

V КОНФЕРЕНЦИЯ  
НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ  
УСТОЙЧИВОГО  
УПРАВЛЕНИЯ ЛЕСАМИ



VIII КОНФЕРЕНЦИЯ  
АЭРОКОСМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ  
И ГЕОИНФОРМАЦИОННЫЕ  
ТЕХНОЛОГИИ  
В ЛЕСОВЕДЕНИИ, ЛЕСНОМ  
ХОЗЯЙСТВЕ И ЭКОЛОГИИ

**ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ УСТОЙЧИВОГО  
УПРАВЛЕНИЯ ЛЕСАМИ, ПОСВЯЩЕННАЯ 30-ЛЕТИЮ ЦЭПЛ РАН  
Россия, Москва, 25-29 апреля 2022**

# **РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБИОМОВ И ТРАНСМИССИВНАЯ РОЛЬ ИЛЬМОВЫХ ЗАБОЛОННИКОВ В ЭКОСИСТЕМАХ ТЕЛЛЕРМАНОВСКОГО ЛЕСА**

**Колганихина Г.Б.<sup>1</sup>, Пантелеев С.В.<sup>2</sup>, Петров А.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Институт лесоведения РАН, с. Успенское, Московская область, Россия

<sup>2</sup> Институт леса НАНБ, Гомель, Белоруссия



Научный проект № 20-54-00045 при финансовой поддержке РФФИ и БРФФИ  
**«Биоразнообразие и молекулярно-фитопатологическая идентификация микробиомов переносчиков хозяйственно-значимых трансмиссивных заболеваний лесообразующих лиственных пород»**



Институт лесоведения РАН  
ФИЦ Биотехнологии РАН  
Мытищинский филиал МГТУ им. Н.Э. Баумана  
ФБУ ВНИИЛМ



Институт леса НАН Беларуси,  
лаборатория геномных исследований и  
биоинформатики

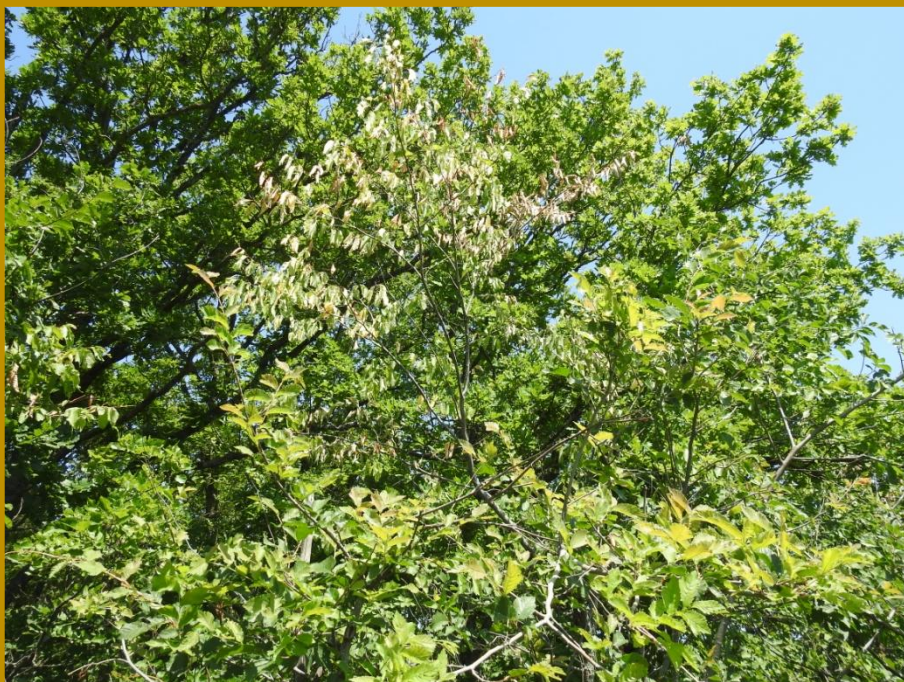
# Расширение ареала усыхания вязов на территории европейской части России



- В России массовое усыхание ильмовых пород начали изучать в середине 1930-х годов. В это время голландская болезнь вяза уже отмечалась в Польше и Румынии, граничащих с СССР, где это вредоносное заболевание еще не было известно.
- 1935 г. – Первая находка увядания вяза на территории бывшего СССР Э. Гешеле под Одессой [Гешеле, 1940].
- 1936 г. – Обследование специалистами по карантину растений ряда объектов в западных областях бывшего Советского Союза (ныне Украина и частично Беларусь), граничащих с зараженными странами (Польша и Румыния); обнаружение возбудителя ДЭД - *Ophiostoma ulmi* (Buisman) Nannf. [Дудина, 1938 г.].
- 1936-1938 гг. – Выявлено, что инфекционное увядание вязов уже довольно широко распространено в ряде южных и некоторых прилегающих к ним центральных районов России, в том числе в Краснодарском и Ставропольском краях, Ростовской области, Нижнем Поволжье и Воронежской области [Дудина, 1938].
- к началу 1960-х гг. – В начале 1950-х гг. это негативное явление охватило все Поволжье и многие центральные районы Европейской России. Чуть позднее (примерно в 1960 г.) началось массовое отмирание вязов в Подмоскowie и Москве [Кузьмичев, 1987, 1994; и др.].
- с конца 1990-х гг. – В более поздний период ареал отмирания вяза все больше расширяется в северном направлении. Случаи отмирания вяза в Тверской области (в середине 1980-х, затем в 2013 г.), Ленинградской области и Санкт-Петербурге (в конце 1990-х гг.), Ярославской (в начале 2000-х гг.), Владимирской (после 2012 г.), Ивановской (в середине -2010-е) и Новгородской (данные о ГБВ не подтверждены) областях [Власов, 2005; Калько, 2008; Дорофеева, 2008; Петров и др., 2015; Мандельштам, 2020; и др.].

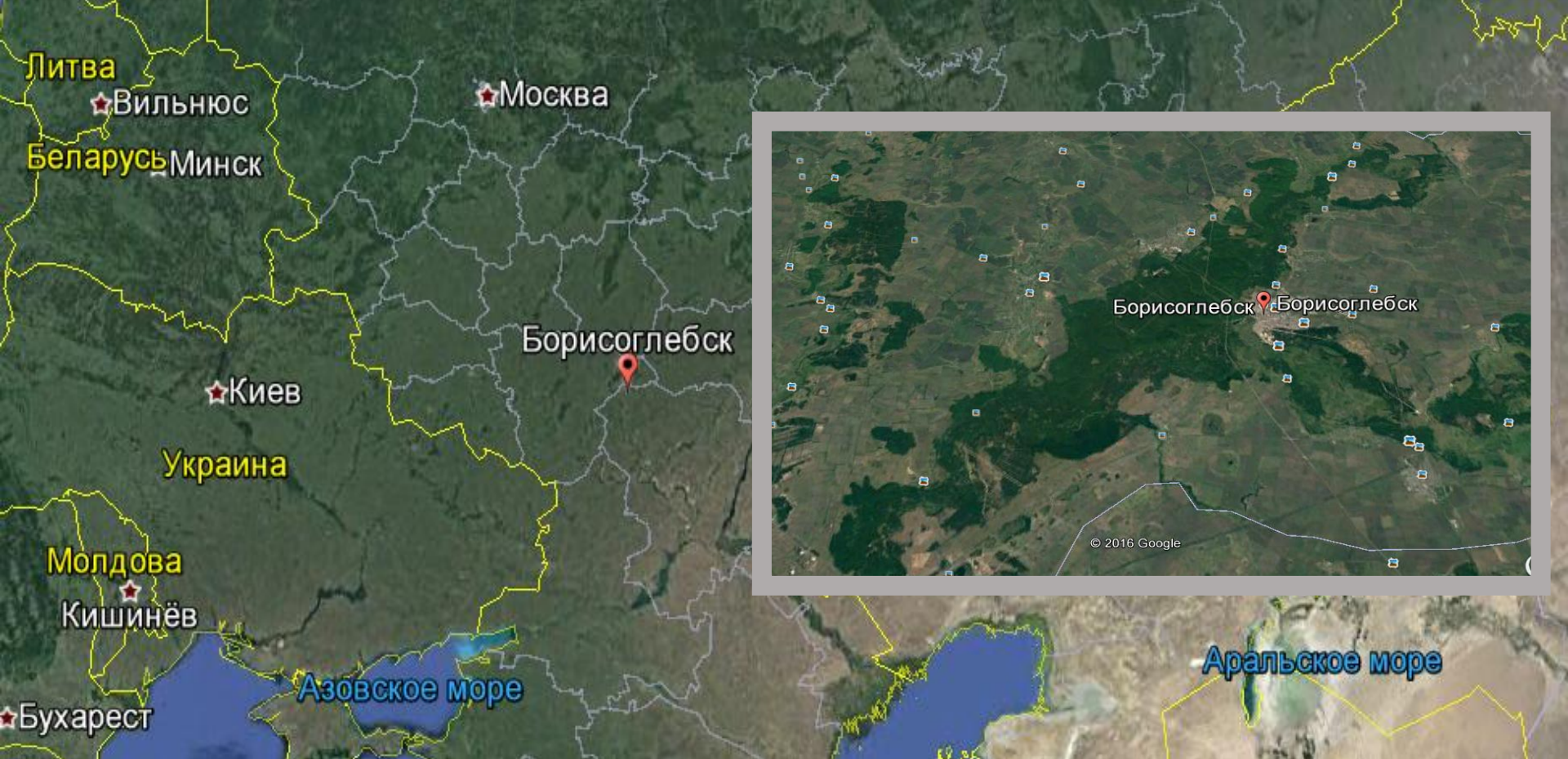
## Актуальность

- отсутствие полной ясности касательно этиологии данного негативного явления и механизмов передачи инфекции;
- неизученность состава комплекса офиостомовых грибов в большинстве российских регионов;
- неизученность патогенных бактерий, ассоциируемых с вилтом вязов;
- необходимость изучения сохранности вязов в насаждениях разных экологических категорий и связанных с этой породой редких видов грибов и других консортов;
- вопрос о перспективности использования этой породы в озеленении населенных пунктов;
- вопрос о целесообразности продолжения поиска эффективных мер защиты ильмовых от голландской болезни



## Основные аспекты изучения проблемы массового усыхания вязов

- оценка современного состояния вязов в разных регионах;
- выявление патогенных грибов, ассоциируемых с увяданием вязов;
- выявление патогенных бактерий, ассоциируемых с увяданием вязов;
- трансмиссивность патогенов насекомыми-фитофагами (преимущественно короедами (Scolytinae) из группы флео-ксилофагов);
- выявление наиболее значимых видов короедов, способствующих расширению существующих и образованию новых очагов вилта



Теллермановский лес – островной лесной массив, расположенный на границе степи и лесостепи в северо-восточной части Воронежской области, всегда представлял большой интерес для изучения различных аспектов функционирования широколиственных лесов и практики лесоразведения в засушливых районах.

Теллермановское опытное лесничество Института лесоведения РАН создано в 1944 г. по инициативе В.Н. Сукачева с целью ведения стационарных лесоводственно-экологических исследований.



*Ulmus laevis* Pall.



*Ulmus glabra* Huds.



*Ulmus minor* (Mill.)

# Фитопатологические проблемы вязов и их изучение

- Вакин А.Т. [1954]
- Примаковская М.А. [1958]
- Линдеман Г.В. [ 1975]
- Селочник Н.Н. [2015]

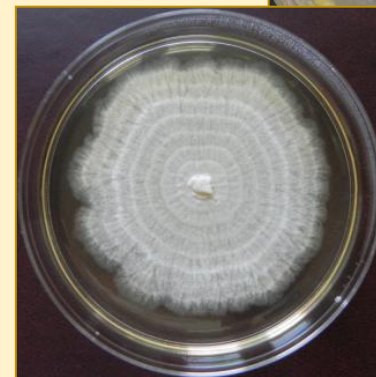
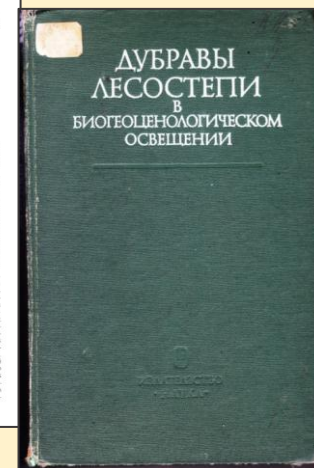
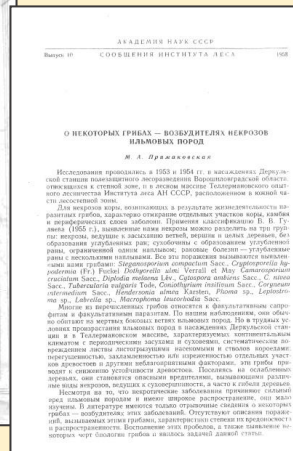
По совокупным данным на вязах насчитывается более 40 видов патогенных и сапротрофных грибов

Наиболее значимые патогены – виды *Ophiostoma*

В Теллермановском лесном массиве массовое усыхание вязов, связываемое в разные периоды времени с распространением голландской болезни (возбудитель *Ophiostoma ulmi* (Buisman) Nannf.), длится на протяжении многих десятилетий

Изучение возбудителей вилта вязов в насаждениях ТОЛ в современный период показало, что усыхание деревьев происходит вследствие широкого распространения более агрессивного возбудителя сосудистого микоза - *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier [Колганихина, 2020]

Из древесины увядающих ветвей получены изоляты бактерий из родов *Xanthomonas*, *Brenneria* и *Pantoea*, давшие положительные результаты тестов на патогенность в лабораторных условиях



В лесных экосистемах ТОЛ на ильмовых породах нами отмечены 12 видов Scolytinae. Трофическая группа флео-ксилофагов, которые могут являться потенциальными переносчиками вилта, представлена 8 видами

**Триба Hylesinini:**

*Pteleobius vittatus* (Fabricius, 1892 )



*Pteleobius vittatus*



*Sscolytus pygmaeus*



*Scolytus multistriatus*



*Scolytus scolytus*



*Scolytus ensifer*



*Scolytus kirschii*



*Scolytus laevis*



*Scolytus sulcifrons*

**Триба Scolytini:**

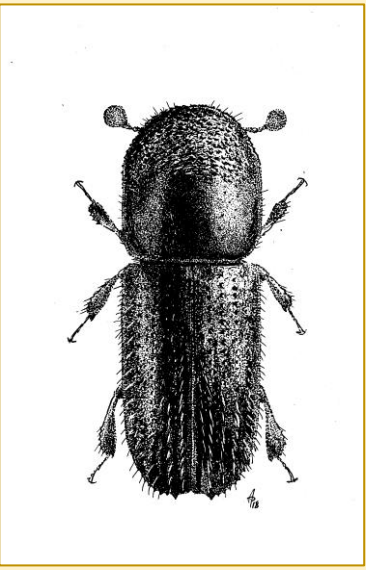
- Scolytus ensifer* Eichhoff, 1860
- S. kirschii kirschii* Skalitzky, 1876
- S. laevis* Chapuis, 1869
- S. multistriatus* Marsham, 1802
- S. pygmaeus* Fabricius, 1787
- S. scolytus* Fabricius, 1775
- S. sulcifrons* Rey, 1892



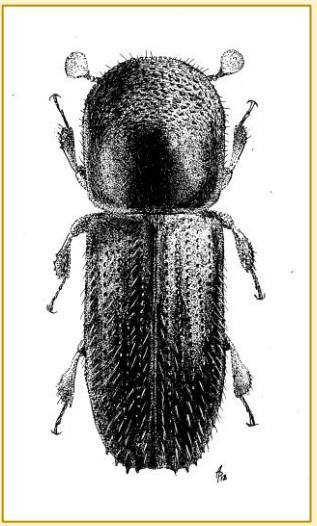
Ксило-мицетофаги на ильмовых породах в ТОЛ представлены 4 видами.  
Эти виды короедов заселяют усыхающие, необратимо ослабленные деревья и не могут  
являться переносчиками возбудителей вилта

**Триба Xyleborini:**

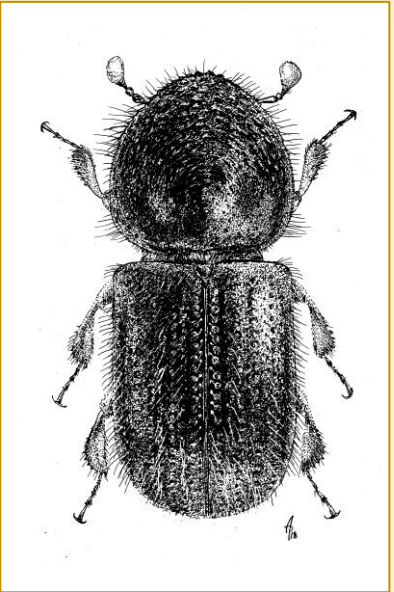
- Anisandrus dispar Fabricius, 1792
- Xyleborinus attenuatus Blandforf, 1894
- X. saxesonii Ratzeburg, 1837



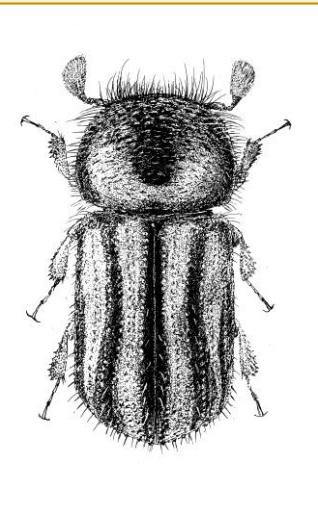
Xyleborinus saxesonii



Xyleborinus attenuatus



Anisandrus dispar



**Триба Xyloterini**

Trypodendron signatum (Fabricius, 1792)



*Adalia bipunctata* Linnaeus



*Tillus elongatus* Linnaeus

- В недавнее время в зарубежной литературе появились указания на короедов из трофической группы ксило-мицетофагов (*Anisandrus dispar* и *Xyleboronus saxeseni*), переносящих *O. novo-ulmi* в Эстонии [Jürisoo et al., 2021]. Однако многолетние энтомологические наблюдения А.В. Петрова показывают, что эти виды Scolytinae поселяются в древесине умирающих вязов и никогда не нападают на живые и обратимо ослабленные деревья.
- Покидая маточные галереи, молодые самки этих видов могут нести на экзоскелете прилипшие споры *O. novo-ulmi*, но эти споры могут попадать с поверхности жуков только в ткани уже усыхающих деревьев.
- Кроме этого, необходимо отметить, что *A. dispar* и *X. saxeseni* являются полифагами и вероятность заселения ими деревьев *Ulmus* spp. очень низкая.
- В этой связи любопытно заметить, что споры *O. novo-ulmi* могут разноситься не только короедами, развитие которых тесно связано с ильмовыми породами, но также и «случайными» насекомыми, например, такими как энтомофаги *Tillus elongatus* Linnaeus и *Adalia bipunctata* Linnaeus [Иващенко и др., 2021]. Однако, принимая во внимание образ жизни этих видов, их участие в заражении растений маловероятно.

- Цель данного исследования состояла в выявлении в микробиомах короедов из группы флео-ксилофагов возбудителей вилта и других патогенных микроорганизмов и определении роли изучаемых видов насекомых в переносе инфекции.
- Экспериментальный материал для исследования представлял собой образцы имаго 5 видов короедов, собранных вручную с 9 деревьев разных видов *Ulmus*, преимущественно с вяза гладкого.
- Метагеномный анализ микробиомов жуков проводился на основании диагностики размеров локуса ITS1 (внутреннего транскрибируемого спейсерарибосомального оперона) микромицетов и T-RFLP-анализа (с использованием Met праймеров и рестриктазы AluI) в случае бактерий.
- Видовая идентификация доминирующих видов микроорганизмов была основана на сравнительном анализе данных секвенирования рДНК с депозитами, представленными в международной базе данных NCBI GeneBank [Баранов и др., 2021; Иващенко и др., 2021; Saikaly et al., 2005].
- Изучение электрофоретических спектров 21 образца жуков позволило выявить в отдельных экземплярах от 2 до не менее 15 грибных видов и от 3 до 14 видов бактерий. На текущий момент идентифицировано 10 видов микроорганизмов, из них в состав микробиомов жуков *S. multistriatus* входит 9 видов, *S. ensifer* – 8, *S. pigmeus* – 7, *P. viltatus* – 6, *S. kirshii* – 5.

# Видовой состав микроорганизмов, выявленных в образцах имаго короедов разных видов

Виды короедов	Проанализировано образцов жуков, шт.	Идентифицированные виды микроорганизмов*									
		грибы					бактерии				
		<i>Glomastix tumulicola</i>	<i>Ophiostoma novo-ulmi</i>	<i>Geosmithia omnicola</i>	<i>Wickerhamomyces</i> sp.	<i>Candida</i> sp.	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Sodalis pierantonius</i>	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Spiroplasma</i> sp.	<i>Wolbachia pipientis</i>
<i>Scolytus multistriatus</i>	6	6	6	1	3	2	0	6	6	1	6
<i>Scolytus ensifer</i>	7	7	4	1	0	4	4	7	6	0	7
<i>Scolytus kirshii</i>	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1
<i>Scolytus pigmeus</i>	2	2	2	0	0	2	1	2	2	0	2
<i>Pteleobius viltatus</i>	5	4	3	5	0	0	0	5	5	0	5
Всего проанализировано образцов жуков, шт.	21	20	15	7	3	8	5	21	20	1	21
Встречаемость видов микроорганизмов во всех образцах жуков в целом, %		95.2	76.0	33.3	14.3	38.1	23.8	100	95.2	4.8	100

\*Примечание: указано количество образцов жуков, в которых обнаружен данный вид гриба или бактерии

В микобиомах всех видов короедов присутствует возбудитель голландской болезни вязов *O. novo-ulmi*, встречаемость патогена в исследованных образцах составила 76,0 %.

Гриб присутствует во внутренней и поверхностной микобиоте у всех жуков *S. multistriatus*, также у части жуков *S. ensifer* и *P. viltatus*.

В образцах *S. kirshii* и *S. pigmeus* патоген выявлен только в смывах с поверхности жуков.

В большинстве образцов *O. novo-ulmi* находится в числе сопутствующих видов.

## Грибы, выявленные в образцах имаго короедов



*Gliomastix tumulicola*



*Geosmithia omnicola*

- Из других грибов в микобиомах жуков часто встречается ***Gliomastix tumulicola*** (Kiyuna, K.D. An, R. Kigawa & Sugiy.) Summerb. По нашим наблюдениям, этот гриб нередко развивается в маточных ходах короедов, образуя черный налет.
- Во всех образцах *P. viltatus* и единичных образцах *S. multistriatus* и *S. ensifer* выявлен ассоциируемый с короедами и *Ulmus* spp. гриб ***Geosmithia omnicola*** Peperi, M. Kolařík, Bettini, Vettraino & Santini. Данный гриб обитает в галереях и вокруг (в заболони и лубе) [Peperi et al., 2015].
- В микобиомах исследованных жуков также выявлены дрожжеподобные грибы ***Candida*** sp. и ***Wickerhamomyces*** sp.

## Бактерии, выявленные в образцах имаго короедов

- Патогенных видов бактерий, ассоциируемых с вилтом вязов, при использовании данного способа идентификации выявлено не было.
- В составе микробиомов исследованных образцов жуков зафиксированы эндосимбиотические бактерии *Wolbachia pipientis*, *Sodalis pierantonius*, *Spiroplasma* sp., известные как эндосимбионты насекомых.
- Касательно патогенных свойств бактерии *Sphingomonas paucimobilis* в отношении растений и ее роли в жизнедеятельности насекомых ясности нет.
- Молочнокислая бактерия *Lactococcus lactis*, широко распространенная в природе на разных субстратах, зарегистрирована только в образцах *S. ensifer* и *S. pigmeus*.

- Полученные результаты подтверждают возможность переноса голландской болезни вязов всеми указанными выше видами Scolytinae, однако их роль в насаждениях неодинакова.
- Наиболее вредоносными являются жуки *S. multistriatus*, которые заносят инфекцию в ткани здоровых деревьев во время дополнительного питания.
- Факт заноса *Ophiostoma novo-ulmi* был подтвержден нами в ходе экспериментальных исследований по изучению трансмиссивности патогенов ильмовыми заболонниками.

# АГРЕССИВНОСТЬ КОРОЕДОВ И РОЛЬ В РАСПРОСТРАНЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОФИОСТОМОЗА ИЛЬМОВЫХ ПОРОД В УСЛОВИЯХ ТЕЛЛЕРМАНОВСКОГО ОПЫТНОГО ЛЕСНИЧЕСТВА

НАЗВАНИЕ ВИДА SCOLYTINAE	КАТЕГОРИЯ СОСТОЯНИЯ ЗАСЕЛЯЕМЫХ ДЕРЕВЬЕВ	ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ПИТАНИЕ НА ЖИВЫХ РАСТЕНИЯХ	АГРЕССИВНОСТЬ ФЛЕО-КСИЛОФАГА В УСЛОВИЯХ ТЕЛЛЕРМАНОВСКОГО ОПЫТНОГО ЛЕСНИЧЕСТВА	ОБНАРУЖЕНИЕ ПАТОГЕНА ORNIOSTOMA NOVO-ULMI В МИКОБИОМАХ ЖУКОВ
<i>Scolytus ensifer</i>	КС 4	нет	неагрессивный вид, повторное заражение ослабленных деревьев при заселении	обнаружен
<i>Scolytus kirschii</i>	КС 4	нет	неагрессивный вид, повторное заражение ослабленных деревьев при заселении	обнаружен
<i>Scolytus laevis</i>	КС 4	нет	неагрессивный вид, повторное заражение ослабленных деревьев при заселении	нет данных
<i>Scolytus multistriatus</i>	КС 3,4	да	неагрессивный вид Заражение деревьев во время дополнительного питания	обнаружен
<i>Scolytus pygmaeus</i>	КС 3,4	нет	неагрессивный вид, повторное заражение ослабленных деревьев при заселении	обнаружен
<i>Scolytus scolytus</i>	КС 4	нет	неагрессивный вид, повторное заражение ослабленных деревьев при заселении	обнаружен
<i>Scolytus sulcifrons</i>	КС 3,4	нет	условно агрессивный вид, повторное заражение ослабленных деревьев при заселении	нет данных
<i>Pteleobius vittatus</i>	КС 4	нет	неагрессивный вид, повторное заражение ослабленных деревьев при заселении	обнаружен

# ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ЗАРАЖЕНИЯ ИЛЬМОВЫХ ПОРОД ОФИОСТОМОЗОМ ПРИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОМ ПИТАНИИ ЗАБОЛОННИКОВ

1. Источником инфицирования побегов при дополнительном питании молодых жуков являлись фрагменты *Ulmus laevis*, заселенные жуками струйчатого заболонника в предшествующие годы. Плотность поселения заболонника на фрагменте в среднем составляла 3.0 м.х./дм<sup>2</sup>



25 мая в ходах мы находили перезимовавших личинок старшего возраста и куколок *Scolytus multistriatus*



2. Фрагменты побегов вяза с личинками и куколками заболонника привязывали к здоровым побегам и изолировали тканевыми мешками

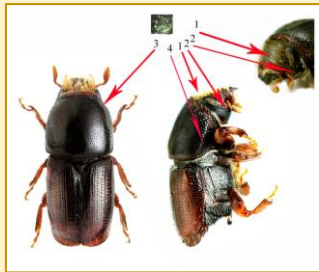


# ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ПИТАНИЕ МОЛОДЫХ ЖУКОВ-КОРОЕДОВ, КАК ВЕКТОР РАСПРОСТРАНЕНИЯ ОФИОСТОМОЗА ИЛЬМОВЫХ ПОРОД

3. В июне 2021 г. мы произвели вскрытие мешков и обнаружили дополнительное питание струйчатого заболонника на 4 ветвях из десяти привязанных мешков

Споры *Ophiostoma novo-ulmi* проникали в ткани тонких ветвей вязов при дополнительном питании молодых жуков *Scolytus multistriatus*

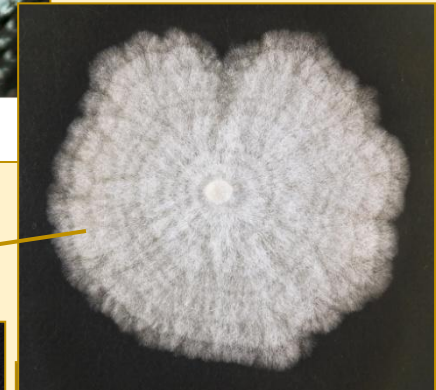
4. Факт заражения поврежденных жуками ветвей подтвержден при проведении микологического анализа древесины и молекулярно-генетической идентификации полученных изолятов патогена



Дополнительное питание струйчатого заболонника на ветвях *Ulmus laevis*



Культура *Ophiostoma novo-ulmi*





Авторы признательны К.Е. Колганихину за участие в сборе насекомых и техническую помощь в подготовке энтомологического эксперимента

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и БРФФИ в рамках научного проекта № 20-54-00045

**Спасибо за внимание!**