

Научная статья

УДК 632.6.04/.08

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-4-490-499>

Оптимальные параметры выделения нематод из древесного субстрата

Чалкин Андрей Андреевич¹, Арбузова Елена Николаевна²,
Козырева Наталья Ивановна³, Кулинич Олег Андреевич⁴

¹⁻⁴ Всероссийский центр карантина растений (ФГБУ «ВНИИКР»), Московская область, Россия

⁴ Институт проблем экологии и эволюции имени А. Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН), Москва, Россия

¹ chalkin10@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7937-4667>

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

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

⁴ okulinich@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7531-4982>

Аннотация

Цель исследований – определить оптимальные временные и температурные параметры при выделении нематод *Bursaphelenchus xylophilus* вороночным методом Бермана из древесины сосны *Pinus sylvestris* L.

Материалы и методы. Фрагменты ствола *P. sylvestris* длиной 22–25 см, выпиленные из 15-летнего визуально здорового дерева сосны были заражены сосновой стволовой нематодой *B. xylophilus* и их инкубировали в течение 45 сут в термостате при температуре 27 °C. При бурении дрелью зараженных нематодами бревен получали опилки, из которых сформировали единый образец древесного субстрата. Для выделения нематод из древесного образца использовали вороночный метод Бермана. Опыт включал четыре варианта по 8 образцов. Численность нематод определяли через 6, 24 и 48 ч при температуре 18 и 25 °C. Данные обрабатывали в среде MS Excel.

Результаты и обсуждение. Установлено, что около 80% нематод выделяется в течение первых 24 ч. Этот срок является оптимальным при проведении фитогельминтологического анализа. Число выделенных нематод в последующие сутки составило около 20%. Изменение температуры в пределах 18–25 °C влияло на степень экстракции нематод из древесного субстрата, но не всегда существенно. Численность выделенных нематод в различных воронках, полученных из одного смешанного образца, существенно различалась, что объясняется агрегированностью их распределения в древесном субстрате.

Ключевые слова: *Bursaphelenchus xylophilus*, метод Бермана, *Pinus sylvestris*, выделение нематод

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Чалкин А. А., Арбузова Е. Н., Козырева Н. И., Кулинич О. А. Оптимальные параметры выделения нематод из древесного субстрата // Российский паразитологический журнал. 2025. Т. 19. № 4. С. 490–499.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-4-490-499>

© Чалкин А. А., Арбузова Е. Н., Козырева Н. И., Кулинич О. А., 2025



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

Original article

Optimal parameters for the extraction of nematodes from wood substrate

Andrey A. Chalkin¹, Elena N. Arbuzova², Natalia I. Kozyreva³, Oleg A. Kulinich⁴

¹All-Russian Plant Quarantine Center, Moscow Region, Russia

⁴Center for Parasitology, Institute of Ecology and Evolution. A. N. Severtsov Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

¹chalkin10@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7937-4667>

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

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

⁴okulinich@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7531-4982>

Abstract

The purpose of the research is determine the optimal time and temperature parameters for the extraction of *Bursaphelenchus xylophilus* nematodes by Baermann-funnel method from pine wood of *Pinus sylvestris* L.

Materials and methods. *P. sylvestris* logs 22–25 cm long, cut from a 15-year-old visually healthy pine tree, were infested with the pine wood stem nematode *B. xylophilus* and incubated for 45 days in a thermostat at 27°C. Further, sawdust was obtained by drilling nematode-infested logs with a drill to form a single wood substrate sample. Berman's funnel technique was used to extract nematodes from the wood sample. The experiments included four replications of 8 samples each. Nematode abundance was counted after 6, 24 and 48 hours at 18 and 25°C. The data were processed in MS Excel.

Results and discussion. The conducted studies showed that about 80% of the nematodes were extracted within the first 24 hours. This period is optimal for nematological analysis. The number of nematodes extracted in the following 24 hours was about 20%. Temperature between 18 and 25°C influenced the degree of nematode extraction from the wood substrate, but not always significantly. The numbers of extracted nematodes in different samples obtained from the single mixed substrate differed significantly, which can be explained by the aggregation of their distribution in the wood substrate.

Keywords: *Bursaphelenchus xylophilus*, Baermann-funnel method, *Pinus sylvestris*, nematode extraction

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest

For citation: Chalkin A. A., Arbuzova E. N., Kozyreva N. I., Kulinich O. A. Optimal parameters for the extraction of nematodes from wood substrate. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2025;19(4):490–499. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-4-490-499>

© Chalkin A. A., Arbuzova E. N., Kozyreva N. I., Kulinich O. A., 2025

Введение

Экстракция нематод из зараженного субстрата является важным этапом в процессе их исследования. Наиболее распространенным методом выделения нематод из почвы и различных растительных субстратов является вороночный метод Бермана [12]. Этот метод подходит для большинства различных таксономических групп нематод, имеющих червеобразную стадию в своем жизненном цикле, и обитающих в почве и растениях (стеблях, корнях, листья и семенах) [2, 10, 6, 18]. Начиная с первой публикации этого метода в 1917 г., появилось множество его модификаций, направленных на получение большего видового

разнообразия и большей численности нематод при его применении [3, 13, 21].

При исследовании нематод, связанных с древесными породами, для выделения их из древесины также применяют метод Бермана в различных модификациях [4].

К числу наиболее значимых видов нематод-дендробионтов относится карантинный вид *Bursaphelenchus xylophilus* Nickle 1970 (Steiner & Buhrer 1934).

Сосновая стволовая нематода *B. xylophilus* является одним из самых опасных в мире патогенов хвойных деревьев. Родиной этого вида является Северная Америка, где местные по-

роды хвойных устойчивы к возбудителю [24]. *B. xylophilus*, завезенная в Азию в начале 20-го века и распространившаяся на территории Китая, Японии и Республики Корея, вызвала массовую гибель сосновых лесов [17]. Аналогичная ситуация наблюдается в Португалии: первый очаг *B. xylophilus* был выявлен в 1999 г. [20], и в настоящее время патоген распространился почти по всей территории страны [14, 22]. Впоследствии очаги нематоды были выявлены в Испании [25]. В 2024 г. появилось сообщение о выявлении *B. xylophilus* в Республике Армения [11].

На территории РФ этот вид пока не выявлен, но близкородственный к нему вид *B. mucronatus* неоднократно диагностировали в России [1, 5, 7–9, 19]. Учитывая пути возможного заноса этого опасного вредителя и угрозу для хвойных насаждений, многие страны мира, в том числе Россия, включили *B. xylophilus* в перечень карантинных организмов [15].

На территории Российской Федерации надзорную функцию по перемещению древесины и изделий из неё, проведение исследований по установлению фитосанитарного состояния подкарантинной продукции осуществляет Россельхознадзор. Время нахождения груза в терминалах зависит от оперативности выполнения экспертизы на зараженность вредителями и патогенами. Сокращение времени проведения гельминтологических исследований является важной экономической составляющей, связанной с конечной стоимостью товара.

Самым продолжительным этапом в гельминтологическом исследовании является процесс выделения нематод из растительного субстрата. В мировой практике для выделения сосновой стволовой нематоды из древесины обычно используют вороночный метод Бермана или его модификации. При этом для выделения нематод рекомендуется экспозиция при 24 или 48 ч [16, 23].

Целью наших исследований стало определение оптимальных временных и температурных параметров при экстракции нематод *B. xylophilus* вороночным методом Бермана из древесины *Pinus sylvestris*.

Материалы и методы

Для выполнения исследований были подготовлены фрагменты ствола 15-летнего визуально здорового дерева сосны *P. sylvestris*,

торцы которых были запарафинированы. Далее в каждый древесный образец длиной 22–25 см механической пипеткой вносили нематодный инокулум объемом 400 мкл, содержащий 3200 нематод *B. xylophilus* (BxAm GenBank: OR978580.1). Инокулум вводили двумя дозами в два отверстия диаметром 5 мм, просверленных в средней части образца до глубины, равной половине диаметра древесного образца. После введения инокулума отверстия в древесине были закрыты пленкой «Parafilm M», а сами образцы обернуты в прозрачную пищевую пленку для сохранения влаги. В течение 45 сут бревна инкубировали в термостате при температуре 27 °C. Отбор проб из образцов проводили путём сверления древесных бревен аккумуляторной дрелью Makita BDF441RFE сверлом Ø16 мм при скорости вращения не более 300 об/мин. Из полученных опилок формировали единый образец древесного субстрата. На металлическом сите диаметром 105 мм и диагональю ячеек 0,16 мм равномерно распределяли древесную строжку массой 20 г. Сито помещали в воронку и заливали водой выше уровня стружки (рис. 1).



Рис. 1. Экстракция нематод вороночным методом Бермана

Fig. 1. Nematode extraction using the Baerman funnel method

Экстракцию нематод из зараженного древесного субстрата проводили в течение 6 ч, 24 и 48 ч при 18 и 25 °C. Выделенные из древесины нематоды оседали на дне пробирки, прикрепленной к воронке. Взвесь выделенных нематод помещали в чашку Петри и подсчитывали под бинокуляром Carl Zeiss Stemi 508.

Для критической величины Р принято стандартное значение уровня значимости $\alpha = 0,05$. Данные обрабатывали в среде MS Excel.

Результаты и обсуждение

Выделение нематод при 6-часовой экспозиции. По окончании 6-часового этапа выделения нематод средняя численность выделенных нематод составила соответственно,

16 ± 2 и 14 ± 4 особей/образец, однако из некоторых образцов выделились лишь единичные особи (табл. 1). Отличия в численности между температурными режимами были незначительны.

Таблица 1

Численность нематод *Bursaphelenchus xylophilus*, выделенных из древесных образцов *Pinus sylvestris* (особей/образец) при различных параметрах

Table 1

Number of *Bursaphelenchus xylophilus* nematodes isolated from *Pinus sylvestris* wood samples (individuals/sample) under different parameters

Сутки	Время, ч	t, °C	Кол-во выделенных нематод (min-max)	P
Первые	6	18	16 ± 2 (1–29)	0,758
		25	14 ± 4 (3–63)	
	18	18	23 ± 3 (13–70)	0,037
		25	44 ± 6 (14–130)	
Вторые	24	18	10 ± 1 (23–85)	0,041
		25	13 ± 2 (18–143)	

Примечание. Р – значимость отличий.

Выделение нематод при 24-часовой экспозиции. Нематоды продолжали выделяться в последующие 18 ч. Средняя численность их за 24 ч составила 23 ± 3 и 44 ± 6 особей/образец при 18 и 25 °C, соответственно. Однако здесь также наблюдали большой разброс в числе выделенных нематод из разных проб – от 13 до 130 особей/образец. При 25 °C численность нематод была почти в два раза выше, чем при 18 °C ($P < 0,05$). Таким образом, относительная численность нематод при экспозиции 6 ч составила 41 и 35% при 18 и 25 °C, соответственно, по отношению к общему числу выделенных нематод за 24 ч (полные сутки). Увеличение числа нематод к концу первых суток указывает на уровень значимости отличий Р, близкий к критическому значению $\alpha = 0,05$. Графическое изображение экстрагированных за определенное время нематод при разных температурных режимах приведено на рисунках 2, 3.

Выделение нематод при 48-часовой экспозиции. Различия в средней численности нематод за последующие 24 ч (вторые сутки) были незначительны при двух температурных режимах и составили 10 ± 1 и 13 ± 2 особей/образец при 18 и 25 °C, соответственно (рис. 4).

Отличие по средней численности нематод, экстрагированных за всё время эксперимента (48 ч) при разных температурах было неравномерно, но также, как и для 24-часового ин-

тервала, при 25 °C наблюдали более высокую изменчивость в числе выделенных нематод из разных образцов (рис. 3).

В целом, за вторые сутки выделения относительная численность экстрагированных нематод составила около 20% от общего числа всех выделенных нематод за двое суток при двух температурных режимах (рис. 5, $P < 0,05$).

Таким образом, по результатам проведённых исследований выявлено, что при использовании вороночного метода Бермана из древесного субстрата выделяются около 80% нематод в течение первых 24 ч и 20% – в течение следующих суток. Температура влияла на степень выделения нематод из древесного субстрата, но не во всех вариантах это различие было значимо, только при экспозиции в 24 ч. Можно сделать вывод о тенденции в увеличении степени выделения нематод из субстрата при повышении температуры.

Установлено, что нематоды в растительном субстрате имели агрегированное распределение. Например, при 6-часовой экспозиции численность нематод в некоторых образцах составила лишь 1–3 особи, в то время как в других пробах – более 60 особей. Пробы формировались из единого перемешанного образца древесных опилок. Аналогичное агрегированное распределение также проявилось в вариантах с другими временными экспозициями.

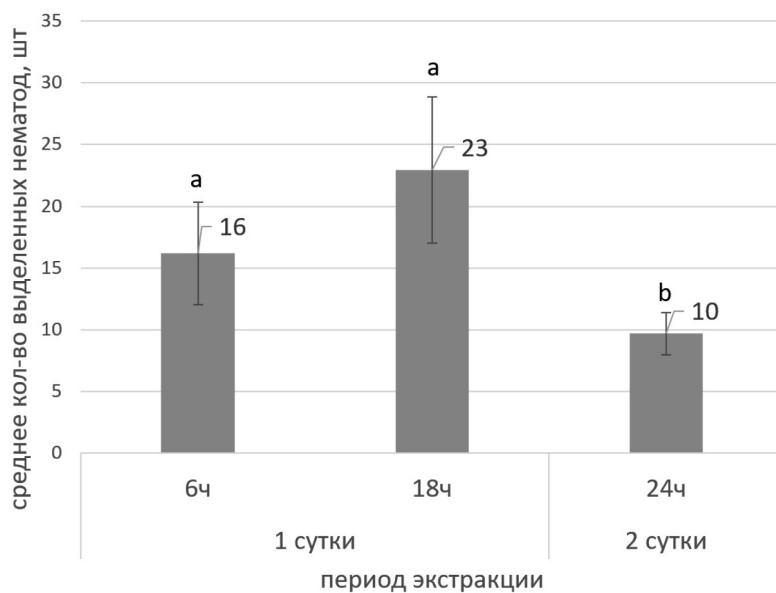


Рис. 2. Среднее число выделенных нематод *Bursaphelenchus xylophilus* из образцов *Pinus sylvestris* за 6 ч, 18 ч и 24 ч экстракции при температуре 18°C

Fig. 2. Average numbers of nematodes *Bursaphelenchus xylophilus* isolated from *Pinus sylvestris* samples for 6 h, 18 h and 24 h extraction at 18°C

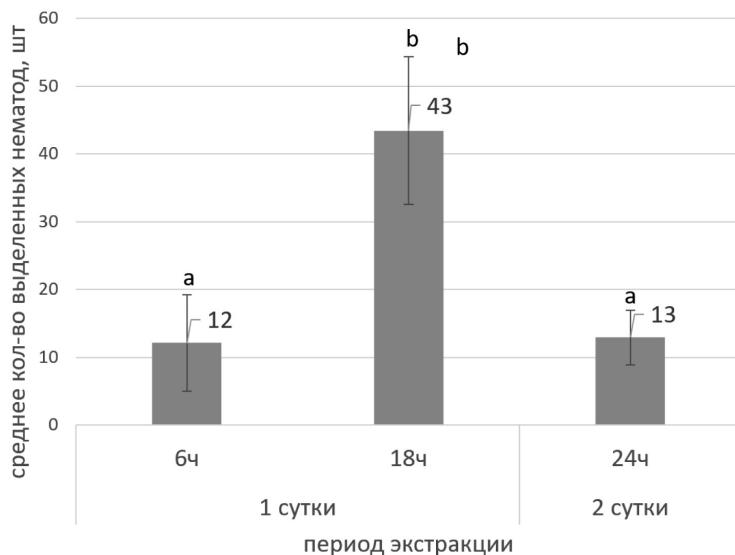


Рис. 3. Среднее число выделенных нематод *Bursaphelenchus xylophilus* из образцов *Pinus sylvestris* за 6 ч, 18 и 24 ч экстракции при температуре 25°C

Fig. 3. Average numbers of nematodes *Bursaphelenchus xylophilus* isolated from *Pinus sylvestris* samples for 6 h, 18 h and 24 h extraction at 25°C

Средняя численность нематод, выделенных в течение первых 6 ч при двух температурных режимах, составила около 37% от общей численности нематод, выделившихся за первые сутки (24 ч). Однако, данную экспозицию можно с осторожностью рекомендовать для применения, так как это может

дать ложноотрицательный результат ввиду того, что из образцов могут выделиться лишь единичные нематоды. Наличие малого числа особей затруднит дальнейшую идентификацию нематод при использовании морфологических критериев. Для диагностики нематод многих таксонов, и в частности видов рода

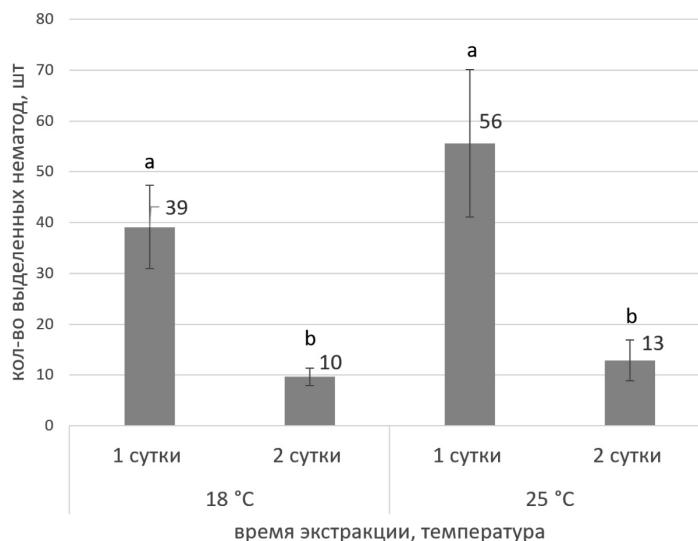


Рис. 4. Среднее число выделенных нематод *Bursaphelenchus xylophilus* из образцов *Pinus sylvestris* за 1 и 2-е сутки экстракции при температуре 18 и 25 °C

Fig. 4. Average numbers of nematodes *Bursaphelenchus xylophilus* isolated from *Pinus sylvestris* samples for the 1st and 2nd days of extraction at a temperature of 18 and 25 °C

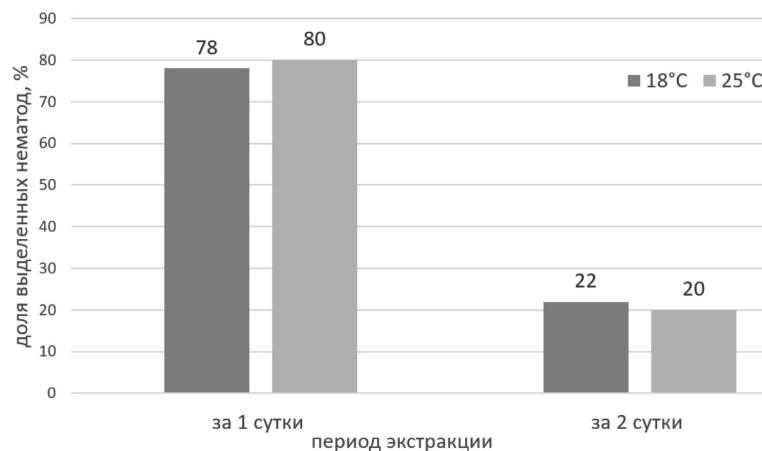


Рис. 5. Доля выделенных нематод *Bursaphelenchus xylophilus* из образцов *Pinus sylvestris* за 1 и 2-е сутки экстракции при температуре 18 и 25 °C

Fig. 5. The proportion of *Bursaphelenchus xylophilus* nematodes isolated from *Pinus sylvestris* samples on the 1st and 2nd day of extraction at a temperature of 18 and 25 °C

Buraphelenchus, необходимо наличие достаточного числа и самцов, и самок.

В методических рекомендациях и стандартах по выделению нематод [16, 23], как правило, указан временной период для выделения: 24 или 48 ч. Это связано, прежде всего, с технологическим процессом и удобством в проведении анализа специалистом. Закладка растительных проб для выделения нематод по Берману в начале рабочего дня и проведение анализа в это же время на следующий день де-

лает рабочий процесс диагностики выделенных нематод оптимальным.

Наши исследования показали, что при использовании вороночного метода Бермана при 25 °C, по сравнению с 18 °C, число выделенных нематод из древесного субстрата увеличивается, но не всегда существенно. Следует учитывать, что при длительном нахождении нематод в пробирке наблюдается их гибель из-за дефицита воздуха.

Полученные нами выводы по температуре и времени экспозиции при применении вороночного метода Бермана можно рекомендовать для выделения нематод различных таксонов (напр. *Ditylenchus*, *Aphelenchoides*, *Laimaphelenchus*, *Pratylenchus* и др.), имеющих червеобразную стадию в своем жизненном цикле, из других растительных субстратов.

Заключение

Проведённые исследования по использованию вороночного метода Бермана для выделения нематод рода *Bursaphelenchus* из древесного субстрата показали, что около 80 нематод выделяются в течение первых 24 ч. Именно за этот срок достигается максимальное число выявленных нематод, что обеспечивает оптимальный результат при проведении фитогельминтологического анализа. Число выделенных нематод в последующие сутки составило около 20%. При этом при повышении температуры с 18 до 25 °C численность выделяемых нематод из древесного субстрата увеличивается, но не всегда существенно.

Список источников

1. Ахматович Н. А., Рысс А. Ю. Пути распространения стволовых нематод рода *Bursaphelenchus* группы видов *xylophilus* с пиломатериалами на территории Российской Федерации // Паразитология. 2009. Т. 43, № 6. С. 437–444.
2. Кирьянов Е. С., Краль Э. Л. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними. Л.: Наука, 1969. Т. 1. 447 с.
3. Кудрин А. А., Сущук А. А. Методы исследования сообществ почвенных нематод. Russian Journal of Ecosystem Ecology. 2022. Т. 7, № 2. С. 44–71. <https://doi.org/10.21685/2500-0578-2022-2-5>
4. Кулинич О. А. Методические указания по выявлению, определению паразитических нематод лесных древесных пород и методы защиты от них. М., 1990. 70 с.
5. Кулинич О. А., Арбузова Е. Н., Чалкин А. А., Козырева Н.И., Рысс А. Ю. Распространение сосновой стволовой нематоды *Bursaphelenchus xylophilus* в мире и результаты обследования хвойных насаждений в Российской Федерации. «Современные проблемы лесозащиты и пути их решения»: материалы II Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию со дня рождения проф. Н. И. Федорова и 90-летию кафедры лесозащиты и древесиноведения. Минск: БГТУ, 2020. С. 363–367.
6. Таболин С. Б., Романенко Н. Д., Митюшев И. М. Агронематология: Учебное пособие / Под общ. ред. С. Б. Таболина. М.: Изд. ЗГАУ-МСХА, 2017. 200 с.
7. Чалкин А. А., Зинников Д. Ф., Лябзина С. Н., Синкевич О. В. Вредители и болезни лесных биоценозов особо охраняемых природных территорий Республики Карелия // Фитосанитария. Карантин растений. 2021. № 2. С. 9-19. <https://doi.org/10.69536/FKR.2021.30.26.001>
8. Чалкин А. А., Козырева Н. И., Кулинич О. А., Арбузова Е.Н. Нематоды-ксилобионты, ассоциированные с короедами рода *Ips* De Geer, 1775 // Фитосанитария. Карантин растений. 2024. S4-1 (20). С. 85.
9. Шестеперов А. А., Лычагина С. В., Щитков Г. С. К эпифитотическому процессу при бурсафеленхозе (*Bursaphelenchus mucronatus*) сосны обыкновенной // Российский паразитологический журнал. 2024. Т. 18, № 4. С. 463–474. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-4-463-474>
10. Шестеперов А. А., Савотиков Ю. Ф. Карантинные фитогельминтозы. Кн. 1. М.: Колос, 1995. 463 с.
11. Arbuzova E. N., Karagyan G. H., Kozyreva N. I., Shchukovskaya A. G., Ghrejyan T. L., Kalashian M. Y., Akopyan K. V. First finding of *Bursaphelenchus xylophilus* in pine plantations of the Republic of Armenia. Journal of Nematology. 2025; 57 (1): 20250004. <https://doi.org/10.2478/jofnem-2025-0004>
12. Baermann G. Eine einfache Methode zur Auffindung von *Anklostomum* (Nematoden) Larven in Erdproben. Tijdschr Diergeneesk. 1917; 57: 131–137.
13. Cesarz S., Schulz A. E., Beugnon R., Eisenhauer N. Testing soil nematode extraction efficiency using different variations of the Baermann-funnel method. Soil organisms. 2019; 91: 61–72. <https://doi.org/10.25674/so91201>
14. De la Fuente B., Saura S. Long-term projections of the natural expansion of the pine wood nematode in the Iberian Peninsula. Forests. 2021; 12 (7): 849. <https://doi.org/10.3390/f12070849>
15. EPPO. *Bursaphelenchus xylophilus*. EPPO Global Database. <https://gd.eppo.int/taxon/BURSXY/categorization>. Accessed 28 May 2025

16. EPPO. PM 7/119 (1) Nematode extraction. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 2013; 43: 471–495. <https://doi.org/10.1111/epp.12077>
17. Futai K. Pine wilt disease and the decline of pine forests: a global issue. Cambridge Scholars Publishing, 2021; 201.
18. Hallman J., Viaene N. PM 7/119 (1) Nematode extraction. EPPO Bulletin. 2013; 43: 471–495.
19. Kulinich O.A., Kruglic I., Eroshenko A.S., Kolosova N.V. Occurrence and distribution of the nematode *Bursaphelenchus mucronatus* in the Russian Far East. Russian Journal of Nematology. 1994; 2 (2): 113–120.
20. Mota M., Braasch H., Bravo M. A., Penas A. C., Burgermeister W., Metge K., Sousa E. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. Nematology. 1999; 1: 727–734.
21. Robinson, A. F., Heald C. M. Accelerated movement of nematodes from soil in Baermann funnels with temperature gradients. Journal of Nematology. 1989; 21: 370–378.
22. Rodrigues J. M., Sousa E., Abrantes I. Pine wilt disease: historical overview. In Pine wilt disease in Europe: Biological interactions and integrated management (Sousa E.; Vale F., Abrantes I. Eds.) Lisboa. FNAPF-Federação Nacional das Associações de Proprietários Florestais. 2015; 13–32.
23. Schröder T., McNamara D. G., Gaar V. Guidance on sampling to detect pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* in trees, wood and insects. EPPO Bulletin. 2009; 39 (2): 179–188. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2009.02287.x>
24. Sutherland J. R. A brief overview of the pine wood nematode and pine wilt disease in Canada and the United States. In: Pine wilt disease. (Zhao B.G., Futai K., Sutherland J.R., Takeuchi Y. Eds.) Tokyo. Springer, 2008; 13–17. https://doi.org/10.1007/978-4-431-75655-2_3
25. Zamora P., Rodríguez V., Renedo F., Sanz A. V., Domínguez J. C., Pérez-Escolar G., & Martín A. B. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* causing pine wilt disease on *Pinus radiata* in Spain. Plant Disease. 2015; 99 (10): 1449–1449. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0252-PDN>

Статья поступила в редакцию 20.06.25; одобрена после рецензирования 01.08.25; принята к публикации 10.11.25

Об авторах:

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

Арбузова Елена Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, начальник 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.

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

Вклад авторов:

Чалкин А. А. – постановка исследования, подготовка рукописи, оформление статьи.

Арбузова Е. Н. – анализ литературы, организация постановки исследования, анализ результатов исследования.

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

Кулинич О. А. – анализ литературы, исследование материала, подготовка рукописи.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Akhmatovich N. A., Ryss A. Yu. Pathways of spread of stem nematodes of the genus *Bursaphelenchus* of the *xylophilus* species group with sawn timber on the territory of the Russian Federation. Parazitologija = Parasitology. 2009; 43 (6): 437–444. (In Russ.).
2. Kiryanov E. S., Krall E. L. Parasitic nematodes of plants and measures to combat them. Leningrad: Nauka, 1969; V. 1. 447 p. (In Russ.).
3. Kudrin A. A., Sushchuk A. A. Methods for studying soil nematode communities. Russian Journal of Ecosystem Ecology. 2022; 7 (2): 44–71. (In Russ.) <https://doi.org/10.21685/2500-0578-2022-2-5>

4. Kulinich O. A. Methodical guidelines for the detection, determination of parasitic nematodes of forest tree species and methods of protection against them. M., 1990; 70 p. (In Russ.).
5. Kulinich O. A., Arbuzova E. N., Chalkin A. A., Kozyreva N. I., Ryss A. Yu. Distribution of pine stem nematode *Bursaphelenchus xylophilus* in the world and the results of a survey of coniferous plantations in the Russian Federation. «Sovremennyye problemy lesozashchity i puti ikh resheniya»: materialy II Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 95-letiyu so dnya rozhdeniya prof. N. I. Fedorova i 90-letiyu kafedry lesozashchity i drevesinovedeniya = «Modern problems of forest protection and ways to solve them»: Proc. II Int. scientific-practical. conf., dedicated to the 95th anniversary of the birth of prof. N. I. Fedorov and the 90th anniversary of the dep. forest protection and wood science. Minsk: BSTU, 2020; 363–367. (In Russ.).
6. Tabolin S. B., Romanenko N. D., Mityushev I. M. Agronomatologiya: Tutorial / General editor S. B. Tabolin. Publ.: ZGAU-MSHA, 2017; 200 p. (In Russ.).
7. Chalkin A. A., Zinnikov D. F., Lyabzina S. N., Sinkevich O. V. Pests and diseases of forest biocenoses of specially protected natural areas of the Republic of Karelia. Fitosanitariya. Karantin rasteniy = Phytosanitary. Plant quarantine. 2021; (2): 9–19. (In Russ.) <https://doi.org/10.69536/FKR.2021.30.26.001>
8. Chalkin A. A., Kozyreva N. I., Kulinich O. A., Arbuzova E. N. Xylobiont nematodes associated with bark beetles of the genus *Ips* De Geer, 1775. Fitosanitariya. Karantin rasteniy = Phytosanitary. Plant quarantine. 2024; S4-1 (20): 85. (In Russ.).
9. Shesteperov A. A., Lychagina S. V., Shchitkov G. S. On the epiphytic process in bursaphelenchiasis (*Bursaphelenchus mucronatus*) of Scots pine. Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology. 2024; 18 (4): 463–474. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-4-463-474>
10. Shesteperov A. A., Savotikov Yu. F. Quarantine phytohelminthoses. Book 1. M.: Kolos, 1995; 463 p. (In Russ.).
11. Arbuzova E. N., Karagyan G. H., Kozyreva N. I., Shchukovskaya A. G., Ghrejyan T. L., Kalashian M. Y., Akopyan K. V. First finding of *Bursaphelenchus xylophilus* in pine plantations of the Republic of Armenia. Journal of Nematology. 2025; 57 (1): 20250004. <https://doi.org/10.2478/jofnem-2025-0004>
12. Baermann G. Eine einfache Methode zur Auffindung von Anklostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. Tijdschr Diergeneesk. 1917; 57: 131–137.
13. Cesarz S., Schulz A. E., Beugnon R., Eisenhauer N. Testing soil nematode extraction efficiency using different variations of the Baermann-funnel method. Soil organisms. 2019; 91: 61–72. <https://doi.org/10.25674/so91201>
14. De la Fuente B., Saura S. Long-term projections of the natural expansion of the pine wood nematode in the Iberian Peninsula. Forests. 2021; 12 (7): 849. <https://doi.org/10.3390/f12070849>
15. EPPO. *Bursaphelenchus xylophilus*. EPPO Global Database. <https://gd.eppo.int/taxon/BURSXY/> categorization. Accessed 28 May 2025
16. EPPO. PM 7/119 (1) Nematode extraction. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 2013; 43: 471–495. <https://doi.org/10.1111/epp.12077>
17. Futai K. Pine wilt disease and the decline of pine forests: a global issue. Cambridge Scholars Publishing, 2021; 201.
18. Hallman J., Viaene N. PM 7/119 (1) Nematode extraction. EPPO Bulletin. 2013; 43: 471–495.
19. Kulinich O.A., Kruglic I., Eroshenko A.S., Kolosova N.V. Occurrence and distribution of the nematode *Bursaphelenchus mucronatus* in the Russian Far East. Russian Journal of Nematology. 1994; 2 (2): 113–120.
20. Mota M., Braasch H., Bravo M. A., Penas A. C., Burgermeister W., Metge K., Sousa E. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. Nematology. 1999; 1: 727–734.
21. Robinson, A. F., Heald C. M. Accelerated movement of nematodes from soil in Baermann funnels with temperature gradients. Journal of Nematology. 1989; 21: 370–378.
22. Rodrigues J. M., Sousa E., Abrantes I. Pine wilt disease: historical overview. In Pine wilt disease in Europe: Biological interactions and integrated management (Sousa E.; Vale F., Abrantes I. Eds.) Lisboa. FNAPF-Federação Nacional das Associações de Proprietários Florestais. 2015; 13–32.
23. Schröder T., McNamara D. G., Gaar V. Guidance on sampling to detect pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* in trees, wood and insects. EPPO Bulletin. 2009; 39 (2): 179–188. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2009.02287.x>
24. Sutherland J. R. A brief overview of the pine wood nematode and pine wilt disease in Canada and the United States. In: Pine wilt disease. (Zhao B.G.,

- Futai K., Sutherland J.R., Takeuchi Y. Eds.) Tokyo. Springer, 2008; 13–17. https://doi.org/10.1007/978-4-431-75655-2_3
25. Zamora P., Rodríguez V., Renedo F., Sanz A. V., Domínguez J. C., Pérez-Escolar G., & Martín A. B.
- First report of *Bursaphelenchus xylophilus* causing pine wilt disease on *Pinus radiata* in Spain. *Plant Disease*. 2015; 99 (10): 1449-1449. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0252-PDN>

The article was submitted 20.06.2025; approved after reviewing 01.08.2025; accepted for publication 10.11.2025

About the authors:

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

Arbuzova Elena N., Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Head of the 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.

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

Contribution of the authors:

Chalkin Andrey A. – research setting, manuscript preparation, article design.

Arbuzova Elena N. – literature analysis, organization of research design, analysis of research results.

Kozyreva Natalia I. – material research, manuscript preparation.

Kulinich Oleg A. – literature analysis, material research, manuscript preparation.

All authors have read and approved the final manuscript.