

ІНСТИТУТ ЗООЛОГІЇ ім. І.І. ШМАЛЬГАУЗЕНА
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

ПАЦЮК МАРИНА КОСТЯНТИНІВНА

УДК 593:121

**ФОРМУВАННЯ ТАКСОНОМІЧНОЇ СТРУКТУРИ ТА
РІЗНОМАНІТТЯ ГОЛИХ АМЕБ**

03.00.08 – зоологія

Реферат

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ – 2024

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Житомирському державному університеті імені Івана Франка, Інституті зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України

Науковий консультант: доктор біологічних наук, професор, **Киричук Галина Євгеніївна**, Житомирський державний університет імені Івана Франка, Житомир, Україна

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, **Дзеверін Ігор Ігорович**, Інститут зоології імені І. І. Шмальгаузена, старший науковий співробітник, завідувач відділу еволюційної морфології, Київ, Україна

доктор біологічних наук, професор, провідний науковий співробітник, **Протасов Олександр Олексійович**, Інститут гідробіології НАН України, провідний науковий співробітник відділу екологічної гідрології та технічної гідробіології, Київ, Україна

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, **Сон Михайло Олегович**, Державна установа «Інститут морської біології НАН України», Одеса, Україна

Захист відбудеться «12» листопада 2024 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.153.01 при Інституті зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України за адресою: 01601, м. Київ, вул. Б. Хмельницького, 15.

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України за адресою: 01601, м. Київ, вул. Б. Хмельницького, 15.

Учений секретар спеціалізованої вченої ради _____ Куцоконь Ю. К.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Голі амеби – найпоширеніша й часто ізолююча група протистів із морських, прісних та ґрунтових середовищах існування. Ці організми відіграють значну роль у екосистемних колообігах, є обов'язковою ланкою в мікробних харчових ланцюгах, забезпечуючи шляхи трансформації речовини та енергії в природних біотопах.

Серед голих амеб, які мешкають у ґрунті на стадії цисти, або в активному стані наявні види, патогенні для людини та тварин (Kaushal et al., 2008; Laing et al., 2010; Ondarza, 2007; Ramanan et al., 2010).

Виділення видів голих амеб із природних біотопів потребує спеціальних досліджень, оскільки випадкові знахідки цих протистів, як правило, мають місце в комплексних дослідженнях й не створюють адекватної фауністичної картини для даної групи організмів.

Визначення голих амеб можливе лише *in vivo*. Для їх виявлення використовуються непрямі методи, які пов'язані з розміщенням зразків води або ґрунту в поживне середовище (в основному на основі агару) із наступним виявленням амеб (Smirnov & Brown, 2004; Smirnov, 2008). Така методика не дозволяє провести кількісні обліки голих амеб, тому вивчення екології цих організмів зводиться до якісного аналізу, тобто порівнянню видових списків амеб із різних місцезнаходжень та оцінки частоти трапляння окремих видів.

У наш час обов'язковими для вивчення голих амеб методами є світлова мікроскопія з використанням диференційно-інтерференційного контрасту (DIC) і молекулярно-генетичні методи.

Слід відмітити, що до використання цих методів за деякими даними нараховувалося більше 2 тисяч видів голих амеб, однак сучасними методами було підтверджено наявність небагато більше ніж 200 видів (Foissner, 2008; Mrva, 2006; Smirnov, 2008).

В результаті кількість робіт, в яких наведені достовірні фауністичні списки видів голих амеб невелика й списки виявляються неповними, є види, які

потребують таксономічного уточнення. Причому, чисельнішими є фауністичні дослідження, в яких зазначається ідентифікація видів амеб лише до роду (Smirnov, 2008; Vors, 1992).

Що стосується сучасних робіт, які присвячені екології голих амеб, то їх дуже мало (Anderson, 2007; Kiss et al., 2009; Kyle et al., 1987) й вони в більшій мірі зводяться до списків таксонів, які знайдені в окремих біотопах (Foissner, 2008; Hutchinson et al., 1959; Kiss et al., 2009; Kyle et al., 1987), або в таких роботах наведені результати метагеномного аналізу без ідентифікації видів (Delafont et al., 2019; Tekle et al., 2008). Комплексні дослідження голих амеб, які охоплюють морські акваторії, прісні водойми та наземні біотопи раніше не проводилися.

Голі амеби – виключно водні організми (навіть види з ґрунтів фактично існують у капілярній воді, яка заповнює простір між ґрунтовими частинками). Серед прісноводних представників відомі виключно ґрунтові, облігатно прісноводні і ті, які трапляються в обох типах біотопів (Page, 1988; Page & Siemensma, 1991). Здатність формувати стадії спокою несприятливих до дії негативних факторів середовища, можливість поширюватись повітряними потоками та водними течіями, малі розміри клітини, простий агамний життєвий цикл може слугувати передумовою космополітизму більшості видів голих амеб. Однак, у зв'язку з відсутністю інформації щодо поширення голих амеб, підтвердити або заперечити цю гіпотезу неможливо. Відомо, що поширення видів протистів у більшій мірі лімітовано доступністю відповідних середовищ, ніж можливостями розселення (Beyens et al., 1986; 1987; 1991; 1994; 1995). Фауна протистів постійно змінюється, а чисельність різних видів залежить від умов існування і таким чином підтримується нормальне функціонування комплексу мікроорганізмів. На думку Фойснера (Foissner, 2006) у мікроорганізмів існують патерни розподілу, межі яких визначаються впливом локальних факторів, історичною ізоляцією та екологічною зональністю. За його гіпотезою «помірного ендемізму» комбінація морфологічних, молекулярних, екологічних підходів у ході детальних досліджень регіональних

місцезнаходжень дозволяє виявити багато ендемічних видів, а також нових таксонів (Foissner et al., 2002; 2003; 2005). Що ж стосується голих амеб, то наявна інформація не підпорядковується ні одній з гіпотез щодо поширення видів протистів. Видовий склад голих амеб та закономірності їх розподілу в різнотипних екосистемах вивчений недостатньо. До цього часу залишається невідомо, чи є спільною прісноводна та наземна фауни амеб, чи все ж таки існують відмінності в видовому складі амеб цих біотопів; які фактори визначають формування видових комплексів голих амеб, які особливості перебудови їх структурної організації в результаті зміни середовища існування. Більшість аспектів різноманіття, аутокології та організації видових комплексів голих амеб залишаються відкритими.

Комплексне дослідження голих амеб із різних природних біотопів, порівняння їх із видами з віддалених місцезнаходжень дає змогу одержати достовірні дані, які слугують для вивчення біогеографії групи. Порівнюючи отримані дані з результатами раніше виконаних робіт можна прослідкувати зміни в фауні голих амеб у добре вивченому біотопі, скласти її характеристику з використанням морфологічних та екологічних даних, виявити багато специфічних видів та нових таксонів і встановити особливості їх поширення.

Морфотипи голих амеб використовуються для полегшення їх ідентифікації *in vivo* (Smirnov & Goodkov, 1999; Smirnov & Brown, 2004; Smirnov, 2008). При цьому морфотип також слугує екологічною характеристикою, проте зв'язок розподілу видів голих амеб, які відносяться до різних морфотипів із екологічними факторами раніше не аналізувався.

Слід відмітити, що голі амеби з різних екологічних груп (морські, прісноводні, ґрунтові, паразитичні), як правило, вивчалися окремо, оскільки це потребувало окремих методичних підходів. Комплексні дослідження цих протистів, які б дали змогу встановити екологічні преференції амеб із різних біотопів, прослідкувати генезис фаун голих амеб, особливості їх адаптивної еволюції, невідомі.

Таким чином, дослідження таксономічного складу голих амеб за допомогою сучасних методів, комплексне дослідження різних екологічних груп амеб, чинників, які лімітують їх розподіл та чисельність, є важливими та актуальними.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана на кафедрі ботаніки, біоресурсів та збереження біорізноманіття Житомирського державного університету імені Івана Франка в рамках наукових тем: «Особливості формування та функціонування гідроценозів Центрального Полісся та прилеглих територій за дії біотичних та абіотичних чинників середовища» (№ д/р 0119U101482; 2019-2029 р.р.); «Вплив антропогенного навантаження на біорізноманіття водних екосистем Центрального Полісся» (№ д/р 0113U002157; 2013-2015 р.р.); «Дослідження якості води р. Роставиця в межах смт. Ружин» (договір № 17 від 23.11.2021 р.; 2021-2022 р.р.).

Мета та завдання дослідження. Мета роботи – встановити положення видів голих амеб фауни України на філогенетичному дереві еукаріот та встановити їх таксономічний склад у регіоні дослідження, основні чинники формування видових комплексів амеб у біотопах, можливі напрямки генезису морської, прісноводної та наземної фаун голих амеб.

Для реалізації мети були поставлені наступні *завдання*:

1. На основі секвенованого гену 18S рРНК встановити положення видів голих амеб фауни України на філогенетичному дереві еукаріот.

2. З'ясувати сучасний видовий склад голих амеб у прісних та морських водоймах, ґрунтах, епіфітних та епілітних мохах і лишайниках в Україні.

3. Вивчити фактори, які визначають розподіл видів голих амеб у різних типах водойм досліджуваних регіонів.

4. Провести аналіз видових комплексів голих амеб у наземних біотопах та оцінити вплив абіотичних факторів на видовий склад цих протистів.

5. Проаналізувати склад та розподіл морфотипів голих амеб у різнотипних природних екосистемах (прісних та морських водоймах, наземних біотопах).

6. Встановити філогенетичні відносини голих амеб, виділених із морських, прісноводних та наземних біотопів.

Об'єкт дослідження. Склад видів та морфотипів голих амеб у природних біотопах.

Предмет дослідження. Голі амеби, їх морфологія, систематика, видовий склад у різних біотопах.

Наукова новизна одержаних результатів. Проведений філогенетичний аналіз виявив незалежні кластери в межах групи Tubulinea – «*Amoeba-like*» та «*Saccamoeba-like*», у межах групи Discosea – незалежні лінії Acanthamoebidae, Himatismenida, Pellitida.

Вперше виконане комплексне вивчення таксономічного складу, складу морфотипів та особливостей екології голих амеб у морі, прісних водоймах, ґрунтах, епіфітних й епілітних мохах і лишайниках України. Вперше проведений порівняльний аналіз відібраного матеріалу з природних біотопів України, Австрії, Німеччини, Польщі, Чехії, Швейцарії та Туреччини.

Показано, що таксономічний склад голих амеб нараховує 57 видів, які належать до 19 родів, 15 родин, 11 рядів та 4-х класів. Вперше в досліджених природних біотопах зареєстровано ряд Centramoebida, родину Acanthamoebidae, рід *Acanthamoeba*, патогенний вид *Acanthamoeba polyphaga*, *Acanthamoeba* sp., а також види *Saccamoeba limax*, *Saccamoeba* sp. (1), *Saccamoeba* sp. (2), *Saccamoeba* sp. (3), *Thecamoeba terricola*, *Thecamoeba similis*, *Thecamoeba* sp., *Mayorella* sp. (1), *Mayorella* sp. (2), *Ripella* sp., *Vannella* sp., *Cochliopodium actinophorum*, *Vahlkampfia avara*, *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (3). У Чорному морі вперше ідентифіковано 12 видів голих амеб. У водоймах та наземних біотопах виявлено 14 морфотипів голих амеб.

Вивчена толерантність 44 видів голих амеб по відношенню до температури води, концентрації розчинених у воді кисню та органічних речовин, на основі чого побудована екологічна класифікація цих протистів, відповідно виділено 8 екологічних груп.

Виділено видовий комплекс голих амеб боліт (15 видів), види в цьому комплексі толерантні до концентрації розчинених у воді органічних речовин та видовий комплекс озер, заплавних водойм та річок, види цього комплексу толерантні до температури води та концентрації розчиненого в воді кисню.

Вперше проаналізований зв'язок розподілу видів голих амеб, які відносяться до різних морфотипів із екологічними факторами.

Склад видів голих амеб певних морфотипів у заплавних водоймах залежить від концентрації розчинених у воді органічних речовин, у озерах і болотах – від концентрації розчиненого в воді кисню, у річках – від температури води.

Проведені дослідження сезонної динаміки голих амеб показали, що різноманіття та частота трапляння видів пов'язані з температурою води, концентрацією розчиненого в воді кисню, і, певною мірою, вмісту розчинених у воді органічних речовин.

Вперше ідентифіковано морські види голих амеб (12 видів) у Чорному морі (Одеська область, Україна) і з'ясовано реакцію окремих видів на поступове зниження солоності середовища та сольовий стрес. Різке зниження солоності середовища без аклімації зменшує час генерації та толерантність голих амеб до солоності середовища.

Вперше встановлено, що на формування складу видів та морфотипів голих амеб у ґрунтах України визначальними факторами є температура, кислотність та вологість ґрунтів, а також типи ґрунтів.

Вперше з'ясовано, що на формування видового складу голих амеб та складу їх морфотипів в епіфітних та епілітних мохах і лишайниках впливає висота над рівнем землі та вологість субстрату.

Вперше обґрунтовано, що відмінність видового складу голих амеб морських водойм пов'язана з температурою та солоністю води, прісних водойм – із концентрацією розчинених у воді кисню і органічних речовин, ґрунтів – із кислотністю біотопу, епіфітних й епілітних біотопів – із вологістю субстрату.

Показано, що на філогенетичних деревах види голих амеб, які виділені з різних природних біотопів групуються окремо і є сестринськими по відношенню одна до одної. Доведено, що прісноводна фауна голих амеб походить від морської, а наземна – від прісноводної.

Практичне значення роботи. Основні положення роботи сприяють вирішенню проблеми щодо поширення видів голих амеб – чи є ці одноклітинні мікроорганізми космополітами, чи підпорядковуються певним закономірностям розподілу. Результати дослідження можна використовувати під час розробки механізмів біомоніторингу та біоіндикації водойм і ґрунтів, оскільки встановлені специфічні особливості складу населення голих амеб досліджених регіонів і природних біотопів можуть застосовуватись для оцінки змін екологічного стану досліджених водойм і ґрунтів та слугувати відправними точками в адаптації вже відомих підходів, які застосовуються для різних екосистем. Матеріали дисертації можуть знайти застосування під час складання кадастрів тваринного світу України, а також у санітарно-медичних заходах, оскільки в фауні зареєстровані представники роду *Acanthamoeba*, які можуть бути патогенними для людини та тварин. Отримані дані можуть бути використані для підготовки навчальних курсів із протистології, зоології, гідробіології, генетики, екології в закладах освіти.

Особистий внесок здобувача. Самостійно проведено збір, обробку та аналіз відібраних проб (у т. ч. із віддалених місцезнаходжень), статистичну обробку, інтерпретацію результатів статистичної обробки матеріалу, сформульовано мету, завдання дослідження, проаналізовано отримані матеріали, сформульовано висновки. Особисто й у співавторстві підготовлено до друку наукові праці, в яких викладено основні результати дослідження. Права співавторів публікацій при написанні дисертації не порушені.

Апробація результатів дослідження. Результати дисертаційного дослідження представлені на: VII, IX, X, XI, XII, XIV Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біологічні дослідження» (2016, 2018, 2019, 2020, 2021, 2023); XVII International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-living

Amoebae (Djerba-Zarzis, Tunisia, 2017); 15th International Congress of Protistology (Czech Republic, Prague, 2017); VII International Symposium of Ecologists of Montenegro (Montenegro, Sutomore, 2017); 8th European Congress of Protistology – ISOP joint meeting (Italia, Rome, 2019); VIII International Symposium of Ecologists (Montenegro, Budva, 2019); Online Poster Session on Protists (2020); Конференції молодих зоологів дослідників (2021, 2022); Других харківських зоологічних читань з зоології безхребетних, присвячені пам'яті професора Є. І. Лукіна (Харків, 2021); X Міжнародній науково-практичній конференції – International scientific innovations in human life (Великобританія, Манчестер, 2022); 18-th International scientific and practical conference – Theoretical and applied aspects of the development of science (Bilbao, 2023); Міжнародній науково-практичній конференції – Навколишнє середовище для майбутнього через наукову освіту (Україна, Ужгород, 2023).

Публікації. За результатами дослідження опубліковано 44 наукові праці, з яких 10 – у фахових періодичних виданнях, 12 – у виданнях, які включені до міжнародної бази даних Scopus та віднесені до другого-четвертого кuartилів (Q2-Q4), 3 – у інших виданнях та 19 тез доповідей.

Структура та об'єм дисертації. Дисертація складається зі вступу, 10-ти розділів, висновків, списку використаних джерел (всього 329 джерел, з них латиницею – 313, кирилицею – 16), додатків. Всього робота містить 387 сторінок. Рукопис містить 132 рисунки, 25 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Матеріали дослідження зібрані впродовж 2013-2021 р.р. із природних біотопів України: морських та прісних водойм, ґрунтів та епіфітних й епілітних мохів і лишайників. Додатково були відібрані проби з водойм Австрії, Німеччини, Польщі, Швейцарії, Чехії та Туреччини. Всього проаналізовано 4706 проб (прісноводних – 2019, морських – 465, ґрунтових – 1114, епіфітних – 946, епілітних – 162).

Температуру води вимірювали калібрувальним водним ртутним термометром.

pH води визначали за допомогою лабораторного pH-метра 150-M одразу ж після відбору проби, транспортуючи її в лабораторію в закритій склянці, уникаючи контакту води з повітрям.

Визначення вмісту розчиненого в воді кисню здійснювали йодометричним методом за Вінклером (Набиванець та ін., 2007).

Для аналізу органічної речовини прісних водойм використовували методику визначення органічної речовини за Кубелем (Набиванець та ін., 2007).

Солоність морської води визначали за загальноприйнятою методикою (Хільчевський, 2003).

Температуру, актуальну кислотність та вологість ґрунтів визначали за загальноприйнятими методиками (Ґрунти. Методи..., 2010; Кирильчук та ін., 2011).

Розмножували голих амеб за методикою Ф. Пейджа (Page, 1988; Page & Siemensma, 1991). Ідентифікацію видів та виготовлення мікрофотографій здійснювали за допомогою світлового мікроскопу Axio Imager M1 із застосуванням диференційного інтерференційного контрасту. Ідентифікацію амеб здійснювали в 2 етапи – спочатку проводили визначення їх морфотипу (Smirnov & Goodkov, 1999; Smirnov & Brown, 2004; Smirnov, 2008), після чого,

використовували таксономічний визначник Ф. Пейджа (Page, 1983; Page, 1988; Page & Siemensma, 1991).

Розрахунки проводили за допомогою пакетів програм MS Excel (2002), Statistica 10.0, Past 3.11. Використовували кореляційний аналіз, кластерний аналіз, непараметричне багатовимірне шкалювання (n-MDS) (Hammer et al., 2001; Legendre et al., 1998). Для порівняння фауністичних списків використано індекс Чекановського-Серенсена (I_{cs}), Шимкевича-Сімпсона (I_{szs}). В якості показника різноманітності ми використовували інформаційну міру різноманіття Шеннона-Уівера (H_{sh}) (Песенко, 1982; Hammer et al., 2001; Ramette, 2007).

Геномна ДНК була виділена за допомогою гуанідинізоціанатного методу (Maniatis et al., 1982). Ген 18S рРНК ампліфікували з використанням універсальних еукаріотичних праймерів RibA 5'-ACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3' та RibB 5'-TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC-3' (Medlin et al., 1988). Порівняння отриманих послідовностей ДНК із даними ГенБанку (GenBank) проводилося за допомогою програми BLAST (NCBI) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Отримані послідовності були автоматично вирівняні з використанням алгоритму Muscle, реалізованого в програмі MEGA 10.0.

Філогенетичний аналіз виконаний методом максимальної правдоподібності за алгоритмом Neighbor-Joining у програмі MEGA 10.0. Показані оптимальні дерева (модель нуклеотидних замінів GTR+I+G). Побудована філогенія тестувалася за допомогою бутстреп-аналізу (1000) (Darriba et al., 2012; Kumar et al., 2016, 2018; Felsenstein, 1985; Saitou & Nei, 1987; Tamura et al., 2004).

МОЛЕКУЛЯРНА ФІЛОГЕНІЯ, ТАКСОНОМІЧНИЙ СКЛАД ТА МОРФОЛОГІЯ ГОЛИХ АМЕБ, ЗНАЙДЕНИХ У ПРІСНИХ ТА МОРСЬКИХ ВОДОЙМАХ, ҐРУНТАХ, ЕПІФІТНИХ ТА ЕПІЛІТНИХ БІОТОПАХ УКРАЇНИ

На філогенетичному дереві в групі Tubulinea формуються два незалежні кластери – «*Amoeba-like*» та «*Saccamoeba-like*». У групі Discosea виділені три незалежні лінії – Acanthamoebida, Himatistenida та Pellitida (рис. 1).

У прісних та морських водоймах, ґрунтах, епіфітних та епілітних біотопах України сьогодні нараховується 57 таксонів видового рангу голих амеб, з них 41 таксон (72 %) визначені до видового рівня, а 16 таксонів – до роду (28 %). Клас Tubulinea нараховує 12 видів амеб (21 %), Discosea – 39 видів (68,4 %), Variosea – один вид (1,8 %), Heterolobosea – 5 видів (8,8 %). Усі таксони голих амеб належать до 11 рядів (Leptomyxida, Euamoebida, Thecamoebida, Dermamoebida, Dactylopodida, Vannellida, Centramoebida, Pellitida, Himatistenida, Varipodida, Schizopyrenida), 15 родин (Leptomyxidae, Amoebidae, Hartmannellidae, Thecamoebidae, Stenamoebidae, Dermamoebidae, Mayorellidae, Paramoebidae, Vexilliferidae, Vannellidae, Acanthamoebidae, Pellitidae, Cochliopodiidae, Flamellidae, Vahlkampfiidae) та 19 родів (*Rhizamoeba*, *Amoeba*, *Polychaos*, *Deuteroamoeba*, *Saccamoeba*, *Thecamoeba*, *Stenamoeba*, *Paradermoamoeba*, *Mayorella*, *Korotnevella*, *Vexillifera*, *Ripella*, *Vannella*, *Acanthamoeba*, *Pellita*, *Cochliopodium*, *Flamella*, *Vahlkampfia*, *Willaertia*). Основну частку становлять види роду *Thecamoeba* – 9 видів (15,8 %); наступні за кількістю видів роди *Saccamoeba* та *Mayorella* – по 7 видів кожен (24,6 %); рід *Vannella* нараховує 6 видів (10,5 %); рід *Vahlkampfia* – 4 види (7 %); рід *Cochliopodium* та рід *Acanthamoeba* – по три види кожен (10,4 %); інші роди представлені одним і двома видами й їх вклад становить 1,7 % і 3,5 % відповідно. Ряд Centramoebida, родина Acanthamoebidae, рід *Acanthamoeba*, види *A. polyphaga*, *Acanthamoeba* sp. виявилися новими для фауни України; крім того, новими для природних біотопів України є види *S. limax*,

Saccamoeba sp. (1), *Saccamoeba* sp. (2), *Saccamoeba* sp. (3), *T. terricola*, *T. similis*, *Thecamoeba* sp., *Mayorella* sp. (1), *Mayorella* sp. (2), *Ripella* sp., *Vannella* sp., *C. actinophorum*, *V. avara*, *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (3), а також види, які характерні для моря – *S. marina*, *V. armata*, *V. devonica*, *V. aberdonica*, *V. plurinucleolus*, *V. simplex*, *C. gulosum*, *M. gemmifera*, *T. orbis*, *T. hilla*, *Stenamoeba* sp., *A. griffini*.

Для підтвердження видової приналежності голих амеб використані молекулярні методи, зокрема послідовності гену 18S рРНК отримані для таких видів: *Amoeba proteus* isolate AP07 (ON907618), *Saccamoeba limax* isolate SLU_22 (OP894078), *Saccamoeba limax* isolate SL_Uk19 (OQ520144), *Saccamoeba* sp. strain IDL777 (MZ079370), *Thecamoeba striata* isolate THS19 (OQ134482), *Thecamoeba striata* isolate THS20 (OQ134483), *Thecamoeba similis* isolate Prut river (OL604177), *Thecamoeba similis* isolate Baggersee Innsbruck (Baggersee Rossau) (OL604178), *Thecamoeba quadrilineata* isolate THQD2 (ON398269), *Thecamoeba quadrilineata* isolate THQA1 (ON398268), *Thecamoeba* sp. strain THS203 (MZ079371), *Stenamoeba stenopodia* isolate UKSS7 (OP375108), *Stenamoeba stenopodia* isolate POLSS7 (OP419588), *Korotnevella stella* isolate KSD2 (ON398267), *Korotnevella stella* isolate KSA1 (ON398266), *Vexillifera bacillipedes* isolate river Dnepr (OK649262), *Vannella lata* isolate Kamenka river (OL305063), *Vannella lata* isolate Varta river (OL305064), *Vannella* sp. strain VLS303 (MZ079372), *Vannella simplex* isolate Black Sea (OM403052), *Vannella simplex* isolate Mediterranean Sea (OM403053), *Ripella* sp. strain RPL100 (MZ079369), *Mayorella vespertilioides* isolate MV_7 (OP739500), *Mayorella* sp. isolate MY_7 (OP729930), *Acanthamoeba* sp. strain ATM123 (MZ079366), *Acanthamoeba* sp. isolate river Elbe (OK649261), *Acanthamoeba polyphaga* isolate AcPoly01 (ON908497), *Acanthamoeba polyphaga* isolate AcPoly15 (ON908496), *Acanthamoeba griffini* isolate Black sea (OM522832), *Acanthamoeba griffini* isolate Mediterranean Sea (OM522833), *Cochliopodium actinophorum* strain COP101 (MZ079367), *Cochliopodium minus* isolate river Stokhid (OK649264), *Vahlkampfia avara* isolate VA7 (OP179657), *Willaertia magna* isolate river Teterev (OK649263).

Серед усього списку протистів, які знайдені в прісних водоймах, у водоймах Чехії знайдено 8 видів (*Saccamoeba* sp. (3), *T. striata*, *S. stenopodia*, *M. cantabrigiensis*, *V. bacillipedes*, *Ripella* sp., *Acanthamoeba* sp., *Vahlkampfia* sp. (1)), це становить 18,1 % від усіх ідентифікованих голих амеб; у водоймах Австрії – 9 видів (*D. mycophaga*, *T. quadrilineata*, *T. terricola*, *T. similis*, *S. stenopodia*, *M. cantabrigiensis*, *K. stella*, *V. bacillipedes*, *C. actinophorum*), це становить 20,4 %; у водоймах Польщі – 4 види (*T. striata*, *S. stenopodia*, *M. vespertilioides*, *V. lata*), це становить 9,1 %; у водоймах Німеччини – 5 видів (*S. stagnicola*, *T. verrucosa*, *M. cantabrigiensis*, *R. platypodia*, *V. avara*), це становить 11,3 %; у водоймах Швейцарії – два види (*S. limax*, *T. striata*), це становить 4,5 % від усього списку амеб. В Середземному морі виділено два види голих амеб (*A. griffini* та *V. simplex*), що становить 16,7 % від усіх ідентифікованих морських видів.

Усього в прісних водоймах, морі, ґрунтах, епіфітних та епілітних мохах і лишайниках нами виявлено 14 морфотипів голих амеб: розгалужений (*Rhizamoeba* sp. (1), *Rhizamoeba* sp. (2)), політактичний (*A. proteus*, *P. dubium*, *D. mycophaga*), монотактичний/моноподіальний (*S. stagnicola*, *S. limax*, *S. wakulla*, *S. marina*, *Saccamoeba* sp. (1), *Saccamoeba* sp. (2), *Saccamoeba* sp. (3)), стріатний (*T. striata*, *T. quadrilineata*, *T. similis*, *T. hilla*, *T. orbis*, *Thecamoeba* sp.), ругозний (*T. sphaeronucleolus*, *T. verrucosa*, *T. terricola*), язикоподібний (*S. stenopodia*, *Stenamoeba* sp.), ланцетоподібний (*P. valamo*, *P. levis*), майорельний (*M. cantabrigiensis*, *M. vespertilioides*, *M. penardi*, *M. viridis*, *M. gemmifera*, *Mayorella* sp. (1), *Mayorella* sp. (2)), дактилоподіальний (*K. stella*, *K. diskophora*, *V. bacillipedes*, *V. armata*), віялоподібний (*R. platypodia*, *Ripella* sp., *V. lata*, *V. simplex*, *V. devonica*, *V. aberdonica*, *V. plurinucleolus*, *Vannella* sp.), акантоподіальний (*A. polyphaga*, *A. griffini*, *Acanthamoeba* sp.), фламельний (*P. digitata*, *Flamella* sp.), лінзоподібний (*C. minus*, *C. actinophorum*, *C. gullosum*), еруптивний (*V. avara*, *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (2), *Vahlkampfia* sp. (3), *W. magna*).

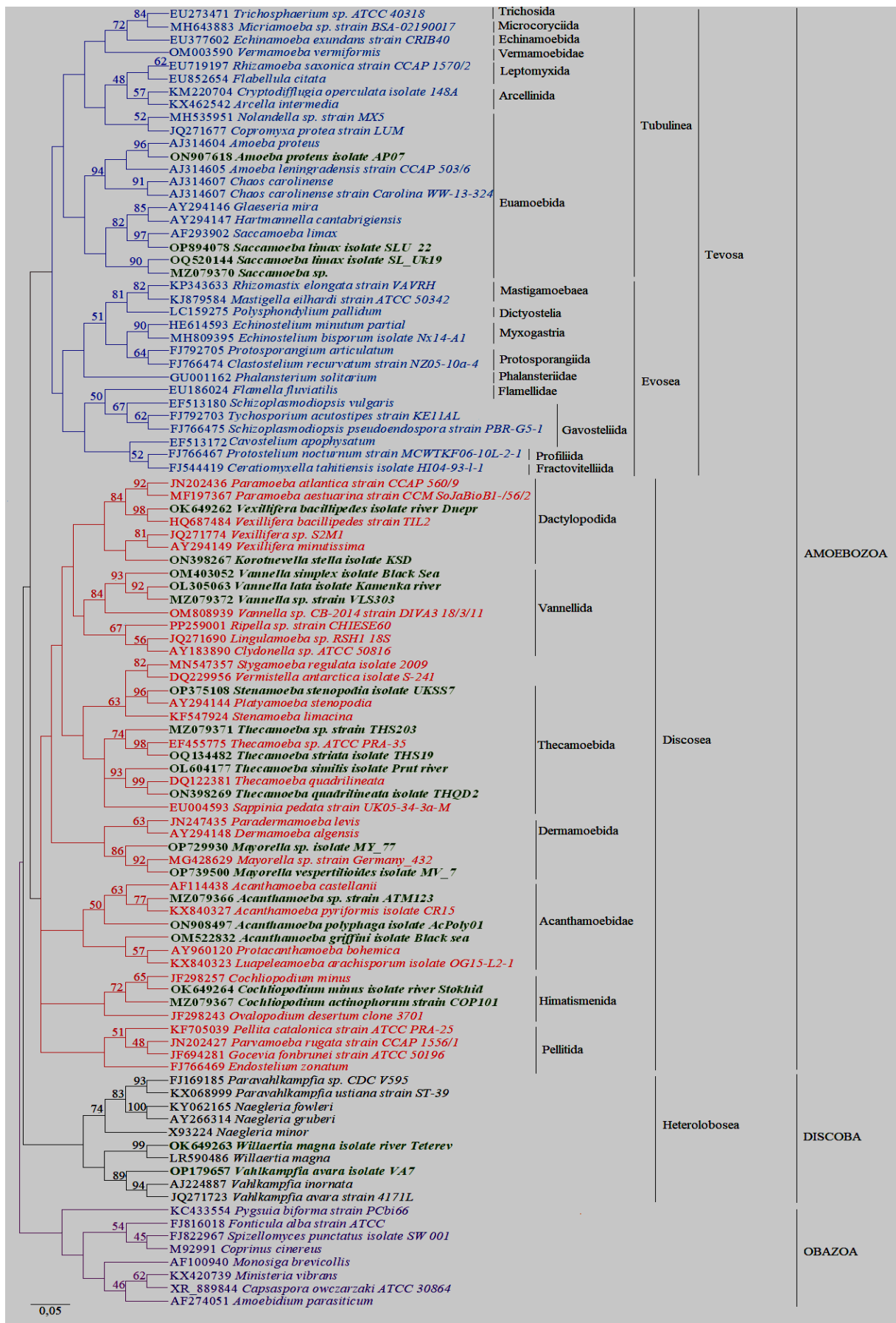


Рис. 1. Положення голих амеб на філогенетичному дереві, яке побудоване за геном 18S рРНК, оригінальні секвенси виділені зеленим кольором

ЧИННИКИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА НАСЕЛЕННЯ ГОЛИХ АМЕБ У ПРІСНИХ ВОДОЙМАХ

За час наших досліджень встановлено, що до числа найважливіших факторів, які впливають на розподіл голих амеб у водоймах можна віднести температуру води, концентрацію розчинених у воді кисню та органічних речовин, по відношенню до яких вивчені нами види амеб віднесені до таких екологічних груп. По відношенню до температури: евритермні (*T. striata*, *Thecamoeba* sp., *M. cantabrigiensis*, *K. stella*, *V. lata*, *Vannella* sp., *Acanthamoeba* sp., *C. actinophorum*); стенотермні теплолюбні (*D. mycophaga*, *T. quadrilineata*, *S. stenopodia*, *V. bacillipedes*, *Ripella* sp., *W. magna*); стенотермні холодолюбні (*Saccamoeba* sp. (3)). По відношенню до концентрації розчиненого в воді кисню виділено дві екологічні групи амеб: стенооксидні (*A. proteus*, *P. dubium*, *S. limax*, *Saccamoeba* sp. (2), *T. sphaeronucleolus*, *T. similis*, *M. viridis*, *Mayorella* sp. (1), *K. diskophora*, *C. minus*, *Vahlkampfia* sp. (2)); евриоксидні (*Rhizamoeba* sp. (1), *Rhizamoeba* sp. (2), *D. mycophaga*, *S. stagnicola*, *S. wakulla*, *Saccamoeba* sp. (1), *Saccamoeba* sp. (3), *T. striata*, *T. quadrilineata*, *T. verrucosa*, *T. terricola*, *Thecamoeba* sp., *S. stenopodia*, *P. valamo*, *P. levis*, *M. cantabrigiensis*, *M. vespertilioides*, *M. penardi*, *Mayorella* sp. (2), *K. stella*, *V. bacillipedes*, *R. platypodia*, *Ripella* sp., *V. lata*, *Vannella* sp., *Acanthamoeba* sp., *P. digitata*, *C. actinophorum*, *Flamella* sp., *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (3), *V. avara*, *W. magna*).

Високі показники концентрації розчинених у воді органічних речовин витримують 24 види: *Rhizamoeba* sp. (1), *D. mycophaga*, *S. stagnicola*, *T. striata*, *T. quadrilineata*, *Thecamoeba* sp., *S. stenopodia*, *P. valamo*, *P. levis*, *M. cantabrigiensis*, *M. vespertilioides*, *K. stella*, *K. diskophora*, *V. bacillipedes*, *R. platypodia*, *Ripella* sp., *V. lata*, *Vannella* sp., *Acanthamoeba* sp., *C. actinophorum*, *V. avara*, *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (2), *Vahlkampfia* sp. (3). Чутливими до дії концентрації розчинених у воді органічних речовин виявилися амеби *Rhizamoeba* sp. (2), *A. proteus*, *P. dubium*, *S. wakulla*, *Saccamoeba* sp. (1),

Saccamoeba sp. (2), *T. sphaeronucleolus*, *T. terricola*, *M. viridis*, *Mayorella* sp. (1), *P. digitata*, *C. minus*, *Flamella* sp.; стенобіонтними по відношенню до розчиненої в воді органіки – *S. limax*, *Saccamoeba* sp. (3), *T. verrucosa*, *T. similis*, *M. penardi*, *Mayorella* sp. (2), *W. magna*.

Проведений нами аналіз видових складів голих амеб різних типів водойм дозволив виділити два видові комплекси цих протистів: комплекс боліт та комплекс заплавних водойм, озер та річок. Видовий склад цих комплексів визначається толерантністю голих амеб до подібних значень температури води, концентрації розчинених у воді кисню та органічних речовин у цих водоймах (рис. 2).

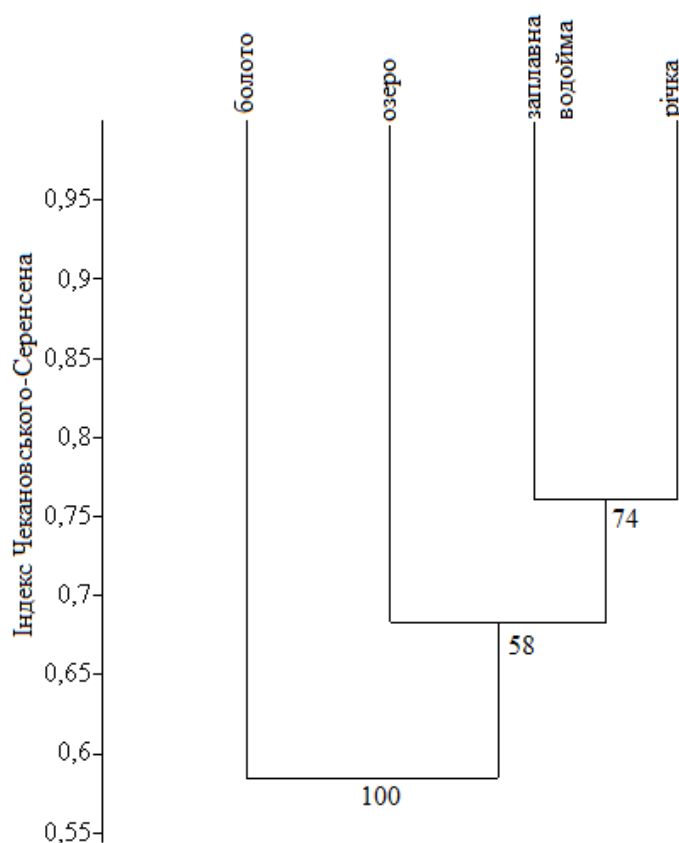


Рис. 2. Розподіл голих амеб у водоймах різних типів України (за індексом Чекановського-Серенсена). У вузлах дендрограми результати Bootstrap-аналізу за 1000 перестановок

Ядро даних видових комплексів становлять стенобіонтні види, які визначають їх специфічність та адаптованість до таких факторів, як температура води, концентрація розчинених у воді кисню та органічних

речовин. Однак, основу цих груп становлять еврибійонтні види, за рахунок їхньої присутності в усіх комплексах фауністична подібність висока (між болотами та всіма іншими водоймами більше 51 % спільних видів еврибійонтів, між озерами та річками й заплавами водоймами 66 % спільних видів).

У свою чергу, на формування видового складу голих амеб у болотах впливає вміст розчинених у воді органічних речовин, у заплавах водоймах – температура води, у річках і озерах – концентрація розчиненого в воді кисню (рис. 3).

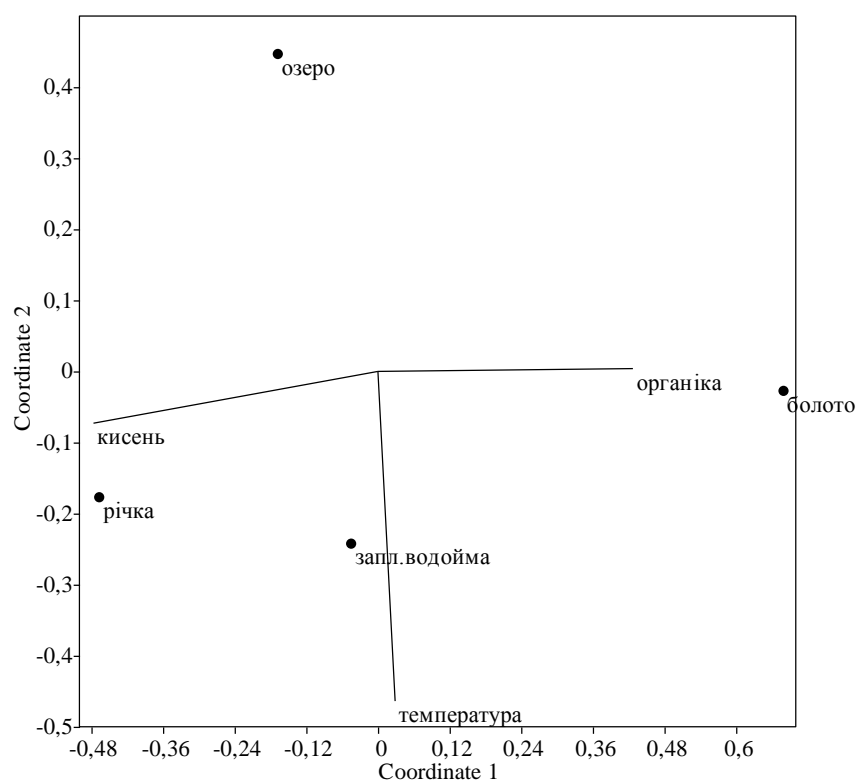


Рис. 3. Ординація видових комплексів голих амеб різних типів водойм України (результати непараметричного багатовимірного шкалювання)

Дослідження сезонної динаміки різноманіття та видового складу голих амеб у р. Тетерів показали, що для цих протистів відмічені піки та спади різноманіття амеб. Такі зміни пов'язані з абіотичними факторами середовища. Навесні (квітень 2015-2020 р.р.) із підвищенням температури води збільшується різноманіття та частота трапляння голих амеб. Різке зменшення різноманіття та

частоти трапляння цих протистів у порівнянні з іншими місяцями весняно-літнього періоду спостерігається в червні 2015-2020 р.р. У цей період із підвищенням температури води та підвищенням концентрації в воді органічних речовин спостерігається значне зниження концентрації розчиненого в воді кисню. У р. Тетерів переважають евритермні, стенотермні теплолюбні і оксифільні види.

НАСЕЛЕННЯ ГОЛИХ АМЕБ У МОРСЬКИХ ВОДОЙМАХ

У Чорному морі нами ідентифіковано дванадцять видів голих амеб, які належать до восьми морфотипів. Найбільш поширеними виявилися три види амеб (*V. devonica*, *T. orbis*, *V. aberdonica*), найменш поширеними – п'ять (*Stenamoeba* sp., *V. plurinucleolus*, *S. marina*, *V. armata*, *C. gulosum*), середнє положення за частотою трапляння – чотири (*T. hilla*, *V. simplex*, *A. griffini*, *M. gemmifera*). Враховуючи розмірні характеристики голих амеб, то в Чорному морі переважають середні амеби, а крупні – відсутні.

Усі ідентифіковані нами амеби населяють верхні шари (0-15 см) донного ґрунту, два шари (0-15 см; 15-30 см) – вісім амеб, три шари (0-15 см; 15-30 см; 30-45 см) – шість. В усіх шарах донного ґрунту Чорного моря траплялися дактилоподіальний, віялоподібний, стріатний, язикоподібний, акантоподіальний морфотипи амеб; два шари займають монотактичний та майорельний; у верхньому шарі – лінзоподібний.

Знайдені амеби зустрічалися за температури та солоності води Чорного моря від + 22 °С до + 26 °С та від 15,5 ‰ до 17,6 ‰ відповідно. *Vannella simplex isolate Mediterranean Sea*, яка належить до віялоподібного морфотипу та *Acanthamoeba griffini isolate Mediterranean Sea*, яка належить до акантоподіального морфотипу були виділені нами з Середземного моря за температури води + 29 °С та солоності води 37,8 ‰.

Враховуючи солоність води при якій зустрічалися види голих амеб у морських водоймах можна визначити діапазони толерантності видів до цього

фактору середовища. Так, до евригалінних видів належать *A. griffini* та *V. simplex*, до стеногалінних – *S. marina*, *V. armata*, *V. devonica*, *V. aberdonica*, *V. plurinucleolus*, *C. gulosum*, *M. gemmifera*, *T. orbis*, *T. hilla*, *Stenamoeba* sp.

Усі 12 видів голих амеб по-різному реагують на зміну солоності середовища та погано витримують низьку солоність. Різде зниження солоності середовища без аклімації зменшує час генерації та толерантність досліджуваних амеб; такі види амеб, як *S. marina*, *V. armata*, *V. devonica*, *V. aberdonica*, *V. plurinucleolus*, *V. simplex*, *T. orbis*, *T. hilla*, *Stenamoeba* sp., *A. griffini*, здатні виживати впродовж тривалого часу, але в вигляді флотуючих форм. Параметри росту будуть нормальними до того часу, поки не будуть досягнуті порогові значення, після того параметри росту порушуються й це порушує роботу осморегуляторного апарату.

Дрібні амеби, такі як *V. devonica*, *V. aberdonica*, *V. plurinucleolus*, *T. orbis*, *Stenamoeba* sp., *A. griffini* більш стійкі до поступових та швидких змін солоності середовища, у них практично не спостерігалось морфологічних змін та сильної вакуолізації в клітинах. У більших за розмірами амеб спостерігається сильна вакуолізація клітин й за солоності середовища 7,6 ‰ та 2,6 ‰ амеби перебувають в округлій формі та повільно рухаються. Знижена солоність середовища вела за собою зниження локомоції амеб, збільшенню плаваючих форм та збільшенню часу генерації. Після тривалого розмноження голих амеб за низької солоності середовища з культур не виділяли життєздатних амеб.

Показано, що реакціями морських голих амеб на стресові зміни (зниження) солоності є перехід до флотуючих форм, зниження локомоції, вакуолізація клітин і втрата здатності до розмноження.

Наші дослідження підтверджують думку (Page, 1983) про те, що сучасні морські види голих амеб не можуть адаптуватися до існування в прісних водоймах.

ФАКТОРИ, ЯКІ ВИЗНАЧАЮТЬ НАСЕЛЕННЯ ГОЛИХ АМЕБ У ГРУНТАХ УКРАЇНИ

Поширення видів голих амеб у ґрунтах України визначається температурою, кислотністю, вологістю та типами ґрунтів. Виділені екологічні групи голих амеб: по відношенню до температури – термофільні (*Rhizamoeba* sp. (1), *S. stagnicola*, *D. mycophaga*, *T. striata*, *S. stenopodia*, *M. cantabrigiensis*, *Mayorella* sp. (1), *V. bacillipedes*, *R. platypodia*, *Vannella* sp., *Acanthamoeba* sp., *C. actinophorum*, *V. avara*, *Vahlkampfia* sp. (2), *W. magna*); психрофільні (*P. dubium*, *M. viridis*); мезофільні (*Saccamoeba* sp. (1), *T. similis*, *M. vespertilioides*, *T. terricola*, *K. stella*, *V. lata*); по відношенню до кислотності – нейтрофільні (*Rhizamoeba* sp. (1), *P. dubium*, *D. mycophaga*, *S. stagnicola*, *Saccamoeba* sp. (1), *T. striata*, *T. terricola*, *T. similis*, *S. stenopodia*, *M. cantabrigiensis*, *M. vespertilioides*, *M. viridis*, *Mayorella* sp. (1), *V. bacillipedes*, *R. platypodia*, *V. lata*, *Vannella* sp., *Acanthamoeba* sp., *C. actinophorum*, *V. avara*, *Vahlkampfia* sp. (2), *W. magna*); ацидофільні (*K. stella*); по відношенню до вологості – гігрофіли (*Rhizamoeba* sp. (1), *P. dubium*, *S. stagnicola*, *T. striata*, *S. stenopodia*, *M. cantabrigiensis*, *M. viridis*, *Mayorella* sp. (1), *V. bacillipedes*, *R. platypodia*, *Vannella* sp., *Acanthamoeba* sp., *C. actinophorum*, *V. avara*, *Vahlkampfia* sp. (2)); мезофіли (*Saccamoeba* sp. (1), *D. mycophaga*, *T. terricola*, *T. similis*, *M. vespertilioides*, *K. stella*, *V. lata*, *W. magna*).

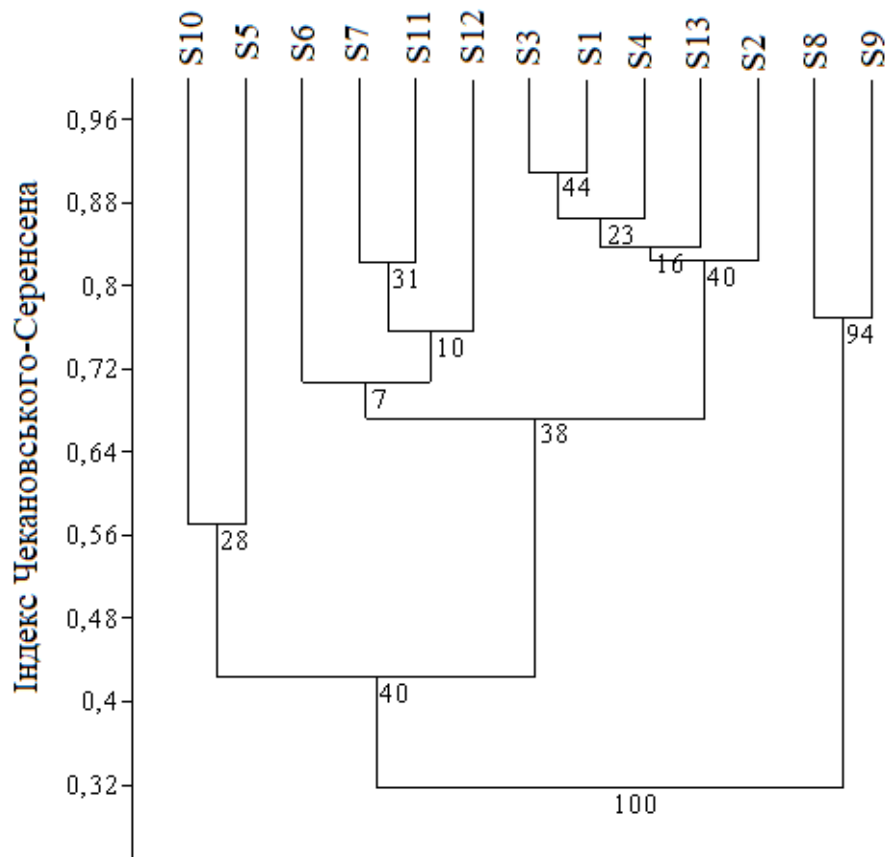


Рис. 4. Розподіл голих амеб у ґрунтах різних типів України (за індексом Чекановського-Серенсена). У вузлах дендрограми результати Bootstrap-аналізу при 1000 перестановок

(S1 – чорноземи опідзолені, S2 – дерново-піщані, S3 – сірі опідзолені, S4 – темно-сірі опідзолені, S5 – ясно-сірі опідзолені, S6 – чорноземи реградовані, S7 – чорноземи глибокі малогумусні, S8 – сірі опідзолені оглеєні, S9 – темно-сірі опідзолені оглеєні, S10 – чорноземи звичайні малогумусні, S11 – чорноземи південні малогумусні, S12 – чорноземи звичайні середньогумусні, S13 – чорноземи лучні)

Види голих амеб із різних типів ґрунтів України об'єднуються в два кластери (рис. 4): перший об'єднує види з сірих опідзолених оглеєних та темно-сірих опідзолених оглеєних; другий – із чорноземів опідзолених, дерново-піщаних, сірих опідзолених, темно-сірих опідзолених, ясно-сірих опідзолених, чорноземів реградованих, чорноземів глибоких малогумусних, чорноземів звичайних малогумусних, чорноземів південних малогумусних, чорноземів

звичайних середньогумусних, чорноземів лучних. Склад цих комплексів визначається видами, толерантними, в більшій мірі, до вологості ґрунтів. Ці види становлять ядро видових комплексів, але основу становлять еврибіонтні види, за рахунок наявності яких у різних комплексах рівень подібності між ними становить від 21 до 90 %.

СКЛАД ГОЛИХ АМЕБ В ЕПІФІТНИХ ТА ЕПІЛІТНИХ БІОТОПАХ УКРАЇНИ

Усього в епіфітних біотопах України ідентифіковано 13 видів голих амеб, в епілітних – 10 видів. *S. stagnicola*, *P. levis*, *K. diskophora* характерні лише для епіфітних біотопів; *T. striata*, *S. stenopodia*, *M. cantabrigiensis*, *Mayorella* sp. (1), *V. bacillipedes*, *R. platypodia*, *Vannella* sp., *A. polyphaga*, *C. actinophorum*, *V. avara* – для епіфітних й епілітних біотопів України.

У складі населення в епіфітних та епілітних біотопах України нами траплявся специфічний вид амеб *A. polyphaga*, який характерний для цих біотопів. Зі збільшенням висоти над землею знижується видовий склад голих амеб. Найбільші зміни відбуваються на висоті 1,5 м над поверхнею землі в епіфітних мохах і лишайниках, та на рівні 1,0 м – в епілітних мохах і лишайниках, де зникають структуроутворюючі види, а залишаються найбільш звичайні види голих амеб, які відмічаються в різних природних біотопах. Видовий склад голих амеб невисокий в епілітних біотопах, що говорить про більш посушливі умови, ніж в епіфітах. Найбільший видовий склад спостерігається в зволжених мохах та лишайниках. Основними факторами, які визначають специфіку складу та структури населення видів голих амеб в епіфітних й епілітних мохах і лишайниках є висота над поверхнею землі й ступінь зволоженості.

БІОТОПЧНИЙ РОЗПОДІЛ МОРФОТИПІВ ГОЛИХ АМЕБ

Результати наших досліджень показують, що види голих амеб віялоподібного морфотипу адаптувалися до мешкання в прісних водоймах за підвищеної температури води, тоді як монотактичного – за низької, види дактилоподіального морфотипу домінують у стенотермній теплолюбній групі; види віялоподібного морфотипу найкраще серед інших витримують високу концентрацію розчиненого в воді кисню; високі показники розчинених у воді органічних речовин найкраще переносять види віялоподібного та стріатного морфотипів, низькі – ругозного, серед стенобіонтів домінують види монотактичного морфотипу.

У стеногалінній групі домінують види стріатного морфотипу, в евригалінній – віялоподібного та акантоподіального.

Види виявлених морфотипів із різних типів ґрунтів формують два комплекси: перший утворюють види еруптивного морфотипу з ясно-сірих опідзолених ґрунтів, другий комплекс – види усіх ідентифікованих морфотипів із чорноземів опідзолених, дерново-піщаних, сірих опідзолених, темно-сірих опідзолених, чорноземів реградованих, чорноземів глибоких малогумусних, сірих опідзолених оглеєних, темно-сірих опідзолених оглеєних, чорноземів звичайних малогумусних, чорноземів південних малогумусних, чорноземів звичайних середньогумусних, чорноземів лучних. Склад цих комплексів визначається комбінацією факторів середовища (температурою, кислотністю та вологістю ґрунтів). До відносно низької температури ґрунтів адаптувалися види голих амеб політактичного та майорельного морфотипів; до підвищеної кислотності ґрунтів – дактилоподіального; до нейтральних ґрунтів – еруптивного; до помірної вологості ґрунтів – політактичного морфотипу.

Вперше описано склад видів голих амеб різних морфотипів, які формуються в епіфітних та епілітних мохах і лишайниках України. Специфічні морфотипи голих амеб у цих біотопах відсутні. Склад видів виявлених морфотипів голих амеб невисокий в епілітних біотопах, оскільки тут діють

більш посушливі умови, ніж в епіфітах. Найбільша кількість видів різних морфотипів спостерігається в зволжених мохах та лишайниках. В епіфітних мохах домінуючі види різних морфотипів відсутні, в епіфітних лишайниках та епілітних мохах і лишайниках домінують види акантоподіального морфотипу.

Специфічними морфотипами виявилися фламельний та ланцетоподібний, види яких мешкають лише в прісних водоймах. Склад видів голих амеб різних морфотипів у морі залежить від температури та солоності води, у прісних водоймах – від концентрації розчиненого в воді кисню та вмісту розчинених у воді органічних речовин, у ґрунтах – від кислотності та вологості ґрунтів (рис. 5).

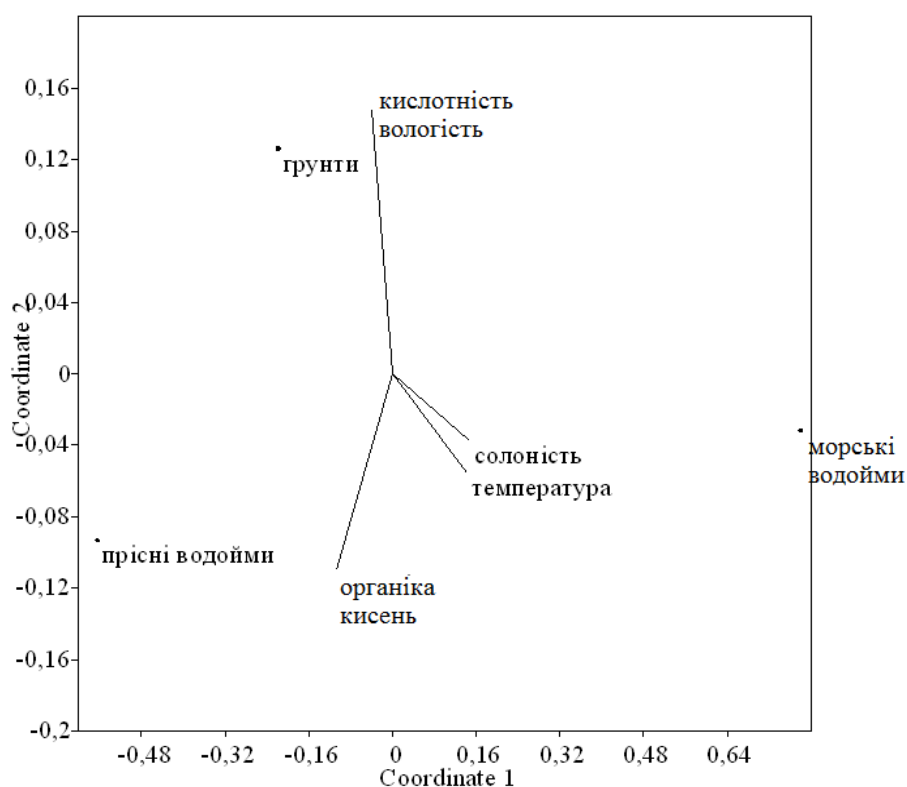


Рис. 5. Ординація списків морфотипів голих амеб різних природних біотопів за факторами середовища (результати багатовимірного непараметричного шкалювання)

Висока ступінь подібності між складами морфотипів у різних біотопах ускладнює висновок щодо їх адаптивного значення. За нашими даними лише для фламельного та ланцетоподібного морфотипів можна припустити, що вони характерні для прісноводних амеб і, можливо, сформувались у прісних

водоймах. Проте, види цих морфотипів також по-різному адаптовані до різних факторів середовища.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВИДОВИХ КОМПЛЕКСІВ ГОЛИХ АМЕБ МОРСЬКИХ, ПРІСНОВОДНИХ ТА НАЗЕМНИХ БІОТОПІВ

Найбільше видове багатство голих амеб у природних біотопах України відмічене для прісних водойм (44 види), найменше – для епілітних біотопів (10 видів), у ґрунтах знайдено 23 види, в епіфітних біотопах – 13 видів, у морських водоймах – 12 видів (табл. 1).

Таблиця 1

Видовий склад голих амеб у різних біотопах України

№ з/п	Види амеб	Досліджені біотопи України			
		водойми	ґрунти	епіфіти	епіліти
1.	<i>Rhizamoeba</i> sp. (1)	+	+	–	–
2.	<i>Rhizamoeba</i> sp. (2)	+	–	–	–
3.	<i>Amoeba proteus</i>	+	–	–	–
4.	<i>Polychaos dubium</i>	+	+	–	–
5.	<i>Deuteramoeba mycophaga</i>	+	+	–	–
6.	<i>Saccamoeba stagnicola</i>	+	+	+	–
7.	<i>Saccamoeba limax</i>	+	–	–	–
8.	<i>Saccamoeba wakulla</i>	+	–	–	–
9.	<i>Saccamoeba</i> sp. (1)	+	+	–	–
10.	<i>Saccamoeba</i> sp. (2)	+	–	–	–
11.	<i>Saccamoeba</i> sp. (3)	+	–	–	–
12.	<i>Thecamoeba striata</i>	+	+	+	+
13.	<i>Thecamoeba quadrilineata</i>	+	–	–	–
14.	<i>Thecamoeba sphaeronucleolus</i>	+	–	–	–
15.	<i>Thecamoeba verrucosa</i>	+	–	–	–

16.	<i>Thecamoeba terricola</i>	+	+	–	–
17.	<i>Thecamoeba similis</i>	+	+	–	–
18.	<i>Thecamoeba</i> sp.	+	–	–	–
19.	<i>Stenamoeba stenopodia</i>	+	+	+	+
20.	<i>Paradermamoeba valamo</i>	+	–	–	–
21.	<i>Paradermamoeba levis</i>	+	–	+	–
22.	<i>Mayorella cantabrigiensis</i>	+	+	+	+
23.	<i>Mayorella vespertilioides</i>	+	+	–	–
24.	<i>Mayorella penardi</i>	+	–	–	–
25.	<i>Mayorella viridis</i>	+	+	–	–
26.	<i>Mayorella</i> sp. (1)	+	+	+	+
27.	<i>Mayorella</i> sp. (2)	+	–	–	–
28.	<i>Korotnevella stella</i>	+	+	–	–
29.	<i>Korotnevella diskophora</i>	+	–	+	–
30.	<i>Vexillifera bacillipedes</i>	+	+	+	+
31.	<i>Ripella platypodia</i>	+	+	+	+
32.	<i>Ripella</i> sp.	+	–	–	–
33.	<i>Vannella lata</i>	+	+	–	–
34.	<i>Vannella</i> sp.	+	+	+	+
35.	<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	–	–	+	+
36.	<i>Acanthamoeba</i> sp.	+	+	–	–
37.	<i>Pellita digitata</i>	+	–	–	–
38.	<i>Cochliopodium actinophorum</i>	+	+	+	+
39.	<i>Cochliopodium minus</i>	+	–	–	–
40.	<i>Flamella</i> sp.	+	–	–	–
41.	<i>Vahlkampfia</i> sp. (1)	+	–	–	–
42.	<i>Vahlkampfia</i> sp. (2)	+	+	–	–

<i>Продовж. табл. 1</i>					
43.	<i>Vahlkampfia</i> sp. (3)	+	–	–	–
44.	<i>Vahlkampfia avara</i>	+	+	+	+
45.	<i>Willaertia magna</i>	+	+	–	–
Всього		44	23	13	10

На дендрограмах подібності в видовому складі голих амеб різних природних біотопів за індексами Чекановського-Серенсена та Шимкевича-Сімпсона вирізняються два кластери. В один кластер потрапили морські водойми, в інший – епіфітні й епілітні мохи і лишайники, ґрунти й прісні водойми. Цей результат добре підтримується Bootstrap-аналізом – вірогідність цих двох кластерів при 1000 перестановок становить: перший кластер – 100 %, другий – 100 % за індексами Чекановського-Серенсена та Шимкевича-Сімпсона (рис. 6-7). Для морських водойм характерний свій оригінальний список видів голих амеб, які не траплялися в інших природних біотопах й, де комплекс умов різко відрізняється від прісних водойм і ґрунтів.

Результати кластерного аналізу демонструють оригінальність морського видового комплексу голих амеб. Нами не виявлені види морських голих амеб, спільні з прісноводними та наземними видовими комплексами. Для перевірки вказаної вище гіпотези, ймовірно, необхідно використання методів молекулярної філогенетики. Однак, наші дані підтверджують висловлене раніше припущення про те, що наземна мікрофауна є похідною від прісноводної (Гельцер та ін., 1980; Fontaneto et al., 2006; 2012; O'Malley, 2008; Prosser et al., 2007; Weisse, 2008). Дійсно, у ґрунтах нами виявлено майже 70 % спільних видів амеб із водоймами, а в епіфітних й епілітних біотопах біля 50 %.

Таким чином, у біотопах різних типів різні види голих амеб поширені нерівномірно, формуючи видові комплекси, які диференційовані за градієнтом факторів середовища, які є ключовими для цих біотопів. Ядро цих видових комплексів становлять стенобіонтні види, які відносяться до різних екологічних груп, специфічних для різних типів біотопів.

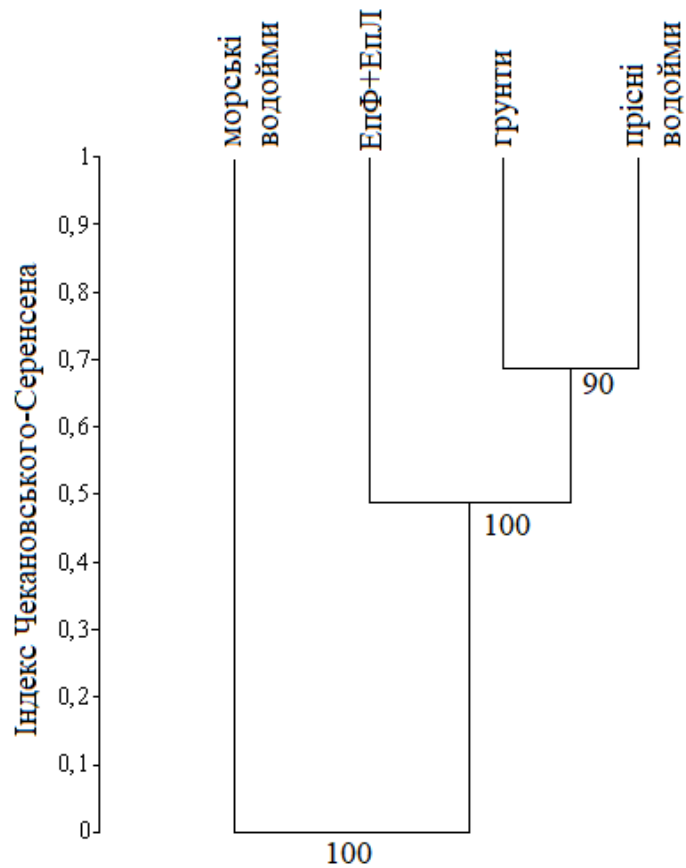


Рис. 6. Дендрограма подібності видового складу голих амеб різних природних біотопів за індексом Чекановського-Серенсена. Цифри в вузлах дендрограми – вірогідність у відсотках даних кластерів за результатами Bootstrap-аналізу при 1000 перестановок (ЕпФ – епіфітні мохи і лишайники; ЕпЛ – епілітні мохи і лишайники)

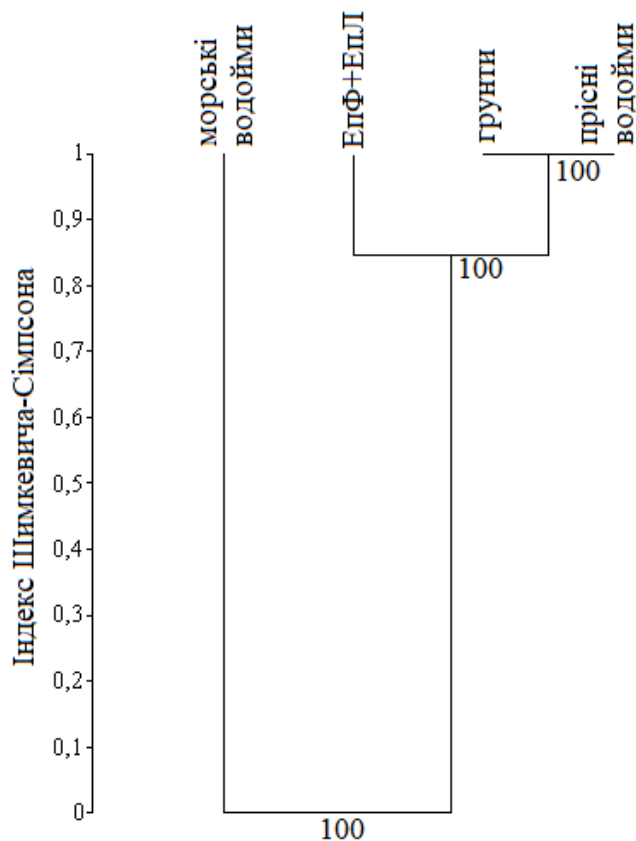


Рис. 7. Дендрограма подібності видового складу голих амеб різних природних біотопів за індексом Шимкевича-Сімпсона. Цифри в вузлах дендрограми – вірогідність у відсотках даних кластерів за результатами Bootstrap-аналізу при 1000 перестановок

(ЕпФ – епіфітні мохи і лишайники; ЕпЛ – епілітні мохи і лишайники)

Високі значення індексу фауністичної подібності свідчать про те, що значна кількість голих амеб здатна адаптуватися до широкого діапазону факторів середовища. Механізм подібних адаптацій слабо вивчений. Скоріше за все, його основу становить модифікаційна мінливість, яка генетично недетермінована.

При цьому в голих амеб не вивчений статевий процес, тобто їх види є клональними. Проте, відомо, що клональні види можуть підтримувати достатній рівень генетичного поліморфізму за рахунок епігенетичної мінливості (Юдин, 1982; Yudin, 1973). Крім того, відомо, що голі амеби можуть обмінюватися фрагментами геному під час так званих агамних злиттів, коли клітини зливаються, наприклад, для спільного харчування (Юдин, 1982; Yudin,

1973). Таким чином, за рахунок цих механізмів голі амеби можуть адаптуватися до широкого діапазону факторів середовища в різних морських, прісноводних та наземних біоценозах, виконуючи в них важливу роль консументів нижчих порядків.

Особливо привертають на себе увагу представники акантоподіального морфотипу, види якого відмічені нами в морських, прісноводних та наземних біотопах. Зокрема, це стосується *A. polyphaga* – збудника небезпечних опортуністичних (пов'язаних з імунодефіцитом) інфекцій у людини, яка знайдена нами в наземних біотопах.

ФІЛОГЕНЕТИЧНІ ВІДНОСИНИ ГОЛИХ АМЕБ ЗНАЙДЕНИХ У ПРИРОДНИХ БІОТОПАХ

Проведений нами філогенетичний аналіз показує, що секвенси прісноводних голих амеб із роду *Korotnevella* (AY183893, OM407395, ON398266, AY686573, ON398267) об'єднуються в одну групу. Сестринською по відношенню до коротневел є група вексіліфероподібних амеб, які відомі з р. Дніпро Запорізької області (OK649262) та з водойм Чехії (HQ687484). В іншій групі групуються секвенси морських та прісноводних голих амеб із роду *Vannella*. *Vannella lata isolate Kamenka river* (OL305063) із р. Кам'янка поблизу м. Житомир подібна з *Vannella lata* на 62 %, секвенс досліджуваного зразка ДНК якої в ГенБанку AF464917, ці амеби надійно групуються з *Vannella lata isolate Varta river* (OL305064), виділеної нами з р. Варта поблизу м. Познань, Польща. Ці прісноводні амеби утворюють сестринську групу з морськими видами (*Vannella simplex isolate Black Sea* (OM403052), *Vannella simplex isolate Mediterranean Sea* (OM403053), *Vannella simplex* (AF464914)) (рис. 8).

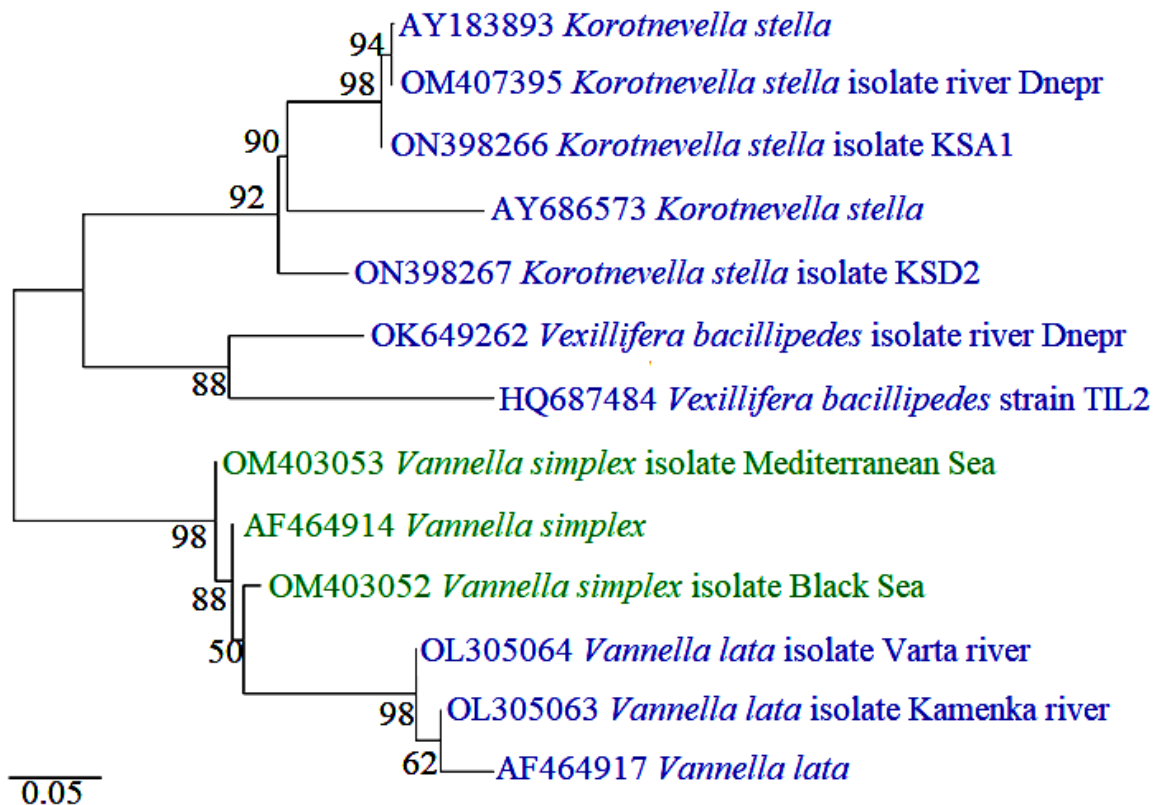


Рис. 8. Фрагмент філогенетичного дерева, яке побудоване на основі секвенсів гену 18S рРНК для представників родів *Korotnevella*, *Vexillifera*, *Vannella*.

Шкала масштабу показує еквівалентність відстані між послідовностями

Acanthamoeba griffini isolate Mediterranean Sea (OM522833), яка виділена з Середземного моря групується з *Acanthamoeba griffini* isolate B18 (GU553135), виділеної з гарячих джерел. *Acanthamoeba griffini* isolate Black sea (OM522832) із Чорного моря (Україна) подібна до вищезгаданих амеб на 66 % (рис. 9). До цієї групи амеб сестринським є вид *Acanthamoeba polyphaga* isolate PA29 (MF399035 із стічних вод Іспанії). Секвенс амеби *Acanthamoeba* sp. isolate river Elbe (OK649261), яка ізольована нами з р. Ельба (Чехія) групується з амебою *Acanthamoeba polyphaga* Panola Mountain (AF019052), відомої з гори Панола. В окрему групу входять секвенси *Acanthamoeba polyphaga* isolate AcPoly01 (ON908497) із мохів України та *Acanthamoeba polyphaga* isolate AcPoly15 (ON908496), яка знайдена в мохах Польщі. Надійність групи становить 98 %. Сестринською є група секвенсів акантамеб *Acanthamoeba* sp. strain ATM123 та *Acanthamoeba* sp. isolate WPS12 (MZ079366 й MT378248), які відомі з прісних водойм (рис. 9).

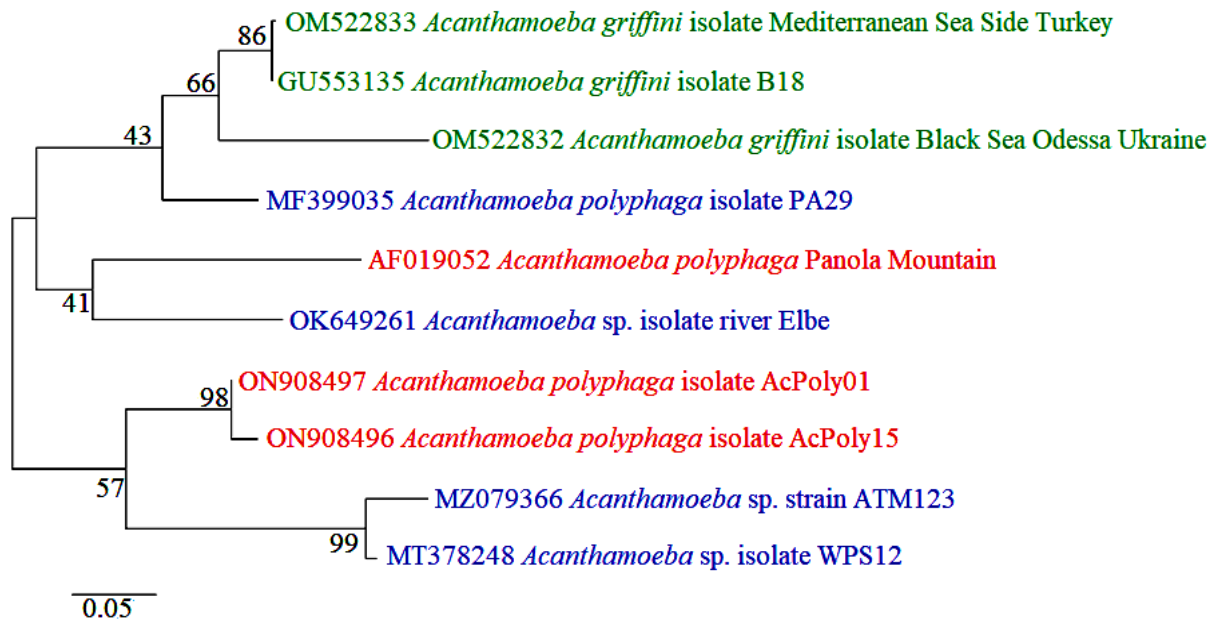


Рис. 9. Фрагмент філогенетичного дерева, яке побудоване на основі секвенсів гену 18S рРНК для представників роду *Acanthamoeba*. Шкала масштабу показує еквівалентність відстані між послідовностями

На філогенетичному дереві, яке побудоване на основі секвенсів гену 18S рРНК для різних видів голих амеб, виділених із різних природних біотопів видно (рис. 10), що види *Acanthamoeba proteus* isolate AP07 (ON907618), *Chaos carolinense* clone JG10.98 (JQ519502), *Chaos nobile* (AJ314606), *Saccamoeba limax* isolate SLU_22 (OP894078), *Saccamoeba limax* (AF293902) та *Saccamoeba lacustris* (OQ221845) утворюють окрему групу. Ці протисти належать до політактичного та монотактичного морфотипів й входять у групу Tubulinea. У цю групу ввійшли прісноводні види голих амеб. Далі на філогенетичному дереві групуються амеби з групи Discosea. У цій кладі об'єднуються види, які відомі з прісних та морських водойм й наземних біотопів. Морські (*Vannella simplex* isolate Mediterranean Sea (OM403053)+*Vannella simplex* isolate Black Sea (OM403052)) та прісноводні (*Vannella lata* isolate Kamenka river (OL305063)+*Vannella lata* isolate Varta river (OL305064)) віялоподібні амеби на філогенетичному дереві входять у різні групи, які є сестринськими по відношенню одна до одної. *Korotnevella stella* isolate KSA1 (ON398266) із оз. Багер (Австрія) надійно групується з видами, які виділені з р. Дніпро

(Україна) – *Korotnevella stella isolate river Dnepr* (OM407395), *Korotnevella stella isolate KSD2* (ON398267), *Vexillifera bacillipedes isolate river Dnepr* (OK649262). Згадані види належать до дактилоподіального морфотипу. Прісноводний представник із роду *Stenamoeba* (*Stenamoeba stenopodia isolate UKSS77* (OP375108)) добре групується з прісноводними амебами з роду *Thecamoeba* (*Thecamoeba quadrilineata isolate THQD2* (ON398269)+*Thecamoeba quadrilineata isolate THQA1* (ON398268) та *Thecamoeba similis isolate Prut river* (OL604177)+*Thecamoeba similis isolate Baggersee Innsbruck* (OL604178)), які належать до ланцетоподібного та стріатного морфотипів відповідно.

Далі на філогенетичному дереві групуються види амеб із роду *Cochliopodium*, які належать до лінзоподібного морфотипу: *Cochliopodium minus strain SUM3P* (JQ271675) із водойм Чехії надійно групується з *Cochliopodium minus isolate river Stokhid* (OK649264) із р. Стохід Волинської області (Україна), сестринським є вид *Cochliopodium actinophorum strain COP101* (MZ079367) із р. Кам'янка поблизу м. Житомир. Сестринським по відношенню до прісноводних видів *Cochliopodium* є морський вид *Cochliopodium gallicum* (MT975612).

Група прісноводних акантамеб *Acanthamoeba sp. isolate river Elbe* (OK649261) із р. Ельба, що в Чехії та *Acanthamoeba sp. strain ATM123* (MZ079366) із водойм України надійно кластеризується з сестринською групою акантоподіальних амеб, відомих із наземних біотопів (*Acanthamoeba polyphaga isolate AcPoly15* (ON908496) й *Acanthamoeba polyphaga isolate AcPoly01* (ON908497) із мохів Польщі та України відповідно). На філогенетичному дереві ці акантоподіальні амеби групуються з морськими представниками цього роду (OM522832 та OM522833), які виділені нами з Чорного та Середземного морів.

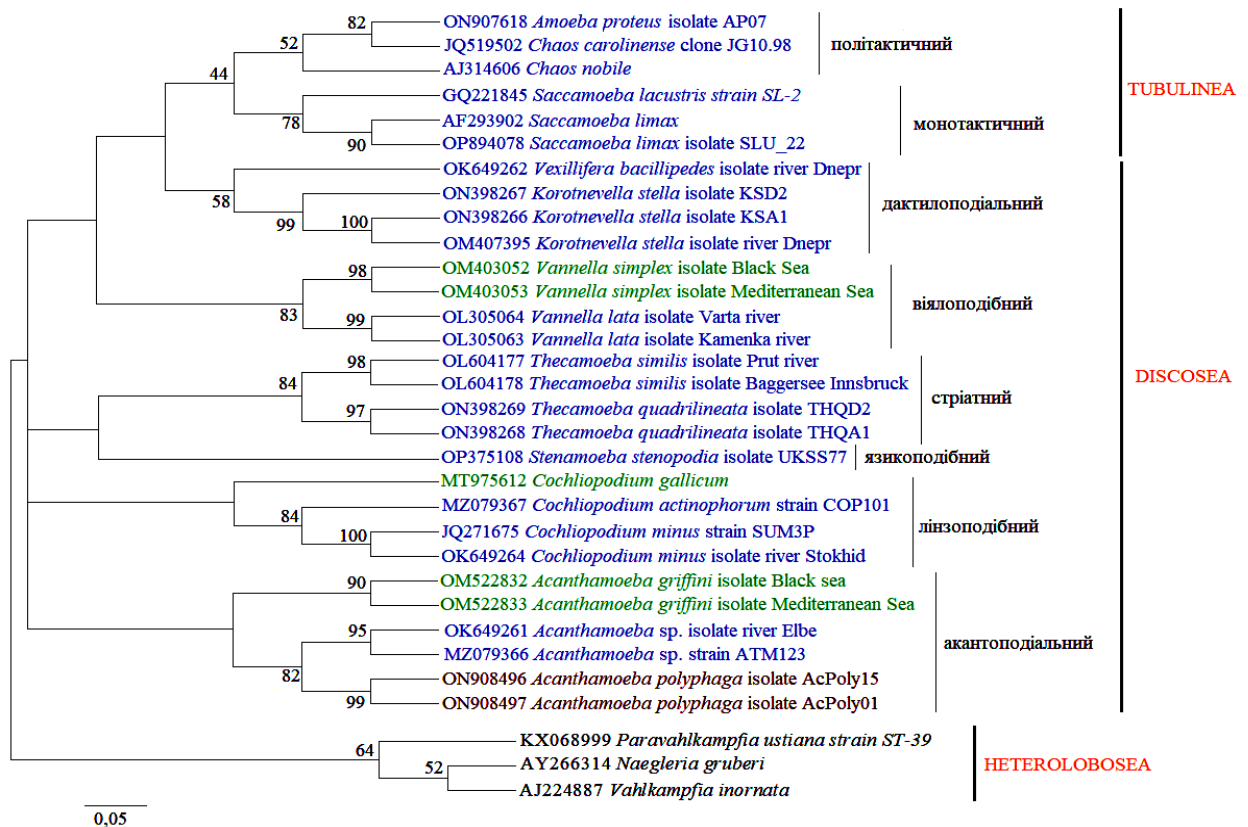


Рис. 10. Філогенетичне дерево, яке побудоване на основі секвенсів гену 18S рРНК для представників голих амеб груп Tubulinea та Discosea. Аутгрупа – представники класу Heterolobosea. Шкала масштабу показує еквівалентність відстані між послідовностями (у синьому кольорі позначені види, які траплялися в прісних водоймах, зеленому – у морських, коричневому – у наземних біотопах)

Слід відмітити, що морські види займають базальну позицію в своїх кластерах, а ґрунтові кластеризуються з прісноводними.

Вперше на матеріалі голих амеб нами встановлено, що прісноводна фауна голих амеб є похідною від морської (видові склади голих амеб таку особливість не підтверджують), а наземна – від прісноводної.

При цьому кластер, який об'єднує амеб акантоподіального морфотипу, займає базальну позицію по відношенню до інших кластерів амеб. Причому, види з даним морфотипом представлені як у морських, прісноводних і наземних біотопах. Виходячи з того, що прісноводні та наземні видові комплекси голих амеб є похідними від морського, можна припустити, що

акантоподіальний морфотип голих амеб сформувався в морській воді, а пізніше види з цим морфотипом адаптувалися до існування в прісних і наземних біотопах.

ВИСНОВКИ

1. Проведений філогенетичний аналіз виявив наявність двох незалежних кластерів у межах Tubulinea: «*Amoeba-like*» та «*Saccamoeba-like*». Також виділені три незалежні лінії в межах Discosea, які представлені Acanthamoebida, Himatismenida та Pellitida.

2. У природних біотопах України ідентифіковано 57 видів голих амеб, які відносяться до 4-х класів, 11 рядів, 15 родин та 19 родів. Крім того, в якості порівняльного матеріалу виділено та вивчено з водойм Австрії, Німеччини, Польщі, Чехії, Швейцарії та Туреччини, 23 види голих амеб. У прісних водоймах знайдено 44 види, морі – 12 видів, ґрунтах – 23 види, епіфітах – 13 видів, епілітах – 10 видів. Новими для фауни України виявилися всі морські види голих амеб; а також ряд Centramoebida, родина Acanthamoebidae, рід *Acanthamoeba*, види *A. polyphaga*, *Acanthamoeba* sp., а також види *S. limax*, *Saccamoeba* sp. (1), *Saccamoeba* sp. (2), *Saccamoeba* sp. (3), *T. terricola*, *T. similis*, *Thecamoeba* sp., *Mayorella* sp. (1), *Mayorella* sp. (2), *Ripella* sp., *Vannella* sp., *C. actinophorum*, *V. avara*, *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (3). За допомогою молекулярно-генетичних методів підтверджена видова приналежність 23 видів голих амеб.

3. У біотопах різних типів види голих амеб поширені нерівномірно, формуючи видові комплекси, які диференційовані за градієнтом факторів середовища, які є ключовими для даних біотопів. Ядро цих видових комплексів становлять стенобіонтні види, які відносяться до різних екологічних груп, які приурочені до різних типів біотопів.

4. Виділені екологічні групи прісноводних голих амеб по відношенню до абіотичних факторів середовища: по відношенню до температури води –

евритермні, стенотермні теплолюбні, стенотермні холодолюбні; по відношенню до розчиненого в воді кисню – евриоксидні, стенооксидні; по відношенню до розчинених у воді органічних речовин – стенобіонти, ті, які надають перевагу підвищеним та низьким концентраціям розчинених у воді органічних речовин.

5. На основі подібності видового складу в прісних водоймах різних типів голі амеби об'єднуються в два комплекси: видовий комплекс боліт, а також комплекс озер, заплавних водойм та річок.

6. Серед ґрунтових видів виділені такі екологічні групи голих амеб: по відношенню до температури ґрунтів – термофільні, психрофільні, мезофільні; по відношенню до активної реакції ґрунту – ацидофіли та нейтрофіли; по відношенню до вологості ґрунтів – мезофіли та гігрофіли.

7. За видовим складом у різних типах ґрунтів населення голих амеб поділяється на дві групи. Перший кластер об'єднує види з сірих опідзолених оглеєних та темно-сірих опідзолених оглеєних ґрунтів. Другий кластер об'єднує види з чорноземів опідзолених, сірих опідзолених, дерново-піщаних, темно-сірих опідзолених, ясно-сірих опідзолених, чорноземів реградованих, чорноземів глибоких малогумусних, чорноземів звичайних малогумусних, чорноземів південних малогумусних, чорноземів звичайних середньогумусних, чорноземів лучних.

8. Серед епіфітних амеб виділені два кластери: у перший входять види, які мешкають на деревах, що обростають мохами і лишайниками на висоті від 0 до 1,5 м; у другий – на висоті >1,5 м над рівнем землі. Серед епілітних амеб виділені два кластери: у перший входять види, які мешкають на каміннях та скелях, що обростаються мохами і лишайниками на висоті від 0 до 0,5 м; у другий – на висоті >1,0 м над рівнем землі.

9. Вперше для Чорного моря ідентифіковано 12 видів голих амеб (*S. marina*, *V. armata*, *V. devonica*, *V. aberdonica*, *V. plurinucleolus*, *V. simplex*, *C. gulosum*, *M. gemmifera*, *T. orbis*, *T. hilla*, *Stenamoeba* sp., *A. griffini*). Встановлено, що видове багатство голих амеб знижується в залежності від

глибини залягання в ґрунті. Амеби віялоподібного та акантоподіального морфотипів трапляються за підвищеної солоності моря.

10. Експериментально встановлено, що різке зниження солоності середовища без аклімації знижує ріст і розвиток голих амеб, проте більшість видів здатні виживати впродовж тривалого часу в вигляді флотуючих форм. При цьому дрібні види амеб стійкі як до поступових так і до швидких змін солоності середовища.

11. У ґрунтах виявлено біля 75 % загальних видів голих амеб із прісними водоймами, а в епіфітних і епілітних біотопах біля 50 %. Аналіз видових складів дозволив підтвердити, що наземна фауна голих амеб походить від прісноводної.

12. Види голих амеб фламельного та ланцетоподібного морфотипів знайдені лише в прісних водоймах, що дозволяє припустити, що вони характерні для прісноводних амеб і, можливо, сформувались у прісних водоймах. Морфотипи, ймовірно, еволюційно сформувались досить давно, при невідомих умовах й види з відповідними морфотипами вже вторинно адаптувалися до сучасних умов.

13. На філогенетичних деревах морські види голих амеб добре групуються з прісноводними, а останні з видами, які відомі з наземних біотопів і таким чином, на основі молекулярної філогенетики підтверджено, що прісноводна фауна голих амеб походить від морської, а наземна – від прісноводної.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Пацюк М. К.** Голі амеби фауни Київського Полісся. *Наукові записки Тернопільського Національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка*. Серія: Біологія, 2014. № 2 (59). С. 49-52.

2. **Patsyuk M. K.** New Finds of Naked Amoebae (Protista) in Water Reservoirs of Ukraine. *Vestnik Zoologii*, 2016. Vol. 50 (4). P. 291-300.
3. **Patsyuk M. K.** Seasonal changes in the species composition of naked amoebas (Amoebina) of the Teterev river (the Town of Zhitomir). *Hydrobiological Journal*, 2016. Vol. 52 (4). P. 55-62.
4. **Patsyuk M. K.** Parasitic Amoebae Found in Water Bodies of Ukraine. *Experimental parasitology*, 2017. Vol. 183. P. 81-84.
5. **Пацюк М. К.** Просторовий розподіл голих амеб у донному ґрунті стоячої водойми поблизу м. Дніпро (Україна). *Природа Західного Полісся та прилеглих територій : зб.наук.пр. / за заг. ред. Ф. В. Зузук.* Луцьк : Східноєвроп. нац. ун-т ім. Лесі Українки, 2017. № 7 (356). С. 128-133.
6. **Patsyuk M. K.** Peculiarities of the Spatial Distribution of Naked Amoebas in Sandy Bottom Sediments of a Small River. *Hydrobiological Journal*, 2018. Vol. 54 (5). P. 102-111.
7. **Пацюк М.** Видовий склад і поширення голих амеб (Tubulinea, Discosea, Heterolobosea) у водоймах Львівської області. *Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна*, 2018. Вип. 79. С. 141-149.
8. **Пацюк М., Увасва О.** Прісноводні голі амеби (TUBULINEA, DISCOSEA, HETEROLOBOSEA) Закарпатської області та прилеглих територій (Україна). *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Серія: Біологічні науки*, 2019. № 3 (387). С. 109-115. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)
9. **Patsyuk M. K., Onyshchuk I. P.** Diversity and Distribution of Naked Amoebae in Water Bodies of Sumy region (Ukraine). *Vestnik Zoologii*, 2019. Vol. 53 (3). P. 177-186. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)
10. **Patsyuk M. K.** Naked lobose amoebae of the genus *Mayorella* (Amoebozoa, Discosea, Dermamoebida) in Ukrainian water bodies. *Zoodiversity*, 2020. Vol. 54 (2). P. 89-94.

11. **Patsyuk M. K.** Diversity of Naked Amoebae in Soils of Forest Areas of Zhytomyr Region (Ukraine). *Zootaxa*, 2020. V. 4743, № 2. P. 257-265.
12. **Пацюк М.** Населення голих амеб на межі зони «мох-грунт» у лісових екосистемах України. *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки*. Серія: Біологічні науки, 2020. № 1 (389). С. 60-65.
13. **Пацюк М. К.** Видовий склад голих амеб в епіфітних мохах Житомирської області. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*, 2020. № 2 (81). С. 49-54.
14. **Пацюк М.** АМОЕВОЗОА Luhe, 1913 у водоймах Вінницької області. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. Серія: Біологія, 2020. Т. 82, № 3. С. 48-52.
15. **Пацюк М.** Розподіл голих амеб у ґрунтах степової зони України. *Вісник Львівського університету*. Серія біологічна. Вип. 82, 2020. С. 159-166.
16. **Пацюк М.** Склад морфотипів голих амеб у ґрунтах лісостепової зони України. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. Біологія, 2021. № 2 (85). С. 46-51.
17. **Patsyuk M.** New finds of naked amoebae in the Black Sea (Ukraine). *Archivus de Miscellania Zoologica*, 2022. Vol. 20. P. 13-25.
18. **Patsyuk M.** Species and morphotypes complexes of naked amoebae in several types of soils of Ukraine. *Biologia*, 2022. Vol. 77. P. 2173-2181.
19. **Пацюк М., Константиненко Л.** Вплив факторів водного середовища на поширення голих амеб у водоймах Житомирської області (Україна). *Вісник Львівського університету*. Серія біологічна, 2022. № 86. С. 103-113. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)
20. **Patsyuk M. K.** New finds of naked amoebae. *Biosystems Diversity*, 2022. № 30 (2). P. 157-162.
21. **Patsyuk M.** *Amoeba proteus* Pallas, 1766 (Leidy, 1878) isolated from the natural biotopes of Ukraine (morphology and phylogenetic relationships). *Folia Biologica*, 2023. Vol. 71 (2). P. 97-104.

22. Patsyuk M. Phylogenetic relationships among naked amoebae found in natural biotopes. *Cytology and Genetics*, 2023. Vol. 57 (6). P. 567-578.

23. Patsyuk M. Impact of Environmental Salinity on Growth and Development of Naked Amoebae in Beach Sands of the Black Sea in the Region of Odesa, Ukraine. *Acta Zoologica Bulgarica*, 2024. Vol. 76 (2). P. 225-234.

В інших виданнях

1. Patsyuk M. Changed species composition of naked amoebae in soils of forest-and-steppe zone of Ukraine. *Acta Biologica*, 2019. Vol. 26. P. 57-64.

2. Пацюк М. К. Голі амеби в ґрунтах Харківської області (Україна). *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія*, 2020. Вип. 48. С. 20-27.

3. Patsyuk M. Species composition and diversity of morphotypes in epilithic biotopes of Zhytomyr region, Ukraine. *Acta Biologica*, 2020. Vol. 27. P. 31-41.

Матеріали конференцій

1. Пацюк М. К. Використання молекулярно-генетичних методів у ідентифікації голих амеб. *Біологічні дослідження – 2016 : зб. наук. пр.* Житомир : Рута, 2016. С. 72-73.

2. Верніцький В. Ю., Пацюк М. К. Нові знахідки голих амеб у водоймах Сумської області. *Біологічні дослідження – 2016 : зб. наук. пр.* Житомир : Рута, 2017. С. 95-96. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)

3. Patsyuk M. K. New Records of Heterolobosea amoeba *Willaertia* sp. in Water bodies of Ukraine. *15-th International congress of Protistology : book of abstracts*. Prague, 2017. P. 354.

4. Patsyuk M. K. First Findings of Naked Amoebae in Soils of Zhytomyr Polyssia (Ukraine). *VII International Symposium of Ecologists of Montenegro : the Book of Abstracts and Programme*. Montenegro, 2017. P. 47.

5. Олехнович К. В., Пацюк М. К. Фауна голих амеб лісових зон Житомирської області. *Біологічні дослідження – 2018 : Зб. наук. пр.* Житомир :

ПП «Рута», 2018. С. 139-141. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)

6. Patsyuk M. K. Naked amoebae in epiphytic biotopes of Ukraine. *VIII International Symposium of Ecologists of Montenegro – The Book of Abstracts and Programme*. Budva, Montenegro, 2019. P. 43.

7. Patsyuk M. K. Naked Amoebae in Soils of Biogeocenoses of the Forest and Steppe Zone (Ukraine). *8th European Congress of Protistology – ISOP joint meeting*. Rome, Italia, 2019. P. 50.

8. Олехнович К. В., Корево Н. І., Пацюк М. К. Вплив температури ґрунту на поширення голих амеб у лісових зонах Житомирської області. *Біологічні дослідження – 2019 : Збірник наукових праць*. Житомир: «Полісся», 2019. С. 112-115. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)

9. Олехнович К. В., Павленко М. Ю., Пацюк М. К. Населення голих амеб у ґрунтах лісових фітоценозів України. *Біологічні дослідження – 2020 : зб. наук. пр.* Житомир, 2020. С. 111-116. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)

10. Patsyuk M. K. Naked Amoebae of the Black Sea, Ukraine. *Тези доповідей наукової конференції «Зоологія в сучасному світі : виклики XXI століття»* (м. Київ, Інститут зоології НАН України, 1-3 червня, 2021 р.). Київ, 2021. 112 с.

11. Бондарчук Л. В., Пацюк М. К. Амеби групи *Discosea Cavalier-smith et al.*, 2004 з епілітних й епіфітних мохів і лишайників Житомирської області. *Біологічні дослідження – 2021 : зб. наук. пр.* Житомир, 2021. С. 63-65. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)

12. Пацюк М. К. Видовий склад голих амеб в епіфітних біотопах України. *Другі Харківські зоологічні читання з зоології безхребетних, присвячені пам'яті професора Є. І. Лукіна*. 11-15 жовт. 2021. Харків, 2021. С. 37-39.

13. Пацюк М. К. Ідентифікація голих амеб із застосуванням сучасних молекулярно-генетичних методів дослідження. *International scientific*

innovations in human life : X Міжнар. наук.-практ. конф. (13-15 кв. 2022 р., Манчестер). Великобританія, 2022. С. 83-87.

14. Patsyuk M. K. Phylogeny of the naked amoebae. *Abstract book of the Conference of young zoologists – 2022.* October 11-12. Kyiv, 2022. P. 19.

15. Пацюк М., Хомич Т., Кондратюк М., Голуб Л. Прісноводні та ґрунтові види голих амеб Житомирської області. *Theoretical and applied aspects of the development of science : the 18-th International scientific and practical conference, may 09-12.* Bilbao : International Science Group, 2023. С. 84-89. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)

16. Пацюк М. Голі амеби групи Discosea: морфологія, поширення та філогенетичні зв'язки. *Навколишнє середовище для майбутнього через наукову освіту : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф.* 1-2 черв. 2023. Ужгород : ПП «АУТДОР-ШАРК», 2023. С. 113.

17. Пацюк М. К., Гнатюк Ю. О., Жигунова Ю. О. Реакція голих амеб на температуру середовища в лабораторних умовах. Біологічні дослідження – 2023: Збірник наукових праць. Житомир, 2023. С. 44-46. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)

18. Пацюк М. К., Федорович Г. С. Склад голих амеб різних морфотипів в епіфітних й епілітних мохах. Біологічні дослідження – 2023: Збірник наукових праць. Житомир, 2023. С. 46-47. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)

19. Пацюк М. К., Хомич Т. С. *Vannella*-подібні голі амеби в природних біотопах. Біологічні дослідження – 2023: Збірник наукових праць. Житомир, 2023. С. 48-49. (Збір, обробка, аналіз матеріалу, узагальнення результатів, формулювання висновків)

Анотація

Пацюк М. К. **Формування таксономічної структури та різноманіття голих амеб.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук зі спеціальності 03.00.08 – зоологія. Інститут зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України, Київ, 2024 рік.

Філогенетичний аналіз показав наявність таких незалежних кластерів голих амеб у межах групи Tubulinea – «*Amoeba-like*» та «*Saccamoeba-like*»; у межах Discosea виявлені три незалежні лінії – Acanthamoebida, Himatismenida та Pellitida.

Таксономічний склад голих амеб у прісних та морських водоймах, ґрунтах, епіфітних й епілітних мохах і лишайниках України нараховує 57 видів, які належать до 19 родів, 15 родин, 11 рядів та 4-х класів. Вперше ідентифіковано морські види голих амеб (12 видів) у Чорному морі (Одеська область, Україна). У досліджених прісноводних та наземних біотопах вперше зареєстровано новий ряд Centramoebida, родина Acanthamoebidae, рід *Acanthamoeba*, види *Acanthamoeba polyphaga* Puschkarew, 1913 та *Acanthamoeba* sp., а також види *Saccamoeba limax* Dujardin, 1841, *Saccamoeba* sp. (1), *Saccamoeba* sp. (2), *Saccamoeba* sp. (3), *Thecamoeba terricola* Lepsi, 1960, *Thecamoeba similis* Lepsi, 1960, *Thecamoeba* sp., *Mayorella* sp. (1), *Mayorella* sp. (2), *Ripella* sp., *Vannella* sp., *Cochliopodium actinophorum* Auerbach, 1856, *Vahlkampfia avara* Page, 1967, *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (3). Варто зазначити, що представники роду *Acanthamoeba* у тому числі й *A. polyphaga* можуть викликати амебний енцефаліт, акантамебний кератит та інші захворювання. Для 23 видів голих амеб підтверджена видова ідентифікація за допомогою молекулярно-генетичних методів дослідження. У наших дослідженнях ми використовували власні оригінальні матеріали, окрім України, із шести різних країн (Австрії, Німеччини, Польщі, Чехії, Швейцарії, а також Туреччини) в якості порівняльних, що дозволяє екстраполювати власні висновки за межі України.

Склад видових комплексів голих амеб визначається поєднанням абіотичних факторів водного середовища. Виділено видовий комплекс голих амеб боліт, який об'єднує види толерантні до концентрації розчинених у воді

органічних речовин та видовий комплекс озер, заплавних водойм та річок, види цього комплексу толерантні до температури води та концентрації розчиненого в воді кисню. Видовий склад голих амеб річок найбільш подібний із заплавними водоймами ($I_{cs}=0,76$) та озерами ($I_{cs}=0,66$), із болотами I_{cs} становить 0,51.

Вперше проаналізовано значення певних морфотипів голих амеб при адаптації видів до різних факторів середовища з різнотипних біотопів (прісних та морських водойм, ґрунтів).

Голі амеби монотактичного морфотипу пристосувалися до існування в прісних водоймах за відносно низької температури води, тоді як види фламельного та ругозного морфотипів не можуть існувати за підвищеної концентрації в воді органічних речовин. Склад видів певних морфотипів у заплавних водоймах залежить від концентрації розчинених у воді органічних речовин, у озерах і болотах – від концентрації розчиненого в воді кисню, у річках – від температури води. Між річками, озерами, заплавними водоймами та болотами встановлена достатня висока подібність у складі морфотипів голих амеб – у цих водоймах зустрічається від 76 до 92 % спільних морфотипів.

Вперше ідентифіковано морські види голих амеб (12 видів) у Чорному морі (Одеська область, Україна) і з'ясовано реакцію клітин окремих видів на поступове зниження солоності середовища та сольовий стрес. Усі ідентифіковані нами види по-різному реагують на поступове зниження солоності середовища. Для всіх голих амеб не було виявлено суттєвих відмінностей між часом генерації контрольних популяцій ($p>0,05$), тобто постійні процедури субкультивування не викликали змін швидкості росту та часу генерації голих амеб за різної солоності середовища (17,6 ‰, 12,6 ‰, 7,6 ‰, 2,6 ‰). Швидкий сольовий стрес на клітини амеб без їх аклімації знижує солестійкість усіх видів, зокрема зменшує час генерації та толерантність досліджуваних видів, крім того спостерігаються морфологічні зміни та надмірна вакуолізація клітин. Під час тривалого розмноження видів за низької солоності середовища кількість флотуючих форм у культурах зменшується й

через певний проміжок часу ми не виділяли живучих амеб. По відношенню до солоності води виділені евригалінні та стеногалінні види. Амеби віялоподібного та акантоподіального морфотипів можуть існувати за підвищеної солоності моря.

Вперше встановлено, що на формування видових комплексів та комплексів морфотипів голих амеб у ґрунтах України впливає температура, кислотність, вологість та типи ґрунтів. Виділені екологічні групи ґрунтових видів голих амеб: по відношенню до температури – термофільні, психрофільні, мезофільні; по відношенню до кислотності – ацидофільні, нейтрофільні; по відношенню до вологості – гігрофіли, мезофіли.

При середній температурі та помірній вологості ґрунтів можуть існувати амеби ругозного морфотипу.

За видовим складом населення видів голих амеб із різних типів ґрунтів поділяється на дві групи: першу визначають види з сірих опідзолених оглеєних та темно-сірих опідзолених оглеєних ґрунтів; другу – із чорноземів опідзолених, дерново-піщаних, сірих опідзолених, темно-сірих опідзолених, ясно-сірих опідзолених, чорноземів реградованих, чорноземів глибоких малогумусних, чорноземів звичайних малогумусних, чорноземів південних малогумусних, чорноземів звичайних середньогумусних, чорноземів лучних ґрунтів. Склад першого та другого видових комплексів голих амеб визначають види, які толерантні до вологості ґрунтів.

З'ясовано, що на формування видового складу голих амеб та їх морфотипів в епіфітних та епілітних мохах і лишайниках впливає висота над рівнем землі та вологість субстрату. Зі збільшенням висоти над рівнем землі та зі зменшенням вологості субстрату зменшується склад видів та морфотипів голих амеб. Специфічним видом для даних біотопів є *A. polyphaga*.

Специфічними для прісних водойм є види фламельного та ланцетоподібного морфотипів. Уточнено, що на склад видів та морфотипів голих амеб у морських водоймах впливають температура та солоність води, у прісних водоймах – концентрація розчинених у воді кисню й органічних

речовин, у ґрунтах – кислотність біотопу, в епіфітних й епілітних біотопах – вологість субстрату.

На основі аналізу видових складів та молекулярної філогенетики вперше підтверджено, що прісноводна фауна голих амеб походить від морської, а наземна – від прісноводної.

Ключові слова: голі амеби, філогенетика, ген 18S рРНК, морфотипи, прісні та морські водойми, ґрунти, епіфітні й епілітні біотопи, фактори середовища.

Abstract

Patsyuk M. K. Formation of the taxonomic structure and diversity of naked amoebae. – A manuscript.

A thesis to obtain the scientific degree of Doctor of Biological Sciences in the speciality 03.00.08 – Zoology. – I. I. Schmalhausen Institute of Zoology, National Academy of Sciences of Ukraine. – Kyiv, 2024.

Phylogenetic analysis showed the presence of independent clusters of “*Amoeba*-like” and “*Saccamoeba*-like” naked amoebae within Tubulinea group. Three independent lineages, Acanthamoebida, Himatistenida and Pellitida have been identified within Discosea.

The taxonomic composition of naked amoebae in fresh and sea water bodies, soils, epiphytic and epilithic mosses and lichens of Ukraine includes 57 species belonging to 19 genera, 15 families, 11 orders and 4 classes. Marine species of naked amoebae (12 species) were identified for the first time in the Black Sea (Odesa region, Ukraine). A new order of Centramoebida, family Acanthamoebidae, genus *Acanthamoeba*, species *Acanthamoeba polyphaga* Puschkarew, 1913 and *Acanthamoeba* sp., as well as species *Saccamoeba limax* Dujardin, 1841, *Saccamoeba* sp. (1), *Saccamoeba* sp. (2), *Saccamoeba* sp. (3), *Thecamoeba terricola* Lepsi, 1960, *Thecamoeba similis* Lepsi, 1960, *Thecamoeba* sp., *Mayorella* sp. (1), *Mayorella* sp. (2), *Ripella* sp., *Vannella* sp., *Cochliopodium actinophorum* Auerbach, 1856, *Vahlkampfia avara* Page, 1967, *Vahlkampfia* sp. (1), *Vahlkampfia* sp. (3) were recorded for the first time. Notably, representatives of the genus *Acanthamoeba*,

including *A. polyphaga*, can cause amoebic encephalitis, *Acanthamoeba* keratitis and other diseases. The species identification of 23 species of naked amoebae was confirmed using molecular genetic research methods. In our research, we used own materials from six other different countries (Austria, Germany, Poland, the Czech Republic, Switzerland, and Turkey) as comparatives, which allows us to extrapolate our conclusions beyond Ukraine.

The composition of species complexes of naked amoebae is determined by the combination of abiotic factors of the aquatic environment. Two species complex of naked amoebae were identified. The species complex of swamps includes species that are tolerant to concentration of organic substances dissolved in water. The complex of lakes, floodplains and rivers includes species that are tolerant to water temperature and the concentration of oxygen dissolved in water. The species composition of naked amoebae of rivers is most similar to those of floodplain reservoirs ($I_{cs}=0.76$) and lakes ($I_{cs}=0.66$), with swamp species I_{cs} is 0.51.

For the first time, the significance of certain morphotypes of naked amoebae was analyzed regarding their adaptation to various environmental factors in different types of biotopes (freshwater and marine water bodies, soils).

Naked amoebae of the monotactic morphotype have adapted to fresh water bodies with a relatively low water temperature. Species of flamellian and rugose morphotypes cannot exist at high concentrations of organic substances in water. The species composition of certain morphotypes in floodplains depends on the concentration of organic substances dissolved in water, in lakes and swamps on the concentration of oxygen dissolved in water, and in rivers on water temperature. Quite high similarity in the composition of naked amoeba morphotypes was established between rivers, lakes, floodplain reservoirs, and swamps: in these reservoirs, 76 to 92 % of common morphotypes were found.

For the first time, marine species of naked amoebae (12 species) were identified in the Black Sea (Odesa region, Ukraine), and the response of cells of individual species to a gradual decrease in salinity and salt stress was determined. All the identified species reacted differently to a gradual decrease in the salinity of the

environment. For all naked amoebae, no significant differences were found between the generation time of control populations ($p > 0.05$), that is, constant subcultivation procedures did not cause changes in the growth rate and generation time of naked amoebae at different salinity of the environment (17.6 ‰, 12.6 ‰, 7.6 ‰, 2.6 ‰). Rapid salt stress without acclimatization of amoeba cells reduced the salt resistance in all studied species, in particular, reduced their generation time and tolerance. In addition, morphological changes and excessive vacuolation of cells were observed. During long-term reproduction of species at low salinity of the environment, the number of floating forms in cultures decreased, and after a certain period of time we did not isolate viable amoebas. In relation to water salinity, euryhaline and stenohaline species were distinguished. Amoebae of the fan-shaped and acanthopodial morphotypes can exist at high salinity of the sea.

For the first time, it was established that the formation of species complexes and morphotype complexes of naked amoebae in the soils of Ukraine is influenced by temperature, acidity, humidity, and soil types. The ecological groups of soil species of naked amoebae were observed as follows: in relation to temperature, thermophilic, psychrophilic, mesophilic; in relation to acidity, acidophilic, neutrophilic; in relation to humidity, hygrophilic, mesophilic.

At average temperature and moderate soil moisture, amoebae of the rugose morphotype can exist.

According to composition, the species complexes of naked amoebae from different types of soil were divided into two groups: the first is defined by species from grey podzolized, dark grey podzolized, and gley soils; the second is found in podzolized chernozems, turf sand, grey podzolized, dark grey podzolized, and light grey podzolized soils, regraded chernozems, deep low-humus chernozems, ordinary low-humus chernozems, southern low-humus chernozems, ordinary medium-humus chernozems, and chernozems of meadow soils. The composition of the first and second groups of species complexes of naked amoebae is determined by species that are tolerant to soil moisture.

It was found that the formation of the species composition of naked amoebae and their morphotypes in epiphytic and epilithic mosses and lichens is influenced by the height above ground level and the humidity of the substrate. The composition of species and morphotypes of naked amoebae decreases with increasing height above ground level and with decreasing humidity of the substrate. *A. polyphaga* is a specific species for these biotopes.

Naked amoebae of the flamellian and lanceolate morphotypes are specific for fresh water bodies. It was specified that the composition of species and morphotypes of naked amoebas in sea water bodies is influenced by water temperature and salinity, in fresh water bodies by the concentration of oxygen and organic substances dissolved in water, in soils by the acidity of the biotope, and in epiphytic and epilithic biotopes by substrate moisture.

Based on the analysis of species compositions and molecular phylogenetics, it was confirmed for the first time that the freshwater fauna of naked amoebae originates from the marine one, and terrestrial fauna from freshwater.

Key words: naked amoebae, phylogenetics, 18S rRNA gene, morphotype, fresh and marine water bodies, soils, epiphytic and epilithic biotopes, environmental factors.

Подяка

Автор щиро вдячний науковому консультанту д.б.н., проф. Г. Є. Киричук за те, що ще з 2009 року спонукала до вивчення видів голих амеб, за підтримку, розуміння й цінні поради на всіх етапах роботи, за можливість роботи на базі Житомирського державного університету імені Івана Франка. Велика подяка д.б.н. В. О. Харченку за плідну співпрацю в Інституті зоології імені І. І. Шмальгаузена. Окрема подяка, к.б.н., с.н.с. Інституту молекулярної біології та генетики Скрипкіній І. Я. за допомогу в проведенні ідентифікації видів голих амеб із залученням методів молекулярної біології.