

На правах рукописи



Загумённый Дмитрий Геннадьевич

**МОРФОЛОГИЯ И ФИЛОГЕНИЯ
ЦЕНТРОХЕЛИДНЫХ СОЛНЕЧНИКОВ
(CENTROPLASTHELIDA)**

1.5.12 – зоология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Борок 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук

**Научный
руководитель:**

Тихоненков Денис Викторович

доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории микробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук (ИБВВ РАН)

**Официальные
оппоненты:**

Довгаль Игорь Васильевич

доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории проблем идентификации вида Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН»

Плотников Андрей Олегович

кандидат медицинских наук, директор Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН

**Ведущая
организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Зоологический институт Российской академии наук

Защита состоится «__» _____ 2023 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.034.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН по адресу: 152742, Ярославская область, Некоузский район, п. Борок, д. 109.

Тел./факс: 8 (48547) 24042; e-mail: dissovet@ibiw.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина Российской академии наук по адресу: 152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок, д. 109 и на сайте <http://www.ibiw.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Учёный секретарь диссертационного совета

доктор биологических наук



Л.Г. Корнева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Центрохелидные солнечники (*Centroplasthelida* Febvre-Chevalier 1984) – это монофилетический таксон хищных амебодных протистов, включающий в себя более сотни описанных представителей. Несмотря на то, что центрохелидные солнечники присутствуют во всех экологических группировках гидробионтов и населяют практически все типы биотопов, играя важную роль в круговороте вещества и энергии в составе микробиальных сообществ, они всё еще остаются крайне скудно изученными (Siemensma, 1991; Arndt, 1993; Stensdotter-Blomberg, 1998; Микрюков, 2002 и др.). Исследования центрохелид затрудняются сложностью их культивирования, а также необходимостью использования электронной микроскопии для идентификации видов.

Центрохелиды представляют отдельную древнюю эволюционную линию эукариот, разошедшуюся со своими ближайшими родственниками – гаптофитовыми водорослями – еще в палеопротерозое (Strasser et al., 2021). Несмотря на достаточно продолжительные микропалеонтологические исследования, начатые в середине XIX века (Ehrenberg, 1854), к настоящему времени накоплено крайне мало свидетельств о центрохелидах в составе геологических отложений, что обусловлено, в первую очередь, недоизученностью группы. У центрохелидных солнечников присутствует минеральный скелет, состоящий из видоспецифичных кремнеземных чешуек, устойчивых к разложению. Так, в кимберлитовой трубке Giraffe Pipe на севере Канады, заполненной эоценовыми отложениями возрастом в десятки миллионов лет, обнаружены прекрасно сохранившиеся чешуйки центрохелидных солнечников (Siver, Lott, 2023). Накопление сведений о разнообразии группы, а также изучение вопроса приуроченности разных видов центрохелид к определенным типам биотопов, в будущем может дать возможность их использования для палеореконструкций наряду с другими организмами, что крайне важно в современных условиях изменения климата.

Внедрение молекулярных методов анализа для изучения центрохелид и секвенирование природных проб показало, что в настоящее время известно предположительно лишь 10% реального разнообразия центрохелидных солнечников (Cavalier-Smith, von der Heyden, 2007), что подтверждается постоянным обнаружением не только ранее неизвестных видов (Леонов, 2010а; Леонов, Мильников, 2012; Tikhonenkov, Myl'nikov, 2011; Леонов, Мильников, 2012; Cavalier-Smith, Chao, 2012; Prokina et al., 2019; Prokina et al., 2020; Zlatogursky, 2014, 2015; Drachko et al., 2021 и др.), но также родов и семейств (Shishkin et al., 2018; Shishkin et al., 2021; Shishkin-Skarð et al., 2022).

Благодаря развитию и широкому распространению метабаркодинговых исследований в разнообразных биотопах, к настоящему времени накопился большой объем данных по результатам секвенирования природных проб, который, зачастую, не представляется возможным эффективно использовать ввиду слабой изученности группы и невозможности аннотирования нуклеотидных последовательностей центрохелид точнее, чем до семейства. Результаты секвенирования ампликонов гена 18S рРНК неидентифицированных центрохелид из природных местообитаний и филогенетические построения позволили выявить большое количество клад природных сиквенсов на филогенетическом дереве центрохелид, для которых в настоящее время отсутствуют данные о морфологии покровов.

Основные исследования центрохелидных солнечников были проведены на пресных водоемах, менее распространены исследования морских и солоноватых вод.

Значительно реже встречаются исследования наземных и почвенных биотопов. Ранее считалось, что почвенные биотопы малопригодны для обитания центрохелид ввиду недостатка влаги (Микрюков, 2002), и целенаправленных исследований солнечников там не проводилось. Однако, метабаркодинговые исследования показывают, что почвенные центрохелиды многочисленны и даже более разнообразны, чем морские и пресноводные (Geisen et al., 2015; Singer et al., 2021).

Несмотря на усилия, прилагаемые специалистами по данной группе протистов, ввиду отсутствия информации о морфологии огромного числа центрохелид и скудном наборе молекулярных данных по группе, таксономия центрохелид остается не до конца разработанной. Недостаточно изучены филогенетические отношения внутри *Centroplasthelida* на фоне потенциально крайне высокого видового разнообразия. Нуждаются в исследовании жизненные циклы, физиологические особенности и ультраструктура центрохелидных солнечников. Недавние открытия диморфизма жизненных циклов (Zlatogursky et al., 2018; Drachko et al., 2020) только усугубляют таксономические проблемы. До сих пор не проведено качественное сравнение ультраструктурных особенностей разных таксонов центрохелид (Yabuki et al., 2012).

В то же время, мало что известно о географическом распространении центрохелидных солнечников. Для ряда регионов мира по-прежнему нет сведений об этой группе протистов. Остается неисследованным вопрос, распространены ли одни и те же виды центрохелид по всему миру или, подобно макроорганизмам, их распределение подчиняется общим правилам исторической биогеографии? К настоящему времени известно, что одни и те же морфовиды центрохелидных солнечников могут быть найдены в разных регионах земного шара (Nicholls, 1983; Dürrschmidt, 1985, 1987a, 1987b; Croome, 1986, 1987; Siemensma, Roijackers, 1988a, 1988b; Prokina et al., 2019; Zagumyonnyi et al., 2020a; 2022 и др.), вследствие чего можно предположить космополитический характер их распространения. Однако, на эти результаты могут сильно влиять неверная идентификация, недостаточность выборки, скудность или отсутствие данных по некоторым регионам. Имеющиеся молекулярные данные из различных природных местообитаний с одной стороны выявляют филогенетические клады, в которых присутствуют сиквенсы из географически удаленных биотопов, с другой – показывают наличие уникальных филогенетических линий, представители которых вполне могут иметь ограниченное распространение. Этот и многие другие вопросы экологии, биологии и систематики центрохелид остаются в настоящее время открытыми, что подчеркивает актуальность изучения данной группы протистов.

Цель и задачи исследований

Цель работы – изучение видового богатства, морфологии и филогении центрохелидных солнечников в разнотипных биотопах.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Выявить видовой состав центрохелидных солнечников из широкого ряда географически удаленных морских, солоноватоводных, пресноводных, наземных и почвенных биотопов.
2. Подробно изучить морфологию покровов центрохелид при помощи методов световой, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии.
3. Выделить в клональные культуры новые и малоизученные виды для исследования их внешней морфологии и variability покровных элементов клеток.

4. Провести молекулярно-филогенетические исследования и установить таксономическое положение новых и малоизученных видов центрохелид, уточнить современные представления о филогении центрохелидных солнечников.

Научная новизна. На основе свето- и электронно-микроскопических и молекулярно-филогенетических исследований впервые получены данные о видовом составе центрохелид в ряде регионов России, Украины, Монголии, Вьетнама, Южной Кореи и других стран. Дополнены сведения о центрохелидах для территорий, где ранее уже проводились исследования. Описаны представители новых родов центрохелидных солнечников *Khitsovia* и *Triangulopteris*, а также 6 новых видов: *Acanthocystis tyrasiana*, *Khitsovia mutabilis*, *Pterocystis jongsooparkii*, *P. pontica*, *P. borysthenica* и *Triangulopteris lacunata*. Центрохелидный солнечник клона НМ-5Z представляет новое семейство и новый род внутри Panacanthocystida.

Для 57-ми центрохелидных солнечников выявлены морфологические особенности строения скелетных элементов, отличающие их от уже известных морфовидов центрохелид. Для 10 из них получены молекулярные данные, позволяющие описать их как новые виды.

Полученные молекулярные и микроскопические данные о 42-х представителях центрохелидных солнечников позволили морфологически охарактеризовать 9 филогенетических клад центрохелид, ранее представленных исключительно природными сиквенсами. Кроме того, показано существование 5-ти ранее не известных клад на филогенетических деревьях, что значительно расширяет знания о филогении данной группы.

Впервые установлено филогенетическое положение представителей рода *Pseudoraphidiophrys* и показана их принадлежность к Pterista, а не к Raphidista, как считалось ранее.

Результаты работы демонстрируют полифилию родов *Choanocystis*, *Raineriophrys* и *Pterocystis*, требующую проведения таксономических ревизий. У *P. borysthenica* описаны уникальные цистные чешуйки. У *Khitsovia mutabilis* описан ранее неизвестный для центрохелид тип эксцистирования. Для ряда видов впервые показано наличие спикулонесущей стадии в жизненном цикле.

Теоретическая и практическая значимость. Морфологические описания и полученные молекулярно-филогенетические данные могут помочь в разработке более точной таксономической системы центрохелид, а также дополняют и расширяют представления о разнообразии и морфологии скелетных элементов.

Полученные нуклеотидные последовательности рибосомальных генов морфологически охарактеризованных представителей центрохелид позволят в дальнейшем проводить более точную таксономическую аннотацию природных сиквенсов при проведении метабаркодинговых исследований на разнотипных водоемах, а также в почвах.

Полученные данные о географическом распространении отдельных видов центрохелид вносят вклад в понимание тенденций глобального распределения одноклеточных эукариот.

Подготовленные таксономические описания и иллюстрации могут быть использованы для идентификации центрохелид, а также для составления учебных пособий по протистологии. Сведения о таксономии центрохелид и приуроченности видов к различным типам местообитаний будут служить разработке подходов

биоиндикации с использованием этой группы протистов, включая разработку методов палеорекострукции на основе длительно сохраняющихся кремнеземных чешуек.

Положения, выносимые на защиту:

1. Таксономические исследования центрохелидных солнечных требуют применения комплексного подхода (молекулярная филогения, морфология скелетных элементов, изучение жизненных циклов), поскольку установлено, что в ряде таксонов морфология покровных клеточных чешуек не является надежным диагностическим признаком.
2. Наличие цист, позволяющих успешно переносить неблагоприятные условия, обуславливает высокую встречаемость центрохелид в наземных биотопах с непостоянным увлажнением (почвы, эпифитные мхи), а также их жизнеспособность в многолетнемерзлых отложениях, что отрицает представление о малозаселенности почвенных биотопов солнечниками ввиду недостатка влаги.

Апробация результатов диссертации. Материалы диссертации были доложены и обсуждены на Международном протистологическом конгрессе «PROTIST–2016» (6–10 июня 2016 г., Москва); XXII съезде Международного Общества Эволюционной Протистологии (ISEP) (27 мая – 02 июня 2018 г., Друша, Кипр); XXVI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «ЛОМОНОСОВ», (8–12 апреля 2019 г., Москва); XI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием для молодых учёных по проблемам водных экосистем «ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ – 2019» (23–27 сентября 2019 г., Севастополь); объединенном пленуме Научного совета по гидробиологии и ихтиологии РАН, Гидробиологического общества при РАН и Межведомственной ихтиологической комиссии "Основные итоги и перспективы исследований биоразнообразия и биоресурсов водоемов России" (16 ноября 2019 г., Москва); онлайн постерной сессии по протистам (Online Poster Session on Protists) при поддержке Международного Общества Протистологов (ISOP) и Международного Общества Эволюционной Протистологии (ISEP) (10–14 августа 2020 г.); XXVIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» в рамках Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2021» (12–23 апреля 2021 г., Москва); Международной научной конференции, посвящённой 150-летию Севастопольской биологической станции Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий» (13–18 сентября 2021 г., Севастополь); XII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием по проблемам водных экосистем ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ – 2021 (20–24 сентября 2021 г., Севастополь); IV Всероссийской молодёжной научной школе-конференции с международным участием «Микробные симбиозы в природных и экспериментальных экосистемах» (4–8 октября, 2021 г., Оренбург); Всероссийской научной конференции, посвящённой 65-летию Института биологии внутренних вод имени И.Д. Папанина Российской академии наук «Биология водных экосистем в XXI веке: факты, гипотезы, тенденции» (21–26 октября 2021 г., Борок); XIX Всероссийском совещанием по почвенной зоологии «Биота, генезис и продуктивность почв» (15–19 августа 2022 г., Улан-Удэ); IV Всероссийской конференции с международным участие «Актуальные проблемы планктонологии» (25–30 сентября 2022 г. Светлогорск, Калининградская область).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 22 работы, из них 8 научных статей в рецензируемых журналах из списка, рекомендованного ВАК, в том числе 8 статей в журналах Web of Science и Scopus.

Структура и объем работы. Работа изложена на 292 страницах, содержит 114 рисунков, одну таблицу, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы из 196 источников, в том числе – 174 иностранных, а также двух приложений.

Личный вклад соискателя. Автором собрана большая часть проб для исследования. Самостоятельно проводились получение и обработка всех накопительных культур, выделение и исследование живых клональных культур, подготовка и проведение свето- и электронно-микроскопических исследований, морфометрический и сравнительный анализ, идентификации, подготовка иллюстраций. Автором также получена большая часть молекулярных данных, проведены филогенетические построения, анализ и теоретическое обобщение результатов.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю д.б.н. Д.В. Тихоненкову за неоценимую помощь в освоении методик, отзывчивость, внимание к работе и ценные советы. Также автор искренне благодарен своим учителям д.б.н. А.П. Мыльникову за привитый интерес к научной деятельности, вовлечение в изучение протистов, помощь в освоении методик, помощь и внимание к работе, а также д.б.н., проф. Л.Н. Хицовой за наставления, внимание и поддержку. Автор благодарен М.М. Леонову за привлечение к изучению центрохелидных солнечников, Е.В. Аксёненко за поддержку и внимание к работе. Автор также благодарен Ю.В. Белобродской, В.Н. Будаеву, В.С. Вишнякову, С.В. Губину, И. Дрозду, Ю.В. Дубровскому, Т.Н. Ерёминой, Г.Н. Загумённому, Е.В. Загумённой, А.Г. Корнясову, А.В. Лупачеву, В.Н. Петрову, А.А. Пржиборо, Ю.Г. Удоденко, А.А. Прокину, Д.А. Филиппову, М.В. Черкасских за помощь в отборе проб; коллегам А.О. Беляеву, А.С. Бородиной, О.Н. Загумённой, К.И. Прокиной, Л.В. Радайкиной за постоянную поддержку и помощь в лабораторных исследованиях и обсуждении материалов работы; В.В. Златогурскому за постоянный интерес к проведенным исследованиям и ценные советы; К.В. Михайлову за помощь в освоении методов филогенетики; Б.А. Кирюхину за помощь и обсуждение биоинформатических аспектов анализа; Б.А. Лёвину за помощь с секвенированием; Г. Быкову, З. Быковой и С.И. Метелеву за помощь и советы по работе с электронными микроскопами; А.А. Гандлину за помощь в освоении ArcGIS и помощь в подготовке к секвенированию; С.Э. Болотову, Ю.В. Герасимову, Е.А. Герасимовой, И.В. Бурковскому, Т.Г. Симдянову, А.В. Толстикovu, А.И. Цветкову, А.Н. Шарову, Jong Soo Park за помощь в экспедиционных работах и их организации; а также родным и близким за их понимание терпение, и постоянную поддержку.

Работа выполнялась при поддержке грантов Российского Научного Фонда: 14-14-00515 «Гетеротрофные корни филогенетического древа эукариот: морфологическое и геномное исследование анцестральных линий простейших», руководитель Тихоненков Д.В. (2014–2016); 18-14-00239 «Реконструирование ранней эволюции эукариот путем исследований гетеротрофных одноклеточных», руководитель Тихоненков Д.В. (2018–2022); Российского Фонда Фундаментальных Исследований: 12-04-31074-мол-а Таксономическое и морфологическое разнообразие центрохелидных солнечников России и зарубежья, руководитель Леонов М.М. (2012–2013); 14-04-00500 А «Биология, ультраструктура и филогения амебоидных протистов

(амебозоев, церкозоев и солнечников)», руководитель Мыльников А.П. (2014–2016); 17-04-00565 А «Ультраструктура и филогения свободноживущих экскават, ризарий (церкозоев) и солнечников», руководитель Мыльников А.П. (2017–2019); 20-04-00583 А «Объективизация взглядов на биоразнообразие, экологию и эволюцию эукариот сквозь призму исследований гетеротрофных протистов», руководитель Тихоненков Д.В. (2020–2022); гранта Правительства Тюменской области в рамках проекта Западно-Сибирского межрегионального научно-образовательного центра мирового уровня № 89-ДОН (2), а также госзадания 121051100102-2 (Роль прокариотных и эукариотных микроорганизмов и вирусов в структуре и функционировании водных экосистем).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. Обзор литературы

В данной главе рассмотрено филогенетическое положение центрохелидных солнечников, особенности их биологии, питание, размножение и жизненные циклы, внутреннее и внешнее строение, наличие симбионтов и паразитов, характер распределения в биотопах, а также затронуты микропалеонтологические аспекты.

ГЛАВА 2. Материал и методы исследований

Материал был собран в различных регионах Евразии с 2013 по 2022 год в разнотипных водных и наземных биотопах. После доставки образцов в лабораторию готовили накопительные и клональные культуры путем отсадки единичных клеток на среду соответствующей осмотичности с добавлением в качестве пищи культуры кинетопластид. Для исследования живых центрохелид применяли прямой световой микроскоп AxioScore A1 и инвертированный микроскоп Axio Observer 5 с фазовым и DIC контрастом, оборудованные аналоговой видеокамерой MC-1009/S и цифровыми камерами MC-12 и MC-20.

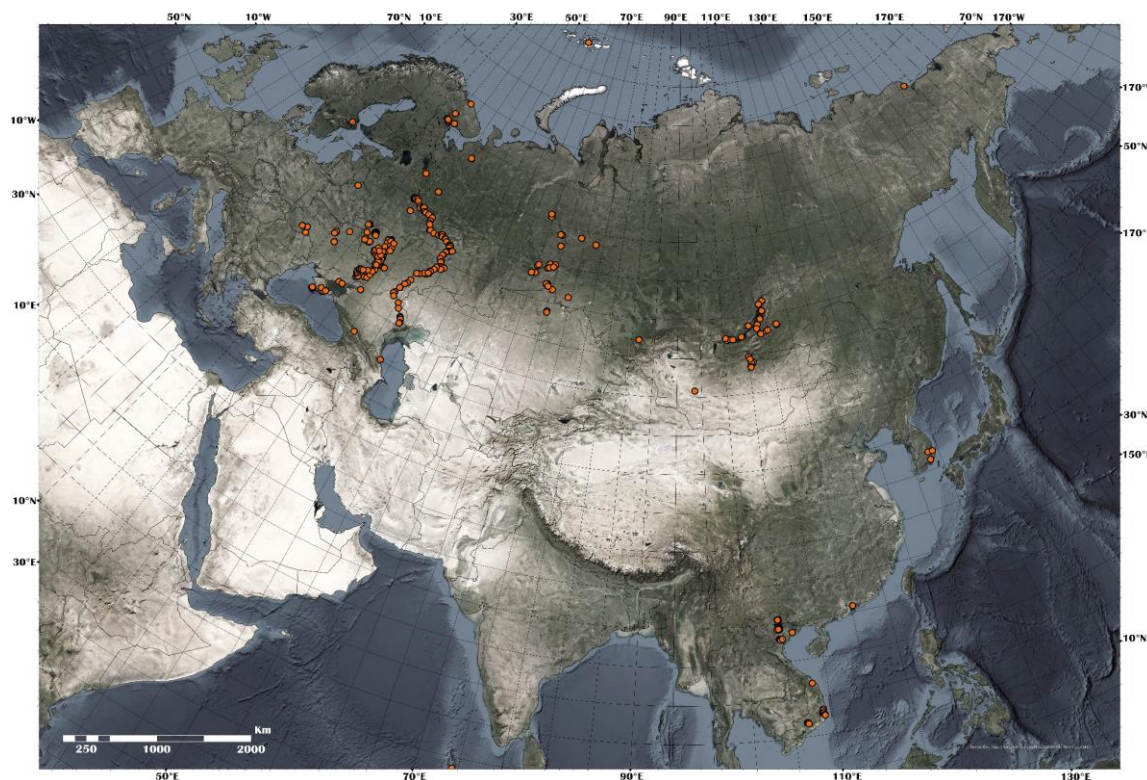


Рис. 1. Карта расположения станций отбора проб.

Для приготовления препаратов для СЭМ, клетки исследуемого организма отсаживали на покровные стекла. Капли с клетками высыхали при комнатной температуре, после чего стекла трижды промывали в дистиллированной воде, высушивали и приклеивали с помощью токопроводящих наклеек к алюминиевым столикам для микроскопии. После этого стекла напыляли слоем золота толщиной ~15 нм. Препараты с клетками исследовали на сканирующем электронном микроскопе JSM-6510 LV (JEOL, Токио, Япония) при ускоряющем напряжении 15–30 кВ.

Для приготовления тотальных препаратов на медную сеточку с формваровым покрытием помещали капли культуры с клетками центрохелид, после чего ожидали их высыхания. После этого, поверхность сеточек промывали дистиллированной водой в течение 5–15 минут и снова высушивали. Готовые сеточки оттеняли окисью вольфрама (WO₂), а затем просматривали на трансмиссионных электронных микроскопах JEM 100C и JEM-1011 с ускоряющим напряжением 85 кВ.

Измерения морфологических параметров производили по полученным изображениям со световых и электронных микроскопов с использованием программы ImageJ 1.52a.

Для выделения тотальной ДНК центрохелид ожидали полного выедания солнечниками кинетопластид. После этого, клетки центрохелид собирали центрифугированием либо фильтрованием на поликарбонатном мембранном фильтре. Для выделения ДНК использовали коммерческий набор MasterPure™ Complete DNA and RNA Purification Kit. После амплификации и проверки полученного продукта с помощью гель-электрофореза, полученный ПЦР-продукт очищали на колонках QIAquick PCR Purification Kit или путем вырезания фрагментов SSU rRNA из 1%-ного агарозного геля и очистки с помощью QIAquick Gel Extraction kit. Секвенсную реакцию проводили с помощью набора реагентов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, после чего проводили секвенирование по Сенгеру.

Полученные после секвенирования последовательности были ассемблированы из 4 перекрывающихся чтений с помощью программы Geneious R6 (v.6.0.6). Множественное выравнивание проводили с использованием алгоритма L-INS-i в консольной версии программ MAFFT 6.857b и MAFFT 7.475. Для удаления не консервативных участков выравнивания использовали метод «-gappyout» в консольной версии TrimAl (v. 1.4). Реконструкция филогенетических деревьев производилась методом максимального правдоподобия (IQ-TREE v1.5.4) и Байесовским методом (MrBayes v3.2.6). Филогенетические деревья были подготовлены при помощи FigTree v1.4.4

ГЛАВА 3. Морфология центрохелидных солнечныхников

В результате обработки полученных данных выявлено 122 вида и формы центрохелид (Табл. 1). Для них составлены подробные морфологические описания, представленные в систематическом порядке. К морфологическому описанию добавлены замечания, сравнения с близкими видами, таксономические комментарии, выявленное и известное из литературы распространение, а также указан материал, по которому строилось морфологическое описание.

Среди изученных видов и форм центрохелидных солнечныхников 47 имеют морфологические особенности строения покровных чешуек, отличающие их от уже известных морфовидов. Таксономический статус данных протистов может быть установлен только с использованием молекулярно-филогенетических исследований.

Описаны два новых рода центрохелид *Khitsovia* и *Triangulopteris* и 6 новых видов: *Acanthocystis tyrasiana*, *Khitsovia mutabilis*, *Pterocystis jongsooparkii*, *P. pontica*, *P. borysthenica* и *Triangulopteris lacunata*. Они характеризуются уникальными морфологическими характеристиками (рис. 2–7) и обособленным положением на филогенетическом древе 18S рРНК. Центрохелидный солнечник клона НМ-5Z представляет новое семейство и новый род внутри Panacanthocystida (рис. 8).

Таблица 1. Исследованные виды центрохелидных солнечников

Acanthocystidae	<i>Raphidocystis ambigua</i>	<i>R. elegans</i>	<i>Raineriohrys</i>
<i>Acanthocystis amura</i>	<i>R. bruni</i>	<i>R. minuta</i>	<i>erinaceoides</i>
<i>A. aff. amura</i>	<i>R. marginata</i>	<i>R. viridis</i>	<i>R. aff. erinaceoides 2</i>
<i>A. aff. amura 2</i>	<i>R. symmetrica</i>	<i>R. ovalis</i>	<i>R. aff. erinaceoides 3</i>
<i>A. antonkomolovi</i>	<i>R. tubifera</i>	<i>R. sp. 1</i>	<i>R. aff. erinaceoides 4</i>
<i>A. costata</i>	<i>R. sp. 1</i>	<i>Pseudoraphidiophrys</i>	<i>R. aff. erinaceoides 5</i>
<i>A. aff. crescenta</i>	Marophryidae	<i>discoidea</i>	<i>R. aff. erinaceoides 6</i>
<i>A. dentata</i>	<i>Marophrys nikolaevi</i>	<i>P. flabellata</i>	<i>R. aff. erinaceoides 7</i>
<i>A. elenazhivotovae</i>	<i>M. sp. 1.</i>	<i>P. veliformis</i>	<i>R. aff. erinaceoides 8</i>
<i>A. kirilli</i>	<i>M. sp. 2</i>	Clypiferidae	<i>R. echinata</i>
<i>A. lyra</i>	<i>M. sp. 3</i>	<i>Clypifer sp. 1</i>	<i>R. fortesca</i>
<i>A. mikrjukovii</i>	Ozanamiidae	Pterocystidae	<i>R. aff. fortesca 1</i>
<i>A. nichollsi</i>	<i>Ozanamia symna</i>	<i>Pterocystis</i>	<i>R. aff. fortesca 2</i>
<i>A. pectinata</i>	<i>O. aff. symna</i>	<i>borysthenica</i>	<i>R. aff. fortesca 3</i>
<i>A. aff. nichollsi</i>	Choanocystidae	<i>P. foliacea</i>	<i>R. kilianii</i>
<i>A. nigeriensis</i>	<i>Choanocystis aculeata</i>	<i>P. aff. foliacea</i>	<i>R. latimarginalis</i>
<i>A. penardi</i>	<i>Ch. aff. aculeata</i>	<i>P. jongsooparkii</i>	<i>R. pteromorphos</i>
<i>A. quadrifurca</i>	<i>Ch. cordiformis</i>	<i>P. paliformis</i>	<i>R. scaposa</i>
<i>A. siemensmae</i>	<i>parvula</i>	<i>P. pinnata</i>	' <i>R. raineri</i> '
<i>A. spinosa</i>	<i>Ch. pelagica</i>	<i>P. aff. pinnata 1</i>	<i>Khitsovia mutabilis</i>
<i>A. takahashii</i>	<i>Ch. aff. pelagica</i>	<i>P. aff. pinnata 2</i>	<i>Kh. sp. 1</i>
<i>A. tyrasiana</i>	' <i>Ch. perpusilla</i> '	<i>P. aff. pinnata 3</i>	<i>Triangulopteris</i>
<i>A. trifurca</i>	<i>Ch. rotundata</i>	<i>P. pontica</i>	<i>lacunata</i>
<i>A. tubata</i>	' <i>Ch.</i> ' sp.1	<i>P. pulchra</i>	<i>Triangulopteris sp. 1</i>
<i>A. turfacea</i>	' <i>Ch.</i> ' sp. 2	<i>P. vietnamica</i>	<i>Pterista sp.1</i>
<i>A. sp. 1</i>	' <i>Ch.</i> ' sp. 3	<i>P. striata</i>	<i>Pterista sp. 2</i>
<i>A. sp. 2</i>	' <i>Ch.</i> ' sp. 4	<i>P. tropica</i>	<i>Raphidista sp. 1</i>
<i>A. sp. 3</i>	' <i>Ch.</i> ' sp. 5	<i>P. aff. tropica 1</i>	<i>Panacanthocystida sp.1</i>
<i>A. sp. 4</i>	' <i>Ch.</i> ' sp. 6	<i>P. aff. tropica 2</i>	<i>Centroplasthelida sp. 1</i>
<i>A. sp. 5</i>	' <i>Ch.</i> ' sp. 7	<i>P. aff. tropica 3</i>	<i>Heterophrys-</i>
<i>A. sp. 6</i>	' <i>Ch.</i> ' sp. 8	' <i>P.</i> ' sp. 1	подобные организмы
<i>A. sp. 7</i>	' <i>Ch.</i> ' sp. 9	' <i>P.</i> ' sp. 2	
<i>A. sp. 8</i>	Raphidiophryidae	<i>P. sp. 3</i>	
<i>A. sp. 9</i>	<i>Raphidiophrys capitata</i>	<i>P. sp. 4</i>	
Raphidocystidae	<i>R. intermedia</i>	<i>P. sp. 5</i>	

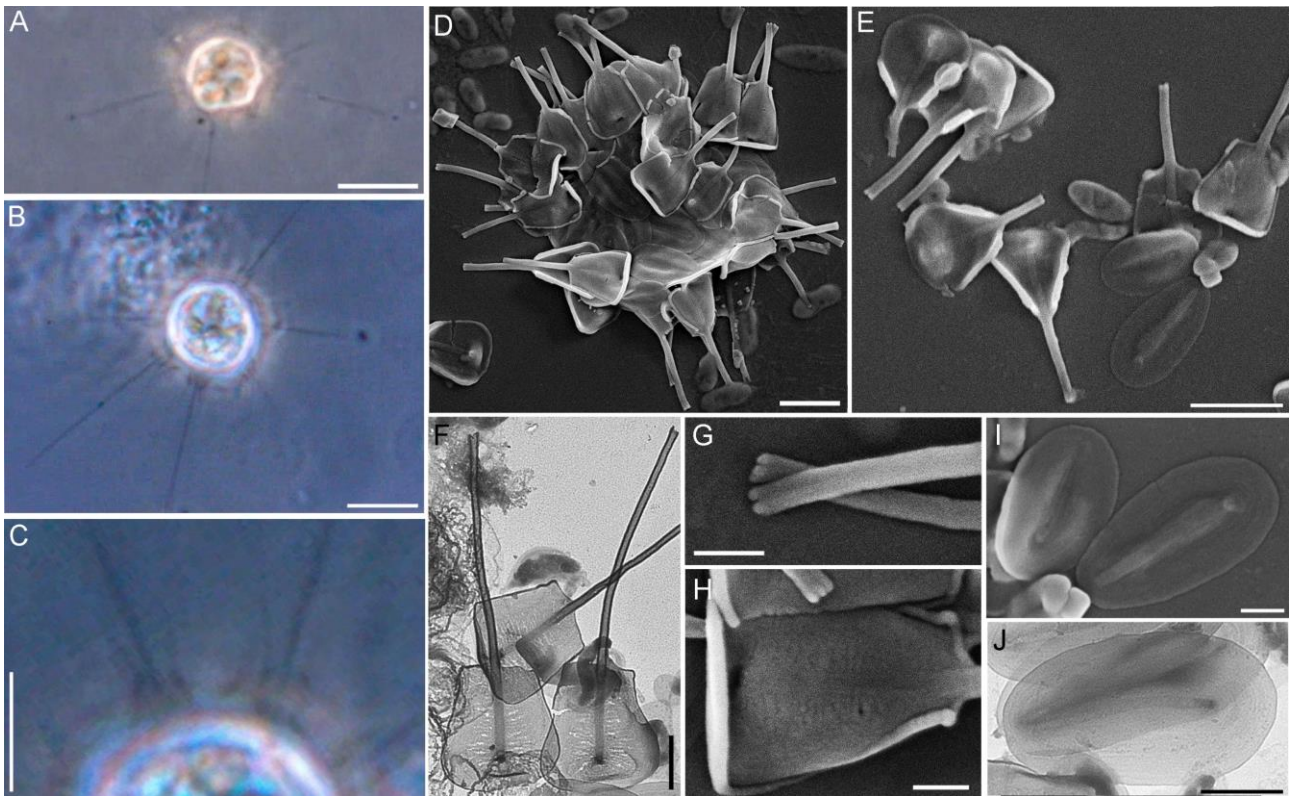


Рис. 2. *Pterocystis jongsooparkii*: А–С – общий вид живой клетки; D – высушенная клетка; E – чешуйки разрушенной клетки; F–H – радиальные чешуйки; I, J – пластинчатые чешуйки. Масштаб, мкм: А, В – 10; С – 5; D, E – 2; F – 1; G–J – 0.5.

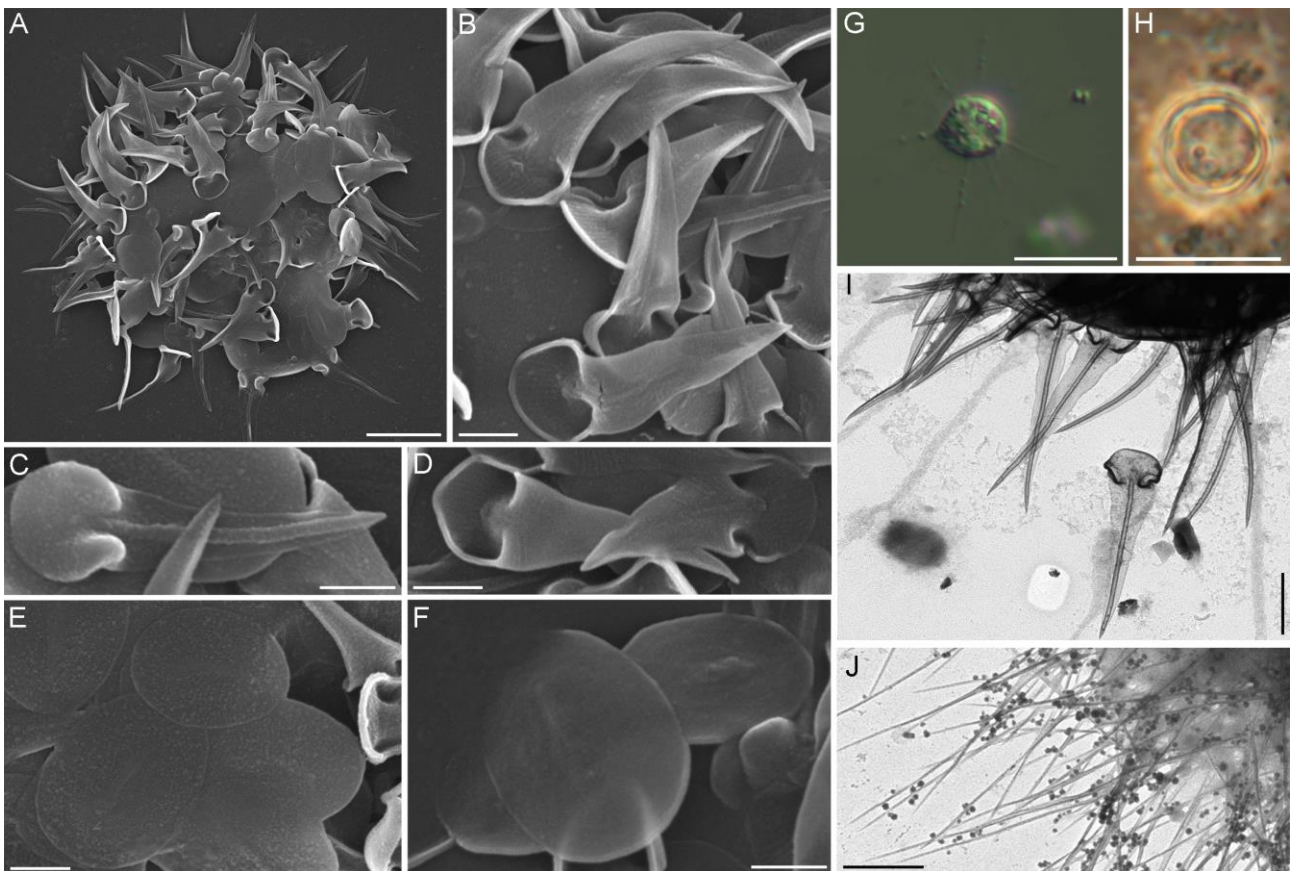


Рис. 3. *Triangulopteris lacunata*: А – общий вид высушенной клетки; B–D, I – радиальные чешуйки; E, F – пластинчатые чешуйки; G – общий вид живых клеток; H – циста с живой клеткой; J – спикулы. Масштаб, мкм: G, H – 10; А – 2; J – 1; B–F – 0.5.

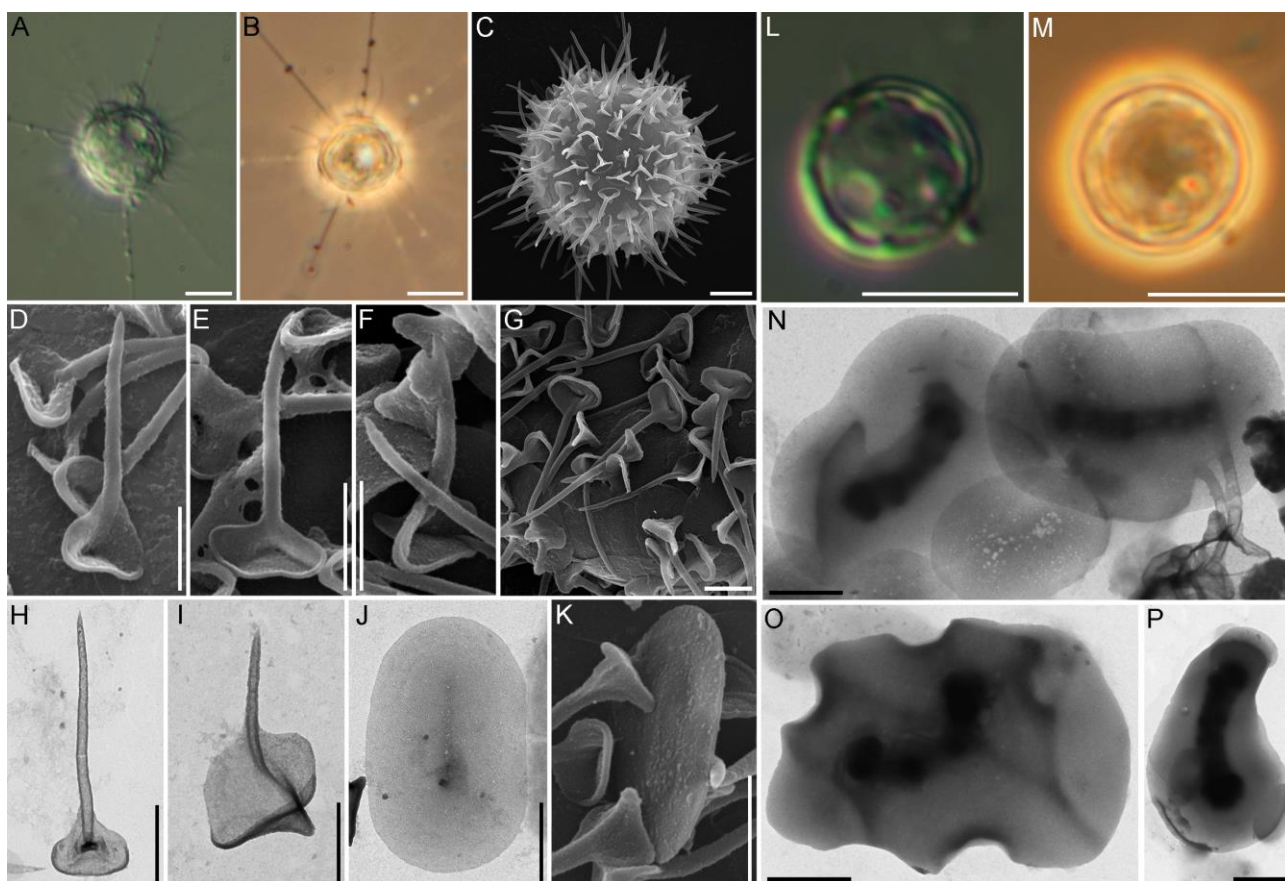


Рис. 4. *Pterocystis borysthenica*: А, В – общий вид живых клеток; С – общий вид высушенной клетки; D–I – радиальные чешуйки; J, К – пластинчатые чешуйки; L, М – цисты с живыми клетками; N–P – цистные чешуйка. Масштаб, мкм: А, В, L, М – 5; С – 2; D–К, N–P – 1.

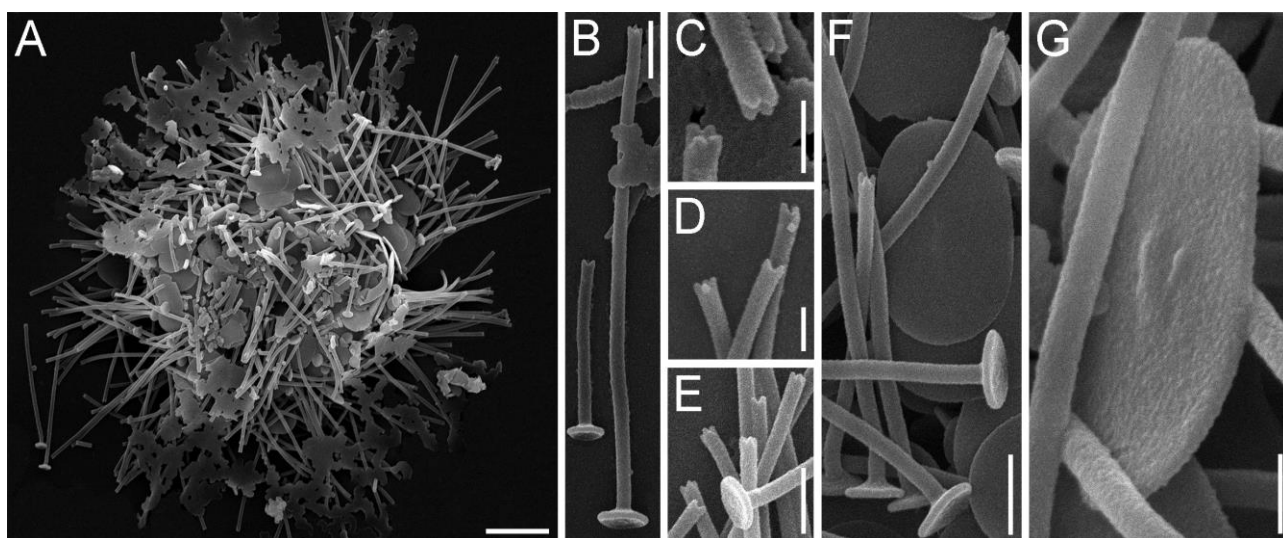


Рис. 5. *Acanthocystis tyrasiana*: А – общий вид высушенной клетки; В – радиальные чешуйки; С–Е – дистальные концы радиальных чешуек; F – радиальные и пластинчатые чешуйки; G – пластинчатая чешуйка. Масштаб, мкм: А – 5; В, Е, F – 1; С, D, G – 0.5.

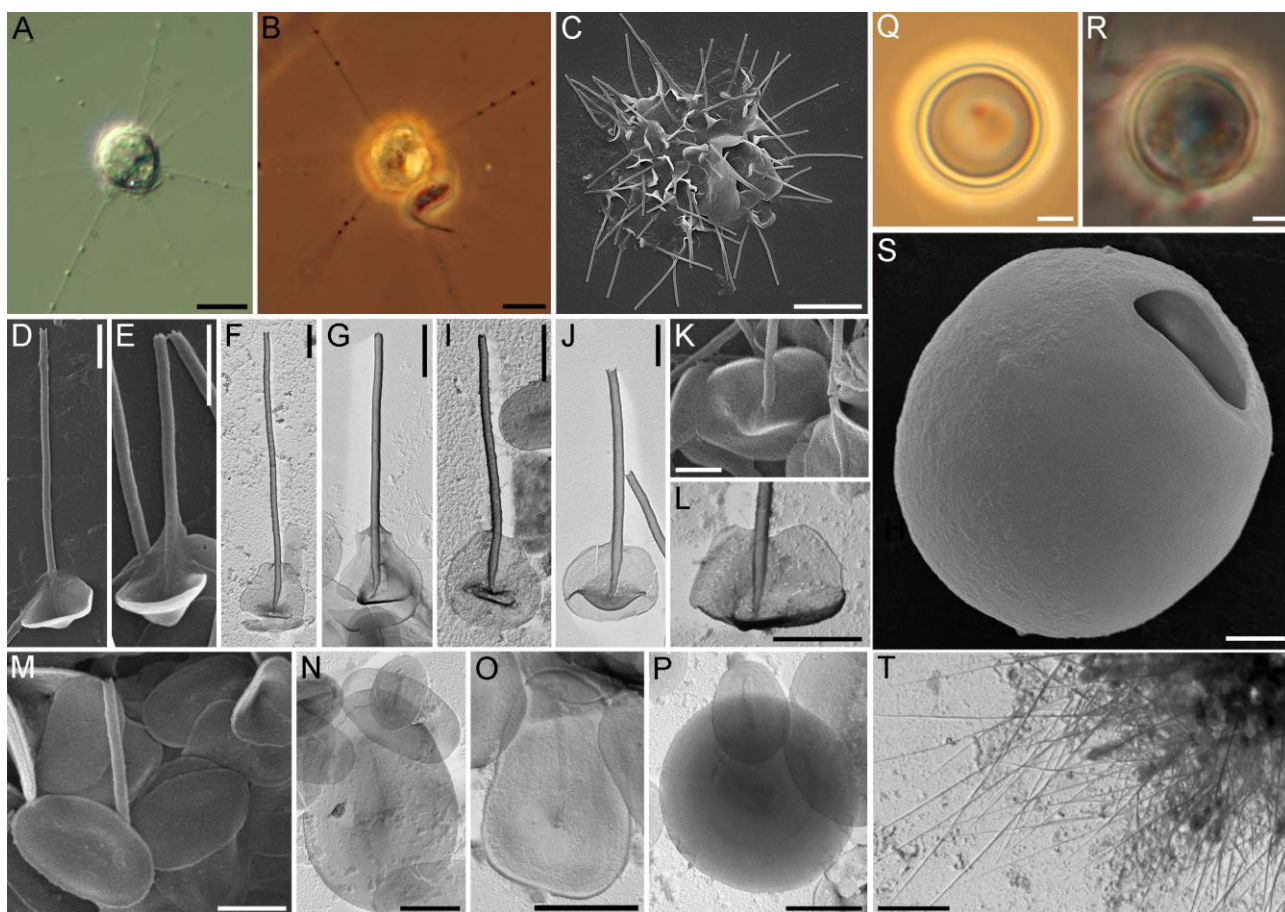


Рис. 6. *Khitsovia mutabilis*: А, В – общий вид живых клеток; С – общий вид высушенной клетки; D–J – радиальные чешуйки; К, L – базальная часть радиальных чешуек; М–Р – пластинчатые чешуйки; Q – пустая циста; R – циста с живой клеткой; S – пустая циста с отверстием; Т – спикулы на периферии клетки. Масштаб, мкм: А–С – 5; Q, R, Т – 2; D–Р, S – 1.

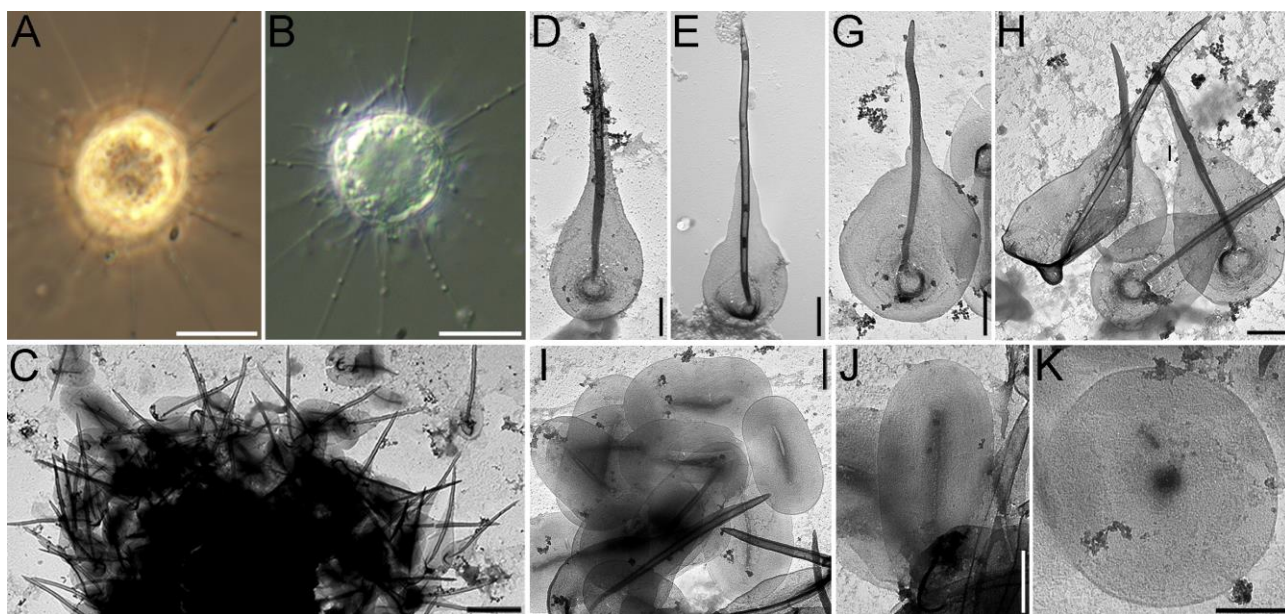


Рис. 7. *Marophrys* sp.1, клон НМ-8Z: А, В – общий вид живой клетки; С – общий вид высушенной клетки; D–H – радиальные чешуйки; I–K — пластинчатые чешуйки. Масштаб, мкм: А, В – 10; С – 2; D–К – 0.5.

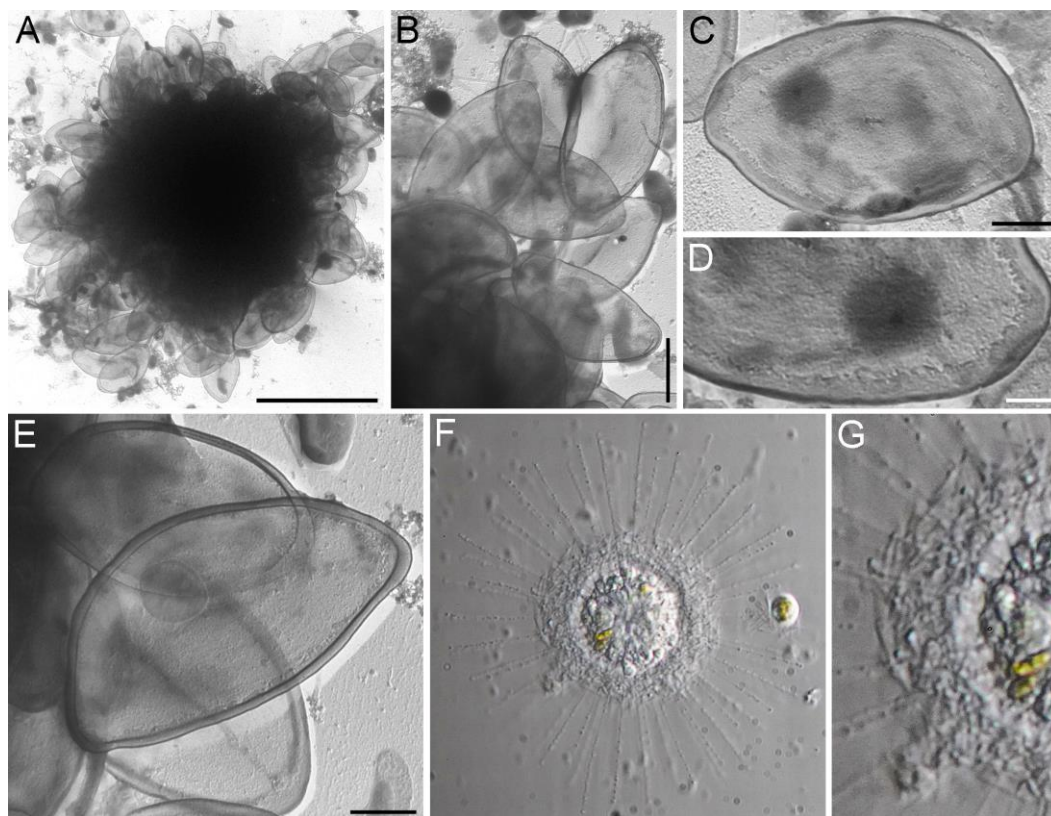


Рис. 8. *Panacanthocystida* sp., клон НМ-5Z: А – общий вид высушенной клетки; В, С, Е – пластинчатые чешуйки; D – край пластинчатой чешуйки; F–G – Клон QCN9: F – общий вид живой клетки; G – увеличенный вид покровов клетки. Масштаб, мкм: А – 10; В – 2; С, Е – 1; D – 0.5.

ГЛАВА 4. Филогения центрохелидных солнечников.

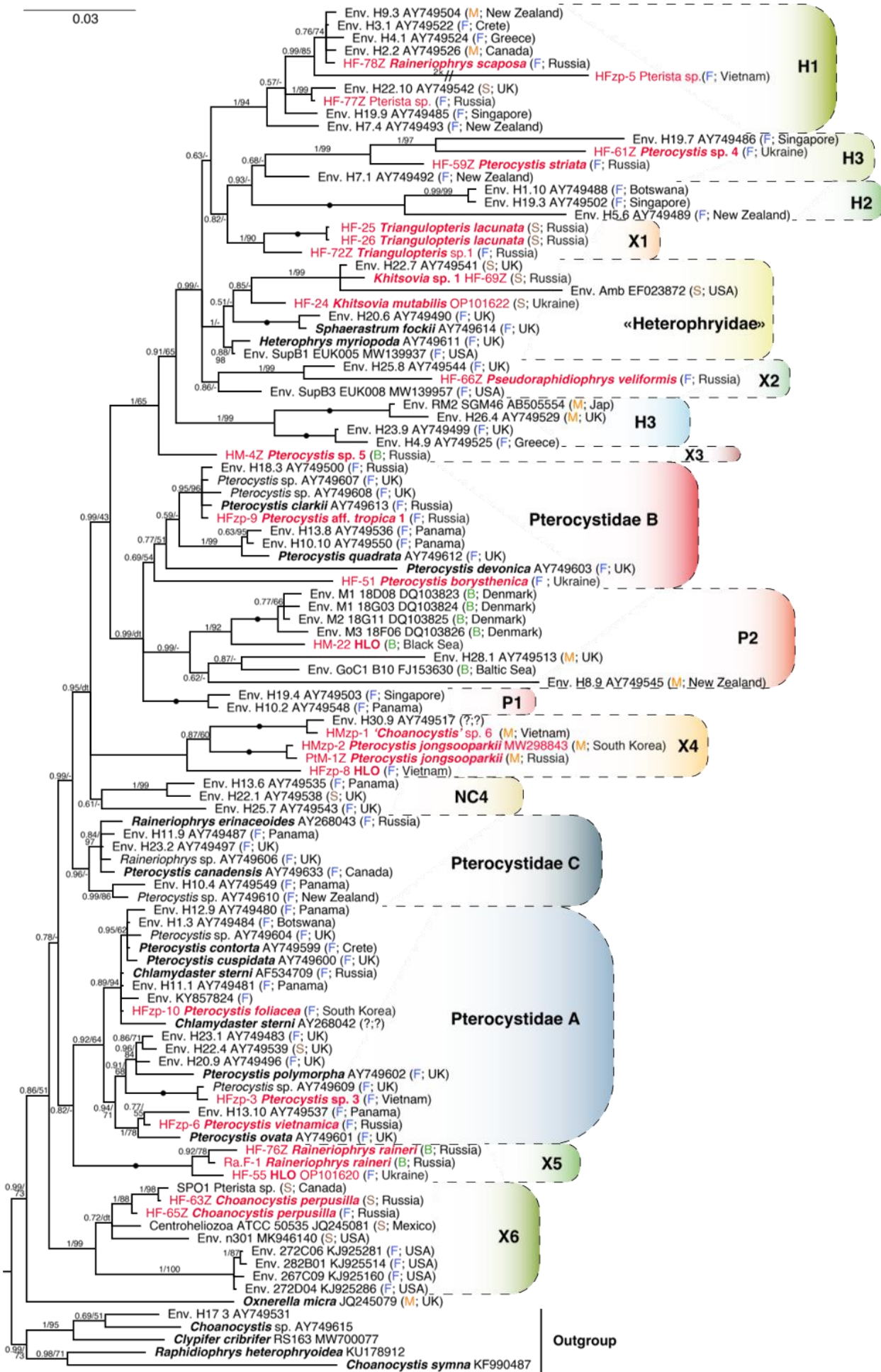
В ходе исследований секвенирован ген 18S рРНК 41 клона центрохелидных солнечников. Построено филогенетическое дерево по 299 сиквенсам центрохелид и 5 сиквенсам внешней группы. Филогенетически, центрохелиды разделяются на 2 крупных надотряда *Pterocystida* и *Panacanthocystida*. Надотряд *Pterocystida* включает две крупные клады *Pterista* и *Raphidista*.

4.1. *Pterocystida: Pterista*

Двадцать семь новых сиквенсов, полученных в результате проведенных работ, сгруппировались внутри клады *Pterista* (рис. 9).

Филогенетическая клада, объединяющая *Heterophryidae* и группы Н1–Н5, ранее была представлена только природными сиквенсами и не включала представителей с известной морфологией кремнеземных чешуек. По результатам проведенного исследования в этой кладе были сгруппированы 11 сиквенсов организмов с изученной нами морфологией, имеющие сложные кремнеземные покровы. В нее вошли

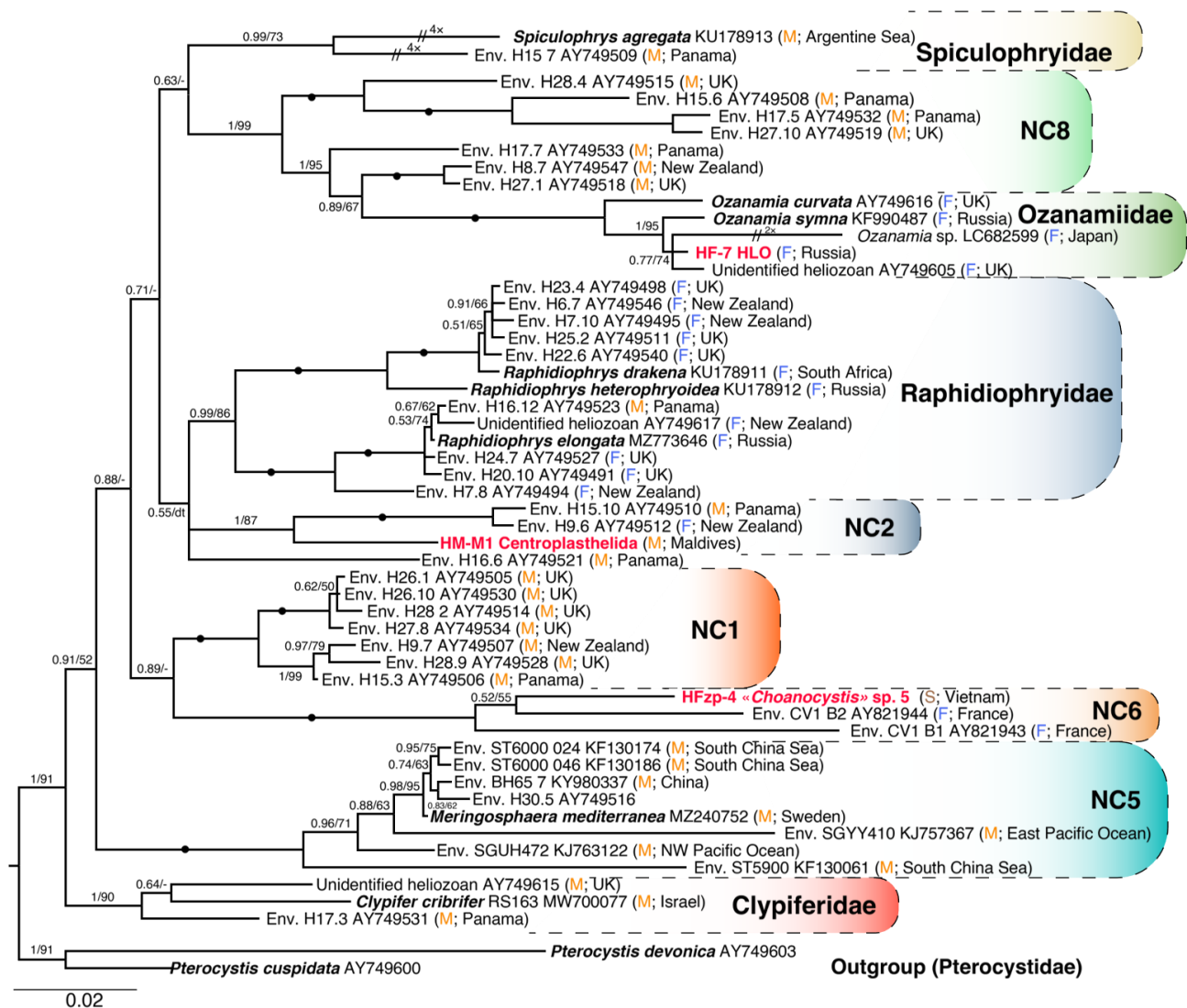
► **Рис. 9.** Филогенетическое дерево *Pterista*, построенное на основе байесовского анализа последовательностей генов 18S рРНК 108 сиквенсов центрохелид, в том числе 5 сиквенсов внешней группы. Значения байесовской апостериорной вероятности (BPP) и бутстрэпа максимального правдоподобия (модель ML, TN+F+I+G4) указаны на ветвях (показаны значения > 0.5 / > 50); dt - другая топология; символ «●» указывает на полную поддержку (1/100). Символ «//» и значение «2x» указывают, что ветвь укорочена в 2 раза. Сокращения: Env – природные сиквенсы; В – солоноватоводные биотопы; F – пресноводные биотопы; М – морские биотопы; S – биотопы почв и наземных субстратов.



представители новых родов *Triangulopteris* и *Khitsovia*, представитель ранее не представленного на филогенетическом древе рода *Pseudoraphidiophrys* (HF-66Z *P. veliformis*), виды *Raineriophrys scaposa* (HF-78Z), *Pterocystis striata* (HF-59Z), и другие. Клады Pterocystidae A и Pterocystidae B пополнились новым описанным видом *Pterocystis borysthenica* (HF-51), ранее известными, но не имевшими молекулярных сведений *Pterocystis foliacea* (HFzp-10), *Pterocystis vietnamica* (HFzp-6), а также клонами, морфологически отличающимися от известных видов *Pterocystis* aff. *tropica* 1 (HFzp-9) и *Pterocystis* sp. 3 (HFzp-3). По результатам анализа выявлен ряд новых, ранее не известных филогенетических клад, в которые были сгруппированы последовательности гена 18S рРНК таких морских центрохелид как *Pterocystis jongsooparkii* (HMzp-2, Pt.M-1Z) и солнечников из солоноватых озер *Raineriophrys raineri* (клоны HF-76Z и Ra.F-1). Впервые к группе Pterista были отнесены центрохелиды, имеющие радиальные чешуйки с сердцевидными базальными пластинками (клоны HF-63Z, HF-65Z, HMzp-1) которые характерны для родов *Choanocystis* и *Ozania*. Полученные топологии филогенетических деревьев показали полифилетический характер родов *Choanocystis*, *Raineriophrys* и *Pterocystis*

4.2. Pterocystida: Raphidista

Другой ветвью Pterocystida является клада Raphidista, в которую вошли три



новых сиквенса (клоны HF-7, HM-M1, HFzр-4), полученных в данной работе (рис. 10).

Положение клона HF-7, покрытого радиальными спикулами и помещенного в кладу *Ozaniidae* говорит о том, что для данной группы центрохелид характерна потеря кремнеземных чешуек, как и для ряда других филогенетических линий солнечных.

Нуклеотидная последовательность 18S рРНК клона HM-M1 (*Centroplasthelida* sp.), у которого не было обнаружено ни спикул, ни слизистой оболочки, ни чешуек, с высокой поддержкой группируется с морским и пресноводным природными сиквенсами из Панамы (AY749510) и Новой Зеландии (AY749512), ранее объединяемых как клада NC2. Клон HM-M1 является первым представителем *Pterocystida* с подтвержденным молекулярными методами филогенетическом положении, для которого отмечен тип укладки микротрубочек в аксонеме аксоподий в виде простого шестиугольника.

В кладе NC6, сестринской морской кладе NC1, сгруппировался сиквенс нового изученного клона HFzр-4, выделенного из эпифитных мхов тропического леса в Северном Вьетнаме. Данный клон с полной поддержкой группируется вместе с двумя природными сиквенсами из пресных биотопов Франции (AY821943; AY821944). Морфология клона соответствует морфологии видов рода *Choanocystis*, что в очередной раз показывает его полифилетичность.

4.3. Panacanthocystida

В пределах *Panacanthocystida*, в кладу *Acanthocystidae* по результатам анализа были помещены 6 сиквенсов исследованных представителей рода *Acanthocystis*, представляющие такие виды как *A. trifurca*, *A. aff. trifurca*, *A. aff. nichollsi*, *A. nichollsi* и *Acanthocystis* sp. 5 (рис. 11). В кладе *Raphidocystidae* присутствуют 2 изученных нами вида, HF-58Z (*Raphidiophrys ambigua*) из озера Щучье в Казахстане и клон HF-68 *Raphidocystis tubifera*.

Возможно, что сестринской кладой к *Raphidocystidae* и *Acanthocystidae* с *Ricksolidae* является *Marophryidae*. До последнего времени клада *Marophryidae* включала в себя сиквенсы центрохелид, несущих на поверхности клетки только органические спикулы. Такие же покровы имеют исследованные нами клоны HM-47 и HM-31. Однако, клон HM-8Z, на 96.2% схожий с сиквенсами *Marophrys nikolaevi* и с полной поддержкой группирующийся среди них, имел на поверхности клеток кремнеземные чешуйки двух типов: внутренние пластинчатые и внешние радиальные, напоминающих чешуйки центрохелид из *Pterocystidae*. Таким образом, клада *Marophryidae*, также как и многие другие филогенетические линии центрохелид, имеет представителей с кремнеземными покровами. *Pterocystis*-подобные покровы клады *Marophryidae* делают ветвь *Panacanthocystida* более морфологически разнородной.

Среди более глубоких клад *Panacanthocystida*, по результатам анализа выделяется клада PNX1 (1/95), содержащая сиквенс исследованного нами клона HM-

◀**Рис. 10.** Филогенетическое дерево *Raphidista* и *Clypiferidae*, реконструированное на основе байесовского анализа последовательностей генов 18S рРНК 57 сиквенсов центрохелид, в том числе двух сиквенсов внешней группы. Значения байесовской апостериорной вероятности (BPP) и бутстрэпа максимального правдоподобия (модель ML, TN+F+I+G4) указаны на ветвях (показаны значения > 0.5 / > 50); dt - другая топология; символ «●» указывает на полную поддержку (1/100). Символы «//», «2×» и «4×» указывают, что ветвь укорочена в 2 или 4 раза. Сокращения: Env – природные сиквенсы; В – солоноватоводные биотопы; F – пресноводные биотопы; М – морские биотопы; S – биотопы почв и наземных субстратов.

5Z с побережья Белого моря (рис. 8). Кроме НМ-5Z, эта клада объединяет сиквенсы QCH9, а также два природных сиквенса из мелководных гидротермальных источников побережья о. Амбайтл, Папуа Новая Гвинея. Сравнение нуклеотидной последовательности 18S рРНК НМ-5Z с ближайшими сиквенсами, имеющимися в NCBI GenBank, показало очень низкое сходство (81.2%–92.4%). Топология данных клонов на филогенетическом дереве и уникальность сиквенсов позволяет предположить, что клоны НМ-5Z и QCH9 являются отдельной, неизвестной ранее линией центрохелид уровня не ниже семейства.

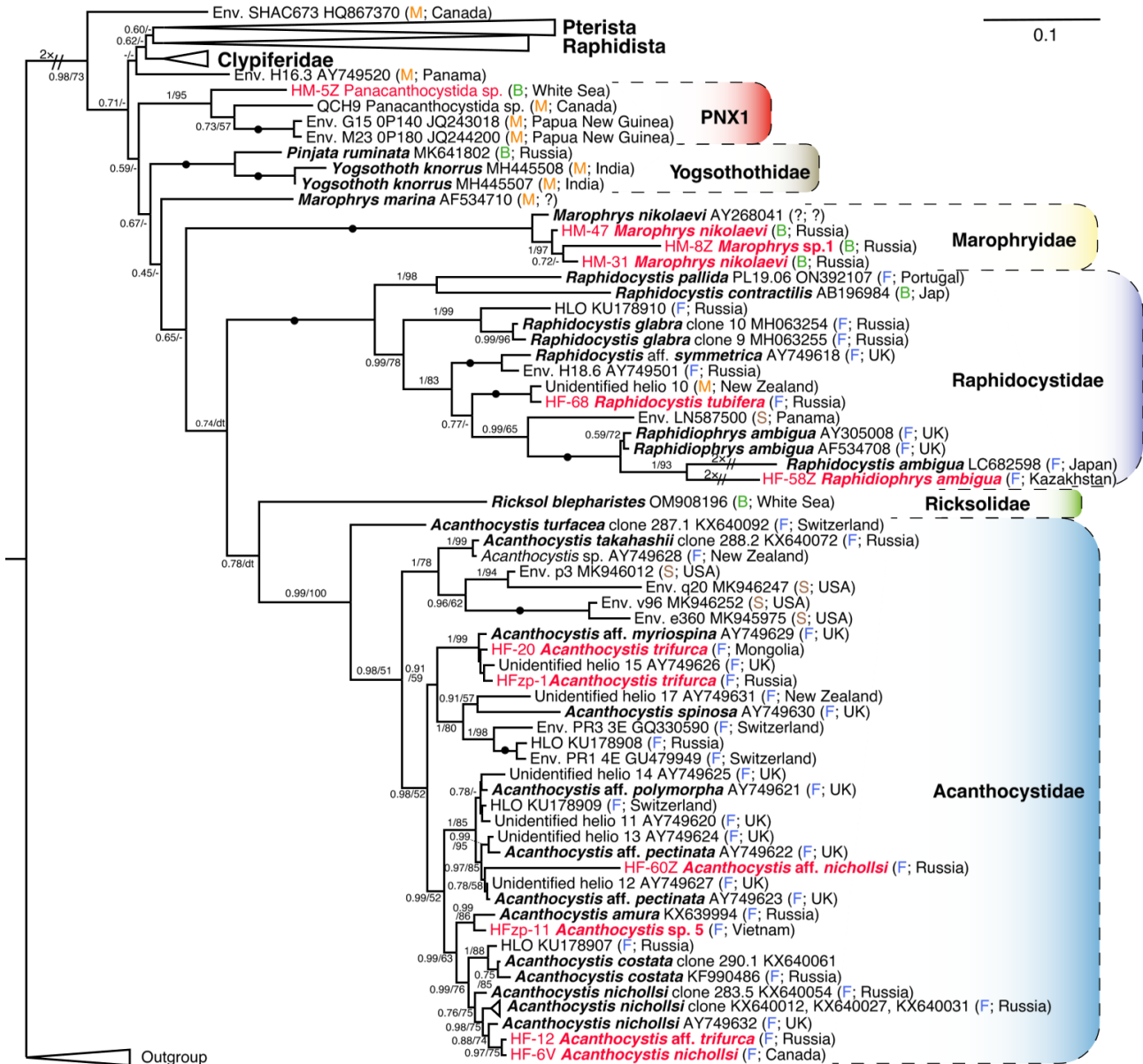


Рис. 11. Филогенетическое дерево Panacanthocystida, реконструированное на основе байесовского анализа последовательностей генов 18S рРНК 292 центрохелид и 12 сиквенсов аутгруппы (5 сиквенсов гаптофит и 7 сиквенсов ближайших к центрохелидам неизвестных эукариот). Значения байесовской апостериорной вероятности (BPP) и бутстрэпа максимального правдоподобия (модель ML, TIM3+F+I+G4) указаны на ветвях (показаны значения > 0.5 / > 50); dt - другая топология; символ «●» указывает на полную поддержку (1/100). Символы «//» и «2x» указывают, что ветвь укорочена в 2 раза. Сокращения: Env – природные сиквенсы; B – солоноватоводные биотопы; F – пресноводные биотопы; M – морские биотопы; S – почвенные биотопы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования по результатам обработки более пятисот проб из разнотипных морских, солоноватоводных, пресноводных, наземных и почвенных биотопов выявлено 122 вида и формы центрохелидных солнечников.

В пределах надотряда Panacanthocystida выявлен 41 вид. Отмечено 33 вида рода *Acanthocystis*, из которых 1 описан как новый (*Acanthocystis tyrasiana*) и еще 13 предположительно принадлежат к новым видам. В роде *Raphidocystis* выявлено 6 видов, из них 1 предположительно новый. Среди *Marophrys* отмечен 1 новый вид. Один новый вид, относящийся к Panacanthocystida, вероятно также представляет новый род и новое семейство центрохелид.

В пределах надотряда Pterocystida выявлено 77 видов. Отмечены 2 представителя рода *Ozanamia*, 1 из которых может быть новым видом. Пятнадцать видов идентифицированы как '*Choanocystis*', 10 из них вероятно новые виды. Род *Raphidiophrys* представлен семью видами, из них 1 вероятно новый. Внутри *Pterocystis* отмечено 22 вида, из которых три описаны как новые (*P. pontica*, *P. jongsooparkii*, *P. borysthenica*) и еще 12, вероятно, являются новыми. В роде *Raineriophrys* отмечено 19 видов, из них 10 вероятно можно рассматривать как новые. Также обнаружено 3 вида *Pseudoraphidiophrys* и, вероятно, 1 новый вид рода *Clypifer*. Описан новый род *Khitsovia* с новым видом *Kh. mutabilis* и еще одним предположительно новым видом, а также новый род *Triangulopteris* с новым видом *T. lacunata* и одним новым неописанным видом. Также изучен один вид, принадлежащий *Raphidista*, два новых вида внутри *Pterista* и один вид неизвестного систематического положения.

Результаты проведенного исследования дополнили и расширили представления о биогеографии многих видов центрохелид. Получены первые данные о центрохелидных солнечниках ряда регионов мира, в частности, впервые исследованы центрохелиды пресных и морских вод Южной Кореи. Существенно расширены сведения о центрохелидах Монголии, Вьетнама, Украины и России. Впервые исследованы центрохелиды бассейна р. Обь. Полученные данные указывают на космополитическое распространение морфовидов центрохелид, большинство из которых было отмечено в разнотипных биотопах разных климатических зон. Однако, данный вопрос требует дальнейшего исследования с проведением анализа географического распределения флотипов центрохелид, который в настоящее время затруднителен ввиду малого числа сиквенсов одних и тех же морфовидов из разных географических зон.

Получены молекулярные данные о 42-х представителях центрохелидных солнечников, которые значительно расширяют знания о филогении этой группы организмов. В частности, показана полифилия рода *Choanocystis*, к которому относили центрохелидных солнечников с радиальными чешуйками с сердцевидной базальной пластинкой и стволом без латеральных крыльев. Исследования показали, что солнечники с такой морфологией представлены в шести филогенетических кладах центрохелид: две линии в *Pterista* (клады X4 и X6), три линии в *Raphidista* (клады *Ozanamiidae*, NC5 и NC6) и одна линия в *Acanthocystida* (клада *Marophryidae*).

Показана полифилия рода *Raineriophrys*, который объединял в себе 8 достаточно разнородных по морфологии видов центрохелид. Сиквенс гена 18S рРНК типового вида *Raineriophrys erinaceoides* группируется в кладе *Pterocystida* С внутри *Pterista* с сиквенсом *Pterocystis canadensis* (AY749633), имеющим морфологическое сходство скелетных элементов с *R. erinaceoides*. Результаты нашего исследования выявили

четыре обособленные от клады Pterocystida C филогенетические линии, которые содержат сиквенсы центрохелид, ранее отнесенных к роду *Raineriophrys*.

Род *Pterocystis*, выделенный на основе морфологии радиальных чешуек, также как и *Choanocystis* и *Raineriophrys*, оказался полифилетичным после получения ряда нуклеотидных последовательностей гена 18S рРНК и филогенетического анализа. Таким образом, полученные в настоящей работе результаты демонстрируют полифилию родов *Choanocystis*, *Raineriophrys* и *Pterocystis* свидетельствуют о необходимости проведения таксономических ревизий с выводом части видов из этих родов.

Проведенный молекулярно-филогенетический анализ поместил в кладу Marophryidae (надотряд Panacanthocystida) как клоны с органическими покровными спикулами (НМ-31 и НМ-47), так и клон с кремнеземными чешуйками (НМ-8Z), схожими по морфологии с таковыми у представителей Pterocystidae (надотряд Pterocystida). Таким образом, в пределах надотряда Panacanthocystida, по-видимому, имеются представители с покровами, ранее отмеченными только для Pterista. Интересно, что ранее А. Фукуда с соавторами (Fukuda et al., 2014) сообщили, что центрохелидный солнечник клона SRT127, имеющий покровы, характерные для представителей рода *Choanocystis* (надотряд Pterocystida), также группировался внутри клады панакантоцистид Marophryidae. Эти данные значительно меняют наши представления о составе и распространенности той или иной морфологии скелетных элементов в пределах различных эволюционных линий центрохелид и указывают на необходимость пересмотра ряда устоявшихся таксонов центрохелидных солнечников.

Низкие значения статистических поддержек в базальных узлах ветвлений филогенетических деревьев по гену 18S рРНК центрохелид остаются нерешенной проблемой, препятствующей прояснению радиации и эволюции центрохелидных солнечников. Для получения более надежной топологии эволюционного древа центрохелид необходим мультигенный филогенетический анализ с использованием транскриптомных данных по основным таксонам. Прояснению эволюционных связей центрохелид также будет способствовать дальнейший поиск новых филогенетических линий солнечников, получение молекулярных данных по ранее описанным видам, а также получение морфологических данных для представителей природных клад сиквенсов.

Проведенные исследования показали, что в ряде случаев морфология клеточных покровных элементов не является надежным признаком для идентификации центрохелид даже до уровня рода и семейства. Требуются молекулярные исследования большего числа клонов в совокупности с проведением морфологического анализа покровных элементов на разных стадиях зрелости клональных культур.

У ряда видов из далеких филогенетических линий отмечено наличие массивных округлых пластинчатых чешуек, появляющихся при переходе к инцистированию. Это представители Pterista – *Khitsovia mutabilis*, Raphidista – *Raphidiophrys elongata* (Drachko et al., 2021), Acanthocystida – *Raphidocystis symmetrica*, *Marophrys nikolaevi* и *Acanthocystis trifurca*. Вероятно, такие изменения в программе производства покровных элементов при переходе к инцистированию характерны если не для всех, то для большого числа филогенетических линий центрохелид. Округление чешуек на этапе жизненного цикла при инцистировании следует иметь в виду при видовой идентификации центрохелид в природных образцах. Также отмечены изменения формы радиальных чешуек при подготовке к инцистированию. Так, у *Pterocystis striata* и *Triangulopteris* sp.1 происходит укорочение радиальных чешуек и приобретение ими

более овальной формы. У *Khitsovia mutabilis* и *Raineriophrys fortesca* отмечен ранее не задокументированный в литературе для центрохелид тип выхода из цист. Цисты данных видов не рассыпаются на отдельные части, как у *Raineriophrys erinaceoides*, не расходятся по шву, как у *R. heterophryoidea* (Zlatogursky, 2013; Drachko et al., 2021) и не выходят через случайный разрыв цисты, как у *R. elongata* (Drachko et al., 2021). В их оболочке образуется отверстие, через которое клетка покидает цисту, не нарушая ее целостности.

У представителей *Pterocystis* впервые описаны цистные чешуйки уникальной морфологии. Так, *Pterocystis borysthenica* имеет массивные плотные чешуйки бобовидной или неправильной формы с аксиальным утолщением. Детальное строение цист и цистных чешуек было ранее известно лишь для *Raineriophrys erinaceoides*, *Raphidiophrys heterophryoidea*, *R. elongata* и *Raphidocystis ambigua*.

Несмотря на представления о том, что почвенные биотопы малопригодны для обитания центрохелид ввиду недостатка влаги (Микрюков, 2002), ряд видов солнечников был выделен нами из проб, отобранных в биотопах с непостоянным увлажнением (почвы, эпифитные мхи) а также многолетнемерзлых отложениях. К таким видам относятся *Khitsovia mutabilis*, *Khitsovia* sp. 1, *Raineriophrys fortesca*, *Triangulopteris lacunata* и *Choanocystis perpusilla*. Молекулярно-филогенетический анализ поместил их в клады, преимущественно сформированные природными сиквенсами из биотопов с непостоянным увлажнением. Мы предполагаем, что существует ряд филогенетических линий центрохелид, хорошо приспособленных к частому изменению гидрологического режима, в том числе благодаря особым изменениям в механизмах инцистирования и строению цист. Кроме того, нам представляется вероятным существование ряда солнечников, которых можно причислить к специфическим «почвенным» центрохелидам.

Triangulopteris lacunata является вторым видом центрохелид, обнаруженным в вечной мерзлоте. По всей видимости, цисты этого вида могут оставаться жизнеспособными на протяжении тысяч лет.

Находки клеток с органическими спикулами среди клонов с кремнеземными чешуйками (*Triangulopteris lacunata*; *Khitsovia mutabilis*), а также наличие сиквенсов спикулонесущих центрохелид внутри филогенетических клад, известных своими кремнеземными покровами (X4; X5; *Raphidiophryidae*; *Raphidocystidae*) и внутри клад природных сиквенсов (P2), свидетельствуют о широком распространении среди *Centroplasthelida* способности к смене кремнеземных чешуек на органические спикулы. По всей видимости, способность к формированию спикул – универсальный признак для центрохелид, которым, вероятно, обладают все представители этой группы.

ВЫВОДЫ

- 1) Большая часть филогенетических линий центрохелид способна к образованию спикулонесущих стадий. В ряде случаев морфология клеточных покровных элементов не является надежным критерием таксономической диагностики, для которой требуются молекулярные исследования в совокупности с проведением морфологического анализа покровных элементов на разных стадиях зрелости клональных культур.
- 2) Полученные свидетельства полифилии родов *Pterocystis*, *Choanocystis* и *Raineriophrys* показывают необходимость проведения таксономических ревизий с выводом части видов из этих родов, а также пересмотра ряда устоявшихся таксонов центрохелидных солнечников.

- 3) Филогенетическое положение клона НМ-8Z с Pterocystidae-специфичными чешуйками внутри семейства Marophryidae показывает, что в пределах надотряда Panacanthocystida имеются представители с покровами, ранее отмеченными только для Pterista.
- 4) В биотопах с непостоянным увлажнением (почвы, эпифитные мхи), а также многолетнемерзлых отложениях выявлены виды центрохелид. Предполагается, что существует ряд филогенетических линий центрохелидных солнечников, хорошо приспособленных к частому изменению гидрологического режима благодаря механизму инцистирования.
- 5) Описаны два новых рода центрохелид *Khitsovia* и *Triangulopteris*, а также новые виды *Acanthocystis tyrasiana*, *Khitsovia mutabilis*, *Pterocystis jongsooparkii*, *P. pontica*, *P. borysthenica* и *Triangulopteris lacunata*, характеризующиеся уникальными морфологическими характеристиками и обособленным положением на филогенетическом древе 18S рРНК. Центрохелидный солнечник клона НМ-5Z представляет новое семейство и новый род внутри Panacanthocystida.
- 6) Среди 122 изученных видов и форм центрохелидных солнечников 47 имеют морфологические особенности строения скелетных элементов, отличающие их от уже известных морфовидов. Таксономический статус данных протистов может быть установлен только с использованием молекулярно-филогенетических исследований.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. Prokina K.I., Zagumyonnyi D.G., Philippov D.A. Centrohelids in the mires of Northern Russia // Protistology. – 2017. V.11. – №1. – P. 3–19. DOI: 10.21685/1680-0826-2017-11-1-1
2. Prokina K.I., Zagumyonnyi D.G., Tikhonenkov D.V. Centrohelid Heliozoans (Centroplasthelida Febvre-Chevalier et Febvre, 1984) from Different Types of Freshwater Bodies in the Middle Russian Forest-steppe // Acta Protozool. – 2018. – V.57. – P. 245–268. DOI: 10.4467/16890027AP.18.018.10094
3. Prokina K.I., Zagumyonnyi D.G., Mylnikov A.P. Marine Centrohelid Heliozoans (Centroplasthelida Febvre-Chevalier et Febvre, 1984) From Bays of Sevastopol (the Black Sea Shore) // Russian Journal of Marine Biology. – 2019. – V. 45, № 5. – P. 377–384. DOI: 10.1134/S1063074019050092
4. Zagumyonnyi D.G., Prokina K.I., Tikhonenkov D.V. First findings of centrohelid heliozoans (Haptista: Centroplasthelida) from marine and freshwater environments of South Korea // Protistology. – 2020. – V. 14, № 4. – P. 227–245. DOI: 10.21685/1680-0826-2020-14-4-4
5. Zagumyonnyi D.G., Gusev E.S., Mylnikov A.A., Mylnikov A.P. Novel Species of Centrohelid Heliozoans (Centroplasthelida) for Freshwaters of Central and Southern Vietnam // Inland Water Biology. – 2020. – V. 13, № 3. – P. 358–371. DOI: 10.1134/S1995082920030165
6. Zagumyonnyi D.G., Radaykina L.V., Tikhonenkov D.V. *Triangulopteris lacunata* gen. et sp. nov. (Centroplasthelida), a New Centrohelid Heliozoan from Soil // Diversity. – 2021. – V. 13, № 12. – P. 658. DOI: 10.3390/d13120658
7. Gerasimova E.A., Radaykina L.V., Zagumyonnyi D.G., Tikhonenkov D.V., Drachko D., Zlatogursky V.V. Morphology and spicules elemental composition of *Marophrys*

nikolaevi spec. nov. (Haptista: Centroplasthelida) // European Journal of Protistology. – 2022. – V. 84. – P. 125888. DOI: 10.1016/j.ejop.2022.125888

8. **Zagumyonnyi D.G., Radaykina L.V., Keeling P.J., Tikhonenkov D.V.** Centrohelid heliozoans of Ukraine with a description of a new genus and species (Haptista: Centroplasthelida) // European Journal of Protistology. – 2022. – V. 86. – P. 125916. DOI: 10.1016/j.ejop.2022.125916

Публикации в других изданиях:

9. **Загумённый Д.Г.** О центрохелидных солнечниках из водотоков Юго-Востока Украины / Труды биологического учебно-научного центра «Веневитиново» Воронежского Государственного Университета. – Воронеж, 2014. – Вып. 28. – С. 64–69.
10. **Zagumyonnyi D.G.** Species diversity and morphology of centrohelid heliozoans of some sites in European part of Russia and South-East Ukraine // Protistology. – 2016. – № 2. – С. 90.
11. **Загумённый, Д.Г.** Изученность центрохелидных солнечников (Haptista: Centroplasthelida Febvre-Chevalier et Febvre, 1984) на территории Воронежской области / Современные проблемы зоологии, паразитологии и гидробиологии : Материалы IX научной конференции с международным участием, посвященной 125-летию со дня рождения профессора И.И. Барабаш-Никифорова, Воронеж, 06 декабря 2019 года / Под редакцией С.П. Гапонова. – Воронеж: Цифровая полиграфия, 2019. – С. 52–57.
12. **Загумённый Д.Г., Загумённая О.Н.** Центрохелидные солнечники (Protista: Centroplasthelida) Украины. XXVI Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «ЛОМОНОСОВ», Москва, 8–12 апреля 2019 г.
13. **Загумённый Д.Г.,** Центрохелидные солнечники (Protista: Centroplasthelida) бассейнов Дона, Днепра и Волги. XI Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием для молодых учёных по проблемам водных экосистем «ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ - 2019», Севастополь, 23–27 сентября 2019 г.
14. **Загумённый Д.Г., Прокина К.И., Тихоненков Д.В.** Центрохелидные солнечники Азии (на примере ряда регионов России, Вьетнама, Южной Кореи и других стран). Понт Эвксинский - 2021. Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции для молодых учёных по проблемам водных экосистем, посвященной 150-летию Севастопольской биологической станции - ФИЦ "Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН". Севастополь, 2021. С. 22-24. DOI: 10.21072/978-5-6044865-8-0
15. **Радайкина Л.В., Загумённый Д.Г., Тихоненков Д.В.** Полиморфизм покровных элементов центрохелидных солнечников. Изучение водных и наземных экосистем: история и современность. Тезисы докладов Международной научной конференции, посвящённой 150-летию Севастопольской биологической станции - Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий». Севастополь, 2021. С. 488–489. DOI: 10.21072/978-5-6044865-5-9
16. **Загумённый Д.Г., Прокина К.И., Радайкина Л.В., Тихоненков Д.В.** Видовое разнообразие и морфология центрохелидных солнечников из разнотипных пресных и морских биотопов Евразии. Изучение водных и наземных экосистем: история и современность. Тезисы докладов Международной научной

конференции, посвящённой 150-летию Севастопольской биологической станции - Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий». Севастополь, 2021. С. 91. DOI: 10.21072/978-5-6044865-5-9

17. *Загумённый Д.Г., Прокина К.И., Тихоненков Д.В.* Новые данные о центрохелидных солнечниках (Centroplasthelida) Азии. Четвертая всероссийская молодёжная научная школа-конференция с международным участием "Микробные симбиозы в природных и экспериментальных экосистемах" Оренбург, 04-08 октября 2021 г. С. 15–16.
18. *Загумённый Д.Г., Прокина К.И., Радайкина Л.В., Тихоненков Д.В.* Видовое разнообразие, морфология и филогенетическая исследованность центрохелидных солнечников Евразии. Биология водных экосистем в XXI веке: факты, гипотезы, тенденции : тезисы докладов Всероссийской конференции, посвященной 65-летию Института биологии внутренних вод имени И. Д. Папанина Российской академии наук : сборник / Ин-т биологии внутр. вод им. И. Д. Папанина РАН, Борок, 22–26 ноября 2021 г. – Ярославль : Филигрань, 2021. – С. 81 – ISBN 978-5-6047146-2-1.
19. *Тихоненков Д.В., Загумённый Д.Г., Беляев А.О., Плотников А.О., Герасимов Ю.В.* Метабаркодинговые исследования протистов реки Волги. Биология водных экосистем в XXI веке: факты, гипотезы, тенденции : тезисы докладов Всероссийской конференции, посвященной 65-летию Института биологии внутренних вод имени И. Д. Папанина Российской академии наук : сборник / Ин-т биологии внутр. вод им. И. Д. Папанина РАН, Борок, 22–26 ноября 2021 г. – Ярославль : Филигрань, 2021. – С. 181 – ISBN 978-5-6047146-2-1.
20. *Загумённый, Д.Г., Радайкина Л.В., Тихоненков Д.В.* Новые виды почвенных центрохелидных солнечников / Биота, генезис и продуктивность почв : Материалы XIX Всероссийского совещания по почвенной зоологии, Улан-Удэ, 15–19 августа 2022 года / Под редакцией А.В. Тиунова, К.Б. Гонгальского, А.В. Уварова. – Улан-Удэ: Бурятский научный центр Сибирского отделения РАН, 2022. – С. 77–79.
21. *Загумённый, Д.Г., Загумённая О.Н., Тихоненков Д.В.* Пресноводные центрохелидные солнечники, тестации и другие амёбоидные гетеротрофные протисты планктона Средней Оби / Актуальные проблемы планктонологии : IV Всероссийская конференция с международным участием : материалы конференции, Светлогорск (Калининградская область), 25–30 сентября 2022 года. – Калининград: Калининградский государственный технический университет, 2022. – С. 77–79.
22. *Кирюхин Б.А., Загумённый Д.Г., Беляев А.О., Герасимов Ю.В., Тихоненков Д. В.* Метабаркодинговые исследования протистов реки Волга / Актуальные проблемы планктонологии : IV Всероссийская конференция с международным участием : материалы конференции, Светлогорск (Калининградская область), 25–30 сентября 2022 года. – Калининград: Калининградский государственный технический университет, 2022. – С. 97–99.

