

ОТЗЫВ

на диссертационную работу Кристины Сергеевны Поляниной «Ксилобионтные нематоды лиственных древесных растений: фауна, жизненные циклы и паразито-хозяйинные отношения» представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.17. Паразитология (биологические науки) в диссертационный совет 24.1.026.01 при Зоологическом институте РАН

Диссертационная работа Кристины Сергеевны Поляниной посвящена нематодам, ассоциированным с растениями, а точнее, с лиственными деревьями. Интерес к изучению ксилобионтных нематод имел несколько стимулирующих причин. Одной из них был общий рост интереса к таксономии нематод, и в том числе формирование в Эрлангене (ФРГ), еще до второй мировой войны, нематологической школы, в рамках которой были развернуты исследования по отдельным экологическим группам нематод, ассоциированных с разными организмами, в том числе с жуками-короедами. Другая причина активизации исследований по ксилобионтным нематодам в 60-е и 70-е годы прошлого века была связана с ростом международной торговли, и в том числе торговли лесом и продуктами деревообработки. Именно торговля древесиной привела к заносу в новые регионы мира совершенно новых для этих территорий патогенов лесных насаждений, в том числе и нематод рода *Bursaphelenchus*. Последствия заноса североамериканских видов в Восточную Азию привели к драматическим последствиям – значительной утере деревьев в лесах. Озабоченность возможностью заноса таких «инвазивных» видов и стимулировала широкое распространение исследований по этим и родственным нематодам в Западной Европе и других развитых странах, что, впрочем, не могло воспрепятствовать проникновению этих вредных организмов на европейский континент.

Совершенно очевидно, что успешное предотвращение распространения любых патогенов требует детального понимания биологии этих видов, а также способности точно определить любую стадию патогена. Большая часть появившихся к настоящему времени публикаций была посвящена одному виду – *Bursaphelenchus xylophilus*, это тот патоген, что привел к потерям лесного хозяйства в Восточной Азии. Поражение дерева этими нематодами и ассоциированным с ними грибом приводит к т.н. вилту сосны, заканчивающемуся гибелью дерева. Этот патоген внесен в карантинные списки по всему миру и к настоящему времени отработаны методы выявления и точной идентификации этих нематод.

Если эта нематода хвойных исследована достаточно подробно, то информация по стволовым нематодам лиственных деревьев во всем мире и в России отличается очевидной фрагментарностью. По данному направлению остро ощущается недостаток информации. Требуется, как говорится, «все и сразу»: нужно понять уровень разнообразия, составить фаунистические списки, исследовать жизненные циклы и уровень вредоносности этих нематод.

В представленной диссертации сделан значительный шаг вперед в изучении нематод трех видов лиственных деревьев: вяза, ясеня и дуба.

Проведенное исследование характеризуется широким охватом биологических феноменов, связанных с этими организмами. В диссертации исследованы не только сами фитопатогенные нематоды, но и ксилобионтные жуки, которые во многих случаях являются переносчиками и нематод, и компонентов микробиома, ответственных за повреждение деревьев.

Представленную диссертацию отличает четкое определение основных задач исследования. Они соответствуют уже упомянутым направлениям: изучение фауны ксилобионтных нематод лиственных пород, расшифровка взаимоотношений нематод с насекомыми, решение вопросов таксономии ксилобионтных нематод, и в том числе разработка видовой диагностики. Разработку таксономии этих нематод диссертант с самого начала планировала провести с опорой на молекулярно-таксономические признаки – т.е. на анализ нуклеотидных последовательностей. В дополнение к классической морфологии и анализу последовательностей ДНК были предприняты значительные усилия по расшифровке жизненных циклов этих нематод. В рамках этой задачи ею были исследованы отдельные стадии личиночного развития, а также динамика численности ксилобионтных нематод. Отдельным направлением исследований, имеющим несомненное прикладное значение становится оценка степени специфичности фитопатогенных нематод к их хозяевам (видам древесных растений).

Структура представленной работы достаточно традиционна. Диссертация состоит из Введения и трех глав (Литературный обзор, Материалы и методы, а также основной главы - Результаты и обсуждение). Исчерпывающий анализ имеющейся литературы потребовал досконального изучения более чем полутора сотен публикаций. Всего изложение проведенных исследований дано на 183 страницах. Работа имеет богатый пояснительный и иллюстративный материал: 67 рисунков и 29 таблиц, а 4 таблицы и 22 иллюстрации выведены в Приложения.

Приступая к анализу отдельных глав диссертации, хотелось бы сразу отметить хорошую литературную подготовку первой главы (Литературный обзор). В главе выделены отдельные полглавы, в которых дается исчерпывающая информация по нематодам как хвойных, так и лиственных пород деревьев. Подробно анализируются все аспекты ассоциации нематод с насекомыми, в том числе с жуками-усачами и короедами. Дан полный анализ отношений этого комплекса «нематоды—насекомые» с грибами и бактериями, что особенно важно, поскольку именно эти компоненты приводят к гибели деревьев. Особую ценность данной главе придает намерение автора представить сводку по мировой фауне нематод хвойных и лиственных деревьев России и сопредельных стран. Информация по этой группе нематод постоянно пополняется и расширяется, и обновление подобных сводок совершенно необходимо. Ценным дополнением к такому обобщению данных представляются и усилия диссертанта по

систематизации образующегося массива данных. Так, предложена классификация из типов ассоциаций ксилобионтных нематод и жуков. Предложенной классификацией охвачено 55 видов нематод из 15 родов.

Очень удачно и доходчиво составлена глава вторая – «Материал и методы». Подробно описано происхождение исследованного материала, с четким указанием сборщиков этих проб, или организаций, таковые предоставивших. Сбор материала охватил два государства – Россию и Республику Беларусь. Автор работы поясняет, по каким признакам определяли пораженные деревья, (по симптомам вилта, суховершинности или усыхания и др.). Общее число первичных проб приближается к четырем сотням. Важным вкладом в развитие науки стали подготовленные диссертантом коллекционные препараты, депонированные в коллекциях ЗИН РАН (общее число – 561), а также живые культуры нематод. Подробно описаны все подходы и приемы, что были использованы для микроскопического и молекулярно-филогенетического изучения материала. Оригинальными по замыслу и методикам проведения стали эксперименты по популяционной динамике изучаемых нематод. Столь же оригинальны и методики т.н. «фитотестов» для определения специфичности нематод к растениям-хозяевам.

Деление основной главы рецензируемой работы (Результаты и обсуждение) в значительной степени повторяет задачи, выделенные диссертантом в начале работы. Первый раздел (3.1) посвящен фауне и жизненным циклам ксилобионтных нематод ильмовых деревьев рода *Ulmus* (вязов). Приводится таксономический список выявленных ксилобионтных нематод, атлас их распространения, текстовые диагностические ключи. На этих растениях-хозяевах был выявлен и описан новый патогенный вид *Bursaphelenchus ulmophilus*. В ходе работы был выявлен и еще один вид нематод, ассоциированный с тем же растением-хозяином и насекомым-переносчиком, а именно, питающаяся бактериями нематода-комменсал *Rhabditolaimus ulmi*. Для нематод этих двух видов было изучено эмбриональное и постэмбриональное развитие, описаны дауер-личинки, исследована морфология с применением интерференционной, конфокальной микроскопии и СЭМ. На основе анализа 18S, ITS и D2- D3 28S рДНК изучена филогения *B. ulmophilus*. Таким образом, в результате проведенных диссертантом исследований и на основе различных достоверных методов было показано, что т.н. «голландская болезнь», представляет собой результат воздействия целой ассоциации патогенов, и в том числе грибов рода *Ophiostoma*, жуков-короедов рода *Scolytus*, фитопатогенных нематод рода *Bursaphelenchus* и питающихся бактериями сапробиотических нематод рода *Rhabditolaimus*.

Следующий раздел данной главы посвящен фауне и жизненным циклам ксилобионтных нематод ясеня (*Fraxinus excelsior*), у которого также часто наблюдаются симптомы суховершинности. Впервые в России обнаружен вид фитопатогенных нематод *Bursaphelenchus crenati*. Изучены морфология и жизненный цикл этого вида, описана дауер-личинка. Дано

переописание этого вида, разработан новый дифференциальный диагноз для идентификации филогенетически близких видов рода *Bursaphelenchus*. Показана высокая специфичность *B. crenati* к ясеню, как растению-хозяину. Эта нематода также выступает в составе патогенного комплекса, вместе с грибом *Chalara fraxinea* и жуком-златкой *Agrilus planipennis*, который и вызывает суховершинность ясеня в России и Беларуси. Следующий раздел (3.3) посвящен фауне и жизненным циклам ксилобионтных нематод дуба (*Quercus robur*). На этих деревьях была обнаружена неожиданно богатая фауна нематод рода *Bursaphelenchus*: *B. fraudulentus*, *B. willibaldi*, *B. laciniatae*, *B. eremus*. Эти и другие виды ксилобионтных нематод дуба представлены в виде отдельной таблицы, сопровождаются атласом распространения и диагностическими ключами. На примере *B. fraudulentus* исследованы все стадии онтогенеза этих нематод дуба, основные параметры жизненного цикла, а также популяционная динамика *in vitro*. Существенный вклад сделан и в общее изучение филогении рода *Bursaphelenchus*. Подтверждено разделение рода на такие группы как 'Xylophilus', 'Eggersi' и 'Fungivorus'. Виды этих групп являются патогенами дуба и обнаружены в России и Беларуси впервые.

Дальнейшие разделы этой главы посвящены отдельным аспектам изучения ксилобионтных нематод. Так, раздел 3.4 повествует о биологии развития и популяционных моделях нематод разной трофической специализации. В работе выделены 4 модельных вида стволовых нематод отряда Rhabditida, связанных с жуками-переносчиками: два бактериотрофа и два фитомикотрофа. Для этих четырех видов экспериментально определены основные параметры онтогенеза: плодовитость, сроки яйцекладки, выхода личинок из яйца, линек, время одной генерации, продолжительность жизни и фертильный период самок. На этих четырех модельных видах, входящих в патогенные ассоциации «нематода-насекомое-грибы-бактерии», и являющихся одним из факторов, приводящих к гибели древесных растений, описаны основные параметры онтогенеза и дан количественный анализ их размножения *in vitro*.

Раздел 3.5 «Отношения паразит-хозяин» описывает оригинально модифицированные диссертантом фитотесты, позволившие выявить у нематод рода *Bursaphelenchus* специфичность к растениям-хозяевам. Разработанная методика этих фитотестов опробована на трех видах нематод рода *Bursaphelenchus*: *B. mucronatus*, *B. crenati* и *B. ulmophilus*. Было показано, что сосновая нематода *B. mucronatus* хорошо размножается лишь на сосне *P. sylvestris*. А вот нематоды *B. ulmophilus* и *B. crenati* кроме вязов, могут использовать в качестве растения-хозяина еще и сосну и тополь.

Работа завершается общим Заключением. В этом лаконичном тексте даны основные теоретические и практические достижения в данной работе. Было бы правильно их повторить. Это выделение экологических групп стволовых нематод, когда становится возможным определить виды нематод, являющихся потенциальными агентами трансмиссивных эпифитотий.

В работе показано также, что у разных филетических групп видов рода *Bursaphelenchus* в жизненном цикле для переноса насекомыми используются разные стадии личиночного развития. С использованием методов световой, лазерной (конфокальной) микроскопии и СЭМ существенно дополнен круг таксономических признаков пригодных для использования в систематике группы. Экспериментальными методами исследована динамика популяций ксилобионтных нематод, определены временные рамки развития основных фаз жизненного цикла, как-то время одной генерации, наступление линек; плодовитость самок и т.д. На основе этих данных построены экспоненциальные математические модели роста популяции.

Отдельно в работе даны выводы, полностью вытекающие из проделанной работы и положений, изложенных в тексте диссертации.

Следует согласиться с оценкой, которую сам диссертант дает своей работе в части теоретического и практического значения. Действительно, вся большая тема изучения стволовых нематод лиственных деревьев в России была совершенно недостаточно разработана. В результате проведенных ею исследований исследованы жизненные циклы стволовых нематод, описано значительное разнообразие стадий этих нематод, обеспечивающих их передачу насекомыми, исследована специфичность этих нематод к растениям-хозяевам, и к насекомым-переносчикам. Практическое значение работы заключается в выполненных атласах распространения видов ксилобионтных нематод лиственных древесных растений, разработке методов диагностики различных их жизненного цикла, разработке оригинальных «фитотестов» для выявления специфичности нематод к природному растению-хозяину. Работа содержит практические рекомендации по локализации очагов болезней древесных насаждений.

Следует отметить тщательность диссертанта и ее научного руководителя в публикации полученных результатов. С уверенностью можно сказать, что все основные положения и достижения работы нашли свое отражение в публикациях в международных журналах *Nematology*, *Journal of Nematology* и *Forest Pathology*, а также в российских журналах. Основные положения в достаточной мере были представлены на симпозиумах и конференциях.

Как всякая большая работа, основывающаяся на применении новых методов, представленная диссертация содержит некоторые стилистические и технические особенности. Но, имея в виду общую несомненную успешность проведенных исследований, вряд ли стоит обращать внимание на пропущенную букву в слове «супензии» и другие опечатки. Более существенным недостатком текста диссертации мне представляется отсутствие четко сформулированных предложений практического характера, как по вопросам диагностики поражений деревьев, так и в плане методов ограничения этой инвазии. Хотя в настоящем виде работа представляет собой полноценное фундаментальное исследование, прикладная составляющая в виде четко оформленных «Предложений» повысила бы ценность работы.

Таким образом, диссертация Кристины Сергеевны Поляниной представляет собой целостное и важное по своей научной значимости исследование, в которой получен значительный массив совершенно новых данных по проблеме патогенных и комменсальных ксилобионтных нематод. Исследование проведено в связи с распространенностью на территории России и Белоруссии заболеваний древесных лиственных культур, вызываемых комплексами патогенов, включающих этих нематод. В результате исследования получены практически значимые результаты, и в том числе атласы распространения этих вредоносных организмов и определительные ключи.

Содержание автореферата диссертации соответствует содержанию полного текста работы. Проведенное исследование апробировано в выступлениях на различных международных и российских научных встречах, и отражено в многочисленных публикациях в ведущих журналах по нематологии и лесной фитопатологии. Представленная диссертация Кристины Сергеевны Поляниной «Ксилобионтные нематоды лиственных древесных растений: фауна, жизненные циклы и паразито-хозяйинные отношения» отвечает всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям по специальности 1.5.17. «Паразитология» (биологические науки), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Заведующий лабораторией систематики
и эволюции паразитов Центра паразитологии
Института проблем экологии и эволюции
им. А.Н. Северцова РАН, доктор биол. наук

С.Э. Спиридонов

