

Обзорная статья

УДК 576.8

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-1-50-62>

## FMRFамид-подобные нейропептиды – модуляторы локомоторных реакций у растительных цистообразующих паразитических нематод

Татьяна Анатольевна Малютина<sup>1</sup>, Михаил Владимирович Воронин<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова  
Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>1</sup>maliytina@mail.ru

<sup>2</sup>voronin\_mike@mail.ru

### Аннотация

**Цель исследований:** анализ зарубежной литературы по изучению физиологической роли и функционального значения FMRFамид-подобных нейропептидов, которые являются компонентами пептидергической нервной системы у цистообразующих нематод – паразитов растений на примере личинок 2-го возраста картофельной и соевой нематод *Globodera pallida* и *Heterodera glycines*.

Основные физиологические и функциональные характеристики эндогенных FMRFамид-подобных нейропептидов получены в результате исследований функциональной роли генов (*flp*-гены), экспрессия которых выявлена в различных нервных структурах картофельной и соевой нематод. Показана роль эндогенных FMRFамид-подобных нейропептидов в таких поведенческих реакциях фитонематод, как локомоции, которые обеспечивают жизнедеятельность растительных паразитов. Обсуждается функциональное значение *flp*-генов, кодирующих эти биологически активные вещества, и возможность использования данных о физиологических эффектах нейропептидов на двигательную активность фитонематод при разработке новых антигельминтных препаратов направленного действия.

**Ключевые слова:** FMRFамид-подобные нейропептиды, *flp*-гены, цистообразующие растительные паразитические нематоды, нервная система

**Прозрачность финансовой деятельности:** никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

**Конфликт интересов отсутствует**

**Для цитирования:** Малютина Т. А., Воронин М. В. FMRFамид-подобные нейропептиды – модуляторы локомоторных реакций у растительных цистообразующих паразитических нематод // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 1. С. 50–62.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-1-50-62>

© Малютина Т. А., Воронин М. В., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.  
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Review article

## FMRFamid-like neuropeptides as modulators of locomotory reactions in plant parasitic cyst nematodes

Tatyana A. Malyutina<sup>1</sup>, Mikhail V. Voronin<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Center of Parasitology, A. N. Severtsov's Institute of Ecology and Evolution Russian Academy of Science, Moscow, Russia

<sup>1</sup>malyutina@mail.ru

<sup>2</sup>voronin\_mike@mail.ru

### Abstract

The purpose of the research is analysis of world literature dedicated to studies of physiological role and functional importance of FMRFamide-like neuropeptides – components of peptidergic nervous system in cyst nematode plant parasites using an example of 2nd stage larvae of potato and soy nematodes *Globodera pallida* and *Heterodera glycines*.

The main physiological and functional characteristics of endogenous FMRFamid-like neuropeptides had been found in studies of functional role of *flp* genes expression of which was discovered in various nerve structures of potato and soy nematodes. The work shows the role of endogenous FMRFamid-like neuropeptides in such plant nematodes' behavior elements as locomotions promoting the parasites' life activity. The functional importance of *flp* genes coding these biologically active substances and possibilities of using data on physiological effects of neuropeptides on plant nematodes' activity for development of new anthelmintic precise effect drugs are discussed.

**Keywords:** FMRFamid-like neuropeptides, *flp* genes, plant parasitic cyst nematodes, nervous system

**Financial Disclosure:** none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

**There is no conflict of interests**

**For citation:** Malyutina T. A., Voronin M. V. FMRFamid-like neuropeptides as modulators of locomotory reactions in plant parasitic cyst nematodes. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16 (1): 50–62. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-1-50-62>

© Malyutina T. A., Voronin M. V., 2022

Паразитические нематоды растений являются одной из главных причин потери урожая продовольственных культур во всех странах мира. Ежегодный ущерб, наносимый фитонематодами, оценивается в размере не менее 125 миллиардов долларов США [4].

Цистообразующие нематоды семейства Heteroderidae относятся к числу наиболее опасных и экономически значимых патогенов сельскохозяйственных культур в мире, включая Россию. Отдельные представители этого семейства включены в карантинный список Европейской организации по защите растений (ЕОЗР).

Наиболее опасными патогенами на территории РФ, вызывающими большие потери урожая зерновых, овощных культур и картофеля, являются пшеничная цистообразующая нематода *Heterodera filipjevi*, свекловичная цистообразующая нематода *H. schachtii*, соевая цистообразующая нематода *H. glycines* и картофельная цистообразующая нематода *Globodera rostochiensis* [1].

Высокий уровень адаптации цистообразующих нематод к корневому паразитизму обеспечивает им надежные условия питания и защиты их потомства от хищников и патогенных микроорганизмов в пределах

цисты, а также осложняет борьбу с этими паразитами.

Современные способы борьбы с фитонематодными инвазиями включают применение высокотоксичных пестицидов (нематацидов), которые наносят вред окружающей среде и уменьшают биоразнообразие почв в результате уничтожения множества почвенных беспозвоночных организмов [4]. Эти проблемы требуют решения и являются основанием для поиска новых антипаразитарных веществ.

Среди таких средств могут быть рассмотрены соединения, относящиеся к большому и разнообразному по структуре семейству FMRФамид-подобных нейропептидов, которые выявлены у беспозвоночных животных, включая многочисленных представителей типа Nematoda, и которые способны существенно модулировать локомоторные поведенческие реакции этих животных [21, 24].

В обзоре приведены результаты анализа зарубежной литературы, посвященной изучению физиологической роли и функционального значения FMRФамид-подобных нейропептидов у цистообразующих фитонематод.

FMRФамид-подобные пептиды имеют структурное сходство с FMRФамидом – кардиоактивным тетрапептидом, выделенным из моллюска *Macrocallis tanimbosa* [25]. Общая формула структуры Ц-терминального тетрапептидного мотива (повтора) FMRФамид-подобных пептидов имеет вид:  $x - x_0 - \text{Arg} - \text{Phe} - \text{NH}_2$ , где  $x$  – какая-либо аминокислота (кроме цистеина, который не обнаружен в структуре молекул FMRФамид-подобных нейропептидов),  $x_0$  – какая-либо гидрофобная аминокислота (за исключением цистеина) [16].

Задачей предлагаемого обзора является анализ зарубежной литературы, в которой рассматривается и обсуждается физиологическая роль FMRФамид-подобных нейропептидов в локомоторных поведенческих реакциях фитонематод; функциональное значение генов (*flp*-гены), кодирующих эти биологически активные вещества; возможность использования данных о физиологических эффектах FMRФамид-подобных нейропептидов для разработки новых антигельминтных препаратов, снижающих нематодную инвазию у важных сельскохозяйственных растений.

В России подобные исследования не проводятся.

Первые сведения о выявлении положительной FMRФамид-подобной иммунореактивности в нервной системе цистообразующих фитопаразитических нематод появились в литературе в конце 80-х годов прошлого столетия в результате исследований инвазивных личинок 2-го возраста цистообразующей соевой нематоды *H. glycines* [2]. Иммунореактивность в нервных структурах соевой нематоды была определена непрямым иммунофлуоресцентным способом в соответствии с методом Coons et al. [7]. FMRФамид-подобная иммунореактивность выявлена у личинок соевой нематоды *H. glycines* в циркумфарингальном нервном кольце и в вентральном нервном стволе, а также в нейронах, иннервирующих медианную луковицу (бульбус) фаринкса, в двух нервных узлах (ганглиях) нервной ткани на каждой стороне вентрального нервного ствола и в амфидальных карманах. Показано, что положительная иммунореактивность обнаруживается у этой нематоды на всех жизненных стадиях развития паразита, начиная от яйца, с наибольшей концентрацией окрашивания нервных структур у личинки 2-го возраста. Наличие положительной иммунореактивности в нервной ткани исследованных нематод предполагает присутствие FMRФамид-подобных нейропептидов этой ткани. Присутствие разнообразных FMRФамид-подобных последовательностей в экстрактах тканей нематоды *G. pallida* выявлено также с помощью иммуоферментного и хроматографического анализов [17].

За последние годы возросло число видов фитопаразитических цистообразующих нематод семейства Heteroderidae, в тканях которых была выявлена FMRФамид-подобная иммунореактивность. Так, высокая FMRФамид-подобная иммунореактивность была выявлена в центральной и периферической нервной системе у двух видов цистообразующих картофельных нематод – *G. pallida* и *G. rostochiensis* [12].

У нематоды *G. pallida* интенсивная FMRФамид-подобная иммунореактивность обнаружена в дорзальном и вентральном нервных стволах, в составе которых имеются мото- и интернейроны, а также в циркумфарингальном и прианальном нервных кольцах, в дорзальных и вентральных ганглиях. Показано, что фарингальный бульбус, расположен-

ный в передней части тела червя и имеющий хорошо развитую мускулатуру, иннервируется иммунореактивными нейронами, выходящими из циркумфарингального нервного кольца и формирующими два сложных нервных узла. Отмечено, что положительное окрашивание выявляется в нервной сети, окружающей дорзальную сторону фаринкса, и в кольцеобразной структуре, расположенной вентрально в задней части бульбуса.

Информация о структуре индивидуальных FMRФамид-подобных нейропептидов у паразитических растительных нематод получена в результате исследования *flp*-генов, кодирующих FMRФамид-подобные нейропептиды. Экспрессия *flp*-генов выявлена в нервных структурах нематод с помощью метода быстрой амплификации концов комплементарной ДНК в сочетании с ПЦР (RACE-PCR), а также метода *in situ* гибридизации [10, 12-14].

У нематоды *G. pallida* идентифицированы пять генов, которые кодировали 14 различных FMRФамид-подобных нейропептидов [12]. Ген, обозначенный авторами как *gpflp-1*, имел длину в 444 пары нуклеотидных последовательностей в открытой рамке считывания (ORF), кодировал 148 аминокислотных последовательностей, включая четыре копии FMRФамид-подобного нейропептида SAYMRФамида (PF3/AF8). Ген *gpflp-2* имел длину в 309 пар последовательностей, кодировал 103 аминокислотных остатка, включая одну копию нейропептида KNKFEFIRФамида. Ген *gpflp-3* имел длину в 420 пар нуклеотидных последовательностей и кодировал две копии нейропептида KHEYLRФамида (AF2). Показано, что гены *gpflp-4* и *gpflp-5* кодировали в целом 11 нейропептидов, большинство из которых, включая DEFVAPGVLRФамид, AEVPGVLRФамид, TSSNFLRФамид, SSASMSTSSEPNFLRФамид, GGVDPTFLRФамид, ANNNFLRФамид и QANFLRФамид, были новыми для картофельных паразитических цистообразующих нематод.

Нейропептиды MPGVLРФамид, MPQVLРФамид и KNKFEFIRФамид, кодируемые генами *gpflp-4* и *gpflp-5*, были идентифицированы ранее другими авторами у других видов фитопаразитических нематод, а нейропептиды AVPGVLRФамид, KSAYMRФамид и KHEYLRФамид были обнаружены как у свободноживущих, так и у паразитических форм нема-

тод на протяжении всего типа Nematoda [2, 5, 6, 10-14, 16-19, 22].

Так, например, пептиды PF3/AF8 и AF2, обнаруженные у нематоды *G. pallida*, ранее были выделены другими авторами из экстрактов тканей паразитических нематод *Ascaris suum* и *Haemochus contortus* у позвоночных животных, а также у свободноживущих нематод *Panagrellus redivivus* и *Caenorhabditis elegans* [5, 6, 11, 18, 19, 22].

Экспрессия *flp*-генов, выявленных у нематоды *G. pallida*, показана в целых личинках 2-го возраста этой нематоды с помощью метода *in situ* гибридизации, который дает возможность визуализировать участки транскрипта матричной РНК, кодирующей FMRФамид-подобные нейропептиды, в результате связывания высоко специфичных меченых ДНК проб (дигоксигенин-меченые ДНК пробы) [13].

Ген *gpflp-1*, кодирующий нейропептид KSAUMRФамид, экспрессируется в нейронах, связанных с циркумфарингальным нервным кольцом, в частности, во множестве клеточных тел в люмбарных ганглиях перианального нервного кольца. Экспрессия гена *gpflp-2*, кодирующего пептид KNKFEFIRФамид, была локализована в переднем ганглии и во множестве парных нервных клеток позади по отношению к ретровезикулярному ганглию. Ген *gpflp-3*, кодирующий нейропептид KHEYLRФамид, экспрессировался в переднем ганглии и во множестве парных клеток позади по отношению к циркумфарингальному нервному кольцу. Экспрессия гена *gpflp-4*, кодирующего множество нейропептидов, имеющих в структуре молекулы Ц-концевой консервативный тетрапептид VLRF, была локализована в ретровезикулярном ганглии. Однако экспрессия гена *gpflp-5*, кодирующего пять нейропептидов, имеющих в структуре молекулы Ц-концевой консервативный тетрапептид VLRF, не была выявлена в каких-либо нервных структурах личинки 2-го возраста нематоды *G. pallida* методом *in situ* гибридизации. Авторы высказали предположение, что ген *gpflp-5* нематоды может экспрессироваться на низком уровне, который не позволяет выявить его экспрессию с помощью используемого метода [13].

Кроме того, было установлено, что все *flp*-гены, кодирующие различные FMRФамид-

подобные нейропептиды у фитонематоды *G. pallida*, являются гомологами flp-генов, ранее выявленных у свободноживущей нематоды *C. elegans* и у других видов нематод [10]. В связи с этим, было предложено изменить номенклатуру генов *gpflp-1* – *gpflp-5* фитонематоды *G. pallida* и обозначать в дальнейших исследованиях эти гены как *Gp-flp-6*, *Gp-flp-12*, *Gp-flp-14*, *Gp-flp-1* и *Gp-flp-18* соответственно [15].

У нематоды *G. pallida* недавно выявлен ген *Gp-flp-32* (GenBank N доступа JQ685131) и дана его структурная и функциональная характеристика [21]. Предварительное изучение *G. pallida* EST (экспрессируемые метки нуклеотидных последовательностей) показало наличие транскрипта, кодирующего вероятный FLP-32-подобный пептид (GenBank accession number CV578361), который и был использован в этой работе для ПЦР-анализа полноразмерного *Gp-flp-32* транскрипта. Был выполнен дизайн праймеров ДНК для подтверждения открытой рамки считывания для *Gp-flp-32*, включающего 321 нуклеотидную последовательность комплементарной ДНК (GenBank accession number JQ685131). Было также установлено, что транскрипт кодировал белок, состоящий из 107 аминокислотных остатков. Подтвержденная аминокислотная последовательность *Gp-flp-32* кодирует единственную копию FLP-32 пептида, AMRNALVRFG, имеющего на С-терминальном конце молекулы консервативный мотив или повтор – VRFамид, который ранее был выявлен у свободноживущей нематоды *C. elegans* и у некоторых паразитических нематод позвоночных.

Экспрессия гена *Gp-flp-32* выявлена у личинки нематоды *G. pallida* двумя методами: методом *in situ* гибридизации и ранее указанным иммуноцитохимическим методом [3, 7]. Метод *in situ* гибридизации является цитогенетическим методом, позволяющим выявлять специфические матричные РНК (мРНК) в различных тканях и экспрессию генов в исследуемых образцах. Это метод был использован авторами для выявления экспрессии гена *Gp-flp-32* в нервной системе личинки 2-го возраста нематоды *G. pallida*. Окрашивание выявляли в циркумфарингальном нервном кольце нематоды позади от стилета, в фарингальном бульбусе, а также в повторяющихся группах клеток, состоящих из 3–4-х клеточных тел, локализованных в вентральном нервном стволе, который шел назад к хвосту нематоды, где

группа клеток из трех окрашенных клеточных тел локализовалась в области люмбарных ганглиев. Окрашивание в центральном нервном кольце было диффузным (размытым) без каких-либо конкретных интенсивно окрашенных нейрональных клеточных тел. Напротив, в вентральном нервном стволе было выявлено четкое окрашивание в группе нейронов, состоящей из 3–4-х высоко реактивных клеточных тел, которые располагались с регулярными интервалами вдоль нервного ствола. Показано, что эти нейроны были расположены сзади от нервного кольца, и их отростки направлялись в хвостовой отдел нематоды.

Иммуноцитохимический метод определения локализации гена *Gp-flp-32* у личинки 2-го возраста нематоды *G. pallida* проведен с использованием антисыворотки против нейропептида AMRNALVRFамида. Сильная иммунореактивность обнаружена в окологлоточном нервном кольце нематоды позади бульбуса глотки, в нервных отростках, идущих вперед и назад от центрального нервного кольца к мускулатуре протрактора стилета и вентральному нервному стволу, в хвостовом отделе, где группа AMRNALVRFамид – положительно окрашенных клеточных тел нейронов выявляется в непосредственной близости к люмбарным ганглиям.

Полученные данные об экспрессии гена *Gp-flp-32* в нервных структурах нематоды *G. pallida*, по мнению авторов, свидетельствуют о важной роли гена в контроле моторной функции этой паразитической цистообразующей нематоды.

Анализ литературы показал, что стандартные методы изучения фармакологических свойств и физиологической роли FMRFамид-подобных нейропептидов трудно применимы к растительным паразитическим нематодам в связи с малыми размерами тела этих паразитов, что неоднократно было отмечено некоторыми исследователями [1, 12, 14]. Тем не менее, имеются данные о результатах воздействия некоторых FMRFамид-подобных нейропептидов (и их модифицированных аналогов) на двигательную активность инвазионной личинки 2-го возраста соевой нематоды *H. glycines* [20].

Эффективность семи FMRFамид-подобных нейропептидов, KHEYLRFамида, KSAYMRFамида, AQTFFVRFамида, SAPYDP-

NFLRFамида, KPNFLRFамида, KPNFIRFамида и RNSSPLGTMRFамида, была оценена количественно путем измерения частоты движений головного конца личинок нематоды до и после предварительной 15-минутной экспозиции червей в 0,25, 0,5 и 1мМ растворах каждого из исследованных нейропептидов. Контролем в экспериментах служила вода. Двигательную активность личинок до и после воздействия нейропептидов исследовали при помощи инвертированного микроскопа (при увеличении 40-100 ×). Установлено, что локомоторные ответы нематод отчетливо различались при воздействии исследуемых FMRFамид-подобных нейропептидов. Частота движений головного конца личинки 2-го возраста нематоды *H. glycines* существенно увеличивалась при воздействии нейропептидов KHEYLRFамида и KSAYMRFамида. При этом, нейропептид KHEYLRFамид был в 2 раза более эффективным, чем KSAYMRFамид по сравнению с контролем, и вызывал стимуляторный эффект на частоту движений головного конца червя в 2,9 раза больше, чем нейропептид KSAYMRFамид. Другие пять нейропептидов не оказывали какого-либо существенного эффекта на двигательную активность головного конца личинки. На основании полученных результатов было высказано предположение, что нейропептиды KHEYLRFамид и KSAYMRFамид являются стимуляторами двигательной активности соматической мускулатуры нематоды *H. glycines* [20].

В большинстве работ показано, что изучение эффектов FMRFамид-подобных нейропептидов на локомоции цистообразующих фитопаразитических нематод наиболее удобно проводить опосредовано путем предварительного обратимого выключения (сайленсинг) *flp*-генов, кодирующих эти нейропептиды, с помощью запуска системы РНК-интерференции [3, 14, 15]. Ранее, система РНК-интерференции была использована для изучения вмешательства в экспрессию различных генов у свободноживущей нематоды *C. elegans* [8].

В экспериментах на личинках 2-го возраста нематоды *G. pallida* показано, что система РНК-интерференции может быть приведена в действие путем введения в организм паразитов длинных молекул синтезированной двухцепочечной РНК (dsРНК) или малых моле-

кул двухцепочечной интерферирующей РНК (siРНК), синтезированных из РНК, выделенной из тканей исследуемых фитонематод [3, 14, 15].

Введение молекул dsРНК или siРНК в организм паразитических нематод в экспериментах осуществляли путем предварительной инкубации или вымачивания червей в средах, содержащих конструкции молекул dsРНК или молекул siРНК. Отклонения от нормы локомоторного поведения фитонематод в результате обратимого выключения *flp*-генов вышеописанным способом оценивали двумя методами: миграционным методом и методом визуальной оценки фенотипических изменений у нематод [3, 15]. Миграционный метод включал определение способности червей перемещаться сверху вниз в стеклянной вертикальной колонке длиной 5 см, заполненной влажным крупнозернистым песком после предварительного вымачивания нематод в среде, содержащей конструкции dsРНК или siРНК, в течение определенного времени.

Полученные экспериментальные данные сравнивали с контрольной группой червей, инкубированных в воде, обработанной 0,1%-ным раствором диэтилпиروкарбоната (DEPC-обработанная вода) или в тестовых dsРНК или siРНК, которые не имели гомологов с исследуемыми *flp*-генами нематоды *G. pallida*.

Эксперименты по определению чувствительности *flp*-генов нематоды *G. pallida* к РНК-интерференции предварительно были проведены на гене *Gp-flp-6* в связи с тем, что этот ген показал наиболее интенсивную экспрессию в нервной системе нематоды по сравнению с другими генами [15].

Для выявления эффектов РНК-интерференции на локомоции нематод черви были инкубированы в течение 24 ч, 2-х и 7-и дней в растворе или среде одной из трех конструкций dsРНК различной длины (88, 227 и 316 пар нуклеотидов), что соответствовало трем различным областям открытой рамки считывания гена *Gp-flp-6*. Контролем служили личинки нематод, инкубированные в DEPC-обработанной воде. Конструкции dsРНК были разведены DEPC-обработанной водой до конечной концентрации 0,1 мг/мл.

Установлено, что временное выключение *Gp-flp-6* в результате инкубации нематод в

эффективных конструкциях dsРНК вызывало изменение локомоторного поведения личинок нематод *G. pallida*.

Показано, что максимум миграции контрольных червей, инкубированных в DEPC-обработанной воде, в течение 24 ч составлял 75,8% за 12-часовой период наблюдения. У червей с нарушенной моторной функцией, вызванной выключением *Gp-flp-6*, отмечали пониженную способность к полной миграции через экспериментальную колонку. Так, миграция личинок, инкубированных в конструкции dsРНК длиной 316 пар нуклеотидов, составляла 28,7%, а инкубированных в конструкции dsРНК длиной 227 пар нуклеотидов – 12,2%, через двое суток инкубации в конструкции dsРНК длиной 316 пар нуклеотидов – 16,1%, а инкубированных в dsРНК длиной 227 пар нуклеотидов – 2,0% после 12-часового периода наблюдений. Через 7 сут инкубации в различных конструкциях dsРНК эффект выключения гена *Gp-flp-6* был наиболее глубоким и составлял 7,3% (для dsРНК 316 пар нуклеотидов) и 3,0% (для dsРНК 227 пар нуклеотидов) у червей, завершивших миграцию, по отношению к контролю.

В дальнейшем, опытным путем было установлено, что наиболее эффективными синтезированными конструкциями dsРНК по воздействию на локомоции нематод были конструкции длиной приблизительно 220–230 пар нуклеотидов. Такие конструкции были выбраны авторами для всех последующих экспериментов с *Gp-flp-6* и другими *flp*-генами нематоды *G. pallida*.

Анализ эффекта выключения гена *Gp-flp-6* на двигательную активность нематод показал следующее. При нормальных условиях необработанные личинки 2-го возраста были активными и подвижными и обладали типичными волнообразными движениями. Черви, инкубированные в растворах эффективных конструкций dsРНК в течение 24 ч и двух суток, также выглядели активными и подвижными. Однако после 7-дневной инкубации в эффективных конструкциях dsРНК черви выглядели выпрямленными и негнувшимися. Черви с такими фенотипическими изменениями были обозначены авторами как «выпрямленные».

На основании полученных результатов авторы высказали предположение, что выключение гена *Gp-flp-6* вызывает нарушение

нормальной двигательной функции у личинки нематоды *G. pallida*, что подтверждается с помощью миграционного метода.

Аналогичные эксперименты были проведены на выключенных генах *Gp-flp-1*, *Gp-flp-12*, *Gp-flp-14* и *Gp-flp-18* личинок 2-го возраста нематоды *G. pallida*. Обнаружено, что выключение любого из исследованных генов приводило к глубокому ингибированию миграции личинок через песочную колонку. Выключение генов *Gp-flp-1*, *Gp-flp-12*, *Gp-flp-18* вызвало почти полное угнетение миграционной способности личинок после 24-часовой инкубации в эффективных конструкциях dsРНК. В отношении эффекта выключения гена *Gp-flp-14* установлено, что после 24-часовой инкубации в эффективных конструкциях dsРНК только 18,2% червей полностью завершили миграцию в отличие от контрольных червей. Инкубация в конструкциях dsРНК в течение 2-х и 7-и суток полностью нарушала способность личинок к миграции.

Таким образом, экспериментально установлено, что выключение каждого из исследованных *flp*-генов нематоды *G. pallida* оказывает глубокое воздействие на локомоторное поведение нематоды.

Специфичность выключения исследованных *flp*-генов нематоды *G. pallida* была подтверждена результатами инкубации нематод *G. pallida* в среде конструкций dsРНК, которые не имели гомологов с исследуемыми *flp*-генами нематоды. Так, инкубирование червей в конструкции dsРНК гена хлоропласт-специфического протеина из томата *Lycopersicon esculentum* (GenBank № доступа AY568722) и в DEPC-обработанной воде, не выявило существенных различий в миграционных способностях нематод.

По мнению авторов, ингибирование двигательной активности личинок 2-го возраста нематоды *G. pallida* в результате временного выключения вышеперечисленных *flp*-генов подтверждает важное значение этих биологически активных веществ для сохранения нормальной нервно-мышечной функции у фитопаразитических нематод и дает основание предполагать, что эти *flp*-гены могут кодировать FMRFамид-подобные нейропептиды, которые обладают стимуляторным эффектом на локомоторное поведение необработанных червей.

Аналогичные эксперименты проведены на гене *Gp-flp-32* нематоды *G. pallida* [3]. Выключение гена *Gp-flp-32* было достигнуто в результате вымачивания или инкубации червей в среде, содержащей молекулы siРНК гена *Gp-flp-32*. У червей после выключения этого гена существенно увеличивалась скорость миграции в нижнюю часть вертикальной колонки по сравнению с контрольными червями. Контролем в этих экспериментах служили личинки нематод, которые были инкубированы в средах siРНК, не имеющих гомологов с исследуемым геном. Так, в качестве положительного контроля были использованы нематоды, инкубированные в среде, содержащей конструкции siРНК, которые были синтезированы из гена *Gp-ace*, кодирующего у нематоды *G. pallida* фермент ацетилхолинэстеразу. При этом было установлено, что инкубация личинок в такой среде приводила к значительному торможению локомоторной активности червей. В качестве неродственного отрицательного контроля служила среда, содержащая конструкции siРНК, полученной из свободноживущего плоского червя *Macrostomum lignano*. В качестве контроля были использованы также личинки нематод, инкубированные в DEPC-обработанной воде (необработанные черви).

Установлено, что после контрольных обработок черви выглядели нормально. Однако личинки, вымоченные в экспериментальной среде, содержащей конструкции siРНК гена *Gp-flp-32*, показывали повышенную частоту нормальных синусоидальных движений и были более подвижными, чем контрольные черви. Подсчет числа червей, мигрирующих вниз через песочную колонку через каждые 2 ч в течение 6–8-часового периода наблюдений показал, что черви, обработанные siРНК *Gp-flp-32*, мигрировали значительно быстрее, чем необработанные (миграция обработанных червей через каждые 2 ч наблюдений составляла примерно 53% против 20% необработанных червей; через 4 ч – примерно 84% против примерно 59% необработанных червей). На основании полученных результатов авторы высказали предположение, что ген *Gp-flp-32* кодирует ингибиторный нейропептид и его выключение приводит к повышению двигательной активности необработанных личинок 2-го возраста нематоды *G. pallida*.

Авторы также выявили эффект выключения гена *Gp-flp-32* на скорость заражения нематодами корней хозяина – растения картофеля. С этой целью червей с выключенным геном *Gp-flp-32* и необработанных червей помещали на песок, покрывающий корни 2-недельных растений картофеля и через 4 сут корни растений (сегменты длиной 2 см) исследовали под микроскопом Olympus SZX16 на наличие в них нематод. Контрольными вариантами были: личинки, инкубированные в среде siРНК гена *Gp-ace*, кодирующего у нематод фермент ацетилхолинэстеразу; личинки, инкубированные в DEPC-обработанной воде, а также личинки червей, инкубированные в среде si-РНК, полученной из ткани плоского червя *M. lignano* (GenBank № доступа EG956133). Полученные результаты показали, что личинки *G. pallida*, обработанные si-РНК, показали более высокую скорость инвазирования корней картофеля (74%) по сравнению с контрольными червями (31%) и необработанными червями (35%). Это свидетельствует о том, что обработанные черви мигрировали к сегментам корней быстрее и, соответственно, с большей скоростью заражали корни растения-хозяина по сравнению с контролем.

Таким образом, опосредовано показано, что ген *Gp-flp-32* кодирует единственный нейропептид AMRNALVRFамид, который вызывает ингибиторный эффект на двигательную активность соматической мускулатуры нематоды *G. pallida*.

Кроме того, авторами [21] приведены данные о выявлении у нематоды *G. pallida* предполагаемого (прогнозируемого) FMRFамид-подобного рецептора, взаимодействующего с нейропептидом AMRNALVRFамидом. Ген, кодирующий предполагаемый рецептор, обозначен авторами как *Gp-flp-32R* (GenBank № доступа JQ685132).

Последовательность гена *Gp-flp-32R* и другие его функциональные характеристики были установлены авторами с помощью метода ПЦР RACE и секвенирования при использовании онлайн-серверов: <http://www.ebi.ac.uk/Tools/pfa/iprscan/>; [http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED\\_formhtml/](http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_formhtml/); <http://www.enzim.hu/hmmtop/>. Показано, что предполагаемый рецептор гена *Gp-flp-32R* имеет близкую гомологию с ранее выявленным G-протеинсвязанным рецептором (GPCR)



R1, кодируемым *flp*-геном C26F1, у свободноживущей нематоды *C. elegans* [23]. Праймеры, разработанные для подтверждения открытой рамки считывания рецепторного гена *Gp-flp-32R*, генерировали нуклеотидную последовательность кДНК, состоящую из 1170 нуклеотидов, которая кодировала протеин, состоящий из 389 аминокислотных остатков. Установлено, что новый рецептор кодировал семь трансмембранных спиралей и несколько консервативных остатков в различных позициях, показав сходство этого рецептора с семейством родопсин-подобных GPCR.

Эффекты выключения предполагаемого рецептора и гена *Gp-flp-32R*, кодирующего этот рецептор, были исследованы путем визуального анализа локомоторного поведения личинок 2-го возраста нематод *G. pallida*, и с помощью миграционного метода, позволяющего определить скорость миграции личинок в песочной колонке через определенный период времени (каждые 2 ч в течение 6-часового периода наблюдений).

После РНК-интерференции все контрольные личинки нематоды *G. pallida* выглядели нормальными с характерными синусоидальными движениями, свойственными личинкам этого вида. Однако, черви с выключенным *Gp-flp-32R*, показывали увеличенную частоту синусоидальных движений.

Обнаружено, что черви, обработанные siРНК *Gp-flp-32R*, мигрировали значительно быстрее, чем необработанные. Так, через 2 ч наблюдений мигрировало примерно 57% обработанных червей против примерно 20% миграции необработанных червей. Через 4 ч наблюдений мигрировало примерно 91% обработанных личинок против примерно 59% миграции необработанных червей соответственно. Через 6-часовой период наблюдений черви с выключенным *Gp-flp-32R* показали 100%-ную миграцию через экспериментальную колонку.

При сопоставлении эффектов выключения гена *Gp-flp-32* и гена рецептора *Gp-flp-32R* на двигательную активность личинок наблюдали большое сходство.

Полученные результаты позволяют предположить, что предполагаемый рецептор, кодируемый геном *Gp-flp-32R*, вероятно, является GPCR, активируемым FMRФамид-подобным нейропептидом AMRNALVRFамидом, и уча-

ствует в реализации ингибиторного эффекта этого нейропептида на локомоторную активность соматической мускулатуры нематоды *G. pallida*.

## Заключение

Краткий обзор литературы по проблеме исследования физиологической роли и функционального значения FMRФамид-подобных нейропептидов в поведенческих локомоторных реакциях растительных цистообразующих паразитических нематод показал, что у растительных паразитов хорошо развита пептидергическая нервная система.

В экспериментах, проведенных на некоторых представителях семейства Heteroderidae, показано, что у личинок 2-го возраста соевой нематоды *H. glycines* и картофельных нематод *Globodera pallida* и *G. rostochiensis* в различных нервных структурах выявлена положительная иммунореактивность. Окрашивание выявлено в циркумфарингальном нервном кольце, в дорзальном, вентральном и латеральном нервных стволах, содержащих мото- и интернейроны, которые иннервируют соматическую мускулатуру стенки тела нематод.

Положительная иммунореактивность обнаружена в нервной системе соевой нематоды *H. glycines* на всех стадиях развития этого паразита.

У личинок 2-го возраста *G. pallida* выявлены *flp*-гены (*Gp-flp-6*, *Gp-flp-12*, *Gp-flp-14*, *Gp-flp-1* *Gp-flp-18* и *Gp-flp-32*), которые кодируют некоторые FMRФамид-подобные нейропептиды, и экспрессия этих генов показана в различных нервных структурах этой нематоды.

Приведены данные литературы о чувствительности соматической мускулатуры цистообразующих паразитов (на примере личинок 2-го возраста соевой нематоды *H. glycines*) к воздействию экзогенных FMRФамид-подобных нейропептидов. Показано, что некоторые FMRФамид-подобные нейропептиды, кодируемые *flp*-генами, вызывают стимуляторный эффект на двигательную активность инвазионных личинок *H. glycines*, вызывая усиление частоты движений головного конца тела по сравнению с контролем. Отмечено, что прямые методы изучения физиологической роли биологически активных веществ трудно применимы к растительным паразитическим нематодам, имеющим чрезвычайно

малые размеры тела. В связи с этим, оценка эффектов FMRФамид-подобных нейропептидов на локомоции растительных паразитических нематод дана в большинстве случаев опосредованно с помощью метода обратной генетики – временного выключения *flp*-генов (сайленсинг) путем запуска системы РНК-интерференция.

Было показано, что выключение генов *Gp flp-6,-1,-12,-14,-18* у личинки 2-го возраста нематоды *G. pallida* вызывает ингибирование двигательной активности червей, что указывает на то, что FMRФамид-подобные нейропептиды, кодируемые этими генами, являются стимуляторами локомоторной активности картофельной нематоды. В то же время установлено, что выключение гена *Gp-flp-32* у личинки 2-го возраста нематоды *G. pallida* приводит к эффектам, противоположным выключению выше указанных *flp*-генов. Так, выключение гена *Gp-flp-32*, кодирующего нейропептид AMRNALVRFамид у нематоды *G. pallida*, повышает локомоторную активность инвазионной личинки.

Эти данные предполагают, что эндогенный нейропептид AMRNALVRFамид вызывает ингибиторный или тормозной эффект на двигательную активность личинки картофельной нематоды. Данные о противоположных эффектах выключения генов *Gp-flp-6,-1,-12,-14,-18* и гена *Gp-flp-32* указывают на то, что различные *flp*-гены у цистообразующих паразитических нематод могут кодировать FMRФамид-подобные нейропептиды, обладающие различными физиологическими эффектами на локомоции нематоды *G. pallida*.

В литературе приведены данные о выявлении у цистообразующих паразитических нематод (на примере *G. pallida*) предполагаемого рецептора, кодируемого геном *Gp-flp-32R*, который активируется нейропептидом AMRNALVRFамидом. Авторы предполагают, что полученные данные свидетельствуют о потенциальной возможности использования выявленного прогнозируемого рецептора в качестве мишени для веществ (агонистов), которые будут способны замедлять так же, как и FMRФамид-подобный нейропептид AMRNALVRFамид, нормальную локомоторную активность картофельной нематоды, снижая тем самым инвазию корней растения картофеля-хозяина.

Сведения о выявлении прогнозируемого рецептора, кодируемого геном *Gp-flp-32R*, сходство этого рецептора по структурно-функциональным характеристикам с G-протеин-связанным рецептором R1, кодируемым *flp*-геном C26F1.6 у свободноживущей нематоды *C. elegans*, эффекты выключения *Gp-flp-32R* и кодируемого им рецептора на локомоции нематоды *G. pallida* существенно расширяют знания о компонентах пептидергической нервной системы у растительных цистообразующих паразитических нематод.

Данные о способности эндогенного нейропептида AMRNALVRFамида угнетать двигательную активность соматической мускулатуры личинок 2-го возраста нематоды *G. pallida* могут быть применимы в практических целях для создания антигельминтиков направленного действия, способных эффективно снижать распространение нематодной инвазии корней растений-хозяев.

Тот факт, что в нервной системе растительных цистообразующих паразитических нематод присутствуют разнообразные FMRФамид-подобные нейропептиды, кодируемые *flp*-генами, которые ранее были выявлены у паразитических нематод позвоночных животных и свободноживущих нематод, подтверждает консервативность пептидергической нервной системы у представителей всего типа Nematoda в целом.

### Список источников

1. Фитопаразитические нематоды России / под редакцией С. В. Зиновьевой, В. Н. Чижова. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. 386 с.
2. Atkinson H. J., Isaac R. E., Harris P. D., Sharpe C. M. FMRFamide-like immunoreactivity within the nervous system of the nematodes *Panagrellus redivivus*, *Caenorhabditis elegans* and *Heterodera glycines*. J. Zool., Lond. 1988; 216. 663-671.
3. Atkinson L. E., Stevenson M., Mckoy C. J., Marks N. J., Fleming C., Zamanian M., Day T. A., Kimber M. J., Maule A. G., Mousley A. *Flp-32* Ligand/Receptor Silencing Phenocopy Faster Plant Pathogenic Nematodes. PLoS Patog. 2013; 9 (2): 1003169. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003169>.
4. British Ecological Society (BES): 2009. Biological Control of Plant Parasitic Nematodes <http://britishecologicalsociety.org/blog/blog/2009/01/20/biological-control-of-plant-parasitic-nematodes> Retrieved. 2009.

5. Covden C., Stretton A.O.W. AF2, an *Ascaris* neuropeptide: isolation, sequence bioactivity. *Peptides*. 1993; 14. 423-430.
6. Covden C., Stretton A.O.W. Eight novel FMRFamide-like neuropeptides isolated from the nematode *Ascaris suum*. *Peptides*. 1995;16. 491-500.
7. Coons A. H., Leduc E. H., Connolly J. M. Studies of antibody production. I. // A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study for the hyperimmune rabbit. *J. Exper. Med.* 1955; 102. 49-60.
8. Fire A. Si Qun Xu, Montgomery M. K., Kostas S. A., Driver S. E., Mello C. C. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 1998; 391. № 6669. 806-811.
9. Geary T. G., Marks N. J., Maule A. G., Bowman J. W., Alexander-Bowman S. J., Day T. A., Larsen M. J., Kubiak M., Davis P., Thompson D. P. Pharmacology of FMRFamide-related peptides in helminths. *Annals of the New York Academy of Science*. 1999; 897. 217-227.
10. Johnston M.J.G. Veigh P. M., Masler S., Fleming C. C., Maule A. G. FMRFamide-like peptides in root-knot nematodes and their potential role in nematode physiology. *J. of Helminthology*. 2010; 84. 253-265. <https://doi.org/10.1017/S0022149X09990630>
11. Kaeting C., Thorndyke M. C., Holden-Dye L., Williams R. G., Walker R. J. The isolation of FMRFamide-like peptide from the nematode *Haemonchus contortus*. *Parasitology*. 1995; 111. 515-521.
12. Kimber M. J., Fleming C. C., Bjourson A. J., Halton D. W., Maule A. G. FMRFamide-related peptides in potato cyst nematodes. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 2001; 116 (2): 199-208.
13. Kimber M. J., Fleming C. C., Prior A., Halton D. W., Maule A. G. Localisation of *Globodera pallidus* FMRFamide-related peptide encoding genes using in situ hybridization. *Int. J. Parasitol.* 2002; 32 (9): 1095-1105.
14. Kimber M. J., Fleming C. C. Neuromuscular function in plant parasitic nematodes: a target for novel control strategies? *Parasitology*. 2005; 131. 129-142. <https://doi.org/10.1017/S0031182005009157>
15. Kimber M. J., McKinney S., McMaster S., Day T. A., Fleming C. C., Maule A. G. *Flp*-gene disruption in parasitic nematode reveals motor dysfunction and unusual neuronal sensitivity to RNA interference. *FASEB J.* 2007; 21. 1233-1243. <https://doi.org/10.1096/fj.06-7343com>
16. McVeigh P., Geary T. G., Marks N. J., Maule A. G. The FLP-side of nematodes. *TRENDS in Parasitology*. 2006; 22. 385-396. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.06.010>
17. Masler E. P., Kovaleva E. S., Sardanelli S. FMRFamide-like Immunoactivity in *Heterodera glycines* (Nematoda: Tylenchida). *J. of Nematology*. 1999; 31 (2): 224-231.
18. Marks N. J., Sangster N. C., Maule A. G., Halton D. W., Thompson D. P., Geary T. G., Shaw C. Structural characterization and pharmacology of KHEYLRFamide (AF2) and KSAYMRFamide (PF3/AF8) from *Haemonchus contortus*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1999; 100. 185-194.
19. Marks N. J., Maule A. G., Geary T. G., Thompson D. P., Halton D. W., Shaw C. KSAYMRFamide (PF3/AF8) is present in the free-living nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998; 248. 422-425.
20. Masler E. P. Behaviour of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* infective juveniles exposed to nematode FMRFamide-like peptides in vitro. *Nematology*. 2012; 14 (5): 605-612. <https://doi.org/10.1163/156854111X617879>
21. Maule A. G., Mousley A., Marks N. J., Day T. A., Thompson D. P., Geary T. G., Halton D. W. Neuropeptide signaling systems – potential drug targets for parasite and pest control. *Curr. Top. Med. Chem.* 2002; 2. 733-758. <https://doi.org/10.2174/1568026023393697>
22. Maule A. G., Shaw C., Bowman J. W., Halton D. W., Thompson D. P., Geary T. G., Thim L. FMRFamide-like peptide AF2 (*Ascaris suum*) is present in the free-living nematode *Panagrellus redivivus* (Nematoda, Rhabditida). *Parasitology*. 1994; 109. 351-356.
23. Mertens I., Vandigenen A., Meeusen T., Janssen T., Luyten W., Nachman R.J., Loof A.D., Schoofs L. Functional characterization of the putative orphan neuropeptide G-protein coupled receptor C26F1.6 in *Caenorhabditis elegans*. *FEBS Lett.* 2004; 573 (1 -3): 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.07.058>
24. Peymen K., Watteyne J., Frooninckx L., Schoofs L., Beets I. The FMRFamide-like peptide family in nematodes. *Frontiers in endocrinology*. 2014; 5. Art. 90. 1-21. <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00090>
25. Price D. A., Greenberg M. J. Structure of a molluscan cardio excitatory neuropeptide. *Science*. 1977; 197. 670-671.

26. White J. D., Southgate E., Thompson J. N., Brenner S. The structure of the nervous system of *Caenorhabditis elegans*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. 1986. Series B. 314. 1-340.

Статья поступила в редакцию 22.10.2021; принята к публикации 15.01.2022

Об авторах:

**Малютина Татьяна Анатольевна**, Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова Российской академии наук (119071, г. Москва, Ленинский проспект, 33), Москва, Россия, кандидат биологических наук, maliytina@mail.ru

**Воронин Михаил Владимирович**, Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова Российской академии наук (119071, г. Москва, Ленинский проспект, 33), Москва, Россия, кандидат биологических наук, voronin\_mike@mail.ru

Вклад соавторов:

**Малютина Татьяна Анатольевна** – обзор и критический анализ публикаций по проблеме, формирование выводов.

**Воронин Михаил Владимирович** – перевод иностранных источников литературы по проблеме, формирование выводов.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

## References

1. Plant parasitic nematodes of Russia. Eds. S. V. Zinovieva, V. N. Chizhov. Moscow, KMK Ltd., 2012; 386. (In Russ.)
2. Atkinson H. J., Isaac R. E., Harris P. D., Sharpe C. M. FMRamide-like immunoreactivity within the nervous system of the nematodes *Panagrellus redivivus*, *Caenorhabditis elegans* and *Heterodera glycines*. *J. Zool., Lond.* 1988; 216. 663-671.
3. Atkinson L. E., Stevenson M., Mckoy C. J., Marks N. J., Fleming C., Zamanian M., Day T. A., Kimber M. J., Maule A. G., Mousley A. FLP-32 Ligand/Receptor Silencing Phenocopy Faster Plant Pathogenic Nematodes. *PLoS Patog.* 2013; 9 (2): 1003169. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003169>.
4. British Ecological Society (BES): 2009. Biological Control of Plant Parasitic Nematodes <http://britishecologicalsociety.org/blog/blog/2009/01/20/biological-control-of-plant-parasitic-nematodes> Retrieved. 2009.
5. Covden C., Stretton A.O.W. AF2, an Ascaris neuropeptide: isolation, sequence bioactivity. *Peptides.* 1993; 14: 423-430.
6. Covden C., Stretton A.O.W. Eight novel FMRamide-like neuropeptides isolated from the nematode *Ascaris suum*. *Peptides.* 1995; 16: 491-500.
7. Coons A. H., Leduc E. H., Connolly J. M. Studies of antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study for the hyperimmune rabbit. *J. Exper. Med.* 1955; 102. 49-60.
8. Fire A. Si Qun Xu, Montgomery M. K., Kostas S. A., Driver S. E., Mello C. C. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 1998; 391 (6669): 806-811.
9. Geary T. G., Marks N. J., Maule A. G., Bowman J. W., Alexander-Bowman S. J., Day T. A., Larsen M. J., Kubiak M., Davis P., Thompson D. P. Pharmacology of FMRamide-related peptides in helminths. *Annals of the New York Academy of Science.* 1999; 897. 217-227.
10. Johnston M.J.G. Veigh P. M., Masler S., Fleming C. C., Maule A. G. FMRamide-like peptides in root-knot nematodes and their potential role in nematode physiology. *J. of Helminthology.* 2010; 84. 253-265. <https://doi.org/10.1017/S0022149X09990630>
11. Kaeting C., Thorndyke M. C., Holden-Dye L., Williams R. G., Walker R. J. The isolation of FMRamide-like peptide from the nematode *Haemonchus contortus*. *Parasitology.* 1995; 111. 515-521.
12. Kimber M. J., Fleming C. C., Bjourson A. J., Halton D. W., Maule A. G. FMRamide-related peptides in potato cyst nematodes. *Molecular and Biochemical Parasitology.* 2001; 116 (2): 199-208.
13. Kimber M. J., Fleming C. C., Prior A., Halton D. W., Maule A. G. Localisation of *Globodera pallida* FMRamide-related peptide encoding genes using in situ hybridization. *Int. J. Parasitol.* 2002; 32(9): 1095-1105.
14. Kimber M. J., Fleming C. C. Neuromuscular function in plant parasitic nematodes: a target for novel control strategies? *Parasitology.* 2005; 131. 129-142. <https://doi.org/10.1017/S0031182005009157>

15. Kimber M. J., McKinney S., McMaster S., Day T. A., Fleming C. C., Maule A. G. *Flp*-gene disruption in parasitic nematode reveals motor dysfunction and unusual neuronal sensitivity to RNA interference. *FASEB J.* 2007; 21: 1233-1243. <https://doi.org/10.1096/fj.06-7343com>
16. McVeigh P., Geary T. G., Marks N. J., Maule A. G. The FLP-side of nematodes. *TRENDS in Parasitology.* 2006; 22: 385-396. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.06.010>
17. Masler E. P., Kovaleva E. S., Sardanelli S. FMRFamide-like Immunoactivity in *Heterodera glycines* (Nematoda: Tylenchida). *J. of Nematology.* 1999; 31 (2): 224-231.
18. Marks N. J., Sangster N. C., Maule A. G., Halton D. W., Thompson D. P., Geary T. G., Shaw C. Structural characterization and pharmacology of KHEYLRFamide (AF2) and KSAYMRFamide (PF3/AF8) from *Haemonchus contortus*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1999; 100: 185-194.
19. Marks N. J., Maule A. G., Geary T. G., Thompson D. P., Halton D. W., Shaw C. KSAYMRFamide (PF3/AF8) is present in the free-living nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998; 248: 422-425.
20. Masler E. P. Behaviour of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* infective juveniles exposed to nematode FMRFamide-like peptides *in vitro*. *Nematology.* 2012; 14 (5): 605-612. <https://doi.org/10.1163/156854111X617879>
21. Maule A. G., Mousley A., Marks N. J., Day T. A., Thompson D. P., Geary T. G., Halton D. W. Neuropeptide signaling systems – potential drug targets for parasite and pest control. *Curr. Top. Med. Chem.* 2002; 2: 733-758. <https://doi.org/10.2174/1568026023393697>
22. Maule A. G., Shaw C., Bowman J. W., Halton D. W., Thompson D. P., Geary T. G., Thim L. FMRFamide-like peptide AF2 (*Ascaris suum*) is present in the free-living nematode *Panagrellus redivivus* (Nematoda, Rhabditida). *Parasitology.* 1994; 109: 351-356.
23. Mertens I., Vandigenen A., Meeusen T., Janssen T., Luyten W., Nachman R. J., Loof A. D., Schoofs L. Functional characterization of the putative orphan neuropeptide G-protein coupled receptor C26F1.6 in *Caenorhabditis elegans*. *FEBS Lett.* 2004; 573 (1-3): 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.07.058>
24. Peymen K., Watteyne J., Frooninckx L., Schoofs L., Beets I. The FMRFamide-like peptide family in nematodes. *Frontiers in endocrinology.* 2014; 5 (90): 1-21. <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00090>
25. Price D. A., Greenberg M. J. Structure of a molluscan cardioexcitatory neuropeptide. *Science.* 1977; 197: 670-671.
26. White J. D., Southgate E., Thompson J. N., Brenner S. The structure of the nervous system of *Caenorhabditis elegans*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B.* 1986; 314: 1-340.

The article was submitted 22.10.2021; accepted for publication 15.01.2022

*About the authors:*

**Malyutina Tatyana A.**, Center of Parasitology, A. N. Severtsov's Institute of Ecology and Evolution Russian Academy of Science (33, Leninsky Prospekt, Moscow, 119071), Moscow, Russia, Candidate of Biological Sciences, [maliytina@mail.ru](mailto:maliytina@mail.ru)

**Voronin Mikhail V.**, Center of Parasitology, A. N. Severtsov's Institute of Ecology and Evolution Russian Academy of Science (33, Leninsky Prospekt, Moscow, 119071), Moscow, Russia, Candidate of Biological Sciences, [voronin\\_mike@mail.ru](mailto:voronin_mike@mail.ru)

*Contribution of co-authors:*

**Malyutina Tatyana A.** – a review and critical analysis of publications on the problem, the formation of conclusions.

**Voronin Mikhail V.** – translation of foreign sources of literature on the problem, the formation of conclusions.

*All authors have read and approved the final manuscript.*