

УДК 632.651

КОЭВОЛЮЦИЯ СТВОЛОВЫХ НЕМАТОД РОДА *BURSAPHELENCHUS* FUCHS, 1937 С НАСЕКОМЫМИ- ПЕРЕНОСЧИКАМИ И РАСТЕНИЯМИ-ХОЗЯЕВАМИ

© 2017 г. А. Ю. Рысе¹, С. А. Субботин^{2, 3}

¹Зоологический институт РАН

199034 С.-Петербург, Университетская наб., 1

²Plant Pest Diagnostic Center, California Department of Food and Agriculture
CA 95832, USA, 3294 Meadowview Road, Sacramento

³Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
117071 Москва, Ленинский просп., 33
e-mail: neta@zin.ru

Поступила в редакцию 20.11.2016 г.

Род паразитических нематод *Bursaphelenchus* уникален сочетанием в жизненном цикле трех эволюционно далеких макросимбионтов: хозяев – гриба и древесного растения, а также насекомого-переносчика. Эволюция рода была реконструирована с использованием генов рибосомной РНК. На молекулярной филограмме продемонстрировано, что в видообразовании нематод р. *Bursaphelenchus* наибольшую роль играет специализация к таксонам насекомых-переносчиков, а не к растениям-хозяевам. Для интерпретации связи молекулярной и морфо-биологической эволюции использовали статистический пакет SIMMAP. В эволюции рода выделяются четыре ствола: макроклада *Abruptus* и макроклады А, В и С. Макроклада *Abruptus* (единственный вид *B. abruptus*) характеризуется диксенным циклом с ассоциацией “гриб – перепончатокрылое насекомое”. Общий ствол трех макроклад А, В и С ведет начало от предка с триксенным циклом и с ассоциацией с жуками короедами подсем. Scolytinae и хвойными деревьями. Эту приуроченность сохранили входящие в макрокладу С группы *Sexdentati*, *Eggersi*, *Hofmanni*, *Abietinus*; группа *Hylobianus* отличается переходом на переносчиков долгоносиков подсем. Curculioninae и вторичными спорадическими переходами на листовные растения. Макроклада А (с единственной группой *Fungivorus*) имеет наиболее широкий спектр ассоциаций и циклов, начинающийся от предка со статистически вероятной изначальной ассоциацией с листовными деревьями и долгоносиками и вторичным упрощением цикла до диксенного и моноксенного. Специализация в макрокладе В началась с предка с триксенным циклом и с ассоциацией: хвойные растения – переносчики жуки сем. Cerambycidae. Эту специализацию сохранили нематоды групп *Africanus* и *Xylophilus*, а нематоды группы *Trypophloe* в результате гостальной радиации перешли к ассоциации “короеды Scolytinae – листовные деревья”. Группа *Kevini* в макрокладе В упростила цикл до диксенного (гриб – перепончатокрылые).

Из сравнительного анализа морфологических признаков и положения на молекулярной филограмме, а также сравнения циклов можно сделать вывод о необходимости укрупнений групп видов классификации. В предлагаемой здесь классификации группа *Sexdentati* включила в себя все виды группы *Leoni*; группа *Africanus* включила все виды группы *Okinawaensis*, группа *Sinensis* включена в состав группы *Abietinus*. Подтверждена целесообразность предложенных ранее групп *Hylobianus* и *Trypophloe*. Последняя состоит из видов, близких к группе *Xylophilus*, но отличающихся по морфологии спикул и использующих в качестве переносчиков жуков подсем. Scolytinae, а не сем. Cerambycidae. На примере групп *Trypophloe* и *Africanus* показано, что структура спикул не всегда служит надежным маркером групп видов. Наиболее надежными маркерами групп видов служат число инцизур латерального поля и общая схема хвостовых папилл самца; остальные признаки (спикулы, вульва, хвост самок) следует рассматривать только в сочетании с двумя наиболее надежными признаками, а также с таксономическим составом хозяев и переносчиков в цикле нематоды и с возрастом трансмиссивной энтомофильной личинки (дауера).

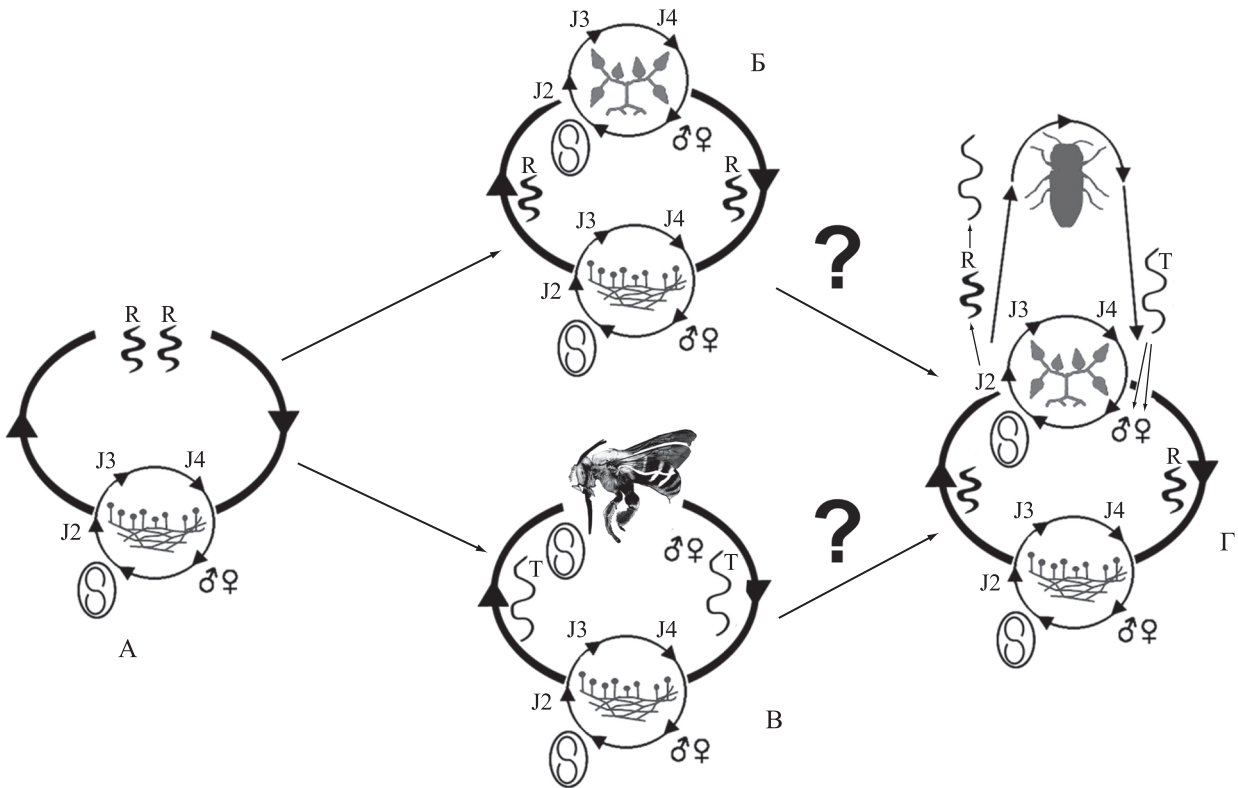


Рис. 1. Альтернативные гипотезы происхождения триксенного жизненного цикла *Bursaphelenchus*. А: моноксенный цикл *B. fungivorus*; Б: диксенный цикл *B. hunti*; В: диксенный цикл *B. seani*; Г: триксенный цикл *B. hofmanni*. J2...J4: стадии личинок пропативного поколения; R: резистентные личинки; Т: дауеры, личинки трансмиссивного (расселительного) поколения. Знаки вопроса указывают на две альтернативные гипотезы происхождения триксенного цикла ствольных нематод *Bursaphelenchus* spp.

Жизненный цикл бурсафеленхов включает смену поколений в трех разнородных ассоциированных организмах (двух хозяев: гриба и растения, и одного переносчика-насекомого). Становление и диверсификация столь необычной и изящной системы балансирования между разнородными организмами-хозяевами в экосистеме — настоящая находка для изучения методами паразитологии и эволюционной теории. Этот род также входит в топ-10 наиболее экономически значимых вредных фитонематод (Jones et al., 2013). Для России с ее таежными лесами, занимающими 55% хвойных насаждений планеты, изучение этих вредоносных фитопаразитов имеет еще и практическое значение, так как лесоматериалы — важнейший продукт экспорта (Braasch, 2001).

Род ствольных нематод *Bursaphelenchus* насчитывает около 100 видов (Hunt, 2008; Tomalak et al., 2014), некоторые его виды имеют практическое значение, такие как *Bursaphelenchus xylophilus* — возбудитель вилта хвойных, входящий в карантинный список ЕОКЗР А2 (EPPO, 2016). Вид

B. cocophilus входит в карантинные списки тропических стран как возбудитель болезни кокосовых пальм “red ring”, с характерным симптомом: красным кольцом заболони. В последнее время стали известны факты патогенности вида *B. mucronatus* для хвойных и возможного участия *B. ulmophilus* в голландской болезни ильмовых (ГБИ, или англ. DED: Dutch Elm Disease, Ryss et al., 2015). С теоретической точки зрения род интересен облигатным чередованием трех разнородных макросимбионтов (двух хозяев и одного переносчика) в жизненном цикле. В цикле ствольных нематод имеется особое трансмиссивное поколение, специализированное для проникновения в переносчика, а также пропативные поколения, специализированные для размножения на грибе и в растении-хозяине (рис. 1, 2). Специализированных энтомофильных инвазионных личинок трансмиссивного поколения (“дауеров” англ. dauers) переносчик (обычно жук семейств Curculionidae или Cerambycidae) переносит на здоровое, но ослабленное растение. Обычно это древесное хвойное или лиственное растение-хозяин, в зависимости от вида нематоды и ее переносчика.

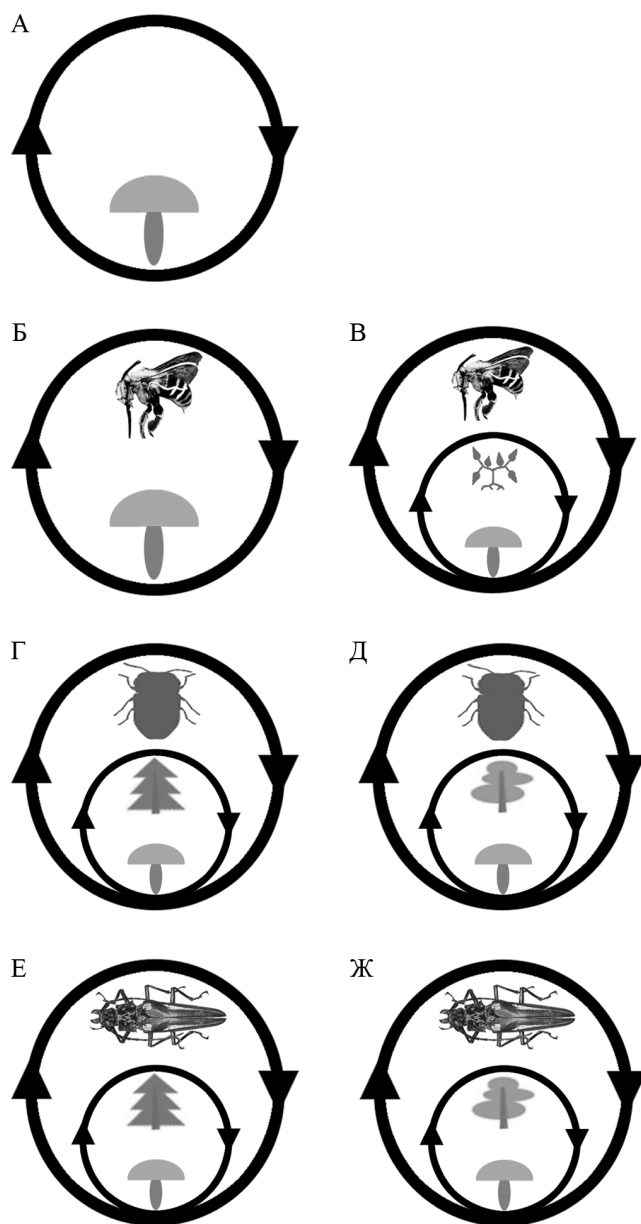


Рис. 2. Типы циклов видов р. *Bursaphelenchus*. А – моноксенный цикл *B. fungivorus*, включающий одного хозяина – гриб; Б – диксенный цикл с двумя хозяевами: пропативное поколение нематод на грибе, трансмиссивное в перепончатокрылом; В–Ж – триксенные циклы (включают смену трех хозяев, из них большим внешним кругом цикла обозначено трансмиссивное поколение в насекомом-переносчике, а пропативные поколения обозначены малым кругом со сменой гриба и растения-хозяина); В: цикл со сменой гриба, травянистого растения и перепончатокрылого отр. Нупенoptera; Г – цикл со сменой гриба, хвойного дерева и жука сем. Curculionidae; Д – цикл со сменой гриба, лиственного дерева и жука сем. Curculionidae или Nitidulidae; Е – цикл со сменой гриба, хвойного дерева и жука сем. Cerambycidae; Ж – цикл со сменой гриба, лиственного дерева и жука сем. Cerambycidae.

Одновременно жук переносит и споры гриба-синергиста из сем. Ophiostomataceae в ассоциациях древообитающих нематод и *Fusarium* spp., *Botrytis* spp. и *Monilinia* sp. в циклах нематод, ассоциированных с травянистыми растениями-хозяевами. После попадания в древесное растение грибы и нематоды распространяются вначале по ходам личинки жука, а затем по мягкой древесине (заболони, включающей флоэму, камбий и смоляные каналы). Нематоды питаются за счет прокалывания стилетом (стомой) стенок живых клеток заболони, а после гибели растения в результате закупорки его проводящих путей нематодами и мицелием гриба-синергиста нематоды переходят к питанию за счет мицелия гриба. Поколения нематод, питающихся клетками растения и гриба, обычно внешне неотличимы друг от друга, их называют пропативными поколениями. При появлении целевой стадии переносчика (англ. target stage, обычно куколка насекомого, иногда поздняя стадия личинки жука) в мертвом растении в результате линьки младших личинок нематод формируются личинки трансмиссивного поколения, “дауеры”, которые проникают в гемоцель или трахеи жука или же образуют клубки пассивных слипшихся между собой нематод под надкрыльями жука-переносчика (“нематангии”). В разных группах видов бурсафеленхов трансмиссивные личинки имеют разное строение и приходятся на разные стадии. Обычно для жуков переносчиков сем. Curculionidae дауеры – это личинки нематод третьей стадии J3D, а для переносчиков сем. Cerambycidae (нематоды группы видов *Xylophilus*) дауеры – это четвертая ювенильная стадия J4D. При линьке личинок четвертой стадии формируются половозрелые самцы и самки трансмиссивного поколения, приступающие к продуцированию яиц и личинок пропативного поколения.

Поскольку бурсафеленхи и другие нематоды сем. Aphelenchoididae – специализированные микотрофы, то ясно, что исторически первоначальным хозяином для семейства и р. *Bursaphelenchus* послужили грибы. Можно предложить альтернативные гипотезы о последовательности приобретения растений и насекомых в триксенном цикле *Bursaphelenchus*. По первой гипотезе переносчик, предположительно, – позднейшее приобретение в жизненном цикле *Bursaphelenchus*. Эта точка зрения основана на том, что у видов близкого, но более примитивного р. *Aphelenchoides* со сходной морфологией и схемой жизненного цикла переносчик отсутствует, и нематоды активно находят своего травянистого хозяина, двигаясь по водной пленке ночной росы (рис. 1). Однако

именно переносчик наиболее важен в видообразовании *Bursaphelenchus*, поскольку разные группы видов приурочены к определенному семейству переносчиков. Каждый вид бурсафеленхов имеет переносчика только определенного рода, но специфичность к растению-хозяину гораздо шире, обычно круг хозяев включает виды растений одного семейства (Рысс, 2009). Такая важная роль поздно приобретенного хозяина (насекомого) в эволюции паразитов на первый взгляд противоречит теории коэволюции, в соответствии с которой чем старше хозяин, тем больше адаптивная и эволюционная связь между паразитом и хозяином (Рысс, 2016а, б). Альтернативная гипотеза предполагает, что триксенный цикл — это модификация и усложнение диксенного цикла, где чередовались хозяева: насекомое и сапротрофный гриб, обитающий в гнездах насекомых или их галереях внутри растения. Эта вновь предлагаемая гипотеза будет рассмотрена в данной работе.

Цель данного исследования — проанализировать на основе молекулярных данных эволюцию специфичности к насекомому-переносчику и растению-хозяину конкретных видов и групп видов нематод р. *Bursaphelenchus* и возможные модификации морфологических признаков нематод. Для этого использованы морфологическая классификация групп видов *Bursaphelenchus* (Braasch et al., 2009), оригинальные данные по молекулярной филогении (вновь построенное древо по трем генам, представленное в данной работе, а также Ryss et al., 2013, 2015), данные по таксонам переносчиков и растений-хозяев. Те виды, по которым нет молекулярных данных, оставлены в составе групп видов по классификации Брааш с соавт. (Braasch et al., 2009). В списках видов для каждой группы они помечены звездочками (*).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Построение молекулярного древа

Нуклеотидные последовательности D2-D3 участка 28S рРНК гена, 5.8S РНК с фрагментами внутреннего транскрибированного спайсера и 18S рРНК гена 78 видов рода *Bursaphelenchus* из GenBank и последовательности этих генов для двух видов, выбранных как внешние группы: *Aphelenchoides stammeri* Koerner, 1954 и *Robustodoros megadorus* (Allen, 1941) Andrassy, 2007, были использованы для филогенетической реконструкции (табл. 1). Последовательности для каждого гена были выравнены с использованием компьютерной программы

ClustalX (Thompson et al., 1997) и затем объединены в одно общее выравнивание. Выравнивание анализировали с помощью Байесова подхода с использованием программы MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001) для модели GTR+G. Анализ был начат со случайного древа; оптимизацию проводили в четырех Марковских цепях Монте-Карло (МСМС) в течение 1.0×10^6 поколений. Данные отбирали с интервалом в 100 поколений. Было проведено два независимых анализа. Значение функции правдоподобия вышло на плато после первых 10% поколений, которые были удалены, а остальные использованы для создания 50% консенсусной топологии.

Исследование морфологических признаков

Пять групп диагностических признаков были проанализированы нанесением их на молекулярное древо. Эти признаки были использованы ранее для выделения групп видов (Braasch et al., 2009), которые рассматривались как ветви филогенетического древа. Эти признаки были тщательно проверены по всем описаниям видов, особое внимание уделялось фотографиям неоднозначно трактуемых разными авторами описаний признаков: форме спикул самцов и структуре вульвы и вагины самок. Такие признаки как взаиморасположение хвостовых папилл самца и число линий бокового поля у разных авторов описаний видов, были весьма схожи для видов внутри каждой группы. Для проверки признаков дополнительно были использованы 12 видов из коллекции Зоологического института РАН.

Реконструкция анцестральных состояний признаков

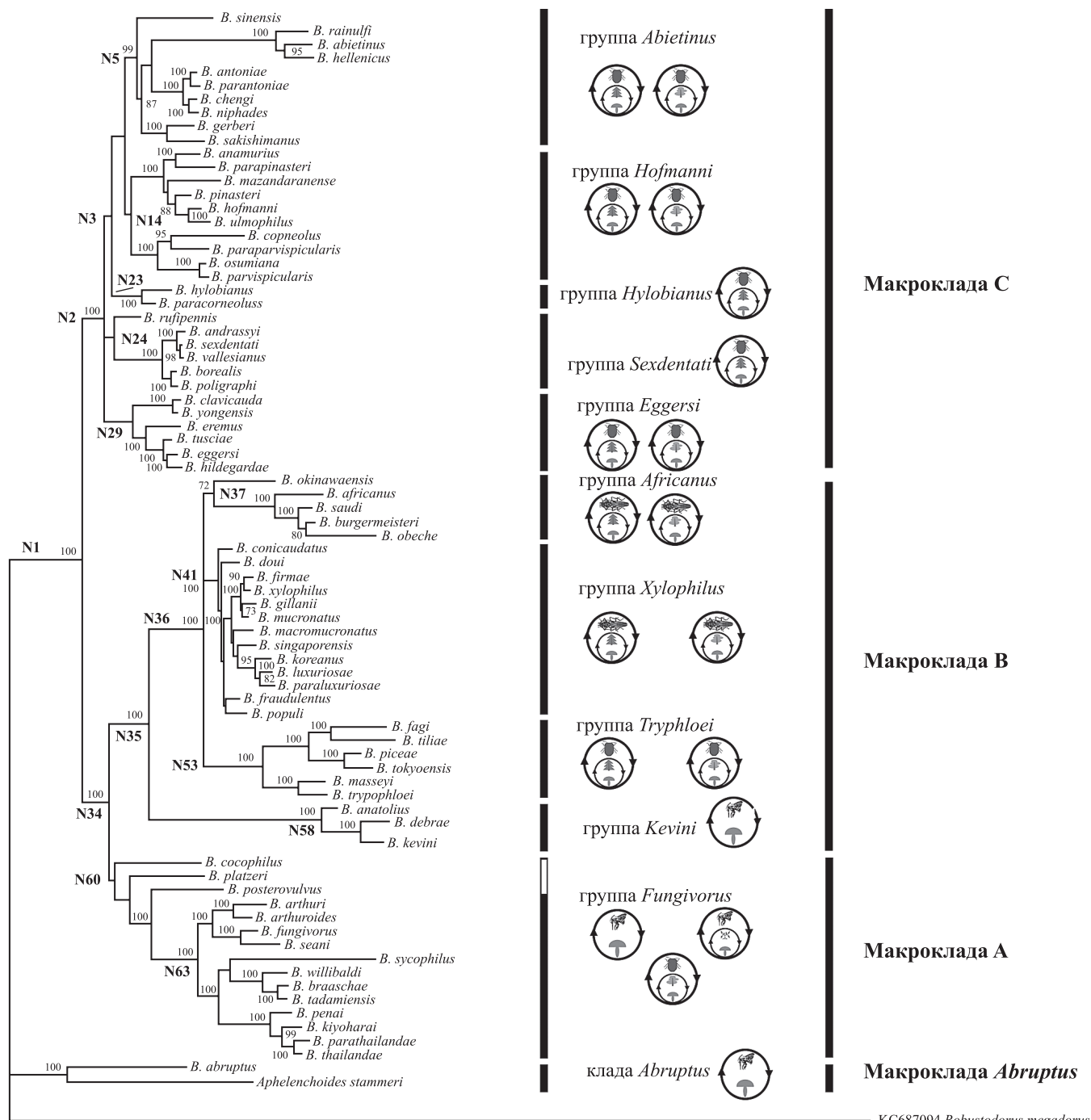
Анцестральные состояния признаков были оценены в соответствии с их апостериорной вероятностью распределения для Байесовского подхода, реализованного в программном пакете SIMMAP 1.5 (Bollback, 2006). Апостериорные вероятности для различных состояний признаков были рассчитаны с использованием одного консенсусного древа, полученного в результате Байесовского анализа. МСМС анализ, с настройками по умолчанию, был использован для выборки общих значений параметров скорости и параметров смещения. Тринадцать морфологических и два биологических признака (таксоны насекомых и растений, ассоциированных с конкретными видами нематод) были оптимизированы и отображены на Байесовском древе.

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности видов нематод, использованные для филогенетического анализа

Вид	18S рPHK	ITS рPHK	D2-D3 28S рPHK
<i>B. abietinus</i>	AY508011	EU707454	AY508074
<i>B. abruptus</i>	AY508010	AM400244	AY508073
<i>B. africanus</i>	JF317266	HM623783	AM397024
<i>B. anamurius</i>	—	EU589048	FJ643489
<i>B. anatolius</i>	AY508025	—	AY508093
<i>B. andrassyi</i>	KF164829	KF164830	KF164832
<i>B. antoniae</i>	AM279709	AM279709	AM279710
<i>B. arthuri</i>	AM397010	AM157742	AM396564
<i>B. arthuroides</i>	HQ599188	HQ599189	HQ599190
<i>B. borealis</i>	AY508012	AM179511	AY508075
<i>B. braaschae</i>	GQ845409	GQ845407	GQ845408
<i>B. burgermeisteri</i>	JF317267	EU034530	EU159109
<i>B. chengi</i>	KT599480	EU384702	EU107359
<i>B. clavicauda</i>	AB299221	AB299221	AB299222
<i>B. cocophilus</i>	AY509153	KT156782	AY508077
<i>B. conicaudatus</i>	AB067757	AM179513	AB299227
<i>B. corneolus</i>	JQ765873	JQ765879	JQ765870
<i>B. debrae</i>	—	—	EF488813
<i>B. doui</i>	AB299224	AM157743	FJ520229
<i>B. eggersi</i>	AY508013	AM160663	AY508078
<i>B. eremus</i>	—	AM180515	AM396568
<i>B. fagi</i>	—	JX683685	JX683686
<i>B. firmae</i>	AB650015	AB663192	AB650014
<i>B. fraudulentus</i>	AY508015	AM179517	AY508079
<i>B. fungivorus</i>	AY508016	AM179516	AY508082
<i>B. gerberi</i>	AY508024	AM400238	AY508092
<i>B. gillanii</i>	KJ653442	KC347020	KJ653443
<i>B. hellenicus</i>	AY508017	AM400239	AY508083
<i>B. hildegardae</i>	AM397013	AM269736	AM396569
<i>B. hofmanni</i>	AY508018	AM180516	AY508084
<i>B. hylobianus</i>	AY508019	AM400240	AY508085
<i>B. kesiyae</i>			LC087117
<i>B. kevinci</i>	AY753531	—	AY753532
<i>B. kiyoharai</i>	AB597255	—	AB597254
<i>B. koreanus</i>	JX154585	JX154583	JX154584
<i>B. luxuriosae</i>	AB097864	AM400245	AB650013
<i>B. macromucronatus</i>	—	EU256381	EU256382
<i>B. masseyi</i>	—	JQ287494	JQ287495
<i>B. mazandaranense</i>	JN153102	—	JN153103
<i>B. mucronatus</i>	AY508023	AM400247	JF317246
<i>B. niphades</i>	AB849465	AB849470	AB849475

Таблица 1. Окончание

Вид	18S рНК	ITS рНК	D2-D3 28S рНК
<i>B. obeche</i>	—	EU034529	EU159108
<i>B. okinawaensis</i>	AB358983	AB358983	AB358982
<i>B. osumiana</i>	AB918706	AB918706	AB918707
<i>B. paraburgeri</i>	HQ727727	HQ727723	HQ727726
<i>B. paracorneolus</i>	AY508027	AM400241	AY508095
<i>B. paraluxoriosae</i>	JF966206	JF966205	JF966204
<i>B. parantoniae</i>	KT223041	KT223043	KT223042
<i>B. paraparvispicularis</i>	GQ421483	GQ421484	GQ429010
<i>B. parapinasteri</i>	KT878515	KT878517	KT878516
<i>B. parathailandae</i>	JN377724	JN377723	JN377722
<i>B. parvispicularis</i>	AB218829	AB218829	AB368537
<i>B. penai</i>	AB901293	—	AB901292
<i>B. piceae</i>	KT315781	KF772173	KF772174
<i>B. pinasteri</i>	AM397016	AM400242	AM396574
<i>B. pinophilus</i>	—	AM160664	—
<i>B. platzeri</i>	AY508026	AM400243	AY508094
<i>B. poligraphi</i>	AY508028	AM179512	AY508096
<i>B. populi</i>	HQ699855	FJ888483	HQ699856
<i>B. posterovulvulus</i>	KF314804	KF314806	KF314807
<i>B. rainulfi</i>	AM397017	DQ257621	EU295498
<i>B. rufipennis</i>	AB368529	—	AB368530
<i>B. sakishimanus</i>	LC027461	—	LC027462
<i>B. seani</i>	AY508029	AM157745	AY508097
<i>B. saudi</i>	KT806480	KT806481	KT806482
<i>B. sexdentati</i>	AY508031	AM269916	AY508101
<i>B. sinensis</i>	AB232162	EU400450	EU752257
<i>B. singaporensis</i>	AM397018	AM180514	AM396576
<i>B. sycophilus</i>	AB901291	—	AB901290
<i>B. tadamiensis</i>	AB635399	—	AB635398
<i>B. thailandae</i>	AM397019	DQ497183	EU295497
<i>B. tiliae</i>	—	KF736980	KF736955
<i>B. tokyoensis</i>	AB430445	AB430445	AB430446
<i>B. tryphloei</i>	—	FJ998282	FJ998283
<i>B. tusciae</i>	AY508033	AM269737	AY508104
<i>B. ulmophilus</i>	KR011752	KP331048	KP331049
<i>B. vallesianus</i>	AM397020	AM269922	AM396578
<i>B. willibaldi</i>	AM397021	AM180512	AM396579
<i>B. xylophilus</i>	AM397022	AM179515	AM396580
<i>B. yongensis</i>	AM397023	AM180513	AM396581
<i>A. stammeri</i>	AB368535	DQ841164	AM396582
<i>R. megadorus</i>	KC687094	KC865783	KC687095



0.1

KC687094 *Robustodorus megarodus*

Рис. 3. Филогения р. *Bursaphelenchus*, реконструированная по двум генам (28S, 18S рДНК) программой MrBayes 3.1.2 для эволюционной модели GTR+G. Приведены апостериорные вероятности более 70% для соответствующих клад. Справа представлены типы циклов: диксенные (хозяева: гриб и перепончатокрылое) и триксенные (хозяева: гриб, растение: травянистое, хвойное или лиственное, и насекомое: перепончатокрылое, жук-короед или жук-усач). N1 ... N63: важнейшие узлы филограммы. Внешние группы: *Aphelenchoides stammeri* и *Robustodorus megarodus*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДРЕВО ВИДОВ *P. BURSAPHELENCHUS*

Общая длина выравнивания составила 2805 позиций, из них 821 позиция для D2-D3 участка 28S рРНК, 260 позиций для 5.8S РНК с фрагментами внутреннего транскрибированного спайсе-ра и 1724 позиции 18S рРНК. Консенсусное древо с отмеченными кладами приведено на рис. 3. Древо включает четыре макроклады А, В, С, базальную макрокладу *Abruptus* и внешние группы (*Robustodoros megadoros* и *Aphelenchoides stammeri*). Макроклады А и В имеют сестринские отношения. Топология полученного нами древа во многом схожа с топологиями других филогенетических древ для р.*Bursaphelenchus*, опубликованных другими авторами (Kanzaki et al., 2015; Ryss et al., 2015; Gu et al., 2016).

РЕКОНСТРУКЦИЯ АНЦЕСТРАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ ПРИЗНАКОВ

При установлении морфологических маркеров клад (групп видов) выбраны признаки, имеющие филогенетическое значение. Отличия этих признаков от диагностических заключаются в возможности представить их в виде упорядоченных рядов трансформации состояний признака, тогда как в диагностических признаках важно просто наличие достоверных альтернативных состояний.

Ниже представлены 15 морфологических признаков, их альтернативные состояния и комментарии к ним.

Признак 1. Число инцизур латерального поля (рис. 4).

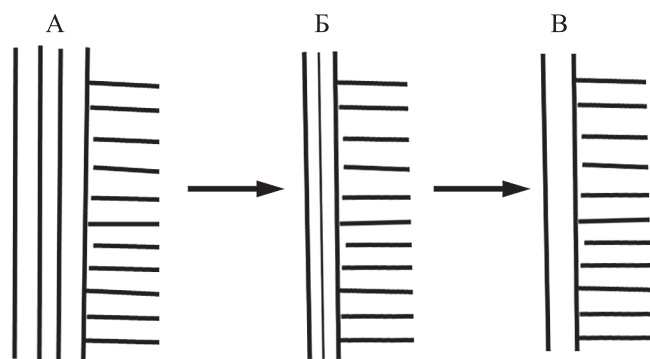


Рис. 4. Латеральное поле. А – с четырьмя инцизурами (макроклады А и В, в макрокладе С группа *Sexdentati*), Б – с тремя инцизурами (группы *Eggersi*, *Hofmanni* и часть группы *Hylobianus*), В – с двумя инцизурами (группа *Abietinus* и часть группы *Hylobianus*).

0, четыре инцизуры. 1, три инцизуры. 2, две инцизуры

Признак 2. Вульва самки (рис. 5).

0, простая щель без придатков. 1, низкая арочная складка (small flap). 2, высокая арочная складка (high flap).

Признак 3. Форма спикеры самца (рис. 6).

0, широкая. 1, умеренной ширины, в виде сужающегося к вершине рога. 2, узкая в форме буквы “J”. 3, узкая сильно изогнутая, дуговидная.

Признак 4. Кончик спикеры самца (рис. 6).

0, кончик открытый, пленчатый, без обрамляющего гребня. 1, гребни двух сторон спикеры: вентральной и дорсальной, сходятся на кончике, но не образуют кукуллюса (головчатого придатка). 2, кукуллюс имеется.

Признак 5. Кондилус спикеры самца (рис. 6).

0, не обособлен от головки спикеры. 1, мелкий. 2, развитый и загнутый на дорсальную сторону. 3, прямой, умеренно развитый. 4, длинный.

Признак 6. Центральная лента (сердцевина) спикеры самца (рис. 6).

0, без гребней. 1, один гребень. 2, два гребня. 3, поперечная исчерченность.

Признаки 7–10 взаиморасположения хвостовых папилл самца изображены на рис. 7.

Признак 7. Непарная папилла впереди отверстия клоаки самца (P1) (рис. 7).

0, отсутствует. 1, имеется.

Признак 8. Сосковидная пара папилл P4 (рис. 7).

0, отсутствует. 1, имеется.

Примечание к признакам 8 и 9. На месте четвертой пары папилл возможно наличие пары крупных сосковидных папилл или пары мелких железистых поровидных сенсилл, называемых “glandpapillae” (гландпапиллы). Эти чувствительные органы (сосковидные и железистые) негомологичны, и в группе *Kevinii* имеются оба вида папилл, расположенные друг за другом. Хотя многие авторы обозначают железистые поровидные glandpapillae как папиллы P4, здесь для соблюдения единообразной схемы они обозначены как P5 (железистые парные поровидные папиллы). В противоположность расположенным впереди сосковидным P4, железистые P5 (иногда и P6) расположены на кончике хвоста

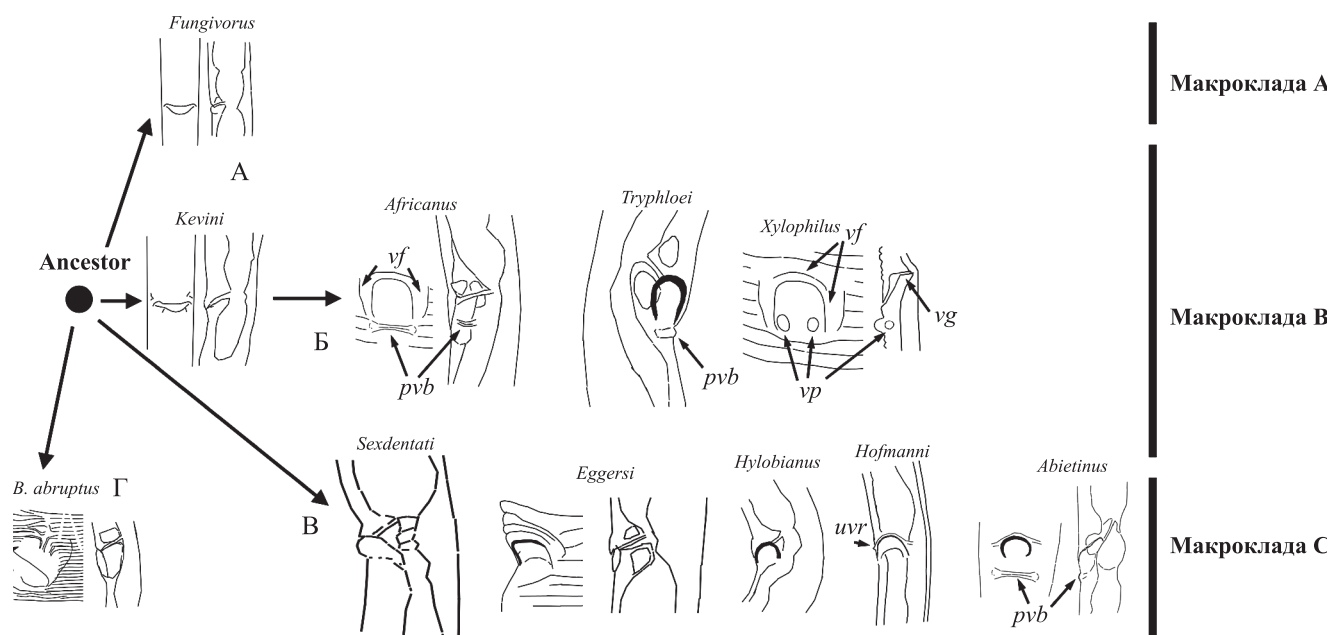


Рис. 5. Форма вульвы и вагины самок. Ряды состояний от гипотетического предка (Ancestor). А – щелевидная вульва без придатков. Б – высокая арочная складка (high flap). В – низкая арочная складка (small flap). Г – асимметричная вульва *B. abruptus*. Обозначения названий групп видов и макроклад А, В, С как в предыдущих рисунках. Для каждой группы видов даны пары фигур: в левой фигуре изображен вид с вентральной стороны, в правой вид с латеральной стороны. *pnb* – поствульварный гребень; *vf* – вульварный щиток-складка над вульвой; *vg* – вагина; *vp* – вульварные папиллы.

самца у основания бурсы и возможно обеспечивают клейкие свойства бурсы для удержания самки при копуляции.

Признак 9. Железистая пара поровидных сенсилл P5 (гландпапиллы) (рис. 7).

0, отсутствует. 1, имеется.

Признак 10. Расположение парных папилл P3 и P4 (рис. 7).

0, одна из пар отсутствует. 1, пары папилл дистанционированы друг от друга. 2, расположены на одном уровне у основания бурсы.

Признак 11. Бурса самца (рис. 7).

0, кончик хвоста самца с нитевидным придатком вместо отсутствующей бурсы (рис. 7: часть группы *Fungivorus*). 1 – бурса с выраженным центральным игловидным отростком (рис. 7: часть группы *Fungivorus*). 2, обычная бурса с краем без отростка.

Признак 12. Хвост самки (рис. 8).

0, с кончиком в виде крючка (J-shaped). 1, прямой нитевидный или узко-конусный. 2, короткий округлый. 3, расширяющийся на конце.

Признак 13. Мукро на хвосте самки (рис. 8).

0, отсутствует. 1, имеется (рис. 8: группы *Kevini*, *Trypophloeii*, *Xylophilus*).

Признак 14. Насекомое-переносчик.

0, отсутствует. 1, отр. Hymenoptera. 2, сем. Nitidulidae. 3, подсем. Scolytinae. 4, сем. Cerambycidae. 5, сем. Lucanidae. 6, подсем. Curculionidae.

Признак 15. Растение-хозяин (кормовое растение).

0, отсутствует. 1, травянистое. 2, хвойное древесное растение. 3, лиственное древесное растение.

Признаки проанализированы программой SIMMAP для выявления их анцестральных состояний в важнейших узлах молекулярной филограммы. Эти узлы (nodes, N1 ... N63) указаны на филограмме (рис. 3). Узел 1, общий для рода, за исключением *B. abruptus*. Узлы 2 и 34, предковые таксоны для макроклады С (узел 2) и общего предка макроклад А и В (узел 34). К группам видов ведут узлы 3, 5 (*Abietinus*), 14 (*Hofmanni*); 60 (макроклада А: группа *Fungivorus*), 35 (макроклада В), 36 (3 группы видов), 37 (*Africanus*), 41 (*Xylophilus*), 53 (*Trypophloeii*), 38 (*Kevini*). Результаты статистического анализа для важнейших узлов молекулярной филограммы (N1 ... N63) представлены в табл. 2.

Главные преобразования признаков.

1. Латеральное поле (рис. 4). Анцестральное состояние для предка макроклад А, В, С (узел 1,

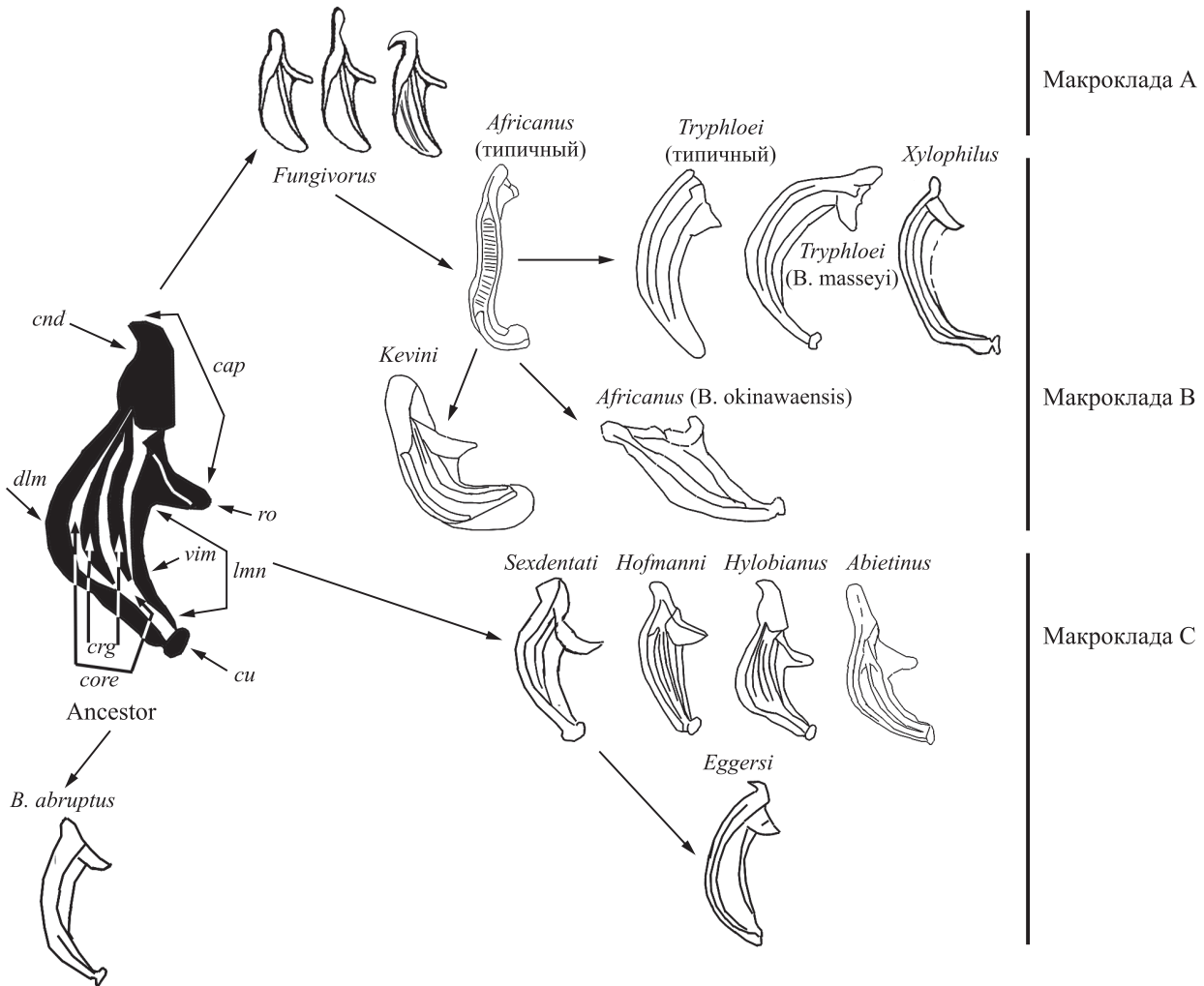


Рис. 6. Форма спикулы самца. Ряды эволюции признаков (по результатам реконструкции в SIMMAP) показаны для трех макроклад А, В, С, изображенных на трех разных уровнях. *Bursaphelenchus abruptus* представляет отдельную макрокладу, помимо А, В, С. Латинскими названиями обозначены группы видов. Стрелками показаны предполагаемые направления трансформации гипотетической спикулы предка (Ancestor). Для групп *Africanus* и *Tryphloei* даны вариации состояний признака в пределах группы: от обычного для группы (“типичного”) до характерного для отдельного вида (название указано в скобках). Слева внизу на гипотетической примитивной спикуле (Ancestor) даны термины морфологических частей спикулы: *cap* – головка спикулы, *cu* – кукуллюс, *cnd* – кондиллюс, *core* – сердцевинная лента, *crg* – гребни в сердцевинной ленте, *dln* – дорсальный лимб, *lmn* – ламина (тело спикулы); *ro* – рострум, *vim* – вентральный лимб.

N1 на рис. 3) – четыре линии латерального поля. Это состояние сохраняется во всех группах макроклад А и В, и в группе *Sexdentati* макроклады С. В остальных узлах макроклады С это число сокращается до трех инцизур, а в группе *Abietinus* до двух.

2. Вульва самки (рис. 5). У предка макроклад А, В, С (узел 1, N1 на рис. 3) вульва представляла собой простую щель, без придатков. Такая форма вульвы сохранилась и у предков макроклад А и В, а также в группах *Fungivorus* и *Kevini*. У более продвинутых групп макроклады

В вульва приобрела преддверие в виде высокой арочной U-образной обращенной складки кутикулы (высокий щиток). Все группы макроклады С приобрели другую апоморфию – низкий щиток (малая арка).

Складка (щиток, англ. vulval flap) скрывает отверстие вульвы как занавес. В макрокладе В у самок групп *Africanus* и *Tryphloei* на уровне задних краев вульварного щитка расположен поперечный гребень задней губы. У самок видов группы *Xylophilus* на этом уровне имеется пара крупных сосковидных папилл. В макрокладе

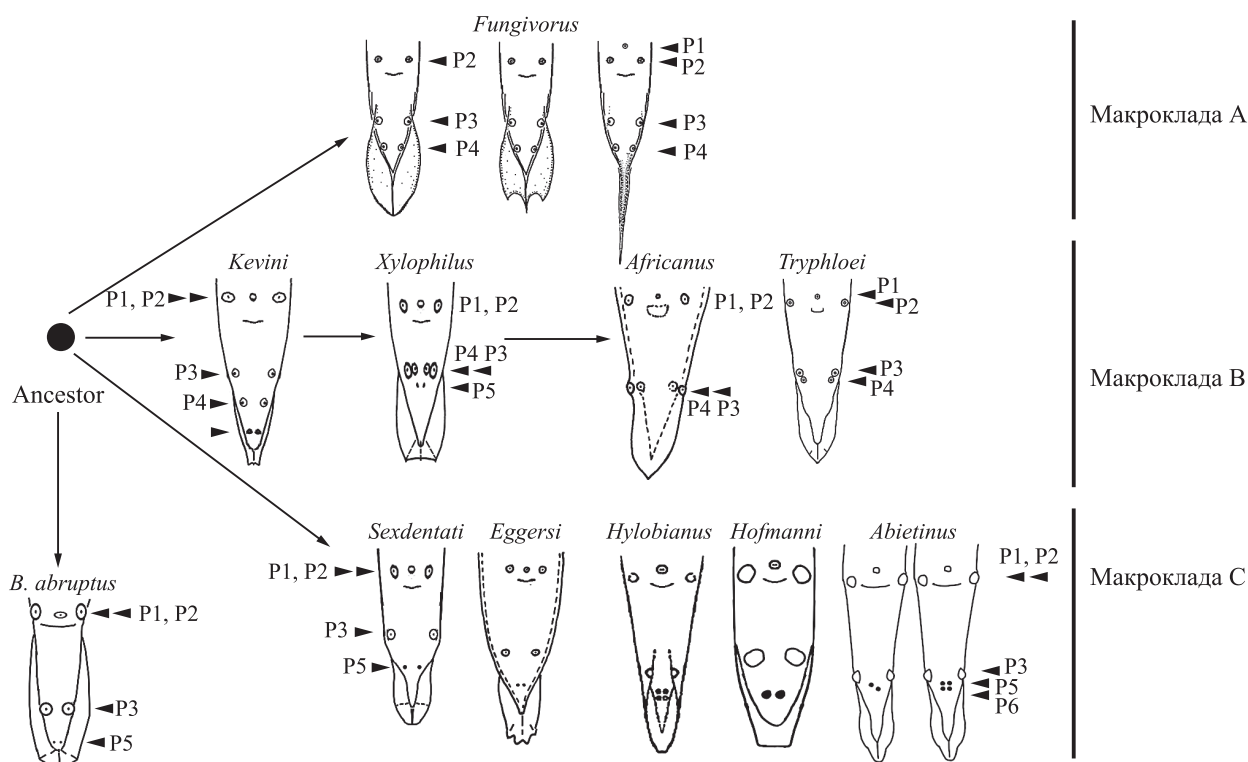


Рис. 7. Схема взаиморасположения хвостовых папилл самца (вид с вентральной стороны). Светлыми кружками с внутренними точками обозначены сосочковидные папиллы: P1 непарная передняя и P2, P3, P4 парные папиллы. Мелкие черные точки: glandпапиллы (P5, P6). Ряды состояний (от гипотетического предка, Ancestor) показаны для трех макроклад А, В, С, изображенных на трех разных уровнях. Латинскими названиями обозначены группы видов. *Bursaphelenchus abruptus* вынесен за пределы макроклад А, В, С, так как представляет отдельную макрокладу.

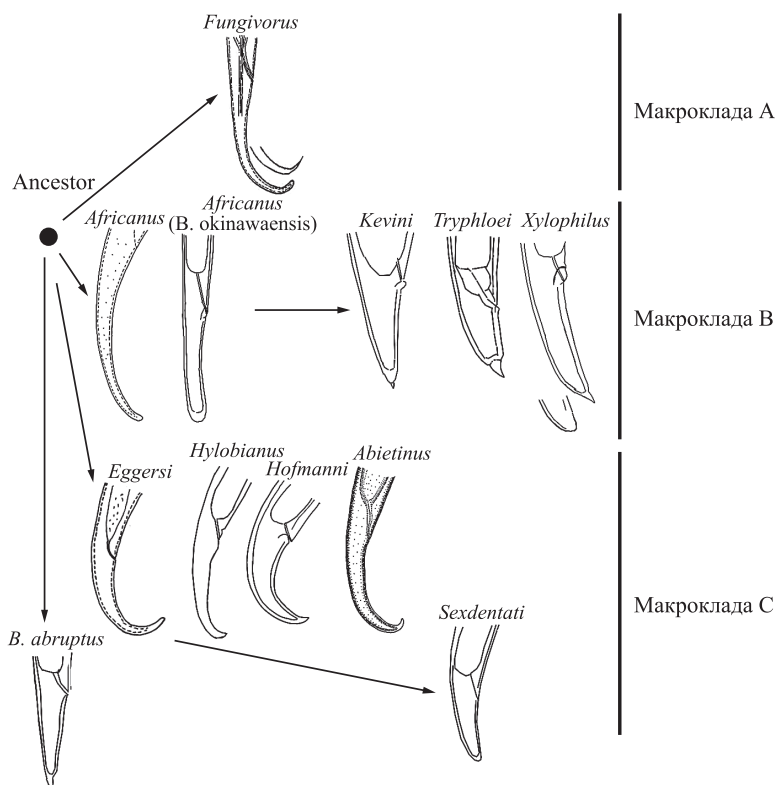


Рис. 8. Форма хвостов самок. Обозначения, как на рис. 7.

Таблица 2. Вероятности состояний важнейших морфологических признаков в основных узлах филограммы (рис. 3), вычисленные с помощью пакета SIMMAP

Узел	(1) Инцизуры латерального поля			(2) Вульва самки			(3) Форма спикулы самца			
	состояние									
	0	1	2	0	1	2	0	1	2	3
1	0.96	0.04	0.00	0.86	0.13	0.01	1.00	0.00	0.00	0.00
2	0.09	0.91	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.99	0.01	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
5	0.00	0.01	0.99	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
14	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
23	0.00	0.85	0.14	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
24	0.93	0.07	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
29	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
34	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
35	1.00	0.00	0.00	0.77	0.00	0.23	0.91	0.01	0.01	0.08
36	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.01	0.00	0.01	0.98
37	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.23	0.01	0.34	0.41
41	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00
53	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.01	0.04	0.01	0.94
58	1.00	0.00	0.00	0.99	0.00	0.01	1.00	0.00	0.00	0.00
60	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
63	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00

Узел	(4) Кончик спикулы			(5) Форма кондилуса				
	состояние							
	0	1	2	0	1	2	3	4
1	0.20	0.01	0.80	0.00	0.01	0.00	0.98	0.00
2	0.00	0.00	1.00	0.00	0.05	0.02	0.91	0.02
3	0.00	0.00	1.00	0.00	0.85	0.01	0.02	0.12
5	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
14	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
23	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
24	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
29	0.87	0.02	0.12	0.00	0.00	0.99	0.00	0.00
34	0.98	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.99	0.00
35	0.83	0.01	0.15	0.71	0.02	0.01	0.19	0.07
36	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
37	0.04	0.00	0.95	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
41	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
53	0.01	0.05	0.95	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
58	0.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
60	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
63	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00

Таблица 2 (продолжение)

Узел	(6) Центральная лента спикулы				(7) Папилла P1		(8) Папиллы P4		(9) Гландпапиллы P5	
	состояние									
	0	1	2	3	0	1	0	1	0	1
1	0.22	0.78	0.00	0.00	0.00	1.00	0.70	0.30	0.08	0.92
2	0.00	0.99	0.01	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
3	0.00	0.50	0.50	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
5	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
14	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
23	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
24	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
29	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
34	0.91	0.08	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.94	0.06
35	0.98	0.00	0.01	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.86	0.14
36	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.99	0.01
37	0.64	0.14	0.01	0.21	0.00	1.00	0.00	1.00	0.99	0.01
41	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.86	0.14
53	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.99	0.01
58	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.01	0.99
60	0.98	0.02	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	1.00	0.00
63	0.00	1.00	0.00	0.00	0.12	0.88	0.00	1.00	1.00	0.00

Узел	(10) Дистанция P3-P4			(11) Бурса			(12) Хвост самки			
	состояние									
	0	1	2	0	1	2	0	1	2	3
1	0.86	0.14	0.00	0	0	1.00	0.06	0.91	0.02	0.01
2	1.00	0.00	0.00	0	0	1.00	0.25	0.73	0.02	0.00
3	1.00	0.00	0.00	0	0	1.00	0.99	0.01	0.00	0.00
5	1.00	0.00	0.00	0	0	1.00	0.27	0.72	0.00	0.00
14	1.00	0.00	0.00	0	0	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00
23	1.00	0.00	0.00	0	0	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00
24	1.00	0.00	0.00	0	0	1.00	0.03	0.90	0.06	0.00
29	1.00	0.00	0.00	0	0	1.00	0.13	0.61	0.24	0.01
34	0.01	0.98	0.01	0	0	1.00	0.03	0.94	0.03	0.00
35	0.01	0.61	0.39	0	0	1.00	0.03	0.74	0.21	0.02
36	0.00	0.00	1.00	0	0	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00
37	0.00	0.00	1.00	0	0	1.00	0.10	0.05	0.57	0.28
41	0.00	0.00	1.00	0	0	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00
53	0.00	0.00	1.00	0	0	1.00	0.00	0.00	1.00	0.00
58	0.00	0.99	0.01	0	0	1.00	0.00	1.00	0.00	0.00
60	0.00	1.00	0.00	0	0	1.00	0.01	0.99	0.00	0.00
63	0.00	1.00	0.00	0.03	0.04	0.94	0.02	0.98	0.00	0.00

Узел	(13) Мукро самки		(14) Переносчик							(15) Растение-хозяин			
	состояние												
	0	1	0	1	2	3	4	5	6	0	1	2	3
1	1.00	0.00	0.00	0.04	0.01	0.90	0.02	0.00	0.02	0.03	0.01	0.90	0.05
2	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
3	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.97	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	1.00	0.00
5	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.89	0.00	0.00	1.00	0.00
14	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
23	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.99	0.00	0.00	1.00	0.00
24	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
29	0.99	0.01	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.97	0.02
34	1.00	0.00	0.01	0.18	0.06	0.27	0.40	0.01	0.07	0.08	0.02	0.64	0.25
35	0.82	0.18	0.01	0.16	0.01	0.01	0.80	0.00	0.01	0.37	0.04	0.39	0.20
36	0.16	0.84	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.97	0.02
37	0.83	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
41	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.89	0.11
53	0.01	0.99	0.00	0.00	0.00	0.97	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.96
58	0.99	0.01	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
60	1.00	0.00	0.02	0.09	0.18	0.02	0.04	0.01	0.63	0.27	0.02	0.04	0.67
63	1.00	0.00	0.27	0.33	0.02	0.22	0.02	0.14	0.02	0.03	0.06	0.22	0.69

С у самок группы *Abietinus* под задней губой вульвы имеется гребень, а в группе *Hofmanni* имеется надвульварный поперечный гребень на вульварном щитке.

3. Форма спикеры самца (рис. 6). Предку макроклада А, В и С была свойственна широкая спикера. Эта форма сохранилась у всех групп рода, за исключением кланды из трех групп, для большинства видов которых свойственна узкая дуговидно изогнутая спикера: *Xylophilus*, *Trypophloeii*, *Africanus*. В последней группе наблюдается широкая межвидовая изменчивость по этому признаку.

4. Кончик спикеры самца (рис. 6). Кукуллюс, головчатый придаток кончика спикеры с функцией зацепления за края женского полового отверстия при копуляции имелся у предка рода, а также у предка макроклада А, В и С. Он сохранился у всех групп макроклада С, за исключением *Eggersi*. У предка макроклада А и В он был редуцирован (узлы 34, 35), но затем вторично возник в кланде 36 (группы *Xylophilus*, *Trypophloeii*, *Africanus*, как дополнительная апоморфия для узкой сильно изогнутой спикеры.

5. Кондилос спикеры самца (рис. 6). Эта структура имеет разнообразное строение, специфичное для групп видов, но меняющееся при прослеживании по узлам древа. Исходной для макроклада А, В и С формой был умеренно развитый прямой кондилос. Он уменьшился у предка трех групп *Abietinus*, *Hofmanni* и *Hylobianus*, а затем у предка последней значительно увеличился. У предка группы *Eggersi* сформировалась апоморфия: дорсальный загиб кондилоса. В макрокладе А (*Fungivorus*) сохранилась исходная форма умеренно развитого прямого кондилоса. В макрокладе В кондилос сначала был редуцирован (узел 35), а затем вторично увеличен (группа *Kevini*).

6. Центральная лента (сердцевина) спикеры самца (рис. 6). Один гребень центральной ленты спикеры был свойственен предку рода (узел 1), он сохранился и в макрокладе С (узел 2 и последующие), но в группах *Hylobianus* и *Hofmanni* произошло увеличение числа гребней до двух. У предка макроклада А и В (узлы 34–60) произошла редукция гребней сердцевины, но в группе *Kevini* число гребней вторично увеличено до двух.

Функциональные особенности преобразований спикул. Тип спикулы ранее использован для диагностики групп видов (Ryss et al., 2005; Braasch et al., 2009). Однако он может сильно варьировать в пределах клад, что обусловлено чисто механическими адаптациями к видовым особенностям процесса копуляции. Широкая спикула соответствует форме вульвы самки в виде поперечной щели или невысокого вульварного щитка, свойственного самкам видов макроклады С (рис. 5, 6).

В трансформации спикул задействованы три относительно независимых процесса. Первый процесс: армирование сердцевинной ленты дополнительными гребнями (в макрокладе С). Второй процесс: усиление отростков головки: рострума и особенно кондилюса, служащих рычагами для поворота спикулы при вводе её кончика в щель вульвы. Третий процесс: сужение спикулы с одновременным сильным С-образным изгибом и усилением вентрального и дорсального лимбов, преобразующихся в краевые скелетные гребни, причем дорсальный лимб часто двойной, сформированный из двух скелетных гребней (в макрокладе В). В группах макроклады В вульва самок прикрыта высоким куполовидным щитком в виде обращенной буквы U, поэтому путь снаружи к вагине имеет форму замка, “прикуса”. Для введения копулятивного органа самца в вагину через внешне скрытый узкий изогнутый ход нужна узкая сильно изогнутая прочная спикула. Как известно из физики материалов, прочность полого внешнего контура тела близка к прочности такого же сплошного тела. Поэтому прочность узкой изогнутой спикулы близка к прочности ее воображаемого сплошного внешнего контура, но при этом узкая форма обеспечивает легкий ввод копулятивного органа через извилистый канал, ведущий к вагине. Именно так устроена спикула самцов группы *Xylophilus*. Узкая сильно изогнутая спикула имеется у самцов примитивного вида *B. abruptus*: это явный параллелизм, обусловленный сходством механических особенностей копуляции, а не филогенией.

Хвостовые папиллы самца (рис. 7). В наиболее полном наборе папилл имеется непарная сосочковидная папилла P1 над верхней губой поперечного щелевидного отверстия клоаки и по краям щели клоаки пара сосочковидных папилл P2; на уровне середины тела еще пара вентролатеральных папилл P3 (сосочковидные), и две последовательные пары папилл на уровне бурсы: P4 (сосочковидная) и P5

(поровидная glandпапилла). Наиболее полный набор папилл с сохранением сосочковидных P1–P4 и железистой пары P5 свойственен группе *Kevini* (рис. 7).

7. Непарная преклоакальная папилла P1 прослеживается по всем группам рода и свойственна предковому узлу 1. Отдельные филогенетически закрепленные редукции этой папиллы встречаются у кластера видов внутри группы *Fungivorus* (рис. 7). Интересно, что у видов близкого р. *Aphelenchoides* эта папилла не встречается, за исключением самцов вида *Aphelenchoides stammeri* (см. филограмму), занимающего промежуточное положение между родами *Aphelenchoides* и *Bursaphelenchus*.

8. Сосочковидная пара папилл P4 и (9) glandпапиллы P5, P6. Здесь мы считаем негомологичными сосочковидные крупные папиллы (P1–P4) и поровидные железистые сенсиллы хвоста самца (P5 и P6), независимо от их расположения. Под P4 мы понимаем только пару крупных сосочковидных папилл в задней части хвоста около бурсы. Пара папилл P4 имелась с вероятностью лишь 30% у предка макроклад А, В и С (узел 1), она сохранилась у всех групп в макрокладах А и В, но редуцирована в макрокладе С, где заменена одной или двумя парами железистых поровидных сенсилл (P5 и P6), формирующих квартет (P5–P6) в группах *Hylobianus* и *Abietinus*. В группе *Abietinus* происходит редукция двух папилл в разных парах (P5 или P6) или смещение пары поровидных папилл так, что поровидные папиллы последней пары становятся асимметричны. У нескольких видов в группе *Xylophilus* (макроклада В) сохранились поровидные glandпапиллы P5 позади пар P3 и P4. У других клад макроклады В glandпапиллы отсутствуют (рис. 7).

10. Сближенность пар сосочковидных папилл P3 и P4. Как говорилось выше, пара папилл P4 имелась у предка макроклад А, В и С лишь с 30%-ной вероятностью, а у предка макроклады С произошла ее полная редукция и замена поровидными glandпапиллами P5. У предка макроклад А и В пары P3 и P4 были дистанцированы, такое расположение сохранилось у групп макроклады А (группа *Fungivorus*) и в группе *Kevini* (макроклада В). У предка остальных трех групп *Xylophilis*, *Trypophloeii* и *Africanus* приобретена апоморфия: сближение двух пар P3 и P4, за счет смещения P3 к основанию бурсы (рис. 7).

11. Бурса самца (рис. 7). Терминальная бурса самца (англ. bursal flap) — апоморфия р. *Bursaphe-*

lenchus и близких родов подсем. Parasitaphelenchinae. У большинства видов других родов сем. Aphelenchoididae хвост самца заострен или нитевидный. Бурса представляет собой липкий листок овальной поперечно срезанной или двузубчатой формы с опорными нитями по центру и иногда нитями, идущими от боковых зубчиков бursy к термину хвоста. Из статистического анализа следует, что типичная для рода терминальная бурса самца вероятно имела уже у предка рода. Нитевидный хвост вместо бursy и нитевидный центральный придаток бursy у отдельных видов группы *Fungivorus* можно рассматривать как вторичные реверсии состояния признака, свойственные также самцам внешних групп сем. Aphelenchoididae (рис. 7).

12, 13. Хвост самки (рис. 8). Первоначально длинный, нитевидной формы. У предка групп *Hofmanni*, *Abietinus* и *Hylobianus* укоротился и приобрел крючковидный вентральный изгиб кончика. У предка групп *Xylophilus*, *Trypophloeii*, *Africanus* хвост стал укороченным и приобрел шиповидный отросток (мукро). Мукро может вторично редуцироваться (например, в группе *Xylophilus* у вида *B. xylophilus* по сравнению с близким *B. mucronatus*). В группе *Africanus* кончик хвоста у некоторых видов вторично расширен.

14, 15. Ассоциации: насекомое-переносчик и растение-хозяин. Большинство видов бурсафеленхов обычно проходят фазы цикла, включающего трех симбионтов сапроксильной ассоциации: древоразрушающий гриб, насекомое-переносчик и древесное растение. Однако есть виды с моноксенным циклом на грибе (*B. fungivorus*), или диксенными циклами без растения хозяина, включающими только гриб и перепончатокрылое насекомое. В состав ассоциации, кроме гриба, входят жуки переносчики семейств Curculionidae, Nitidulidae, Cerambycidae или отряда Hymenoptera, растения-хозяева могут включать хвойные и лиственные деревья, а также травянистые растения.

Данные статистической обработки говорят о высокой вероятности предка рода с циклом, включающим переносчика подсем. Scolytinae и хвойное растение. Это сочетание осталось почти неизменным для макроклады С, за исключением перехода к трансмиссии долгоносиками подсем. Curculioninae нематод групп *Abietinus* и *Hylobianus*. Более разнообразные сочетания свойственны макрокладам А и В, предки которых включали также переносчиков отряд. Hymenoptera и сем. Cerambycidae, а среди хозяев

значительную роль играли, наряду с хвойными, также травянистые растения и лиственные деревья (признаки 14 и 15, узлы 34 и 35 в табл. 2). Широкий спектр переносчиков сохранился в макрокладе А (группа *Fungivorus*): жуки сем. Nitidulidae, Curculionidae, Lucanidae, перепончатокрылые отряд. Hymenoptera и чешуекрылые отряд. Lepidoptera; среди хозяев лиственные деревья более вероятны в качестве хозяев предка; отдельные виды энтомофильны, но без растительных-хозяев, что не исключает вероятность становления циклов макроклады А от диксенного цикла с ассоциацией нематод с грибами и насекомыми (признаки 14 и 15, узлы 60 и 63 в табл. 2). В группе *Kevini* (узел 58) предок специализировался на переносчиках отряд. Hymenoptera и травянистых растениях-хозяевах. Предок остальных трех групп (*Xylophilus*, *Trypophloeii*, *Africanus*) с вероятностью 80% включал в цикл переносчиков усачей сем. Cerambycidae, а хозяевами служили как хвойные (предпочтительно), так и лиственные деревья. Затем предок двух групп видов *Xylophilus* и *Africanus* специализировался на хвойных деревьях. Предок группы *Trypophloeii* вернулся к ассоциации с переносчиками подсем. Scolytinae (что можно рассматривать как реверсию), но специализированных не на хвойных, а на на лиственных деревьях (узел 53 признаков 14 и 15 в табл. 2).

Подробный анализ изменений жизненных циклов в пределах групп видов, подтверждающий эволюционное древо, дан ниже в разделе, посвященном эволюции групп видов бурсафеленхов.

ОТЛИЧИЯ МАКРОКЛАД ПО МОРФОЛОГИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ

Лучшими маркерами макроклад молекулярного древа служат два признака: число инцизур бокового поля и распределение папилл на хвосте самца. Наличие четырех инцизур латерального поля — плезиоморфный признак, свойственный макрокладам А и В. В макрокладе С четыре инцизуры сохранены в примитивной группе *Sexdentati*, у остальных групп идет уменьшение числа инцизур в ряду 4 (*Sexdentati*) > 3 (*Eggersi*, *Hofmanni*, *Hylobianus*) > 2 (*Abietinus*). В группе *Hylobianus* есть виды с тремя или двумя инцизурами. Наибольшее число примитивных черт морфологии и ассоциаций с насекомыми и растениями обнаруживают виды макроклады А, состоящей из одной группы видов *Fungivorus*. Однако анализ признаков в пакете SIMMAP указывает, что многие

примитивные особенности группы *Fungivorus* представляют собой реверсии. Например, хвост самцов ряда видов группы вернулся к предковому состоянию: бурса заменена нитевидным придатком, вторично утрачена непарная папилла P1 и glandпапиллы P5 и P6. В макрокладе В в примитивной группе *Kevinii* имеется полный набор хвостовых папилл самца, причем пары папилл не сближены, а сохранили равноудаленный порядок: P1, P2, P3, P4 (сосочковидные) и P5 (поровидные glandпапиллы). У остальных групп макроклады В пары P3 и P4 вторично сближены и находятся на одном уровне у основания бурсы. В макрокладе С, кроме уменьшения числа инцизур бокового поля, утрачивается задняя пара сосочковидных папилл P4, однако на ее месте у основания бурсы всегда имеются одна или две пары маленьких поровидных glandпапилл P5 и P6.

КЛЮЧ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУПП ВИДОВ ПО МОРФОЛОГИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ

1. На хвосте самца вторая пара сосочковидных папилл (P3) сближена с третьей парой, тоже сосочковидной (P4), обе пары находятся на одном уровне в основании бурсы, формула хвостовых папилл самца P1 + P2, P3 + P4, иногда имеется пара P5 (мелкие поровидные glandпапиллы на уровне середины бурсы), вульварный щиток большой (вид сбоку), вагина перпендикулярна брюшной поверхности.....

..... группы макроклады В (часть) (*Xylophilus*, *Trypophloeii*, *Africanus*) 8;

– на хвосте самца вторая и третья пары папилл (P3 и P4 или P5) отчетливо дистанцированы, вторая пара (P3) находится на уровне середины хвоста, а третья пара (сосочковидная P4 или мелкая поровидная P5) у основания бурсы.....2.

2. На хвосте самца 4 пары папилл дистанцированы друг от друга, последняя пара (P5) – мелкие поровидные железистые glandпапиллы, а впереди нее три пары сосочковидных папилл..... группа *Kevinii*;

– на хвосте самца 3 пары папилл, если же имеются 4 пары, то последние две пары – мелкие поровидные glandпапиллы (P5 и P6), сближенные друг с другом.....3.

3. На хвосте самца три пары дистанцированных друг от друга крупных сосочковидных папилл, непарная папилла P1 на передней губе клоаки часто отсутствует, у ряда

видов бурса с отчетливым центральным отростком или хвост длинный нитевидный без бурсы, 4 инцизуры бокового поля..... макроклада А, состоящая из одной группы *Fungivorus*;

– на хвосте самца две дистанцированные пары сосочковидных папилл, позади них мелкие поровидные glandпапиллы (одна или две пары, P5 и P6), всегда имеется непарная папилла P1 над передней губой клоаки.....4.

4. Латеральное поле с двумя инцизурами..... группа *Abietinus*;

– латеральное поле с 4 инцизурами.....5;

– латеральное поле с 3 инцизурами.....6.

5. Вульварный щиток маленький, с вентральной стороны симметричный в виде обращенной буквы U..... группа *Sexdentati*;

– вульварный щиток высокий, с вентральной стороны скошенный..... макроклада *Abruptus* (единственный вид: *B. abruptus*).

6. Кондиллюс спикулы загнут кзади, срединная лента спикулы без срединных гребней, кукуллюс отсутствует..... группа *Eggersi*;

– кондиллюс без заднего загиба, прямой, кукуллюс имеется.....7.

7. Головка спикулы мощная, кондиллюс массивный, длинный..... группа *Hylobianus*;

– головка и кондиллюс спикулы умеренно развиты..... группа *Hofmanni*.

8. Спикула очень узкая J-образная, почти прямая, головка не выражена, сердцевинная лента спикулы поперечно исчерчена, кукуллюс отсутствует, кончик спикулы без кукуллюса, округлый..... группа *Africanus*;

– сердцевинная лента спикулы без поперечной исчерченности, спикула изогнутая..... 9.

9. Головка не обособлена от тела спикулы, кукуллюс не выражен..... группа *Trypophloeii*;

– спикула узкая, сильно С-образно изогнута, с плоской обособленной головкой, кукуллюс имеется..... группа *Xylophilus*.

На рис. 9 дан иллюстрированный одновходовой ключ к группам видов р. *Bursaphelenchus* и макрокладе *Abruptus* (с единственным видом *B. abruptus*).

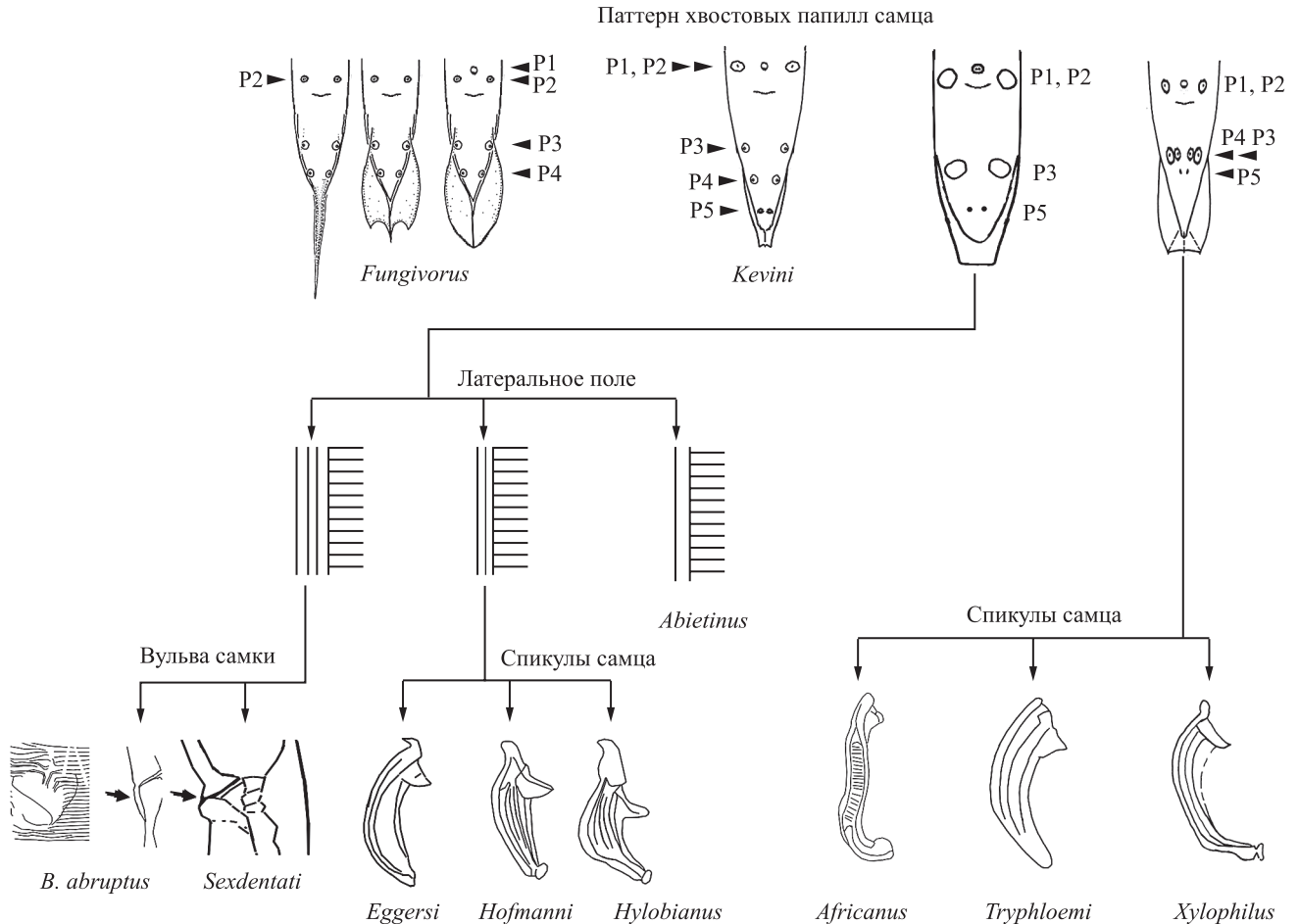


Рис. 9. Одновходовый иллюстрированный ключ к группам видов р. *Bursaphelenchus* и макрокладе *B. abruptus*. Папиллы хвоста самца: светлыми кружками с внутренними точками обозначены сосочковидные папиллы (P1 ... P4), мелкие черные точки – glandпапиллы (P5, P6).

ГРУППЫ ВИДОВ Р. *BURSAPHELENCHUS* И ЭВОЛЮЦИЯ ИХ ЖИЗНЕННЫХ ЦИКЛОВ

Макроклада *Abruptus*

Диагноз. Прimitивные нематоды с большим количеством сходств с группой *Xylophilus*. Отличие от последней: вульварный щиток с брюшной стороны в виде косой “/” – образной складки, в составе папилл самца отсутствует третья пара сосочковидных папилл P4, но имеется пара мелких поровидных glandпапилл P5, т.е. формула папилл самца P1, P2, P3, P5.

Единственный вид *B. abruptus* Giblin-Davis, Mundo-Ocampo, Baldwin, Norden, Batra, 1993.

B. abruptus расположен в корне филогении р. *Bursaphelenchus*. Вид важен для понимания становления рода в эволюции. Трансмиссивные личинки (дауеры) – личинки третьей стадии (J3D) *B. abruptus* обнаружены в половой системе

и ядовитых железах роющих пчел *Anthophora abrupta* (Giblin-Davis et al., 1993). Дауеров инокулировали в лабораторные культуры грибов *Monilinia fructicola* и *Botrytis cinerea* и получили половозрелых особей и непрерывный ряд пропативных миктрофных поколений нематод. Линьки трансмиссивных личинок и превращение их в половозрелых особей наблюдали и во вновь построенных секциях гнезд пчел, предполагая, что заражение новых особей происходит при строительстве новых секций земляных гнезд и при яйцекладке (Giblin-Davis et al., 1990). Хотя растение-хозяин неизвестно, но данный переносчик ассоциирован с травянистыми растениями как опылитель. Гиблин-Давис с соавт. предположили, что переносчик приобрел нематод от родственных пчел подрода *Anthophora* (*Clisodon*), строящих гнезда в мертвой древесине. Исследователи филогении бурсафеленхов отмечали близость *B. abruptus* к группе видов *Xylophilus*

по структуре половых органов самца и самки — спиккулы самца с узкой плоской головкой, узкая С-образная спиккула с характерным двойным изломом (у головки и при соединении дуговидной ламины с коническим концом спиккулы) и терминальным сферическим кукуллюсом; в латеральной проекции очень сходен и вульварный высокий арочный щиток самки с таковым в группе *Xylophilus*. Однако это морфологическое сходство — результат уникальной конвергенции, предположительно обусловленной сходным способом копуляции. Вульварный щиток самки *B. abruptus* отличается от такового ксилофилюсной группы, если его рассматривать с брюшной стороны. У последней щиток симметричный в виде обращенной буквы U (у *B. abruptus* прямой щиток с диагонально скошенным к оси тела краем), а нижняя губа вульвы самок группы *Xylophilus* содержит пару симметричных папилл (отсутствующих у *B. abruptus*) (Vieira et al., 2009). Ключевой признак группы *Xylophilus* — сближенные пары папилл P3-P4 у хвоста самца, смещенные к основанию терминальной бурсы. У *B. abruptus*, как и у других примитивных бурсафеленхов, эти папиллы дистанцированы, а пара P3 находится посередине хвоста. Кроме отличия по переносчикам и растению-хозяину, имеется важнейшее биологическое отличие: у *B. abruptus* инвазионные личинки (дауеры) — это личинки третьей стадии (J3D). А виды группы *Xylophilus* отличаются как раз инвазионными личинками четвертой ювенильной стадии (J4D), проникающей внутрь куколки переносчика (Giblin-Davis et al., 1990, 1993).

В соответствии с положением в филогенетическом древе, построенном по трем генам (рис. 3), *B. abruptus* находится в корне р. *Bursaphelenchus*. Гиблин-Давис с соавторами предполагали, что жизненный цикл *B. abruptus* мог быть результатом эволюционного возврата от циклов, подобных *B. xylophilus*, к примитивному циклу с перепончатокрылыми-переносчиками, так как гнезда часто соседствуют с веточным опадом больных нематодным вилтом деревьев (Giblin-Davis et al., 1993). Однако вышеизложенные данные по жизненному циклу и филогенетическое положение вида дает основание рассматривать его как ключевой этап ранних стадий паразитарной специализации р. *Bursaphelenchus*.

Макроклада А

Эта макроклада включает лишь одну группу видов *Fungivorus*.

А.1. Группа видов *Fungivorus*

Диагноз. Макроклада А (единственная группа видов). Четыре линии латерального поля. На хвосте самца три пары дистанцированных друг от друга крупных сосочковидных папилл (P2, P3, P4), непарная папилла P1 на передней губе клоаки часто отсутствует, у ряда видов бурса с отчетливым центральным отростком или хвост длинный нитевидный без бурсы. Вульва простая без щитка, поперечная щелевидная, вагина перпендикулярна брюшной поверхности. Хвост конический, длинный, обычно J-образно изогнут, кончик нитевидный. Нематоды с моноксенным циклом (хозяин гриб), диксенными циклами (гриб и перепончатокрылое) и с триксенными циклами с насекомыми переносчиками: отр. Hymenoptera, Lepidoptera, Coleoptera: сем. Curculionidae, Lucanidae, Nitidulidae, травянистыми и древесными растениями-хозяевами.

Виды группы *Fungivorus*:

Без известных в настоящее время переносчиков:

B. fungivorus Franklin et Hooper, 1962,

**B. gonzalezi* Loof, 1964,

**B. hunti* (Steiner, 1935) Giblin, Kaya, 1983.

Вид с переносчиком и без растений-хозяев (диксенный цикл):

B. seani Giblin, Kaya, 1983.

Виды с триксенными циклами, с листовыми древесными хозяевами:

****B. cocophilus* (Cobb, 1919) Baujard, 1989,

B. kiyoharai Kanzaki, Maehara, Aikawa, Masuya-Davis, Giblin-Davis, 2011,

B. penai Kanzaki, Giblin-Davis, Carrillo, Duncan, Gonzalez, 2014,

****B. platzeri* Giblin-Davis, Kanzaki, Ye, Mundo-Ocampo, Baldwin, Thomas, 2006,

**B. steineri* Rühm, 1956,

B. tadamiensis Kanzaki, Taki, Masuya, Okabe, 2012,

B. braaschae Gu, Wang, 2010,

****B. posterovulvus* Gu, Wang, He, Wang, Chen, Wang, 2014,

**B. sychnus* Rühm, 1956,

B. sycophilus Kanzaki, Tanaka, Giblin-Davis, Davies, 2014.

Виды с триксенными циклами, с хвойными растениями-хозяевами:

B. arthuri Burgermeister, Gu, Braasch, 2005,
B. arthuroides Gu, Wang, Zheng, 2012,
 ***B. kesiyaе* Kanzaki, Aikawa, Maehara, Thu, 2016,
B. parathailandae Gu, Wang, Chen, 2012,
B. thailandae Braasch, Braasch-Bidasak, 2002,
B. willibaldi Schönfeld, Braasch, Burgermeister, 2006.

Примечание.

* *B. hunti*, *B. gonzalezi*, *B. steineri*, *B. sychnus* не включены в филограмму, но были ранее отнесены к группе *Fungivorus* (Braasch et al., 2009).

** *B. kesiyaе* не включен в филограмму, но ранее был отнесен к группе *Fungivorus* (Kanzaki et al., 2016).

*** Филогенетическое положение *B. cocophilus*, *B. platzeri* и *B. posterovulvus* не имеет высоких значений поддержки. Это “блуждающие” виды. Они соответствуют морфологическому диагнозу группы.

Виды группы сохраняют большое количество примитивных черт морфологии и жизненного цикла наряду с вторичными изменениями (утрата мужских папилл P1, P5). У некоторых видов (*B. fungivorus*, *B. hunti*, *B. gonzalezi*) переносчики отсутствуют и цикл диксенный, наподобие цикла *Aphelenchoides*. Эти виды микотрофные, участвующие в грибных инфекциях своих растений-хозяев — луковичных растений или обитатели микобиоты коры деревьев наподобие видов близкого р. *Laimaphelenchus*. Виды группы, которые приобрели переносчиков, отличаются разнообразием последних: перепончатокрылые, чешуекрылые, долгоносики, чей цикл связан с деструкцией древесины, с образованием богатых микобиотой галерей под корой дерева. В этой примитивной группе необязательно имеется характерное для *Bursaphelenchus* строение копулятивных органов: например, у самцов *B. kiyoharai* и *B. penai* бурса самцов (ключевой родовой признак *Bursaphelenchus*) заменена шиповидным отростком, вульварный щиток самок отсутствует, у самцов редуцирована преклоакальная папилла самцов P1 (Kanzaki et al., 2011, 2014; Gu et al., 2012a, b), характерная для видов рода в целом и отличающая *Bursaphelenchus* от близких родов сем. Aphelenchoididae. Перечисленные особенности свидетельствуют о повышенной лабильности морфологического облика и ассоциаций с растениями и переносчиками в данной группе. Имеется почти весь известный спектр таксонов переносчиков р. *Bursaphelenchus*

и необлигатные связи с растениями-хозяевами. Это означает отсутствие глубоких связей паразита в его ассоциации с макросимбионтами. Основными ассоциантами служат сапротрофные древоразрушающие грибы, как важнейший источник питания нематод.

Макроклада В

В.1. Группа видов *Kevini*

Диагноз. Макроклада В. Четыре инцизуры латерального поля. На хвосте самца пара сосочковидных папилл P4 в основании бурсы имеется, общий состав папилл самца: сосочковидные P1 (непарная), P2 на уровне клоаки, P3 (середина хвоста) и P4 (у основания клоаки), пара паровидных glandпапилл P5 на уровне середины бурсы, вульварный щиток большой, а вагина перпендикулярна брюшной поверхности, спикула расширенная с широким листовидным кончиком без кукуллюса, кондиллюс и рострум развиты, сердцевинная лента спикулы с мощными гребнями.

Виды группы *Kevini*:

B. anatolius Giblin-Davis, Hazir, Center, Ye, Keskin, Thorp, Thomas, 2005,

B. debrae Hazir, Giblin-Davis, Keskin, Ye, Kanzaki, Center, Hazir, Kaya, Thomas, 2007,

B. kevinci Giblin, Swan, Kaya, 1984.

Данная группа крайне резко отличается от остальных групп рода ассоциациями с пчелами р. *Halictus*, опыляющими травянистые сложноцветные (Asteraceae). Инвазионные личинки трансмиссивного поколения внутри переносчика — дауеры третьей стадии (J3D).

В.2. Группа *Africanus* (комбинированная)

Диагноз. Макроклада В. Четыре инцизуры латерального поля. На хвосте самца пары сосочковидных папилл P3 и P4 сближены и находятся на одном уровне в основании бурсы, формула хвостовых папилл самца P1+P2, P3+P4, вульварный щиток арочный, высокий, вагина перпендикулярна брюшной поверхности. Спикула очень узкая и почти прямая, головка не выражена, кукуллюс отсутствует. Есть исключение в форме спикул: вид *B. okinawaensis* с короткой спикулой и кукуллюсом на кончике спикулы (но головка спикулы также не обособлена). Триксенный цикл с грибом, жуками сем. Cerambycidae, хвойными и листовыми древесными растениями.

Виды группы *Africanus*:

Виды с листовыми древесными хозяевами:

B. obeche Gu, Braasch, Zhen, Burgermeister, Lin, 2008,

B. okinawaensis Kanzaki, Maehara, Aikawa, Togashi, 2008,

**B. paraburgeri* Wang, Gu 2012.

Виды с хвойными растениями-хозяевами:

B. africanus Braasch, Gu, Burgermeister, Brandstetter, Metge, 2006,

B. burgermeisteri Braasch, Gu, Brandstetter, 2007,

B. saudi Gu, Maria, Fang, He, Braasch, Li, 2016.

Примечание.

* *B. paraburgeri* не включен в филограмму, но ранее был отнесен к группе *Africanus* (Wang, Gu, 2012).

Две группы *Africanus* и *Okinawaensis* (Braasch et al., 2009), близкие к группе *Xylophilus*, логично объединить в одну группу, так как они представляют единую кладу на молекулярном древе (рис. 3; Ryss et al., 2015). Их переносчики жуки усачи сем. Cerambycidae, как и для видов группы *Xylophilus*. Трансмиссивные личинки (дауеры) этих видов J3D, в отличие от дауров-преадультов (J4D) группы *Xylophilus*. Важный биотический признак: на примере *B. okinawaensis* показано, что J3D формируются в большом количестве в зрелой лабораторной культуре без присутствия насекомого, тогда как у видов группы *Xylophilus* для индукции трансмиссивных личинок необходимо наличие куколки жука-переносчика (Kanzaki et al., 2008). Наиболее значительные морфологические отличия между группами *Africanus* и *Xylophilus* в форме копулятивных органов самцов: у видов группы *Africanus* спикулы самца обычно лишены характерного для *B. xylophilus* сильного полукольцевого изгиба и двойного излома. Форма спикул самцов *Africanus* относительно примитивна (отсутствует кукуллюс на кончике, головка не обособлена от тела спикулы, но уже произошло сужение спикулы и сформировался J-образный изгиб у кончика так, что спикула стала напоминать клюшку для хоккея на траве). Особой формой спикул отличаются самцы вида *B. okinawaensis*: головка также не обособлена, но спикула короткая и с кукуллюсом на конце. Это отличие служит примером относительной ненадежности использования структуры спикул как ключевого диагностического признака группы видов: признак относительно консервативен внутри групп видов, но все же подвержен изменчивости. По биотическим связям и молекулярным данным группа *Africanus* относится к той же

филогенетической ветви, что и ксилофилюсная группа.

В.3. Группа видов *Trypophloe*

Диагноз. Макроклада В. Четыре инцизуры латерального поля. На хвосте самца пары сосочковидных папилл P3 и P4 сближены и находятся на одном уровне в основании бурсы, формула хвостовых папилл самца P1+P2, P3+P4, вульварный щиток арочный, высокий, симметричный, вагина перпендикулярна брюшной поверхности. Спикула умеренно узкая, головка не обособлена от тела спикулы, кукуллюс не выражен. Единственное исключение в строении спикул – вид *B. masseyi*, у которого структура спикулы идентична спикулам группы *Xylophilus*, что можно считать параллелизмом, как и в ранее упомянутом виде *B. abruptus*. Триксенный цикл с грибом, насекомыми сем. Curculionidae: подсем. Scolytinae, хвойными и лиственными древесными растениями.

Виды группы *Trypophloe*:

Хвойные растения-хозяева:

B. piceae Tomalak, Pomorski, 2015.

Лиственные растения-хозяева;

B. fagi Tomalak, Filipiak, 2014,

B. masseyi Tomalak, Worrall, Filipiak, 2013,

B. tiliae Tomalak, Malewski, 2014,

B. tokyoensis Kanzaki, Aikawa, Giblin-Davis, 2009,

B. trypophloe Tomalak, Filipiak, 2011.

Данная группа не входила в классификацию Брааш с соавт. (Braasch et al., 2009) и была предложена позднее Томалаком с соавт. (Tomalak et al., 2014) для четырех видов, паразитирующих в лиственных деревьях. Затем был описан вид с хвойных *B. piceae*. Переносчики группы *Trypophloe* не усачи, а короеды подсем. Scolytinae. Спикулы *B. piceae* и других видов группы сходны со спикулами самцов группы *Africanus* узкой головкой, не обособленной от тела спикулы, но в целом у двух групп спикулы разные, у *Trypophloe* отсутствует поперечная исчерченность сердцевинной ленты, форма в виде слабо согнутого рога, а не в форме клюшки, как у видов группы *Africanus*. У *B. masseyi* и *B. trypophloe* группы *Trypophloe* структура спикулы идентична спикулам группы *Xylophilus*, что указывает на ненадежность использования спикул для диагностики групп, как уже было показано на примере группы *Africanus* (спикула *B. okinawaensis* отличается от типичной для группы *Africanus*).

Анализ с помощью пакета SIMMAP показыва-ет, что у предка группы *Trypophloe* вначале сформировался цикл с ассоциацией короеды подсем. Scolytinae — лиственные деревья (как у *B. tiliae* и других видов клады *Trypophloe* с лиственными хозяевами), а уже позднее цикл с ассоциацией короеды — хвойные (единственный вид *B. piceae*). Для общего же предка трех групп *Trypophloe*, *Xylophilus* и *Africanus* с высокой вероятностью ассоциация состояла из переносчиков усачей сем. Cerambycidae, приуроченных к хвойным деревьям. Это дает основание полагать, что гостальная радиация предка группы *Trypophloe* на жуков короедов подсем. Scolytinae и лиственные деревья представляла более поздний вторичный процесс.

В.4. Группа видов *Xylophilus*

Диагноз. Макроклада В. Четыре инцизуры латерального поля. На хвосте самца пары сосочковидных папилл P3 и P4 сближены и находятся на одном уровне в основании бурсы, формула хвостовых папилл самца P1+P2, P3+P4, иногда имеется пара P5 (мелкие поровидные gland-папиллы на уровне середины бурсы), вульварный щиток большой, вагина перпендикулярна брюшной поверхности. Спикула узкая, сильно С-образно изогнута и с изломом в последней трети, с плоской головкой и мощными лимбами, дорсальный лимб обычно двойной, кукуллюс имеется. Триксенный цикл с грибом, жуками сем. Cerambycidae, хвойными и лиственными древесными растениями.

Виды группы *Xylophilus*:

Хвойные растения-хозяева:

B. doui Braasch, Gu, Burgermeister, Zhang, 2004,

B. firmae Kanzaki, Maehara, Aikawa, Matsumoto, 2012,

B. gillanii Schönfeld, Braasch, Riedel, Gu, 2014,

B. koreanus Gu, Wang, Chen, 2013,

B. macromucronatus Gu, Zheng, Braasch, Burgermeister, 2008,

B. mucronatus Mamiya, Enda, 1979,

B. xylophilus (Steiner, Buhrer, 1934) Nickle, 1970.

Лиственные растения-хозяева:

**B. baujardi* Walia, Negi, Bajaj, Kalia, 2003,

B. conicaudatus Kanzaki, Tsuda, Futai, 2000,

B. fraudulentus Rühm, 1956 (J.V. Goodey, 1960),

B. luxuriosae Kanzaki, Futai, 2003,

B. paraluxuriosae Gu, Wang, Braasch, Burgermeister, Schroeder, 2012,

B. populi Tomalak, Filipiak, 2010,

B. singaporensis Gu, Zhang, Braasch, Burgermeister, 2005.

Примечание.

* *B. baujardi* отсутствует в филограмме, но ранее был включен в группу по морфологическим признакам (Braasch et al., 2009).

Из статистического анализа следует, что предок группы был специализирован на усачах и хвойных деревьях. Филогенетическое дерево (рис. 3) указывает на то, что в пределах группы есть субклады, специализированные на хвойных (субклада *B. firmae*, *B. gillanii*, *B. mucronatus*, *B. xylophilus*) или на лиственных древесных хозяевах (субклада *B. fraudulentus* и *B. populi*); но также есть крупная субклада, ассоциированная с видами — паразитами как хвойных (*B. koreanus* и *B. macromucronatus*), так и лиственных (*B. luxuriosae*, *B. paraluxuriosae*, *B. singaporensis*) растений-хозяев, а в корне клады *Xylophilus* есть два вида, один из которых ассоциирован с хвойными (*B. doui*), а второй (*B. conicaudatus*) с лиственным растением *Ficus carica* L. Переносчиками видов группы служат жуки усачи (сем. Cerambycidae), причем специфичность к переносчикам, как показывает пример широко распространенных видов (*B. mucronatus*, *B. xylophilus*, *B. fraudulentus*), не выходит за пределы рода жуков усачей (для трех перечисленных видов нематод это жуки р. *Monochamus*). Значит, узкая приуроченность к таксону переносчика важнее для видообразования бурсафеленхов, чем более широкая ассоциация с таксоном растения-хозяина. Возвратные переходы от хвойных к лиственным и опять к хвойным в пределах субклад, вероятно, соответствуют приспособлениям к сукцессиям леса внутри таежной зоны опосредованно через сапроксильных переносчиков. Трансмиссивными энтомофильными личинками, переносимыми жуками, служат дауеры четвертой стадии (преадультильные личинки J4D), что можно считать важной биономической апоморфией данной группы видов, отличающей ее от других групп, где трансмиссивные личинки более юные (J3D).

Макроклада С

С.1. Группа видов *Sexdentati* (модифицирована)

Диагноз. Макроклада С. Четыре инцизуры латерального поля (единственная группа в макрокладе С с четырьмя инцизурами, у остальных две или три инцизуры). На хвосте самца отсутствует третья пара сосочковидных папилл

P4, у групп макроклад А и В расположенная у основания бурсы. Общий набор папилл: P1 + P2, P3 (сосочковидные) и пара маленьких поровидных папилл P5 (гландпапиллы) у основания бурсы. Хвост короткий, округлый или тупо скошенный вентрально, вульва с маленьким щитком и округлой выступающей задней губой, вагина скошена к брюшной поверхности. Триксенный цикл: гриб, жуки переносчики сем. Curculionidae: подсем. Scolytinae, хвойные древесные растения.

Виды группы *Sexdentati* (все хозяева – хвойные растения, все переносчики – жуки короеды):

B. andrassyi Dayi, Calin, Akbulut, Gu, Schröder, Vieira, Braasch, 2014,

***B. borealis* Korenchenko, 1980,

B. crenati Rühm, 1956,

***B. eidmanni* Rühm, 1956 (J.B. Goodey, 1960),

**B. fuchsi* Kruglik, Eroshenko, 2004,

**B. incurvus* Rühm, 1956 (J.B. Goodey, 1960),

***B. leoni* Baujard, 1980,

**B. naujaci* Baujard, 1980,

**B. nuesslini* Rühm, 1956 (J.B. Goodey, 1960),

**B. piniperdae* Fuchs, 1937,

**B. pinophilus* Brzeski, Baujard, 1997,

B. poligraphi Fuchs, 1937,

B. rufipennis Kanzaki, Giblin-Davis, Cardoza, Ye, Raffa, Center, 2008,

B. sexdentati Rühm, 1960,

***B. silvestris* (Lieutier, Laumond, 1978) Baujard, 1980,

****B. talonus* (Thorne, 1935) Massey, 1956,

B. vallesianus Braasch, Schönfeld, Polomski, Burgermeister, 2004.

Примечание.

**B. fuchsi*, *B. incurvus*, *B. naujaci*, *B. nuesslini*, *B. piniperdae*, *B. pinophilus* не включены в филограмму, но ранее были отнесены к группе *Sexdentati* (Braasch et al., 2009).

** *B. borealis*, *B. eidmanni*, *B. leoni*, *B. silvestris* были отнесены Брааш с соавт. (Braasch et al., 2009) к группе *Leoni*, объединенной в данной работе с группой *Sexdentati*. *B. borealis* представлен на филограмме (рис. 3).

*** *B. talonus* не включен в филограмму, был вне групп по Брааш с соавт. (Braasch et al., 2009); здесь помещен в группу *Sexdentati* из-за сходства

с *B. rufipennis*, отмеченного Канзаки с соавт. (Kanzaki et al., 2008).

Группа включает также виды группы *Leoni* по классификации групп Брааш с соавт. (Braasch et al., 2009), поскольку наиболее распространенный вид группы *Leoni*, *B. borealis* по положению на филограмме относится к группе *Sexdentati*, а морфологические признаки видов группы *Leoni* соответствуют группе *Sexdentati*. Все известные виды этой группы паразитируют в хвойных (сем. Pinaceae), а переносчиками служат виды жуков короедов (Curculionidae: Scolytinae); трансмиссивными энтомофильными личинками, переносимыми жуками, служат младшие дауеры третьей стадии (J3D).

С. 2. Группа видов *Eggersi* (модифицированная группа)

Диагноз. Макроклада С. Три инцизуры латерального поля. На хвосте самца отсутствует пара сосочковидных папилл P4, у других групп расположенная у основания бурсы, на этом месте имеется пара мелких поровидных сенсилл P5; общий набор папилл: P1+P2, P3 (сосочковидные) и пара симметричных маленьких поровидных gland-папилл P5 у основания бурсы. Бурса маленькая, ее задний край часто зубчатый. В спикеле самца кондиллюс заостренный, загнут кзади на дорсальную сторону, сердцевинная лента без отчетливых гребней, кукуллюс не выражен. Триксенный цикл: гриб, жуки переносчики сем. Curculionidae: подсем. Scolytinae, хозяевами служат хвойные и лиственные древесные растения.

Виды группы *Eggersi*:

Хвойные растения-хозяева:

B. eggersi Rühm, 1956 (J.B. Goodey, 1960),

**B. elytus* Massey, 1971,

**B. glochis* Brzeski, Baujard, 1997,

B. hildegardae Braasch, Burgermeister, Schönfeld, Metge, Brandstetter, 2006,

**B. newmexicanus* Massey, 1974,

B. tusciae Ambrogioni, Palmisano, 1998,

B. youngensis Gu, Braasch, Burgermeister, Brandstetter, Zhang, 2006.

Лиственные растения-хозяева:

B. clavicauda Kanzaki, Maehara, Masuya, 2007,

B. eremus Rühm, 1956 (J.B. Goodey, 1960).

Примечание.

* *B. elytus*, *B. glochis*, *B. newmexicanus* не помещены в филограмму, но ранее их отнесли к группе *Eggersi* (Braasch et al., 2009).

Модифицированная в данной статье группа *Eggersi* включает также виды группы *Eremus* в классификации Брааш с соавт. (Braasch et al., 2009), так как явных морфологических отличий между группами нет, а на молекулярных древах (рис. 3; Quist et al., 2015; Ryss et al., 2015) виды этих групп включены в единые клады. Переносчиками служат виды жуков-короедов (Curculionidae: Scolytinae), трансмиссивными энтомофильными личинками, переносимыми жуками, служат младшие дауеры третьей стадии (J3D). Большинство видов — паразиты хвойных, переход на лиственные *B. eremus* и *B. clavicauda* предположительно вторичен, как и в других группах, возврат от хвойных к лиственным связан с адаптацией к сукцессиям лесных экосистем и освоением переносчиков широкого трофического спектра.

С.3. Группа видов *Hofmanni*

Диагноз. Макроклада С. Три инцизуры латерального поля. На хвосте самца отсутствует пара сосочковидных папилл Р4, общий набор папилл: Р1 + Р2, Р3 (сосочковидные) и пара маленьких поровидных папилл Р5 (гландпапиллы) у основания бursy. Спиккулы относительно широкие и короткие с небольшим прямым или слегка отклоненным дорсально кондилюсом, кукуллюс имеется, в сердцевинной линии два гребня. Триксенный цикл: гриб, жуки переносчики подсем. Scolytinae, хозяева: хвойные и лиственные древесные растения.

Виды группы *Hofmanni*:

Хвойные растения-хозяева:

B. anamurius Akbulut, Braasch, Baysal, Brandstetter, Burgermeister, 2007,

B. corneolus Massey, 1966,

**B. curvicaudatus* Wang, Yu, Lin, 2005,

B. hofmanni Braasch, 1998,

B. osumiana Kanzaki, Akiba, Kanetani, Tetsuka, Ikegame, 2014,

B. paraparvispicularis Gu, Wang, Duan, Braasch, Burgermeister, Zheng, 2010,

B. parapinasteri Wang, Zhang, 2007,

B. pinasteri Baujard, 1980,

**B. sachsi* Rühm, 1956 (J.V. Goodey, 1960),

***B. yuyaoensis* Gu, He, Wang, Chen, 2014.

Лиственные растения-хозяева:

B. mazandaranense Pedram, Pourjam, Ye, Atighi, Robbins, Ryss, 2011,

B. parvispicularis Kanzaki, Futai, 2005,

**B. ratzeburgii* Rühm, 1956 (J.V. Goodey, 1960),

****B. scolyti* Massey, 1974,

B. ulmophilus Ryss, Polyana, Popovichev, Subbotin, 2015.

Примечание.

* *B. curvicaudatus*, *B. sachsi*, *B. ratzeburgii* не включены в филогенетическую диаграмму, но ранее были отнесены к группе *Hofmanni* (Braasch et al., 2009).

** *B. yuyaoensis* отнесен к группе *Hofmanni* при первоописании (Gu et al., 2014).

*** *B. scolyti* отнесен здесь к группе *Hofmanni* из-за сходства с *B. ulmophilus* (Ryss et al., 2015). В классификации Брааш с соавт. (Braasch et al., 2009) этот вид был в составе группы *Eremus*, вошедшей в данной работе в группу *Eggersi*.

Из сопоставления древа филогенетических отношений (рис. 3) с данными находок видов группы *Hofmanni* с помощью пакета SIMMAP (табл. 2) исходными хозяевами группы были хвойные, а переносчиками короеды (Curculionidae: Scolytinae). В пределах группы происходила смена хозяев как с хвойных на лиственные, так и с лиственных вновь на хвойные. Это свидетельствует о существовании в эволюции видов короедов, использовавших одновременно и хвойные и лиственные виды деревьев для питания и яйцекладки. Поскольку переносчики и сами лиственные растения-хозяева — обитатели пояса умеренного климата, вторичный возврат к лиственным хозяевам, вероятно, был обусловлен приспособлением к сукцессии внутри таежной зоны. Трансмиссивными энтомофильными личинками, переносимыми жуками, служат дауеры третьей стадии (J3D), т.е. младшие трансмиссивные личинки, так же, как и у других видов макроклады С.

С.4. Группа видов *Hylobianus*

Диагноз. Макроклада С. Две или три инцизуры латерального поля. На хвосте самца отсутствует пара сосочковидных папилл Р4. Общий набор папилл: Р1 + Р2, Р3 (сосочковидные) и квартет маленьких поровидных папилл, состоящий из двух сближенных пар Р5 и Р6 (гландпапиллы) у основания бursy. Спиккула широкая, дорсальный лимб сильно изогнут. Кондиллюс спиккулы мощный, прямой, обособленный, в сердцевинной линии спиккулы два мощных гребня (четыре линии), лимбы массивные, сходятся к широкому уплощенному кукуллюсу. Вульва с маленьким щитком и скошенной

к брюшной поверхности вагиной. Триксенный цикл: гриб, переносчики жуки долгоносики сем. Curculionidae: подсем. Curculioninae, хвойные древесные растения.

Виды группы *Hylobianus* (все хозяева – хвойные растения):

B. hylobianus (Korenchenko, 1980) Hunt, 1993,

B. paracorneolus Braasch, 2000.

В классификации групп по Танаке с соавт. (Tanaka et al., 2014) сходный состав таксонов назван “*hylobianum*”. Исходя из номенклатурной правки в чеклисте (Hunt, 2008), грамматически правильное название типового вида группы: “*B. hylobianus*”. Оно соответствует и правильно-му названию группы видов. Находки видов группы связаны с хвойными хозяевами в лесной зоне умеренного климата. Данная группа – пример гостальной радиации нематод от жуков-короедов (переносчиков для предков макроклады С) к долгоносикам. Трансмиссивная личинка третьей стадии (J3D).

С.5. Группа видов *Abietinus*

Диагноз. Макроклада С. Две инцизуры латерального поля. На хвосте самца отсутствует пара сосочковидных папилл Р4. Общий набор папилл: Р1 + Р2, Р3 (сосочковидные) и пара маленьких поровидных папилл Р5 (гландпапиллы) у основания бursy, часто асимметричная; иногда имеется квартет поровидных железистых glandpapill Р5 и Р6. Спикула широкая, с мощным длинным прямым кондилюсом, в сердцевинной линии один гребень. Имеются хорошо развитые скелетные краевые лимбы, сходящиеся к терминальному кукуллюсу. Триксенный цикл: гриб, переносчики – различные семейства сапроксильных жуков. Хозяева: хвойные и лиственные древесные растения.

Виды группы *Abietinus*:

Переносчики – жуки короеды. Хозяева – хвойные растения:

B. abietinus Braasch, Schmutzenhofer, 2000,

B. hellenicus Skarmotsos, Braasch, Michalopoulou, 1998,

**B. pityogeni* Massey, 1974,

B. rainulfi Braasch, Burgermeister, 2002,

B. sinensis Palmisano, Ambrogioni, Tomiczek, Brandstetter, 2004,

**B. varicauda* Thong, Webster, 1983,

**B. willi* (Massey, 1974) Baujard, 1989.

Переносчики – долгоносики. Хозяева – хвойные растения:

B. antoniae Penas, Metge, Mota, Valadas, 2006,

B. chengi Li, Trinh, Waeyenberge, Moens, 2008,

B. niphades S. Tanaka, R. Tanaka, Akiba, Aikawa, Maehara, Takeuchi, Kanzaki, 2014,

B. parantoniae Maria, Fang, He, Gu, Li, 2015.

Переносчики – долгоносики и жуки-олени. Хозяева – лиственные растения:

B. gerberi Giblin-Davis, Kanzaki, Ye, Center, Thomas, 2006,

B. sakishimanus Kanzaki, Okabe, Kobori, 2015.

Примечание.

* *B. pityogeni*, *P. varicauda*, *B. willi* не включены в филограмму, но ранее были отнесены к группе *Abietinus* (Braasch et al., 2009).

По филогенетическому положению сюда же нужно отнести вид *B. sinensis*, попадающий в кладу с данной группой на деревьях (рис. 3; Quist et al., 2015; Ryss et al., 2015). Браасч и соавт. (Braasch et al., 2009) выделили этот вид в отдельную группу “*sinensis*” в составе единственного вида, однако этот вид отличается от остальных видов группы *Abietinus* лишь редуцированной головкой спикул, а форма спикул, как уже указано на примерах групп *Africanus* и *Trypophloeii*, не всегда служит ключевым показателем родства. Группа интересна эволюцией отношений с переносчиками. Статистический анализ (SIMMAP) указывает на большую вероятность происхождения группы от предка, ассоциированного с долгоносиками и хвойными, хотя большинство видов группы используют короедов в качестве переносчиков, а хвойных как хозяев. Имеется отдельная четко обособленная от остальных видов группы субклада (*B. antoniae*, *B. parantoniae*, *B. chengi*, *B. niphades*), в которой переносчиками служат долгоносики. Также интересно, что в группе *Abietinus* имеется субклада, включающая виды *B. gerberi* и *B. sakishimanus*, обнаруженные в тропическом поясе. У видов этой субклады переносчики также не короеды, а хозяева – не хвойные растения. У *B. gerberi* переносчик долгоносик *Rhynchophorus palmarum*, а трансмиссивные личинки *B. sakishimanus* обнаружены в жуке-олене *Dorcus titanus* (сем. Lucanidae). Хотя авторы (Kanzaki et al., 2015) подчеркивают, что данный переносчик мог быть факультативным или случайным, использованным для форезии, так как трансмиссивные личинки были крайне малочисленны, а популяция нематод получена

в лабораторной культуре слепым рассевом размельченной суспензии жуков, но сам переход на других жуков показывает лабильность данной группы именно по переносчикам. Также именно с этой ассоциированной с долгоносиками субкладой связан возвратный переход нематод от хвойных к лиственным деревьям тропического пояса: *B. sakishimanus*, *B. gerberi*. Отметим, что все переходы на лиственные растения связаны с тропическим поясом, т.е. произошли вне зоны тайги.

ОБСУЖДЕНИЕ

Род паразитических нематод *Bursaphelenchus* уникален сочетанием в жизненном цикле трех эволюционно далеких макросимбионтов, хозяев: гриба и древесного растения, а также насекомого-переносчика. Исходя из комбинированного сравнительного анализа трех независимых блоков данных: а) об ассоциациях нематод и их хозяев (насекомых и растений), б) морфологического таксономического группирования и в) молекулярной филогении, построенной по нескольким генам рРНК, было продемонстрировано, что в видообразовании р. *Bursaphelenchus* наибольшую роль играет специализация к таксонам насекомых-переносчиков, а не к растениям хозяевам.

В эволюции рода выделяются четыре ствола: макроклада *Abruptus* и макроклады А, В и С. Макроклада *Abruptus* (единственный вид *B. abruptus*) характеризуется диксенным циклом, включающим двух хозяев: гриб *Monilinia* sp., обитающий внутри гнезда и на поверхности тела пчел, и переносчика – роющую пчелу *Anthophora abrupta* (Giblin-Davis et al., 1993). Дальнейшая эволюционная радиация рода шла по трем направлениям – макркладам А, В, С (рис. 3). Общий ствол трех макрклад с высокой статистической вероятностью ведет начало от предка с триксенным циклом и с ассоциацией: жуки-короеды подсем. Scolytinae и хвойные деревья. Эту приуроченность сохранили группы, входящие в макрокладу С (*Sexdentati*, *Eggersi*, *Hofmanni*, *Abietinus*). Гостальная радиация (англ. host switch) затронула только группу *Hylobianus* и *Abietinus*, предки которых с высокой вероятностью перешли на переносчиков долгоносиков подсем. Curculioninae, сохранив преимущественную приуроченность к хвойным. Внутри групп макрклады С наблюдаются вторичные спорадические переходы на лиственные растения.

Группа видов *Abietinus* – наиболее трансформированная клада внутри макрклады С. Вторичные

эволюционные процессы в ней, вероятно, связаны с выходом видов *Abietinus* за пределы зоны тайги, что обусловило переход видов *B. sakishimanus* и *B. gerberi* от хвойных хозяев к лиственным древесным растениям тропического пояса, где неизбежно произошла замена насекомых переносчиков с жуков-короедов подсем. Scolytinae на долгоносиков подсем. Curculioninae и рогачей сем. Lucanidae. В макркладе С трансмиссивные личинки у всех видов – J3D, индуцируемые появлением поздней личинки переносчика или куколки последнего.

Макроклада А (с единственной группой *Fungivorus*) имеет наиболее широкий спектр ассоциаций и циклов, начинающийся от предка со статистически вероятной изначальной ассоциацией с лиственными деревьями и долгоносиками, и вторичным упрощением цикла до диксенного и моноксенного. Исходя из числа узлов молекулярного древа, эта группа характеризуется наиболее коротким путем трансформации признаков.

У группы *Fungivorus* не выражена специфичность нематод к таксонам симбиотических партнеров. В группе имеются циклы как моноксенные (у *B. fungivorus* основной хозяин – гриб, а растение представляет собой не хозяина нематоды, а лишь пищевой субстрат этого гриба), так и диксенные циклы в двух комбинациях: с растением и без переносчика (*B. hunti*, *B. gonzalezi*) или с насекомым-хозяином и без растения-хозяина (*B. seani*, паразитирующий в пчелах *Anthophora bomboides*). Дауеры, т.е. очень крупные и лишенные развитой глотки и стомы специализированные личинки трансмиссивного поколения, у нематод этой группы – просто резистентные личинки третьей стадии (J3D), формирующиеся в старой лабораторной культуре и без наличия целевой стадии насекомого-хозяина (*B. fungivorus*, *B. seani*: Giblin, Кава, 1983). У ряда видов этой группы уже имеются триксенные циклы (*B. kiyoharai*, *B. penai*, *B. steineri*) с ассоциативной связью с родом насекомого, но не растения. При этом разнообразие переносчиков и растений-хозяев в пределах группы очень широкое и включает перепончатокрылых, чешуекрылых, долгоносиков, травянистые и древесные (лиственные и хвойные) растения. Группа демонстрирует упрощение цикла и неглубокую и не специфичную связь с хозяевами и переносчиками. Это обусловлено тем, что группа находится на начальном этапе специализации жизненного цикла паразита.

Филогенетическое положение *B. cocophilus*, *B. platzeri* и *B. posterovulvus* в группе *Fungivorus* не имеет высоких значений поддержки. Хотя морфология этих видов соответствует

морфологическому диагнозу группы *Fungivorus*, возможно это сходство обусловлено примитивностью группы и её большей морфологической лабильностью по сравнению с другими группами рода.

Специализация макроклады В начиналась с предка с триксенным циклом и с ассоциацией хвойные растения – переносчики жуки сем. Cerambycidae. Усачи, по результатам анализа, и были хозяевами общего предка трех групп: *Trypophloe*, *Africanus* и *Xylophilus*. Эту специализацию сохранили нематоды групп *Africanus* и *Xylophilus*, а группа *Trypophloe* в результате гостальной радиации перешла к ассоциации “короеды Scolytinae – лиственные деревья”. Группа *Kevini* в макрокладе В упростила цикл до диксенного. Хозяевами служат гриб внутренней поверхности гнезда пчел *Monilinia* sp. и сами пчелы р. *Halictus*, опыляющие сложноцветные растения сем. Asteraceae.

В остальных группах макроклады В жизненный цикл нематод триксенный (гриб – насекомое – древесное растение). Трансмиссивное поколение внутри переносчика – дауеры третьей стадии (J3D), формирующиеся в присутствии целевого насекомого. В группе *Xylophilus* дауеры – личинки четвертого возраста J4D, они формируются только при наличии куколки целевого вида усача, тогда как остальные группы видов макроклады В и р. *Bursaphelenchus* в целом обладают трансмиссивной личинкой J3D (третьего возраста). По филограмме (рис. 3), группа *Xylophilus* – наиболее продвинутое звено специализации макроклады В, прошедшее наибольшее количество трансформаций.

Из сравнительного анализа морфологических признаков и положения на молекулярной филограмме, а также сравнения циклов, можно сделать вывод о необходимости укрупнений групп видов классификации Брааш с соавт. (Braasch et al., 2009). В предлагаемой здесь классификации группа *Sexdentati* включила в себя все виды группы *Leoni*; группа *Africanus* включила все виды группы *Okinawaensis*, группа *Sinensis* включена в состав группы *Abietinus*. Подтверждена целесообразность предложенной Танакой с соавт. (Tanaka et al., 2014) группы *Hylobianus*, а также предложенной Томалаком с соавт. (Tomalak et al., 2014) группы видов *Trypophloe*, состоящей из видов, близких к группе *Xylophilus*, но использующих в качестве переносчиков жуков подсем. Scolytinae, а не сем. Cerambycidae, и отличающихся по морфологии спикул от видов

группы *Xylophilus*. На примере групп *Trypophloe* и *Africanus* показано, что структура спикул не всегда служит надежным маркером групп видов. Наиболее надежными маркерами групп видов служат число инцизур латерального поля и общий состав и взаиморасположение хвостовых папилл самца; остальные признаки (спикулы, вульва, хвост самок) следует рассматривать только в сочетании с этими двумя наиболее надежными признаками. Другие признаки важны, но как вспомогательные: таксономическая принадлежность хозяев и переносчиков в цикле нематоды, и возраст (3- или 4-й) трансмиссивной энтомофильной личинки (дауера).

Важным аспектом филогенетического анализа послужил выбор внешних групп. В качестве дальнейшей внешней группы был выбран *Robustodorus megadorus*, занимающий положение, наиболее близкое к корню сем. Aphelenchoididae (Ryss et al., 2015). *Aphelenchoides stammeri*, выбранный в качестве ближней внешней группы, действительно занимает промежуточное положение между родами *Aphelenchoides* и *Bursaphelenchus*, в пределах последнего *A. stammeri* близок к *B. abruptus* и образует с ним одну кладу (Kanzaki, Giblin-Davis, 2012; Kanzaki et al., 2015). По биологическим особенностям *A. stammeri* отличается от видов р. *Aphelenchoides*. Для последних типичен моноксенный цикл на грибе или диксенный цикл, включающий растение и гриб. *A. stammeri* обладает, как и бурсафеленхи, триксенным циклом, включающим гриб, хвойное растение (*Pinus sylvestris*, *Picea abies*) и переносчика – усача *Spondylis buprestoides* (L.) (Kögner, 1954; Braasch, 1998). Хвостовые папиллы самца также соответствуют типичному для бурсафеленхов: непарная папилла P1 впереди отверстия клоаки, парные папиллы: P2 на уровне отверстия клоаки, P3 посередине хвоста, P4 у основания обособленного конического кончика хвоста (Vieira, неопубликованные СЭМ фотографии). У видов *Aphelenchoides* непарная папилла P1 отсутствует, обычно имеются две или три пары папилл. Отсутствие бурсы у самца *A. stammeri* не служит препятствием для предположения о родстве с видами *Bursaphelenchus*. В нашей статье на примере видов группы *Fungivorus* продемонстрирована возможность реверсии с вторичной заменой бурсы коническим придатком, как у *A. stammeri*. Ближайшие исследования выявят филогенетическое положение *A. stammeri* и макроклады *Abruptus*.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ 14-14-00621. Первый автор провел анализ пара-

зит-хозяйинных отношений и путей коэволюции стволовых нематод с их переносчиками и растениями-хозяевами в соответствии с гипотезами происхождения триксенного цикла бурсафеленхов; второй автор составил детальные молекулярные дендрограммы стволовых нематод и расчеты статистических параметров признаков, на основании которых был проведен сравнительный филогенетический анализ морфологии и жизненных циклов. Авторы благодарят Dr. Paulo Vieira за обсуждение морфологических проблем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Рысс А. Ю., 2009. Пути становления паразитизма у фитонематод отрядов Tylenchida и Aphelenchida // Тр. ЗИН РАН. Т. 313. № 3. С. 257–272.
- Рысс А. Ю., 2016а. Мониторинг патогенов и вредителей древесных растений России: стволовые нематоды в очагах вилта // Всерос. конф. с международным участием “Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике”, 18–22 апреля 2016 г. М.: ГБС им. Н.В. Цицина РАН. С. 194–195.
- Рысс А. Ю., 2016б. Эксперименты по гипотезе коэволюции в системе “паразит-хозяин”: нематоды и деревья // Отчетная сессия по итогам работ 2015 года. 12–14 апреля 2016 года. СПб.: ЗИН РАН. С. 29–30.
- Bollback J.P., 2006. SIMMAP: stochastic character mapping of discrete traits on phylogenies // *BCM Bioinformatics*. V. 7. № 88. P. 1–7.
- Braasch H., 1998. *Aphelenchoides stammeri* Körner, 1954 – ein in Deutschland weit verbreiteter Holznematode // *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* Bd. 50. H. 12. S. 317–319.
- Braasch H., 2001. *Bursaphelenchus* species in conifers in Europe: distribution and morphological relationships // *EPPO Bull.* V. 31. № 1. P. 127–142.
- Braasch H., Burgermeister W., Gu J., 2009. Revised intra-generic grouping of *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 (Nematoda: Aphelenchoididae) // *J. Nematode Morphol. System.* V. 12. № 1. P. 65–88.
- EPPO, 2016. EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests. www.eppo.int/QUARANTINE/listA2.htm. Accessed 18.11.2016.
- Giblin R.M., Kaya H.K., 1983. *Bursaphelenchus seani* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), a phoretic associate of *Anthophora bomboidea stanfordiana* Cockerell, 1904 (Hymenoptera: Anthophoridae) // *Rev. Nématol.* V. 6. № 1. P. 39–50.
- Giblin-Davis R.M., Norden B.B., Batra S.W., Eickwort G.C., 1990. Commensal nematodes in the glands, genitalia, and brood cells of bees (Apoidea) // *J. Nematol.* V. 22. № 2. P. 150–161.
- Giblin-Davis R.M., Mundo-Ocampo M., Baldwin J.G. et al., 1993. Description of *Bursaphelenchus abruptus* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), an associate of a digger bee // *J. Nematol.* V. 25. № 2. P. 161–172.
- Gu J., Wang J., Chen X., 2012a. *Bursaphelenchus parathailandae* sp.n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) in packaging wood from Taiwan // *Russ. J. Nematol.* V. 20. № 1. P. 53–60.
- Gu J., Wang J., Zheng J., 2012b. Description of *Bursaphelenchus arthuroides* sp.n. (Nematoda: Aphelenchoididae), a second parthenogenetic species of *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 // *Nematology*. V. 14. № 1. P. 51–63.
- Gu J., He J., Wang J., Chen X., 2014. Description of *Bursaphelenchus yuyaoensis* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) isolated from *Pinus massoniana* in China // *Nematology*. V. 16. № 4. P. 411–418.
- Gu J., Maria M., Fang Y., He J., Braasch H., Li H., 2016. *Bursaphelenchus saudi* n. sp. (Tylenchina: Aphelenchoididae) found in packaging wood from Saudi Arabia // *Nematology*. V. 18. № 4. P. 475–488.
- Huelsenbeck J.P., Ronquist F., 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // *Bioinformatics*. V. 17. № 8. P. 754–755.
- Hunt D.J., 2008. A checklist of the Aphelenchoidea (Nematoda: Tylenchina) // *J. Nematode Morphol. System.* V. 10. № 2. P. 99–135.
- Jones J.T., Haegeman A., Danchin E.G. et al., 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology // *Mol. Plant Pathol.* V. 14. № 9. P. 946–961.
- Kanzaki N., Giblin-Davis R., 2012. Chapter 7: Aphelenchoidea / Eds Manzanilla-Lopez R., Mendoza N. // *Practical Plant Nematology*. Guadalajara, México: Biblioteca Básica de Agricultura. P. 161–208.
- Kanzaki N., Maehara N., Aikawa T. et al., 2011. Description of *Bursaphelenchus kiyoharai* n. sp. (Tylenchina: Aphelenchoididae) with remarks on the taxonomic framework of the Parasitaphelenchinae Rühm, 1956 and Aphelenchoidinae Fuchs, 1937 // *Nematology*. V. 13. № 7. P. 787–804.
- Kanzaki N., Okabe K., Kobori Y., 2015. *Bursaphelenchus sakishimanus* n. sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae) isolated from a stag beetle, *Dorcus titanus sakishimanus* Nomura (Coleoptera: Lucanidae), on Ishigaki Island, Japan // *Nematology*. V. 17. № 6. P. 531–542.
- Kanzaki N., Aikawa T., Maehara N., Thu P.Q., 2016. *Bursaphelenchus kesiyae* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), isolated from dead wood of *Pinus kesiya* Royle ex Gordon (Pinaceae) from Vietnam, with proposal of new subgroups in the *B. fungivorus* group // *Nematology*. V. 18. № 2. P. 133–146.
- Kanzaki N., Giblin-Davis R.M., Cardoza Y.J. et al., 2008. *Bursaphelenchus rufipennis* n. sp. (Nematoda: Parasitaphelenchinae) and redescription of *Ektaphelenchus obtusus* (Nematoda: Ektaphelenchinae), associates from nematangia on the hind wings of *Dendroctonus rufipennis* (Coleoptera: Scolytidae) // *Nematology*. V. 10. № 6. P. 925–955.

- Kanzaki N., Giblin-Davis R.M., Carrillo D. et al., 2014. *Bursaphelenchus penai* n. sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae), a phoretic associate of ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytinae) from avocado in Florida // *Nematology*. V. 16. № 6. P. 683–693.
- Körner H., 1954. Die Nematoden fauna des vergehenden Holzes und ihre Beziehungen zu den Insekten // *Zool. Jahrb. Abt. Anat. Ontog. Tiere*. Bd. 82. H. 2. S. 245–353.
- Quist C.W., Smant G., Helder J., 2015. Evolution of plant parasitism in the phylum Nematoda // *Annu. Rev. Phytopathol.* V. 53. № 2. 289–310.
- Ryss A.Y., McClure M.A., Nischwitz C. et al., 2013. Redescription of *Robustodoros megadorus* with molecular characterization and analysis of its phylogenetic position within the family Aphelenchoididae // *J. Nematol.* V. 45. № 4. 237–252.
- Ryss A., Polyamina K.S., Popovichev B.G., Subbotin S.A., 2015. Description of *Bursaphelenchus ulmophilus* sp.n. (Nematoda: Parasitaphelenchinae) associated with Dutch elm disease of *Ulmus glabra* Huds. in the Russian North West // *Nematology*. V. 17. № 6. P. 685–703.
- Tanaka S.E., Tanaka R., Akiba M. et al., 2014. *Bursaphelenchus niphades* n. sp. (Tylenchina: Aphelenchoididae) amensally associated with *Niphades variegatus* (Roelofs) (Coleoptera: Curculionidae) // *Nematology*. V. 16. № 3. P. 259–281.
- Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F. et al., 1997. The CLUSTAL_X Windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools // *Nucleic Acids Res.* V. 25. № 24. P. 4876–4882.
- Tomalak M., Filipak A., Malewski T., Pomorski J., 2014. Distinction of 'Trypophloeii' group – a new typological group among wood nematodes of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 // *J. Nematol.* V. 46. № 2. P. 248.
- Vieira P., Ryss A., Santos A.R., Mota M., 2009. On the vulval morphology of some species of *Bursaphelenchus* (Nematoda: Parasitaphelenchinae) // *Nematology*. V. 11. № 5. P. 793–798.
- Wang J., Gu J., 2012. *Bursaphelenchus paraborgeri* sp.n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) in packaging wood from Malaysia // *Nematology*. V. 14. № 1. P. 39–50.

Coevolution of wood-inhabiting nematodes of the genus *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 with their insect vectors and plant hosts

A. Yu. Ryss¹, S.A. Subbotin^{2,3}

¹Zoological Institute, RAS

199034 St. Petersburg, Universitetskaya nab., 1

²Plant Pest Diagnostic Center, California Department of Food and Agriculture
CA 95832, USA, 3294 Meadowview Road, Sacramento

³A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS

117071 Moscow, Leninskii pr., 33

e-mail: nema@zin.ru

The nematode genus *Bursaphelenchus* is unique among parasites in the combination of evolutionary distanced macrosymbionts in the life-cycle. The cycle includes fungus and woody plant host, as well as the insect vector. The evolution events of the genus have been reconstructed using molecular analysis of several ribosomal RNA genes. The molecular, morphological, and parasitological approaches were joined in research. On a molecular cladogram of the *Bursaphelenchus* it was demonstrated that the insect vector taxa had played the most important role rather than plant host taxa in the *Bursaphelenchus* speciation. The statistical package SIMMAP was used for interpretation of the molecular evolution with the transformations of the morphological and biological traits. As the results of analysis, four major evolutionary lineages: four macroclades A, B, C, and *B. abruptus* basal clade have been revealed. The macroclade *Abruptus* (with the only species *B. abruptus*) is characterized by the dixenic life cycle with association of fungus host and hymenopteran vector. The general node of three other macroclades with high statistical probability took its origin from a common ancestor with the trixenic cycle and association of the bark beetles of the subfamily Scolytinae with coniferous woody plants. Such association type was kept in other species groups of the macroclade C (*Sexdentati*, *Eggersi*, *Hofmanni*, *Abietinus*), with the subsequent host switch of the *Hylobianus* group to the weevil vectors of the subfamily Curculioninae. Within the nematode species groups the secondary sporadic host switch took place from coniferous hosts to the deciduous woody plants. The macroclade A consisting of the only *Fungivorus* group has the widest spectrum of associations and life-cycles within the *Bursaphelenchus*. With high statistical probability, the *Fungivorus* ancestor had the association with deciduous woody plants and weevils. The trixenic cycle of the ancestor later evolved to the dixenic and monoxenic cycles. The speciation of the macroclade B had started with the nematode ancestor associated with coniferous woody plants and longhorn beetles of the family Cerambycidae, in its trixenic

cycle. Such types of associations were kept by nematodes of the *Africanus* and *Xylophilus* groups. The species of the *Trypophloe*i group evolved to the association with bark-beetles (Scolytinae) and deciduous trees. Nematodes of the *Kevini* group in the macroclade B had simplified their life-cycles from ancestral trixenic to the dixenic ones combining fungus host and hymenopteran vector.

Using comparative analysis of morphological characters, vector and host associations, and molecular dataset, the *Bursaphelenchus* species groups were revised. In newly proposed grouping the *Sexdentati* group was integrated with *Leoni*; the *Africanus* group with *Okinawaensis*, the *Abietinus* with *Sinensis*. Previous erection of *Hylobianus* group is considered as reasonable. The species of *Trypophloe*i group are vectored by Scolytinae, but they are phylogenetically close to the Cerambycidae-vectored *Xylophilus* group. For the *Trypophloe*i and *Africanus* groups, the male spicule structure is considered as not reliable marker of the species groups. The best morphological markers for the clades are number of incisures in lateral field and male tail papillae patterns. Other characters previously considered useful for group characterization (spicule, vulva, and female tail) should be used only in combination with two reliable characters. Other supplementary characters: the taxonomic positions of host and vector, and dauer stage (J3D or J4D) are also discussed and considered as useful for a classification at group level.