

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Зоологический институт Российской академии наук

Научный доклад об основных результатах подготовленной научно-
квалификационной работы (диссертации)

**КСИЛОБИОНТНЫЕ НЕМАТОДЫ ЛИСТВЕННЫХ ДРЕВЕСНЫХ
РАСТЕНИЙ: ФАУНА, ЖИЗНЕННЫЕ ЦИКЛЫ И ПАРАЗИТО-
ХОЗЯИННЫЕ ОТНОШЕНИЯ**

Полянина Кристина Сергеевна

06.06.01 – Биологические науки

03.02.11 – Паразитология

Научный руководитель:

г.н.с., д.б.н. Рысс Александр Юрьевич

ЗИН РАН

Санкт-Петербург 2022

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Среди фитонематод встречаются паразиты растений, некоторые из них включены в списки опасных карантинных организмов и наносят большой вред сельскому и лесному хозяйству по всему миру, оцениваемый в сотни миллионов долларов (Губина 1980; Шестеперов 1995; Кулинич и др., 2003; Ruehle, 1962, 1972; Bergdahl, 1988, Ferraz, Brown, 2002; Kulinich *et al.*, 2013, 2021; Arbuzova *et al.*, 2016, 2020, 2021). В соответствии со Стратегиями научно-технологического развития (Указ Президента РФ 642 от 01.12.2016) одним из главных вызовов служат угрозы воспроизводству природных ресурсов, к которым относятся и лесные и парковые насаждения. Для ответа на вызовы необходимо развитие технологий управления экосистемными процессами, в том числе для снижения паразитарной нагрузки на виды важные для здоровья и хозяйственной деятельности человека древесных растений. Лиственные породы деревьев – важный элемент парковых и лесных насаждений, используемый также как материал для строительства и фармакологической промышленности. Биологическая защита и контроль насаждений подразумевает глубокое знание фауны фитогельминтов, их переносчиков и жизненных циклов.

Целью исследования являлось выявление нематофауны больных лиственных деревьев с особым вниманием к обнаруженным фитопатогенным видам нематод, ассоциированных с ксилобионтными жуками – переносчиками трансмиссивных болезней.

Задачи исследования:

1. Изучение фауны ксилобионтных нематод, видовая диагностика: описание и переописание видов
2. Выявление настоящих или оппортунистических патогенов
3. Изучение жизненных циклов ксилобионтных нематод, ассоциированных с жуками и выявление стадии трансмиссии жуком

4. Изучение популяционной динамики и онтогенеза видов нематод входящих в патогенные ассоциации
5. Анализ филогении и эволюции системы паразит-хозяин
6. Выявление независимой от переносчика специфичности у фитопатогенных нематод к растениям-хозяевам
7. Формулирование практических рекомендаций по локализации очагов болезней древесных насаждений

Научная новизна и теоретическая значимость работы.

1. Впервые выявлено, что в ассоциацию Голландской болезни вязов входят не только грибы рода *Ophiostoma* и жуки рода *Scolytus*, как это было известно ранее, но и нематоды рода *Bursaphelenchus*.
2. Впервые выявлена независимая от предпочтений переносчика специфичность нематод рода *Bursaphelenchus* к природному растению-хозяину.
3. Впервые обнаружено, что трансмиссивные личинки нематод рода *Bursaphelenchus* относящиеся к разным филогенетическим группам отличаются друг от друга стадией развития и это обусловлено специфичностью конкретной группы нематод к определенному роду переносчиков.
4. Впервые выявлены параметры индивидуального цикла развития и цикла популяции *in vitro* некоторых представителей фауны ксилобионтных нематод, разработаны формулы экспоненциального роста числа самок и общей популяции нематод.
5. Впервые прослежены все стадии эмбрионального и постэмбрионального развития модельных видов ксилобионтных нематод, ассоциированных с жуками, в том числе процесс кладки яйца половозрелой самкой.

Практическое значение работы.

1. Составлен атлас видов ксилобионтных нематод лиственных древесных растений с симптомами вилта и суховершинности и краткие диагностические ключи.
2. Составлены ключи для идентификации стадий индивидуального развития нематод.
3. Разработана методика постановки фитотестов в лабораторных условиях для выявления специфичности нематод к природному растению-хозяину.
4. Разработана методика постановки экспериментов по выявлению параметров индивидуального цикла развития нематод и цикла популяции *in vitro*.
5. Составлен обзор ассоциаций ксилобионтных нематод с жуками-короедами. Предложена классификация экологических групп нематод, по степени ассоциированности с жуками-короедами.
6. Предложены практические рекомендации по локализации очагов болезней древесных насаждений.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Фауну ксилобионтных нематод можно разделить на экогруппы по степени связи с хозяином и переносчиком. Энтомохорная группа с насекомым переносчиком характеризуется наибольшим разнообразием жизненных циклов и потенциалом распространения инфекций насаждений.
2. Стволовые нематоды – паразиты лиственных столь же важны, как гельминты хвойных. Однако, их патогенность оппортунистическая, что обусловлено динамичной ассоциацией трех патогенов: нематоды, гриба и жука-переносчика.
3. Патогенная ассоциация Голландской болезни вязов включает в себя не только грибы рода *Ophiostoma* и жуков рода *Scolytus*, как это было известно ранее, но и нематод рода *Bursaphelenchus*.

4. Нематоды рода *Bursaphelenchus* демонстрируют независимую от предпочтений переносчика специфичность к природному растению-хозяину.
5. Трансмиссивные личинки нематод рода *Bursaphelenchus* относящиеся к разным филогенетическим группам отличаются друг от друга стадией развития, это обусловлено специфичностью конкретной группы нематод к конкретному роду переносчиков.

Степень достоверности и апробация работы.

Материалы и основные результаты данного исследования были представлены в докладах: 1) на Международном нематологическом симпозиуме (Чебоксары – 2015, Нижний Новгород – 2017, Петрозаводск – 2019, Ярославль – 2021); 2) на Международной конференции Чтения памяти О. А. Катаева (Санкт-Петербург – 2014, 2016, 2018); 3) на VI и VIII Всероссийской конференции с международным участием «Школа по теоретической и морской паразитологии» (Севастополь – 2018, 2022); 4) на Международной научной конференции, посвященной 75-летию Центра паразитологии и 140-летию со дня рождения академика К.И. Скрябина (Москва – 2018); 5) на Отчетных сессиях в ЗИН РАН (2019, 2022); 6) на XIX Всероссийском совещании по почвенной зоологии (Улан-Удэ, 2022).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 научных статей в рецензируемых журналах списка ВАК и одна статья акцептирована в журнал списка ВАК для публикации в 2022 г.

Структура диссертации. Работа состоит из 9 глав, которые включают введение и обзор литературы, материалы и методы и 7 глав, содержащих результаты исследований, а также выводов, списка литературы и приложения.

Благодарности. Диссертант выражает огромную благодарность научному руководителю Александру Юрьевичу Рыссу за поддержку на всех этапах обучения, за ценные советы и конструктивную критику, за помощь в

разработке и постановке экспериментов, написании статей и подготовке диссертации.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда, проект №:14-14-00621 (2014-2016); и Российского фонда фундаментальных исследований: 17-04-00360 А (2019), 20-04-00569 А (2020-2022), 20-34-90101 «Аспиранты» (2020-2022); Гос. заданий РАН АААА-А17-117030310322-3 (2019-2021) и 122031100260-0. (2022-2024).

Глава 1. Введение и обзор литературы.

В этой главе представлена общая морфо-таксономическая характеристика ксилобионтных нематод, дано описание жизненных циклов нематод: стилетных фито-микопаразитов на примере видов рода *Bursaphelenchus* spp. и стволовых бактериотрофов *Rhabditolaimus ulmi* и *Panagrolaimus detritophagus*. Подробное морфологическое описание нематод дано в каждой главе, посвящённой морфологическому и филогенетическому анализу модельных видов. На рис. 1 проиллюстрированы основные диагностические признаки исследованных видов нематод, входящих в ассоциацию патогенов на примере вида *Bursaphelenchus ulmophilus*. Также в этой главе представлен обзор заболеваний лиственных деревьев при участии нематод.

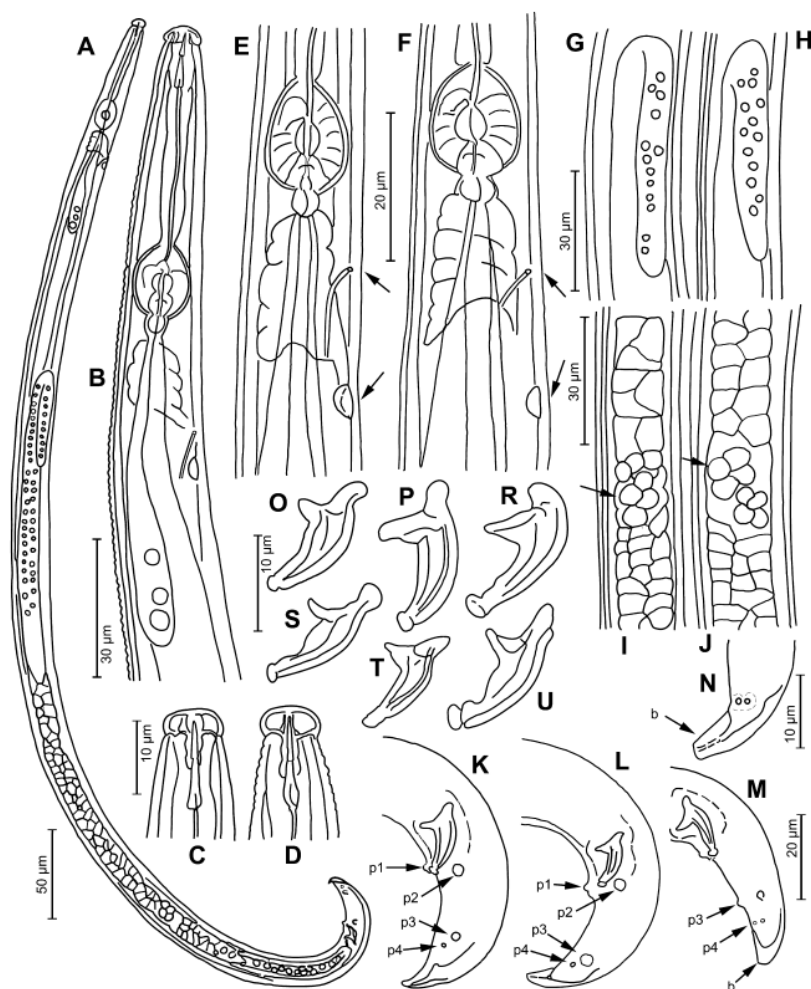


Рис. 1. *Bursaphelenchus ulmophilus* sp. n. Самец. А – контур тела; В – передняя область; С, D – голова и стилет; Е, F – экскреторная пора (верхняя стрелка) и гемизонид (нижняя стрелка); G, H – загнутый кончик семенника со сперматогониями; I, J – сперматиды (стрелки); K-N – конец хвоста (p1-p4 = хвостовые папиллы самца; b = бурса); O, P, R, S, T, U – вариации формы спикул.

Глава 2. Голландская болезнь ильмовых (*Ulmus laevis*, *U. glabra*): фауна и жизненные циклы ксилобионтных нематод.

Многолетние обследования усыхающих деревьев с признаками Голландской болезни ильмовых (ГБИ) на наличие ксилобионтной фауны позволили нам обнаружить пару видов нематод, имеющих особое значение в патогенной ассоциации. Один из видов был отнесен к роду *Bursaphelenchus*. В процессе морфологических и молекулярных исследований вид был описан как новый для науки *B. ulmophilus* sp. n. относящийся к группе видов *Hofmanni* и имеющий патогенное значение.

Таким образом, ассоциация патогенов ГБИ включает в себя не только грибы рода *Ophiostoma* и жуков короедов рода *Scolytus*, как это было

известно ранее, но и нематод рода *Bursaphelenchus*. На основе молекулярных исследований были построены филогенетические деревья (Глава 7), демонстрирующие что виды группы *Hofmanni* из хвойных растений-хозяев смешаны с видами из лиственных растений-хозяев. Такие эволюционные закономерности могут указывать на существование двух тенденций, идущих в противоположных направлениях, т.е. переход от хвойных хозяев к лиственным и вторичный возврат к хвойным. Отсутствие строгой коэволюции видов группы *Hofmanni* с их растительными хозяевами может быть объяснено их типом питания: нематоды питаются и размножаются в древесине отмирающих и мертвых деревьев и, таким образом, не зависят от глубоких физиологических связей со своими растениями-хозяевами.

Наряду с патогенной нематодой *B. ulmophilus* был обнаружен сопутствующий вид, который в 100 % случаев встречался как на жуке-переносчике, так и в древесных образцах. Обнаруженный вид был отнесен к роду *Rhabditolaimus* Fuchs, 1915. Очевидно, что пара этих видов-форонтов используют жуков *Scolytus* spp. для колонизации живых деревьев или для переноса на новые участки гниющей древесины для питания грибами или бактериями. В ходе исследования обнаруженного вида было установлено, что он был ранее известен как *Rhabditolaimus ulmi* и первоначально описан Goodey (1930), а затем вновь описан Rühm (1956). Однако исчерпывающих данных по части биологии, морфологии и филогении этого вида не было, в следствие чего вид стал объектом детального изучения.

Оба вида-форонтов были изучены на предмет эмбрионального и постэмбрионального развития, выявления особого трансмиссивного поколения и определения трансмиссивных стадий дауер-личинок, также детально была изучена морфология видов с применением различных методик и выполнен филогенетический анализ видов.

Нами обнаружено, что у *B. ulmophilus* и *R. ulmi* из яйца выходит личинка J2 стадии, преодолевая первую линьку внутри яйцевой оболочки. Отличием *R. ulmi* от *B. ulmophilus* является тот факт, что половозрелые самки

способны откладывать яйца на разных стадиях развития, в том числе с личинками J2 стадии внутри яичной скорлупы, чего не выявлено у *B. ulmophilus*, это явление можно охарактеризовать как яйцеживорождение (рис. 2).



Рис. 2. *R. ulmi*: момент откладки яйца с личинкой J1 внутри.

Постэмбриональное развитие включает 4 стадии (J2-J4, половозрелые самцы и самки), разделенные линьками. Личиночные стадии каждого вида различаются между собой морфологией и размерами тела и полового зачатка. Идентифицировать пол личинки возможно начиная со стадии J3. У личинок J4 различимы функциональные отделы половых зачатков (рис. 3).

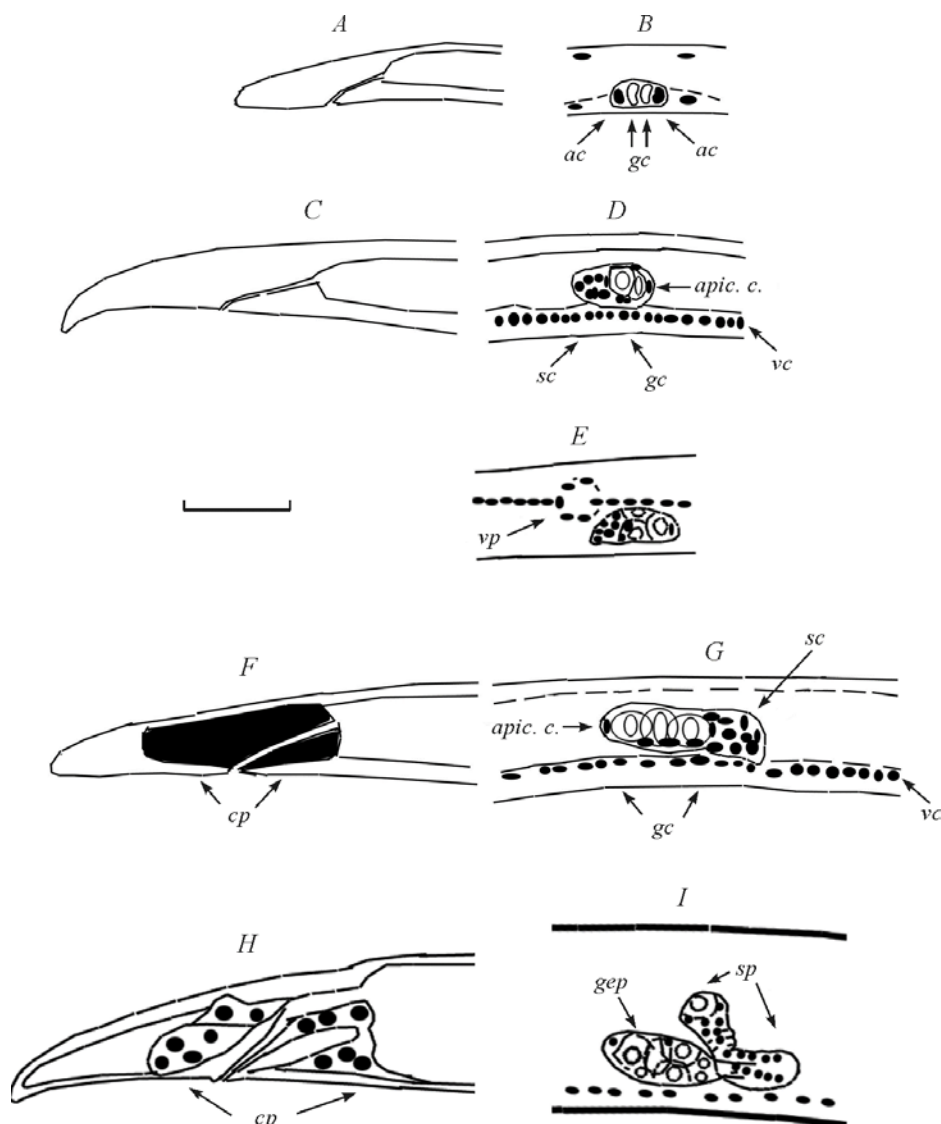


Рис. 3. *B. ulmophilus* Личиночные хвосты (А, С, F, H) и половые зачатки (В, D, E, G, I). А, В – личинка второй стадии; С, D, Е – личинка третьей стадии, самка (С, D – латеральный вид; Е – вентральный вид); F, G – личинка самца третьей стадии; H, I – личинка самца, переходящая с третьей стадии на четвертую (I – "стадия петли" мужского полового зачатка с разворотом соматической части). ac – апикальные клетки, cp – зачаток клоаки, gc – герминальные клетки, гер – герминальная часть зачатка, sc – соматические клетки, sp – соматическая часть полового зачатка, vc – вентральный тяж ядер гиподермальных клеток, vp – зачаток вульвы. Масштаб – 10 мкм.

Рост тела происходит быстрее, чем рост глотки. Увеличение размеров тела личинок происходит в ходе линек, но рост личинок продолжается также и внутри каждой стадии развития. Наибольший рост наблюдается между J3 и J4 стадиями, в этой же фазе значительно увеличивается половой зачаток и происходит его клеточная дифференцировка (рис. 3, 4).

Обнаружено, что дауер-личинки обоих видов-форонтов по размерам тела и строению полового зачатка соответствуют J3 стадии развития

пропагативного поколения. Дауеры обоих видов на этапе нахождения на переносчике не питаются в силу редуцированности стомы и глотки.

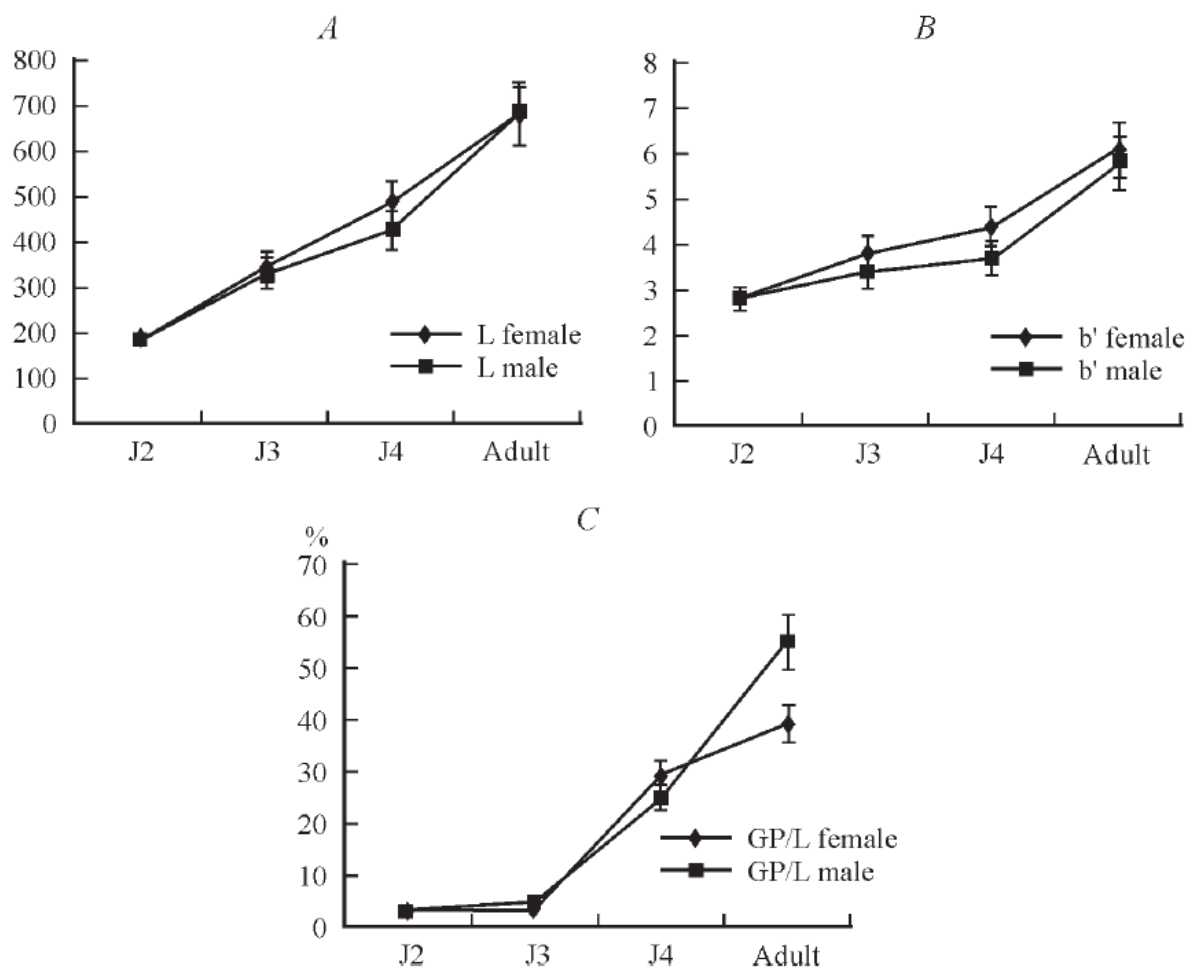


Рис. 4. Диаграммы роста личинок *B. ulmophilus*. А — длина тела, В — отношение длины тела к длине глотки (b'), С — отношение длины полового зачатка к длине тела (GP/L, %). Уровни стандартного отклонения (STD) отмечены для средних значений.

Здесь важно отметить, что трансмиссивные личинки *B. ulmophilus* (гр. *Hofmanni*) отличаются от оных патогенной сосновой нематоды *B. xylophilus* (гр. *Xylophilus*), у которой дауеры относятся к четвертой стадии J4D. Полученные нами новые результаты указывают на возможное различие в стадиях передачи между группами видов *Bursaphelenchus*.

Новым наблюдением является также тот факт, что вид *R. ulmi* демонстрирует комбинированное питание, а именно бактерио-микофагию. Нематоды могут питаться бактериями, которых они переносят на поверхности своего тела, также они способны питаться мицелием гриба *B.*

cinerea в культуре. Новые данные расширяют наши знания о ряде пищевых предпочтений *Rhabditolaimus* spp. (Diplogastridae), которые обычно характеризуются только как нематоды, питающиеся бактериями (Yeates *et al.*, 1993). Проведенные нами исследования по локализации вида *R. ulmi* на жуке-переносчике и внутри растения-хозяина показали нам, что нематоды очевидно выполняют функцию дисперсии бактериальной и грибковой массы, находящейся на их поверхностных оболочках. Дальнейшие исследования помогут оценить роль *R. ulmi* в патогенезе Голландской болезни язвов, имеет ли она отношение к патогенезу как *B. ulmophilus* или же ее роль ограничивается простой форетической ассоциацией с жуками-переносчиками возбудителями этой болезни.

В данной главе также представлены результаты исследований фауны ксилобионтных нематод обнаруженной на деревьях с выраженными симптомами Голландской болезни язвов. Дана общая таблица морфометрических показателей для 15 обнаруженных видов нематод, составлен атлас видов, даны краткие текстовые диагностические ключи.

Таблица 1. Обнаруженная фауна ксилобионтных нематод больных язвов

ОТРЯД	ПОДОТРЯД	СЕМЕЙСТВО	ВИД
DORYLAIMIDA	Dorylaimina	Dorylaimidae	<i>Eudorylaimus</i> sp.
PLECTIDA	Dorylaimina	Plectidae	<i>Plectus acuminatus</i> Bastian, 1865
RHABDITIDA	Rhabditina	Rhabditidae	<i>Protorhabditis</i> sp.
		Diploscapterididae	<i>Diploscapter coronatus</i> Cobb, 1893
		Diplogasteroididae	<i>Rhabditolaimus ulmi</i> T. Goodey, 1930
	Tylenchina	Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus scheucherae</i> Rühm, 1956
		Cephalobidae	<i>Chiloplacus</i> sp.
		Anguinidae	<i>Neoditylenchus</i> sp.
		Sychnotylenchidae	<i>Sychnotylenchus ulmi</i> Rühm, 1956
		Aphelenchidae	<i>Aphelenchus avenae</i> Bastian, 1865

Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides parasaprophilus</i> Sanwal, 1965
	<i>Laimaphelenchus deconincki</i> Elmiligy, Geraert, 1972
	<i>Ektaphelenchus scolyti</i> Rühm, 1956
	<i>Bursaphelenchus michalski</i> Tomalak, 2019
	<i>Bursaphelenchus ulmophilus</i> Ryss, Polyanina, Popovichev, Subbotin, 2015

Глава 3. Вилт (суховершинность) ясеня (*Fraxinus excelsior*): фауна и жизненные циклы ксилобионтных нематод.

В ходе обследований насаждений ясеня с признаками суховершинности на наличие ксилобионтной фауны на территории Центральной России и Беларуси был обнаружен вид, относящийся к роду *Bursaphelenchus*. В процессе морфологических и молекулярных исследований вид был идентифицирован как *B. crenati* относящийся к группе видов *Sexdentati*, этот вид ранее не был зарегистрирован на исследуемых территориях. Морфологическое описание половозрелых особей обнаруженного вида сходно с описанием Рюма и Томалака (Rühm, 1956 и Tomalak, 2017). Вид был изучен на предмет онтогенеза, выявления и определения трансмиссивных стадий дауер-личинок.

Обнаружено, что постэмбриональное развитие *B. crenati* включает в себя 4 стадии (J2-J4, половозрелые самцы и самки), разделенные линьками. Личинка J2 выходит из яйца после первой линьки внутри яичной скорлупы (рис. 5). Личиночные стадии различаются между собой строением и размерами полового зачатка. Идентификация пола личинок также возможна начиная со стадии J3. У личинок J4 различимы функциональные отделы половых зачатков.

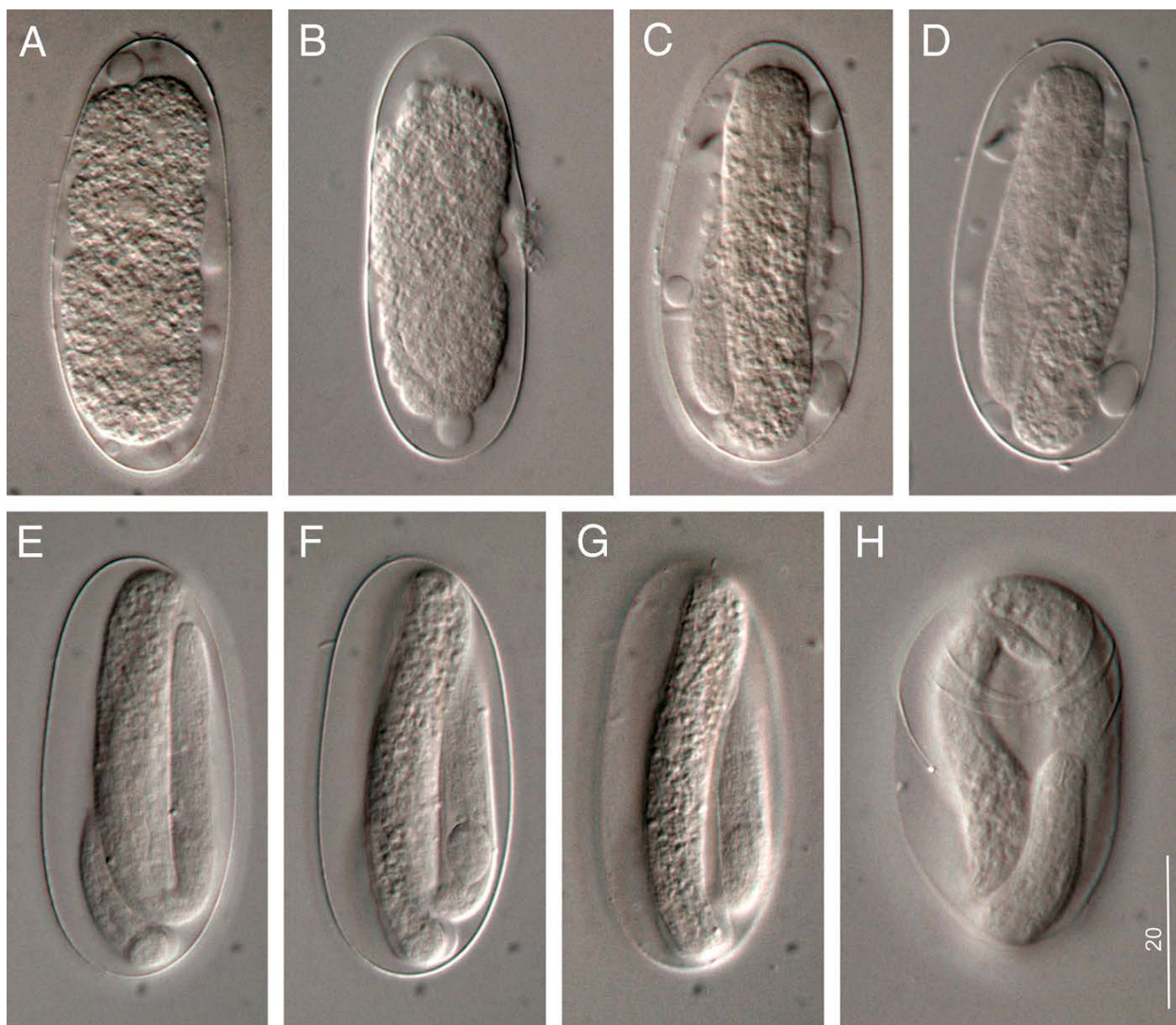


Рис. 5: *B. crenati*. Развитие в яйце. А – дробление; В – гастрюляция; С, D –личинка первой стадии (J1) в яичной скорлупе; Е, F, G – Личинка второй стадии в момент линьки (J2) с отслоившейся кутикулой; Н – Вылупление J2, подготовка к выходу из яичной скорлупы. Масштаб 20 мкм.

Обнаруженные дауер-личинки *B. crenati* идентичны по строению полового зачатка личинкам J3 пропативного поколения, дауеры способны быстро линять на стадию J4D при погружении их в воду в течение 3 часов. Из-за редуцированной глотки и стомы дауер-личинки не способны питаться.

Эксперименты, о которых говорится в главе 5 при участии *B. crenati* выявили независимую от переносчика специфичность данного вида нематоды к растению-хозяину. Таким образом, принимая во внимание симптомы суховершинности ясеня, наблюдаемые у зараженных деревьев во время отбора образцов, локализацию нематоды в разрушенных тканях и специфичность к природному растению-хозяину, можно предположить, что

нематода *B. crenati* с высокой вероятностью является ограничивающим патогеном *F. excelsior*. По крайней мере, эта нематода может быть синергистом двух наиболее важных патогенов, вызывающих сухостерность ясеня в многочисленных регионах Беларуси и России.

В данной главе также представлены результаты исследований всей фауны ксиллобионтных нематод обнаруженной на деревьях с выраженными симптомами сухостерности. Обнаружено, что фауна включает в себя 13 видов нематод, в том числе впервые обнаруженный на территории РФ вид, входящий в ассоциацию патогенов сухостерности ясеня – *B. crenati*. Обнаруженная фауна представлена в виде таблицы 2, атласа и кратких текстовых диагностических ключей.

Таблица 2. Обнаруженная фауна ксиллобионтных нематод больных ясеней

ОТРЯД	ПОДОТРЯД	СЕМЕЙСТВО	ВИД
DORYLAIMIDA	Dorylaimina	Dorylaimidae	<i>Eudorylaimus</i> sp.
TRIPLONCHIDA	Diptherophorina	Diptherophoridae	<i>Tylolaimophorus bulgaricus</i> Andrassy, 1958
RHABDITIDA	Rhabditina	Rhabditidae	<i>Parasitorhabditis</i> sp.
		Diplogastridae	<i>Acrostichus</i> sp. n. <i>Rhabditolaimus leuckarti</i> Fuchs, 1915
		Cephalobidae	<i>Chiloplacus</i> sp.
	Tylenchina	Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus leperisini</i> Massey, 1974
		Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides parasaprophilus</i> Sanwal, 1965 <i>Laimaphelenchus penardi</i> Steiner, 1914 <i>Bursaphelenchus crenati</i> Rühm, 1956

Глава 4. Вилт дуба (*Quercus robur*): фауна и жизненные циклы ксиллобионтных нематод.

В ходе обследований насаждений дуба с признаками вилта на наличие ксилобионтной фауны нами были обнаружены 14 видов нематод, 3 из которых относятся к роду *Bursaphelenchus*: *B. fraudulentus*, *B. willibaldi*, *B. laciniatae*. Как и в предыдущих двух главах мы изучали морфологию и филогению модельных видов. Нами также были исследованы все стадии онтогенеза на примере вида *B. fraudulentus* (рис. 6). Эмбриональное и постэмбриональное развитие *B. fraudulentus* схоже с ранее изученными видами *B. ulmophilus* и *B. crenati*. Постэмбриональное развитие включает 4 стадии (J2-J4, половозрелые самцы и самки), разделенные линьками. Личиночные стадии различаются между собой морфологией и размерами тела и полового зачатка. Идентифицировать пол личинки возможно начиная со стадии J3. У личинок J4 различимы функциональные отделы половых зачатков.

Обнаруженная фауна ксилобионтных нематод представлена в виде таблицы 3, атласа и кратких текстовых диагностических ключей.

Таблица 3. Обнаруженная фауна ксилобионтных нематод больных дубов

ОТРЯД	ПОДОТРЯД	СЕМЕЙСТВО	ВИД
PLECTIDA	Dorylaimina	Plectidae	<i>Plectus</i> sp.
RHABDITIDA	Rhabditina	Diplogastridae	<i>Acrostichus</i> sp
	Tylenchina	Cephalobidae	<i>Chiloplacus</i> sp
		Anguinidae	<i>Litylenchus</i> sp
		Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides eldaricus</i> Esmaeili, 2017
			<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i> Rühm, 1956 (Goodey, 1960)
			<i>Bursaphelenchus willibaldi</i> Schoenfeld, Braasch & Burgermeister, 2006
			<i>Bursaphelenchus laciniatae</i> Kanzaki, 2019
			<i>Laimaphelenchus hyrcanus</i> Miraeiz, 2015
			<i>Laimaphelenchus heidelbergi</i> Zhao, 2007
			<i>Laimaphelenchus penardi</i> (Steiner, 1914) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941
			<i>Laimaphelenchus pannocaudus</i> Massey, 1966
			<i>Ektaphelenchus</i> sp
		Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus</i> sp.

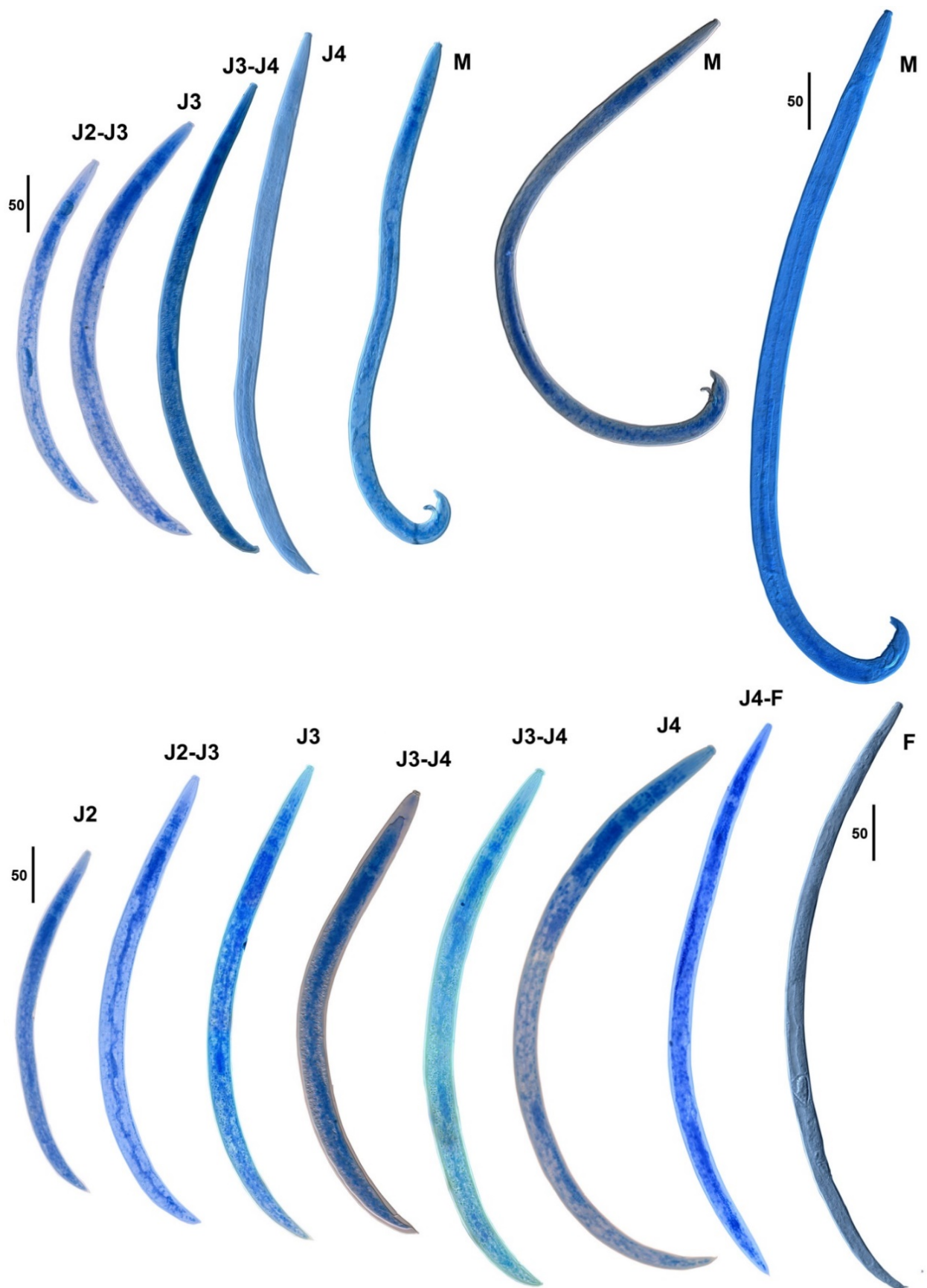


Рис. 6. *B. fraudulentus*. Стадии индивидуального развития: сверху развитие самца, снизу развитие самки, J2, J3, J4 - стадии 2,3,4 личинок, J2-J3, J3-J4 и т.д – линьки; М – самец; F – самка. Шкала 50 мкм.

Глава 5. Паразито-хозяйинные отношения: фитотесты

Нематоды рода *Bursaphelenchus* в состав которого входят виды карантинного значения привлекают к себе повышенное внимание исследователей в связи с постоянным экспортом леса и перевозки больших объемов древесины. В данной главе предложены новые подходы к выявлению наличия у нематод рода *Bursaphelenchus* независимой от предпочтений жуков-переносчиков специфичности к природным растениям-хозяевам. Разработанные методики постановки лабораторных тестов были протестированы на трех видах нематод рода *Bursaphelenchus* принадлежащих к разным филогенетическим группам: *B. mucronatus* (гр. *Xylophilus*), *B. crenati* (гр. *Sexdentati*) и *B. ulmophilus* (гр. *Hofmanni*). Результаты исследований отображены в виде диаграмм, как показано на рис. 7 на примере вида *B. mucronatus*.

Экспериментально доказано, что виды рода *Bursaphelenchus* могут иметь собственную специфичность к природному растению-хозяину, которая не обусловлена предпочтениями переносчика.

Обнаружено, что сосновая нематода *B. mucronatus* хорошо размножается только на природном растении-хозяине – *P. sylvestris*, а также обладает собственными адаптациями к преодолению иммунных барьеров природного растения-хозяина.

В эксперименте с *B. ulmophilus* обнаружено, что нематода способна размножаться не только на природном растении-хозяине – *U. glabra*, но и на других видах деревьев: *P. nigra*, *P. sylvestris*, *L. decidua*, *A. sibirica* и *Q. robur*,

Финальная численность *B. crenati* в эксперименте демонстрируют успешное размножение нематод на природном растении-хозяине *F. excelsior*, а также на *P. sylvestris*, *U. glabra* и *P. nigra*. Можно сделать вывод, что виды *B. ulmophilus* и *B. crenati* специфичны к природному растению-хозяину, а не только к виду переносчика, но в отличие от *B. mucronatus* также способны размножаться и на других растениях, которые не являются природными

хозяевами и могут выступать эффективными резервуарными хозяевами, что означает опасность становления новых патогенных систем паразит-хозяин.

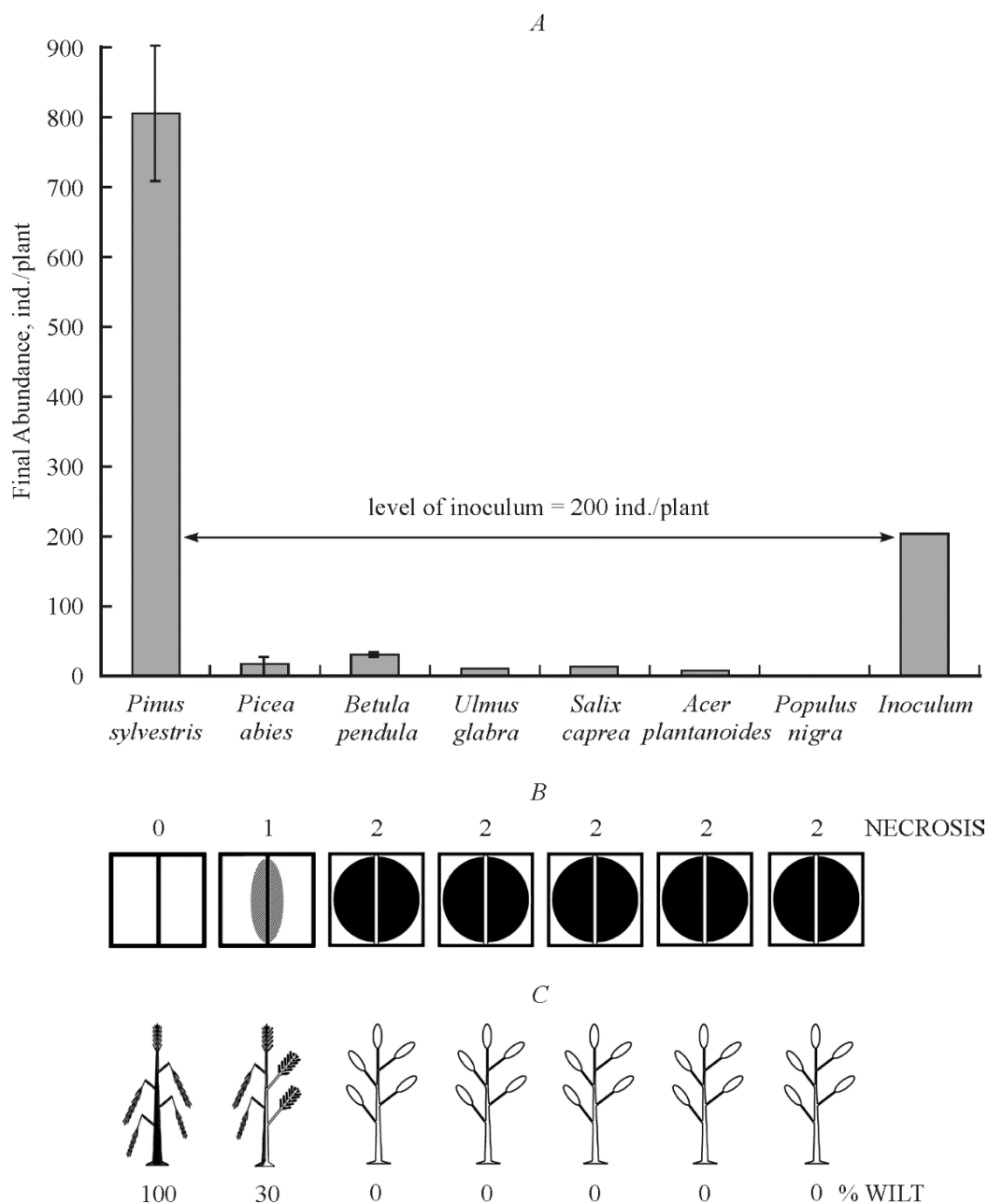


Рис. 7. *B. mucronatus*. Тест на патогенность и специфичность круга хозяев.

А — финальная численность нематод, ось Y: финальная численность нематод на растение; ось X: растения-хозяева. Горизонтальная линия со значением 200 представляет собой величину инокулята (200 особей на растение). Доверительные интервалы даны в виде горизонтальных полос для каждого финального среднего значения генеральной совокупности ($n = 20$). Б — иммунный ответ (в виде некротической реакции): 0 — нет ответа; 1 — слабая реакция с размытым пятном шириной 3 мм и менее от места внесения инокулята; 2 — сильный иммунный ответ с контрастным темным пятном шириной 4 мм и более от места внесения инокулята. С — показатели увядания, %. Под диаграммой А указаны латинские названия растений-хозяев, данные для каждого вида растений образуют столбец между А, В и С. Ryss *et. al.*, 2018.

Глава 6. Обзор ассоциаций ксилобионтных нематод с жуками-короедами.

Изучение фауны ксилобионтных нематод больных деревьев имеет важное практическое значение, одним из главных аспектов в изучении являются отношения энтомохорных нематод с жуком. Как уже было замечено ранее, в других главах, некоторые виды нематод имеют непосредственное отношение к патогенным ассоциациям, которые приводят древесные растения к гибели. Другие виды нематод являются участниками процесса разложения мертвой древесины, но способны навредить своим переносчикам, паразитируя во внутренних органах и снижая их плодовитость. Систематизация типов отношений в ассоциациях «жук – нематода – растение-хозяин» является важной для практических целей, а именно для диагностики и контроля вредителей древесных растений. Нами были собраны и систематизированы данные о типах отношений между нематодами и их переносчиками жуками-короедами (табл. 4).

Таблица 4. Нематоды короедов и типы их ассоциаций (отряд Rhabditida) Polyanina *et al.*, 2019

Семейство, подсемейство и вид нематоды	Тип ассоциации с жуком и вызываемые болезни (если есть)
Сем. ALLANTONEMATIDAE <i>Contortylenchus cunicularii</i>	Облигатные эндопаразиты, личиночные и половозрелые черви в гемоцеле жука
<i>C. typographi</i>	Облигатные эндопаразиты, личиночные и половозрелые черви в гемоцеле жука; рекомендован как агент биоконтроля <i>Ips typographus</i>
<i>Neoditylenchus petithi</i>	Эктофоронты, дауеры локализуются на поверхности тела жука, между сегментами и под элитрами
<i>Neoparasitylenchus hylastis</i>	Облигатные эндопаразиты, паразитируют в гемоцеле жука, личинки покидают хозяина и развиваются в самок и самцов, копуляция в галереях жуков, оплодотворенная самка внедряется в личинку короеда
<i>N. scolyti</i>	Облигатные эндопаразиты, паразитируют в жировом теле и гемоцеле жука
<i>Sulphuretylenchus kleinei</i>	Облигатные эндопаразиты в гемоцеле тела жука; копуляция в ходах короедов, осемененные самки внедряются в хозяина; цикл развития за одно поколение

Сем. APHELENCHOIDIDAE Подсем. APHELENCHOIDINAE	
<i>Aphelenchoides</i> sp.	Форезия личинок под элитрами жука-переносчика, в трахеях и в мальпигиевых сосудах; половозрелые особи – свободноживущие микотрофы
<i>Laimaphelenchus deconincki</i>	Личинки в дыхальцах метаторакса, взрослые питаются мхами и водорослями
<i>Ruehmaphelenchus juliae</i>	Форезируемые насекомым на стадии личинки, взрослые – свободноживущие хищники
<i>Tylaphelenchus georginsis</i>	Эктофоронты короедов на стадии дауера
Подсем. ЕКТАРПHELENCHINAE	
<i>Ektaphelenchus scolyti</i>	Форезия личинок под элитрами, взрослые в заболони дерева
<i>Cryptaphelenchus</i> sp.	Форезия личинок и половозрелых особей под элитрами, в трахеях и мальпигиевых сосудах, половозрелые особи в гниющей флоэме
<i>C. bicoloris</i>	Облигатные эндопаразиты, 3 стадии паразитируют в мальпигиевых сосудах
Подсем. PARASITAPHELENCHINAE	
<i>Bursaphelenchus borealis</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. clavicauda</i>	Форезируемые на стадии специализированной личинки (дауера) фито- и микотрофы
<i>B. crenati</i>	Возбудитель суховершинности ясеня в составе патогенного комплекса с халаровым грибом (<i>Chalara fraxinea</i>)
<i>Bursaphelenchus eggersi</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. eidmanni</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. eremus</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. erosus</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. eucarpus</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. fagi</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. fraudulentus</i>	Дауеры - эктофоронты короедов и усачей
<i>B. idius</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. kiyoharai</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. maxbassiensis</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. paracorneolus</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. parvispicularis</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. piniperdae</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. ratzeburgii</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. scolyti</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. sexdentati</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. taphrorychi</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. tiliae</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. tryphloeii</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. typographi</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. ulmophilus</i>	Возможный возбудитель голландской болезни вяза
	Дауеры - эктофоронты короедов

<i>B. wekuae</i> <i>B. xerokarterus</i> <i>Devibursaphelenchus</i> <i>teratospicularis</i>	Дауеры - эктофоронты короедов Дауеры - эктофоронты короедов Дауеры - эктофоронты короедов
Подсем. PARASITAPHELENCHINAE	
<i>Parasitaphelenchus frontalis</i>	Эндопаразиты в гемоцеле жука на стадии личинки, половозрелые особи – свободноживущие микотрофы в ходах жуков
<i>P. gyeongbukensis</i> <i>P. oldhami</i>	Эндопаразиты в полости тела жука на стадии личинки Эндопаразиты в полости тела жука на стадии личинки
Сем. CYLINDROCORPORIDAE	
<i>Rhabditolaimus ulmi</i>	Эктопаразит, локализуется на поверхности тела, под элитрами, между сегментами жука-хозяина
Сем. NEODIPLOGASTRIDAE	
<i>Micoletzky thalenhorsti</i>	Факультативный форонт жука, вероятно, хищник
Сем. PANAGROLAIMIDAE	
<i>Panagrolaimus dendroctoni</i> <i>P. scheucherae</i>	Факультативный форонт жука, бактериотроф Эктопаразит, локализуется между сегментами жука
Сем. RHABDITIDAE	
<i>Parasitorhabditis ateri</i>	Эндопаразиты в пищеварительном тракте жука, снижают плодовитость жука
<i>P. bicoloris</i>	Облигатный эндопаразит, инвазионные личинки 2-й и 3-й стадий паразитируют в кишке жука-хозяина
<i>P. malii</i>	Облигатный эндопаразит, личинки в мальпигиевых сосудах и кишечнике
Сем. SPHAERULARIIDAE	
<i>Deladenus</i> sp.	Облигатные эндопаразиты, личинки и половозрелые черви в гемоцеле жука
<i>Prothallonema</i> sp. (= " <i>Stictylus bicoloris</i> ," nom. nudum)* <i>Prothallonema pseudoobtusum</i> (= <i>Stictylus pseudoobtusum</i>)	Половозрелые самки эндопаразиты в гемоцеле жука Половозрелые самки эндопаразиты в гемоцеле жука
Сем. SYCHNOTYLENCHIDAE	
<i>Sychnotylenchus intricati</i> <i>S. ulmi</i>	Эктопаразит, локализуется под элитрами Личинки 3-й стадии локализуются под элитрами

В виду того, что короеды в ассоциации с нематодами причиняют большой вред лесному хозяйству по всему миру, оцениваемый в сотни миллионов долларов (Кулинич и др., 2003; Ruehle, 1962, 1972; Bergdahl, 1988, Ferraz, Brown, 2002) появляется необходимость в систематизации многочисленных публикаций, связанных с нематодами и переносимыми их короедами. На данный момент к уже имеющимся классическим сводкам (Fuchs, 1937; Rühm, 1956; Massey, 1971; Курашвили и др., 1980) добавились новые сведения об отдельных находках связанных с короедами нематод, в которых обычно делаются попытки связать короедов и их ассоциантов с симптомами болезней лесных насаждений. В силу актуальности и глобальности проблемы мы попытались создать сводку по имеющимся данным находок нематод, связанных с короедами. Основное внимание было уделено сводкам для нематод хвойных деревьев России и сопредельных стран, для нематод лиственных пород предпринята попытка создания сводки по мировой фауне.

Также в обзоре, который стал основой данной главы нами были выделены экологические группы нематод основанные на степени связи с переносчиком (табл. 5) и рассмотрены перспективы использования нематод как объекта контроля возбудителей заболеваний древесных пород.

Таблица 5. Экологические группы ксилобионтных нематод, связанных с жуками-короедами

1. Свободноживущие нематоды – факультативные форонты	
1.1. Бактериотрофы	Виды рода <i>Panagrolaimus</i> (сем. Panagrolaimidae).
1.2. Микотрофы	Виды рода <i>Laimaphelenchus</i> (сем. Aphelenchoididae).
1.3. Хищники	Виды рода <i>Micoletzkyia</i> (сем. Neodiplogastridae).
2. Эктофоронты облигатные *	
2.1. Эктофоронты: микотрофы и фито-микотрофы	Все виды родов <i>Bursaphelenchus</i> , <i>Devibursaphelenchus</i> , <i>Cryptaphelenchus</i>

2.2. Эктофоронты-хищники	(сем. Aphelenchoididae), а также некоторые виды рода <i>Aphelenchoides</i> (сем. Aphelenchoididae) Виды родов <i>Ektaphelenchus</i> и <i>Ruehmaphelenchus</i> (сем. Aphelenchoididae)
3. Эндопаразиты гемоцеля или кишечника	
3. 1. Паразиты кишечника короедов	Виды рода <i>Parasitorhabditis</i> (сем. Rhabditidae)
3.2. Паразиты гемоцеля	
3.2.1. Паразиты гемоцеля на стадии личинки	Виды рода <i>Parasitaphelenchus</i> (сем. Aphelenchoididae)**
3.2.2. Половозрелые паразиты гемоцеля.	Виды рода <i>Deladenus</i> и других родов (сем. <i>Sphaerulariidae</i>), а также родов <i>Contortylenchus</i> , <i>Neoparasitylenchus</i> и <i>Sulphuretylenchus</i> (сем. Allantonematidae)

Примечание.

* Обычно микотрофы или фито-микотрофы (комбинированное питание) или хищники, форезируемые на специализированной личиночной стадии покоя (дауер-личинки). Форезия необходима этим нематодам для завершения цикла.

** Считается, что этот род произошел от общего предка с *Bursaphelenchus* (Hunt, 1993; Ryss *et al.*, 2005; Рысс, 2009), и формирование его связано с проникновением дауер-личинки в гемоцель через естественные отверстия (отверстия трахей и мочеполовые протоки) или через тонкие покровы сосудов системы кровообращения в месте соединения элитр с грудью насекомого. На этих близких к груди внутренних поверхностях элитр сосредоточены нематангии – плотные сухие скопления дауеров *Bursaphelenchus* и *Cryptaphelenchus*.

Глава 7. Молекулярно-генетические исследования.

В данной главе представлены результаты молекулярно-генетических исследований модельных и сопутствующих видов ксилобионтных нематод полученных по рибосомальным РНК генам 18S, ITS и D2-D3 28S. С помощью молекулярно-генетических методов новый вид *B. ulmophilus*, обнаруженный на больных Голландской болезнью деревьях, был отнесен к группе *Hofmanni*. Выявлено, что в полученных деревьях генов D2-D3 28S и 18S рРНК (Ryss, *et al.*, 2013, Ryss, Polyanina, *et al.*, 2015) виды группы *Hofmanni* из хвойных хозяев смешаны с видами из лиственных хозяев (рис. 8). Как уже отмечалось ранее такие эволюционные закономерности могут указывать на существование двух тенденций, идущих в противоположных направлениях, т.е. переход от хвойных хозяев к лиственным хозяевам и

вторичный возврат к хвойным. Также отсутствие строгой коэволюции видов группы *Hofmanni* с их растительными хозяевами может быть объяснено их типом питания: нематоды питаются и размножаются в древесине отмирающих и мертвых деревьев и, таким образом, не зависят от глубоких физиологических связей со своими растениями-хозяевами.

Вид *R. ulmi* был проанализирован по гену D2-D3 28S рРНК. Полученная последовательность была представлена в GenBank и сопоставлена с последовательностями других *Rhabditolaimus* и родственных родов (Kanzaki, Giblin-Davis, 2014; Kiontke *et al.*, 2007; Susoy, Herrmann, 2012, Susoy *et al.*, 2015 и др.), консенсусное дерево BI, представлено на рис. 9, представители рода *Rhabditolaimus* образовали кладу с высокой степенью поддержки (PP = 100%).

Вид *B. crenati* (группа *Sexdentati*) был проанализирован по тем же генам, что и *B. ulmophilus*. Последовательности Белорусской и Российской популяций *B. crenati* были идентичны друг другу.

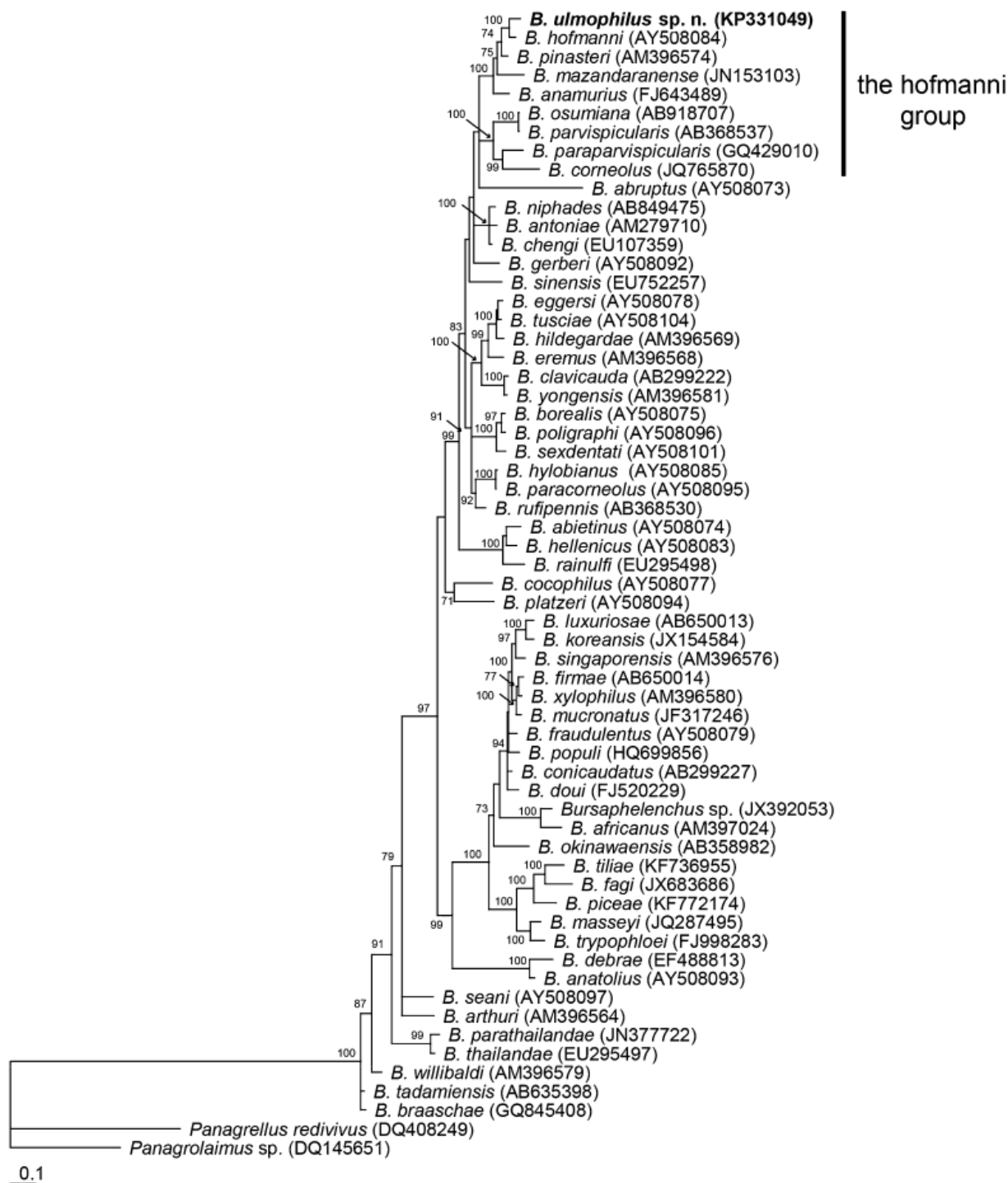


Рис. 8. Байесовское дерево, полученное при выравнивании D2-D3 28S рРНК нематод *Bursaphelenchus* spp. Значения апостериорной вероятности (более 70 %) даны в процентах для каждой клады. Новая последовательность выделена жирным шрифтом.

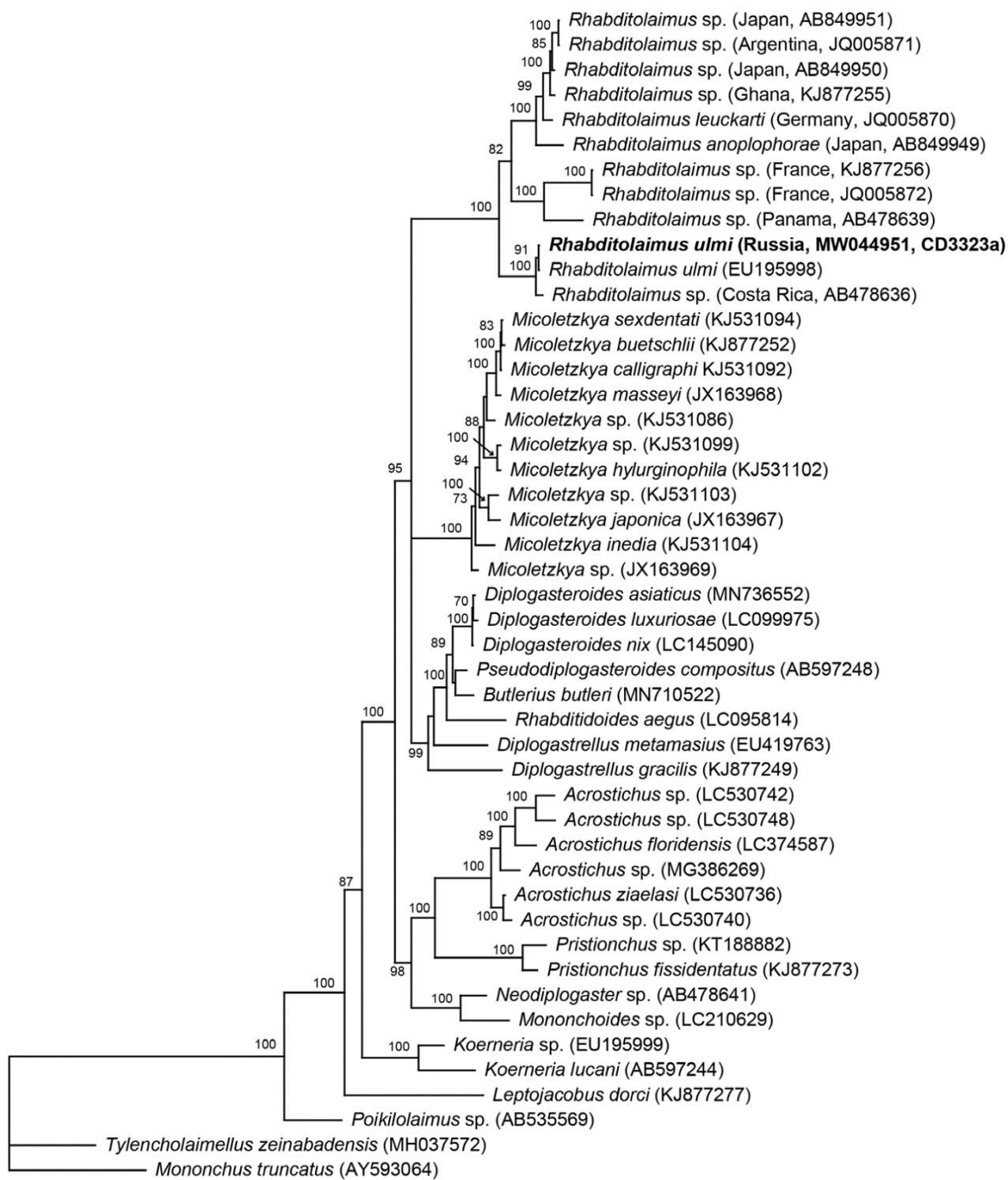


Рис. 9. Байесовское дерево, полученное при выравнивании D2-D3 28S рНК нематод *Rhabditolaimus* spp. Значения апостериорной вероятности (более 70 %) даны в процентах для каждой клады. Новая последовательность выделена жирным шрифтом.

Глава 8. Биология развития и популяционные модели нематод разной трофической специализации.

В данной главе впервые предложен подход к изучению и оценке основных параметров жизненного цикла и популяционного цикла *in vitro* на примере модельных видов ксилобионтных нематод. Задачи, поставленные в ходе исследования: определение длительности одной генерации (G, формирование половозрелых особей пропативного поколения), сроки вылупления и линек, определение скорости яйцекладки, эмбриональной стадии в момент яйцекладки и соотношения полов; прослеживание динамики популяции в условиях первоначального изобилия ресурсов и построение математической модели начального роста популяции; а также определение резистентной стадии покоя, преобладающей при завершении популяционного цикла.

Нами были исследованы 4 вида нематод отряда Rhabditida связанных с жуками-переносчиками: 2 вида относящихся к бактериофагам: *Panagrolaimus detritophagus* сем. Panagrolaimidae, *Rhabditolaimus ulmi* сем. Diplogastridae; и 2 вида микофагов сем. Aphelenchoididae, совмещающих фитопаразитизм и микофагию на разных стадиях цикла: *Bursaphelenchus willibaldi* и *Aphelenchoides* sp. (табл. 6). Нам удалось определить параметры: плодовитость, сроки фаз: яйцекладки, выход личинок из яйца, линек, время одной генерации, продолжительность жизни и репродуктивные периоды самок. Средняя продолжительность онтогенеза (G) изученных видов от 4 сут до 12 сут; средняя плодовитость от 1.3 до 3.6 яиц.сут. Продолжительность репродуктивного периода самок варьирует от 1G до 9G. Мико-фитофаги отличаются от бактериофагов наличием миграционной группы, покидающей агаровую среду через 1-2G и служащей для пассивного или энтомохорного расселения в новые среды.

Нами было замечено, что цикл популяции начинается экспоненциальным ростом численности нематод (рис. 10; пример: *R. ulmi*, изменения общей численности червеобразных стадий в популяционном

цикле *in vitro*). Для этой фазы нами была предложена математическая модель, позволяющая рассчитать сроки естественного разложения 1 м³ древесины при комнатной температуре, а затем аппроксимировать эти данные для экосистемы естественного ландшафта по климатическим характеристикам. Мы рассчитали, что сроки декомпозиции составляют от 1 года до 4 лет для древесных растений-хозяев в умеренном климате.

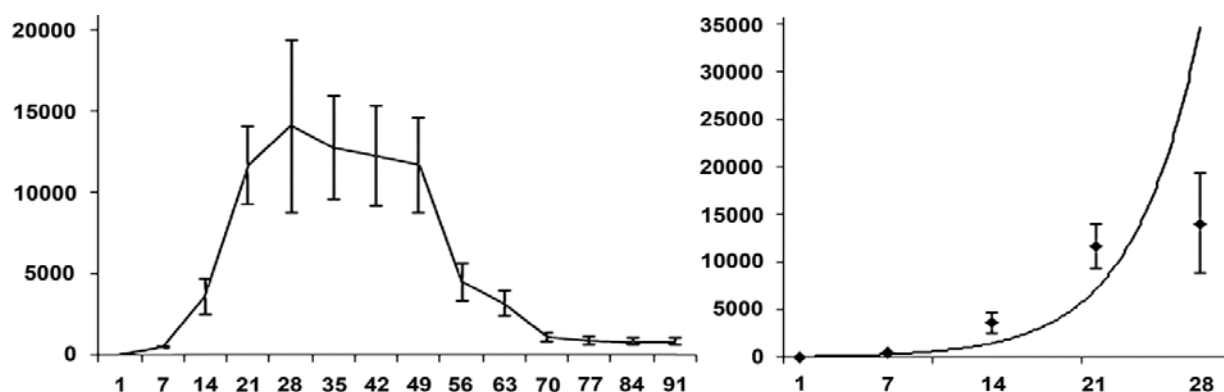


Рис. 10. *Rhabditolaimus ulmi*. Изменения общей численности червеобразных стадий (личинок, самцов и самок) в популяционном цикле в лабораторной культуре. Ось ординат: численность, ось абсцисс: число дней после инокуляции 50 половозрелыми нематодами. Планки погрешностей обозначают величину стандартного отклонения от среднего, а гладкая кривая служит аппроксимацией экспоненциального роста в период до 28 дня после инокуляции. Формула экспоненциального роста: $N = 63,2e^{0,2253T}$; $R^2 = 0,8859$; N – общая численность, T – число дней после инокуляции, $p < 0.05$.

Таблица 6. Основные параметры жизненных циклов 4 видов нематод

	<i>Panagrolaimus detritophagus</i>	<i>Rhabditolaimus ulmi</i>	<i>Aphelenchoides</i> sp.	<i>Bursaphelenchus willibaldi</i>
Трофическая специализация	бактериофаг	бактериофаг	мико-фитофаг	мико-фитофаг
Онтогенез (1-я генерация)	7.3 ± 0.8 (6-8)	7.83 ± 1.32 (7-10)	10.5 ± 1.5 (9-11)	5.8 ± 0.5 (4-6)
Популяционный цикл, сут	34	70 – 91	63	63
Наличие переносчика	факультативно	да	нет	да
Суточная плодовитость в первом поколении	4.5 ± 1.3 (3-6)	2.80 ± 1.82 (1.11-6.06)	1.32 ± 0.63 (0.51-2.28)	3.4 ± 1.5 (2.1-5.9)
Стадия диапаузы <i>in vitro</i>	яйцо, J3	J3	самка (со спермиями в сперматеке)	J4
Наличие энтомохорной дауер личинки	не известно	J3D	не известно	J3D

Наличие миграционной группы 2-го и последующих поколений	нет	нет	да	да
Продолжительность жизни самки, сут	13 – 20	56 – 59	33 – 44	18 – 40
Время биоразложения 1м ³ древесины хозяина	20 сут, или 1 г.	76.5 сут или 2-3 г.	97 сут или 4 г.	37 сут или 1-2 г.

Глава 9. Материал и методы.

В качестве материала использованы многолетние сборы диссертанта совместно с научным руководителем. Образцы были собраны в разных регионах России (Санкт-Петербург, Москва, Воронеж, Нижний Новгород и др.), а также на территории Республики Беларусь. Сбор образцов производился непосредственно из очагов поврежденных деревьев, имеющих симптомы вилта, суховершинности или усыхания, сбор проводился на разных стадиях распада древесины. Стадии распада в значительной степени основаны на качественном физическом внешнем виде и структурной целостности отдельных частей дерева (Stokl *et al.*, 2012). При обработке образцов были использованы общепринятые методики экстракции нематод из древесных образцов и жуков методом Берманна «Baermann funnel» (Staniland, 1954) по модификации Ryss (2015, 2017a, 2017b). Культивирование нематод производилось в лабораторных культурах на безспоровой мутантной линии сапротрофного гриба *Botrytis cinerea* Pears. Гриб был размножен по методикам, принятым в фитопатологии, на твердой питательной среде: 2% картофельно-глюкозном агаре (КГА) или его модификации 2% картофельно-сахарном агаре (КСА), с добавлением стерилизованных кусочков 10 мм x 5 мм коры дерева хозяина. Фиксация нематод производилась по принципу Seinhorst (1962, 1966, 1974) в модификации Рысса (Ryss, 2002; 2017a; 2017b). Изготовление постоянных и временных окрашенных цитологическим ядерным красителем метиленовым

синим или орсеином препаратов производилось по методикам Рысса (Рысс, 1988; Рысс, Чернецкая, 2009; Ryss, Polyanina, 2017, 2018).

Детальное изучение морфологии половозрелых особей модельных объектов производилось с помощью световой, конфокальной микроскопии (Ryss, 2022) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (Ryss, Boström, 1995; Ryss *et al.*, 2021). Изучение всех стадий жизненного цикла модельных объектов производилось как с помощью фиксированных образцов, окрашенных ядерным красителем, так и с помощью цифровой видеофиксации живых нематод (цифровой видеоокуляр TourCam 14 мегапикселей, микроскоп Микмед-6а – Lomo Microsystems, стереомикроскоп Микромед MC-5 ZOOM LED). Также разработаны методики постановки экспериментов, позволяющие получить данные об основных параметрах жизненного цикла и популяционного цикла *in vitro* ксилобионтных нематод, относящихся к разным экотипам, ассоциированных с жуками-переносчиками. Новым вкладом в моделирование роста популяций нематод была разработка формул экспоненциального роста числа самок и общей численности червеобразных стадий для фазы начального роста популяций (Polyanina, Ryss, 2021; Ryss, Polyanina *et al.*, 2021, 2022).

Молекулярно-генетические исследования были выполнены по рибосомальным РНК генам 18S, ITS и D2-D3 28S. Из образцов нематод экстрагировали ДНК с использованием протеиназы К. Полимеразная цепная реакция, аплификация и секвенирование выполнено по протоколу Tanha Maafi (2003). Выравнивание полученных последовательностей генов было выполнено с использованием ClustalX 1.83. Результаты выравнивания были отредактированы вручную с помощью программы GeneDoc 2.5.0. Последовательности генов были проанализированы методом максимальной вероятности (ML) с использованием программы RAUP* и Байесовским вероятностным (BI) анализом с использованием программы MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001) в рамках модели GTR. По полученным

молекулярным последовательностям были построены молекулярно-филогенетические кладограммы.

Для определения независимой от переносчика специфичности нематод к растениям-хозяевам были разработаны методики постановки лабораторных фитотестов: 1) на черенках с посадкой их в суглинистую почву; 2) на небольших кусках заболони молодых веток в чашках Петри (Ryss, Polyanina *et al.*, 2018). Данные экспериментов обрабатывали с помощью дисперсионного однофакторного анализа one-way Anova: с применением непараметрического теста: post-hoc Tukey HSD test с предварительной нормализацией выборки методом степенной трансформации BOX Cox transformation по: Sokal, Rohlf, 1995. Использована программа Statistica 8.0 (Statsoft, 1984-2007) для оценки различий между выборками.

Выводы.

1. Группы нематоды, связанные с переносчиком, отмечаются наибольшим разнообразием жизненных циклов и широким потенциалом распространения инфекций приводимых к гибели насаждений. По степени связи с жуком-переносчиком нематод можно разделить на несколько экогрупп.
2. Стволовые нематоды – паразиты лиственных столь же важны, как гельминты хвойных. Однако, их патогенность оппортунистическая, что обусловлено динамичной ассоциацией трех патогенов: нематоды, гриба и жука-переносчика.
3. Экспериментально доказано, что виды рода *Bursaphelenchus* могут иметь собственную специфичность к природному растению-хозяину, которая не обусловлена предпочтениями переносчика.
4. У представителей рода *Bursaphelenchus* личинки особого трансмиссивного поколения, относящиеся к разным филогенетическим группам, отличаются друг от друга стадией развития, это обусловлено

специфичностью конкретной группы нематод к конкретному роду переносчиков.

СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. **Polyanina K.S.**, Ryss A.Y. Parameters of ontogeny and population dynamics modeling of *Panagrolaimus detritophagus* (Nematoda: Rhabditida) in vitro // Proceedings of the Zoological Institute RAS. – 2021. 325(1): 91–98 p. 10.31610/trudyzin/2021.325.1.91. DOI: 10.31610/trudyzin/2021.325.1.91.
2. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.** A model of the ontogenesis and population dynamics of saproxylic nematodes (on *Panagrolaimus detritophagus*) // Russian Journal of Nematology. – 2021. (29) 2: 195 p.
3. Ryss A. Y., **Polyanina K. S.** Life cycle and population dynamics of the *Rhabditolaimus ulmi* (Nematoda: Rhabditida: Diplogastridae) in vitro // Russian Journal of Nematology. – 2022. 30: 21–30 p. DOI: 10.24412/0869-6918-2022-1-21-30. DOI: 10.24412/0869-6918-2022-1-21-30.
4. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.**, Popovichev, B.G., Subbotin, S.A. Description of *Bursaphelenchus ulmophilus* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchinae) associated with Dutch elm disease of *Ulmus glabra* Huds. in the Russian North West // Nematology. – 2015. 17: 685–703 p. DOI: 10.1163/15685411-00002902.
5. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.** Diagnostics of the stages of post-embryonic development in *Bursaphelenchus ulmophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) // Паразитология. – 2017. 51: 466–480 p.
6. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.**, Petrov A.V., Sazonov A.A., Mandelshtam M.Y., Subbotin S.A. Reports of *Bursaphelenchus crenati* (Nematoda: Parasitaphelenchinae) from Belarus and Russia with a key and phylogeny of the *Sexdentati* group / // Forest Pathology. – 2018. 48: 1–38 p. DOI: 10.1111/efp.12534.

7. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.** Characterization of Juvenile Stages of *Bursaphelenchus crenati* Rühm, 1956 (Nematoda: Aphelenchoidoidea) // Journal of Nematology. – 2018. 50: 459–472 p. DOI: 10.21307/jofnem-2018-042.
8. 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 // Паразитология. – 2018. 52: 32–40 p.
9. **Polyanina K.S.**, Mandelshtam M.Y., Ryss A.Y. Brief Review of the Associations of Xylobiont Nematodes with Bark Beetles (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) // Entmol. Rev. – 2019. 99: 598–614 p. DOI: 10.1134/S0013873819050038.
10. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.**, Álvarez-Ortega S., Subbotin S.A. Morphology, development stages and phylogeny of the *Rhabditolaimus ulmi* (Nematoda: Diplogastridae), a phoront of the bark beetle *Scolytus multistriatus* from the elm *Ulmus glabra* Huds. in Northwest Russia // Journal of Nematology. – 2021. 53: 1–41 p. DOI: 10.21307/jofnem-2021-025.
11. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.** Life cycle and population dynamics of *Bursaphelenchus willibaldi* (Nematoda: Rhabditida: Aphelenchoididae) in vitro // Nematology. – 2022. 24(2): 29 p. (акцептирована 06-08-2021).

Тезисы докладов на конференциях

1. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.**, Popovichev B.G. Mycotrophic plant parasitic nematodes as a threat to the forests and parks of the Russian Federation." The Kataev Memorial Readings – VIII. Pests and Diseases of Woody Plants in Russia // The Kataev Memorial Readings – VIII. Pests and Diseases of Woody Plants in Russia / Proceedings of the International Conference. Saint Petersburg (Russia), November 18–20, 2014 / D. L. Musolin and A. V. Selikhovkin (eds.). Saint-Petersburg, Russia: Saint-Petersburg State Forest Technical University. DOI: 10.13140/2.1.4585.6324.
2. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.** Nematode impact in the Dutch elm disease in NW Russia: entomophilic dauers in *Scolytus* spp. and their adult stages in wood //

Eleventh International Symposium of the Russian Society of Nematologists, 6–11 July, 2015. Cheboksary, Russia. Russian Journal of Nematology. 23 (2): 167 p.

3. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.** Xylobiont nematodes parasitizing elm *Ulmus glabra* in parks of St. Petersburg, Russia // Eleventh International Symposium of the Russian Society of Nematologists, 6-11 July, 2015. Cheboksary, Russia. Russian Journal of Nematology. 23 (2): 168 p.

4. **Polyanina K.S.**, Popovichev B.G., Ryss A.Y. Elm wood nematodes as a threat to the urban woody plantations in the Russian North-West: the laboratory tests of woody plant host range and pathogenicity // The Kataev Memorial Readings – IX. Dendrobiotic Invertebrates and Fungi and their Role in Forest Ecosystems At: Saint Petersburg State Forest Technical University, Saint Petersburg, Russia Volume: Proceedings of the International Conference. 2016. 90–91 p.

5. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.** Saproxylic nematodes of elm and their associations with insect vectors // Twelfth International Symposium of the Russian Society of Nematologists “Nematodes and other Ecdysozoa under the growing ecological footprint on ecosystems”. Nizhny Novgorod, Russian Federation. 2017. 91–92 p.

6. Ryss A.Y., **Polyanina K.S.**, Skryabina M.D. Wood nematodes with polyxenic life cycles are the possible wilt causative agents of two deciduous woody plant species // Contemporary parasitology — major trends and challenges Proceedings of the VI Congress of the Society of Parasitologists, Russia: International Conference, October 15–19, 2018, Saint Petersburg. 211 p.

7. **Полянина К.С.**, Субботин С.А., Сазонов А.А., Звягинцев А.В. Петров В.Б., Мандельштам М.Ю., Рысс А.Ю. Нематофауна вилта ясеня *Fraxinus excelsior* L. и обнаружение ясеневое бурсафеленха *Bursaphelenchus crenati* Rühm (Nematoda: Aphelenchoididae) в России и Беларуси // X Чтения памяти О. А. Катаева: Санкт-Петербург, 2018. Санкт-Петербург. 84 с. DOI: 10.21266/SPBFTU.2018.KATAEV.1

8. Рысс А.Ю., Полянина К.С., Скрыбина М.Д. Стволовые нематоды лиственных деревьев: цикл развития и специфичность к растениям-хозяевам // Доклады Международной научной конференции, посвященной 75-летию Центра паразитологии и 140-летию со дня рождения академика К.И. Скрыбина. Москва. – 2018. 216 с.
9. Полянина К.С., Рысс А.Ю. Трансмиссивные нематодозы древесных растений // Отчётная научная сессия ЗИН РАН по итогам работ 2018 г. Санкт-Петербург. 31–33 с.
10. Polyanina K.S., Ryss A.Y. Life cycles of xylobiotic nematodes with special reference to three species parasitizing deciduous trees // Nematodes and other Ecdysozoa under changing environments. Abstracts of 13th International Nematological Symposium, 2019. Petrozavodsk, Russia. 63–65 p.
11. Polyanina K.S., Ryss A.Y. *Rhabditolaimus ulmi* (Nematoda: Diplogastridae) – a symbiotic phoront of the bark beetle *Scolytus multistriatus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) from the elm *Ulmus glabra* in north-western Russia // Dendrobiotic Invertebrates and Fungi and their Role in Forest Ecosystems. The Kataev Memorial Readings – XI / Proceedings of the All-Russia conference with international participation. Saint Petersburg (Russia), November, 24–27, 2020. 259–260 p.
12. Полянина К.С., Рысс А.Ю. Нематоды, ассоциированные с голландской болезнью ильмовых *Ulmus* spp. и ее переносчиками *Scolytus* spp.: жизненные циклы и модели динамики популяции // Отчётная научная сессия ЗИН РАН по итогам работ 2020 – 2021 г. Санкт-Петербург.
13. Рысс А.Ю., Полянина К.С. Параметры онтогенеза и популяционных циклов у четырех модельных видов сапроксильных нематод лесных и парковых экосистем // Материалы XIX Всероссийского совещания по почвенной зоологии: Биота, генезис и продуктивность почв. 15–19 августа 2022 г., Улан-Удэ. 140–141 с.
14. Полянина К.С., Рысс А.Ю. Изучение онтогенеза и популяционных циклов ксилобионтных нематод // VIII Всероссийская конференция с

международным участием «Школа по теоретической и морской паразитологии». 12–16 сентября 2022. Севастополь, ФИЦ ИнБЮМ

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Губина В.Г. Нематоды хвойных пород // М., Наука. – 1980. 1–189 с.
2. Кулинич О.А., Тюльдюков П.В., Козырева Н.И. Фитопаразитические нематоды, имеющие карантинное значение для России и других стран мира // Защита растений. – 2003. 24-28 с.
3. Курашвили Б.Е., Какулия Г.А., Девдариани Ц.Г. Паразитические нематоды короедов Грузии // Тбилиси: «Мецниѐреба». – 1980. 1–172 с.
4. Шестеперов А.А., Савотиков Ю.Ф. Карантинные фитогельминтозы // М., Колос. – 1995. 1: 1–463 с.
5. Arbuzova E.N., Kulinich O.A., Mazurin E.S., Ryss A.Y., Kozyreva N.I., Zinovieva S.V. Pine wilt disease and possible causes of its incidence in Russia // Biology Bulletin. – 2016. 43(4): 300-306 p.
6. Arbuzova E.N., Kulinich O.A., Chalkin A.A., Volker W., Magomedov R.K., Mordkovich Y.B., Kozyreva N.I., Ryss A.Y. Efficacy of ethanedinitrile fumigant application against the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchidae), in pine logs // Russian Journal of Nematology. – 2020. 28 (1): 71–78 p.
7. Arbuzova E.N., Kulinich O.A., Chalkin A.A., Kozyreva N.I., Ryss A.Y. Fumigation of pine logs with ethanedinitrile against pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* // International Symposium IUFRO on Pine Wilt Disease “PWD2020” 22-26th November 2021. INRAE, Orléans France. Webinar. Book of Abstracts. Christelle Robinet et al. (Eds.) INRAE, Orléans, France.
8. Bergdahl D.R. Impact of pinewood nematode in North America: present and future // J. Nematol. – 1988. V. 20: 260–265 p.
9. Ferraz L.C.C. B., Brown D.J.F. An introduction to nematodes: Plant nematology // Pensoft, Sofia Moscow. 2002. 1–221 p.

10. Fuchs A.G. Neue parasitische und halbparasitische Nematoden bei Borkenkäfern und einige andere Nematoden. I. Teil die Parasiten der Waldgartner *Myelophilus piniperda* L. und minor Hartig und die Genera *Rhabditis* Dujardin, 1845 und *Aphelenchus* Bastian, 1865 // Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik, Oekologie und Geographie der Tiere, Jena. – 1937. 70: 291–380 p.
11. Gu J., Tomalak M., He J., Fang Y. *Bursaphelenchus crenati* Rühm, 1956 (Tylenchina: Aphelenchoididae), a nematode associated with the Greater ash bark beetle, *Hylesinus crenatus* Fabricius, in dying ash, *Fraxinus excelsior* L., in Europe // Nematology. – 2017. 19, 413–426 p.
12. Huelsenbeck J. P., Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // Bioinformatics. – 2001. 17: 754–755 p.
13. Kanzaki N., Giblin-Davis R. M. Phylogenetic status and morphological characters of *Rhabditolaimus anoplophorae* (Rhabditida: Diplogastridae) // Journal of Nematology. – 2014. 46:44–9 p.
14. Kiontke K., Barrière A., Kolotuev I., Podbilewicz B., Sommer R., Fitch D. H. A., Félix M.A. Trends, stasis, and drift in the evolution of nematode vulva development // Current Biology. – 2007. 17:1925–37 p.
15. Kulinich O.A., Arbuzova E.N., Chalkin A.A., Kozyreva N.I., Ryss A.Y. Recent research on pine wood nematode in Russia // International Symposium IUFRO on Pine Wilt Disease “PWD2020” 22-26th November 2021. INRAE, Orléans France. Webinar. Book of Abstracts. Christelle Robinet et al. (Eds.) INRAE, Orléans, France.
16. Kulinich O.A., Arbuzova E.N., Magomedov U.Sh., Kozyreva N.I., Mazurin E.S., Kolychikhina M.S., Ryss A.Y. Recent Research on Pine Wilt Disease in Russia // Berichte aus dem Julius Kuhn Institute. – 2013. 169: 54-55 p.
17. Kulinich O.A., Arbuzova E.N., Magomedov U.Sh., Kozyreva N.I., Mazurin E. S., Kolychikhina M.S., Ryss A.Y. Recent Research on Pine Wilt Disease in Russia // FP7 EU-Research Project ReFRAME. Pine Wilt Disease Conference, 15-18 October, 2013. Abstracts. Berichte aus dem Julius Kuhn Institute, 169: 54-55 p.

18. Kulinich O.A., Chalkin A.A., Ryaskin D.I., Petrov A.V., Arbuzova E.N., Kozyreva N.I., Ryss A.Y. Bark beetles as potential vectors of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Bühner) Nickle in Russia." Сборник трудов конференции. The 14 th International Nematological Symposium of the Russian Society of Nematologists. Abstracts of the papers presented at the Symposium. S.E. Spiridonov, V. V. Yushin, A. Yu. Ryss (Eds). Jaroslavl, Russia, 1-6 August, 2021. 24 p.
19. Massey C.L. *Omemea maxbassiensis* n. gen., n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) from galleries of the bark beetle *Lepersinus californicus* Sw. (Coleoptera: Scolytidae) in North Dakota // Journal of Nematology. – 1971. 3 (3): 289–291 p.
20. Polyanina K.S., Mandelshtam M.Y., Ryss A.Y. Brief Review of the Associations of Xylobiont Nematodes with Bark Beetles (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) //Entmol. Rev. – 2019. 99: 598–614 p.
21. Ruehle J.L. Plant-parasitic nematodes associated with shortleaf pine showing symptoms of littleleaf // Plant Disease Rep. – 1962. 46:710–711 p.
22. Ruehle J.L. Nematodes of forest trees // In: «Economic nematology». L.; N. Y.: Acad, press. – 1972. 312–334 p.
23. Rühm W. Die Nematoden Der Ipiden // Parasitologische Schriftenreihe. – 1956. 6:1–435 p.
24. Рысс А.Ю. Корневые паразитические нематоды семейства Pratylenchidae (Tylenchida) мировой фауны. Л., Наука. – 1988. 368 с.
25. Ryss A.Y. The most simple techniques for detection and laboratory cultivation of woody plant wilt nematodes (in Russian with English summary) / Самые простые методы обнаружения стволовых нематод и их лабораторного культивирования // Izvestia Sankt-Peterburgskoj Lesotehnicheskoj Akademii. – 2015. 211: 287–295.
26. Ryss, A.Y. A Simple Express Technique to Process Nematodes for Collection Slide Mounts // Journal of nematology. – 2017a. 49: 27–32.

27. Ryss A.Y. The simplest "field" methods for extraction of nematodes from plants, wood, insects and soil, with additional description how to keep extracted nematodes alive for a long time // Паразитология. – 2017b. 51: 57–67 p.
28. Ryss A.Y., Boström S. *Geocenamus semicircularis* (Tylenchida: Belonolaimidae) from East Falkland Island in the Subantarctic and its taxonomic status // Russian Journal of Nematology. – 1995. 3:111–116 p.
29. Ryss A.Y., Chernetskaya A. Y. Life cycle of *Bursaphelenchus mucronatus* Mamiya et Enda, 1979 (Nematoda: Aphelenchida) // Паразитология. – 2009. 43: 206–224 p.
30. Ryss A.Y., McClure M.A., Nischwitz C., Dhiman C., Subbotin S.A. Redescription of *Robustodorus megadorus* with molecular characterization and analysis of its phylogenetic position within the family Aphelenchoididae // Journal of Nematology. – 2013. 45: 237–252 p.
31. Ryss A.Y., Polyanina K.S. Diagnostics of the stages of post-embryonic development in *Bursaphelenchus ulmophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) // Паразитология. – 2017. 51:466–480 p.
32. Ryss A.Y., Polyanina K.S. Characterization of Juvenile Stages of *Bursaphelenchus crenati* Rühm, 1956 (Nematoda: Aphelenchoidoidea) // Journal of Nematology. – 2018. 50:459–472 p.
33. Ryss A.Y., Polyanina K.S., Popovichev B.G., Subbotin S.A. Description of *Bursaphelenchus ulmophilus* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchinae) associated with Dutch elm disease of *Ulmus glabra* Huds. in the Russian North West // Nematology. – 2015. 17:685–703 p.
34. 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 / // Паразитология. – 2018. 52:32–40 p.
35. Ryss A.Y., Petrov A. Muscles of the male and female copulatory organs of *Bursaphelenchus mucronatus* and *Chiloplacus* sp. (Nematoda: Rhabditida) // Journal of Nematology. – 2022. 53:1–21 p.

36. Seinhorst J.W. On the killing, fixing and transferring to glycerin of nematodes // *Nematologica*. –1962. 8:29–32 p.
37. Seinhorst J.W. Killing nematodes for taxonomic study with hot f.a. 4:1 // *Nematologica*. – 1966. 12(1):178 –178a.
38. Seinhorst J.W. How small is a small drop of water? // *Nematologica*. – 1974. 19:121 p.
39. Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research // *Int. J. Epidemiol.* – 1985. 14: 389–395 p.
40. Staniland L. A Modification of the Baermann Funnel Technique for the Collection of Nematodes from Plant Material // *Journal of Helminthology*. – 1954. 28:115–117 p.
41. Statistica 8.0. StatSoft Inc. Tulsa, OK, USA. 1984 – 2007 (Software).
42. Stokland J.N., Siitonen, J., Jonsson, B.G. Biodiversity in Dead Wood. 2012.
43. Susoy V., Herrmann M. Validation of *Rhabditolaimus* Fuchs, 1914 (Nematoda: Diplogastridae) supported by integrative taxonomic evidence // *Nematology*. – 2012. 14:595–604 p.
44. Susoy V., Ragsdale R.J., Kanzaki N., Sommer R.J. Rapid diversification associated with a macroevolutionary pulse of developmental plasticity // *eLife*. – 2015. e05463.
45. Tanha Maafi T., Subbotin S.A., Moens M. Molecular identification of cyst-forming nematodes (Heteroderidae) from Iran and a phylogeny based on ITS-rDNA sequences // *Nematology*. – 2003. 5:99–111 p.
46. Yeates G.W., Bongers T., De Goede R.G.M., Freckman D.W., Georgieva S.S. Feeding habits in soil nematode families and genera an outline for soil ecologists // *Journal of Nematology*. – 1993. 25:315–31 p.