chalkin A. A., Shchukovskaya A. G., Ryaskin D. I. Study of susceptibility of siberian pine (Pinus sibirica), scots pine (Pinus sylvestris) and siberian larch (Larix sibirica) seedlings to the pine wilt disease. Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology. 2025; 19(1):125–138. (In Russ.).

https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-1-125-138

© Kulinich O. A., Arbuzova E. N., Kozyreva N. I., Chalkin A. A., Shchukovskaya A. G., Ryaskin D. I., 2025

## Введение

Вилт хвойных пород (pine wilt disease) относится к числу наиболее опасных болезней хвойных насаждений в мире. Возбудитель болезни - сосновая стволовая нематода Bursaphelenchus xylophilus (Steiner & Buhrer 1934) Nickle 1981, первичным ареалом которой является Северная Америка, где местные

породы хвойных устойчивы к этому патогену [6]. В начале XX столетия нематода В. xylophilus была занесена в страны Азии (Японию, Китай, Южную Корею) [8], а затем в 1990-х годах – в Европу (Португалию, Испанию) [13].

В настоящее время вид продолжает расширять свой вторичный инвазивный ареал, нанося существенный ущерб сосновым лесам.

<sup>&</sup>lt;sup>1-5</sup> All-Russian Plant Quarantine Center, Moscow Region, Russia

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Center for Parasitology, Institute of Ecology and Evolution A. N. Severtsov Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup>Voronezh branch of the All-Russian Plant Quarantine Center, Voronezh, Russia

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> okulinich@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7531-4982

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>e.n.arbuzova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0547-2547

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> nkozyreva014@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1659-0258

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup>chalkin10@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7937-4667

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> schukovskaya.a@vniikr.ru, https://orcid.org/0000-0001-9787-8351

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> ryaskin.dmitry@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-0950-1349

Как показали многочисленные исследования, при благоприятных климатических условиях (среднемесячной температуре июля или августа 20–25 °C и минимуме осадков) гибель зараженных *B. xylophilus* деревьев происходит в течение 1-2-х лет [6,12].

Другим существенным фактором, влияющим на развитие вилта хвойных пород, является природная устойчивость растений к патогену. В условиях эпифитотий, связанных с вилтом хвойных пород, выращивание устойчивых деревьев является одним из важнейших методов предотвращения ущерба, наносимого патогеном лесонасаждениям.

В странах, где распространена сосновая стволовая нематода, такие исследования являются приоритетными, так как создание и выращивание устойчивых к вилту сосен относится к наиболее эффективным и перспективным методам борьбы с этим заболеванием. Поэтому наилучшим решением в борьбе с вилтом хвойных пород является выявление устойчивых/толерантных к заболеванию видов сосен и других хвойных пород, хорошо адаптированных к местным климатическим условиям. Однако, такой путь требует интенсивного обследования древостоев, поскольку, как показывает практика, нахождение устойчивых деревьев или деревьев с повышенной толерантностью в естественных лесах крайне сложный процесс [16].

Инициаторами поиска устойчивых к В. xylophilus растений сосны были японские ученые. В 1978 г. в Японии началось производство растений, устойчивых к нематодам В. xylophilus, путем получения клонов сосен Р. densiflora Siebold et Zucc., 1842 и Р. thunbergii Parl. Первоначально были отобраны сосны из тех, которые выжили в сильно зараженных насаждениях [10]. В 1992 г. был разработан новый план, связанный с распространением вилта хвойных пород в северной части Японии и поиском устойчивых деревьев среди сосен Р. densiflora. Такие исследования считаются приоритетными в Японии и проводятся по настоящее время.

Аналогичные программы были инициированы в 2001 г. в Китае, где также были начаты работы по отбору устойчивых деревьев сосны *Р. massoniana* Lamb. [14]. Это основная лесообразующая порода хвойных лесов в Китае. До 1982 г., когда вилт хвойных пород был выявлен

в Китае, считалось, что сосны P. massoniana будут устойчивы к этому заболеванию. Однако, в дальнейшем было установлено, что устойчивость этого вида сосен была лишь средней (умеренной). Проведенные исследования показали, что деревья P. massoniana в возрасте 16 лет постепенно теряют устойчивость [20]. Наибольшую популярность получили гибриды, полученные при скрещивании P. thunbergii и Р. massoniana (устойчивый гибрид). Эти работы были начаты еще в Японии, где скрещивания сосен P. thunbergii  $\times$  P. massoniana, P. tadea L.  $\times$  P. rigida R. Br. и P. thunbergii  $\times$  P. densiflora дали определенный успех в производстве устойчивых к вилту хвойных пород деревьев [10, 14].

Наиболее восприимчивым к сосновой стволовой нематоде растением среди европейских видов рода *Pinus* является сосна обыкновенная *P. sylvestris* L. Этот вид очень широко распространен на всем европейском континенте, особенно на севере, но он также часто встречается в Средиземноморье. Установлено, что другими восприимчивыми видами, имеющими коммерческое и экологическое значение для лесного хозяйства в этом регионе, являются сосна приморская *P. pinaster*, сосна горная карликовая (или горная) *P. mugo* Turra и черная сосна *P. nigra* J. F. Arnold.

Основными растениями-хозяевами нематоды *В. хуlophilus* являются виды деревьев, принадлежащие к роду *Pinus*, широко распространенному в северном полушарии. Однако, в список восприимчивых растений входят и другие виды хвойных из родов *Abies* Mill., 1754; *Chamaecyparis* Spach, 1841; *Cedrus* Trew, 1757; *Larix* Mill., 1754; *Picea* A.Dietr., 1824 и *Pseudotsuga* Carr. [6].

Восприимчивость/устойчивость различных видов родов *Pinus* разного происхождения (Америка, Азия и Европа) оценивали на основе степени размножения нематод в искусственно зараженных деревьях [3, 4, 6, 7, 11, 12, 15, 17].

Анализ хвойных растений, испытанных на устойчивость к В. xylophilus, включает различные виды рода Pinus, а также хвойные других родов. Однако, отсутствуют данные по устойчивости основных лесообразующих пород, произрастающих в России. Исключение составляет только сосна обыкновенная (P. sylvestris), широко произрастающая в Европе и Азии.

В связи с этим, целью наших исследований стало изучение степени восприимчивости к возбудителю вилта хвойных пород кедра сибирского P. sibirica Du Tour и лиственницы сибирской Larix sibirica Ledeb., как основных лесообразующих хвойных пород на территории РФ.

## Материалы и методы

Испытания на восприимчивость исследуемых саженцев к нематоде В. xylophilus проводили в июле-сентябре 2024 г. в лабораторных контролируемых условиях Всероссийского центра карантина растений (ФГБУ «ВНИИКР»).

Подготовка здоровых саженцев. Для изучения восприимчивости растений к вилту хвойных пород использовали 8-летние саженцы сосны обыкновенной P. sylvestris (h ≈ 1 м), кедра сибирского (сосны кедровой сибирской) *P. sibirica* (h  $\approx$  1,2 м) и 4–5-летние саженцы лиственницы сибирской L. sibirica (h ≈ 1,5 м) в количестве 16 штук каждой породы (8 - зараженных В. xylophilus растений и 8 - контрольных образцов) (рис. 1). Перед опытом саженцы были проверены на наличие скрытой грибной инфекции, насекомых и возбудителей заболеваний.



Рис. 1. Саженцы Pinus sibirica, Pinus sylvestris, Larix sibirica перед заражением нематодами Bursaphelenchus xylophilus

Fig. 1. Pinus sibirica, Pinus sylvestris, Larix sibirica seedlings before infection with nematodes Bursaphelenchus xylophilus

Культивирование нематод В. xylophilus и подготовка нематодного инокулюма. Культуру нематод В. xylophilus (GenBank: OR978580) содержали в лаборатории на грибе Botrytis сіпетеа в чашках Петри. Средой для культивирования гриба *B. cinerea* служил картофельноглюкозный агар (КГА).

Для подготовки нематодного инокулюма нематоды B. xylophilus размножали в свежеспиленных фрагментах ствола (веток) сосны обыкновенной в течение 14 сут при температуре 27 °C. В дальнейшем нематод выделяли из древесины по методу Бермана готовили нематодный инокулюм для заражения саженцев [5, 14].

Заражение саженцев нематодами В. xylophilus. Для изучения восприимчивости саженцев к вилту хвойных пород использовали саженцы сосны обыкновенной P. sylvestris, сосны кедровой P. sibirica и лиственницы сибирской L. sibirica в количестве 8 штук каждой породы. Для контроля использовали по 8 саженцев той же породы, инъектированных дистиллированной водой.

Для внесения нематодного инокулюма веточки саженцев повреждали путем удаления коры с участка 1-1,5 см; в месте среза делали микроворонку из Parafilm, куда вставляли кусочек ваты, на который вносили пипеткой-дозатором Sartorius 200 мкл нематодного инокулюма, содержащего ≈ 5000 В. xylophilus (различных возрастных стадий) на каждый саженец. В контрольные саженцы аналогичным способом вносили по 200 мкл дистиллированной воды. После инокуляции место повреждения закрывали пленкой Parafilm.

Зараженные саженцы содержались в лабораторной комнате притемпературе  $20,2\pm0,08$  °C (19,4–22,3 °C), влажности  $67,3\pm0,9\%$  (56–82,9%) и режиме светового дня с 7.00 до 22.00 в течение 50 сут.

По окончании опыта (04.09.2024) растения проверяли на наличие в них живых нематод. Для этого каждый саженец измельчали с помощью секатора и выделяли нематод вороночным методом Бермана с экспозицией 24 ч при температуре 20,2±0,08 °C. Нематод выделяли отдельно из наземной части (ствол, ветки), из корней и из прикорневой почвы.

Проводили взвешивание наземных частей (стволовой части и веток) зараженных и контрольных саженцев.

Идентификация и подсчет выявленных нематод. После экстракции нематод из древесных проб и почвы определяли их видовой состав и численность. Учитывая, что древесина различных деревьев имеет разную плотность, делали перерасчет, исходя из числа нематод на 100 г древесины естественной влажности.

При морфологической идентификации нематод готовили временные водные микропрепараты и учитывали только особей, относящихся к B. xylophilus. Подсчет выявленных нематод проводили под стереомикроскопом в чашке Петри. Данные о численности нематод обрабатывали в MS Excel. Значимые различия определяли при P < 0.05.

Для оценки визуального состояния растений в опыте использовали классификацию по степени увядания (СУ) саженцев [5, 9] (табл. 1).

## Результаты

На основании исследования саженцев для опыта были отобраны растения, которые не содержали патогенных грибов и не были заселены стволовыми вредителями.

<u>Кедр сибирский (сосна сибирская кедровая) *P. sibirica*.</u> Первые симптомы (1 СУ) появились у саженцев кедра на пятые сутки после

Таблица 1

## Степень увядания саженцев, пораженных нематодами Bursaphelenchus xylophilus

Table 1

The degree of wilting of seedlings affected by pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* 

Степень увядания	Физиологическое состояние		
0	Здоровое растение		
1	Пожелтение хвои до 25%		
2	Пожелтение хвои 25–50%		
3	Пожелтение хвои 50-75%		
4	Пожелтение хвои 75-95%		
5	Пожелтение хвои более 95% (полная гибель растений)		

заражения растений нематодами B. xylophilus. На двух саженцах был отмечен светло-жёлтый оттенок хвои на стволе. В дальнейшем, аналогичное проявление болезни наблюдали на всех саженцах кедра сибирского. На 7-е сутки аналогичные симптомы увядания проявились еще у двух растений. К 10-м суткам все зараженные нематодами саженцы кедра имели жёлтую хвою, покрывающую 30% всего растения (3 СУ). На 35-е сутки наблюдений СУ большинства саженцев кедра составляла 3-4, к 50-м суткам возросла до 4-5 СУ (рис. 2). В отличие от зараженных нематодами растений, саженцы кедра, инъектированные водой, были здоровы в течение всего периода опыта, и только на 20-е сутки у некоторых растений отмечено пожелтение и отмирание хвои в месте внесения водной инъекции.

Сосна обыкновенная P. sylvestris. У саженцев сосны обыкновенной хвоя начала желтеть на 10-е сутки в местах инокуляции растений нематодами, как и у саженцев лиственницы. Первичные признаки поражения (1 СУ) отмечены на 12-е сутки у 5 из 8 зараженных B. xylophilus растений. Первоначально желтела хвоя в месте внесения инокулюма, далее хвоинки на стебле саженца и затем равномерно все другие ветки, от ствола к кончику ветки. Степень увядания сосен на 30-е сутки была различной для разных растений (от 1 до 3 СУ). Полная гибель всех зараженных растений (4-5 СУ) наступила к 50-м суткам, при этом хвоя имела темно-бурый или желтый цвет (рис. 3). Все саженцы контроля, инъектированные водой, к концу опыта не проявили признаков усыхания, характерного для вилта хвойных пород.



Рис. 2. Саженцы Pinus sibirica, Pinus sylvestris, Larix sibirica, зараженные Bursaphelenchus xylophilus, в разные периоды исследования Fig. 2. Pinus sibirica, Pinus sylvestris, Larix sibirica seedlings infected with Bursaphelenchus xylophilus at different periods of the study

<u>Лиственница сибирская L. sibirica.</u> Все зараженные нематодами саженцы лиственницы одновременно полностью пожелтели (2 СУ) на 10-е сутки. Начиная с 18-х суток, желтая хвоя начала обильно опадать и все зараженные растения в итоге к концу опыта погибли (5 СУ). Исключение составило одно зараженное нематодами растение, которое, достигнув третьей степени увядания (3 СУ), к концу опыта дало побеги (рис. 3).

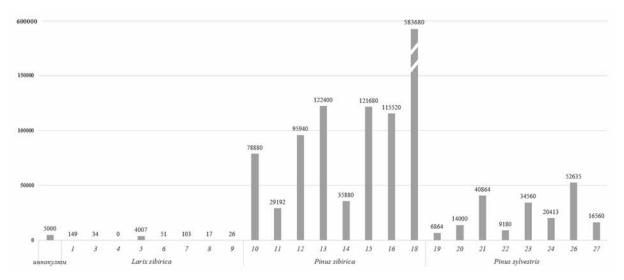
# Численность нематод Bursaphelenchus xylophilus в исследуемых саженцах в конце опыта

<u>Кедр сибирский.</u> Наиболее интенсивно нематоды размножались в саженцах кедра. Общая численность нематод в наземной части разных растений на 50-е сутки опыта увеличилась в 6-117 раз по сравнению с инокулюмом (рис. 4). Средняя численность В. xylophilus в наземной части (стволе и ветках) составила 147 896 экз./растение (44 195 экз./100 г древесины) (табл. 2). Максимальная численность нематод в саженце достигала 182 400 экз. на



**Рис. 3.** Прирост молодых побегов у саженца *Larix* sibirica, зараженного Bursaphelenchus xylophilus, на 25-е сутки опыта

Fig. 3. Growth of young shoots in *Larix sibirica* seedlings infected with Bursaphelenchus xylophilus on 25 days of the experiment



**Рис. 4.** Численность нематод в наземной части зараженных *Bursaphelenchus xylophilus* саженцев *Larix sibirica, Pinus sibirica, Pinus sylvestris* при завершении опыта

**Fig. 4.** Nematode numbers in branches and trunk of *Larix sibirica, Pinus sibirica, Pinus sylvestris* seedlings infected with *Bursaphelenchus xylophilus* at the end of research

100 г древесины, что в 37 раз больше, чем инокулюм. Нематоды также заселяли корневую часть растений, и их средняя численность составила 80 экз./100 г древесины.

Сосна обыкновенная. Нематоды менее интенсивно размножались в саженцах сосны по сравнению с кедром. Максимальная численность В. xylophilus в наземной части саженца достигала 52 635 экз./растение, минимальная – 6864 экз./растение, что, соответственно, в 11 и в 1,4 раза больше, чем первичный инокулюм. Средняя численность нематод в стволовой части и ветках составила 21 969 экз. на 100 г древесины (табл. 2). На рисунке 5 наглядно показано увеличение числа нематод для каждого саженца по сравнению с инокулюмом. Средняя численность нематод в корнях сосны составляла 32 экз./100 г древесины.

<u>Лиственница сибирская.</u> Численность нематод во всех саженцах лиственницы на 50-е сутки опыта была значительно ниже, чем первичный инокулюм. Максимальная численность составляла 4007 нематод/растение, а минимальная – 17 экз./растение (рис. 4).

Самая низкая средняя численность нематод зафиксирована в растениях лиственницы: 349 экз./100 г древесины в наземной части саженца и 16 экз./100 г – в корнях, что в 127 раза меньше, чем в кедре, и в 63 раза меньше по сравнению с сосной (табл. 2).

Анализ хвои пораженных нематодами саженцев показал отсутствие в них нематод B. xylophilus. Масса саженцев кедра сибирского была значительно больше, чем саженцев лиственницы и сосны обыкновенной.

Таблица 2

Средняя численность нематод Bursaphelenchus xylophilus в саженцах хвойных пород в конце опыта (экз. нематод/100 г древесины) (n=8)

Table 2

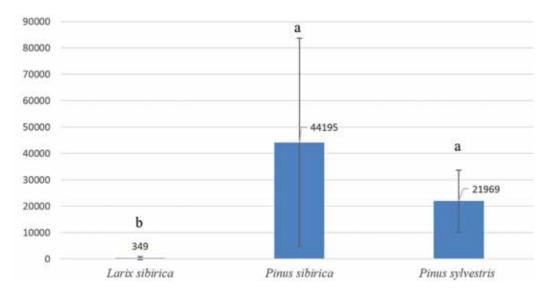
# Average number of Bursaphelenchus xylophilus nematodes in coniferous seedlings at the end of the research (nematodes/100 g of wood) (n = 8)

Саженцы	Larix sibirica		Pinus sibirica		Pinus sylvestris¹	
	стебель	корни	стебель	корни	стебель	корни
Зараженные (min/max)	349 (0-2166)	16 (0-100)	44195 (6560-182400)	80 (0-208)	21969 (5280-48 075)	32 (0-81)
Контроль	0	0	0	0	0	0

Примечание. [Note]. 1 – в почвенном образце был обнаружен 1 экз. нематоды *B. xylophilus* [One specimen of the nematode *B. xylophilus* was found in the soil sample]

Статистическая оценка численности нематод в различных зараженных саженцах хвойных растений показала достоверность разли-

чий между лиственницей и сосной, а также лиственницей и кедром (при уровне значимости отличий P=0.05) (рис. 5).

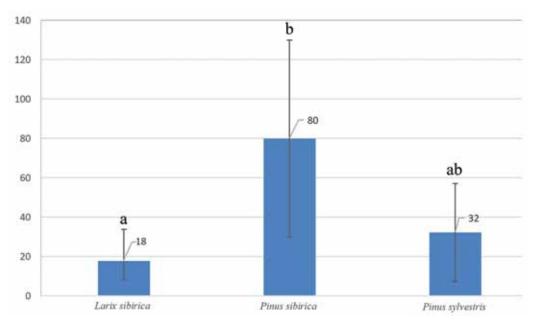


**Рис. 5.** Средняя численность нематод *Bursaphelenchus xylophilus* в стволовой части и ветках зараженных саженцев в конце опыта

**Fig. 5.** Average numbers of nematodes *Bursaphelenchus xylophilus*, in the trunk and branches of infected seedlings, at the end of the research (nematodes/100 g of wood)]

При сравнении числа нематод в корневой системе саженцев разных видов, достоверность различий отмечена только между ли-

ственницей и кедром (при уровне значимости отличий P = 0.05) (рис. 6).



**Рис. 6.** Средняя численность нематод *Bursaphelenchus xylophilus* в корневой части зараженных саженцев в конце опыта

**Fig. 6.** Average number of nematodes *Bursaphelenchus xylophilus* in the roots of infected seedlings, at the end of the study (nematodes/100 g of wood)]

# Обсуждение

Анализ литературных данных, полученных учеными в разных странах по выявлению устойчивых к В. xylophilus пород хвойных, показал, что нет единого подхода в определении степени устойчивости/восприимчивости хвойных пород к В. xylophilus. Исследователи проводили опыты и наблюдения по оценке устойчивости хвойных пород деревьев в разных условиях и при различных параметрах (температура, влажность, закрытый/открытый грунт, объем нематодного инокулюма, возраст растений и др.). Однако, во всех этих исследованиях одними из главных показателей при оценке устойчивости и толерантности были такие параметры, как численность нематод в конце опыта (в сравнении с исходным нематодным инокулюмом при заражении) и степень поражения растений вилтом хвойных пород.

Проведенные исследования показали, что североамериканский изолят *B. xylophilus*, используемый нами в опыте, оказался пато-

генным для всех испытанных пород: сосны обыкновенной, лиственницы сибирской и кедра сибирского. Все используемые в опыте саженцы, зараженные В. xylophilus, за исключением одного растения лиственницы, погибли. Наши исследования показали, что развитие и степень проявления болезни зависит от породы деревьев: заражение лиственницы сибирской вызвало более сильные физиологические повреждения и морфологически тяжелые симптомы, чем у кедра сибирского и сосны обыкновенной, и большинство саженцев погибли уже на 18-е сутки наблюдений. Влияние инокуляции нематод было чрезвычайно заметным для кедра сибирского и сосны обыкновенной, поскольку присутствие нематод приводило к быстрому пожелтению хвои, а средняя численность нематод в них (в пересчете на 100 г навески древесины) увеличилась для кедра сибирского в 9 раз, а для сосны обыкновенной в 4 раза в сравнении с исходным инокулюмом. При этом степень увядания у саженцев кедра сибирского к концу исследований была ниже, чем у сосны (рис. 7).



Рис. 7. Саженцы Pinus sibirica, Pinus sylvestris, Larix sibirica: контрольные и зараженные Bursaphelenchus xylophilus, при завершении опыта (50-е сутки) Fig. 7. Pinus sibirica, Pinus sylvestris, Larix sibirica: control and infected seedlings with Bursaphelenchus xylophilus on 50 days of the experiment

Полученные данные также показали, что несмотря на то, что средняя численность нематод в зараженных саженцах лиственницы

была существенно ниже, чем в сосне обыкновенной и кедре сибирском (соответственно, в 62 и 125 раз), все растения, кроме одного, по-

гибли. Таким образом, первоначальный инокулюм (5000 экз./растение) оказался достаточным для развития популяции, способной привести к гибели все исследованные породы хвойных, и все они являются растениями-хозяевами для нематоды. Тем не менее, очевидно, что условия для развития и размножения нематод в кедре сибирском более благоприятные по сравнению с лиственницей, что несомненно сказывается на конечной численности паразита в растениях. Одно выжившее растение лиственницы на 25-е сутки опыта дало побеги, а при анализе корней и наземной частей растений нематоды В. xylophilus в нем отсутствовали. Мы полагаем, что данное единичное растение оказалось резистентным к B. xylophilus.

Как зарубежные исследования [3, 4, 6, 13, 17], так и наши наблюдения [11] показывают, что отдельные деревья в пределах одного вида не все одинаково восприимчивы к инвазии B. xylophilus. В практике японских и китайских ученых по созданию устойчивых культур сосен, первичным этапом этого процесса является отбор в очаге вилта хвойных пород в естественных древостоях отдельных деревьев, устойчивых к В. xylophilus. Вероятно, мы столкнулись в нашем опыте именно с таким явлением, однако это требует дополнительных исследований.

В некоторых опытах показано, что на скорость проявления симптомов вилта хвойных пород влияет объем исходного инокулюма [3, 4, 7, 18, 19]. В наших исследованиях исходный инокулюм составлял 5000 нематод/растение. Данное число нематод было выбрано из расчета того, что средняя численность нематод в одном жуке Monochamus alternatus, например, в очагах вилта в Японии составляла 25 000 экз. Учитывая то, что нематоды очень быстро размножаются (жизненный цикл завершается за 5-6 сут) [12], считаем, что заражение даже несколькими десятками особей приведет к массовому размножению нематод и проявлению вилта, а, в конечном итоге, к гибели дерева, но в более длительные сроки.

Различие в численности нематод в корневой системе разных пород растений в нашем опыте соответствовало такой же закономерности, как это проявилось для наземной части саженцев. Существенное различие в численности нематод в корнях и прикорневой почве лиственницы, по сравнению с различными видами сосен, отмечалось нами ранее в исследованиях фауны нематод в ризосфере этих растений [1].

Выборочная проверка хвои у всех зараженных саженцев показала отсутствие в них нематод. Данная процедура была сделана ввиду того, что в недавних исследованиях китайских ученых отмечено присутствие нематод даже в хвое зараженных В. xylophilus растений [18].

Принято считать, что на проявление вилта хвойных пород значительное влияние оказывает температура: болезнь развивается быстро и дерево гибнет, если среднемесячная температура летнего месяца составляет 25°C и выше, и гибель зараженных B. xylophilus деревьев растягивается на два года, если температура около 20°C [6]. В нашем опыте поддерживалась температура 20,2±0,08 °C (19,4-22,3 °C), что соответствует климатическим условиям лета в Сибири (в Иркутске, Красноярске, Новосибирске) [2] (рис. 8).

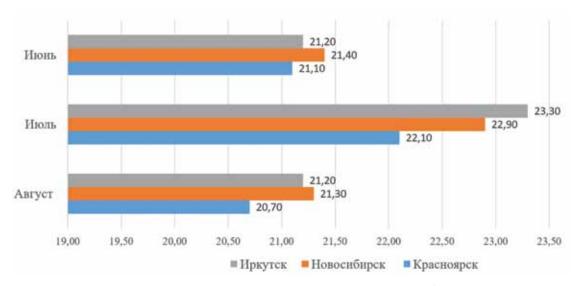
Согласно предварительному анализу, можно предположить, что при инвазии сосновой стволовой нематоды B. xylophilus в вышеуказанные регионы и массовом размножении этого патогена, возможно, будет происходить гибель древостоев Larix sibirica, Pinus sibirica, Pinus sylvestris в течение одного или двух сезонов.

# Заключение

Проведены исследования по изучению устойчивости к сосновой стволовой нематоде ряда основных лесообразующих хвойных пород в России в лабораторных условиях. Установлено, что сосна обыкновенная Pinus sylvestris, кедр сибирский P. sibirica и лиственница сибирская L. sibirica восприимчивы к возбудителю вилта хвойных пород В. xylophilus. Наиболее быстро увядание и гибель растений наблюдали у саженцев лиственницы сибирской.

Установлено, что условия для развития и размножения нематод в кедре сибирском более благоприятны по сравнению с другими исследованными породами.

Предварительный анализ показал, что теоретически возможна гибель древостоев сосны обыкновенной, кедра сибирского и лиственницы сибирской от вилта хвойных пород, вызываемого карантинным видом В. xylophilus,



**Рис. 8.** Средняя температура воздуха в городах Красноярск, Новосибирск, Иркутск, за последние 10 лет наблюдений

Fig. 8. Average air temperature in the cities of Krasnoyarsk, Novosibirsk, Irkutsk, for the last 10 years

в климатической зоне Сибирского региона (окрестности Красноярска, Новосибирска, Иркутска).

## Список источников

- 1. *Кулинич О. А.* Паразитические нематоды хвойных пород и их распространение на территории Европейской части СССР. Проблемы фитогельминтологии. М.: Наука, 1989. С. 105–131.
- 2. Расписание погоды [сайт]. Архив погоды [обновлено 05 декабря 2024; процитировано 05 декабря 2024]. Доступно: https://rp5.ru
- 3. Akiba M., Ishihara M., Sahashi N., Nakamura K., Ohira M., Toda T. Virulence of Bursaphelenchus xylophilus isolated from naturally infested pine forests to five resistant families of Pinus thunbergii. Plant Disease. 2012; 96 (2): 249–252. https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0910
- 4. Akiba M., Nakamura K. Susceptibility of adult trees of the endangered species Pinus armandii var. amamiana to pine wilt disease in the field. Journal of Forest Research. 2005; 10: 3–7. https://doi.org/10.1007/s10310-004-0089-8
- Arbuzova E. N., Kulinich O. A., Chalkin A. A., Kozyreva N. I., Gorbach V. V., Ryss A. Y. Infestation of pine (Pinus sylvestris L.) seedlings with the pinewood nematode Bursaphelenchus xylophilus Steiner and Buhrer (Nickle) through wood sawdust. Annals of Forest Science. 2023; 80 (1): 1-11. https:// doi.org/10.1186/s13595-023-01174-y

- Evans H. F., McNamara D. G., Braasch H., Chadoeuf J., Magnusson C. Pest risk analysis (PRA) for the territories of the European Union (as PRA area) on Bursaphelenchus xylophilus and its vectors in the genus Monochamus. EPPO Bulletin. 1996; 26: 199–249. https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1996. tb00594.x
- Fonseca L., Cardoso J. M. S., Lopes A., Pestana M., Abreu F., Nunes N., Mota M., Abrantes I. The pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus, in Madeira Island. Helminthologia. 2012; 49: 96– 103. https://doi.org/10.2478/s11687-012-0020-3
- 8. *Futai K*. Pine wilt disease and the decline of pine forests: a global issue. Cambridge Scholars Publishing, 2021.
- 9. Hopf-Biziks A, Schröder T, Schütz S. Long-term survival and non-vector spread of the pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus, via wood chips. Forest Pathology. 2017; 47 (4): e12340. https://doi.org/10.1111/efp.12340
- Kobayashi F. The Japanese pine sawyer. Dynamics of forest insect populations: patterns, causes, implications. Boston, M.A.: Springer US, 1988; 431–454.
- 11. Kulinich O. A., Orlinski P. D. Pathogenicity and possible adaptation of the pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus, in central European Russia. Protection of world forests from pests: advances in research, IUFRO World Series. Vienna, 2001, 11: 185–193.

- 12. *Linit M. J.*, *Tamura H.* Relative susceptibility of four pine species to infection by pinewood nematode. Journal of Nematology. 1987; 19 (1): 44.
- 13. Mamiya Y. Pathology of the pine wilt disease caused by Bursaphelenchus xylophilus. Annual Review of Phytopathology. 1983; 21: 201-220. https://doi. org/10.1146/annurev.py.21.090183.001221
- 14. Mota M., Paulo C. V. Pine wilt disease in Portugal. Pine Wilt Disease. Springer, Tokyo, 2008; 33–39. https://doi.org/10.1007/978-4-431-75655-2\_6
- 15. Ryss A. Y., Polyanina K. S., Popovichev B. G., Krivets S. A., Kerchev I. A. Plant host range specificity of Bursaphelenchus mucronatus Mamiya et Enda, 1979 tested in the laboratory experiments. Parazitologiya. 2018; 52: 32-40.
- 16. Nose M., Shiraishi S. Breeding for resistance to pine wilt disease in: Pine Wilt Disease. B. G. Zhao, K. Futai, J. R. Sutherland, Y. Takeuchi, eds. Springer Tokyo, 2008: 334-350. https://doi.org/10.1007/978-4-431-75655-2 34
- 17. Ohba K., Nishimura K., Toda T., Tateyama T. Between mother tree variation in survival rate

- of pine seedlings after artificial inoculation with Bursaphelenchus xylophilus. Bulletin of the graduate school of social and cultural studies Kyushu university. 1977; 30: 69–70. [In Jap.]
- 18. Sutherland J. R., Ring F. M., Seed J. E. Canadian conifers as hosts of the pinewood nematode (Bursaphelenchus xylophilus): results of seedling inoculations. Scandinavian Journal of Forest Research. 1991; 6 (1-4): 209-216. https://doi. org/10.1080/02827589109382662
- 19. Wang Y., Jin M., Wang Y., Yang Y., Yu A. Infestation of pine seedlings (Pinus thunbergii Parl.) with pine wood nematode, Bursaphelenchus xylophilus (Nematoda: Aphelenchoididae) through needle leaves. Journal of Asia-Pacific Entomology. 2024; 27 (2): 102252. https://doi.org/10.1016/j. aspen.2024.102252
- 20. Wang Z., Calderon M. M., Carandang M. G. Effects of resin tapping on optimal rotation age of pine plantation. Journal of forest economics. 2006; 11 (4): 245-260. https://doi.org/10.1016/j. jfe.2005.10.001

Статья поступила в редакцию 09.12.24; одобрена после рецензирования 30.01.25; принята к публикации 10.02.25

#### Об авторах:

Кулинич Олег Андреевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник Отдела лесного карантина; SPIN-код: 7656-5245, Researcher ID: A-5534-2016, Scopus ID: 11940984400.

Арбузова Елена Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Отдела лесного карантина; SPIN-код: 3315-4190, Researcher ID: I-7153-2015, Scopus ID: 57222500674.

Козырева Наталья Ивановна, кандидат биологических наук, научный сотрудник Отдела лесного карантина; SPIN-код: 6645-9389, Researcher ID: JWP-5077-2024, Scopus ID: 57190217222.

Чалкин Андрей Андреевич, научный сотрудник Отдела лесного карантина; SPIN-код: 8575-3984, Researcher ID: AET-9683-2022, Scopus ID: 57220116459.

Щуковская Анастасия Геннадиевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Отдела лесного карантина; SPIN-код: 7346-9724.

Ряскин Дмитрий Иванович, младший научный сотрудник научно-методического отдела, SPIN-код: 5177-3463.

## Вклад авторов:

Кулинич О. А. – организация и проведение исследований, анализ результатов, подготовка рукописи.

Арбузова Е. Н. – организация исследований, редакция материалов.

Козырева Н. И. – исследование материала, проведение исследований, подготовка рукописи.

Чалкин А. А. – проведение исследований, статистическая обработка результатов, оформление статьи.

Щуковская А. Г. – исследование материала.

Ряскин Д. И. - анализ литературы.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

## References

- 1. Kulinich O. A. Parasitic nematodes of conifers and their distribution in the European part of the USSR. *Problems of phytohelminthology = Problemy fitogel'mintologii*. Moscow, Nauka, 1989; 105–131. (In Russ.)
- 2. Weather schedule [website]. Weather archive [updated 05 December 2024; cited 05 December 2024]. Available: https://rp5.ru
- 3. Akiba M., Ishihara M., Sahashi N., Nakamura K., Ohira M., Toda T. Virulence of Bursaphelenchus xylophilus isolated from naturally infested pine forests to five resistant families of Pinus thunbergii. *Plant Disease.* 2012; 96 (2): 249–252. https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0910
- 4. Akiba M., Nakamura K. Susceptibility of adult trees of the endangered species Pinus armandii var. amamiana to pine wilt disease in the field. *Journal of Forest Research*. 2005; 10: 3–7. https://doi.org/10.1007/s10310-004-0089-8
- Arbuzova E. N., Kulinich O. A., Chalkin A. A., Kozyreva N. I., Gorbach V. V., Ryss A. Y. Infestation of pine (Pinus sylvestris L.) seedlings with the pinewood nematode Bursaphelenchus xylophilus Steiner and Buhrer (Nickle) through wood sawdust. *Annals of Forest Science*. 2023; 80 (1): 1-11. https:// doi.org/10.1186/s13595-023-01174-y
- Evans H. F., McNamara D. G., Braasch H., Chadoeuf J., Magnusson C. Pest risk analysis (PRA) for the territories of the European Union (as PRA area) on Bursaphelenchus xylophilus and its vectors in the genus Monochamus. *EPPO Bulletin*. 1996; 26: 199–249. https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1996. tb00594.x
- Fonseca L., Cardoso J. M. S., Lopes A., Pestana M., Abreu F., Nunes N., Mota M., Abrantes I. The pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus, in Madeira Island. *Helminthologia*. 2012; 49: 96– 103. https://doi.org/10.2478/s11687-012-0020-3
- 8. Futai K. Pine wilt disease and the decline of pine forests: a global issue. Cambridge Scholars Publishing, 2021.
- 9. Hopf-Biziks A, Schröder T, Schütz S. Long-term survival and non-vector spread of the pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus, via wood chips. *Forest Pathology*. 2017; 47 (4): e12340. https://doi.org/10.1111/efp.12340

- Kobayashi F. The Japanese pine sawyer. Dynamics of forest insect populations: patterns, causes, implications. Boston, M.A.: Springer US, 1988; 431–454.
- 11. Kulinich O. A., Orlinski P.D. Pathogenicity and possible adaptation of the pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus, in central European Russia. *Protection of world forests from pests: advances in research, IUFRO World Series.* Vienna, 2001, 11: 185–193.
- 12. Linit M. J., Tamura H. Relative susceptibility of four pine species to infection by pinewood nematode. *Journal of Nematology*. 1987; 19 (1): 44.
- 13. Mamiya Y. Pathology of the pine wilt disease caused by Bursaphelenchus xylophilus. *Annual Review of Phytopathology.* 1983; 21: 201–220. https://doi.org/10.1146/annurev.py.21.090183.001221
- 14. Mota M., Paulo C.V. Pine wilt disease in Portugal. *Pine Wilt Disease*. Springer, Tokyo, 2008; 33–39. https://doi.org/10.1007/978-4-431-75655-2\_6
- 15. Ryss A. Y., Polyanina K. S., Popovichev B. G., Krivets S. A., Kerchev I. A. Plant host range specificity of Bursaphelenchus mucronatus Mamiya et Enda, 1979 tested in the laboratory experiments. Parazitologiya. 2018; 52: 32–40.
- Nose M., Shiraishi S. Breeding for resistance to pine wilt disease in: Pine Wilt Disease. B. G. Zhao, K. Futai, J. R. Sutherland, Y. Takeuchi, eds. Springer Tokyo, 2008: 334–350. https://doi.org/10.1007/978-4-431-75655-2\_34
- 17. Ohba K., Nishimura K., Toda T., Tateyama T. Between mother tree variation in survival rate of pine seedlings after artificial inoculation with Bursaphelenchus xylophilus. Bulletin of the graduate school of social and cultural studies Kyushu university. 1977; 30: 69–70. [In Jap.]
- 18. Sutherland J. R., Ring F. M., Seed J. E. Canadian conifers as hosts of the pinewood nematode (Bursaphelenchus xylophilus): results of seedling inoculations. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 1991; 6 (1-4): 209–216. https://doi.org/10.1080/02827589109382662
- 19. Wang Y., Jin M., Wang Y., Yang Y., Yu A. Infestation of pine seedlings (Pinus thunbergii Parl.) with pine wood nematode, Bursaphelenchus xylophilus (Nematoda: Aphelenchoididae) through needle leaves. *Journal of Asia-Pacific Entomology.*

2024; 27 (2): 102252. https://doi.org/10.1016/j. aspen.2024.102252

plantation. *Journal of forest economics*. 2006; 11 (4): 245-260. https://doi.org/10.1016/j.jfe.2005.10.001

20. Wang Z., Calderon M. M., Carandang M. G. Effects of resin tapping on optimal rotation age of pine

The article was submitted 09.12.2024; approved after reviewing 30.01.2025; accepted for publication 10.02.25

#### About the authors:

Kulinich Oleg A., Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Forest Quarantine Department, SPIN: 7656-5245, Researcher ID: A-5534-2016, Scopus ID: 11940984400.

Arbuzova Elena N., Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Forest Quarantine Department, SPIN: 3315-4190, Researcher ID: I-7153-2015, Scopus ID: 57222500674.

Kozyreva Natalya I., Candidate of Biological Sciences, Researcher, Forest Quarantine Department, SPIN: 6645-9389, Researcher ID: JWP-5077-2024, Scopus ID: 57190217222.

Chalkin Andrey A., Researcher, Forest Quarantine Department, SPIN: 8575-3984, Researcher ID: AET-9683-2022, Scopus ID: 57220116459.

Shchukovskaya Anastasia G., Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Forest Quarantine Department, SPIN: 7346-9724.

Ryaskin Dmitry I., Junior Researcher, Scientific and Methodological Department, SPIN code: 5177-3463.

## Contribution of the authors:

Kulinich O. A. – organization and conduct of research, analysis of results, preparation of manuscript.

Arbuzova E. N. – organization of research, revision of materials.

Kozyreva N. I. – study of the material, conducting research, preparation of the manuscript.

Chalkin A. A. – research design, statistical processing of research data, article design.

Shchukovskaya A. G. – research of the material.

Ryaskin D. I. - literature analysis.

All authors have read and approved the final manuscript.