

КОРОТКИЙ ОГЛЯД ПРІСНОВОДНИХ ВИДІВ ГОЛИХ АМЕБ РОДУ *MAYORELLA* SCHAEFFER, 1926 (АМОЕВОЗОА; DISCOSEA)

М. К. ПАЦЮК  0000-0003-1185-8101

Житомирський державний університет імені Івана Франка,
вул. В. Бердичівська, 40, м. Житомир, 10008, Україна
e-mail: kostivna@ukr.net

Мета. Голі амеби широко поширені в водоймах та наземних біотопах. Цих організмів важко розмножувати в лабораторних умовах й ідентифікувати за морфологічними та генетичними ознаками. Тому метою роботи було виділити види голих амеб роду *Mayorella* з водойм України, встановити клональні культури, ідентифікувати на основі гену 18S рРНК та з'ясувати положення цих протистів на філогенетичному дереві Амоевозоа. **Методи.** Розмноження голих амеб на непоживному агар-агарі, встановлення клональних культур, сиквенування ДНК, філогенетичний аналіз. **Результати.** В прісних водоймах України зареєстровано 5 видів голих амеб роду *Mayorella*: *Mayorella cantabrigiensis*, *Mayorella vespertilioides*, *Mayorella penardi*, *Mayorella viridis*, *Mayorella* sp. На основі гену 18S рРНК підтверджена видова ідентифікація для *Mayorella vespertilioides* (OP739500) й *Mayorella* sp. (OP729930). На побудованому філогенетичному дереві Амоевозоа (на основі 20 послідовностей гену 18S рРНК різних видів голих амеб) представники роду *Mayorella* утворюють окрему групу в межах Discosea. Окрім того у кластері Discosea групуються види з рядів *Vannellida*, *Dactylopodida*, *Thecamoebida*. До складу *Tubulinea* входять види амеб із родів *Amoeba*, *Chaos* й *Saccamoeba*. **Висновки.** На основі сиквенування ДНК нами ідентифіковано 2 види голих амеб роду *Mayorella*. Для двох видів встановлені клональні культури. На філогенетичному дереві *Mayorella*-подібні амеби групуються в межах молекулярного кластеру Discosea.

Keywords: голі амеби, ген 18S рРНК, *Mayorella*, філогенетичний аналіз.

Вступ. Під час дослідження фауни голих амеб водойм та ґрунтів постійно реєструються нові види (Patsyuk, 2023; Peglar et al., 2003). Вивчення особливостей біології цих протистів показує, що діагноз більшості видів потребує уточнення. Сучасна систематика Амоевозоа потребує комплексного вивчення організмів, що включає світлову та електронну мікроскопію, молекулярно-генетичні методи дослідження. Для цього необхідно виділяти амеб в культури й отримувати клональний матеріал. Такі методики впливають на кінцеві та достовірні результати дослідження.

Голі амеби належать до групи Амоевозоа, в межах якої виділяють молекулярні кластери *Tubulinea*, *Discosea* й *Evosea* (Cavalier-Smith, 1998; Cavalier-Smith et al., 2004, 2016).

Рід *Mayorella* належить до родини Mayorellidae Schaeffer, 1926, ряду Dermamoebidae Cavalier-Smith, 2004, класу Discosea. Для цих протистів характерні пальцеподібні або конусоподібні субпсевдоподії, які утворюються з зони гіалінової цитоплазми; у деяких видів під час руху субпсевдоподії зникають. Довжина рухомої клітини більша за її ширину; флотуючі форми з загостреними на кінцях псевдоподіями, які виступають з центральної клітинної маси неправильної форми; ядро везикулярного типу з центральним ядрцем.

Серед представників зустрічаються ґрунтові, прісноводні й морські види (Page and Siemensma, 1991). Генетична різноманітність *Mayorella*-подібних амеб невивчена. Амеб цього роду важко підтримувати в культурах, тому ці протисти є важкими об'єктами для молекулярно-генетичних досліджень. У GenBank опубліковано невелику кількість послідовностей гену 18S рРНК *Mayorella*: *Mayorella gemmifera* — 2 послідовності (EU719190; PV591311); *Mayorella vespertilioides* — 2 послідовності (OP739500; PV591313); *Mayorella* sp. — 14 послідовностей (PV591312; OZ243098; OP729930; MG428633; MG428632; MG428631; MG428630; MG428629; MG428628; MG428627; MG428626; AY294152; FJ710515; AY294143). На основі сучасної світлової мікроскопії описано близько 10 видів (Page and Siemensma, 1991). Морфологічна система голих амеб зручна для ідентифікації та опису морфологічного різноманіття видів (Page, 1988; Page and Siemensma, 1991; Rogerson and Patterson, 2002) й не відображає філогенетичні зв'язки між таксонами. Сучасні філогенетичні системи цих протистів (побудовані на основі послідовностей гену 18S рРНК, актину,

тубуліну, HSP90) підтверджують правильність виділення окремих груп голих амеб в морфологічних класифікаціях, а також дають відповіді на запитання проблеми походження видів (Cavalier-Smith, 1998; Cavalier-Smith et al., 2004; 2016; Peglar et al., 2003).

Оскільки рід *Mayorella* є невивченою групою голих амеб, застосування сучасних морфологічних і молекулярних методів дозволить розширити уявлення щодо різноманітності, філогенії та систематики цих протистів у цілому. Тому метою нашого дослідження було виділити види голих амеб роду *Mayorella* з водойм України, встановити клональні культури, визначити види за комплексом ознак (морфологічних та молекулярно-генетичних) й на основі сиквенованого гену 18S рРНК з'ясувати положення ідентифікованих протистів на філогенетичному дереві Amoebozoa.

Матеріали і методи

Дослідження проводили впродовж 2015–2021 рр. (табл. 1). Амеб виділяли з прісних водойм України.

Таблиця 1. Місцезнаходження голих амеб роду *Mayorella*

№ з/п	Вид голих амеб	Місцезнаходження
1.	<i>Mayorella cantabrigiensis</i>	49°59'58.1"N 28°29'29.1"E 50°13'41.9"N 28°34'43.6"E 5017'24.8"N 28°37'02.6"E 50°16'31.8"N 25°37'54.8"E 48°19'24.2"N 23°35'49.7"E 52°16'01.1"N 33°20'41.0"E
2.	<i>Mayorella vespertilioides</i>	49°59'58.1"N 28°29'29.1"E 50°13'41.9"N 28°34'43.6"E 5017'24.8"N 28°37'02.6"E 50°48'48.4"N 27°05'27.5"E 51°13'38.8"N 27°40'19.5"E 50°05'36.1"N 33°43'38.5"E
3.	<i>Mayorella penardi</i>	51°19'33.4"N 25°10'51.9"E 52°05'49.7"N 27°36'51.5"E
4.	<i>Mayorella viridis</i>	51°17'41.4"N 25°26'29.4"E 51°00'00.1"N 26°19'39.1"E
5.	<i>Mayorella</i> sp.	51°00'24.2"N 25°40'32.5"E 48°27'40.9"N 23°30'12.5"E

Проби відбирали в стерильні скляні посудини, доставляли в лабораторію й висівали на непоживний агар-агар. Розмножували голих

амеб за методикою Ф. Пейджа (Page, 1988; Page and Siemensma, 1991). Геномну ДНК виділяли гуанідин-ізотіюанатним методом (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). Полімеразна ланцюгова реакція включала етапи: початкова денатурація (10 хвилин, 95 °C); 40 циклів (30 секунд, 94 °C; 60 секунд, 50 °C; 2 хвилини 30 секунд, 72 °C); фінальна елонгація (10 хвилин, 72 °C). Очищували

амплікони з використанням набору CleanUp mini Purification Kit (Eurogene), сиквенували – ABI-Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit. Філогенетичний аналіз проводили за допомогою програми MEGA 10.0 (Kumar et al., 2016). Для філогенетичного аналізу використані послідовності ДНК різних видів голих аміб, які доступні в базі даних GenBank (табл. 2).

Таблиця 2. Послідовності ДНК різних видів голих аміб, які використані під час філогенетичного аналізу

№ з/п	Вид голих аміб	Номер послідовності ДНК в GenBank
1.	<i>Amoeba proteus</i>	ON907618
2.	<i>Amoeba proteus</i>	AJ314604
3.	<i>Chaos nobile</i>	AJ314606
4.	<i>Saccamoeba limax</i>	GU569162
5.	<i>Saccamoeba limax</i>	EU869301
6.	<i>Vannella lata</i>	AF464917
7.	<i>Vannella lata</i>	OL305063
8.	<i>Vannella</i> sp.	MZ079372
9.	<i>Korotnevella stella</i>	AY686573
10.	<i>Korotnevella stella</i>	ON398267
11.	<i>Korotnevella stella</i>	ON398266
12.	<i>Thecamoeba similis</i>	OL597873
13.	<i>Thecamoeba similis</i>	OL597874
14.	<i>Thecamoeba quadrilineata</i>	DQ122381
15.	<i>Stenamoeba stenopodia</i>	OP375108
16.	<i>Mayorella vespertilioides</i>	OP739500
17.	<i>Mayorella</i> sp.	FJ710515
18.	<i>Mayorella</i> sp.	OP729930
19.	<i>Mayorella</i> sp.	MG428630
20.	<i>Willaertia magna</i>	OK649263

Результати та обговорення

З прісних водойм України нами виділені такі представники роду *Mayorella*: *Mayorella cantabrigiensis* Page, 1983, *Mayorella vespertilioides* Page, 1983, *Mayorella penardi* Page, 1972, *Mayorella viridis* Leidy, 1874, *Mayorella* sp. Вперше отримані молекулярні дані для видів *Mayorella vespertilioides* й *Mayorella* sp., що поповнює базу даних GenBank й дозволяє оцінити генетичну різноманітність видів. Послідовності гену 18S рРНК для цих видів у GenBank містяться за номерами

OP739500 й OP729930 відповідно. Усі ідентифіковані нами види були представлені різними сиквенсами гену 18S рРНК. Найдовшу послідовність цього гену має вид *Mayorella* sp. — 509 п.н., найкоротшу *Mayorella vespertilioides* — 497 п.н. Вміст G/C — пар в отриманих послідовностях є досить звичайним: *Mayorella vespertilioides* — 43 %, *Mayorella* sp. — 42 %. Дивергенція сиквенсів між різними видами роду *Mayorella* становить від 2,5 до 17,6 %.

Короткий огляд прісноводних видів голих амеб роду *Mayorella* Schaeffer, 1926...

На основі послідовностей гену 18S рРНК нами встановлена генетична відмінність між представниками роду *Mayorella* та іншими родами в межах групи Discosea. Так, наприклад, дистанція між генами *Mayorella vespertilioides* (OP739500) та *Thecamoeba quadrilineata* (DQ122381) й *Thecamoeba similis* (OL597874) відповідно становить 0,152 й 0,147. При цьому вид *Mayorella* sp.

(OP729930) дистанціюється від *Stenamoeba stenopodia* (OP375108) ще більше — 0,228.

На побудованому нами філогенетичному дереві (на основі 20 послідовностей гену 18S рРНК різних видів голих амеб) представники роду *Mayorella* утворюють окремий кластер в межах групи Discosea (рис. 1).

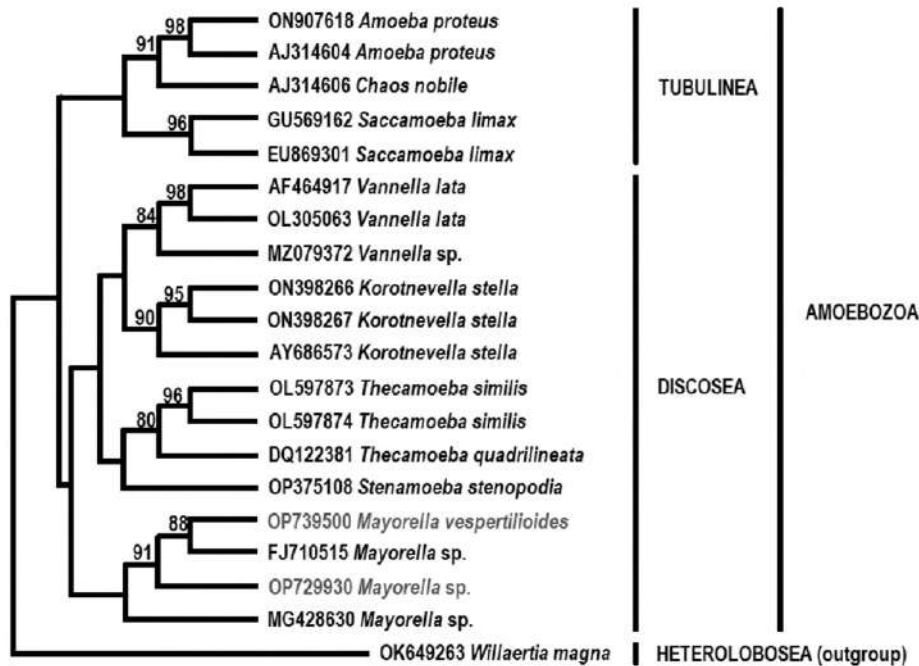


Рис. 1. Положення представників роду *Mayorella* на філогенетичному дереві Амєбозоа (оригінальні сиквенси виділені світлішим кольором).

Різні види групуються між собою з достатньо високою бутстреп-підтримкою (88–91 %). Спільну групу утворюють види *Mayorella vespertilioides* (OP739500) й *Mayorella* sp. (FJ710515), сестринськими по відношенню до яких є невідомі майорелли, сиквенси яких містяться в GenBank під номерами OP729930 й MG728630. *Mayorella*-подібні амеби на філогенетичному дереві Амєбозоа є сестринською групою по відношенню до амеб, які належать до рядів Vannellida ((*Vannella lata* (AF464917) + *Vannella lata* (OL305063)) + *Vannella* sp. (MZ079372)); Dactylopodida ((*Korotnevelia stella* (AY686573) + *Korotnevelia stella* (ON398267) + *Korotnevelia stella* (ON398266))) й Thecamoebida ((*Thecamoeba similis* (OL597873) + *Thecamoeba simi-*

lis (OL597874)) + *Thecamoeba quadrilineata* (DQ122381)) + *Stenamoeba stenopodia* (OP375108))).

Tubulinea об'єднує види, що належать до ряду Euamoebida ((*Amoeba proteus* (ON907618) + *Amoeba proteus* (AJ314604)) + (*Chaos nobile* (AJ314606)) + (*Saccamoeba limax* (GU569162) + *Saccamoeba limax* (EU869301))).

У літературі відсутні будь-які відомості щодо положення видів роду *Mayorella* на філогенетичних деревах еукаріот. В окремих роботах зазначено, що родина Mayorellidae це добре підтриманий монофілетичний таксон в межах групи Discosea. Монофілія була підтверджена дослідженнями, виконаними на основі універсального гену 18S рРНК та мультигенним аналізом (Cavalier-Smith et al., 2016; Tekle et al., 2008). Подібну закономірність підтверджують й наші дані.

Висновки

З прісних водойм України нами виділено 5 видів голих амеб роду *Mayorella*. Ідентифіковано 2 види на основі гену 18S рРНК — *Mayorella vespertilioides* й *Mayorella* sp. На філогенетичному дереві, побудованому на основі 20 послідовностей гену 18S рРНК різних видів Амoebozoa, представники роду *Mayorella* утворюють окремий кластер в межах молекулярної групи Discosea. Отримані сиквенси видів *Mayorella vespertilioides* (OP739500) й *Mayorella* sp. (FJ710515) попадають у групу *Mayorella*-подібних амеб, що підтверджує правильність проведених досліджень. Наші дослідження поповнили базу даних GenBank новими послідовностями ДНК видів голих амеб, що у перспективі допоможе оцінити генетичну різноманітність амебоїдних протистів. Різноманітність представників роду *Mayorella* залишається невиченою, ця група містить ще багато неідентифікованих і неописаних видів.

Перелік літератури

1. Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*. 1998. Vol. 73. P. 203–266.
2. Cavalier-Smith T., Chao E., Oates B. Molecular phylogeny of Amoebozoa and the evolutionary significance of the unikont Phalansterium. *European Journal of Protistology*. 2004. Vol. 40. P. 21–48.
3. Cavalier-Smith T., Chao E. E., Lewis R. 187-gene Phylogeny of protozoan phylum Amoebozoa reveals a new class (Cutosea) of deep-branching, ultrastructurally unique, enveloped marine Lobosa and clarifies amoeba evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2016. Vol. 99. P. 275–296. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.03.023>
4. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology Evolution*. 2018. Vol. 35 (6). P. 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
5. Maniatis T., Fritsch E. F., Sambrook J. Molecular cloning, a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 1982.
6. Medlin L., Elwood H. J., Stickel S., Sogin M. L. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. *Gene*. 1988. Vol. 71. P. 491–499. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(88\)90066-2](https://doi.org/10.1016/0378-1119(88)90066-2)
7. Page F. C. A new key to freshwater and soil gymnamoenae. Ambleside (Cumbria, UK): Freshwater Biological Association, 1988.
8. Page F. C., Siemensma F. J. Nackte Rhizopoda und Heliozoa (Protozoenfauna Band 2). Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag, 1991. P. 3–170.
9. Patsyuk M. K. New finds of naked amoebae. *Biosystems Diversity*, 2022. № 30 (2). P. 157–162. <https://doi.org/10.15421/012216>
10. Patsyuk M. Phylogenetic relationships among naked amoebae found in natural biotopes. *Cytology and Genetics*. 2023. Vol. 57 (6). P. 567–578. <https://doi.org/10.3103/s0095452723060063>
11. Peglar M., Amaral-Zettler L., Anderson O., Nerad T., Nerad T. A., Gillevet P. M., Mullen T. E., Jr S. F., Silberman J. D., O'Kelly C. J., Sogin M. L. Two new small-subunit ribosomal RNA gene lineages within the subclass Gymnamoebia. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2003. Vol. 50. P. 224–232. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2003.tb00122.x>
12. Rogerson A., Patterson D. The Naked Ramicristate Amoebae (Gymnamoebae). An Illustrated Guide to the Protozoa / Editors: J. J. Lee, G. F. Leedale, P. Bradbury. 2002. P. 1023–1053.
13. Tekle Y. I., Grant J., Anderson O. R., Nerad T. A., Cole J. C., Patterson D. J., Katz L. A. Phylogenetic placement of diverse amoebae inferred from multigene analyses and assessment of clade stability within 'Amoebozoa' upon removal of varying rate classes of SSU-rDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2008. Vol. 47. P. 339–352. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.11.015>

Стаття надійшла до редакції 9.06.2025
прийнята до друку 18.07.2025

A BRIEF OVERVIEW OF FRESHWATER SPECIES OF NAKED AMOEBAE GENUS MAYORELLA SCHAEFFER, 1926 (AMOEBOZOA; DISCOSEA)

M. K. Patsyuk

Zhytomyr Ivan Franko State University,
Velyka Berdychivska str., 40, Zhytomyr, 10008, Ukraine

Aim. Naked amoebae are widespread in water bodies and terrestrial biotopes. These organisms are difficult to reproduce in laboratory conditions and identify by morphological and genetic characteristics. Therefore, the aim of the study was to identify species of naked amoebae of the genus *Mayorella* from water bodies in Ukraine, establish clonal cultures, identify them based on the 18S rRNA gene, and determine the position of these protists in the Amoebozoa phylogenetic tree. **Methods.** Reproduction of naked amoebae on non-nutrient agar-agar, establishment of clonal cultures, DNA sequencing, phylogenetic analysis. **Results.** Five species of naked amoebae of the genus *Mayorella* have been recorded in freshwater bodies in Ukraine: *Mayorella cantabrigiensis*, *Mayorella vespertilioides*, *Mayorella penardi*, *Mayorella viridis*, *Mayorella* sp. Based on the 18s rRNA gene, species identification *Mayorella vespertilioides* (OP739500) and *Mayorella* sp. (OP729930). In the constructed phylogenetic tree of Amoebozoa (based on 20 sequences of the 18S rRNA gene of different species of naked amoebae), representatives of the genus *Mayorella* form a separate cluster within Discosea. In addition, the Discosea group includes species from the orders Vannellida, Dactylopodida and Thecamoebida. The Tubulinea cluster groups together species of amoeba from the genera *Amoeba*, *Chaos* and *Saccamoeba*. **Conclusions.** Based on DNA sequencing, we have identified two species of naked amoebae of the genus *Mayorella*. Clonal cultures have been established for two species. In the phylogenetic tree, *Mayorella*-like amoebae are grouped within the Discosea molecular cluster.

Keywords: naked amoebae, 18S rRNA, *Mayorella*, phylogenetic analysis.