

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

На правах рукописи

Полянина Кристина Сергеевна

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

Специальность 1.5.17. Паразитология (биологические науки)

**Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук**

**Научный руководитель
доктор биологических наук
Рысс Александр Юрьевич**

Санкт-Петербург – 2023

Оглавление

Введение	5
Актуальность темы исследования	5
Степень разработанности темы исследования	5
Цель и задачи исследования	6
Научная новизна исследования	6
Теоретическое значение работы	7
Практическое значение работы	8
Основные положения, выносимые на защиту	8
Степень достоверности и апробация работы	9
Публикации	9
Структура диссертации	10
Благодарности	10
Глава 1 Обзор литературных данных.	11
1.1 Обзор ассоциаций ксилобионтных нематод с жуками-короедами	11
1.2 Основные морфологические структуры ксилобионтных нематод	31
1.3 Болезни ильмовых	33
1.4 Болезни ясеня	34
1.5 Болезни дуба	35
1.6 Симптоматика стадий заболеваний лиственных деревьев	36
1.7 Общая логическая структура исследования и главы «Результаты и обсуждение»	37
Глава 2 Материалы и методы	38
2.1 Материал и регионы сбора	38
2.2 Методы сбора	38
2.3 Методы экстрагирования и культивирования нематод	39
2.4 Методики фиксации и изготовления коллекционных препаратов	42
2.5 Методы конфокальной микроскопии	43
2.6 Молекулярно-генетические исследования	45

2.7 Методики экспериментов по популяционной динамике <i>in vitro</i>	46
2.8 Методики фитотестов	49
Глава 3 Результаты и обсуждение	52
3.1 Фауна и жизненные циклы ксилобионтных нематод ильмовых деревьев <i>Ulmus laevis</i> , и <i>U. glabra</i> , больных Голландской болезнью (ГБИ)	52
3.2 Фауна и жизненные циклы ксилобионтных нематод ясеня <i>Fraxinus excelsior</i> с симптомами суховершинности	103
3.3 Фауна и жизненные циклы ксилобионтных нематод дуба <i>Quercus robur</i> с симптомами вилта	129
3.4 Биология развития и популяционные модели нематод разной трофической специализации	138
3.5 Отношения паразит-хозяин: фитотесты.....	173
Заключение.....	178
Практические рекомендации по локализации очагов болезней древесных насаждений	180
Выводы	181
Условные обозначения	183
Список публикаций по теме диссертации	184
Список литературы	189
ПРИЛОЖЕНИЕ-1 Диагностические ключи и данные сборов нематод.....	205
Таблица ГИС и регионов всех точек сбора.....	205
Диагностический ключ к видам нематод вязов <i>Ulmus glabra</i> и <i>U. laevis</i>	208
Данные сборов ксилобионтной фауны больных вязов.....	211
Диагностический ключ к видам нематод ясеня <i>Fraxinus excelsior</i>	213
Данные сборов ксилобионтной фауны больных ясеней	215
Диагностический ключ к видам нематод дуба <i>Quercus robur</i>	217
Данные сборов ксилобионтной фауны больных дубов	221
ПРИЛОЖЕНИЕ-2 Атлас фотографий видов стволовых нематод	222
Нематоды ильмовых <i>Ulmus</i> spp.....	222
<i>Diploscapter coronatus</i>	223

<i>Laimaphelenchus deconincki</i>	224
<i>Sychnotylenchus ulmi</i>	225
<i>Mesodorylaimus brevicaudatus</i>	226
<i>Panagrolaimus scheucherae</i>	227
<i>Plectus acuminatus</i>	228
Нематоды ясеня <i>Fraxinus excelsior</i>	229
<i>Cephalobus persegnis</i>	230
<i>Laimaphelenchus penardi</i>	231
<i>Parasitorhabditis ateri</i>	232
<i>Panagrolaimus leperisini</i>	233
<i>Tylolaimophorus bulgaricus</i>	234
<i>Acrostichus pterygatus</i>	235
Нематоды дуба <i>Quercus robur</i>	236
<i>Mesorhabditis irregularis</i>	237
<i>Panagrolaimus rigidus</i>	238
<i>Anatonchus</i> sp.	239
<i>Aphelenchoides composticola</i>	240
<i>Panagrellus ventrodentatus</i>	241
<i>Filenchus uliginosus</i>	242
<i>Plectus makrodemas</i>	243
<i>Hexatylus pseudoobtus</i>	244
<i>Geomonhystera villosa</i>	245
<i>Laimaphelenchus hyrcanus</i>	246

Введение

Актуальность темы исследования

Фитонематоды наносят большой вред сельскому и лесному хозяйству по всему миру, десять видов включены в списки особо вредоносных карантинных организмов (Jones et al., 2013). 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 деревья – важный элемент насаждений и ресурс строительства и фармакологии. Защита насаждений подразумевает знание фауны фитогельминтов, их переносчиков и жизненных циклов.

Степень разработанности темы исследования

Фитогельминты древесных растений хорошо известны по исследованиям нематод хвойных (Fuchs, 1929, 1930, 1937; Rühm, 1956; Лазаревская, 1961, 1963; Губина, 1980; Коренченко, 1980, 1987; Курашвили и др., 1980; Ерошенко, Волкова, 1987; Круглик, 2002; Шестеперов 1995; Braasch et al., 2001; Кулинич и др., 2003). Большинство публикаций посвящено *Bursaphelenchus xylophilus*, патогену вилта сосны, внесенному в карантинные списки по всему миру и исключительно вредоносному (Ruehle, 1962, 1972; Bergdahl, 1988; Ferraz, Brown, 2002; Mota et al., 1999; Jones et al., 2008; Kulinich et al., 2013, 2021; Arbuzova et al., 2016, 2020, 2021). Но стволовым гельминтам лиственных деревьев России до сих пор практически не уделялось внимания, что обусловило цель нашего многолетнего (2014-2023) исследования фауны,

жизненных циклов и вредоносности стволовых нематод, паразитирующих в трех широко распространенных видах лиственных деревьев: вяза, ясеня и дуба.

Цель исследования – выявление нематофауны больных лиственных деревьев с особым вниманием к видам фитопатогенных нематод, ассоциированных с ксилобионтными жуками – переносчиками трансмиссивных болезней растений.

Задачи исследования:

1. Изучить фауну ксилобионтных нематод, классификация ассоциаций нематод с насекомыми для выявления группы настоящих или оппортунистических фитопатогенов; описание и переописание видов, видовая диагностика и выявление новых морфотаксономических признаков;
2. Проанализировать филогению стволовых нематод лиственных деревьев и эволюцию ассоциации ксилобионтных нематод с насекомым и растением-хозяином;
3. Изучить морфогенез и жизненные циклы ксилобионтных нематод, ассоциированных с жуками, выявить стадии трансмиссии жуком;
4. Изучить параметры онтогенеза и популяционной динамики ксилобионтных нематод;
5. Определить вероятность возникновения независимой от переносчика специфичности у фитопатогенных нематод к растениям-хозяевам;
6. Сформулировать практические рекомендации по локализации очагов болезней древесных насаждений.

Научная новизна исследования

1. Впервые выявлено, что в ассоциацию Голландской болезни вязов входят не только грибы рода *Ophiostoma* и жуки рода *Scolytus*, 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 гельминтов к роду или семейству переносчиков.

4. Впервые выявлены параметры онтогенеза и динамики популяции *in vitro* модельных видов фауны ксилобионтных нематод, разработаны формулы для характеристики экспоненциального роста числа самок и общей популяции нематод *in vitro*.

5. Впервые прослежены все стадии онтогенеза модельных видов ксилобионтных нематод, ассоциированных с жуками, от кладки яйца половозрелой самкой до половозрелых особей.

Теоретическое значение работы

Исследование вносит вклад в познание практически не изученной в России фауны стволовых нематод лиственных деревьев и может быть основой для мониторинга инфекций лесных и парковых насаждений. Результаты важны для глубокого понимания эволюции жизненных циклов энтомохорных стволовых нематод, разнообразия их трансмиссивных стадий, разработку математических моделей роста популяций. Впервые доказана двойственность специфичности энтомохорных нематод как к хозяевам, так и к переносчикам, что вносит вклад в понимание причин сложных ассоциативных связей паразитов и происхождения их поликсенных циклов.

Практическое значение работы

1. Составлен атлас видов ксилобионтных нематод из лиственных древесных растений с симптомами вилта и суховершинности и краткие диагностические ключи.
2. Разработана диагностика стадий онтогенеза ксилобионтных нематод, включая трансмиссивных дауер-личинок и стадий диапаузы.
3. Разработана методика постановки фитотестов в лабораторных условиях для выявления специфичности нематод к природному растению-хозяину.
4. Предложена методика экспериментов по выявлению параметров онтогенеза нематод и цикла популяции *in vitro*, что позволяет оценить скорость размножения и время заселения ствола популяцией патогена.
5. На основании обзора взаимоотношений ксилобионтных нематод с жуками-короедами предложена классификация ассоциаций семейств нематод с жуками-короедами, что позволяет выделить патогенную энтомохорную группу среди ксилобионтной нематофауны.
6. Предложены практические рекомендации по локализации очагов болезней древесных насаждений.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Фауну нематод лиственных деревьев России составляют виды сем. Aphelenchoididae, Panagrolaimidae, Diplogastridae, Rhabditidae, сгруппированные по новой авторской классификации типов ассоциаций «нематода-насекомое-растение». Наибольшим инфекционным потенциалом обладает энтомохорная группа нематод, которая включает 10 патогенов, ранее не зарегистрированных в РФ.
2. Для диагностики ксилобионтных нематод эффективны вновь выявленные с помощью конфокальной микроскопии и СЭМ структуры копулятивного аппарата и папилл.
3. Модели роста популяций нематод дают возможность оценить скорости заселения деревьев ассоциациями с участием нематод.

4. Специфичность нематод патогенного р. *Bursaphelenchus* двойственная: а) к переносчику; б) к природному растению-хозяину, независимо от переносчика. В разных филогенетических группах *Bursaphelenchus* трансмиссивные личинки отличаются стадией развития, что обусловлено эволюцией паразитарной специфичности к переносчикам.

5. Динамичная ассоциация трех патогенов: нематоды, гриба и жука-переносчика обуславливает оппортунистическую патогенность стволовых гельминтов лиственных деревьев, зависимую от переносчика и гриба; например, ассоциация Голландской болезни вязов (ГБИ) включает не только грибы р. *Ophiostoma* и жуков р. *Scolytus*, но и нематод р. *Bursaphelenchus*.

Степень достоверности и апробация работы

Основные положения и результаты диссертационного исследования 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 Всероссийских конференциях 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. Скрыбина (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 12 научных статей в рецензируемых журналах списка ВАК.

Структура диссертации

Работа состоит из введения, 3 глав: обзор литературных данных, материалы и методы, результаты и обсуждение (включает в себя 5 разделов исследования), а также заключения, выводов, списка литературы из 158 источников (31 на русском языке). Основная часть работы изложена на 183 страницах, содержит 67 рисунков и 29 таблиц. Два приложения (49 стр.) к работе содержат 4 таблицы и 22 иллюстрации.

Благодарности

Благодарю моего научного руководителя Александра Юрьевича Рысса за поддержку на всех этапах обучения, ценные советы, конструктивную критику, помощь в разработке экспериментов, написании статей и подготовке диссертации. Благодарю моих соавторов С.А. Субботина, М.Ю. Мандельштама, И.А. Керчева, А.А. Сазонова, Б.Г. Поповичева, а также С.Г. Медведева и А.А. Петрова, А.И. Соловьеву за обучение и приборную базу; О.Н. Кулинича, В.Б. Звягинцева, А.А. Чалкина, М.В. Мокроусова, Л.Г. Серую, С.А.Кривец, Е.А.Жукову и К.В. Регель за помощь в сборах и материалы; К.В. Галактионова и коллег лаборатории по изучению паразитических червей и протистов, руководителей биостанций ЗИН РАН Н.С. Чернецова и А.А. Сухотина и сотрудников за всестороннее содействие. В работе использована коллекция нематод УФК ЗИН РАН и оборудование ЦКП «Таксон».

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

Глава 1 Обзор литературных данных

1.1 Обзор ассоциаций ксилобионтных нематод с жуками-короедами

Нематоды способны вызывать вилт и суховершинность как хвойных, так и лиственных пород деревьев. Переносчиками нематод выступают жуки-усачи (Coleoptera: Cerambycidae) и короеды (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), распространяющие трансмиссивные личиночные стадии этих паразитов во время дополнительного питания после вылета из куколочной камеры или при яйцекладке на растениях-хозяевах. Жуки разносят нематод комплектом вместе с фитопатогенными грибами и бактериями (в нематангиях и микангиях), а нематоды способствуют инфекционному распределению микроорганизмов по стволу при заселении дерева. Фито-микопаразиты с энтомохорной трансмиссией в жизненном цикле образуют ассоциации с патогенами-синергистами – грибами и бактериями, которые приводят живые древесные растения к гибели. Это особая энтомохорная экогруппа, включающая патогенных фито-микопаразитов и бактериотрофов-комменсалов. Другие виды нематод являются участниками процесса разложения мертвой древесины и их таксономический состав на уровне родов и семейств идентичен нематодам детритной пищевой сети в почве, для которой уже имеется классификация почвенных экологов по принципу гильдий (сочетания типа питания и стадии *c-p* шкалы по Ferris et al., 2001). Еще одна экогруппа объединяет эндопаразитов насекомых, снижающих плодовитость хозяев; эта группа перспективна для биоконтроля эпифитотий. Опубликованы сводки по нематодам, ассоциированным с короедами хвойных (Fuchs, 1929, 1930, 1937; Rühm, 1956; Massey, 1971; Kanzaki, 2008; Кулинич и др., 2003), однако нематодам лиственных пород деревьев уделено недостаточно внимания. Это определило выбор темы диссертации.

Изучение фауны ксилобионтных нематод больных деревьев имеет важное практическое значение, а одним из главных аспектов в понимании структуры нематофауны являются отношения энтомохорных нематод с жуком.

Систематизация типов отношений в ассоциациях «жук – нематода – растение-хозяин» является важной для практических целей, а именно для диагностики и контроля вредителей древесных растений. Ассоциации нематод, жуков-переносчиков и их симбионтов – бактерий и грибов – 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). Необходим мониторинг и систематизация публикаций, связанных с нематодами и их переносчиками в России и сопредельных странах. К классическим сводкам (Fuchs, 1937; Rühm, 1956; Massey, 1971; Курашвили и др., 1980) добавились новые сведения о находках стволовых нематод из лесных и парковых насаждений с симптомами болезней деревьев (Braasch et al., 2001; Kim, Robbins, 2008; Kanzaki et al., 2011; Grucmanova et al., 2013; Kanzaki et al., 2015; 2018 и др.).

В нашем обзоре предпринята попытка создания сводки по мировой фауне нематод-хвойных и лиственных деревьев России и сопредельных стран. Были рассмотрены и обобщены сведения о типах ассоциаций нематод, связанных с короедами Coleoptera: Curculionidae и усачами Cerambycidae, хвойных деревьев и лиственных деревьев (мировая фауна).

Жуки переносят инвазионных личинок нематод во время дополнительного питания или яйцекладки. Помимо фитопатогенных нематод, с короедами связаны транспортируемые ими микотрофы и бактериотрофы и собственно паразиты короедов. Предложена классификация из 10 экологических групп ксилобионтных нематод, ассоциированных с короедами: 1. Свободноживущие нематоды – Факультативные форонты (бактериотрофы; микотрофы; хищники). 2. Эктофоронты облигатные (эктофоронты: микотрофы и фито-микотрофы; эктофоронты-хищники). 3. Эндопаразиты гемоцеля или кишечника (паразиты

кишечника короедов; паразиты гемоцеля: паразиты гемоцеля на стадии личинки; половозрелые паразиты гемоцеля).

Дана суммарная таблица для обнаруженных видов с полями: вид нематоды, вид переносчика, семейство и вид растения, страна и регион, источник. Рассмотрено 55 видов из 15 родов (Таблица 3, 4). Параллельно с оригинальной классификацией для сравнения дана классификация группы родов нематод детритной пищевой сети по Феррис и др. (Ferris et al., 2001).

В обзоре выделены ассоциации нематод по степени связи с насекомым (переносчиком или хозяином). Данные обзора с характеристикой экотипов нематод представлены в Таблице 1 (мировая фауна) и Таблице 2 (оригинальные данные находок диссертационного исследования). В таблицы, кроме фитопатогенов, включены энтомопаразиты, как потенциальные антагонисты переносчиков (*Deladenus* spp., *Parasitorhabditis* spp.), рассмотрены перспективы использования этих нематод как объекта биоконтроля насекомых-вредителей.

Таблица 1 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> ; <i>C. typographi</i> <i>Neoditylenchus petithi</i> <i>Neoparasitylenchus hylastis</i>	Облигатные эндопаразиты, личинки и половозрелые в гемоцеле жука <i>C. typographi</i> рекомендованы как агенты биоконтроля <i>Ips typographus</i> Эктофоронты, дауеры локализуются на поверхности тела жука, между сегментами и под элитрами 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> <i>Sulphuretylenchus kleinei</i>	Облигатные эндопаразиты, паразитируют в жировом теле и гемоцеле жука 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,

<i>Laimaphelenchus deconincki</i>	в трахеях и в мальпигиевых сосудах; половозрелые особи – свободноживущие микотрофы
<i>Ruehmaphelenchus juliae</i>	Личинки в дыхальцах метаторакса, взрослые питаются мхами и водорослями
<i>Tylaphelenchus georginsis</i>	Форезируемые насекомым на стадии личинки, взрослые – свободноживущие хищники
Подсем. EKTAPHELENCHINAE	Эктофоронты короедов на стадии дауера
<i>Ektaphelenchus scolyti</i>	Форезия личинок под элитрами, взрослые в заболони
<i>Cryptaphelenchus</i> sp.	Дерева
<i>C. bicoloris</i>	Форезия личинок и половозрелых особей под элитрами, в трахеях и мальпигиевых сосудах, половозрелые особи в гниющей флоэме
Подсем. PARASITAPHELENCHINAE	Облигатные эндопаразиты, 3 стадии паразитируют в мальпигиевых сосудах
<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. tryphloei</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. typographi</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. ulmophilus</i>	Возможный возбудитель голландской болезни вяза
<i>B. wekuae</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>B. xerokarterus</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
<i>Devibursaphelenchus teratospicularis</i>	Дауеры - эктофоронты короедов
Подсем. PARASITAPHELENCHINAE	
<i>Parasitaphelenchus frontalis</i>	Эндопаразиты в гемоцеле жука на стадии личинки,

<i>P. gyeongbukensis</i> <i>P. oldhami</i>	половозрелые особи – свободноживущие микотрофы в ходах жуков Эндопаразиты в полости тела жука на стадии личинки Эндопаразиты в полости тела жука на стадии личинки
Сем. CYLINDROCOPORIDAE	
<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 ater</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 pseudobtus</i>)	Половозрелые самки эндопаразиты в гемоцеле жука Половозрелые самки эндопаразиты в гемоцеле жука, личинки покидают хозяина через ректум; два поколения: энтомопаразитическое и микотрофное
Сем. SYCHNOTYLENCHIDAE	
<i>Sychnotylenchus intricati</i> <i>S. ulmi</i>	Эктопаразит, локализуется под элитрами Личинки 3-й стадии локализуются под элитрами

Примечание. * см. Примечание к Таблице 22

Таблица 2 Экологические группы ксилобионтных нематод, связанных с жуками-короедами (Polyanina et al., 2019)

Экогруппа по типу ассоциации с насекомыми (переносчиками или хозяевами) (Polyanina et al., 2019)	Таксоны нематод	Экогруппа по Ferris et al., 2001
1. Свободноживущие нематоды – факультативные форонты (Fl)		
1.1. Бактериотрофы (Fl-Ba)*	сем. Rhabditiidae, Cephalobidae.	Ba
1.2. Микотрофы (Fl-Fu)	Виды рода <i>Laimaphelenchus</i> (сем. Aphelenchoididae).	Fu
1.3. Хищники (Fl-Ca)	Виды рода <i>Micoletzkyia</i> (сем. Neodiplogastridae).	Ca
2. Эктофоронты облигатные (Ec)*		
2.1. Бактериотрофы-энтомо-комменсалы (Ec-Co)	Diplogastridae, Panagrolaimidae	Ba
2.2. Эктофоронты: микотрофы (Ec-Fu) и фито-микотрофы (фитопаразиты) (Ec-Fup)	Все виды родов <i>Bursaphelenchus</i> , <i>Devibursaphelenchus</i> , <i>Cryptaphelenchus</i> некоторые виды <i>Aphelenchoides</i> (сем. Aphelenchoididae)**	Fup
2.3. Эктофоронты-хищники (Ec-Ca)	Виды родов <i>Ektaphelenchus</i> и <i>Ruehmaphelenchus</i> (сем. Aphelenchoididae)	Ca
3. Эндopаразиты гемоцеля или кишечника (En)		
3. 1. Паразиты кишечника короедов (En-Int)	Виды рода <i>Parasitorhabditis</i> (сем. Rhabditiidae)	Ba, EPN
3.2. Паразиты гемоцеля (En-Nem)		
3.2.1. Паразиты гемоцеля на стадии личинки (En-Nem-jj)	Виды рода <i>Parasitaphelenchus</i> (сем. Aphelenchoididae)***	Fup, EPN
3.2.2. Половозрелые паразиты гемоцеля (En-Nem-ad).	Виды рода <i>Deladenus</i> и других родов (сем. Sphaerulariidae), а также родов <i>Contortylenchus</i> , <i>Neoparasitylenchus</i> и <i>Sulphuretylenchus</i> (сем. Allantonematidae)	Fup, EPN

* См. «Условные обозначения».

** Форезия на стадии дауер-личинки. Нематангии – плотные сухие скопления дауеров *Bursaphelenchus* и *Cryptaphelenchus*.

*** *Parasitaphelenchus* произошел от общего предка с *Bursaphelenchus* (Hunt, 1993; Ryss et al., 2005; Рысс, 2009), за счет проникновения дауеров в гемоцель через трахеи и покровы насекомого.

Таблица 3 Нематоды, обитающие в тканях хвойных видов деревьев в России и сопредельных странах (отряд Rhabditida)

Вид нематоды	Вид переносчика	Семейство и вид растения	Страна и регион	Источник
Сем. ALLANTONEMATIDAE <i>Contortylenchus cunicularii</i> (Fuchs, 1929) <i>C. typographi</i> (von Linstow, 1890) Rühm, 1956	<i>Hylastes ater</i> Paykull, 1800 <i>Ips typographus</i> Linnaeus, 1758	Pinaceae Pinaceae: <i>Picea orientalis</i> L.	Абхазия Грузия: Боржомское ущелье	Курашвили и др., 1980 Burjanadze et al., 2015
<i>Neoparasitylenchus hylastis</i> (Wulker, 1923)	<i>Hylastes ater</i> Paykull, 1800	Pinaceae	Абхазия	Курашвили и др., 1980
<i>Sulphuretylenchus kleinei</i> Rühm, 1956 Сем. APHELENCHOIDIDAE	<i>Hylastes ater</i> Paykull, 1800	Pinaceae	Абхазия	Курашвили и др., 1980
Подсем. EKTAPHELENCHINAE				
<i>Cryptaphelenchus</i> sp.	<i>Pityogenes chalcographus</i> (Linnaeus, 1761)	Pinaceae: <i>Picea abies</i> L.	Россия: Нижегородская обл.	Рысс, Мокроусов, 2014, 2015; Ryss, Mokrousov, 2017; данные сборов А. Ю. Рысса и М. В. Мокроусова 2014–2016 гг. в коллекции ЗИН
<i>Cryptaphelenchus</i> spp.	<i>Ips acuminatus</i> (Gyllenhal, 1827)	Pinaceae: <i>Pinus sylvestris</i> L.	Россия: Нижегородская обл.	Рысс, Мокроусов, 2014, 2015; Ryss, Mokrousov, 2017; данные сборов А. Ю. Рысса и М. В. Мокроусова 2014–2016 гг. в коллекции ЗИН
Сем. APHELENCHOIDIDAE				
Подсем. PARASITAPHELENCHINAE <i>Bursaphelenchus borealis</i> Korentchenko,	<i>Ips subelongatus</i> (Motschulsky, 1860)	Pinaceae: <i>Larix dahurica</i> Turcz. ex Trautv.	Россия: Магадан	Коренченко, 1980

1980				
<i>B. eggersi</i> Rühm, 1956	<i>Hylurgops palliatus</i> (Gyllenhal, 1813)	Pinaceae: <i>Picea orientalis</i> L.	Грузия	Какулия, Маглакелидзе, 1973
		<i>Abies</i> sp., <i>Larix</i> sp., <i>Picea orientalis</i> L., <i>Pinus cedrus</i> L.	Грузия	Курашвили и др., 1980; Mikaia et al., 2010
<i>B. eidmanni</i> Rühm, 1956 (Goodey, 1960)	<i>Ips typographus</i> Linnaeus, 1758	<i>Abies</i> sp., <i>Larix</i> sp., <i>Picea orientalis</i> L., <i>Pinus cedrus</i> L., <i>P. sosnowskyi</i> Nakai	Грузия	Курашвили и др., 1980
<i>B. erosus</i> Kurashvili, Kakulia et Devdariani, 1980	<i>Orthotomicus erosus</i> (Wollaston, 1857)	<i>Abies</i> sp., <i>Picea orientalis</i> L., <i>Pinus sosnowskyi</i> Nakai	Грузия	Курашвили и др., 1980
<i>B. idius</i> Rühm, 1956	<i>Pityogenes chalcographus</i> (Linnaeus, 1761)	Pinaceae: <i>Pinus</i> sp.	Грузия	Курашвили и др., 1980
<i>B. paracorneolus</i> Braasch, 2000	<i>Ips typographus</i> Linnaeus, 1758	Pinaceae: <i>Picea abies</i> L., <i>P. sylvestris</i> L., <i>Larix sibirica</i> Ledeb.	Россия: Иркутская обл.	Braasch et al., 2001; Кулинич, Рысс, 2006
<i>B. piniperdae</i> Fuchs, 1937	<i>Tomicus piniperda</i> (Linnaeus, 1758) (= <i>Blastophagus piniperda</i> (Linnaeus, 1758))	Pinaceae: <i>Picea orientalis</i> L.	Грузия	Курашвили и др., 1980
<i>B. sexdentati</i> Rühm, 1960	<i>Ips sexdentatus</i> (Börner, 1776)	Pinaceae: <i>Picea orientalis</i> L., <i>Pinus sosnowskyi</i> Nakai	Грузия	Курашвили и др., 1980

<i>B. typographi</i> (Kakulia, 1967) Ebsary, 1991	<i>Ips typographus</i> Linnaeus, 1758	Pinaceae: <i>Picea orientalis</i> L.	Грузия	Какулия, 1967
Сем. NEODIPLOGASTRIDAE <i>Micoletzky thalenhorsti</i> (Ruhm, 1956)	<i>Hylastes ater</i> Paykull, 1800	Pinaceae	Абхазия	Курашвили и др., 1980
Сем. PANAGROLAIMIDAE <i>Panagrolaimus dendroctoni</i> (Fuchs, 1932)	<i>Ips typographus</i> Linnaeus, 1758	Pinaceae: <i>Picea orientalis</i> L.	Грузия	Курашвили и др., 1980
Сем. RHABDITIDAE <i>Parasitorhabditis ateri</i> (Fuchs, 1937)	<i>Hylastes ater</i> Paykull, 1800	Pinaceae	Абхазия	Курашвили и др., 1980

Таблица 4 Мировая фауна нематод, обитающих в тканях лиственных видов деревьев (отряд Rhabditida)

Вид нематоды	Вид переносчика	Семейство и вид растения	Страна и регион	Источник
Сем. ALLANTONEMATIDAE				
<i>Neoditylenchus petithi</i> (Fuchs, 1938) Meyl, 1961	<i>Hylesinus crenatus</i> (Fabricius, 1787)	Oleaceae: <i>Fraxinus</i> sp.	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977
<i>Neoparasitylenchus scolyti</i> (Oldham, 1930)	<i>Scolytus scolytus</i> Fabricius, 1775	Ulmaceae: <i>Ulmus foliacea</i> Gilib.	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977
Сем. APHELENCHOIDIDAE				
Подсем. APHELENCHOIDINAE				
<i>Aphelenchoides</i> sp.	<i>Scolytus multistriatus</i> (Marsham, 1802)	Ulmaceae: <i>Ulmus glabra</i> Huds.	Россия: Санкт-Петербург	Ryss, Polyanina, 2015a
<i>Laimaphelenchus deconincki</i> Elmiligy	<i>Scolytus multistriatus</i> (Marsham, 1802)	Ulmaceae: <i>Ulmus glabra</i> Huds.	Россия: Санкт-Петербург	Ryss, Polyanina, 2015a

et Geraert, 1972				
<i>Ruehmaphelenchus juliae</i> Kanzaki, Giblin-Davis, Gonzalez, Duncan et Carrillo, 2015	<i>Xylosandrus crassiusculus</i> (Motschulsky, 1866)	Lauraceae: <i>Persea</i> <i>americana</i> Mill.	США: южная Флорида	Kanzaki et al., 2015
<i>Tylaphelenchus georginsis</i> Devdariani, 1970	<i>Taphrorychus villifrons</i> Dufour	Fagaceae: <i>Fagus</i> sp. Betulaceae: <i>Carpinus</i> sp.	Грузия	Девдариани, 1970
Подсем. EKTAPHELENCHINAE				
<i>Cryptaphelenchus bicoloris</i> Devdariani, 1971	<i>Taphrorychus bicolor</i> (Herbst, 1793)	Fagaceae: <i>Fagus orientalis</i> Lipsky, <i>Quercus petraea</i> subsp. <i>iberica</i> (Steven ex M. Bieb.) Krassiln. (= <i>Quercus iberica</i> Steven ex M. Bieb.)	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977
<i>Cryptaphelenchus</i> sp.	<i>Scolytus intricatus</i> (Ratzeburg, 1837)	Fagaceae: <i>Quercus robur</i> L.	Россия: Чувашия	Рысс, Мокроусов, 2014, 2015; Ryss, Mokrousov, 2017; данные сборов А. Ю. Рысса и М. В. Мокроусова 2014–2016 гг. в коллекции ЗИН
<i>Cryptaphelenchus</i> sp.	<i>Ernoporus tiliae</i> (Panzer, 1793)	Malvaceae: <i>Tilia cordata</i> Mill.	Россия: Чувашия	Рысс, Мокроусов, 2014, 2015; Ryss, Mokrousov, 2017; данные сборов А. Ю. Рысса и М. В. Мо- кроусова 2014–2016 гг. в коллекции ЗИН

<i>Ektaphelenchus scolyti</i> Rühm, 1956	<i>Scolytus multistriatus</i> (Marsham, 1802)	Ulmaceae: <i>Ulmus</i> sp.	Грузия	Курашвили и др., 1980
Подсем. PARASITAPHELENCHINAE <i>Bursaphelenchus clavicauda</i> Kanzaki, Maehara et Masuya, 2007	<i>Cryphalus</i> sp.	Fagaceae: <i>Castanopsis cuspidate</i> (Thunb.) Schottky	Япония: Исигаки, Окинава	Kanzaki et al., 2007
<i>B. crenati</i> Rühm, 1956 (Goodey, 1960)	<i>Hylesinus crenatus</i> (Fabricius, 1787)	Oleaceae: <i>Fraxinus excelsior</i> L.	Россия: Ленинградская и Воронежская области, Белоруссия	Ryss, Polyanina, 2018; Полянина и др., 2018; Рысс и др., 2018
<i>B. eremus</i> Rühm, 1956 (Goodey, 1960)	<i>Scolytus intricatus</i> (Ratzeburg, 1837)	Ulmaceae: <i>Ulmus foliacea</i> Gilib.	Германия, Польша, Грузия	Gu et al., 2017; Rühm, 1956; Курашвили и др., 1980
		Fagaceae: <i>Quercus robur</i> L.	Грузия	Курашвили и др., 1980, цит. по: Ryss et al., 2005; Mikaia et al., 2010 Marianelli et al., 2010
		<i>Q. iberica</i> M. Bieb., <i>Q. pedunculata</i> Ehrh., <i>Q. sessiliflora</i> Salisb.	Италия	Курашвили и др., 1980
		<i>Quercus</i> spp. Fagaceae: <i>Castanea vulgaris</i> Lam.	Грузия	Kubátová et al., 2000 Курашвили и др., 1980
		Salicaceae: <i>Populus gracilis</i> Grossh.	Чешская Республика	Marianelli et al., 2010
		Fagaceae: <i>Quercus cerris</i> L. <i>Q. robur</i> L.	Италия: Тоскана	
			Италия: Ломбардия, Пьемонт	Marianelli et al., 2010

<i>B. eucarpus</i> Rühm, 1956 (Goodey, 1960)	<i>Scolytus mali</i> (Bechstein, 1805)	<i>Q. suber</i> L. <i>Q. cerris</i> L.	Россия: Нижегородская обл. Италия: Тоскана Италия: Ломбардия, Тоскана	Рысс, Мокроусов, 2014 Marianelli et al., 2010 Carletti et al., 2007
	<i>Scolytus rugulosus</i> (Mueller, 1818) <i>Scolytus mali</i> (Bechstein, 1805)	Rosaceae: <i>Malus sylvestris</i> L., <i>Pyrus communis</i> L. <i>Malus domestica</i> Borkh., <i>Prunus</i> sp., <i>Sorbus</i> sp.	Германия Грузия	Rühm, 1956 Курашвили и др., 1980
	<i>Scolytus rugulosus</i> (Mueller, 1818) <i>Scolytus mali</i> (Bechstein, 1805)	<i>Prunus padus</i> L., <i>Prunus domestica</i> L.	Польша	Gu et al., 2018
<i>B. fagi</i> Tomalak et Filipiak, 2014.	<i>Taphrorychus bicolor</i> (Herbst, 1793)	Fagaceae: <i>Fagus sylvatica</i> L.	Польша	Tomalak, Filipiak, 2014
<i>B. fraudulentus</i> Rühm, 1956 (Goodey, 1960)	<i>Trypophloeus granulatus</i> (Ratzeburg, 1837) (переносчиком может служить также усач <i>Cerambyx scopolii</i> Füssli, 1775)	Salicaceae: <i>Populus nigra</i> L., <i>P. tremula</i> L. Fagaceae: <i>Quercus robur</i> L., <i>Quercus petraea</i> Matt.	Германия	Rühm, 1956; Schauer-Blume, Sturhan, 1989
		<i>Quercus</i> sp. <i>Fagus sylvatica</i> L., <i>Quercus robur</i> L.	Германия Германия	Balder, 1987, 1989 Schauer-Blume, 1987

<i>B. idius</i> Rühm, 1956 (Goodey, 1960)	<i>Pityogenes chalcographus</i> (Linnaeus, 1761)	Rosaceae: <i>Prunus avium</i> L.	Германия	Rühm, 1956; Schauer-Blume, Sturhan, 1989; Braasch et al., 1995 Курашвили и др., 1980 Schauer-Blume, Sturhan, 1989; Braasch et al., 1995 Schauer-Blume, Sturhan, 1989
		<i>Prunus cerasus</i> L.	Грузия Германия	
		Betulaceae: <i>Alnus glutinosa</i> L., <i>Betula pendula</i> Roth, <i>B. pubescens</i> Ehrh.	Германия	
		<i>Betula pendula</i> Roth	Германия	
		Fagaceae: <i>Quercus iberica</i> M. Bieb.	Грузия	
		Betulaceae: <i>Carpinus caucasica</i> Grossh. Juglandaceae: <i>Juglans</i> sp. Salicaceae: <i>Populus tremula</i> L.		
<i>B. kiyoharai</i> Kanzaki, Maehara, Aikawa, Masuya et Giblin-Davis, 2011	<i>Xyleborus seriatus</i> Blandford, 1894	Fagaceae: <i>Fagus crenata</i> Blume	Япония: Сираками	Kanzaki et al., 2011
<i>B. maxbassiensis</i> (Massey, 1971) Baujard, 1989	<i>Hylesinus californicus</i> (Swaine, 1916)	Oleaceae: <i>Fraxinus pennsylvanica</i> Marsh.	США: Северная Дакота	Massey, 1971
<i>B. parvispicularis</i> Kanzaki et Futai, 2005	Scolytinae	Fagaceae: <i>Quercus mongolica</i> Fisch., Ledeb.	Япония: Киото	Kanzaki, Futai, 2005
<i>B. ratzeburgii</i> Rühm, 1956 (Goodey, 1960)	<i>Scolytus ratzeburgii</i> Janson, 1856	Betulaceae: <i>Betula pendula</i> Roth	Германия	Rühm, 1956
<i>B. scolyti</i> Massey, 1974	<i>Scolytus multistriatus</i> (Marshall, 1802)	<i>Betula</i> sp. Ulmaceae: <i>Ulmus americana</i> L.	Грузия США: Колорадо	Курашвили и др., 1980 Massey, 1974

<i>B. sexdentati</i> Rühm, 1960	<i>Ips sexdentatus</i> (Börner, 1776)	Ulmaceae: <i>Ulmus</i> sp.	Германия	Grucmanova, Holusa, 2013
<i>B. taphrorychi</i> Tomalak, Malewski, Gu et Fa-Qiang, 2017	<i>Taphrorychus bicolor</i> (Herbst, 1793)	Fagaceae: <i>Fagus sylvatica</i> L.	Польша	Tomalak et al., 2017
<i>B. tiliae</i> Tomalak et Malewski, 2014	<i>Ernoporos tiliae</i> (Panzer, 1793)	Malvaceae: <i>Tilia cordata</i> Mill.	Польша: Познань	Tomalak, Malewski, 2014
<i>B. tryphloeus</i> Tomalak et Filipiak, 2011	<i>Tryphloeus asperatus</i> (Gyllenhal, 1813)	Salicaceae: <i>Populus tremula</i> L.	Польша	Tomalak, Filipiak, 2011
<i>B. ulmophilus</i> Ryss, Polyanina, Popovichev et Subbotin, 2017	<i>Scolytus scolytus</i> Fabricius, 1775, <i>Scolytus multistriatus</i> (Marshall, 1802)	Ulmaceae: <i>Ulmus glabra</i> Huds.	Россия: Санкт-Петербург, Ленинградская обл.	Ryss, Polyanina, 2015a, 2015b, 2017
<i>B. wekuae</i> Kurashvili, Kakulia et Devdariani, 1980	<i>Tryphloeus</i> sp. (ошибочно определенный как <i>Trypodendron signatum</i> (Fabricius, 1792))	Fagaceae: <i>Fagus orientalis</i> Lipsky Betulaceae: <i>Carpinus caucasica</i> Grossh.	Грузия	Курашвили и др., 1980
<i>B. xerokarterus</i> Rühm, 1956 (Goodey, 1960)	<i>Scolytus multistriatus</i> (Marshall, 1802), <i>Scolytus scolytus</i> Fabricius, 1775	Ulmaceae: <i>Ulmus minor</i> Mill. (= <i>U. campestris</i>), <i>Ulmus laevis</i> Pall. (= <i>U. pedunculata</i> Foug.)	Германия	Rühm, 1956
	<i>Scolytus scolytus</i> Fabricius, 1775	Ulmaceae: <i>Ulmus minor</i> Mill. (= <i>U. foliacea</i>)	Грузия	Какулия, Девдариани, 1975
	<i>Scolytus scolytus</i>	Ulmaceae: <i>Ulmus</i> spp.	Грузия	Какулия, Девдариани, 1967

	Fabricius, 1775			
	<i>Scolytus scolytus</i> Fabricius, 1775	Ulmaceae: <i>Ulmus foliacea</i> Gilib. <i>Zelkova</i> sp. Betulaceae: <i>Carpinus caucasica</i> Grossh. Salicaceae: <i>Populus nigra</i> L. Juglandaceae: <i>Juglans</i> sp.	Грузия	Курашвили и др., 1980
	<i>Scolytus multistriatus</i> (Marsham, 1802)	Ulmaceae: <i>Ulmus foliacea</i> Gilib. <i>Zelkova</i> sp. Betulaceae: <i>Carpinus caucasica</i> Grossh. Salicaceae: <i>Populus nigra</i> L. Juglandaceae: <i>Juglans</i> sp.	Грузия	Курашвили и др., 1980
<i>Devibursaphelenchus teratospicularis</i> Kakuliya et Devdariani, 1965	<i>Taphrorychus bicolor</i> (Herbst, 1793)	Fagaceae: <i>Quercus iberica</i> M. Bieb. Salicaceae: <i>Populus tremula</i> L. Juglandaceae: <i>Juglans</i> sp.	Грузия	Курашвили и др., 1980; Какулия, Девдариани, 1965
<i>Parasitaphelenchus frontalis</i> Kanzaki, Ekino, Ide, Masuya et Degawa, 2018	<i>Scolytus frontalis</i> Blandford, 1894	Ulmaceae: <i>Zelkova serrata</i> (Thunb.)	Япония: Канагава	Kanzaki et al., 2018
<i>P. gyeongbukensis</i> Kim et Robbins, 2008	<i>Scolytus schevyrewi</i> Semenov, 1902 (= <i>S. seulensis</i> Murayama, 1930)	Rosaceae: <i>Prunus persica</i> L.	Корея	Kim, Robbins, 2008
<i>P. oldhami</i> Rühm, 1956	<i>Scolytus multistriatus</i> (Marsham, 1802)	Ulmaceae: <i>Ulmus</i> sp.	Грузия	Курашвили и др., 1980

Сем. CYLINDROCOPORIDAE				
<i>Rhabditolaimus ulmi</i> (Goodey, 1930) Susoy, Hermann, 2012	<i>Scolytus scolytus</i> Fabricius, 1775	Ulmaceae: <i>Ulmus foliacea</i> Gilib.	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977
	<i>Scolytus multistriatus</i> (Marsham, 1802)	Ulmaceae: <i>Ulmus glabra</i> Hudson, <i>U. laevis</i> Pallas	Россия: Санкт-Петербург	Рысс, Полянина, 2014– 2018, неопубликованные данные
Сем. PANAGROLAIMIDAE				
<i>Panagrolaimus scheucherae</i> Rühm, 1956	<i>Scolytus scolytus</i> Fabricius, 1775 <i>Taphrorychus bicolor</i> (Herbst, 1793)	Ulmaceae: <i>Ulmus foliacea</i> Gilib. Salicaceae: <i>Populus tremula</i> L. Fagaceae: <i>Fagus orientalis</i> Lipsky Betulaceae: <i>Carpinus caucasica</i> Grossh.	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977
Сем. RHABDITIDAE				
<i>Parasitorhabditis bicoloris</i> Devdariani et Maglakelidze, 1970	<i>Taphrorychus bicolor</i> (Herbst, 1793)	Fagaceae: <i>Fagus orientalis</i> Lipsky, <i>Quercus iberica</i> M. Bieb. Betulaceae: <i>Carpinus caucasica</i> Grossh., <i>Betula litwinowii</i> Doluch. Salicaceae: <i>Populus tremula</i> L.	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977
<i>P. malii</i> Devdariani et Kakulia, 1970	<i>Scolytus mali</i> (Beckstein, 1805)	Rosaceae: <i>Malus domestica</i> Borkh., <i>Prunus vachuschtii</i> Bregadze	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977
Сем. SPHAERULARIIDAE				

<i>Deladenus</i> sp.	<i>Scolytus intricatus</i> (Ratzeburg, 1837)	Fagaceae: <i>Quercus robur</i> L.	Белоруссия	Рысс, Сазонов (неопубликованные данные)
<i>Prothallonema</i> sp. (Devdariani, 1973) (" <i>Stictylus bicoloris</i> ")*	<i>Taphrorychus bicolor</i> (Herbst, 1793)	Fagaceae: <i>Fagus</i> sp.	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977
<i>P. pseudoobtusum</i> (Rühm, 1956) Siddiqi, 1986 (<i>Stictylus pseudobtusum</i> Rühm, 1956)	<i>Scolytus mali</i> (Bechstein, 1805)	Rosaceae: <i>Malus domestica</i> Borkh.	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977
Сем. SYCHNOTYLENCHIDAE				
<i>Sychnotylenchus intricati</i> Rühm, 1956	<i>Scolytus mali</i> (Bechstein, 1805), <i>Scolytus intricatus</i> (Ratzeburg, 1837)	Fagaceae: <i>Quercus iberica</i> M. Bieb., <i>Fagus orientalis</i> Lipsky Salicaceae: <i>Populus tremula</i> L. Betulaceae: <i>Betula litwinowii</i> Doluch.	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977
<i>S. ulmi</i> Rühm, 1956	<i>Scolytus scolytus</i> Fabricius, 1775	Ulmaceae: <i>Ulmus foliacea</i> Gilib.	Грузия: Жинвали	Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977

Примечание. * Описание *Stictylus bicoloris* не было опубликовано. Название *Stictylus* Thorne, 1941 сведено в синонимы к *Prothallonema* Christie, 1938 (Ebsary, 1991), поэтому находка Ц. Г. Девдариани «*Stictylus bicoloris*» процитирована здесь по: Какулия, Девдариани, Маглакелидзе, 1977 как *Prothallonema* sp.

Помимо подразделения на группы в классификации отношений системы паразит-переносчик и паразит-хозяин, значительную часть фауны ксилобионтных нематод можно представить 5 гильдиями *c-p* шкалы в серии стадий заселения субстратов мертвой почвенной органики в рамках детритной пищевой сети (*colonizers* (*c*) – *persisters* (*p*)), являются крайними по шкале). Дело в том, что детритная сеть почвы и часть ксилобионтной нематофауны представлена одними и теми же или близкими родами, поскольку в обоих типах сред (почвенная органика или древесина) основой пищевых цепей служит растительный детрит с разными стадиями разложения; отличие фаун почв и древесины – в собственно родах и видах фито- и мико-паразитов (Fur), поскольку именно они заселяют еще живое дерево или же служат патогенами, вызывающими гибель растения-хозяина, или же собственно родов паразитов древообитающих насекомых переносчиков (EPN).

C-p-шкала по Bongers, 1998:

1 – 5 = *colonizers* – *persisters*.

C-p-шкала = структурная гильдия:

1 = виды оппортунисты первоначального обогащения;

2 = базальная фауна;

3 = виды оппортунисты средней стадии сукцессии;

4 = виды переходной стадии сукцессии, чувствительны к изменениям режимов окружающей среды;

5 = виды-персистеры с длительным жизненным циклом и малой плодовитостью.

Сочетание позиции в *c-p* шкале с типом питания носит наименование функциональной гильдии пищевой сети. Функциональные гильдии подразделяются: бактериотроф-1 (Ba1), микотроф-2 (Fu2), всеядный-5 (Om5) и т.д. (Ferris et al., 2001). Каждая гильдия представляет собой функциональную группировку таксонов эквивалентного места в сукцессии по двум параметрам – типу трофики и *c-p* позиции, как это предусмотрено в использовании трофических видов в анализе пищевых сетей (Cohen, 1989). На основе

соотношения гильдий строятся индексы двух основных траекторий стадий цикла деструкции мертвого органического материала:

- траектория возрастания структурности (*c-p* шкала)
- траектория обогащения свободными, не включенными в цепь биогенами (удобрениями, мертвой органикой)

Гильдии, доминирующие в начальных фазах – «*colonizers*» сохраняются, но к ним добавляются гильдии высших иерархий (Ferris et al., 2001). «*Colonizers*» имеют короткий 2-30-дневный цикл, объемные гонады, выделяют большое количество мелких яиц, численно доминируют в сообществе в кратковременной динамичной фазе развития. Виды семейств *Rhabditidae*, *Panagrolaimidae*, *Diplogasteridae* представляют типичных «*colonizers*» (Woombs, Laybourn-Parry, 1984; Zullini, 1976). Гильдии высших рангов – «*persisters*», это хищники или всеядные с 2-3-летним жизненным циклом, более чувствительны к окружающей среде и имеют низкую способность к колонизации. Они никогда не относятся к доминирующим видам, имеют крупные размеры, небольшие гонады, они производят большие яйца и мало потомков, обитают в ненарушенных или восстановленных стабильных сообществах (Bongers, 1989, Du Preez et al., 2022).

Ряд семейств характерны для стрессовых сообществ (*c-p* = 2, базальные сообщества). Это сем. в *Cephalobidae* и *Plectidae* – заменяют *Rhabditidae*, если количество пищи уменьшается, а среда подвергается высыханию или воздействию вредных веществ (Schiemer, 1983).

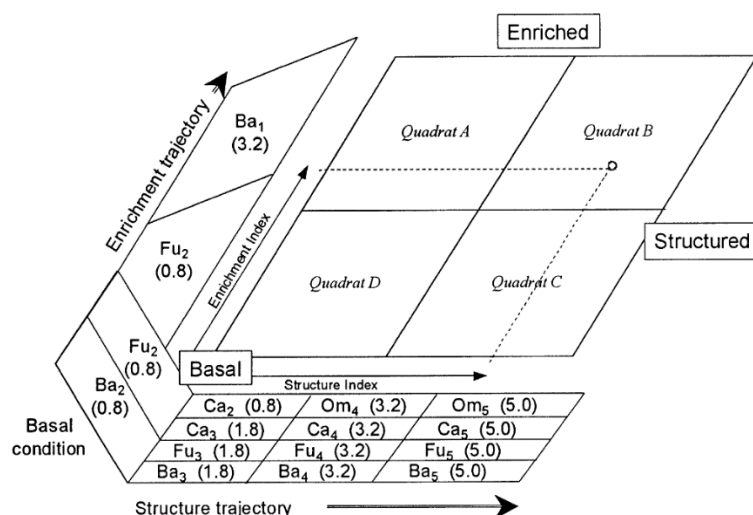


Рисунок 1 Цикл колонизации субстрата на примере функциональных гильдий почвенных нематод, характеризующиеся трофическими предпочтениями, продолжительностью онтогенеза и одной из 5 стадий в *c-p* шкале (Bongers, 1989; Ferris et al. 2001). Для буквенно-цифровых названий гильдий на схеме см. «Условные обозначения».

На основе соотношений гильдий можно выделить траектории, которые представляют собой цикл колонизации субстрата. Цикл представлен четырьмя областями с двумя осями с индексами Обогащения/Enrichment, EI (Y) и Структурности/Structure EI (X) (Рисунок 1). Обе траектории берут начало от базальных сообществ (гильдии *c-p* = 2), характерных для стрессовых условий. В графической визуализации важно разделение сообществ по индексам на 4 квартиля. Линиями разграничения служат значения 50 % для EI и SI (Bongers, 1989; Ferris et al. 2001).

1.2 Основные морфологические структуры ксилобионтных нематод

Основные морфологические структуры ксилобионтных нематод представлены на Рисунке 2, на примере вязовой нематоды *Bursaphelenchus ulmophilus*, нового вида патогена, обнаруженного в ходе диссертационного исследования. На Рисунке 3 даны различия основных семейств ксилобионтов по структуре глотки на примере фауны, обнаруженной на дубе.

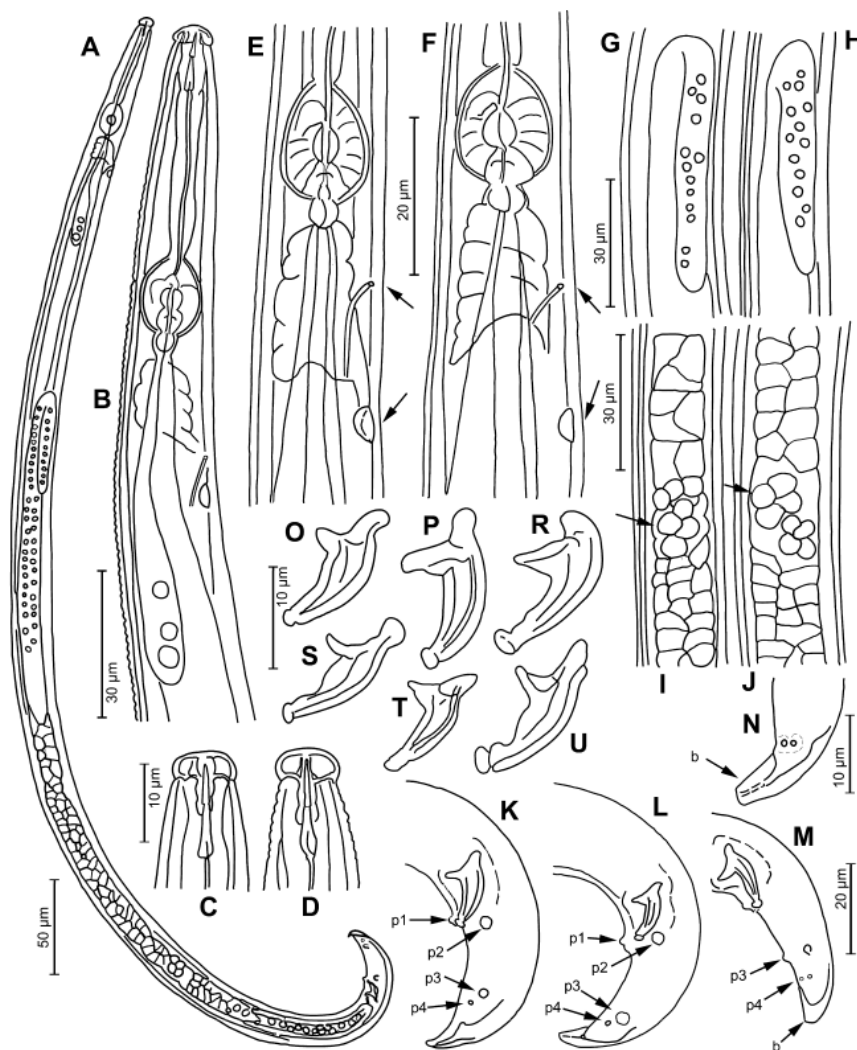


Рисунок 2 *Bursaphelenchus ulmophilus* Ryss, **Polyanina**, Popovichev, Subbotin, 2015. Самец. А – контур тела; В – передняя область; С, D – голова и стилет; Е, F – экскреторная пора (верхняя стрелка) и гемизонид (нижняя стрелка); G, H – загнутый кончик семенника со сперматогониями; I, J – сперматиды (стрелки); K-N – конец хвоста (p1-p4 – хвостовые папиллы самца; b – бурса); O, P, R, S, T, U – вариации формы спикул



Рисунок 3 Строение стомы и глотки основных семейств ксилобионтных нематод на примере нематофауны дуба: А, В – Panagrolaimidae; С-D – Aphelenchoididae; Е – Plectidae; F – Tylenchidae, G – Monhysteridae; H – Sphaerulariidae; J – Rhabditidae; K – Anatonchidae. Шкала: А-Е, H-K – 10 мкм, F – G – 5 мкм. Оригинальные изображения

1.3 Болезни ильмовых

Голландская болезнь ильмовых (ГБИ) – это инфекционное заболевание, возникшее в результате динамических взаимодействий между восприимчивым хозяином и агрессивным паразитом. ГБИ привела к большим экономическим потерям по всему миру (Dunn, 2000; Buchel, 2000; Щербакова, Мандельштам, 2014; Дорофеева, Тюпина, 2002; Дорофеева, 2008; Мощеникова, 2011). Ранее считалось, что патогенная ассоциация включает в себя грибы сем. Ophiostomataceae (*Ophiostoma ulmi*, *Ophiostoma novo-ulmi*) и жуков-переносчиков рода *Scolytus* (Schwarz, 1922; Rudinsky, 1962; Sinclair, Campana, 1978; Webber, Brasier, 1984; Brasier, 1991, 2000; Ghelardini, 2006; Ryss et al., 2015; Мозолевская и др., 1987; Черпаков, 2011; Жуков, Гниненко, 2012; Щербакова и др., 2014). Наши исследования дополнили ассоциацию видами нематод, использующими жуков *Scolytus* spp. как переносчиков. ГБИ характеризуется поражением и отмиранием проводящих систем деревьев (симптом: коричнево-красное кольцо вокруг проводящего цилиндра флоэмы). Пораженные деревья легко узнать по усыхающим концам ветвей с увядающими листьями (вилту). Дополнительным симптомом заболевания является растрескивание и отслаивание коры (Рисунок 4).



Рисунок 4 Вяз *Ulmus laevis*, симптомы Голландской болезни ильмовых. Санкт-Петербург, ПКиО Каменный остров, ГИС 59.9790, 30.29941. Оригинальные изображения

1.4 Болезни ясеня

Суховершинность ясеня. Основным патогеном выступает гриб *Chalara fraxinea* (Miller, Hiemstra, 1987; Kowalski, 2006; Kirisits et al., 2008; Schumacher et al., 2007; Лесопатология, 2015). Исследователи из Белоруссии, Литвы и Польши говорят о многообразии и вторичности биотических факторов при усыхании насаждений ясеня (Василяускас и др., 2002; Lygis, et al., 2004; Cech, 2006; Баранов и др., 2010). Помимо грибкового патогена в литературе указывают также изумрудную узкотелую златку (*Agrilus planipennis*) (Lygis, 2004; Cech, 2006; Poland, McCullough, 2006; Баранов и др., 2010; Ижевский, Мозолевская, 2008; Баранчиков и др., 2012; Орлова-Беньковская, 2013; Orlova-Bienkowskaja, 2014; Selikhovkin et. al., 2022). Предположительно, этот вид случайно завезен вместе с саженцами или необработанной древесиной в начале 1990-х (Ижевский, Мозолевская, 2008).

Потенциально патогенными являются также большой (*Hylesinus crenatus*) и пестрый (*Hylesinus fraxini*) ясеновые лубоеды (Ryss, Polyana et al., 2019), которые выступают в роли вектора заболевания. Специалисты энтомологи утверждают о незначительном воздействии лубоедов на насаждения ясеня, приводя в пример, участки сухостоя и ветровалов, которые не заселены жуками, повреждающими кору и древесину, что свидетельствует о невысокой агрессивности стволовых вредителей. Считается, что дополнительное питание жуков на молодых ветках вызывает общее ослабление дерева (Петров А.В., личное сообщение).

Первично признаки суховершинности ясеня характеризуются интенсивной дефолиацией и проявляются в виде отмирания ветвей кроны дерева. Позднее листва уменьшается в размерах, приобретает светло-зеленый или желтоватый оттенок, крона становится ажурной. При образовании побегов листья на них часто не желтеют, а принимают черную окраску и высыхают. Осенью пораженные ясени выделяются сухими потемневшими листьями, которые долгое время остаются в кроне. Дополнительными симптомами заболевания являются: отслаивание коры от ствола и образование неровных

вздутий коры «розеток», которые возникают в результате питания ясеневых лубоедов.

1.5 Болезни дуба

Вилт дуба – это инфекционное заболевание, характеризующееся поражением сосудистой системы, вызываемое грибом *Bretziella fagacearum* сем. Ceratocystidaceae (Henry, Moses, 1943; Johnson et al., 2009; Reif et al., 2010, Любимов и др., 2008, Чернодубов, 2014; Морозова и др., 2016; Пигорев и др., 2018; <https://gd.eppo.int/taxon/CERAFA/datasheet>). Инфекция развивается в сосудистой системе дерева и вызывает ее закупорку. Распространение инфекции осуществляется за счет жуков-переносчиков семейства Cerambycidae и Curculionidae: Scolytinae (Juzwik et al. 1985, 2011; Gibbs, French 1980; Harrington, 2013). Споры гриба попадают в здоровое дерево через свежую рану, нанесенную жуками, а затем распространяется по ксилеме (Juzwik et al. 1985, 2011, Harrington 2013). По мере размножения *B. fagacearum* заполняет ксилему и препятствует транспорту воды в крону дерева, что приводит к увяданию последнего (Gibbs, French 1980).

Симптомы вилта дуба схожи с симптомами ГБИ (Пигорев и др., 2018). На начальном этапе заболевание характеризуется потерей тургора листьев, увяданием кроны дерева, побурением или обесцвечиванием, а также скручиванием листвы, затем опадением, некоторые листья опадают почти полностью зелеными, другие после того, как становятся частично или полностью коричневыми. Деревья, заражённые в конце сезона, могут не проявлять характерных признаков вилта дуба, за исключением преждевременной осенней окраски (Stambaugh, Nelson, 1956). Помимо внешних симптомов, заболевание может сопровождается и внутренними признаками, такими как изменение окраски древесины, вследствие поражения и закупорки сосудистой системы (True et. al., 1960).

1.6 Симптоматика стадий заболеваний лиственных деревьев

Стадии разрушения древесины в значительной степени основаны на качественном физическом внешнем виде и структурной целостности отдельных частей дерева (Stokland et al., 2012) (Таблица 5).

Таблица 5 Классификация стадий разрушения древесины в лесонасаждениях (Stokland et al., 2012)

№ Ст.	Стадия распада (деструкции)	Приблизительный % биомассы	Характеристика
1	Усыхание веток в кроне дерева	100-95%	Недавно зараженное дерево; кора прилегает к стволу; древесина не гнилая. Цвет древесины не изменен.
2	Трещины на коре, отпадение кусков коры	95-75%	Кора рыхлая или отпадает, гниль проникает в древесину примерно на 3 см от поверхности, начальный мицелий находится под корой. Цвет древесины не изменен.
3	Кора опадает, полностью обнажив ствол дерева	75-50%	Гниль проникает в древесину более чем на 3 см и достает до сердцевины. Древесина имеет красновато-коричневый цвет. Заболонь может быть разъединена вручную или отсутствует.
4	Упавшее дерево	50-25%	Стебель полностью гнилой, без твердых фрагментов, фрагментированный контур ствола.
5	Лежащее дерево, поверхность сливается с уровнем лесной подстилки	25-0%	Ствол утратил структуру и круглую внешнюю форму, гнилой по всей длине. Текстура ствола мягкая и в сухом состоянии порошковидная. Цвет древесины от красно-коричневого до темно-коричневого.

1.7 Общая логическая структура исследования и главы «Результаты и обсуждение»

Базовым исследованием для каждого вида деревьев послужило описание фауны. Затем идентифицированные виды классифицировали по таксономическим и экологическим группам. Из последних для углубленного исследования жизненных циклов, диагностики, морфологии и филогении выбирали группу энтомохорных нематод, включающую потенциальные фитопатогены. В завершение проведены популяционные исследования *in vitro* и фитотесты на специфичность к растению-хозяину. Эта целевая линия от фаунистики к исследованию эволюции сложных жизненных циклов и системы паразит-хозяин. Рабочая гипотеза состоит в возникновении циклов паразитических стволовых нематод из детритоядных энтомохорных нематод, вовлеченных в деструкцию мертвой древесины.

Глава 2 Материалы и методы

2.1 Материал и регионы сбора

В качестве материала использованы многолетние сборы диссертанта совместно с научным руководителем, а также материалы, поступившие из лесных служб и от соавторов публикаций. Образцы были собраны в 12 регионах России и 4 регионах Республики Беларусь (Приложение-1: Таблицы 1-4). Общее количество успешных точек сбора с идентифицированными видами нематод в коллекции – 100 (общее число локаций более 600). Общее количество исследованных проб древесины и насекомых – 368, коллекционных препаратов, депонированных в УФК ЗИН РАН – 561, линий живых культур нематод 46.

Сбор образцов производился непосредственно из очагов поврежденных деревьев, имеющих симптомы вилта, суховершинности или усыхания, сбор проводился на разных стадиях декомпозиции древесины. Стадии увядания и декомпозиции диагностированы по признакам внешнего вида и анатомической целостности ствола дерева (Таблица 5) (Stokland et al., 2012). Диагностические ключи, данные регионов и точек сбора даны в Приложении-1: Таблицы 1-4).

2.2 Методы сбора

Сбор образцов производился из очагов инфицированных деревьев, имеющих симптомы вилта или суховершинности, в тех частях дерева, где были найдены летные отверстия и галереи жуков-переносчиков, это увеличивало вероятность обнаружения нематод. Образцы были собраны на разных стадиях декомпозиции древесины. Стадии диагностированы по внешнему виду и структуре частей дерева (Таблица 5) (Stokland et al., 2012). Взятие проб производилось при помощи топора и пилы. Древесные пробы помещали в ZIP-пакеты и снабжали образец этикеткой с полной информацией

о пробе (дата сбора, место сбора, GPS-координаты, вид дерева, стадия декомпозиции, название переносчика). Обнаруженных жуков помещали в пробирки с этикетками. Этикетки были продублированы в полевом журнале и затем оцифрованы в MS Excel. Процесс взятия проб (общий вид дерева, участок изъятия образца: ходы жуков, наличие грибов и симптомы поражения внешней коры, флоэмы и ксилемы) фотографировали для архива коллекционной базы данных.

2.3 Методы экстрагирования и культивирования нематод

Обработка проб производилась по общепринятой методике экстракции нематод из древесных образцов и жуков методом воронки Берманна в модификации Рысса (Ryss, 2015, 2017). Принцип метода в том, чтобы нематоды за счет подвижности, способности проникать через мелкие отверстия пористых материалов и сита, удельной плотности веса $1.15 (1.10-1.30) \text{ г/см}^3$ могли постепенно оседать на дно экстракционной камеры, при этом неподвижные части тканей дерева (или части тел жука) оставались на фильтре, не загрязняя суспензию с нематодами, что важно при дальнейшем исследовании под стереомикроскопом. Экстракционные камеры изготавливались из одноразовых пластмассовых стаканов объемом 200 мл. Одна камера состояла из трех стаканов, у двух из которых срезали дно. Далее один стакан ставили срезанным дном кверху, на него помещали ватный диск и однослойную целлюлозную салфетку, затем устанавливали импровизированный фильтр таким образом, чтобы он покрывал всю часть срезанного дна стакана и не оставлял зазоров, во избежание прорыва фильтра под тяжестью исследуемого образца и воды. Затем второй стакан устанавливался поверх фильтра, который также зажимался между стенками 2 срезанных стаканов; таким образом получали конструкцию, похожую на «сито», благодаря которой все неподвижные большие частицы субстрата оставались на фильтре, а нематоды активно проникали сквозь поры фильтра и оседали на дно. Третий стакан оставляли целым, он выполнял функцию

контейнера для воды, в котором скапливались экстрагированные нематоды. Перед погружением древесного материала в экстракционную камеру его необходимо было измельчить при помощи топора, пилы или секатора. Первый этап экстракции занимает 16 часов, после чего из камеры вынимали верхние стаканы, выполняющие роль фильтра, и 20 мл шприцем с трубкой-капилляром на конце извлекали излишки воды с верхнего слоя, оставляя в нижнем стакане слой высотой 1 см экстрагированной суспензии. Затем эту суспензию переливали в 30 см экстракционные ПВХ трубки диаметром 10 мм, на конце которых были установлены пробирки эппендорфы объемом 1.5 мл, предварительно встряхнув суспензию, чтобы осевшие на дно нематоды равномерно распределились в объеме суспензии и могли попасть в трубку для оседания (для концентрации на дне пробирки). ПВХ трубки вешали вертикально на 1-2 час, за это время нематоды медленно оседали на дно пробирки за счет большой удельной плотности. Затем излишки воды сливали из трубки, для этого сгибали трубку максимально близко к месту соединения ее с пробиркой, а затем выкручивающими движениями резко отделяли пробирку от ПВХ трубки. С помощью микроцентрифуги «Микроспин» FV-2400 при 1000 об/мин в течение 10-15 сек осаждали нематод и затем, не затрагивая осадок изымали шприцем с надетой на кончик иглой излишки надосадочной жидкости, сохраняя при этом 2/3 конической части пробирки (100-150 мкл).

Экстрагирование нематод из жуков производилось тем же методом, однако, время, затраченное на экстракцию червей из переносчика, не превышало 8 час, чтобы предотвратить загнивание образца. Перед экстрагированием производилось препарирование жука в капле дистиллированной воды, затем при обнаружении подвижных нематод помещали данный образец в экстракционную камеру, метод подготовки которой был указан выше. Первый этап экстракции занимал от 8 час при этом экстракционную камеру помещают в холодильник ($\sim +8^{\circ}\text{C}$). Затем следовал этап оседания в ПВХ трубках в вертикальном положении. Такой способ

выделения нематод из переносчика используется при массовом выделении. Однако ему предшествует поштучное извлечение нематод энтомологической иглой из капли воды для того, чтобы иметь возможность зафиксировать обнаруженных нематод именно на той стадии развития (дауеров), на которой они находятся в/на переносчике, так как массовое выделение занимает большой промежуток времени, за который нематоды могут линять на следующую стадию. После экстрагирования часть часть нематод помещали в культуральную агаровую среду для размножения, а остальные нематоды подвергались фиксации в горячем ТАФ (88 мл дистиллированной воды, 2 мл триэтаноламина, 8 мл 40% формалина) при 80-90 °С.

Культивирование нематод производилось в лабораторных культурах на беспоровой мутантной линии сапротрофного гриба *Botrytis cinerea* Pears. Гриб был размножен 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. Изготовление питательной среды 2% КСА: 40 г очищенного и нарезанного тонкими слайсами картофеля отваривали в 400 мл воды (при варке объем воды уменьшается вдвое) в течение 40 мин, затем при помощи пресса немного разминали картофель и дополнительно кипятили 5 мин; полученный горячий раствор фильтровали при помощи медицинской марли или нетканной салфетки (два слоя) в лабораторный термостойкий стакан, добавляли к раствору 4 г сахара, 4 г агара и 10 мл глицерина, перемешивали для лучшего растворения компонентов и добавляли необходимое до 200 мл количество горячей воды. Затем автоклавировали при 3 атм. и 130 °С в течение 40 мин. Готовый раствор при 80 °С разливали в чашки Петри. После остывания до 25 °С раствор становился твердым и вовнутрь чашки стерильной лабораторной иглой инокулировали участок мицелия гриба *B. cinerea*, располагая его по центру чашки. «Бульон» из свежего картофельного клубня и сахар обеспечивают обильный рост гриба гораздо более эффективно, чем фирменные порошковые концентраты для среды КГА. При полном зарастании

питательного субстрата мицелием гриба (4-7 сут при 25 °С) при обязательном доступе кислорода (чашку не окантовывают во время роста мицелия) в чашку инокулировали нематод в 20-50 мкл капле дистиллированной воды. После накопления размноженных в достаточном количестве нематод на грибном субстрате (гриб исчезает, агрегации нематод с яйцами видны в стереомикроскоп на верхней крышке и бортах чашки) их в контейнерах с этим субстратом помещали в холодильник на длительное хранение до 3-6 месяцев, с обязательным добавлением стерильных кусочков веток дерева-хозяина (10×5×5 мм), затем производили пересев на новый субстрат. Данный метод является надежным для длительного сохранения нематод.

2.4 Методики фиксации и изготовления коллекционных препаратов

Фиксация нематод производилась по принципу Seinhorst (1962, 1966, 1974) в модификации Рысса (Ryss, 2003; 2017). Принцип метода заключается в том, чтобы как можно скорее добавить горячий фиксатор к живым нематодам находящихся в минимальном объеме водной суспензии. Горячая фиксация производилась 4% формалином или TAF (88 мл дистиллированной воды, 2 мл триэтаноламина, 8 мл 40% формалина), нагретыми до 80-90 °С на водяной бане внутри закрытой 1.5 мл пробирки. Триэтаноламин обеспечивает буферные свойства раствора фиксатора, улучшая формалиновую фиксацию и обеспечивая возможность последующей окраски ядерными красителями (уксусно-кислым орсеином или метиленовым синим). Метод горячей фиксации обеспечивает быстрое проникновение фиксатора во внутренние ткани нематод.

Изготовление постоянных и временных окрашенных цитологическим ядерным красителем метиленовым синим или ацет-орсеином препаратов производилось по методикам Рысса (Рысс, 1988; Рысс, Чернецкая, 2009; Ryss, Polyanina, 2017, 2018).

2.5 Методы конфокальной микроскопии

Помимо световой и сканирующей микроскопии (СЭМ) (Ryss, Boström, 1995; Ryss et al., 2022a, 2022b) для детального изучения морфологии половозрелых особей модельных объектов была использована лазерная конфокальная микроскопия (Ryss, Petrov, 2022, 2023). Совместно с соавторами был разработан эффективный метод окраски ксенобионтных нематод, позволяющий более детально исследовать мускулатуру и копулятивные органы половозрелых особей нематод. Подготовка нематод проходила двумя способами: стандартная окраска фаллоидином (Petrov et.al., 2016; Ryss et al., 2022a, 2022b) и окраска фаллоидином «со сколом» (Duerr, 2013).

Стандартная окраска фаллоидином

Первоначально нематоды были зафиксированы горячим 4 % формальдегидом на PBS-буфере в течение 1 часа. Затем суспензию нематод 5 раз промывали PBS-буфером с азидом натрия, в таком состоянии нематоды могли храниться несколько дней в холодильнике при температуре +6 °C (+8 °C) до следующего этапа. Хранившихся в PBS-буфере нематод перекладывали в Triton X-100 на PBS на 2 часа. Все этапы окраски, кроме обработки протеиназой К и изготовления препаратов производились на цифровом орбитальном шейкере S-3 ELMi при скорости 180 об/мин. Далее Triton X-100 заменяли на протеиназу К на PBS и оставляли на 6 часов в морозильной камере при -25 °C. После этого нематод вынимали из морозильной камеры на 30 мин для оттаивания и вновь помещали в Triton X-100 на 4 часа на орбитальный шейкер. Затем Triton X-100 заменяли на раствор фаллоидина в PBS и оставляли в темноте на 9-12 час. Спустя это время фаллоидин заменяли на PBS-буфер (без Triton X-100) для промывки нематод в течение 15 мин. Каплю PBS-буфера с нематодами помещали на предметное стекло и заменяли PBS на заключающую среду (Vectashield или 80% глицерин на PBS), а затем покрывали покровным стеклом. Края покровного стекла закрепляли с помощью бесцветного лака для

ногтей. После высыхания лака (20 мин) избыток заключающей жидкости удаляли фильтровальной бумагой и окантовывали лаком периметр покровного стекла; готовый препарат помещали в морозильную камеру для хранения и дальнейшего исследования под микроскопом.

Окраска фаллоидином «со сколом»

Небольшую каплю воды с живыми нематодами помещали на середину предметного стекла, поверх которой помещали второе предметное стекло таким образом, чтобы стекла лежали крест-накрест. Стекла незамедлительно помещали в морозильную камеру на -25°C на 1 час. Затем их вынимали из холода и, не дожидаясь оттаивания, сразу же сдвигали, сдавливая концы и резко разъединяя поверхности стекол. При сдвиге поверхностная кутикула нематод образовывала трещины скола, что позволяло впоследствии красителю проникать внутрь тела нематод. После этого на стекла наносили 3-4 капли холодного 4% формальдегида на PBS-буфере и смывали нематод вместе с фиксатором в 1.5 мл пробирку эппендорф, оставляя фиксацию на 1 час при комнатной температуре. Затем суспензию нематод 5 раз промывали PBS-буфером с азидом натрия. Далее PBS-буфер замещали Triton X-100 на PBS на 4 часа и помещали на орбитальный шейкер при скорости 180 об/мин. Затем Triton X-100 заменяли на фаллоидин на PBS и оставляли в темноте на 9-12 часов. Фаллоидин заменяли на PBS-буфер и далее замещали PBS на заключающую среду Vectashield, как описано выше. Данный способ окраски нематод исключает работу с протеиназой К, которая в свою очередь работает как механизм, повреждающий покровы тела нематод и позволяющий фаллоидину качественно проникать вовнутрь.

Препараты нематод изучали на конфокальном микроскопе Leica TCS SP5 в ЦКП «Таксон» (Зоологический институт РАН). Для сканирования объектов и 3D реконструкций окрашенных мышечных и бесцветных кутикулярных структур использованы компьютерные программы Leica Microsystems LAS AF и Avizo 8.1. Для исследования бесцветных кутикулярных структур и их

контактов с мышцами была использована отражательная конфокальная микроскопия в соответствии с методикой Petrov et al. (2016).

2.6 Молекулярно-генетические исследования

Молекулярно-генетические исследования были выполнены по последовательностям 18S, ITS и D2-D3 28S РНК рибосомного кластера. Из образцов модельных видов нематод экстрагировали ДНК с использованием протеиназы К. Полимеразная цепная реакция, амплификация и секвенирование было произведено по протоколу Maafi et al. (2003). Новые последовательности были депонированы в GenBank (Таблице 6).

Выравнивание генов было получено с использованием программы ClustalX 1.83. Результаты выравнивания были отредактированы вручную с помощью программы GeneDoc 2.5.0 (Nicholas et al., 1997). Последовательности генов были проанализированы методом максимальной вероятности (ML) с использованием программы RAUP* и Байесовым вероятностным (BI) анализом с использованием программы MrBayes 3.1.2 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003) в рамках модели GTR. Секвенирование было выполнено в Quintara Biosciences. По полученным молекулярным последовательностям были построены молекулярно-филогенетические кладограммы.

Таблица 6 Номера новых последовательностей генов, депонированных в GenBank

Вид нематоды	GenBank
<i>B. ulmophilus</i>	KP331048, KP331049, KR01175
<i>R. ulmi</i>	MW044951
<i>B. crenati</i>	MH666125, MH666163, MH666164, MH668884, MH668885
<i>B. fraudulentus</i>	OP854779, CD2935
<i>B. willibaldi</i>	OP854782, CD3364
<i>Aphelenchoides cf. eldaricus</i>	LC191272

2.7 Методики экспериментов по популяционной динамике *in vitro*

Для изучения параметров онтогенеза использованы авторские методики с синхронизированными по стадиям цикла развития особями *in vitro*: 1) индивидуальные наблюдения, 2) популяционные наблюдения. Для индивидуального наблюдения развития яиц до вылупления использованы выборки по 10 яиц, для личинок - синхронизированные по стадиям онтогенеза (J2, J3, или J4) выборки по 20 экз. Исследования параметров онтогенеза и популяционной динамики проведены на 4 модельных видах: фито-микопаразитах *Bursaphelenchus willibaldi* и *Aphelenchoides* cf. *eldaricus*, и на бактериотрофах-комменсалах *Panagrolaimus detritophagus* и *Rhabditolaimus ulmi*.

Для популяционных наблюдений использованы выборки по 20 чашек Петри (две серии по 10 чашек) для каждого вида. Вносили синхронизированный по возрастной стадии инокулюм из половозрелых самцов и самок в обычном для культуры вида соотношении (например, для *Bursaphelenchus willibaldi*) в 2% среду картофельно-сахарного агара (КСА). Для исследований длительной популяционной динамики *B. willibaldi* и *A. cf. eldaricus* использовали инокулюм в 150 половозрелых нематод; из графика численности динамики определяли приблизительное время момент удвоения числа самок при нулевой смертности. За время первой генерации (1G) считали момент, когда число самок вдвое превышало число самок в инокулюме, т.е. когда каждая самка в среднем произвела одну самку следующего поколения. Затем, для более точного определения времени генерации (1G) с точностью до 1 сут использовали вторую серию опытов с инокулятом 50 взрослых нематод в той же обычной пропорции числа самок к числу самцов. Для всех опытов по онтогенезу и популяционной динамике бактериотрофов *Panagrolaimus detritophagus* и *Rhabditolaimus ulmi* использован инокулят 50 взрослых особей, поскольку агаровая среда для бактериотрофов оставалась прозрачной всё время опыта, а среда фито-микотрофов содержала непрозрачный мицелий, затруднявший подсчет на стадиях цикла. Время, когда число яиц или личинок

определенной стадии (J2, J3, или J4) впервые превышало число самок в инокулюме, считали за период развития личинки до данной стадии или для яйца – время, необходимое для откладки одного яйца. Вторым способом оценки срока развития до J2, J3, или J4 считалось время первого максимума числа вылуплений или линек на данную стадию, в том числе время максимума линек личинки J4 во взрослую особь считали 1G, как дополнительную оценку параметра 1G, подтверждающую момент удвоения числа самок.

Выборка внутри каждой чашки. Для бактериотрофов *P. detritophagus* и *R. ulmi* агаровая среда (толщина 1-2 мм) оставалась прозрачной всё время опыта, поскольку питанием нематод служили бактерии самих нематод, быстро размножающиеся в агаре (детритное садоводство). Поэтому подсчет вели в рандомной серии (n=10) световых полей объектива 10х, равном 3 мм², и вычисляли среднее значение для чашки, и уже по 20 чашкам для каждой даты счета получали статистические параметры – среднее значение (mean), стандартное отклонение (s.d.), минимум и максимум. Однако для остальных модельных видов среда была непрозрачна, для размножения *B. willibaldi* и *A. cf. eldaricus* был использован мицелий гриба *B. cinerea*, внесенный в культуру за два дня до инокуляции синхронизированного инокулюма нематод. Поэтому в день подсчета внутри каждой чашки производили выборку 5 агаровых дисков обрезанным до внутреннего диаметра 5 мм пластиковым наконечником дозатора, этот размер соответствует размеру светового поля микроскопа Микромед для объектива 5х. Диски объединяли для серии из 10 чашек Петри в пробирку 10 мл (использовано 2 серии по 10 чашек), пробирку заполняли водой до объема 6.0 мл, диски агаровой среды диспергировали в воде, используя шейкер микроцентрифуги «Микроспин» FV-2400. Из полученной суспензии рандомно изымали микродозатором 10 суб-объемов по 100 мкл (для больших численностей по 25 мкл) и определяли число самок, самцов, личинок 2, 3, 4 стадий и яиц, а также общую численность и соотношения самцов к самкам, доли самок, самцов и каждой стадии личинок. Данные для суб-объемов были пересчитаны для одного среднего объема чашки Петри для

общей выборки из 20 чашек Петри для двух серий (ср. значение, стандартное отклонение, минимум и максимум). Чтобы избежать уменьшения количества особей нематод в чашке Петри из-за изъятия нематод, суспензию возвращали в чашки Петри после подсчета.

Численность нематод подсчитывали на 2, 4, 7, 9, 11, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 и 63 день после инокуляции (DAI, *Days After Inoculation*).

На зрелых этапах размножения популяции половозрелые нематоды поднимались на верхнюю крышку чашки Петри, где продолжали спаривание и яйцекладку в каплях конденсата. Эта фракция нематод (МГ, миграционная группа) подсчитывалась таким же способом, как описано выше. Нематод из 10 чашек смывали водой в 1.5 мл пробирку, встряхивали при помощи «Микроспин» FV-2400 и в 10 суб-объемах по 100 мкл, взятых из пробирки, независимо подсчитывали численность. Число нематод каждой стадии жизненного цикла затем пересчитывали для одной средней чашки Петри в данный момент времени. Подсчет численности производили через 2, 4, 7, 9, 11, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 и 63 сут. Как указано выше, было проведено две серии экспериментов по 10 подсчетов на каждую дату ($n = 20$ подсчетов, объединенных в одну выборку). В случае МГ суспензии не возвращали в чашки Петри после подсчета, поскольку эти нематоды не возвращались в слой КСА, а выживали без питания.

Суточную скорость яйцекладки одной самкой оценивали несколькими способами. Выяснилось, что для непрерывной яйцекладки самки должны постоянно питаться и спариваться, иначе кладка прекращается, поэтому при наблюдении за самкой в прозрачной голодной среде значения яйцекладки были достоверно меньше, чем расчетные данные для культуры в фазе экспоненциального роста.

Сравнение состава культуры, начиная от момента удвоения числа самок и до достижения пика численности, позволяют сделать расчет плодовитости, разделив прирост общей численности за конкретный период на число самок на старте периода оценки.

$$F = [(N_{fin} - N_{start}) / N_{fem-s}] / T$$

F – суточная скорость яйцекладки одной самкой; N_{fin} – общая численность в конце периода счета, включая число яиц; N_{start} – общая численность в начале периода счета, N_{fem-s} – число самок в начале периода счета, T – число дней (сут) периода счета.

2.8 Методики фитотестов

Для определения независимой от переносчика специфичности нематод к растениям-хозяевам была разработана методика постановки лабораторных фитотестов на черенках с посадкой их в суглинистую почву (Ryss, Polyanina et al., 2018). Этот метод подразумевает под собой поддержание жизнеспособности черенков на протяжении всего эксперимента путем погружения черенков в суглинистую почву. В экспериментах использовались черенки длиной 20-25 см и диаметром 0,5-1 см. Черенки заготавливали по стандартной садовой технологии, необходимо наличие не менее четырех почек, из которых две или более почек в передней части и две в задней, 20-25 хвоинок (у хвойных) или 1-5 маленьких листочков оставляли только в передней части черенка, удаляя их вдоль ветки. На уровне последней почки делали косой срез, сохраняя "пятку" прироста предыдущего года. Продольными надрезами на кончик черенка наносили ранения канцелярским ножом, а затем «опудривали» в стимуляторе корнеобразования "Корневине", содержащим растительный гормон индол-3-бутиловую кислоту. Перед посадкой в суглинистую почву проводилась процедура инокуляции. Через 2-4 недели после инокуляции и посадки у черенков развивались корни из задних почек, а листья и небольшие ветви из передних почек. У некоторых зараженных черенков в случае увядания листья и почки были увядшими до конца эксперимента (45 сут). Использование черенков в эксперименте, дает возможность получения больших выборок для статистики при низких затратах на посадочный материал и небольших экспериментальных помещениях. В отличие от лесопатологических экспериментов со свежесрубленными

отрезками бревен, в случае с черенками можно быть уверенным, что растение с живыми почками точно живо в период эксперимента. Дополнительным преимуществом является избыточность регулирования светового дня, в то время как черенки могут выживать в темноте, а требования эксперимента сводятся только к поддержанию жизнеспособности растений в период проведения эксперимента.

В качестве инокулюма использовали по 200 экз. нематод исследуемого вида на 1 растение (срез). Для подготовки инокулята предварительно размноженных в культуре нематод смывали водой в пробирку на 1.5 мл, встряхивали для случайного распределения нематод, отбирали дозатором десять объемов по 20 мкл и подсчитывали количество нематод в каплях. По десяти учетам определяли общее количество активных нематод смешанных стадий во всей пробирке и вычисляли объем, который по расчетам содержал в среднем 200 экз. Инокуляцию производили путем небольшого продольного разреза черенка, помещая в него небольшой увлажненный кусок ваты, а затем вносили инокулюм, после место надреза окантовывали лентой "Parafilm-M". Затем черенок высаживали в пластиковый вегетационный горшок. Контрольными растениями служили черенки с теми же манипуляциями, но суспензию нематод заменяли равным объемом дистиллированной воды. Для каждого вида растений использовали по 20 инфицированных и 20 контрольных растений. Продолжительность опыта составила 45 сут, это время было установлено опытами, проведенными ранее А.Ю. Рыссом на 3-летних сеянцах сосны (*P. sylvestris*) как достаточное для получения симптомов вилта у всех зараженных двадцати растений против 0 % показателей вилта у контрольных растений. Сходное время испытаний появления симптомов вилта хвойных деревьев *Bursaphelenchus* spp. нематод (5-13 недель) установлено в опытах фитопатологов (Dayi, Akbulut, 2011).

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, 1985. Использованы программы Statistica 8.0 (Statistica 8.0., 1984-2007) и MS Excel для оценки различий между выборками.

Глава 3 Результаты и обсуждение

3.1 Фауна и жизненные циклы ксилобионтных нематод ильмовых деревьев *Ulmus laevis* и *U. glabra*, больных Голландской болезнью (ГБИ)

В коре и древесине вязов с симптомами Голландской болезни были обнаружены 15 видов ксилобионтных нематод. В Таблице 7 указаны эколого-паразитологические группы по Поляниной и др. (2019) и гильдии (место в сукцессии детритной цепи и тип питания) по Феррису и др. (Ferris et al., 2001) всех обнаруженных видов. Помимо этого, составлен атлас обнаруженных видов нематод и даны текстовые диагностические ключи (вынесено в Приложение-2: Рисунок 1-6).

Таблица 7 Обнаруженная фауна ксилобионтных нематод больных вязов

Семейство	Вид	Переносчик	Эко-группа*	Гильдия*
ОТРЯД DORYLAIMIDA: ПОДОТРЯД DORYLAIMINA				
Dorylaimidae	<i>Mesodorylaimus brevicaudatus</i> Abolafia & Pena Santiago, 1996	-	Fl-Fu	Om4
ОТРЯД PLECTIDA: ПОДОТРЯД PLECTINA				
Plectidae	<i>Plectus acuminatus</i> Bastian, 1865	-	Fl-Ba	Ba2
ОТРЯД RHABDITIDA: ПОДОТРЯД RHABDITINA				
Rhabditidae	<i>Protorhabditis xylocola</i> (Körner, 1954) Osche in Dougherty, 1955	-	En-Int	Ba1, EPN
	<i>Diploscapter coronatus</i> Cobb, 1893	-	Fl-Ba	Ba1, Ca2
Diplogastridae	<i>Rhabditolaimus ulmi</i> T. Goodey, 1930	<i>Scolytus scolytus</i> , <i>S. multistriatus</i>	Ec-Co	Ba1
ОТРЯД RHABDITIDA: ПОДОТРЯД TYLENCHINA				
Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus scheucherae</i> Rühm, 1956	<i>S. scolytus</i> , <i>Taphrorychus bicolor</i>	Ec-Co	Ba1
Cephalobidae	<i>Chiloplacus</i> sp.	-	Fl-Ba	Ba2
Anguinidae	<i>Neoditylenchus</i> sp.	<i>Hylesinus</i> sp.	En-Hem-ad	EPN
	<i>Sychnotylenchus ulmi</i> Rühm, 1956	<i>S. scolytus</i>	En-Hem-ad	EPN
Aphelenchidae	<i>Aphelenchus avenae</i> Bastian, 1865	-	Fl-Fu	Fu2
Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides parasaprophilus</i> Sanwal, 1965	<i>Scolytus</i> sp.	Ec-Fup	Fup2

	<i>Laimaphelenchus deconincki</i> Elmiligy, Geraert, 1972	<i>S. multistriatus</i>	Fl-Fu	Fu2
	<i>Ektaphelenchus scolyti</i> Rühm, 1956	<i>S. multistriatus</i>	Ec-Ca	Ca2
	<i>Bursaphelenchus michalski</i> Tomalak, 2019	<i>S. scolytus</i> ; <i>S. jaroschewskii</i>	Ec-Fup	Fup2
	<i>Bursaphelenchus ulmophilus</i> Ryss, Polyanina, Popovichev, Subbotin, 2015	<i>S. scolytus</i> , <i>S. multistriatus</i>	Ec-Fup	Fup2

* См. «Условные обозначения»

В ходе обследований усыхающих вязов с признаками Голландской болезни на наличие ксилобионтной фауны нематод в образцах древесины и на переносчике *S. multistriatus* и *S. scolytus* был обнаружен новый для науки вид нематод *Bursaphelenchus ulmophilus* Ryss, Polyanina, Popovichev, Subbotin, 2015. В процессе морфологических и молекулярных исследований вид был отнесен к группе видов *Hofmanni*, имеющий патогенное значение. Таким образом, ассоциация патогенов ГБИ включает в себя не только грибы рода *Ophiostoma* и жуков короедов, как это было известно ранее, но и нематод рода *Bursaphelenchus*, который включает более 100 видов (Ryss, Subbotin, 2023), два из которых считаются экономически важными вредителями (*B. xylophilus* и *B. cocophilus*).

Также нами был обнаружен еще один вид нематод, который встречался как на жуке-переносчике, так и в древесных пробах в 100% случаев, отнесенный 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. Обнаруженный вид был идентифицирован как *Rhabditolaimus ulmi* Goodey, 1930. Ранее он был описан Goodey (1930), а затем переописан на материале германской популяции Rühm (1956). Однако цикл, морфология и филогения этого распространенного повсеместно вида были изучены недостаточно, вследствие чего вид стал объектом детального изучения.

Морфологическое описание половозрелых особей вида *B. ulmophilus*

Длина тела 600-850 мкм (Таблица 8), тело изогнуто вентрально. Стилел длиной 12-14 мкм, его основание слегка расширено, но без отчетливых

головок, конус составляет 50 % его длины. Экскреторная пора расположена на задней границе нервного кольца. Латеральное поле с двумя валиками в поперечном сечении, которые при поверхностном рассмотрении выглядят как три инцизуры, но иногда как четыре инцизуры, если расстояние между валиками равно ширине валиков.

Половозрелый самец по строению переднего конца тела похож на самку (Рисунок 2 А-Е). Семенник расположен на правой субвентральной стороне на уровне среднего кишечника, длинный, загнут вперед с плотно упакованными полигональными сперматоцитами, отчетливы зона сперматид, состоящая из двух или трех квартетов крупных клеток, и зона крупных гранулированных полигональных незрелых спермиев, расположенных позади сперматид. Спермии постепенно уменьшаются в размерах до сферических зрелых сперматозоидов, заполняющих 20-25 % задней части семенника, который имеет толстые стенки, состоящие из темных зернистых полигональных клеток. Эти клетки предположительно выполняют секреторную функцию, поскольку сферические сперматозоиды лежат среди гранул секрета (Рисунок 2 G-J).

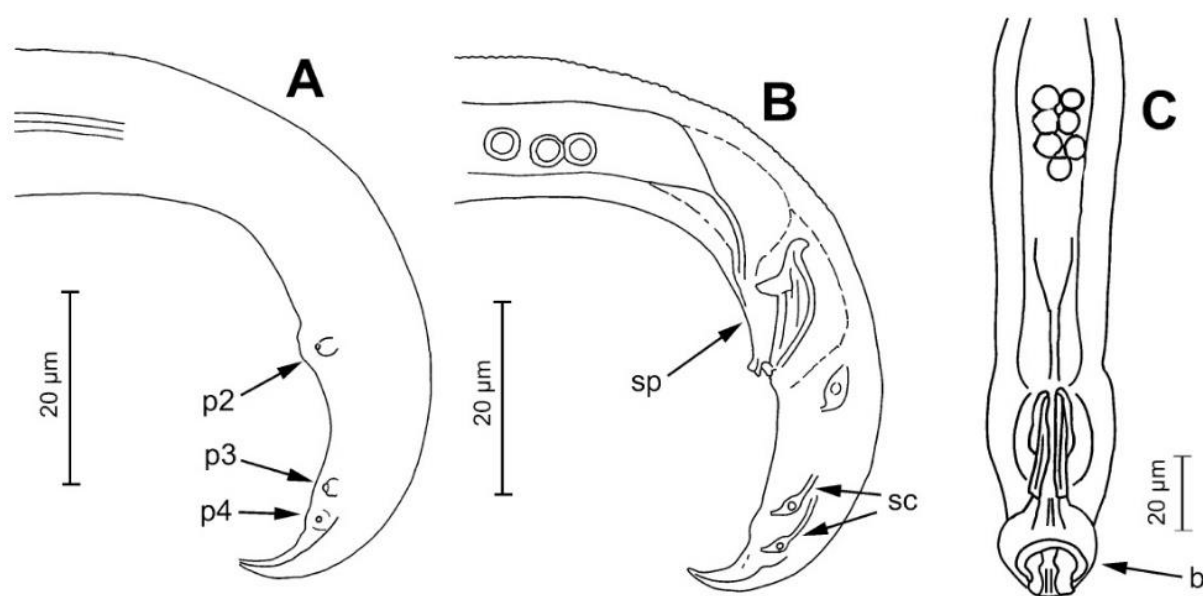


Рисунок 5 *B. ultophilus* sp. n. А, В – хвост самца на разных оптических уровнях, вид сбоку (p2-p4 = хвостовые папиллы самца; sc – сенсорные клетки папилл; sp – спикула); С – хвост самца, вид с вентральной стороны (b –бурса) (Ryss, **Polyanina** et al., 2015)

Хвост имеет форму ручки зонтика, оканчивается пленочной бурсой средних размеров с центральной хордой, длиной 5 мкм по центральной линии, 8-10 мкм по краям и шириной 10 мкм у основания. Бурса округлой или лопатообразной формы с усеченным концом и прямым задним краем. Имеется 7 хвостовых папилл: непарная папилла (P1) располагается вентрально непосредственно перед отверстием клоаки, пара P2 на том же уровне, что и P1 – латерально, пара P3 смещена на 55-65 % расстояния ближе к бурсе, пара маленьких похожих на поры папилл P4 расположена близко к вентральной средней линии на уровне латеральных краев бursы. Пара P4 может рассматриваться как «железистые gland-папиллы» из-за их небольшого размера и порообразной формы, тогда как другие папиллы имеют сосочковидную форму (Рисунки 2 К-N; 5, 6). Спиккулы утолщены, рострум и кондиллос хорошо развиты и разделены (группа *Hofmanni*) (Рисунок 2 О-U).

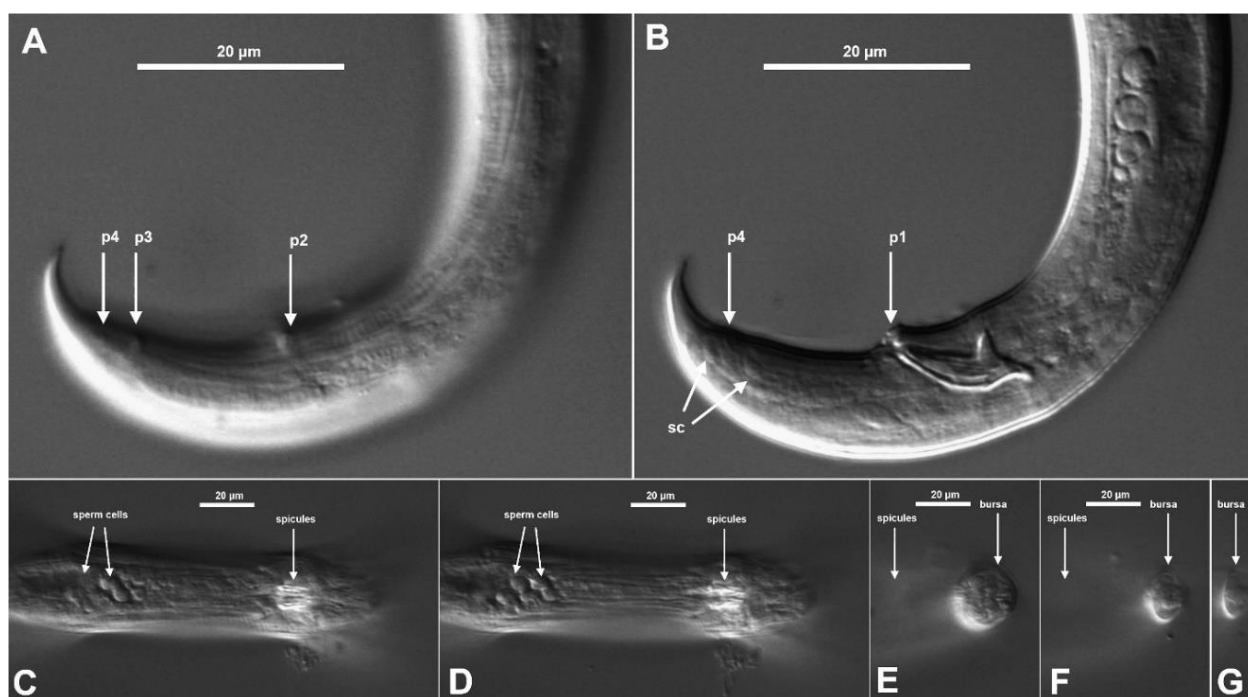


Рисунок 6 *B. ultophilus* sp. n. A, B – хвост самца на разных оптических уровнях, вид сбоку (P1-P4 – хвостовые папиллы самца; sc – сенсорные клетки папилл); C-G – хвост самца в серии оптических плоскостей, вид с вентральной стороны (Ryss, **Polyanina** et al., 2015)

Рострум тупоконический или округлый. Место соединения рострума и каломуса прямоугольное. Кондилус полусферический или пальцевидный, у большинства особей отчетливо загнут дорсально. Кончик спикеры (вид сбоку) с небольшим округлым кукулосом, его ширина немного больше длины, 1.2×1.0 мкм, иногда кукулос не выражен. Середина тела спикеры не расширена, с двумя линиями, типичными для группы *Hofmanni*, одна изогнутая линия вдоль дорсального края и вторая прямая линия вдоль вентрального края ламины; часто видна третья дополнительная центральная прямая линия. Дорсальный край ламины плавно и симметрично закруглен.

Таблица 8 Морфометрические характеристики *B. ulmophilus* sp. n. Все значения приведены в мкм как среднее $\pm$ стандартное отклонение (диапазон) (Ryss, Polyana et al., 2015)

Признак	Самец		Самка	Дауер-личинка J3D	Дауер-личинка J4D
	Голотип	Паратипы	Паратипы	Паратипы	Паратипы
Число экз (n)	—	20	20	10	9
Длина тела (L)	649	690 $\pm$ 37 (635-735)	827 $\pm$ 12 (807-838)	337 $\pm$ 26 (300-379)	409 $\pm$ 18 (385-422)
Длина тела / диам. тела (a)	47.9	46.2 $\pm$ 4 (41.7-53.9)	30.7 $\pm$ 1.6 (28.6-32.3)	20.9 $\pm$ 2.5 (15.8-24.6)	28.7 $\pm$ 5.5 (21.4-32.5)
Длина тела / длина глотки до среднего кишечника (b)	10.8	11.1 $\pm$ 1 (9.9-13.0)	12.7 $\pm$ 0.1 (12.5-12.8)	4.4 $\pm$ 0.6 (3.2-5.3)	6.1 $\pm$ 0.4 (5.6-6.6)
Длина тела / длина глотки до конца лопасти желез (b')	5.5	5.1 $\pm$ 0.34 (4.7-5.5)	6.0 $\pm$ 0.1 (5.9-6.1)	—	—
Длина тела / длина хвоста (c)	21.0	20.3 $\pm$ 0.8 (19.2-21.8)	20.1 $\pm$ 3.0 (15.6-23.2)	10.1 $\pm$ 1.8 (6.7-12.1)	7.5 $\pm$ 0.8 (6.6-8.4)
Длина хвоста / диаметр хвоста на уровне ануса или клоаки (c')	2.3	2.1 $\pm$ 0.4 (1.2-2.7)	3.4 $\pm$ 0.2 (3.1-3.5)	4.0 $\pm$ 0.5 (3.2-5.0)	5.8 $\pm$ 1.1 (5.0-7.3)
Расстояние переднего конца до вульвы . длина тела, % (V)	—	—	74.0 $\pm$ 1 (73.0-75.0)	—	—
Стилет	13.0	12.6 $\pm$ 0.4 (12.0-13.0)	13.4 (12.5-14.0)	—	—
Диаметр головной области	7.0	7.5 $\pm$ 0.5 (7.0-8.0)	7.8 $\pm$ 0.3 (7.5-8.0)	—	—
Высота головной области	3.5	3.6 $\pm$ 0.4 (3.0-4.0)	3.5 $\pm$ 0.5 (3.0-4.0)	—	—
Длина медиального бульбуса (L))	15.0	15.0 $\pm$ 0.6 (14.0-16.0)	16.8 $\pm$ 0.9 (16.0-18.0)	—	—
Диаметр медиального бульбуса (D))	11.5	11.9 $\pm$ 0.6 (11.0-13.0)	15.0 $\pm$ 1 (13.0-16.0)	—	—

Отношение длины медиального бульбуса к его диаметру	1.3	1.3 ± 0.1 (1.2-1.3)	1.2 ± 0.04 (1.1-1.2)	2.0 ± 0.2 (1.6-2.3)	1.4
Диаметр медиального клапана бульбуса	4	3.7 ± 0.5 (3.0-4.5)	4.7 ± 0.5 (4-5)	—	—
Экскреторная пора	89	79 ± 10.8 (58-91)	91 ± 1.5 (90-93)	—	—
Расстояние от переднего конца до гемизонида	97	91 ± 7.6 (76-99)	99 ± 1.3 (98-101)	—	—
Расстояние от переднего конца до нервного кольца	89	82 ± 6.5 (72-91)	88 ± 3.4 (84-93)	78 ± 7.4 (70-93)	68 ± 5.5 (64-75)
Длина глотки	64	63 ± 4.4 (56-71)	65 ± 0.9 (64-66)	87 ± 6.9 (80-101)	53 ± 1.5 (52-55)
Расстояние от переднего конца до заднего конца лопасти желез	127	135 ± 7.9 (127-153)	138 ± 3.1 (135-142)	—	—
Длина лопасти желез	63	72 ± 5.6 (63-82)	72 ± 2.7 (70-76)	—	—
Отношение длины лопасти желез к диаметру тела	4.2	4.5 ± 0.4 (4.1-5.1)	4.1 ± 0.2 (3.9-4.2)	—	—
Максимальный диам. тела	14.5	17 ± 4.0 (13-26)	27 ± 1.6 (25-29)	16 ± 1.3 (14-19)	15 ± 2.5 (13-18)
Задняя мешок матки (PUS)	—	—	84 ± 5.0 (76-89)	—	—
PUS / диам. тела у вульвы	—	—	3.1 ± 0.3 (2.6-3.4)	—	—
PUS / вульва-анус (%)	—	—	49 ± 2.0 (46-51)	—	—
Длина хвоста	33	34 ± 2.0 (30-36)	42 ± 6.8 (36-53)	34 ± 6.8 (27-50)	55 ± 4 (50-58)
Диам. тела на уровне хвоста	14.5	15.3 ± 1.0 (14.0-17.0)	12 ± 2.0 (11.0-15.0)	8.6 ± 1.2 (7.0-10.0)	9.7 ± 1.3 (8.0-11.0)
Толщина 10 колец тела в центре тела	12	12 ± 2.0 (10-15)	13 ± 2.0 (11-15)	—	—
Длина спикеры по дуге	17.0	16.1 ± 12.4 (13.0-18.0)	—	—	—
Длина спикеры по прямой хорде	15.0	14.9 ± 1.2 (13.0-17.0)	—	—	—
Длина спикеры / ширина спикеры позади роstrума	3.4	3.9 ± 0.4 (3.3-4.5)	—	—	—
Глубина впадины головки спикеры /роstrум-кондиллюс	0.2	0.2 ± 0.04 (0.17-0.25)	—	—	—
Длина спикеры / роstrум-кондиллюс	2.0	2.1 ± 0.1 (1.9-2.3)	—	—	—
Угол между линиями роstrум кондиллюс и продолжением (дорсальное пересечение)	19.0°	18.6 ± 5.3 (12.0-28.0)°	—	—	—

У половозрелой самки яичник хорошо развит, достигает уровня лопасти желез глотки, расположен на правой субвентральной стороне на уровне среднего кишечника (Рисунок 7). Яйцевод прямой и широкий, с складчатой поверхностью. Сперматека маленькая, овальная, расположена вентрально и левее проксимальной части яйцевода, со сферическими ядерными (не цитоплазматическими) сперматозоидами диаметром 4-5 мкм (Рисунок 8). Сперматека открывается с левой стороны в предскорлуповую железу складчатым семявыводящим протоком (Рисунок 7).

Яйцевод открывается в предскорлуповую железу с правой стороны. Предскорлуповая железа с небольшой внутренней полостью, позади переходящая в скорлуповую железу (крустаформерию). Предскорлуповая железа и скорлуповая железа разделены сфинктером с мощными фибриллами. Скорлуповая железа образована крупными сферическими клетками, содержащими цитоплазматические гранулы, она соединена с передним отделом матки, стенки которой состоят из крупных уплощенных клеток. Вагина кутикулярная, иногда наклонена кпереди, у большинства самок перпендикулярна вентральной поверхности тела, вульварный щиток небольшой, подковообразный с вершиной, направленной вперед, и длинными латеральными гребнями. Вульварные папиллы не обнаружены, но у всех исследованных экземпляров при взгляде сбоку на поверхности вульварного щитка имеется отчетливая поперечная складка (исчерченность) в виде полос. Пара трехклеточных структур расположена латерально по обеим сторонам вагины в месте соединения матки и заднего мешка матки (PUS), эти структуры несут склеротизованные зубчики на внутренней поверхности стенки матки (Рисунок 7). Задняя губа вульвы массивная, с внутренней стороны подстиляется полукруглой лентой из фибрилл. Задний мешок матки (PUS) очень широкий, пустой или иногда с округлыми клетками (предположительно, сперматозоидами), его задний конец полусферический, недифференцированный, рудиментарной задний яичник отсутствует. Отношение длины PUS к диаметру тела на уровне вульвы равно 2.6-3.4. PUS

занимает 46-51 % расстояния от вульвы до ануса. Хвост крючковидный, загнут вентрально. Кончик хвоста пальцевидный или конически закругленный.

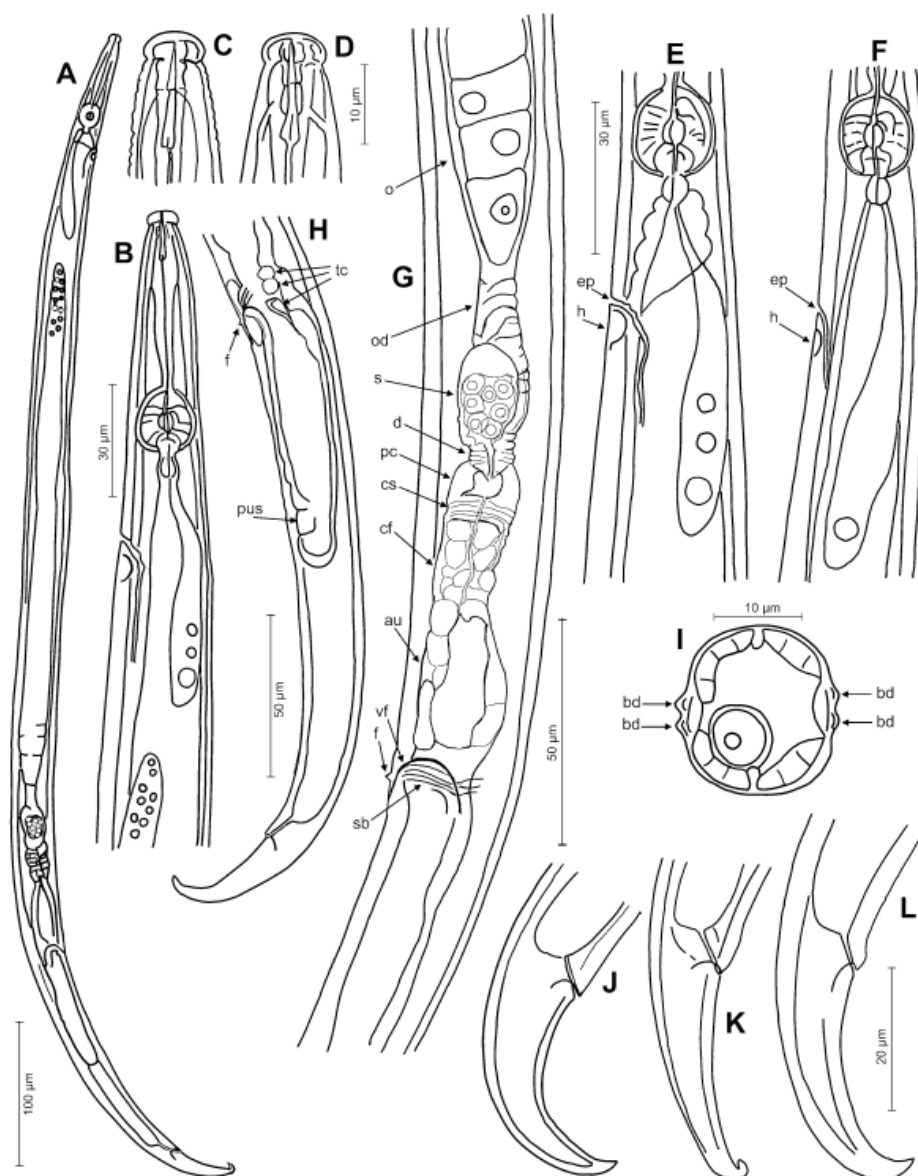


Рисунок 7 *B. ulmorphilus* sp. n. Самка. А – все тело; В – передний конец тела; С, D – голова и стилет; Е, F – лопасть желез глотки, медиальный бульбус, экскреторная пора (ep) и гемизонид (h); G – передняя часть женской половой системы (o = яичник; od = яйцевод; s = семяприемник, наполненный спермой; d = семявыводящий проток; pc = предскорлуповая железа; cf = скорлуповая железа; cs = сфинктер скорлуповой железы; au = передняя часть матки; vf = вульвальный щиток; f = складка вульвального щитка; sb = лентовидная исчерченность задней губы вульвы; H – задняя часть тела (tc = парная трехклеточная структура; f = складка вульвального щитка; PUS = задний мешок матки); I – поперечный срез тела у яичника с двумя валиками (= тремя инцизурами) латерального поля (bd); J-L – форма хвоста (Ryss, **Polyanina** et al., 2015)

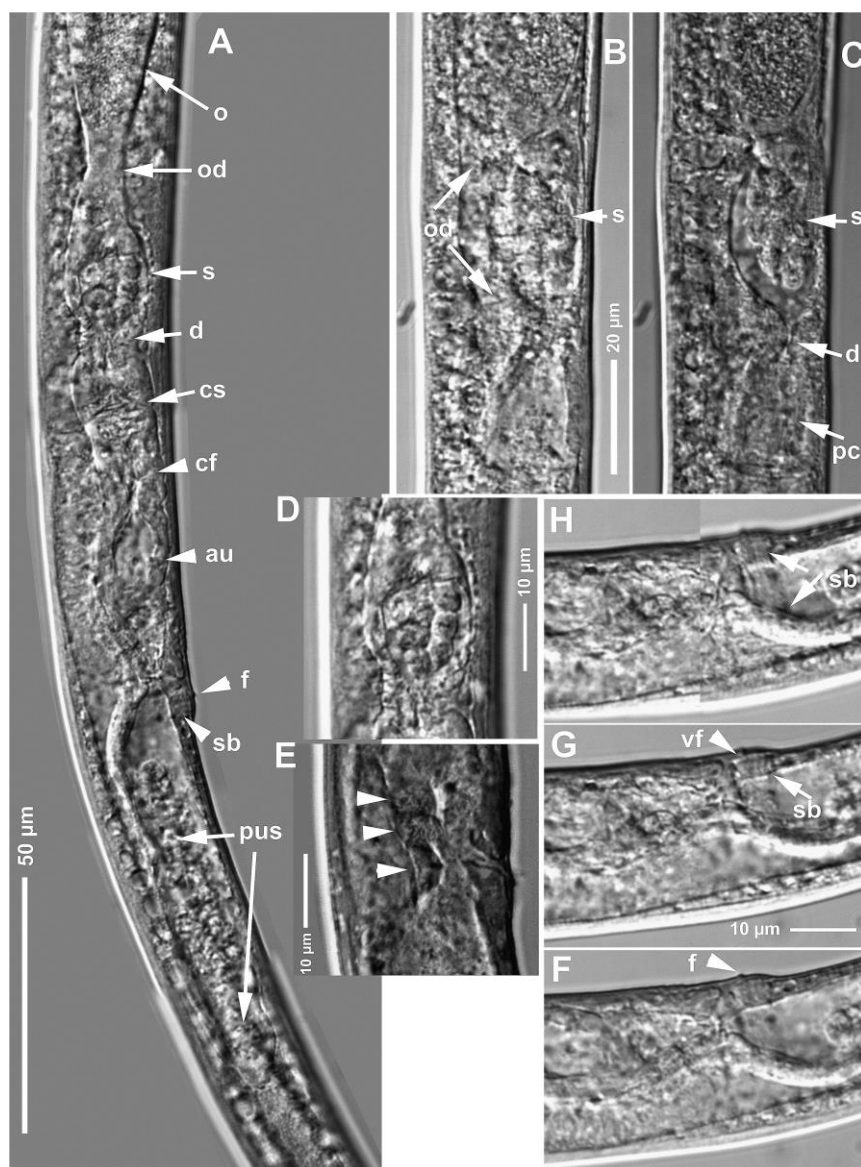


Рисунок 8 *B. ulmorphilus* sp. n. Половая система самки. А – отделы половой системы; В, С – расположение сперматеки (вентральное) и яйцевода (дорсальное); D – сперматозоиды в сперматеке; Е – парная трехклеточная структура вагины (стрелки); F-H – область вульвы с щитком (vf), складкой щитка вульвы (f) и линейной исчерченностью задней половой губы (sb) в боковой проекции в серии оптических плоскостей. Остальные сокращения как на Рисунке 7 (Ryss, **Polyanina** et al., 2015)

Морфология дауер-личинки *B. ulmorphilus*

Дауер-личинки были обнаружены на поверхности тел жуков *S. multistriatus*, а также под надкрыльями. Морфометрические показатели указаны в Таблице 8. Тело дауер-личинки утолщенное, прямое или несколько изогнуто вентрально (Рисунок 9 А, В).

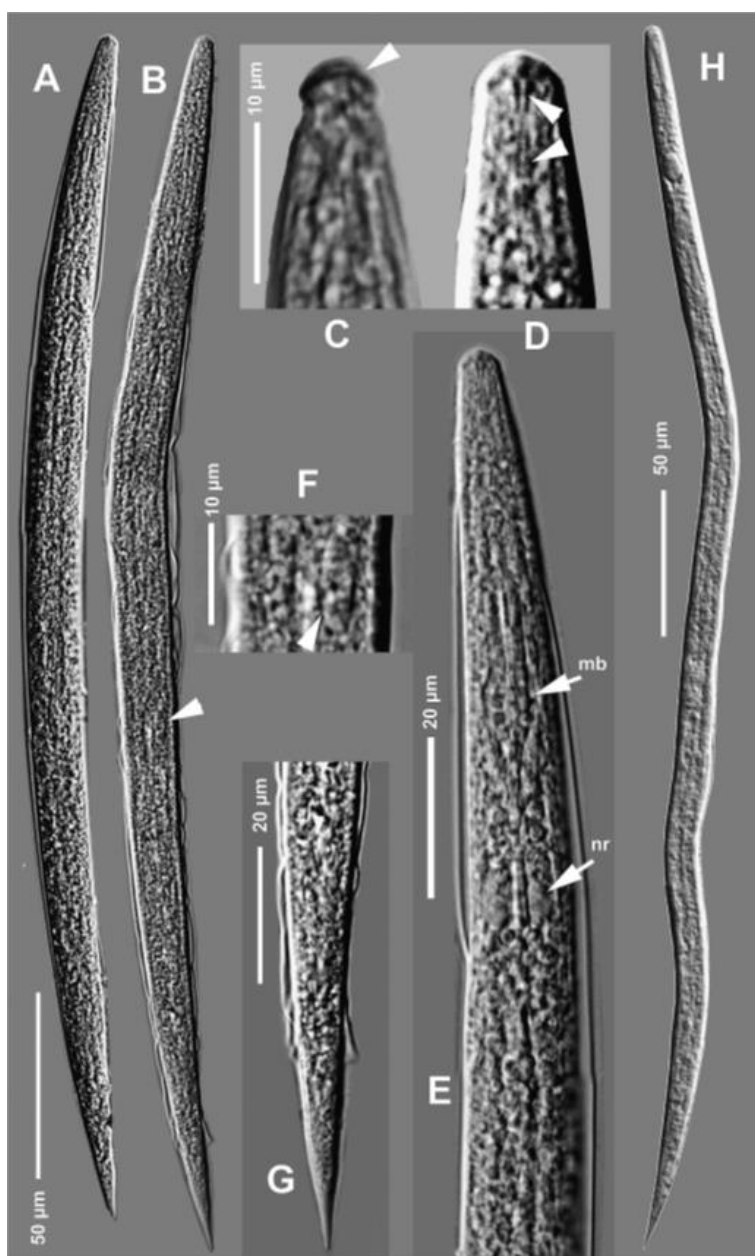


Рисунок 9 *B. ultophilus* sp. n. Дауеры. А, В – личинка дауера J3D (стрелка = половой зачаток); С, D – голова дауера J3D с гиалиновым колпачком (стрелка на С) и капиллярной стомой (стрелка на D); Е – передняя область дауера J3D (mb = медиальный бульбус; nr = нервное кольцо); F – половой зачаток J3D; G – хвост J3D; H – дауер-личинка в линьке с J3D на J4D (Ryss, **Polyanina** et al., 2015)

Головная область не обособлена, полусферическая, с передним толстым гиалиновым куполом, сплошным или слабо отделенным. Стиллет отсутствует, но видна капиллярная стома (Рисунок 9 С, D). Медиальный бульбус лишен мышц и клапана, удлинённый, веретеновидный 11×6 мкм, от передней границы до задней 38-53 мкм (Рисунок 9 Е). Экскреторная пора располагается

на задней границе нервного кольца. Гемизонид находится сразу позади экскреторной поры. Лопасть глоточных желез узкая, нечетко очерчена, 28-32 мкм. Половой зачаток маленький, яйцевидный, $(10-12) \times (5-6)$ мкм, (V) 53-73 % длины тела (Рисунок 9 F). Хвост узко конический, прямой, на конце имеется гиалиновая зона длиной 10-16 мкм (Рисунок 9 G). Исходя из размера тела, структуры и размера полового зачатка, дауер-личинки отнесены к младшей стадии J3D. Личинки J3D были экстрагированы из препарированных жуков в течение 1 часа, этого времени было недостаточно, чтобы слинять на следующую стадию.

Личинки J4D были получены из J3D через 3-6 часов в водопроводной воде. Тело стройное, прямое или вентрально изогнутое (Рисунок 9 H). Головная область не обособленная, полусферическая, высокая, стилет не оформлен, видна только капиллярная трубка. Медиальный бульбус овальной формы 10×7 мкм, слабо мышечный, внутренний клапан отсутствует, задний край бульбуса находится на расстоянии 52-55 мкм от переднего конца. Экскреторная пора имеется, слабо кутикуляризирована. Лопасть глоточной железы 45-50 мкм. Половой зачаток удлинённый, длиной 97-134 мкм или 24-32 % длины тела. Зачаток вульвы составляет 66-76 %. Хвост узко конический, прямой или вентрально изогнутый. Основываясь на длине полового зачатка этих дауер-личинок, можно заключить, что они принадлежат к преадультной стадии, т.е. J4D. Следовательно, личинки предыдущей стадии, из которой сформировались личинки J4D в результате линьки, относятся к стадии J3D, что подтверждает выводы, сделанные выше из общей морфологии дауера.

Представление о жизненном цикле паразита имеет ключевое значение при изучении отношений между хозяином и паразитом, а также переносчиком и паразитом. Нами были изучены все личиночные стадии вида *B. ulmophilus*. Особое внимание было уделено изучению структуре полового зачатка, поскольку согласно исследованиям, проведенным ранее, эти структуры наиболее значимы для идентификации стадии и пола личиночных особей (Hirschmann, 1962, 1971; Hirschmann, Triantaphyllou, 1967; Ryss, 1981). В ходе

исследования для большего понимания морфологических особенностей всех стадий постэмбрионального развития, тела нематод были окрашены при помощи ядерных красителей: 75% ацет-орсеина и насыщенного водного раствора метиленового синего.

Нами было обнаружено, что первая линька происходит внутри яйцевой оболочки, таким образом, из яйца наружу выходит личинка второй стадии (J2). Стадии сменяются в серии 3 линек, личинок можно классифицировать как J2, J3, J4, а также половозрелых самцов и самок. Обнаружить линьку можно по отслаивающейся кутикуле на концах тела нематод (Рисунок 10). Пол личинок возможно идентифицировать, начиная с J3 стадии. Стадию и пол личинок возможно определить по размеру и расположению полового зачатка в теле нематоды. По размеру тела и соотношению между длиной тела и длиной глотки (индекс b), можно установить, к какой стадии относится личинка.

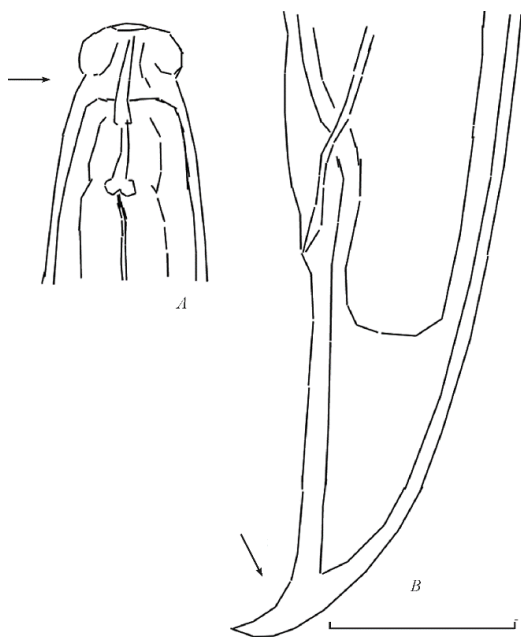


Рисунок 10 Личинка J4, линяющая на взрослого самца. А – голова; В – кончик хвоста, с отслоившейся кутикулой. Стрелки: линяющая кутикула отделена от стенки тела. Масштаб – 10 мкм (Ryss, **Polyanina**, 2017)

Вышедшая из яйца личинка второй стадии имеет небольшой половой зачаток, состоящий из четырех клеток: двух больших герминальных клеток в центральной части и двух маленьких соматических ядер по краям (Рисунок 11 А, В). Располагается зачаток на уровне среднего кишечника (Рисунок 12).

Вторая личиночная стадия отличается от старших стадий меньшим числом клеток в половом зачатке, а также размером тела менее 200 мкм.

Идентифицировать самца третьей стадии возможно по половому зачатку, состоящему из 3-5 герминальных клеток в задней части и 12 соматических ядер в передней части (Рисунок 11 G), кроме того, на концах полового зачатка имеется одно соматическое апикальное ядро. Половой зачаток располагается на уровне середины кишечника. Зачаток клоаки образует собой плотное скопление соматических ядер вокруг прямой кишки (Рисунок 11 F, G; 12).

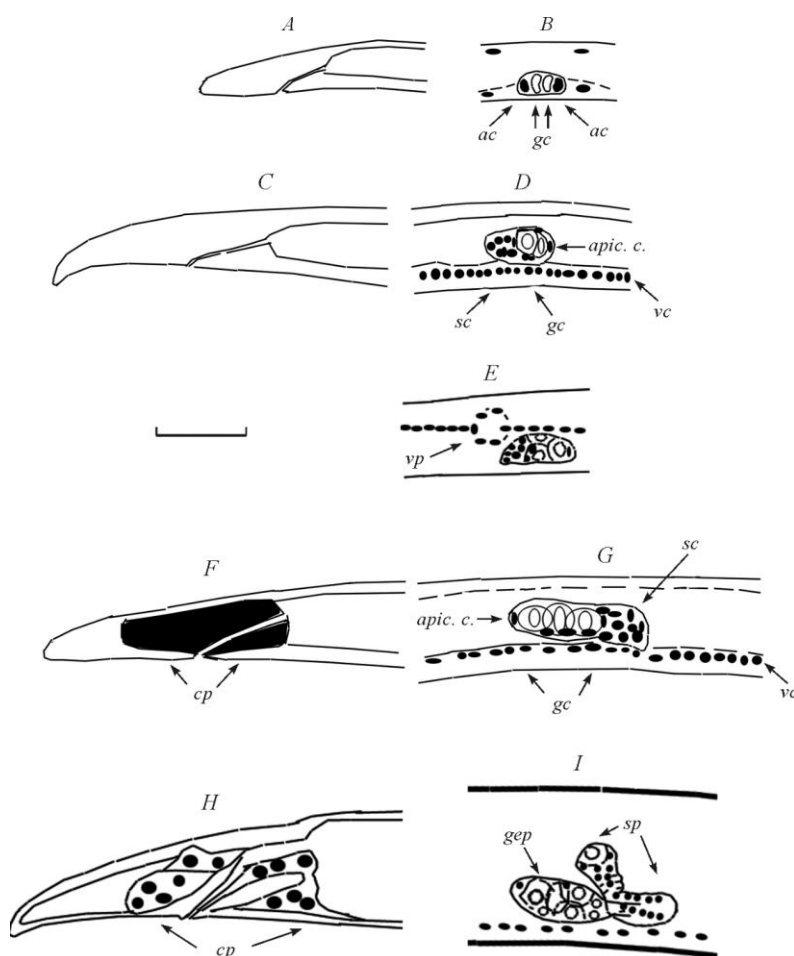


Рисунок 11 Хвосты личинок (A, C, F, H) и половые зачатки (B, D, E, G, I). A, B – личинка второй стадии; C, D, E – личинка третьей стадии, самка (C, D – латеральный вид; E – вентральный вид); F, G – личинка самца третьей стадии; H, I – личинка самца, линяющая от третьей до четвертой стадии (I – "стадия петли" мужского полового зачатка с круговым разворотом соматической части на 180°). 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 (Ryss, Polyanina, 2017)

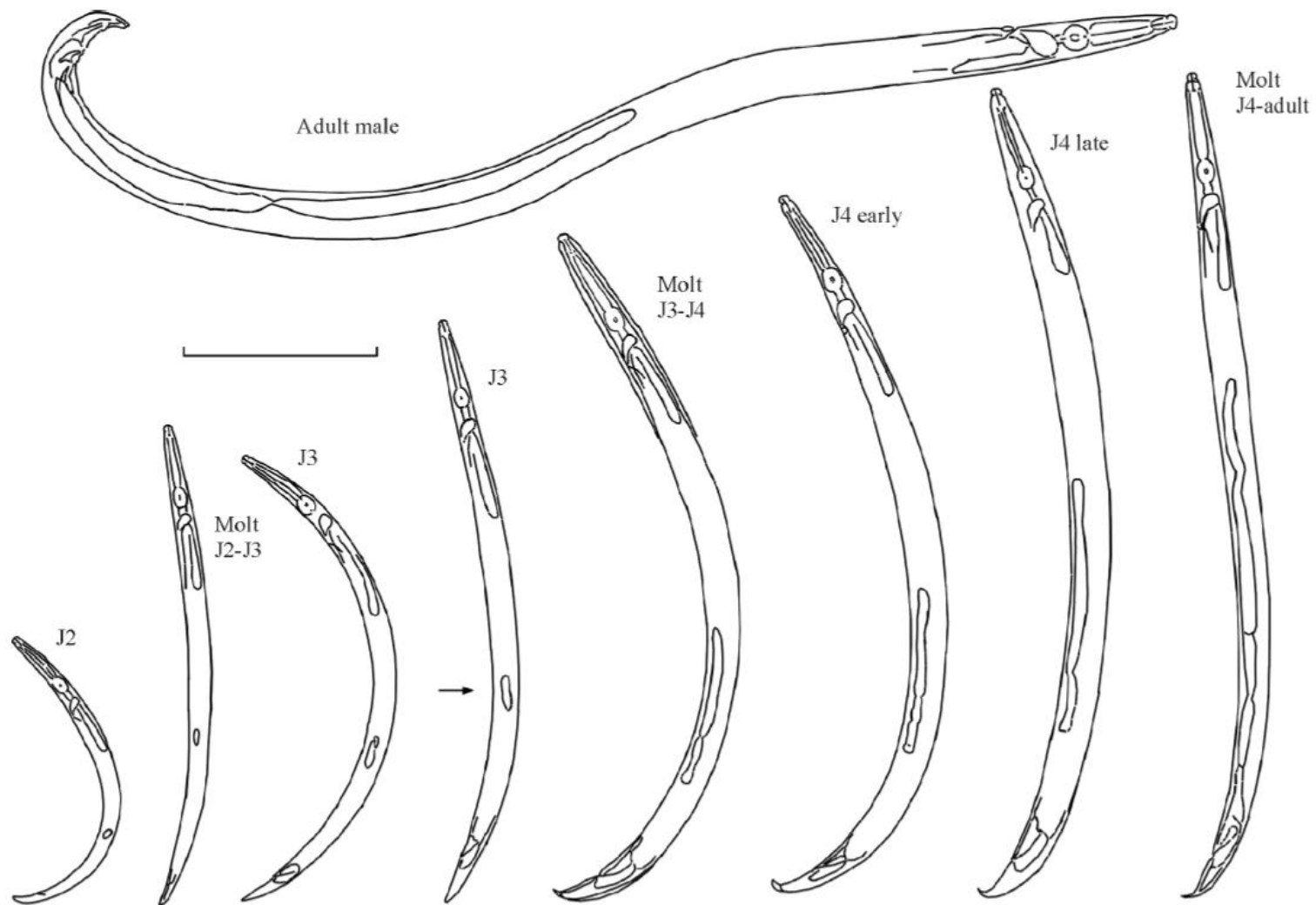


Рисунок 12 Положение половых зачатков в теле личинок и половозрелых самцов. Стрелка: положение полового зачатка. Масштаб – 100 мкм (Ryss, **Polyanina**, 2017)

Половой зачаток самки третьей стадии представлен 2 крупными герминальными клетками в передней части и 12 соматическими ядрами в задней части зачатка, на концах полового зачатка имеется одно соматическое апикальное ядро (Рисунок 11 D, E). Круг, состоящий из шести соматических ядер, прерывающих цепочку вентрального гиподермального тяжа из соматических ядер, является зачатком вульвы (Рисунок 11 E).

Отличия личинок самцов третьей стадии от личинок самок третьей стадии проявляются в наличии зачатка клоаки и расположении герминальных клеток в задней части полового зачатка. У самок J3 герминальные клетки расположены в передней части полового зачатка. Личинки J3 отличаются от личинок J2 по количеству клеток полового зачатка (более 10 клеток у J3 против 4 у J2). Начиная с четвертой стадии развития, различия личинок между J3 и J4 характеризуются также длиной полового зачатка, у J3 зачаток занимает 6 % длины тела или менее, у J4 и половозрелых особей 20 % или более.

Личинки самцов четвертой стадии имеют массивный зачаток клоаки с многочисленными соматическими ядрами вокруг прямой кишки и прозрачной полостью перед прямой кишкой с рудиментарными спикулами. Половой зачаток отчетливо разделен на переднюю герминальную часть из 30-60 крупных клеток и соматическую часть из двух рядов соматических ядер с 15-16 ядрами в каждом ряду. Соматическая часть не разделена на отделы. В заднем конце полового зачатка находится сферическая пустая полость (Рисунок 13 A). Половой зачаток занимает 20-32 % длины тела. Кончик хвоста с узкоконической 6 (4-9) мкм гиалиновой зоной, изогнутой вентрально, соответствующей бурсальному щитку взрослого самца.

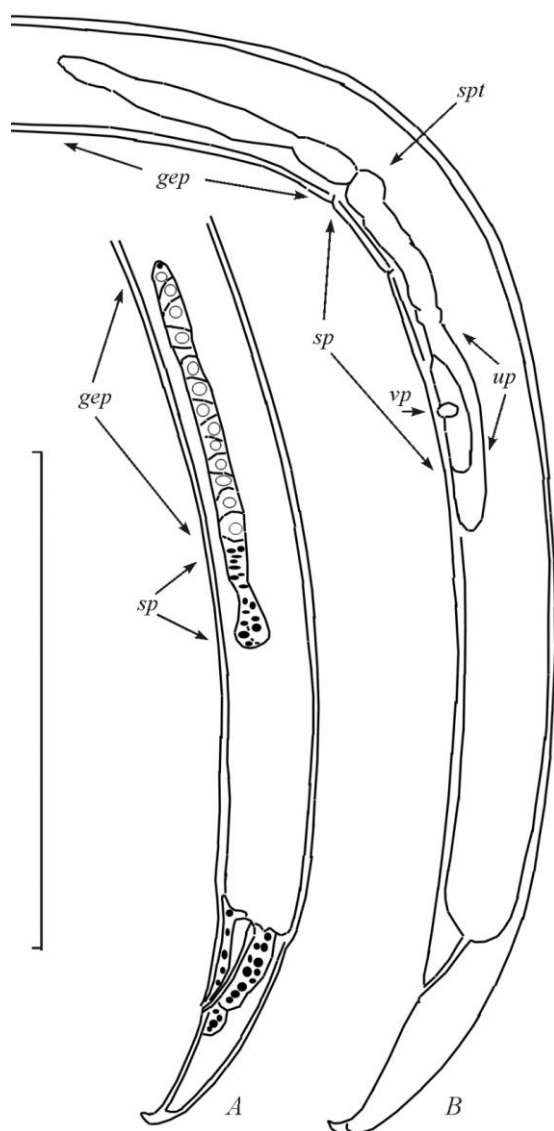


Рисунок 13 Половой зачаток и хвосты личинок четвертой стадии. А – личинки самца четвертой стадии, Б – личинки самки четвертой стадии. gep – герминальная часть зачатка, sp – соматическая часть, up – зачаток матки, vp – зачаток вульвы. часть, up – зачаток матки, vp – зачаток вульвы. Масштаб – 100 мкм (Ryss, **Polyanina**, 2017)

Половой зачаток самки четвертой стадии разделен на переднюю герминальную часть, состоящую из 20-30 крупных клеток и заднюю соматическую часть, состоящую из более чем 60 соматических ядер. Соматическая часть делится на отделы, среди которых зачаток матки (у всех личинок J4) и сферический зачаток сперматеки (только у старших личиночных особей J4) (Рисунок 13 В). Зачаток матки состоит из многочисленных рядов соматических клеток. На вентральной стороне стенки тела в середине зачатка матки линзовидная инвагинация, окруженная массивной структурой,

прикрепленная к вентральной стенке тела, это зачаток вульвы. Половой зачаток занимает 27-31 % длины тела.

Отличия личинок самцов четвертой стадии от личинок самок той же стадии проявляются в наличии зачатка клоаки и в отсутствии отделов соматической части полового зачатка, в то время как у самок J4 видны отчетливые отделы в половом зачатке с массивной маткой и отделом сперматеки. У самок J4 присутствует линзовидный прозрачный зачаток вульвы на уровне зачатка матки. У личинок самцов J4 зачаток вульвы отсутствует. Личинки четвертой стадии отличаются от J3 более крупным половым зачатком (20 % длины тела или более против 6 % или менее у J3) и большим количеством клеток зачатка (более 50 клеток у J4 против 20 и менее у J3). От половозрелых нематод J4 отличаются отсутствием копулятивных органов (спикул у самцов и вульвы у самок).

Серию линек от одной стадии к другой можно проследить благодаря отслаивающейся кутикуле на концах тела нематод: голове и кончике хвоста. Структура полового зачатка у линяющих особей является промежуточной фазой между структурами зачатков, описанных выше для личинок J2-J4.

У личинок, линяющих с J2 на J3 (Рисунок 12) в центре полового зачатка 3-4 митоза соматических ядер расположены между герминальными клетками.

Линька личинки самца с J3 на J4 (Рисунок 11 Н, I): половой зачаток в виде «петли», с передней вершиной и соматической и герминальной зонами, обращенными назад; соматическая часть отделена перетяжкой от герминальной, а ее вершина изогнута крючкообразно (Рисунок 11 I). Зачаток клоаки увеличен, с прозрачной внутренней полостью перед прямой кишкой, содержащей прозрачные контуры спикул. Эта фаза линьки свидетельствует об изменении ориентации соматической части (развороту со сменой полюсов зачатка по Hirschmann, 1962, 1971), которая у личинок самцов J3 расположена фронтально, а у J4 смещена в заднем направлении, таким образом, вытягивая герминальную часть в переднем направлении (Рисунок 11, поздняя фаза линьки J3-J4).

Линька личинки самки с J3 на J4: соматическая зона полового зачатка в его задней части содержит более 20 соматических ядер, герминальная зона в передней части зачатка 5-10 крупных герминальных клеток.

Линька от J4 до самца (Рисунок 12): соматическая часть полового зачатка достигает массивного зачатка клоаки, в котором отчетливо видны очертания прозрачных спикул. Бурса не сформирована, хвост узкоконический, с гиалиновой зоной длиной 9 мкм.

Линька от J4 до самки: зачаток вульвы представляет собой массивную клеточную агломерацию с внутренней поперечной щелью, но без отверстия снаружи. Все отделы половой системы четко выражены: яичник, состоящий из 30-40 герминальных клеток, яйцевод, пустые сперматеки, скорлуповая железа, и матка с внутренней пустой полостью.

Морфометрические показатели всех стадий постэмбрионального развития представлены в Таблице 9.

Таблица 9 Морфометрические измерения (в мкм) и индексы стадий развития *B. ultrophilus*. Все значения приведены как среднее $\pm$ стандартное отклонение (минимум-максимум) (Ryss, Polyanina, 2017)

Стадия/признак	J2	J3 самец	J3 самка	J4 самец	J4 самка	Самец	Самка
Число экз. (n)	20	20	20	20	20	15	15
Длина тела (L)	188 $\pm$ 8 (179-201)	332 $\pm$ 26 (291-362)	347 $\pm$ 37 (285-385)	425 $\pm$ 11 (413-440)	485 $\pm$ 36 (450-520)	679 $\pm$ 11 (666-685)	674 $\pm$ 90 (538-802)
Диаметр тела	6 $\pm$ 1 (5-8)	10 $\pm$ 1 (9-11)	10 $\pm$ 2 (8-13)	15 $\pm$ 2 (13-17)	16.4 $\pm$ 0.3 (16-17)	15 $\pm$ 1 (14-16)	19 $\pm$ 3 (14-23)
Длина глотки	68 $\pm$ 4 (63-74)	97 $\pm$ 5 (90-104)	90 $\pm$ 6 (81-97)	117 $\pm$ 5 (112-124)	110 $\pm$ 8 (102-118)	117 $\pm$ 8 (108-122)	111 $\pm$ 15 (86-130)
Длина хвоста	15 $\pm$ 2 (14-19)	24 $\pm$ 3 (19-27)	24 $\pm$ 3 (18-27)	31 $\pm$ 2 (29-34)	28 $\pm$ 2 (26-30)	30.3 $\pm$ 0.4 (29-31)	38 $\pm$ 4 (31-43)
Диам. тела на уровне хвоста	4 $\pm$ 1 (4-5)	6 $\pm$ 1 (5-7)	6 $\pm$ 1 (4-7)	7 $\pm$ 1 (7-8)	9.0 $\pm$ 0.3 (8-10)	10 $\pm$ 1 (9-10)	7 $\pm$ 1 (6-9)

Длина полового зачатка (GPL)	5 ± 1 (4-8)	15 ± 2 (11-18)	12 ± 3 (8-18)	105 ± 27 (86-142)	138 ± 1 (136-140)	371 ± 65 (333-445)	252 ± 53 (175-306)
Диаметр полового зачатка (GPW)	3 ± 1 (2-4)	4 ± 1 (3-5)	4 ± 1 (3-5)	6 ± 1 (5-7)	8.5 ± 0.5 (8-9)	12 ± 2 (11-14)	16 ± 2 (14-19)
Отношение длины тела к диам. тела (a)	32 ± 5 (25-37)	33.2 ± 0.9 (32-34)	35 ± 4 (28-39)	30 ± 3 (26-32)	30 ± 3 (27-32)	44 ± 3 (42-48)	36 ± 4 (31-42)
Отношение длины тела к длине глотки (b)	2.8 ± 0.2 (2.5-3.1)	3.4 ± 0.3 (3.1-3.9)	3.8 ± 0.3 (3.5-4.5)	3.7 ± 0.2 (3.3-3.9)	4.4-4.5	5.8 ± 0.3 (5.6-6.2)	6.1 ± 0.6 (5.3-7.0)
Отношение длины тела к длине хвоста (c)	12 ± 1 (10-14)	14 ± 1 (13-16)	15 ± 1 (12-16)	14 ± 1 (12-15)	17 ± 1 (16-18)	22 ± 1 (21-23)	18 ± 2 (15-20)
Отношение длины хвоста к диаметру хвоста на уровне ануса или клоаки (c')	3.6 ± 0.2 (3.4-4.1)	3.9 ± 0.2 (3.5-4.5)	4.2 ± 0.3 (3.7-4.6)	4.2 ± 0.4 (3.6-4.6)	3.1 ± 0.3 (2.8-3.4)	3.1 ± 0.2 (3.0-3.3)	5.2 ± 0.5 (4.7-6.2)
Расстояние от вульвы или ее зачатка до переднего конца, к длине тела (V), %	66 ± 1 (65-68)	-	62 ± 2 (58-66)	-	73 ± 2 (71-75)	-	73 ± 1 (71-75)
Отношение длины полового зачатка к его диам. (GPL/GPW)	1.6 ± 0.2 (2.0-2.4)	4.1 ± 1.0 (2.8-5.7)	2.6 ± 0.6 (2.0-3.9)	17.4 ± 2.5 (14.3-20.3)	16.3 ± 1.0 (15.3-17.3)	30.8 ± 0.4 (30.5-31.3)	16.6 ± 4.5 (11.0-21.8)
Отношение длины полового зачатка к длине тела (GPL/L, %)	3 ± 1 (2-4)	4.6 ± 0.9 (3-6)	3.0 ± 0.7 (3-5)	25 ± 6 (20-32)	29 ± 2 (27-31)	55 ± 11 (49-67)	39 ± 11 (26-56)

Индивидуальное развитие и рост личинок проиллюстрирован на диаграммах (Рисунок 14) с тремя основными параметрами: длина тела, соотношение между длиной тела и длиной глотки до заднего конца лопасти глоточной железы (b') и соотношение между длиной полового зачатка и длиной тела. Тело растет быстрее, чем глотка у личинок самцов и самок (Рисунок 14 В). Максимальное удлинение тела происходит между третьей и четвертой

стадиями (Рисунок 14 С). В этот же период происходит максимальное удлинение и дифференциация полового зачатка у обоих полов (Рисунок 14 С). Тело личинок увеличивается и между линьками внутри стадий развития, что проявляется в диапазонах размеров каждой стадии (Таблица 9).

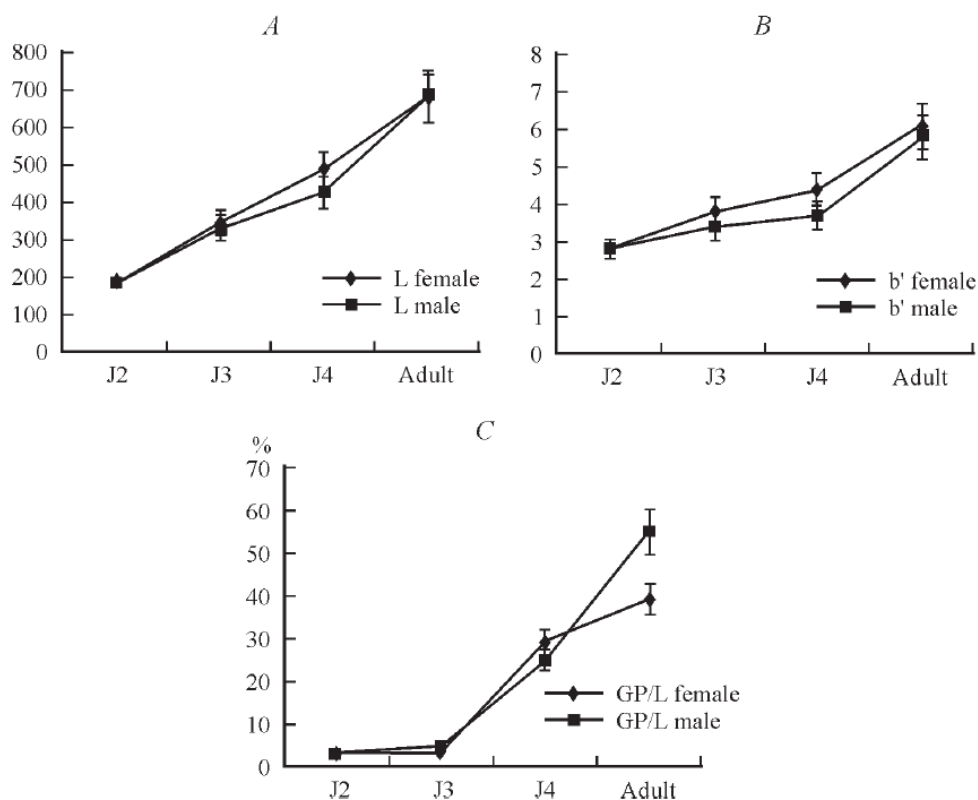


Рисунок 14 Диаграммы роста личинок. А — длина тела, В — отношение длины тела к длине глотки (b'), С — отношение длины полового зачатка к длине тела (GP/L, %). Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение среднего значения (Ryss, **Polyanina**, 2017)

Морфологическое описание половозрелых особей вида *R. ulmi*

Тело почти прямое, длина 700-850 мкм (Таблица 10). Боковое поле начинается на уровне телостома и продолжается до гиалиновой зоны кончика хвоста у самок и до клоакального отверстия у самцов, имеет 4 инцизуры: два отчетливых боковых гребня разделены ложбинкой, ширина которой равна ширине гребня (Рисунок 15 Е). На вентральной и дорсальной стороне боковое поле окаймлено 3-5 невысокими гребнями, пересекаемыми поперечными кольцами, максимальное число этих гребней вне бокового поля в середине тела равно пяти, на концах тела уменьшается до трех гребней. Вне гребней

кутикулярные кольца пересечены продольными линиями, таким образом, каждое кольцо состоит из прямоугольников, длинные стороны которых параллельны оси тела. Обособленные дорсальные и вентральные гребни кутикулы начинаются на уровне корпуса (т.е. объединенного прокорпуса и переднего бульбуса).

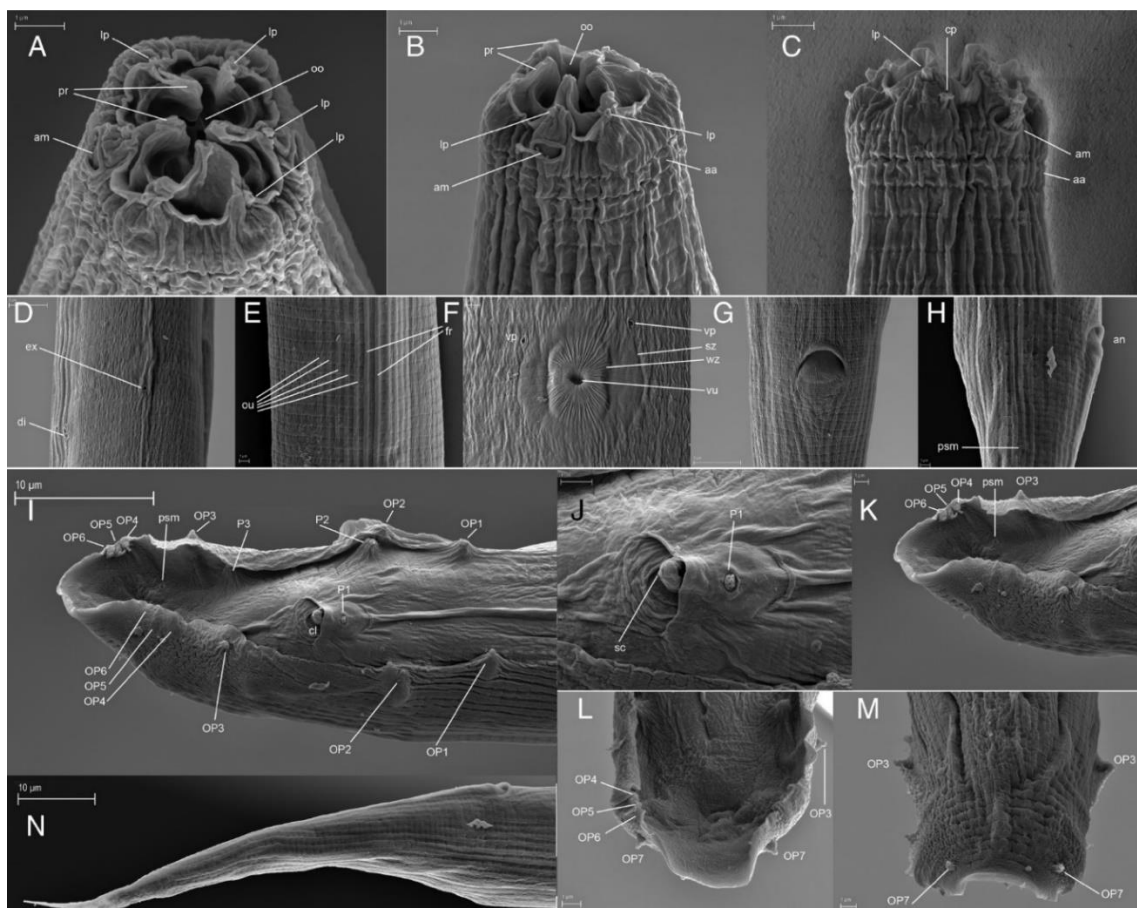


Рисунок 15 *R. ulmi*. СЭМ. А, В – головная область самки. С – головная область самца: aa – переднее кольцо, ср – головная папилла, ам – амфид, lp – губные папиллы, pr – проболы, oo – ротовое отверстие. Д – участок тела самки: ек – экскреторная пора самки, di – дейрид. Е – латеральное поле самца в середине тела: fr – гребни латерального поля, ou – наружные гребни тела. F – самка: vu – вульва, vp – вульважные поровидные папиллы, wz – морщинистая зона, sz – гладкая зона. G, H: an – анус самки; G – вентральный вид, H – вид сбоку с мелким фазмидом (psm). I – хвост самца с хвостовыми папиллами, вид с вентральной стороны. P1 – непарная преклоакальная папилла, OP1...OP7 – папиллы на крыльях бursy, P2...P3 – внутренние папиллы на вентральной стороне хвоста; cl – отверстие клоаки, psm – поровидный фазмид. J: sc – отверстие клоаки с кончиками спикул, P1 – непарная папилла. K: кончик хвоста с OP3, группой папилл OP4-OP6, psm – фазмид. L, M: папиллы OP7; L – вид вентрально, M – вид дорсально. N: хвост самки (Ryss, **Polyanina**, et al., 2021)

Дорсальный гребень заканчивается у гиалиновой зоны кончика хвоста у самок и на уровне отверстия клоаки у самцов. Вентральный гребень заканчивается перед клоакальным отверстием у самцов и перед передней губой ануса у самок. Головная область не обособлена, небольшая, ее стороны угловатые при виде сбоку и шестиугольные радиально-симметричные при виде спереди, лишена колец. При исследовании СЭМ (под сканирующим электронным микроскопом) видно, что головная область отчетливо обособлена первым кольцом тела. Шесть одинаковых треугольных пробол указывают на центр шестилопастного ротового отверстия, образуя конический купол. На переднем крае каждой проболы находится трубчатая внутренняя губная папилла с центральным отверстием. Головные папиллы отсутствуют у самок, но четыре трубчатые головные папиллы отчетливо видны у самцов в середине двух субдорсальных и двух субвентральных пробол (Рисунок 15 С). Амфиды овальные, расположены позади латеральных пробол непосредственно за уровнем задних складок ротового отверстия между головными лопастями.

При помощи лазерной конфокальной микроскопии нам удалось детально изучить строение стомы, глотки и мышц гениталий и хвоста *R. ulmi*. Губная область имеет шесть губ, латеральные губы увеличены. Хейлостома чашевидная и шестиугольная, в базальной части окаймляет участок гимностома (Рисунок 16; 17 А). Каждый из шести секторов хейлостомы включает одну продольную мышцу, идущую от основания до вершины губы, и кольцевидный мышечный воротничок с многочисленными радиальными волокнами у основания хейлостомы, вне продольных мышц стенки тела. Гимностом узкий, гибкий, с тонкой мышечной стенкой (Рисунок 17 А). Трубчатое основание хейлостомы окружает передний край гибкого гимностома мышечным воротничком, длина которого равна ширине головы. Гимностом в 8-12 раз длиннее хейлостомы, оканчивается стегостомом в передней части переднего бульбуса. Стегостом анизоморфный с отчетливой дорсальной передней выпуклостью (*sbu*), задняя часть стегостома окружена

твердым кутикулярным кольцом с двумя отчетливыми латеральными отверстиями.

Таблица 10 Морфометрические параметры половозрелых особей *R. ulmi* (в мкм). Все значения даны как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (минимум-максимум) (Ryss, Polyana, et al., 2021)

Признак/пол	Самец	Самка
Число экз. (n)	20	20
Длина тела (L)	715 $\pm$ 148 (557-1007)	804.6 $\pm$ 139.2 (633-1012)
Диам. тела	20.7 $\pm$ 5.2 (15.5-28.0)	27.0 $\pm$ 7.0 (19.0-36.0)
Стома	35 $\pm$ 4 (29-40)	34.2 $\pm$ 3.6 (31-41)
Корпус (прокорпус + метакорпус)	41 $\pm$ 3 (34-47)	43 $\pm$ 4 (36-47)
Глотка	130.6 $\pm$ 12.3 (112-149)	132.5 $\pm$ 11.7 (116-146)
Диам. губной области	6.4 $\pm$ 0.9 (5.5-8.0)	6.9 $\pm$ 1.0 (5.5-8.0)
Нервное кольцо	101.7 $\pm$ 12.7 (84-127)	102.6 $\pm$ 8.6 (90-112)
Экскреторная пора	107.5 $\pm$ 13.1 (92-134)	111.6 $\pm$ 9.8 (97-127)
Хвост	28 $\pm$ 7 (19-39)	83 $\pm$ 8 (68-92)
Диам. тела на уровне ануса	12.2 $\pm$ 1.7 (10-15)	12.4 $\pm$ 2.2 (10-16)
Длина половой трубки	411 $\pm$ 100 (295-586)	403 $\pm$ 172.7 (204-760)
Диам. половой трубки	19 $\pm$ 8.8 (9.5-35.5)	27.6 $\pm$ 9.0 (15.5-39.0)
Длина спиккулы по дуге	45.9 $\pm$ 6 (34.5-53.0)	—
Расстояние от вульвы до переднего конца / длина тела (V), %	—	56 $\pm$ 2 (55-60)
Длина тела / диам. тела (a)	35.1 $\pm$ 4.4 (27.8-39.9)	30.6 $\pm$ 4.6 (26.1-38.0)
Длина тела / длина глотки (b)	5.4 $\pm$ 0.7 (4.8-6.8)	6.1 $\pm$ 0.6 (5.3-6.9)
Длина тела /длина хвоста (c)	25.8 $\pm$ 4.0 (20.5-33.4)	9.7 $\pm$ 1.0 (8.5-11.5)
Длина хвоста / диаметр хвоста на уровне ануса или клоаки (с')	2.3 $\pm$ 0.4 (1.7-3)	6.8 $\pm$ 1.0 (5.5-8.2)
Стома/корпус	0.81 $\pm$ 0.02 (0.79-0.85)	0.82 $\pm$ 0.06 (0.74-0.87)
Стома/глотка	0.28 $\pm$ 0.01 (0.26-0.27)	0.27 $\pm$ 0.02 (0.25-0.29)
Длина корпуса к его диаметру	3.4 $\pm$ 0.3 (2.7-3.8)	3.2 $\pm$ 0.3 (2.7-3.6))
Корпус / глотка	0.31 $\pm$ 0.03 (0.29-0.37)	0.32 $\pm$ 0.01 (0.30-0.36)
Передний отдел глотки / задний отдел глотки	0.60 $\pm$ 0.01 (0.59-0.61)	0.61 $\pm$ 0.04 (0.55-0.65)
Длина половой трубки к ее диам. (GTL/GTW)	24.8 $\pm$ 10.8 (13.5-41.4)	14.7 $\pm$ 4.4 (10.8-23.3)

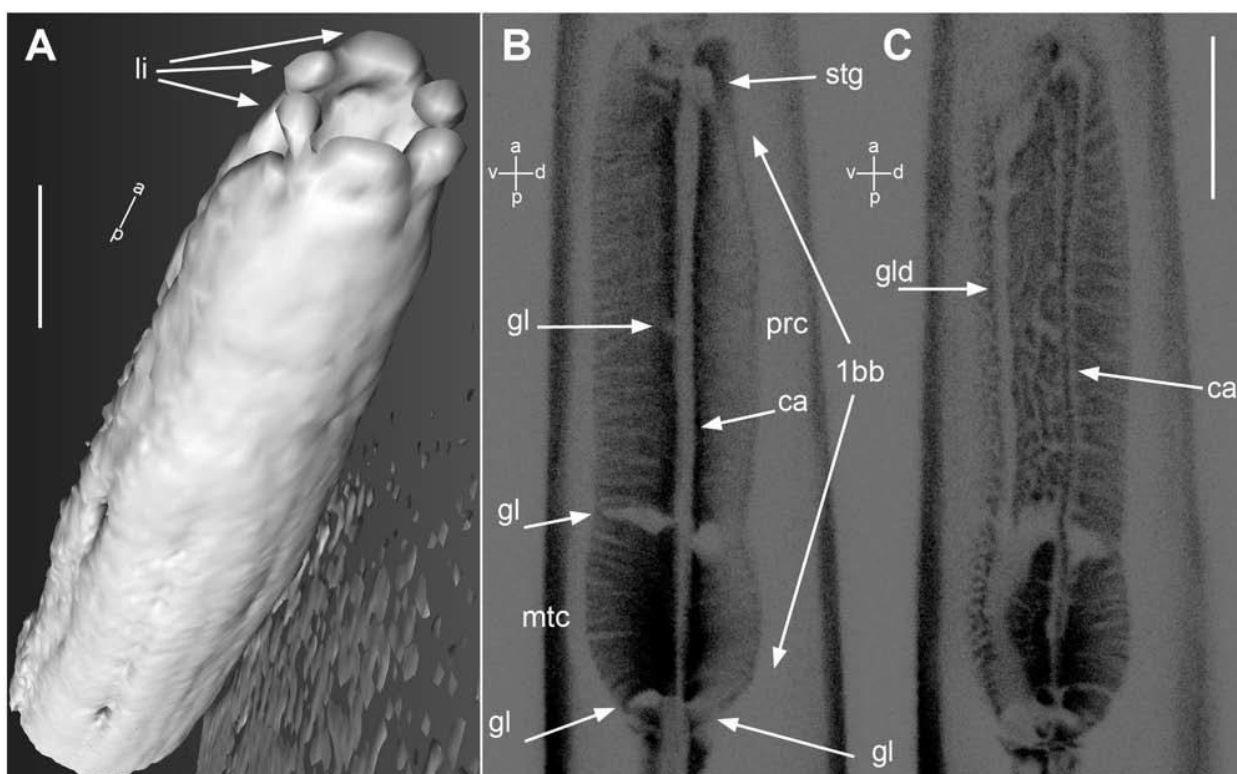


Рисунок 16 *R. ulmi*. А: Передняя часть с 6-лопастной головной областью; В, С: передний бульбус в двух разных оптических плоскостях. Обозначения: 1bb – передний бульбус (корпус), са – канал глотки, gl – железа, gld – проток железы; li – губы стомы; mtc – метакорпус; prc –прокорпус; stg – стегостом; Значки осей ориентации: а-р – передний – задний; v-d – вентральный-дорсальный. Шкала: А = 5 мкм; В, С = 10 мкм (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Передний бульбус глотки (корпус, 1bb) представляет собой эллипсоидную мышечную структуру, состоящую из трех слитых анатомических отделов: стегостома, прокорпуса и метакорпуса (Рисунок 17 А). Длина бульбуса в 3.3 (2.7-3.8) раза больше диаметра. Стегостом полый куполовидный, его высота в 2.5-3.0 раза меньше диаметра бульбуса. Камера стегостома треугольная и анизоморфная, с отчетливой дорсальной выпуклостью (sbu, Рисунок 17 В), окружена кольцевыми мышечными волокнами. Задняя часть стегостома окружена кутикулярным кольцом, которое не видно на образцах, окрашенных фаллоидином. Основной частью переднего бульбуса является прокорпус с толстостенным кутикулярным треугольным каналом, окруженным многочисленными поперечными радиальными мышечными волокнами. Метакорпус является задней частью бульбуса, он

отделен от прокорпуса отчетливым разрывом просвета плоточного канала (ca) и мышечного слоя бульбуса (Рисунок 17 А, В).

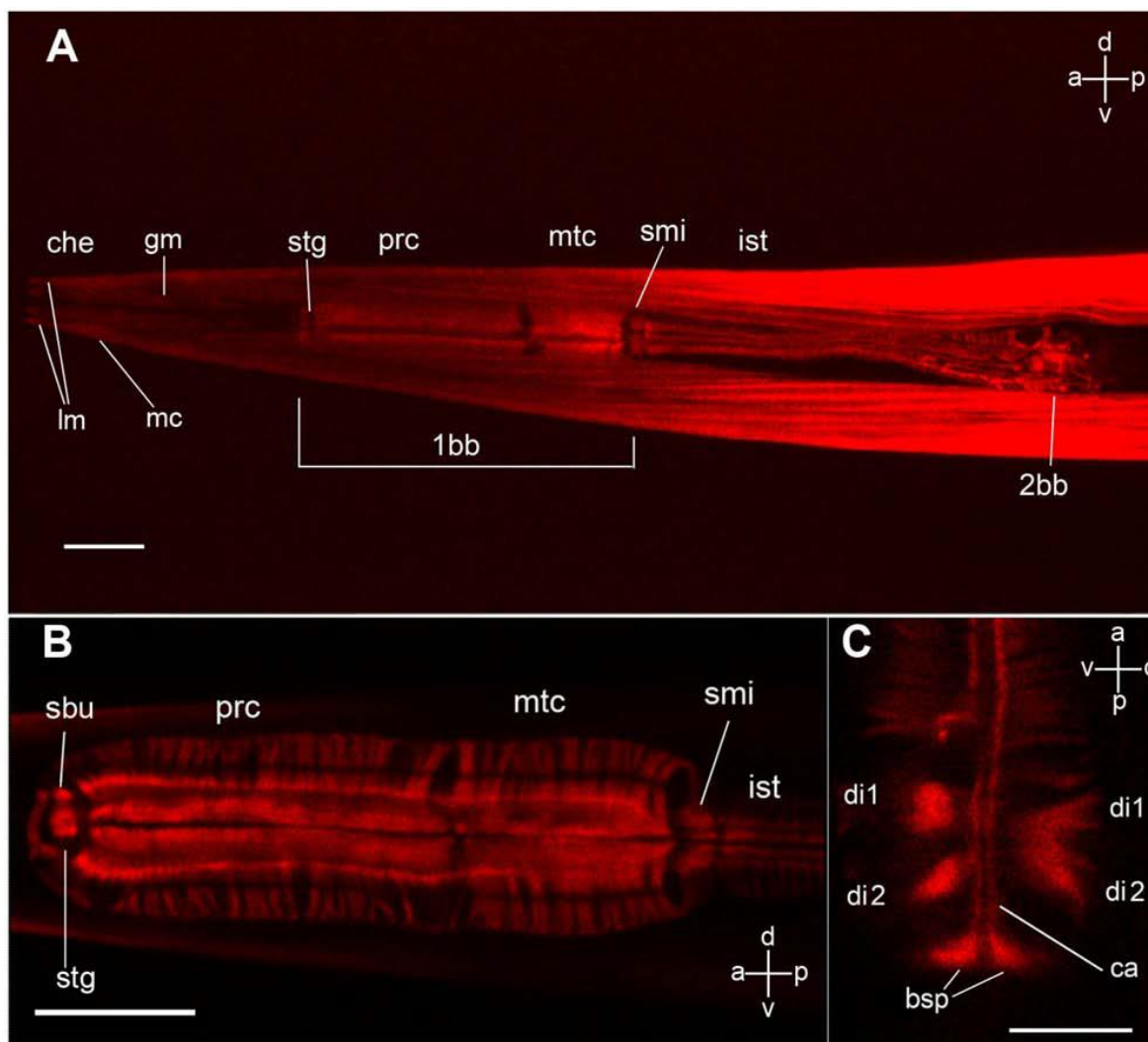


Рисунок 17 *R. ulmi*. А: Глотка (передний конец слева); В: передний бульбус (передний конец слева); С: Задний бульбус (посткорпус, передний конец вверху). Обозначения: 1bb – передний бульбус (корпус); 2bb – задний бульбус; bsp – глоточный сфинктер; ca – глоточный канал; che – хейлостома; di1 и di2 – септальные мышцы бульбуса; gm – гимностом; ist – истмус; lm – продольная мышца; mc – кольцевидный мышечный воротник; mtc – метакорпус; prc – прокорпус; sbu – дорсальная выпуклость стегостома, smi – сфинктер между метакорпусом и истмусом; stg – стегостом. Значки осей ориентации, как на Рисунке 16. Шкала: А, В = 10 мкм, С = 5 мкм (Ryss, **Polyanina**, 2022)

В месте соединения прокорпуса и метакорпуса протоки двух желез открываются в глоточный канал, одна вентральная железа один вентральный проток, открывающийся в просвет канала, отчетливо видны в середине прокорпуса. Другой широкий вентральный канал железы проходит от места

соединения прокорпуса с метакорпусом кпереди и открывается протоком в стегостому, дополнительная пара желез открывается в просвет у основания метакорпуса (Рисунок 16 В, С). Место соединения метакорпуса и истмуса окружено сфинктером (*smi*). Истмус (*ist*) представляет собой узкую трубку с тонким слоем радиальных мышечных волокон (Рисунок 17 А, В). Задний бульбус (*2bb*) грушевидной формы, с двумя парами желез, бульбус лишен внутреннего кутикулярного клапана. Имеется два круга септальных мышц бульбуса: передний *di1* и задний *di2*, оба соединяются с внутренним каналом (*ca*), базальный грушевидный сфинктер заднего бульбуса (*bsp*, кардий) расположен между бульбусом и средней кишкой (Рисунок 17 С).

Нервное кольцо располагается в середине истмуса, с нервными ганглиями впереди и позади кольца (Рисунок 18 D; Рисунок 19 А). Экскреторная пора у заднего края нервного кольца. Дейрид поровидный, его диаметр вдвое меньше экскреторной поры, расположен на центральной ложбинке латерального поля между гребнями поля, на 3-5 колец кутикулы кзади от экскреторной поры. Гемизонид расположен непосредственно перед экскреторной порой. Задний бульбус без «мельницы» (*grinder*) или клапана, с двумя парами одноклеточных желез в базальной части бульбуса. Кардий отчетливый, длиной 1/3 бульбуса, разделяет глотку и среднюю кишку, его длина вдвое больше диаметра, состоит из трех рядов по три клетки. Средний кишечник широкий, его стенка состоит из одного слоя крупных зернистых клеток, внутренний просвет составляет 1/3 диаметра кишечника с отчетливым гиалиновым слоем. Фазмиды парные, мелкие, поровидные, их диаметр равен диаметру дейрида, они располагаются позади ануса.

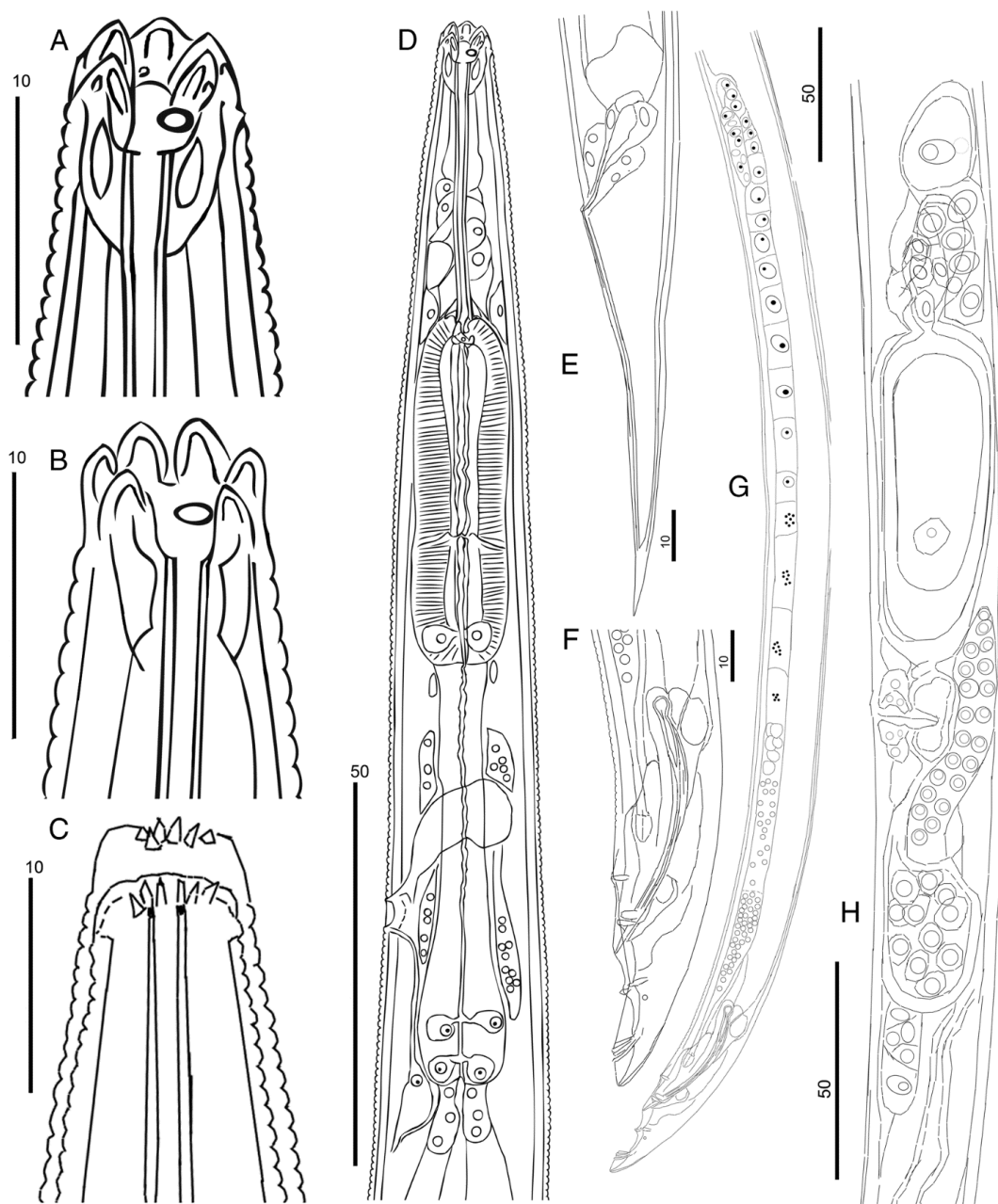


Рисунок 18 *R. ulmi*. Морфология половозрелых особей. А – голова самца; В – голова самки; С – голова линяющей личинки (линька от J4 до самца); D – передняя часть тела самца; Е – хвост самки; F – хвост самца; G – половая система самца; H – половая система самки. Шкала: 50 мкм для D, G, H; 10 мкм для остальных (Ryss, **Polyanina**, et. al., 2022).

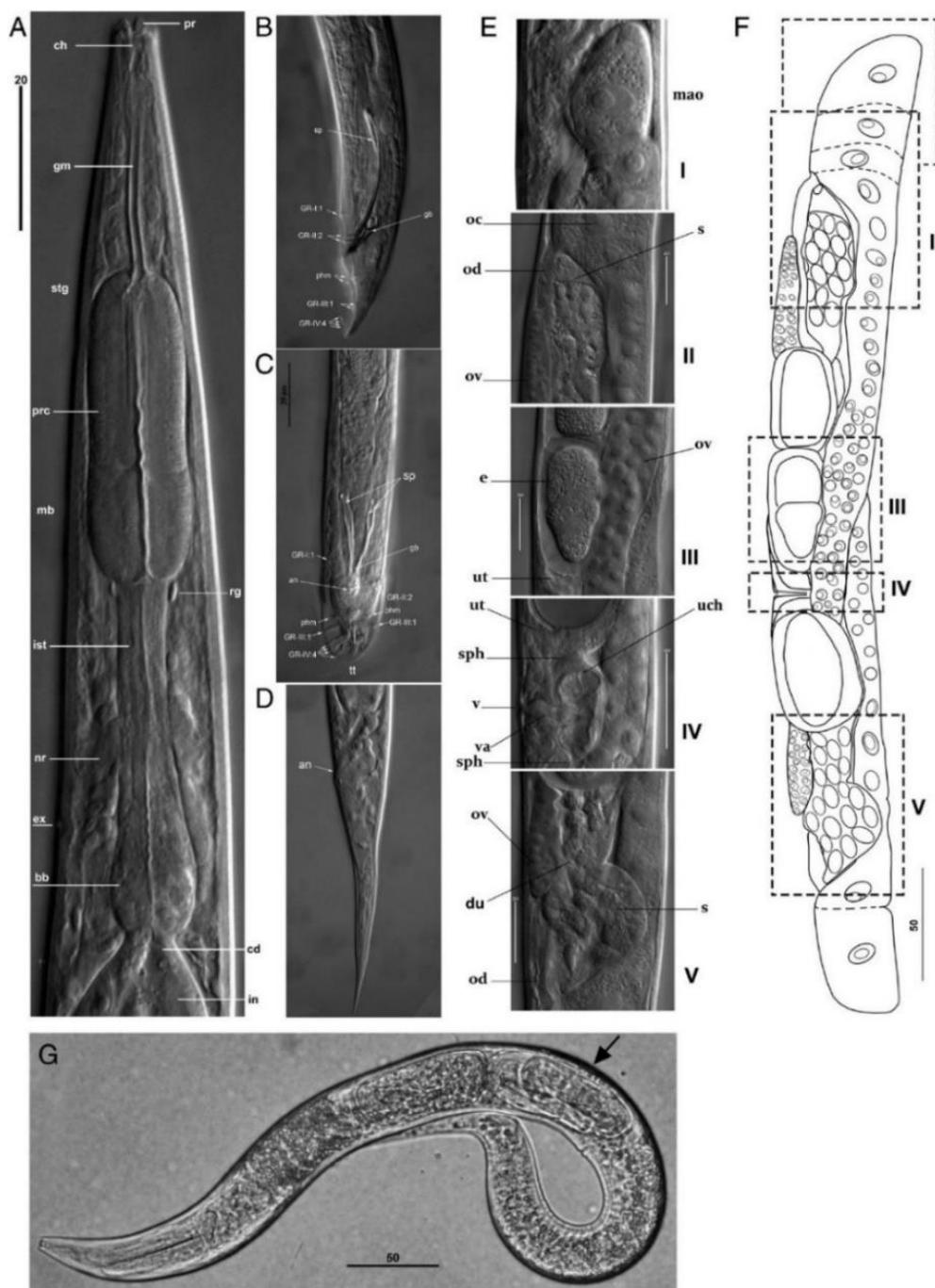


Рисунок 19 *R. ulmi*. Морфология половозрелых особей. А – передняя часть тела самки; В – хвост самца, вид сбоку; С – хвост самца, вид с вентральной стороны; D – хвост самки, вид сбоку; Е, F – отделы женской половой системы; G – половозрелая самка с яйцом (личинка J2 в яйцевой оболочке), (стрелка, яйцеживорождение). Расположение фрагментов (Е: I-V) показано на схеме (F). Фрагменты: I – зрелый ооцит перед обратным движением по яйцеводу к матке; II – передняя сперматека и яйцевод; III – передняя матка с созревающим яйцом; IV – вульва, вагина и полость матки, разделенные двумя сфинктерами; V – задняя сперматека и яйцевод. an – анус; bb – базальный бульбус; cd – кардий; ch – хейлостом; du – проток между сперматекой и маткой; е – яйцо; ex – экскреторная пора; gb – губернакулум; gm – гимностом; GR-I:1...GR-IV:4 – группы кутикулярных ребер на крыльях бursy: I...IV – номер группы, P+1... 4 – количество папилл в группе; mao – зрелый ооцит; mb – медиальный бульбус глотки; nr – нервное кольцо; oc – ооцит; ov – яичник; phm – фазмид; pr – головная пробора; prc – прокорпус глотки; s – сперматека; sg – стегостом; sp – спикулы; sph – сфинктер; tt – кончик хвоста; uch – полость матки; ut – матка; v – вульва; va – вагина. Шкала: 50 мкм для G; 20 мкм для остальных (Ryss, Polyanina, et. al., 2022)

Половозрелый самец. Тело слабо изогнуто вентрально. Половая система располагается справа, $\frac{2}{3}$ длины среднего кишечника (Рисунок 18 G). Передняя ветвь семенника обращена кзади, образует петлю. В передней ветви сперматоциты располагаются в несколько рядов; взади один ряд из крупных удлинённых клеток. Сперматиды располагаются в виде 1-3 квартетов в средней части гонады, за ними следуют семявыводящие протоки, заполненные секреторными гранулами и мелкими сферическими незрелыми сперматозоидами. Гонада открывается в клоакальный мешок вентрально, на 20 % длины спикул позади их головок, а средний кишечник открывается через небольшой клапан в клоаку дорсально между головками спикул; по бокам клапана расположены три большие ректальные железы (Рисунок 18 F). Спикулы парные и одинаковые по размеру и форме, очень длинные, слегка изогнутые, игловидные, их головки маленькие, в форме ушка иглки. Губернакулум Y-образный. Крылья бursы окружают кончик хвоста и начинаются впереди на уровне последней трети спикул. Гиалиновый кончик хвоста узкоконический, окружен бурсой. Клоакальное отверстие представляет собой поперечную щель, спереди дугообразную. Непарная сосочковидная папилла P1 расположена впереди отверстия клоаки (Рисунок 15 I). Она поперечно вытянутая, с двумя близко расположенными трубчатыми порами. Остальные хвостовые папиллы самцов целесообразно разделить на три группы по их положению в структурных рядах: (i) наружные парные папиллы на складке крыльев бursы (7 пар папилл: OP1-OP7), (ii) внутренние парные папиллы на вентральной поверхности хвоста (две пары, их нумерация продолжает нумерацию непарных папилл P1, это брюшные парные папиллы: P2-P3), пара парных поровидных папилл (psm), предположительно гомологичных фазмидам самки, располагаются на поверхности хвоста у внутреннего основания боковых крыльев на уровне верхнего края триады OP4, OP5, OP6 (Рисунок 15 I, L, M). Папиллы, расположенные на складках крыльев бursы, образуют бурсальные ребра. Пара OP1 расположена на один анальный диаметр впереди от клоакального отверстия и маркирует начальные точки

бурсальных крыльев. Парные ОР2 располагаются на уровне половины расстояния от ОР1 до клоакального отверстия. Парные ОР3 расположены на уровне середины хвоста. Пары ОР4, ОР5 и ОР6 образуют группу, расположенную близко к заднему краю бursы. Пара ОР7 располагается на дорсальной стороне бурсальных крыльев на расстоянии двух кутикулярных колец от конца бursы, сразу за группой ОР4, ОР5 и ОР6. Пара ОР7 лишена бурсальных ребер, эти папиллы образуют задние «рога» лопатообразного конца бursы, они лишены ребер. Брюшные хвостовые папиллы парные: Р2 на уровне ОР2 у основания бурсальных крыльев, Р3 впереди от ОР3, располагаются от последних на расстоянии, равном расстоянию группы ОР3-ОР4, т.е. на дистанции трех кутикулярных колец.

Мышцы спикул и губернакулюма (Рисунок 20)

Спикулы *R. ulmi* очень длинные по сравнению с диаметром тела в области клоаки. Поэтому вентральный протрактор спикул (vsp) смещен от головки к середине спикулы и вероятно служит ротатором при выдвижении спикулы наружу. Губернакулярные протракторы спикулы (gsp) в форме бабочки, т.е. их задние концы сливаются в один мускул, проходящий вдоль дорсальной поверхности спикул к передней части губернакулюма; одна пара протракторов губернакулюма слита в одну медиальную мышцу-эректор (ge) вдоль дорсальной поверхности губернакулюма, проходящей от переднего конца губернакулюма к заднему. Кроме этой (ge) мышцы и мышцы-бабочки (gsp) губернакулюм имеет мощную переднюю пару поперечных мышц (tsm) и сзади соединен с очень мощным парным анальным депрессором (adr). Мышцы tsm и adr поперечные, они соединяют губернакулюм с латеральной стенкой тела и служат ретракторами. Вероятно, мощная мускулатура губернакулюма стабилизирует выдвижение длинных спикул, а вентральный протрактор спикул (vsp) управляет выдвижением наружу кончика спикулы (Рисунок 20).

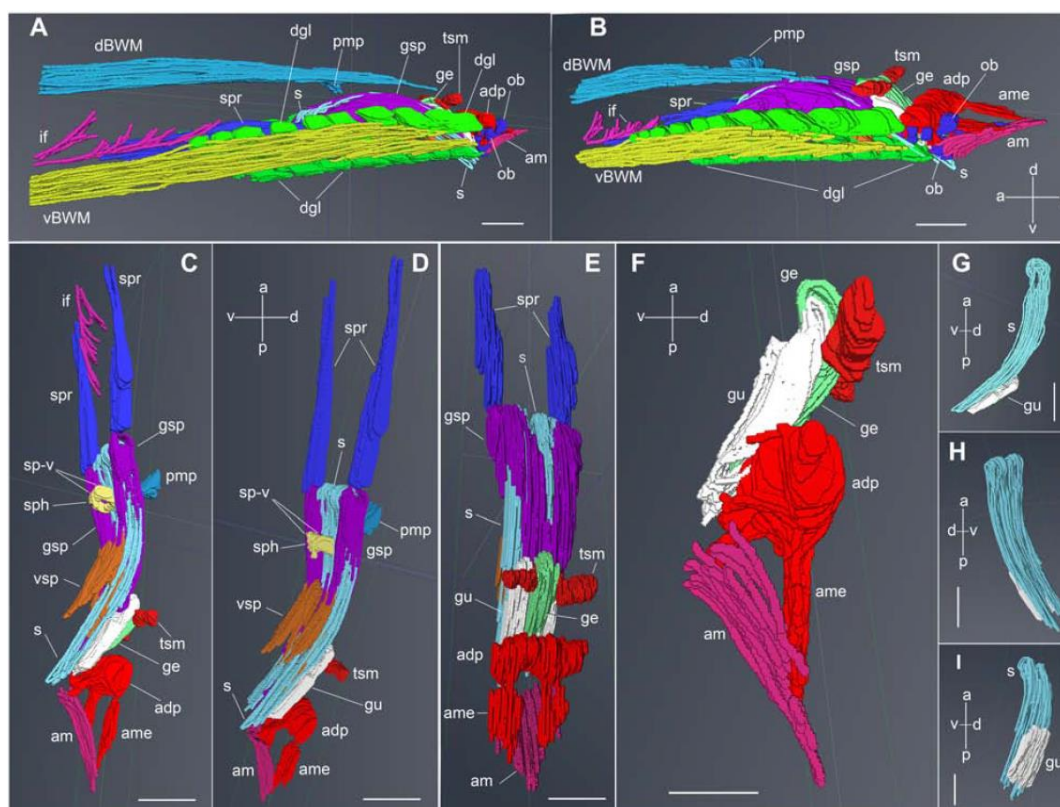


Рисунок 20 Мышцы спикул и губернакулума *R. ulmi*. Трехмерные реконструкции копулятивных мышц самцов в программе Avizo. А, В: латеральные и сублатеральные проекции всех групп мышц; С-Е: группы мышц спикул и губернакулума (наружные мышцы стенки тела скрыты); F: Мышцы губернакулума и вентральной части хвоста; G-I: Спикулы и губернакулум показаны с разных сторон при виртуальном вращении в программе Avizo. Обозначения: adp – анальные депрессоры; am – вентральный (абдоминальный) мускул; me – расширение отростка анального депрессора; dBWM = мышца задней стенки тела; dgl = диагональная мышца; ge = эректор губернакулума; gu = губернакулум; if = стомато-интестинальные мышцы ("латеральные фасцикулы"); ob = постклоакальная косая каудальная мышца самца; pmp = пирамидальная мышечная пластинка; s = спикула; sph = анальный сфинктер; spr = ретрактор спикул; sp-v = вентральные отростки сфинктера между средней кишкой и клоакой; tsm = поперечная мышца; vBWM = вентральный мускул стенки тела; vsp = вентральный протрактор спикулы;. Шкала: F = 5 мкм; остальные = 10 мкм (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Половозрелая самка имеет парную половую систему. Передняя ветвь располагается на правой стороне, а задняя на левой стороне кишечника. Яичники обращенные (антидромные) с несколькими рядами ооцитов в обеих терминалях (Рисунок 19 E, F). Зрелый ооцит увеличен в петле изгиба яичника. Сперматека заполнена крупными цитоплазматическими сперматозоидами, овальная, ее длина вдвое больше диаметра. Сперматека – слепой отросток

матки, ответвляющийся от матки дорсально и соединяющийся с яичником узким протоком. Зрелая крупная яйцеклетка проходит по яйцеводу в матку и таким образом толкает сперматеку, последняя вводит сперматозоиды в матку, где происходит оплодотворение яйцеклетки. Матка парная, овальная, спереди соединена с яйцеводом вентрально и сперматекой дорсально. Проксимально матка соединена с небольшой овальной камерой матки, окаймленной с боков двумя парами плотных толстостенных клеток и соединенной с вагиной. Камера матки отделена двумя сфинктерами от обеих маток: спереди от передней матки и сзади от задней матки. Камера открывается в кутикулярную вагину перпендикулярно вентральной поверхности тела, вагина открывается в поперечную вульву через клапан грушевидной формы. Клапан окружен массивными мышцами вагины. Отверстие вагины округлое, окружено плотными складками внешней кутикулы, образующими овальную морщинистую вульварную зону, длина которой в полтора раза превышает ее ширину. Снаружи морщинистая зона окружена гладкой округлой кутикулярной зоной, ширина гладкой зоны равна ширине морщинистой зоны. За пределами гладкой зоны кутикула кольцеобразная с прямоугольным рисунком, типичным для остальной поверхности тела. Спереди вульвы на границе гладкой и кольчатой зон на уровне переднего края морщинистой зоны располагаются две поровидные папиллы. Их расположение может быть асимметричным - передняя вульварная папилла может располагаться на ширине одного кутикулярного кольца перед другим. Ректум 1.2-1.5 анального диаметра, состоит из капиллярной задней части и широкой грушевидной передней части с широким просветом, окаймленной тремя крупными ректальными железами. Хвост узко конический, в 4-5 раз больше диаметра тела на уровне ануса, гиалиновая зона в 1/6 длины хвоста. Передняя губа анального отверстия самки округлая, дугообразная с выраженной кутикулярной каймой (Рисунок 15 G, H). Задняя губа анального отверстия выпуклая, спереди гладкая, сзади кольчатая, кольца пересекаются продольными гребнями, разбивая кольца кутикулы на продольные вытянутые

прямоугольники, сразу за задней губой анального отверстия семь рядов прямоугольников образуют V-образную фигуру, сзади число рядов уменьшается до пяти, и они параллельны.

Мышцы гениталий самки (Рисунок 21) имеют 4-лучевую симметрию вокруг отверстия входа вагины в матку.

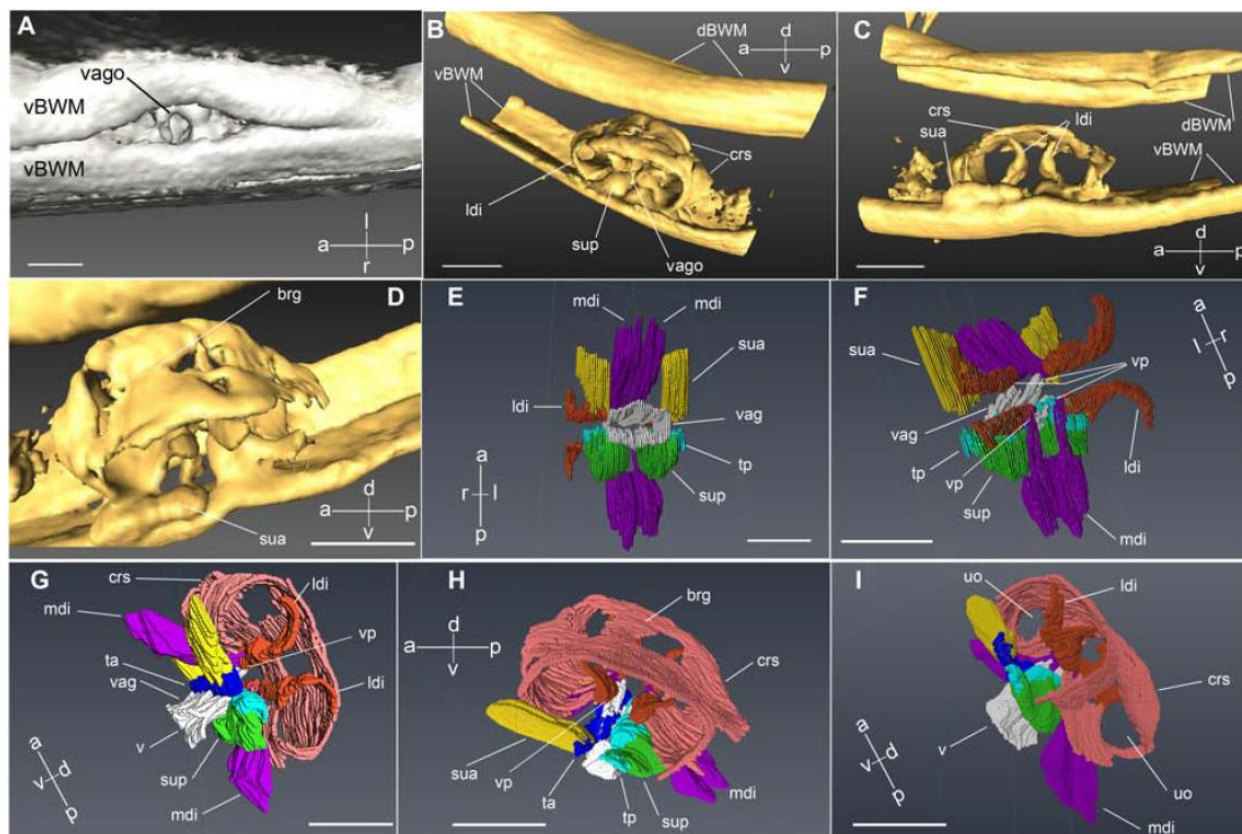


Рисунок 21 Трехмерные реконструкции мышц вагины и матки *R. ulmi* в программе Avizo. А: вагинально-маточное отверстие; В-Д: матка, вид с разных сторон при виртуальном вращении в программе Avizo; Е, F: Мышцы вагины, матки и передний поперечный констриктор скрыты, чтобы показать другие мышцы; G-I: Все мышцы вагины и матки, стерео-изображения при виртуальном вращении с разных сторон в программе Avizo. Обозначения: brg – поперечный мышечный мостик маточного корсета; crs – мышечный корсет матки; dBWM – дорсальный мускул стенки тела; ldi – латеральный дилатор; mdi – медиальный дилатор; sua – передняя пара суспензоров; sup – задний суспензор; ta – медиальный констриктор передней губы вульвы; tp – поперечный констриктор задней губы вульвы; u – матка; uo – отверстие матки в половую трубку; vag – вагина; vago – отверстие из вагины в матку; vBWM – вентральная мышца стенки тела; vp – точки крепления вагинальных дилаторов к ободку отверстия вагина-матка. Значки осей ориентации: а-р – передний – задний; v-d – вентральный-дорсальный; r - l – правый - левый. Шкала: 10 мкм (Ryss, Polyamina, 2022)

Два вагинальных констриктора и четыре пары дилаторов двух разных типов связаны с отверстием входа вагины в матку; четыре дилатора идут перпендикулярно оси матки и связаны с мышечным корсетом матки. Анальный сфинктер (sph) между кишечником и клоакой состоит из среднего кольца с двумя парами отростков: одна пара отростков соединена вентрально со стомато-интестинальными мышцами, а другая пара отростков соединена дорсально со стенкой тела. Кольцо анального сфинктера (sph) содержит внутреннюю биконическую X-структуру-клапан (на Рисунке 20 C, D показано строение анального сфинктера sph на примере самца).

Морфология дауер-личинки *R. ulmi*

Дауер-личинки *R. ulmi* были обнаружены в ротовой полости половозрелых жуков *S. multistriatus* и их личинок старшего возраста, а также под надкрыльями и в полости яйцеклада куколок и имаго (Рисунок 22).

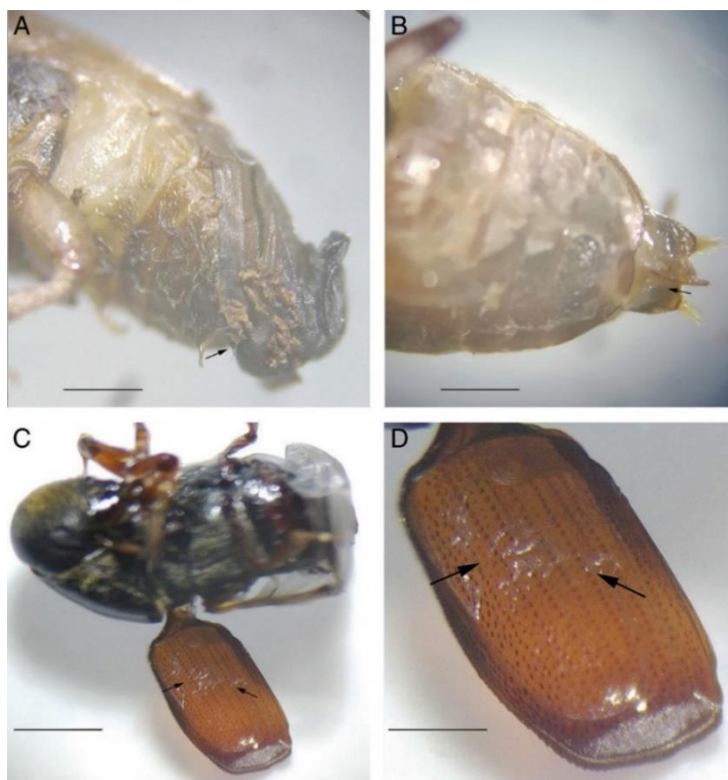


Рисунок 22 Места локализации дауер-личинок *R. ulmi* в куколках (A, B) и на теле половозрелого жука-переносчика *Scolytus multistriatus* (C, D) указаны стрелками. A – на формирующихся надкрыльях (элитрах); B - у яйцеклада; C, D - на надкрыльях жука. Шкала: 1 мм для D, для остальных 2 мм (Ryss, Polyanina, et. al., 2021)

Тело дауер-личинки прямое, длина тела 300-360 мкм (Таблица 11). Кольчатость кутикулы не отчетливая, имеются четыре инцизуры бокового поля. Дейрид маленький. Головная область не обособлена, высокая, коническая, проболы отсутствуют, губы сросшиеся, имеется губной диск. Гиалиновый губной чехлик имеется (Рисунок 23 D, F). Стома щелевидная, толстостенная, короткая. Глотка узкая. Прокорпус и метакорпус объединены в удлинённый грушевидный корпус, но с отчетливой границей между длинным цилиндрическим прокорпусом и компактным эллипсоидным метакорпусом, причем последний имеет отчетливый внутренний треугольный канал и лишен кутикулярного клапана (Рисунок 23 D). Истмус узкий, с внутренним капиллярным каналом, задний бульбус удлинённо-яйцевидный с двумя парными протоками желез (Рисунок 23 D), открывающимися в внутренний канал. Кардий $\frac{1}{4}$ длины заднего бульбуса, отделяет глотку от среднего кишечника. Нервное кольцо располагается в середине истмуса. Экскреторная пора позади нервного кольца, гемизонид перед экскреторной порой. Половой зачаток расположен вентрально, на уровне середины среднего кишечника. У личинок самок половой зачаток U-образный с терминальными герминальными зонами с двумя крупными клетками в каждой и центральной соматической частью примерно с 10 мелкими ядрами. Личинки самцов имеют каплевидный зачаток с передней крючковидной соматической частью и герминальной частью из 4 крупных клеток, направленной назад. Ректум в 1.5 раза больше диаметра тела на уровне ануса, задняя часть утолщена, анальное отверстие сквозное. Хвост конический, прямой, в 9-10 раз больше диаметра тела на уровне ануса, терминальная гиалиновая зона равна длине ректума. Фазмид маленький, располагается в передней трети хвоста. Дауер-личинка самца отличается от дауера самки наличием зачатка клоаки вокруг утолщенной задней половины ректума, диаметр зачатка составляет $\frac{3}{4}$ диаметра тела на уровне ануса.

По размеру тела и половому зачатку дауер-личинки *R. ulmi* обнаруженные на жуках *S. multistriatus* соответствуют личинкам J3

пропагативного поколения и поэтому идентифицированы как стадия DJ3 трансмиссивного поколения. Замечено, что во время экстрагирования нематод с тела жука спустя 3-6 часов дауеры линяют и становятся личинками DJ4, а затем становятся половозрелыми самцами и самками с хорошо развитой глоткой и половой системой.

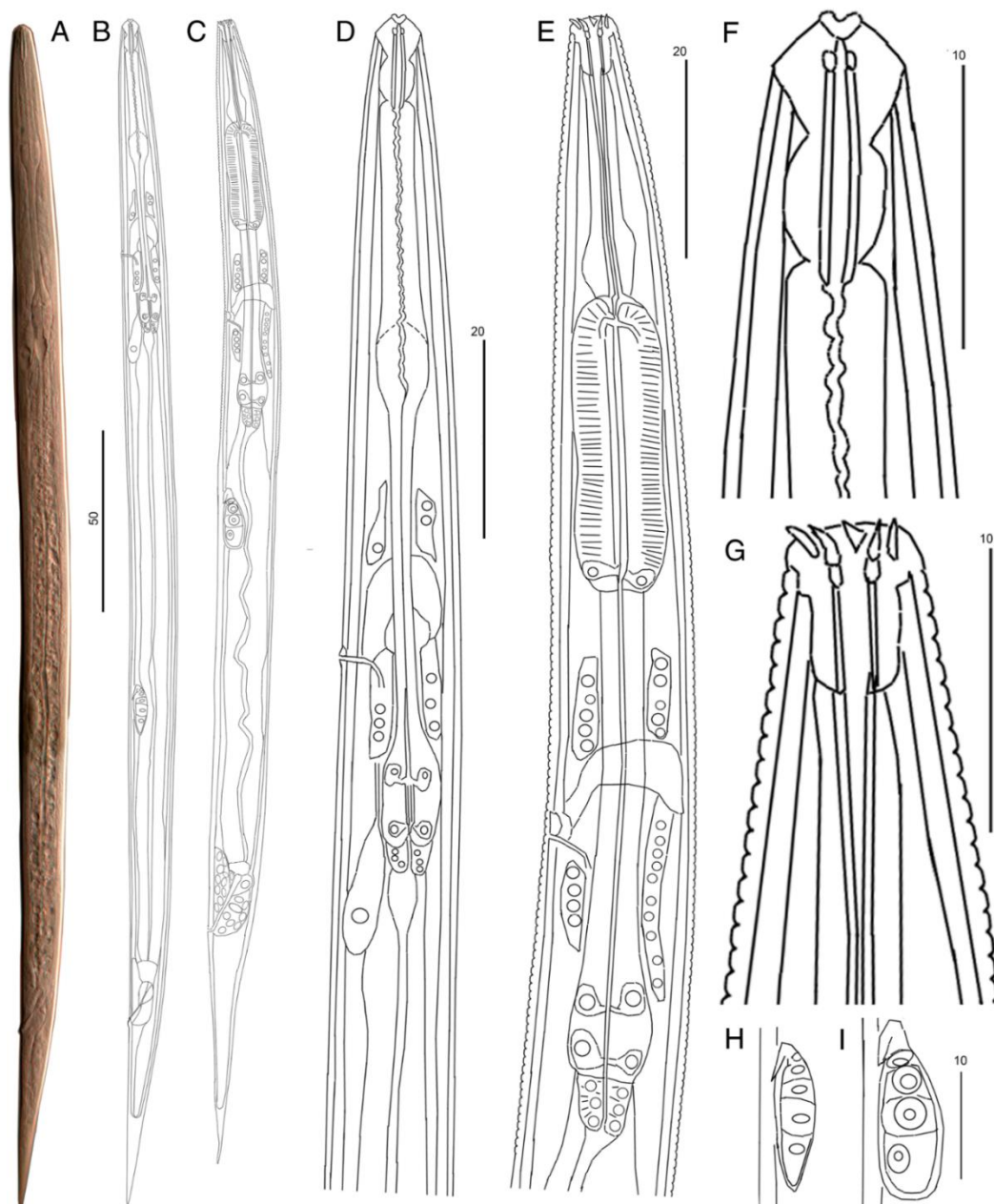


Рисунок 23 *R. ulmi*. Дауер-личинки J3D трансмиссивного поколения и личинки J3 пропагативного поколения (самцы). Общая схема: А, В – дауер-личинка; С – личинка J3 пропагативного поколения; передняя часть и глотка: D – дауер-личинка, E – личинка J3; голова: F – дауер, G – пропагативная личинка J3; половой зачаток (самец): H – дауер, I – личинка пропагативная J3. Масштаб: 50 мкм для А, В, С; 20 мкм для D, E; 10 мкм для F до I (Ryss, **Polyanina**, et. al., 2021)

Таблица 11 Морфометрические измерения (в мкм) и индексы стадий развития *R. ulmi*. Все значения приведены в формате: среднее $\pm$ стандартное отклонение (диапазон) (Ryss, Polyana, et.al., 2021)

Признак/Стадия	J2 в яйце	J2 вне яйца	J3 самец	J3 самка	J4 самец	J4 самец	J4 самка	Дауер-личинка
Число экз (n)	5	10	7	11	7	7	10	10
Длина тела (L)	190 $\pm$ 11.6 (176-200)	290.2 $\pm$ 31.4 (246-352)	358 $\pm$ 48 (292.6-427)	354.4 $\pm$ 38.6 (298-423)	475.6 $\pm$ 51.4 (373-558)	475.6 $\pm$ 51.4 (373-558)	526.4 $\pm$ 66.8 (409-666)	338.8 $\pm$ 13.7 (326-354)
Диам. тела	6.4 $\pm$ 0.6 (5.5-7.0)	7.8 $\pm$ 1.2 (5.5-10.5)	9.7 $\pm$ 1.5 (7.5-12.5)	9.6 $\pm$ 1 (7.5-12.0)	11.6 $\pm$ 1.1 (10-14)	11.6 $\pm$ 1.1 (10-14)	12.6 $\pm$ 1.4 (9.5-16.5)	8.3 $\pm$ 0.3 (8.0-8.5)
Стома	18 $\pm$ 3 (14-20)	23 $\pm$ 2 (21-26)	25 $\pm$ 2 (23-29)	25 $\pm$ 2 (23-29)	29 $\pm$ 2 (26-33)	29 $\pm$ 2 (26-33)	30 $\pm$ 2 (25-35)	10 $\pm$ 1 (9-11)
Корпус (прокорпус + метакорпус)	22 $\pm$ 2 (20-24)	25 $\pm$ 2 (22-28)	27 $\pm$ 3 (21-31)	26 $\pm$ 3 (23-32)	33 $\pm$ 4 (28-41)	33 $\pm$ 4 (28-41)	36 $\pm$ 5 (30-46)	33 $\pm$ 3 (30-37)
Глотка	74.9 $\pm$ 12.9 (59-90)	91.7 $\pm$ 3.3 (86-97)	97 $\pm$ 7.4 (83-109)	92.6 $\pm$ 7.1 (87-111)	107.4 $\pm$ 7.8 (92-117)	107.4 $\pm$ 7.8 (92-117)	119.4 $\pm$ 6.5 (106-132)	86.5 $\pm$ 3.9 (83-92)
Диам. губной области	1.9 $\pm$ 0.2 (1.5-2.0)	3.7 $\pm$ 0.3 (3.0-4.5)	3.9 $\pm$ 0.3 (3.5-4.5)	3.9 $\pm$ 0.7 (2.5-5.0)	4.5 $\pm$ 0.7 (3.5-6.0)	4.5 $\pm$ 0.7 (3.5-6.0)	5.0 $\pm$ 0.8 (3.5-6.5)	4.2 $\pm$ 0.1 (4.0-5.5)
Нервное кольцо	-	66.2 $\pm$ 3.6 (61-76)	73.1 $\pm$ 5 (64-81)	70.7 $\pm$ 5.8 (62-80)	83 $\pm$ 9.2 (65-96)	83 $\pm$ 9.2 (65-96)	88.6 $\pm$ 5.4 (81-99)	61.5 $\pm$ 1.7 (60-64)
Экскреторная пора	-	66.8 $\pm$ 4 (62-72)	79 $\pm$ 5 (73-86)	77 $\pm$ 5 (73-83)	84 $\pm$ 2 (82-86)	84 $\pm$ 2 (82-86)	85 $\pm$ 2 (83-87)	65.4 $\pm$ 1.3 (64-671)
Длина хвоста	15 $\pm$ 3.9 (11-19)	46.3 $\pm$ 6.1 (35-60)	56.8 $\pm$ 9.2 (42-68)	55 $\pm$ 7.6 (38-65)	67.4 $\pm$ 6.6 (50-78)	67.4 $\pm$ 6.6 (50-78)	71 $\pm$ 11 (41-88)	49.1 $\pm$ 0.5 (48-50)

Диам. тела на уровне ануса	3.5 ± 0.7 (2.5-4.0)	5.6 ± 0.8 (4.0-7.0)	7.3 ± 0.9 (5.5-8.5)	6.9 ± 0.9 (5.0-8.5)	8.9 ± 1.1 (7.5-11.5)	8.9 ± 1.1 (7.5-11.5)	11 ± 1.6 (9.0-13.5)	5.3 ± 0.3 (5.0-6.0)
Длина полового зачатка (GPL)	-	7.7 ± 1.7 (5.5-10.5)	12.5 ± 3.6 (6.5-20.5)	13.4 ± 6.8 (6.0-29.0)	77.7 ± 48.3 (12.5-149.5)	77.7 ± 48.3 (12.5-149.5)	100.8 ± 63 (11.0-170.5)	11.5 ± 1.5 (10.0-13.5)
Диам. полового зачатка (GPW)	-	3.5 ± 0.8 (2.0-4.5)	4.1 ± 0.9 (2.5-5.5)	5.1 ± 1.5 (3.0-7.0)	6.4 ± 2.3 (3.5-12.0)	6.4 ± 2.3 (3.5-12.0)	6.9 ± 1.3 (4.0-10.5)	3.8 ± 0.9 (2.6-4.7)
Расстояние от вульвы до переднего конца / длина тела (V), %	-	62 ± 4 (56-66)	54 ± 4 (49-57)	55 ± 4 (50-59)	51 ± 4 (46-55)	51 ± 4 (46-55)	57 ± 4 (50-60)	57 ± 1 (56-59)
Длина тела / диам. тела (а)	30.2±3.5 (25.7-33.0)	37.5 ± 2.7 (33.4-43.1)	37.1 ± 4.3 (29.5-43.7)	37.3 ± 3.8 (27.9-43.0)	41.2 ± 2.1 (38.1-44.2)	41.2 ± 2.1 (38.1-44.2)	41.7 ± 2.9 (36.4-44.5)	40.6 ± 1.4 (38.7-42.0)
Длина тела / длина глотки (b)	2.6±0.4 (2.2-3.2)	3.2 ± 0.4 (2.6-3.8)	3.7 ± 0.4 (2.9-4.2)	3.7 ± 0.2 (3.4-3.9)	4.4 ± 0.4 (3.6-4.9)	4.4 ± 0.4 (3.6-4.9)	4.4 ± 0.4 (3.6-5.2)	3.9 ± 0.2 (3.7-4.1)
Длины тела / длина хвоста (с)	12.9±2.6 (10.5-15.7)	6.3 ± 0.9 (5.3-8.3)	6.4 ± 0.7 (5.0-7.8)	6.5 ± 0.7 (5.7-7.9)	7.1 ± 0.7 (6.0-8.3)	7.1 ± 0.7 (6.0-8.3)	7.6 ± 1.7 (6.2-13.5)	6.9 ± 0.3 (6.6-7.2)
Длины хвоста /диам. хвоста на уровне ануса или клоаки (с')	4.3±0.8 (3.7-5.2)	8.3 ± 0.9 (6.2-9.6)	7.8±0.9 (5.9-9.2)	8.0 ± 0.8 (6.1-9.2)	7.6 ± 1 (6.0-9.2)	7.6 ± 1 (6.0-9.2)	6.7 ± 1.7 (3.0-8.7)	9.2 ± 0.4 (8.7-9.7)
Стома/корпус	0.8±0.2 (0.6-1.0)	0.9 ± 0.1 (0.8-1.1)	1±0.1 (0.9-1.1)	0.9 ± 0.1 (0.8-1.1)	0.9 ± 0.1 (0.7-1.1)	0.9 ± 0.1 (0.7-1.1)	0.8 ± 0.1 (0.6-1.1)	0.32 ± 0.03 (0.29-0.34)

Стома/глотка	0.23 ± 0.01 (0.22-0.24)	0.24 ± 0.02 (0.22-0.26)	0.25 ± 0.02 (0.23-0.27)	0.28 ± 0.02 (0.26-0.30)	0.27 ± 0.02 (0.24-0.29)	0.27 ± 0.02 (0.24-0.29)	0.27 ± 0.02 (0.24-0.29)	0.12 ± 0.01 (0.11-0.12)
Длина корпуса / диам. корпуса	4.0 ± 0.4 (3.6-4.5)	3.6 ± 0.3 (3.2-4.4)	3.3 ± 0.4 (2.6-4.1)	3.5 ± 0.4 (2.7-4.2)	3.6 ± 0.4 (3.1-4.7)	3.6 ± 0.4 (3.1-4.7)	3.6 ± 0.3 (3.0-4.1)	5.4 ± 0.5 (5.0-6.2)
Корпус/глотка	0.30 ± 0.03 (0.26-0.34)	0.27 ± 0.02 (0.22-0.31)	0.27 ± 0.01 (0.25-0.29)	0.27 ± 0.01 (0.25-0.29)	0.3 ± 0.03 (0.2-0.3)	0.3 ± 0.03 (0.2-0.3)	0.30 ± 0.04 (0.24-0.39)	0.37 ± 0.01 (0.36-0.39)
Передняя часть глотки / длина глотки	0.53 ± 0.04 (0.48-0.57)	0.52 ± 0.03 (0.43-0.57)	0.54 ± 0.04 (0.48-0.57)	0.56 ± 0.04 (0.50-0.59)	0.55 ± 0.04 (0.50-0.59)	0.55 ± 0.04 (0.50-0.59)	0.58 ± 0.04 (0.52-0.61)	0.48 ± 0.02 (0.47-0.51)
Длина полового зачатка / диам. зачатка (GPL/GPW)	-	2.3 ± 0.5 (1.4-3.1)	3.2 ± 1.1 (1.7-6.2)	2.5 ± 0.7 (1.7- 4.4)	11.4 ± 4.9 (2.6-17.2)	11.4 ± 4.9 (2.6-17.2)	14.4 ± 8.9 (2.7-30.0)	3.1 ± 0.6 (2.6-3.9)
Отношение длины полового зачатка к длине тела (GPL/L), %	-	3 ± 1 (2-4)	4 ± 1 (2-7)	4 ± 2 (2-7)	16 ± 9 (3-27)	16 ± 9 (3-27)	19 ± 12 (3-37)	4 ± 1 (3-5)

Изучение постэмбрионального развития *R. ulmi* позволило нам охарактеризовать жизненный цикл этого вида и лучше понять взаимоотношения с жуком-переносчиком. Значительное внимание в изучении стадий развития было уделено структуре полового зачатка, так как эта структура служит важным признаком для определения стадии и пола личинок (Hirschmann, 1962, 1971; Hirschmann, Triantaphyllou, 1967; Ryss, 1981).

Самки откладывали яйца на разных стадиях развития: от бластулы до яйца, содержащего полностью развитую личинку J1 или J2 (Рисунки 24 А-І; 25) последний способ размножения называется яйцеживорождением. Яйцо крупное, его длина 58-65 мкм, в 2.5 раза больше его диаметра. Яйца обычно откладываются цепочками от 2 до 5 штук. Яичная скорлупа гладкая.

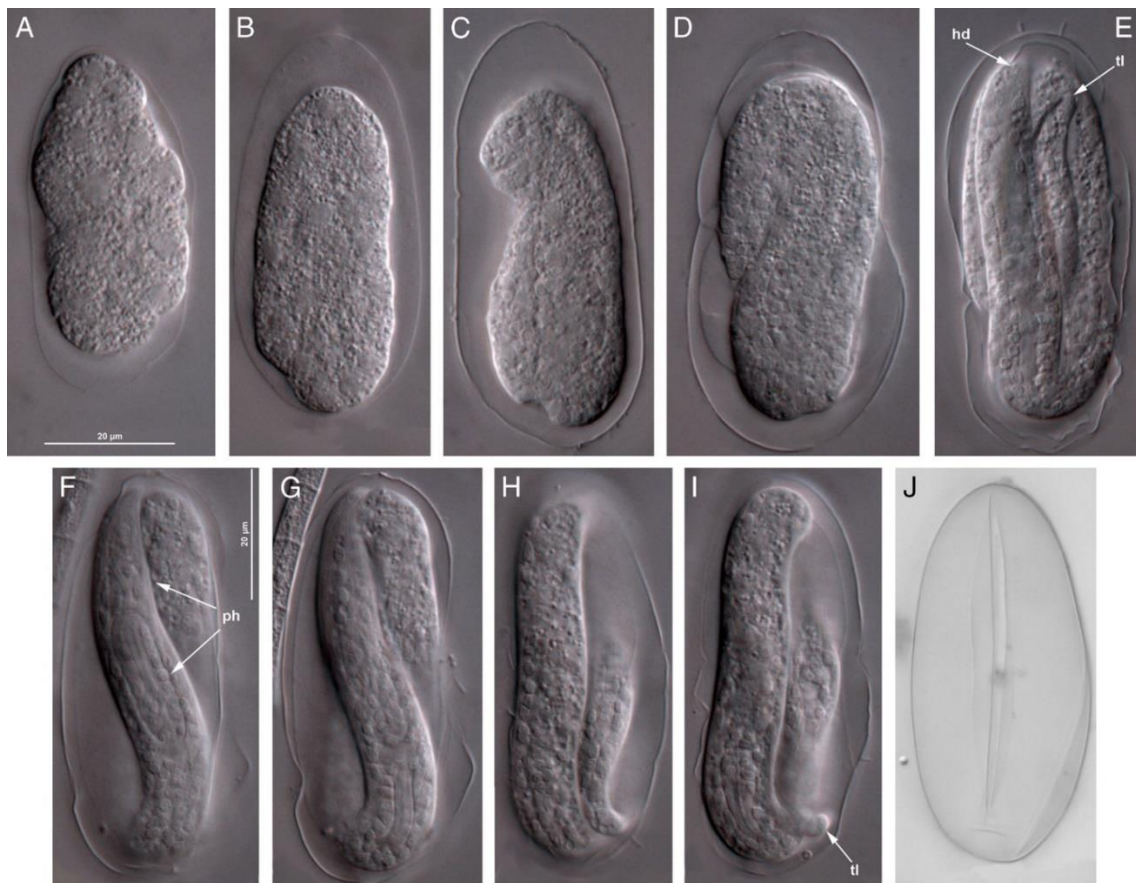


Рисунок 24 *R. ulmi*. Развитие в яйце. А-Д – эмбриональное развитие, дробление; Е – личинка J1; F–І – личинка J2 на разных оптических уровнях; J – яичевая оболочка с продольной прорезью, указывающей на место, откуда вылупилась личинка. Шкала 20 мкм (Ryss, **Polyanina**, et. al., 2021)



Рисунок 25 Самка *R. ulmi*: момент откладки яйца с личинкой J1 внутри

Личинка J1 внутри яйца имеет отчетливую глотку с небольшим медиальным бульбусом без клапана, с задним бульбусом и кардием. Стома неразличима. Личинки второй стадии J2, находящиеся в яйце, имеют наружную кутикулу и массивный передний бульбус с треугольным кутикулярным просветом, что сходно со структурой половозрелых самок пропагативного поколения. Половой зачаток различим и состоит не менее чем из шести клеток. На этом этапе личинки J2 вылупляются из яйцевой оболочки, пробивая головным концом продольную щель. Тело личинки J2 внутри яйца свернуто трижды. После выхода из яйца J2 выпрямляется, длина тела увеличивается. Все стадии постэмбриогенеза можно проследить в серии последовательных линек. Линяющую особь можно распознать по отслаивающейся кутикуле на переднем и заднем концах тела нематоды.

У личинки, вышедшей из яйца, относящейся к J2 стадии развития, морфологически невозможно определить пол. Длина тела 240-350 мкм (Таблица 11). Половой зачаток маленький, удлинённый, располагается посередине кишечника. Зачаток состоит из восьми клеток: четыре маленькие

соматические клетки в центральной части и на переднем и заднем конце зачатка имеется одна крупная герминальная клетка и одна маленькая апикальная клетка (Рисунок 26 С, D). За исключением половых структур, общая морфология личинки J2 сходна с морфологией половозрелой самки.

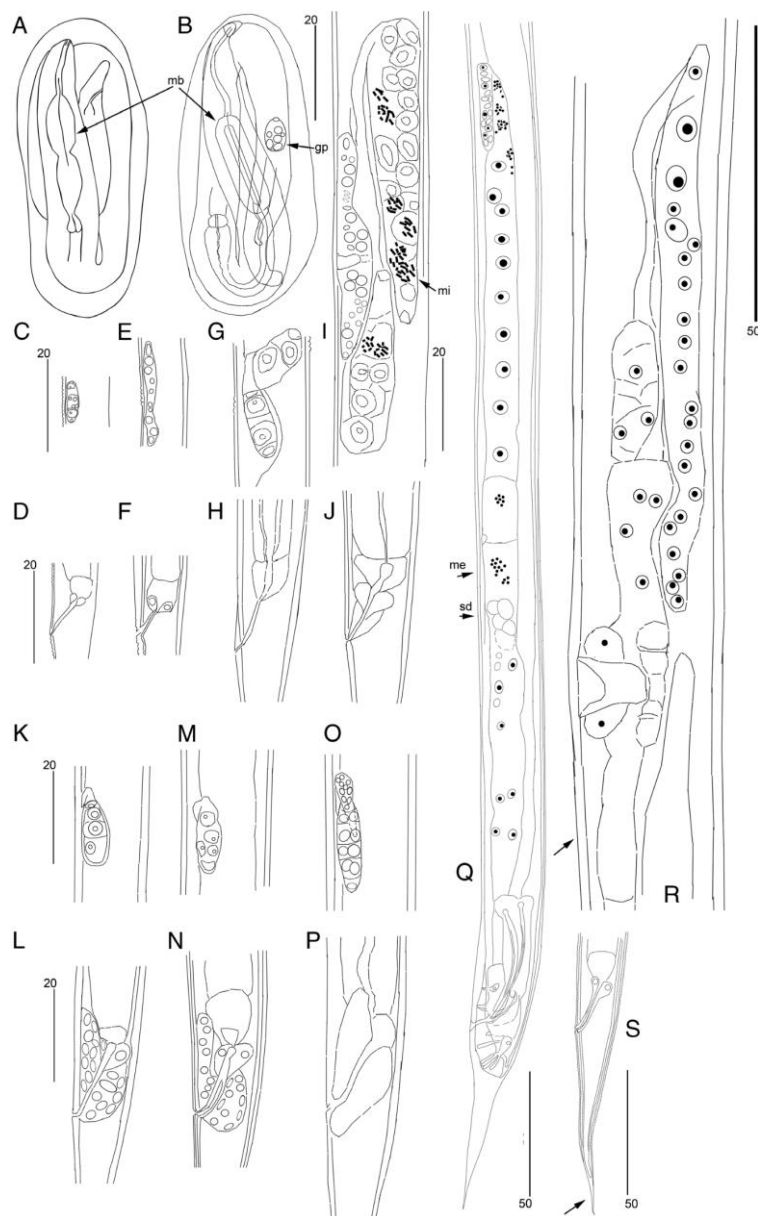


Рисунок 26 *R. ulmi*. Развитие личинок пропативного поколения. А – личинка J1 в яйце; В – личинка J2 в яйце; половые зачатки и анальные отделы личинок: С, D – личинка J2; E, F – линяющая личинка J2-J3; G, H – личинка J3 (самка); I, J – личинка J4 (самка); K, L – личинка J3 (самец); M, N – линяющая личинка J3-J4 (самец); O, P – личинка J4 (самец, ранняя фаза линьки); Q – личинка J4 – самец; R, S – личинка J4 – самка: R – передняя ветвь полового зачатка; S – хвост линяющей самки J4 (стрелки - отслаивающаяся кутикула). gr – половой зачаток; mb – медиальный бульбус глотки; me – мейоз; mi – митоз; sd – сперматиды. Масштаб: 50 мкм для Q-S; 20 мкм для остальных (Ryss, Polyanina, et. al., 2021)

Личинка самца J3 имеет небольшой половой зачаток каплевидной формы, который располагается посередине кишечника (Рисунки 26 К, L; 27). Зачаток состоит из четырех крупных герминальных клеток с апикальной клеткой в заднем части, в передней части зачатка сформирован небольшой крючковидный участок с соматическими ядрами, загнутый назад. Эта часть зачатка на более поздних стадиях развития вырастает кзади до зачатка клоаки. Зачаток клоаки отчетливый, он окружает ректум, его вентральная сторона узкая и удлиненная кпереди, а дорсальная сторона расширена. За исключением половых структур, общая морфология самца J3 аналогична морфологии половозрелого самца.

Личинка самки J3 общей морфологией соответствует половозрелым самкам, за исключением половых структур. Зачаток вульвы отсутствует. Половой зачаток представляет собой небольшую структуру от Z-образной до подковообразной формы с центральной соматической зоной и двумя ветвями, каждая из которых имеет две большие герминальные клетки и маленькую апикальную клетку (Рисунок 26 G, H). Половой зачаток расположен на уровне среднего кишечника.

Личинка самца J4 имеет подковообразный половой зачаток, который располагается на уровне среднего кишечника. Длина зачатка в 5-7 раз превышает его диаметр. Основная часть зачатка содержит 10-15 крупных герминальных клеток и маленькую апикальную клетку на заднем полюсе. В передней части зачатка имеется обращенная часть с соматическими ядрами, которая растет во время этой стадии в направлении зачатка клоаки, и впоследствии соединяется с ним. Зачаток клоаки окружает расширенный канал прямой кишки, его вентральная сторона узкая и вытянута вперед, а дорсальная сторона расширена. Зачаток имеет очень плотную структуру, заполненную многочисленными соматическими ядрами (Рисунок 26 O, P, Q).

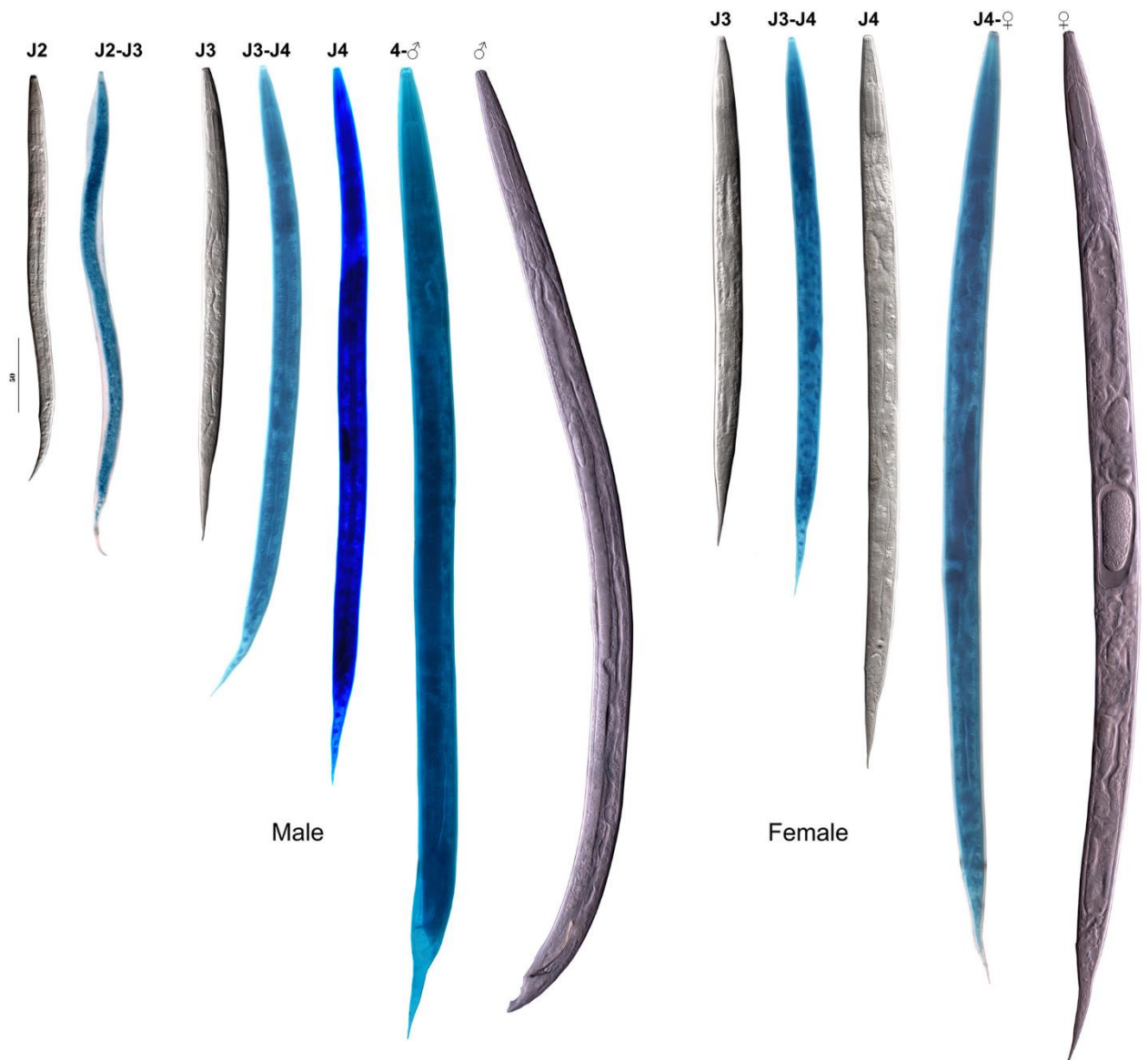


Рисунок 27 *R. ulmi*. Стадии постэмбрионального развития самцов (слева) и самок (справа). J1 ... J4 – номера стадий личинок; пары J2-J3 ... J3-J4 – линьки от младшей стадии до старшей, обозначенные номерами стадий. hd – голова; ph – глотка; tl – хвост. Шкала: 50 мкм (Ryss, **Polyanina**, et. al., 2021)

Личинка самки J4 стадии имеет половой зачаток длиной от 4 до 5 диаметров тела, состоит из двух равных обращенных ветвей, центральная часть с вульварным зачатком прикреплена к вентральной стенке тела в середине отдела тела, содержащего средний кишечник. Передняя ветвь расположена с правой стороны, задняя ветвь с левой стороны от кишечника. Зачаток вульвы 1/5 диаметра тела, массивный, содержит 30-40 соматических ядер, с центральной поперечной линзовидной инвагинацией под кутикулой. Половой зачаток прикреплен к дорсальной поверхности зачатка вульвы.

Обращенная часть каждой ветви полового зачатка состоит из 10 крупных герминальных клеток и апикальной клетки, почти достигающей инвагинации зачатка вульвы. Не обращенная часть полового зачатка трубчатая, состоит из соматических клеток (Рисунок 26 R). Общая морфология такая же, как у взрослой самки, но с меньшими размерами органов и не до конца сформированной половой системой. Морфометрические показатели всех этапов постэмбрионального развития приведены в Таблицах 11, 12.

Таблица 12 Морфометрические измерения (в мкм) и индексы линяющих стадий *R. ulmi*. Все значения приведены в мкм как среднее $\pm$ стандартное отклонение (диапазон) (Ryss, **Polyanina**, et. al., 2021)

Признак/ Пол	J2-J3	J3-J4 самец	J3-J4 самка	J4- взрослый самец	J4-взрослая самка
Число экз. (n)	2	5	5	5	2
Длина тела (L)	283, 321	461 $\pm$ 22.9 (435-482)	445.5 $\pm$ 67.3 (378-525)	582 $\pm$ 81 (472-669)	643, 646
Диам. тела	6.0, 7.0	12.8 $\pm$ 0.9 (11.5-14.0)	12.0 $\pm$ 1.6 (10.5-14.5)	14.2 $\pm$ 1.6 (12-16)	15.5, 16.0
Стома	21, 22	31 $\pm$ 3 (26-34)	29 $\pm$ 3 (24-32)	33 $\pm$ 3 (29-37)	33, 36
Корпус (прокорпус + метакорпус)	25, 26	34 $\pm$ 2 (31-35)	30 $\pm$ 5 (23-37)	39 $\pm$ 4 (35-45)	44, 48
Глотка	88, 94	122 $\pm$ 10 (109-130)	118 $\pm$ 12 (103-131)	129 $\pm$ 9 (118-141)	139, 145
Диам. губной области	3.5, 4.0	5.1 $\pm$ 0.8 (4.0-6.0)	5 $\pm$ 1 (4.5-6.5)	6.2 $\pm$ 1.2 (5.0-7.5)	6.5, 7.0
Нервное кольцо	65, 66	82 $\pm$ 5 (77-90)	81 $\pm$ 9 (69-93)	95 $\pm$ 6 (88-101)	97, 101
Длина хвоста	47, 53	64 $\pm$ 4 (59-69)	64 $\pm$ 6 (59-73)	71 $\pm$ 4 (67-75)	74, 76
Диам. тела на уровне ануса	4.5, 5.0	9.4 $\pm$ 1.1 (8.0-11.0)	7.6 $\pm$ 0.6 (7.0-8.5)	12.4 $\pm$ 2.3 (9.5-15.0)	10.0, 11.0

Длина полового зачатка (GPL))	7, 10	31.9 ± 13.2 (13-49)	21.2 ± 17.6 (9-52)	226.6 ± 111.2 (95-357)	145, 262
Диам. полового зачатка (GPW)	2.0, 3.0	6.6 ± 0.9 (6.0-8.0)	6.1 ± 1.1 (5.5-8.0)	10.7 ± 4.6 (5.5-15.5)	9.5, 12.0
Длина спиккулы по дуге	-	-	-	34.5-42.0	-
Расстояние вульва - передний конец тела / длина тела (V), %	47, 55	55 ± 4 (49-58)	55 ± 3 (49-57)	88 ± 6 (79-93)	50, 59
Длины тела / диам. тела (a)	40.0, 54.3	36.1 ± 1.2 (34.3-37.4)	37.5 ± 7 (26.4-45.5)	40.9 ± 2.2 (38.5-43.4)	40.0, 41.8
Длина тела / длина глотки (b)	3.0, 3.6	3.8 ± 0.1 (3.6-3.9)	3.7 ± 0.2 (3.4-4)	4.5 ± 0.5 (3.8-4.9)	4.5, 4.6
Длины тела / длина хвоста (c)	6.0, 6.1	7.0 ± 0.5 (6.6-7.8)	7.0 ± 0.6 (6.2-7.6)	8.2 ± 0.8 (7.0-8.9)	8.5, 8.7
Длины хвоста / диаметр хвоста на уровне ануса или клоаки (c')	10.3, 11.7	6.9 ± 1 (5.6-8.4)	8.3 ± 0.8 (7.2-9.4)	5.8 ± 0.8 (4.9-7)	7.2, 7.6
Стома/корпус	0.8, 1.0	0.9 ± 0.1 (0.8-1.0)	1.0 ± 0.2 (0.9-1.2)	0.8 ± 0.1 (0.7-0.9)	0.7, 0.8
Стома/глотка	0.23, 0.25	0.25 ± 0.01 (0.24-0.26)	0.24 ± 0.01 (0.23-0.25)	0.25 ± 0.01 (0.24-0.26)	0.24, 0.25
Длина корпуса / диаметр корпуса	4.0, 4.5	3.7 ± 0.2 (3.5-4.0)	4.2 ± 0.6 (3.7-5.3)	3.8 ± 0.6 (2.9-4.3)	4.0, 5.2
Корпус/глотка	0.27, 0.3	0.28 ± 0.01 (0.26-0.30)	0.25 ± 0.03 (0.21-0.28)	0.31 ± 0.02 (0.28-0.34)	0.30, 0.35
Передняя часть глотки /длина глотки	0.51, 0.52	0.53 ± 0.01 (0.52-0.54)	0.50 ± 0.02 (0.46-0.53)	0.56 ± 0.02 (0.54-0.59)	0.55, 0.58
Отношение длины полового зачатка к его диам. (GPL/GPW)	3.2, 3.4	4.8 ± 1.6 (2.1-6.1)	3.6 ± 3.3 (1.7-9.4)	20.8 ± 3.5 (17.0-24.7)	15.1, 21.7
Отношение длины полового зачатка к длине тела (GPL/L), %	2, 3	7 ± 3 (3 - 11)	5 ± 3 (2-12)	37 ± 14 (20-55)	20, 40

Филогенетический анализ *B. ulmophilus* и *R. ulmi*

По результатам анализа последовательностей генов рибосомальной РНК 18S, ITS и D2-D3 28S, новый вид *B. ulmophilus*, обнаруженный на деревьях с симптомами ГБИ, был отнесен к группе *Hofmanni* (Рисунки 28, 29).

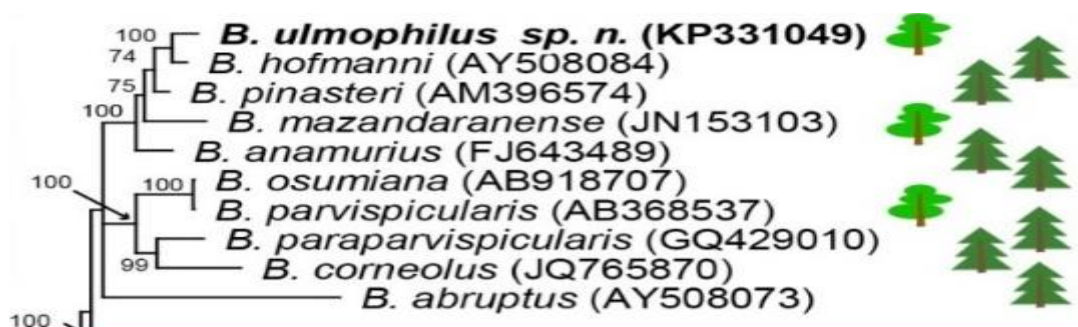


Рисунок 28 Растения-хозяева нематод группы *Hofmanni* (р. *Bursaphelenchus*). Смена хозяина: хвойные-лиственные-хвойные. Филогения по последовательностям D2-D3 гена 28S рРНК. Цветные значки – лиственные или хвойные хозяева нематод (Ryss, **Polyanina** et al., 2015)

Выявлено, что на полученных по последовательностям D2-D3 28S и 18S рРНК деревьях виды группы *Hofmanni* из хвойных хозяев соседствуют с близкородственными видами из лиственных хозяев (Ryss et al., 2013, Ryss Polyanina et al., 2015) (Рисунок 28). Эти данные по гостальной специфичности указывают на существование двух тенденций, идущих в противоположных направлениях: 1) переход от хвойных хозяев к лиственным хозяевам и 2) вторичный возврат к хвойным. Отсутствие строгой коэволюции видов группы *Hofmanni* с их растениями-хозяевами может быть объяснено их типом питания: нематоды участвуют в гибели больного дерева и затем размножаются в древесине отмирающих и мертвых деревьев. Таким образом, они не зависят от глубоких физиологических связей с живыми ослабленными растениями-хозяевами.

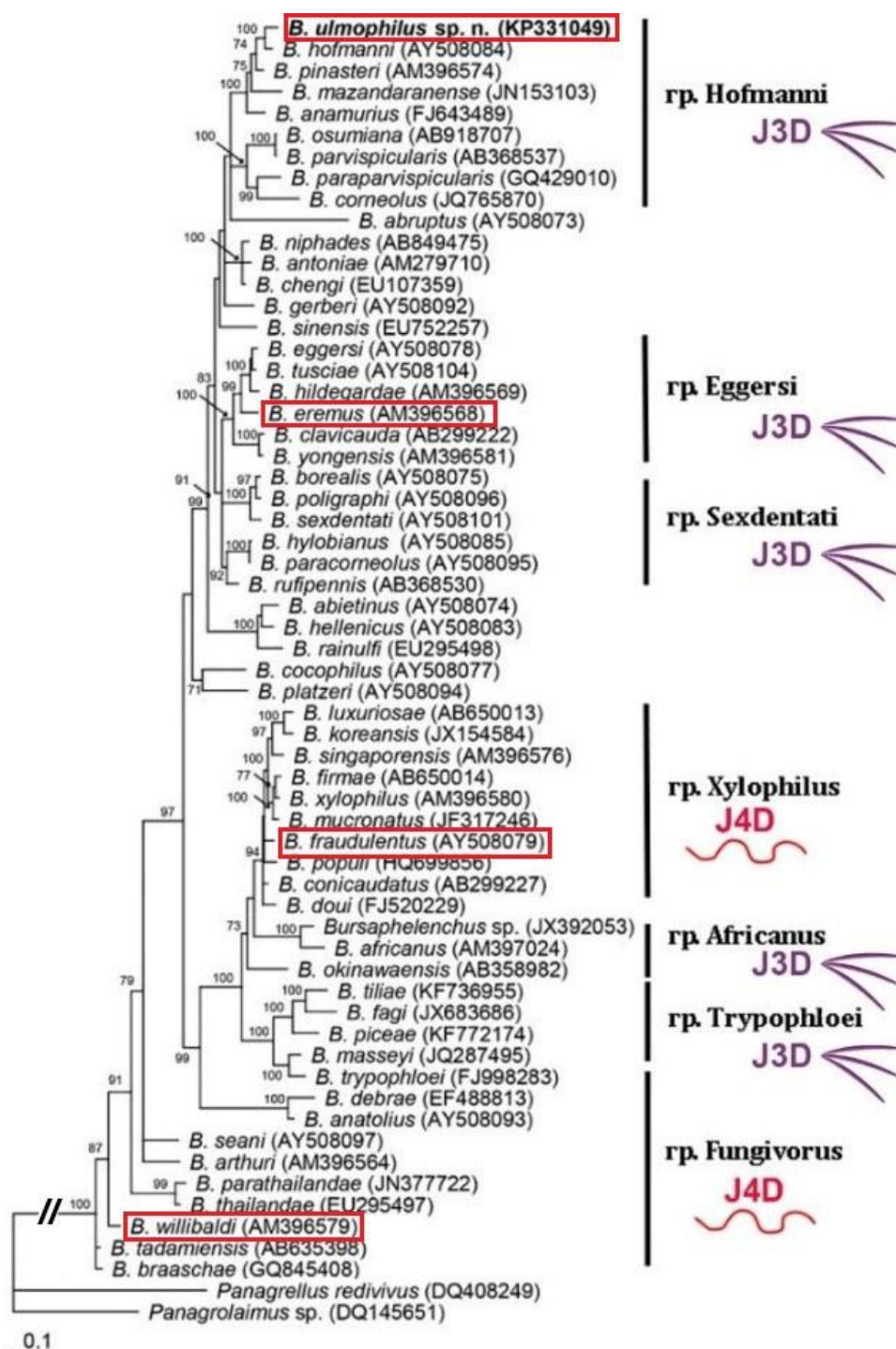


Рисунок 29 Байесово дерево, полученное при выравнивании D2-D3 28S рРНК нематод *Bursaphelenchus* spp. J3D и J4D – обозначения трансмиссивной стадии (дауер) личинки (Ryss, **Polyanina** et al., 2015). Выделенные красным цветом виды обнаружены в фауне вяза (*B. ulmophilus* (группа *Hofmanni*)) и дуба (*B. eremus* (группа *Eggersi*), *B. fraudulentus* (группа *Xylophilus*), *B. willibaldi* (группа *Fungivorus*)) были изучены молекулярно-генетическими методами

Вид *R. ulmi* был проанализирован по последовательностям D2-D3 гена 28S рРНК. Полученная последовательность была представлена в GenBank и

сопоставлена аналогичными последовательностями ДНК 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 Рисунке 30, виды рода *Rhabditolaimus* образовали кладу с высокой степенью поддержки (PP = 100%).

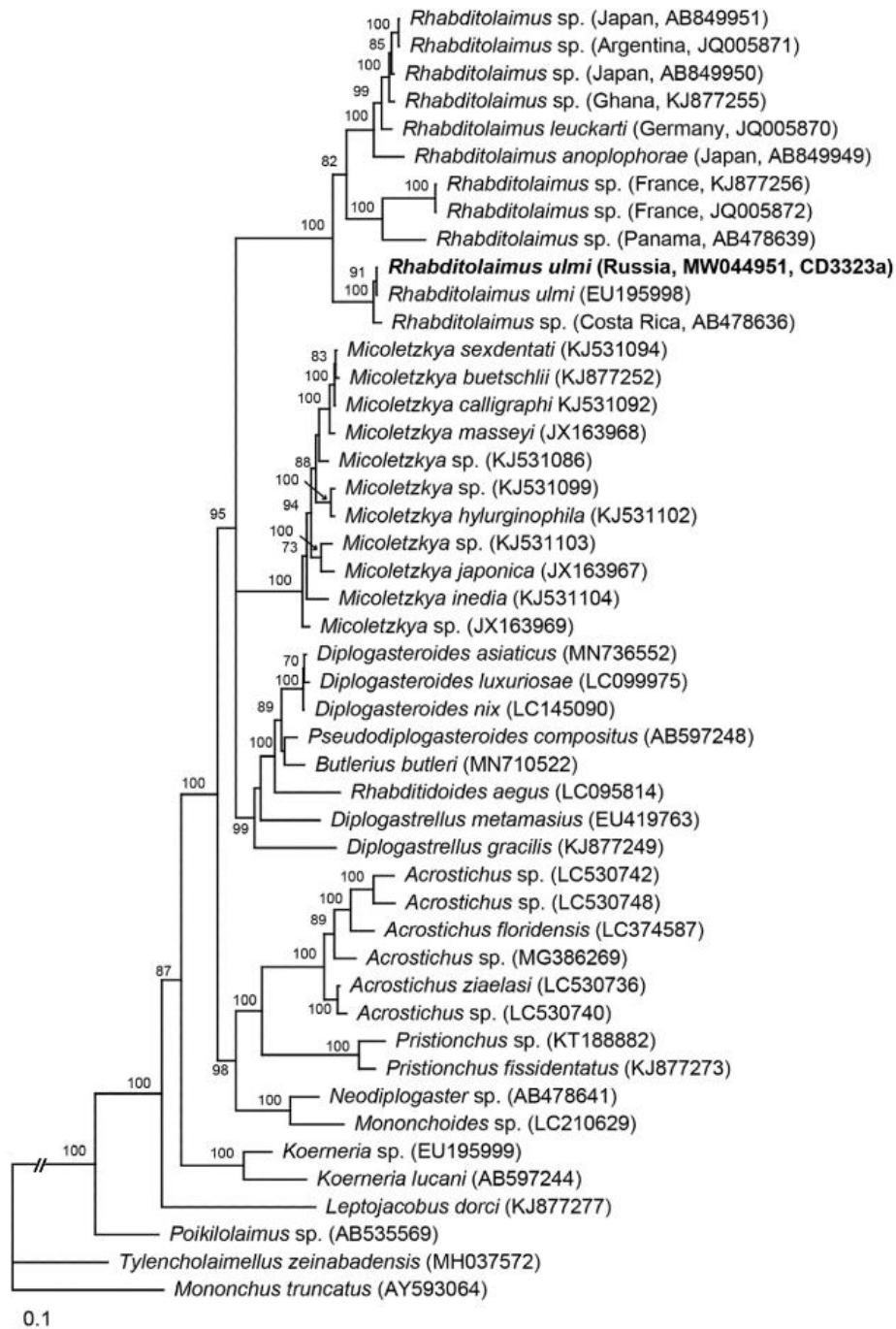


Рисунок 30 Байесово дерево, полученное при выравнивании D2-D3 28S рРНК нематод *Rhabditolaimus* spp. Для каждой клады указаны значения апостериорной вероятности (>70%). Новая последовательность выделена жирным шрифтом (Ryss, Polyana, et. al., 2021)

Заключение

Ассоциация патогенов ГБИ включает в себя не только грибы рода *Ophiostoma* и жуков короедов рода *Scolytus*, как это было известно ранее, но и фитопатогенных нематод рода *Bursaphelenchus* и энтомохорных бактериотрофов из рода *Rhabditolaimus* – комменсалов жуков-переносчиков.

Обнаружено, что у *B. ulmophilus* и *R. ulmi* из яйца выходит личинка стадии J2, преодолевая первую линьку внутри яйцевой оболочки. Отличием *R. ulmi* от *B. ulmophilus* является то, что половозрелые самки способны откладывать яйца на разных стадиях развития, в том числе с личинками J2 стадии внутри яйцевой оболочки, что не выявлено у *B. ulmophilus* (Рисунок 25).

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

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

Обнаружено, что дауер-личинки обоих видов-форонтов по размерам тела и строению полового зачатка соответствуют J3 стадии развития пропативного поколения. Дауеры обоих видов на этапе нахождения на переносчике не питаются, так как их стома и глотка редуцированы.

Трансмиссивные личинки *B. ulmophilus* (гр. *Hofmanni*) – J3D, отличаются стадией развития от дауеров J4D гр. *Xylophilus*, к которой относится карантинная патогенная сосновая стволовая нематода *B. xylophilus*. Полученные результаты указывают на различие в стадиях трансмиссии между группами видов р. *Bursaphelenchus*. Дауеры J3D *B. ulmophilus* формируются и проникают в куколку или молодое имаго короеда Scolytinae еще осенью, тогда

как куколка *Cerambycidae*, в которую проникает дауер видов группы *Xylophilus* формируется весной, и у трансмиссивной личинки остается очень короткое время для проникновения в трахеи переносчика и морфогенеза. Поэтому трансмиссивную функцию выполняет более старшая трансмиссивная личинка J4D.

Впервые обнаружено, что у нематод *R. ulmi* комбинированное питание: сочетание бактерио- и микотрофики. Нематоды могут питаться бактериями, которых они переносят на поверхности своего тела, также они способны питаться мицелием гриба *B. cinerea* в культуре. Новые данные расширяют спектр пищевых предпочтений *Rhabditolaimus* spp. (сем. Diplogastridae), которых экологи характеризуют как бактериотрофов (Yeates et al., 1993).

Проведенные нами исследования по локализации вида *R. ulmi* на жуке-переносчике и внутри растения-хозяина показали, что нематоды выполняют функцию дисперсии бактериальной и грибковой массы, находящейся на их слизистом чехлике. Дальнейшие исследования помогут оценить возможный вклад *R. ulmi* в патогенез Голландской болезни вязов, или установить, что роль рабдитолаймов ограничивается комменсализмом на жуках-переносчиках ГБИ.

Публикации по разделу 3.1

Статьи: Ryss, Polyanina et al., 2015; Ryss, Polyanina, 2017, 2022b, 2022d; Ryss, Polyanina et al., 2021

Тезисы: Ryss A.Y., Polyanina K.S. , 2015a, 2015b; Polyanina et al., 2016, Ryss, Polyanina, 2017; Ryss, Polyanina et al., 2018; Polyanina, Ryss, 2019, 2020; Полянина, Рысс, 2021, 2022; Рысс, Полянина, 2022.

3.2 Фауна и жизненные циклы ксилобионтных нематод ясеня *Fraxinus excelsior* с симптомами суховершинности

В коре и древесине ясеней с симптомами суховершинности были обнаружены 11 видов ксилобионтных нематод. В Таблице 13 указаны эколого-паразитологические группы по Поляниной и др. (Polyanina et al., 2019) и гильдии (место в сукцессии детритной цепи и тип питания) по Феррису и др. (Ferris et al., 2001) всех обнаруженных видов. В Приложениях представлены данные локаций находок, текстовые диагностические ключи и атлас иллюстраций обнаруженных видов нематод (Приложение-1, таблицы 1, 3; Приложение-2: Рисунок 7-12).

Среди 11 видов нематод, 7 видов энтомохорные; из них впервые обнаружен в России вид фитопатогенного рода *Bursaphelenchus*, облигатный ассоциант симптомов суховершинности ясеня – *Bursaphelenchus crenati* (Ryss et al., 2018). Изучены морфология и жизненный цикл *B. crenati*, включая трансмиссивную стадию (дауер-личинку).

Таблица 13 Обнаруженная фауна ксилобионтных нематод больных ясеней

Семейство	Вид	Переносчик	Эко-группа*	Гильдия*
ОТРЯД DORYLAIMIDA: ПОДОТРЯД DORYLAIMINA				
Dorylaimidae	<i>Eudorylaimus</i> sp.	-	Fl-Fu	Om4
ОТРЯД TRIPLONCHIDA: ПОДОТРЯД DIPHTEROPHORINA				
Diphterophoridae	<i>Tylolaimophorus bulgaricus</i> Andrassy, 1958	-	Fl-Fu	Fu3
ОТРЯД RHABDITIDA: ПОДОТРЯД RHABDITINA				
Rhabditidae	<i>Parasitorhabditis ater</i> (Fuchs, 1915) Dougherty, 1955	<i>Hylastes</i> sp.	En-Int	Ba1, EPN
Diplogastridae	<i>Acrostichus pterygatus</i> (Timm 1961) Massey 1966	<i>Hylastes</i> sp.	Ec-Co	Ba1
	<i>Rhabditolaimus leuckarti</i> Fuchs, 1915	<i>Scolytus scolytus</i> , <i>S. multistriatus</i>	Ec-Co	Ba1
ОТРЯД RHABDITIDA: ПОДОТРЯД TYLENCHINA				
Cephalobidae	<i>Cephalobus persegnis</i> Bastian, 1865	-	Fl-Ba	Ba2
Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus leperisini</i> Massey, 1974	<i>Scolytus</i> sp.	Ec-Co	Ba1
Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides parasaprophilus</i> Sanwal, 1965	<i>Scolytus</i> sp.	Ec-Fup	Fup2
	<i>Laimaphelenchus penardi</i> Steiner, 1914	-	Fl-Fu	Fu2

	<i>Bursaphelenchus crenati</i> Rühm, 1956	<i>Hylesinus crenatus</i>	Ec-Fup	Fup2
	<i>Bursaphelenchus zvyagintsevi</i> Ryss & Subbotin, 2023	<i>Hylesinus laticollis</i>	Ec-Fup	Fup2

* См. «Условные обозначения»

Вид рода *Bursaphelenchus* был обнаружен во внутренних ходах жуков, в коре и заболони, а также под надкрыльями жуков *Hylesinus crenatus* в виде дауер-личинок. В процессе морфологических и молекулярных исследований обнаруженный вид был идентифицирован как *Bursaphelenchus crenati* Rühm, 1956, относящийся к группе видов *Sexdentati*. Ранее вид был описан Rühm, 1956 в Баварии и Германии, позже *B. crenati* был повторно описан в Польше Tomalak и др. (2017). До наших исследований в 2017 году на территории России и Беларуси этот вид зарегистрирован не был.

Данные «Россельхознадзора» свидетельствуют о том, насаждения ясеня частично или полностью поражены заболеванием ADD (ash dieback disease = суховершинность ясеня) в тринадцати регионах России (Musolin et.al., 2017). По результатам наблюдений, возбудителями суховершинности ясеня являются: гриб *Chalara fraxinea* и изумрудная ясеневая златка *Agrius planipennis*. В Беларуси эти возбудители были обнаружены в пяти регионах (Yaruk, Zviagintsev, 2015). Обнаружение нематод *B. crenati* во внутренней коре и заболони во всех точках отбора проб можно объяснить возможной синергетической ролью нематод и их жуков-переносчиков *H. crenatus*, вызывающих дополнительный стресс у ясеней и тем самым способствуя ускорению процесса инфекции ADD. В живом дереве это вид нематод является эндопаразитом и питается клетками флоэмы дерева, а после отмирания ветвей переходит к питанию мицелием гриба, также распространяемого тем же переносчиком *H. crenatus*. Подобные отношения паразита и хозяина известны для инфекции вилта сосны – PWD (Pine Wilt Disease), где нематода *B. xylophilus* вначале выступает в роли эндопаразита смоляных каналов в флоэме и ксилеме, питаясь клетками растения и распространяясь по каналам, что приводит к гибели дерева, а после гибели растения-хозяина нематоды переходят к

питанию на мицелии гриба древесной синевы, также инокулированным переносчиком (Futai, 2013).

Морфологическое описание половозрелых особей вида *B. crenati*

Тело С-образной формы после обработки горячим фиксатором. Головная область обособлена, эллипсовидная, ее диаметр вдвое больше ее высоты, с пятью-шестью слабо очерченными кольцами и передними щелевидными субдорсальными амфидами; головной и лабиальный диски отсутствуют. Коническая часть стилета 50% его длины, рукоятка с тремя умеренно развитыми базальными утолщениями, отклоненными кзади. Боковые поля с двумя сближенными валиками, обычно с тремя инцизурами, иногда четыре инцизуры: в этом случае два валика на удалении друг от друга. Медиальный бульбус хорошо развит, мускулистый, длина в 1.2-1.5 раза больше ширины, с умеренно развитым кутикулярным клапаном посередине. Железы глотки в виде единой лопасти, дорсально налегающей на средний кишечник. Экскреторная пора расположена между уровнем клапана среднего бульбуса и нервным кольцом, обычно в задней трети медиального бульбуса. Кончик хвоста заострен, но без мукро. Вульварный щиток очень маленький, в форме перевернутой U-образной фигуры. Кончик спикеры самца узко конический, кукулюс на кончике спикеры отсутствует, но имеется боковой выступ на кончике. Общая морфология типична для группы *Sexdentati*, за исключением количества боковых инцизур, вызванных близким расположением валиков (у видов группы *Sexdentati* паттерн бокового поля с двумя валиками, виден рисунок в виде четырех инцизур из-за широкой ложбины между двумя валиками, но у *B. crenati*, как правило, валики сближены и поэтому видны лишь три инцизуры).

Половозрелый самец (Рисунок 31, 32; Таблица 14). Тело сильно изогнуто в задней части. Хвост самца имеет 7 папилл: непарная P1, парные P2, P3 и GP (железистые gland-папиллы). Имеется пять сосочковидных папилл: P1

(непарная папилла) расположена на 2 мкм кпереди от отверстия клоаки, пара P2 сразу позади клоаки вентролатерально, пара P3 расположена вентролатерально, на одну длину бursy перед терминальным бурсальным щитком. Дополнительно имеется одна пара мелких погруженных железистых gland-папилл (GP) (обозначение типа папилл по терминологии Rühm, 1956), расположенных позади пары папилл P3 близко к медиальной линии вентральной поверхности. Каждая сосочковидная папилла имеет небольшое куполовидное окончание, окруженное широким дисковидным основанием, выступающим над поверхностью кутикулы. GP имеют сходные маленькие окончания, но лишены приподнятого дисковидного основания; обе GP расположены на небольшой жесткой кутикулярной пластинке, окаймленной неглубокими боковыми складками. С внутренней стороны каждая gland-папилла соединена с плотной короткой нитью, на конце которой располагается маленькая гранула. В глицерине эта гранула может ошибочно рассматриваться как дополнительная gland-папилла. В зависимости от изгиба хвоста самца, эти парные сосочковидные папиллы и gland-папиллы симметричные или асимметричные, такая изменчивость может быть диагностически трудно интерпретируемой (Kanzaki, 2008). Кончик хвоста самца продолжается до конца бурсального щитка в виде короткой плотной нити. Бурсальный щиток в вентральной проекции имеет тупую лепестковидную форму, задний край щитка усечен и слегка вогнут, имеются 4 зубчика. Спиккулы парные, отдельные, одинаковые, типичные для группы *Sexdentati*, 16-19 мкм по изогнутой дуге, кондилус выпуклый и тупой, рострум острый. Капитулум уплощенный, длиной $\frac{1}{2}$ спиккулы. Кончик спиккулы остро конический, без кукулюса. Посредине ламины спиккулы имеются две внутренние продольные инцизуры (насечки), которые разделяют ее на длинную центральную часть с остроконическим окончанием спиккулы и более короткую боковую часть, образующую боковой выступ (prj, Рисунок 31) у кончика спиккулы. Такие парные выступы были описаны для удлиненных спиккул *B. gerberae* (Giblin-Davis et.al., 2006). Семенник продолжается до $\frac{3}{4}$ длины тела, в передней части

загнут вентрально. Зрелые сперматозоиды в задней части семенника круглые, 2-3 мкм в диаметре. Сперматиды в виде двух-трех квартетов, расположенных посередине длины семенника.

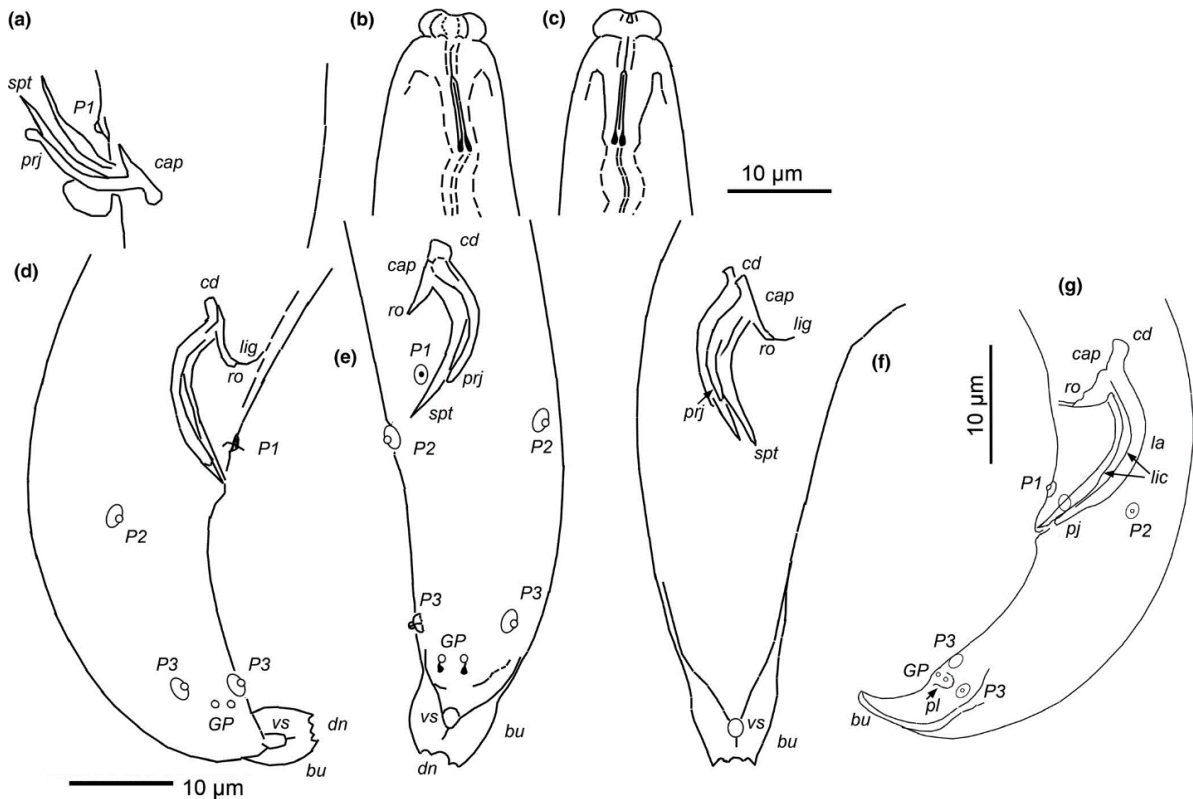


Рисунок 31 *B. crenati*. Белорусский изолят. Самец, живой экземпляр, сплюснутый под покровным стеклом (a-f), образец в глицерине (g). а – спикулы выдвинуты вперед из клоаки. b,c – голова и стилет. c, d, e, f, g – хвост, хвостовые папиллы и спикулы. bu – щиток бурсы, cap – капитулюм, cd – кондиллюс, dn – зубцы на границе бурсы, GP – железистые gland-папиллы, la – ламина, lic – внутренние продольные насечки (инцизуры) спикулы, lig – связка между рострумом спикулы и вентральной стенкой тела, P1, P2, P3 – сосочковидные папиллы, pl – папиллярная пластинка, prj – выступ спикулы, ro – рострум, spt – кончик спикулы, vs – везикула терминуса хвоста. Шкала 10 мкм (Ryss, **Polyanina**, et. al., 2019)

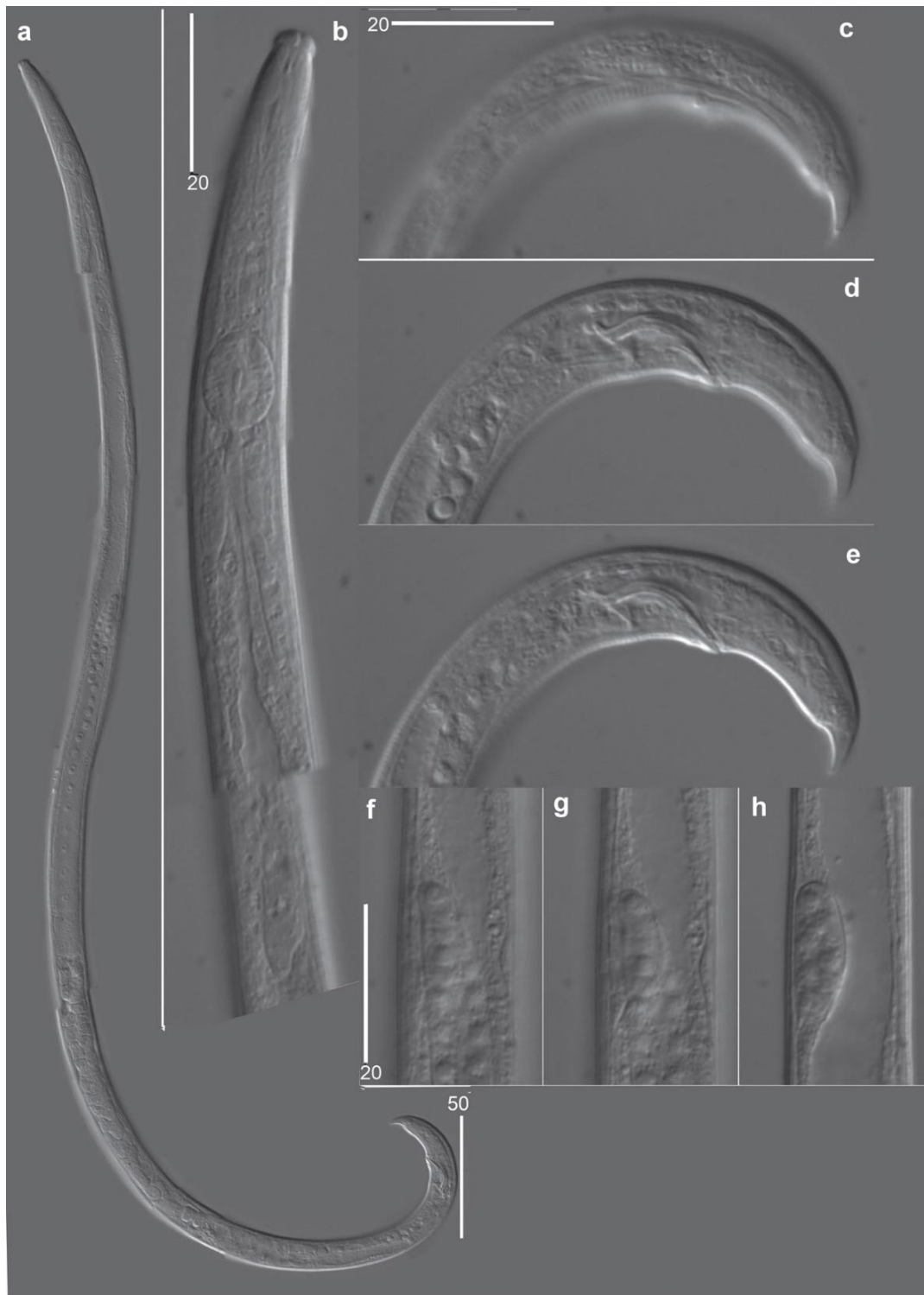


Рисунок 32 *B. crenati*. Белорусский изолят. Самец. а – общий вид тела. б – передняя часть тела. с, d, е – кончик хвоста с хвостовыми папиллами и спикулами, в серии оптических плоскостей. f, g, h – передняя обращенная часть семенника (вид сбоку) в серии оптических плоскостей. Шкала 50 мкм (а) и 20 мкм для остальных (Ryss, **Polyanina**, et. al., 2019)

Таблица 14 Морфометрические характеристики *B. crenati*. Все измерения приведены в мкм как среднее $\pm$ стандартное отклонение (диапазон) (Ryss, Polyaniina, et. al., 2019)

Признак	Самец		Самка	
	Центральная Россия	Беларусь	Центральная Россия	Беларусь
Число экз. (n)	20	20	25	20
Длина тела (L)	698 $\pm$ 69 (607-804)	689 $\pm$ 69 (590-755)	806 $\pm$ 90 (659-1,008)	710 $\pm$ 88 (529-827)
Длина тела / диам. тела (a)	40 $\pm$ 5 (34-50)	38 $\pm$ 3 (34-43)	48 $\pm$ 7 (39-60)	40 $\pm$ 3 (36-45)
Длина тела / длина глотки до среднего кишечника (b)	9.7 $\pm$ 1.2 (7.7-11.3)	11.6 $\pm$ 0.5 (10.9-12.4)	10.9 $\pm$ 1.6 (8.8-14.1)	11.9 $\pm$ 1.1 (9.6-12.9)
Длина тела / длина глотки до конца лопасти желез (b')	5.8 $\pm$ 0.6 (4.9-6.6)	6.4 $\pm$ 0.6 (5.6-7.0)	6.0 $\pm$ 1.1 (4.5-7.6)	6.9 $\pm$ 0.8 (5.4-8.4)
Длина тела / длина хвоста (c)	24.3 $\pm$ 2.9 (20.4-30.5)	23.0 $\pm$ 2.0 (20.2-25.2)	22.4 $\pm$ 4.8 (17.9-37.2)	23.4 $\pm$ 2.8 (17.6-29.1)
Длина хвоста / диаметр хвоста на уровне ануса или клоаки (c')	1.8 $\pm$ 0.2 (1.4-2.2)	2.4 $\pm$ 0.1 (2.3-2.5)	3.1 $\pm$ 0.6 (2.4-4.3)	3.9 $\pm$ 0.5 (3.3-5.2)
Расстояние переднего конца до вульвы . длина тела (V), %	-	-	74 $\pm$ 1 (72-77)	74 $\pm$ 1 (73-76)
Стилет	10 $\pm$ 0.1 (8-12)	11 $\pm$ 1 (9-12)	12 $\pm$ 1 (10-13)	10 $\pm$ 1 (8-12)
Диаметр головной области	7.0 $\pm$ 0.6 (7-8)	5.9 $\pm$ 0.3 (5.4-6.2)	6.6 $\pm$ 0.4 (6.1-7.5)	6.1 $\pm$ 0.5 (5.0-7.0)
Высота головной области	4 $\pm$ 0.5 (3-5)	2.8 $\pm$ 0.3 (2.5-3.3)	3.2 $\pm$ 0.3 (3-4)	2.7 $\pm$ 0.4 (2.1-3.3)
Длина медиального бульбуса (L)	15 $\pm$ 2 (13-18)	13 $\pm$ 1 (11-15)	16 $\pm$ 3 (12-23)	14 $\pm$ 1 (12-15)
Диаметр медиального бульбуса (D)	12 $\pm$ 1 (11-14)	9 $\pm$ 1 (8-9)	13 $\pm$ 1 (10-14)	10 $\pm$ 1 (8-11)
Отношение длины медиального бульбуса к его диаметру (L/D)	1.3 $\pm$ 0.1 (1.1 $\pm$ 1.5)	) 1.5 $\pm$ 0.1 (1.3-1.6)	1.2 $\pm$ 0.2 (0.9-1.8)	1.4 $\pm$ 0.1 (1.2-1.6)
Экскреторная пора	63 $\pm$ 2 (60-77)	57 $\pm$ 8 (44-63)	71 $\pm$ 8 (59-90)	53 $\pm$ 4 (43-58)
Нервное кольцо	76 $\pm$ 5 (66-82)	66 $\pm$ 7 (53-70)	79 $\pm$ 8 (70-99)	63 $\pm$ 5 (55-71)
Длина глотки	72 $\pm$ 8 (58-85)	60 $\pm$ 8 (47-66)	75 $\pm$ 7 (63-92)	60 $\pm$ 4 (52-66)
Расстояние от переднего конца до заднего конца лопасти желез	122 $\pm$ 12 (105-144)	108 $\pm$ 2 (105-111)	137 $\pm$ 21 (108-178)	103 $\pm$ 9 (89-122)
Длина лопасти желез	50 $\pm$ 6 (41-64)	48 $\pm$ 8 (42-58))	62 $\pm$ 16 (40-91)	44 $\pm$ 7 (29-60)
Отношение длины лопасти желез к диаметру тела	2.9 $\pm$ 0.6 (2.3-4.5)	2.7 $\pm$ 0.5 (2.2-3.3)	3.6 $\pm$ 0.6 (2.9-4.6)	2.5 $\pm$ 0.5 (1.6-3.5)
Максимальный диам. тела	17 $\pm$ 3 (14-21)	18 $\pm$ 1 (17-19)	17 $\pm$ 2 (13-20)	18 $\pm$ 2 (13-20)
Задняя мешок матки (PUS)	-	-	113 $\pm$ 17 (88-145)	101 $\pm$ 15 (69-118)
PUS / диам. тела у вульвы	-	-	6.7 $\pm$ 1.1 (5.0-9.2)	5.7 $\pm$ 0.6 (4.4-6.6)

PUS / вульва-анус (%)	-	-	66 ± 4 (61-79)	66 ± 6 (56-75)
Длина хвоста	29 ± 3 (26-35)	30 ± 0.6 (29-31)	37 ± 7 (20-48)	30 ± 2.4 (25-35)
Диам. тела на уровне ануса	17 ± 2 (12-19)	13 ± 0.6 (12-13)	12 ± 2 (8-14)	8 ± 0.9 (6-9)
Толщина 10 колец тела в центре тела	11 ± 2 (9-15)	11 ± 2 (10-13)	11 ± 2 (9-15)	11 ± 2 (9-13)
Длина спикеры по дуге	17 ± 1 (16-19)	17 ± 0.7 (16-18)	-	-
Длина капитулюма (рострум-кондилус)	8.4 ± 0.9 (7.3-10.0)	7.6 ± 0.3 (7.0-8.5)	-	-

Половозрелая самка (Рисунок 33; Таблица 14). Вагина наклонена вентрально, с латеральных сторон соединена с парой трехклеточных кутикулярных структур. Задний мешок матки (PUS) расположен слева от кишечника, в основном заполнен круглыми сперматозоидами, длинный, занимает более 60% расстояния между вульвой и анусом. Передняя матка короткая, длиной в один диаметр тела, прикреплена к веретенообразной скорлуповой железе (крустаформерии), представляющей собой трехсекционную структуру. Сперматека образует слепой двухлопастной мешок на правой стороне половой трубки и заполнена круглыми сперматозоидами диаметром 2-3 мкм. Яичник расположен справа от кишечника и продолжается кпереди до лопасти глоточных желез или оканчивается несколько позади их. Ооциты расположены в четыре-пять рядов в передней части яичника, в его задней части расположение ооцитов однорядное. Хвост короткий, сильно изогнут вентрально, его кончик широко конический с 2-3 мкм гиалиновой частью.

Морфология половозрелых особей *B. crenati* соответствует первоначальному описанию Rühm (1956) и переописанию вида сделанному позже Tomalak et al. (2017). *B. crenati* можно рассматривать как патогена, вызывающего гибель насаждений ясеня *Fraxinus* spp. в Центральной и Южной Европе.

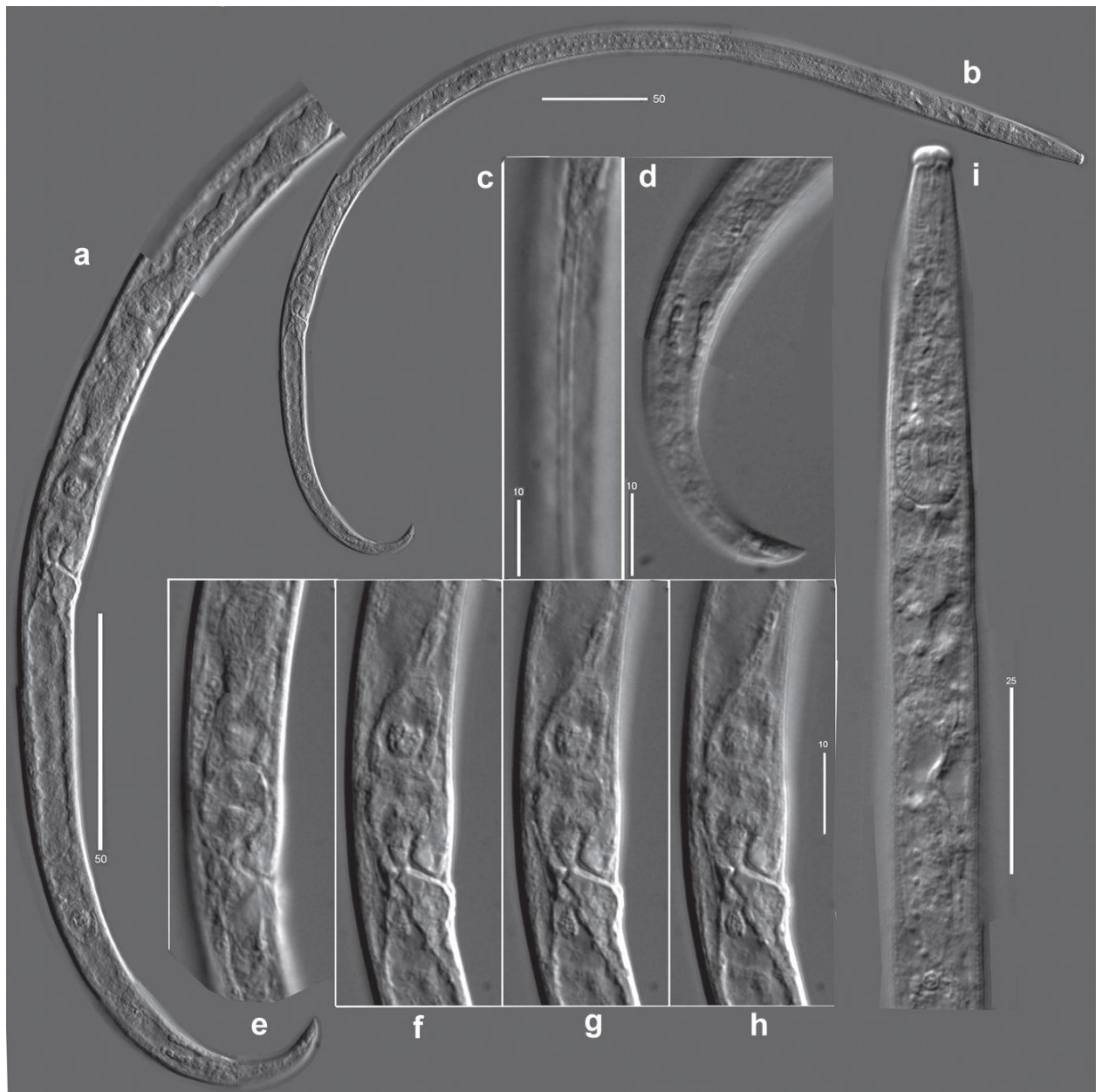


Рисунок 33 *B. crenati*. Белорусский изолят. Самка. а – задняя часть тела. б – общий вид тела. с – латеральное поле. d – хвост. e, f, g, h – вульварная область в серии оптических плоскостей. i – передняя часть тела. Шкала 50 мкм для а и б; 25 мкм для i; 10 мкм для остальных (Ryss, **Polyanina**, et. al., 2019)

Морфология дауер-личинки *B. crenati*

Дауер-личинки были получены путем вскрытия жуков *H. crenatus* и экстрагирования нематод. Обнаруженные дауеры из Беларуси отличались от тех, что были найдены в Воронежской области меньшей длиной (в среднем 350 мкм против 410 мкм) (Таблица 15), более коротким хвостом (в среднем 21 мкм против 37 мкм), большим расстоянием экскреторной поры от переднего конца тела (в среднем 52 мкм против 40 мкм) и изогнутым, узко сужающимся

хвостом в отличие от прямого, широко конического. Среднее отношение длины бульбуса к ширине составляет 2.2 у популяции из Беларуси против 1.4 у популяции из России. Различия в морфологии дауер-личинок могут быть связаны с сезонным влиянием на развитие жука-переносчика в момент отбора образцов (ноябрь в Беларуси и июнь в России). Половые зачатки дауеров (Рисунок 34, 35) обеих популяций показали хорошее соответствие по структуре и размерам с личинками J3D группы *Sexdentati*.

Таблица 15 Морфометрические измерения (в мкм) и индексы трансмиссивных стадий (дауеров) *B. crenati*. Все значения приведены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (диапазон) (Ryss, **Polyanina**, et. al., 2019)

Стадия/Признак	Дауер-личинка J3D Центральная Россия	Дауер-личинка J3D Беларусь
Число экз (n)	20	20
Длина тела (L)	413 $\pm$ 20 (392–463)	346 $\pm$ 38 (274–408)
Диам. тела	8 $\pm$ 1 (6–9)	11 $\pm$ 1.1 (9–12)
Глотка	119 $\pm$ 9 (101–128)	101 $\pm$ 4 (90–109)
Длина допасти желез глотки	43 $\pm$ 7 (35–55)	45 $\pm$ 3 (40–51)
Стилет	9.4 $\pm$ 0.4 (9–10)	7 $\pm$ 0.9 (6–9)
Диам. губной области	4.8 $\pm$ 1.0 (4–7)	4.7 $\pm$ 0.5 (4–6)
Высота губной области	2.9 $\pm$ 0.3 (2.5–4)	2.7 $\pm$ 0.4 (2.5–3.5)
Расстояние от переднего конца тела до медиального бульбуса	49 $\pm$ 2 (45–51)	47 $\pm$ 3 (40–52)
Длина медиального бульбуса	11 $\pm$ 2 (9–15)	12.6 $\pm$ 0.9 (10–14)
Диам. медиального бульбуса	8 $\pm$ 2 (6–10)	5.8 $\pm$ 0.5 (4.4–6.5)
Экскреторная пора	40 $\pm$ 3 (37–44)	52 $\pm$ 3 (45–56)
Длина хвоста	37 $\pm$ 3 (30–41)	21 $\pm$ 2 (17–26)
Диам. тела на уровне ануса	8 $\pm$ 1 (5–9)	6.7 $\pm$ 0.9 (5–8)
Длина полового зачатка (GPL)	14.8 $\pm$ 2.1 (11–18)	15.4 $\pm$ 1.8 (12–19)
Диам. полового зачатка (GPW)	3.9 $\pm$ 0.4 (3–5)	4.4 $\pm$ 1.2 (3–7)
Длины тела / диам. тела (a)	54 $\pm$ 8.3 (44.6–69.6)	32.0 $\pm$ 3.5 (26.6–39.0)
Длина тела / длина глотки до среднего кишечника (b)	5.5 $\pm$ 0.4 (5.1–6.4)	6.2 $\pm$ 0.5 (5.3–7.1)
Длина тела / длина глотки до конца лопасти желез (b')	3.5 $\pm$ 0.3 (3.0–4.1)	3.4 $\pm$ 0.2 (3.0–3.7)

Длина тела / длина хвоста (с)	11.2 ± 0.9 (9.9–13.2)	16.7 ± 2.3 (11.4–21.2)
Длина хвоста / диаметр хвоста на уровне ануса или клоаки (с')	4.7 ± 0.5 (4.3–5.5)	3.2 ± 0.3 (2.6–3.6)
Расстояние переднего конца до вульвы / длина тела, % (V)	62 ± 5 (56–72)	62 ± 8 (47–76)
Отношение длины полового зачатка к его диам. (GPL/GPW)	3.8 ± 0.5 (3.0–4.5)	3.7 ± 0.9 (2.2–5.6)
Отношение длины полового зачатка к длине тела (GPL/L, %)	4 ± 1 (3–5)	5 ± 1 (3–6)
Длина губной области к ее ширине	1.6 ± 0.3 (1.4–2.4)	1.8 ± 0.3 (1.4–2.6)
Отношение длины медиального бульбуса к его ширине	1.4 ± 0.2 (1.1–1.7)	2.2 ± 0.3 (1.7–2.8)

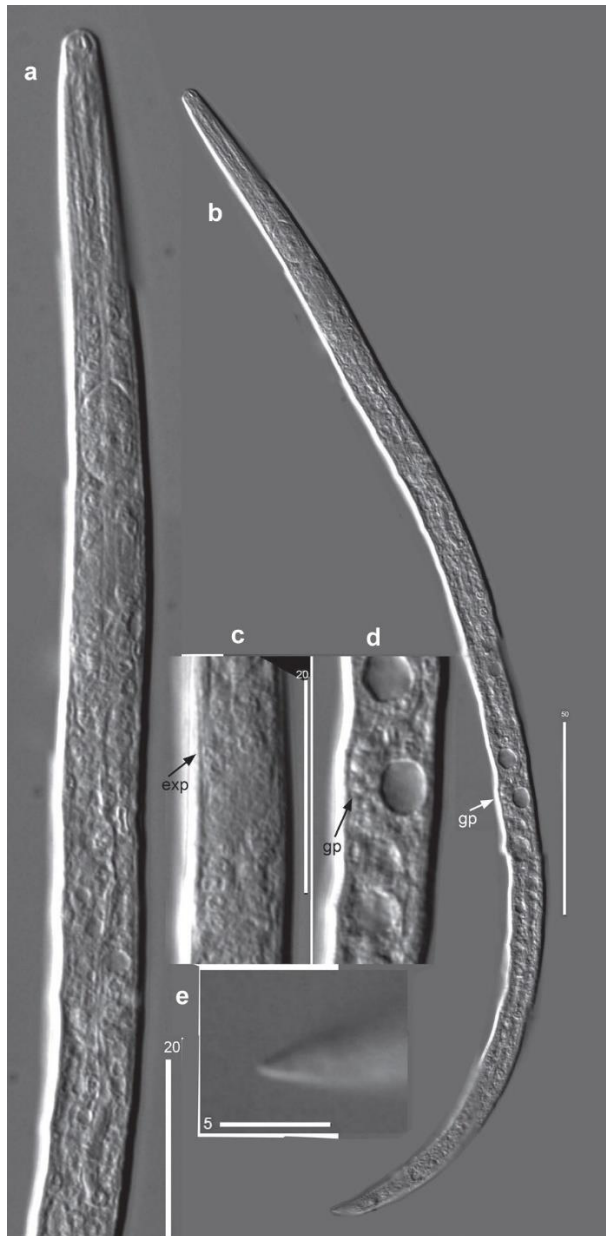


Рисунок 34 *B. crenati*. Белорусский изолят. Дауер-личинка. а– передняя часть тела. б – общий вид тела. с – экскреторная пора (exp). d – центральная часть тела с четырехклеточным половым зачатком (gp). е – кончик хвоста. Шкала 20 мкм для а, с и d; 50 мкм для б; и 5 мкм для е. (Ryss, **Polyanina** et. al., 2019)

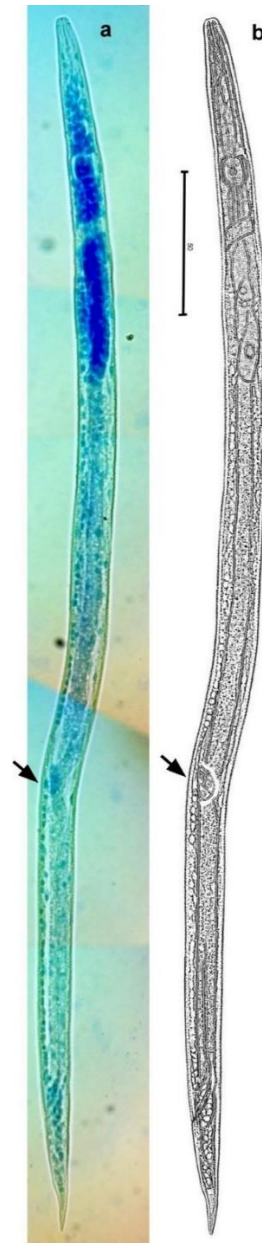


Рисунок 35 *B. crenati*. Изолят из Центральной России. Дауер-личинка. а – фотография, нематода окрашена ядерным красителем (метиленовым синим). б – рисунок по фотографии. Стрелки: половой зачаток. Шкала 50 мкм (Ryss, **Polyanina** et. al., 2019)

Дауер-личинки имеют такое же строение и размер полового зачатка, как и личинки J3 стадии пропативного поколения. Различия заключаются в следующем: тонкое и прямое тело и прямой длинный хвост по сравнению с

вентрально изогнутым хвостом у личинок J3 пропативного поколения. Боковое поле с двумя близко расположенными валиками одинаковой ширины (три инцизуры). Дауер-личинки отличаются полусферической необособленной головной областью с толстым гиалиновым колпачком по сравнению с резко обособленной головной областью и хорошо развитым внутренним кутикулярным головным скелетом. Стиллет дауера представляет собой очень тонкую капиллярную трубку, конус и базальные утолщения нечеткие. Средний бульбус удлинённый, его длина вдвое больше ширины, центральный клапан не развит. Железы глотки в форме очень узкой полоски, три ядра желез мелкие. Спустя 3 часа после экстрагирования нематод из надкрыльев жуков в воде, личинки J3D линяли до J4, половой зачаток становился длинным, был виден хорошо развитый стиллет и медиальный бульбус.

Для изучения функциональной роли различных личиночных стадий *B. crenati* в адаптации к переносчику, растениям-хозяевам и грибам, а также в выживании в условиях стресса необходимо точно определить стадии жизненного цикла. Особое внимание было уделено изучению строения полового зачатка, поскольку согласно исследованиям, проведенным ранее, половой зачаток наиболее показателен для идентификации пола и стадии личинки (Hirschmann, 1962, 1971; Hirschmann, Triantaphyllou, 1967; Ryss, 1981, 1988; Ryss, Chernetskaya, 2009; Рысс, Полянина, 2017). Исследования проведены на нематодах, окрашенных ядерным красителем метиленовым синим.

Обнаружено, что первая линька происходит внутри яйцевой оболочки, таким образом, из яйца наружу выходит личинка второй стадии (J2) (Рисунок 36 Е, F, G). Стадии онтогенеза разделены линьками, классифицировать личинок можно как J2, J3, J4, из последних формируются половозрелые самцы и самки. Линьки можно обнаружить по отслаивающейся кутикуле на концах тела нематод, на хвосте и в головной области. Стадию и пол личинок возможно

определить по размеру и расположению полового зачатка в теле нематоды. Пол личинок можно определить, начиная с J3 стадии. Установить, к какой стадии относится личинка, можно также по длине тела и по соотношению между длиной тела и длиной глотки (индекс b).

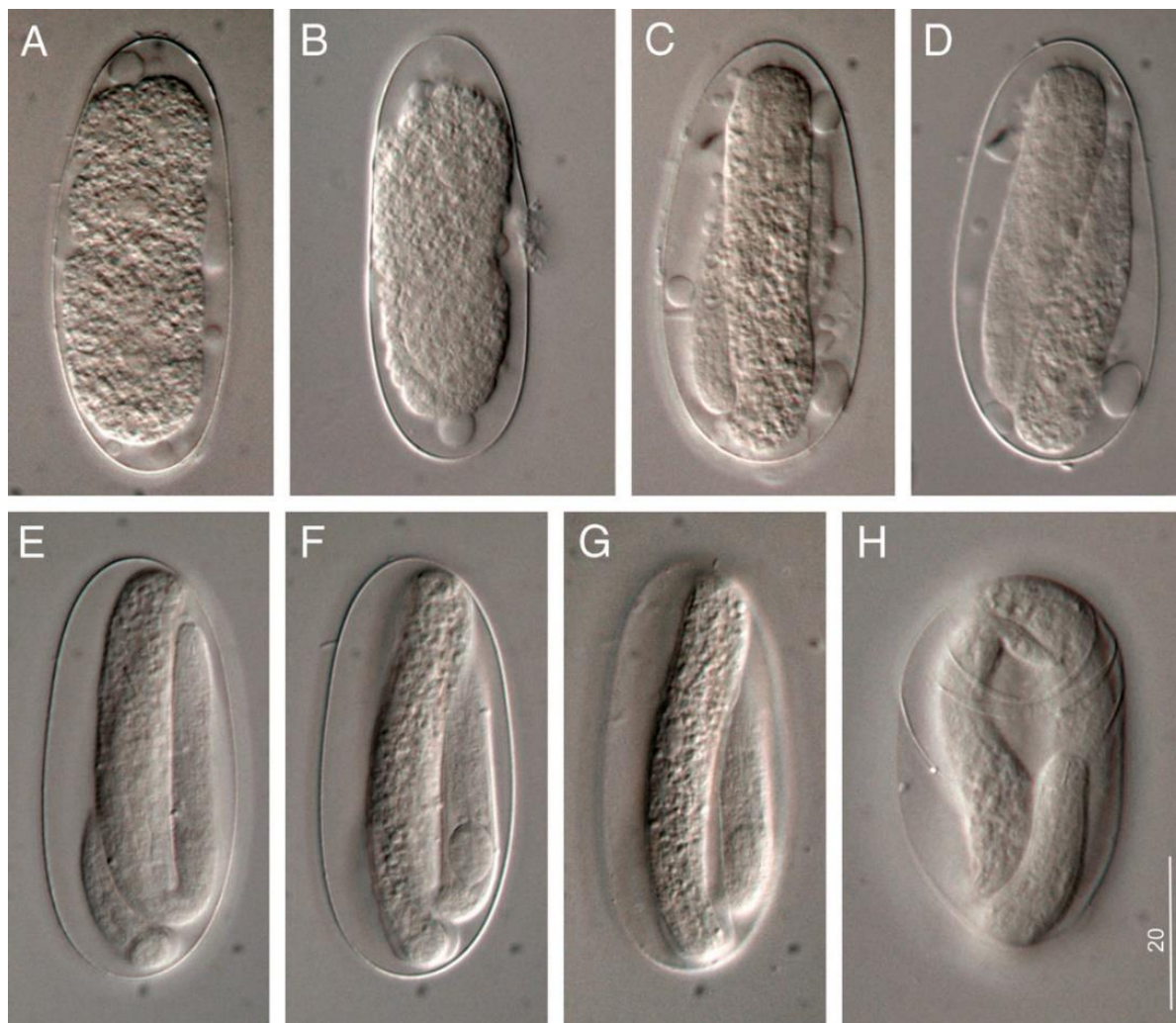


Рисунок 36 *B. crenati*. Морфогенез внутри яйцевой оболочки. А – дробление; В – гастрюляция; С, D – личинка первой стадии (J1); Е, F, G – личинка второй стадии в момент линьки (J2) с отслоившейся кутикулой; H – вылупление J2, подготовка к выходу из яйцевой оболочки. Шкала 20 мкм (Ryss, **Polyanina** et. al., 2018)

Личинка второй стадии (Рисунок 37 А, Б; 38) имеет небольшой половой зачаток, состоящий из четырех клеток: двух больших герминальных клеток в центральной части и двух маленьких соматических ядер по краям. Располагается половой зачаток на уровне середины кишечника. Вторая личиночная стадия отличается от старших стадий меньшим числом клеток в

половом зачатке, а также длиной тела менее 200 мкм, по сравнению с длиной 300 мкм и более у старших личинок.

Личинку третьей стадии самца (Рисунок 38) возможно идентифицировать по половому зачатку, состоящему из 3-5 герминальных клеток в задней части и 12 соматических ядер в передней части (Рисунок 37 G, H), кроме того, на концах полового зачатка имеется одно соматическое апикальное ядро. Половой зачаток располагается на уровне середины кишечника. Зачаток клоаки представляет собой плотное скопление соматических ядер вокруг ректума (Рисунок 37 I, J).

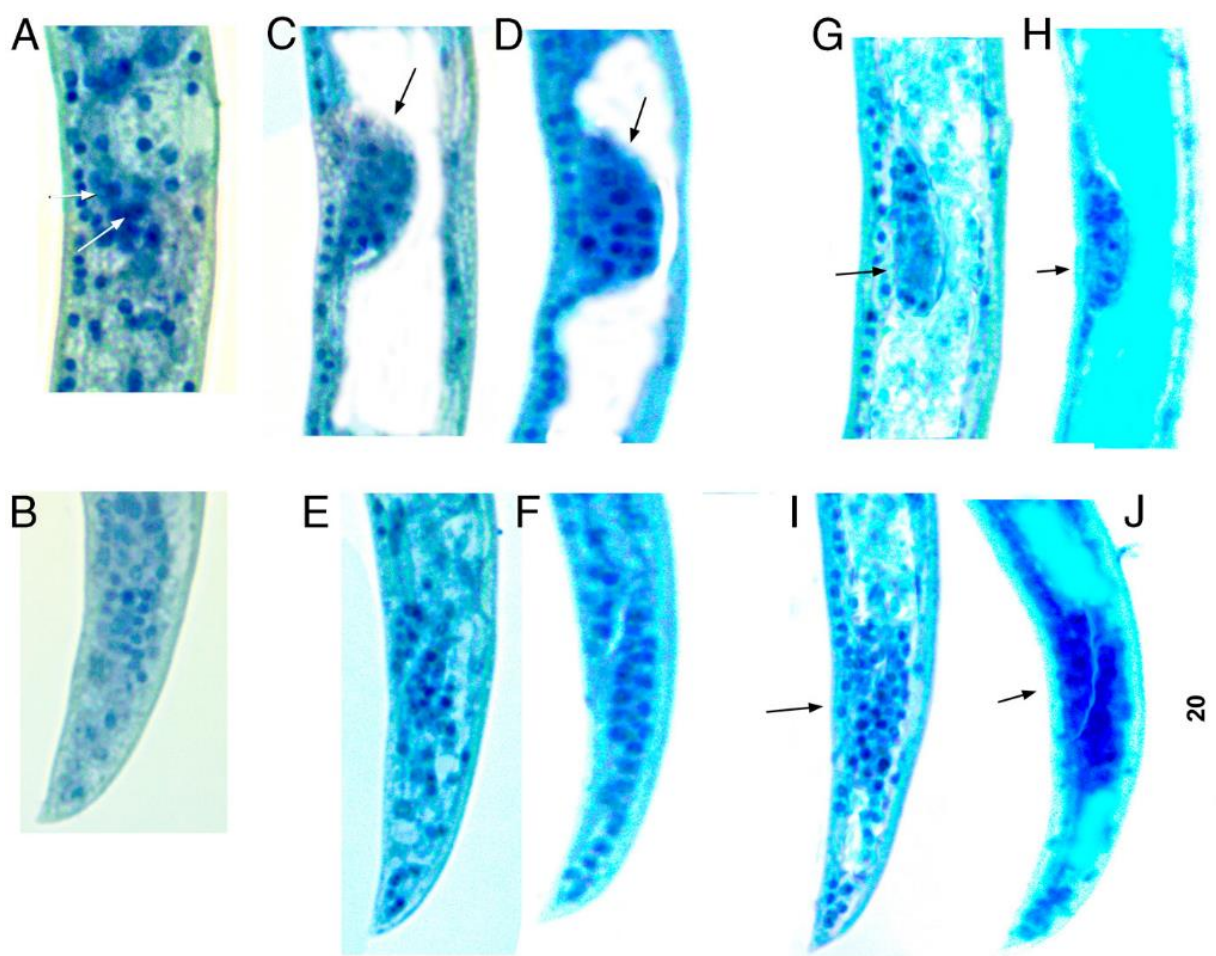


Рисунок 37 *B. crenati*. Окрашивание ядерным красителем метиленовым синим. Младшие личинки. А, В – личинка второй стадии (J2): А – половой зачаток; В – хвост; С, D – половой зачаток личинок J3, самки (стрелки: передняя герминальная зона); Е, F – хвост самки J3; G, H – половой зачаток личинок J3, самцы (стрелки: задняя герминальная зона); I, J – хвосты самцов J3 (стрелки: зачаток клоаки). Шкала 20 мкм (Ryss, **Polyanina** et. al., 2018)

Половой зачаток самки третьей стадии (Рисунок 37 С, D; 38) представлен 2 крупными герминальными клетками в передней части и 12 соматическими ядрами в задней части зачатка, на концах полового зачатка имеется одно соматическое апикальное ядро. Кольцо из шести соматических ядер, прерывающих цепочку вентрального гиподермального тяжа из соматических ядер, является зачатком будущей вульвы.

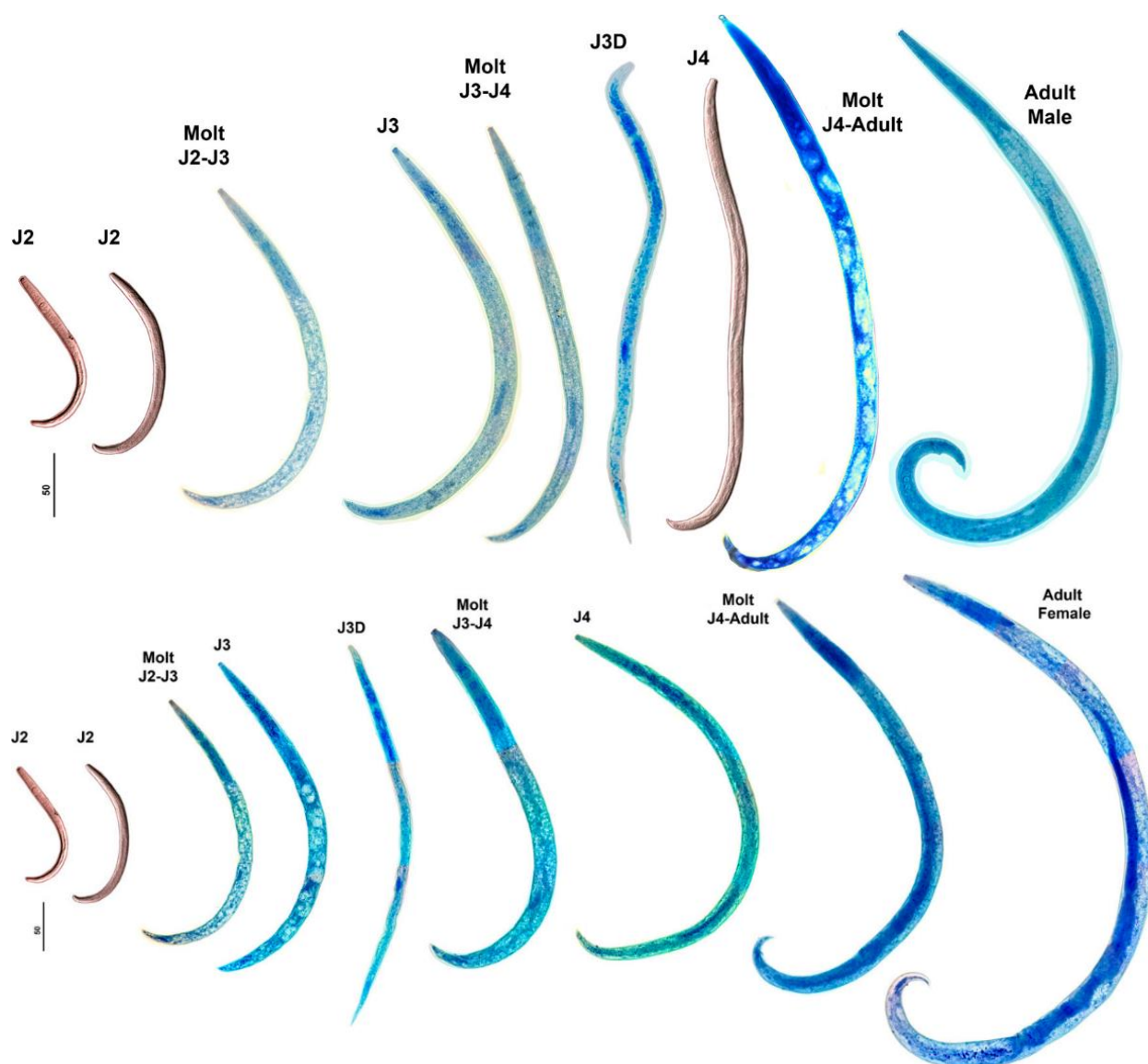


Рисунок 38 Положение половых зачатков в теле личинок и половозрелых самцов (вверху) и самок (внизу). Шкала 50 мкм (Ryss, **Polyanina** et. al., 2018)

Отличия личинок самцов третьей стадии от личинок самок третьей стадии проявляются в наличии зачатка клоаки и расположении герминальных клеток в задней части полового зачатка. У самок J3 герминальные клетки

расположены в передней части полового зачатка. Личинки J3 отличаются от личинок J2 по количеству клеток полового зачатка (более 10 клеток у J3 по сравнению с 4 клетками в зачатке у J2). Начиная с четвертой стадии развития, различия личинок между J3 и J4 характеризуются также длиной полового зачатка, у J3 зачаток занимает 6 % длины тела или менее, у J4 и половозрелых особей 11% или более.

Личинка самца четвертой стадии характеризуется массивным зачатком клоаки (Рисунок 39) с многочисленными соматическими ядрами вокруг ректума и прозрачной полостью вокруг ректума с рудиментарными спиккулами. Половой зачаток отчетливо разделен на переднюю герминальную часть из 30-60 крупных клеток и соматическую часть из двух рядов соматических ядер с 15-16 ядрами в каждом ряду. Соматическая часть не разделена на отделы. Половой зачаток занимает 11-25 % длины тела. Кончик хвоста с узко конической 6 (4-9) мкм гиалиновой зоной, изогнутой вентрально, соответствующей бурсальному щитку взрослого самца.

Половой зачаток личинки самки четвертой стадии (Рисунок 39) разделен на переднюю герминальную часть, состоящую из 20-30 крупных клеток и заднюю соматическую часть, состоящую из более чем 60 соматических ядер. Соматическая часть делится на отделы, среди которых зачаток матки (у всех личинок J4) и сферический зачаток сперматеки (только у старших личиночных особей J4). На вентральной стороне стенки тела в середине соматической части полового зачатка видна линзообразная инвагинация, окруженная массивной структурой, прикрепленная к вентральной стенке тела, это зачаток вульвы. Половой зачаток занимает 16-33 % длины тела.

Отличия личинок самцов четвертой стадии от личинок самок той же стадии проявляются в наличии зачатка клоаки и в отсутствии отделов соматической части полового зачатка, в то время как у самок J4 видны отчетливые отделы в половом зачатке с массивной маткой и отделом сперматеки. У самок J4 присутствует линзовидный прозрачный зачаток вульвы

на уровне зачатка матки. У личинок самцов J4 зачаток вульвы отсутствует. Личинки J4 отличаются от J3 более крупным половым зачатком (11 % длины тела или более против 6 % или менее у J3) и большим количеством клеток зачатка (более 50 клеток у J4 против 20 и менее у J3). От половозрелых нематод J4 отличаются отсутствием копулятивных органов (спикул у самцов и вульвы у самок).

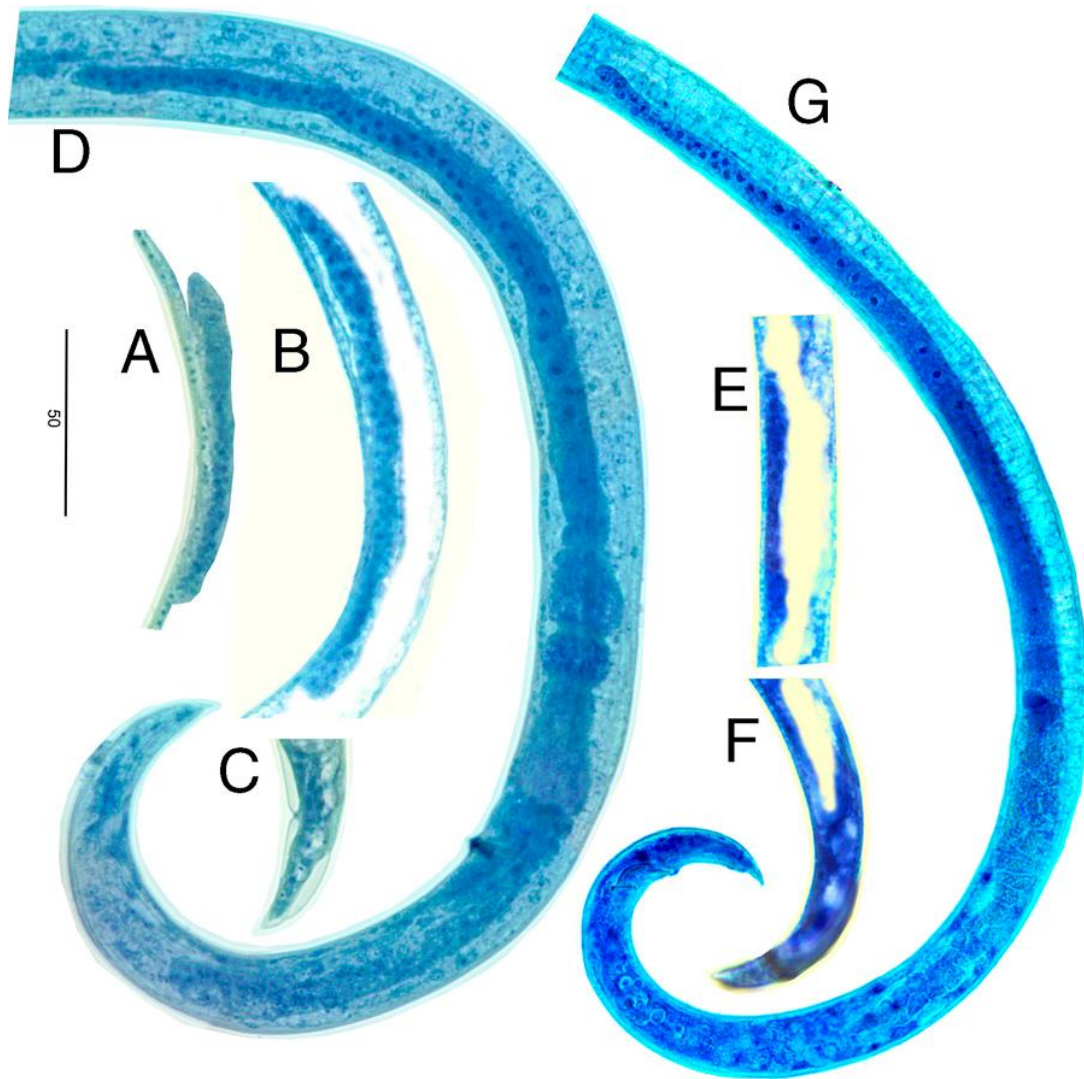


Рисунок 39 *B. crenati*. Окрашивание ядерным красителем метиленовым синим. Половой зачаток и хвосты личинок четвертой стадии и половозрелых особей. А – половой зачаток личинки четвертой стадии, самка (J4); В, С – линяющая личинка самки с J4 на половозрелую особь; В – половой зачаток; С – хвост; D – половая система взрослой самки; Е, F – личинка четвертой стадии, самец; Е – половой зачаток; F – зачаток хвоста и клоаки; G – половая система половозрелого самца. Шкала 50 мкм (Ryss, **Polyanina** et. al., 2018)

Серию линек от одной стадии к другой можно проследить благодаря отслаивающейся кутикуле на концах тела нематод: голове и кончике хвоста (Рисунок 40 В, D, E, H, J). Структура полового зачатка у линяющих особей является промежуточной фазой между структурами зачатков, описанных выше для личинок J2–J4.

Линька с J2–J3 (Рисунок 40 А, В; Таблица 16). В центре полового зачатка между герминальными клетками обнаружены 3-4 митоза соматических ядер.

Линька личинки самца с J3–J4 (Рисунок 40 С-Н; Таблица 16). Половой зачаток изначально прямой, затем трансформируется в форму петли (Рисунок 40 F, G), с передней вершиной и соматической и герминальной частями, обращенными назад. Соматическая часть отделена перетяжкой от герминальной, а ее вершина немного изогнута (Рисунок 40 G). Зачаток клоаки увеличен, с прозрачной внутренней полостью вокруг ректума. Эта фаза линьки свидетельствует об изменении ориентации соматической части, которая у личинок самцов J3 расположена спереди, а у J4 перемещена в заднем направлении, таким образом, вытягивая противоположную герминальную часть в переднем направлении.

Линька личинки самки с J3–J4 (Рисунок 40 I, J). Соматическая зона полового зачатка в его задней части содержит более 20 соматических ядер, герминальная зона в передней части зачатка 5-10 крупных герминальных клеток.

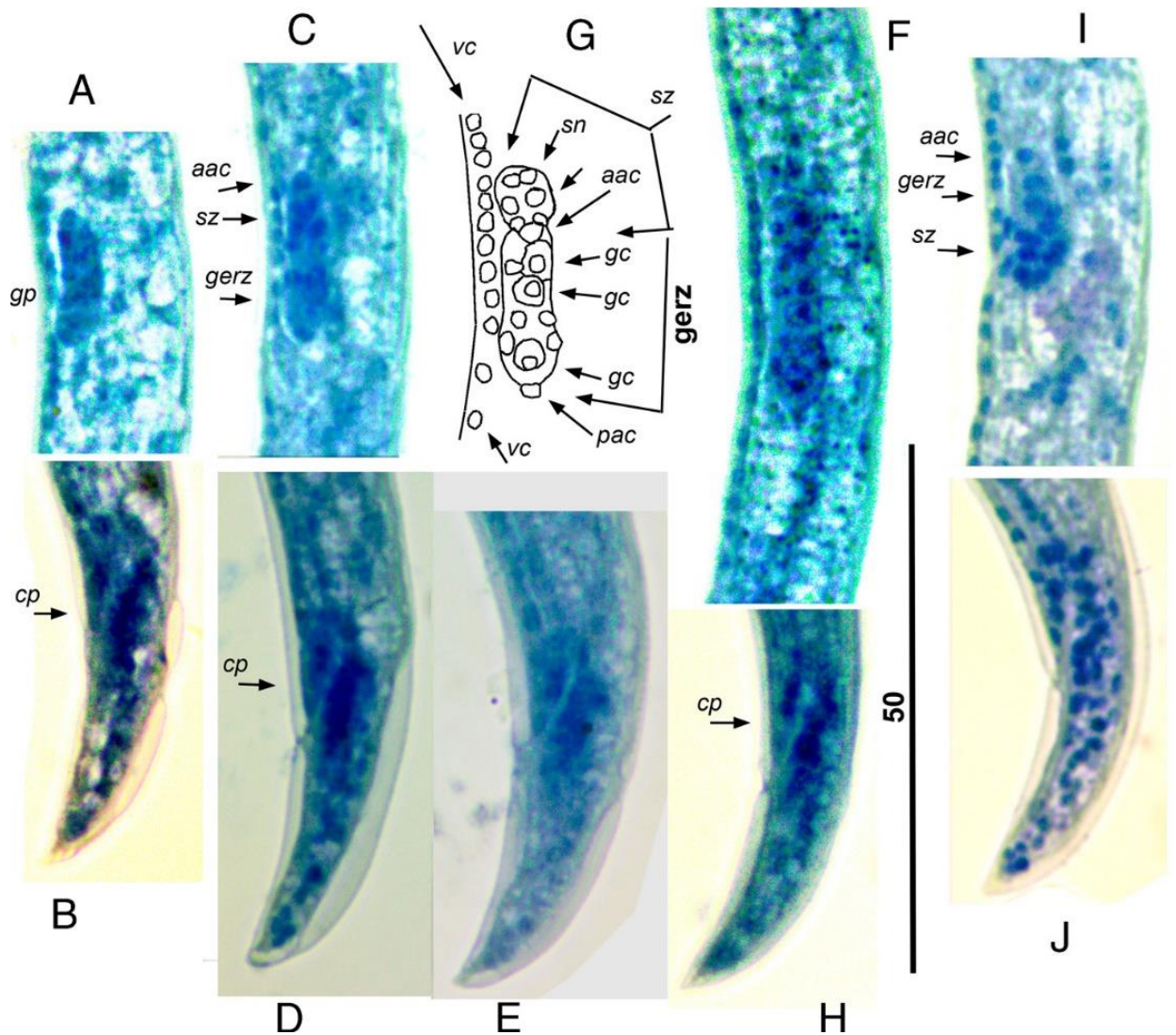


Рисунок 40 *B. crenati*. Линяющие личинки (отслаивающаяся кутикула в хвосте). А, В – линяющая личинка самца J2-J3; А – половой зачаток (gp); В – зачаток хвоста и клоаки (cr); С-Н – линяющая личинка самца J3-J4; С – половой зачаток линяющего самца J3-J4 (aac - передняя апикальная клетка, sz - соматическая зона, gerz - герминальная зона); D, E, H – зачаток хвоста и клоаки (cr) самца J3-J4; F – половой зачаток линяющего самца J3-J4 на стадии «петли»; G – рисунок с фото F с объяснением реверсии соматической зоны (sz) с изгибом передней апикальной клетки (aac) в герминальную зону (gerz); gc - герминальные клетки; pac - задняя апикальная клетка, sn - соматические ядра, vc - ядра вентрального тяжа; I, J – линяющие самки J3-J4; I – половой зачаток с передней герминальной зоной (gerz); J – хвост. Шкала 50 мкм (Ryss, Polyaniina et. al., 2018)

Таблица 16 Морфометрические измерения (в мкм) и индексы стадий развития *B. crenati*. Все значения приведены как среднее $\pm$ стандартное отклонение (минимум-максимум) (Ryss, **Polyanina** et. al., 2018)

Стадия/Признак	J2-J3 самец	J2-J3 самка	J3-J4 самец	J3-J4 самка	J4 - самец	J4 - самка	Даяер J3D
Число экз (n)	16	5	10	20	5	17	20
Длина тела (L)	347 $\pm$ 7 (338–354)	323 $\pm$ 86 (181– 410)	370 $\pm$ 3 (366–374)	377 $\pm$ 10 (364– 398)	596 $\pm$ 91 (532– 660)	544 $\pm$ 69 (433– 614)	413 $\pm$ 20 (392– 463)
Диам. тела	9 $\pm$ 1 (8–10)	10 $\pm$ 2 (8–14)	11 $\pm$ 2 (9–13)	12 $\pm$ 1 (11– 13)	16 $\pm$ 0.3 (14–17)	13 $\pm$ 3 (9– 17)	8 $\pm$ 1 (6–9)
Длина глотки	107 $\pm$ 4 (104–112)	103 $\pm$ 21 (65–116)	110 $\pm$ 5 (105–115)	110 $\pm$ 5 (102– 117)	112 $\pm$ 9 (105– 118)	117 $\pm$ 6 (109– 123)	119 $\pm$ 9 (101– 128)
Длина лопасти желез глотки	49 $\pm$ 5 (44–56)	51 $\pm$ 1 (49– 53)	49 $\pm$ 4 (44–55)	48 $\pm$ 4 (41– 54)	46 $\pm$ 1 (45– 47)	48 $\pm$ 6 (40–55)	43 $\pm$ 7 (35–55)
Стилет	7 $\pm$ 1.2 (6–9)	8 $\pm$ 1 (6–9)	7 $\pm$ 1 (6–8)	9 $\pm$ 0.7 (8–10)	9 $\pm$ 0.4 (9–10)	9 $\pm$ 1.4 (8–11)	9.4 $\pm$ 0.4 (9–10)
Диам. губной области	5.0 $\pm$ 0.3 (4–5)	5 $\pm$ 0.6 (4–6)	5.6 $\pm$ 0.5 (4.8–6.0)	5 $\pm$ 0.6 (4–6)	5 $\pm$ 0.4 (5–6)	5.4 $\pm$ 0.4 (5–6)	4.8 $\pm$ 1.0 (4–7)
Высота губной области	3 $\pm$ 0.3 (2–3)	2.4 $\pm$ 0.2 (2–3)	2.4 $\pm$ 0.1 (2.3–2.5)	3 $\pm$ 0.3 (2–3)	3 $\pm$ 1 (2–3)	2.9 $\pm$ 0.4 (2–3)	2.9 $\pm$ 0.3 (2.5–4)
Расстояние от переднего конца тела до заднего края медиального бульбуса	46 $\pm$ 1 (45–47)	45 $\pm$ 8 (31–50)	47 $\pm$ 0.1 (46–48)	47 $\pm$ 3 (40–50)	46 $\pm$ 12 (38–54)	53 $\pm$ 3 (51–58)	49 $\pm$ 2 (45–51)
Длина медиального бульбуса	11 $\pm$ 1.2 (10–13)	11 $\pm$ 0.9 (10–12)	12 $\pm$ 1 (11–13)	12 $\pm$ 1 (10–13)	13 $\pm$ 1 (12–14)	13 $\pm$ 0.2 (12.5– 13.5)	11 $\pm$ 2 (9–15)
Диам. медиального бульбуса	9 $\pm$ 1.1 (8–10)	8 $\pm$ 1.5 (6–10)	10 $\pm$ 1 (9–11)	10 $\pm$ 1 (7–10)	9.9 $\pm$ 0.2 (9.5– 10.0)	10 $\pm$ 1 (9–11)	8 $\pm$ 2 (6–10)
Экскреторная пора	51 $\pm$ 1 (50–52)	50 $\pm$ 8 (37–56)	53 $\pm$ 2 (51–54)	54 $\pm$ 4 (45–59)	52 $\pm$ 12 (44–61)	58 $\pm$ 3 (54–62)	40 $\pm$ 3 (37–44)
Длина хвоста	22 $\pm$ 4 (20–28)	21 $\pm$ 6 (11–27)	22 $\pm$ 1 (21–24)	26 $\pm$ 1.5 (24–28)	28 $\pm$ 5 (25–32)	28 $\pm$ 3 (23–31)	37 $\pm$ 3 (30–41)
Диам. тела на уровне ануса	8 $\pm$ 0.4 (7–8)	8 $\pm$ 3 (5–12)	11 $\pm$ 2 (8–13)	11 $\pm$ 1.1 (10–13)	11 $\pm$ 3 (9–13)	10.1 $\pm$ 0.9 (9– 11)	8 $\pm$ 1 (5–9)
Длина полового зачатка (GPL))	18 $\pm$ 4 (14–23)	10 $\pm$ 3 (6–14)	20 $\pm$ 2 (17–22)	18 $\pm$ 5 (13–28)	158 $\pm$ 138 (60– 255)	197 $\pm$ 105 (122– 369)	14.8 $\pm$ 2.1 (11– 18)
Диам. полового зачатка (GPW)	5 $\pm$ 1 (4–5)	5 $\pm$ 1 (3–7)	4.8 $\pm$ 0.5 (4.0–5.3)	5 $\pm$ 1 (3–6)	10 $\pm$ 5 (6–13)	9 $\pm$ 3 (7–14)	3.9 $\pm$ 0.4 (3–5)
Длина спикулы по дуге	–	–	–	–	–	–	–
Длина тела / диам. тела (a)	40 $\pm$ 5 (34–46)	34 $\pm$ 8 (22–41)	34.8 $\pm$ 5.2 (28.4– 41.8)	32 $\pm$ 2 (29–35)	39 $\pm$ 12 (31–48)	41.5 $\pm$ 4.6	54 $\pm$ 8.3 (44.6– 69.6)

						(36.8–48.9)	
Длина тела / длина глотки до среднего кишечника (b)	6.0 ± 0.3 (5.7–6.4)	5.6 ± 0.6 (4.8–6.4)	6.1 ± 0.2 (5.9–6.3)	6.1 ± 0.2 (5.8–6.5)	9.1 ± 0.3 (8.9–9.2)	7.8 ± 0.6 (6.7–8.3)	5.5 ± 0.4 (5.1–6.4)
Длина тела / длина глотки до конца лопасти желез (b')	3.2 ± 0.1 (3.1–3.3)	3.1 ± 0.3 (2.8–3.6)	3.4 ± 0.2 (3.2–3.6)	3.4 ± 0.2 (3.1–3.7)	5.3 ± 0.4 (5.1–5.6)	4.6 ± 0.5 (4.0–5.2)	3.5 ± 0.3 (3.0–4.1)
Длина тела / длина хвоста (с)	16.0 ± 2.5 (12.4–17.9)	15.6 ± 0.6 (14.7– 16.2)	16.6 ± 0.9 (15.1– 17.3)	14.8 ± 0.8 (13.8– 1.58)	21.1 ± 0.9 (20.5– 21.7)	19.7 ± 1.7 (18.0– 22.3)	11.2 ± 0.9 (9.9– 13.2)
Длина хвоста / диаметр хвоста на уровне ануса или клоаки (с')	2.8 ± 0.4 (2.4–3.4)	2.8 ± 0.5 (2.2–3.4)	2.1 ± 0.3 (1.7–2.5)	2.3 ± 0.2 (2.0–2.8)	2.6 ± 0.1 (2.6–2.7)	2.8 ± 0.3 (2.3–3.2)	4.7 ± 0.5 (4.3–5.5)
Расстояние от переднего конца до вульвы . длина тела, % (V)	61 ± 2 (59–64)	64 ± 3 (59–68)	62 ± 1 (60–64)	66 ± 2 (63–68)	52 ± 3 (49–54)	73.2 ± 1.6 (70.5– 74.3)	62 ± 5 (56–72)
Отношение длины полового зачатка к его диам (GPL/GPW)	4.0 ± 1.1 (3.0–5.4)	2.3 ± 0.6 (1.5–2.9)	4.2 ± 0.2 (3.9–4.5)	3.9 ± 1 (2.7–6.1)	15 ± 6 (10–19)	20 ± 4 (16–27)	3.8 ± 0.5 (3–4.5)
Отношение длины полового зачатка к длине тела (GPL/L), %	5.2 ± 1.2 (4.2–6.6)	3.3 ± 1.0 (1.8–4.3)	5.5 ± 0.6 (4.5–5.9)	5 ± 1 (4–7)	25 ± 19 (11–39)	35.3 ± 15.2 (24.3– 60.0)	4 ± 1 (3–5)
Длина губной области к ее диам.	1.8 ± 0.3 (1.6–2.3)	2.0 ± 0.3 (1.6–2.4)	2.3 ± 0.2 (2.0–2.6)	1.9 ± 0.2 (1.6–2.4)	2.1 ± 0.6 (1.7–2.5)	1.9 ± 0.1 (1.8–2.0)	1.6 ± 0.3 (1.4–2.4)
Отношение длины медиального бульбуса к его диам.	1.4 ± 0.2 (1.1–1.6)	1.4 ± 0.2 (1.3–1.7)	1.2 ± 0.1 (1.2–1.3)	1.2 ± 0.1 (1.0–1.4)	1.3 ± 0.2 (1.2–1.4)	1.3 ± 0.1 (1.2–1.4)	1.4 ± 0.2 (1.1–1.7)

Линька от J4 до самца. Соматическая часть полового зачатка достигает массивного зачатка клоаки, в которой отчетливо видны очертания прозрачных спикул. Бурса не сформирована, хвост узкоконический, с гиалиновой зоной в 9 мкм.

Линька от J4 до самки. Зачаток вульвы представляет собой массивную клеточную агломерацию с внутренней поперечной щелью, но без отверстия снаружи. Все отделы половой системы четко выражены: яичник, состоящий из

30-40 герминальных клеток, яйцевод, пустые сперматеки, скорлуповая камера, и матка с внутренней пустой полостью.

Индивидуальное развитие и рост личинок проиллюстрированы на Рисунке 41, представлены диаграммы с двумя основными параметрами: длина тела и соотношение между длиной полового зачатка и длиной тела. Максимальное удлинение тела происходит между третьей и четвертой стадиями (Рисунок 41 А). В этот же период происходит максимальное удлинение и дифференциация полового зачатка у обоих полов (Рисунок 41 В). Тело личинок увеличивается между линьками и внутри стадий развития, что проявляется в широких диапазонах размеров личинок каждой стадии.

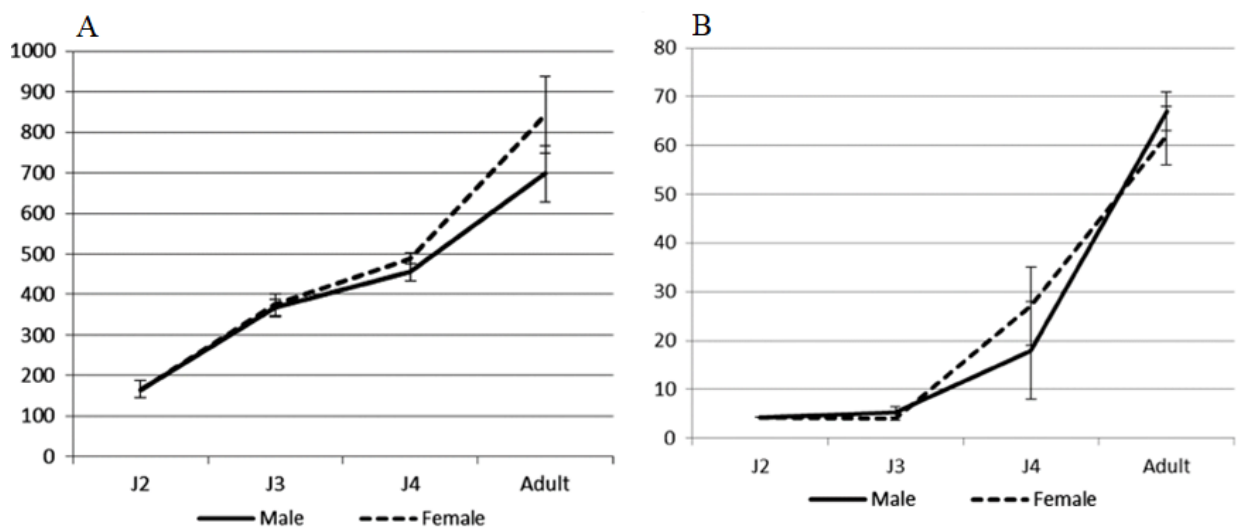


Рисунок 41 Диаграммы роста личинок. А — длина тела; В — отношение длины полового зачатка к длине тела (GP/L, %). Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение для средних значений (Ryss, **Polyanina** et. al., 2018)

Филогенетический анализ *B. crenati*

Вид *B. crenati* был проанализирован по тем же молекулярным маркерам, что и *B. ulmorphilus*. Исследованные последовательности ДНК белорусской и российской популяций *B. crenati* были идентичны друг другу, вид отнесен к группе *Sexdentati* по морфологическим и молекулярным признакам (Рисунок 42, 43).

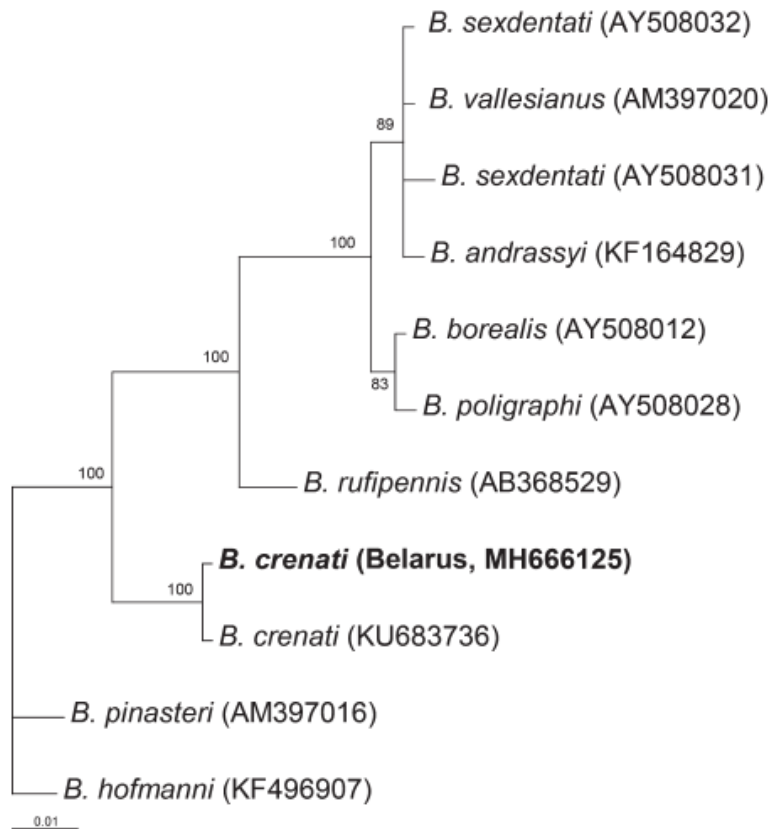


Рисунок 42 Байесово дерево, полученное при выравнивании 18S рРНК видов нематод р. *Bursaphelenchus* из группы *Sexdentati*. Значения апостериорной вероятности (более 70 %) даны в процентах для каждой клады. Новая последовательность выделена жирным шрифтом (Ryss, **Polyanina** et al., 2019)

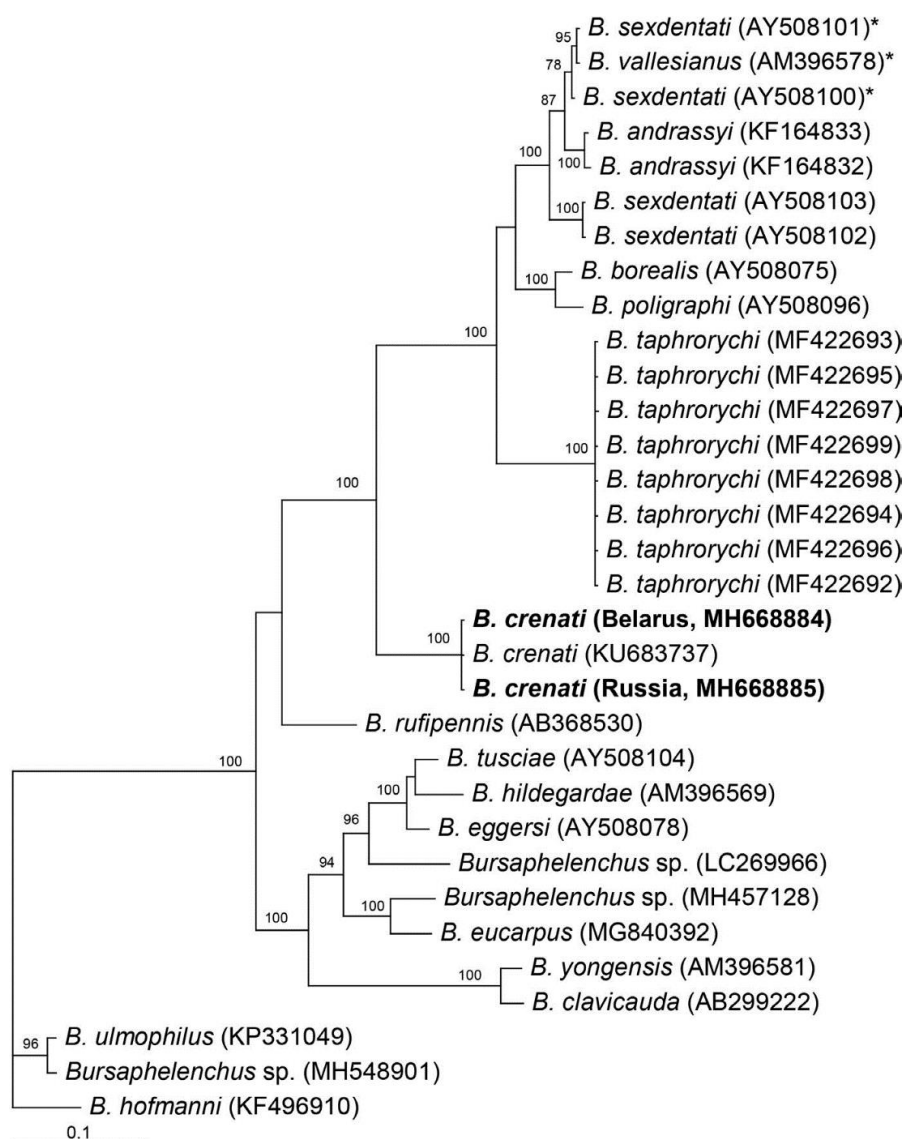


Рисунок 43 Байесово дерево, полученное при выравнивании фрагментов D2-D3 28S рРНК нематод *Bursaphelenchus* из группы *Sexdentati*. Значения апостериорной вероятности (более 70 %) даны в процентах для каждой клады. Новые последовательности выделены жирным шрифтом. *— видовая принадлежность последовательностей с таким значком требует подтверждения (Ryss, **Polyanina** et al., 2019)

Заключение

По симптомам суховершинности ясеня, наблюдаемым у зараженных деревьев при сборе образцов, локализации нематоды в флоэме и ходах короедов, и специфичности к природному растению-хозяину (раздел 3.5), можно сделать вывод, что *B. crenati* - умеренно патогенный облигатный паразит ясеня. Эксперименты, о которых говорится в разделе 3.5 при участии

B. crenati, выявили независимую от переносчика специфичность данного вида нематоды к своему растению-хозяину. По результатам нашего исследования впервые доказано, что нематоды *B. crenati* являются паразитами и оппортунистическими патогенами ясеня *F. excelsior*. Эти нематоды могут быть синергистами двух сопутствующих важных патогенов: гриба *Chalara fraxinea* и жука-златки *Agrilus planipennis*, связанных с симптомами суховершинности ясеня в России и Беларуси.

Также выявлено, что постэмбриональное развитие *B. crenati* включает в себя 4 стадии, разделенные линьками. Личинка J2 выходит из яйца после первой линьки внутри яйцевой оболочки. Личиночные стадии различаются между собой строением и размерами полового зачатка. Идентификация пола личинок возможна, начиная со стадии J3. У личинок J4 различимы функциональные отделы половых зачатков.

Обнаруженные дауер-личинки *B. crenati* идентичны по строению полового зачатка личинкам J3 пропативного поколения, из-за редуцированной глотки и стомы дауер-личинки не могут питаться.

Публикации по разделу 3.2

Статьи: Ryss, Polyanina 2018; Ryss, Polyanina et al., 2018a.

Тезисы: совещания Полянина и др. 2018.

3.3 Фауна и жизненные циклы ксилобионтных нематод дуба *Quercus robur* с симптомами вилта

В ходе обследований насаждений дуба с признаками вилта на наличие ксилобионтной фауны нами были обнаружены 20 видов нематод, четыре из которых относятся к роду *Bursaphelenchus*: *B. fraudulentus*, *B. willibaldi*, *B. laciniatae*, *B. eremus*.

Обнаруженная фауна ксилобионтных нематод представлена в виде Таблицы 17, а также вынесенных в Приложения диагностических ключей и таблиц находок видов, и Атласа иллюстраций нематод (Приложение-1: Таблица: 1, 4; Приложение-2: Рисунок 13-22).

По типу питания (фито-микопаразиты) и способности к энтомохории (трансмиссии насекомым-переносчиком), а также таксономической принадлежности к известным паразитическим родам, для дальнейшего углубленного исследования жизненных циклов выбраны три вида из родов *Bursaphelenchus* и *Aphelenchoides*.

Таблица 17 Обнаруженная фауна ксилобионтных нематод больных дубов

Семейство	Вид	Переносчик	Эко-группа*	Гильдия*
ОТРЯД MONHYSTERIDA: ПОДОТРЯД MONHYSTERINA				
Monhysteridae	<i>Geomonhystera villosa</i> (Bütschli, 1873) Andrassy, 1981	-	Fl-Ba	Ba2
ОТРЯД MONONCHIDA: ПОДОТРЯД MONONCHINA				
Anatonchidae	<i>Anatonchus</i> sp.	-	Fl-Ca	Ca4
ОТРЯД PLECTIDA: ПОДОТРЯД PLECTIDA				
Plectidae	<i>Plectus makrodemas</i> Massey, 1964	-	Fl-Ba	Ba2
ОТРЯД RHABDITIDA: ПОДОТРЯД RHABDITINA				
Rhabditidae	<i>Mesorhabditis irregularis</i> (Korner in Osche, 1952) Dougherty, 1955	<i>Scolytus intricatus</i>	En-Int	Ba1, EPN
Diplogastridae	<i>Acrostichus</i> sp	<i>S. intricatus</i>	Ec-Co	Ba1
ОТРЯД RHABDITIDA: ПОДОТРЯД TYLENCHINA				
Panagrolaimidae	<i>Panagrellus ventrodentatus</i> (Weingartner, 1954) Goodey, 1963	<i>S. intricatus</i>	Ec-Co	Ba1
	<i>Panagrolaimus rigidus</i> (Schneider, 1866) Thorne, 1937	Cerambycidae	Ec-Co	Ba1
Tylenchidae	<i>Filenchus uliginosus</i> (Brzeski, 1977) Raski & Geraert, 1987	-	Fl-Fup	Fu2
Sphaerulariidae	<i>Hexatylus pseudoobtusatus</i> (Rühm, 1956) Chizhov, Butorina, Tabolin, Limantseva & Subbotin, 2019	<i>S. intricatus</i>	Fup-EPN	Fup

Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides composticola</i> Franklin, 1957	-	Ec-Fup	Fup
	<i>Aphelenchoides cf. eldaricus</i> Esmaeili, 2017	<i>Scolytus</i> sp.	Ec-Fup	Fup2
	<i>Laimaphelenchus hyrcanus</i> Miraeiz, 2015	-	Fl-Fu	Fu2
	<i>Laimaphelenchus heidelbergi</i> Zhao, 2007	-	Fl-Fu	Fu2
	<i>Laimaphelenchus penardi</i> (Steiner, 1914) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941	-	Fl-Fu	Fu2
	<i>Laimaphelenchus pannocaudus</i> Massey, 1966	-	Fl-Fu	Fu2
	<i>Ektaphelenchus</i> sp.	<i>Scolytus</i> sp.	Ec-Ca	Ca2
	<i>Bursaphelenchus eremus</i> Rühm, 1956	<i>S. intricatus</i> , <i>Plagiontus</i> sp.	Ec-Fup	Fup2
	<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i> Rühm, 1956 (Goodey, 1960)	<i>Trypophloeus granulatus</i> , <i>Cerambyx scopoli</i>	Ec-Fup	Fup2
	<i>Bursaphelenchus laciniatae</i> Kanzaki, 2019	<i>Scolytus</i> sp.	Ec-Fup	Fup2
	<i>Bursaphelenchus willibaldi</i> Schoenfeld, Braasch & Burgermeister, 2006	<i>S. intricatus</i>	Ec-Fup	Fup2

* См. «Условные обозначения»

Нами были исследованы все стадии онтогенеза на примере вида *B. fraudulentus*, а для *B. willibaldi* и *Aphelenchoides cf. eldaricus* также были изучены стадии онтогенеза, основные параметры жизненного цикла (сроки линек, плодовитость, период фертильности и продолжительность жизни самки) и популяционная динамика *in vitro* и построены математические модели размножения этих нематод в 1 м³ дерева-хозяина (раздел 3.4).

У видов рода *Bursaphelenchus* трансмиссия при помощи жука осуществляется специализированной дауер-личинкой третьей (J3D) или четвертой (J4D) стадии развития в различных группах-кладах видов (Ryss, Subbotin, 2017). Однако на сегодняшний день дауер-личинки *B. fraudulentus* и *B. willibaldi* не выявлены (Schönfeld et al., 2006; Calin et al. 2013).

Эмбриональное и постэмбриональное развитие *B. fraudulentus* и *B. willibaldi* схоже с ранее изученными видами *B. ulmophilus* и *B. crenati*. Обнаружено, что первая линька происходит внутри яйцевой оболочки, таким образом, из яйца наружу выходит личинка второй стадии (J2). Стадии сменяются линьками, классифицировать личинок можно как J2, J3, J4, а также половозрелые самцы и самки. Линьки выделяются отслаивающейся кутикулой на концах тела нематод, на хвосте и голове. Стадию и пол личинок возможно определить по размеру и расположению полового зачатка в теле нематоды. Пол

личинок возможно определить, начиная с J3 стадии. Установить, к какой стадии относится личинка, можно также по размеру тела и соотношению между длиной тела и длиной глотки (Рисунок 44, 45, Таблица 18).

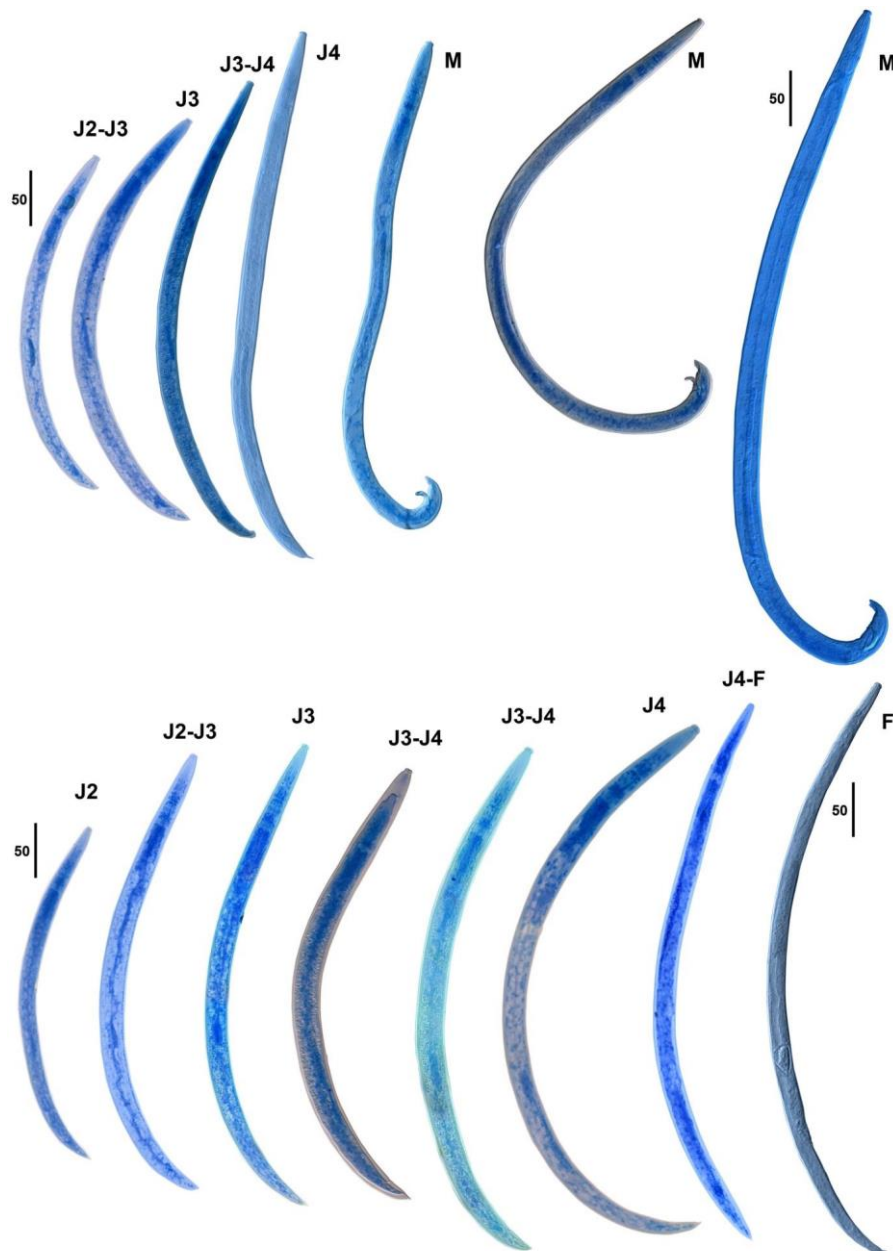


Рисунок 44 *Bursaphelenchus fraudulentus*. Стадии онтогенеза пропативного поколения: вверху изображены стадии онтогенеза самца, внизу – стадии онтогенеза самки. J2, J3, J4 - 2, 3 и 4 стадии личинки, J2-J3, J3-J4 и т.д. – линьки; М – самец; F – самка. Шкала: 50 мкм

Из проведенных нами недавних исследований (Ryss, Polyanina, 2022a) можно предположить, что стадия J4, вероятно, является дополнительной стадией дисперсии *B. willibaldi*, но это стадия имеется лишь в онтогенезе

пропагативного поколения в рамках поликсенного жизненного цикла. Как стадия выживания, личинка J4 в жизненных циклах фитогельминтов уже известна для других нематод-тиленхов таких как *Ditylenchus dipsaci* (Perry 1977, 1999; Perry, Moens, 2013). Неспецифическая дисперсия стадий выживания пропагативного поколения, наверняка, может происходить у *B. willibaldi* как адаптация, унаследованная от тех Aphelenchoididae, у которых в цикле нет энтомохорной трансмиссии, например, у многих видов рода *Aphelenchoides* (Hunt, 1993).

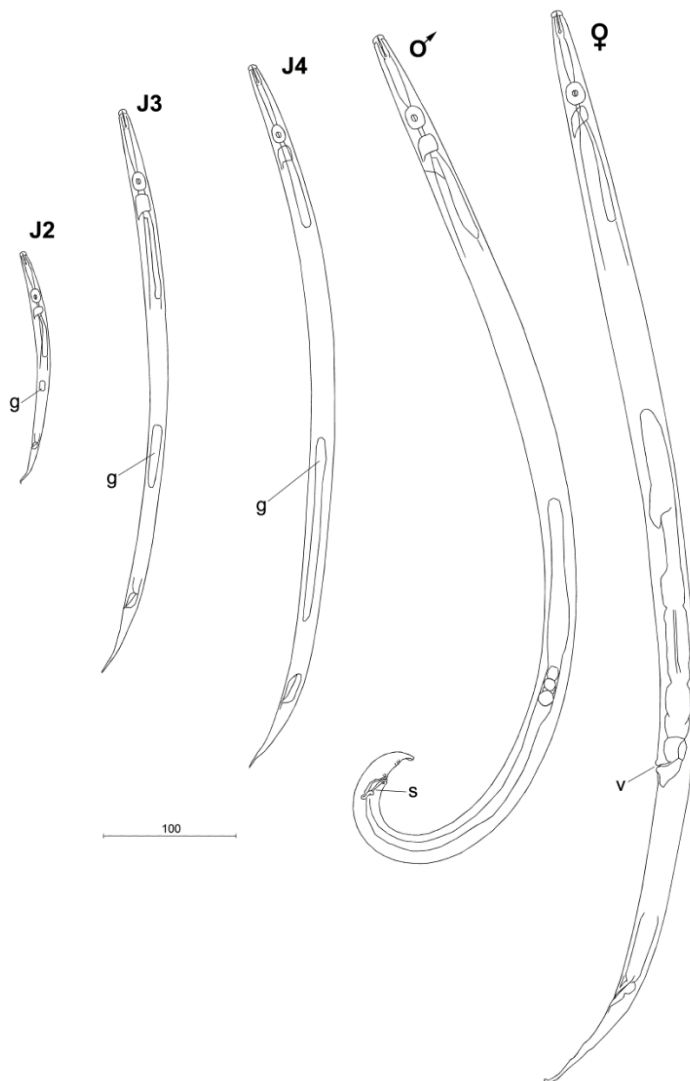


Рисунок 45 Личинка второй стадии (J2), третьей (J3) и четвертой (J4) *Bursaphelenchus willibaldi*, самец (♂) и самка (♀); g – половой зачаток, s – спиккулы самца, v – вульва самки. Шкала – 100 мкм (Ryss, Polyamina, 2022)

Таблица 18 Стадии развития *B. willibaldi*. Измерения (в мкм) и индексы даны в формате вид: среднее $\pm$ стандартное отклонение (диапазон) (Ryss, Polyanina, 2022)

Признак	J2	J3	J4	Самец	Самка
Число экз. (n)	10	10	10	20	20
Длина тела (L)	202.5 $\pm$ 20.7 (179-233)	399.2 $\pm$ 48.7 (318-443)	659.5 $\pm$ 117.8 (552-767)	720.5 $\pm$ 91.2 (616-826)	746.6 $\pm$ 54.6 (697-844)
Диам. тела	10.2 $\pm$ 0.6 (9.5-11.0)	13.0 $\pm$ 1.0 2 (12.0-15.0)	0.7 $\pm$ 4.2 (17.0-24.5)	22.0 $\pm$ 3.4 (18.4-27.7)	23.9 $\pm$ 2.1 (22.5-28.0)
Длина полового зачатка (GPL)	7.1 $\pm$ 0.4 (6.5-7.5)	37.0 $\pm$ 9.1 (23.0-51.0)	157.4 $\pm$ 89.4 (76.0-239.0)	392.0 $\pm$ 72.7 (306-483)	274.4 $\pm$ 36.7 (227-299.5)
Диам. полового зачатка (GPW)	4.2 $\pm$ 0.6 (3.5-4.5)	6.8 $\pm$ 0.7 (6.0-7.5)	9.6 $\pm$ 1.6 (8.0-11.0)	14.1 $\pm$ 1.7 (11.4-16.3)	15.1 $\pm$ 1.0 (13.9-16)
Длина тела / диам. тела (a)	19.8 $\pm$ 1.5 (17.5-21.5)	30.7 $\pm$ 3.6 (26.9-35.3)	32.1 $\pm$ 0.8 (31.3-32.9)	32.9 $\pm$ 1.7 (29.8-35.0)	31.2 $\pm$ 0.8 (30.3-31.8)
Отношение длины полового зачатка к его диам. (GPL/GPW)	1.1 $\pm$ 0.2 (1.6-2.0)	5.4 $\pm$ 1.0 (3.8-6.6)	15.4 $\pm$ 6.7 (9.4-21.5)	27.6 $\pm$ 2.8 (22.8-31.4)	18.1 $\pm$ 1.4 (16.3-19.4)
Отношение длины полового зачатка к длине тела (GPL/L, %)	3.5 $\pm$ 0.3 (3.2-3.9)	9.2 $\pm$ 1.8 (7.3-11.8)	22.4 $\pm$ 9.5 (13.7-31.2)	54.1 $\pm$ 3.4 (49.6-59.0)	36.8 $\pm$ 4.3 (31.5-41.6)

Виды рода *Aphelenchoides* являются фито-микотрофами, связанными с насекомыми-переносчиками и участвующими в разрушении мертвой древесины. Предположительно, они ограничивают размножение патогенных грибов в своих естественных местах обитания. Однако на сегодняшний день дауер-личинки для *Aphelenchoides* sp. не выявлены. Различные виды семейства Aphelenchoididae имеют разные стадии выживания. Наши исследования показывают, что стадией выживания у *Aphelenchoides* cf. *eldaricus* из древесины дуба служит осемененная взрослая самка (Ryss, Polyanina, 2022b).

Постэмбриональное развитие схоже с ранее изученными видами рода *Bursaphelenchus* (Рисунок 46, Таблица 19).

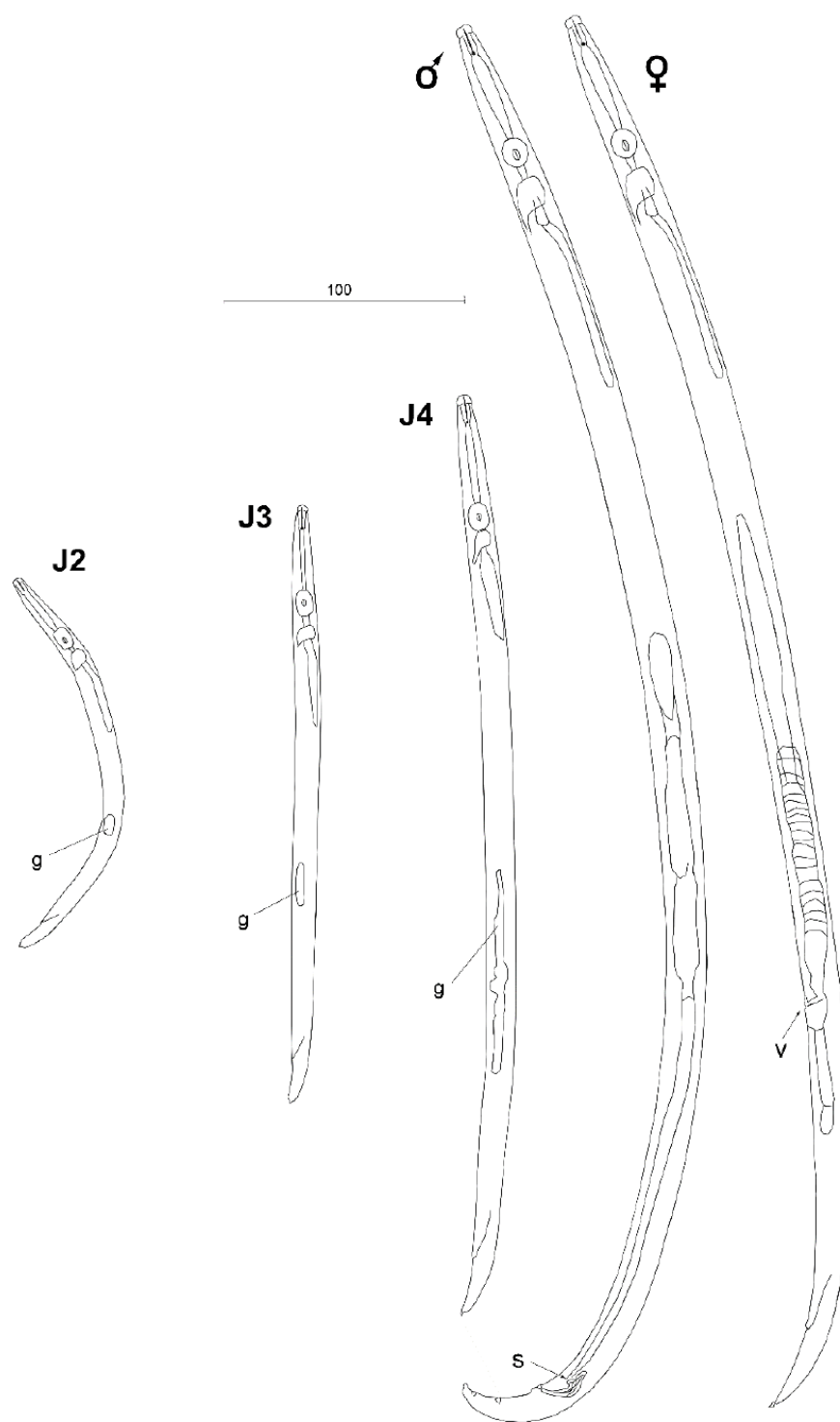


Рисунок 46 Личинка второй стадии (J2), третьей (J3) и четвертой (J4) *Aphelenchoides* cf. *eldaricus* самец (♂) и самка (♀); g – половой зачаток, s – спикулы самца, v – вульва самки. Шкала – 100 мкм (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Таблица 19 Стадии развития *Aphelenchoides* cf. *eldaricus*. Измерения (в мкм) и индексы даны в формате: среднее $\pm$ стандартное отклонение (диапазон) (Ryss, Polyaniina, 2022)

Признак	J2	J3	J4	Самец	Самка
Число экз. (n)	10	10	10	20	20
Длина тела (L)	161 $\pm$ 24 (129-188)	267 $\pm$ 15 (247-285)	391 $\pm$ 11 (373-402)	564 $\pm$ 62 (457-649)	623 $\pm$ 69 (438-729)
Диам. тела	8.8 $\pm$ 0.7 (8-10)	10.5 $\pm$ 0.8 (9-11)	12.7 $\pm$ 1.1 (11-14)	15.0 $\pm$ 1.2 (13-17)	17.1 $\pm$ 1.7 (12.5-19.5)
Длина полового зачатка (GPL)	8.6 $\pm$ 1.1 (7-10)	20.9 $\pm$ 2.1 (18-23)	83.4 $\pm$ 1.7 (80-85)	250.7 $\pm$ 40.4 (202-323)	319 $\pm$ 41 (248-393)
Диам. полового зачатка (GPW)	4.7 $\pm$ 0.9 (3.5-6.0)	4.9 $\pm$ 1.0 (4.0-6.0)	5.5 $\pm$ 0.2 (5.0-6.0)	9.7 $\pm$ 0.3 (9.0-10.5)	10.0 $\pm$ 2.0 (6.0-13.0)
Длина тела / диам. тела (a)	18.4 $\pm$ 2.4 (14.8-21.7)	25.7 $\pm$ 2.1 (22.1-27.9)	31.0 $\pm$ 1.8 (28.8-33.1)	37.4 $\pm$ 1.9 (34.1-39.9)	36.5 $\pm$ 1.9 (33.3-40.6)
Отношение длины полового зачатка к его диам. (GPL/GPW)	1.9 $\pm$ 0.4 (1.3-2.5)	4.4 $\pm$ 1.0 (3.1-5.5)	15.1 $\pm$ 0.7 (14.1-16.2)	25.7 $\pm$ 3.2 (22.0-31.4)	34.0 $\pm$ 7.2 (24.4-54.7)
Отношение длины полового зачатка к длине тела (GPL/L, %)	5.4 $\pm$ 0.9 (4.7-7.0)	7.8 $\pm$ 1.0 (6.1-8.9)	21.4 $\pm$ 0.9 (19.9-22.8)	44.3 $\pm$ 3.5 (38.7-49.8)	53.0 $\pm$ 4.0 (43.0-59.0)

Филогенетический анализ

По результатам последовательностей генов рибосомальной РНК D2-D3 28S исследуемых видов можно заключить, что виды рода *Bursaphelenchus* относятся к разным филогенетическим группам: *B. fraudulentus* (группа *Xylophilus*), *B. eremus* (группа *Eggersi*), *B. willibaldi* (группа *Fungivorus*), а вид рода *Aphelenchoides* был идентифицирован как *Aphelenchoides* cf. *eldaricus*, все эти виды обнаружены в России и Беларуси впервые (Рисунки 29, 47).

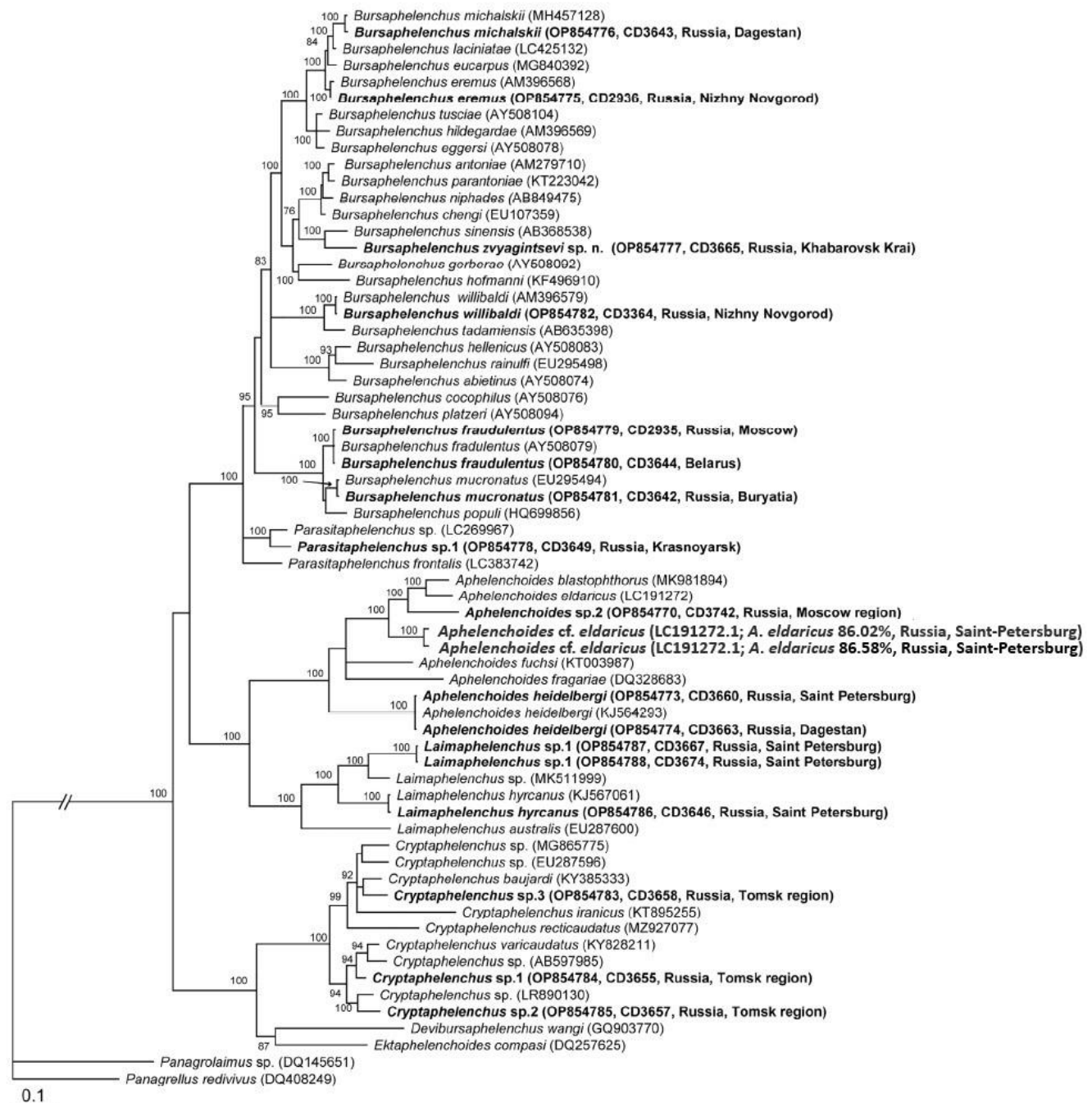


Рисунок 47 Филогенетическое положение *B. fraudulentus*, *B. willibaldi* и *Aphelenchoidea* cf. *eldaricus* среди некоторых представителей надсемейства Aphelenchoidea (Tylenchina) по результатам Байесова анализа D2-D3 последовательностей гена 28S рРНК. Значения последовательностей с вероятностью более 70% указаны для соответствующих клад. Новые последовательности выделены жирным шрифтом. (Ryss, Subbotin, 2023)

Заключение

Фауна нематод большого дуба наиболее богата видами и экологическими группами нематод. Она включает энтомохорные оппортунистические патогенные виды родов *Bursaphelenchus* и *Aphelenchoidea*, обладающих

разными стадиями трансмиссии и выживания, от личинок J3 и J4 до оплодотворенных самок. Филогенетические исследования показали принадлежность видов р. *Bursaphelenchus* к группам *Xylophilus* (*B. fraudulentus*), *Eggersi* (*B. eremus*) и *Fungivorus* (*B. willibaldi*), все эти виды обнаружены в России и Беларуси впервые, в ходе переописания выявлены новые признаки, впервые получены последовательности их генов (D2-D3 гена 28S рРНК).

Публикации по разделу 3.3

Статьи: Ryss, Polyanina, 2022a, 2022c.

Тезисы: совещаний Ryss, Polyanina 2017, 2018; Polyanina, Ryss, 2019.

3.4 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 (Таблица 29). Задачи, поставленные в ходе исследования: определение длительности одной генерации (1G, т.е. развитие от яйца до формирования 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 избытка пищи и построение математической модели роста популяции (начальная экспоненциальная стадия популяционного роста); определение резистентной стадии выживания, преобладающей при завершении цикла популяционной динамики.

Нами были исследованы 4 модельных вида стволовых нематод отряда Rhabditida, связанных с жуками-переносчиками: 2 вида относящихся к бактериотрофам, – *Panagrolaimus detritophagus* сем. Panagrolaimidae, *Rhabditolaimus ulmi* сем. Diplogastridae; и 2 вида фито-микотрофов сем. Aphelenchoididae, совмещающих фитопаразитизм и микотрофику на разных стадиях цикла, – *Bursaphelenchus willibaldi* и *Aphelenchoides* cf. *eldaricus*.

Индивидуальное развитие и параметры репродукции бактериотрофа *Panagrolaimus detritophagus in vitro*

Параметры индивидуального развития

Для популяционных наблюдений мы установили соответствия личиночных стадий и размерных групп (Таблица 20), выяснили, что первая линька происходит внутри яйца, затем из него выходит личинка второй стадии (J2), которая преодолевает серию линек до J3, J4 и половозрелой стадии –

самца или самки, а далее самка приступает к яйцекладке следующего поколения.

Таблица 20 *P. detritophagus*. Стадии онтогенеза. Измерения (в мкм) и индексы даны в формате: среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (диапазон). J2, J3, J4 – личинки 2-й, 3-й и 4-й стадий, соответственно (**Polyanina, Ryss, 2021**)

Стадия	J2	J3	J4	Самец	Самка
Признак					
Число экз. (n)	10	30	30	20	20
Длина тела (L)	262 $\pm$ 18 (235–277)	491 $\pm$ 40 (369–607)	714 $\pm$ 54 (586–823)	1005 $\pm$ 70 (904–1065)	929 $\pm$ 65 (836–984)
Диам. тела	13 $\pm$ 1 (12–14)	22.0 $\pm$ 1. 7 (20–26)	23.7 $\pm$ 1.8 (20–27)	42.5 $\pm$ 3.0 (38–45)	36.9 $\pm$ 2.6 (33–39)
Длина полового зачатка (GPL)	12.7 $\pm$ 0.9 (11–14)	27.4 $\pm$ 2. 4 (18–36)	157.6 $\pm$ 12.3 (126–186)	584.7 $\pm$ 40.9 (526–620)	546.6 $\pm$ 38.3 (492–579)
Диам. полового зачатка (GPW)	4.8 $\pm$ 0.3 (4.5–5.0)	7.7 $\pm$ 0.6 (6–9)	9.8 $\pm$ 0.9 (6–14)	33.9 $\pm$ 2.4 (30–36)	16.1 $\pm$ 1.1 (15–17)
Отнош.длины тела к диам. тела (a)	20.2 $\pm$ 2.2 (16–24.6)	22.3 $\pm$ 2 (18.2–26.4)	30.1 $\pm$ 3 (24.0–36.2)	23.6 $\pm$ 2.6 (18.4–28.8)	25.2 $\pm$ 3 (19.1–31.2)
Отношение длины полового зачатка к его диам. (GPL/GPW)	2.7 $\pm$ 0.2 (2.4–2.8)	3.6 $\pm$ 0.4 (2.1–5.4)	18.8 $\pm$ 0.7 (9.6–28.4)	17.3 $\pm$ 1.2 (15.5–18.3)	33.9 $\pm$ 2.4 (30.5–35.9)
Отношение длины полового зачатка к длине тела (GPL/L), %	5.0 $\pm$ 0.3 (4–5)	5.6 $\pm$ 0.4 (4–5)	22.5 $\pm$ 2 (16.2–29.1)	58 $\pm$ 4 (52–62)	59 $\pm$ 4 (53–62)

В среднем цикл развития от яйца до яйца нового поколения равен 7 сут (Таблица 21). Оценки двух серий опытов – наблюдения за популяцией синхронизированной на стадии яйца (n=20) и популяцией, синхронизированной вначале по половозрелым самкам и самцам (30 и 20, соответственно; n=13 исследованных культур в чашках Петри), отличаются приблизительно на 0.5 суток. Вероятно, потому, что самкам во второй серии опытов необходимо время чтобы отложить яйца, а это занимает примерно от 0 до 1 суток. Хотя диапазоны времени развития разных стадий перекрываются, они достоверно различны при $p < 0,05$ (t-test). Самки *P. detritophagus* имеют тенденцию к откладке избыточного количество яиц вначале, накапливающихся в популяции, однако лишь часть из них, чуть больше

половины ($56 \pm 12\%$), немедленно приступает к последующим линькам, остальные задерживаются во временной диапаузе.

Таблица 21 *P. detritophagus*. Сроки индивидуального развития (сут). Числовые данные представлены в виде: среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (диапазон). Хронометрия популяционного цикла по результатам инокуляции 50 взрослых особей в их естественном соотношении: 30 самок и 20 самцов; n = количество чашек Петри в течение эксперимента. J2, J3, J4 – личинки второй, третьей, и четвертой стадии, соответственно, G – число сут в одном поколении. F(1d) и F(G) – плодовитость, т.е. количество яиц в день, откладываемых одной самкой в течение первых сут после инокуляции синхронизированного инокулюма из 50 взрослых особей, и средняя плодовитость, рассчитанная за весь период первого поколения, соответственно. Доля яиц без диапаузы (% Egg-Dev) – это отношение числа всех личинок к общему числу личинок и яиц, отложенных самками за весь период первоначальной генерации, в % (Ryss, **Polyanina**, 2021)

Стадия	Индивидуальное наблюдение (группа из 20 яиц)	Популяционные наблюдения
n	20	13
Старт яйцекладки	–	1.1 ± 0.3 (0–2)
J2	1	1.8 ± 0.4 (1–2)
J3	3	3.8 ± 0.4 (3–4)
J4	5.6 ± 0.5 (5–6)	5.0 ± 1.0 (4–7)
G-♀	6.7 ± 0.5 (6–7)	7.3 ± 0.8 (6–8)
G-♂	6.7 ± 0.5 (6–7)	7.3 ± 0.8 (6–8)
F (1d)	–	7.8 ± 2.7 (6–11)
F(G)	–	4.5 ± 1.3 (3–6)
% Egg-Dev	–	56 ± 12 (42–75)

Средняя плодовитость в расчете на одну самку также отличается по двум разным оценкам 7.8 ± 2.7 при счете в первые сутки внесения инокулюма из половозрелых самок и самцов до 4.5 ± 1.3 в среднем за первую генерацию. Такие отличия ожидаемы, поскольку инокулюм содержал крупных, активных половозрелых особей с уже готовыми к откладке синхронными яйцами в теле самки, а размножающаяся популяция характеризовалась средними

показателями, причем источник питания – бактерии из наружного чехлика половозрелой нематоды – должны были предварительно размножиться на агаровой среде, что объективно сдерживало плодовитость.

Популяционная динамика

При оценке численности нематод в популяции бросается в глаза высокая агрегированность половозрелых особей и личинок J4. Черви образуют подвижные клубки (сворминги, swarming), в которых происходит копуляция и откладка яиц самками (Рисунок 48). Сворминги преимущественно располагались по периферии белых бактериальных колоний, в местах скопления нематод поверхность агаровой среды изрыта до дна чашки Петри. В клубках видны группы (гаремы), где один самец оплодотворяет несколько самок (3-5), или группы из двух самцов и 5-8 самками. Замечено, что одиночные самки популяции активно перемещались по направлению к свормингам. По мере выедания бактерий на месте клубков замечены черные пятна продуктов жизнедеятельности нематод и кладки из групп 30-300 яиц в каждом световом поле.

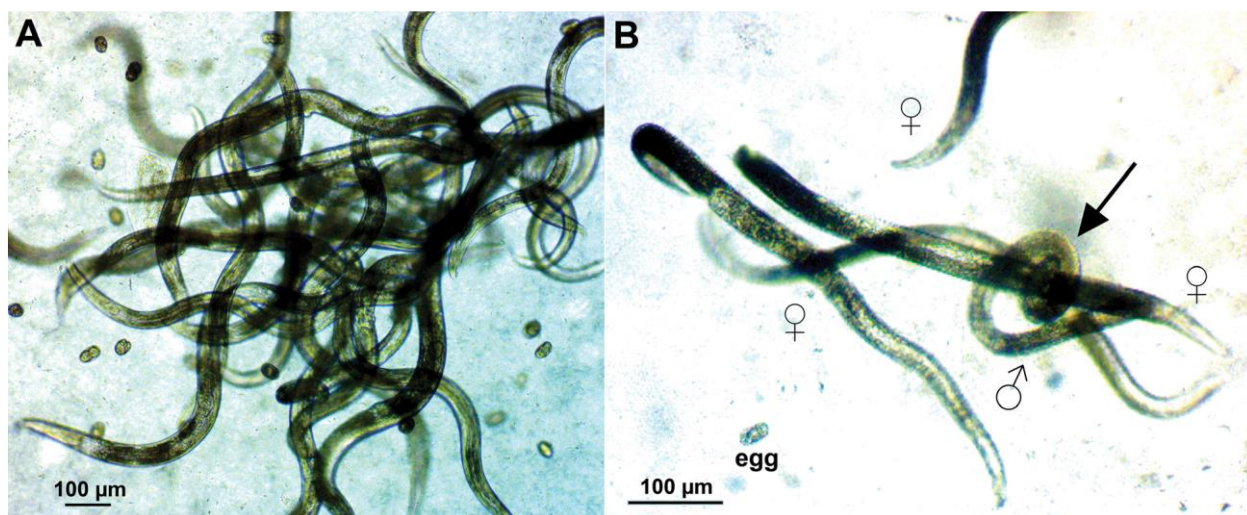


Рисунок 48 *P. detritophagus*. А – роение (сворминг) половозрелых самцов и самок. Б – копуляция (Polyanina, Ryss, 2021)

Динамика численности самок является наиболее важным параметром для популяции, так как их плодовитость обеспечивает рост численности. Экспоненциальный рост числа самок наблюдался после первой генерации

(G=7) до 17 дней, затем численность достигала максимального уровня и снижалась, сначала медленно (21–27 сут), а затем быстро (27–34 сут) (Рисунок 49). Исходя из данных, представленных на Рисунке 49, можно сделать вывод, что входящих в микробиом поколений не более четырех (27:7), снижение числа самок после 27 суток возможно объяснить предельным возрастом основной массы самок, а поскольку первое поколение малочисленное, то 7 суток можно вычесть из диапазона 20–27 суток начала снижения численности. Следовательно, продолжительность жизни самки в половозрелой (фертильной) фазе при температуре 22 °С составляет 13–20 дней.

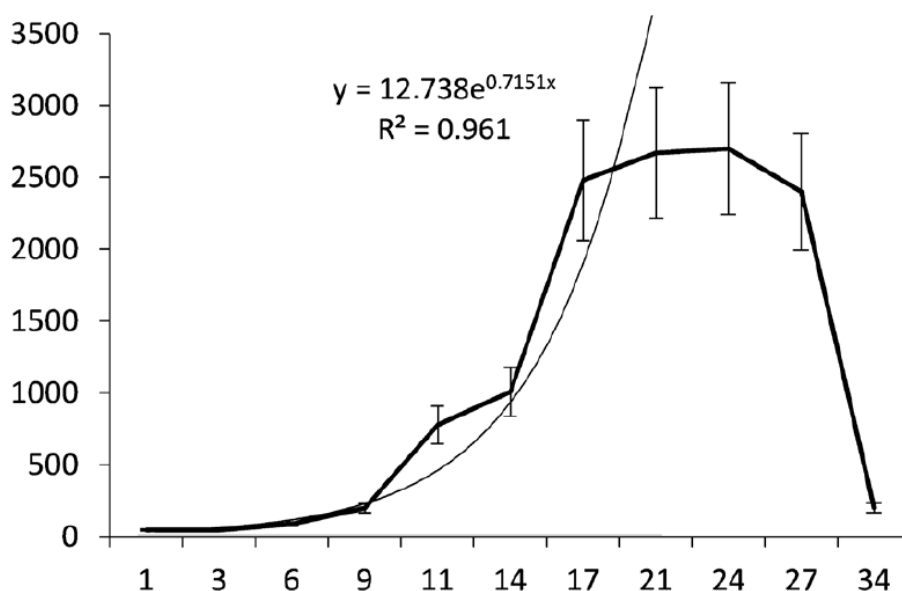


Рисунок 49 *P. detritophagus*. Число самок в популяционном цикле в средней чашке Петри (6 см) в лабораторной культуре. Ось ординат: численность, ось абсцисс: число дней после инокуляции 50 взрослыми нематодами. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение, плавная кривая служит аппроксимацией экспоненциального роста в период до 21 сут после инокуляции (Polyanina, Ryss, 2021)

Формула экспоненциального роста числа самок в зависимости от времени (с 1 по 21-й день):

$$N = 12.738e^{0.7151T}; R^2 = 0.961$$

где N – численность, T – время в сут.

Для этого же периода формула экспоненциального роста всей популяции червеобразных стадий цикла (кроме яиц) (Рисунок 50):

$$N = 28.002e^{0.9111T}; R^2 = 0.9632.$$

Аналогичный рост до 21-27 дней характерен для численности яиц (Рисунок 51) с последующим быстрым снижением в связи с увеличением численности личинок J3 (стадия выживания) к концу популяционного цикла.

В динамике относительных численностей отдельных стадий, начиная с второй (т.е. первой дочерней) генерации наблюдается преобладание яиц в популяции до пика численности на 21 день; к концу опыта (34 день) наблюдается почти полное отсроченное вылупление большинства яиц и более 90% популяции составляют личинки J3.

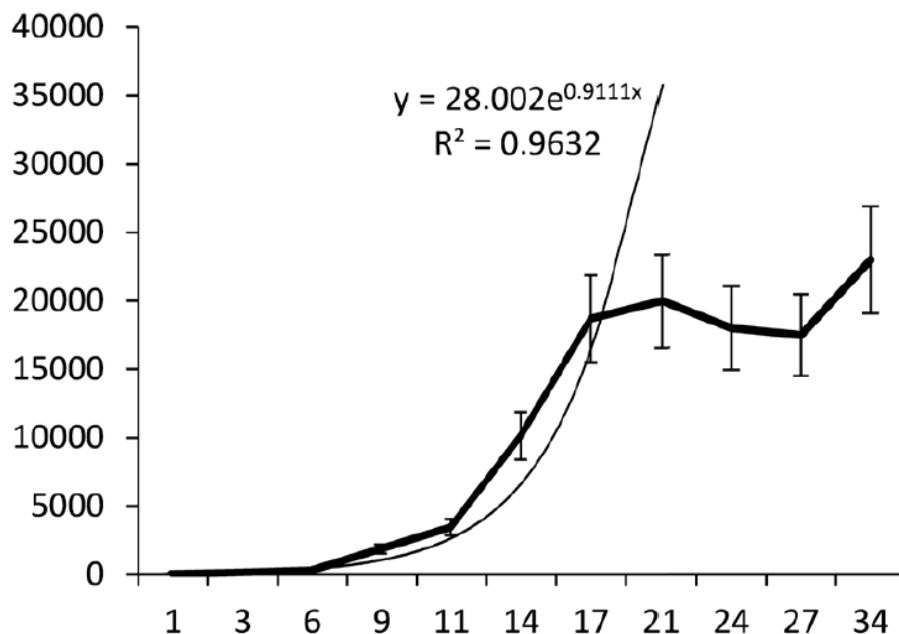


Рисунок 50 *P. detritophagus*. Изменение общей численности стадий нематод (личинок, самцов и самок) в течение популяционного цикла в чашке Петри (6 см) лабораторной культуре. Ось ординат: численность, ось абсцисс: количество дней после инокуляции 50 взрослыми нематодами. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение, плавная кривая служит аппроксимацией экспоненциального роста в период до 21 сут после инокуляции (Polyanina, Ryss, 2021)

Формула роста популяции нематод для расчета времени заселения 1 м³ валежника

Формула фазы экспоненциального роста позволяет рассчитать время, необходимое для заселения нематодами кубометра древесины. Агаровая среда КСА по содержанию основных питательных веществ – сахаров и крахмалов

соответствует концентрациям этих веществ в живой древесине и поэтому может быть использована как модельная Chow et al., 2004). Объем среды КСА в чашке Петри = $(0.3 \times 3.14 \times 5.5^2)/4 = 7.12 \text{ см}^3$. Объем $1 \text{ м}^3 = 10^6 \text{ см}^3$, что соответствует $1.0 \times 10^6 / 7.12 = 1.4 \times 10^5$ объемам агаровой среды в чашке Петри, где максимальное число нематод 20×10^3 достигается на 21 день после инокуляции.

Определяем число нематод, способное заполнить весь объем дерева при условии не останавливающегося экспоненциального роста популяции без ограничений ресурса питания: $20 \times 10^3 \text{ особей} \times 1.4 \times 10^5 = 2.8 \times 10^9 \text{ особей}$.

Применяем формулу экспоненциального роста из данных лабораторного опыта (для периода роста популяции, 1-21 сут): $N = 28.002e^{0.9111T}$; $R^2 = 0.9632$.

$$T(\text{сут}) = \text{LN}(N/K)/k = \text{LN}(2.8 \times 10^9 / 28.002) / 0.9111 = 20.2 \text{ сут},$$

т.е. менее 1 месяца самого теплого сезона в зоне умеренного климата, с средней дневной температурой выше 21°C .

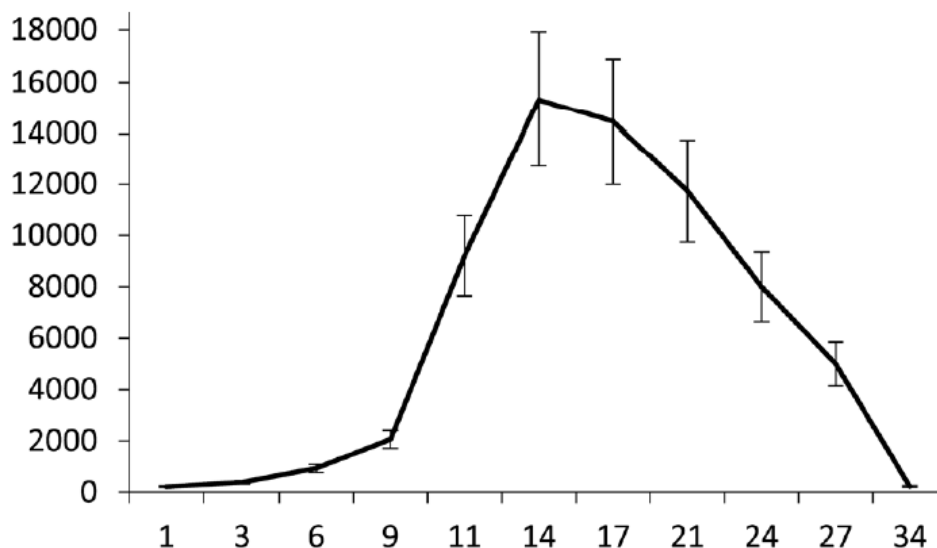


Рисунок 51 *P. detritophagus*. Изменение количества яиц в течение популяционного цикла в чашке Петри диам. 6 см лабораторной культуры. Ось ординат: численность, ось абсцисс: количество дней после инокуляции 50 взрослыми нематодами. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Polyanina, Ryss, 2021)

Индивидуальное развитие и параметры репродукции бактериотрофа *Rhabditolaimus ulmi* *in vitro*

При постановке эксперимента мы столкнулись с проблемой осмотического шока у нематод: инокулируемые половозрелые самки и самцы, а также личинки J2, J4 гибли в течение короткого времени (5-30 мин) при помещении в каплю дистиллированной воды. Самки буквально взрывались при яйцекладке, их тела лопались, как воздушных шар, и внутреннее содержимое выворачивало наружу. Личинки J2 и J4 сморщивались или лопались, как и половозрелые особи. Устойчивыми к осмотическому шоку оставались только личинки J3. Замена дистиллированной воды на среду PJ (https://www.ccap.ac.uk/wp-content/uploads/MR_PJ.pdf) сохраняла жизнеспособность червей, но после нее самки не откладывали яйца, поэтому в опыте был использован метод выборки половозрелых особей нематод напрямую из культуральной среды и помещения в среду 2% КСА с предварительно размноженной в термостате (36 °C) кормовой бактериальной смесью из симбионтов *R. ulmi*. В связи с этим цикл развития не мог быть прослежен индивидуально от яйца до половозрелой нематоды, используя метод водяной капли. Все наблюдения произведены на популяционном уровне. Сроки процесса вылупления личинок из яиц на кусочке агара совпали с данными популяционного роста и были объединены с последними.

Параметры индивидуального развития

Также, как и в примере с *P. detritophagus* и последующими изученными видами, были установлены соответствия личиночных стадий и размерных групп (Таблица 22). Первая линька происходит внутри яйца, затем из него выходит личинка второй стадии (J2), которая преодолевает серию линек до J3, J4 и половозрелой стадии – самца или самки, а далее самка приступает к яйцекладке следующего поколения.

Таблица 22 *R. ulmi*. Стадии онтогенеза. Измерения (в мкм) и индексы даны в формате: среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (диапазон). J2, J3, J4 – личинки 2-й, 3-ей и 4-ой стадии, соответственно (Ryss, **Polyanina** et al., 2021)

Стадия	J2	J3	J4	Самец	Самка
Признак					
Число экз. п)	10	11	10	20	20
Длина тела (L)	290.2 $\pm$ 31.4 (246-352)	354.4 $\pm$ 38.6 (298-423)	526.4 $\pm$ 66.8 (409-666)	715.0 $\pm$ 148.0 (557-1007)	804.6 $\pm$ 139.2 (633-1012)
Диам. тела	7.8 $\pm$ 1.2 (5.5-10.5)	9.6 $\pm$ 1 (7.5-12.0)	12.6 $\pm$ 1.4 (9.5-16.5)	20.7 $\pm$ 5.2 (15.5-28.0)	27.0 $\pm$ 7.0 (19.0-36.0)
Длина полового зачатка (GPL)	7.7 $\pm$ 1.7 (5.5-10.5)	13.4 $\pm$ 6.8 (6.0-29.0)	100.8 $\pm$ 63.0 (11.0-170.5)	411.0 $\pm$ 100.0 (295-586)	403.0 $\pm$ 172.7 (204-760)
Диам. полового зачатка (GPW)	3.5 $\pm$ 0.8 (2.0-4.5)	5.1 $\pm$ 1.5 (3.0-7.0)	6.9 $\pm$ 1.3 (4.0-10.5)	19.0 $\pm$ 8.8 (9.5-35.5)	27.6 $\pm$ 9.0 (15.5-39.0)
Отношение длины тела к диам. тела (a)	37.5 $\pm$ 2.7 (33.4-43.1)	37.3 $\pm$ 3.8 (27.9-43.0)	41.7 $\pm$ 2.9 (36.4-44.5)	35.1 $\pm$ 4.4 (27.8-39.9)	30.6 $\pm$ 4.6 (26.1-38.0)
Отношение длины полового зачатка к его диам. (GPL/GPW)	2.3 $\pm$ 0.5 (1.4-3.1)	2.5 $\pm$ 0.7 (1.7-4.4)	14.4 $\pm$ 8.9 (2.7-30.0)	24.8 $\pm$ 10.8 (13.5-41.4)	14.7 $\pm$ 4.4 (10.8-23.3)
Отношение длины полового зачатка к длине тела (GPL/L, %)	3 $\pm$ 1 (2-4)	4 $\pm$ 2 (2-7)	19 $\pm$ 12 (3-37)	60 $\pm$ 10 (40-70)	50 $\pm$ 20 (30-90)

В среднем цикл развития от яйца до яйца нового поколения равен 8 сут (Таблица 23). Стартовой точкой служит внесение в культуру инокулюма нематод. Начальный период задержки 1.07 ± 0.25 сут связан с необходимостью копуляции и последующего созревания яйца в теле самки (Рисунок 25). Хотя диапазоны времени развития разных стадий перекрываются, они достоверно различны при $p < 0,05$ (t-test). Средняя плодовитость в расчете на одну самку также отличается по двум разным оценкам 1.54 ± 0.94 при счете в первые сутки внесения инокулюма из половозрелых самок и самцов до 2.80 ± 1.82 в среднем за первую генерацию. Эти отличия ожидаемы, поскольку для налаживания процесса репродукции в популяции, копуляции и созревания яйца, необходимо время.

Таблица 23 *R. ulmi*. Числовые данные представлены в виде: среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (диапазон). J2, J3, J4 – личинки второй, третьей, и четвертой стадии, соответственно, G – количество дней в одном поколении; сроки развития популяции после инокуляции 50 взрослых особей: 30 самок и 20 самцов; n = количество особей во время мониторинга. F(1d) и F(G) – плодовитость, т.е. количество яиц в день, откладываемых одной самкой в течение первого дня после инокуляции синхронизированной популяции из половозрелых особей, и средняя плодовитость, рассчитанная за весь период первого поколения, соответственно (Ryss, Polyanina, 2022)

Стадия	n	Популяционные исследования
Старт яйцекладки	693	1.07 ± 0.25 (1-2)
J2	399	2.56 ± 0.53 (2-4)
J3	290	3.70 ± 0.96 (3-5)
J4	237	6.01 ± 0.67 (5-9)
G-♀	89	7.83 ± 1.32 (7-10)
G-♂	82	7.98 ± 1.38 (7-10)
F (1d)	10	1.54 ± 0.94 (0.37-3.33)
F(G)	10	2.80 ± 1.82 (1.11-6.06)

Популяционная динамика

Нематоды очень редко образуют подвижные клубки (сворминги, swarming), в которых происходит копуляция и откладка яиц самками. Обычно черви распределены по плоскости агара в чашке равномерно и быстро перемещаются по поверхности. В некоторых клубках видны группы (гаремы) из 1-2 самцов и 3-5 самок. Кладки из 3-10 яиц образуют агломерации, поскольку самки предпочитают откладывать яйца в группах из 3-5 особей.

После периода первой генерации наблюдается экспоненциальный рост общего числа нематод до 28 сут, после чего численность выходит на максимальный уровень и затем снижается, сначала медленно (28-49 сут), а затем быстро (49-70 сут) (Рисунок 52). К 35 сут нематоды массово умирают. Из графика можно сделать заключение о том, что поколений в микробиоме не более девяти (70 сут:8 сут).

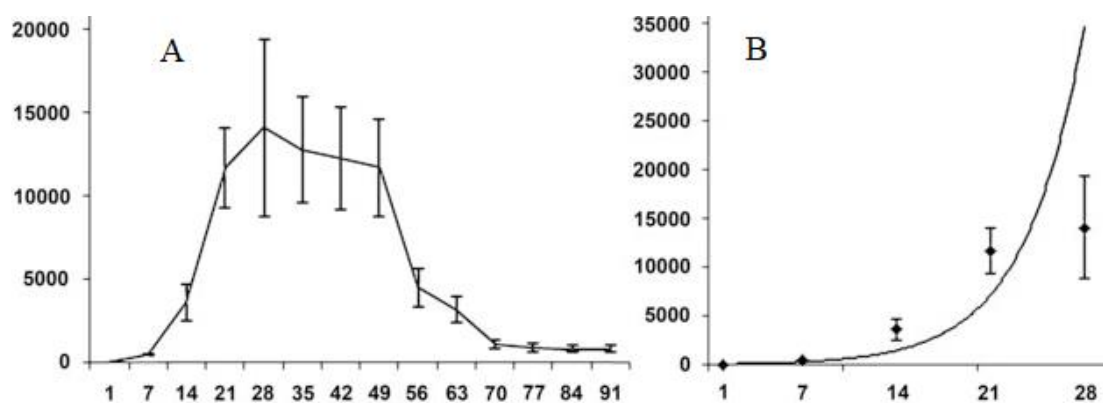


Рисунок 52 *R. ulmi*. Изменение общей численности стадий нематод (личинки, самцы и самки) в течение популяционного цикла в лабораторной культуре. А: в течение всей продолжительности эксперимента; В: во время фазы экспоненциального роста (1-28 сут). Ось ординат: обилие, ось абсцисс: количество дней после инокуляции 50 взрослыми нематодами. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение, плавная кривая служит аппроксимацией экспоненциального роста в период до 28 сут после инокуляции. Формула экспоненциального роста: $N = 62.543e^{0.2267T}$; $R^2 = 0.890$, где N – общая численность, T – число дней после инокуляции (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Снижение числа червеобразных стадий после 28 сут можно объяснить остановкой развития яиц, снижением числа самок и их доли в популяции (Рисунок 53), а доля личинок J3 в популяции увеличивается до 100% при снижении их численности (Рисунок 54, Таблица 24). Из состава популяции J3 – это единственная стадия цикла, способная к активным движениям в пресной воде, т.е. к выживанию и трансмиссии. Начиная с 42 сут яйца при индивидуальном наблюдении не содержат внутри живых инвазионных личинок и при пересадке на новый 2% КСА не происходит вылупления J2.

Таблица 24 *R. ulmi*. Относительная численность (%) стадий жизненного цикла (яйца, личинки, половозрелые особи) в главных фазах динамики популяции. Значения даны в формате среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Время от инок. Стадия	Инокуляция	8 дней (G)	28 дней	70-91 день (конец популяц. цикла)
п	15	15	15	15
яйца	0	24.4 ± 12.4	8.3 ± 3.3	0
J2	0	22.7 ± 11.7	21.2 ± 6.0	0
J3	0	20.3 ± 5.8	47.3 ± 13.5	100%
J4	0	9.2 ± 2.9	10.8 ± 5.2	0
Самка	60	11.8 ± 4.8	6.2 ± 2.2	0
Самец	40	11.7 ± 5.4	6.2 ± 3.2	0

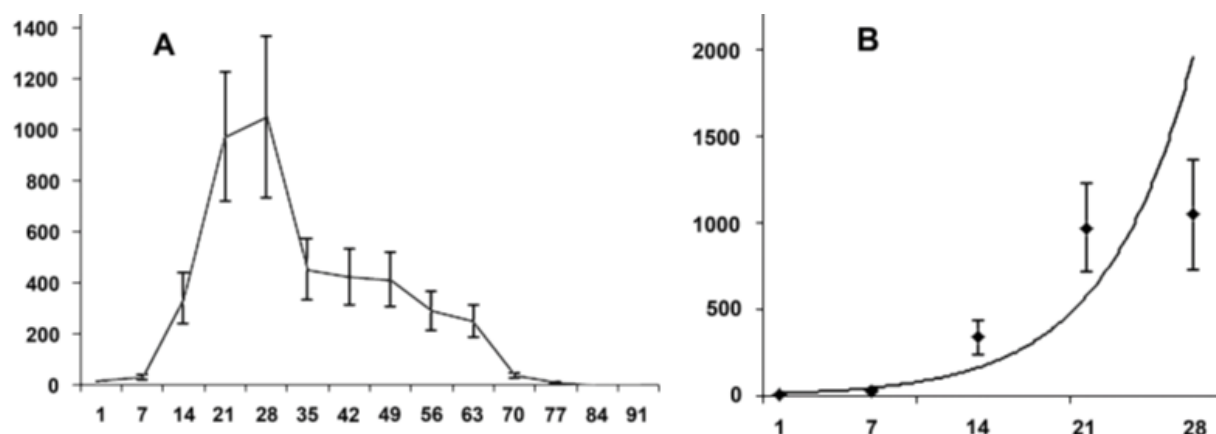


Рисунок 53 *R. ulmi*. Число самок в популяционном цикле в чашке Петри диам. 6 см. в лабораторной культуре. А: во время популяционного цикла; В: в фазе экспоненциального роста. Ось ординат: обилие, ось абсцисс: количество дней после инокуляции 50 взрослыми нематодами. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение, плавная кривая служит аппроксимацией экспоненциального роста в период до 28 сут после инокуляции. Формула экспоненциального роста: $N = 14.582e^{0.1729T}$; $R^2 = 0.899$, где N – общая численность, T – число дней после инокуляции (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Для периода 1-28 сут определена формула экспоненциального роста всей популяции червеобразных стадий цикла (кроме яиц): $N = 62.543e^{0.2267T}$; $R^2 =$

0.890; N – общая численность, T – число дней после инокуляции (Рисунок 52).

Формула экспоненциального роста числа самок в зависимости от времени для 1-28 сут:

$$N = 14.582e^{0.1729T}; R^2 = 0.899$$

(Рисунок 53).

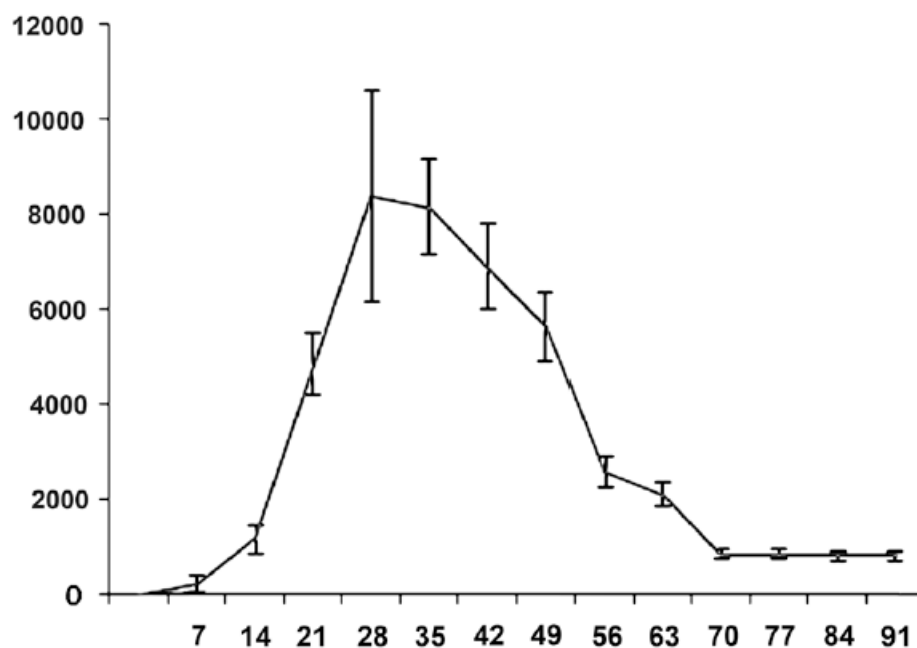


Рисунок 54 *R. ulmi*. Изменение числа личинок третьей стадии в течение популяционного цикла в чашке Петри диам. 6 см в лабораторной культуре. Ось ординат: численность, ось абсцисс: количество дней после инокуляции 50 половозрелыми нематодами. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Продолжительность жизни самок

Из диаграммы (Рисунок 53) видно, что основная масса самок присутствует в популяции с 14 по 63 сут. Т.е. срок жизни самки в половозрелом состоянии составляет $63-14=49$ сут, еще 8 (7-10) сут составляет время индивидуального развития до половозрелого состояния. Следовательно, время жизни самки составляет предположительно 57 (56-59) сут.

Формула роста популяции нематод для расчета времени заселения валежника

Объем дерева вяза среднего диам. 32 см измеренного на высоте 1.3м= 1.50 м³. (Вудвол, 2021: <https://woodwool.ru/stati/informatsiya-dlya-smetchikov/tablitza-dlya-rascheta-kubometrov-dereva-po-porodam/>), объем агаровой среды в чашке Петри = $(0.3 \times 3.14 \times 5.5^2) / 4 = 7.12 \text{ см}^3$.

$1.5 \text{ м}^3 = 1.5 \times 10^6 \text{ см}^3$, что соответствует $1.5 \times 10^6 / 7.12 = 210559.6$ объемам агаровой среды в чашке Петри, где максимальное число нематод 15×10^3 достигается на 28 день после инокуляции.

Определяем число нематод, способное заполнить весь объем среды при условии не останавливающегося экспоненциального роста популяции без ограничений ресурса питания: $15 \times 10^3 \text{ особей} \times 210559.6 = 3158393431 \text{ особей}$.

Применяем формулу экспоненциального роста из данных лабораторного опыта (для периода роста популяции, 1-28 сут): $N = 63.2e^{0.2253T}$; $R^2 = 0.8859$.

$$T(\text{сут}) = \text{LN}(N/K)/k = \text{LN}(3158393431/63.2)/0.2253 = 78.7 \text{ сут},$$

т.е. 2.5 мес. самого теплого сезона в зоне умеренного климата, с средней дневной температурой выше 21 °С. Поскольку столь теплый период в зоне умеренного климата длится примерно один месяц в году, то для заселения дерева нематодами в процессе деструкции древесины понадобится два или три года. Расчет времени заселения 1 м³ древесины вяза по той же формуле: 76.9 сут или 2-3 г.

Индивидуальное развитие и параметры репродукции фито-микопаразита *Bursaphelenchus willibaldi* *in vitro*

Диагностика стадий постэмбрионального развития была представлена ранее. Диаграмма динамики популяции в течение первого поколения и хронология стадий развития приведены в Таблице 25 и на Рисунке 55. Даты для стадий онтогенеза достоверно отличались друг от друга ($p < 0,05$).

Таблица 25 Сроки развития стадий и параметры онтогенеза (сут) *B. willibaldi* (Ryss, Polyanina, 2022)

Стадия	n	Сроки и количество яиц
Начало яйцекладки	18	2.7 ± 0.5 (1-3)
J2	32	3.2 ± 0.5 (3-4)
J3	32	3.6 ± 0.8 (3-5)
J4	58	4.8 ± 0.9 (3-6)
G-♀	70	5.8 ± 0.5 (4-6)
G-♂	60	5.8 ± 0.5 (4-6)
G как $2 \times N(Fi)$	10	5
G как пик количества линек от J4 до взрослых особей.	28	6
Плодовитость (F)	10	3.4 ± 1.5 (2.1-5.9)

Данные представлены в виде: среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (диапазон). Сроки основаны на результатах инокуляции 50 половозрелых особей в их естественном соотношении: 32 самки и 18 самцов (65:35%). J2, J3, J4 – личинки второй, третьей и четвертой стадии соответственно. n – количество особей во время мониторинга. F – средняя плодовитость, т. е. количество яиц, откладываемых одной самкой в сутки в течение всего периода экспоненциального размножения популяции (объединение средних значений популяции в опытах с инокулятом 50 и 150 экз). G – количество дней (сут) одного поколения. G-♀, G-♂ – средние сроки появления самок и самцов с линькой кутикулы соответственно. G как $2 \times N(Fi)$ = дата, когда число самок вдвое (>64 экз) превышало количество первоначально инокулированных самок.

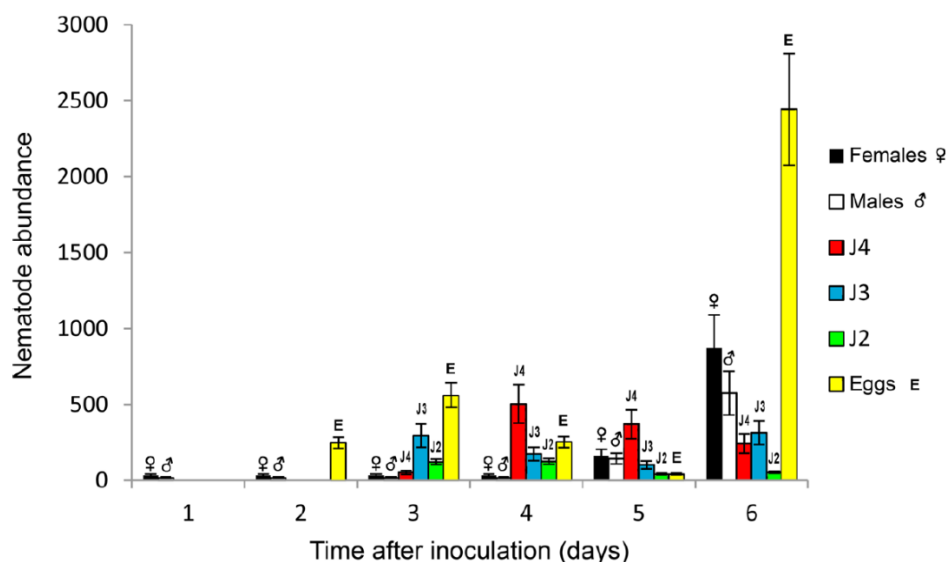


Рисунок 55 Динамика численности *B. willibaldi* в течение первого поколения на 2% КСА среде; n = 10 (количество чашек Петри). Инокулят: 50 половозрелых особей (32 самки и 18 самцов; соотношение самок и самцов = 65%:35%). J2, J3, J4 - личинки второй, третьей и четвертой стадии, соответственно. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, Polyanina, 2022)

Популяционная динамика

Данные по динамике численности популяции приведены на Рисунке 55. Пик численности самок и общей численности был достигнут на 11-12 сут после инокуляции (2G), затем наблюдалось резкое снижение численности до 27-го дня, за которым последовало плавное снижение до конца наблюдений. Это снижение было связано с массовой миграцией нематод на нижнюю поверхность крышки чашек Петри, поскольку потеря численности нематод в среде КСА между 11 и 27 днями соответствовала недельному увеличению числа нематод в МГ (Рисунки 56, 57). Появление нематод в МГ произошло через 7 сут после инокуляции (1G+1 сут), пик численности в МГ был достигнут на 27-й день (4.5G), что на 7 дней (1G + 1 день) позже, чем пик численности в среде КСА.

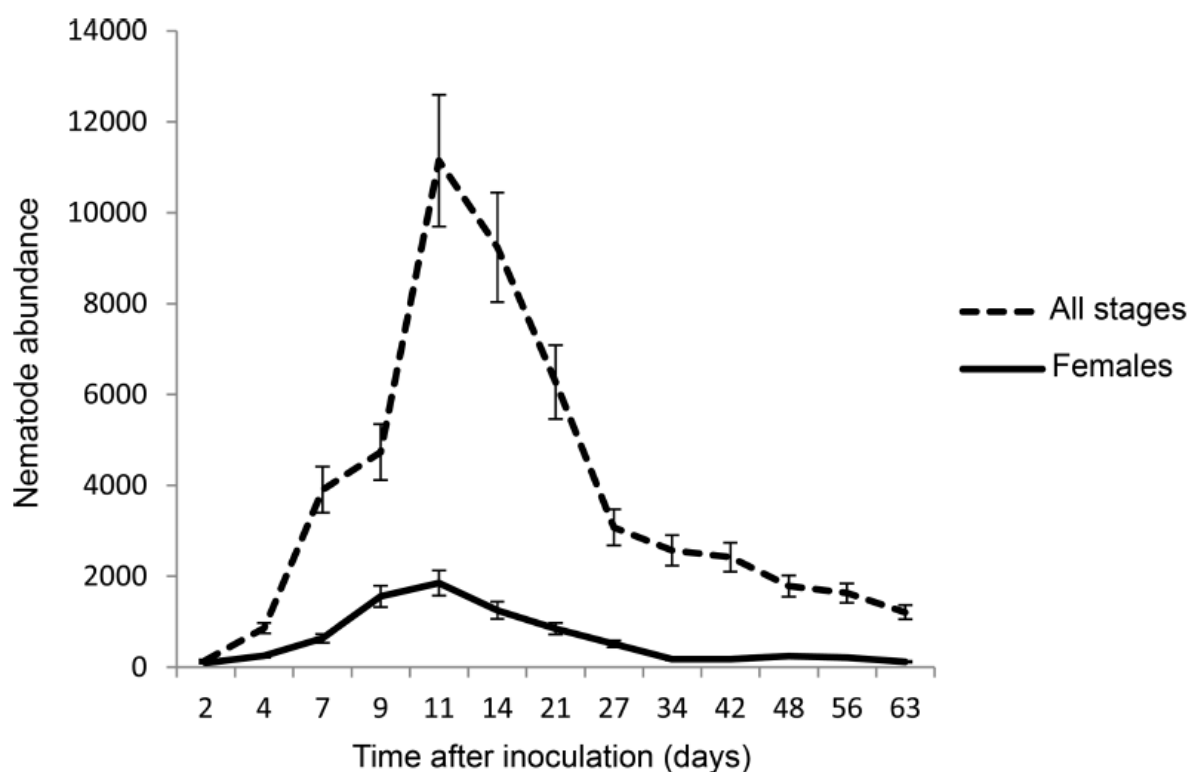


Рисунок 56 Динамика численности *B. willibaldi* на 2% КСА среде; $n = 20$ (количество чашек Петри). Инокулят: 150 половозрелых особей, соотношение самок и самцов = 65%:35%. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, Polyanina, 2022)

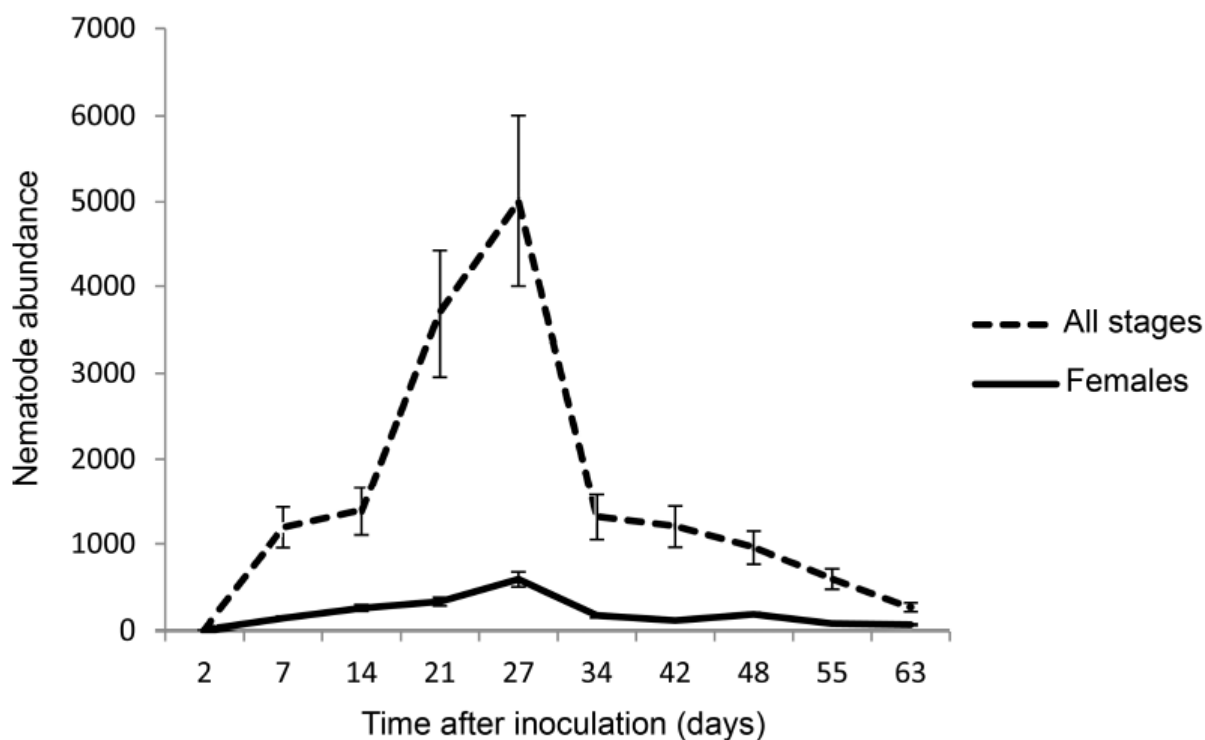


Рисунок 57 Динамика численности *B. willibaldi* в миграционной группе (МГ) с нижней стороны крышки чашек Петри; $n = 20$ (число чашек Петри). Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, **Polyanina**, 2022)

В Таблице 26 представлены пропорции (относительные доли) стадий онтогенеза. В среде КСА производство яиц прекратилось через 27 дней (4.5G, дата массового выхода нематод наверх, в МГ – миграционную группу). В МГ самки также почти прекратили яйцекладку к 27 сут. В день завершения 1G в популяции КСА по составу стадий преобладала доля яиц, но к 11 сут (2G) соотношение стадий стало сбалансированным, а к 63 сут (завершение популяционного цикла; 10G) были представлены все стадии, кроме яиц, но доля J4 была наибольшей. В МГ на 11 сут (дата пика численности в КСА) преобладали J2, что указывает на активную яйцекладку самок, находившихся в МГ, затем эта пропорция резко снижается до 27%, к 27 сут. После пика численности МГ (27 день; 4.5G), популяция характеризовалась преобладанием более поздних стадий: взрослых особей и личинок J4.

Таблица 26 Пропорции различных стадий онтогенеза *B. willibaldi* в наиболее важные фазы популяционного цикла (Ryss, Polyana, 2022)

	Среда (2% КСА). Инокулят (65%:35%).				МГ на нижней стороне крышки чашки Петри			
	6 дней (G)	11 дней*	27 дней	63 дня	7 дней	11 дней	27 дней*	63 дня
n	20	20	20	20	20	20	20	20
яйца	54.6 ± 10.0	10.8 ± 4.0	0	0	20.5 ± 5.6	1.3 ± 1.2	0.4 ± 0.1	0
J2	1.0 ± 0.5	28.1 ± 7.0	22.2 ± 7.1	4.2 ± 2.2	19.5 ± 4.0	61.7 ± 4.6	27.3 ± 3.4	4.9 ± 1.8
J3	7.0 ± 3.0	14.1 ± 3.8	22.9 ± 4.3	23.3 ± 3.0	7.3 ± 3.0	11.6 ± 2.4	32.6 ± 3.0	13.6 ± 2.8
J4	6.0 ± 3.0	21.6 ± 7.5	24.8 ± 4.6	48.9 ± 10.1	26.1 ± 6.0	14.6 ± 3.1	20.3 ± 3.7	30.3 ± 4.9
Самки	19.0 ± 8.0	14.4 ± 3.6	16.0 ± 5.0	9.8 ± 4.2	12.8 ± 3.1	7.6 ± 1.5	11.7 ± 0.4	22.7 ± 3.9
Самцы	12.0 ± 5.0	10.9 ± 4.8	14.2 ± 4.2	13.7 ± 5.6	13.8 ± 4.3	3.3 ± 1.2	7.7 ± 1.0	28.4 ± 4.3

Данные представлены в виде: среднее ± стандартное отклонение (%) для одной чашки Петри; для миграционной группы (МГ) представлены значения еженедельных смывов с крышки. J2, J3, J4 – личинки второго, третьего и четвертого возрастов соответственно. * Пик численности.

Расчет скорости яйцекладки по графику динамики популяции (до достижения максимального размера популяции)

Эксперименты с наблюдением за яйцекладкой в прозрачном агаре (без гриба) или на крышках (половозрелые самки, n = 50, из суточного смыва МГ с крышек чашек, смыв оставляли на дополнительные 1 сут) не дали результатов скорости яйцекладки. В отсутствие пищи нематоды прекращали яйцекладку, самки откладывали яйца только в течение первых 6 час после входа в МГ. Поэтому реальную плодовитость возможно было оценить только для нематод в среде КСА с источником пищи – мицелием гриба, в период с 1G по 2G (т.е. в фазе активного экспоненциального роста популяции). В этот период можно предположить, что прирост популяции δ за период $T=t_1-t_2$ составит:

$$\delta = N_{\text{all}}(t_2) - N_{\text{all}}(t_1),$$

является результатом производства яиц самками, имевшимися в начале периода, т.е. в момент времени t_1 . Соответственно, суточное производство яиц (F , плодовитость) можно оценить по уравнению:

$$F = [\delta / N_{\text{Fem}}(t_1)] / T$$

Плодовитость (F) составила 3.4 яйца на одну самку в сут ($n=10$; Таблица 25). По мере приближения популяции к пику численности, скорость яйцекладки снижалась с 5 до 2 яиц на самку в сут.

Математическая модель динамики популяции.

В период активного роста популяции (до 11 сут; 2G) динамика численности самок и общей численности в среде КСА может быть выражена экспоненциальной математической моделью (Рисунок 58 А, В).

Для общей численности (КСА):

$$N = 98.214e^{0.451T}, R^2 = 0.9371; F = 44.6612; P = 0.0068; df = 4$$

Для популяционной динамики самок (КСА):

$$N = 58.413e^{0.3363T}, R^2 = 0.9737; F = 110.9519; P = 0.0018; df = 4$$

Экспоненциальная модель также применима и к фракции МГ, и для общей численности нематод, и для самок, но со сдвигом по времени в 7 сут (1G + 1 сут) (Рисунок 59 А, В).

Для общей численности (МГ):

$$N = 596.92e^{0.077T}; R^2 = 0.8988; F = 26.6561; P = 0.0141; df = 4$$

Для фракции самок в МГ:

$$N = 85.032e^{0.0664T}; R^2 = 0.9045; F = 28.4172; P = 0.0129; df = 4$$

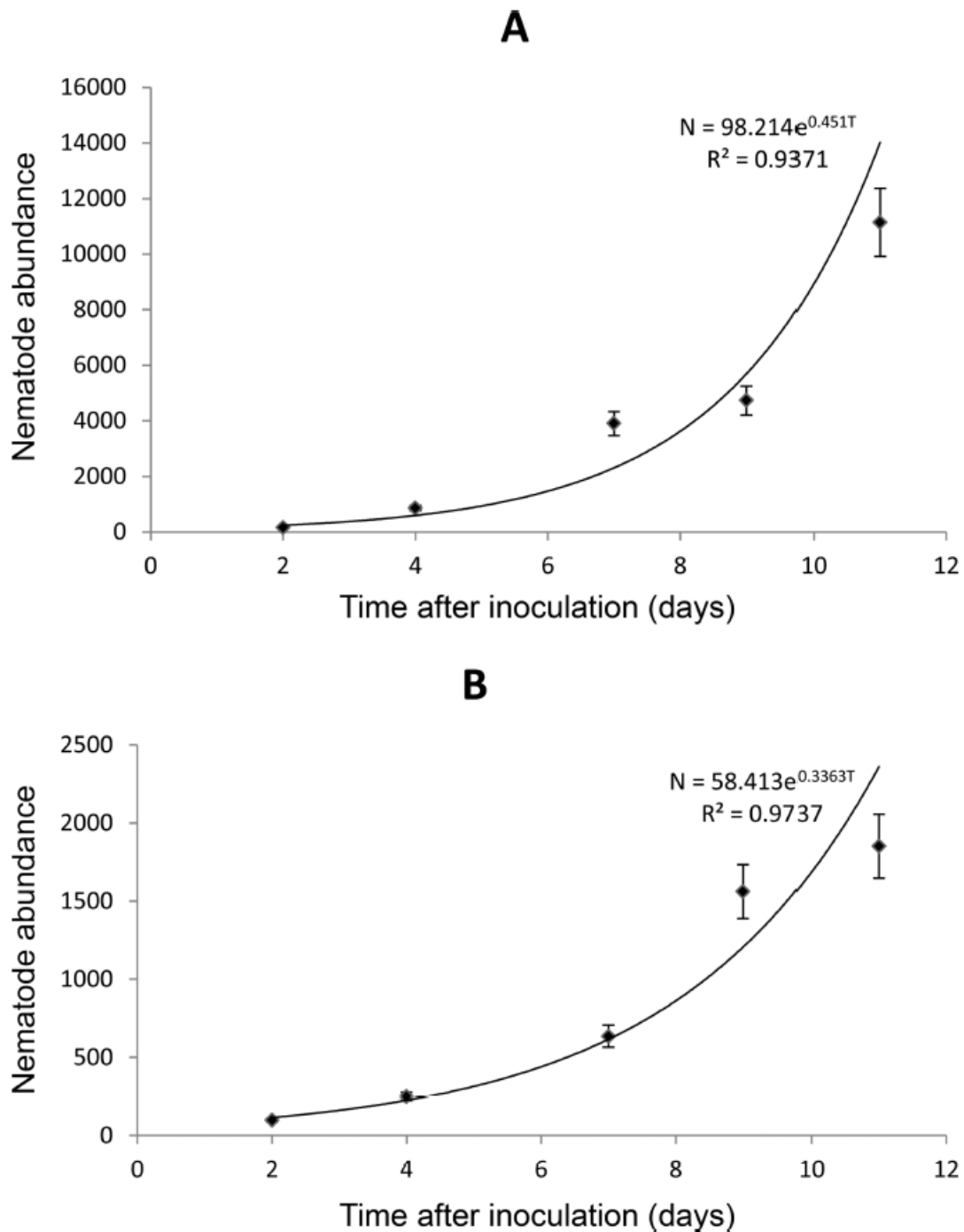


Рисунок 58 Динамика численности *B. willibaldi* на 2% КСА среде. А: Динамика общей численности $N = 98.214e^{0.451T}$, $R^2 = 0.9371$; $F = 44.6612$; $P = 0.0068$; $df = 4$; В: Динамика численности самок $N = 58.413e^{0.3363T}$, $R^2 = 0.9737$; $F = 110.9519$; $P = 0.0018$; $df = 4$. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, Polyana, 2022)

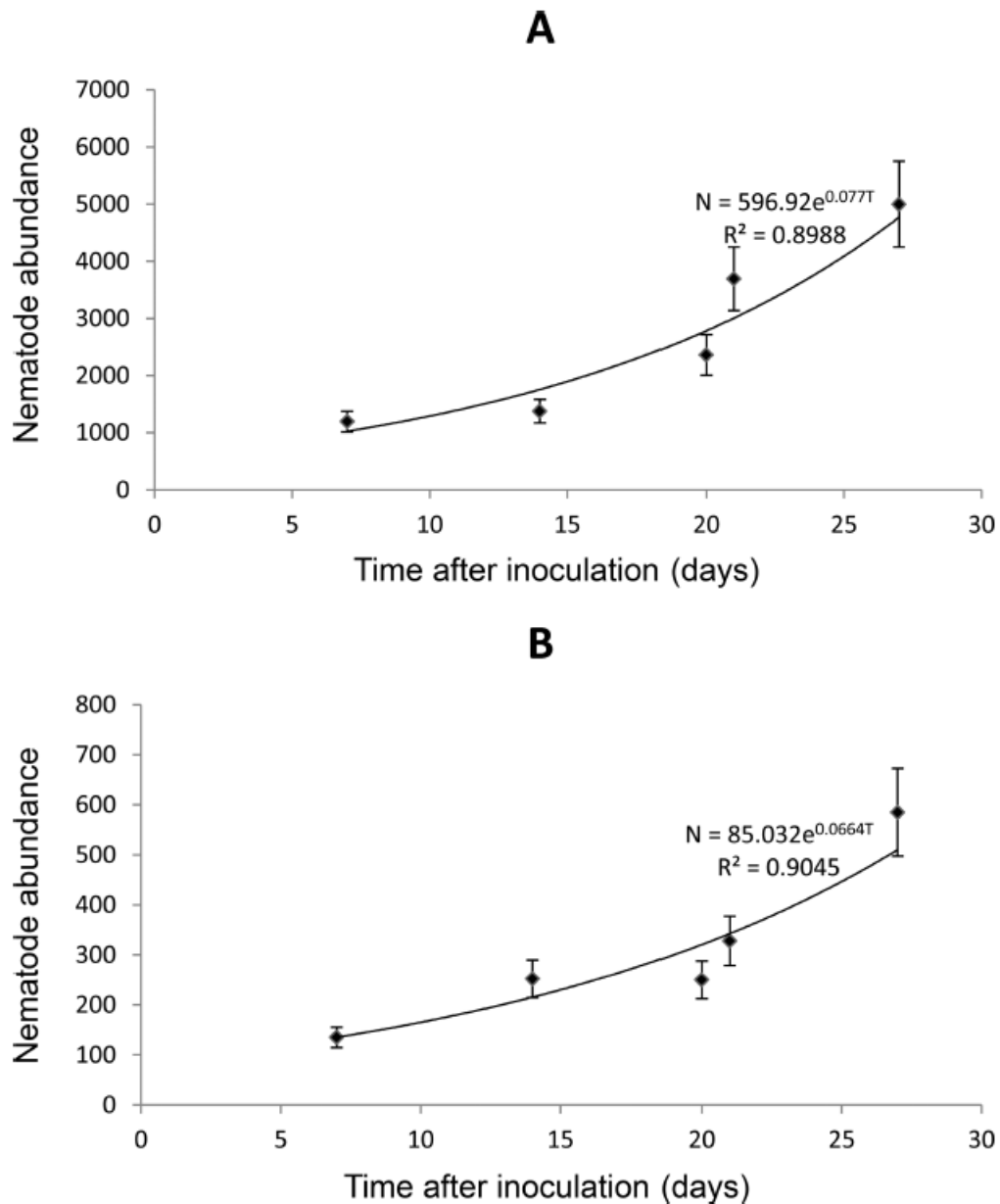


Рисунок 59 Миграционная группа *B. willibaldi* на нижней поверхности верхней крышки чашки Петри (6 см). А: Динамика общей численности $N = 596.92e^{0.077T}$; $R^2 = 0.8988$; $F = 26.6561$; $P = 0.0141$; $df = 4$; В: динамика численности самок, $N = 85.032e^{0.0664T}$; $R^2 = 0.9045$; $F = 28.4172$; $P = 0.0129$; $df = 4$. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Расчет времени колонизации субстрата объемом 1 м³ (T)

Экспоненциальные модели применимы для определения времени, когда ассоциация нематод и грибов-симбионтов достигает способности заселить 1 м³ КСА или сходного субстрата, в условиях, аналогичных условиям эксперимента. Расчет может быть выполнен простым обратным

преобразованием экспоненциальной формулы численности в формулу для расчета времени T . Объем среды КСА в чашке Петри составлял 7.12 см^3 (внутренний диаметр чашки Петри $d = 5.5 \text{ см}$; толщина слоя агара $h = 3 \text{ мм}$, согласно формуле, объем слоя КСА в чашке $\pi d^2/4 \cdot h = 7.12 \text{ см}^3$). Объем субстрата составляет $1.0 \text{ м}^3 = 1.0 \times 10^6 \text{ см}^3$, что соответствует 1.4×10^5 объемов слоя КСА в чашке Петри. На 11 сут после инокуляции популяция достигала пика, составив в среднем 11.1×10^3 экз (Рисунок 56); в это время среда (КСА + гриб) полностью потребляется нематодами. Следовательно, для заполнения 1 м^3 КСА или аналогичного субстрата требуется популяция нематод в количестве $11.1 \times 10^3 \times 1.4 \times 10^5 = 15.5 \times 10^8$ особей. Из формулы $N = 98.214e^{0.451T}$ получаем количество дней, необходимых для заселения 1 м^3 КСА-подобного субстрата нематодами:

$$T(\text{дней}) = \text{LN}(15.5 \times 10^8 / 98.214) / 0.451 = 36.8 \text{ дней}$$

Таким образом, при благоприятных температурных условиях (не ниже 21°C) и наличии грибной пищи, ассоциация нематоды-гриб способна занимать 1 м^3 КСА-подобной среды (состав КСА: вода, 2 % агара, около 2 % сахара и около 20 % картофельного крахмала) в течение примерно 37 дней. Древесина схожа со средой КСА по содержанию крахмала и сахаров (Chow et al., 2004), но имеет более сложный состав (лигнины, целлюлоза, терпеноиды и др.).

Время заселения ствола нематодой – это важный параметр, поскольку средняя дневная температура самого теплого 30-дневного периода 20°C и выше, в сочетании с засухой менее 600 мм осадков/год является критически важной для проявлений вилта деревьев, вызываемого стволовыми нематодами, вызываемых видами р. *Bursaphelenchus* (Mamiya, 1984; Rutherford, Webster, 1987; Braasch, Enzian, 2003; Mamiya, 2003; Webster, 2003; Yang, 2003; Кулинич, Рысс, 2006; Ахматович, Рысс, 2009; Рысс, Мокроусов, 2014; Чалкин и др. 2022). Поскольку теплый период (20°C и более) в зоне умеренного климата России и Беларуси длится не менее 30 сут, то возможно заселение ствола бурсафеленхами и их синергистами за 1-2 года.

Сворминги

Перемещение нематод из КСА вверх в МГ происходило вытянутыми нитевидными группами по трекам, обозначенным на поверхности чашек Петри пятнами слизи и водного конденсата. На нижней поверхности крышки нематоды образуют подвижные шаровидные роевые группы из 20-200 особей. Мы не изучали стимулы миграции, но наблюдения за миграцией показали, что она началась в конце периода 1G и продолжалась до конца популяционного цикла, миграция происходила по общим путям для групп нематод, самопроизвольное образование клубков нематод было отчетливым, в клубках спаривание и яйцекладка происходили в течение первых 6 часов после миграции нематод наверх.

Продолжительность жизни нематод

Для популяционной модели продолжительность жизни самок является одним из наиболее важных параметров, в особенности продолжительность активной яйцекладки самок. На Рисунках 56 и 57 показано, что нематода провела часть своего онтогенеза (1G) от яйца до взрослой особи в среде КСА + гриб, а затем основная масса взрослых нематод и J4 мигрировала вверх, и самки прекратили яйцекладку в течение первого дня после миграции, причем нематоды перестали питаться в МГ. Продолжительность жизни в фазе миграции зависела от температуры. В холодильнике при +4°C нематоды могли выживать и служить инокулятом для новой культуры в течение 6-12 мес. При комнатной температуре 21-23 °C продолжительность миграционной "голодной" фазы онтогенеза составляла примерно 2-4 недели 3 (2-4) G.

Рисунок 56 можно использовать для расчета продолжительности первой (яйце-продуцирующей) фазы онтогенеза самок: численность самок достигла пика на 11 сут (2G). Это означает, что большинство яйце-продуцирующих самок в культуре КСА + гриб были самками второго поколения, они прекратили яйцекладку на 27 день (4.5G; Таблица 26), что указывает на максимальный период индивидуального размножения $27-11=16$ дней (2.7G). Таким образом, при температуре 22 (21-23) °C продолжительность жизни

самок была ограничена $1G + 2.7G + 3G = 6.7G$, или 40 сут. Продолжительность жизни самки была наименьшей, когда нематода мигрировала вверх из среды КСА сразу после последней линьки (1G) и затем выживала в МГ только 2 недели (минимальный срок выживания без пищи), при этом минимальная продолжительность жизни составила $1G + 2G = 3G$, т.е. 18 сут.

Индивидуальное развитие и параметры репродукции фитомикопаразита *Aphelenchoides cf. eldaricus in vitro*

Диагностика стадий постэмбрионального развития была представлена ранее. Диаграмма динамики популяции в течение первого поколения и хронология стадий развития приведены в Таблице 27 и на Рисунке 60. Продолжительность отдельных стадий онтогенеза статистически достоверно отличалась ($p < 0,05$).

Таблица 27 Параметры онтогенеза (сут) *Aphelenchoides cf. eldaricus* (Ryss, Polyaniina, 2022)

Стадия \ Время от инок.	n	Популяционные исследования	Время $2 \times N$ (Fi)	Пик линьки и вылупления
Начало яйцекладки	368	4.6 ± 0.9 (3-5)	5	5
J2	400	6.6 ± 1.0 (6-8)	6,7	6,7
J3	707	7.5 ± 1 (7-9)	8	7,8
J4	1184	8.8 ± 1.3 (8-10)	9	9
G-♀	105	9.5 ± 1.2 (9-11)	9	9,10
G-♂	681	10.5 ± 1.5 (9-11)	11	9,10,11
F(G)	10	1.32 ± 0.63 (0.51-2.28)	—	—

Значения выражены как: среднее $\pm$ стандартное отклонение (диапазон). J2, J3, J4 - личинки второй, третьей и четвертой стадии, соответственно. G - количество сут в одном поколении; сроки развития популяции после инокуляции 50 взрослых особей: 44 самки и 6 самцов; n = количество особей во время мониторинга. F(G) - плодовитость, т.е. количество яиц в день, откладываемых одной самкой, рассчитанное за весь период первого поколения

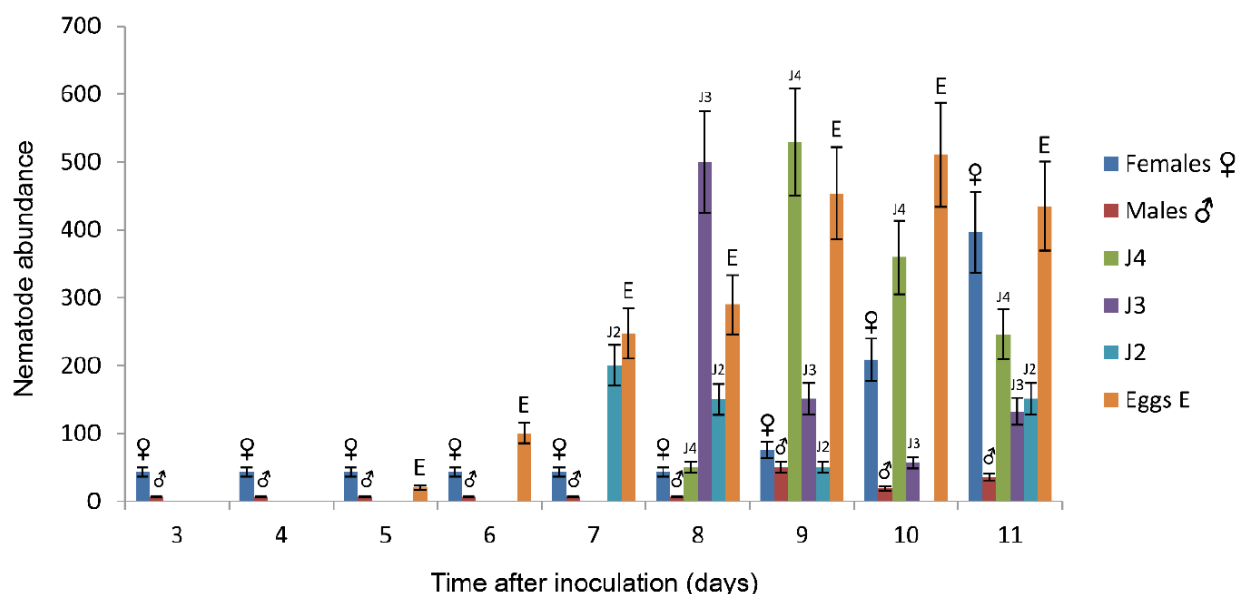


Рисунок 60 Динамика развития популяции *Aphelenchoides* cf. *eldaricus* в течение первого поколения. Инокулят: 50 половозрелых особей нематод (соотношение 88%:12%). J2, J3, J4 – личинки второй, третьей и четвертой стадии соответственно. n = 10 (количество чашек Петри). Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, Polyagina, 2022)

Популяционная динамика

Динамика численности популяции показана на Рисунке 61. Пик численности самок и общей численности популяции был достигнут на 21 день после инокуляции (2G), затем наблюдалось резкое снижение до 35-го дня, за которым последовало плавное снижение до конца наблюдений. Это снижение было связано с массовой миграцией нематод на крышки чашек Петри, поскольку снижение численности нематод в среде КСА между 21 и 28 днями соответствовало недельному увеличению числа нематод в МГ (Рисунки 61, 62). Появление нематод в МГ происходило после 12-13 сут (примерно 1G+1 день), пик численности МГ был достигнут на 28 день (примерно 3G), что на 7 дней (т.е. менее чем на 1G) позже, чем пик численности в среде КСА.

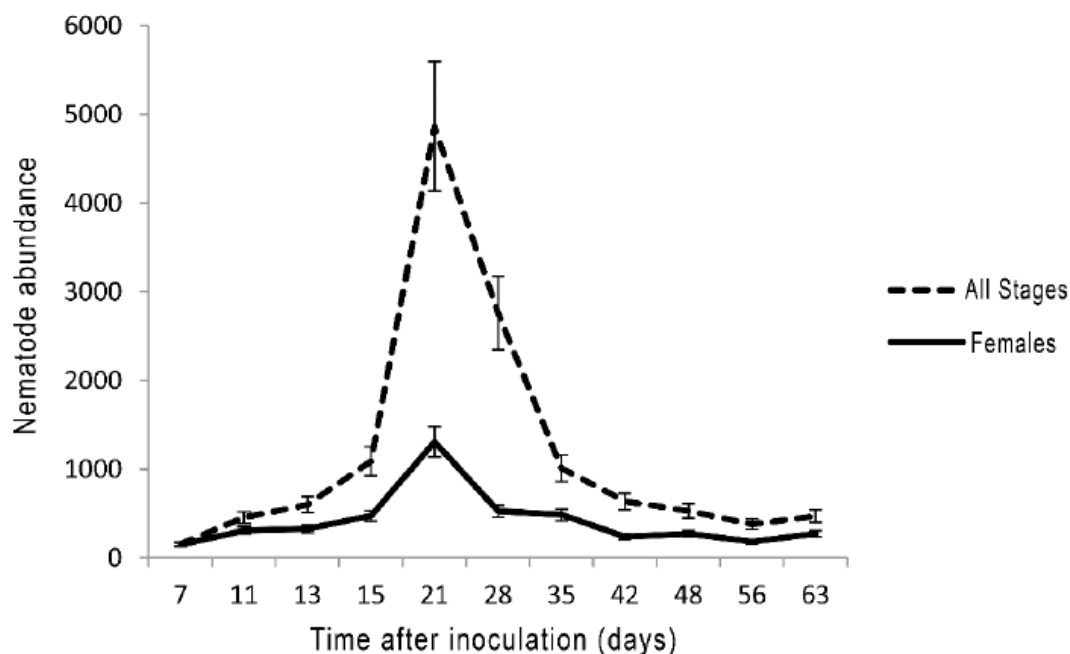


Рисунок 61 *Aphelenchoides* cf. *eldaricus*. Динамика популяции в среде КСА. Инокулят 150 взрослых особей (131 самка и 19 самцов). $n = 20$ (количество чашек Петри). Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, **Polyanina**, 2022)

В Таблице 28 представлены пропорции (доли) стадий онтогенеза. В среде КСА продуцирование яиц самками прекратилось через 21 сут (2G, дата пика популяции в КСА), в МГ самки также почти прекратили яйцекладку к 28 сут (2.5G, дата пика популяции в МГ). На протяжении всего популяционного цикла доля личинок J2 увеличивалась в КСА. К 63 дню (завершение популяционного цикла, 6G) доля зрелых осемененных самок значительно увеличилась в МГ и КСА по сравнению с более ранними датами, их доля в популяции составила около 92% и 33%, соответственно. Эти данные свидетельствуют о преобладании самок как возможной специфической стадии выживания в конце популяционного цикла. В день пика популяции (21 день) личинки 4 стадии (J4) становится доминирующей стадией в КСА.

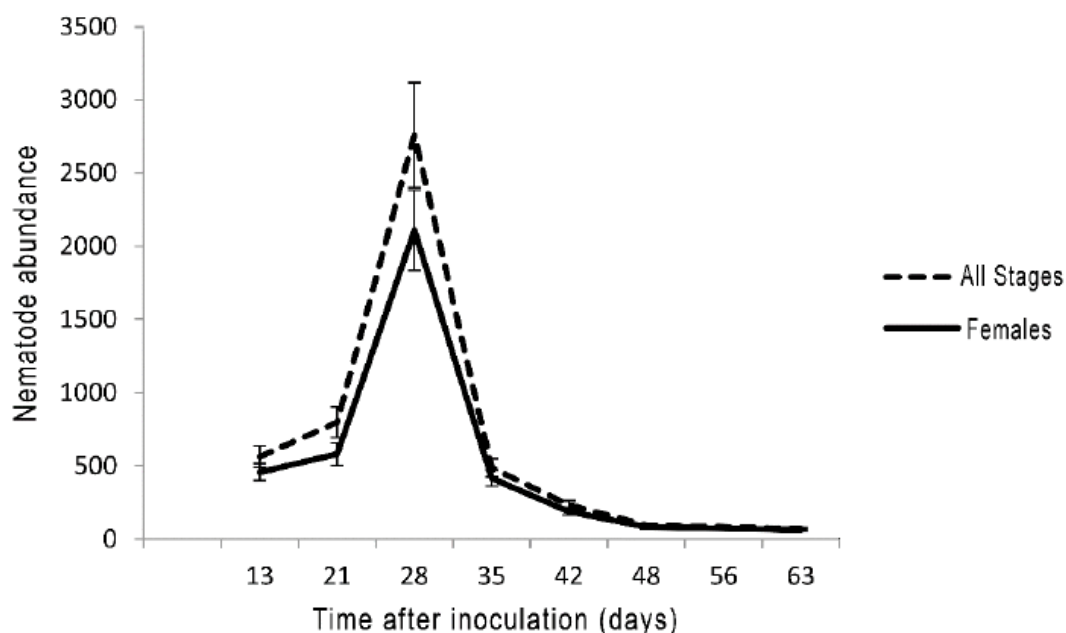


Рисунок 62 *Aphelenchoides* cf. *eldaricus*. Динамика популяции в мигрирующей группе (МГ) на нижней стороне крышки чашки Петри. Инокулят 150 взрослых особей (131 самка и 19 самцов), $n = 20$ (количество чашек Петри). Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Таблица 28 Пропорции различных стадий онтогенеза *Aphelenchoides* cf. *eldaricus* в наиболее важные фазы динамики популяции. Данные приведены как среднее $\pm$ стандартное отклонение на чашку Петри, для миграционной группы (МГ) приведена численность 7-дневных смывов (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Время от инок.	КСА среда					МГ на нижней стороне крышки чашки Петри			
	Инокулюм	11 дней (G)	27 дней*	28 дня	63 дня	14 дней***	21 день	28 дней*	63 дня
Стадия									
п	20	20	20	20		20	20	20	20
яйца	0	35.8 $\pm$ 10.6	0	1.4 $\pm$ 0.6	0	6.8 $\pm$ 2.5	5.7 $\pm$ 1.5	0.9 $\pm$ 0.5	0
J2**	0	3.3 $\pm$ 1.1	2.8 $\pm$ 1.5	35.5 $\pm$ 8.1	21.8 $\pm$ 5.2	9.9 $\pm$ 1.4	16.5 $\pm$ 1.8	9.0 $\pm$ 3.3	2.0 $\pm$ 0.5
J3	0	1.7 $\pm$ 0.8	0	22.8 $\pm$ 4.7	0	9.7 $\pm$ 2.1	1.1 $\pm$ 0.5	3.2 $\pm$ 0.7	0
J4	0	13.3 $\pm$ 4.1	64.9 $\pm$ 11.6	16.9 $\pm$ 4.8	10.4 $\pm$ 4.0	23.2 $\pm$ 6.4	2.5 $\pm$ 1.5	5.5 $\pm$ 1.7	2.4 $\pm$ 0.8
Самки	88	42.5 $\pm$ 10.1	28.0 $\pm$ 7.1	17.7 $\pm$ 8.0	33.0 $\pm$ 10.1	45 $\pm$ 17.3	68.3 $\pm$ 2.5	75.4 $\pm$ 4.7	91.9 $\pm$ 7.5
Самцы	12	3.3 $\pm$ 1.4	4.3 $\pm$ 1.3	5.6 $\pm$ 2.1	1.9 $\pm$ 0.7	5.2 $\pm$ 1.8	5.8 $\pm$ 2.3	6.3 $\pm$ 1.3	3.8 $\pm$ 1.3

* Пик численности; ** J2, J3, J4 – личинки второй, третьей и четвертой стадий, соответственно; *** Первое появление нематод на верхней крышке чашки Петри

Расчет скорости яйцекладки из графика динамики численности (до достижения максимума численности популяции)

Опыты с наблюдением за яйцекладкой в прозрачном агаре или на верхней крышке (половозрелые самки, $n=50$, из суточного смыва МГ оставленные на дополнительные 1 сут.) не дали результата для оценки скорости яйцепродукции – при отсутствии источника питания нематоды сразу перестают откладывать яйца. Замечено, что самки откладывают яйца лишь в течение первых 6 часов после выхода в МГ. Поэтому реальную скорость яйцепродукции можно оценить только для нематод в агаровой среде с обилием пищи, в период от 1G до 2G (т.е. в период активного экспоненциального роста численности популяции). В этот период можно полагать, что прирост численности популяции за период $T=t_1-t_2$, $\delta = N_{\text{all}}(t_2)-N_{\text{all}}(t_1)$ – это результат продукции числа тех самок, которые имелись в популяции в начале периода, т.е. в момент t_1 . Соответственно, суточную яйцепродукцию F можно оценить по формуле:

$$F = [\delta / N_{\text{Fem}}(t_1)] / T$$

Плодовитость F составила $1.3 \text{ яйца} \times \text{сут}^{-1}$ при 10 измерениях (на одну самку в сут) (Таблица 27, F(G)). По мере приближения популяции к пику численности (с 11-го по 21-й день) скорость яйцекладки снизилась с 2.3 до 0.5 яиц на самку в сут.

Математическая модель динамики численности

В период активного роста популяции (до 21-го дня, 2G) динамика численности самок и общей численности в среде КСА может быть выражена экспоненциальной математической моделью (Рисунок 63 А, В).

Для общей численности:

$$N = 87.877e^{0.1723T}; R^2 = 0.9389; F = 61.4793; P = 0.0014; df = 5;$$

Для самок:

$$N = 84.918e^{0.1187T}; R^2 = 0.9255; F = 49.7001; P = 0.0021; df = 5.$$

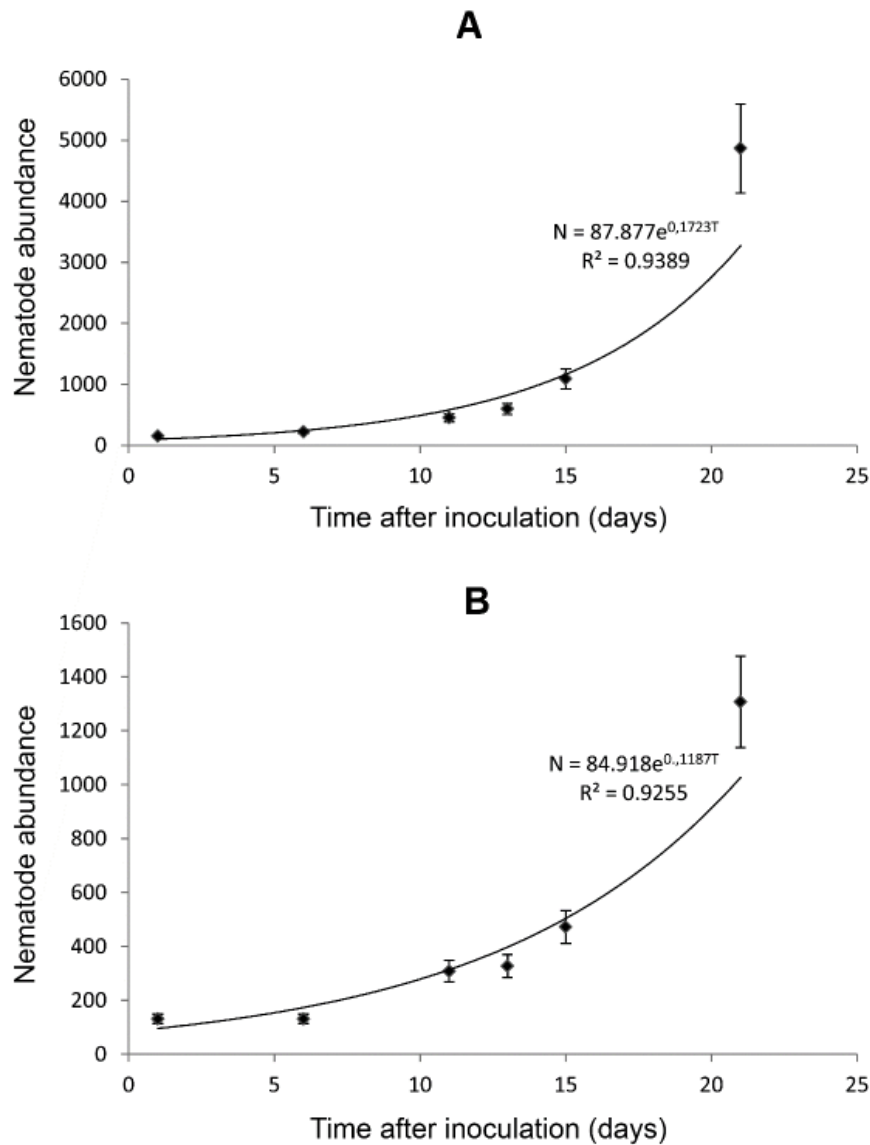


Рисунок 63 *Aphelenchoides* cf. *eldaricus*. Динамика популяции в среде КСА. А – динамика общей численности $N = 87.877e^{0.1723T}$, $R^2 = 0.9389$; $F = 61.4793$; $P = 0.0014$; $df = 5$. В – динамика численности самок $N = 84.918e^{0.1187T}$, $R^2 = 0.9255$; $F = 49.7001$; $P = 0.0021$; $df = 5$. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, **Polyanina**, 2022)

Экспоненциальная модель применима и для МГ фракции, для самок и общей численности нематод, но с сдвигом 7 сут (чуть более 1G) по времени (Рисунок 64 А, В).

Для динамики общей численности в МГ:

$$N = 121.3e^{0.1072T}; R^2 = 0.956; F = 43.4232; P = 0.0223; df = 3;$$

и для динамики числа самок в МГ:

$$N = 100.57e^{0.1034T}; R^2 = 0.9317; F = 27.2838; P = 0.0348; df = 3.$$

Расчет времени колонизации 1 м³ КСА-подобного субстрата ассоциацией стволовой нематоды и гриба (T)

Экспоненциальные модели применимы для определения времени, когда ассоциация нематод и грибов может заполнить 1 м³ объем КСА в условиях окружающей среды, аналогичных условиям эксперимента. Расчет может быть выполнен путем простого обратного преобразования экспоненциальной формулы численности в формулу для расчета времени T .

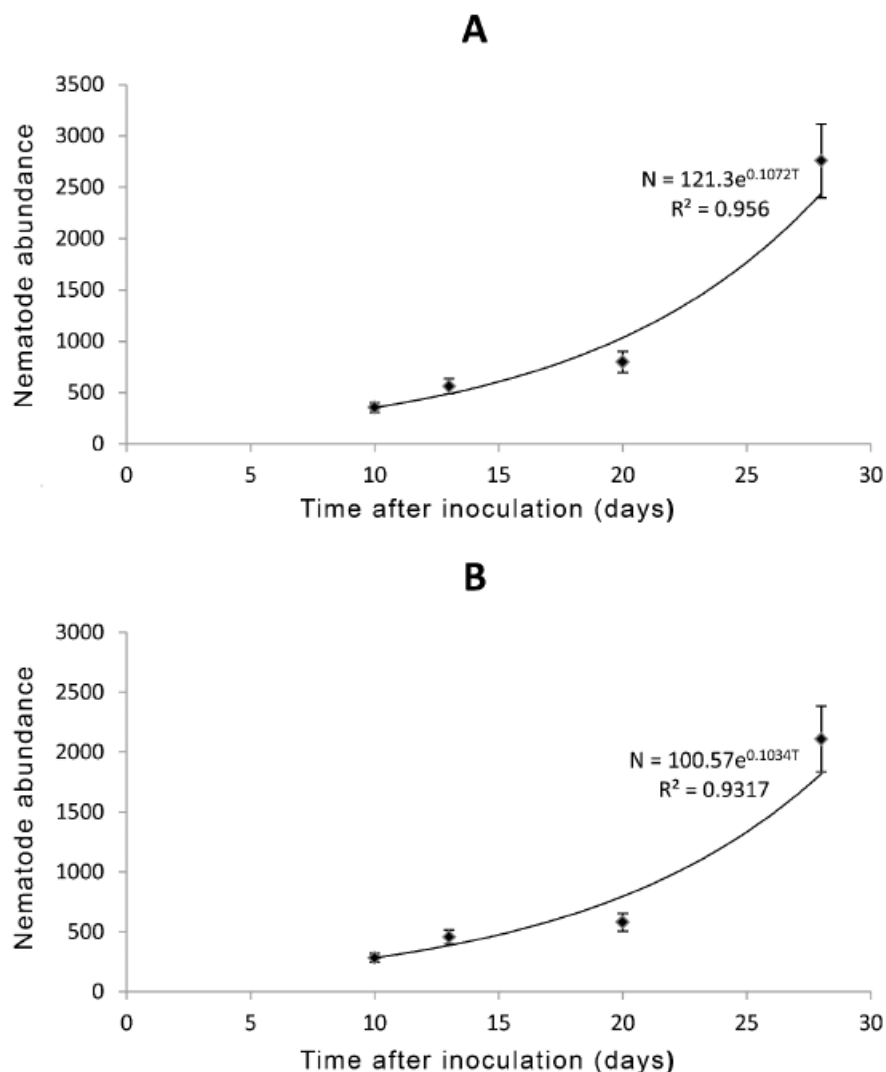


Рисунок 64 Миграционная группа (МГ) *Aphelenchoides cf. eldaricus* на нижней стороне крышки чашки Петри. А – динамика общей численности, $N = 121.3e^{0.1072T}$, $R^2 = 0.956$; $F = 43.4232$; $P = 0.0223$; $df = 3$. В – динамика численности самок, $N = 100.57e^{0.1034T}$, $R^2 = 0.9317$. $F = 27.2838$; $P = 0.0348$; $df = 3$. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (Ryss, Polyana, 2022)

Объем среды КСА в чашке Петри составлял 7.12 см^3 (внутренний диаметр чашки Петри $d=5.5 \text{ см}$, толщина слоя агара $h=3 \text{ мм}$, по формуле объем слоя КСА в чашке Петри $\pi d^2/4 = 7.12 \text{ см}^3$). Субстрат $1.0 \text{ м}^3 = 1.0 \times 10^6 \text{ см}^3$, что соответствует 1.4×10^5 объемам слоя КСА на чашку Петри. На 21-й день после инокуляции популяция достигла пика, составив в среднем 4.86×10^3 особей нематод (Рисунок 61), в это время среда КСА была полностью заселена нематодами.

Следовательно, для заполнения 1 м^3 КСА-подобного субстрата требуется популяция нематод в количестве $(4.86 \times 10^3) \times (1.4 \times 10^5) = 6.8 \times 10^8$ особей. Из формулы $N = 87.877e^{0.1723T}$ получаем количество дней, необходимых для заполнения 1 м^3 КСА-подобного субстрата нематодами:

$$T(\text{сут}) = \text{LN}(6.8 \cdot 10^8 / 87.877) / 0.1723 = 92.1 \text{ сут}$$

Таким образом, при благоприятных температурных условиях и наличии грибной пищи, ассоциация нематоды-гриб способна заполнить 1 м^3 КСА-подобной среды (состав КСА: вода, 2 % агара, около 2 % сахара и около 20 % картофельного крахмала) в течение примерно 92 дней. Древесина схожа со средой КСА по содержанию крахмала и сахаров (Chow et al., 2004), но имеет более сложный состав (лигнины, целлюлоза, терпеноиды и др.). Учитывая, что количество дней в году со средней температурой выше 21°C в умеренном климатическом поясе России колеблется от 25 до 31 сут (согласно расчету самого теплого 30-дневного периода в июле-августе за последние годы), следует, что нематодно-грибковая ассоциация способна полностью заселить древесину дуба (1 м^3) примерно в течение 3 лет. В разделе по динамике популяции *Bursaphelenchus willibaldi* указаны климатические параметры рисков нематодозов видов деревьев, возрастающие при средней температуре самого теплого месяца выше 20°C и малом количестве осадков (по модели Braasch, Enzian, 2003 и др.)

Сворминги

Перемещение нематод из среды КСА в МГ происходило группами нематод по их спиральным трекам, обозначенным на поверхности чашек Петри слизистыми выделениями червей и водным конденсатом. На поверхности крышки нематоды образуют шевелящиеся шарообразные клубки – сворминги (роевые группы) из 10-80 особей. Мы не изучали стимулы миграции, но сама миграция начиналась в конце периода 1G и продолжалась до конца популяционного цикла. Миграция происходила по общим путям для групп нематод, и роение было очевидным, в котором спаривание и яйцекладка происходили в течение первых 5-6 час после миграции нематод на нижнюю поверхность крышки чашки Петри.

Продолжительность жизни нематод

Наиболее важным параметром для популяционной модели является продолжительность жизни самок, и особенно продолжительность активной яйцекладки самок. На Рисунке 61 и 62 показано, что нематоды проводят часть своего онтогенеза (1G) от яйца до взрослой особи в засеянной грибом среде КСА, а затем основная масса взрослых нематод и старших личинок J4 мигрирует вверх, после чего самки прекращают яйцекладку в течение первого дня после миграции, также нематоды в МГ перестают питаться. Продолжительность жизни в миграционной фазе (МГ) зависела также и от температуры. В холодильнике при +4°C нематоды могли выживать и служить инокулятом для новой культуры в течение 6-12 месяцев. При комнатной температуре миграционная "голодная" фаза онтогенеза длится примерно 2-4 недели (в среднем 3 недели, 2G). Важно, чтобы суспензия живых нематод находилась в условиях доступа кислорода: в чашке Петри – в водяной пленке на верхней крышке, а в пробирке – в минимальном объеме воды: не более 250 мкл в 1.5 мл пробирке. В пробирке, полностью заполненной водой, нематоды погибали в течение 2 сут как при +4°C, так и при 21-23°C. Для длительного

выживания нематоды должны находиться без агаровой среды или органики, просто в чистой водопроводной воде.

Рисунок 61 можно использовать для расчета продолжительности первой (яйце-продуцирующей) фазы онтогенеза самок: численность самок достигла пика на 21 сут, т.е. за период 2G. Это означает, что большинство яйцекладущих самок в культуре *B. cinerea*-КСА были самками второго поколения, они прекратили яйцекладку на 21 сут (2G; Таблица 28), что указывает на максимальный период индивидуального размножения $21 - 11 = 10$ сут (1G). Таким образом, при комнатной температуре (21-23°C) продолжительность жизни самок была ограничена $1G + 1G + 2G = 4G$, или 44 сут. Продолжительность жизни самки была самой короткой в том случае, когда нематода мигрировала вверх из среды КСА сразу после последней линьки (1G) и затем выживала в МГ только три недели, с минимальной продолжительностью жизни $1G + 2G = 3G$, т.е. 33 сут.

Таблица 29 Основные параметры онтогенезов 4 модельных видов нематод

	<i>P. detritophagus</i>	<i>R. ulmi</i>	<i>Aphelenchoides</i> cf. <i>eldaricus</i>	<i>B. willibaldi</i>
Трофическая специализация	бактериотроф	бактериотроф	мико-фитотроф	мико-фитотроф
n*	20	20	20	20
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) не известно	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 заселения 1м ³ древесины хозяина **	20.2 сут, или 1 г.	76.9 сут или 2-3 г.	97 сут или 4 г.	37 сут или 1-2 г.

*) n= число чашек Петри, по которым сделан перерасчет соответствующих параметров для одной самки. Данные приведены в формате: среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (минимум-максимум).

**) Рассчитана по формуле экспоненциального роста популяций нематод *in vitro* (достижения пика численности при занятии объема среды КСА с близкими древесине концентрациями основных питательных веществ – сахаров и крахмала).

Заключение

Впервые, на четырех модельных видах стволовых нематод, входящих в патогенные ассоциации «нематода-насекомое-грибы-бактерии», убивающие древесные растения и разрушающие древесину, выявлены параметры онтогенеза патогенов с одновременным количественным анализом и моделированием их популяционного цикла *in vitro*. В результате изучения циклов 4 видов нематод (2 бактериотрофа и два фито-микопаразита в каждой трофической паре один энтомохорный, и один с простым циклом без переносчика) впервые реализован пошаговый подход одновременного изучения параметров динамики популяций и сроков различных фаз онтогенеза: время одной генерации от яйца до яйца; продолжительность популяционного цикла в условиях первоначального изобилия пищи; сроки линек; суточная плодовитость самок; стадии диапаузы и дисперсии пропативного поколения; наличие энтомохорной трансмиссивной личинки и её отличие от пропативной дисперсионной стадии; способность к формированию миграционной группы у фито-микопаразитов как завершающей фазы жизненного цикла; фертильный период и общая продолжительность жизни самок; пики численности для субстратной и мигрирующей (трансмиссивной) частей популяции (Таблица 29). Показано, что по завершении популяционного цикла нематоды формируют клубки-агрегации из особей стадии выживания (диапаузы). Построены экспоненциальные модели роста популяции на этапе заселения субстрата и на основании параметров этих моделей выявлены сроки, необходимые для заселения и разложения 1 м³ древесины модельными видами нематод и их симбионтами (бактериями и грибами). Результаты исследования позволят в будущем создать модели потоков биомассы и энергии через популяции нематод в детритной экосистеме леса. Сравнительный анализ циклов модельных видов впервые выявил существенные отличия 4 патогенных видов в стадиях выживания и трансмиссии (яйца, или личинки 3 или 4 стадии, или

осемененные самки), плодовитости и времени генерации, как критериев специализации онтогенезов в системе паразит-хозяин.

Публикации по разделу 3.4

Статьи: Polyanina, Ryss, 2021; Ryss, Polyanina, 2022a, 2022b, 2022c.

3.5 Отношения паразит-хозяин: фитотесты

Нематоды рода *Bursaphelenchus* это патогены карантинного значения; они привлекают к себе повышенное внимание исследователей в связи с возрастающим экспортом лесоматериалов из РФ и перевозкой больших объемов необработанной древесины. Нами были предложены новые подходы к выявлению наличия у нематод рода *Bursaphelenchus* независимой от предпочтений жуков-переносчиков специфичности к природным растениям-хозяевам. Разработанная методика постановки лабораторных тестов была протестирована на трех видах нематод рода *Bursaphelenchus* принадлежащих к разным филогенетическим группам: *B. mucronatus* (гр. *Xylophilus*), *B. crenati* (гр. *Sexdentati*) и *B. ulmophilus* (гр. *Hofmanni*).

Поэтапное описание постановки экспериментов дано в разделе 2.8 Методики фитотестов.

В результате проведенного эксперимента при участии вида *B. mucronatus* было обнаружено, что рост популяции среди протестированных растений-хозяев наблюдался только в природном растении-хозяине – *Pinus sylvestris* (сосна обыкновенная). Остальные растения-хозяева показали значительное снижение численности популяции по сравнению с инокулятом (Рисунок 65). Вилт на черенках сосны проявлялся в 100 %, в то время как заражение ели привело к 30 % вилту. У лиственных растений признаки вилта отсутствовали. Контрольные растения сохраняли 100 % вегетацию в течение 45 сут, без симптомов вилта. Таким образом, можно сделать вывод, что специфичность вида *B. mucronatus* к растениям-хозяевам определяется не только предпочтениями жука-переносчика, но и собственными адаптациями вида нематод к преодолению иммунных барьеров их природного растения-хозяина – *P. sylvestris* (Сосна обыкновенная).

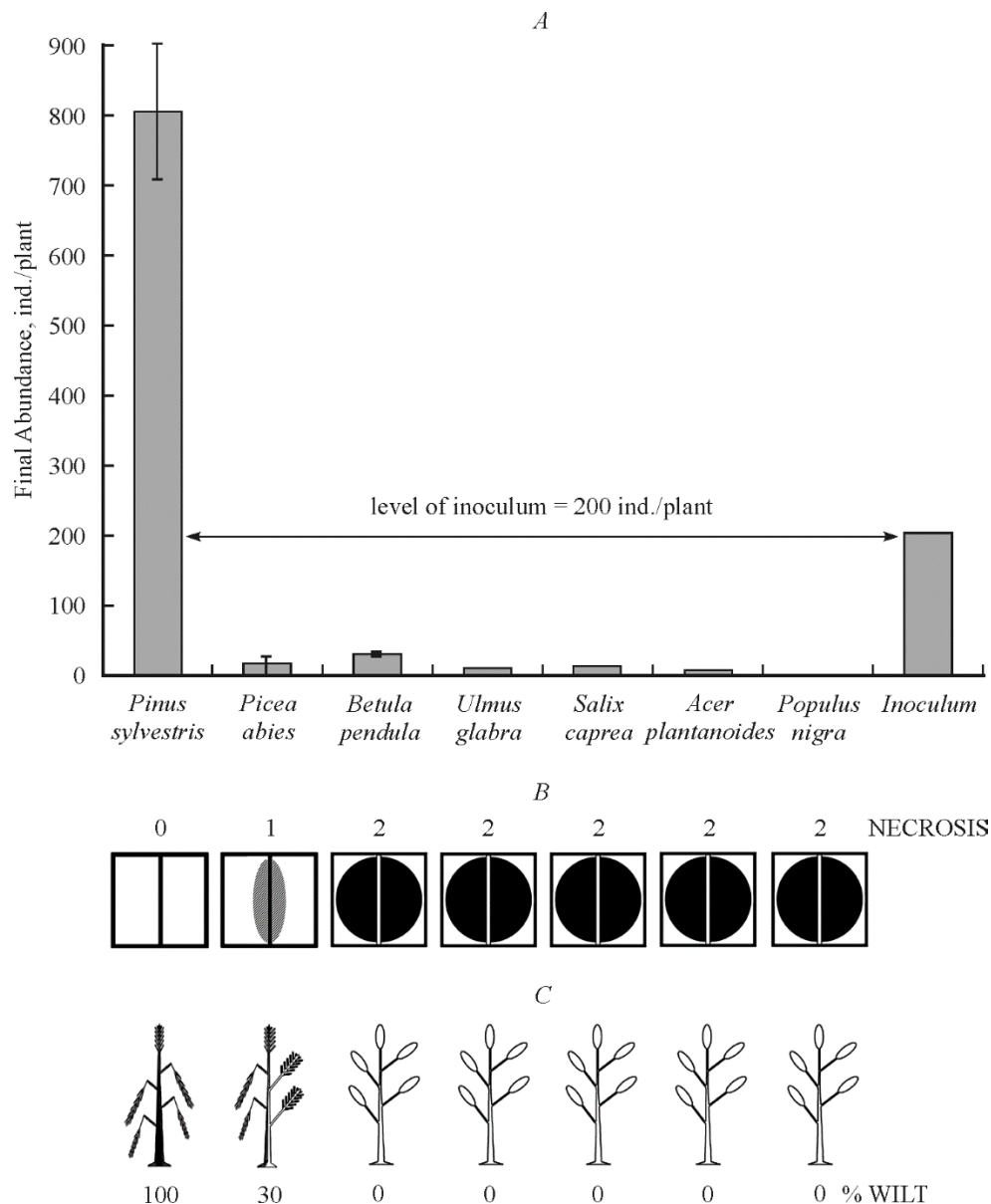


Рисунок 65 *B. mucronatus*. Тест на патогенность и специфичность круга хозяев. Ось ординат: финальная численность нематод на растение. А: ось абсцисс: растения-хозяева. Горизонтальная линия со значением 200 маркирует величину инокулята (200 особей на растение). Планки погрешностей обозначают стандартные отклонения для каждого среднего значения финальной численности нематод на один саженец ($n = 20$); В: иммунная реакция; С: степень вилта (Ryss, **Polyanina** et. al., 2018)

В эксперименте с *B. ulmophilus* обнаружено, что статистически достоверно превышение численности над инокулюмом выявлено для четырех экспериментальных хозяев *P. nigra* (Тополь чёрный), *P. sylvestris* (Сосна обыкновенная), *L. decidua* (Лиственница европейская) и *A. sibirica* (Пихта сибирская), причем финальные численности нематод в двух последних растениях-хозяевах статистически не различаются. Превышение над

численностью инокулюма показали также *U. glabra* (вяз шершавый) и *Q. robur* (дуб черешчатый), однако эти отличия статистически недостоверны при пороге нулевой гипотезы $p < 0.05$, хотя финальная численность нематод на вязе находится вблизи этого порогового значения (Рисунок 66).

Следовательно, вид *B. ultmorphilus* специфичен к природному растению-хозяину, а не только к виду переносчика, а также способен размножаться в стволах других растений-хозяев, которые не используются паразитом как природные хозяева, поскольку не посещаются жуком переносчиком фитонематоды.

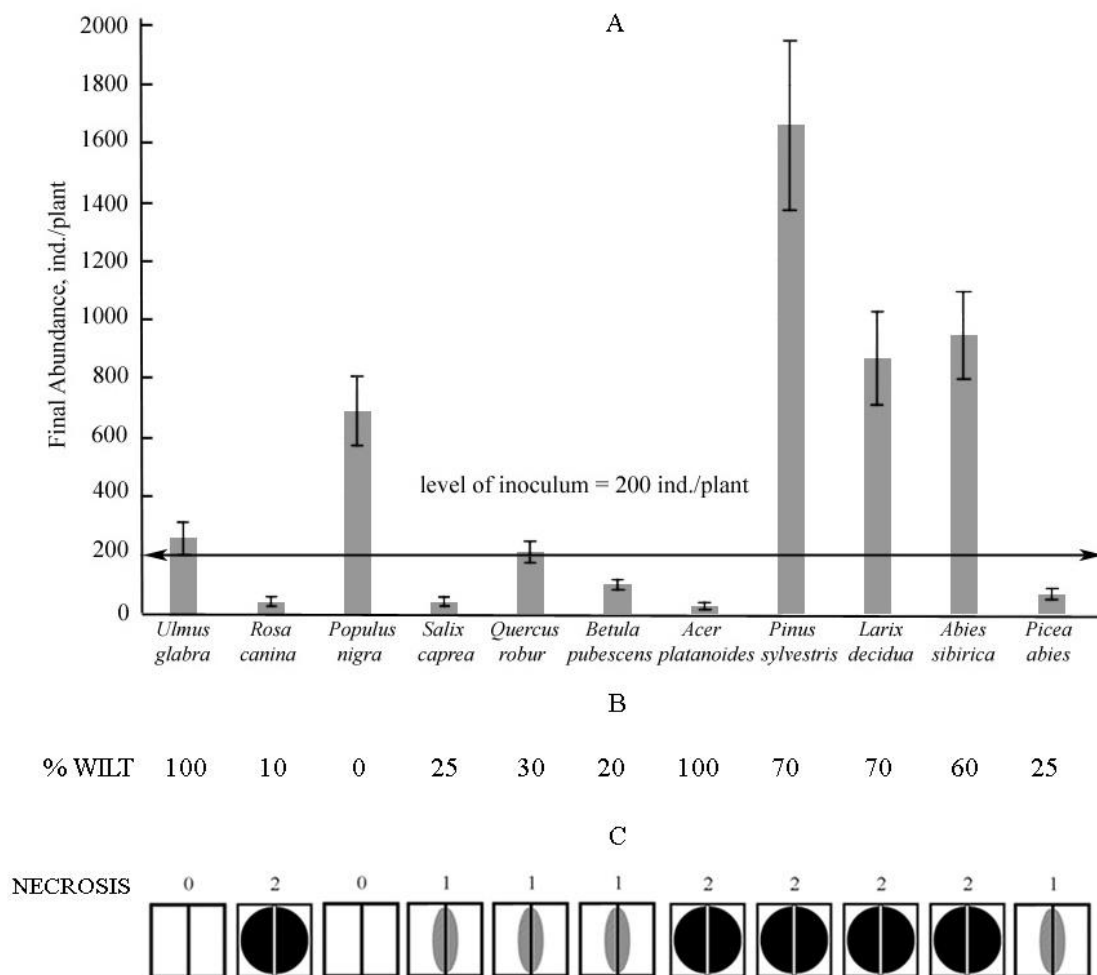


Рисунок 66 *B. ultmorphilus*. Тест на патогенность и специфичность круга хозяев. А: ось ординат: финальная численность нематод на растение; ось абсцисс: растения-хозяева. Горизонтальная линия со значением 200 маркирует величину инокулята (200 особей на растение). Планки погрешностей обозначают стандартные отклонения для каждого среднего значения финальной численности нематод на один саженец ($n = 20$); В: степень вилта; С: иммунная реакция

Эксперимент при участии *B. crenati* показал, что этот вид успешно размножается в природном растении-хозяине *F. excelsior*. Финальная численность нематод значительно превышает внесенное количество инокулюма, это является критерием успешного размножения. Статистически достоверно превышение численности над инокулюмом выявлено также для *P. sylvestris* (сосна обыкновенная), *U. glabra* (вяз шершавый), *P. nigra* (тополь чёрный) (Рисунок 67). Эти потенциально восприимчивые хозяева, однако, не посещаются специфичными жуками переносчиками *B. crenati*. Степень вилта и иммунная реакция в эксперименте с *B. crenati* не учитывались.

Заключение

Экспериментально доказано, что паразитические виды рода *Bursaphelenchus* обладают статистически достоверной специфичностью к своему природному растению-хозяину. Это дополняет представления о специфичности паразитов: до сих пор филогению бурсафеленхов по молекулярным данным обосновывали только предпочтениями переносчиков нематод на уровне рода, а умирающее растение-хозяин считали субстратом для второго хозяина нематод – мицелия фитопатогенного гриба. Факт того, что некоторые патогенные виды способны быстро размножиться в видах растений, которые не служат природными хозяевами, указывает на риск становления новых патогенных систем паразит-хозяин на основе скрытых резервуарных хозяев и нового инвазивного переносчика.

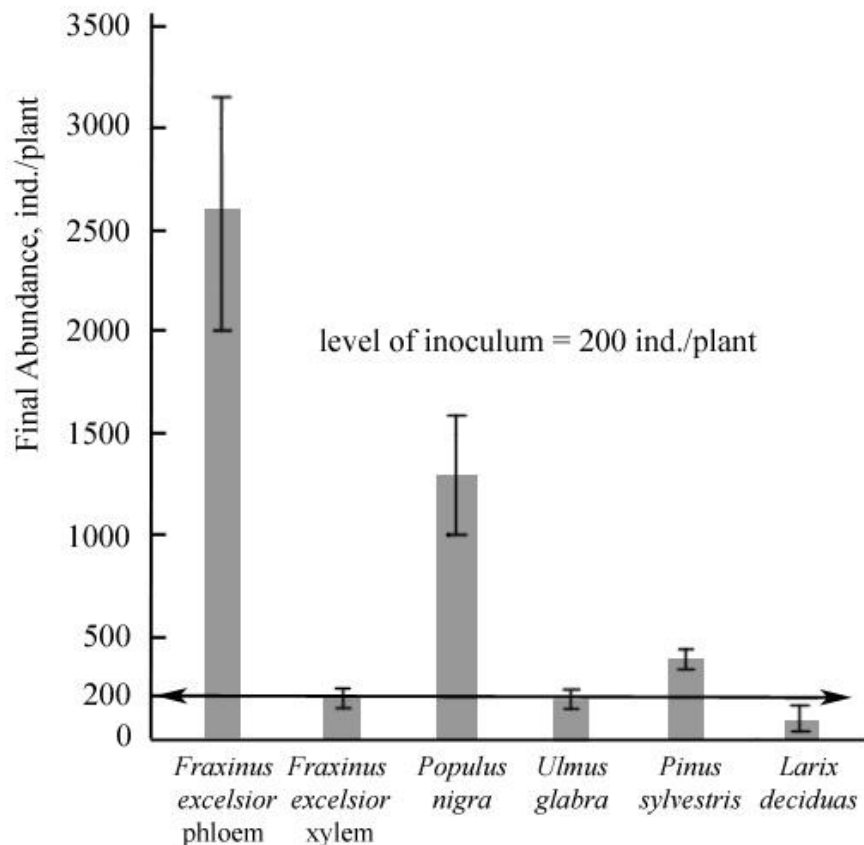


Рисунок 67 *B. crenati*. Тест на специфичность круга хозяев. Ось ординат: финальная численность нематод на растение; ось абсцисс: растения-хозяева. Горизонтальная линия со значением 200 представляет собой величину инокулята (200 нематод на одно растение). Планки погрешностей обозначают стандартные отклонения для каждого среднего значения финальной численности нематод на один саженец ($n = 20$) (Ryss, **Polyanina** et. al., 2018)

Публикации по разделу 3.4

Статья: Ryss, Polyanina et al., 2018b.

Тезисы Рысс, Полянина, Скрыбина, 2018.

Заключение

Недостаточная изученность фитогельминтов важнейших коммерческих и декоративных видов лиственных деревьев предопределила направление нашего исследования. По степени связи с переносчиками выделены экогруппы стволовых нематод; для каждого вида дерева определены как потенциальные агенты трансмиссивных эпифитотий, так и комменсалы, а также виды-антагонисты насекомых, которых в перспективе можно использовать для биоконтроля переносчиков. Потенциально наиболее опасными для растений являются виды патогенного рода *Bursaphelenchus*. Показано, что разные филетические линии (группы видов) *Bursaphelenchus* используют разные трансмиссивные стадии (дауеров) для своего энтомохорного распространения, что обусловлено их адаптациями к разным семействам переносчиков (короедов или усачей).

В ходе исследования выявлены новые молекулярные признаки. Использование методов световой, лазерной (конфокальной) микроскопии и СЭМ, позволило выявить важные новые признаки (паттерны папилл переднего отдела и каудального хвоста самца, половые мышцы и их гомологии, строение половой системы нематод и варианты морфогенеза полового зачатка у личинок разных полов нематод). Показаны существенные отличия (редукции) в строении глотки у трансмиссивных стадий паразитов (*Bursaphelenchus*) и комменсалов (*Rhabditolaimus*).

В ходе экспериментов *in vitro* впервые реализован пошаговый подход одновременного изучения параметров динамики популяций, и определены сроки ключевых фаз жизненного цикла: время одной генерации; сроки линек; суточная плодовитость самок; стадии диапаузы и дисперсии пропативного поколения; наличие энтомохорной трансмиссивной личинки и её отличие от пропативной дисперсионной стадии; продолжительность жизни самок,

продолжительность популяционного цикла в условиях первоначального изобилия пищи; способность к формированию миграционной группы дисперсии.

Впервые установлено, что динамика популяций включает первоначальную фазу экспоненциального роста, а после достижения пика численности происходит медленное угасание популяции за счет интенсивной миграции стадий дисперсии и выживания, а также за счет прекращения репродукции и смертности самок. Это дало возможность впервые построить экспоненциальные математические модели роста популяции в зависимости от времени, и выявить сроки, необходимые для заселения 1 м³ древесины модельными видами нематод и их симбионтами (бактериями и грибами).

В ходе фитотестов *in vitro* впервые экспериментально доказано, что виды рода *Bursaphelenchus* могут иметь собственную специфичность к природному растению-хозяину, которая не обусловлена предпочтениями переносчика.

Углубленное исследование жизненных циклов нематод рода *Bursaphelenchus* впервые дало возможность понять, почему именно представители этого рода потенциально опасны для деревьев. Эти виды входят в патогенные ассоциации, где участвуют как насекомые-переносчики, так и грибы, и бактерии, которых переносят как переносчики, так и сами энтомохорные нематоды, распространяющие микроорганизмы по стволу зараженного дерева. Именно поэтому заселение ослабленного климатическими факторами: (засуха менее 600 мм осадков/год, средняя дневная температура самого теплого 30-дневного периода в году 20 °С и выше) растения-хозяина патогенной ассоциацией с участием нематод, предполагает сумму действий всех членов ассоциации, выступающих как взаимные синергисты, вносящие свой вклад в гибель дерева. Патогенность нематод в данном процессе оппортунистическая, поскольку связана с другими организмами патогенной ассоциации, где в случае лиственных деревьев часто нет главного патогена. Однако при сочетании неблагоприятных условий

климата и оптимального состава ассоциации (новые для растения нематода, переносчик, грибок и бактерия) вредоносность нематод рода *Bursaphelenchus* как возбудителей болезней лиственных деревьев не меньше, чем у гельминтов хвойных, что видно на примере голландской болезни ильмовых (ГБИ) и доказано в проведенных в нашем исследовании фитотестах.

Практические рекомендации по локализации очагов болезней древесных насаждений

1. Группы нематод, относящиеся к энтомопаразитам способны сдерживать размножение переносчика, таким образом обнаруженные нами виды в перспективе могут быть использованы, как агенты биоконтроля (виды родов: *Neoditylenchus*, *Sychnotylenchus*, *Protorhabditis*, *Parasitorhabditis*, *Mesorhabditis*, *Hexatylus*), для этого необходимо усовершенствовать технологии лабораторного культивирования нематод на искусственных микробиологических средах для массового культивирования, вне организмов переносчиков.

2. Разработанные диссертантом диагностические ключи к обнаруженным видам нематод могут служить для диагностики фитонематод, включая фитопатогенов, и могут быть использованы службами лесного карантина.

3. Жуки-переносчики служат ключевым звеном в распространении инфекции, заражая здоровые деревья нематодами, грибами и бактериями единым патогенным комплексом. Своевременная ликвидация заселенных жуками деревьев - главная мера остановки распространения инфекции в лесонасаждениях. Точное определение начала краткого периода лета жуков и локальное применение в этот момент эффективных инсектицидов будет способствовать остановке распространения инфекции на ценные породы деревьев в парках и ботанических садах.

Выводы

1. Группы нематоды, ассоциированные с переносчиком, обладают наибольшим разнообразием жизненных циклов. Фауну ксилобионтных нематод лиственных деревьев следует разделить на экогруппы, из которых потенциальными агентами трансмиссивных эпифитотий служат группы фитопаразитов и комменсалов с высокими темпами размножения, ассоциированные с переносчиками и обладающие особым трансмиссивным поколением.

2. У представителей рода *Bursaphelenchus* личинки особого трансмиссивного поколения, относящиеся к разным филогенетическим группам, отличаются стадией развития, это обусловлено специфичностью нематод к разным семействам переносчиков.

3. Впервые выявлены отличия видов разных экогрупп в стадиях выживания, плодовитости и времени генерации, как критериев специализации в системе паразит-хозяин и паразит-переносчик. В результате применения пошагового подхода исследования динамики популяции и онтогенеза найдены важные отличия следующих параметров, обусловленные типом трофики (бактериотроф или фито-микопаразит) и специализацией к паразитизму: время одной генерации; сроки линек; суточная плодовитость самок; стадии диапаузы и дисперсии пропативного поколения; наличие энтомохорной трансмиссивной личинки и её отличие от пропативной дисперсионной стадии; продолжительность жизни самок, продолжительность популяционного цикла в условиях первоначального изобилия пищи; способность к формированию группы дисперсии.

4. Динамика популяции нематод *in vitro* характеризуется первоначальным экспоненциальным ростом, что можно выразить математическими моделями и

использовать для оценки сроков заселения 1 м³ древесины модельными видами нематод и их симбионтами (бактериями и грибами).

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

6. Стволовые нематоды – паразиты лиственных столь же вредоносны, как гельминты хвойных. Их патогенность оппортунистическая, что обусловлено лабильной синергией ассоциации трех патогенов: нематоды, гриба и жука-переносчика.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

Эколого-паразитологические группы (по Polyanina et al., 2019):

Fl-Fu – факультативные микотрофы

Fl-Ba – факультативные бактериотрофы

Fl-Ca – факультативные хищники

Ec-Co – эктофоронты бактериотрофы-энтомо-комменсалы

Ec-Fu – эктофоронты микотрофы

Ec-Fur – эктофоронты фито-микотрофы (фитопаразиты)

Ec-Ca – эктофоронты-хищники

En-Int – эндопаразиты кишечника

En-Nem – эндопаразиты гемоцеля

En-Nem-jj – эндопаразиты гемоцеля на стадии личинки

En-Nem-ad – половозрелые эндопаразиты гемоцеля

Гильдии (место в сукцессии детритной цепи и тип питания) по Феррису (Ferris et al., 2001):

Ba1, Ba2 – бактериотрофы

Om4 – всеядные

EPN – энтомопаразитические нематоды

Fu2, Fu3 - микотрофы

Fur2 - микотрофы – фитопаразиты (комбинированное лабильное питание)

Ca2 – хищники

Номера буквенных индексов означают номер стадии (гильдии) в детритной сукцессии.

Список публикаций по теме диссертации

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК

1. 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.
2. Ryss A.Y., Polyanina K.S. Diagnostics of the stages of post-embryonic development in *Bursaphelenchus ulmophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) // Паразитология. – 2017. 51: 466–480.
3. 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.
4. 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. – 2018a. 48: 1–38 p. DOI: 10.1111/efp.12534.
5. 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. – 2018b. 52: 32–40.
6. 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.
7. 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. DOI: 10.31610/trudyzin/2021.325.1.91.

8. 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.
9. Ryss, A., Polyanina, K. S. Life cycle and population dynamics of *Bursaphelenchus willibaldi* (Nematoda: Rhabditida: Aphelenchoididae) *in vitro* // Nematology. – 2022a. – T. 24. – № 10. – C. 1105-1119. DOI: 10.1163/15685411-bja10194
10. Ryss A. Y., Polyanina K. S. Life cycle and population dynamics of the *Rhabditolaimus ulmi* (Nematoda: Rhabditida: Diplogastridae) *in vitro* // Russian Journal of Nematology. – 2022b. 30: 21–30 p. DOI: 10.24412/0869-6918-2022-1-21-30. DOI: 10.24412/0869-6918-2022-1-21-30
11. Ryss, A. Y., Polyanina, K. S. The development and population dynamics of *Aphelenchoides* sp. from *Quercus robur* (Nematoda: Rhabditida: Aphelenchoididae) *in vitro* // Russian Journal of Nematology. – 2022c. – T. 31. – № 1. – C. 1-15.
12. Ryss, A., Polyanina, K. S. The pharyngeal and genitalia-associated muscles of *Rhabditolaimus ulmi* (Nematoda: Chromodorea: Rhabditida: Diplogastridae) // Nematology. – 2022d. – C. 1-16. DOI: 10.1163/15685411-bja10216

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 // 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 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, 2015a. Cheboksary, Russia. Russian Journal of Nematology. 23 (2): 66-67.

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, 2015b. Cheboksary, Russia. Russian Journal of Nematology. 23 (2): 168.

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 // Dendrobiotic Invertebrates and Fungi and their Role in Forest Ecosystems / Proceedings of the International Conference. Saint Petersburg, Russia Saint Petersburg State Forest Technical University. 2016. 90–91.

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.

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.

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 140-летию со дня рождения академика К.И. Скрябина. Москва. – 2018. С- 216.

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.

10. Polyagina 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.

11. Polyagina 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. Proceedings of the All-Russian conference with int. participation. Saint Petersburg (Russia), November, 24–27, 2020. С.259–260.

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. Ryss A.Y., Polyagina K.S. A model of the ontogenesis and population dynamics of saproxylic nematodes (on *Panagrolaimus detritophagus*) // Russian Journal of Nematology. – 2021. (29) 2: 195.

14. 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. С.140–141.

15. 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 литературы

1. Ахматович Н. А., Рысс А. Ю. Пути распространения стволовых нематод рода *Bursaphelenchus* группы видов *xylophilus* с пиломатериалами на территории Российской Федерации // Паразитология. – 2009. – Т. 43. – № 6. – С. 451–463.
2. Баранов О. Ю., Пантелеев С. В., Ошако, Т. Определение видового состава микромицетов с усыхающих ветвей ясеня. // Труды БГТУ, Лесное хозяйство. – 2010. – Т. 18. – С. 321–323.
3. Баранчиков Ю. Н., Куртеев В.В. Инвазийный ареал ясеновой узкотелой златки в Европе: на западном фронте без перемен? // Институт леса им. В.Н.Сукачева СО РАН, Красноярск: В кн.: Экологические и экономические последствия инвазий дендрофильных насекомых (ред. Баранчиков Ю.А.). 2012. – С. 91–94.
4. Василюскас А. Ю. А., Трейгене А. Причины массового усыхания ясеня обыкновенного в лесах Литвы // Проблемы лесной фитопатологии и микологии: Материалы V Междунар. конф. М.: Институт лесоведения РАН. – 2002. – С. 35–37.
5. Вудвол. 2021. Таблица для расчета кубометров дерева по породам. URL: <https://woodwool.ru/stati/informatsiya-dlya-smetchikov/tablitsa-dlya-rascheta-kubometrov-dereva-po-porodam/> (Режим доступа: 30.04.2023).
6. Дорофеева Т. Б., Тюпина Г. Н. Графиоз ильмовых в Санкт-Петербурге и меры борьбы с ним // Экология большого города. М. – 2002. – С. 57–61.
7. Дорофеева Т. Б. Эпифитотия офиостомоза вяза в Санкт-Петербурге // Защита и карантин растений. – 2008. – Т. 3. – С. 59.
8. Жуков А. М., Гниненко Ю. И. Методические рекомендации по выявлению болезней увядания лиственных пород на Европейской части России // Пушкино, ВНИИЛМ. – 2012. – С. 1–15.

9. Ижевский С. С., Мозолевская Е. Г. Изумрудная узкотелая златка (*Agrilus planipennis* Fairmaire) на московских ясенях // Российский журнал биологических инвазий. – 2008. – Т. 1. – № 1 – С. 20–25.
10. Коренченко Е. А. Новые виды нематод семейства Aphelenchoididae — паразитов стволовых вредителей лиственницы даурской // Зоологический журнал. – 1980. – Т. 59. – № 12. – С. 1768–1780.
11. Коренченко Е. А. *Cryptaphelenchus diversispicularis* n.sp. (Tylenchida, Aphelenchoididae) – новый вид нематод из жука короеда *Ips subelongatus* (Coleoptera: Ipidae) // Паразитология. – 1987. – Т. 21. – С. 73–78.
12. Круглик И. А. Патогенность некоторых видов нематод-ксилобионтов сосен Дальнего Востока // Паразитологические исследования в Сибири и на Дальнем Востоке. Материалы межрегион, научн. конф. Новосибирск. 2002. С. 88–89.
13. Кулинич О. А., Рысс А. Ю. Древесные нематоды рода *Bursaphelenchus* на территории России. Прикладная нематология. Ред., С. В. Зиновьева, В. Н. Чижов. М.: Наука. – 2006. – С.162–183.
14. Кулинич О. А., Тюльдюков П. В., Козырева Н. И. Фитопаразитические нематоды, имеющие карантинное значение для России и других стран мира. // Защита растений. – 2003. – С. 24–28.
15. Курашвили Б. Е., Какулия Г. А., Девдариани, Ц. Г. Паразитические нематоды короедов Грузии. Тбилиси: «Мецниѐреба». – 1980. – С. 1–172.
16. Лазаревская С. Л. К гельминтофауне серого соснового усача *Acanthocinus aedilis* (Cerambycidae) // Helminthologia –1961. – Т. 3. – С. 212–219.
17. Лазаревская С. Л. К фауне нематод короедов *Orthotomicus laricis* и *Orthotomicus proximus* (Coleoptera: Ipidae) // Helminthologia. – 1962-1963. – Т. V-VI. – С. 254–264.
18. Лесопатология. – 2015. – Режим доступа: <http://docplayer.ru/53703381-Lesopatologiya-yasenyu-byt.html>.
19. Любимов В. Б., Ломадзе Р. Н., Мельников И. В. Некоторые экобиологические особенности представителей рода *Quercus* L. и

- целесообразность их учета при введении в культуру этих видов // Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – 2008. – С. 96–104.
20. Мозолевская Е. Г., Крылова Н. В., Белова Н. К., Осипова И. Н. Экология заболонников-переносчиков голландской болезни // Защита растений. – 1987. – С. 37–40.
21. Морозова Е. В., Иозус А. П., Крючков С. Н. Особенности вегетативного размножения дуба черешчатого для защитного лесоразведения в степной зоне европейской части России // Успехи современного естествознания. – 2016. – Т. 12. – № 2. – С. 309–313.
22. Мощеникова Н. Б. Оценка экологического состояния зеленых насаждений Санкт-Петербурга // ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет леса». М. – 2011. – С. 1–19.
23. 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 140-летию со дня рождения академика К.И. Скрыбина. Москва. – 2018. – С. 216.
24. Пигорев И. Я., Батраченко Е. А., Долгополова Н. В., Буланова Ж. А. Возбудитель, вызывающий усыхание дуба (*Quercus*) - наиболее распространенное заболевание твердолистных насаждений // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – Т. 7. – С. 145–149.
25. Рысс А. Ю. Корневые паразитические нематоды семейства *Pratylenchidae* (Tylenchida) мировой фауны. Наука: Ленинград. – 1988. – 367 с.
26. Рысс А. Ю., Мокроусов М. В. Анализ климатических и биологических параметров для модели оценки риска распространения стволовых нематод *Bursaphelenchus* spp. и *Devibursaphelenchus teratospicularis* (Rhabditida: Aphelenchoidea) (Rhabditida: Aphelenchoidea) // Паразитология. – 2014. – Т. 48. – № 6. – С. 188–294.
27. Чалкин А. А., Кулинич О. А., Арбузова Е. Н., Рысс А. Ю. Сосновая стволовая нематода *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhrer) Nickle и

возможности ее акклиматизации в республике Карелия. // Труды Карельского научного центра РАН. Сер. Биogeография. – 2022. – № 1. – С. 63–75.

28. Чернодубов А. И. Изменчивость желудей Воронежской Нагорной дубравы // Актуальные направления научных исследований XXI века: теория и практика. – 2018. – Т. 6. – № 7 (43). – С. 277–280.

29. Черпаков В. В. Изучение причин усыхания и гибели ильмовых пород на Дальнем Востоке // Актуальные проблемы лесного комплекса. – 2011. – Т. 30. – С. 104–108.

30. Шестеперов А.А., Савотиков Ю.Ф. Карантинные фитогельминтозы. - Кн.1. - М.: Колос. – 1995. – С. 463.

31. Щербакова Л. Н., Мандельштам М. Ю. Вязы Санкт-Петербурга: после третьего звонка // VIII Чтения памяти О. А. Катаева: Санкт-Петербург, Материалы международной конференции Санкт-Петербург, ред. Селиховкин А. В., Мусолин Д. Л., Поповичев Б. Г. – 2014. – С. 97–98.

32. Arbuzova E. N., Kulinich O., Mazurin E., Ryss, A., Kozyreva N., Zinovieva S. Pine Wilt Disease and Possible Causes of Its Incidence in Russia // Biology Bulletin. – 2016. – Т. 43. – С. 300–306.

33. Arbuzova E. N., Kulinich O., Chalkin A., Weis V., Magomedov R., Mordkovich Y., Kozyreva N., Ryss A. Efficacy of ethanedinitrile fumigant application against the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchidae), in pine logs // Russian Journal of Nematology. – 2020. – Т. 28. – С. 71–78.

34. 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.

35. Bergdahl D. R. Impact of pinewood nematode in North America: present and future. // J. Nematol. – 1988. – Т. 20. – P. 260–265.

36. Bongers T. The Maturity Index: An ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition // *Oecologia*. – 1989. – T. 83. – P. 14–19.
37. Braasch H., Enzian S. 2003. The pinewood nematode problem in Europe: present situation and outlook. *Nematology Monographs and Perspectives*. M. Mota, P. Vieira. Leiden: Koninklijke Brill. – P. 77–91.
38. Braasch H., Tomiczek C., Metge K., Hoyer U., Burgermeister W., Wulfert I., Schonfeld U. Records of *Bursaphelenchus* spp. (Nematoda, Parasitaphelenchidae) in coniferous timber imported from the Asian part of Russia // *Forest Pathology*. – 2001. – T. 31. – P.129–140.
39. Brasier C. M. *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov., causative agent of current Dutch elm disease pandemics // *Mycopathologia*. – 1991. – T. 115. – P.151–161.
40. Brasier C. The rise of the hybrid fungi // *Nature*. – 2000. – T. 405. – № 6783. – P. 134–135.
41. Buchel A. The species of the genus *Ulmus* L. // In: *The elms. Breeding, conservation and disease management*. – 2000. – P. 351–358.
42. Calin M., Vieira P., Costache C.; Braasch H., Gu J., Wang J., Mota M. Survey of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (Nematoda: Aphelenchoididae) in Romania // *EPPO Bull.* – 2013. – T. 43. – P. 144–151.
43. Cech T. L. Eschenschaden in Österreich // *Forstschutz Aktuell*. – 2006. – T. 37. – P. 18–20.
44. Chow P. S., Landhäusser S. M. A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues // *Tree physiology*. – 2004. – T. 24. – № 10. – P. 1129–1136.
45. Cohen J. E. Food webs and community structure. // In: Roughgarden J., May R.M., Levin S.E. (ed.), *Perspectives in Ecological Theory*. Princeton University Press, Princeton, NJ. – 1989. – P. 181–202.
46. Dayi M., Akbulut S. Pathogenicity testing of four *Bursaphelenchus* species on conifer seedlings under greenhouse conditions. // *Forest Pathology*. – 2011. – T. 42. – P. 213–219.

47. Dey D., Jacobs D., McNabb K., Miller G., Baldwin V., Foster G. Artificial Regeneration of Major Oak (*Quercus*) Species in the Eastern United States—A Review of the Literature // *Forest Science*. – 2008. – T. 54. – P. 77–106.
48. Duerr J. S. Antibody staining in *C. elegans* using "freeze-cracking" // *Journal of visualized experiments: JoVE*. – 2013. – № 80. – P. 50664.
49. Dunn C. *The Elms: Breeding, Conservation, and Disease Management*. Springer. 2000. – P. 361.
50. Eroshenko A. S., Volkova T. V. Paraziticheskie nematody rastenii yuga Dal'nego Vostoka. Plant parasitic nematodes of the South of the Russian Far East // DVO AN SSSR, Vladivostok. – 1988. – P. 140.
51. EPPO Global Database. – 2021. Режим доступа: <https://gd.eppo.int/taxon/CERAFA/datasheet>.
52. Ferraz L. C. C., Brown D. J. F. An introduction to nematodes: Plant nematology / Sofia Moscow: Pensoft. – 2002. – P. 269
53. Ferris H., Bongers T., de Goede R. G. M. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept // *Applied Soil Ecology*. – 2001. – T. 18.– № 1. – P. 13–29.
54. Fuchs A. G. Die Parasiten einiger Rüssel- und Borkenkäfer // *Zoologische für Parasitenkunde* –1929. – T. 2. – P. 248–285.
55. Fuchs A. G. Neue an Borken- und Russelkäfer gebundene Nematoden, halbparasitische und Wohnungseinmieter // *Freilebende Nematoden aus Moos und Walderde in Borkenund Rüsselkäfergängen. Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik Oekologie und Geographie der Tiere, Jena*. – 1930. – T. 59. – P. 505–646.
56. Fuchs A. G. Neue parasitische und halbparasitische Nematoden bei Borkenkäfern und einige andere Nematoden. I. Teil die Parasiten derWaldgartner *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. – T. 70. – P. 291–380.

57. Futai K. Pine Wood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* // Annual Review of Phytopathology. – 2013. – T. 51. – P. 61–83.
58. Ghelardini L. Bud burst phenology, dormancy release and susceptibility to Dutch elm disease in elms (*Ulmus* spp.) // Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. – 2006. – T. 2007. – P.
59. Gibbs J. N., French D. W. The transmission of oak wilt / U.S. Department of Agriculture, Forest Service, North Central Forest Experiment Station. – 1980. C. 17.
60. Giblin-Davis R. M., Kanzaki N., Ye W., Center B. J., Kelley T. W. Morphology and systematics of *Bursaphelenchus gerberae* n. sp. (Nematoda: Parasitaphelenchidae), a rare associate of the palm weevil. *Rhynchophorus Palmarum* in Trinidad. // Zootaxa. – 2006. – T. 1189. – P. 39–53.
61. Goodey T. A new species of the nematode genus *Cylindrogaster* // Journal of Helminthology. – 1930. – T. 8. – P. 89–92.
62. Grucmanova S., Holusa J. Nematodes associated with bark beetles, with focus on the genus *Ips* (Coleoptera: Scolytinae) in Central Europe // Acta Zoologica Bulgarica. – 2013. – №65. – T. 4. – P. 547–556.
63. Gubina V. G. Нематоды хвойных пород // Gel'mintologicheskaiâ laboratoriiâ. Nauka. – 1980. – P. 186
64. Harrington T. C. Ceratocystis diseases // In P. Gonthier, G. Nicolotti (Eds.), Infectious forest diseases. – 2013. – P. 230–255.
65. Henry B. W., Moses C.S. An undescribed disease causing rapid dying of oak trees // Phytopathology. – 1943. – T. 33. – P. 18.
66. Hirschmann H. The life cycle of *Ditylenchus triformis* (Nematoda: Tylenchida) with emphasis on post-embryonic development. – 1962. – P. 30-42
67. Hirschmann H., Triantaphyllou A. C. Mode of Reproduction and Development of the Reproductive System of *Helicotylenchus Dihystera* // Nematologica. – 1967. – T. 13. – P. 558–574.
68. Hirschmann H. Comparative Morphology and Anatomy, 1971. – P. 11–63.
69. Hunt D. J. Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae: their systematics and bionomics. / – Wallingford, UK: CAB International. – 1993. – P. 313– 315.

70. Johnson P. S., Shifley S. R., Rogers R. The ecology and silviculture of oaks, 2nd edition /Wallingford, Oxfordshire, UK: CAB International. – 2009. – P. 580.
71. Jones J. T., Moens M, Mota M., Li, H., Kikuchi T. *Bursaphelenchus xylophilus*: opportunities in comparative genomics and molecular host-parasite interactions // Molecular plant pathology. – 2008. – T. 9. – № 3. – P. 357–368.
72. Jones J. T., Haegeman A., Danchin E.G., Gaur H. S, Helder J., Jones M. G., Kikuchi T., Manzanilla-López R., Palomares-Rius J. E., Wesemael W. M., Perry R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology // Molecular Plant Pathology. – 2013. – T. 14. – P. 946–961.
73. Juzwik J., French D.W., Jerešek J. Overland spread of the oak wilt fungus in Minnesota // Journal of Arboriculture. – 1985. – T. 11. – P. 323–327.
74. Juzwik J., Appel, D. N., MacDonald, W. L., Burks, S. Challenges and successes in managing oak wilt in the United States // Plant disease. – 2011. – T. 95. – № 8. – P. 888–900.
75. Kanzaki N. Taxonomy and Systematics of the Nematode Genus *Bursaphelenchus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) // Pine Wilt Disease. – 2008.– P. 44–66.
76. Kanzaki N., Ekino T., Ide T., Masuya H., Degawa Y. Three new species of parasitaphelenchids, *Parasitaphelenchus frontalis* n. sp., *P. costati* n. sp. and *Bursaphelenchus hirsutae* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), isolated from bark beetles from Japan // Nematology. – 2018. –№ 20. – T. 10. – P. 957–1005.
77. Kanzaki N., Giblin-Davis R. Phylogenetic Status and Morphological Characters of *Rhabditolaimus anoplophorae* (Rhabditida: Diplogastridae) // Journal of nematology. – 2014. – T. 46. – P. 44–49.
78. Kanzaki N., Giblin-Davis R., Gonzalez R., Duncan R., Carrillo D. Description of *Ruehmaphelenchus juliae* n. sp. (Tylenchina: Aphelenchoididae) isolated from an ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky), from South Florida // Nematology. – 2015. – №17. – T. 6. – P. 639–653.
79. Kanzaki N., Maehara N., Masuya H. *Bursaphelenchus clavicauda* n. sp. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) isolated from *Cryphalus* sp. emerged from a dead

- Castanopsis cuspidata* (Thunb.) Schottky var. *sieboldii* (Makino) Nakai in Ishigaki Island, Okinawa, Japan // *Nematology*. – 2007. – № 9. T. 6. – P.759–769.
80. Kim D. G., Robbins R. T. A new nematode species (Aphelenchida: Aphelenchoididae) associated with the bark beetle, *Scolytus seulensis*, in Korea // *Journal of Asia-Pacific Entomology*. – 2008. – T 11 (1). – P. 31–35
81. Kiontke K., Barrière A., Kolotuev I., Podbilewicz B., Sommer R., Fitch D. H. A., Félix M. Trends, stasis, and drift in the evolution of nematode vulva development // *Current Biology*. – 2007. – T. 17. – P. 1925–37.
82. Kirisits T. M. M., Mottinger-Kroupa S. Involvement of *Chalara fraxinea* in ash dieback in Austria // *Forstschutz Aktuell*. – 2008. – T. 44. – P. 16–18.
83. Kowalski T. *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland // *Forest Pathology*. – 2006. – T. 36. – P. 264.
84. Kulinich O. A., Arbuzova, E. N., Magomedov, U. S., 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. – T. 169. – P. 54–55.
85. Kulinich O. A., Ryaskin D. I., Chalkin A. A., Shamaev A. V., Shtapova N. N., Arbuzova E. N. Bark beetles (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) and their quarantine phytosanitary importance for exporting and importing forest products // – 2021. – T. 13. – P. 11–23.
86. Lygis V. Fungal infections to stems of *Fraxinus excelsior* in declining stands of northern Lithuania, with particular reference to *Armillaria cepistipes*. // *European Journal of Forest Pathology*. – 2004. – T. 32. – P. 137–159.
87. Maafi Z. T., Subbotin S., Moens M. Molecular identification of cyst-forming nematodes (Heteroderidae) from Iran and a phylogeny based on ITS-rDNA sequences // *Nematology*. – 2003. – T. 5. – № 1. – P. 99–111.
88. Mamiya Y. 1984. The pine wood nematode. *Plant and Insect Nematodes*. W. R. Nickle. New York and Basel: Marcel Dekker, Inc. – P. 589–626.
89. Mamiya Y. 2003. Pine wilt disease in Japan. *Nematology Monographs and Perspectives*. M. Mota, P. Vieira. Leiden: Koninklijke Brill. – P. 9–20.

90. Massey C. L. *Omameea 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. – T. 3. – P. 289–291.
91. Miller H. J., Hiemstra J. A. The ash wilt disease: a preliminary investigation of wood anatomy // *Journal of Plant Pathology*. – 1987. – T. 93. – P. 253–260.
92. Mota M., Braasch H., Bravo M. A., Penas A. C., Burgermeister W., Metge K., Sousa E. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe // *Nematology*. – 1999. – T. 1. – № (7-8). – P. 727–734.
93. Musolin D., Selikhovkin A., Shabunin D., Zviagintsev V., Baranchikov Y. Between Ash Dieback and Emerald Ash Borer: Two Asian Invaders in Russia and the Future of Ash in Europe // *Baltic Forestry*. – 2017. – T. 23. – P. 316–333.
94. Nicholas K. B., Nicholas H. B., Deerfield D. W. II GeneDoc: Analysis and visualization of genetics variation. // *EMBNEW News* – 1997. – T. 4. – P. 14.
95. Orlova-Bienkowskaja M. Резкое расширение ареала вредителя ясеня *Agrilus planipennis* Fairmaire, 1888 (Coleoptera: Buprestidae) в европейской России // *Entomologicheskoe Obozrenie*. – 2013. – T. 92. – P. 710–715.
96. Orlova-Bienkowskaja M. J. European range of the emerald ash borer *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) is expanding: The pest destroys ashes in the northwest of Moscow oblast and in part of Tver oblast // *Russian Journal of Biological Invasions*. – 2014. – T. 5. – № 1. – P. 32–37.
97. Perry R. N. The water dynamics of stages of *Ditylenchus dipsaci* and *D. myceliophagus* during desiccation and rehydration // *Parasitology*. – 1977. – T. 75. – P. 45–70.
98. Perry R. N. Desiccation survival of parasitic nematodes // *Parasitology*. – 1999. – T. 119. – P. 19–30.
99. Perry R. N., Moens M. *Plant nematology*. Second edition. (Eds). // Wallingford, Oxfordshire, Boston: CABI Publishing. – 2013. – P. 568.

100. Petrov A., Gerasev P., Popyuk M., Dmitrieva E. Haptoral neuromusculature in two species of *Dactylogyrus* Diesing, 1850 (Monogenea: Dactylogyridae) // *Systematic Parasitology*. – 2016. – T. 93. – P. 337–354.
101. Poland T. M. McCullough D. G. Emerald ash borer: invasion of the urban forest and the threat to North America's ash resource // *Journal of Forestry*. – 2006. – T. 104. – № 3. – P. 118–124.
102. Polyanina K. S., Mandelshtam M., Ryss A. Y. Brief Review of the Associations of Xylobiont Nematodes with Bark Beetles (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) // *Entomological Review*. – 2019. – T. 99. – P. 598–614.
103. 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. – T. 325. – № 1. – P. 91–98.
104. Du Preez G., Daneel M., De Goede R., Du Toit M. J., Ferris H., Fourie H., Geisen S., Kakouli-Duarte T., Korthals G., Sánchez-Moreno S., Schmidt J. H. Nematode-based indices in soil ecology: Application, utility, and future directions // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2022. – T. 169. – P. 108640.
105. Reif A., Brucker U., Kratzer R., Schmiedinger A., Bauhus J. Forest management in times of climate change - Synergies and potential conflicts between forestry and nature conservation [Waldbewirtschaftung in Zeiten des Klimawandels – Synergien und Konfliktpotenziale zwischen Forstwirtschaft und Naturschutz] // *Naturschutz und Landschaftsplanung*. – 2010. – T. 42. – P. 261–266.
106. Ronquist F., Huelsenbeck J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // *Bioinformatics*. – 2003. – T. 19. – № 12. – P. 1572-4.
107. Rudinsky J. A. Ecology of Scolytidae. // *Annual Review of Entomology*. – 1962. – T. 7. – P. 327–348.
108. Ruehle J. L. Plant-parasitic nematodes associated with shortleaf pine showing symptoms of littleleaf // *Plant Disease Rep*. – 1962. – T. 46. – P. 710– 711.
109. Ruehle J. L. Nematodes of forest trees // In: «Economic nematology». L.; N. Y.: Acad, press. – 1972. – P. 312–334.

110. Rühm W. Die Nematoden der Ipiden. // Parasitologische Schriftenreihe – 1956. – T. 6. – P. 1–435.
111. Rutherford T.A., Webster J. M. Distribution of pine wilt disease with respect to temperature in North America, Japan and Europe. Canadian journal of forest research. – 1987. – № 17. – P. 1050–1059.
112. Ryss A. [Morphogenesis of the genital system in the superfamily Tylenchoidea (Nematoda)] // Parazitologiya. – 1981. – T. 15. – P. 533–42.
113. Ryss A., Boström S. *Geocenamus semicircularis* (Tylenchida: Belonolaimidae) from East Falkland Island in the Subantarctic and its taxonomic status // Russian Journal of Nematology. – 1995. – T. 3. – P. 111–116.
114. Ryss A. Express technique to prepare collection slides of nematodes // Zoosystematica Rossica. – 2003. – T. 11. – P. 257–260.
115. Ryss A. Ways of the parasitism origin in the phytonematode orders Tylenchida and Aphelenchida // Proceedings of the Zoological Institute RAS. – 2009. – T. 313. – P. 257–272.
116. Ryss A. 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 Lesotekhnicheskoy Akademii. – 2015. – T. 211. – P. 287–295.
117. Ryss A. Y., Polyagina K. S. Characterization of Juvenile Stages of *Bursaphelenchus crenati* Rühm, 1956 (Nematoda: Aphelenchoidoidea) // Journal of Nematology. – 2018. 50. – P. 459–472.
118. Ryss A. Y., Polyagina, K. S. A model of the ontogenesis and population dynamics of saproxylic nematodes (on *Panagrolaimus detritophagus*) // Russian Journal of Nematology. – 2021. – T. 29. – № 2. – P. 195.
119. Ryss A., Subbotin S. New Records of Wood- and Bark-Inhabiting Nematodes from Woody Plants with a Description of *Bursaphelenchus zvyagintsevi* sp. n. (Aphelenchoididae: Parasitaphelenchinae) from Russia // Plants. – 2023. – T. 12. – P. 382.

120. Ryss A. Y., Vieira P., Mota M., Kulinich O. A synopsis of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (Aphelenchida: Parasitaphelenchidae) with key to species // *Nematology*. – 2005. – T. 7. – P. 393–458.
121. Ryss A. Y., Chernetskaya A. Life cycle of *Bursaphelenchus mucronatus* Mamya et Enda, 1979 (Nematoda: Aphelenchida) // *Parazitologiya*. – 2009. – T. 43. – P. 206–224.
122. 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. – T. 45. – P. 237–252.
123. 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. – T. 17. – P. 685–703.
124. 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*. – 2017. – T. 51. – P. 57–67.
125. Ryss A. Y., Polyanina K. S. Diagnostics of the stages of post-embryonic development in *Bursaphelenchus ulmophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) // *Паразитология*. – 2017. – T. 51. – № 6. – P. 466–480.
126. Ryss A. Y., Polyanina K. S., Petrov A. V., Sazonov A. A., Mandelshtam M. Yu., 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. – T. 49. – № 1. – P. e12534.
127. 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. – T. 52. – № 1. – P. 32–40.
128. 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. – T. 53. – P. e2021–25.
129. 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. – T. 53. – P. 1–21.
130. Ryss A. Y., Polyanina K. S. The pharyngeal and genitalia-associated muscles of *Rhabditolaimus ulmi* (Nematoda: Chromodorea: Rhabditida: Diplogastridae) // *Nematology*. – 2022. – P. 1–16.
131. 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. – T. 30. – P. 21–30.
132. Ryss A. Y., Polyanina K. S. Life cycle and population dynamics of *Bursaphelenchus willibaldi* (Nematoda: Rhabditida: Aphelenchoididae) in vitro // *Nematology*. – 2022. – T. 24. – № 10. – P. 1105–1119.
133. Ryss A. Y., Polyanina, K.S. The development and population dynamics of *Aphelenchoides* sp. from *Quercus robur* (Nematoda: Rhabditida: Aphelenchoididae) in vitro. // *Russ. J. Nematol.* – 2022. – T. 31. – P. 1–15.
134. Ryss A. Y., Petrov A. Muscles of the sex organs of *Panagrolaimus detritophagus* (Chromodorea: Rhabditida: Panagrolaimidae) // *Nematology*. – 2023. – P. 1–13.
135. Schiemer F. Comparative Aspects of Food Dependence and Energetics of Freelifving Nematodes // *Oikos*. – 1983. – T. 41. – P. 32–42.
136. Schönfeld U., Braasch H., Burgermeister W. *Bursaphelenchus* spp. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) in wood chips from sawmills in Brandenburg and description of *Bursaphelenchus willibaldi* sp. n // *Russian Journal of Nematology*. – 2006. – T. 14. – P. 119–126.
137. Schumacher J. W. A., Leonhard S. First evidence of *Chalara fraxinea* T. Kowalski sp. nov. in Germany. Cause new damage to ash. // *Plant protection*. – 2007. – T. 59. – P. 121–123.

138. Schwarz M. B. Das Zweigensterben der Ulmen, Trauerweiden und Pfirsichbäume. // Mededelingen uit et Phytopatologisch laboratorium “Willie Commelin Scholten”. – 1922. – T. 5. – P. 1–73.
139. Seinhorst J. W. On the killing, fixing and transferring to glycerin of nematodes // *Nematologica*. – 1962. – T. 8. – P. 29–32.
140. Seinhorst J. W. Killing nematodes for taxonomic study with hot f.a. 4: 1 // *Nematologica*. – 1966. – T. 12, № 1. – P. 178.
141. Seinhorst J. W. How small is a small drop of water? // *Nematologica*. – 1974. – P. 121.
142. Selikhovkin A., Musolin D., Popovichev B., Merkurjev S., Volkovitsh M., Vasaitis R. Invasive Populations of the Emerald Ash Borer *Agrilus planipennis* Fairmaire, 1888 (Coleoptera: Buprestidae) in Saint Petersburg, Russia: A Hitchhiker? // *Insects*. – 2022. – T. 13. – P. 1–13.
143. Sinclair W. A., Campana R. J. Dutch elm disease, perspectives after 60 years // Cornell University Agricultural Experiment Station, Search (Agriculture). – 1978. – T. 8. – P. 1– 52.
144. Sokal R. R., Rohlf F. J. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research // *Int. J. Epidemiol.* – 1985. – T. 14. – P. 389–395.
145. Stambaugh W. J., Fergus C. L. Longevity of spores of the oak wilt fungus on overwintered nitidulid beetles // *Plant Disease Repr.* – 1956. – T. 40. – P. 919– 922.
146. Statistica 8.0. StatSoft Inc. Tulsa, OK, USA. 1984 – 2007 (Software).
147. Stokland J.N., Siitonen J., Jonsson B.G. Biodiversity in Dead Wood. – 2012. – P. 524.
148. Susoy V., Herrmann M. Validation of *Rhabditolaimus* Fuchs, 1914 (Nematoda: Diplogastridae) supported by integrative taxonomic evidence // *Nematology*. – 2012. – T. 14. – № 5. – P. 595–604.
149. Susoy V., Ragsdale E. J., Kanzaki N., Sommer R. J. Rapid diversification associated with a macroevolutionary pulse of developmental plasticity // *eLife*. – 2015. – T. 4. – P. e05463.

150. Tomalak M., Malewski T., Gu J., Zhan F. Description of *Bursaphelenchus taphrorychi* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae), the second *Bursaphelenchus* species from larval galleries of the beech bark beetle, *Taphrorychus bicolor* (Herbst.) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in European beech. *Fagus Sylvatica* L. // *Nematology*. – 2017. – T. 19. – P. 1217–1235.
151. True R. P., Barnett H. L., Dorsey C. K., Leach J. G. Oak wilt in West Virginia / Bull. 448T. Morgantown, WV: West Virginia University Agricultural Experiment Station. – 1960. – P. 119.
152. Webster J. M. The pine wood nematode: implications of factors past and present for pine wilt disease. *Nematology Monographs and Perspectives*. M. Mota, P. Vieira. Leiden: Koninklijke Brill. – 2003. – P. 55–64.
153. Webber J. F., Brasier C. M. The transmission of Dutch elm disease: a study of the process involved/ In: *Invertebrate-Microbial Interactions*. (Anderson J. M., Rayner A. D. M., Walton D. eds.) Cambridge University Press, Cambridge UK. – 1984. – P. 271–306.
154. Woomb's M., Laybourn-Parry J. Feeding biology of *Diplogasteritus nudicapitatus* and *Rhabditis curvicaudata* (Nematoda) related to food concentration and temperature, in sewage treatment plants // *Oecologia*. – 1984. – T. 64. – № 2. – P. 163–167.
155. Yang Bao Jun. The history, dispersal and potential threat of pine wood nematode in China. *Nematology Monographs and Perspectives*. M. Mota, P. Vieira. Leiden: Koninklijke Brill. – 2003. – P. 21–24.
156. Yaruk A. V., Zviagintsev V. B. [Occurrence of ash dieback in stands and plantings of European ash]. // *Proceedings of the Belorussian State Technological University. Series Forestry*. (In Russian). – 2015. – T. 174. – P. 207–210.
157. Yeates G. W., Bongers T., De Goede R. G. M., Freckman D. W., Georgieva S. S. Feeding habits in nematode families and genera—An outline for soil ecologists // *J. Nematology*. – 1993. – T. 25. – P. 315–331.
158. Zullini A. Nematodes as indicators of river pollution // *Nematologia Mediterranea*. – 1976. – T. 4. – P. 13–22.

ПРИЛОЖЕНИЕ-1 Диагностические ключи и данные сборов нематод

Таблица 1 ГИС и регионы всех точек сбора

Место сбора	Код и номер сбора	ГИС координаты
Санкт-Петербург	SPB-1	59.9392, 30.2817
	SPB-2	59.9390, 30.2812
	SPB-3	59.9379, 30.2770
	SPB-4	59.9373, 30.2718
	SPB-5	59.9932, 30.3432
	SPB-6	59.9759, 30.2479
	SPB-7	59.9771, 30.2908
	SPB-8	59.9446, 30.3355
	SPB-9	59.9325, 30.3073
	SPB-10	59.9797, 30.2836
	SPB-11	59.9795, 30.2644
	SPB-12	59.9793, 30.2603
	SPB-13	59.9815, 30.2622
	SPB-14	59.9820, 30.2588
	SPB-15	59.9800, 30.2555
	SPB-16	59.9772, 30.2548
	SPB-17	59.9801, 30.2811
	SPB-18	59.9806, 30.2811
	SPB-19	59.9803, 30.2856
	SPB-20	59.9814, 30.2881
	SPB-21	59.9849, 30.3006
	SPB-22	59.9844, 30.2986
	SPB-23	59.9932, 30.3370
	SPB-24	59.9940, 30.3382
	SPB-25	59.9958, 30.3365
	SPB-26	59.9962, 30.3356
	SPB-27	59.9983, 30.3397
	SPB-28	59.9994, 30.3348
	SPB-29	60.0020, 30.3682
	SPB-30	60.0014, 30.3718
	SPB-31	60.0115, 30.3915
	SPB-32	59.9579, 30.3504
	SPB-33	59.9577, 30.3448
	SPB-34	59.9449, 30.3738
	SPB-35	59.9463, 30.3757
	SPB-36	59.9433, 30.3665
	SPB-37	59.9409, 30.3753
	SPB-38	59.9227, 30.3590
	SPB-39	59.9239, 30.3736
	SPB-40	59.9229, 30.3741
Кингисеппский р-н, Ленинградская обл.	KNG-1	59.7630, 28.0701
	KNG-2	59.7629, 28.0693
	KNG-3	59.7800, 28.1632

	KNG-4	59.7800, 28.1683
	KNG-5	59.7822, 28.1585
	KNG-6	59.5426, 28.0907
	KNG-7	59.5426, 28.0916
	KNG-8	59.5386, 28.0921
	KNG-9	59.5383, 28.0918
	KNG-10	59.5394, 28.0921
	KNG-11	59.5394, 28.0922
	KNG-12	59.5416, 28.0928
	KNG-13	59.5414, 28.0935
	KNG-14	59.5411, 28.0933
	KNG-15	59.7622, 28.0859
Москва	MSV-1	55.8410, 37.6071
	MSV-2	55.8439, 37.5906
	MSV-3	55.8442, 37.5914
	MSV-4	55.8444, 37.5914
	MSV-5	55.8447, 37.5918
	MSV-6	55.8454, 37.5932
	MSV-7	55.5854, 37.5932
	MSV-8	55.5852, 37.5933
	MSV-9	55.5867, 37.5951
Нижний Новгород	NNG-1	56.254, 44.0065
	NNG-2	56.2548, 44.0057
	NNG-3	56.2550, 44.0046
	NNG-4	56.2554, 44.0057
	NNG-5	56.2551, 44.0070
Воронежская обл.	VRZH-1	51.363, 42.0445
	VRZH-2	51.3626, 42.0453
	VRZH-3	51.3625, 42.0449
	VRZH-4	51.3632, 42.0459
	VRZH-5	51.3637, 42.0451
Томская обл.	TMS-1	56.4725, 85.0928
	TMS-2	56.3332, 85.0501
	TMS-3	56.6969, 85.3628
	TMS-4	56.4725, 85.0928
Новосибирск	NVS-1	54.8410, 83.0938
Хабаровский край	KHBR-1	48.4636, 135.084
Магаданская обл.	MGD-1	61.1801, 153.900
Дагестан, Самурский лес	DAG-1	41.8446, 48.5448
	DAG-2	41.8432, 48.5438
	DAG-3	41.8451, 48.5459
	DAG-4	41.8446, 48.5447

	DAG-5	41.8442, 48.5451
	DAG-6	41.8453, 48.5466
Калининград, Биол.ст."Рыбачий"	KLNG-1	55.1533, 20.8575
	KLNG-2	55.1533, 20.8583
Респ. Карелия ББС «Картеш»	KRL-1	66.3379, 33.6476
	KRL-2	66.3370, 33.6477
	KRL-3	66.3376, 33.6471
Беларусь	BYR-1	52.4789, 29.4194
	BYR-2	52.7922, 27.0198
	BYR-3	52.7926, 27.9883
	BYR-4	52.7913, 27.9796
	BYR-5	52.7939, 27.9876
	BYR-6	52.7893, 27.9937
	BYR-7	52.4031, 30.9759
	BYR-8	52.4789, 29.4194

Диагностический ключ к видам нематод вязов *Ulmus glabra* и *U. laevis*

1. Ротовое копьё трубковидное, с широким каналом, полое (онхиостиль), глотка без бульбусов, цилиндридная, кутикула очень толстая, с продольными гребнями, хвост самца короткий округлый, хвост самки длинный, 5-6 анальных диаметров, нитевидный..... отр. *Dorylaimida*.....*Mesodorylaimus brevicaudatus*
- Ротовое копьё в виде стилета с внутренним узким капилляром (стоматостиль) или стома бокаловидная, глотка включает один или два бульбуса 2
2. Стома бокаловидная или в виде широкой трубки с параллельными стенками 3
- Стома в форме стоматостилия 8.
3. Стома в виде широкой трубки, сбоку выглядит как две параллельные палочки с толстыми стенками 4
- Стома бокаловидная 5
4. Внешние края губной области с острыми кутикулярными зубами, направленными наружу *Diploscapter coronatus*
- Внешние края губной области с обычными тупыми проборами, направленными кпереди. *Protorhabditis xylocola*
5. На уровне середины стомы снаружи кутикулы латерально отчетливо видны два амфида в виде кружков или запятых, смещенные слегка дорсально *Plectus acuminatus*
- Амфиды сбоку не различимы, так как расположены спереди на губах..... 6
6. В заднем бульбусе глотки нет кутикулярного клапана, кутикула в виде прямоугольных щитков, с гребнямисем. Diplogastridae. *Rhabditolaimus ulmi*
- Задний бульбус глотки с мощным трехгранным кутикулярным клапаном 7
7. Передняя половина глотки (до истмуса) в виде субконического мощного мышечного корпуса (слиты прокорпус и метакорпус), головные проболы короткие, без выростов, хвост конический, заостренный, крупные, очень подвижные нематоды сем. Panagrolaimidae. *Panagrolaimus scheucherae*

- Передний отдел глоки в виде узкого прокорпуса, метакорпус отделен от прокорпуса, головные проболы в виде кутикулярных выростов, хвост тупойсем. Cephalobidae. *Chiloplacus* sp..
- 8. Медиальный бульбус мелкий, круглый или веретновидный, слабо различим от контура глотки, имеется проток дорсальной железы у основания стилета, стилет с головкамиинфраотряд Tylenchina 9
- Медиальный бульбус очень крупный, отчетливо отделен от контура глотки, проток дорсальной железы в передней части медиального бульбуса.инфраотряд Aphelenchina..... 10.
- 9. Мелкие нематод 700 мкм и короче, хвост заострен или нитевидный *Neoditylenchus* sp.
- Крупные нематоды длина более 700 мкм, хвост тупой округлый. *Sychnotylenchus ulmi*
- 10. Толстые нематоды, боковое поле с 10 и более инцизурами. -сем. Aphelenchidae..... *Aphelenchus avenae*
- Тонкие нематоды, в боковом поле 2-6 инцизур. сем. Aphelenchoididae 11.
- 11. У самок кончик хвоста в виде руки с 4 пальцами – педункулами*Laimaphelenchus deconincki*.
- У самок простой кончик хвоста, не 4-палый 12.
- 13. Самцы с терминальной бурсойр. *Bursaphelenchus* 14
- Самцы без терминальной бursы 15
- 14. Очень длинные и узкие нематоды, 750 мкм а=45 и длиннее..... *Bursaphelenchus michalski*
- Нематоды среднего размера не длиннее 800 мкм, а менее 35. *Buraphelenchus ulmophilus*
- 15. Спикулы самца мощные крупные, с круглым выдающимся кзади кондиллюсом, хвост самца в виде острого кутикулярного шипа, резко

обращенного вентрально, самцы многочисленны, их число примерно равно числу самок. *Ektaphelenchus scolyti*

- Спикулы средне-кутикуляризированные прозрачные, хвост самца изогнут в виде ручки зонтика, без терминального шипа, самцы редки *Aphelenchoides parasaprophilus*.

Таблица 2 Данные сборов ксилобионтной фауны больных вязов

Вид нематоды	Код и номер сбора	Вид дерева	Место сбора
<i>Mesodorylaimus brevicaudatus</i>	SPB-2; SPB-3; SPB-4; SPB-6 KNG-9; KNG-14; KNG-15 MSV-7; MSV-8	<i>Ulmus glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i>	Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Москва
<i>Plectus acuminatus</i>	DAG-4; DAG-5 SPB-1; SPB-2; SPB-3; SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-27; SPB-28; SPB-29 KNG-10; KNG-11 MSV-3; MSV-4; MSV-7 DAG-5; DAG-6 NNG-1; NNG-2 KLNG-1	<i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i> <i>U. laevis</i> , <i>U. glabra</i> <i>U. glabra</i> <i>U. glabra</i>	Дагестан, Самурский лес Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Москва Дагестан, Самурский лес Нижний Новгород Калининград, Биол.ст."Рыбачий"
<i>Protorhabditis xylocola</i>	SPB-5; SPB-6; SPB-7; SPB-8; SPB-9; SPB-10 VRZH-3; VRZH-5 KNG-10; KNG-11; KNG-12 MSV-1; MSV-2 MGD-1	<i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i> <i>U. glabra</i>	Санкт-Петербург Воронежская обл. Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Москва Магаданская обл.
<i>Diploscapter coronatus</i>	SPB-1; SPB-2; SPB-3; SPB-6; SPB-7; SPB-8; SPB-9; SPB-10 KNG-4; KNG-5; KNG-6 VRZH-2; VRZH-3	<i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i>	Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Воронежская обл. Санкт-Петербург
<i>Rhabditolaimus ulmi</i>	SPB-1; SPB-2; SPB-3; SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-7; SPB-8; SPB-9; SPB-10; SPB-12; SPB-13; SPB-14; SPB-15; SPB-16; SPB-17; SPB-28; SPB-29; SPB-30; SPB-31; SPB-32; SPB-33; SPB-34; SPB-35 NNG-1; NNG-2	<i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i>	Санкт-Петербург Воронежская обл. Санкт-Петербург Нижний Новгород
<i>Panagrolaimus scheucherae</i>	SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-7; SPB-8; SPB-9; SPB-10; SPB-12; SPB-13; SPB-14; SPB-15; SPB-16 KNG-4; KNG-5; KNG-6 KLNG-1	<i>U. glabra</i> , <i>U. laevis</i> <i>U. glabra</i> <i>U. glabra</i>	Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Калининград, Биол.ст."Рыбачий"

<i>Chiloplacus</i> sp.	SPB-2; SPB-3; SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-7; SPB-8; SPB-9; SPB-10; SPB-12 VRZH-2; VRZH-3	<i>U. glabra, U. laevis</i>	Санкт-Петербург
<i>Neoditylenchus</i> sp.	NNG-1; NNG-2 SPB-2; SPB-3; SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-9; SPB-10; SPB-12; SPB-37	<i>U. glabra</i> <i>U. glabra, U. laevis</i>	Воронежская обл. Нижний Новгород Санкт-Петербург
<i>Sychnotylenchus ulmi</i>	SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-27; SPB-28 VRZH-2; VRZH-3 MSV-1; MSV-2 KNG-5; KNG-6; KNG-14; KNG-15	<i>U. glabra, U. laevis</i> <i>U. glabra, U. laevis</i> <i>U. glabra, U. laevis</i>	Санкт-Петербург Воронежская обл. Москва Кингисеппский р-н, Ленинградская обл.
<i>Aphelenchus avenae</i>	SPB-1; SPB-2; SPB-3; SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-27; SPB-28 VRZH-2; VRZH-3 MSV-1; MSV-2 KNG-4; KNG-5; KNG-6; KNG-14; KNG-15 MGD-1 KLNG-2	<i>U. glabra, U. laevis</i> <i>U. glabra, U. laevis</i> <i>U. glabra, U. laevis</i> <i>U. glabra</i> <i>U. glabra</i>	Санкт-Петербург Воронежская обл. Москва Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Магаданская обл. Калининград, Биол.ст."Рыбачий"
<i>Aphelenchoides parasaprophilus</i>	SPB-1; SPB-2; SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-27; SPB-28 VRZH-3 MSV-1; MSV-2 NNG-1; NNG-2 KNG-4; KNG-5; KNG-6; KNG-14; KNG-15	<i>U. glabra, U. laevis</i> <i>U. glabra, U. laevis</i> <i>U. glabra, U. laevis</i> <i>U. glabra</i> <i>U. glabra, U. laevis</i>	Санкт-Петербург Воронежская обл. Москва Нижний Новгород Кингисеппский р-н, Ленинградская обл.
<i>Laimaphelenchus deconincki</i>	SPB-1; SPB-2; SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-27; SPB-28; SPB-37	<i>U. glabra, U. laevis</i>	Санкт-Петербург
<i>Ektaphelenchus scolyti</i>	SPB-1; SPB-2; SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-27; SPB-28 KRL-1, KRL-2, KRL-3	<i>U. glabra, U. laevis</i> <i>U. glabra</i>	Санкт-Петербург Респ. Карелия ББС «Картеш»
<i>Bursaphelenchus michalski</i>	DAG-1; DAG-2; DAG-3; DAG-6	<i>Ulmus minor/S. jaroschewskii</i>	Дагестан, Самурский лес
<i>Bursaphelenchus ulmophilus</i>	SPB-1; SPB-2; SPB-3; SPB-4; SPB-5; SPB-6; SPB-7; SPB-8; SPB-9; SPB-10; SPB-11; SPB-12; SPB-27; SPB-28; SPB-37 NNG-1; NNG-2 MSV-1; MSV-2	<i>U. glabra, U. laevis</i> <i>U. glabra</i> <i>U. glabra, U. laevis</i>	Санкт-Петербург Нижний Новгород Москва

Диагностический ключ к видам нематод ясеня *Fraxinus excelsior*

1. Ротовое копьё трубковидное, с широким каналом, полое (онхиостиль), симметричное, глотка без бульбусов, цилиндридная, кутикула очень толстая, с продольными гребнями, хвост самки нитевидный отр. *Dorylaimida* *Eudorylaimus* sp.
- Ротовое копьё с широким каналом (онхиостиль), асимметричное, с расширенным зубовидным наконечником и вспомогательными передними кутикулярными пластинками и асимметричными мощными базальными утолщениями, кутикула толстая, глотка с задним грушевидным бульбусом, хвост обоих полов округлый
отр. *Tripionchida*, сем. *Diphterophoridae*. *Tylolaimophorus bulgaricus*
- Ротовое копьё в виде стилета с внутренним узким капилляром (стоматостиль) или стома бокаловидная или трубковидная, глотка включает один или два бульбуса 2
2. Стома в виде стилета с внутренним узким капилляром (стоматостиль) 3
- Стома трубковидная или бокаловидная 6
3. Кончик хвоста самки в виде расставленных 4 пальцев (педункул) *Laimaphelenchus penardi*
- Кончик хвоста самки без пальцевидных педункул 4
4. Самец с терминальной бурсой в виде лопасти *Bursaphelenchus* ..5
- Самец без бурсы *Aphelenchoides parasaprophilus*
5. Латеральное поле с 3-4 линиями, вентральный велум у спикул самцов отсутствует, длина тела половозрелых особей 700 мкм и более Группа *Sexdentati Bursaphelenchus crenati*
- Латеральное поле с 2 линиями, вентральный велум у спикул самцов имеется, длина тела половозрелых особей менее 700 мкм
Группа *Abietinus*. *Bursaphelenchus zvyagintsevi*
6. Передняя часть глотки мощная, мускулистая, гораздо шире, чем более узкая и менее развитая задняя половина глотки (после метакорпуса) 7
- Передняя и задняя части глотки одинаково хорошо развиты 9

7. В заднем бульбусе глотки имеется клапан, половая система самки непарная, крупные подвижные нематоды *Panagrolaimus leperisini*
- В заднем бульбусе глотки клапан отсутствует, половая система самки парная, нематоды средних и мелких размеров сем. Diplogastridae 8
8. Прокорпус и метакорпус глотки слиты в удлиненный цилиндровидный корпус глотки, у самца хвост с латеральной бурсой, укороченно-конический, губернакулюм гораздо короче длины спикул *Rhabditolaimus leuckarti*
- Метакорпус глотки с очень крупным клапаном и отчётливо шире прокорпуса глотки, у самца хвост длинный нитевидный без латеральной бursy, длина губернакулюма примерно равна длине спикул *Acrostichus pterygatus*
9. Стома из серии кутикулярных частей (цефалобидная), хейлостома шире последующих частей, вульва посередине тела, непарная женская половая система образует петлю с яичником, достигающим до ануса, обитают в коре. *Cephalobus persegnis*
- Губная область без лопастевидных выростов, в виде толстой удлиненной трубки (рабдитидная), хейлостома не шире последующих частей, вульва на заднем конце тела рядом с анусом тела, непарная женская половая система с передним яичником, эндопаразиты короедов, выходят в их галереи в коре. *Parasitorhabditis ateri*

Таблица 3 Данные сборов ксилобионтной фауны больных ясеней

Вид нематоды	Код и номер сбора	Место сбора
<i>Eudorylaimus</i> sp.	SPB-23; SPB-24; SPB-26	Санкт-Петербург
<i>Tyololaimophorus bulgaricus</i>	NNG-3; NNG-4 SPB-23; SPB-24; SPB-26 KNG-1; KNG-2; KNG-3 MSV-5; MSV-6	Нижний Новгород Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Москва
<i>Parasitorhabditis ateri</i>	BYR-1; BYR-2; BYR-3; BYR-8 SPB-23; SPB-24; SPB-26 KNG-1; KNG-2; KNG-3; KNG-12; KNG-13	Беларусь Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл.
<i>Acrostichus pterygatus</i>	NNG-3; NNG-4 MSV-5; MSV-6 BYR-1; BYR-2; BYR-3; BYR-8 SPB-23; SPB-24; SPB-25; SPB-26 KNG-1; KNG-2; KNG-3; KNG-12; KNG-13	Нижний Новгород Москва Беларусь Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл.
<i>Rhabditolaimus leuckarti</i>	NNG-3; NNG-4 MSV-5; MSV-6 VRZH-1; VRZH-5 BYR-1; BYR-2; BYR-3; BYR-8 SPB-23; SPB-24; SPB-26 KNG-1; KNG-2; KNG-3	Нижний Новгород Москва Воронежская обл. Беларусь Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл.
<i>Cephalobus persegnis</i>	MSV-5; MSV-6 BYR-1; BYR-2; BYR-3; BYR-8	Москва Беларусь
<i>Panagrolaimus leperisini</i>	SPB-23; SPB-24; SPB-26 KNG-1; KNG-2; KNG-3; KNG-12; KNG-13 MSV-5; MSV-6 VRZH-1; VRZH-5 BYR-1; BYR-2; BYR-3; BYR-8 SPB-23; SPB-26 KNG-1; KNG-2; KNG-13	Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Москва Воронежская обл. Беларусь Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл.
<i>Aphelenchoides parasaprophilus</i>	MSV-5; MSV-6 BYR-1; BYR-2; BYR-3; BYR-8 SPB-23; SPB-24; SPB-26 VRZH-1; VRZH-5 KNG-1; KNG-2; KNG-3; KNG-12; KNG-13	Москва Беларусь Санкт-Петербург Воронежская обл. Кингисеппский р-н, Ленинградская обл.

<i>Laimaphelenchus penardi</i> <i>Bursaphelenchus crenati</i>	NNG-3; NNG-4 SPB-23; SPB-26 VRZH-1; VRZH-5 BYR-1; BYR-2; BYR-3; BYR-8	Нижний Новгород Санкт-Петербург Воронежская обл. Беларусь
<i>Bursaphelenchus zvyagintsevi</i>	KHBR-1	Хабаровский край

Диагностический ключ к видам нематод дуба *Quercus robur*

1. Крупные нематоды, длина тела более 800 мкм, с широкой плоской губной областью, стома хищная, толстостенная, широкая, с мощным передним дорсальным зубом, амфид очень большой в виде рюмки на уровне стомыОтряд Mononchida. *Anatonchus* sp.
 - Строение стомы и амфида иное 2
2. Щетинки на переднем конце тела и на хвосте, амфид круглый или в виде кружка с запятой, значительно позади губной области, на хвосте имеется спиннерет – пора куда открываются три каудальные железы 3
 - Тело без щетинок, амфиды на поверхности губной области, поровидные, поэтому обычно не различимы в обычной латеральной позиции под световым микроскопом, спиннерет и каудальные железы отсутствуют..... 4
3. Половая система самки парная, вульва посредине тела, стома щелевидная, длина её значительно превышает ширину, амфиды вентральные, в виде кружков с запятой, задний бульбус глотки с мощным кутикулярным клапаном*Plectus makrodemas*
 - Половая система самки монопродельфная, вульва в задней части тела, ширина стомы значительно превышает её длину, амфид крупный, круглый, латеральный или дорсо-латеральный, глотка цилиндрическая без заднего бульбуса *Geomonhystera villosa*
4. Стома преобразована в стилет с тонким внутренним капилляром 8
 - Стома не преобразована в стилет, бокаловидная или трубчатая 5
5. Задний бульбус глотки с кутикулярным клапаном, хвост не нитевидный, в стоме отсутствует крупный дорсальный зуб 6
 - Задний бульбус глотки без кутикулярного клапана, хвост нитевидный у самцов и самок, дорсальный зуб стомы в виде мощного кинжала, длина губернакулюма почти равна длине спикулы сем. Diplogastridae *Acrostichus* sp.
6. Стома в виде широкой единой трубки (рабдитидная), метакорпус глотки в виде бульбуса обособлен, вульварное отверстие самки не менее 80% длины

тела, близко к анусу, губы с заостренными выростами сем. Rhabditiodae

Mesorhabditis irregularis

- стома составная, прокорпус и метакорпус слиты в единый мускулистый прокорпус, метакорпус не обособлен среди контура глотки, вульварное отверстие примерно на 60-70% длины тела, далеко от ануса, губы округлые без заостренных выростов сем. Panagrolaimidae 7

7. Стома с длинными кутикулярными базальными утолщениями – промезорабдионами, занимающими более половины длины стомы, головка спикеры не обособлена, соединена с телом спикеры плавным контуром, губная область не обособлена перетяжкой от тела *Panagrolaimus rigidus*

- Стома с короткими промезорабдионами, занимающими не более трети длины стомы, головка спикеры обособлена и резко заужена, крючковидно загнута вентрально, губная область обособлена *Panagrellus ventrodentatus*

8. Медиальный бульбус не выражен, хвост самок и самцов округлый, длина тела более 1000 мкм, эндопаразиты насекомых, в короедах и внутри галерей жуков в коре *Hexatylus pseudoobtus*

- Медиальный бульбус имеется, хвосты самок и самцов заостренные или с придатками, длина тела не более 800 мкм 9

9. Бурса самца лептодерная, т.е. две латеральные складки (крылья) преклоакальные и не достигают кончика конического почти нитевидного хвоста, глотка тилехидная с задним кардием, железы не образуют лопасть, а собраны в задний железистый бульбус

..... сем. Tylenchidae *Filenchus uliginosus*

- Медиальный бульбус глотки мощный, афеленхоидный, бурса отсутствует или в виде лопасти на кончике хвоста самца (у *Bursaphelenchus*), задняя часть глотки в виде лопасти, свисающей на средний кишечник 10

10. Бурса в виде лопасти на кончике хвоста самца *Bursaphelenchus* 11.

- Бурса на кончике хвоста самца отсутствует 14

11. Латеральное поле с 2 линиями, спикулы с вентральным велумом между рострумом и кончиком спикулы *Bursaphelenchus willibaldi* (группа видов *Fungivorus*)
- Латеральное поле с 3 и более инцизурами, спикулы без велума 12
12. Спикулы мощные с характерным изломом конической части (форма спикул *Xylophilus*) и выраженным кукуллюсом на кончике спикулы, имеется длинный вульварный щиток, 4 линии латерального поля *Bursaphelenchus fraudulentus* (группа видов *Xylophilus*)
- Спикулы компактной формы, не сильно кутикуляризированные, вульварный щиток очень короткий или отсутствует, три линии латерального поля 13.
13. Кондиллос спикулы дорсально образует острый крюк, кончик хвоста самки прямой заостренный ... *Bursaphelenchus eremus* (группа видов *Eggersi-Eremus*)
- Кондиллос спикулы тупой, квадратный или округлый лишь слегка выдается дорсально, кончик хвоста самки изогнут вентрально, тупой, округлый *Bursaphelenchus laciniatae* (группа видов *Eggersi-Eremus*)
14. Голова уплощенная, очень мощный и длинный стилет из трех частей, спикулы самца сильно склеротизированы, хвост самца в виде шипа *Ektaphelenchus* sp.
- Голова полусферическая, стилет умеренно развит, состоящий из двух частей – конуса и рукоятки с слабыми базальными утолщениями, спикулы самца слабо или средне склеротизированы, хвост самца конический, без терминального шипа 15
15. Хвост самки с придатком из 4 пальцевидных педункул или из множества сосочков, голова с кутикулярными гребнями, лопасти губной области отчетливые обособленные *Laimaphelenchus* 17
- Хвост самки с коническим кончиком, голова полусферическая, лопасти губной области неотчетливые *Aphelenchoides* 16
16. Мукро самки центральное на оси хвоста в виде ступенчатой пирамидки с острием, 4 линии латерального поля, тело почти прямое *Aphelenchoides* cf. *eldaricus*

- Мукро самки вентральное округло-пальцевидное, 3 линии латерального поля, тело сильно вентрально изогнуто *Aphelenchoides composticola*
- 17. Кончик хвоста самки с придатком из 4 пальцевидных педункул, имеется длинный вульварный щиток..... 18
- . Хвост самки без похожего на кисть руки придатка, но состоит из множества сосочков в виде кисточки, вульварный щиток самки короткий или отсутствует 19.
- 18. Стиллет 12 мкм или короче, 3 линии латерального поля, 2 пары каудальных папилл у самца *Laimaphelenchus hyrcanus*
- Стиллет 13 мкм или длиннее, 2 линии латерального поля, 3 пары каудальных папилл самца *Laimaphelenchus penardi*
- 19. Поствульварный мешок матки самки (PUS) длиннее, чем половина расстояния вульва-анус, 4 линии латерального поля, 3 пары папилл (2,2,2), спикулы 20 мкм и более..... *Laimaphelenchus pannocaudus*
- Поствульварный мешок матки самки (PUS) не превышает четверти расстояния вульва-анус, 3 линии латерального поля, 1 непарная передняя каудальная папилла на уровне вершины роострума спикул, и две пары последующих папилл (1,2,2), спикулы 16 мкм и короче *Laimaphelenchus heidelbergi*

Таблица 4 Данные сборов ксилобионтной фауны больных дубов

Вид нематоды	Код и номер сбора	Место сбора
<i>Geomonhystera villosa</i>	SPB-11; SPB-18; SPB-19 KNG-7; KNG-8	Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл.
<i>Anatonchus</i> sp.	SPB-18; SPB-19; SPB-36; SPB-38; SPB-39; SPB-40 MSV-9	Санкт-Петербург Москва
<i>Plectus makrodemas</i>	SPB-11; SPB-18; SPB-19; SPB-20; SPB-21; SPB-22; SPB-36 KNG-7; KNG-8	Санкт-Петербург Кингисеппский р-н, Ленинградская обл.
<i>Mesorhabditis irregularis</i>	MSV-9 VRZH-4 TMS-1; TMS-2 KNG-7; KNG-8	Москва Воронежская обл. Томская обл.
<i>Acrostichus</i> sp.	MSV-9 SPB-11; SPB-19; SPB-20; SPB-21; SPB-22; SPB-36 VRZH-4 TMS-1; TMS-3 KNG-7; KNG-8	Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Москва Санкт-Петербург Воронежская обл. Томская обл.
<i>Panagrellus ventrodentatus</i>	MSV-9 SPB-22; SPB-36	Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Москва
<i>Panagrolaimus rigidus</i>	NVS-1 SPB-21; SPB-22; SPB-36; SPB-38 TMS-1; TMS-3; TMS-4	Санкт-Петербург Новосибирск Санкт-Петербург
<i>Filenchus uliginosus</i>	SPB-20; SPB-21; SPB-22; SPB-40 KNG-7; KNG-8	Томская обл. Санкт-Петербург
<i>Hexatylus pseudoobtus</i>	SPB-20; SPB-21; SPB-22; SPB-40 NNG-5	Кингисеппский р-н, Ленинградская обл. Санкт-Петербург
<i>Aphelenchoides composticola</i>	SPB-18; SPB-19; SPB-36; SPB-38; SPB-39; SPB-40 BYR-4; BYR-5; BYR-6	Нижний Новгород Санкт-Петербург
<i>Aphelenchoides</i> cf. <i>eldaricus</i>	SPB-18; SPB-36; SPB-38; SPB-39; SPB-40	Беларусь Санкт-Петербург
<i>Laimaphelenchus hyrcanus</i>	SPB-36; SPB-38; SPB-39; SPB-40	Санкт-Петербург
<i>Laimaphelenchus heidelbergi</i>	SPB-36; SPB-38; SPB-39; SPB-40	Санкт-Петербург
<i>Laimaphelenchus penardi</i>	SPB-20; SPB-21; SPB-22	Санкт-Петербург
<i>Laimaphelenchus pannocaudus</i>	SPB-20; SPB-22; SPB-38; SPB-40	Санкт-Петербург
<i>Ektaphelenchus</i> sp.	SPB-11; SPB-38; SPB-40 NNG-5	Санкт-Петербург Нижний Новгород
<i>Bursaphelenchus eremus</i>	NNG-5	Нижний Новгород
<i>Bursaphelenchus fraudulentus</i>	BYR-4; BYR-5; BYR-7	Беларусь
<i>Bursaphelenchus laciniatae</i>	NNG-5	Нижний Новгород
<i>Bursaphelenchus willibaldi</i>	NNG-5	Нижний Новгород

**ПРИЛОЖЕНИЕ-2 АТЛАС ФОТОГРАФИЙ ВИДОВ СТЕБЕЛЬНЫХ
НЕМАТОД**

НЕМАТОДЫ СТЕБЕЛЬНЫХ *ULMUS* spp.



Рисунок 1
Diploscapter coronatus
 Cobb, 1893
 А – самка.
 В – передняя часть тела.
 С – хвост.
 Шкала: А – 30 мкм, В-С –
 10 мкм.
 Растение-хозяин: *U.*
glabra,
 Коллекция ЗИН РАН
 (Nematoda)

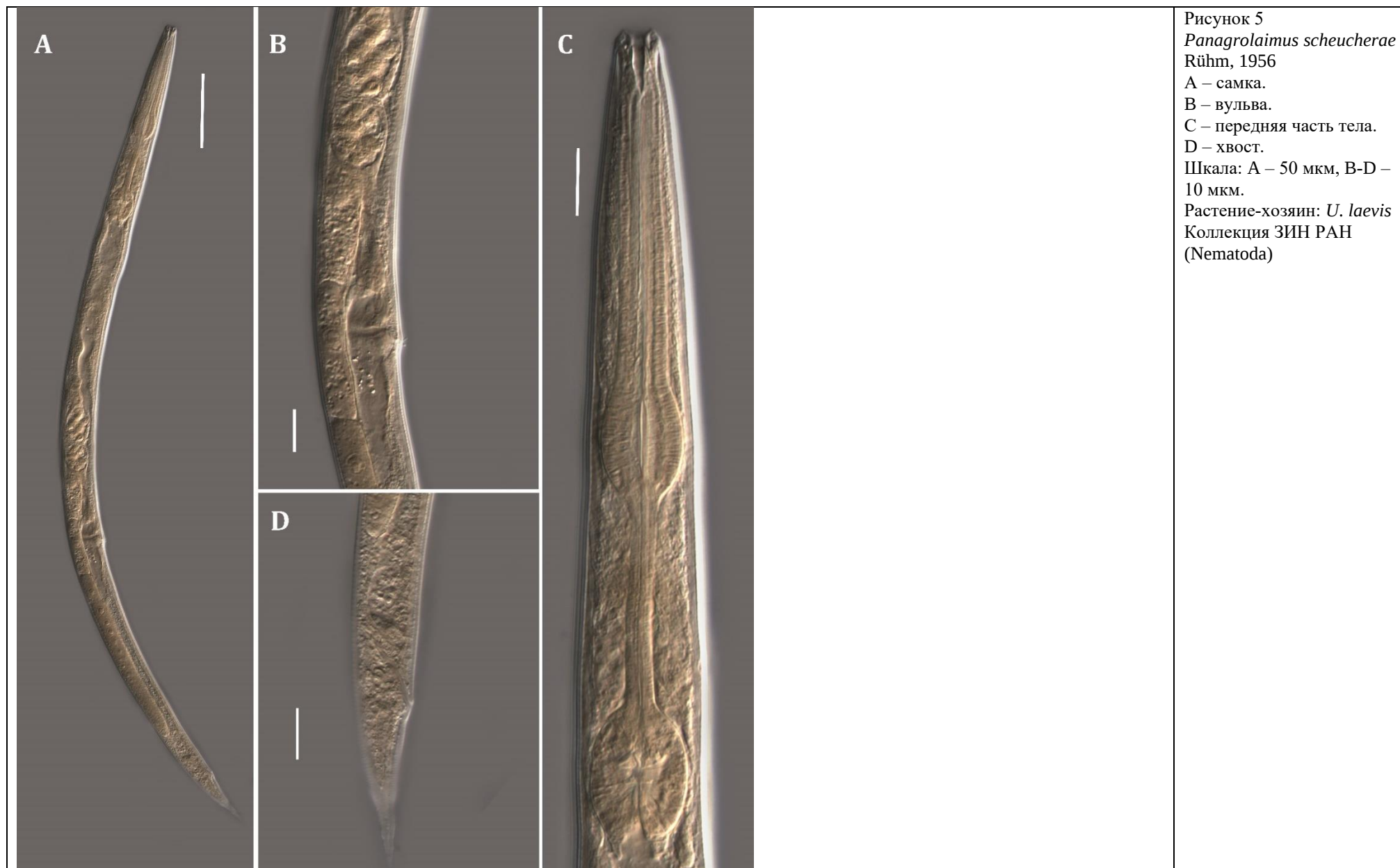


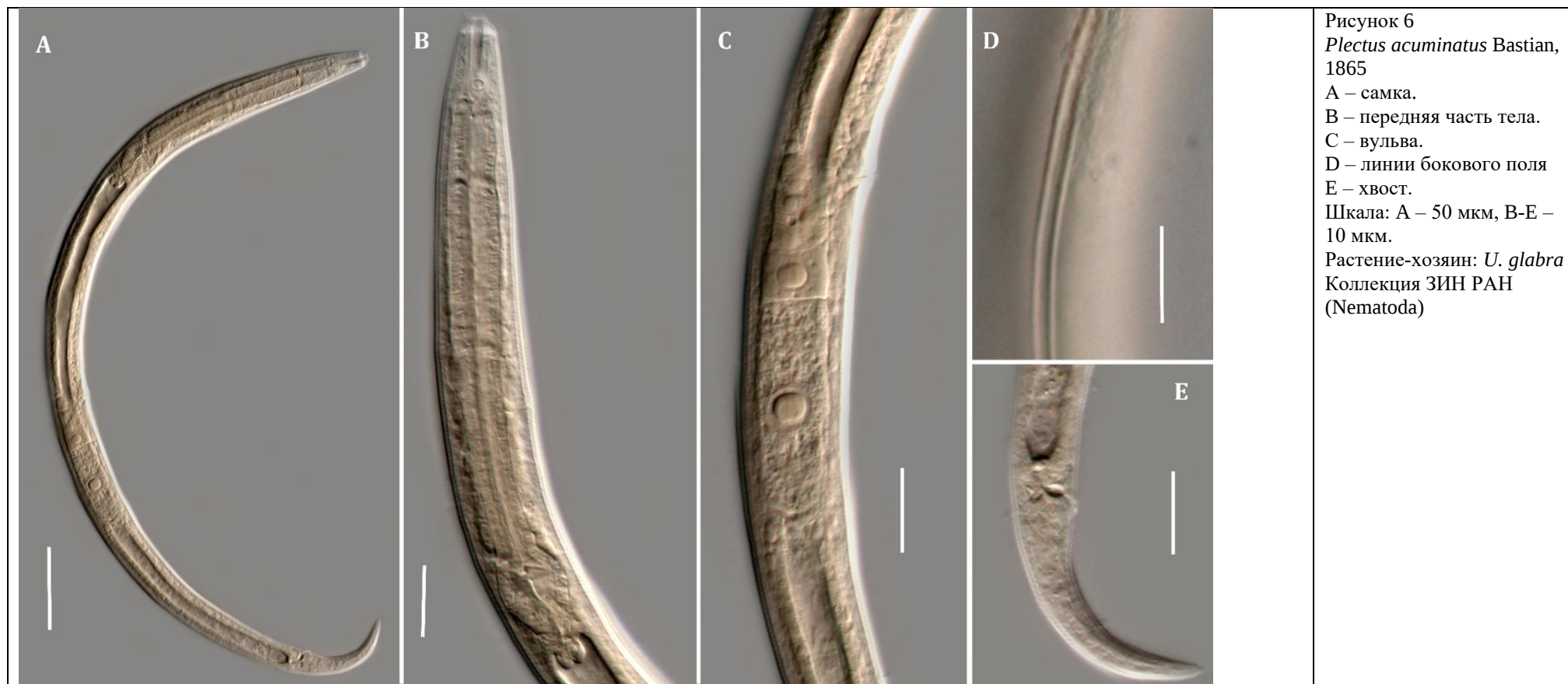


Рисунок 3
Sychnotylenchus ulmi Rühm,
 1956
 А – самка.
 В – передняя часть тела.
 С – вульва и хвост.
 Шкала: А – 50 мкм, В-С –
 10 мкм
 Растение-хозяин: *U. laevis*
 Коллекция ЗИН РАН
 (Nematoda)



Рисунок 4
Mesodorylaimus brevicaudatus Abolafia & Pena Santiago, 1996.
 А – самец.
 В-Д– передняя часть тела.
 Е – спикулы и хвост.
 Шкала: А – 50 мкм, В-Е – 10 мкм
 Растение-хозяин: *U. glabra*.
 Коллекция ЗИН РАН (Nematoda)





НЕМАТОДЫ ЯСЕНЯ *FRAXINUS ESXCELSIOR*



Рисунок 7
Cephalobus persegnis
 Bastian, 1865
 А – самка.
 В – передняя часть тела самки.
 С – задняя часть тела самки.
 D – задняя часть, вульва, яйцо в матке.
 Шкала: А – 50 мкм, В-D – 10 мкм
 Растение-хозяин:
Fraxinus excelsior
 Коллекция ЗИН РАН (Nematoda)



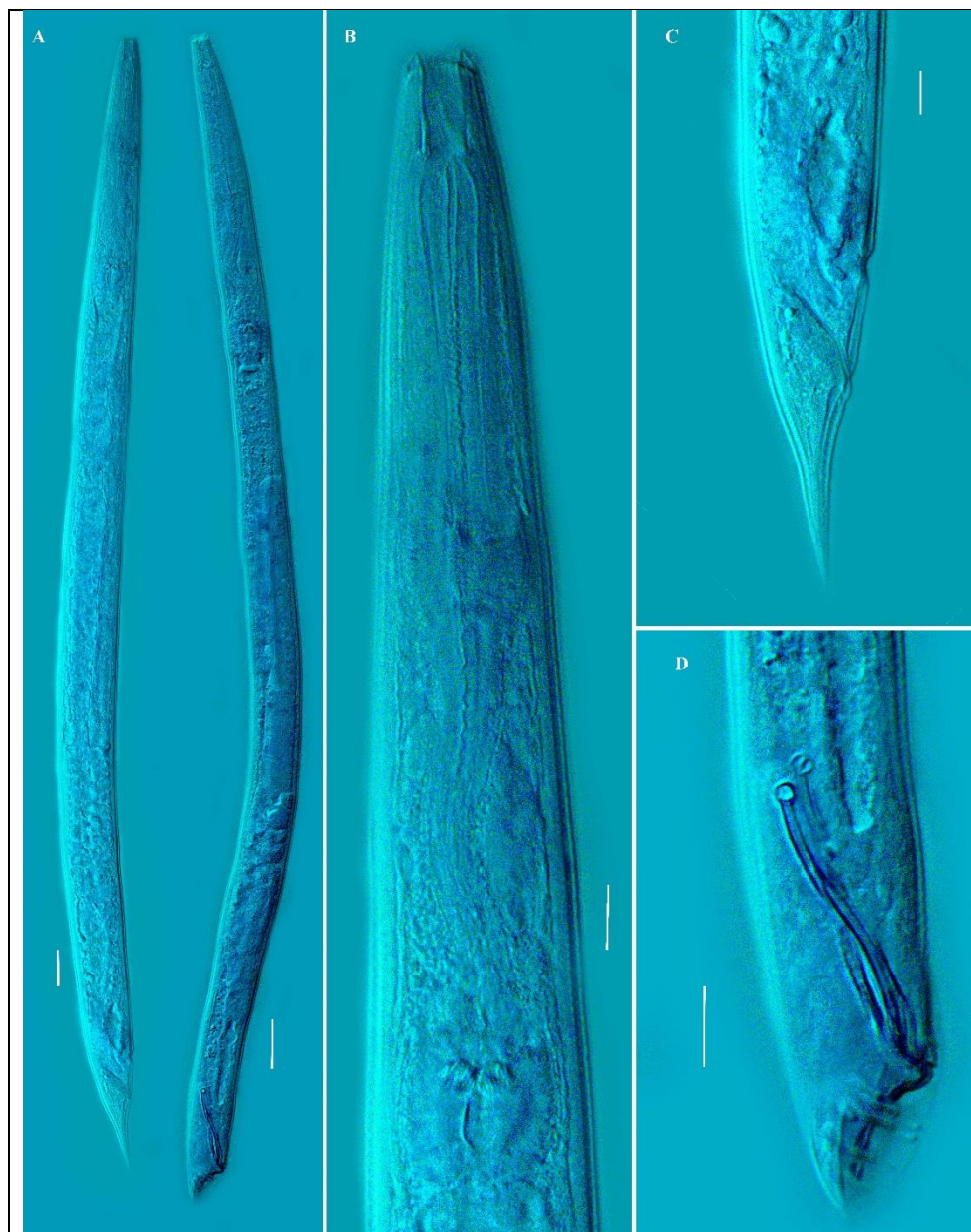


Рисунок 9
Parasitorhabditis ater (Fuchs, 1915) Dougherti, 1955
 А – самка, самец.
 В – передняя часть тела.
 С – хвост самки, вульва.
 D – хвост самца, спикулы.
 Шкала: А – 50 мкм, В-D – 20 мкм.
 Растение-хозяин: *Fraxinus excelsior*
 Коллекция ЗИН РАН (Nematoda)

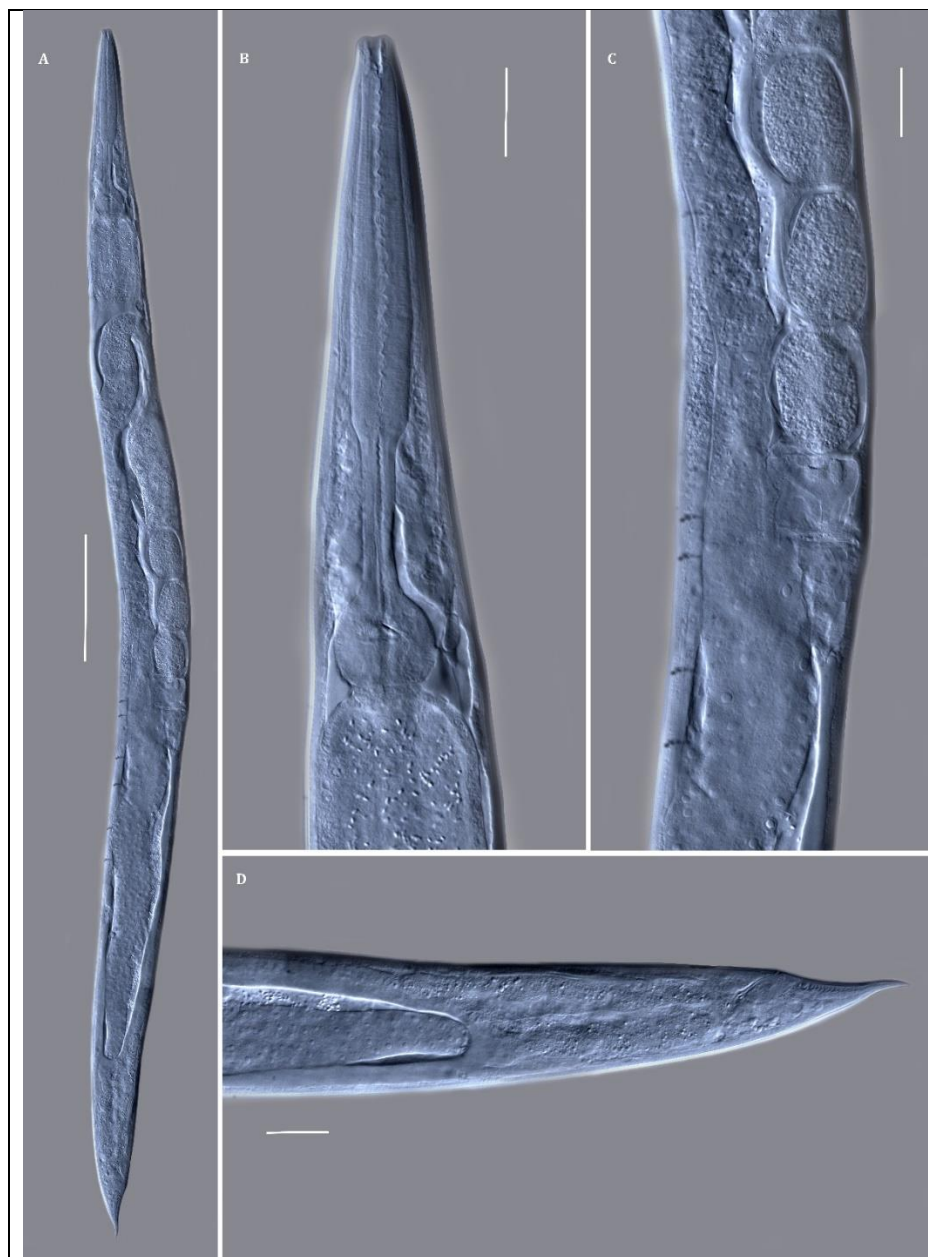


Рисунок 10
Panagrolaimus
leperisini
 Massey, 1974
 А – самка.
 В – передняя
 часть тела.
 С – вульва, яйца
 D – хвост.
 Шкала: А – 50
 мкм, В-D – 10
 мкм.
 Растение-
 хозяин:
Fraxinus
excelsior
 Коллекция ЗИН
 РАН (Nematoda)





Рисунок 12
Acrostichus
pterygatus
 (Timm 1961)
 Massey 1966
 А – самец.
 В – передняя
 часть тела.
 С – хвост,
 спикулы.
 Шкала: А – 50
 мкм, В-С – 10
 мкм.
 Растение-
 хозяин:
Fraxinus
excelsior
 Коллекция ЗИН
 РАН (Nematoda)

НЕМАТОДЫ ДУБА *QUERCUS ROBUR*

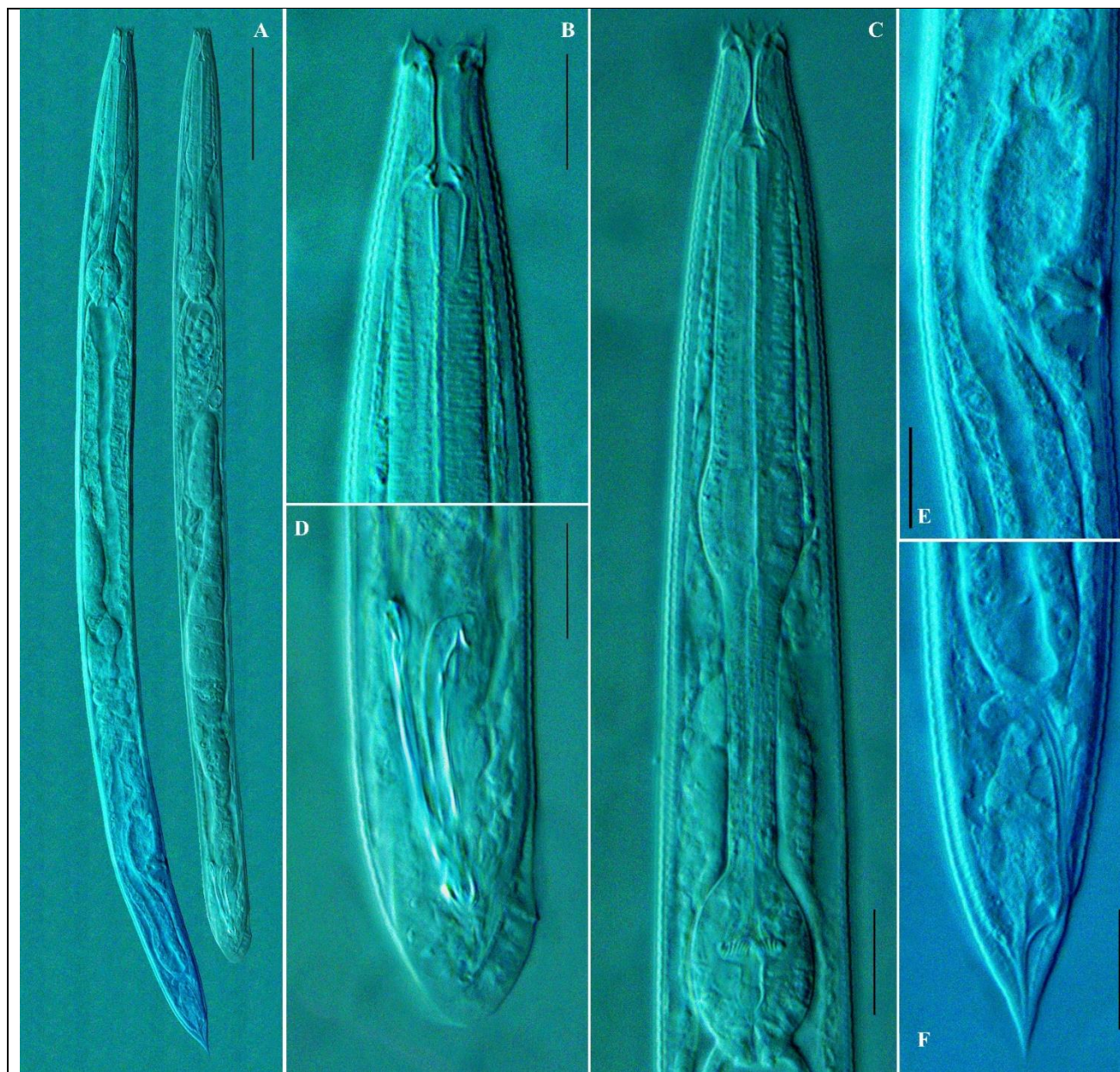
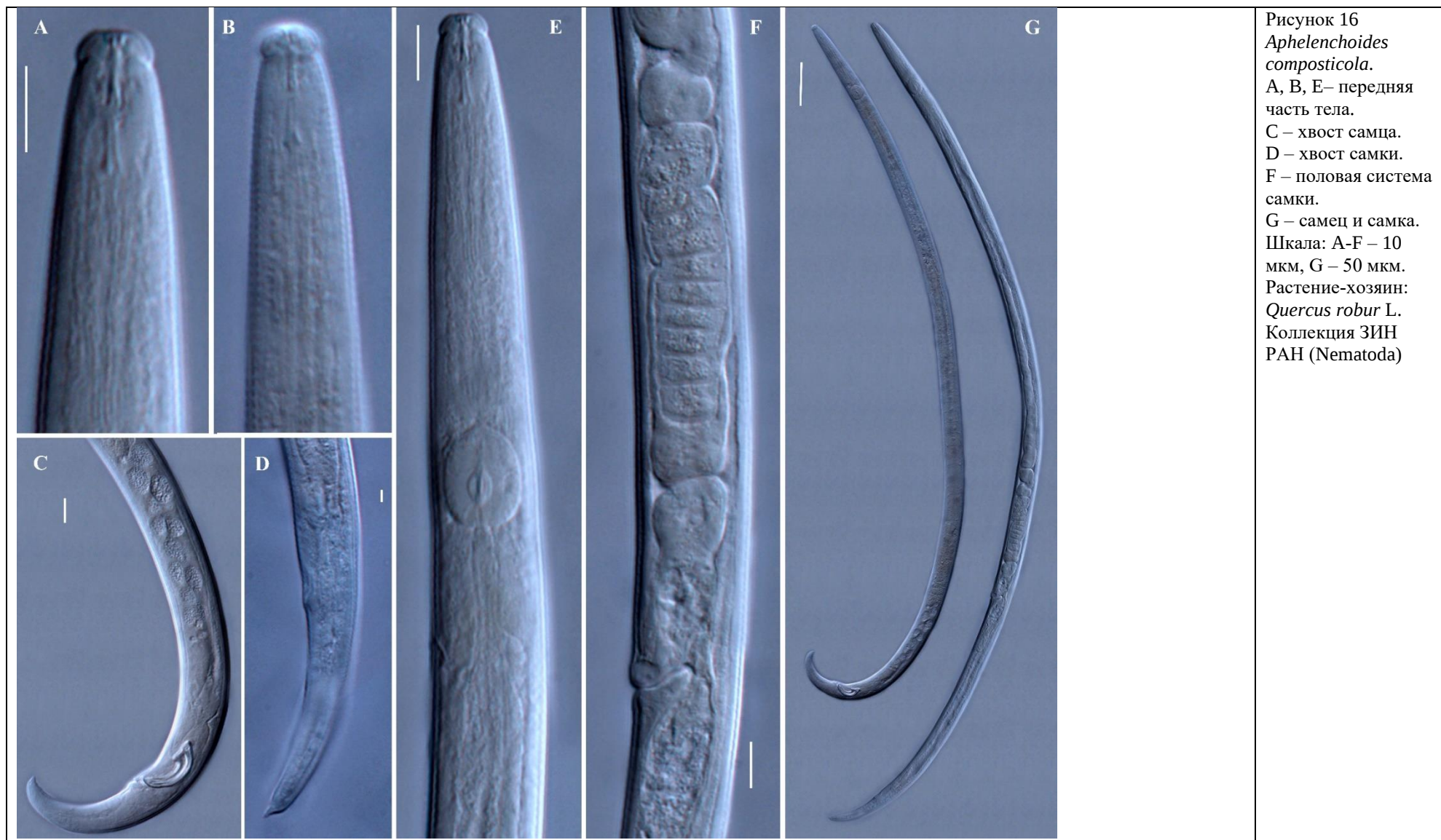


Рисунок 13
Mesorhabditis irregularis (Körner in Osche, 1952)
 Dougherty, 1955
 А – самец, самка. В, С – передняя часть тела. D – хвост самца, E – вульва самки, F – хвост самки. Шкала: А – 50 мкм, В-F – 10 мкм. Растение-хозяин: *Quercus robur* L. Коллекция ЗИН РАН (Nematoda)

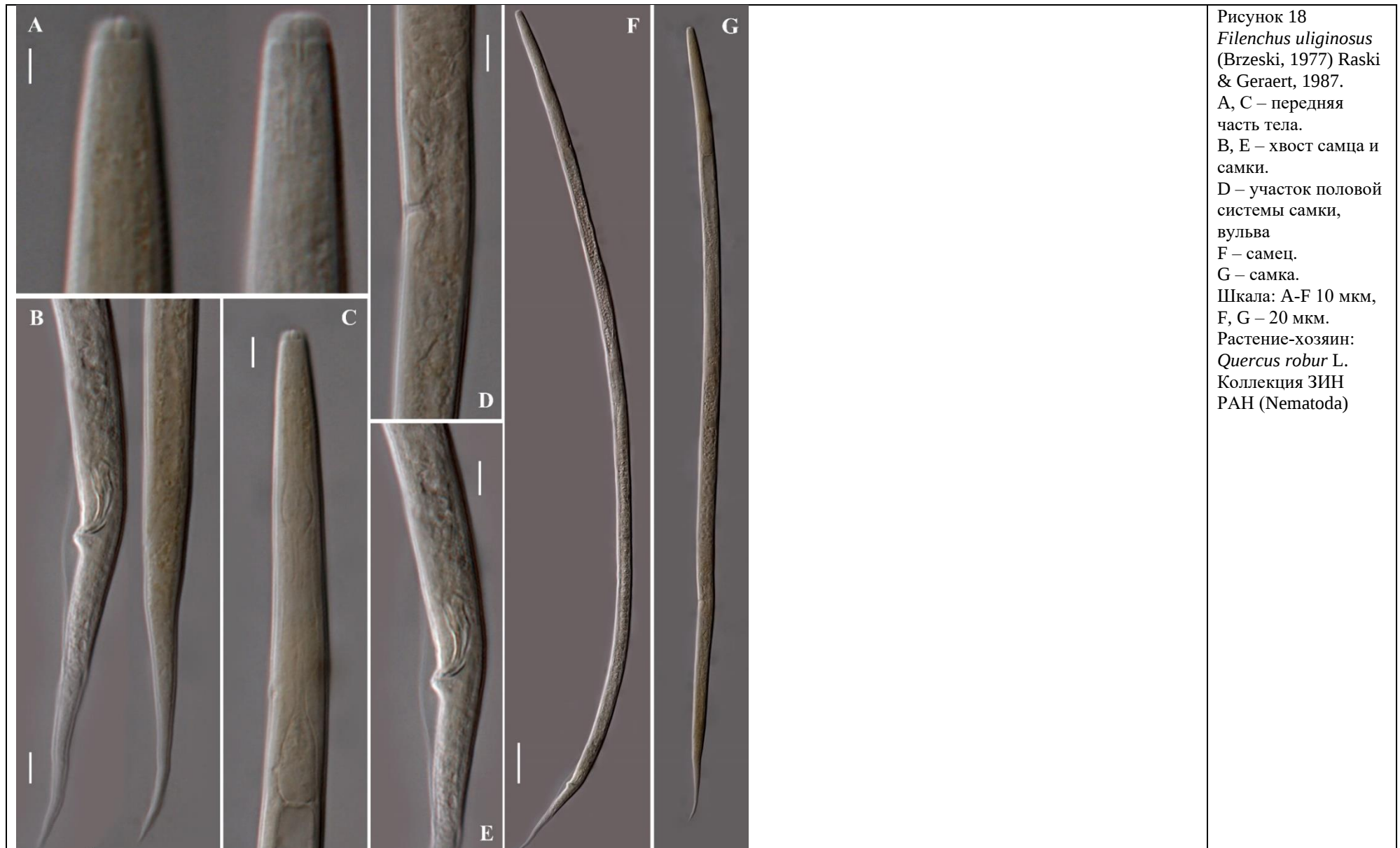


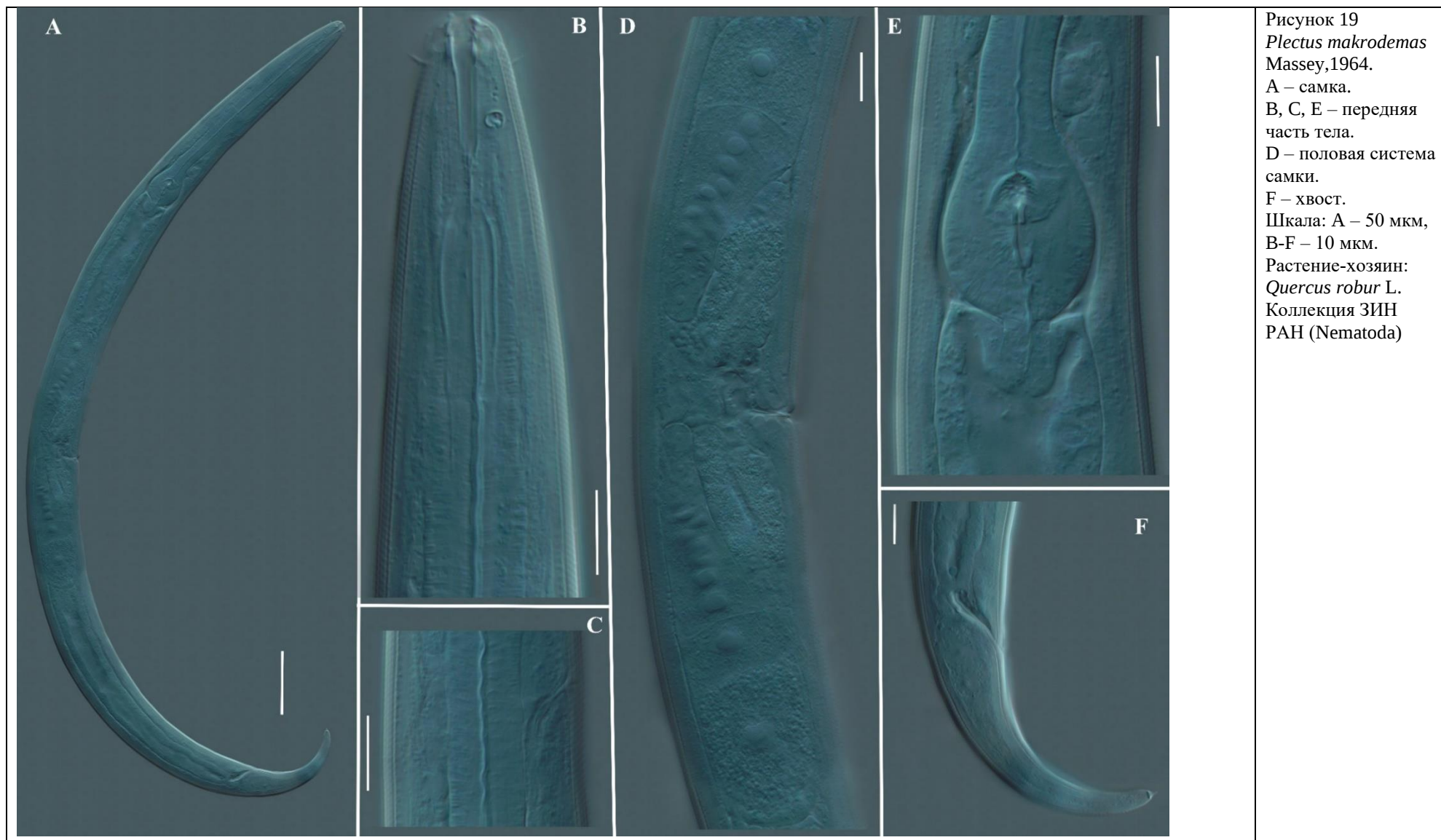


Рисунок 15
Anatonchus sp.
А – передняя часть
тела. В – задняя
часть тела. С –
личинка J2. Шкала:
20 мкм. Растение-
хозяин: *Quercus*
robur L. Коллекция
ЗИН РАН
(Nematoda)









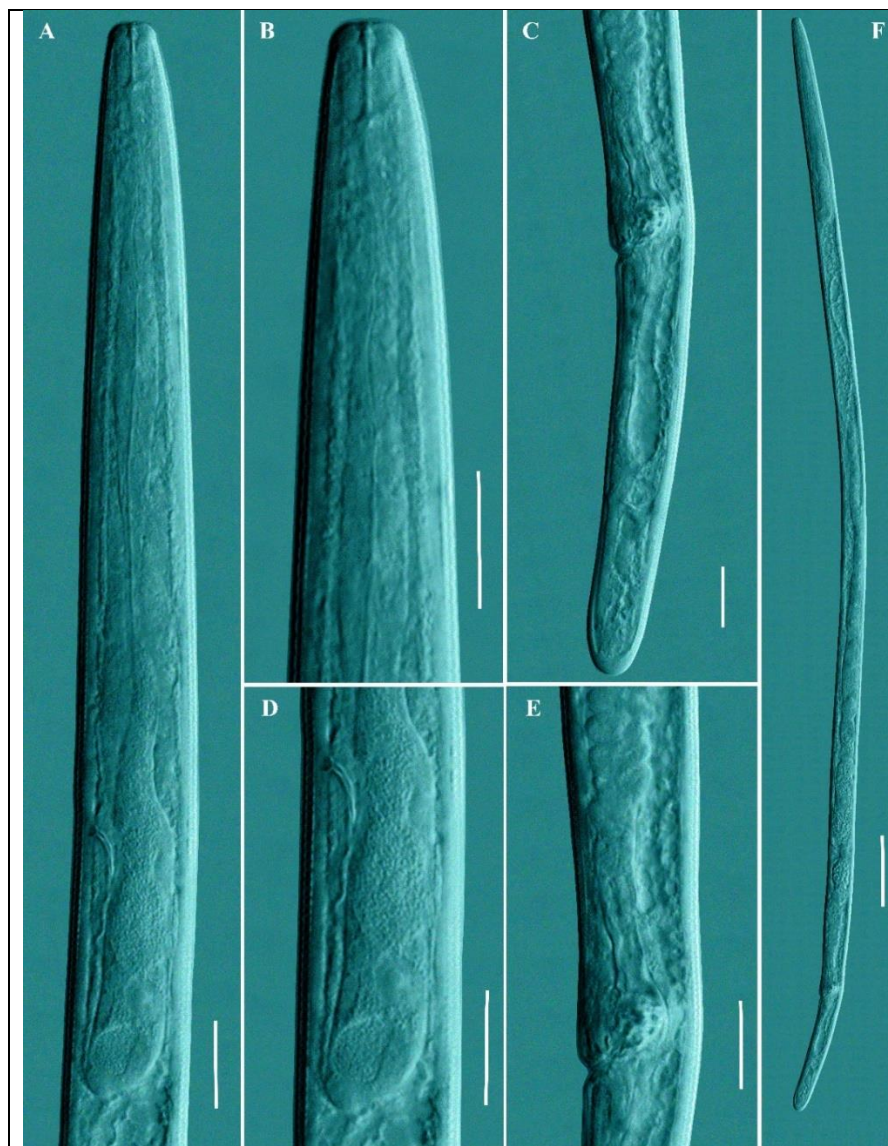


Рисунок 20
Hexatylus
pseudoobtusus
 (Rühm, 1956)
 Chizhov, Butorina,
 Tabolin, Limantseva
 & Subbotin, 2019
 А, В, D – передняя
 часть тела.
 С, Е – хвост, вульва.
 F – самка.
 Шкала: А-Е – 10
 мкм, F – 50 мкм.
 Растение-хозяин:
Quercus robur L.
 Коллекция ЗИН
 РАН (Nematoda)

