

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Березкіна Анна Євгенівна

УДК 592+594

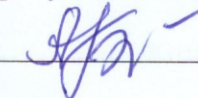
ДИСЕРТАЦІЯ
«ПОПУЛЯЦІЙНА СТРУКТУРА ТА РЕСУРСИ ЧЕРЕВОНОГОГО
МОЛЮСКА *NACELLA CONCINNA* (STREBEL, 1908) У
ПРИБЕРЕЖНИХ ВОДАХ УКРАЇНСЬКОЇ АНТАРКТИЧНОЇ
СТАНЦІЇ “АКАДЕМІК ВЕРНАДСЬКИЙ”, АРХІПЕЛАГ
АРГЕНТИНСЬКІ ОСТРОВИ, ЗАХІДНА АНТАРКТИКА»

Спеціальність 091 – «Біологія»

(Галузь знань 09 – Біологія)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

 А. Є. Березкіна

Науковий керівник: Утевський Андрій Юрійович, кандидат біологічних наук,
доцент.

Харків - 2021

АНОТАЦІЯ

Березкіна А. Є. Популяційна структура та ресурси черевоногого молюска *Nacella concinna* (Strebel, 1908) у прибережних водах Української антарктичної станції «Академік Вернадський», архіпелаг Аргентинські острови, Західна Антарктика. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія (Галузь знань 09 – Біологія). – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків 2021.

У дисертації розкрито нові дані щодо структури популяції черевоногого молюска *N. concinna* для цілої острівної системи Аргентинських островів, Західна Антарктика. Встановлено закономірності розповсюдження молюска в дослідженій акваторії з урахуванням морфологічної та генетичної структури популяції. Реконструйовано філогенію представників роду *Nacella* і можливі регіони походження і шляхи поширення. Визначено роль молюска в антарктичних екосистемах, дані про ресурси та можливість його використання як індикатора стану навколишнього середовища.

Виявлено три морфотипи *N. concinna* з різною скульптурою раковини в акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський»: перший морфотип – раковина з гладкою глянцевою темною поверхнею, другий – класична форма з чіткими радіальними ребрами, третій – з концентричними кільцями та білою вершиною раковини. Встановлено, що морфотипи не відрізняються за морфометричними показниками, не мають генетичної диференціації, що свідчить про приналежність трьох морфотипів *N. concinna* до одного виду.

За допомогою неруйнуючого аналізу популяції *N. concinna* в акваторії архіпелагу Вільгельма розраховано основні морфометричні показники. Вага молюска розраховувалася за розробленими формулами. Встановлено залежності довжини, ширини раковини, ваги молюска, щільності популяції від глибини, а також кореляції між щільністю популяції *N. concinna*, довжиною раковини і вагою молюска на різних трансектах. Встановлено відсутність видимих закономірностей розподілу молюска за глибинами, морфометричними параметрами раковини

(довжина, ширина) та вагою молюска. Показано, що правило Фостера, щодо залежності морфометричних характеристик від об'єму харчових ресурсів, не виконується на деяких досліджених ділянках підводних ландшафтів.

Досліджені трансекти відрізняються за показниками щільності популяції, однак загальна тенденція прослідковується, а саме – зі збільшенням глибини, щільність популяції зменшується.

Різні розмірні класи молюска представлені на всіх досліджених глибинах (1 м, 5 м, 10 м, 15 м) на 8 трансектах протоки Meek, Stella Creek та акваторії мису Marina Point. Поділ популяції молюска на літоральний та субліторальний морфотипи не підтверджений для акваторії Архіпелагу Вільгельма. Різна скульптура раковини, ймовірно, є результатом фенотипової пластичності. Очевидно, морфологія раковин і вага *N. concinna* залежить від рельєфу дна, доступу до харчування (кількості водоростей) та хвильової активності на кожній досліджуваній трансекті. Досліджений молюск заселяє всі доступні підводні ландшафти і становить багатий біологічний ресурс в даній акваторії. Перерахована біомаса молюсків на дослідженій ділянці акваторії Meek Channel площею 9096 м² становить 1,2 т (1215 кг), на дослідженій ділянці акваторії Marina Point площею 3982 м² становить 0,6 т (642 кг), а на дослідженій ділянці акваторії в протоці Stella Creek площею 1969 м² – 0,43 т (430 кг).

Молекулярно-філогенетичний аналіз за фрагментами генів 12S, 16S, CO1 та 28S показав належність трьох морфотипів антарктичного лімпета з різною морфологією раковини до одного виду *N. concinna* в акваторії архіпелагу Вільгельма. Різні філогенетичні реконструкції продемонстрували близькі зв'язки *N. concinna* та інших нацеллід з Patellogastropoda тропічних та помірних вод Південної півкулі, зокрема з видами роду *Cellana* (*C. capensis*, *C. solida*, *C. taitensis*, *C. pricei*, *C. tramoserica* та інших). Показано, що нацелліди є автохтонами Антарктики.

Реконструкція філогенії Patellogastropoda за фрагментом мітохондріального гену 12S показало приналежність трьох морфотипів до одного виду *N. concinna*. Досліджені молюски мають генетичну спорідненість з іншими представниками

нацеллід, зокрема мешканцями акваторії Південної Америки і формують з ними монофілетичну кладу з бутстрепом 99: *N. clypeater*, *N. magellanica*, *N. deaurata*, *N. mytilina*. *N. clypeater*, *N. magellanica* з чилійського узбережжя (Тихий океан) і узбережжя Вогняної Землі відповідно, утворюють окрему субкладу. Рід *Nacella* об'єднується з бутстрепом 99 з сестринською кладою роду *Cellana*, що є представниками помірних та тропічних океанічних вод. Цей рід зустрічається в помірних і тропічних Індо-Тихому океанах, на Гавайях, навколо Австралії і Нової Зеландії. Види також зустрічаються навколо берегів Японії, Червоного моря, Маврикія, Мадагаскару, Південної Африки і субантарктичних островів. Вид *C. capensis* населяє Індо-Тихоокеанський регіон, в основному біля берегів Австралії. Представник *C. solida* поширений у східній частині Індійського океану, а також біля узбережжя Австралії. *C. taitensis* мешкає вздовж берегів Французької Полінезії та островів Піткерн. Ці два роди утворюють єдину монофілетичну кладу, яка є сестринською з невеликим бутстрепом 54 до монофілетичної класи, до складу якої входять представники родів *Scutellastra*, *Helcion*, *Cymbula*. Представники цієї класи поширені в басейні Атлантичного океану від берегів Норвегії до Південної Африки. Представники роду *Patella* утворили монофілетичну кладу з бутстрепом 99. Рід поширений на атлантичному узбережжі Європи.

Приналежність виявлених трьох морфотипів до одного виду *N. concinna* показано за результатами філогенетичного аналізу по фрагменту мітохондріального гену 16S. Досліджена вибірка видів поділилась на дві сестринські субклади першого порядку з бутстрепом 100. Перша сестринська кладка першого порядку поділяється на дві сестринські субклади другого порядку з бутстрепом 99. До першої класи з бутстрепом 100, увійшли представники антарктичного роду *Nacella* і індотихоокеанського роду *Cellana*, які сформували відповідні класи третього порядку. Всі три морфотипи *N. concinna*, позначені як b1, b2, b3, належать до одного виду *N. concinna*. Другий і третій морфотипи об'єднуються в одну класу разом із *N. concinna*, зібраного біля берегів Signy Island. *N. deaurata* з тихоокеанського узбережжя Чилі обіймає базальне положення

в цій кладі, у той самий час *N. magellanica* з того самого регіону виявляється «наймолодшим» елементом в цій групі разом із *N. mytilina*.

Реконструкція філогенетичного дерева різних морфотипів *N. concinna* за консервативним мітохондріальним фрагментом гену *COI*, показала приналежність досліджених зразків до одного виду. Всі представники виду *Nacella concinna* об'єдналися у єдину кладу з бутстрепом 100. Досліджені екземпляри мали генетичну спорідненість з іншими нацелідами: південноамериканською *N. magellanica* та видами *N. delesserti*, *N. aff. mytilina*, *N. kerguelensis*, *N. macquariensis*, *N. terroris*, *N. edgari* з акваторій субантарктичних островів. Інші представники роду *Nacella* утворили окремі клади відповідно до їх географічного поширення. На дереві ми спостерігаємо дві великі сестринські субклади з бутстрепом 100. Перша субклада 1-го порядку включає представників родів *Iothia*, *Tectura*, *Cellana*. Представники роду *Tectura* утворили окрему субкладу в межах кладу *Iothia* з бутстрепом 85, що потребує подальших філогенетичних і таксономічних досліджень. Варто відзначити, що види *Iothia*, *Tectura*, що сформували єдину кладу, демонструють біполярне поширення. Глибоководний вид *Iothia megalodon*, що поширена від середніх широт тихоокеанського узбережжя Чилі до протоки Бігль, посів базальне положення. Філогенетичний зв'язок з нею демонструє циркумантарктичний вид *Iothia emarginuloides*. *Iothia fulva* з північно-атлантичного узбережжя Британських островів і Норвегії утворює з попереднім видом сестринську кладу, але з невеликим бутстрепом – 55. Сестринську кладу з бутстрепом 77 з попередніми двома видами утворюють представники роду *Tectura*. Цей рід також демонструє біполярне поширення і вважається синонімом - *Iothia (Tectura) coppingeri*. *Tectura virginea* поширена від Північного до Середземного моря, *Tectura fenestrata* – на тихоокеанському узбережжі Аляски, *Tectura testudinalis* – у Канадській Арктиці і Гренландії. Досліджені представники роду *Tectura* утворюють монофілетичну кладу з бутстрепом 96. Клада «*Cellana*» є монофілетичною і включає виключно представників роду *Cellana*. Представники роду широко поширені на узбережжі Індійського океану від Африки до Індокитаю, навколо Австралії і Нової Зеландії, і

далі сягають Японських островів. Клада «*Iothia*, *Cellana*, *Tectura*» займає базальне положення відносно клади «*Nacella*». Друга сестринська субклада 1-го порядку утворена виключно представниками роду *Nacella*. Монофілетична клада «*Nacella*» включає кілька субклад. Перша базальна субклада 2-го порядку утворена виключно видом *N. kerguelensis*, поширеним виключно в акваторії субантарктичного острова Кергелен. Друга субклада 2-го порядку складається з субклади 3-го порядку, що утворена видом *Nacella concinna*, що поширений біля берегів Антарктичного півострову. Базальна субклада 3-го порядку включає представників з субантарктичних островів – *N. terroris*, *N. edgari*, *N. macquariensis*. Ця субклада займає базальне положення. Друга субклада 3-го порядку включає: субкладу, що утворена видом *N. clypeater* з тихоокеанського узбережжя Чилі; субкладу, що утворена *N. deaurata*, *N. fuegiensis*, *N. magellanica*, *N. mytilina* з берегів Південної Америки. *N. mytilina* відзначено з тихоокеанського узбережжя Чилі, Патагонії, атлантичного узбережжя Аргентини.

Реконструкцію філогенії *N. concinna* за консервативним ядерним геном 28S у програмі IQtree методом maximum-likelihood (консенсусне дерево виведене з 10000 генерацій) з розрахунком бутстрепа за байєсівським протоколом на базі 56 послідовностей з сервісу ncbi. У якості аутгрупи використано представника ветігастропода *Lepetella*. Клади 1-го порядку утворились з бутстрепом 70. До однієї клади увійшли представники родів *Scutellastra*, *Tectura*, *Patelloida*, *Patella* (бутстреп 51). При цьому представники роду *Tectura* не утворили монофілетичну кладу. До сестринської субклади увійшли представники родів *Cellana*, *Nacella* (бутстреп 44). Ця субклада поділяється на клади другого порядку з незначним бутстрепом 44, що свідчить про давність цього процесу. Два роди *Cellana*, *Nacella* утворюють монофілетичні сестринські субклади другого порядку. Клада «*Cellana*» має бутстреп 96, клада «*Nacella*» - бутстреп 97, що підтверджує монофілетичність цих родів. Дві сестринські субклади «*Nacella*» 3-го порядку з бутстрепом 94 сформовані наступним чином. Першу субкладу з бутстрепом 95 утворили *N. clypeater*, *N. mytilina*, *N. deaurata*, *N. flammea*, *N. magellanica*. *N. clypeater* з тихоокеанського узбережжя Чилі займає базальне положення у цій

субкладі. Підпорядковане положення займає *Nacella mytilina*, що поширена в акваторії Вогняної Землі, прилеглих тихоокеанському і атлантичному узбережжях Південної Америки, Фолклендах, о. Маріон. Далі *Nacella deaurata*, ареал якої охоплює ті ж самі райони, Антарктичний півострів, а також більшість субантарктичних островів і о. Кемпбелл на 50-й паралелі. *Nacella flammea*, *Nacella magellanica* утворили монофілетичну кладу. Перший вид поширений на островах Вогняної Землі і Фолклендах, а *N. magellanica* на додаток у Південній Георгії і західного узбережжя Антарктичного півострова. Сестринську субкладу з бутстрепом 94 утворили – *N. kerguelensis*, *N. concinna*, *N. delesserti*, *N. edgari*, *N. macquariensis*, *N. terroris*. Базальне положення у цій субкладі з бутстрепом 90 зайняла *N. kerguelensis*. Сестринська субклада *N. concinna* (Антарктичний півострів) + *N. delesserti* (Патагонія, субантарктичні острови) з бутстрепом 100. Сестринська субклада 3-го порядку з бутстрепом 97 утворена *N. edgari* (Патагонія, субантарктичні острови), *N. macquariensis* (острови Макуорі, Херд, Принц Едуард, Кемпбелл), *N. terroris* (о. Кемпбелл, новозеландська субантарктика).

Для перевірки можливості використання мікрофлори як філогенетичного маркера було виділено чисті культури бактерій з різних морфотипів молюска *N. concinna* та донних осадів з акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський». Антарктичні штами представлені психрофільними, мезотолерантними, галофільними переважно грамнегативними паличками та коками. Ізольовані бактеріальні культури мають оксидазну активність, а деякі – агаролітичні властивості.

Показано, що із культуральних рідин 34 досліджених штамів 26 (76.4%) виявили кератинолітичну активність (КерА), як на середовищі з мальтозою і желатином у якості субстрату, так і на середовищі із додаванням пір'я як основного джерела вуглецю і азоту.

Показано, що найвищий рівень казеїнолітичної активності демонстрували бактеріальні ізоляти, виділені з кишкової трубки молюсків (протока Skua Creek, з 6 м та 3 м глибини), за температури не лише 19° С (0,082 Од/мл і 0,027 Од/мл,

відповідно), а і 28° С (0,074 Од/мл і 0,064 Од/мл, відповідно). Найвищий рівень кератинолітичної активності (15 Од/мл, 14 Од/мл і 8 Од/мл) за температури 19° С виявляли культури, виділені з м'яких тканин (протока Skua Creek, з 5 м та 3 м, та Marina Point, з 5 м), і культури, виділені з кишкової трубки молюсків (Meek Channel, з 8 м і 5 м) (14 Од/мл, 7 Од/мл, відповідно). За температури 28° С найвищу кератинолітичну активність проявляли бактеріальні ізоляти, виділені з кишкової трубки і м'яких тканин молюсків (Meek Channel, з 1 м і 8 м) (9 Од/мл і 8 Од/мл, відповідно). Найчастіше кератинолітична активність була виявлена у культур, виділених з молюсків, які були відібрані з протоки Skua Creek (з 6 м, 3 м, 5 м) і каналу Meek (з 8 м, 5 м, 1 м). Таким чином, за температури 28° С більша кількість культур синтезує ферменти з кератинолітичною активністю (від 1 до 9 Од/мл), однак за температури 19° С рівень цієї активності значно вищий (від 1 до 15 Од/мл). Показано, що лише 5 бактеріальних ізолятів при вирощуванні за температури 28° С виявляли казеїнолітичну активність на рівні від 0,011 до 0,074 Од/мл, в той час, як за температури 19° С значно більша кількість (10) культур її проявляла (від 0,01 до 0,082 Од/мл).

Внаслідок скринінгу продуцентів α -L-рамнозидази серед 34 штамів була виявлена активність (від 0.0025 до 0.11 од/мг білка) у 8 штамів (23.5%), в той час як в культуральній рідині штамів, виділених з акваторії острова Уругвай (16 м) та Stella Creek (1 м), вона була слідовою. Максимальна α -L-рамнозидазна активність виявлена в культуральній рідині двох штамів (0.11 та 0.095 од/мг білка, відповідно), які були ізольовані зі змиву раковин молюска з акваторії острова Уругвай (глибина 16 м), а також одного штаму (0.085 од/мг білка), ізольованого із м'яких тканин того ж молюска.

Таким чином, нами вперше виділено чисті бактеріальні культури-продуценти протеолітичних (з кератинолітичною та казеїнолітичною активністю) та гліколітичних (α -L-рамнозидаза) ферментів з молюсків *N. concinna*.

Молекулярно-генетичним баркодингом за фрагментом гену 16S показано, що асоційована мікробіота з *N. concinna* представлена протеобактеріями

(*Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Shewanella*, *Cobetia*, *Psychromonas*), бактероїдами (*Bizionia*) та фірмікутами (*Oceanobacillus*).

Встановлено систематичне положення виділених нами антарктичних штамів та їх ймовірне біполярне розповсюдження. Реконструкція філогенетичних зв'язків молюск-асоційованої мікрофлори, показала їх спорідненість з бактеріями Арктичного регіону (*Psychromonas arctica*, *Oceanobacillus picturae*, *Pseudoalteromonas arctica*, *Shewanella vesiculosa*, *Psychrobacter fozi*, *Psychrobacter fjordensis*, *Psychrobacter glaciei* та інших) і можливий біполярний характер їх поширення.

Досліджений нами вид черевоногого молюска *N. concinna* в акваторії архіпелагу Вільгельма представляє собою як науковий об'єкт еволюційно-біологічних досліджень і філогенетичних реконструкцій, так і модельний об'єкт для моніторингу екологічних трансформацій під впливом глобальних кліматичних змін. Є біологічним ресурсом, що внесений до каталогу FAO (Food and Agriculture Organization, United Nations Organization). *N. concinna* є генетично гетерогенним видом, адаптованим до різноманітних підводних ландшафтів та здатний до широкого розселення. Виділені з молюска чисті бактеріальні культури є потенційним ресурсом джерела різних холодостійких ферментів і подальшого їх застосування у промисловості.

У результаті проведених досліджень було визначено таксономічний статус і структуру популяцій представників роду *Nacella* з різних ділянок акваторії Аргентинських та прилеглих островів за морфологічними, молекулярно-генетичними та екологічними ознаками. В результаті дослідження зроблено наступні основні висновки.

Поділ популяції молюсків на літоральний та субліторальний морфотипи не підтверджений для акваторії дослідженої острівної системи. Розподіл популяції *N. concinna* по підводних ландшафтах не має чітких закономірностей між морфометричними параметрами раковини, вагою молюска та глибиною. У деяких випадках правило Фостера, щодо залежності розмірів від енергетичних ресурсів, може не виконуватись.

N. concinna заселяє всі доступні ландшафти, утворює популяцію з високою фенотиповою пластичністю, яка включає три морфотипи за скульптурою раковини, і становить багатий ресурс в дослідженій акваторії.

Молекулярно-філогенетичний аналіз за мітохондріальними 12S, 16S, CO1 генами і ядерним геном 28S показав належність трьох морфотипів *N. concinna*, виділених за морфологією раковини, до одного виду в акваторії архіпелагу Вільгельма, Західна Антарктика. Філогенетичні реконструкції продемонстрували близькі зв'язки *N. concinna* з нацеллідами Вогняної Землі і субантарктичних островів.

Показано філогенетичні зв'язки нацеллід з Patello gastropoda тропічних та помірних вод Атлантичного океану. Встановлено, що нацелліди є автохтонами Антарктики. Ймовірним місцем первинного видоутворення за молекулярними годинниками є Кергеленське плато і межа Антарктичного півострова та Вогняної Землі, що пов'язані з прадавньою тріасовою фауною півдня Гондвани.

Молекулярно-генетичний баркодинг за фрагментом гену 16S показав приналежність асоційованої з *N. concinna* мікробіоти до протеобактерій (*Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Shewanella*, *Cobetia*, *Psychromonas*), бактероїдів (*Bizionia*) та фірмікут (*Oceanobacillus*).

Реконструкція філогенетичних зв'язків молюск-асоційованої мікрофлори показала їх спорідненість з бактеріями Арктичного регіону і можливий біполярний характер їх поширення.

Показано, що асоційовані з *N. concinna* мікробіота не може слугувати філогенетичним маркером еволюційних процесів, однак може бути використана у якості екологічного маркера підводних ландшафтів і субпопуляцій молюску.

Ключові слова: *Nacella concinna*, антарктичний лімпет, структура популяції молюска, філогенія, баркодинг, молекулярні годинники, молюск-асоційовані бактерії, біполярне розповсюдження, ензими бактерій, Західна Антарктика

ABSTRACT

Berezkina A.Ye. Population structure and resources of the gastropod mollusk *Nacella concinna* (Strebel, 1908) in the coastal waters of the Ukrainian Antarctic Station "Academik Vernadsky", Argentine Islands archipelago, West Antarctica. Qualification scholarly paper: a manuscript.

Thesis submitted for obtaining the Doctor of Philosophy degree in Biology, Speciality 091 – Biology (09 – Biology). – V. N. Karazin Kharkiv National University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The thesis is dedicated to new data on the population structure of the gastropod mollusk *N. concinna* for the entire island system of the Argentine Islands, West Antarctica. Patterns of limpet distribution in this water area taking into account the morphological and genetic population structure. The phylogeny of the genus *Nacella* and possible regions of origin and distribution are reconstructed. The role of mollusks in Antarctic ecosystems, data on resources and the possibility of its use as an environmental indicator are determined.

Three morphotypes of *N. concinna* with different shell sculptures in the water area of the Ukrainian Antarctic Station "Academik Vernadsky" were identified. The first morphotype has a shell with a smooth glossy dark surface, the second - a classical form with clear radial ribs, the third – with concentric rings and a white top of the shell. It was found that morphotypes do not differ in morphometric parameters, do not have genetic differentiation, which indicates that the three morphotypes of *N. concinna* belong to the same species. The main morphometric parameters were calculated with using non-destructive analysis of the *N. concinna* population in the Wilhelm archipelago water area. The mollusk weight was calculated by the developed formulas. The dependences of length, shell width, mollusk weight, population density on depth, as well as correlations between *N. concinna* population density, shell length and mollusk weight on different transects were established. The absence of visible patterns of mollusk distribution by depth, morphometric parameters of the shell (length, width) and mollusk weight was established. It was shown that Foster's rule regarding the dependence of morphometric characteristics on food resources was not confirmed for

some studied areas of underwater landscapes. The studied transects differ in terms of population density, but the general trend is observed, namely - with increasing depth, population density decreases. Different size classes of mollusks were presented at all investigated depths (1 m, 5 m, 10 m, 15 m) on 8 transects of the Meek Strait, Stella Creek and the waters of Cape Marina Point. The division of the mollusk population into littoral and sublittoral morphotypes has not been confirmed for the Wilhelm Archipelago water area. Different shell sculptures are probably the result of phenotypic plasticity. Obviously, the shell morphology and the weight of *N. concinna* depend on the relief of the bottom, access to food (amount of algae) and wave activity on each studied transect. The studied mollusk inhabits all available underwater landscapes and constitutes a rich biological resource in this area. The calculated biomass of mollusks in the studied area is 1.2 tons (1215 kg) for Meek Channel (9096 m²), 0.6 tons (642 kg) for Cape Marina Point water area (3982 m²) and 0.43 tons (430 kg) for Stella Creek (1969 m²).

Molecular phylogenetic analysis of 12S, 16S, CO1 and 28S gene fragments showed that three morphotypes of the Antarctic limpet with different shell morphology belong to the same species of *N. concinna* in the Wilhelm Archipelago water area. Various phylogenetic reconstructions have demonstrated close relationships between *N. concinna* and other nacellids from Patellogastropoda of tropical and temperate waters of the Southern Hemisphere, in particular, species of the genus *Cellana* (*C. capensis*, *C. solida*, *C. taitensis*, *C. pricei*, *C. tramoserica*, and others). It is shown that the nacellids are the autochthons of the Antarctic.

Reconstruction of the Patellogastropoda phylogeny by a fragment of the mitochondrial gene 12S showed that three morphotypes belong to one species of *N. concinna*. The studied mollusks have a genetic relationship with the other nacellids, in particular the inhabitants of the South American waters and form with them a monophyletic clade with 99 % bootstrap support: *N. clypeater*, *N. magellanica*, *N. deaurata*, *N. mytilina*. *N. clypeater*, *N. magellanica* (from the Chilean coast (Pacific Ocean) and the coast of Tierra del Fuego) form a separate subclade. The genus *Nacella* combines with the sister clade of the genus *Cellana* (99 % bootstrap support), which are

inhabitants of temperate and tropical ocean waters. This genus is found in the temperate and tropical Indo-Pacific Oceans, Hawaii, around Australia and New Zealand. The species were also found around the coasts of Japan, the Red Sea, Mauritius, Madagascar, South Africa and the sub-Antarctic islands. The species *C. capensis* inhabits the Indo-Pacific region, mainly off the coast of Australia. *C. solida* is found in the eastern Indian Ocean off the coast of Australia. *C. taitensis* lives along the coasts of French Polynesia and Pitcairn Islands. These two genera form a single monophyletic clade that is sister with a small 54 % bootstrap support to the monophyletic clade which includes species of the genera *Scutellastra*, *Helcion*, *Cymbula*. Representatives of this clade are common in the Atlantic Ocean from the coast of Norway to South Africa. Representatives of the genus *Patella* formed a monophyletic clade with bootstrap 99. The genus is distributed on the Atlantic coast of Europe.

The affiliation of the identified three morphotypes to one species of *N. concinna* is shown by phylogenetic analysis of mitochondrial 16S gene fragment. The studied sample was divided into two first-order sister subclades with bootstrap 100. The first first-order sister clade is divided into two second-order sister subclades with bootstrap 99. The first clade with bootstrap 100 included Antarctic genus *Nacella* and Indo-Pacific genus *Cellana*, which formed the clades of the third order. All three morphotypes of *N. concinna*, denoted as b1, b2, b3, belong to the same species *N. concinna*. The second and third morphotypes are grouped together with *N. concinna*, collected off the coast of Signy Island. *N. deaurata* from the Pacific coast of Chile occupies a basal position in this clade, while *N. magellanica* from the same region is the "youngest" element in this group, along with *N. mytilina*.

Phylogenetic tree reconstruction of the tree *N. concinna* morphotypes on the conservative mitochondrial *CO1* gene fragment, showed that the studied samples belong to one species. All members of the species *Nacella concinna* were combined in a single clade with bootstrap 100. The studied specimens were genetically related to other nacellids such as South American *N. magellanica* and species *N. delesserti*, *N. aff. mytilina*, *N. kerguelensis*, *N. macquariensis*, *N. terroris*, *N. edgari* from the water area of the sub-Antarctic islands. Other species of the genus *Nacella* have formed

separate clades according to their geographical distribution. On the tree we see two large sister subclades with bootstrap 100. The first subclade of the 1st order includes representatives of the genera *Iothia*, *Tectura*, *Cellana*. Representatives of the genus *Tectura* formed a separate subclade within the *Iothia* clade with bootstrap 85, which requires further phylogenetic and taxonomic studies. It should be noted that the species *Iothia*, *Tectura*, which formed a single clade, show bipolar distribution. The deep-sea species *Iothia megalodon*, which extends from the mid-latitudes of the Pacific coast of Chile to the Beagle Strait, has taken a basal position. The circum-Antarctic species *Iothia emarginuloides* demonstrates a phylogenetic relationship with it. *Iothia fulva* from the North Atlantic coast of the British Isles and Norway forms a sister clade with a previous species, but with a small bootstrap - 55. The sister clade (77 % bootstrap support) with the previous two species is formed by members of the genus *Tectura*. This genus also shows bipolar distribution and is considered synonymous with *Iothia* (*Tectura*) *coppingeri*. *Tectura virginea* is distributed from the North to the Mediterranean, *Tectura fenestrata* - on the Pacific coast of Alaska, *Tectura testudinalis* - in the Canadian Arctic and Greenland. The studied members of the genus *Tectura* form a monophyletic clade with bootstrap 96. The clade "*Cellana*" is monophyletic and includes only members of the genus *Cellana*. Representatives of the genus are widespread on the coast of the Indian Ocean from Africa to Indochina, around Australia and New Zealand and further reach the Japanese islands. The clade "*Iothia*, *Cellana*, *Tectura*" occupies a basal position relative to the clade "*Nacella*". The second sister subclade of the 1st order is formed exclusively by members of the genus *Nacella*. Monophyletic clade "*Nacella*" includes several subclades. The first basal subclade of the 2nd order is formed exclusively by the species *N. kerguelensis*, distributed exclusively in the sub-Antarctic Kerguelen Island waters. The second subclade of the 2nd order consists of the 3rd order subclade, formed by the species *Nacella concinna*, which is common off the coast of the Antarctic Peninsula. The basal subclade of the 3rd order includes representatives from the sub-Antarctic islands - *N. terroris*, *N. edgari*, *N. macquariensis*. This subclade occupies a basal position. The second subclade of the 3rd order includes: a subclade formed by the species *N. clypeator* from the Pacific coast

of Chile; subclade formed by *N. deaurata*, *N. fuegiensis*, *N. magellanica*, *N. mytilina* from the coast of South America. *N. mytilina* is noted from the Pacific coast of Chile, Patagonia, the Atlantic coast of Argentina.

Reconstruction of *N. concinna* phylogeny by the conservative 28S nuclear gene in the IQtree program by the maximum-likelihood method (consensus tree derived from 10,000 generations) based on Bayesian bootstrap based on 56 sequences from the ncbi service. *Lepetella* (a representative of the vetigastropod) was used as an outgroup. Clades of the 1st order were formed with bootstrap 70. One clade included representatives of the genera *Scutellastra*, *Tectura*, *Patelloida*, *Patella* (bootstrap 51). Species of the genus *Tectura* did not form a monophyletic clade. The sister subclade included representatives of the genera *Cellana*, *Nacella* (bootstrap 44). This subclade is divided into second-order clades with a low bootstrap 44, which indicates the antiquity of this process. The two genera *Cellana*, *Nacella* form monophyletic sister subclades of the second order. The *Cellana* clade has a bootstrap 96, the *Nacella* clade has a bootstrap 97, which confirms the monophyletic nature of these genera. Two sister 3rd order subclades "Nacella" with bootstrap 94 are formed as follows. The first subclade with bootstrap 95 formed *N. clypeater*, *N. mytilina*, *N. deaurata*, *N. flammea*, *N. magellanica*. *N. clypeater* from the Pacific coast of Chile occupies a basal position in this subclade. Subordinate position is occupied by *Nacella mytilina*, which is common in the waters of Tierra del Fuego, adjacent to the Pacific and Atlantic coasts of South America, the Falklands, Marion (eol.org/page/4793132). Further, the *Nacella deaurata* (eol.org/species/5857969) covers the same areas, the Antarctic Peninsula, as well as most of the sub-Antarctic islands and Campbell Island on the 50th parallel. *Nacella flammea* (eol.org/page/4793148), *Nacella magellanica* formed a monophyletic clade. The first species is distributed on the islands of Tierra del Fuego and the Falklands, and *N. magellanica* in addition to South Georgia and the west coast of the Antarctic Peninsula (eol.org/species/5857967). The sister subclade with bootstrap 94 was formed by *N. kerguelenensis*, *N. concinna*, *N. delesserti*, *N. edgari*, *N. macquariensis* and *N. terroris*. The basal position in this subclade with bootstrap 90 was occupied by *N. kerguelenensis*. Sister subclade *N. concinna* (Antarctic Peninsula) + *N. delesserti*

(Patagonia, sub-Antarctic islands) with bootstrap 100. Sister 3rd order subclade with bootstrap 97 formed by *N. edgari* (Patagonia, sub-Antarctic islands) (eol.org/page/46464990), *N. macquariensis* (Macquarie Islands, Heard, Prince Edward, Campbell, eol.org/page/4793099), *N. terroris* (Campbell Island, New Zealand sub-Antarctic).

Pure bacterial cultures from different morphotypes of *N. concinna* and bottom sediments (from the water area of the Ukrainian Antarctic Station "Academik Vernadsky") were isolated to test the possibility of using the microflora as a phylogenetic marker. Antarctic strains are represented by psychrophilic, mesotolerant, halophilic mostly gram-negative rod-shaped bacteria and cocci. Isolated bacterial cultures have oxidase activity, and some have pronounced agarase activity.

It was shown that the culture fluids of 26 strains (76.4%) (among 34 studied strains) showed keratinolytic activity (KerA), both on the medium with maltose and gelatin as a substrate, and on the medium with the addition of feathers as the main source of carbon and nitrogen.

The highest level of caseinolytic activity was in bacterial isolates from the intestinal tube of mollusks (Skua Creek Strait, from 6 m and 3 m depth) at a temperature of 19° C (0.082 U/ml and 0.027 U/ml, respectively), and 28 ° C (0.074 U/ml and 0.064 U/ml, respectively). The highest level of keratinolytic activity (15 U/ml, 14 U/ml and 8 U/ml) at 19° C was found in cultures isolated from mollusk soft tissues (Skua Creek, 5 m and 3 m, and Marina Point, 5 m), and from the intestinal tube of mollusks (Meek Channel, 8 m and 5 m) (14 U/ml, 7 U/ml, respectively). At 28° C, the highest keratinolytic activity was in bacterial isolates from the intestinal tube and soft tissue of mollusks (Meek Channel, 1 m and 8 m) (9 U/ml and 8 U/ml, respectively). Most often keratinolytic activity was found in cultures isolated from mollusks that were selected from the Skua Creek Strait (6 m, 3 m, 5 m) and the Meek Channel (8 m, 5 m, 1 m). Thus, at a temperature of 28° C more cultures synthesize enzymes with keratinolytic activity (from 1 to 9 U/ml), but at a temperature of 19° C the level of this activity was much higher (from 1 to 15 U/ml). Only 5 bacterial isolates at a temperature of 28° C

showed caseinolytic activity at the level of 0.011 to 0.074 U/ml, while at a temperature of 19° C significantly more cultures (10) showed it (from 0, 01 to 0.082 U/ml).

Screening of α -L-rhamnosidase producers among 34 strains revealed activity (from 0.0025 to 0.11 U/mg protein) in 8 strains (23.5%), while it was trace in the culture fluid of strains isolated from the waters of Uruguay (16 m) and Stella Creek (1 m). The maximum α -L-rhamnosidase activity was found in the culture fluid of two strains (0.11 and 0.095 U/mg protein, respectively), which were isolated from the washout of mollusk shells from the waters of Uruguay (depth 16 m) and one strain (0.085 U/mg of protein) isolated from the soft tissues of the same mollusk.

Thus, for the first time we isolated pure bacterial cultures-producers of proteolytic (keratinolytic and caseinolytic activity) and glycolytic (α -L-rhamnosidase) enzymes from *N. concinna* mollusks.

Molecular genetic barcoding of the 16S gene fragment shows that *N. concinna*-associated microbiota is represented by Proteobacteria (*Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Shewanella*, *Cobetia*, *Psychromonas*), Bacteroidetes (*Bizionia*) and Firmicutes (*Oceanobacillus*).

The systematic position of the Antarctic strains and their probable bipolar distribution have been established. Reconstruction of phylogenetic relationships of mollusk-associated microflora, showed their affinity with bacteria of the Arctic region (*Psychromonas arctica*, *Oceanobacillus picturae*, *Pseudoalteromonas arctica*, *Shewanella vesiculosa*, *Psychrobacter fozi*, *Psychrobacter fjordensis*, *Psychrobacter glaciei* and others), which suggests their bipolar distribution.

Gastropod mollusk *N. concinna* studied in the Wilhelm Archipelago water area. It is both a scientific object of evolutionary biological research and phylogenetic reconstructions, as well as a model object for monitoring ecological transformations under the influence of global climate change. Limpet is a biological resource included in the FAO (Food and Agriculture Organization, United Nations Organization) catalog. *N. concinna* is a genetically heterogeneous species, adapted to a variety of underwater landscapes and capable of widespread settlement. Pure bacterial cultures isolated from

mollusks are a potential resource of various cold-resistant enzymes and their subsequent use in industry.

As a result of the research, the taxonomic status and population structure of the genus *Nacella* (from different water areas of the Argentine and adjacent islands) were determined by morphological, molecular genetics and ecological characteristic. The following main conclusions can be drawn as a result of the study.

The division of the mollusk population into littoral and sublittoral morphotypes has not been confirmed for the water area of the studied island system. The distribution of the *N. concinna* population in underwater landscapes does not have clear patterns between the morphometric parameters of the shell, the weight of the mollusk and the depth. In some cases, Foster's rule regarding the dependence of size on energy resources may not be followed.

N. concinna inhabits all available landscapes, forms a population with high phenotypic plasticity, which includes three morphotypes of shell sculpture, and is a rich resource in the study area.

Molecular phylogenetic analysis of mitochondrial 12S, 16S, *CO1* genes and nuclear 28S gene showed that three morphotypes (selected by the shell morphology) belong to the same species *N. concinna* in the Wilhelm archipelago water area, West Antarctica. Phylogenetic reconstructions have shown close relationships between *N. concinna* and the nacellids of Tierra del Fuego and sub-Antarctic islands.

Phylogenetic relationships of nacellids with Patellogastropoda of tropical and temperate Atlantic Ocean waters are shown. It is established that the nacellids are indigenous to Antarctica. The Kerguelen Plateau and the boundary of the Antarctic Peninsula and Tierra del Fuego, which are associated with the ancient Triassic fauna of southern Gondwana, are likely sites of primary speciation by molecular clock.

Molecular genetic barcoding of the 16S gene fragment showed that the *N. concinna*-associated microbiota belonged to Proteobacteria (*Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Shewanella*, *Cobetia*, *Psychromonas*), Bacteroidetes (*Bizionia*) and Firmicutes (*Oceanobacillus*).

Reconstruction of the phylogenetic relationships of mollusk-associated microflora showed their affinity to bacteria in the Arctic region and the possible bipolar nature of their spread.

It has been shown that the microbiota associated with *N. concinna* cannot serve as a phylogenetic marker of evolutionary processes, but can be used as an ecological marker of underwater landscapes and mollusk subpopulations.

Key words: *Nacella concinna*, Antarctic limpet, mollusk population structure, phylogeny, barcoding, molecular clock, mollusk-associated bacteria, bipolar distribution, bacterial enzymes, West Antarctica

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

(* - особистий внесок здобувача)

Публікації у наукових фахових виданнях України:

1. Berezkina, A., Shrestha, M., Sinna, O., Shmyrov, D., Utevsky, A. (2018). The distribution of the Antarctic limpet *Nacella concinna* (Nacellidae) on underwater landscapes of the Meek Channel, Argentine Islands, Graham Land. *Ukrainian Antarctic Journal*, 1(17), 102-112. DOI: [https://doi.org/10.33275/1727-7485.1\(17\).2018.35](https://doi.org/10.33275/1727-7485.1(17).2018.35) (Автором виконано опис результатів, узагальнення та представлення результатів).
- 1а. Парнікоза, І., Березкіна, А., Моїсеєнко, Є., Маланчук, В., Кунах, В. (2018). Комплексна характеристика району Аргентинських островів та острова Галіндез (Морська Антарктика) як полігону для вивчення динаміки наземної рослинності. *Ukrainian Antarctic Journal*, 1(17), 73-101. DOI: [https://doi.org/10.33275/1727-7485.1\(17\).2018.34](https://doi.org/10.33275/1727-7485.1(17).2018.34) (Автором створено серію картографічних творів наземних екосистем Антарктики, виконано опис складових біотичних та абіотичних компонентів антарктичних екосистем).
2. Утевский, А.Ю., Сенная, Е.И., Берёзкина, А.Е., Шмырев, Д.В., Попов, В.С. (2016). Моделирование наземных и подводных биотопов о. Галиндез (Аргентинские острова, Западная Антарктика) с использованием геоинформационных систем. *Український антарктичний журнал*, 15, 96-105. DOI: <https://doi.org/10.33275/1727-7485.15.2016.95> (Автором виконано обробку матеріалів, прийнято участь в написанні та редагуванні статті).
3. Таширев, А.Б., Таширева, А.А., Березкина, А.Е. (2012). Роль криоценозов в формировании почв на ледниках Западной Антарктики. *Доповіді Національної академії наук України*, 4, 155-161. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/49503> (Автором прийнято участь в написанні та оформленні статті).

Публікації у науковому фаховому виданні України, що входить до міжнародної наукометричної бази Scopus:

4. Авдіюк, К. В., Варбанець, Л. Д., Березкіна, А. Є., Утевський, А. Ю. (2020). Кератинолітична активність антарктичних штамів бактерій. *Мікробіологічний журнал*, 82(2), 14-21. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.02.014> (Scopus) (Автором виділено чисті антарктичні культури, проведено дослідження їх морфолого-культуральних та деяких фізіолого-біохімічних властивостей).
5. Варбанець, Л. Д., Березкіна, А. Є., Авдіюк, К. В., Гудзенко, О. В., Булігіна, Т. В., Хархота, М. А., Утевський, А. Ю. (2020). Кератинолітична і α -L-рамнозидазна активність бактеріальних ізолятів, виділених із черевоногих молюсків *Nacella concinna* (Nacellidae) – мешканців Антарктики. *Мікробіологічний журнал*, 82(1), 13-21. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.01.013> (Scopus). (Автором виділено чисті антарктичні культури, проведено дослідження їх морфолого-культуральних та деяких фізіолого-біохімічних властивостей).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Berezkina, A., Kharkhota, M., Varbanets, L., Avdiuk, K., Gudzenko, O., Gorpynchenko, M., Utevsky, A. (2021, June). *Bipolar Distribution of the Some Bacteria Isolated from Antarctic Marine Biotopes*. Paper presented on the World Microbe Forum 2021, Virtual.
7. Berezkina, A.Ye., Kharkhota, M.A., Varbanets, L.D., Avdiuk, K.V., Gudzenko, O.V., Gorpynchenko, M.Yu., Utevsky, A.Yu. (2021). Phylogenetic relationships of the genus *Pseudoalteromonas*, *Psychromonas* and *Oceanobacillus* in the polar regions. *X Міжнародна антарктична конференція* (pp. 39-40). Kyiv, Ukraine.
8. Berezkina, A., & Utevsky, A. (2021). DNA-barcoding of the three morphotypes of the gastropod mollusc *Nacella concinna* in the water area of Wilhelm Archipelago, West Antarctica. *The Malacologist*, 76, 10.
9. Berezkina, A., Kharkhota, M., Kot, Y., Utevsky, A. (2020, February). *Microorganisms from Antarctic benthic biotopes in the water area of the Argentine Islands, Graham Land, West Antarctica*. Paper presented at the Polar ecology conference 2020, České Budějovice, Czech Republic.

10. Berezkina, A., Avdiuk, K., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2020, May). *Bacterial enzymes associated with the gastropod mollusc Nacella concinna from the water area of the Argentine Islands (West Antarctica)*. Paper presented at the 44th Annual Conference of Young Scientists "Cold in Biology and Medicine: Current Problems in Cryobiology, Transplantology, and Biotechnology", Kharkiv, Ukraine.
11. Berezkina, A., Avdiuk, K., Gudzenko, O., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2020). Bacterial enzymes associated with gastropod mollusc *Nacella concinna* from the water area of the Argentine Islands (West Antarctica). *Probl Cryobiol Cryomed*, 30 (3), 295. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo30.03a.295>.
12. Berezkina, A., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2020, August). *Phylogeny of the gastropod mollusk Nacella concinna and mollusk-associated bacteria from the water area of the Argentine Islands, Graham Land, West Antarctica*. Paper presented at the SCAR Open Science Conference 2020, Hobart, Tasmania, Australia.
13. Berezkina, A., Utevsky, A. (2020, November). *DNA-barcoding of the three morphotypes of the gastropod mollusc Nacella concinna in the water area of Wilhelm Archipelago, West Antarctica*. Paper presented at the Molluscan Forum 2020, Virtual.
14. Berezkina, A., Kharkhota, M., Kot, Yu., Utevsky, A. (2020, November). *Bacterial biodiversity of the gastropod Nacella concinna and bottom sediments in the water area of the Wilhelm Archipelago, West Antarctica*. Paper presented at the II Young scientists conference "Youth and modern problems of microbiology and virology", Kyiv, Ukraine.
15. Berezkina, A., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2019). Microflora of the gastropod mollusk *Nacella concinna* from the Argentine Islands Archipelago water area. *IX International Antarctic Conference* (pp. 204-206). Kyiv, Ukraine.
16. Fedchuk, A., Parnikoza, I., Kozeretska, I., Berezkina, A., Sinna, O., Utevsky, S., Levenets, V., Utevsky, A., Pshenichnov, L., Demianenko, K., Milinevsky, G., Dykyi, E. (2019). Preliminary proposal for designation of the Antarctic Specially Protected Area in the Argentine Islands Archipelago and nearby Graham Coast

- Antarctic Peninsula region. *Commission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources meetings* (pp. 1-13). Hobart, Tasmania, Australia.
17. Parnikoza, I., Berezkina, A., Dykyi, Y. (2018). *Current human impact and proposed conservation measures in the area of the Ukrainian Antarctic Station Akademik Vernadsky*. Paper presented at the III International scientific and practical conference; The Natural environment of Antarctica: ecological problems and nature protection, Minsk, Belarus.
18. Parnikoza, I., Berezkina, A., Kozheretska, I., Kunakh, V. (2018, March). *Vegetation mapping on the model Galindez Island as the basis for study of Antarctic terrestrial vegetation dynamics*. Paper presented at the 27th International Polar Conference, Rostock, Germany. URL: https://www.tib.eu/en/suchen/id/awi:doi~10.2312%252FBzPM_0716_2018/
19. Berezkina, A., Moiseyenko, Y., Voronina, K., Utevsky, A. (2018). Antarctic limpet *Nacella concinna* in the coastal waters of the Argentine Islands archipelago. *VII Student Conference: «ACADEMIC AND SCIENTIFIC CHALLENGES IN THE 21ST CENTURY»* (pp. 111-112). Kharkiv, Ukraine.
20. Березкіна, А., Парнікоза, І., Моїсеєнко, Е. (2017). Применение ArcGIS технологий в создании биогеографической карты компонентов наземных экосистем острова Галиндез. *VIII Міжнародна антарктична конференція* (pp. 51-52). Київ, Україна.
21. Парнікоза, І., Березкіна, А., Моїсеєнко, Є., Козерецька, І., Кунах, В. (2017). Детальне картування природних умов Аргентинських островів, як основа для моніторингу динаміки наземної рослинності. *VIII Міжнародна антарктична конференція* (pp. 82-83). Київ, Україна.
22. Berezkina, A., Parnikoza, I., Moiseyenko, Y., Kunakh, V., Kozheretska, I. (2017). Galindez Island as a model area for studying Antarctic terrestrial vegetation dynamics. *12th SCAR Symposium on Antarctic Biology* (p. 251). Leuven, Belgium.
23. Sinna, O., Utevsky, A., Popov, V., Ostroverh, E., Berezkina, A. (2017). Досвід застосування технологій ArcGIS для потреб біогеографічних досліджень у

- районі о. Галіндез (Аргентинські острови, Західна Антарктика). *IV Міжнародна науково-практична конференція "Геоінформаційні технології у територіальному управлінні та експертних дослідженнях: правові, організаційні, технічні проблеми"* (рр. 134-135). Одеса, Україна.
24. Дикий, И., Утевский, А., Берёзкина, А., Калюжная, Т., Моисеенко, Е. (2014). Создание новых морских охранных районов (МОР) в районе архипелага Аргентинские острова. *I Международная научно-практическая конференция "Биологические исследования в Антарктике"* (рр. 71-73). Нарочь, Республика Беларусь.
25. Дикий, И., Берёзкина, А., Калюжная, Т., Моисеенко, Е. (2014). Криль как основной компонент питания ластоногих в районе архипелага Аргентинских островов. *I Международная научно-практическая конференция "Биологические исследования в Антарктике"* (рр. 67-71). Нарочь, Республика Беларусь.
26. Берёзкина, А.Е., Моисеенко, Е.В., Норчевский, Р.В. (2013). Изучение биоразнообразия архипелага Аргентинских островов с помощью геоинформационных технологий. *VI Міжнародна антарктична конференція* (рр. 74-77). Київ, Україна.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	27
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	32
Морфотипи черевоногого молюска <i>Nacella concinna</i> в акваторії Антарктики.....	32
1.1. Екологія <i>Nacella concinna</i> та інших Patello gastropoda.....	32
1.2. Роль симбіонтів морських представників фауни.....	40
1.3. Внесок українських дослідників у вивчення антарктичних екосистем.....	43
Висновки до розділу 1.....	46
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	48
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	48
2.1. Неруйнуючий морфометричний аналіз трьох морфотипів <i>N. concinna</i>	48
2.2. Визначення ресурсів <i>N. concinna</i> в акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський».....	53
2.3. Молекулярно-генетичні дослідження антарктичного лімпета.....	53
2.4. Мікробіологічний аналіз молюск-асоційованої мікробіоти.....	55
2.5. Визначення ферментативної активності антарктичних штамів.....	59
2.6. Молекулярно-генетичні дослідження асоційованих з молюскам бактерій.....	61
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	63
3.1. Морфометричний аналіз популяції <i>N. concinna</i>	63
3.1.1. Опис популяції <i>N. concinna</i> у протоці Meek.....	63
3.1.1.1. Опис популяції <i>N. concinna</i> за трансектами.....	63
3.1.1.2. Опис популяції <i>N. concinna</i> за глибинами.....	68
3.1.2. Опис популяції <i>N. concinna</i> у протоках Meek, Stella Creek та акваторії мису Marina Point.....	72
3.1.2.1. Опис щільності популяції <i>N. concinna</i> за трансектами.....	72
3.1.2.2. Опис популяції <i>N. concinna</i> за трансектами.....	78
3.1.2.3. Опис популяції <i>N. concinna</i> за глибинами.....	88
3.2. Ресурси черевоногого молюска <i>N. concinna</i> в акваторії архіпелага Вільгельма.....	92

3.3. Молекулярно-генетичний аналіз трьох морфотипів <i>N. concinna</i>	93
3.4. Аналіз асоційованої з молюском <i>N. concinna</i> мікробіоти.....	110
3.4.1. Виділення чистих культур бактерій. Дослідження морфології клітин та деяких фізіолого-біохімічних властивостей культур.....	110
3.4.2. Дослідження жирнокислотного складу антарктичних штамів.....	126
3.4.3. Дослідження протеолітичних та гліколітичних ферментів антарктичних чистих культур.....	128
3.4.4. Молекулярно-генетичні дослідження антарктичних штамів, асоційованих з <i>N. concinna</i>	137
Висновки до розділу 3.....	146
РОЗДІЛ 4. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	148
4.1. Історія видоутворення нацеллід.....	148
4.2. Морфологічне різноманіття <i>Nacella concinna</i>	155
4.3. Різноманіття і походження мікробіоти молюсків.....	158
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	167
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ДЖЕРЕЛ.....	169
ДОДАТОК 1	182
ДОДАТОК 2.....	213

ВСТУП

Тема дисертації «Популяційна структура та ресурси черевоногого молюска *Nacella concinna* (Strebel, 1908) у прибережних водах Української антарктичної станції «Академік Вернадський», архіпелаг Аргентинські острови, Західна Антарктика» обрана у зв'язку із його широким поширенням в Західній Антарктиці, значним морфологічним різноманіттям і невизначеністю внутрішньовидових і міжвидових зв'язків. З літературних даних відомі два морфотипи *Nacella concinna*: літоральний та субліторальний. Перший мешкає на літоралі до 4 м глибини, а другий – у субліторальній зоні від 4 до 110 м. Для них характерні значні відмінності у скульптурі раковини. «Літоральний» морфотип має високу загострену важку раковину з чітко вираженими радіальними ребрами. У порівнянні із «субліторальним» морфотипом має коротшу довжину і меншу ширину раковини. Раковина літорального морфотипу має більшу масу. «Субліторальний» морфотип молюска характеризується більш плоскою формою раковини з невеликою висотою останньої. Раковина має гладку глянцеvu поверхню без радіальних ребер і є легшою, у порівнянні з літоральним морфотипом. Внутрішня поверхня раковини мілководного лімпета характеризується кремово-коричневим кольором, а у глибоководних молюсків вона темна пурпурно-коричнева. Для літорального морфотипу *N. concinna* характерні сезонні міграції на більші глибини. Взимку він мігрує у мілководну частину субліторалі і два морфотипи знаходяться у змішаній популяції. Весною після звільнення від криги літоралі, мілководний морфотип повертається на глибини до 4 м.

Попередні підводні спостереження, в акваторії Аргентинських островів, що проводились під час Українських антарктичних експедицій, показали наявність додаткового третього морфотипу із скульптурою раковини відмінною від раніше виділених морфотипів. Знайдений А. Ю. Утєвським третій морфотип *N. concinna* в акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський» на різних підводних ландшафтах став доказом прогалини у знаннях щодо морфології і

систематики *Nacella concinna*. Третій морфотип характеризується однорідним кольором раковини з чітко яскраво вираженою білою вершиною черепашки. Раковина має виражені концентричні кола. Крім того було помічено, що на різних підводних ландшафтах існують субпопуляції з різними розмірними класами.

Мета і завдання дослідження. Метою дослідження було визначення таксономічного статусу і структури популяцій представників роду *Nacella* з різних ділянок акваторії Аргентинських та прилеглих островів за морфологічними, молекулярно-генетичними та екологічними ознаками.

Відповідно до поставленої мети були сформовані наступні **завдання**:

1. Вивчити розподіл *N. concinna* по різних глибинах і ландшафтах на різних ділянках акваторії. Вивчити морфологічні особливості популяцій виділених морфотипів за розміром і формою раковин молюсків з різних островів.
2. Встановити систематичне положення 3-х морфотипів *N. concinna* з акваторії УАС «Академік Вернадський» молекулярно-генетичними методами за генами 12S, 16S, CO1, 28S.
3. Провести молекулярно-генетичний аналіз цих морфотипів. Здійснити реконструкцію філогенетичних зв'язків Patellogastropoda Південної півкулі.
4. Встановити систематичне положення молюск-асоційованої мікробіоти, як можливого філогенетичного і екологічного маркеру, молекулярно-генетичними методами за геном 16S.
5. Здійснити реконструкцію філогенетичних зв'язків молюск-асоційованої мікробіоти.

Об'єкт дослідження: молюск *Nacella concinna*, що відноситься до класу Gastropoda, підкласу Patellogastropoda, надродини Patelloidea, родини Nacellidae.

Предмет дослідження: морфологічні та молекулярно-генетичні ознаки, розподіл по підводних ландшафтах *Nacella concinna*, генетична структура популяції *N. concinna* в районі УАС «Академік Вернадський», різноманіття асоційованої мікробіоти як філогенетичного і екологічного маркеру.

Методи дослідження. При виконанні наукової роботи були використані морфометричні, статистичні, картографічні, молекулярно-генетичні, мікробіологічні, культуральні, мікроскопічні, біохімічні методи досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше дослідження виконано для цілої острівної системи. Розроблено моделі росту для різних субпопуляцій на різних підводних ландшафтах. Показано, що правило Фостера може не виконуватись на візуально однотипних підводних ландшафтах. Розраховано запаси молюску для різних ділянок акваторії Аргентинських островів. Вперше реконструйовано філогенетичні зв'язки трьох морфотипів *Nacella concinna*, їх філогенетичні зв'язки з іншими пателлогастроподами Південної півкулі. Показано однорідність виду за обраними мітохондріальними і ядерними генами на фоні морфологічного різноманіття. Вперше виділено молюск-асоційовану бактеріальну мікрофлору, проведено її молекулярно-генетичний баркодинг і встановлено філогенетичні зв'язки з мікробіотою Північної півкулі.

Практичне значення одержаних результатів. Антарктичний лімпет *N. concinna* є біологічним ресурсом, що входить до каталогу FAO (Food and Agriculture Organization) ООН. Молюск є об'єктом постійного моніторингу стану бентосної фауни в акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський». *N. concinna* є одним з індикаторних видів зміни кліматичних умов і їх впливу на морські екосистеми Антарктики. Нові дані можуть бути використані для підготовки курсів із зоології, гідробіології, біологічної океанології, філогенетики у вищих навчальних закладів України.

Особистий внесок здобувача. Збір матеріалу здійснювався учасниками Українських антарктичних експедицій. Здобувачем виконано морфометричний аналіз популяції червоногого молюска *N. concinna* в акваторії архіпелагу Вільгельма (Аргентинські острови). Для з'ясування систематичного положення *N. concinna*, дисертантом здійснено молекулярно-генетичний аналіз трьох морфотипів молюска на базі Лабораторії молекулярної філогенетики та еволюції біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Виконано баркодинг і філогенетичний аналіз різних морфотипів *N.*

concinna. На базі Інституту мікробіології та вірусології імені Д. К. Заболотного (відділ антибіотиків), ізольовано чисті культури бактерій, асоційованих з *N. concinna*, а також вільноживучі штами з донних осадів, де був зібраний досліджений молюск. Виконано молекулярно-генетичний баркодинг і філогенетичний аналіз чистих культур, виділених з *N. concinna*.

Досліджено кількість КУО/г зразка, оптимальні температури культивування, морфологію клітин, тип клітинної стінки та деякі фізіолого-біохімічні властивості чистих культур, зокрема наявність оксидази. Створено картографічний твір відбору зразків та ділянок оцінки ресурсу *N. concinna* у програмі ArcGIS 10.6.1.

Апробація результатів дисертації. Основні результати роботи представлено на міжнародних конференціях та форумах: VI, VIII, IX, X Міжнародна антарктична конференція (Київ, Україна, 2013, 2017, 2019, 2021), I Міжнародна науково-практична конференція “Біологічні дослідження в Антарктиці” (Нарочь, Республіка Білорусь, 2014), IV Міжнародна науково-практична конференція "Геоінформаційні технології у територіальному управлінні та експертних дослідженнях: правові, організаційні, технічні проблеми" (Одеса, Україна, 2017), 12th SCAR Symposium on Antarctic Biology (Leuven, Belgium, 2017), VII Student Conference: «Academic and Scientific Challenges in the 21st Century» (Kharkiv, Ukraine, 2018), 27th International Polar Conference (Rostock, Germany, 2018), III International scientific and practical conference «The Natural environment of Antarctica: ecological problems and nature protection» (Minsk, Belarus, 2018), Polar ecology conference 2020 (České Budějovice, Czech Republic, 2020), II Young scientists conference “Youth and modern problems of microbiology and virology” (Kyiv, Ukraine, 2020), Molluscan Forum 2020 (Virtual, 2020), SCAR Open Science Conference 2020 (Virtual, 2020), 44th Annual Conference of Young Scientists "Cold in Biology and Medicine: Current Problems in Cryobiology, Transplantology, and Biotechnology" (Kharkiv, Ukraine, 2020), World Microbe Forum (Virtual, 2021).

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 26 наукових праць, з них 5 статей, у тому числі 3 у фахових виданнях, 2 у фаховому виданні України, що включено до міжнародної наукометричної бази даних Scopus, 21 тез доповідей

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 217 сторінках друкованого тексту і складається із «Вступу», розділів «Огляд літератури», «Матеріали і методи досліджень», 3 розділів результатів власних досліджень, «Обговорення результатів», «Висновки» і «Додатки». Список використаних джерел містить 105 посилань, з яких 75 іноземних авторів. Дисертаційна робота містить 28 таблиць та 70 рисунків.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Робота виконана в рамках Державної цільової науково-технічної програми досліджень в Антарктиці на 2011-2020 роки.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

МОРФОТИПИ ЧЕРЕВОНОГО МОЛЮСКА *NACELLA CONCINNA* В АКВАТОРІЇ АНТАРКТИКИ

1.1. Екологія *Nacella concinna* та інших *Patellogastropoda*

Лімпет – це збірна назва примітивних молюсків підкласу *Patellogastropoda*, що відносяться до класу *Gastropoda*. Вони представляють інтерес для досліджень в галузі систематики, філогенетики, еволюційних процесів, оскільки мають дуже мінливу форму та забарвлення раковини навіть в межах одного виду. На сьогоднішній день відомо 298 видів представників підкласу пателогастропод, що мешкають у всіх частинах Світового океану (південно-східна Атлантика, від західного узбережжя Африки до Середземномор'я, в Індо-західній частині Тихого океану, південь Індійського океану, південь Австралії, Східна частина Тихого океану, Південний океан та Північний Льодовитий океани).

Підклас *Patellogastropoda* вважається найбільш примітивною групою серед гастропод. Лімпет об'єднують певні морфологічні характеристики, а саме – ковпачкоподібні (сплющені конусоподібні) раковини, дві пари зовнішніх бічних зубів радули, наявність паліальних ктенидій, ротація перикарда. Характеризується наявністю 2-3 завитків, тому розвивається вторинна білатеральна симетрія. Група вважається монофілетичною на підставі морфологічних ознак, а саме - декілька одонтофоральних м'язів, одонтофоральні хрящі, окрема середня частина стравоходу, вентрально позиційні гонади і губні ганглії.

За сучасною класифікацією пателлогастроподи поділяються на 7 родин: *Patellidae*, *Nacellidae*, *Lepetidae*, *Lottiidae*, *Pectinodontinae*, *Eoacmaeidae*, *Acmaeidae* (Nakano&Ozawa, 2007).

Серед підкласу Patellogastropoda в Антарктиці мешкають види молюсків з різних родів, зокрема з родини Lepetidae (надродина Lotiioidea) та Nacellidea поширених:

- 1) рід *Bathylepeta* (*Bathylepeta linseae*) в морі Уедделла;
- 2) рід *Iothia* (*Iothia emarginuloides*) в Магеллановій протоці, циркумантарктичний вид (Circum-Antarctic), на субантарктичних островах, Фолклендських островах та в Патагонії;
- 3) рід *Propilidium* (*Propilidium pelseneeri*) в морі Девіса, морі Уедделла, на сході Південних Сандвічевих островів.
- 4) рід *Nacella* в Поширених на Антарктичному півострові, острови Scotia Arc, Південної Джорджії, Південні Сандвічеві острови, острів Кергелен, о. Буве та ін. (Engl, 2012).

До представників роду *Nacella* належать 12 видів (*Nacella clypeater*, *N. magellanica*, *N. concinna*, *N. delesserti*, *N. deaurata*, *N. flammea*, *N. mytilina*, *N. kerguelensis*, *N. macquariensis*, *N. terroris*, *N. edgari*, *N. yaghana*), які поширені в різних частинах Південного океану, зокрема в Південній Америці, на субантарктичних островах і в Антарктиці.

Шість видів є південноамериканськими видами (*N. yaghana*, *N. clypeater*, *N. magellanica*, *N. deaurata*, *N. mytilina*, *N. flammea*), а інші 6 видів – поширені на субантарктичних островах та в Антарктиці (*N. concinna*, *N. delesserti*, *N. terroris*, *N. edgari*, *N. kerguelensis*, *N. macquariensis*) (González-Wevar et al., 2018). Вид *Nacella concinna* був описаний вперше в 1841 році Хамро і Джако (Nominanuda). Однак при описуванні виду *Nacella concinna* виникла неясність в розумінні видових ознак через дуже обмежену інформацію у першоджерелі і схожість з антарктичними видами пателогастропод. Це породило плутаницю у визначенні даного виду, тому синонімами *Nacella concinna* є також *Nacella polaris*, *Patinella polaris* var. *concinna*, *Patinigera concinna* (9 синонімів) тощо. Проблеми ідентифікації виду існують і до сьогодні.

Антарктичний лімбет *Nacella concinna* є одним з фонових численних та широко розповсюджених молюсків антарктичної фауни і є одним з найбільш

успішних і численних видів місцевої фауни. Розмір раковини досягає 6 см, однак глибоководні екземпляри зазвичай меншого розміру. Форма раковини конусоподібна, має біля 30 радіальних ребер і серію тонких концентричних ліній, які вказують на річні кільця росту. Темні широкі кільця раковини, які виникають під час швидкого росту влітку, чергуються з напівпрозорими тонкими кільцями – зонами повільного росту раковини взимку.

Деякі автори вивчали структуру популяції *N. concinna* на різних глибинах (на літоралі та субліторалі). Зокрема був виконаний аналіз популяції молюска в акваторії Potter Cove (South Shetland Islands). Літоральний морфотип був представлений менш широкими і короткими раковинами, а також мав більшу масу раковини у порівнянні з субліторальним морфотипом. Порівняння кривих росту Берталанфі довжини і ширини раковини показало низькі темпи росту у літоральних морфотипів у порівнянні із субліторальними (Lomovasky et al., 2020).

Колір раковини має різні відтінки – від блідо-коричневого до сірого, а внутрішня поверхня темна пурпурно-коричнева у глибоководних молюсків або кремово-коричнева у мілководних зразків. Край мантиї містить короткі щупальця.

Антарктичний лімпет мешкає у морі Скоша між Вогняною Землею і Антарктичним півостровом, де розташовані острови Південна Георгія, Південні Оркнейські острови, Південні Шетландські острови, острів Анверс, Пітерман, Галіндез та інші. Глибини, що заселяє *Nacella concinna*, сягають 935 метрів, однак більшість мешкає на мілководді. Переміщуються молюски по камінню та м'якому субстрату, харчуються водоростями, тривалість життя близько 60 років. Антарктичний лімпет роздільностатевий вид. Нерест відбувається в період весіннього цвітіння водоростей. Зрілі особини часто синхронізують свій нерест і утворюють нерестові групи до 35 особин, які можуть зберігатися біля тижня і навіть більше. Вважається, що така поведінка сприяє покращенню показників запліднення, оскільки концентрація сперматозоїдів вища, тому запліднення більш вірогідне.

Леонардо Гузман і Карлос Ріос (1987) показали, що чоловічі і жіночі особини *Nacella magellanica* не мають особливих відмінностей у своєму рості.

Швидше лімбет росте в період весна-літо, а повільніше – восени і зимою, що корелює з коливаннями фізичних і біологічних умов у Магеллановій протоці. Тривалість життя досліджених молюсків становила 15,7 – 37,8 років.

Andy Beaumont і Jeremy Wei (1991) визначили, що антарктичний лімбет (*Nacella concinna*) має значні відмінності у формі раковини, що є результатом впливу навколишнього середовища і обумовлені фенотиповою пластичністю. Генетичний аналіз лімбета островів Південна Георгія і Південних Оркнейських островів показав, що це одна географічно розділена популяція, а не окремі види.

Nacella concinna – єдиний крупний вид безхребетних, що зустрічається найбільш часто у приливній зоні південніше 60° S. Антарктичний лімбет може досягати значної щільності – більше 100 особин на м². Наприклад, на острові Signy – близько 125 особин на м². Щільність популяції антарктичного лімбета збільшується зі зменшенням глибини. Максимальна щільність популяції сягає на 4-5 м глибини. Зв'язок між щільністю популяції і глибиною пов'язаний зі зміною субстрату і покриттям водоростями.

Nacella concinna має складну популяційну структуру (рис. 1.1). В літературі згадуються два морфотипи молюска: один мешкає на літоралі, а другий - у мілководній частині субліторалі (Aranzamendi et al., 2008). Порівнюючи два морфотипи *Nacella concinna*, спостерігаються морфологічні відмінності раковин. Раковина літорального морфотипу має більш високу загострену форму, є важкою та щільною з вираженими радіальними ребрами. Субліторальний морфотип лімбета зазвичай має пласку легку раковину і, як правило, має більш гладку поверхню раковини. Науковці пов'язують такі морфологічні відмінності раковин з хвильовим навантаженням на літоральний морфотип.

Літоральний лімбет має в середньому на 20% меншу біомасу (суха маса) у порівнянні з субліторальним лімбетом подібного об'єму раковини (Thomas, 1948). Субліторальний морфотип має більш низьку і широку форму раковини, ніж літоральний морфотип. Мешкає на глибині 4-110 м.

Зараження раковин субліторального морфотипу ендолітичною водоростю значно впливає на щільність раковин і загальний рівень хлорофілу в раковинах.

Лімпет використовує доступну їжу (водоростеве обростання), що знаходиться на раковинах інших лімбетів. Епібіотичні водорості попереджують ерозію і зберігають шари раковини, що залягають під водоростями. У тяжких випадках через поїдання лімбетом водоростей на раковині, можуть бути пошкоджені шари раковин, що в свою чергу робить вразливими м'які тканини молюска.

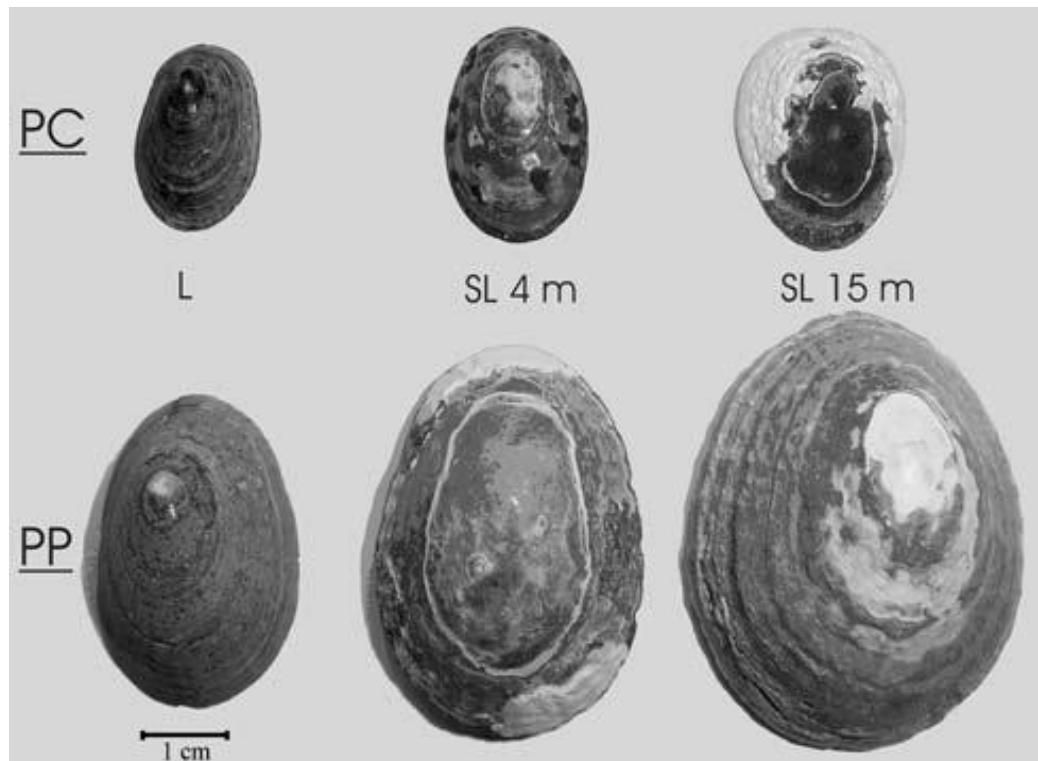


Рис. 1.1. Морфологія раковин двох морфотипів антарктичного лімпета. *PC* Penon Cero, *PP* Penon de Pesca, *L* літоральний морфотип, *SL* субліторальний морфотип (Aranzamendi et al., 2008)

Ендолітичні водорості часто вражають раковини молюсків. Вхідними воротами інфекції є місця ерозії або пошкодження раковини, де є легкий доступ до органічних речовин. В більшості випадків це не впливає на молюска, окрім збільшення органічного вмісту раковини. Ендолітичні водорості спричиняють перфорації у структурі раковини, які є прекрасним середовищем для розмноження водоростей, що в свою чергу заохочує випасання лімпета на раковинах і в результаті спричинює їх пошкодження.

Walker (1972) припустив, що відмінності у морфології раковин і епібіозній мікрофлорі двох морфотипів залежать від активності хвиль. В протипагу Walker (1972), Shabica (1976) припустив, що дія морських хвиль має невеликий ефект на морфологію раковин *N. concinna*. Shabica (1976) також відмітив зниження товщини раковини зі збільшенням глибини, що свідчить про адаптацію у літорального морфотипу, індуковану навколишнім середовищем, а саме – для захисту від льоду.

Таким чином дія хвиль, льодова корка впливають на формування раковини антарктичного ліммета. Домініканська чайка також спричинює селекцію, виїдаючи найкрупніших особин. Поява відмінностей у формі раковин літорального і субліторального морфотипів індукується фізичними, біологічними і поведінковими (випасання одних лімпетів на раковинах інших) факторами.

Приріст раковини є сезонним. Найбільш вагомими факторами, які впливають на ріст молюска – це температура, інсоляція і фотоперіод, а також хижацтво.

Shabica (1976) виявив кільця росту (темні смуги) на раковині антарктичного ліммета, що був знайдений на станції Палмер. Вчений дослідив кільця росту і зробив висновок, що кільце утворюється на раковині приблизно за один рік. *Nacella concinna* росте дуже повільно і сягає приблизно 41 мм до 21 року. Антарктичний лімпет має один з найнижчих темпів зростання та найбільшу тривалість життя серед всіх досліджених пателід. Shabica (1976) вимірював ріст ліммета на субліторалі і зробив висновок, що тривалість життя *N. concinna* перевищує 60 років.

Літоральний морфотип *Nacella concinna* є мігруючим видом: влітку мешкає на мілководді, а восени переміщується в мілководну частину субліторалі (Brathes et al., 1994), тобто мігрує на більшу глибину при значному пониженні температури. Весною молюск повертається на літораль. Взимку два морфотипи ліммета знаходяться у змішаній популяції. Міграція літорального ліммета на сублітораль пов'язаний зі зниженням температури повітря, збільшення активності хвиль, збільшення хижацтва птахами і формування льоду на літоральній зоні (Walker, 1972).

В зимовий період з появою льодяної кірки, літоральний морфотип мігрує на глибини, а після відступу льоду повертається на літораль. Темпи росту раковини мають сезонні коливання з максимумами росту в грудні та січні (Brathes et al., 1994).

Згідно Walker (1972), наявність їжі в приливній зоні може мати важливе значення при визначенні міграції ліммета в сторону приливної зони. Відомо, що не мігруючі популяції мали більшу висоту/довжину раковини і брак епібіозної фауни на поверхні раковини.

Picken (1980) відмітив міграційну поведінку антарктичного ліммета на острові Signy, а саме – добові вертикальні міграції *Nacella concinna* у приливній зоні. Відомо, що міграція пателлогастропод може бути спричинена хижаками і внутрішньовидовою конкуренцією (Picken, 1980).

Субліторальний ліммет вільно переміщується по кам'янистим субстратам і навіть може пересікати мулисті піщані субстрати, що не характерно для ліммета. Відомо, що пателлогастроподи дуже мобільні. Характерно, що *Nacella concinna* набагато мобільніша за *Patella vulgata*, особливо якщо врахувати низькі температури навколишнього середовища. Швидкість *Nacella concinna* досягає 5-10 см/хв-1 у водному середовищі. Субліторальний морфотип більш рухливий у воді, ніж літоральний. Обидва морфотипи рухаються набагато швидше у воді, ніж на суходолі.

У літорального і субліторального морфотипу ліммета відсутня генетична диференціація, що вказує на те, що це єдиний вид, поширений уздовж західного узбережжя Антарктичного півострова (Gonzalez-Wevar et al., 2013). Останній льодовиковий період різко скоротив популяцію *Nacella concinna*, оскільки розширення льодовикових щитів скоротило середовище існування молюсків до невеликого ізольованого рефугіума – вільних від льоду шельфових ділянок. Популяція *N. concinna* характеризується низьким рівнем нуклеотидного поліморфізму у порівнянні з іншими пателлогастроподами.

Nacella concinna розмножується один раз на рік, що співпадає з підвищенням температури води (від $-1,33^{\circ}\text{C}$ до $-0,84^{\circ}\text{C}$) (Brathes et al., 1994).

Маса молюска збільшувалася у період високого запасу мікрофітобентосу. Розмноження відбувається після 3 тижнів підвищення температури води на 1,4° С. Деякі автори повідомляють про співпадіння нереста ліммета зі збільшенням хлорофіла у воді (у період цвітіння фітопланктону). Таким чином нерест ліммета стимулюється підвищенням температури води, наявністю мікрофітобентоса, як джерела їжі, і впливом хвиль. Окрім цих факторів на початок розмноження ліммета впливає кількість падаючого світла. Shabica (1971) показав залежність зміни температури води і остаточного дозрівання гамет. У *Patella vulgata* стадія трохофори досягається приблизно через 24-30 годин при температурі води моря 10-15° С, за чим слідує період 3-4 днів планктонного велігера (Crofts, 1955). Потім личинка стає донною, хоча цей процес може зайняти до 3 тижнів (Smith, 1935). Остаточний метаморфоз проходить у раковині розміром 0,2 мм (Fretter & Graham, 1962). У порівнянні, яйця *Nacella concinna* при 0° С потребують 193 години для досягнення стадії трохофори (Shabica, 1971, 1976), що у 8 раз перевищує час розвитку, ніж у *Patella vulgata*. Період пелагічної личинки триває біля 1 місяця, потім триває стадія бентосної личинки близько 5 місяців. Личинки (їх розвиток) відносно нечутливі до типових літніх температур води. Личинка ліммета (велігер) здатна виживати у товщі води від 1 до 2 місяців (Peck et al., 2016).

Лімпет харчується в основному мікрофітобентосом та бактеріальною біоплівкою. Загалом ріст і плодючість молюсків контролюється наявністю їжі і життєвого простору. Екстремальні умови середовища ведуть до сезонності у наявності їжі, низьких темпів відновлення популяції, низької щільності популяції, низької смертності і високого рівня біомаси молюсків. Середнє значення розмірів ліммета в субліторалі нижче, ніж у літорального морфотипу.

Nacella concinna поїдається морськими птахами – білою сивкою *Chionis alba*, домініканською чайкою *Larus dominicanus*. Домініканська чайка *Larus dominicanus* є головним береговим хижаком обох морфотипів молюсків. Птах переважно віддає перевагу літоральному морфотипу ліммета, оскільки останній є більш доступним. *L. dominicanus* полює на більш крупні особини 35-65 мм довжиною, чим можна пояснити різке скорочення щільності популяції ліммета на

літоралі у січні. *Nacella concinna* з різною морфологією раковини у різній мірі потерпає від хижацтва домініканської чайки. Відомо, що найчастіше є об'єктом полювання раковини зі зміщеною вперед верхівкою. *L. dominicanus* надає перевагу в споживанні лімпету з грушевидною формою раковини, ніж з еліпсоїдною (Castillo et al., 2019).

Таким чином, літоральний морфотип лімпета в більшій мірі вразливий від хижацтва птахів, а субліторальний – у меншій мірі, але потерпає від інфекції ендолітичних водоростей і від випасання представників свого виду на раковинах.

Деякі автори спростовують наявність двох морфотипів антарктичного лімпета (Chwedorzewska et al., 2010). Hoffman (2009) та інші провели морфометричний і генетичний аналіз 400 екземплярів *N. concinna* з чотирьох глибин (літораль, 6 м, 15 м і 25 м) в акваторії біля острова Adelaide. Автори вважають поділ на два морфотипи штучним, а мінливість раковини моллюска обумовлена фенотиповою пластичністю даного виду.

Shabica (1976) зробив спостереження в експериментальних резервуарах і підтвердив хижацтво на лімпет деяких морських зірок – *Diplasterias brucei*, *Odontaster validus* and *Perkanaster* sp., а також риб – *Notothenia coriiceps*, морських їжаків *Sterechinus neumayeri*, пікногонід – *Colossendeis robusta*, *C. megalonyx* і *Pentanymphon* sp. Також відомими хижаками на лімпет є деякі гастроподи, немертини і антарктична тріска (2 види).

Для *Nacella concinna* дані щодо наявності паразитів обмежені, однак відомі паразити личинкової стадії лімпета, що належать до родини *Gymnophallidae*, ряду *Plagiorchiida* (Trematoda, Plathelminthes) (Flores et al., 2019).

Повільний ріст, довга тривалість життя та затримка зрілості є основними механізмами адаптації до суворого навколишнього середовища, де наявність їжі є низькою за виключенням коротких періодів протягом року (Picken, 1980).

1.2. Роль симбіонтів морських представників фауни

В літературі описано багато мікроорганізмів, що асоційовані з представниками бентосних організмів. Мікроорганізми виконують різні функції від захисної (синтезують антибіотичні речовини) до поживної (виробляють

речовини, які споживає макроорганізм) або ж допомагають у перетравленні їжі макроорганізмом. В свою чергу хазяїн виконує захисну функцію для мікроорганізмів, є прихистком та місцем проживання мікроорганізмів або ж виділяє речовини, які асимілюють мікроорганізми. Відомо, що деякі губки продукують біологічно-активні метаболіти, такі як N-ацил-гомосерин-лактони, що приймають безпосередню участь у селекції симбіотичних бактерій. Таким чином забезпечується коєволюція симбіонтів і хазяїв (Giudice & Rizzo, 2018). Патогени, симбіонти, паразити можуть бути використані у якості екологічного та філогенетичного маркера їх хазяїв (Boyko & Williams, 2009; Bryant et al., 2012).

В антарктичних водах також виявлені асоціації. Дріжджі *Leucosporidium drummii*, *Leucosporidiella muscorum*, *Leucosporidium scottii*, *Leucosporidiella creatinivora* і *Leucosporidiella yakutica* асоційовані з морською губкою *Hymeniacidon* sp., що була зібрана на глибині 6 м у затоці Філдс біля острова Кінг-Джордж, Антарктика (Laich et al., 2014).

Бактерія *Pseudomonas aeruginosa* (Proteobacteria) асоційована з губкою *Isodictya setifera* (Porifera) з акваторії острова Росса. *P. aeruginosa* є продуцентом дикетопіперазину та двох феназинових алкалоїдних антибіотиків.

Гамма-протеобактерії, флавобактерії та актинобактерії асоційовані з морським їжаком *Sterechnus neumayeri* (Echinodermata) з Maxwell Bay (акваторія острова Кінг-Джордж, Південні Шетландські острови) (Giudice & Rizzo, 2018).

Pseudomonas, *Psychrobacter*, *Shewanella* (серед гамма-протеобактерій), *Psychroserpens*, *Algoriphagus* (серед Bacteroidetes) і *Corynebacterium* (серед Actinobacteria) асоційовані з м'яким коралом *Alcyonium antarcticum* (Cnidaria) з протоки McMurdo Sound (море Росса). Серед асоційованих бактерій були знайдені сульфатредуючі бактерії (Castro-Sowinski, 2019).

За літературними джерелами (Ball et al., 2009; Raulfs et al., 2004; Hawe et al., 2014; Katz et al., 2006) відомі симбіонти молюсків-мешканців гідротермальних джерел:

- двостулкових молюсків родини Lucinidae (*Anodontia (euanodontia) ovum*) та Mytilidae (*Bathymodiolus hermophilus*, *Bathymodiolus antarcticus*) з сульфідокислюючими бактеріями на ктенидіях;
- черевоногих молюсків родини Orbitestellidae (*Lurifax vitreus*) з бактеріями в мантийній порожнині;
- та молюсків класу Aplacophora (підклас Solenogastres, *Helicoradomenia sp.*) з бактеріями на епітелії.

Що стосується антарктичного регіону, то відомі бактеріальні симбіонти антарктичного лімгета *Laevipilina antarctica* (родини Neopilinidae, клас Monoplacophora) з симбіонтами на мантиї (Weddell Sea) та двостулкові молюски *Thyasira falklandica* з симбіонтами на ктенидіях (Південні Шетландські острови) (Haszprunar et al., 1995).

У Південному океані в районі гідротермальних джерел East Scotia Ridge (ESR) відома гастропода *Gigantopelta chessoia*, з якою асоційовані бактерії. З травною залозою (oesophageal gland) молюска асоційовані гамма-протеобактерії, а з ктенидіями – гамма-, епсилон- та дельтапротеобактерії. Гаммапротеобактерії травної залози мають велику спорідненість з сіркоокислюючими бактеріями (Heywood et al., 2017).

Деякі симбіонти є продуцентами ферментів, що є стійкими до холодних умов полюсів. Ці ферменти мають високий рівень гнучкості у структурі білка, високу ступінь термостабільності та термолабільності, а також високу каталітичну ефективність при низьких температурах (Margesin & Miteva, 2011).

Flavobacterium, *Pseudomonas*, *Psychrobacter* асоційовані з кишечником олігохети *Grania sp.* (Annelida), що були зібрані на пляжі Артїгас, бухта Maxwell Bay (острів Кінг-Джордж, Південні Шетландські острови, Антарктика). Симбіонти є продуцентами позаклітинних ферментів, а саме – протеаз, естераз, амілаз, целюлаз та агараз.

Бактерія *Thalassospira sp.* (Alphaproteobacteria) асоційована з арктичним видом *Paramuricea placomus* (Cnidaria) з району Вестфьорден (Північна Норвегія). Симбіонт є продуцентом естераз (Bruno et al., 2019).

Для досліджуваного нами виду *Nacella concinna* відомі тільки дріжджі *Cryptococcus laurentii* і *Rhodotorula mucilaginosa* (Basidiomycota) з Адміралтейської бухти (Admiralty Bay) (Giudice et al., 2019). Дріжджі є продуцентами ліпаз, протеаз та ксиланаз.

Для психрофільних та психротолерантних бактерій характерно ряд пристосувань до холодних умов, зокрема високий вміст ненасичених жирних кислот в плазматичній мембрані. Плинність плазматичної мембрани також забезпечується зміною ізомеризації жирних кислот, збільшення метил-розгалужених жирних кислот, полярних каротиноїдів, збільшення співвідношення антеізо- та ізо-розгалужених жирних кислот, а також зменшення середньої довжини ланцюга жирних кислот і співвідношення стеролу з фосфоліпідами (Margesin & Miteva, 2011).

Для бактерії *Chryseobacterium frigidisoli*, що виділені з оазису Larsemann Hills (район Prydz Bay, Західна Антарктика), характерні зміни у жирнокислотному складі, а саме – збільшення антеізо-жирних кислот та зменшення ізо-жирних кислот. При зниженні температури відбувається постійне збільшення антеізо- і біс-ненасичених жирних кислот, а також збільшення антеізо-гептадека-9,13-дієнної кислоти (Bajerski et al., 2017).

1.3. Внесок українських дослідників у вивчення антарктичних екосистем

Наземні екосистеми Антарктики мають тісний зв'язок з прибережними водами субантарктичних островів та самого континенту. Стоки поживних речовин з наземних біотопів потрапляють у акваторію з таненням снігу та льоду у весняний період. Збагачення вод мікроелементами спричинює активне розмноження фітопланктону, що в свою чергу є харчовою базою для морської фауни, зокрема бентосних організмів, таких як антарктичний лімбет. Вивчення наземних екосистем Антарктики за допомогою програмного забезпечення ArcGIS 10.6.1, дало змогу комплексно дослідити як наземні, так і морські біотопи (Березкина et al., 2013).

Геоінформаційні системи є сучасним інструментом збору, збереження, аналізу та графічної візуалізації просторових даних і пов'язаної з ними

інформації. В єдиний геоінформаційний ресурс об'єднані результати акустичної зйомки обраних ділянок дна, аналізу біорізноманіття підводних ландшафтів, хімічного і морфологічного аналізу примітивних ґрунтів о. Галіндез (Аргентинські острови, Західна Антарктика). Для візуалізації даних використано стандартне картографічне відображення і тривимірне моделювання з використанням ArcGIS™ (Утевский et al., 2016; Sinna et al., 2017).

На основі польових методів та картування в програмі ArcGIS узагальнено данні про регіон Аргентинських островів, детально охарактеризовано наземні біотопи та ландшафтні елементи, поверхневі води, загальну рослинність для обраного нами як дослідний полігон острова Галіндез (Berezkina et al., 2017; Парнікоза et al., 2017; Берёзкина et al., 2017). Охарактеризовано також залежність поширення окремих рослинних угруповань від впливу тварин та антропогенного фактору (Parnikoza et al., 2018).

Ведеться робота із заснування Особливо охоронюваних районів Антарктики в районі Аргентинських островів, прилеглих островів архіпелагу Вільгельма і прибережних сусудніх оазисів Антарктичного півострова. Ці райони будуть включати як сушу, так і морську складову (Parnikoza et al., 2018; Fedchuk et al., 2019). На основі підводних спостережень було запропоновано створення морських заповідних територій у протоках Стела Крик і Скуа Крик. Вибір ділянок проводився у відповідності з протоколом NAGISA і акустичною зйомкою дна акваторії Аргентинських островів. Були розроблені описи морських заповідних територій і визначені їх категорії у відповідності з методологією IUCN. Індeksi відповідності, розраховані за методологією IUCN, відносять МОР (морські охоронювані райони) Стела Крик і Скуа Крик до категорій Ia і III, відповідно. Створені 3D-моделі морських територій, що охороняються (Utevsky et al., 2014).

Досліджено біорізноманіття антарктичних риб'ячих п'явок (Hirudinea: Piscicolidae). Представлено ревізований список з 21 виду із 13 родів, що містять описи про хазяїв, географічне розповсюдження та фото 20 видів п'явок (Utevsky, 2003). Описано нові види п'явок риб з Антарктичного регіону: *Nototheniobdella sawyeri* sp. n. (Utevsky, 1993), *Cryobdella ljadovi* sp.n. (Epshtein&Utevsky, 1994),

Cryobdella pallida sp. n., *Moorebdellina meyeri* sp. n. (Utevsky, 1997), *Ceratobdella quadricornuta* n. sp. (Utevsky&Gordeev, 2015), *Ambulobdella shandikovi* n. sp. (1433 м) (Utevsky& Utevsky, 2018), *Pterobdellina vernadskyi* sp. nov., останній вид є найглибоководнішою антарктичною п'явкою (2600 м) (Utevsky et al., 2021).

Досліджено можливість використання хімічних маркерів для вивчення та опису екосистем. В якості хімічних маркерів використовували фотосинтетичні пігменти - каротиноїди та хлорофіли, а також ґрунтові полімери - гумінові, фульвокислоти та їх солі. Вивчалися кореляції між концентраціями цих маркерів у зразках та параметрами “загального азоту” та золи. Проведено комплексний хімічний аналіз дев'яти зразків, зібраних на пагорбі Демарія на висоті від 47 м до 408 м над рівнем моря. Було зроблено висновок, що в мізерних антарктичних екосистемах вміст каротиноїдів та хлорофілів адекватно відображає кількість цілої фітомаси та біомаси. Загальний вміст гумінової та фульвокислоти можна використовувати для оцінки кількості органічних речовин у ґрунтах. Порівняння концентрацій фотосинтетичного пігменту з параметром «загальний азот» дозволяє відокремити азот біогенної фітомаси та продукти життєдіяльності тварин (Chereleva et al., 2014). Вперше описано процес формування ґрунтів на льодовиках Західної Антарктики (о. Галіндез). Фотосинтетичні мікроорганізми утворюють плями цвітіння, які нагріваються на сонці та спричинюють інтенсивне танення льоду з утворенням заглиблень. У заглибленнях накопичується некромаса фотосинтетичних мікроорганізмів і далі зброджується хемоорганотрофними мікроорганізмами з утворенням “гуміфікованого субстрату”. Випаровування вологи приводить до формування льодового ґрунту. У льодових ґрунтах кількість мікроорганізмів висока та становить 10^4 - 10^7 клітин/г (сім екофізіологічних груп), а концентрація гумусу знаходиться в межах 0,39-0,73 %. Дані свідчать про біорізноманіття мікробних ценозів льодових ґрунтів та їх можливу участь у глобальних циклах вуглецю на льодовиках Західної Антарктики: в утворенні і гуміфікації органічних сполук, фіксації елементів (N, P, S), а також балансі парникових газів (синтез CH_4 та CO_2) (Таширев et al., 2012).

Проведений копрологічний аналіз харчування антарктичних видів тюленів в районі архіпелагу Вільгельма показав, що у більшості видів тюленів регіону в раціоні переважав криль *Euphasia superba*. Протягом літнього періоду криль складає 97,2% раціону морських котиків (*Arctocephalus gazella*) і 90% раціону тюленя-крабоїда (*Lobodon carcinophagus*). Найбільший процент крилю (80 %) в досліджених екскрементах тюленя Уеддела відмічався у годуючих самок в період лактації. Криль є основним компонентом харчування 4-х видів ластиногих у весняно-літній період на території архіпелагу Вільгельма. Види тюлень-крабоїд та південний морський котик можуть бути використані у якості видів-індикаторів поширення та чисельності криля в даному регіоні (Дикий et al., 2014).

Висновки до розділу 1

1. Черевоногий молюск *N. concinna* є одним з найбільш вивчених представників фауни Антарктики. Незважаючи на довгу історію його дослідження, до сьогодення залишалися питання таксономічного статусу різних морфотипів молюска через високу фенотипову пластичність даного виду. Одним з аспектів, що визначають труднощі вивчення *N. concinna* є значна схожість молюска з іншими представниками пателлогастропод даного регіону.
2. З літературних джерел відомо два морфотипи *N. concinna*: літоральний (поширений до 4 м) та субліторальний (мешкає від 4 до 110 м). Морфотипи відрізняються за скульптурою раковини, а саме – літоральний морфотип має високу загострену важку раковину з чітко вираженими радіальними ребрами, а субліторальний морфотип – має більш плоску черепашку та гладку глянцевою поверхню.
3. В акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський» виявлено три морфотипи *N. concinna* з різною скульптурою раковини: перший морфотип – раковина з гладкою глянцевою темною поверхнею, другий – класична форма з чіткими радіальними ребрами, третій – з концентричними кільцями та білою вершиною раковини. Пошук відповіді

щодо таксономічного статусу знайденого третього морфотипу *N. concinna* в акваторії Аргентинських островів є актуальним у розрізі зменшення прогалин наукових даних у регіоні Антарктики.

Матеріали розділу опубліковані [3; 10].

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 2.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Неруйнуючий морфометричний аналіз трьох морфотипів *N. concinna*

Морфологія раковини молюска *N. concinna* визначалась за чіткими відмінностями скульптури черепашки (Berezkina et al., 2018). Перший морфотип характеризувався гладкою глянцевою темною поверхнею. Другий морфотип мав розповсюджену класичну форму раковини з чіткими радіальними ребрами. Третій морфотип був з білою вершиною черепашки та концентричними кільцями (рис. 2.1).

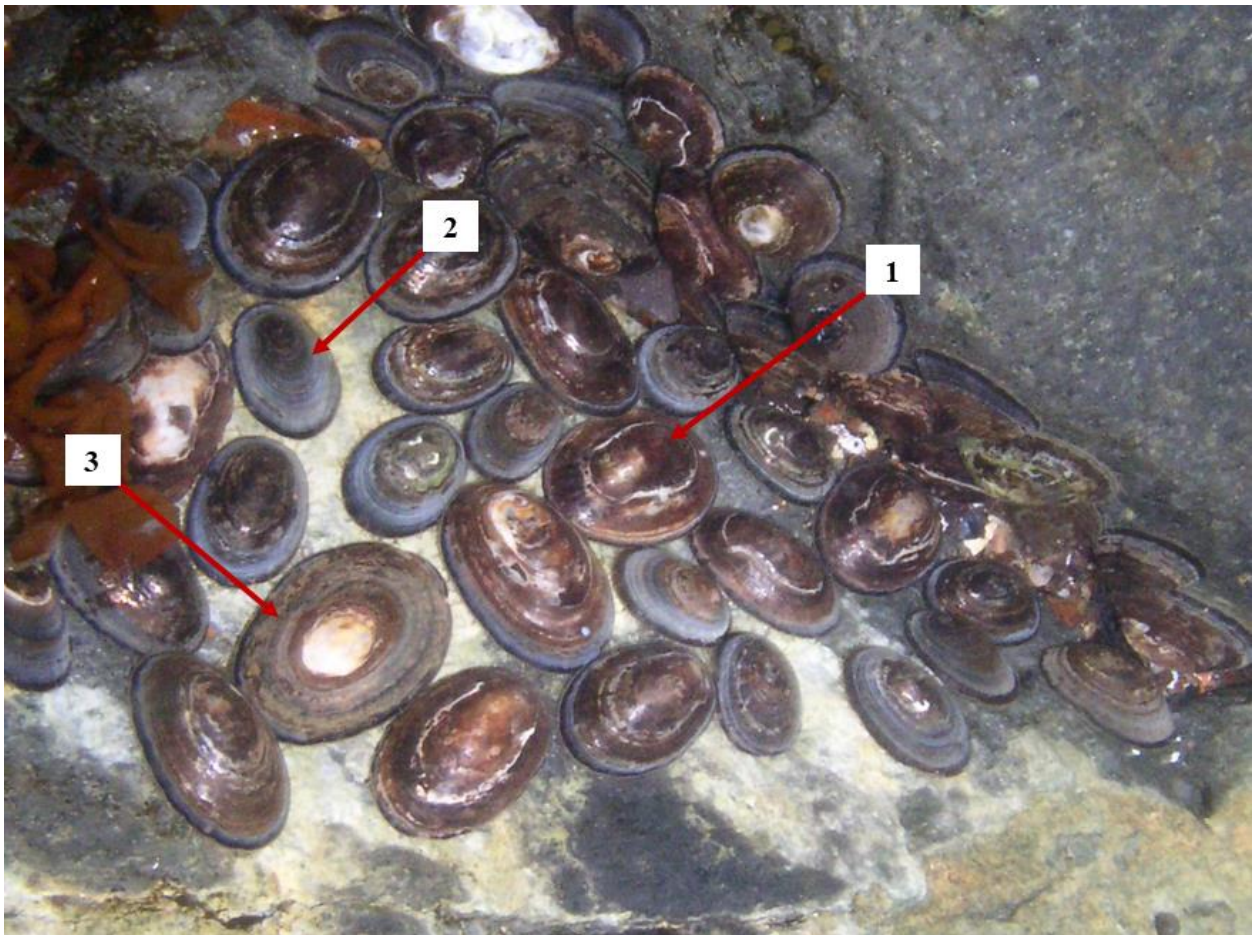


Рис. 2.1. Три морфотипи *Nacella concinna* з акваторії Архіпелагу Вільгельма (фото А. Ю. Утєвського)

В літній сезон 2016 року було засновано А. Ю. Утєвським трансекти підводних полігонів в протоках Meek Channel (МК1, МК2, МК3), Stella Creek (SC1, SC2), а також біля мису Marina Point (MP1, MP2, MP3) в акваторії острову Галіндез (рис.2.2).

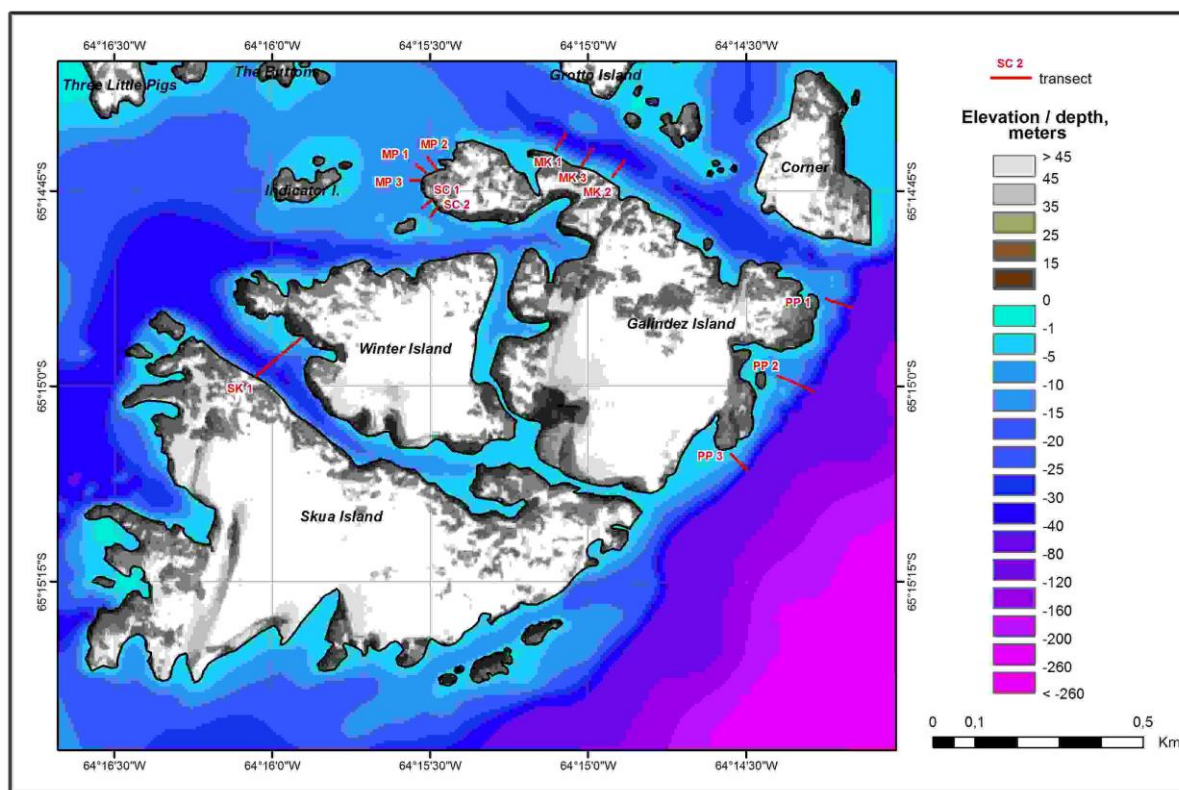


Рис.2.2. Схема розміщення трансект підводного полігону

Три трансекти в протоці Meek Channel розташовані за наступними координатами: МК1 – S 65°14.699' W 64°15.106'; МК2 – S 65°14.719' W 64°15.023', МК3 – S 65°14'42.73" W 64°15'4.90". Відстань від МК1 до МК3 становить близько 29 метрів, а від МК2 до МК3 – 33,9 м.

Застосовували підводне занурювання з наступною фото- та відеофіксацією рельєфу та груп бентосних організмів. Фотографування донних живих організмів здійснювали на глибинах 1 м, 5 м, 10 м і 15 м з використанням стандартної квадратної рамки розміром 25х25 см. Серія фотографій на кожній точці трансекти була взята для кількісного визначення розповсюдженого червоного моллюска

Nacella concinna і для розрахунку їх морфометричних параметрів за допомогою програми VISION-ZEISS (рис. 2.3, рис. 2.4) (Utevsky et al., 2017).



Рис.2.3. Бентосне угруповання на трансекті МК2, глибина 5 м: метод підводного занурювання вздовж трансекти з використанням стандартної квадратної рамки 25х25 см. Серія фотографій А. Ю. Утевського



Рис. 2.4. Морфометрія раковини *N. concinna*, програма VISION-ZEISS: L – довжина раковини (ліворуч перший морфотип, а праворуч – другий). Фото А. Ю. Утєвського

Акустична зйомка була проведена (рис. 2.5) з використанням картплоттера Lowrance HD7 для реконструкції донного рельєфу в районі трансект.

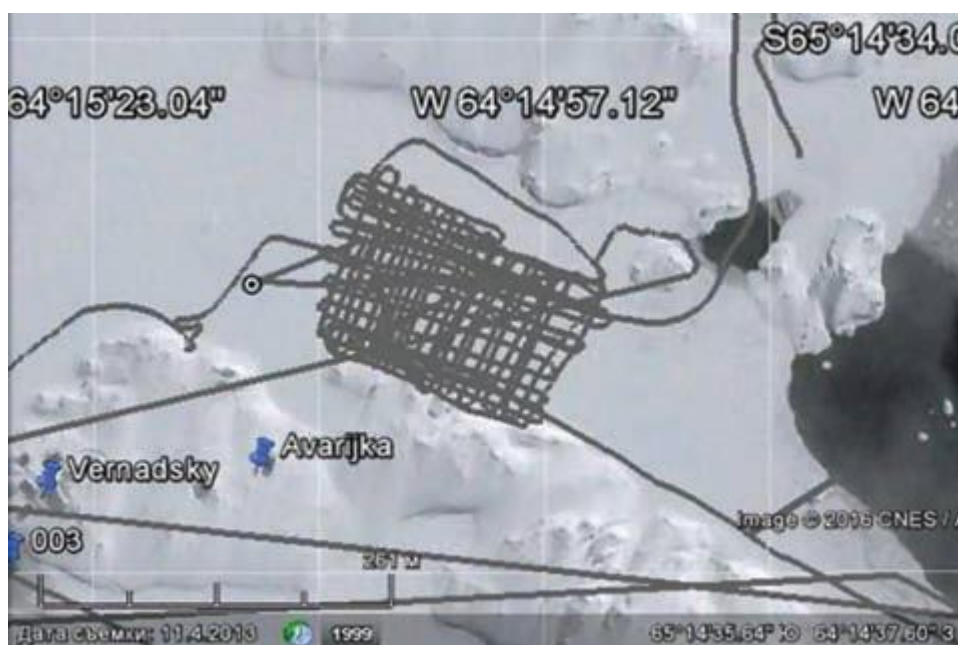


Рис. 2.5. Скриншот трека акустичної зйомки з використанням Lowrance HD7 в районі трансекти

Розрахунок біомаси проводили з використанням формули (Utevsky et al., 2017):

$$\text{для } L < 33 \text{ мм} \quad M = 0.0075 * \exp(0.2211 * L) \quad (2.1)$$

$$\text{для } L > 33 \text{ мм} \quad M = 0.4671 * \exp(0.0624 * L) \quad (2.2)$$

Для статистичного аналізу популяції *N. concinna* в акваторії Meek Channel використовували програму Statistica 13.3 (<https://www.tibco.com/resources/product-download/tibco-statistica-trial-download-for-windows>).

Подальша реконструкція рельєфу морського дна була здійснена за допомогою програмного пакету ArcGIS 10.6.1.

Наступним етапом досліджень був морфометричний аналіз популяції *N. concinna* на більш розширеній акваторії архіпелагу Вільгельма. Для моніторингу стану вже заснованих біогеографічних полігонів А. Ю. Утєвським проведено низку дослідницьких занурень в акваторії проток Stella Creek, Skua Creek, Meek Channel та Marina Point. Для акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський» було розширено географію досліджень зі структури популяції червоного молюска *N. concinna*. Дослідження проводились на раніше виділених трансектах Marina Point (MP1, MP2, MP3), Meek Channel (MK1, MK2) та Stella Creek (SC1, SC2) (рис. 2.2).

Проведено фотографування донних ландшафтів по 7 трансектах з метою стандартного обліку донних організмів на глибинах 1, 5, 10, 15 метрів та виявлення змін в донних біоценозах. Фотографування виконано за стандартним протоколом – на кожному горизонті зроблено 5-6 знімків з використанням стандартної рамки 25x25 см. Під час занурень на трансектах відібрані зразки донних осадів для подальшого біологічного та хімічного аналізів; зразки червоного молюска *N. concinna* для морфологічного, генетичного та мікробіологічного аналізів.

Для морфометричних вимірювань довжини та ширини раковини молюска було використано програму AxioVision 4.8. За допомогою нижченаведених

формул вираховували вагу кожного молюска за довжиною і шириною раковини (Utevsky et al., 2017):

$$1 - \text{для довжини раковини} < 29 \text{ мм} \quad M = 0.0075 * \exp(0.2211 * L) \quad (2.3)$$

$$\text{ширини раковини} \quad M = 0,007 * \exp(0,3299 * W) \quad (2.4)$$

$$2 - \text{для довжини раковини} > 29 \text{ мм} \quad M = 0.4671 * \exp(0.0624 * L) \quad (2.5)$$

$$\text{ширини раковини} \quad M = 0,4163 * \exp(0,0931 * W) \quad (2.6)$$

Побудову графіків залежностей різних величин виконували в програмному пакеті Statistica 13.3 (<https://www.tibco.com/resources/product-download/tibco-statistica-trial-download-for-windows>).

2.2. Визначення ресурсів *N. concinna* в акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський»

Визначення ресурсів черевоногого молюска *N. concinna* в акваторії Аргентинських островів було здійснено наступним чином: середня вага молюска (г) помножена на середню щільність популяції (кількість молюсків на рамку) і помножено на 16 рамок ($1 \text{ м}^2 = 16 \text{ рамок}$). Ця величина відповідала сумарній вазі молюсків на 1 м^2 . Біомасу 1 м^2 на кожній дослідженій ділянці перераховано на загальну площу досліджених ділянок. Загальну площу досліджених ділянок акваторії Marina Point, Stella Creek та Meek Channel було вираховано за допомогою програми ArcGIS 10.6.1 (рис. 2.6).

2.3. Молекулярно-генетичні дослідження *Nacella concinna*

Для з'ясування систематичного положення 3-х морфотипів *N. concinna* з акваторії УАС «Академік Вернадський» провели молекулярно-генетичні дослідження. Було виділено ДНК 3-х морфотипів молюсків з протоки Пенола, Якірної бухти, акваторії Малих Ялурів та Безіменного острова. Для виділення ДНК використовували набір для виділення ДНК NeoPrep100 DNA та GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit від Sigma. Для проведення ампліфікації фрагментів генів було використано наступні праймери:

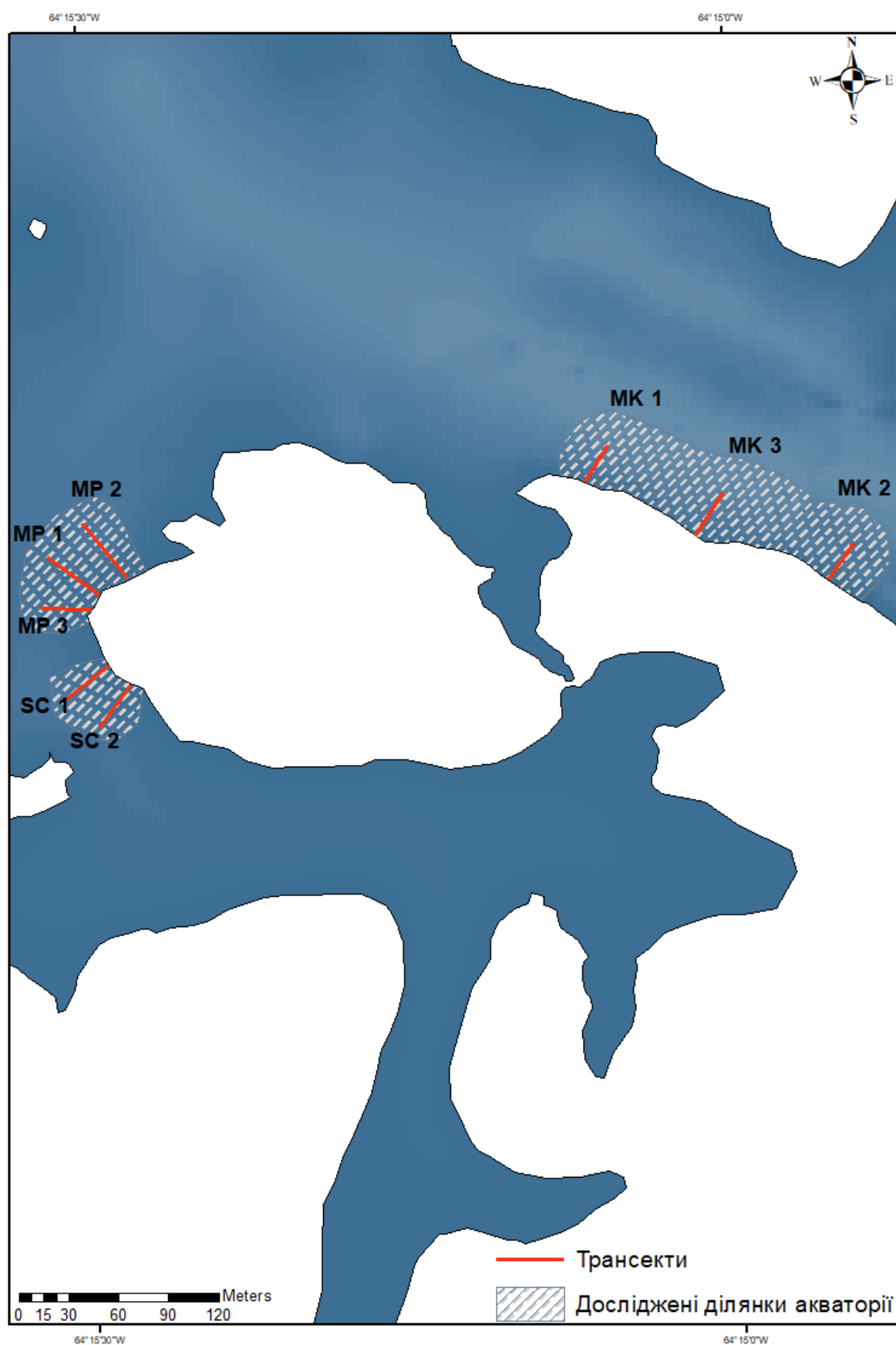


Рис. 2.6. Досліджені ділянки акваторії Marina Point, Stella Creek та Meek Channel

1. Для *12S* – 12Sma/12Smb (Kouforanou et al., 1999);
2. Для *16S* – 16LRN 13398/16 SRHTB (Kouforanou et al., 1999);
3. Для *COI* – COI-LEMF/COI-LEMR (González-Wevar et al., 2010).

Приготування ПЛР-суміші для подальшого ампліфікування фрагментів генів *12S*, *16S* та *COI* здійснювали за протоколом (на 1 зразок): ММ (Thermo Scientific PCR MasterMix) – 12,5 мкл, Primer F – 2 мкл, Primer R – 2 мкл, H₂O – 6 мкл. До суміші ММ з праймерами об'ємом 22,5 мкл додавали 2,5 мкл ДНК.

Модифіковано програми для ампліфікації генів *12S* та *16S* (Kouforanou et al., 1999), а також для гена *COI* (González-Wevar et al., 2010).

Для ампліфікації фрагмента гену *12S* було використано наступну програму: 94° – 3 хв (1 цикл); 94° – 30 с, 48° – 1 хв, 72° – 90 с (40 циклів); 72° – 3 хв (1 цикл).

Полімеразну ланцюгову реакцію для фрагмента гену *16S* проводили за допомогою програми: 94° – 3 хв (1 цикл); 94° – 30 с, 50° – 45 с, 72° – 90 с (40 циклів); 72° – 3 хв (1 цикл).

Ампліфікацію фрагмента гену *COI* здійснювали за допомогою програми: 94° – 3 хв (1 цикл); 94° – 1 хв, 48° – 45 с, 72° – 1 хв (35 циклів); 72° – 6 хв (1 цикл).

Перевірили кількість та якість ампліфікованих фрагментів генів методом електрофорезу в агарозному гелі. У кожну лунку додавали по 1 мкл барвника та 4 мкл ПЛР-продукту, а в лунку зі шкалою вносили 2 мкл барвника і 2,5 мкл ladder. Електрофорез проводили при 70V і 50 mA протягом години.

Після ампліфікації фрагменти генів *12S*, *16S* та *COI* були очищені та відсиквеновані в обох напрямках з ампліфікаційними праймерами. Сиквенування виконано в Macrogen (Амстердам). Аналіз філогенії антарктичних штамів виконували за допомогою програмного забезпечення: ChromasPro 2.1.9, BioEdit 7.0.5.3 – редагування хроматограмм; MEGA 10, MAFFT 7 – вирівнювання матриць; IQtree (iqtree.cibiv.univie.ac.at) – побудова філогенетичних дерев (Nguyen et al., 2014); FigTree.v1.4.4.- редагування і візуалізація філогенетичних дерев.

2.4. Мікробіологічний аналіз молюск-асоційованої мікробіоти

Для з'ясування екологічних відмінностей трьох морфотипів червоногого молюска *N. concinna* та можливості використання бактеріальної мікрофлори у

якості філогенетичного маркера, нами був здійснений мікробіологічний аналіз асоційованої мікрофлори червоногого молюска.

Зразки молюсків та донних осадів були зібрані у 2018 і 2019 роках в акваторії архіпелагу Вільгельма (Західна Антарктика) на різних глибинах методом підводного занурювання. Зразки доставляли в лабораторію при різних температурних режимах, а саме – при температурі $+3^{\circ}\text{C}$, $+6^{\circ}\text{C}$ та -20°C .

Було виділено 108 чистих культур бактерій із охолоджених зразків молюсків (м'яких тканин молюсків та їх кишкових трубок, змивів з раковин) і донних осадів біля місць збору молюсків. Для виділення мікроорганізмів зі зразків використовували модифіковане поживне середовище для морських гетеротрофних бактерій Marine Agar наступного складу (на 1 л дистильованої води): пептон – 5 г, дріжджовий екстракт – 1 г, $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ – 0,1 г, NaCl – 19,45 г, MgCl_2 – 8,8 г, Na_2SO_4 – 3,24 г, CaCl_2 – 1,8 г, KCl – 0,55 г, NaHCO_3 – 0,16 г, KBr – 0,08 г, H_3BO_3 – 0,022 г, K_2HPO_4 – 0,08 г, NH_4NO_3 – 0,016 г, агар агар – 15 г, SrCl_2 – 0,034 г (рН 7,5; стерилізація середовища при 0,5 атм). Культивували мікроорганізми при кімнатній температурі $+22^{\circ}\text{C}$ протягом 3-5 діб.

Для визначення індексу колонієутворюючих одиниць (КУО) здійснювали висів різних розведень суспензії з сольового розчину та гомогенізованої м'якої тканини молюска *Nacella concinna* (кишкової трубки, або змив з раковини). М'які тканини молюска, попередньо їх зваживши, гомогенізували у ступці з додаванням 2 мл сольового розчину наступного складу (на 1 л дистильованої води): NaCl – 19,45 г, MgCl_2 – 8,8 г, Na_2SO_4 – 3,24 г, CaCl_2 – 1,8 г, KCl – 0,55 г, NaHCO_3 – 0,16 г.

Було використано метод послідовних десятикратних розведень: в 5 пробірок вносили по 4,5 мл стерильного сольового розчину. В 1-шу пробірку додавали 0,5 мл суспензії сольового розчину з гомогенізованою м'якою тканиною молюска (кишковою трубкою або змив з раковини), в 2-гу – 0,5 мл суспензії з 1-ї пробірки, в 3-ю – 0,5 мл суспензії з 2-ї і т.д. При цьому кожне наступне перенесення суспензії здійснювали стерильною піпеткою і попередньо перемішували вміст пробірки.

Висівали «газоном» суспензію з кожного розведення на чашки з модифікованим середовищем Marine Agar. По 0,1 мл суспензії вносили стерильною піпеткою в чашку Петрі та розподіляли на поверхні середовища за допомогою шпателя.

Чашки Петрі з висівами культивували при температурах $+4^{\circ}\text{C}$, $+22^{\circ}\text{C}$ та $+26^{\circ}\text{C}$ упродовж 3-5 діб.

Підраховували кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) на чашках. Оцінювали тільки ті розведення, при посіві яких на чашках виростили від 30-300 колоній.

Результати аналізу виражали кількістю бактерій на 1 мл суспензії (сольовий розчин з гомогенізованими м'якими тканинами молюска), для чого число колоній множили на ступінь розведення (Лабинская, 1978).

Для виділення чистих культур мікроорганізмів використовували метод виснаженого штриха на модифікованому поживному середовищі Marine Agar. Культивували чисті культури при кімнатній температурі $+22^{\circ}\text{C}$ упродовж 3-5 діб.

Для визначення типу клітинної стінки ізольованих мікроорганізмів використовували фарбування за Грамом та світлову мікроскопію. Мазок чистої культури фіксували на вогні і забарвлювали за наступною методикою:

1. кристалічний фіолетовий – 1 хв. Зливали розчин барвника зі скла;
2. промивали скло люголем;
3. люголь – 1 хв;
4. промивали скло дистильованою водою – 5 с;
5. промивали скло протягом 20-60 с в обезбарвлюючому розчині;
6. промивали скло дистильованою водою – 5 с;
7. покривали препарат сафраніном – 1 хв;
8. промивали скло дистильованою водою – 5 с;
9. давали висохнути.

Мікроскопію проводили за допомогою світлового мікроскопа з імерсією зі збільшенням у 900 раз. Грампозитивні бактерії – синьо-фіолетові, а грамнегативні

– рожево-червоні. В якості контролю брали *Bacillus subtilis* (грампозитивна бактерія).

Для постановки оксидазної реакції за Ковачем використовували 1% водний розчин солянокислого диметил-парафенілендіаміну. Біомасу чистих культур мікроорганізмів наносили на змочений розчином фільтрувальний папір. Оксидазопозитивні бактерії за кілька секунд окислювали безкольоровий диметилпарафенілендіамін до червоного кольору, а оксидазонегативні колір не змінювали. В якості позитивного контролю був штам *Pseudomonas chlororaphis*.

Агаролітичну активність штамів визначали візуально на чашці Петрі за утвореними западинами під колоніями протягом культивування.

Для детального вивчення морфології бактеріальних клітин та структури біоплівки було застосовано метод конфокальної лазерної мікроскопії (мікроскоп OLYMPUS FV10i). Спеціальним штампом вирізали стовпчик агару з біоплівкою. Стовпчик охолоджували і з його поверхні зрізали пластину з біоплівкою товщиною 0,5 мм. Тонкий шар агару з біомасою фарбували у флуоресцентних барвниках DAPI (забарвлював ДНК), Nile RED (ліпіди), Blue Tracer (клітинна стінка).

Методом газорідинної хроматографії на хроматографі Agilent 1200 досліджено жирнокислотний склад трьох штамів 3b/1, 13c/3, 15c/1 з акваторії о. Пітт, протоки Skua Creek та Stella Creek. У хроматографічну віалу додали 2 мл 2% ацетилхлориду у метанолі (0,2 мл ацетилхлориду та 9,8 мл метанолу на 5 зразків) та внесли свіжу біомасу чистої культури бактерій. Отриману суспензію помістили у термостат на 2 години при температурі +80 С. Після інкубації охолодили і в кожну віалу додали по 500 мкл гептану. Суміш перемішали і через 10 хв відібрали гептанову фракцію. Помістили фракцію в морозильну камеру. Аналіз метилових ефірів проводили на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 1200. За внутрішній стандарт брали 1 мг/мл C19:O.

У програмі ArcGIS 10.6.1 зроблено карту місць відбору зразків молюсків *N. concinna* та донних осадів, з яких було ізольовано чисті культури бактерій для скринінгу на наявність протеолітичних та гліколітичних ферментів.

2.5. Визначення ферментативної активності антарктичних штамів

Для вивчення загальної протеолітичної активності вирощували чисті культури у великих пробірках об'ємом 50 мл на качалці зі швидкістю обертання 220 об/хв. Культивували 2-6 діб при температурах $+19^{\circ}\text{C}$, $+24^{\circ}\text{C}$ і $+28^{\circ}\text{C}$ на рідких поживних середовищах наступного складу (г/л):

1. мальтоза – 1 г, желатин харчовий – 10 г, KH_2PO_4 – 1,6 г, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,75 г, $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,5; дріжджовий автолізат – 0,15 г, дистильована вода – до 1 л, pH 7,0-7,2 (поживне середовище 1 – ПС 1);
2. NaCl – 0,5 г, KH_2PO_4 – 0,7 г, K_2HPO_4 – 1,4 г, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1 г, кур'яче пір'я – 10 г, дистильована вода – до 1 л, pH 7,0-7,2 (ПС 2).

Культуральну рідину центрифугували при 7000 g протягом 10 хв. Надосадову рідину (супернатант культуральної рідини, СКР) використовували для подальшого дослідження загальної протеолітичної активності.

Казеїнолітичну (загальну протеолітичну) активність визначали методом Ансона в модифікації Петрової (Varbanets et al., 2014). Метод базується на кількісному визначенні тирозину, що утворюється в результаті гідролізу казеїну завдяки ферментній активності. У дослідну пробірку вносили 0,5 мл СКР та 0,5 мл 1% казеїну, а контролем була суміш 0,5 мл СКР та 2 мл 4% трихлороцтової кислоти (ТХО). На водяній бані при 37°C протягом 30 хв проводили інкубування. Вносили в дослідну пробірку 2 мл 4% ТХО і 20 хв витримували при кімнатній температурі. Центрифугували 5 хв при 10000 g. До 0,5 мл СКР додавали 2,5 мл 0,5 М Na_2CO_3 і 0,5 мл розведеного реактиву Фоліна (1:3). При кімнатній температурі витримували протягом 20 хв. На спектрофотометрі СФ26 визначали продукти розщеплення за довжини хвилі 670 нм (кювета 10 мм). Протеолітичну активність виражали в одиницях, які відповідали кількості мкмолей тирозину, що вивільнився за 1 хв з казеїну при ферментативному гідролізі в умовах досліду.

Кератиназну активність (КерА) досліджували за поглинанням в УФ при 280 нм продуктів гідролізу кератинвмісної сировини. Суміш з 2,5 мл 0,05 М борно-боратного буфера (pH 9,2), 10 мг знежиреного подрібненого пір'я і 1 мл культуральної рідини витримували при 37°C 3 год (Nickerson et al., 1963).

Відфільтрували суміш через фільтрувальний папір. Використовували два контролі:

1. 2,5 мл борно-боратного буфера (рН 9,2) і 1 мл культуральної рідини;
2. 10 мг знежиреного подрібненого пір'я, 2,5 мл борно-боратного буфера (рН 9,2) і 1 мл дистильованої води.

Від значень A_{280} , що були одержані при вимірюванні фільтратів, було віднято суму двох контролів. Як міру вивільнення білка було прийнято збільшення абсорбції при 280 нм фільтрату досліджуваного зразка відносно контролів. За одиницю кератиназної активності (1 Од/мл = 0,01) приймали кількість ферменту, що спричинює збільшення абсорбції на 0,01 за 3 год інкубування.

Для дослідження α -L-рамнозидазної активності чисті культури культивували глибинним способом в пробірках. Використовували умови качалки 220 об/хв протягом 2-4 діб при температурах $+20^{\circ}\text{C}$ та $+28^{\circ}\text{C}$. Культивували бактерії на середовищі наступного складу (г/л): KH_2PO_4 – 1,6 г, MgSO_4 – 0,8 г, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,8 г, CaCl_2 – 0,01 г, NaCl – 10 г, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,56 г, CuSO_4 – 0,14 г, дріжджовий автолізат – 0,15 г, рамноза – 5 г, пептон – 5 г (рН- 6). Після закінчення ферментації культуральну рідину відділяли від біомаси центрифугуванням при 5000g протягом 10 хв. Методом Davis (Davis, 1947) визначали α -L-рамнозидазну активність у супернатанті культуральної рідини. Як субстрат використовували нарингін. За одиницю активності ензиму приймали таку його кількість, яка в умовах досліду гідролізує 1 мкмоль субстрату за хвилину. Методом Лоурі (Lowry et al., 1951) визначали концентрацію протеїну в супернатанті культуральної рідини. Для побудови калібрувальної кривої використовували бичачий сироватковий альбумін як стандарт.

Всі досліди проводили не менш, ніж у 3-5 повторностях. Результати аналізували статистично з використанням t-критерія Стьюдента при 5% рівні значимості.

2.6. Молекулярно-генетичні дослідження асоційованих з молюском бактерій

29 чистих культур антарктичних бактерій, що асоційовані з червоногим молюском *Nacella concinna*, з різних глибин та трансект архіпелага Вільгельма (Skua Creek, Meek Channel, Stella Creek) були досліджені молекулярно-генетичним методом, а саме – аналіз за фрагментом гену 16S rRNA. Свіжу чисту культуру петлею вносили в 100 мкл стерильного фізіологічного розчину. Суспензію нагрівали на термостаті при 95° С протягом 5 хвилин. Піддавали суспензію серії заморожувань-відтаювань. Подальше виділення ДНК проводили за допомогою набору для виділення ДНК – NeoPrep¹⁰⁰ DNA. Концентрацію виділеної ДНК зі зразків виміряли на спектрофотометрі DeNovix.

Для проведення полімеразної ланцюгової реакції використовували 3 пари праймерів (Reysenbach et al., 2000):

- 16S Bac 27F і 1492R;
- 16S Bac 1492RD і 27FD;
- 16S permafrost 63f і 1387r.

Приготування ПЛР-суміші для подальшого ампліфікування фрагменту гену 16S rRNA здійснювали за протоколом (на 1 зразок): MM (Thermo Scientific PCR MasterMix) – 6,25 мкл, Primer F – 1 мкл, Primer R – 1 мкл, H₂O - 3 мкл. До суміші MM з праймерами об'ємом 11,25 мкл додавали 1,25 мкл ДНК.

Модифіковано програму для ампліфікації гену 16S rRNA (Frank et al., 2008).

Полімеразну ланцюгову реакцію фрагменту гену 16S rRNA проводили за допомогою модифікованої програми: 95° – 4 хв (1 цикл); 95° – 1 хв, 50° – 1 хв, 72° – 2 хв (30 циклів); 72° – 10 хв (1 цикл).

Кількість та якість ампліфікованого фрагменту гена перевіряли за допомогою електрофорезу на агарозному гелі. У колбу додавали 0,75 мл розведеного TBEх1 буферу та 0,75 г агарози. Суміш плавили на водяній бані до однорідної консистенції. Заповнили агарозним гелем ванночку для електрофорезу і додали 4 мкл етидіум броміду, ретельно перемішуючи. Заповнили ванночку з агарозним гелем розведеним 10хTBE буфером. У кожну лунку додали по 3 мкл

ампліфікованої ДНК і 1 мкл барвника. У лунку зі шкалою додали 2 мкл ladder і 1 мкл барвника. Залишили на 1 годину при 60V і 26 mA.

Ампліфіковані послідовності фрагмента гену *16S rRNA* (1420 bp) сиквенували в обох напрямках з ампліфікаційними праймерами. Сиквенування виконано в Macrogen (Амстердам). Аналіз філогенії антарктичних штамів виконували за допомогою програмного забезпечення: ChromasPro 2.1.9, BioEdit 7.0.5.3 – редагування хроматограмм; MEGA 10, MAFFT 7 – вирівнювання матриць; IQtree (iqtree.cibiv.univie.ac.at) – побудова філогенетичних дерев (Nguyen et al., 2014); FigTree.v1.4.4.- редагування і візуалізація філогенетичних дерев.

РОЗДІЛ 3.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Морфометричний аналіз популяції *N. concinna*

3.1.1. Опис популяції *N. concinna* у протоці Meek

3.1.1.1. Опис популяції *N. concinna* за трансектами

Було проаналізовано неруйнуючим методом вибірку з 1910 екземплярів антарктичного лімпета *N. concinna* (225 молюсків обчислено за формулами 2.1 та 2.2, а інші 1685 екземплярів – за формулами 2.3, 2.4, 2.5, 2.6).

225 екземплярів молюсків *N. concinna* з трьох трансект і 11 підводних локацій у протоці Meek Channel було проаналізовано за допомогою формул 2.1 і 2.2 (див. розділ Методи дослідження). Описова статистика зразків *N. concinna* представлена у табл. 3.1, табл. 3.2 і табл. 3.3.

Таблиця 3.1.

Порівняльний аналіз середньої довжини раковини *N. concinna*

Трансекта	Параметр, мм	Глибина, м	Кількість екземплярів	Середнє значення	Довірчий інтервал	Мінімальне значення	Максимальне значення	Стандартне відхилення	Стандартна помилка
МК-1	L	01	15	19.880	18.131 - 21.629	12.000	25.100	3.158	0.816
	L	05	15	24.113	21.790 - 26.436	16.200	30.400	4.195	1.0831
	L	10	4	26.125	13.435 - 38.815	16.800	35.600	7.975	3.987
МК-2	L	01	49	19.259	17.769 - 20.749	10.700	34.400	5.187	0.741
	L	05	36	16.861	15.211 - 18.512	10.600	29.600	4.878	0.813
	L	10	4	15.925	9.781 - 22.069	12.100	21.300	3.861	1.931
МК-3	L	01	23	17.643	16.091 - 19.196	13.400	26.600	3.589	0.748
	L	05	41	10.098	7.447 - 12.748	2.400	32.100	8.398	1.312
	L	10	10	11.260	4.173 -	4.100	32.700	9.906	3.133

					18.347				
	L	15	25	17.544	15.239 - 19.849	4.500	30.500	5.583	1.117
	L	20	3	30.733	1.772 - 59.695	20.100	43.200	11.659	6.731

Таблиця 3.2.

Порівняльний аналіз середньої ваги екземплярів *N. conspicua*

Трансекта	Параметр, г	Глибина, м	Кількість екземплярів	Середнє значення	Довірчий інтервал	Мінімальне значення	Максимальне значення	Стандартне відхилення	Стандартна помилка
МК-1	М	01	15	0.742	0.481 - 1.002	0.107	1.929	0.471	0.122
	М	05	15	2.190	1.230 - 3.149	0.270	6.225	1.733	0.447
	М	10	4	6.390	-7.933 - 20.714	0.308	19.655	9.001	4.501
МК-2	М	01	49	0.976	0.587 - 1.365	0.080	6.089	1.353	0.193
	М	05	36	0.616	0.283 - 0.949	0.078	5.216	0.983	0.164
	М	10	4	0.342	-0.184 - 0.868	0.109	0.83242	0.331	0.165
МК-3	М	01	23	0.535	0.276 - 0.794	0.145	2.687	0.599	0.125
	М	05	41	0.372	0.107 - 0.638	0.013	3.462	0.840	0.132
	М	10	10	0.532	-0.281 - 1.346	0.019	3.594	1.137	0.360
	М	15	25	0.650	0.296 - 1.004	0.020	3.133	0.857	0.171
	М	20	3	3.465	-4.455 - 11.384	0.638	6.920	3.188	1.841

Таблиця 3.3.

Щільність популяції *N. concinna* (кількість моллюсків на рамку)

Трансекти	Глибина (м)														
	1			5			10			15			20		
	Кількість моллюсків	Кількість рамок	Щільність	Кількість моллюсків	Кількість рамок	Щільність	Кількість моллюсків	Кількість рамок	Щільність	Кількість моллюсків	Кількість рамок	Щільність	Кількість моллюсків	Кількість рамок	Щільність
МК-1	15	4	3.75	15	5	3	4	5	0.8	-	5	-	-	1	-
МК-2	49	6	8.17	36	7	5.14	4	7	0.57	-	8	-	-	7	-
МК-3	23	4	5.75	41	3	13.67	10	1	10	25	4	6.25	3	6	0.5

Розповсюдження моллюсків вздовж трансект за довжинами раковин і вагою показані на рис. 3.1 та рис. 3.2.

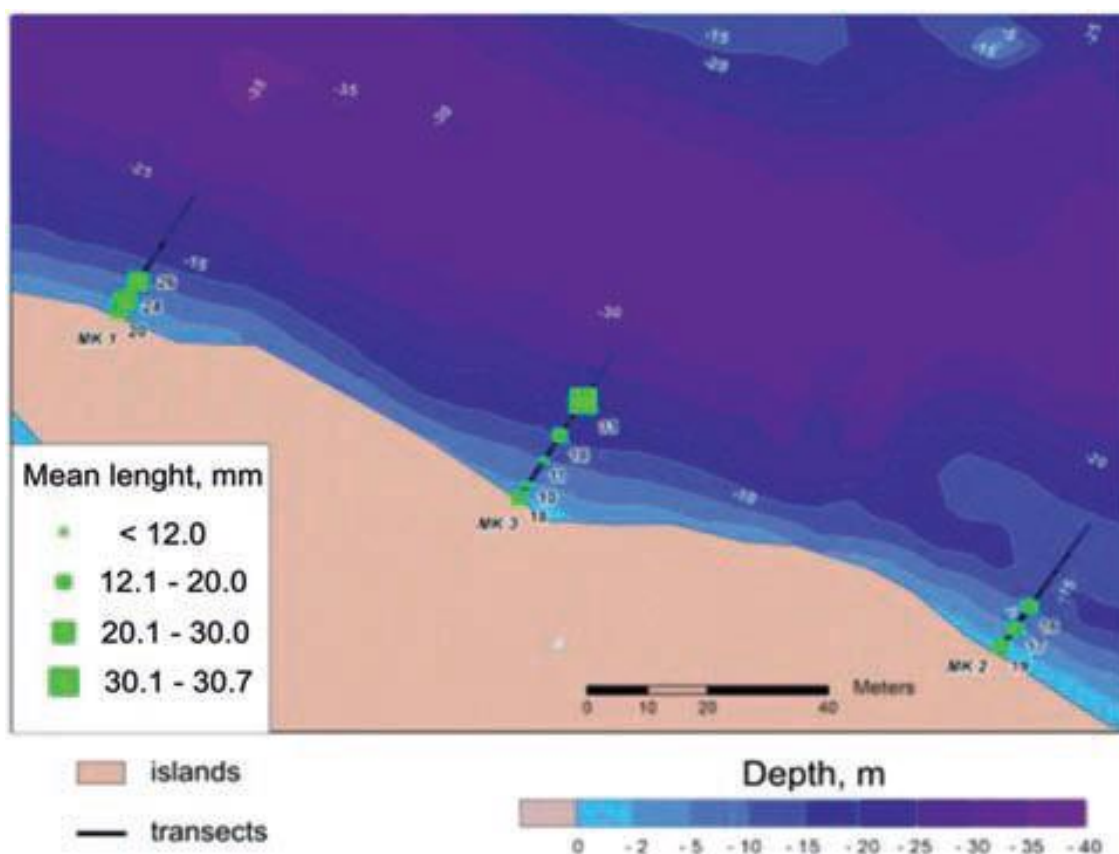


Рис. 3.1. Розподілення *N. concinna* за довжинами раковин вздовж трансект у протоці Meek Channel; візуалізація у програмі ArcGIS

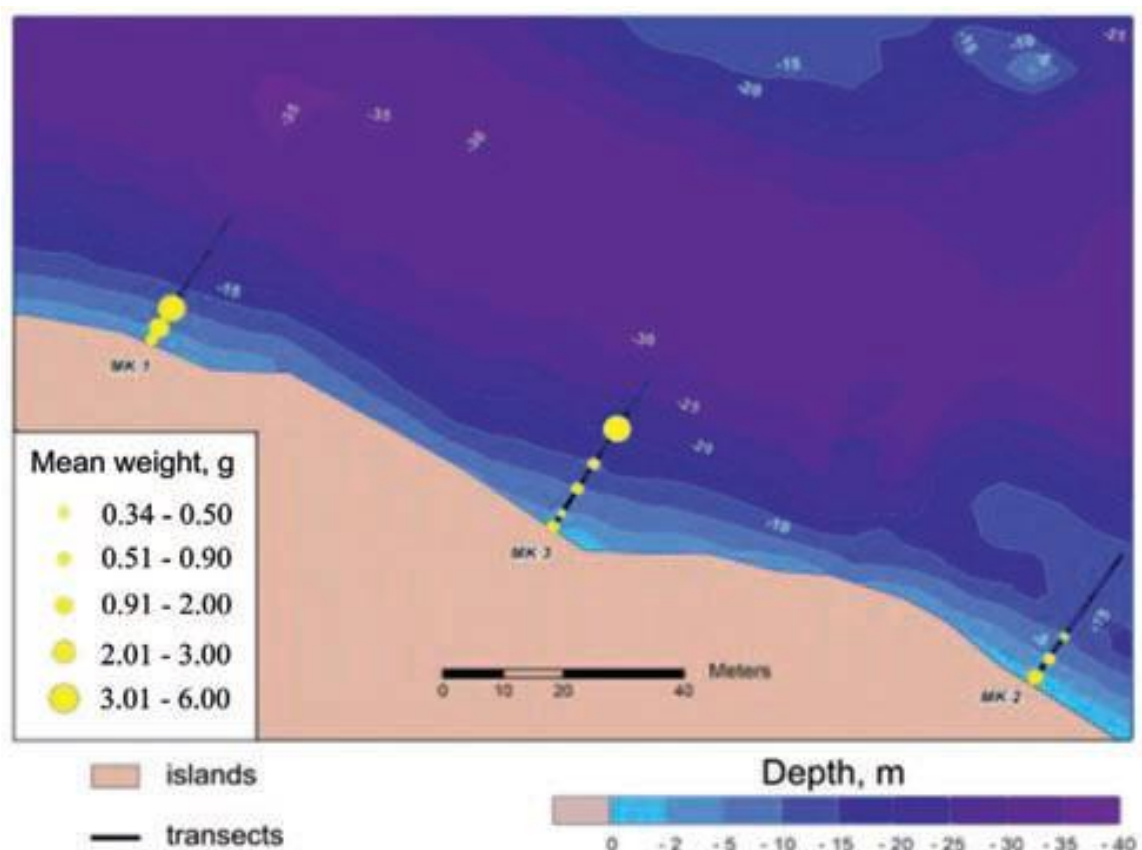


Рис. 3.2. Розподілення *N. concinna* за вагою вздовж трансект у протоці Meek Channel; візуалізація у програмі ArcGIS

Трансекта МК1. Довжина раковини та вага молюсків зменшується зі зростанням щільності популяції (табл. 3.1-3.3, рис. 3.1, 3.2). Це узгоджується з класичною екологічною моделлю, в якій збільшення щільності популяції супроводжується зменшенням морфометричних показників організмів, що зазвичай пов'язано з нестачею життєвого простору або їжі (Cohen, 2003). Високий рівень кореляції ($p < 0.05$) ваги молюсків зі щільністю популяції підтверджує зворотню залежність. Висока кореляція довжин раковин молюсків зі щільністю популяції вказує на зворотню залежність параметрів, але статистично незначиму ($p > 0.05$), що може бути пов'язано з невеликою кількістю зразків (рис. 3.3).

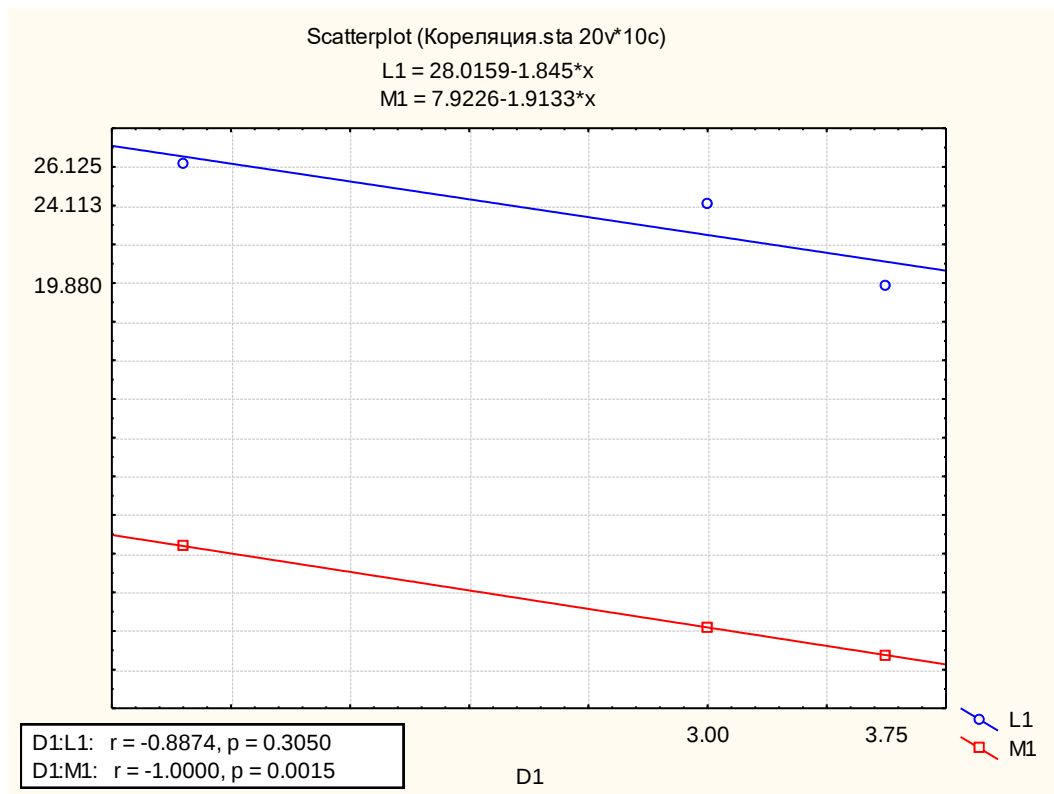


Рис. 3.3. Кореляція між щільністю популяції *N. concinna*, довжиною раковини і вагою моллюска на трансекті МК1

Трансекта МК2. Довжина раковини і вага моллюска зростає зі зростанням щільності популяції (табл. 3.1-3.3, рис. 3.1, 3.2). Це демонструє неklasичне розподілення популяції, оскільки морфометричні параметри моллюсків також зростають зі збільшенням щільності популяції. Довжина раковини збільшується зі зростанням щільності популяції, але вага моллюсків збільшується лише злегка.

Залежність ваги моллюсків та довжини раковини від щільності популяції (рис. 3.4) відповідає прямій залежності з високим рівнем кореляції ($r = 0.98$, $r = 0.93$). Однак в обох випадках коефіцієнт кореляції був статистично незначимим ($p > 0.05$). Ймовірно це пов'язано з невеликою вибіркою.

Трансекта МК3. Довжина раковини і вага моллюска зменшується зі збільшенням щільності популяції (табл. 3.1-3.3, рис. 3.1, 3.2). Це узгоджується з класичною екологічною моделлю. Залежність ваги моллюска і довжини раковини від щільності популяції відповідає зворотній залежності з високою кореляцією ($r =$

0.80, $r = 0.95$). Однак в обох випадках коефіцієнт кореляції був статистично незначимим ($p > 0.05$) (рис. 3.5).

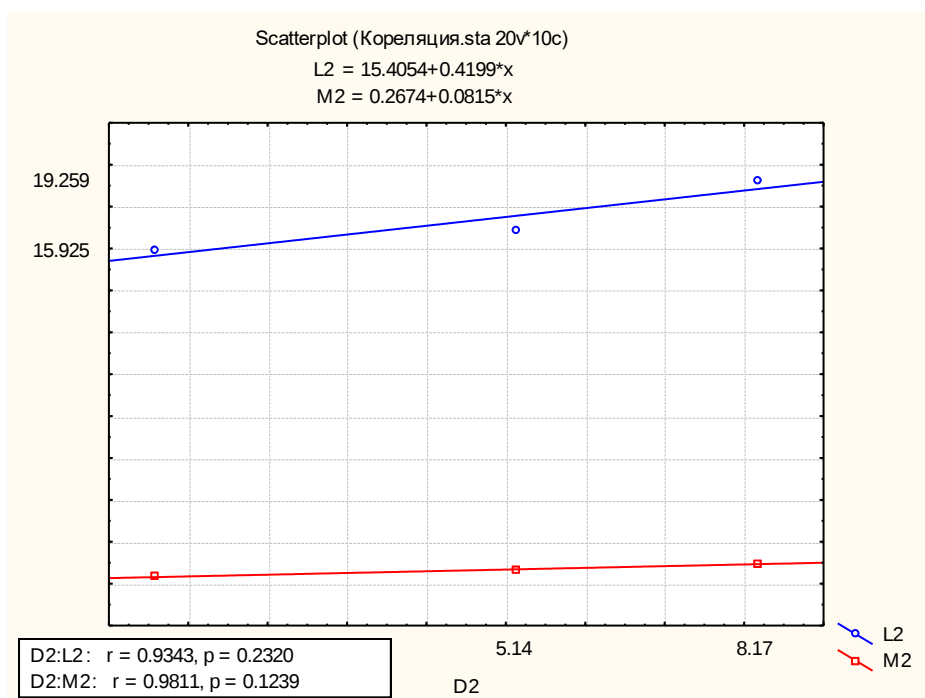


Рис. 3.4. Кореляція між щільністю популяції *N. concinna*, довжиною раковини і вагою молюска на трансекті МК2

3.1.1.2. Опис популяції *N. concinna* за глибинами

Глибина 1 м. Довжини раковин з трансекти МК1 не мали значимих відмінностей від довжин раковин на трансекті МК3 ($p = 0.057$). Так само довжини раковин на трансектах МК3 і МК2 не мали значимих відмінностей ($p = 0.182$). Молюски з трансекти МК2 не відрізняються за довжинами раковин від молюсків з трансекти МК1 ($p = 0.663$) (табл. 3.4, додаток 1). Вага молюсків на глибині 1 м не має значимих відмінностей на всіх трьох трансектах. Вага екземплярів з трансекти МК1 не відрізняється від ваги на трансекті МК2 ($p = 0.515$). Також вага екземплярів з трансекти МК2 не має значних відмінностей від ваги екземплярів з трансекти МК3 ($p = 0.140$). Подібним чином вага молюсків з трансект МК3 і МК1 не має відмінностей ($p = 0.267$) (табл. 3.5, додаток 1).

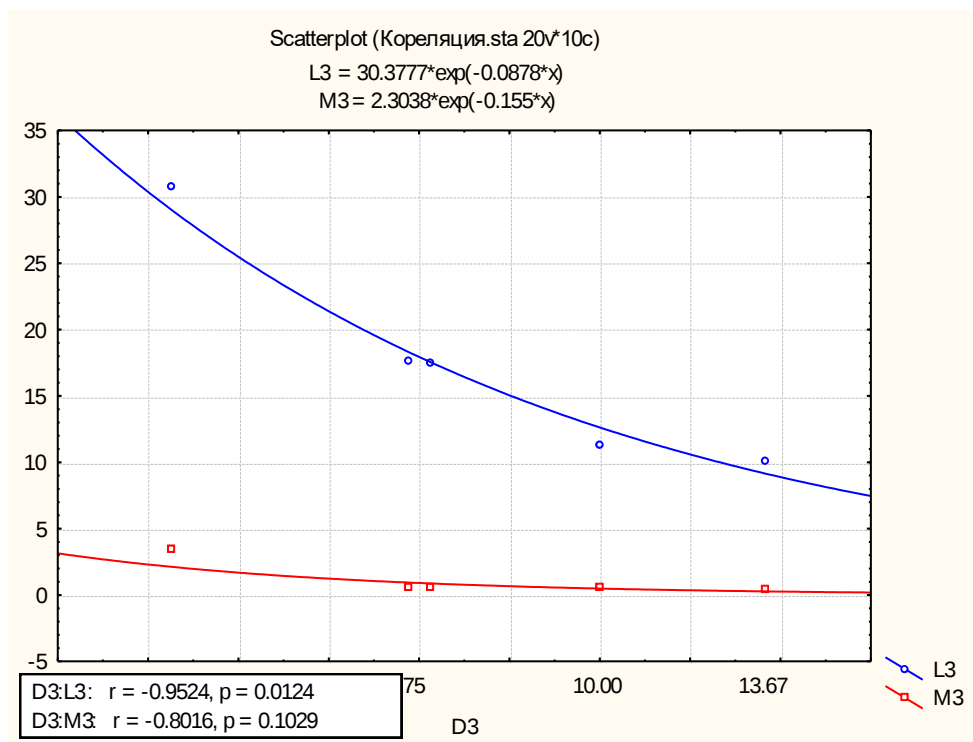


Рис. 3.5. Кореляція між щільністю популяції *N. concinna*, довжиною раковини і вагою моллюска на трансекті МК3

Глибина 5 м. Порівняльний аналіз на глибині 5 м показав статистично значимі відмінності у довжинах раковин на всіх трьох трансектах (табл. 3.4, додаток 1). Таким чином, трансекта МК1 відрізняється від трансекти МК2, трансекта МК2 від трансекти МК3, а трансекта МК1 від трансекти МК3 (p прямує до 0).

Вага екземплярів з трансекти МК1 порівняно з вагою моллюсків з трансекти МК2 мала значні відмінності ($p = 0.000$). Також вага моллюсків з трансекти МК1 мала значні відмінності від ваги екземплярів з трансекти МК3 ($p = 0.000$). В той же час вага моллюсків з трансекти МК2 не має значимих відмінностей від ваги екземплярів з трансекти МК3 ($p = 0.245$) (табл. 3.5, додаток 1).

Глибина 10 м. Порівняльний аналіз на глибині 10 м показав статистично значимі відмінності у довжинах раковин не лише на трансектах МК1 і МК2 ($p = 0.061$), а й також на трансектах МК2 і МК3 ($p = 0.388$). Довжини раковин з трансекти МК1 мали значимі відмінності від довжин на трансекті МК3 ($p = 0.021$) (табл. 3.4, додаток 1).

Вага молюсків з трансекти МК1 порівняно з вагою екземплярів на трансекті МК2 не мала значимих відмінностей ($p = 0.228$). Також вага молюсків з трансекти МК2 не відрізнялася від ваги *N. concinna* на трансекті МК3 ($p = 0.753$). Однак вага екземплярів з трансекти МК3 мала значимі відмінності від ваги на трансекті МК1 ($p = 0.053$) (табл. 3.5, додаток 1).

Вага молюсків і довжини раковин *N. concinna* збільшується на глибині від 1 до 10 м на трансекті МК1. На цій трансекті представлена класична модель розподілу молюсків, де невелика кількість екземплярів в екотопі з достатньою кількістю кормової бази характеризується великими морфометричними показниками (Cohen, 2003). Пряма залежність збільшення кількості їжі (водорості роду *Lithothamnion*) зі збільшенням глибини візуально спостерігається на трансекті МК1.

На трансекті МК2 довжини раковин молюсків зменшуються на глибині від 1 до 10 м. Кореляція довжини раковини, ваги, щільності популяції з глибиною показує обернену залежність. Кореляція глибини, ваги молюсків і щільності популяції підтверджена ($p < 0.05$). Кореляція глибини і довжин раковин молюсків не підтверджена ($p > 0.05$). Вага молюсків показала легку тенденцію до зниження при різкому зниженні щільності популяції (рис. 3.6).

Некласична модель розподілення молюсків спостерігалася на трансекті МК2, оскільки щільність популяції і морфометричні показники (довжина раковини і вага молюска) зменшуються зі збільшенням глибини. При цьому візуально на глибині 10 м спостерігалась достатня кількість кормової бази.

На трансекті МК3 визначена класична модель розподілення популяції *N. concinna*. Кореляція довжини раковини, ваги, щільності популяції і глибини не підтверджено ($p > 0.05$). Вага молюска збільшується на глибині з 1 м до 20 м, а довжина раковини збільшується лише з глибини 6 м.

Щільність популяції варіюється за глибинами, а саме – збільшується на глибині 5 м і поступово зменшується на глибинах до 20 м (рис. 3.7). Такий розподіл ваги, довжин раковин і щільності популяції на трансекті може бути

пов'язано з доступом до їжі на глибині до 5 м і після 15 м, а також з впливом хвильового навантаження і структурою підводних ландшафтів.

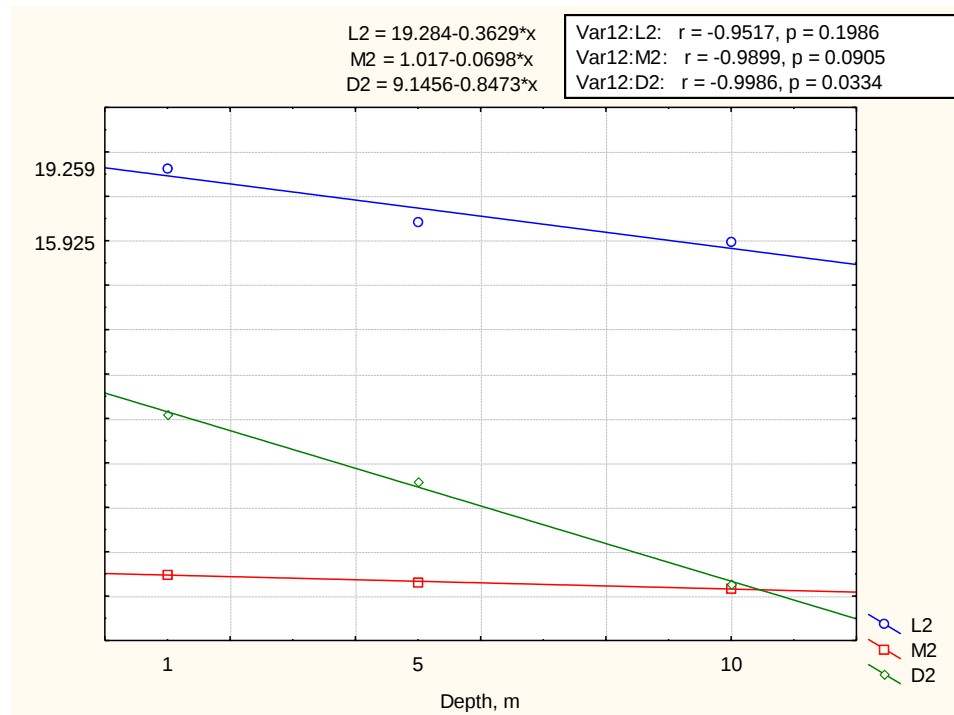


Рис. 3.6. Співвідношення довжини раковини *N. concinna* (L2), ваги моллюска (M2) і щільності популяції (D2) з глибиною на трансекті МК2

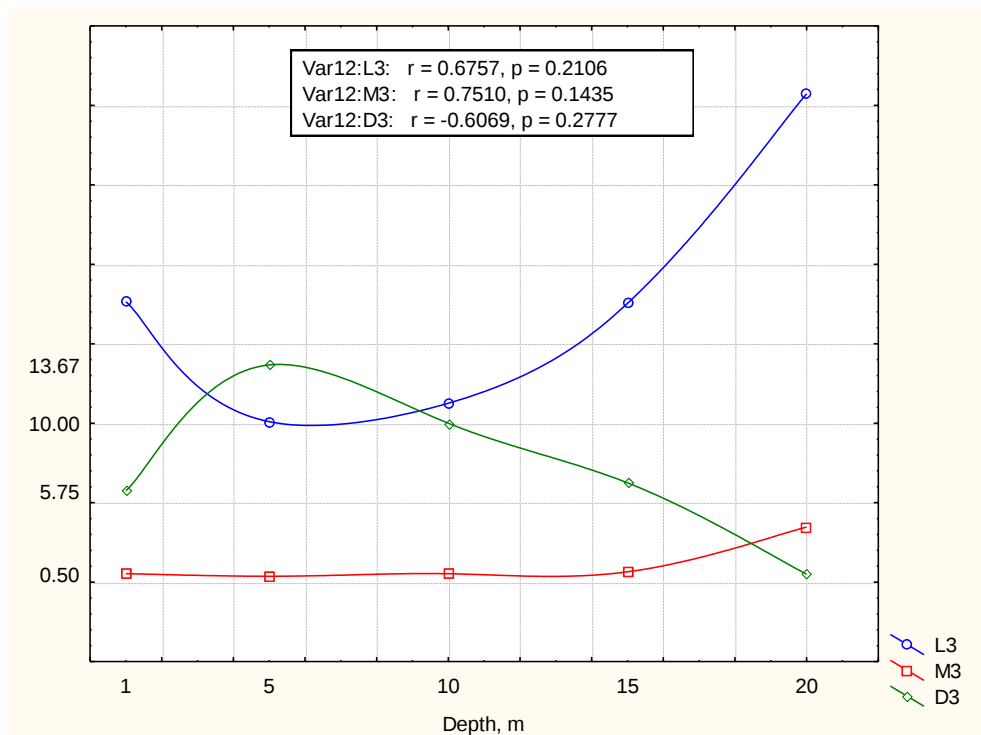


Рис. 3.7. Відношення довжини *N. concinna* (L3), ваги моллюска (M3) і щільності популяції (D3) з глибиною на трансекті МК3

Очевидна кореляція між довжиною раковини молюсків та глибинами на трансектах МК1, МК2, МК3 не спостерігалася (Berezkina et al., 2018). Відношення довжини, ширини раковини та ваги молюска за глибинами на трансектах МК1, МК2, МК3 не відповідало попереднім даним з літератури. Розподіл популяції *N. concinna* на літоральний та субліторальний морфотипи не було підтверджено для обстеженої протоки Meek Channel в акваторії Аргентинських островів. Вірогідно, морфологія раковини і вага *N. concinna* залежить від рельєфу дна, доступності їжі (велика кількість водоростей) та хвильової активності на кожному сайті досліджуваних трансект.

3.1.2. Опис популяції *N. concinna* у протоках Meek, Stella Creek та акваторії мису Marina Point

3.1.2.1. Опис щільності популяції *N. concinna* за трансектами

Наступним етапом дослідження був більш розширений аналіз досліджуваної популяції *N. concinna* на різних трансектах. 1685 екземплярів молюсків *N. concinna* було проаналізовано за допомогою формул 3, 4, 5, 6 (див. розділ Методи дослідження) неруйнуючим методом на 7 трансектах і 21 сайті дослідження в акваторії архіпелагу Вільгельма, а саме – у протоках Meek Channel, Stella Creek та в акваторії мису Marina Point (таблиця 3.6, 3.7).

Таблиця 3.6.

Порівняльний аналіз середніх довжин *N. concinna* (L, см) вздовж трансект МР на різних глибинах

Параметр трансекти, см	Глибина, м	Кількість екземплярів	Середнє значення	Довірчий інтервал -95%	Довірчий інтервал +95%	Мінімальне значення	Максимальне значення	Стандартне відхилення	Стандартна помилка
MP-1L	5	82	1,125	0,562	0,766	0,320	2,640	0,648	0,072
L	10	63	1,478	0,538	0,768	0,500	3,150	0,633	0,079
L	15	40	2,032	0,669	1,049	0,520	3,850	0,817	0,129
MP-2L	5	52	1,360	0,431	0,638	0,410	2,580	0,514	0,071
L	10	127	1,403	0,593	0,759	0,320	3,510	0,665	0,059

L	15	160	2,066	0,739	0,922	0,620	4,200	0,821	0,065
MP-3L	5	94	1,477	0,470	0,628	0,460	2,950	0,538	0,055
L	10	66	1,480	0,558	0,788	0,470	3,310	0,653	0,080
L	15	66	2,334	0,611	0,863	0,580	4,190	0,715	0,088

Таблиця 3.7.

Порівняльний аналіз ваги моллюсків *N. concinna* (М, г) вздовж трансект МР та на різних глибинах

Параметр трансекти, г	Глибина, м	Кількість екземплярів	Середнє значення	Довірчий інтервал -95 %	Довірчий інтервал +95 %	Мінімальне значення	Максимальне значення	Стандартне відхилення	Стандартна помилка
MP-1M	5	74	0,319	0,525	0,727	0,016	2,657	0,609	0,071
М	10	60	0,489	0,591	0,851	0,022	2,968	0,698	0,090
М	15	39	1,189	1,195	1,884	0,027	4,901	1,462	0,234
MP-2 М	5	39	0,326	0,461	0,728	0,017	3,302	0,564	0,090
М	10	106	0,370	0,582	0,7634	0,015	3,309	0,660	0,064
М	15	132	1,171	1,388	1,770	0,035	6,569	1,556	0,135
MP-3 М	5	76	0,415	0,540	0,745	0,021	3,345	0,626	0,072
М	10	45	0,367	0,491	0,749	0,021	2,996	0,593	0,088
М	15	55	1,795	1,336	1,955	0,028	6,496	1,587	0,214

Трансекти Marina Point

На трансекті МР1 щільність популяції знижується в три рази зі збільшенням глибини, а саме – з 21,5 моллюсків на рамку на глибині 5 м до 6,86 моллюсків/рамка на глибині 15 м.

Трансекта МР2 на глибинах 5 м та 15 м характеризується практично однаковою щільністю популяції (12 та 11,94 моллюски на рамку, відповідно), але на глибині 10 м вона досягає максимального значення в 20,29 моллюски на рамку.

На трансекті МР3 максимальна щільність популяції становила 16,29 молюски/рамка на глибині 5 м, а зі збільшенням глибини зменшувалась до 11,29 та 11 молюсків на рамку на 10 м та 15 м, відповідно (рис. 3.8, табл. 3.8).

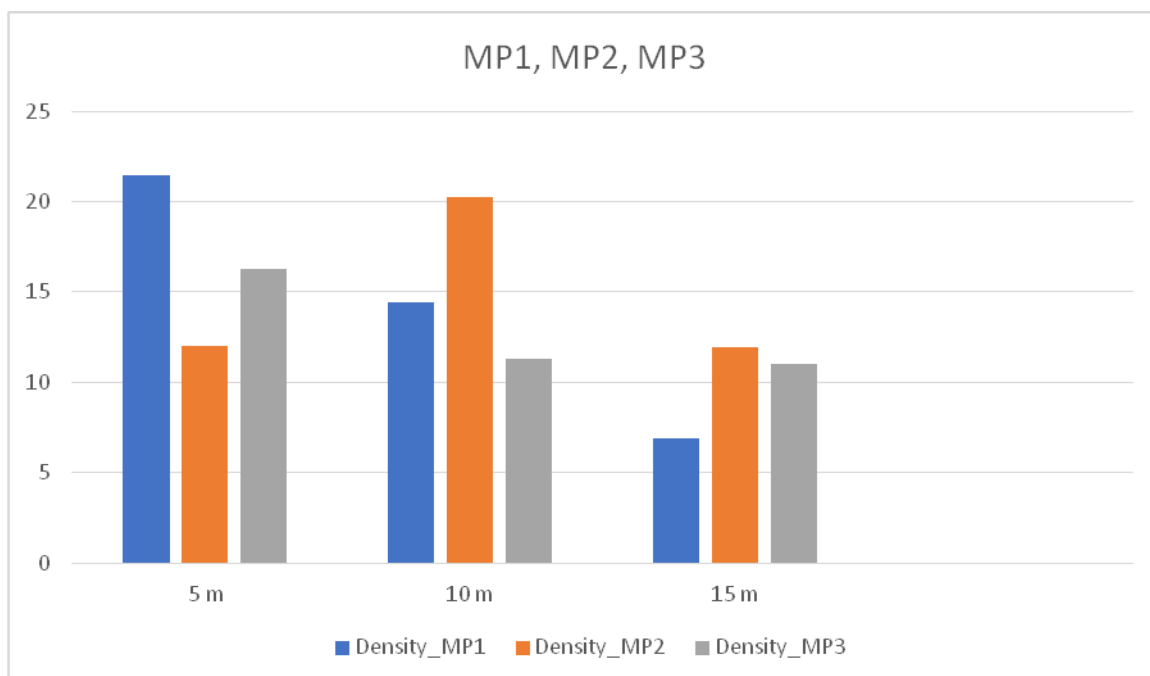


Рис. 3.8. Щільність популяції на трансектах МР1, МР2, МР3

Таблиця 3.8. Щільність популяції на трансектах МР

Трансекти	Глибина (м)								
	5			10			15		
	Кількість молюсків	Кількість рамок	Щільність	Кількість молюсків	Кількість рамок	Щільність	Кількість молюсків	Кількість рамок	Щільність
МР 1	86	4	21,5	72	5	14,4	48	7	6,86
МР 2	60	5	12	142	7	20,29	191	16	11,94
МР 3	114	7	16,29	79	7	11,29	77	7	11

Серед трьох трансект максимальне значення щільності популяції було відзначено на трансекті МР1, а саме – 21,5 молюсків на рамку на глибині 5 м (запаси кормової бази незначні, на фото великі валуни), і на трансекті МР2 – 20,29 раковин на рамку на глибині 10 м (запас їжі помірний, на фото макроводорості). Мінімальна щільність популяції була відзначена на трансекті МР1, а саме – 6,86

моллюсків/рамка на глибині 15 м (представлена багата кормова база, велика кількість макроводоростей на фото).

Трансекти Meek Channel

На трансекті МК1 спостерігалось незначне зниження щільності популяції зі збільшенням глибини, а саме – з 16,13 моллюсків/рамка на глибині 1 м до 11,2 моллюски/рамка на глибині 15 м.

На трансекті МК 2 на глибинах 1 м і 5 м щільність популяції майже однакова (12,67 і 11 моллюсків/рамка, відповідно), а на глибині 10 м щільність популяції різко знижується до 2,33 моллюсків на рамку (рис. 3.9, табл. 3.9).

Серед двох трансект (МК 1 і МК 2) максимальна щільність популяції становила 16,13 моллюсків/рамка на глибині 1 м на трансекті МК 1 (наявна багата кормова база, велика кількість макроводоростей), а мінімальна щільність популяції – 2,33 моллюски/рамка на глибині 10 м на трансекті МК 2 (кормова база також багата з великою кількістю макроводоростей).

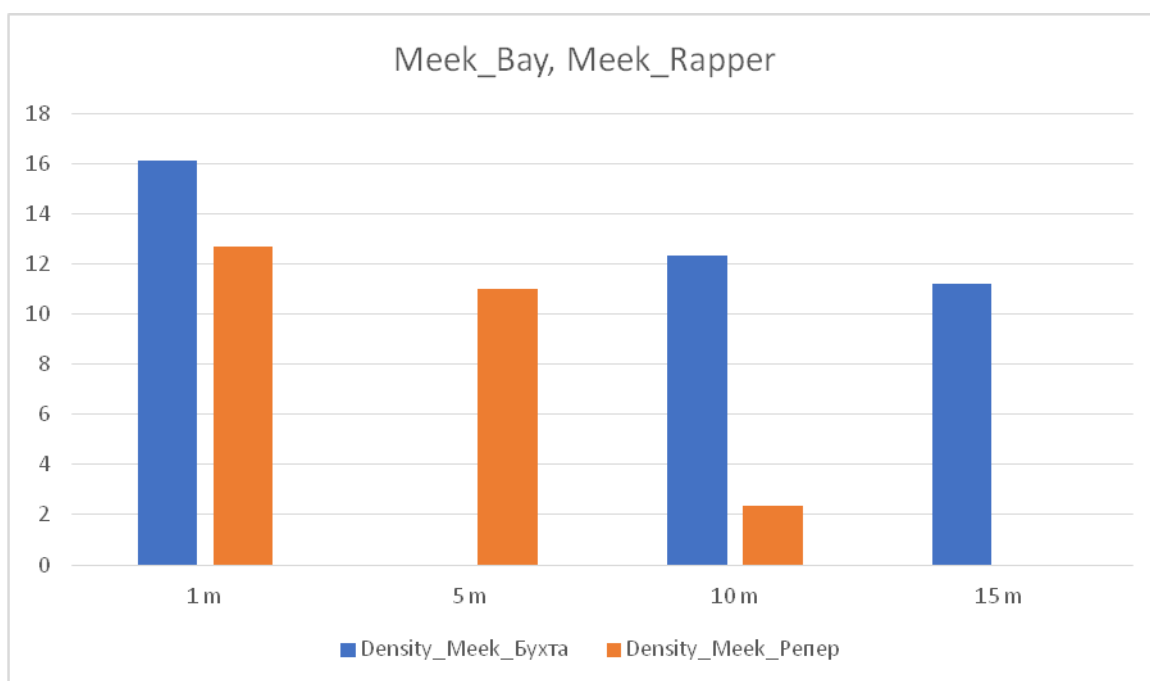


Рис. 3.9. Щільність популяції на трансектах в протоці Meek Channel

Щільність популяції на трансектах в протоці Meek Channel

Транс екти	Глибина (м)											
	1			5			10			15		
	Кіль кіст ь мол юскі в	Кіль кіст ь рам ок	Щіль ність	Кіль кіст ь мол юскі в	Кіль кіст ь рам ок	Щіль ність	Кіль кіст ь мол юскі в	Кіль кіст ь рам ок	Щіль ність	Кіль кіст ь мол юскі в	Кіль кіст ь рам ок	Щіль ність
Meek_ Bay (MK1)	129	8	16,13				74	6	12,33	56	5	11, 2
Meek_ Rapport (MK2)	38	3	12,67	88	8	11	7	3	2,33			

Трансекти Stella Creek

Щільність популяції становила 15,75 молюсків/рамку на глибині 1 м на трансекті Stella 1 (праворуч від Jetty). Зі збільшенням глибини до 5 м щільність популяції зростала до 20 молюсків на рамку, але на 10 м вона різко знижувалася до 11,85 молюсків/рамку.

На трансекті Stella 2 (ліворуч від Jetty) на глибині 1 м щільність популяції становила 16,25 молюсків на рамку. Зі збільшенням глибини до 5 м щільність популяції знижувалась до 12,23 раковин на рамку, а на глибині 10 м вона майже не відрізнялася від щільності популяції на глибині 5 м і становила 12,25 молюсків/рамку (рис. 3.10, табл. 3.10).

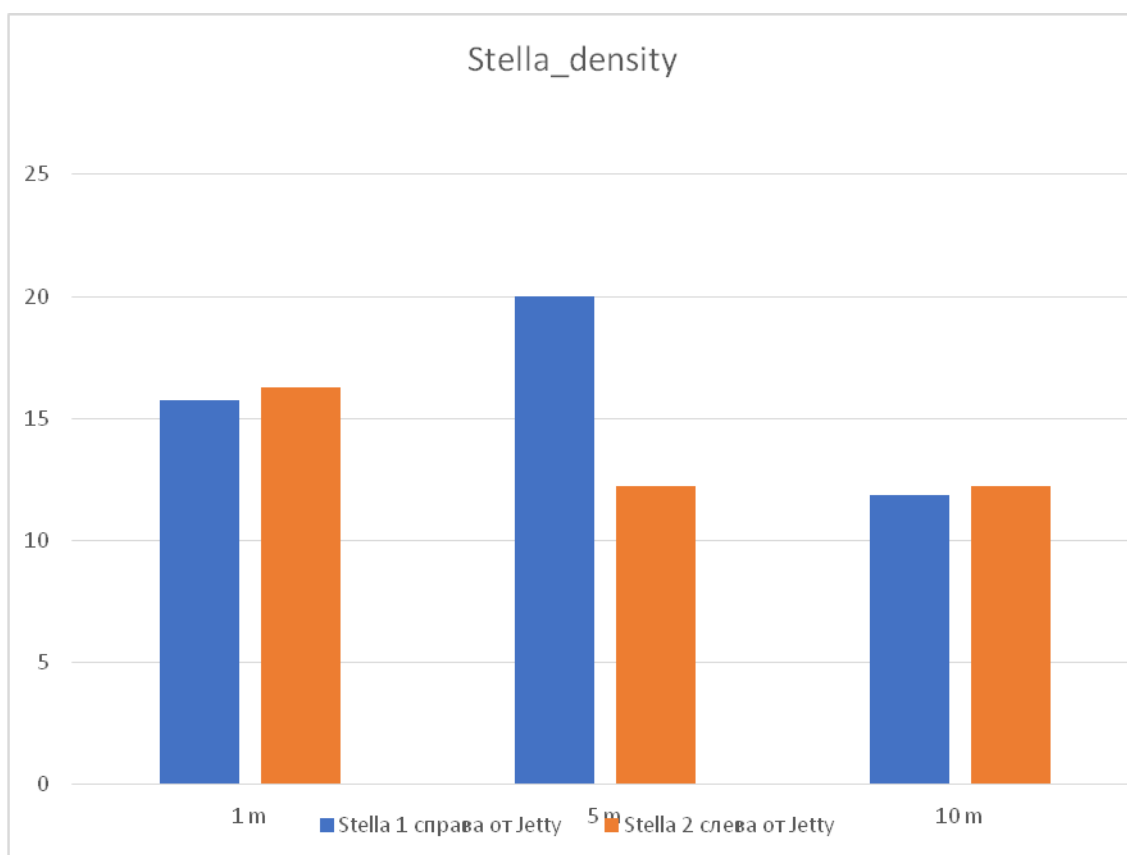


Рис. 3.10. Щільність популяції на трансектах в протоці Stella Creek

Серед двох трансект максимальна щільність популяції становила 20 молюсків/рамка на глибині 5 м на трансекті Stella 1 (праворуч від Jetty), де кормова база була досить поміжною з наявністю макроводоростей. Мінімальну щільність популяції відзначено на трансекті Stella 1 (праворуч від Jetty) на глибині 10 м зі значенням 11,85 молюсків/рамку, де спостерігалась багата кормова база з різними макроводоростями.

Таблиця 3.10.

Щільність популяції на трансектах в протоці Stella Creek

Трансекти	Глибина (м)								
	1			5			10		
	Кількість молюсків	Кількість рамок	Щільність	Кількість молюсків	Кількість рамок	Щільність	Кількість молюсків	Кількість рамок	Щільність
Stella 1 прав	63	4	15,75	80	4	20	154	13	11,85

оруч від Jetty									
Stella 2 лівор уч від Jetty	65	4	16,25	159	13	12,23	49	4	12,25

3.1.2.2. Опис популяції *N. concinna* за трансектами

Трансекта MP1

Значення довжини та ширини раковини молюсків, а також вага збільшувались зі зменшенням щільності популяції і збільшенням глибини, що відповідає класичній екологічній моделі (табл. 3.6, 3.7; рис. 3.11, 3.12). Для класичної моделі характерно зниження морфометричних показників живих організмів при недостатній кормовій базі або обмеженому життєвому просторі (Cohen, 2003).

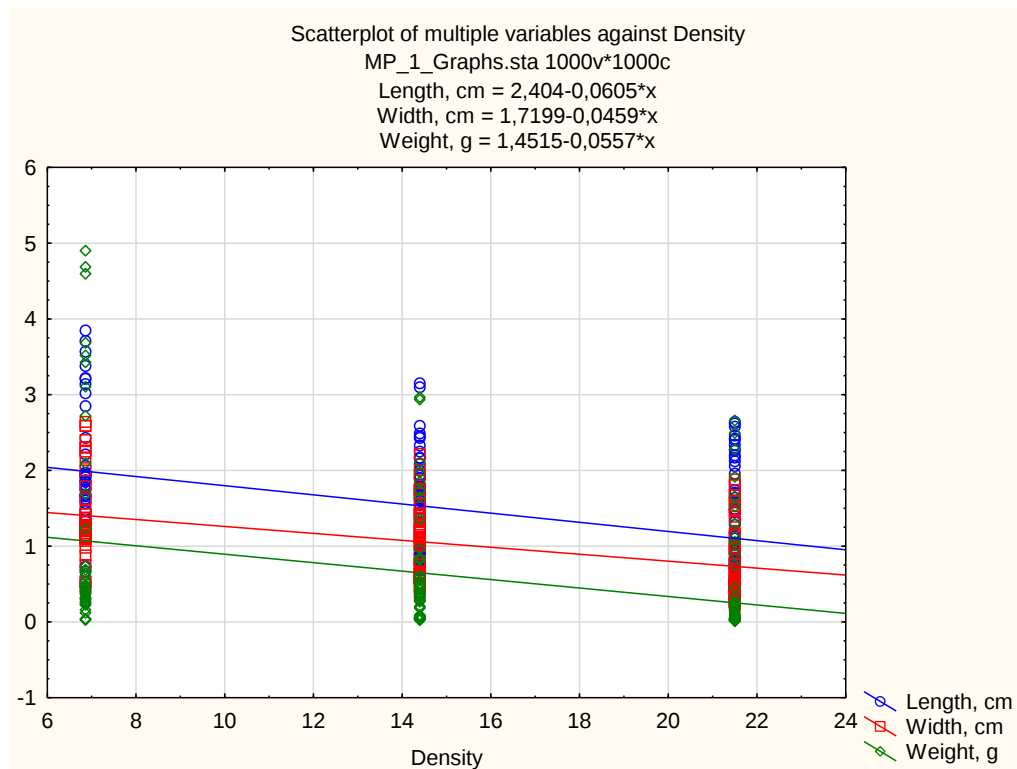


Рис. 3.11. Залежність довжини, ширини раковин, ваги молюсків від щільності популяції вздовж трансекти MP1

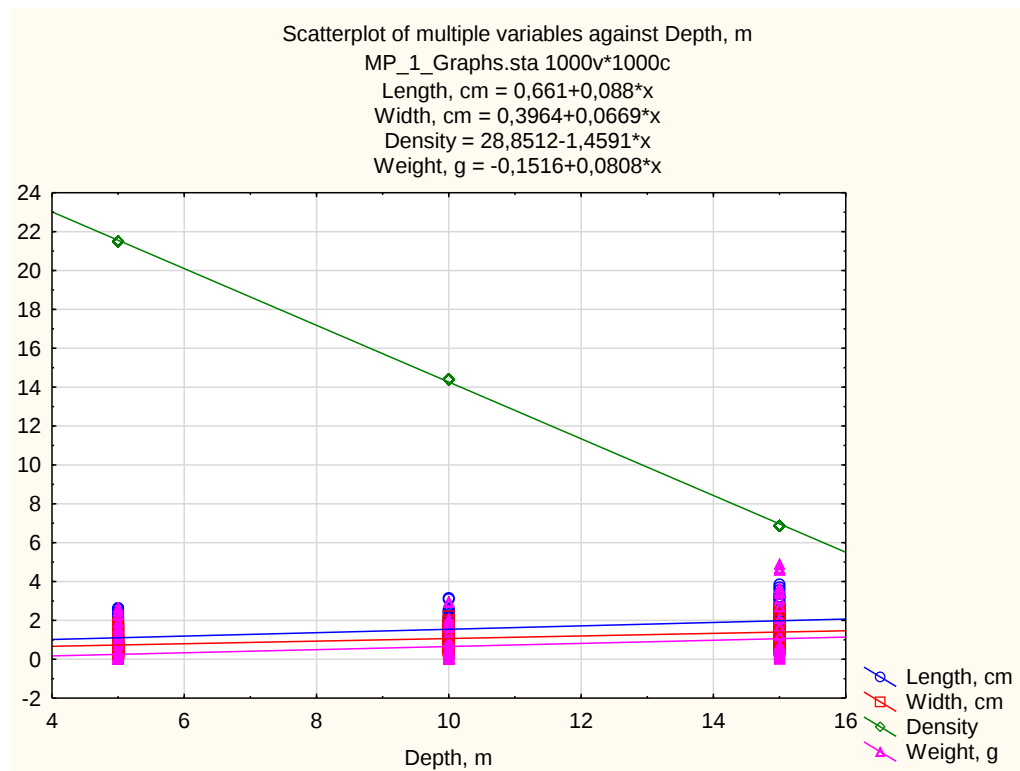


Рис. 3.12. Залежність довжини, ширини раковин молюсків, щільності популяції, ваги молюсків від глибини вздовж трансекти МР1

Трансекта МР2

Довжина, ширина раковини і вага молюска збільшується з глибиною, однак максимальна щільність популяції припадає на глибину 10 м (20,29 молюсків/рамка), що вказує на неklasичну модель розподілу популяції (рис. 3.13, 3.14).

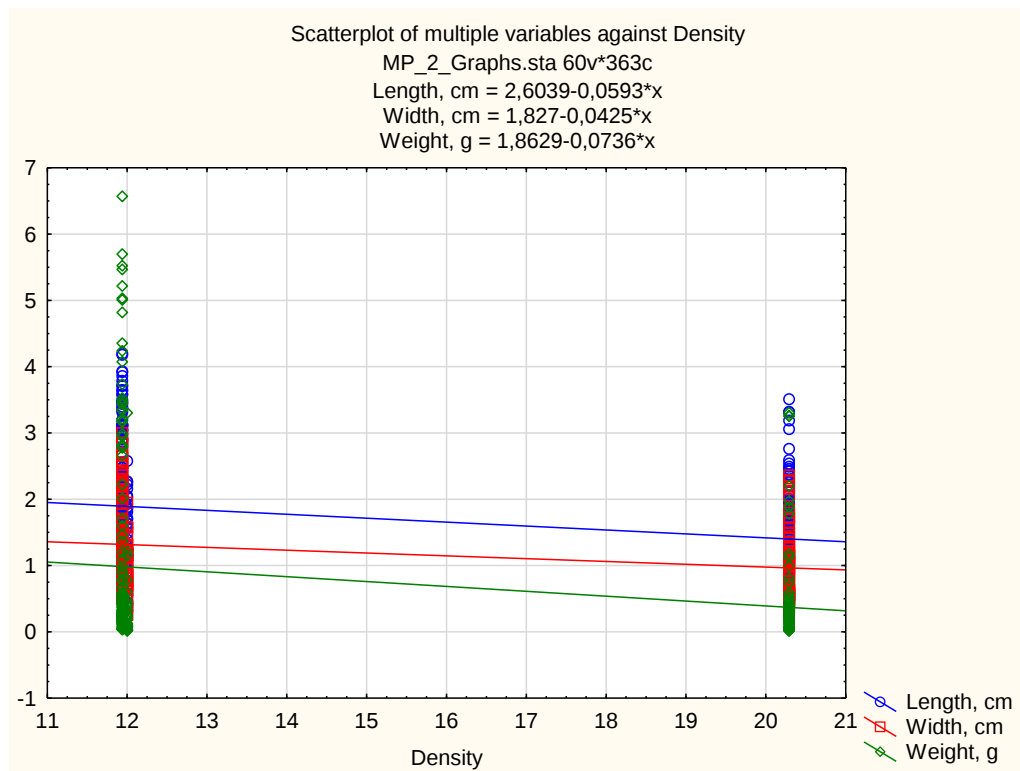


Рис. 3.13. Залежність довжини, ширини раковини, ваги молюска від щільності популяції на трансекті MP2

Трансекта MP3

Довжина та ширина раковини також збільшується з глибиною, а вага молюска різко збільшується з глибиною і зменшенням щільності популяції. На трансекті спостерігається модель близька до класичної (рис. 3.15, 3.16).

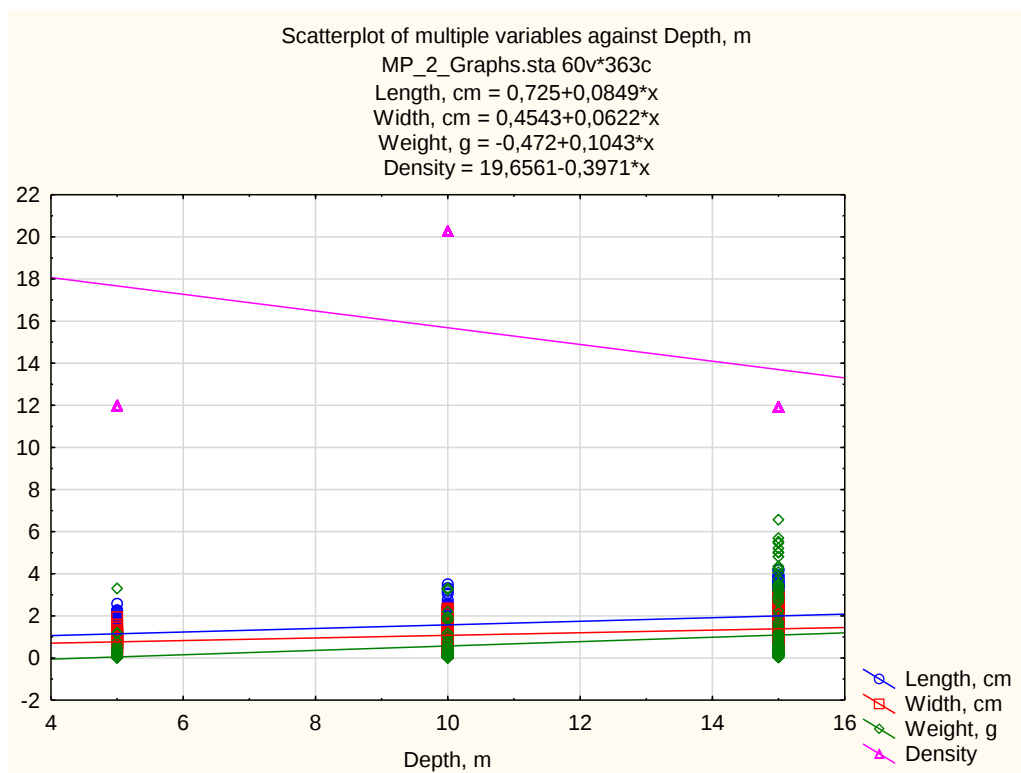


Рис. 3.14. Залежність довжини, ширини раковини, ваги молюска і щільності популяції від глибини

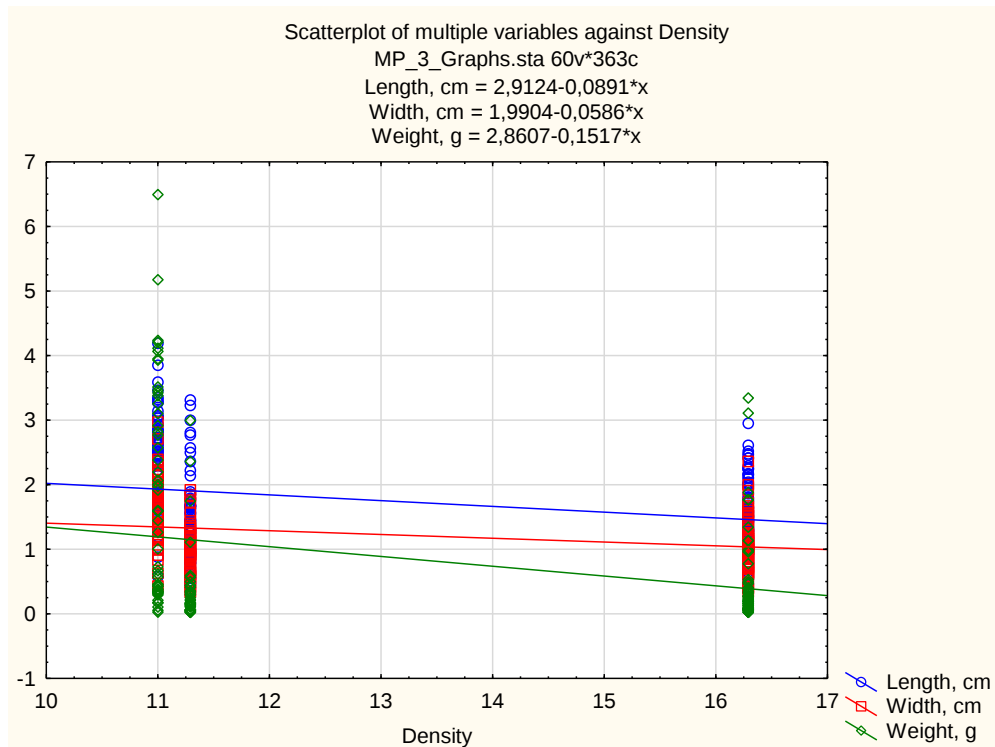


Рис. 3.15. Залежність довжини, ширини раковини, ваги молюска від щільності популяції вздовж трансекти МРЗ

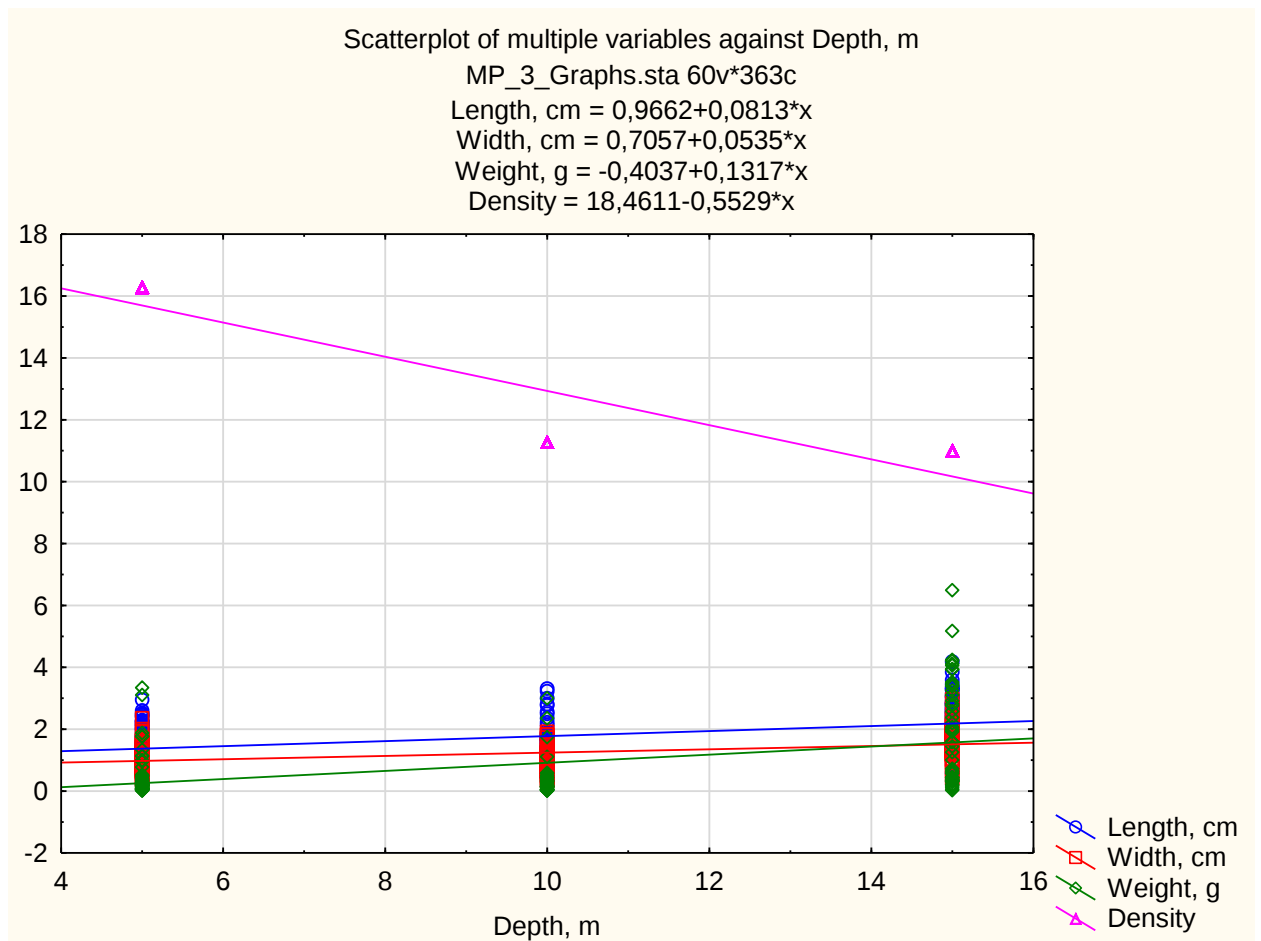


Рис. 3.16. Залежність довжини, ширини раковини, ваги молюсків, щільності популяції від глибини вздовж трансекти МРЗ

Трансекта МК1

Довжина раковини, ширина та вага молюска збільшується з глибиною, а щільність популяції знижується, що характерно для класичної екологічної моделі (рис. 3.17, 3.18).

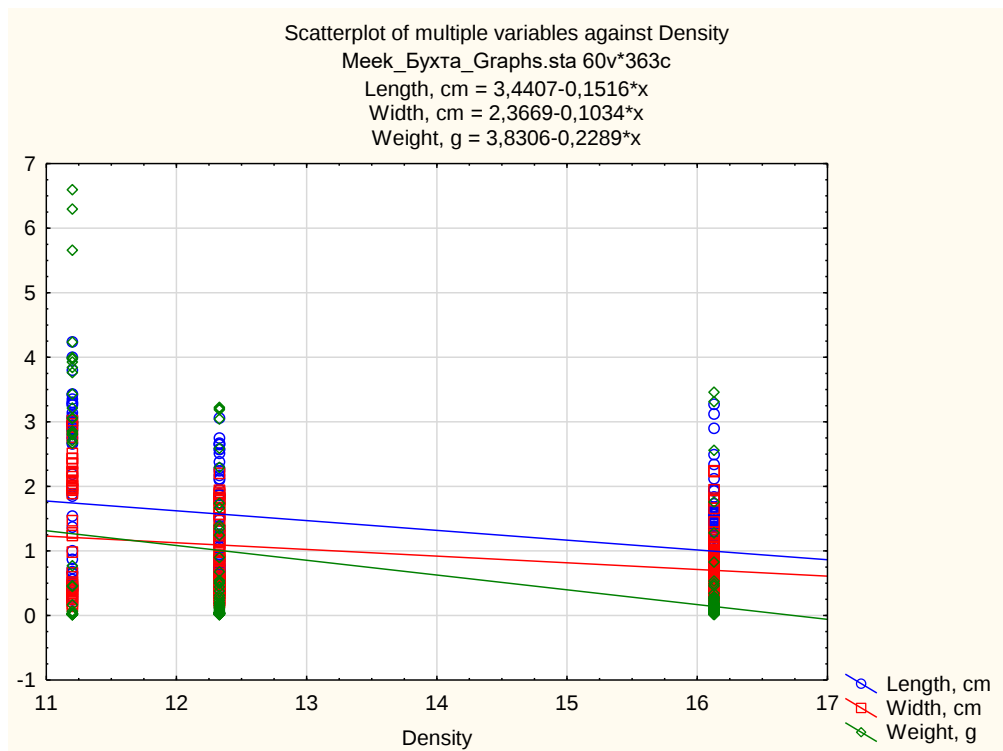


Рис. 3.17. Залежність довжини, ширини раковини і ваги молюсків від щільності популяції вздовж трансекти МК1

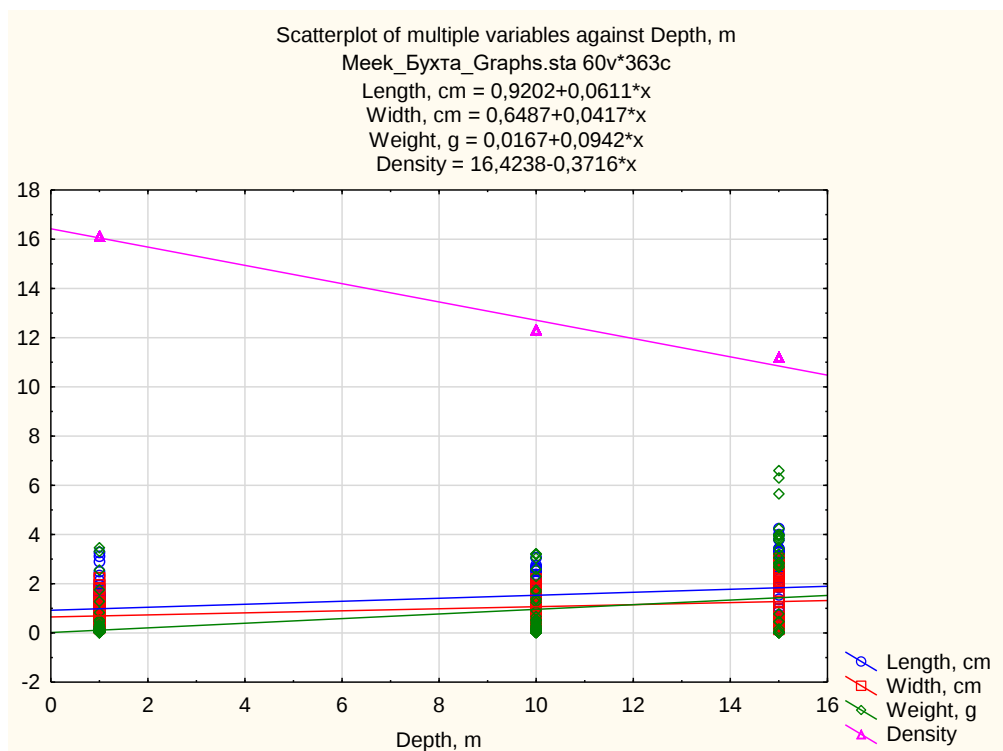


Рис. 3.18. Залежність довжини і ширини раковини, ваги молюсків і щільності популяції від глибини вздовж трансекти МК1

Трансекта МК2

Довжина та ширина раковини збільшується, а вага молюска має тенденцію до більш різкого збільшення зі збільшенням глибини. В свою чергу щільність популяції різко знижується зі збільшенням глибини. Трансекта МК2 характеризується неklasичною екологічною моделлю (рис. 3.19, 3.20).

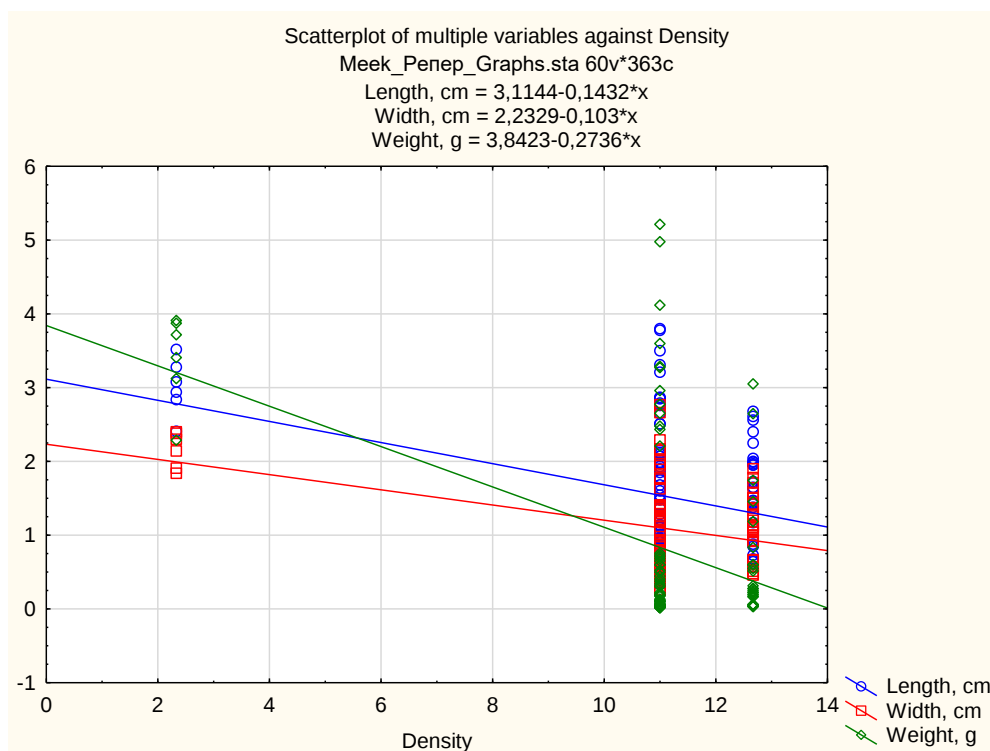


Рис. 3.19. Залежність довжини і ширини раковини, ваги молюска від щільності популяції вздовж трансекти МК2

Трансекта Stella1

Довжина раковини, ширина і вага молюска мають незначне збільшення з глибиною, а щільність популяції має нелінійну залежність з максимальним значенням на глибині 5 м і становить 20 молюсків на рамку. На трансекті спостерігається близька до неklasичної екологічна модель (рис. 3.21, 3.22).

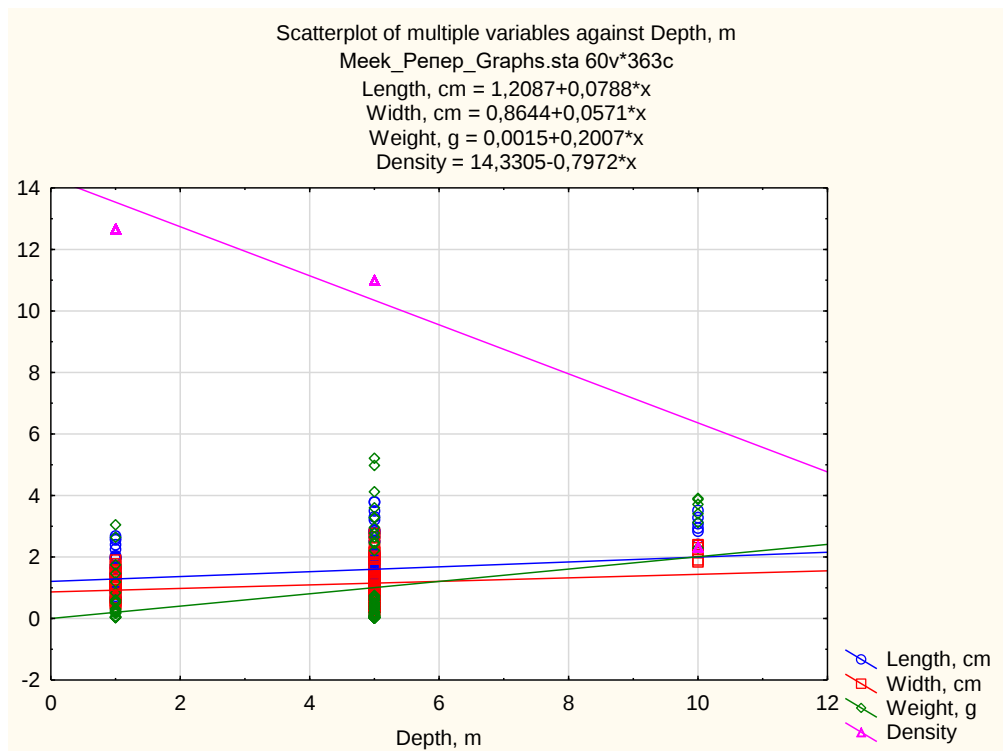


Рис. 3.20. Залежність довжини і ширини раковини, ваги моллюска і щільності популяції від глибини вздовж трансекти МК2

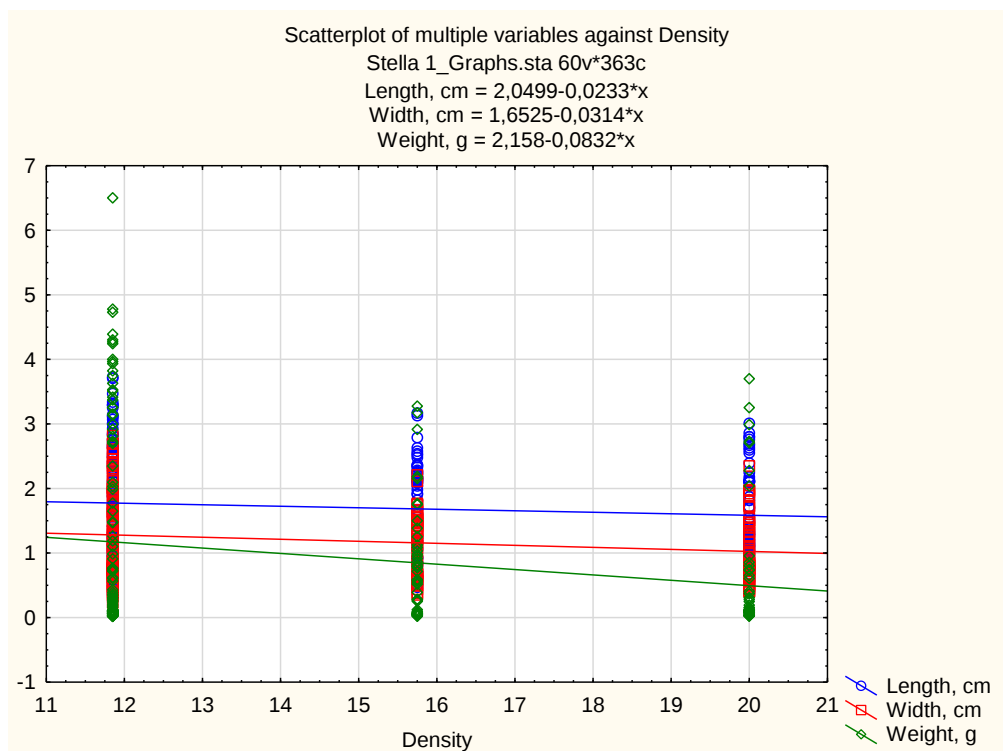


Рис. 3.21. Залежність довжини і ширини раковини, ваги моллюска від щільності популяції вздовж трансекти Stella1

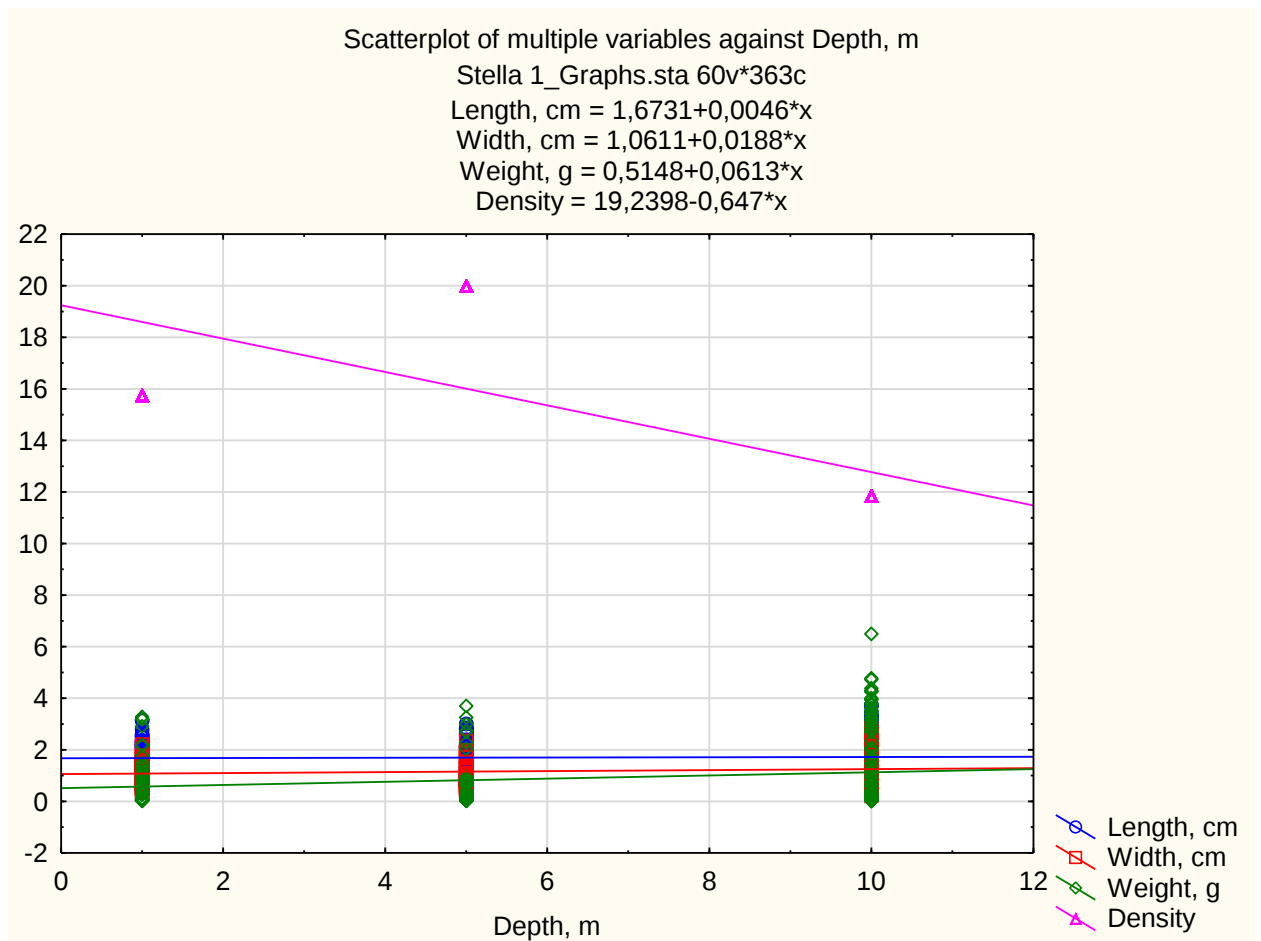


Рис. 3.22. Залежність довжини і ширини раковини, ваги моллюска і щільності популяції від глибини вздовж трансекти Stella1

Трансекта Stella2

Довжина, ширина раковини і вага моллюска зі збільшенням глибини практично не змінюються, а щільність популяції має максимальне значення на глибині 5 м (16,25 моллюсків/рамка) і майже однакові значення на глибині 10 м і 15 м (12,23 і 12,25 моллюсків/рамка, відповідно). Трансекта характеризується некласичною екологічною моделлю (рис. 3.23, 3.24).

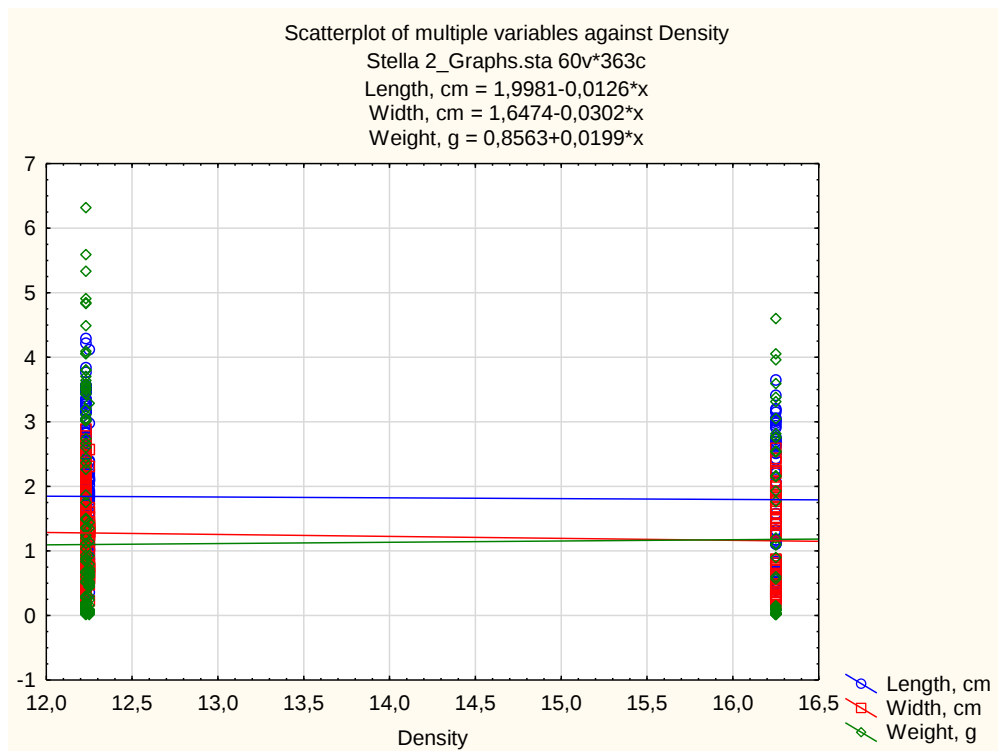


Рис. 3.23. Залежність довжини і ширини раковини, ваги молюска від щільності популяції вздовж трансекти Stella2

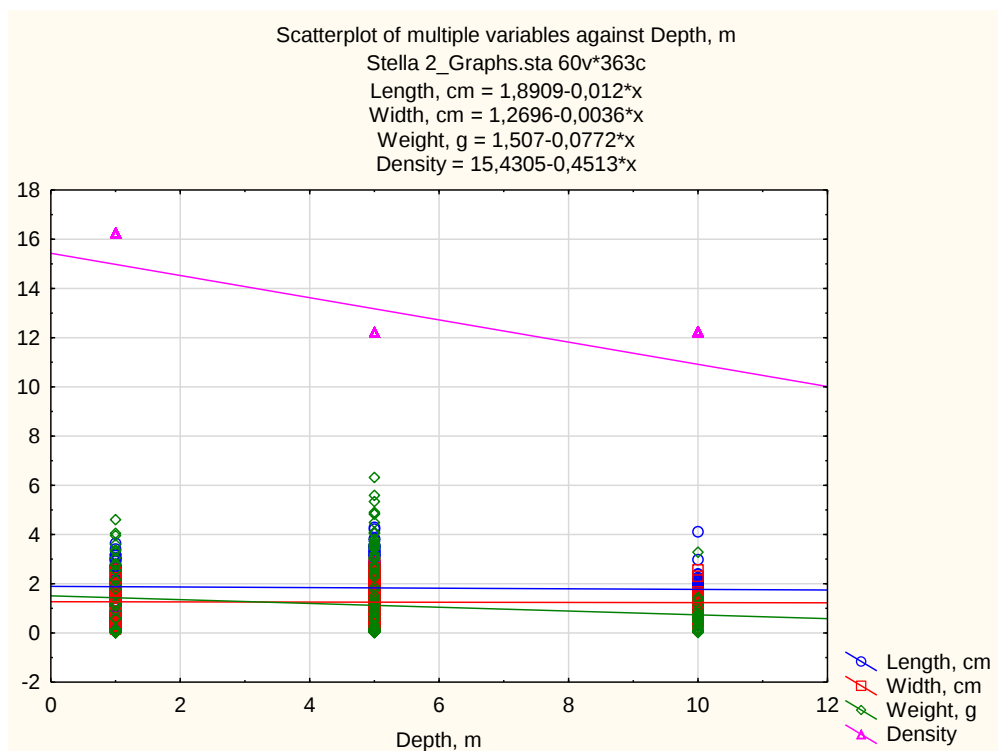


Рис. 3.24. Залежність довжини, ширини раковини, ваги молюска і щільності популяції від глибини на трансекті Stella2

3.1.2.3. Опис популяції *N. concinna* за глибинами

Глибина 1 м

Порівняльний аналіз (табл. 3.11, додаток 1) на трансектах МК1 і МК2 показав статистично значущі відмінності в довжині раковини (p прямує до 0).

Трансекти МК1 і Stella 1, як і трансекти МК1 і Stella 2 мають статистично значущі відмінності у довжині раковини (p прямує до 0).

На трансекті МК2 довжини раковини суттєво не відрізняється від довжин раковин на трансекті Stella 1 ($p = 0.079$). Довжини раковин несуттєво відрізняються на трансектах МК2 і Stella 2 ($p = 0.169$), а так само як і на трансектах Stella 1 й Stella 2 ($p = 0.961$).

На трансектах МК1 і МК2 ($p = 0.004$), МК1 і Stella 1 (p прямує до 0), МК1 і Stella 2 (p прямує до 0) є статистично значущі відмінності у вазі молюсків.

Порівняльний аналіз трансект МК2 і Stella 1 показав статистично незначимі відмінності у вазі молюсків ($p = 0.378$), але трансекти МК2 і Stella 2 мають статистично значущі відмінності ($p = 0.048$).

Трансекти Stella 1 і Stella 2 мають незначні відмінності у вазі молюсків ($p = 0.079$).

Глибина 5 м

На трансектах МК2 і Stella 1 раковин не показали статистично значущих відмінностей за довжиною ($p = 0.383$). В той час, як на трансектах МК2 і Stella 2 ($p = 0.001$), MP1 і MP2 ($p = 0.031$), MP1 і MP3 (p прямує до 0), MP1 і МК2 ($p = 0.012$), MP1 і Stella 1 (p прямує до 0), MP1 і Stella 2 (p прямує до 0) раковини мають статистично значимі відмінності за довжиною.

На трансектах MP2 і MP3 ($p = 0.212$), MP2 і МК2 ($p = 0.590$), MP2 і Stella 1 ($p = 0.103$) відсутні статистично значимі відмінності в довжинах раковин. Трансекти MP2 і Stella 2 характеризуються статистично значимими відмінностями у довжинах раковин (p прямує до 0).

Порівняльний аналіз показав статистично незначимі відмінності у довжинах раковин на трансектах MP3 і МК2 ($p = 0.691$), а також на трансектах MP3 і Stella 1 ($p = 0.467$).

На трансектах MP3 і Stella 2 (p прямує до 0), Stella 1 і Stella 2 ($p = 0.009$) були присутні статистично значимі відмінності у довжинах раковин молюсків.

Трансекти МК2 і Stella 1 мають статистично незначимі відмінності у вазі молюсків ($p = 0.317$), в той час як трансекти МК2 і Stella 2 мають статистично значимі відмінності ($p = 0.015$).

Порівняльний аналіз трансект MP1 і MP2 ($p = 0.961$), трансект MP1 і MP3 ($p = 0.352$), MP1 і Stella 1 ($p = 0.121$) показав статистично незначимі відмінності у вазі молюсків, а трансекти MP1 і МК2 ($p = 0.014$), MP1 і Stella 2 ($p = 0.000$) мали статистично значимі відмінності.

Трансекти MP2 і MP3 ($p = 0.463$), MP2 і МК2 ($p = 0.064$), MP2 і Stella 1 ($p = 0.224$) не мали статистично значимі відмінності у вазі молюсків, в той час як трансекти MP2 і Stella 2 (p прямує до 0) мали статистично значимі відмінності.

На трансектах MP3 і МК2 ($p = 0.056$), MP3 і Stella 1 ($p = 0.395$) були знайдені статистично незначимі відмінності у вазі молюсків, а на трансектах MP3 і Stella 2 (p прямує до 0) показано статистично значимі відмінності.

Порівняльний аналіз на трансектах Stella 1 і Stella 2 ($p = 0.001$) показав статистично значимі відмінності у вазі молюсків.

Глибина 10 м

Трансекти МК1 і МК2 (p прямує до 0), МК1 і Stella 1 (p прямує до 0), МК1 і Stella 2 ($p = 0.005$), МК2 і Stella 1 (p прямує до 0), МК2 і Stella 2 (p прямує до 0) характеризуються статистично значимими відмінностями у довжинах раковин молюсків.

Порівняльний аналіз трансект MP1 і MP2 ($p = 0.464$), MP1 і MP3 ($p = 0.982$), MP1 і МК1 ($p = 0.086$) показав відсутність статистично значимих відмінностей у довжинах раковин.

На трансектах MP1 і МК2 (p прямує до 0), MP1 і Stella 1 ($p = 0.023$) були знайдені статистично значимі відмінності у довжинах раковин.

На трансектах MP1 і Stella 2 ($p = 0.133$), MP2 і MP3 ($p = 0.446$), MP2 і МК1 ($p = 0.192$) не було знайдено статистично значимих відмінностей у довжинах раковин.

Порівняльний аналіз трансект MP2 і МК2 (p прямує до 0), MP2 і Stella 1 (p прямує до 0), MP2 і Stella 2 ($p = 0.023$) показав статистично значимі відмінності у довжинах раковин молюсків.

Статистично значимих відмінностей у довжинах раковин на трансектах MP3 і МК1 ($p = 0.081$) не було виявлено. В той час як на трансектах MP3 і МК2 (p прямує до 0), а також на трансектах MP3 і Stella 1 ($p = 0.023$) відмічені статистично значимі відмінності у довжинах раковин.

Порівняльний аналіз показав на трансектах MP3 і Stella 2 ($p = 0.140$), Stella 1 і Stella 2 ($p = 0.605$) статистично незначущі відмінності у довжинах раковин молюсків.

На трансектах МК1 і МК2 (p прямує до 0), МК1 і Stella 1 ($p = 0.001$) були виявлені статистично значимі відмінності у вазі молюсків.

Трансекти МК1 і Stella 2 не мали статистично значимих відмінностей у вазі молюсків.

Статистичний аналіз трансект МК2 і Stella 1 ($p = 0.001$), МК2 і Stella 2 (p прямує до 0) показав статистично значимі відмінності у вазі молюсків.

На трансектах MP1 і MP2 ($p = 0.285$), MP1 і MP3 ($p = 0.355$), MP1 і МК1 ($p = 0.966$), MP1 і Stella 2 ($p = 0.956$) були знайдені статистично незначимі відмінності у вазі молюсків, а на трансектах MP1 і МК2 (p прямує до 0), MP1 і Stella 1 ($p = 0.001$) показано статистично значимі відмінності у вазі.

Трансекти MP2 і MP3 ($p = 0.972$), MP2 і МК1 ($p = 0.298$), MP2 і Stella 2 ($p = 0.294$) мали статистично незначимі відмінності у вазі молюсків, в той час як трансекти MP2 і МК2 (p прямує до 0), а також MP2 і Stella 1 (p прямує до 0) мали статистично значимі відмінності у вазі.

Статистичний аналіз трансект MP3 і МК1 ($p = 0.402$), MP3 і Stella 2 ($p = 0.319$) показав статистично незначні відмінності у вазі молюсків, а на трансектах MP3 і МК2 (p прямує до 0), MP3 і Stella 1 ($p = 0.0011$) було показано статистично значимі відмінності у вазі.

На трансектах Stella 1 і Stella 2 ($p = 0.007$) знайдено статистично значимі відмінності у вазі молюсків.

Глибина 15 м

Трансекти MP1 і MP2 ($p = 0.817$), MP1 і МК1 ($p = 0.839$), MP2 і МК1 ($p = 0.932$), MP3 і МК1 ($p = 0.173$) не мали статистично значимих відмінностей у довжинах раковин.

Статистичний аналіз на трансектах MP1 і MP3 ($p = 0.053$), MP2 і MP3 ($p = 0.023$) показав статистично значимі відмінності у довжинах раковин молюсків.

На трансектах MP1 і MP2 ($p = 0.951$), MP1 і MP3 ($p = 0.069$), MP1 і МК1 ($p = 0.076$) не було знайдено статистично значимих відмінностей у вазі молюсків.

Трансекти MP2 і MP3 ($p = 0.015$), MP2 і МК1 ($p = 0.015$) мали статистично значимі відмінності у вазі молюсків.

На трансектах MP3 і МК1 ($p = 0.727$) були знайдені статистично незначимі відмінності у вазі молюсків.

Таким чином, виконано статистичний аналіз морфометричних даних *N. concinna* на різних глибинах та трансектах акваторії архіпелагу Аргентинських островів. Вираховано для кожної глибини трансекти середні значення довжини раковини, ширини раковини, ваги молюска, їх довірчий інтервал, мінімальне та максимальні значення, стандартне відхилення та стандартну помилку. На різних глибинах трансект визначено щільність популяції (середня кількість молюсків на рамку). Максимальна щільність популяції молюсків (21,5 молюски/рамку) спостерігається на глибині 5 м трансекти Marina Point. Різні трансекти відрізняються за кривими щільності популяції, однак загальна тенденція прослідковується, а саме – зі збільшенням глибини, щільність популяції зменшується. Побудовано графіки залежності довжини, ширини раковини та ваги молюска від щільності популяції, а також графіки залежності довжини, ширини раковини, ваги молюска, щільності популяції від глибини.

Морфометричний аналіз семи трансект (21 сайт) не показав чітких кореляційних зв'язків та відмінностей між літоральним та субліторальним лімпетом в акваторії архіпелага Вільгельма. Різні розмірні класи *N. concinna* представлені на глибинах 1 м, 5 м, 10 м та 15 м. Наявність кількох морфотипів молюсків, ймовірно, обумовлюється хвильовим навантаженням, течіями,

підводним ландшафтом та наявністю їжі. Морфотипи антарктичного лімпета є прикладом фенотипової пластичності раковини, як одного з механізмів пристосування до суворих холодних умов Антарктики.

3.2. Ресурси черевоногого молюска *N. concinna* в акваторії архіпелага Вільгельма

За допомогою програми ArcGIS 10.6.1 було розраховано площу досліджених ділянок акваторії (рис. 2.6). Ділянка з трансектами МК1, МК2 та МК3 в протоці Меек становить 9096 м², з трансектами МР1, МР2 і МР3 біля мису Marine Point – 3982 м², а з трансектами SC1 та SC2 в протоці Stella Creek – 1969 м².

Середня вага екземплярів молюсків на трансектах МК1, МК2 та МК3 становила 1,67 г (табл. 3.2). Середня щільність популяції – 5 молюсків/рамка (табл. 3.3). Таким чином, загальна біомаса молюсків на рамку становить $1,67 \cdot 5 = 8,35$ г. В 1 м² міститься 16 рамок 25х25 см, тобто в 1 м² біомаса популяції молюсків становить 133,6 г ($8,35 \cdot 16$). Перерахована біомаса молюсків на дослідженій ділянці акваторії Meek Channel площею 9096 м² становить 1,2 т (1215 кг).

Середня вага екземплярів *N. concinna* на трансектах МР1, МР2 і МР3 становить 0,72 г (табл. 3.7). Середня щільність популяції – 14 молюсків/рамка (табл. 3.8). Загальна біомаса лімпета на рамку становить $0,72 \cdot 14 = 10,08$ г. В 1 м² біомаса популяції *N. concinna* становить 161,28 г ($10,08 \cdot 16$). Біомаса молюсків на дослідженій ділянці акваторії Marina Point площею 3982 м² становить 0,6 т (642 кг).

Середня вага екземплярів молюсків на трансектах SC1 та SC2 становить 0,91 г (табл. 3.12). Середня щільність популяції – 15 молюсків/рамка (табл. 3.10). Загальна біомаса лімпета на рамку становить $0,91 \cdot 15 = 13,65$ г. В 1 м² біомаса популяції *N. concinna* становить 218,4 г ($13,65 \cdot 16$). Біомаса молюсків на дослідженій ділянці акваторії в протоці Stella Creek площею 1969 м² становить 0,43 т (430 кг).

Таблиця 3.12. Порівняльний аналіз ваги молюсків *N. concinna* (М, г) вздовж
трансект SC та на різних глибинах

Параметр трансекти, г	Глибина, м	Кількість екземплярів	Середнє значення	Довірчий інтервал -95 %	Довірчий інтервал +95%	Мінімальне значення	Максимальне значення	Стандартне відхилення	Стандартна помилка
Stella 1-1M	1	50	0,76	0,699	1,043	0,022	3,276	0,837	0,118
М	5	57	0,531	0,769	1,119	0,027	3,699	0,912	0,121
М	10	112	1,192	1,373	1,789	0,017	6,501	1,554	0,147
Stella 2-2M	1	49	1,181	1,173	1,758	0,012	4,598	1,407	0,201
М	5	118	1,304	1,459	1,887	0,017	6,319	1,646	0,151
М	10	41	0,496	0,475	0,74	0,016	3,288	0,579	0,09

3.3. Молекулярно-генетичний аналіз трьох морфотипів *N. concinna*

Для з'ясування систематичного положення 3-х морфотипів *N. concinna* з акваторії УАС «Академік Вернадський» отримали молекулярно-генетичні результати досліджень молюсків з протоки Пенола, Якірної бухти, акваторії Малих Ялурів та Безіменного острова.

Ампліфіковано фрагменти мітохондріального гену *12S* з наступних молюсків: 3 екземпляри з протоки Пенола, глибина 4-10 м, точка PP3, збір зразків 18.03.2016 (1/6 – перший морфотип, 1/4 – другий морфотип, 2/4 – третій морфотип); 1 екземпляр з Якірної бухти, збір зразків 28.03.2016 (AB 23 – другий морфотип); 1 екземпляр з акваторії острова Малий Ялур, глибина 35 м, збір зразків 08.03.2016 (AB 21 – третій морфотип). На рис. 3.25 представлено знімок результату перевірки якості ампліфікованих фрагментів у агарозному гелі на електрофорезі.

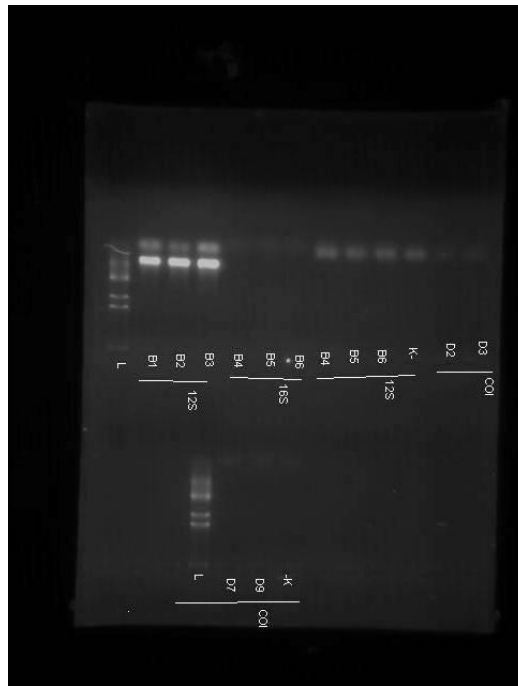


Рис. 3.25. Перевірка якості ампліфікованих фрагментів генів у агарозному гелі на електрофорезі

Для мітохондріального гену *12S* побудовано філогенетичне дерево (рис. 3.26) у IQtree методом maximum-likelihood (консенсусне дерево виведене з 10000 генерацій) з розрахунком бутстрепа за байєсівським протоколом. За аутгрупу було взято мешканця Індійського океану пателлогастроподу *Patelloida latistrigata* (Berezkina & Utevsky, 2020).

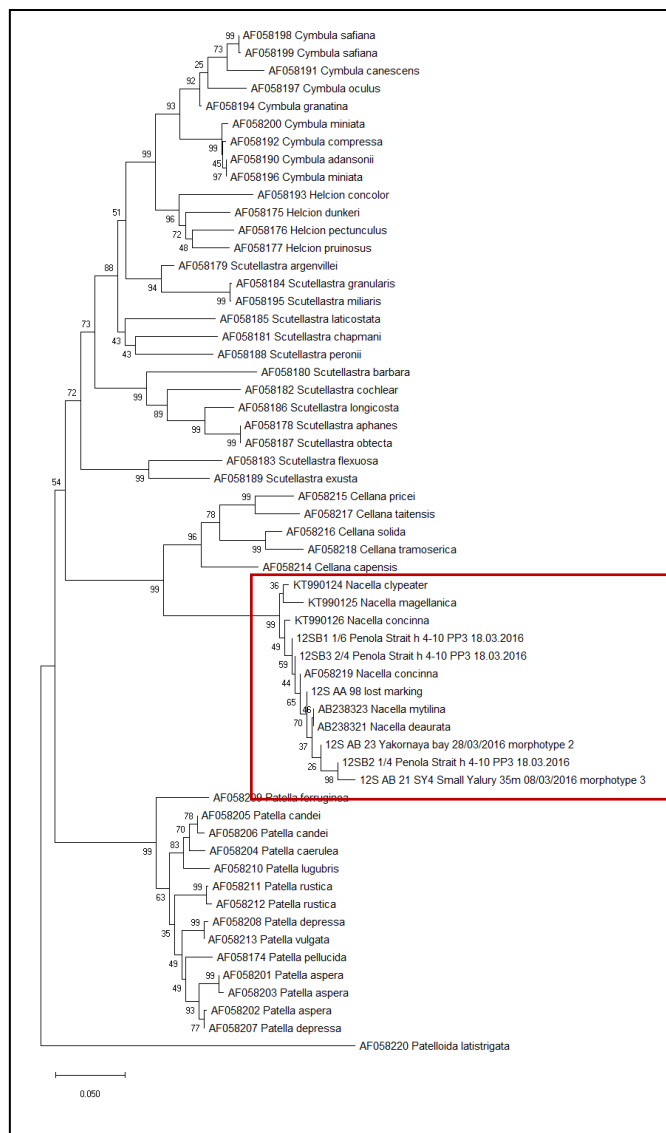


Рис. 3.26. Філогенетичне дерево Patellogastropoda за мітохондріальним геном 12S

Реконструкція філогенетичного дерева Patellogastropoda за фрагментом мітохондріального гену 12S показало приналежність трьох морфотипів до одного виду *N. concinna*. Досліджені молюски мають генетичну спорідненість з іншими представниками нацеллід, зокрема мешканцями акваторії Південної Америки і формують з ними монофілетичну кладу з бутстрепом 99: *N. clypeater*, *N. magellanica*, *N. deaurata*, *N. mytilina*. *N. clypeater*, *N. magellanica* з чилійського узбережжя (Тихий океан) і узбережжя Вогняної Землі відповідно, утворюють окрему субкладу. Рід *Nacella* об'єднується з бутстрепом 99 з сестринською кладою роду *Cellana*, що є представниками помірних та тропічних океанічних вод. Цей рід зустрічається в помірних і тропічних Індо-Тихому океанах, на

Гаваях, навколо Австралії і Нової Зеландії. Види також зустрічаються навколо берегів Японії, Червоного моря, Маврикія, Мадагаскару, Південної Африки і субантарктичних островів. Вид *C. capensis* населяє Індо-Тихоокеанський регіон, в основному біля берегів Австралії. Представник *C. solida* поширений у східній частині Індійського океану також біля узбережжя Австралії. *C. taitensis* мешкає вздовж берегів Французької Полінезії та островів Піткерн. Ці два роди утворюють єдину монофілетичну кладу яка є сестринською з невеликим бутстрепом 54 до монофілетичної класи до складу якої входять представники родів *Scutellastra*, *Helcion*, *Cymbula*. Представники цієї класи поширені в басейні Атлантичного океану від берегів Норвегії до Південної Африки. Представники роду *Patella* утворили монофілетичну кладу з бутстрепом 99. Рід поширений на атлантичному узбережжі Європи.

Таблиця 3.13

Генетичні відстані між нацелідами за геном 12S

Види		Генетичні відстані
12S B1	12S AA 98	0,00000
12S B2	12S AA 98	0,00000
12S B1	12S AB 23	0,00000
12S B2	12S AB 23	0,00000
12S AA 98	12S AB 23	0,00000
12S B1	12S B3	0,00250
12S B2	12S B3	0,00000
12S AA 98	12S B3	0,00599
12S AB 23	12S B3	0,00000
12S B1	AF058219 <i>Nacella concinna</i>	0,00000
12S B2	AF058219 <i>Nacella concinna</i>	0,00000
12S AA 98	AF058219 <i>Nacella concinna</i>	0,00000
12S AB 23	AF058219 <i>Nacella concinna</i>	0,00000
12S B3	AF058219 <i>Nacella concinna</i>	0,00000
12S B1	KT990126 <i>Nacella concinna</i>	0,01228
12S B2	KT990126 <i>Nacella concinna</i>	0,00345
12S AA 98	KT990126 <i>Nacella concinna</i>	0,00297
12S AB 23	KT990126 <i>Nacella concinna</i>	0,00306
12S B3	KT990126 <i>Nacella concinna</i>	0,01503
AF058219 <i>Nacella concinna</i>	KT990126 <i>Nacella concinna</i>	0,00000
12S B1	12S AB 21	0,00410

12S B2	12S AB 21	0,00410
12S AA 98	12S AB 21	0,00410
12S AB 23	12S AB 21	0,00410
12S B3	12S AB 21	0,00410
AF058219 <i>Nacella concinna</i>	12S AB 21	0,00428
KT990126 <i>Nacella concinna</i>	12S AB 21	0,00824
12S B1	AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	0,00658
12S B2	AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	0,00714
12S AA 98	AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	0,00658
12S AB 23	AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	0,00658
12S B3	AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	0,00658
AF058219 <i>Nacella concinna</i>	AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	0,00669
KT990126 <i>Nacella concinna</i>	AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	0,00658
12S AB 21	AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	0,01272
12S B1	AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	0,00660
12S B2	AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	0,00717
12S AA 98	AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	0,00660
12S AB 23	AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	0,00660
12S B3	AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	0,00660
AF058219 <i>Nacella concinna</i>	AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	0,00671
KT990126 <i>Nacella concinna</i>	AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	0,00660
12S AB 21	AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	0,01277
AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	0,00000
12S B1	KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	0,02501
12S B2	KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	0,02123
12S AA 98	KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	0,01820
12S AB 23	KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	0,01877
12S B3	KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	0,02808
AF058219 <i>Nacella concinna</i>	KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	0,01394
KT990126 <i>Nacella concinna</i>	KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	0,01197
12S AB 21	KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	0,02973
AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	0,00997
AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	0,01001
12S B1	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,03281
12S B2	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,02501
12S AA 98	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,02141
12S AB 23	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,02209
12S B3	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,03608
AF058219 <i>Nacella concinna</i>	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,02253
KT990126 <i>Nacella concinna</i>	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,01932
12S AB 21	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,03436
AB238323 <i>Nacella mytilina</i>	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,01342
AB238321 <i>Nacella deaurata</i>	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,01346
KT990124 <i>Nacella clypeater</i>	KT990125 <i>Nacella magellanica</i>	0,01937

Генетичні відстані між дослідженими видами за мітохондріальним геном 12S (табл. 3.13) не перевищують видового рівня 5%.

Ампліфікація фрагментів мітохондріального гену 16S було проведено з 3-х екземплярів молюсків з протоки Пенола, глибина 4-10 м, точка PP3, збір зразків 18.03.2016 (1/6 – перший морфотип, 1/4 – другий морфотип, 2/4 – третій морфотип). Якість фрагменту гену 16S перевірено методом електрофорезу у агарозному гелі (рис. 3.27).



Рис. 3.27. Оцінка якості ампліфікації мітохондріального гену 16S гелелектрофорезом у агарозному гелі

Для мітохондріального гену 16S побудовано філогенетичне дерево у програмі IQtree методом maximum-likelihood з розрахунком бутстрепа за байєсівським протоколом (рис. 3.28). Консенсусне дерево побудовано на підставі 10000 генерацій. У якості аутгрупи використано представників ветігастроподи роду *Lepetella*.

Досліджена вибірка видів поділилась на дві сестринські субклади першого порядку з бутстрепом 100. Перша сестринська клада першого порядку поділяється на дві сестринські субклади другого порядку з бутстрепом 99. До першої клади з

бутстрепом 100, увійшли представники антарктичного роду *Nacella* і індоотихоокеанського роду *Cellana*, які сформували відповідні клади третього порядку. Всі три морфотипи *N. concinna*, позначені як b1, b2, b3, належать до одного виду *N. concinna* (Berezkina et al., 2020; Berezkina & Utevsky, 2021). Другий і третій морфотипи об'єднуються в одну кладу разом із *N. concinna*, зібраного біля берегів Signy Island. *N. deaurata* з тихоокеанського узбережжя Чилі обіймає базальне положення в цій кладі, у той самий час *N. magellanica* з того самого регіону виявляється «наймолодшим» елементом в цій групі разом із *N. mytilina*. До другої субклади другого порядку увійшли представники родів *Patella*, *Cymbula*, *Helcion*, *Scutellastra*.

До другої субклади першого порядку увійшли представники родів *Tectura* і *Patelloida*. Представники цих родів утворили відповідні сестринські субклади з бутстрепом 100. Представники *Tectura* поширені від Арктики (Канадська Арктика, Гренландія, Аляска, Свальбард, береги Норвегії, Британії, Іспанії) і до Середземного моря. Також відомі з Тихоокеанського узбережжя Чилі, Мадагаскару, Нової Зеландії. Представники *Patelloida* відомі з берегів Гренландії, північних берегів Франції, Атлантичного і Тихоокеанського узбережжя США, поодинокі знахідки у берегів Африки і у Червоному морі. Більшість видів відомі з індокитайського регіону, Японії, берегів Австралії і Нової Зеландії (gbif.org/species/2297861). Треба відзначити, що представники *Patelloida* відомі з берегів Вогняної Землі, а також Тихоокеанського і Атлантичного узбережжя Чилі і Аргентини відповідно.



Генетичні відстані між нацелідами за геном 16S

Види		Генетична відстань
b1	b2	0,00417
b1	b3	0,00418
b2	b3	0,00000
b1	AB238432 <i>Nacella deaurata</i>	0,00847
b2	AB238432 <i>Nacella deaurata</i>	0,00790
b3	AB238432 <i>Nacella deaurata</i>	0,00790
b1	AB238434 <i>Nacella mytilina</i>	0,01060
b2	AB238434 <i>Nacella mytilina</i>	0,00988
b3	AB238434 <i>Nacella mytilina</i>	0,00988
b1	AF058268 <i>Nacella concinna</i>	0,01070
b2	AF058268 <i>Nacella concinna</i>	0,01408
b3	AF058268 <i>Nacella concinna</i>	0,01408
AB238432 <i>Nacella deaurata</i>	AF058268 <i>Nacella concinna</i>	0,02225
AB238434 <i>Nacella mytilina</i>	AF058268 <i>Nacella concinna</i>	0,02429
AB238432 <i>Nacella deaurata</i>	AB238434 <i>Nacella mytilina</i>	0,00197

У той же час генетичні відстані між дослідженими видами за мітохондріальним геном 16S (табл. 3.14) не перевищують видового рівня 5%.

Ампліфікація фрагментів мітохондріального гену *COI* було проведено для 3-х екземплярів *N. concinna*: 1 екземпляр з протоки Пенола, глибина 4-10 м, точка РРЗ, збір зразків 18.03.2016 (1/4 – другий морфотип); 2 гігантські екземпляри з акваторії біля острова Безіменний, глибина 0,5 м, збір зразків 10.02.2016 (№7 – третій морфотип, № 6 – другий морфотип). Якість ампліфікованих фрагментів гену *COI* перевірено на агарозному гелі методом електрофорезу (рис. 3.29). Побудовано філогенетичне дерево (рис. 3.30) фрагментів гену *COI* у програмі IQtree методом maximum-likelihood (консенсусне дерево виведене з 10000 генерацій) з розрахунком бутстрепа за байєсівським протоколом. Для побудови філогенетичного дерева використано 307 послідовностей фрагменту мітохондріального гену *COI*. Крім послідовностей отриманих нами, використані

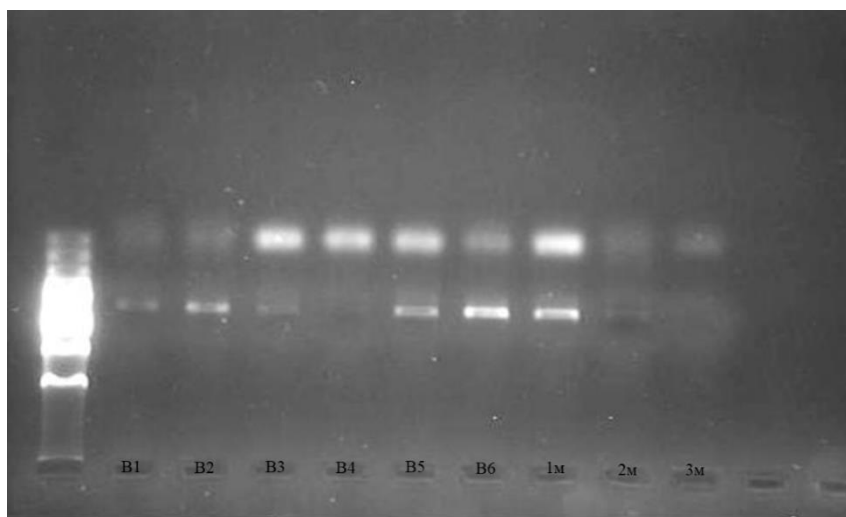


Рис. 3.29. Оцінка якості ампліфікації мітохондріального гену *COI* гелелектрофорезом у агарозному гелі

послідовності з сервісу ncbi. Залучені всі доступні послідовності представників роду *Nacella*, а також *Cellana*, *Iothia*, *Tectura*. У якості аутгрупи використано послідовності роду *Lepetella*, що належить до ветігастропода.

Реконструкція філогенетичного дерева різних морфотипів *N. concinna* за консервативним мітохондріальним фрагментом гену *COI*, показала приналежність досліджених зразків до одного виду. Всі представники виду *Nacella concinna* об'єднались у єдину кладу з бутстрепом 100. Досліджені екземпляри мали генетичну спорідненість з іншими нацеллідами: південноамериканською *N. magellanica* та видами *N. delesserti*, *N. aff. mytilina*, *N. kerguelensis*, *N. macquariensis*, *N. terroris*, *N. edgari* з акваторій субантарктичних островів. Інші представники роду *Nacella* утворили окремі клади відповідно до їх географічного поширення. Філогенетичне дерево містить дві великі сестринські субклади з бутстрепом 100. Перша субклада 1-го порядку включає представників родів *Iothia*, *Tectura*, *Cellana*. Представники роду *Tectura* утворили окрему субкладу в межах кледи *Iothia* з бутстрепом 85, що потребує подальших філогенетичних і таксономічних досліджень. Варто відзначити, що види *Iothia*, *Tectura*, що сформували єдину кладу, демонструють біполярне поширення. Глибоководний вид *Iothia megalodon*, що поширена від середніх широт

тихоокеанського узбережжя Чилі до протоки Бігль, посів базальне положення. Філогенетичний зв'язок з нею демонструє циркумантарктичний вид *Iothia emarginuloides*. *Iothia fulva* з північно-атлантичного узбережжя Британських островів і Норвегії утворює з попереднім видом сестринську кладу, але з невеликим бутстрепом – 55. Сестринську кладу з бутстрепом 77 з попередніми двома видами утворюють представники роду *Tectura*. Цей рід також демонструє біполярне поширення і вважається синонімом - *Iothia (Tectura) coppingeri*. *Tectura virginea* поширена від Північного до Середземного моря, *Tectura fenestrata* – на тихоокеанському узбережжі Аляски, *Tectura testudinalis* – у Канадській Арктиці і Гренландії. Досліджені представники роду *Tectura* утворюють монофілетичну кладу з бутстрепом 96. Клада «*Cellana*» є монофілетичною і включає виключно представників роду *Cellana*. Представники роду широко поширені на узбережжі Індійського океану від Африки до Індокитаю, навколо Австралії і Нової Зеландії і далі сягають Японських островів. Клада «*Iothia, Cellana, Tectura*» займає базальне положення відносно клади «*Nacella*». Друга сестринська субклада 1-го порядку утворена виключно представниками роду *Nacella*. Монофілетична клада «*Nacella*» включає кілька субклад. Перша базальна субклада 2-го порядку утворена виключно видом *N. kerguelensis*, поширеним виключно в акваторії субантарктичного острова Кергелен. Друга субклада 2-го порядку складається з субклади 3-го порядку, що утворена видом *Nacella concinna*, що поширений біля берегів Антарктичного півострову. Базальна субклада 3-го порядку включає представників з субантарктичних островів – *N. terroris*, *N. edgari*, *N. masquariensis*. Ця субклада займає базальне положення. Друга субклада 3-го порядку включає: субкладу, що утворена видом *N. clypeater* з тихоокеанського узбережжя Чилі; субкладу, що утворена *N. deaurata*, *N. fuegiensis*, *N. magellanica*, *N. mytilina* з берегів Південної Америки. *N. mytilina* відзначено з тихоокеанського узбережжя Чилі, Патагонії, атлантичного узбережжя Аргентини. Генетичні відстані між видами за мітохондріальним геном COI відрізняються від попередніх генів. Тільки *N. delicatissima*, *N. mytilina*, *N. deaurata* демонструють генетичну відстань від *N.*

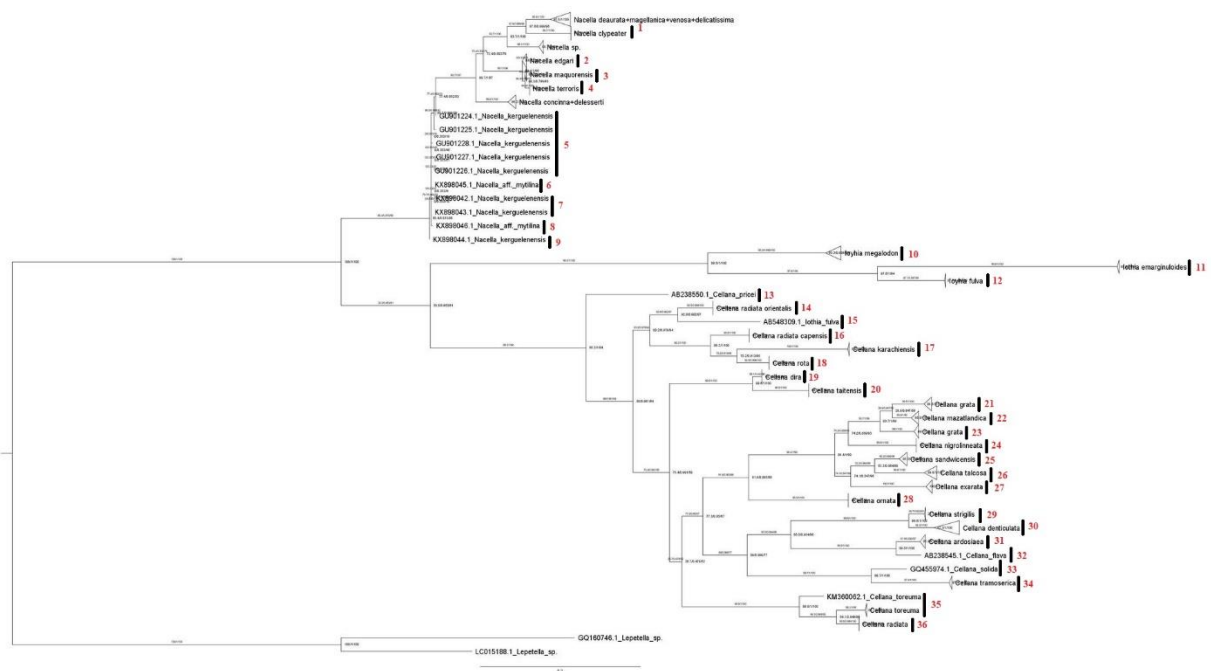


Рис. 3.30. Філогенетичне дерево Patellogastropoda за мітохондріальним геном CO1: 1 - Pacific margin of the Chilean coast between 42°S and 30°S; 2 - Kerguelen and Heard Islands; 3 - Macquarie Island; 4 - Campbell Island, sub-Antarctic New Zealand; 5, 7, 9 - Kerguelen and Heard Islands; 6, 8 - Magellanic province. Pacific Patagonia: from Guarello Island (50°S) to Cape Horn (56°S). Atlantic Patagonia: Tierra del Fuego to Puerto Deseado (47°S). Falkland/Malvinas Islands; 10 - Chile, methane seep off Concepcion, Magellan region; 11 - Antarctica (the Weddell Sea) and southern Chile; 12 - Northeast Atlantic, Arctic and the Mediterranean Sea: Greenland and Russia. Subtropical to polar; 13 – Philippines, Samoa; 14, 36 - Indo-Pacific, mainly Australia; 15 - Northeast Atlantic, Arctic and the Mediterranean Sea: Greenland and Russia. Subtropical to polar; 16 - East coast of South Africa and Natal north to Zanzibar; 17 - Western Indian Ocean: Oman and Iran. Gulf of Oman, Karachi coast, Pakistan and up to the south Saurashtra coastline (Gujarat, India); 18 - Indo-Pacific and the Mediterranean: from Madagascar to eastern Polynesia; north to southern Japan and south to New Caledonia; 19 - Southwest Pacific and Eastern Central Pacific: French Polynesia; 20 - Eastern Central Pacific: French Polynesia, Marquesas Island and Pitcairn; 21, 23 - Western Pacific. Tropical to temperate; 22 - Japan. This very large but comparatively thin-shelled *Cellana* seems to be restricted to the Bonin Islands; 24 - Western Pacific: Japan, Korea, and Philippines; 25, 26, 27 - Eastern Central Pacific: Endemic to Hawaii;

28, 29, 30, 32 - Southwest Pacific: New Zealand; 31 - coast of Chile; 33 - Eastern Indian Ocean: Australia; 34 - Indo-west Pacific: Australia; 35 - Indo-West Pacific

concinna вище 5% (табл. 3.15). Інші види нацеллід, що поширені на субантарктичних островах і Вогняній Землі демонструють генетичні відстані нижче видового рівня 5%

.

Таблиця 3.15 Генетичні відстані між видами *Nacella* за мітохондріальним геном *COI*

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	
1	C. radiata																																										
2	C. karachiensis	0,098																																									
3	C. toreuma	0,085	0,113																																								
4	C. grata	0,128	0,136	0,135																																							
5	C. nigrolineata	0,122	0,128	0,146	0,067																																						
6	C. rota	0,081	0,072	0,104	0,130	0,126																																					
7	C. strigilis	0,131	0,136	0,130	0,135	0,131	0,130																																				
8	C. ardosiaea	0,130	0,143	0,128	0,147	0,139	0,109	0,109																																			
9	C. dira	0,095	0,105	0,094	0,122	0,125	0,096	0,114	0,127																																		
10	C. taitensis	0,099	0,117	0,105	0,127	0,119	0,087	0,122	0,127	0,038																																	
11	C. sandwicensis	0,113	0,132	0,122	0,076	0,076	0,116	0,127	0,139	0,116	0,111																																
12	C. exarata	0,128	0,128	0,142	0,091	0,079	0,127	0,155	0,158	0,127	0,127	0,072																															
13	C. talcosa	0,126	0,124	0,130	0,086	0,085	0,119	0,135	0,136	0,117	0,114	0,046	0,071																														
14	C. solida	0,132	0,118	0,136	0,133	0,125	0,123	0,131	0,117	0,123	0,126	0,127	0,123	0,132																													
15	C. ornata	0,097	0,111	0,105	0,107	0,097	0,109	0,125	0,127	0,095	0,102	0,095	0,112	0,100	0,115																												
16	C. mazatlandica	0,115	0,127	0,124	0,039	0,064	0,123	0,132	0,132	0,105	0,107	0,073	0,076	0,073	0,122	0,091																											
17	C. denticulata	0,148	0,143	0,144	0,156	0,158	0,134	0,036	0,118	0,141	0,145	0,140	0,166	0,145	0,134	0,132	0,146																										
18	C. pricei	0,106	0,108	0,123	0,139	0,134	0,099	0,142	0,120	0,094	0,097	0,135	0,136	0,131	0,122	0,111	0,119	0,163																									
19	C. flava	0,126	0,125	0,127	0,152	0,137	0,112	0,111	0,036	0,127	0,127	0,136	0,147	0,137	0,123	0,128	0,137	0,126	0,116																								
20	C. tramserica	0,132	0,123	0,138	0,143	0,127	0,132	0,107	0,118	0,116	0,122	0,135	0,135	0,137	0,067	0,110	0,131	0,116	0,125	0,119																							
21	N. delicatissima	0,153	0,147	0,175	0,148	0,144	0,153	0,157	0,161	0,149	0,152	0,139	0,147	0,145	0,175	0,161	0,138	0,161	0,152	0,159	0,172																						
22	N. magellanica	0,151	0,144	0,170	0,148	0,146	0,149	0,154	0,158	0,145	0,147	0,140	0,149	0,146	0,174	0,160	0,137	0,163	0,148	0,155	0,168	0,004																					
23	N. mytilina	0,152	0,147	0,171	0,150	0,148	0,151	0,157	0,158	0,145	0,147	0,142	0,153	0,146	0,177	0,160	0,138	0,170	0,146	0,153	0,171	0,007	0,008																				
24	I. fulva	0,146	0,156	0,161	0,172	0,165	0,156	0,171	0,178	0,147	0,141	0,151	0,158	0,156	0,173	0,148	0,158	0,177	0,153	0,174	0,161	0,171	0,168	0,168																			
25	I. megalodon	0,177	0,192	0,180	0,180	0,179	0,188	0,184	0,182	0,160	0,158	0,173	0,171	0,181	0,159	0,164	0,163	0,181	0,158	0,178	0,150	0,166	0,163	0,162	0,136																		
26	I. emarginuloides	0,178	0,201	0,176	0,190	0,182	0,194	0,188	0,198	0,168	0,175	0,183	0,185	0,198	0,191	0,172	0,186	0,189	0,195	0,186	0,187	0,196	0,192	0,193	0,138	0,155																	
27	Lepetella sp.	0,242	0,250	0,236	0,257	0,254	0,248	0,248	0,223	0,246	0,243	0,249	0,254	0,254	0,244	0,238	0,253	0,253	0,243	0,226	0,261	0,231	0,228	0,227	0,255	0,268	0,255																
28	T. fenestrata	0,366	0,368	0,372	0,376	0,365	0,360	0,389	0,374	0,355	0,363	0,387	0,380	0,379	0,366	0,348	0,358	0,404	0,388	0,379	0,374	0,378	0,380	0,383	0,404	0,413	0,424	0,398															

[illegible]

Реконструкцію філогенії *N. concinna* за консервативним ядерним геном 28S у програмі IQtree методом maximum-likelihood (консенсусне дерево виведене з 10000 генерацій) з розрахунком бутстрепа за байєсівським протоколом на базі 56 послідовностей з сервісу ncbi. У якості аутгрупи використано представника ветігастропода *Lepetella* (рис. 3.31). Клади 1-го порядку утворились з бутстрепом 70. До однієї класи увійшли представники родів *Scutellastra*, *Tectura*, *Patelloida*, *Patella*. При цьому представники роду *Tectura* не утворили монофілетичну класу. До сестринської субкласи увійшли представники родів *Cellana*, *Nacella*. Ця субкласа поділяється на класи другого порядку з незначним бутстрепом 44, що свідчить про давність цього процесу. Два роди *Cellana*, *Nacella*. Утворюють монофілетичні сестринські субкласи другого порядку. Класа «*Cellana*» має бутстреп 96, клас «*Nacella*» - бутстреп 97, що підтверджує монофілетичність цих родів. Дві сестринські субкласи «*Nacella*» 3-го порядку з бутстрепом 94 сформовані наступним чином. Першу субкласу з бутстрепом 95 утворили *N. clypeator*, *N. mytilina*, *N. deaurata*, *N. flammea*, *N. magellanica*. *N. clypeator* з тихоокеанського узбережжя Чилі займає базальне положення у цій субкласі. Підпорядковане положення займає *Nacella mytilina* що поширена в акваторії Вогняної Землі, прилеглих тихоокеанському і атлантичному узбережжях Південної Америки, Фолклендах, о. Маріон (eol.org/page/4793132). Далі *Nacella deaurata* (<https://eol.org/pages/4793105>), ареал якої охоплює ті ж самі райони, Антарктичний півострів, а також більшість субантарктичних островів і о. Кемпбелл на 50-й паралелі. *Nacella flammea* (<https://eol.org/pages/4793148>), *Nacella magellanica* утворили монофілетичну класу. Перший вид поширений на островах Вогняної Землі і Фолклендах, а *N. magellanica* на додаток у Південної Георгії і західного узбережжя Антарктичного півострова (eol.org/species/5857967). Сестринську субкласу з бутстрепом 94 утворили – *N. kerguelensis*, *N. concinna*, *N. delesserti*, *N. edgari*, *N. macquariensis*, *N. terroris*. Базальне положення у цій субкласі з бутстрепом 90 зайняла *N. kerguelensis*. Сестринська субкласа *N. concinna* (Антарктичний півострів) + *N. delesserti* (Патагонія, субантарктичні острови) з бутстрепом 100. Сестринська субкласа 3-го порядку з бутстрепом 97

утворена *N. edgari* (Патагонія, субантарктичні острови, eol.org/page/46464990), *N. macquariensis* (острови Макуорі, Херд, Принц Едуард, Кемпбелл, eol.org/page/4793099), *N. terroris* (о. Кемпбелл, новозеландська субантарктика).

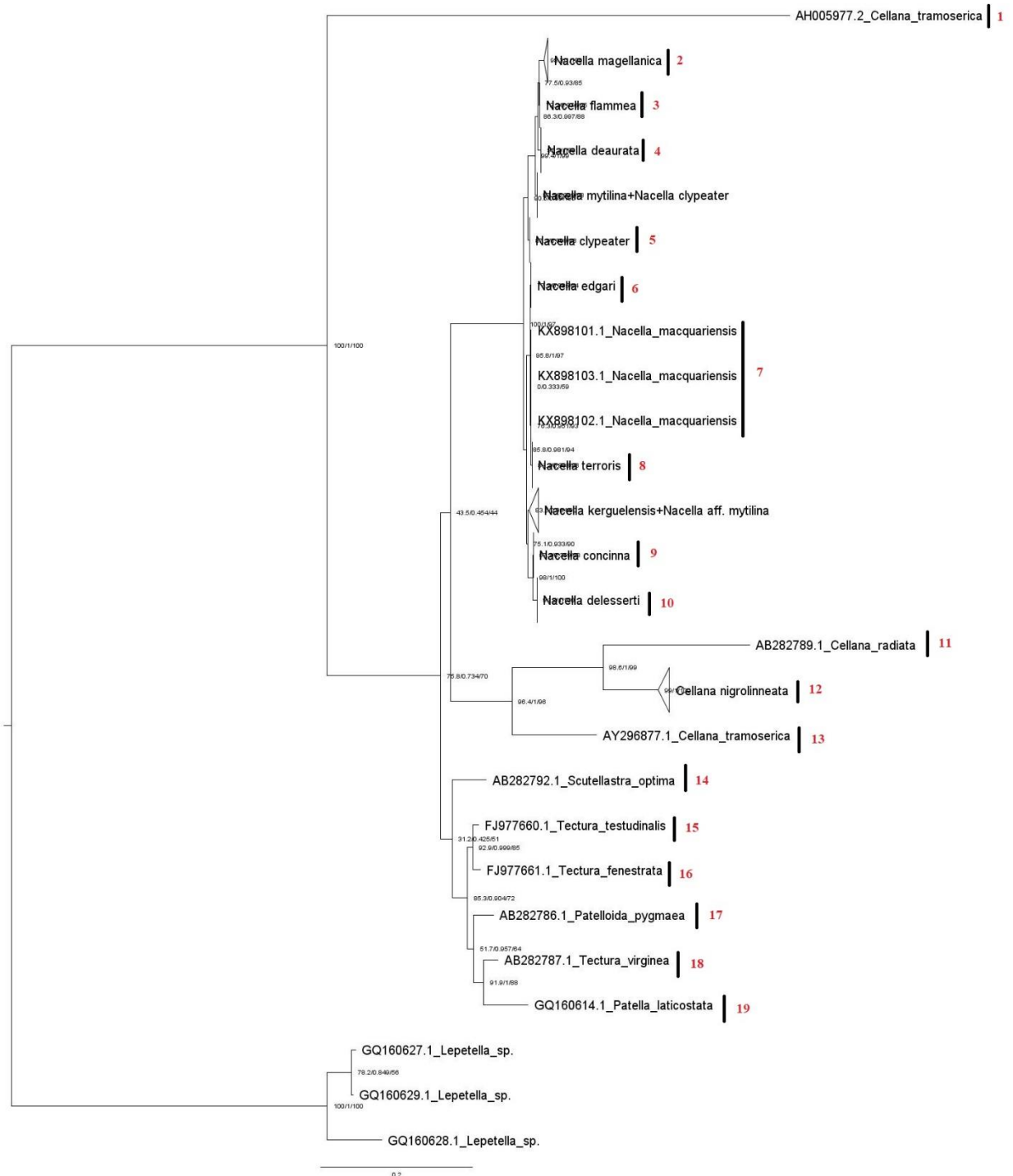


Рис. 3.31. Філогенетичне дерево Patellogastropoda за ядерним геном 28S: 1 - Indo-west Pacific: Australia; 2 - Magellanic province. Pacific Patagonia from Chiloé Island to Cape Horn. Atlantic Patagonia from Tierra del Fuego to the Río Negro Province.

Falkland/Malvinas Islands; 3 - Magellanic province. Pacific Patagonia: from Melimoyu (44°S) to Cape Horn (56°S). Atlantic Patagonia: Tierra del Fuego. Falkland/Malvinas Islands; 4 - Magellanic province. Pacific Patagonia: from Guarello Island (50°S) to Cape Horn. Atlantic Patagonia: Tierra del Fuego. Falkland/Malvinas Islands; 5 - Pacific margin of the Chilean coast between 42°S and 30°S; 6 - Kerguelen and Heard Islands; 7 - Macquarie Island; 8 - Campbell Island, sub-Antarctic New Zealand; 9 - Maritime Antarctica, including ice-free rocky ecosystems of the Antarctic Peninsula, the South Shetland Islands, South Georgia, South Orkneys, Bouvet, Elephant Island, Seymour Island, Paulet Island, Wander Island, Anvers Island and Peterman Island; 10 - Marion, Prince Edward and Crozet Islands; 11 - Indo-Pacific, mainly Australia; 12 - Western Pacific: Japan, Korea, and Philippines; 13 - Indo-west Pacific: Australia; 14 - Japan, Amami Islands and Ryukyu Islands; 15 - Greenland: West Greenland; Canada: Queen Elizabeth Islands, Baffin Island, Hudson Bay, Labrador, Quebec, New Brunswick; USA: Maine, Massachusetts, Connecticut, New York; 16 - Northeast Pacific: Alaska, Canada, USA; 17 - Distributed around Yellow Sea of Mainland China, as well as Taiwan; 18 - Northeast Atlantic and the Arctic: Azores Is, UK and Russia; 19 - Eastern Indian Ocean: Australia

3.4. Аналіз асоційованої з молюском *N. concinna* мікробіоти

3.4.1. Виділення чистих культур бактерій. Дослідження морфології клітин та деяких фізіолого-біохімічних властивостей культур

Коменсали, симбіонти, паразити і патогени використовуються у якості філогенетичних і екологічних маркерів своїх хазяїв. Кожен вид-хазяїн – це окрема екологічна ніша для різних мікроскопічних видів симбіонтів та паразитів, які характеризуються коеволюційними взаємодіями між собою. При довготривалому співіснуванні такі співмешканці еволюціонують разом із своїм хазяїном. Якщо темпи їх еволюції співставні з темпами еволюції хазяїна тоді з'являється можливість калібрування філогенетичних реконструкцій.

Виділення чистих бактеріальних культур зі зразків молюсків 2018 року

Наступним етапом наших досліджень були мікробіологічні дослідження м'яких тканин, кишкової трубки та змивів раковин трьох морфотипів *N. concinna*,

Таблиця 3.16

Генетичні відстані між видами *Nacella* за мітохондріальним геном 28S

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	<i>P. pygmaea</i>																				
2	<i>T. virginea</i>	0,067																			
3	<i>T. testudinalis</i>	0,057	0,048																		
4	<i>T. fenestrata</i>	0,058	0,051	0,015																	
5	<i>S. optima</i>	0,048	0,051	0,053	0,062																
6	<i>P. laticostata</i>	0,089	0,079	0,084	0,089	0,066															
7	<i>N. magellanica</i>	0,153	0,168	0,159	0,167	0,069	0,173														
8	<i>N. flammea</i>	0,153	0,168	0,159	0,166	0,067	0,171	0,007													
9	<i>N. mytilina</i>	0,159	0,175	0,165	0,172	0,075	0,178	0,022	0,019												
10	<i>N. clypeater</i>	0,156	0,171	0,161	0,169	0,069	0,175	0,017	0,014	0,015											
11	<i>N. deaurata</i>	0,156	0,171	0,164	0,172	0,067	0,175	0,012	0,007	0,02	0,016										
12	<i>N. kerguelensis</i>	0,163	0,177	0,17	0,176	0,082	0,182	0,035	0,033	0,018	0,023	0,034									
13	<i>N. edgari</i>	0,162	0,177	0,168	0,176	0,07	0,181	0,033	0,03	0,019	0,02	0,032	0,013								
14	<i>N. macquariensis</i>	0,159	0,174	0,165	0,172	0,077	0,178	0,03	0,028	0,018	0,02	0,029	0,013	0,002							
15	<i>N. terroris</i>	0,16	0,175	0,166	0,172	0,077	0,18	0,032	0,029	0,018	0,021	0,03	0,013	0,003	0,001						
16	<i>N. concinna</i>	0,158	0,176	0,168	0,172	0,079	0,178	0,033	0,03	0,021	0,024	0,033	0,014	0,014	0,014	0,014					
17	<i>N. delesserti</i>	0,16	0,178	0,169	0,173	0,082	0,179	0,035	0,033	0,023	0,026	0,035	0,016	0,018	0,018	0,018	0,006				
18	<i>C. radiata</i>	0,453	0,354	0,337	0,339	0,243	0,463	0,435	0,433	0,438	0,433	0,442	0,437	0,429	0,432	0,429	0,425	0,425			
19	<i>C. nigrolineata</i>	0,543	0,297	0,283	0,282	0,221	0,546	0,548	0,539	0,558	0,554	0,542	0,571	0,569	0,569	0,56	0,55	0,55	0,2		
20	<i>C. tramoserica</i>	0,401	0,397	0,383	0,393	0,383	0,415	0,387	0,384	0,387	0,389	0,379	0,389	0,392	0,382	0,382	0,387	0,392	0,484	0,435	
21	<i>Lepetella</i> sp.	0,793	0,836	0,832	0,843	0,735	0,773	0,768	0,768	0,778	0,775	0,78	0,786	0,774	0,772	0,775	0,772	0,769	1,093	0,994	0,931

***Примітка:** жовтим кольором позначено статистично незначущі генетичні відстані також донних осадів, де був зібраний лімбет

Тому для з'ясування відмінностей у видовому складі мікробіоти різних морфотипів *N. concinna* та вивчення ферментних систем бактерій як можливої передумови симбіотичних відносин між молюском та бактеріями, нами було виділено 108 чистих культур з різними морфолого-культуральними та фізіолого-біохімічними властивостями методом серійних розведень (табл. 3.17).

Таблиця 3.17.

Антарктичні чисті культури бактерій

№ п/п	Код штаму	Тип клітинної стінки та морфологія клітини	Об'єкт виділення	Місце збору зразка	Морфотип молюска	Глибина, м
1	2/6	Г ⁻	коки	акваторія Marine Point	2	15
2	4/4	Г ⁺	коки	акваторія Marine Point	1	14
3	1/1	Г ⁻	коки	акваторія о. Уругвай	2	16
4	2/4	Г ⁻	коки	акваторія Marine Point	2	15
5	6/1	Г ⁻	коки	акваторія Marine Point	3	7
6	1/7	Г ⁻	короткі палички	акваторія о. Уругвай	2	16
7	3/3	Г ⁻	тонкі палички	акваторія о. Уругвай	2	16
8	1/3	Г ⁻	короткі палички	акваторія о. Уругвай	2	16
9	1/11	Г ⁻	короткі палички	акваторія о. Уругвай	2	16
10	1/9	Г ⁻	короткі палички	акваторія о. Уругвай	2	16
11	1/12	Г ⁺	коки	акваторія о. Уругвай	2	16
12	5/5	Г ⁻	тонкі палички	Stella Creek	1	1
13	1/2	Г ⁻	тонкі палички	акваторія о. Уругвай	2	16
14	2/9	Г ⁻	коки	акваторія Marine Point	2	15
15	7/1	Г ⁻	дуже короткі палички	Skua Creek	3	8

16	3/2	Г ⁻	короткі палички	акваторія о. Уругвай	2	16
17	2/11	Г ⁻	дрібні коки	акваторія Marine Point	2	15
18	5/1	Г ⁺	коки	Stella Creek	1	1
19	5/2	Г ⁺	коки	Stella Creek	1	1
20	5/6	Г ⁺	коки	Stella Creek	1	1
21	2/7	Г ⁻	коки	акваторія Marine Point	2	15
22	2/12	Г ⁻	тонкі палички	акваторія Marine Point	2	15
23	3/1	Г ⁻	тонкі палички	акваторія о. Уругвай	2	16
24	3/4	Г ⁻	тонкі палички	акваторія о. Уругвай	2	16
25	5/3	Г ⁺	палички	Stella Creek	1	1
26	4/2	Г ⁺	коки	акваторія Marine Point	1	14
27	5/4	Г ⁺	коки	Stella Creek	1	1
28	12b/1	Г ⁻	дрібні тонкі палички	Skua Creek	1	6
29	12b/2	Г ⁻	тонкі палички	Skua Creek	1	6
30	12b/3	Г ⁻	коки	Skua Creek	1	6
31	12b/4	Г ⁻	тонкі палички	Skua Creek	1	6
32	5b/1	Г ⁻	короткі палички	Meek Channel	2	1
33	5b/2	Г ⁺	тонкі короткі палички	Meek Channel	2	1
34	2b/1	Г ⁻	тонкі дрібні палички	Meek Channel	2	8
35	2b/2	Г ⁻	короткі палички	Meek Channel	2	8
36	2b/3	Г ⁻	дрібні тонкі палички	Meek Channel	2	8
37	2b/4	Г ⁻	дрібні тонкі палички	Meek Channel	2	8
38	2b/5	Г ⁻	тонкі довгі палички	Meek Channel	2	8
39	10c/1	Г ⁻	короткі товсті палички	Акваторія Marina Point	3	10
40	1a/1	Г ⁻	дрібні коки	Meek Channel, Grotto	донні осади	8
41	10c/3	Г ⁻	тонкі дрібні палички	Акваторія Marina Point, скеля	3	10
42	9c/1	Г ⁻	коки	Meek Channel, Grotto	2	8
43	9c/2	Г ⁻	дрібні коки	Meek Channel, Grotto	2	8
44	9c/3	Г ⁻	коки	Meek Channel, Grotto	2	8

45	15c/1	Г ⁺	коки	Skua Creek	1	3
46	15c/2	Г ⁻	дрібні короткі палички	Skua Creek	1	3
47	15c/3	Г ⁺	крупні коки	Skua Creek	1	3
48	15c/4	Г ⁻	крупні коки	Skua Creek	1	3
49	13c/1	Г ⁺	коки	Skua Creek	2	6
50	13c/2	Г ⁻	короткі палички	Skua Creek	2	6
51	13c/3	Г ⁺	тонкі дрібні палички	Skua Creek	2	6
52	8b/2	Г ⁻	короткі палички	Meek Channel, Grotto	2	8
53	8b/3	Г ⁻	дрібні тонкі короткі палички	Meek Channel, Grotto	2	8
54	8b/1	Г ⁻	дрібні палички	Meek Channel, Grotto	2	8
55	16b/1	Г ⁻	тонкі дрібні палички	Skua Creek	1	5
56	8a/1	Г ⁺	короткі палички	Skua Creek	донні осади	10
57	8a/2	Г ⁻	палички	Skua Creek	донні осади	10
58	7a/7	Г ⁻	тонкі палички	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments 3)	
59	17b/1	Г ⁻	коки	Skua Creek	1	3
60	17b/2	Г ⁺	коки	Skua Creek	1	3
61	17b/3	Г ⁻	дрібні палички	Skua Creek	1	3
62	17a/5	Г ⁻	тонкі палички	Stella Creek, Галіндез	донні осади	10
63	6b/2	Г ⁻	короткі дрібні палички	Meek Channel		10
64	13b/1	Г ⁺	коки	Stella Creek, труба	3	3
65	13b/2	Г ⁻	палички	Stella Creek, труба	3	3
66	13b/3	Г ⁻	тонкі дрібні палички	Stella Creek, труба	3	3
67	7b/1	Г ⁺	коки	акваторія Marina Point	3	10
68	10b/1	Г ⁻	палички	акваторія Marina Point, скеля	3	5
69	10b/2	Г ⁺	коки	акваторія Marina Point, скеля	3	5
70	3b/1	Г ⁺	коки	акваторія Pitt Island	2	12
71	9b/1	Г ⁺	довгі палички	акваторія Marina Point, скеля	1	1

72	13c/4	Г ⁺	коки	Skua Creek	2	6
73	13c/5	Г ⁻	короткі палички	Skua Creek	2	6
74	13c/6	Г ⁻	тонкі палички	Skua Creek	2	6
75	16c/1	Г ⁻	тонкі палички	Stella Creek	3	1
76	16c/2	Г ⁻	короткі дрібні палички	Stella Creek	3	1
77	5c/1	Г ⁻	дрібні палички	Meek Channel	2	5
78	5c/2	Г ⁻	дрібні коки	Meek Channel	2	5
79	6c/1	Г ⁻	короткі дрібні палички	Meek Channel	1	1
80	6c/2	Г ⁻	дрібні коки	Meek Channel	1	1
81	4c/2	Г ⁺	коки		3	1
82	4c/3	Г ⁺	коки		3	1
83	4c/1	Г ⁻	коки		3	1
84	3a/1	Г ⁻	тонкі палички	Meek Channel	донні осади	10
85	3a/2	Г ⁻	дрібні палички	Meek Channel	донні осади	10
86	3a/3	Г ⁻	короткі палички	Meek Channel	донні осади	10
87	16a/1	Г ⁻	короткі дрібні палички	Stella Creek, Tumb	донні осади	5
88	16a/2	Г ⁻	тонкі довгі палички	Stella Creek, Tumb	донні осади	5
89	6a/4	Г ⁻	дрібні коки	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments 2)	
90	6a/5	Г ⁻	дрібні коки	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments 2)	
91	16b/5	Г ⁻	короткі палички	Skua Creek	1	5
92	5a/4	Г ⁻	короткі тонкі палички	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments 1)	
93	6a/7	Г ⁻	коки	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments 2)	
94	7a/3	Г ⁻	короткі палички	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments 3)	
95	7a/4	Г ⁻	короткі дрібні палички	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments	

					3)	
96	7a/2	Г ⁻	дрібні палички	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments 3)	
97	6a/3	Г ⁻	крупні коки	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments 2)	
98	16b/6	Г ⁺	коки	Skua Creek	1	5
99	5a/1	Г ⁻	тонкі дрібні палички	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments 1)	
100	5a/2	Г ⁻	коки	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма)	донні осади (sediments 1)	
101	10a/4	Г ⁻	коки	Skua Creek	донні осади	6
102	12a/1	Г ⁺	коки	Stella Creek	донні осади	10
103	15a/1	Г ⁻	короткі тонкі палички	Stella Creek	донні осади	10
104	17a/3	Г ⁻	товсті палички	Stella Creek, Галіндез	донні осади	10
105	10a/1	Г ⁻	коки	Skua Creek	донні осади	6
106	10a/3	Г ⁻	дуже дрібні короткі палички	Skua Creek	донні осади	6
107	10a/5	Г ⁻	тонкі дрібні палички	Skua Creek	донні осади	6
108	1a/2	Г ⁻	короткі палички	Meek Channel, Grotto	донні осади	8

Для визначення оптимальної температури росту асоційованих з молюском мікроорганізмів, культивування здійснювати при різних температурах +4°C, +22°C і +26°C. У дослідження температурного оптимуму були взяті бактерії двох зразків молюсків: зразок 1 – збір 07.04.2018, акваторія острова Уругвай, глибина 16 м, доставка при -20°C; зразок 2 – акваторія мису Marina Point, глибина 15 м, доставка при +6 °C. Методом серійних розведень було встановлено кількість життєздатних клітин мікроорганізмів, асоційованих з *N. concinna* (індекс колонієутворюючих одиниць КУО). В таблиці 3.18 наведено вміст клітин у 1 мл

суспензії гомогенізованих молюсків у сольовому розчині (у висівах з різних розведень і при різних температурах культивування).

Таблиця 3.18

Кількість клітин в 1 мл суспензії молюсків у сольовому розчині

Температура культивування, °C	Розведення	Кількість КУО/мл суспензії (зразок № 1, доставка при -20°C)	Кількість КУО/мл суспензії (зразок № 2, доставка при +6°C)
+4°C	10 ⁻⁵	2*10 ⁶	Відсутній ріст
	10 ⁻⁴	7,2*10 ⁶	Відсутній ріст
	10 ⁻³	16,4*10 ⁵	6,4*10 ⁵
	10 ⁻²	Суцільний ріст	3,44*10 ⁵
+22°C	10 ⁻⁵	16*10 ⁶	4*10 ⁶
	10 ⁻⁴	12*10 ⁵	2,4*10 ⁶
	10 ⁻³	14,6*10 ⁵	2,4*10 ⁵
+26°C	10 ⁻⁵	6*10 ⁶	Відсутній ріст
	10 ⁻⁴	6,4*10 ⁶	8*10 ⁵
	10 ⁻³	20,8*10 ⁵	6*10 ⁵
	10 ⁻²	Суцільний ріст	3,72*10 ⁵

Для розрахунку кількості клітин в суспензії розраховували середній показник з усіх варіантів експерименту. Він складав в наших дослідах для зразка №1: 3,6*10⁶ КУО/мл (при температурі культивування +4°C), 6,2*10⁶ КУО/мл (при +22°C) та 4,8*10⁶ КУО/мл (при +26°C).

Індекс колонієутворюючих одиниць для зразка №2: 4,9*10⁵ КУО/мл (при +4°C), 2,2*10⁶ КУО/мл (при +22°C) і 5,9*10⁵ КУО/мл (при +26°C).

Таким чином кількість КУО/мл суспензії гомогенізованих молюсків у сольовому розчині у зразку №1 (доставка при -20°C) на порядок більша, а саме – 10⁶, ніж у зразку №2 (доставка при +6°C), де індекс становить 10⁵.

Відмічено найінтенсивніший ріст мікроорганізмів, що асоційовані з молюском, при кімнатній температурі +22°C.

Порівнюючи зразки №1 і №2, помічено, що пігментовані форми КУО спостерігалися в зразку №1 (доставка при -20°C). Зразок №1 характеризувався

тим, що КУО при температурі культивування +22°C мали виражені агаролітичні властивості (колонії мікроорганізмів сильно «впадали» в агар). При +4°C цей ефект був менш вираженим, а при температурі культивування +26°C – зовсім відсутнім.

Методом серійних розведень при температурі культивування +4°C враховано індекс колонієутворюючих одиниць з м'яких тканин молюсків *N. concinna* та донних осади, де був зібраний лімбет. В таблиці 3.19 наведено середній показник КУО/мл з усіх варіантів розведення з різних місць збору зразків.

Таблиця 3.19

Середній індекс колонієутворюючих одиниць з різних локацій збору зразків при температурі культивування +4°C

№ п/п	Зразок	Місце збору	Глибина, м	Дата збору	Умови доставки, t °C	Середнє значення КУО/мл
1	зразок №1, м'які тканини молюска, 1,53 г, морфотип 2	акваторія о. Уругвай	16	07.04.2018	-20° C	3,6*10 ⁶
2	зразок №2, м'які тканини молюска, морфотип 2	акваторія мису Marina Point	15		+6° C	4,9*10 ⁵
3	зразок №5, м'які тканини молюска, 2,43 г, морфотип 1	протока Stella Creek	1	09.04.2018	-20° C	2,1*10 ⁶
4	1а, донні осади	протока Meek Channel, Grotto Is.	8	09.03.2019	+6° C	2,7*10 ⁶
5	2а, донні осади	протока Meek Channel	5	09.03.2019	+6° C	1,7*10 ⁶
6	3а, донні осади	протока Meek Channel	10	09.03.2019	+6° C	7,2*10 ⁵
7	4а, донні осади	протока Meek Channel, Grotto Is.	8	02.04.2019	+3°C	1,1*10 ⁷
8	5а, донні осади	Спуск 5, Scau, Winter (яма), sediments 1			+3°C	2,3*10 ⁵

9	6а, донні осади	Спуск 5, Scua, Winter (яма), sediments 2			+3°C	2,7*10 ⁵
10	7а, донні осади	Спуск 5, Scua, Winter (яма), sediments 3			+3°C	1,9*10 ⁵
11	8а, донні осади	Skua Creek	10		+3°C	1,5*10 ⁴
12	9а, донні осади	протока Meek Channel	32		+3°C	7,9*10 ⁶
13	10а, донні осади	Skua Creek	6		+3°C	5,5*10 ⁵
14	11а, донні осади	Skua Creek	6		+3°C	3,3*10 ⁶
15	12а, донні осади	протока Stella Creek	10		+3°C	2,8*10 ⁶
16	13а, донні осади	Sc	5	05.04.2019	+3°C	9,96*10 ⁶
17	14а, донні осади	протока Stella Creek, Jetti	5		+3°C	6,3*10 ⁴
18	15а, донні осади	протока Stella Creek	10		+3°C	1,3*10 ³
19	16а, донні осади	протока Stella Creek, Tumb	5		+3°C	6,4*10 ⁵
20	17а, донні осади	протока Stella Creek, Galindez	10		+3°C	2,9*10 ⁵

Таким чином середній індекс колонієутворюючих одиниць з м'яких тканин *N. concinna* при температурі культивування +4°C становив 2,1*10⁶ КУО/мл суспензії гомогенізованих молюсків у сольовому розчині. Середній індекс колонієутворюючих одиниць з донних осадів становив 2,5*10⁶ КУО/мл суспензії осадів у сольовому розчині.

Методом серійних розведень при температурі культивування +22°C враховано індекс колонієутворюючих одиниць зі зразків молюсків (різних морфотипів), їх кишкових трубок та донних осадів, де були зібрані екземпляри *N. concinna*. В таблиці 3.20 наведено середній показник КУО/мл з усіх варіантів розведення з різних місць збору зразків.

Таблиця 3.20

Середній індекс колонієутворюючих одиниць з різних локацій збору зразків при температурі культивування +22°C

№ п/п	Зразок	Місце збору	Глибина, м	Дата збору	Умови доставки, t °C	Середнє значення КУО/мл
1	3b, м'які тканини молюска, 0,2 г (морфотип 2)	акваторія Pit Island	12	01.03.2019	+3°C	7,04*10 ⁵
2	7b, м'які тканини молюска, 0,82 г (морфотип 3)	акваторія Marina Point, скеля	10		+3°C	1,4*10 ⁵
3	6b, м'які тканини молюска, 2,23 г	МК, Meek Channel	10	09.03.2019	+3°C	0,9*10 ⁴
4	8b, м'які тканини молюска, 1,4 г (морфотип 2)	Meek Channel, Grotto	8	02.04.2019	+3°C	1,67*10 ⁴
5	10b, м'які тканини молюска, 1,1 г (морфо тип 3)	акваторія Marina Point, скеля	5		+3°C	4,48*10 ⁴
6	12b, м'які тканини молюска, 2,68 г (морфотип 1)	Skua Creek	6	03.03.2019	+3°C	1,6*10 ⁴
7	17b, м'які тканини молюска, 1,39 г (морфо тип 1)	Skua Creek	3		+3°C	7,5*10 ⁴
8	3с, кишкова трубка молюска, 2,12 г (морфотип 2)		6		+3°C	1,08*10 ⁵
9	5с, кишкова трубка молюска, 0,99 г (морфотип 2)	Meek Channel	5	09.03.2019	+3°C	3,99*10 ⁴
10	9с, кишкова	Meek	8	02.04.2019	+3°C	0,76*10 ⁴

	трубка молюска, 2,2 г (морфо тип 2)	Channel, Grotto				
11	10с, кишкова трубка молюска, 0,83 г (морфо тип 3)	акваторія Marina Point, скеля	10		+3°C	4,68*10 ⁵
12	13с, кишкова трубка молюска, 1,63 г (морфотип 2)	Skua Creek	6		+3°C	5,85*10 ⁴
13	15с, кишкова трубка молюска, 1,86 г (морфотип 2)	Skua Creek	3		+3°C	0,97*10 ⁴
14	16с, кишкова трубка молюска, 0,9 г (морфотип 3)	Stella Creek	1		+3°C	9,57*10 ⁴

Середній індекс колонієутворюючих одиниць з м'яких тканин *N. concinna* при температурі культивування +22°C становив $1,44 \cdot 10^5$ КУО/мл суспензії гомогенізованих молюсків у сольовому розчині. Середній індекс колонієутворюючих одиниць з кишкових трубок *N. concinna* при температурі культивування +22°C становив $1,13 \cdot 10^5$ КУО/мл суспензії гомогенізованих кишкових трубок у сольовому розчині.

При температурі доставки зразків -20°C (2018 рік) більша кількість мікроорганізмів виживала (КУО/г), однак різноманіття морфології колоній бактерій було біднішим, ніж при температурі доставки зразків +3°C (2019 рік).

Зі зразків 2018 року виділено 27 чистих культур бактерій. В таблиці 3.21 наведено результати досліджень за кольором КУО, типом клітинної стінки, морфологією клітин та наявністю оксидази та агаролітичних ферментів.

Таким чином, зі зразків 2018 року було ізольовано 44% безбарвних (12 штамів) та 18,5 % пігментованих бактерій (5 штамів) бежевого, блідо-рожевого, червоного, яскраво-жовтого та яскраво-помаранчевого кольорів.

Більшість чистих культур мали грамнегативний тип клітинної стінки 70,4 % (19 штамів), а інші – 29,6 % були грампозитивними (8 штамів). Серед виділених культур 51,85 % (14 штамів) були коками, а інші 48,15 % (13 штамів) – паличками. Отже, серед ізольованих бактерій більшість становила грамнегативні палички 44,4 % (12 штамів із 27), а також грамнегативні коки 25,93 % (7 штамів), грампозитивні коки 25,93 % (7 штамів) та грампозитивні палички 3,7 % (1 штам).

Штами проявляли агаролітичну та оксидазну активність. 46,15 % (12 штамів) мали агаролітичні ферменти з 26 досліджених штамів, а у 53,85 % (14 штамів) ці ферменти були відсутні. Агаролітична активність була лише у непігментованих безбарвних чистих культур.

Більшість штамів 92,59 % (25 штамів із 27) мали оксидазу, але у двох чистих культур оксидазна активність не виявлялася.

Виділення чистих бактеріальних культур зі зразків молюсків 2019 року

Зі зразків 2019 року виділено 81 чисту культуру бактерій. Колонії виділених чистих культур були різні за кольором (рис. 3.32, рис. 3.33), розміром, консистенцією, поверхнею, формою, краєм (Berezkina et al., 2019).



Рис. 3.32. Фотографії чашок Петрі з різноманіттям КУО



Рис. 3.33. Фотографії чашок Петрі з бактеріальними культурами

В таблиці 3.22 наведено результати досліджень за кольором КУО, типом клітинної стінки, морфологією клітин та наявністю оксидази та агаролітичних ферментів.

Таким чином, зі зразків 2019 року було ізольовано лише 1 безбарвний штам, а інші виділені бактерії були пігментованими бежевого, світло-бежевого, персикового, персиково-рожевого, рожевого, молочного, помаранчевого та жовтого кольорів. Різноманіття колоній бактерій було не лише за кольором, а й за прозорістю, розміром, краєм, формою, консистенцією та поверхнею колоній.

Більшість чистих культур мали грамнегативний тип клітинної стінки 79 % (64 штами), а інші – 21 % були грампозитивними (17 штамів). Серед виділених культур 37 % (30 штамів) були коками, а інші 63 % (51 штама) – паличками. Отже, серед ізольованих бактерій більшість становила грамнегативні палички 58 % (47

штамів), а також грамнегативні коки 21 % (17 штамів), грампозитивні коки 16 % (13 штамів) та грампозитивні палички 5 % (4 штами).

Штами проявляли агаролітичну та оксидазну активність. У більшості виділених штамів були відсутні агаролітичні ферменти (74 штами, 91 %), лише у 9 % чистих культур були присутні агаролітичні ферменти (7 штамів).

Більшість штамів 91 % (63 штами з 69 досліджених штамів) мали оксидазу, але у 9 % чистих культур (6 штамів) оксидазна активність не виявлялася (Berezkina et al., 2020).

Для більш детального вивчення морфології бактеріальних клітин та структури біоплівки, використовували конфокальну мікроскопію (рис. 3.34, 3.35, 3.36). Штам 17b/1, ізолюваний з м'яких тканин *N. concinna* з протоки Skua Creek (глибина 3 м), характеризувався щільною клітинною стінкою, яка сильно заломлює світло.

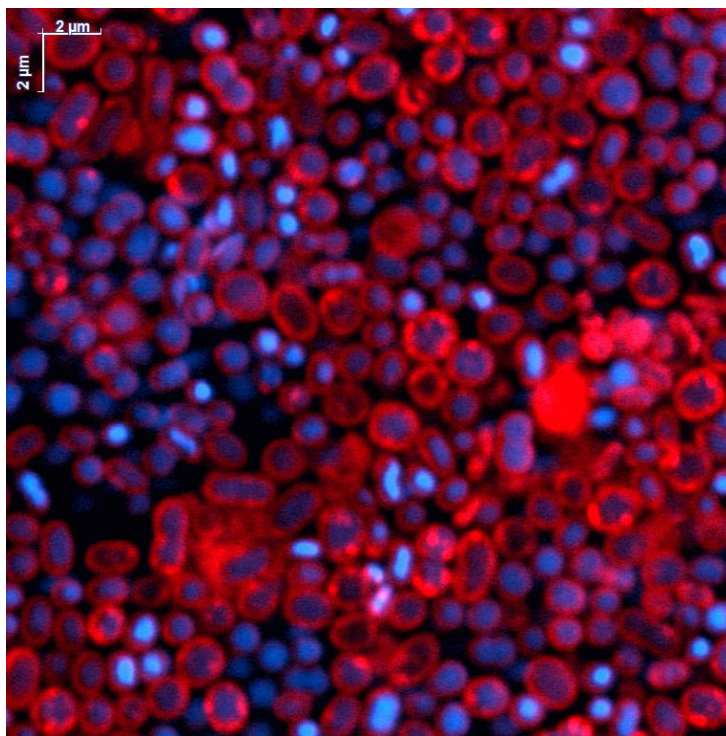


Рис. 3.34. Штам 13с/6 з кишечника *N. concinna* (Skua Creek Strait, глибина 6 м)

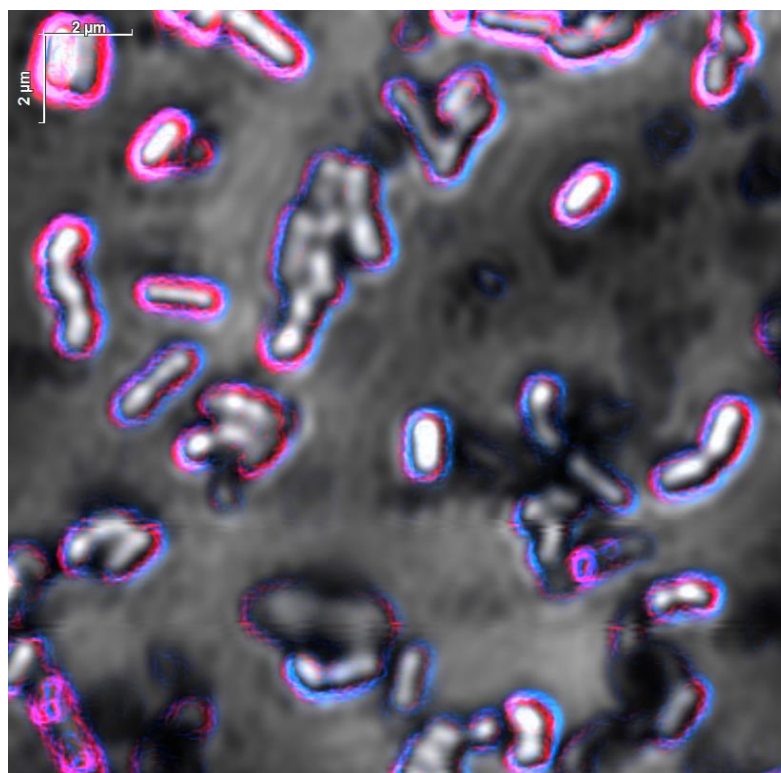


Рис. 3.35. Штам 17b/1 з м'яких тканин *N. concinna* (протока Skua Creek, глибина 3 м)

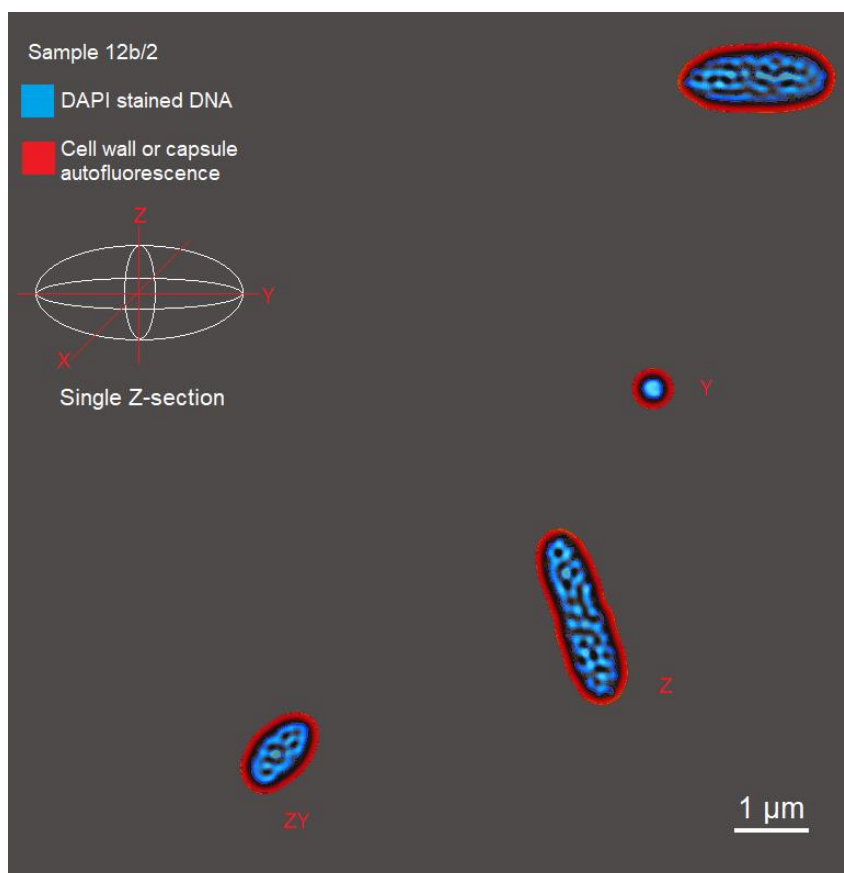


Рис. 3.36. Реконструкція штаму 12b/2 (м'які тканини молюска, Skua Creek Strait, глибина 6 м,) у різних площинах для морфометричного аналізу

3.4.2. Дослідження жирнокислотного складу антарктичних штамів

Методом газорідинної хроматографії на хроматографі Agilent 1200 досліджено жирнокислотний склад трьох штамів: 3b/1 з акваторії о. Пітт (глибина 12 м, з м'яких тканин молюска *N. concinna*), 13c/3 з протоки Skua Creek (глибина 6 м, з кишкової трубки молюска) та 15c/1 з протоки Skua Creek (глибина 3 м, з кишкової трубки молюска). В антарктичних штамів виявили наступні жирні кислоти: октадекадієнову, нонадеканову, ейкозанову, деканову, пентадеканову, гексадеценнову, октадеканову, октадеценнову, гептодеценнову, гептодеканову, тридеканову та інші жирні кислоти (рис. 3.37, 3.38, 3.39).

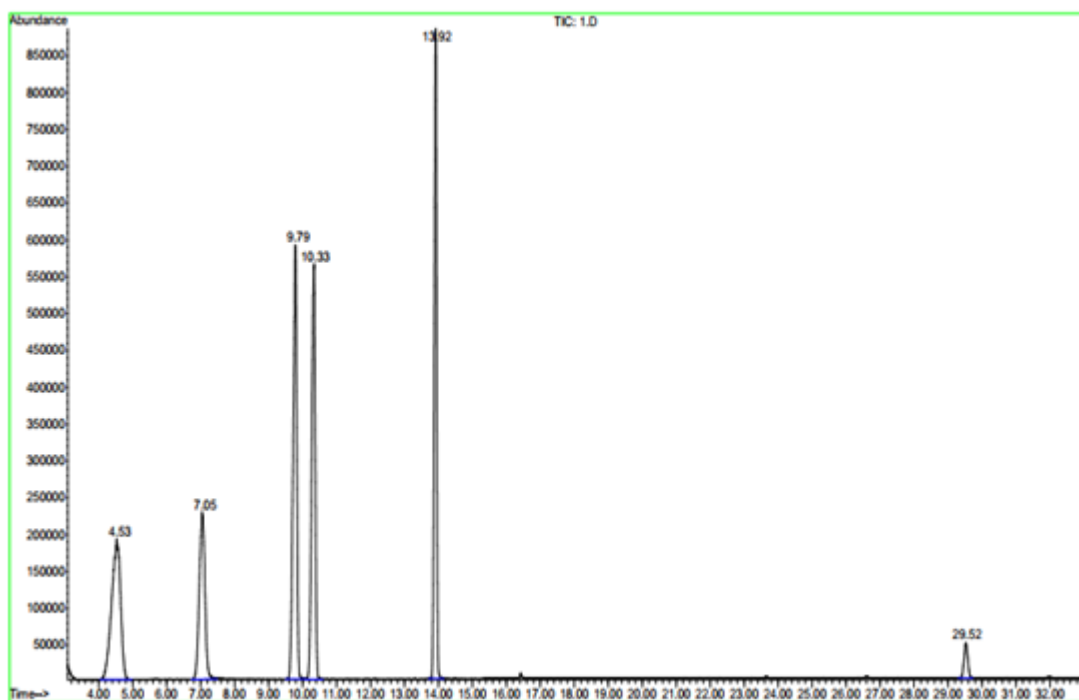


Рис. 3.37. Хроматограма штама 3b/1, виділеного з м'яких тканин *N. concinna* (акваторія острова Пітт, глибина 12 м)

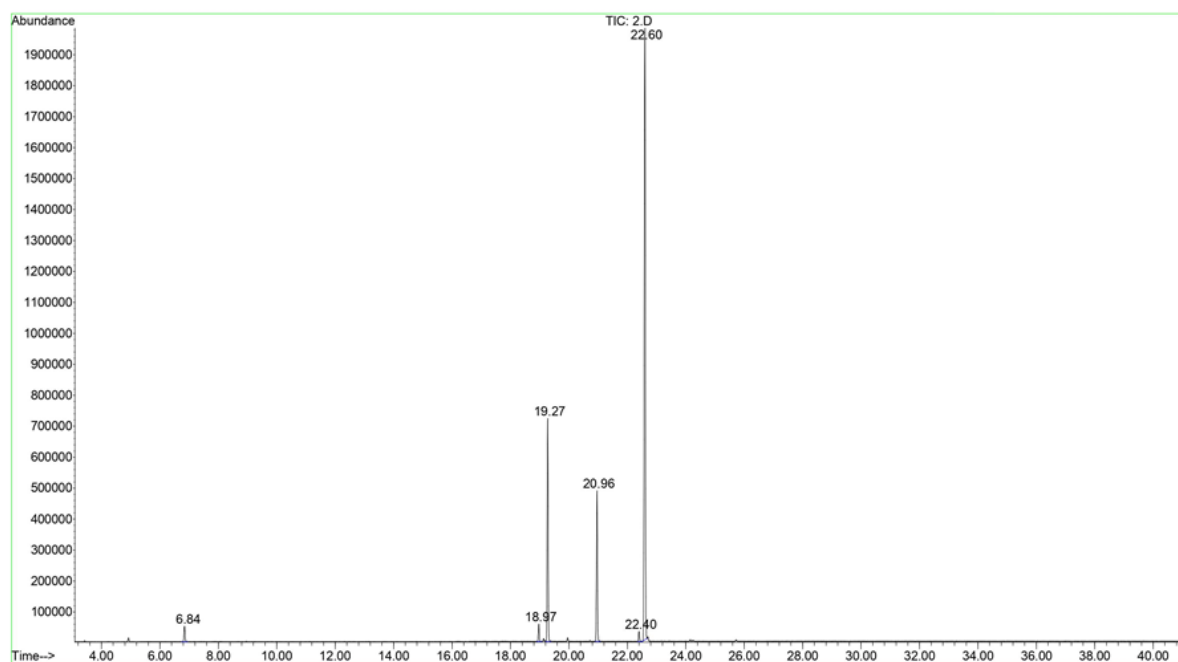


Рис. 3.38. Хроматограма штама 13с/3, виділеного з кишкової трубки *N. concinna* (протока Skua Creek, глибина 6 м)

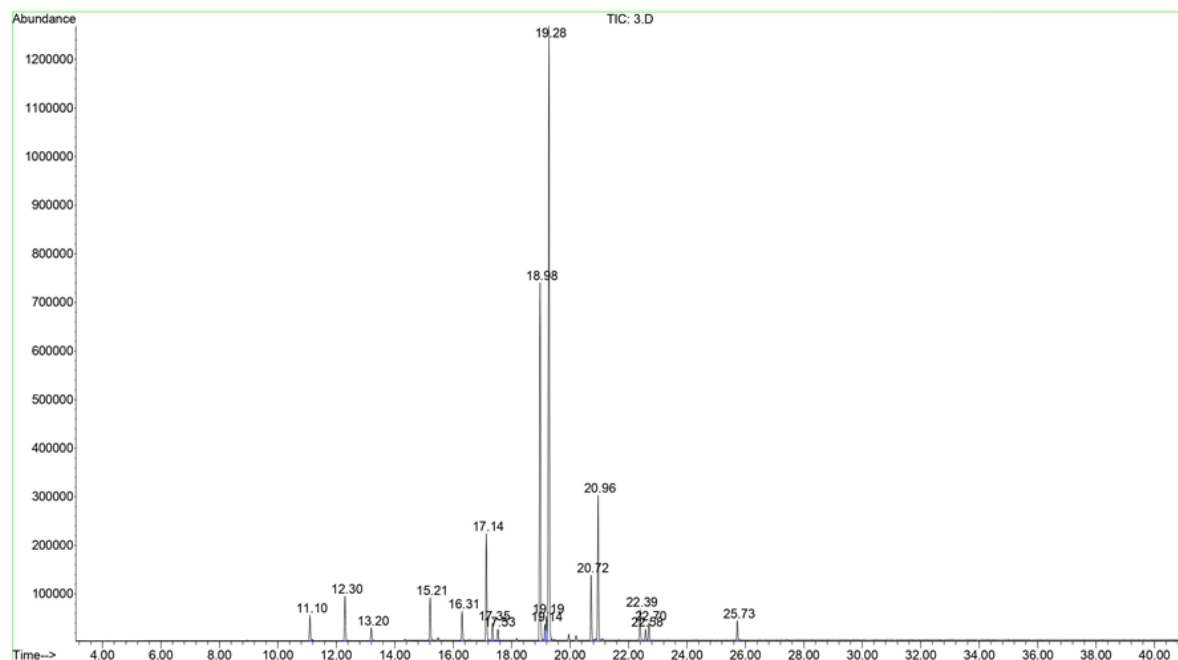


Рис. 3.39. Хроматограма штама 15с/1, виділеного з кишкової трубки *N. concinna* (протока Skua Creek, глибина 3 м)

3.4.3. Дослідження протеолітичних та гліколітичних ферментів антарктичних чистих культур

Виділені антарктичні чисті культури досліджували на здатність продукувати протеолітичні та гліколітичні ферменти, як можливої передумови для симбіотичних відносин між хазяїном та мікробіотою. Гліколітичні ферменти, а саме – α -L-рамнозидазну активність асоційованих з молюском бактерій, було досліджено з метою ймовірної участі мікробіоти кишківника молюсків у перетравлюванні біоплівки (конгломерат мікроорганізмів), що входить в харчовий раціон лімпету. L-рамноза міститься в складі багатьох бактеріальних полісахаридів, зокрема геміцелюлозі, яка в свою чергу входить до складу клітинної стінки бактерій.

Як відомо, в Антарктиці відбуваються сезонні стоки органічної речовини та мікроелементів з узбережжя островів. При таненні снігу та льоду в весняно-літній період з водними потоками потрапляють в акваторію не лише екскременти тварин, а й залишки мертвих тварин, багаті на білки та кератиновмісні речовини такі, як пір'я, хутро, кігті, дзьоби тощо. Ці речовини накопичуються на дні та ймовірно можуть бути залучені за допомогою асоційованої з кишківником мікробіоти (за рахунок протеолітичної та кератинолітичної активностей бактерій) у раціон молюсків.

На рис. 3.40 зображена карта, виконана у програмі ArcGIS 10.6.1, з місцями відбору зразків молюсків та донних осадів, з яких були ізольовані чисті бактеріальні культури для скринінгу на наявність протеолітичних та гліколітичних ферментів.

Із культуральних рідин 34 виділених штамів 76,4 % (26 чистих бактеріальних культур) виявили кератинолітичну активність (KerA) (Berezkina et al., 2020). На середовищі з мальтозою і желатином у якості субстрату, а також на середовищі з додаванням пір'я, як основного джерела вуглецю і азоту, рівень КерА спостерігався від 1 до 4 U (рис. 3.41, рис. 3.42).

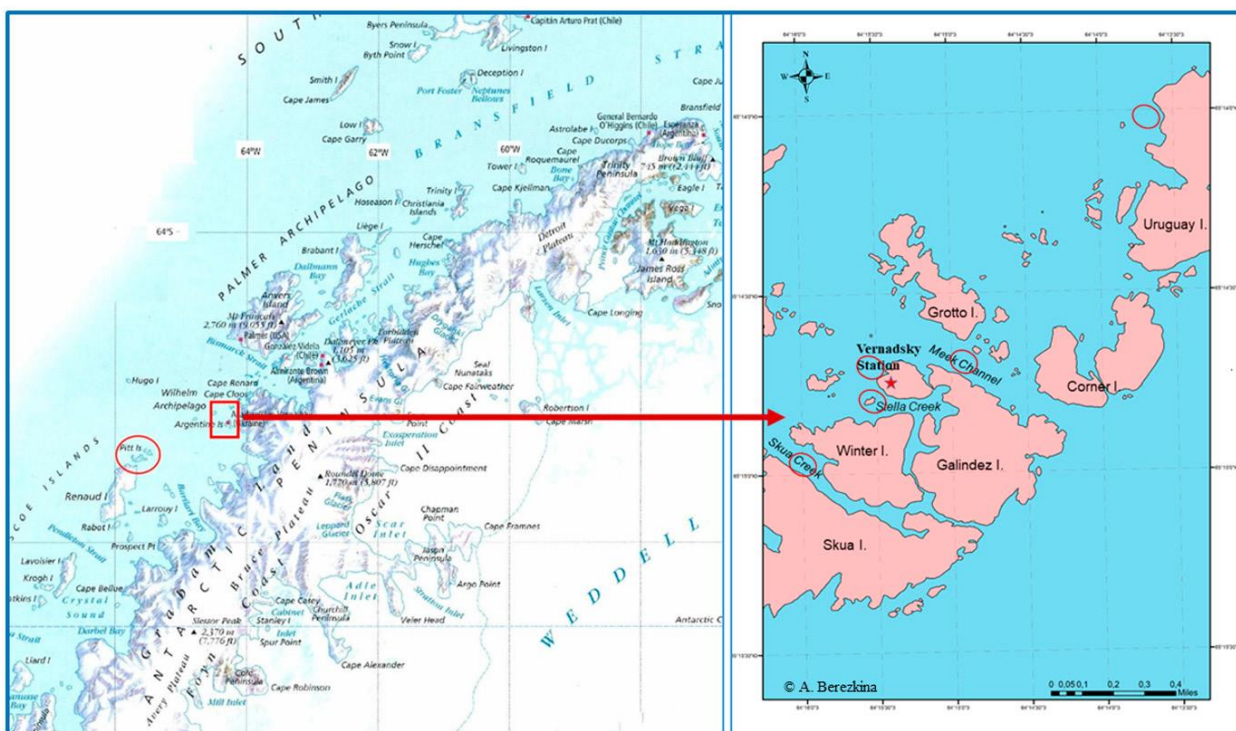


Рис. 3.40. Карта місць відбору зразків молюсків *N. concinna* (праворуч карта виконана у програмі ArcGIS 10.6.1) (Berezkina et al., 2020)

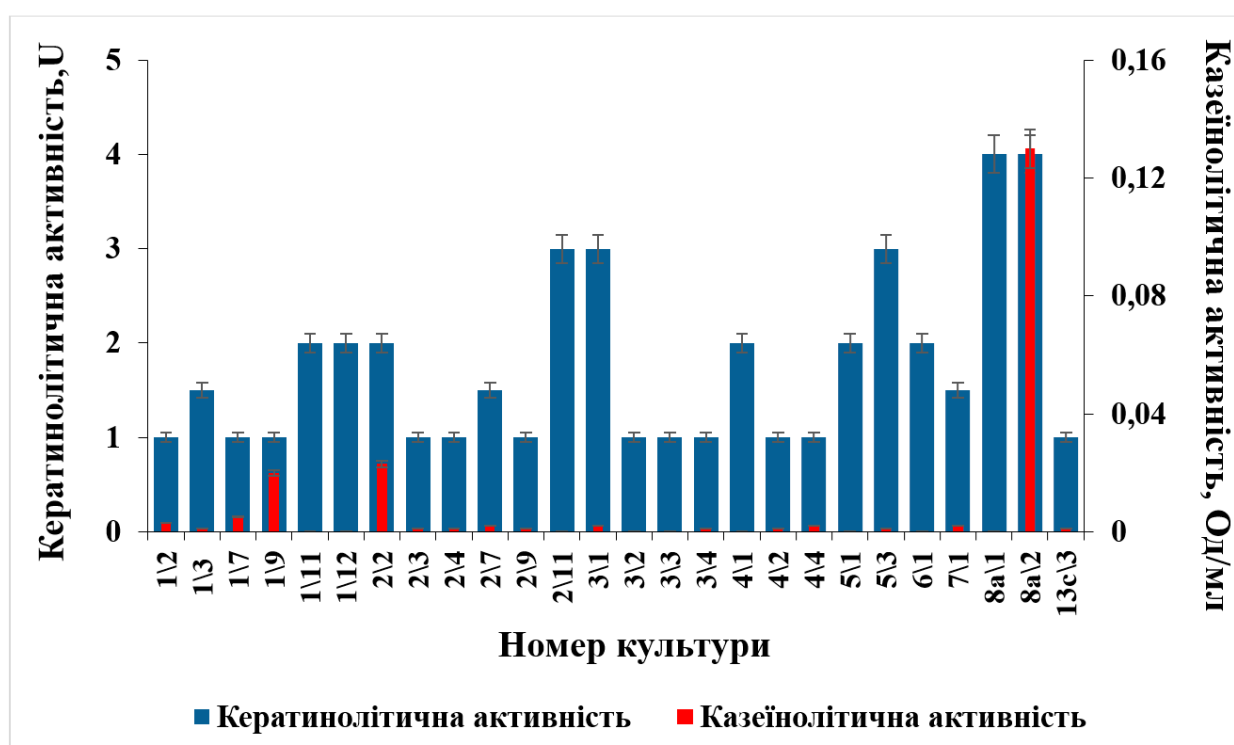


Рис. 3.41. Рівень кератинолітичної та казеїнолітичної активностей при вирощуванні антарктичних штамів на поживному середовищі з додаванням мальтози та желатину

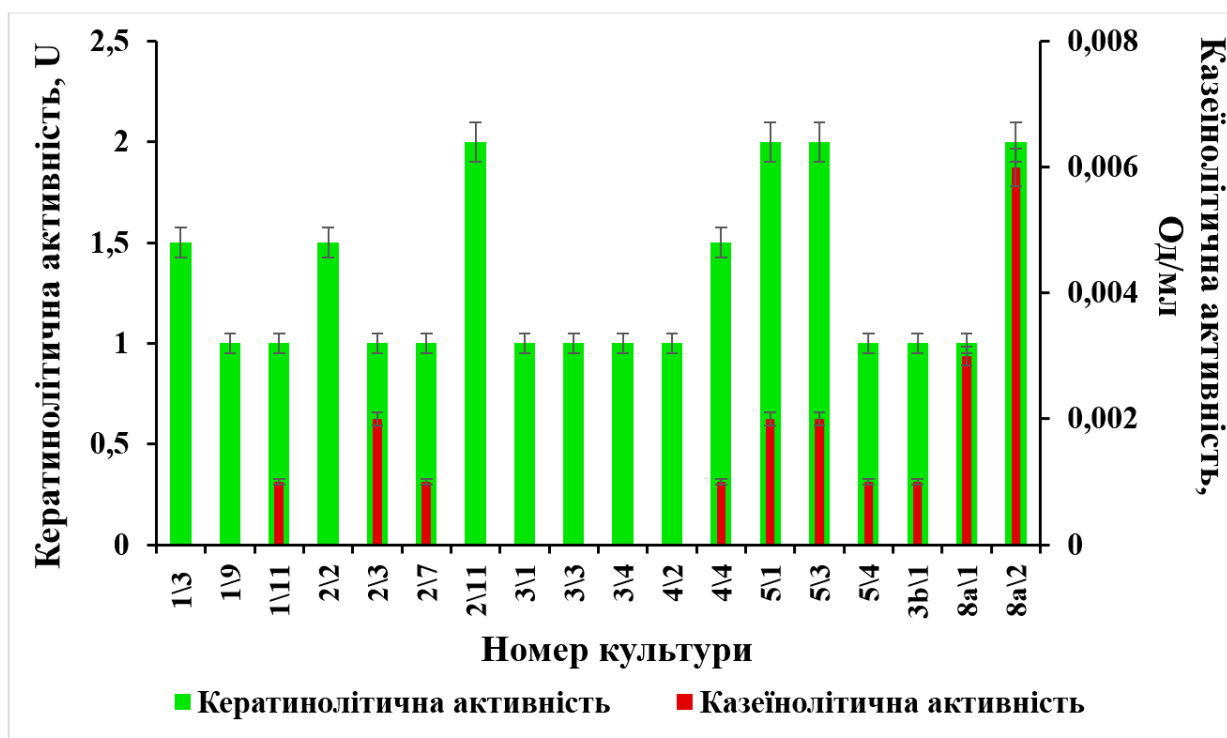


Рис. 3.42. Рівень кератинолітичної та казеїнолітичної активностей при вирощуванні антарктичних штамів на поживному середовищі з додаванням пір'я

В культуральних рідинах культур 8a/1 та 8a/2 спостерігалася найвища кератинолітична активність – 4 U (рис. 3.41). Штами були виділені з донних осадів з глибини 10 м з протоки Skua Creek. Кератинолітична активність в 3 U була виявлена у культур 2/11, 3/1, 5/3, які ізолювані з різних джерел: 2/11 – з м'яких тканин *N. concinna* акваторії мису Marina Point (глибина 15 м), 3/1 – зі змиву раковини лімпета з акваторії біля острову Уругвай (глибина 16 м), 5/3 – з м'яких тканин *N. concinna* з протоки Stella Creek (глибина 1 м). В межах 1-2 U проявляли активність культуральні рідини інших штамів. Синтез кератиназ не завжди співпадає з виявом штамом загальної протеолітичної (казеїнолітичної) активності (штами 1/11, 1/12, 2/11, 3/1, 4/1, 5/1, 5/3, 6/1 на середовищі ПС 1). У культури 8a/2 спостерігався найвищий рівень казеїнолітичної активності (рис. 3.41). Рівень протеолітичної активності був мінімальним при вирощуванні бактерій на ПС 2 (рис. 3.42).

Скринінг чистих культур на присутність α -L-рамнозидазної активності проводили, вирощуючи в пробірках на середовищі з потенційним індуктором

синтезу ферменту – L-рамнозою. Жоден досліджений штам не проявляв α -L-рамнозидазної активності ні на першу, ні на третю, ні на четверту добу культивування при різних температурах (20°C та 28°C). Відмітили здатність продукувати α -L-рамнозидазу лише на другу добу культивування при 20°C. Серед 34 чистих культур у 8 штамів (23,5 %) була виявлена активність α -L-рамнозидази від 0,0025 до 0,11 од/мг білка, а у культуральній рідині штамів 1/9 і 5/4 вона була слідовою (рис. 3.43).

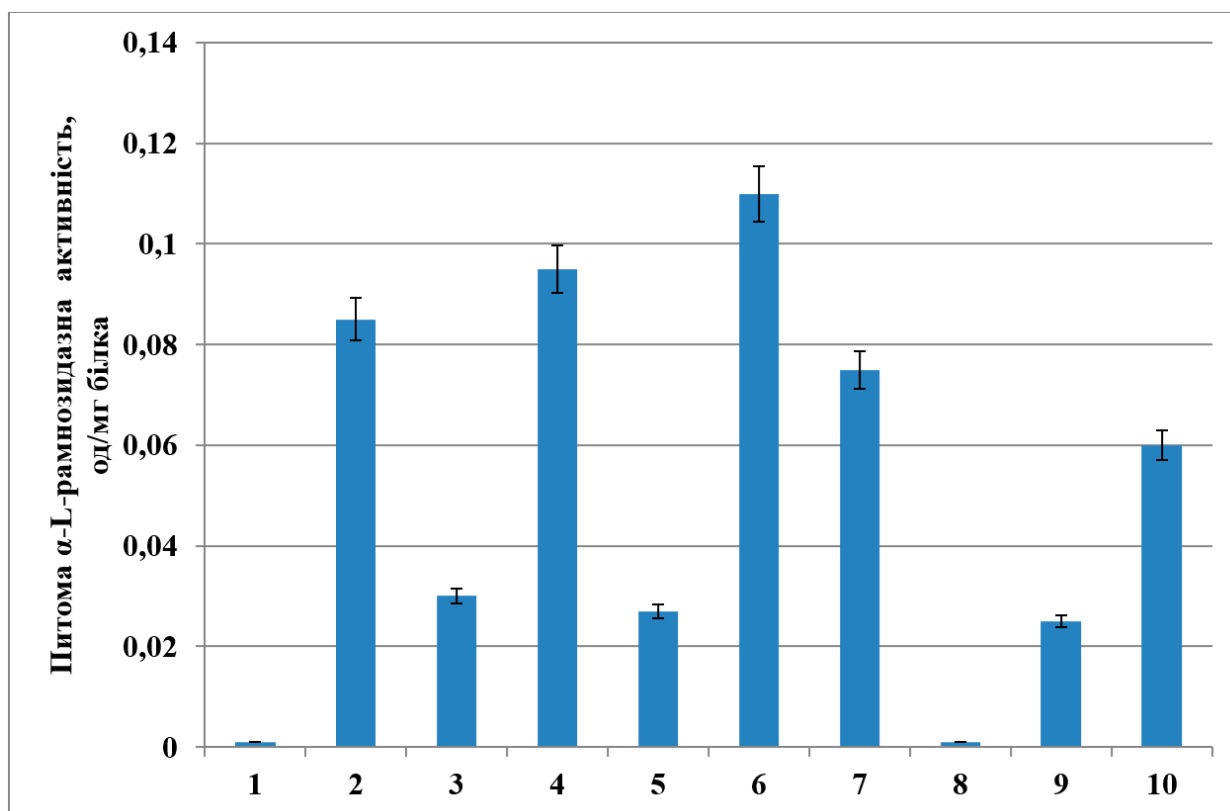


Рис. 3.43. Питома α -L-рамнозидазна активність в супернатантах культуральних рідин штамів, які вирощували в пробірках протягом двох діб. Примітка: 1-1/9, 2-1/11, 3-2/11, 4-3/1, 5-3/2, 6-3/4, 7-5/1, 8-5/4, 9-6/1, 10-7/1

В культуральній рідині штамів 3/4 і 3/1 була виявлена максимальна α -L-рамнозидазна активність (0,11 та 0,095 од/мг білка відповідно). Культури були виділені зі змиву раковини молюска з акваторії острова Уругвай (глибина 16 м). Штам 1/11 мав α -L-рамнозидазну активність у значенні 0.085 од/мг білка. Культура була ізольована з м'яких тканин *N. concinna* з акваторії острова Уругвай

(глибина 16 м). Разом з тим штам 3/2 мав низьку α -L-рамнозидазну активність (0.027 од/мг білка), хоча був виділений таким же методом, як й інші штами. В культуральних рідинах штамів 5/1 і 7/1, які ізольовані з м'яких тканин молюсків з проток Stella Creek та Skua Creek, глибина 1 м та 8 м відповідно, виявили меншу активність (0,075 та 0,06 од/мг білка відповідно). А найменша α -L-рамнозидазна активність спостерігалась у культур 2/11 (0,03 од/мг білка) і 6/1 (0,025 од/мг білка), які були виділені з м'яких тканин *N. concinna* з акваторії біля мису Marina Point (глибина 4 м і 7 м відповідно).

В одержаних результатах не прослідковується кореляція між значеннями протеолітичної та α -L-рамнозидазної активності з джерелом виділення бактеріальних штамів. Досліджені культури не мали одночасно кератинолітичну і α -L-рамнозидазну активність, окрім штаму 2/11, який проявляв одночасно обидві активності. Отже наші дослідження вперше показали наявність позаклітинної кератинолітичної та α -L-рамнозидазної активності у бактерій, виділених з антарктичного ліммета *N. concinna* (Варбанець et al., 2020).

Для більш детального вивчення ензиматичної активності антарктичних штамів, була досліджена більша кількість чистих культур на наявність протеолітичних ферментів. 21 бактеріальний ізолят з різних джерел був досліджений, а саме – з кишкової трубки молюска (ізоляти 9с/3, 10с/1, 5с/2, 13с/6, 15с/4, 15с/1, 5с/1, 6с/1, 16с/1, 16с/2) та м'яких тканин *N. concinna* (ізоляти 12b/2, 10b/2, 17b/1, 2b/5, 13b/1, 6b/2, 8b/3, 16b/2, 2b/3, 8b/2, 7b/1) (табл. 3.22, додаток 1).

За фарбуванням по Граму більшість досліджених штамів були грамнегативними паличками (12b/2, 10с/1, 2b/5, 13с/6, 6b/2, 8b/3, 2b/3, 8b/2, 5с/1, 6с/1, 16с/1, 16с/2) та коками (9с/3, 5с/2, 17b/1, 15с/4, 16b/2), крім чотирьох з них – 10b/2, 13b/1, 15с/1, 7b/1, які були грампозитивними коками (табл. 3.22, додаток 1). Культивування культур проводили за температури 19° С і 28° С на різних видах рідкого середовища. Більшість чистих культур (17 штамів) синтезувала ферменти з кератинолітичною активністю при температурі 28° С, ніж за 19° С (рис. 3.44).

На середовищі ПС1 у 13 культур спостерігалось продукування кератинолітичних ензимів. Для ізолятів 6с/1, 2b/5, 2b/3, 13b/1 при культивуванні

на ПС1 був характерний більш високий рівень кератинолітичної активності (9 Од/мл, 8 Од/мл, 5,5 Од/мл, 5 Од/мл, відповідно). В той час штами 5с/2, 7b/1, 9с/3, 10b/2, 10с/1, 12b/2, 15с/1, 16с/2, 17b/1 (табл. 3.22, додаток 1) мали активність в межах 1-3 Од/мл (рис. 3.43). При внесенні солі у поживне середовище 1 (ПС 3) спостерігався синтез ензимів з більш високою (у 1,5-2 рази) кератинолітичною активністю порівняно з культивуванням на ПС 1 (культури 8b/2 (1 Од/мл), 12b/2 (2 Од/мл), 15с/1 (3 Од/мл) і 16с/2 (3 Од/мл)), або ж активність не змінювалась (штам 17b/1) (табл. 3.22, додаток 1).

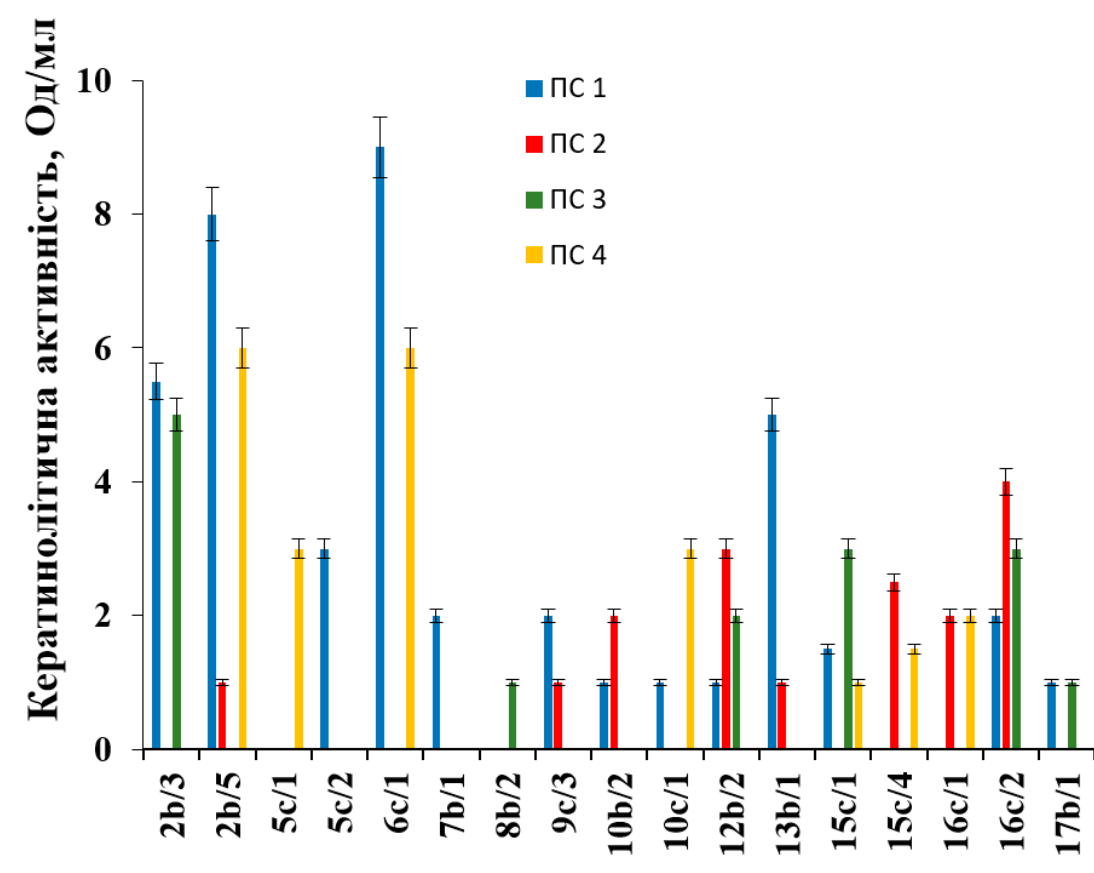


Рис. 3.44. Кератинолітична активність бактеріальних ізолятів при вирощуванні на різних поживних середовищах при температурі культивування 28° С

На поживному середовищі 2 (ПС 2), яке містило куряче пір'я, як єдине джерело азоту і вуглецю, а також як індуктор синтезу кератиназ, у 8 штамів (2b/5, 9с/3, 10b/2, 12b/2, 13b/1, 15с/4, 16с/1, 16с/2) (табл. 3.22, додаток 1) рівень активності складав від 1 до 4 Од/мл. Додавання солі до середовища ПС 2 (ПС 4)

стало причиною збільшення рівня кератинолітичної активності бактеріальних ізолятів. У штама 2b/5 рівень активності зріс на 5 Од/мл (порівняно з активністю на ПС 2), а у культур 5с/1, 6с/1, 10с/1 і 15с/1 – від 0 Од/мл на ПС2 до 3, 6, 3 і 1 Од/мл – на ПС 4, відповідно (рис. 3.44; табл. 3.22, додаток 1).

Лише у 11 культур спостерігалася здатність синтезувати ензими з кератинолітичною активністю при вирощуванні культур на чотирьох поживних середовищах за температури 19° С (рис. 3.45), але рівень активності ензимів був вищим, ніж при температурі 28° С. Штам 16b/2 на ПС 4 продукував ензим з кератинолітичною активністю в 15 Од/мл, культури 9с/3 на ПС 1 і 17b/1 на ПС 2 – в 14 Од/мл, штами 10b/2 і 5с/1 на ПС 2 – на рівні 8 і 7 Од/мл, відповідно. Всі інші штами синтезували ферменти з активністю від 1 до 4 Од/мл.

Таким чином, більшість штамів синтезує ферменти з кератинолітичною активністю при температурі 28° С, але рівень цієї активності значно вищий при температурі 19° С.

При дослідженні казеїнолітичної активності виявилося, що лише 5 штамів мають значний рівень активності (2b/5, 12b/2, 13с/6, 15с/1, 16с/1) (табл. 3.22, додаток 1) від 0,011 до 0,074 Од/мл при температурі культивування 28° С (рис. 3.46).

Значно більша кількість культур (10 штамів) продукувала ензими з казеїнолітичною активністю від 0,01 до 0,082 Од/мл при температурі 19° С (рис. 3.47).

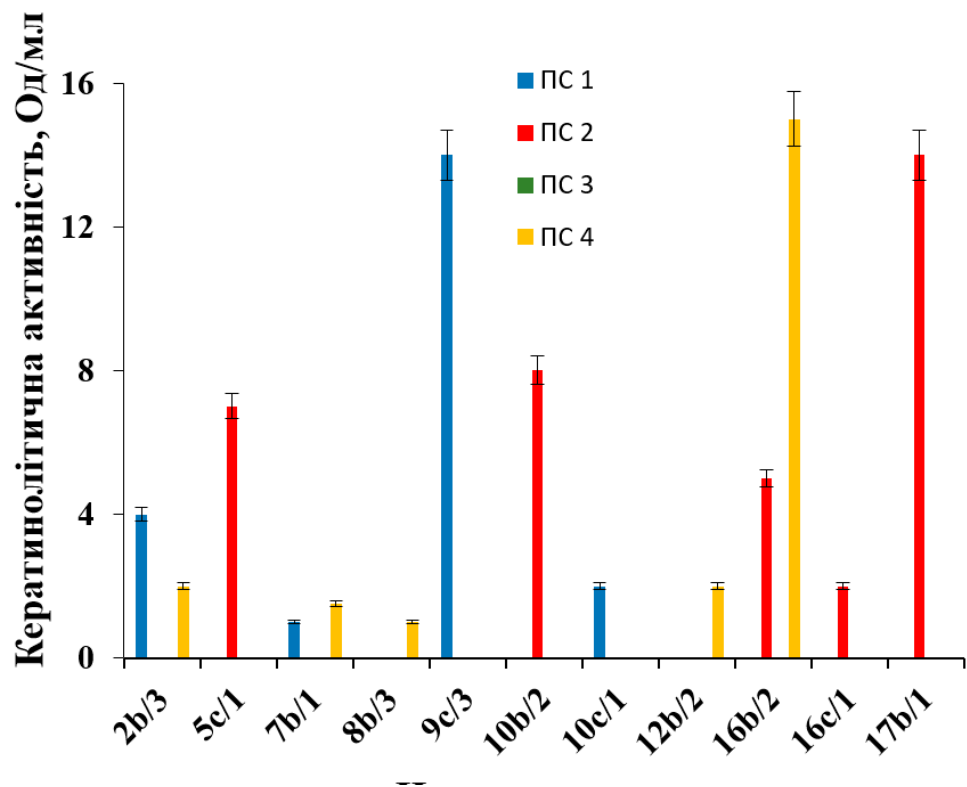


Рис. 3.45. Кератинолітична активність бактеріальних ізолятів при вирощуванні на різних поживних середовищах при температурі культивування 19° С

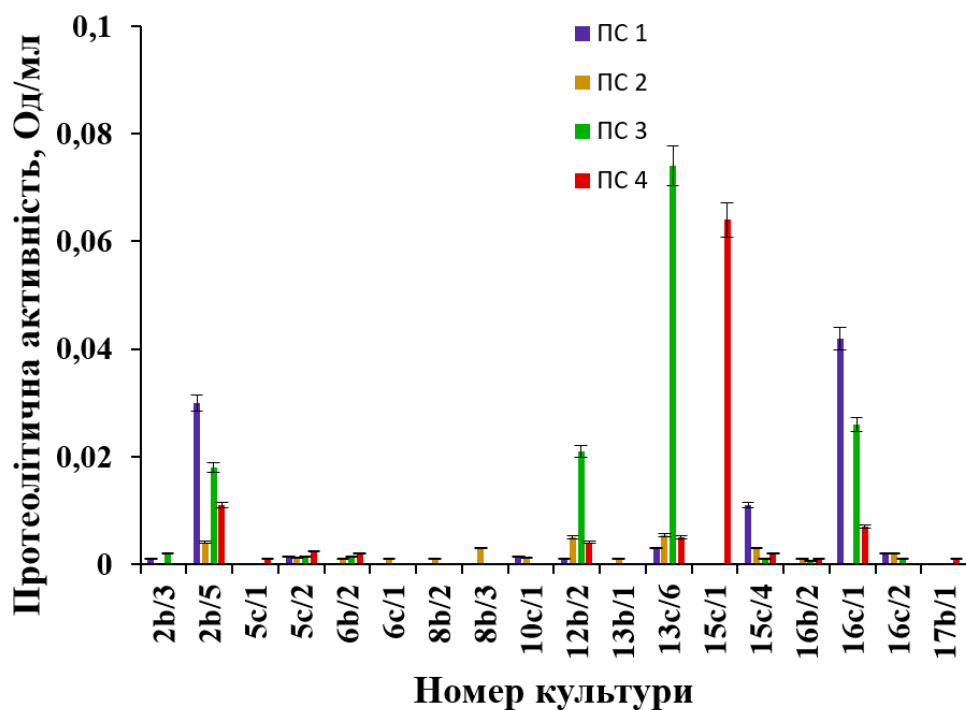


Рис. 3.46. Загальна протеолітична активність штамів при вирощуванні на різних поживних середовищах при температурі культивування 28° С

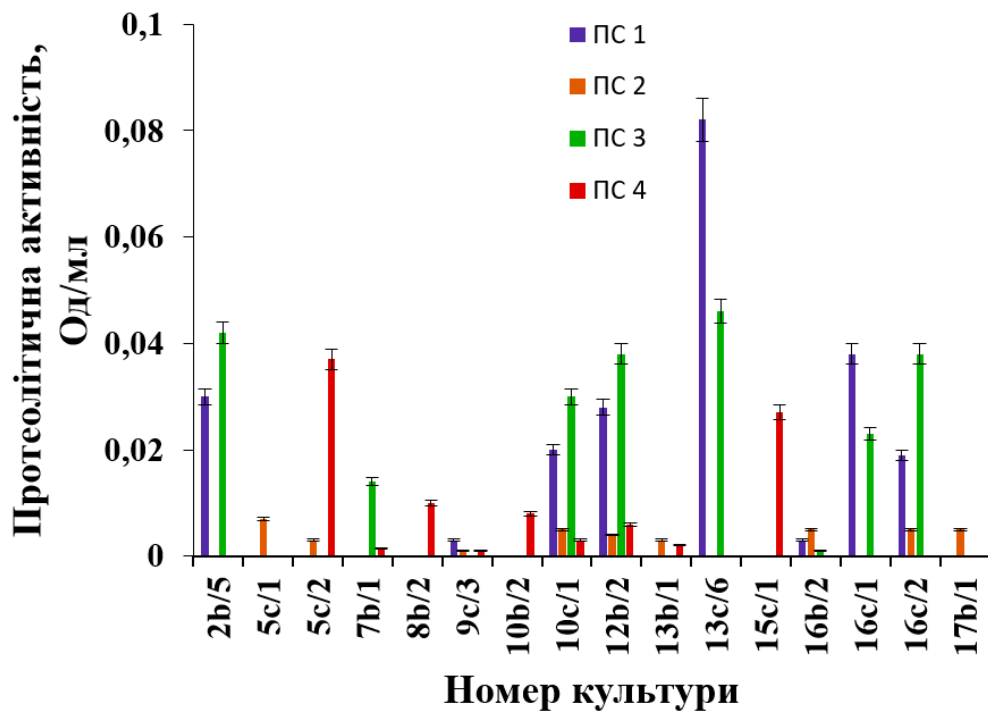


Рис. 3.47. Загальна протеолітична активність культур при культивуванні на різних поживних середовищах при температурі 19° С

Результати досліджень вказують на те, що не завжди високий рівень загальної протеолітичної (казеїнолітичної) активності співпадає зі значним рівнем кератинолітичної активності. Наприклад, штам 13c/6 при культивуванні на ПС 3 при температурі 28° С мав казеїнолітичну активність на рівні 0,074 Од/мл, але в той же час штам не здатний був синтезувати ферменти з кератинолітичною активністю (рис. 3.44, 3.46).

Отже, найвищий рівень казеїнолітичної активності мали культури 13c/6 і 15c/1 з кишечника молюсків при температурі як 19° С (0,082 Од/мл і 0,027 Од/мл, відповідно), так і при 28° С (0,074 Од/мл і 0,064 Од/мл, відповідно).

При температурі культивування 19° С найвищий рівень кератинолітичної активності був у штамів 16b/2, 17b/1 і 10b/2 (15 Од/мл, 14 Од/мл і 8 Од/мл, відповідно), які виділені з м'яких тканин, і у культур 9c/3, 5c/1 (14 Од/мл, 7 Од/мл, відповідно), виділені з кишкової трубки молюсків (табл. 3.22, додаток 1). Штами 6c/1 і 2b/5, виділені з кишкової трубки і м'яких тканин молюсків, при температурі 28° С проявляли кератинолітичну активність в 9 Од/мл і 8 Од/мл, відповідно.

Таким чином, не було встановлено певної залежності між рівнем активності культур і джерелом їх виділення (м'які тканини та кишечник молюсків). Найбільш часто кератинолітична активність була виявлена у штамів, ізольованих з молюсків протоки Skua Creek (13c/6, 15c/1, 16b/2 і 17b/1) та каналу Meek (2b/5, 5c/1, 6c/1, 9c/3) (табл. 3.22, додаток 1). Здатність до синтезу ензимів з певною активністю пов'язана з особливостями самих штамів (Авдіюк et al., 2020).

3.4.4. Молекулярно-генетичні дослідження антарктичних штамів, асоційованих з *Nacella concinna*

Для з'ясування систематичного положення виділених із молюсків штамів, отримали молекулярно-генетичні результати досліджень 29 чистих культур з протоки Stella Creek, Skua Creek, акваторії Marina Point, Meek Channel та акваторії о. Уругвай.

Ампліфіковано фрагменти гену *16S* зі штамів, ізольованих з м'яких тканин, кишкової трубки та змивів раковини молюсків. На рис. 3.48 представлено знімок результату перевірки якості ампліфікованих фрагментів у агарозному гелі на електрофорезі.

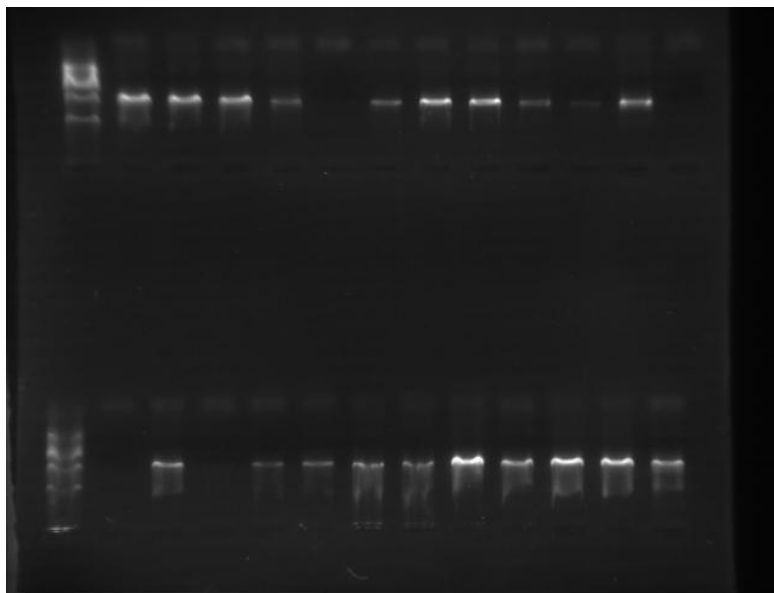


Рис. 3.48. Оцінка якості ампліфікації гену *16S* гелелектрофорезом у агарозному гелі

Для фрагменту гену 16S всіх 29 штамів було побудовано 7 філогенетичних дерев за родовою приналежністю у програмі FigTree v1.4.4. (рис. 3.49, рис. 3.50, рис. 3.51, рис. 3.52, рис. 3.53, рис. 3.54, рис. 3.55, рис. 3.56, рис. 3.57).



Рис. 3.49. Філогенетичне дерево з ізольованим антарктичним штамом, що належить до роду *Psychromonas*

Реконструкція філогенетичного дерева за фрагментом гену 16S для досліджуваного штаму 8b/2, показало його об'єднання зі штамми *Psychromonas arctica*, що були виділені з морської води біля Шпіцбергену та морського льоду одного з 4-х постійно холодних фіордів Шпіцбергену (Північний Льодовитий океан) у монофілетичну кладу з бутстрепом 95 (*Corallincola luteus* як аутгрупа). Рід *Psychromonas* належить до родини Psychromonadaceae, порядок Alteromonadales. Виділяються бактерії цього роду з морських вод, морського льоду або солоних водних середовищ. Клітини є грамнегативними паличками або овальної форми, неспороутворюючі, рухливі або нерухомі, факультативні анаероби.

Досліджений нами штам 8b/2 разом з іншими штамми *Psychromonas arctica* формує фонофілетичну кладу зі штамми *Psychromonas aquatilis*,

виділеним з морської води біля острова Кінг-Джордж (Fildes Bay, Chilean Antarctica) з бутстрепом 94,5. Ця клада в свою чергу об'єднується в найбільшу з бутстрепом 96,6, до складу якої входять клادي з різними штамми, зокрема *Psychromonas hadalis* – облигатно п'єзофільна бактерія із донних осадів Японської западини на глибині 7542 м; *Psychromonas agarivorans* з донних осадів біля Нагасакі (Японія); *Psychromonas japonica* з донних осадів біля Кагосіми, Японія (228-250 м); *Psychromonas antarctica* з донного осаду озера з високою солоністю біля острова Братіна (Bratina Island), на шельфовому льодовику Мак-Мердо (McMurdo) та ін. штамми.

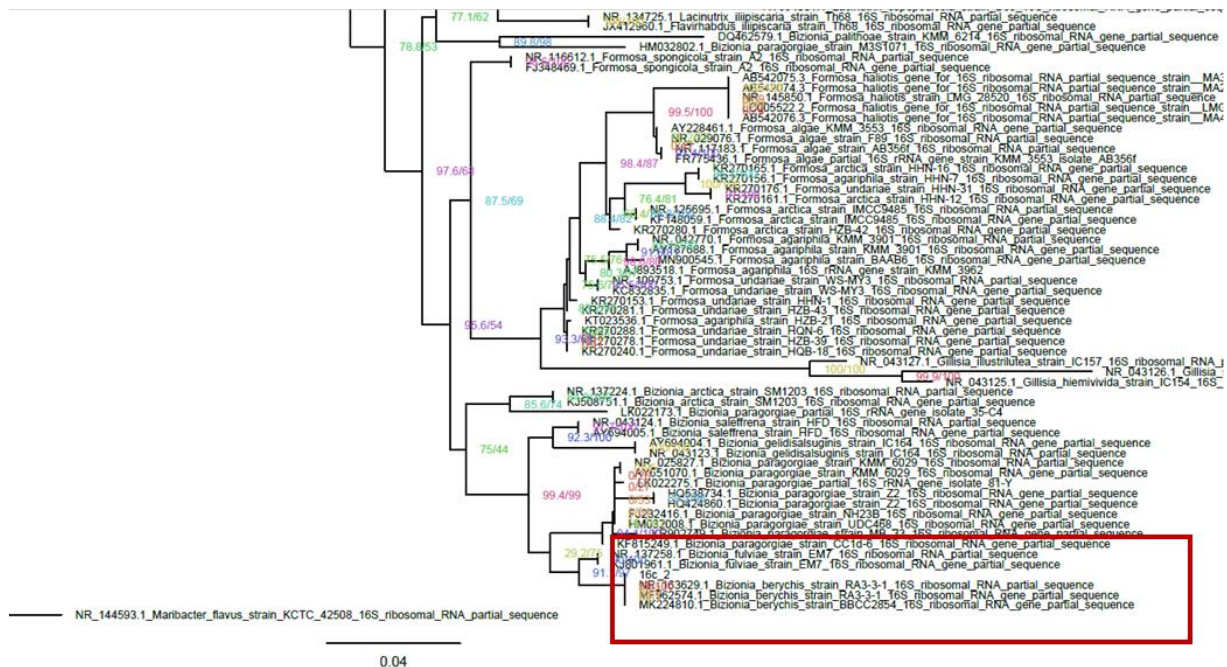


Рис. 3.50. Філогенетичне дерево з ізольованим антарктичним штамом роду *Bizionia*

Штам 16с/2 належить до роду *Bizionia* (родина Flavobacteriaceae), об'єднавшись у монофілетичну клада з бутстрепом 91 зі штамми *Bizionia berychis*, які були виділені з риби *Beryx splendens*, виловленого з північної частини Тихого океану (*Maribacter flavus* як аутгрупа). Ця клада в свою чергу групується з більшою з низьким бутстрепом 29, до якої входить монофілетична клада (бутстреп 90) зі штамом *Bizionia fulviae*, ізольованого з кишкового тракту

морського молюска *Fulvia mutica* (West Sea in Korea). Також до цієї монофілетичної групи з низьким бутстрепом входить штам *Bizionia paragorgiae* з м'якого коралу *Paragorgia arborea* в Охотському морі. Всі вищезгадані види утворюють сестринську кладу (бутстреп 99,4) зі штамми *Bizionia gelidisalsuginis* та *Bizionia saleffrena* з морського льоду Vestfold Hills, East Antarctica. Рід *Bizionia* належить до родини Flavobacteriaceae, порядку Flavobacteriales, типу Bacteroidetes. Бактерії виділяються з морських середовищ. Клітини є грамнегативними паличками, строги аероби. Є продуцентами каротиноїдних пігментів.

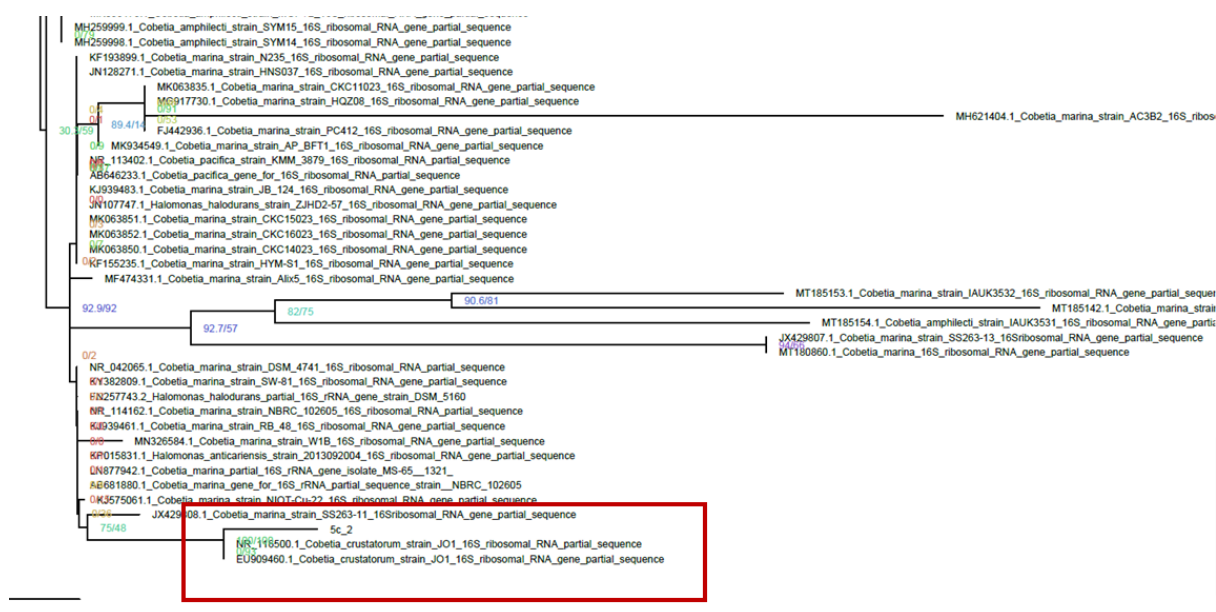


Рис. 3.51. Філогенетичне дерево з ізолюваним антарктичним штамом, роду *Cobetia*

Штам 5c/2 утворив монофілетичну кладу з бутстрепом 100 зі штамми *Cobetia crustatorum*, які були виділені з чоткалю – традиційної корейської ферментованої страви з морепродуктів (*Chromohalobacter canadensis* як аутгрупа). Ці штами і наш досліджуваний штам 5c/2 входять в більшу кладу з бутстрепом 92,9, до якої належать різні клади зі штамми *Cobetia marina*, що асоційований з цвітінням *Noctiluca miliaris* (динофлагелляти) в північній частині Аравійського моря; *Cobetia pacifica* з піщаного осаду, зібраний на глибині 1 м від берега Японського моря, Росія та інші штами. Рід *Cobetia* належить до родини

Halomonadaceae, порядку Oceanospirillales, тип Proteobacteria. Штами цих видів були виділені з морського середовища, морських осадів, морських безхребетних та ферментованих морепродуктів. Клітини є грамнегативними паличками, рухливі, строгі аероби.

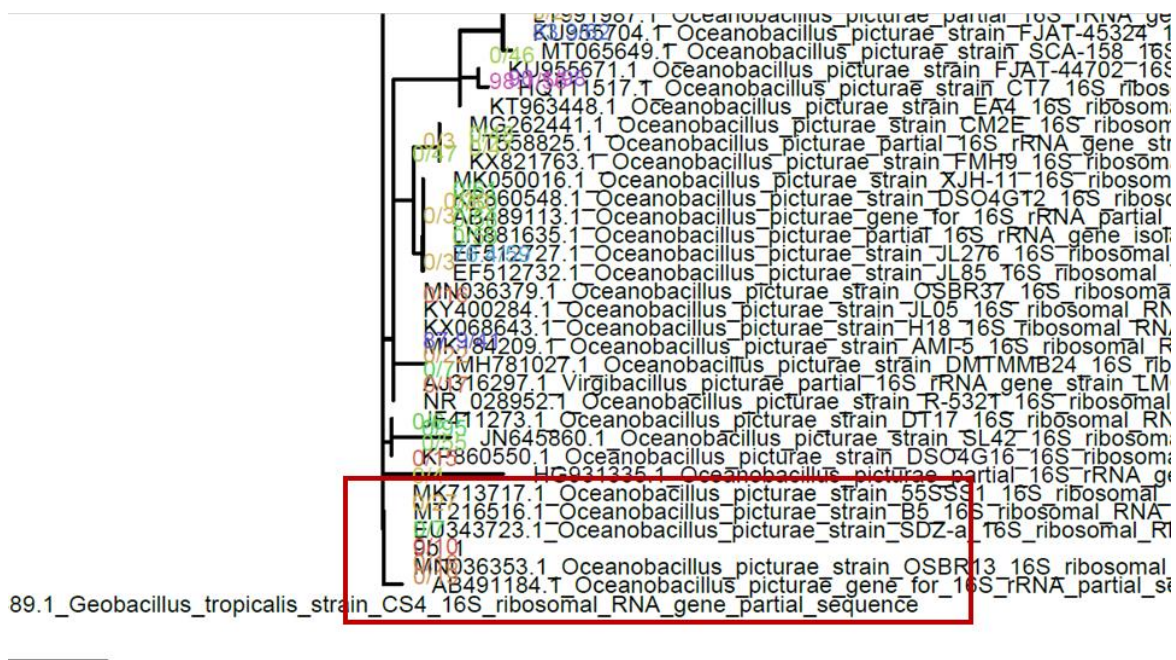


Рис. 3.52. Філогенетичне дерево з ізолюваним антарктичним штамом роду *Oceanobacillus*

Штам 9b/1 групується з галофільним штамом *Oceanobacillus picturae*, виділеним із льодовикової морени в Каанааку, Гренландія (*Geobacillus tropicalis* як аутгрупа), а також зі штамом *Oceanobacillus picturae*, виділеного з гіперсолонного озера Самбхар, Індія.

Філогенетичний аналіз на основі послідовностей 16S рРНК показав, що штами AA1/1, AA1/7 та AA1/9 (табл. 3.21, додаток 1) об'єднуються зі штамом *Pseudoalteromonas arctica*, який був виділений із зразків морської води, зібраних зі Шпіцбергену в Арктиці (*Psychrosphaera aestuarii* як аутгрупа) (Berezkina et al., 2021).



Рис. 3.53. Філогенетичне дерево з ізольованими антарктичними штамами роду *Pseudoalteromonas*

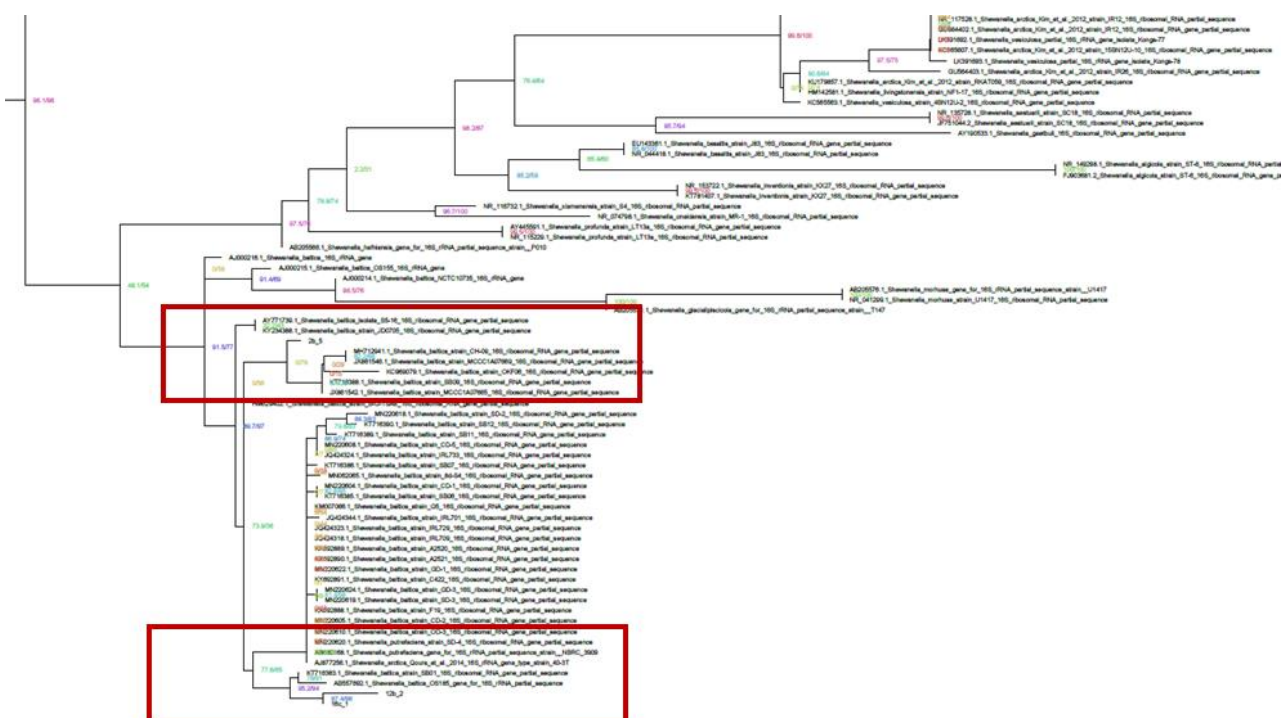


Рис. 3.54. Філогенетичне дерево з ізольованими антарктичними штамами роду *Shewanella*

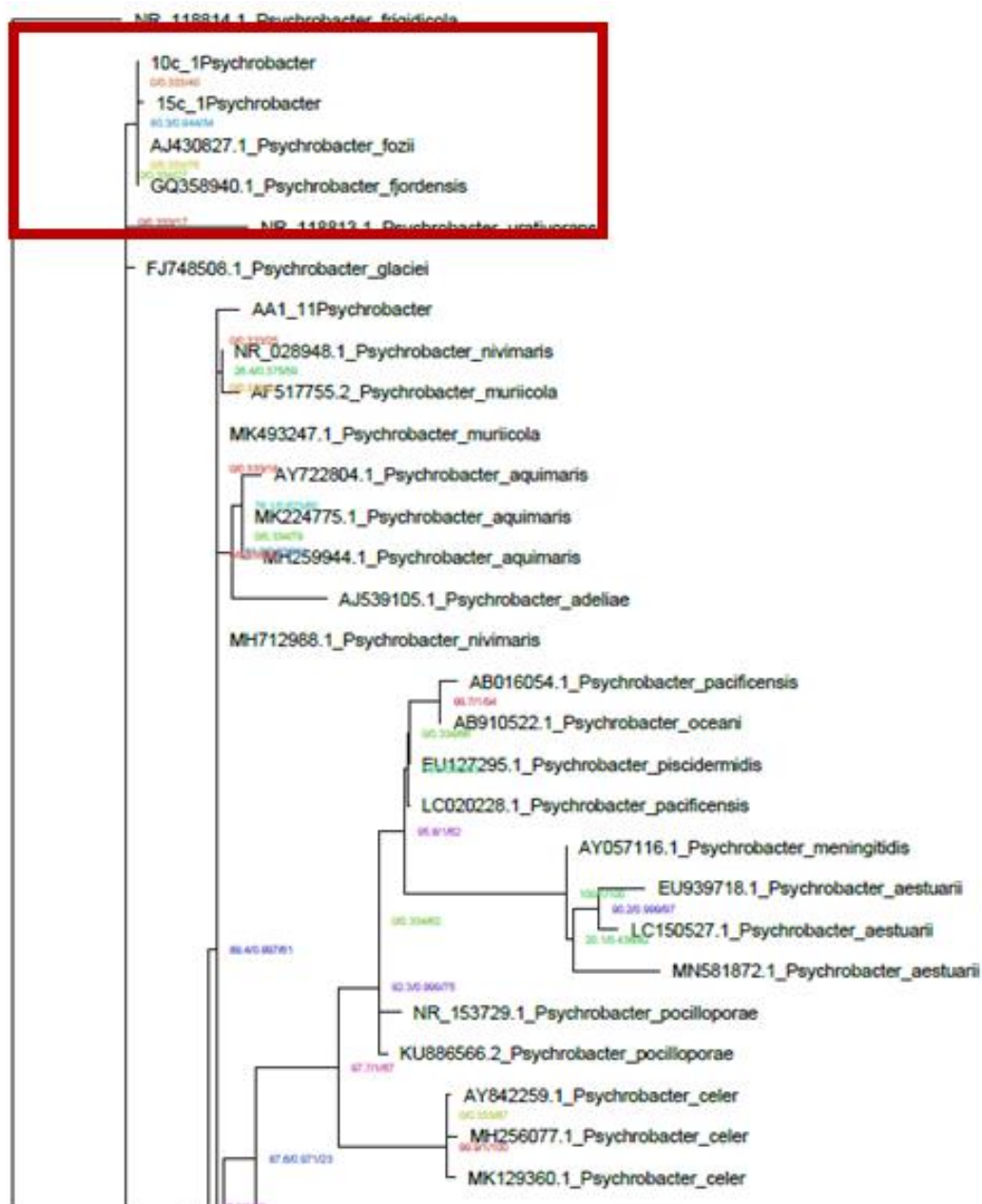


Рис. 3.56. Філогенетичне дерево з ізольованими антарктичними штамами роду *Psychrobacter* (1 частина дерева)

Штами 10с/1 та 15с/1 (табл. 3.22, додаток 1) групуються зі штамом *Psychrobacter fozii*, який був виділений з донних осадів бухти Johnson's Dock біля острова Лівінгстон, Південні Шетландські острови (Антарктика) та зі штамом *P. fjordensis*, ізольований з морської води Kongsfjorden (Шпіцберген) у монофілетичну групу з бутстрепом 80 (як аутгрупа).



Рис. 3.57. Філогенетичне дерево з ізолюваними антарктичними штамами роду *Psychrobacter* (2 частина дерева)

Штам 16b/2 об'єднується з *Psychrobacter fozi* та з *P. glaciei*, виділених з Ny-Alesund (Арктика), у монофілетичну групу з бутстрепом 78. Рід *Psychrobacter* належить до родини Moraxellaceae, порядку Pseudomonadales, тип Proteobacteria. Були виділені з морського середовища, орнітогенних ґрунтів, риби, птахів, різних

харчових продуктів тощо. Клітини є грамнегативними паличками або коками, нерухливі, аероби, галотолерантні.

Таким чином, виділені молюск-асоційовані бактерії належать до морських протеобактерій (*Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Shewanella*, *Cobetia*, *Psychromonas*), бактероїдів (*Bizionia*) та фірмікут (*Oceanobacillus*). Антарктичні культури споріднені з родами бактерій Північної Атлантики та Арктичного регіону (табл. 3.23).

Ці дані свідчать про біполярне розповсюдження культур та ймовірну роль течій у бактеріальному обміні між полярними регіонами.

Таблиця 3.23.

Штами, що мають генетичну спорідненість до штамів з Північної півкулі

№ п/п	Маркування штамів	Глибина (м)	Локалізація	Морфотип молюску
1	8b/2	8	Meek Channel, Grotto	морфотип 2
2	16c/2	1	Stella Creek	морфотип 3
3	5c/2	5	Meek Channel	морфотип 2
4	9b/1	1	акваторія Marina Point, скеля	морфотип 1
5	AA1/1	16	акваторія о. Уругвай	2 морфотип
6	AA1/7	16	акваторія о. Уругвай	2 морфотип
7	AA1/9	16	акваторія о. Уругвай	2 морфотип
8	13c/3	6 м	Skua Creek	морфотип 2
9	10c/1	10 м	Акваторія Marina Point	морфотип 3
10	15c/1	3 м	Skua Creek	морфотип 2
11	16b/2	5 м	Skua Creek	морфотип 1

Висновки до розділу 3

1. Поділ популяції молюсків на літоральний та субліторальний морфотипи не підтверджений для акваторії дослідженої острівної системи. Розподіл популяції *N. concinna* по підводних ландшафтах не має чітких

закономірностей між морфометричними параметрами раковини, вагою молюска та глибиною.

2. *N. concinna* заселяє всі доступні ландшафти, утворює популяцію з високою фенотиповою пластичністю, яка включає три морфотипи за скульптурою раковини, і становить багатий ресурс в дослідженій акваторії.
3. Молекулярно-філогенетичний аналіз за мітохондріальними 12S, 16S, CO1 генами і ядерним геном 28S показав належність трьох морфотипів *N. concinna*, виділених за морфологією раковини, до одного виду в акваторії архіпелагу Вільгельма, Західна Антарктика. Філогенетичні реконструкції продемонстрували близькі зв'язки *N. concinna* з нацеллідами Вогняної Землі і субантарктичних островів.
4. Молекулярно-генетичний баркодинг за фрагментом гену 16S показав приналежність асоційованої з *N. concinna* мікробіоти до протеобактерій (*Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Shewanella*, *Cobetia*, *Psychromonas*), бактероїдів (*Bizionia*) та фірмікут (*Oceanobacillus*). Реконструкція філогенетичних зв'язків молюск-асоційованої мікрофлори показала їх спорідненість з бактеріями Арктичного регіону і можливий біполярний характер їх поширення.

Матеріали розділу опубліковані [1; 2; 11; 17]

РОЗДІЛ 4.

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

4.1. Історія видоутворення нацеллід

Пангея почала розпадатися на Лавразію в північній півкулі та Гондвану в південній півкулі в тріасовому періоді. Процес видоутворення пателлогастропод є співставним з виникненням прадавнього ландшафту Землі, рухом тектонічних плит, відкриттям проток, формуванням течій, зміною кліматичних умов тощо. Древні знайдені скам'янілості молюсків датуються середнім ордовиком (Nakano & Ozawa, 2007).

Значне вимирання молюсків відбулося під час пермсько-тріасового вимирання (Aktipis & Giribet, 2012).

Серед викопних знахідок пателлід тріасо-юрського періоду відомі скам'янілості з півдня Гондвани, який є ймовірним центром видоутворення пателлогастропод. Розселення пателлогастропод відбувалось імовірно з району прото-Антарктичного півострову уздовж західного узбережжя обох прото-Америк до сучасної Каліфорнії. До формування Панамського перешийку окрема гілка пателлогастропод ймовірно потрапила до Гренландії та Європи, яка тоді ще формувала шельф прото-Атлантики, про що свідчать знахідки скам'янілостей Середземного моря (Saether et al., 2012). Нащадками тих вселенців ймовірно є представники родів *Patella*, *Patelloida*, які до цього часу поширені в Північній півкулі, але відсутні в Арктиці. Походження сучасних *Patellogastropoda* датується пізнім юрським періодом (рис. 4.1). Формування основних клад пателлогастропод та їх поширення поза тропіками відбувалось протягом мезозойської-ранньої кайнозойської ер. Ці події були пов'язані з розпадом Пангеї, формуванням та подальшим послабленням екваторіальної течії (circumglobal equatorial current) (Nakano & Ozawa, 2007).

Оцінка часу розходження всередині *Patellogastropoda* ускладнюється у зв'язку з невеликою кількістю знайдених викопних скам'янілостей молюсків.

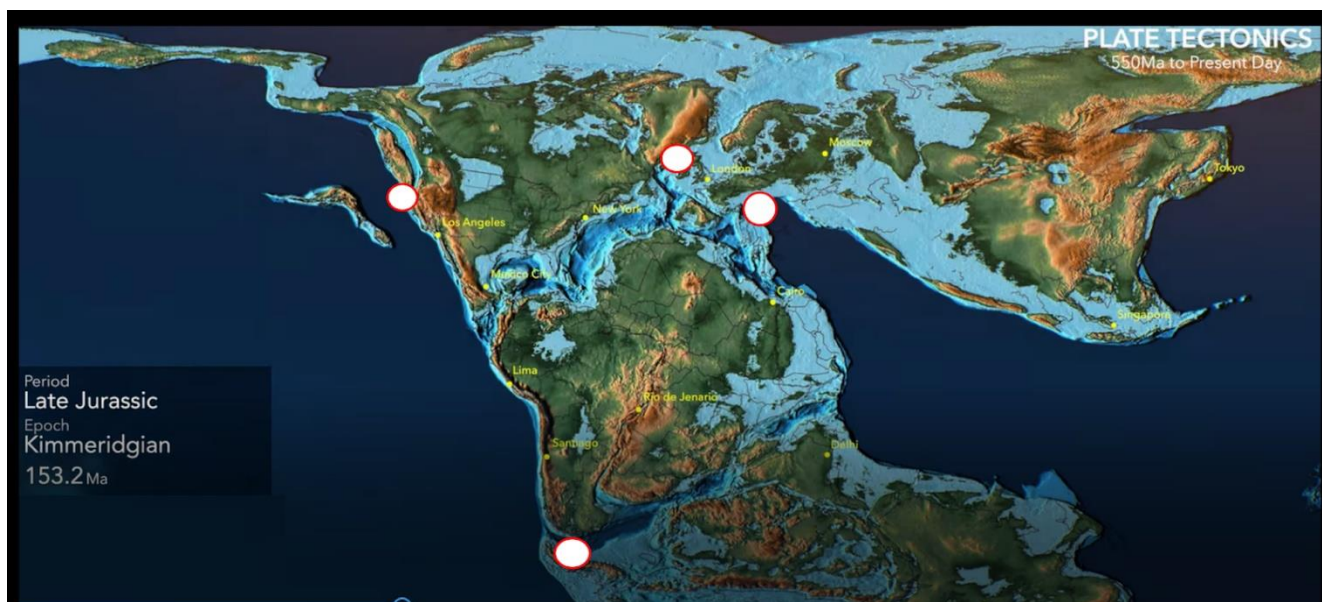


Рис. 4.1. Знахідки скам'янілостей пателлід тріасо-юрського періоду

Ці молюски часто населяють скелясті береги, які омиваються хвилями, а ці умови не сприяють збереженню скам'янілостей. Скам'янілості з Антарктики поодинокі, оскільки осадові відкладення були практично повністю зруйновані. Диверсифікація пателлогастропод розпочалася щонайменше в ранньому крейдяному періоді 143 млн років тому (Nakano & Ozawa, 2007). Походження Nacellidae датується Крейдяним періодом, за котрим відбулося розповсюдження Nacellidae на заході Гондвани (Антарктида і Південна Америка). Близько 120 млн років тому, у Крейдяному періоді, майбутня Індія відкололася від прото-Антарктиди і почала повільно мігрувати на північ, приблизно на п'ять сантиметрів на рік. Потім, близько 80 млн років тому у пізньому Крейдяному періоді, континент раптово прискорився до 15 сантиметрів на рік — приблизно вдвічі швидше, ніж найшвидший сучасний тектонічний дрейф. Континент зіткнувся з Китайською плитою близько 50 млн років тому у ранньому Еоцені. Подальше формування різноманіття Patellogastropoda (рід *Cellana*) в Австралії, Новій Зеландії та Індо-Тихоокеанському регіоні ми пов'язуємо саме з рухом Індійської плити у бік Китайської плити. Ймовірно Індійська плита “віднесла” із собою елементи біоти, що формувався під час її перебування у зв'язку з антарктичним протоконтинентом. Саме цим можна пояснити поширення представників роду

Cellana біля індо-океанського узбережжя Африки, Азії, Індокитаю, Австралії, Нової Зеландії, і подальше просування до берегів Японії у Тихому океані.

Кергеленське плато сформувалось приблизно 97 млн років тому у середньому Крейдяному періоді, але потім воно почало стрімко занурюватись і остаточно формування о. Кергелен відбулось 39-37 млн років тому, під час олігоценового зледеніння. Час формування о. Кергелен може вважатись межею для калібрування молекулярних годинників клади, до складу якої входять *Nacella kerguelensis*, *N. concinna*, *N. delesserti*, *N. terroris*, *N. edgari*, *N. macquariensis*. Ймовірно, спільний предок цієї клади і його прямий нащадок *Nacella kerguelensis* (обіймає базальне положення в цій кладі) сформувались саме в цьому районі в басейні прото-Індійського океану ще до відкриття протоки Дрейка. Подальше видоутворення відбувалось завдяки розселенню в бік Антарктичного півострову і Вогняної Землі завдяки циклонічній і прибережним течіям.

На межі Олігоцену-Міоцену, 29-23 млн років тому відкрилася протока Дрейка і знову відбулося вимирання і формування наступної фауни, за яким наступне видоутворення. Представники іншої сестринської клади, до якої увійшли *N. magellanica*, *N. clypeater*, *N. deaurata*, *N. mytilina*, *N. flammea* ймовірно залишились в районі Південної Америки. Після відкриття протоки Дрейка відбулось їх повторне розселення у тихоокеанському і атлантичному напрямках, а також уздовж субантарктичних островів завдяки циркумантарктичній течії (рис. 4.2).

Фенотипову пластичність раковин трьох морфотипів *N. concinna* підтверджено молекулярно-генетичними методами, а саме баркодингом морфотипів за генами *12S*, *16S* та *CO1*. Філогенетичні дерева трьох морфотипів *N. concinna* з акваторії Аргентинських островів чітко вказують приналежність морфотипів молюска до одного виду *N. concinna*. Філогенетична реконструкція дерев з нашими об'єктами дослідження вказує на зв'язки *N. concinna* з іншими видами нацелл, а саме – з *N. deaurata*, *N. mytilina*, *N. clypeater*, *N. magellanica*, *N. delesserti*, *N. kerguelensis* та іншими (рис. 3.26, рис. 3.28, рис. 3.30). Сестринська

клада роду *Nacella* є рід *Cellana*, до якого входять молюски помірних та тропічних вод, а також акваторії субантарктичних островів. Зразки *N. concinna* мають

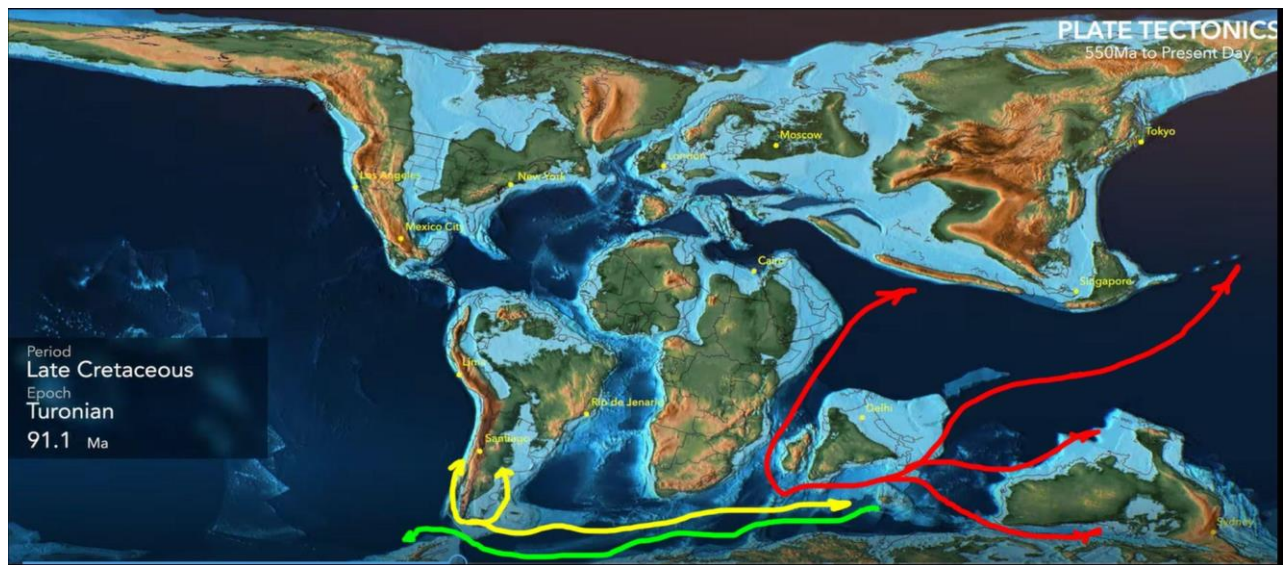


Рис. 4.2. Поширення Patellogastropoda і в Крейдяному періоді: червоний - формування клади “*Cellana*”; зелена - формування клади “*N. kerguelensis*, *N. concinna*, *N. delesserti*, *N. terroris*, *N. edgari*, *N. macquariensis*” від о. Кергелен до Антарктичного півострова; жовтий - формування клади “*N. magellanica*, *N. clypeater*, *N. deaurata*, *N. mytilina*, *N. flammea*” від Вогняної землі до субантарктичних островів

філогенетичні зв'язки з видами *Cellana capensis*, *C. taitensis*, *C. pricei*, *C. tramoserica*, *C. solida* та іншими.

Gonzalez-Wevar et al. (2010) також показали монофілію молюсків роду *Nacella* з 4-х біогеографічних регіонів: акваторії Антарктики, провінції Кергелен, центрального регіону Чилі та Магелланової провінції. Філогенетичну реконструкцію здійснювали за мітохондріальними генами *CO1* та *COB* як літоральних, так і субліторальних молюсків. Рід *Nacella* має сестринську спорідненість з родом *Cellana*, що населяє помірні, тропічні води Індо-Тихоокеанського регіону, Гаваїв, Австралії, Нової Зеландії, а також акваторію субантарктичних островів. Вид *N. concinna* – є вселенцем Антарктики з більш північніших вод океанів. Відомі два раунди диверсифікації роду *Nacella*. Перший

відбувся в кінці міоцену і дав початок сучасним видам нацелл, розповсюдженим в Антарктиці, Південній Америці та провінції Кергелен. Другий раунд диверсифікації відбувся в плейстоцені в акваторії Магелланового регіону. Еволюція цього роду, ймовірно, має тісний зв'язок з різкими кліматичними та океанографічними змінами. Поширення молюсків супроводжувалося швидкою морфологічною та екологічною диверсифікацією.

Зледеніння четвертинного періоду в Антарктиді різко змінили географічні ареали та розміри популяцій морських бентосних безхребетних, і таким чином вплинули на кількість і розподіл внутрішньовидової генетичної мінливості (Gonzalez-Wevar et al., 2013). Автори вивчили структуру популяції чашечки вздовж морської Антарктиди та по периметру острова Південна Георгія. Генетичний аналіз показав, що *N. concinna* є панміктичною одиницею в морській Антарктиці. Низький рівень генетичного різноманіття та широко розповсюджений домінуючий гаплотип характерні для популяції лімпета. Значна генетична диференціація виявлена між популяцією в акваторії острова Південна Георгія та популяціями приморської Антарктиди. Байєсівський аналіз підтверджує більш древню історію популяції молюска в акваторії острова Південна Георгія. Останній, ймовірно, був рефугіумом в період четвертинного зледеніння. Було запропоновано наступну модель розповсюдження *N. concinna* в той період:

- i) вимирання популяції лімпета вздовж морської Антарктики під час льодовикового максимуму плейстоцена;
- ii) збереження популяції в периантарктичних рефугіумах;
- iii) реколонізація морської Антарктики після процесу дегляціації.

Таким чином, в історії розвитку популяції *N. concinna* мала місце подія “bottleneck” або “founder event” (ефект засновника) з подальшою швидкою експансією популяції.

Таким чином на підставі отриманих даних ми вважаємо, що центром походження клади нацелла-целлана є південь суперконтиненту Гондвана, який почав розпадатись у Крейдяному періоді на межі 125 млн років тому (рис. 4.2).

Нами розраховано молекулярні годинники по фрагменту ядерного гену 28S. Для розрахунку використано алгоритм пакету MEGA-X. Дерево часу, отримане шляхом застосування методу RelTime до філогенетичного дерева, яке раніше було розраховано (рис. 4.3), довжина гілок розрахована методом звичайних найменших квадратів. Еволюційні відстані розраховувалися за методом Джукса-Кантора і виражаються в одиницях кількості базових замін на сайті. Зміни швидкості між сайтами моделювали за допомогою гамма-розподілу (параметр форми = 5). Цей аналіз включав 56 нуклеотидних послідовностей. Усі три позиції кодону з охопленням сайту менше ніж 95% були вилучені, тобто менше ніж 5% пробілів вирівнювання, відсутні та неоднозначні дані були дозволені в будь-якій позиції (Tamura et al., 2012; Tamura et al., 2018; Jukes, & Cantor, 1969; Kumar et al., 2018). Всього в остаточному наборі даних було 205 позицій. Годинники відкалібровані по часу початку зледеніння о. Кергелен 37 млн років тому і формування базальної кладки "*N. kerguelensis*" раніше розрахованого філогенетичного дерева за фрагментом гену 28S (рис. 4.3).

Розпад Гондавани призвів до формування клад атлантичних, тихоокеанських і південно-американських пателлогастропод, і особливо представників родів нацелла і целлана під час відкриття протоки Дрейка на межі 27-25 млн років тому. Формування спільного предка роду нацелла на острові Кергелен призвело до подальшого його розселення на субантарктичні острови та вздовж Антарктичного півострова. З антарктичного регіону рід *Nacella* розповсюдився у Південну Америку, Фолклендські острови, Південну Георгію та інші субантарктичні острови уздовж Циркумантарктичної течії, де диверсифікувався на види: *N. yaghana*, *N. clypeater*, *N. magellanica*, *N. deaurata*, *N. mytilina*, *N. flammea* (рис. 4.4). Можливо процес розділення не завершений, що ми спостерігаємо зараз в Антарктиці (рис. 4.3). Отримані результати філогенетичного аналізу і розрахунку молекулярних годинників підтверджуються палеонтологічними даними, розрахунками і моделями інших дослідників (Gonzalez-Wevar et al., 2017).

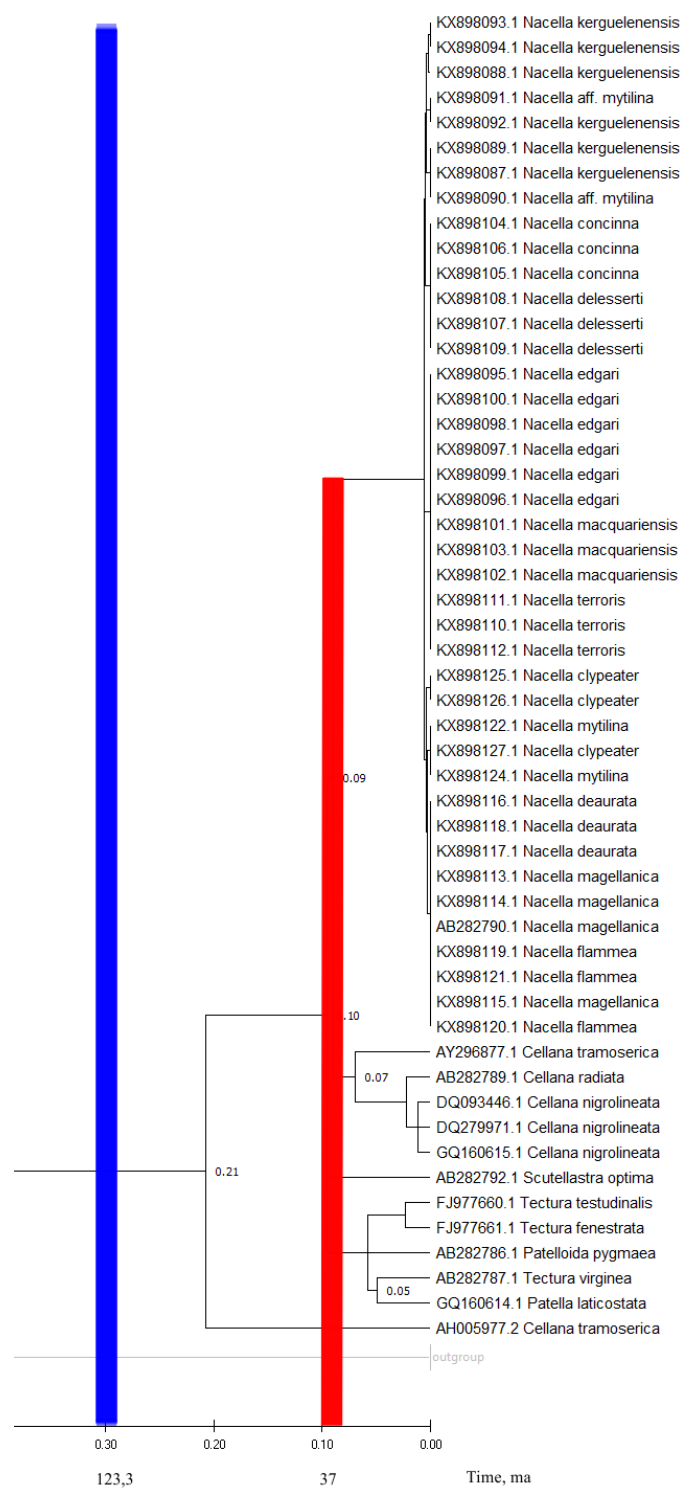


Рис. 4.3. Молекулярні годинники, розраховані за фрагментом гену 28S: синій - початок формування протоки Дрейка у Крейдяному періоді; червоний - формування спільного предка клади “Nacella” і “Cellana” на о. Кергелен 37 млн років тому

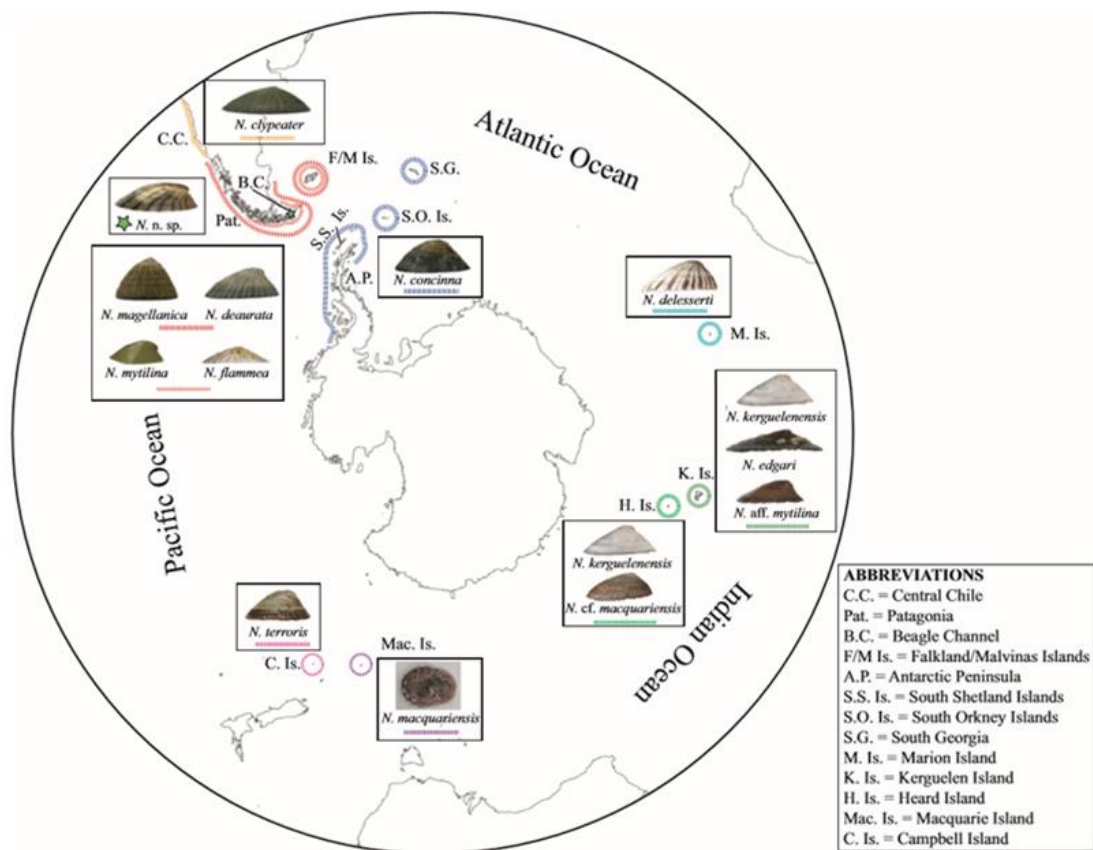


Рис. 4.4. Види молюсків роду *Nacella* та їх розповсюдження в Південному океані, включаючи Південну Америку, Антарктику і субантарктичні острови (Gonzalez-Wevar et al., 2016)

4.2. Морфологічне різноманіття *Nacella concinna*

Морфометричний аналіз раковин молюсків *N. concinna* не виявив очевидної залежності довжини раковини від глибини на трансектах МК1, МК2, МК3, МР1, МР2, МР3, SC1 та SC2. Кореляція ваги, довжини молюска та розподіл за глибинами на досліджених трансектах не співпадає з наявними літературними даними (Lomovasky et al., 2020). Розподіл популяції на літоральний та субліторальний морфотипи не підтверджуються для акваторії протоки Меек, Stella Creek та акваторії Marina Point, що знаходяться в районі архіпелага Вільгельма. Очевидно, морфологія раковин і вага *N. concinna* залежить від рельєфу дна, доступу до харчування (кількості водоростей) та хвильової активності на кожній досліджуваній трансекті.

Таким чином, морфометричний аналіз восьми трансект (24 сайти) не показав чіткої кореляції та відмінностей між літоральним та субліторальним морфотипом ліммета в акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський». Максимальна щільність популяції молюсків (21,5 молюски/рамку) спостерігається на глибині 5 м трансекти Marina Point, що корелює зі згадкою Gonzalez-Wevar et al. (2013) про найбільшу щільність популяції *N. concinna* в діапазоні глибин від 6 м до 10 м, а також даними Picken (1980) щодо максимальної щільності популяції на глибинах від 3 м до 6 м.

Досліджені нами трансекти відрізняються за кривими щільності популяції, однак загальна тенденція прослідковується, а саме – зі збільшенням глибини, щільність популяції зменшується. Різні розмірні класи *N. concinna* представлені на глибинах 1 м, 5 м, 10 м та 15 м в акваторії архіпелагу Вільгельма. На деяких досліджених ділянках дна в акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський» розмірні класи *N. concinna* підпорядковуються правилу Фостера (Lokatis, & Jeschke, 2018). При збільшенні чисельності популяції зменшуються доступні кормові ресурси, що в свою чергу призводить до зменшення розміру окремих особин. Це узгоджується з дослідженнями популяції східно-атлантичного черевоногого молюска *Troschelia berniciensis*, розміри раковини якого зменшувалися з глибиною та зниженою доступністю їжі (McClain et al., 2006).

Ключовим фактором зміни розміру живих організмів є наявність-відсутність кормових ресурсів, внутрішньовидова конкуренція та хижацтво (Mazza et al., 2015). Однак на деяких досліджених ділянках (МК2) дна акваторії (рис. 3.4) правило Фостера не виконується, враховуючи, що молюски мають необмежений харчовий ресурс у вигляді літотамнієвих водоростей. Це ймовірно може бути спричинено іншими факторами навколишнього середовища, які ми не маємо можливості спостерігати.

Aranzamendi et al. (2008) повідомляють про наявність двох морфотипів *N. concinna* (літорального і субліторального). Вчені виконали як генетичний (з використанням ISSR-PCR маркерів), так і морфометричний аналізи двох

морфотипів ліммета з акваторії Potter Cove і Південних Шетландських островів. Їх дані підтвердили наявність двох генетично відокремлених популяцій *N. concinna*. Морфотипи відрізняються за морфометричними параметрами більшою мірою висотою раковини. Літоральний морфотип має більшу висоту раковини, на відміну від субліторального морфотипу. Ці дані щодо наявності генетично відокремлених морфотипів ліммета з чіткою різницею за морфометричними показниками не підтверджуються для акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський». В акваторії архіпелагу Вільгельма на всіх досліджених трансектах присутні різні розмірні класи всіх трьох морфотипів без чітких закономірностей розподілу на морфотипи як за морфометричними параметрами, так і за генетичною відокремленістю, а також за глибинами.

Наявність трьох морфотипів молюска, ймовірно, обумовлено хвилювим навантаженням, течіями, підводним рельєфом та доступом до їжі. Морфотипи антарктичного ліммета є прикладом фенотипової пластичності раковин, як одного з механізмів адаптації до суворих холодних умов Антарктики. Іншою гіпотезою наявності різної скульптури раковини ліммета може бути не фенотипова пластичність, а наявність окремих генів, відповідальних за формування черепашки, або ж вплив різних видів бактерій на формування раковини молюска. Перевірка даних гіпотез потребує подальших генетичних та морфологічних досліджень *N. concinna*.

Hoffman et al. (2010) спростовує дані щодо наявності генетичної диференціації між літоральним та субліторальним морфотипами *N. concinna*. Автори дослідили майже 400 екземлярів антарктичного ліммета з різних глибин (припливна зона, 6 м, 15 м, 25 м) акваторії острова Аделаїда (Антарктика). Було проаналізовано 168 фрагментів AFLP loci (поліморфізм довжин ампліфікованих фрагментів), а також застосовано морфометричний аналіз. Заявлено щодо можливого штучного поділу антарктичного ліммета на літоральний та субліторальний. Морфологія раковин, ймовірно, є результатом фенотипової пластичності. У структурі популяції не знайдено генетичних та морфометричних відмінностей різних морфотипів *N. concinna*, що корелює з отриманими нами

даними в акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський». Аналогічні результати щодо відсутності генетичної дивергенції між антарктичним лімпетом *N. concinna* в акваторії острова Кінг-Джордж отримали польські колеги (Chwedorzewska et al., 2010).

Таким чином, популяція *N. concinna* з різною скульптурою раковини в акваторії архіпелага Вільгельма є панміктичною. Дослідження популяції молюска за окремими консервативними генами *12S*, *16S* та *CO1* виявило відсутність генетичної диференціації між морфотипами чашечки. Ймовірно, різна скульптура раковини зумовлена фенотиповою пластичністю, або генами, безпосередньо відповідальними за формування раковини. Не виключено вплив різних видів бактерій на скульптуру чашечки. Ці гіпотези потребують подальших детальних досліджень.

4.3 Різноманіття і походження мікробіоти молюсків

Виділена мікробіота з молюска *N. concinna* була психротолерантною і найінтенсивніший ріст спостерігався при кімнатній температурі +22°C, що свідчить про широкий діапазон пластичності до температурного фактору й можливе її вселення в район Антарктики з більш теплих регіонів.

З літературних даних широко відомі мікроорганізми, що асоційовані з морськими безхребетними Антарктики. Автори (Giudice et al., 2019) описують виділені дріжджі з молюска *N. concinna*, а саме – *Cryptococcus laurentii* та *Rhodotorula mucilaginosa* (Admiralty Bay), що є продуцентами ліпаз, протеаз і ксиланаз. Однак відсутні жодні дані щодо бактеріальних асоціантів та симбіонтів *N. concinna*.

На сьогоднішній день відомо мало про специфічні природні фактори росту бактерій в морському середовищі. Сучасні поживні середовища для культивування мікроорганізмів не можуть забезпечити всі потреби морських мікроорганізмів у джерелах живлення. Лише 1% морських мікроорганізмів здатні рости на поживних середовищах в лабораторних умовах (Kalitnik et al., 2017; El-Hassayeb & Abdel-Aziz, 2016; Michel & Czjzek, 2013; Yadav et al., 2017). Здатність бактерій рости в холодних умовах забезпечується ферментами, що активні при

низьких температурах. Нами показана різна біосинтетична активність ізолюваних антарктичних штамів із молюсків по відношенню до різних субстратів. Кератиназна активність виявлена у 76,5% штамів, а α -L-рамнозидазна активність лише у 23,5% культур, виділених з молюсків. Раніше при вивченні бактерій, ізолюваних з води та безхребетних Чорного моря, було показано, що 64% штамів мали α -L-рамнозидазну активність. За рівнем активності виділені нами антарктичні бактерії поступаються продуцентам α -L-рамнозидаз Чорного моря (*Pseudoalteromonas*, *Sphingomonas* sp., *Bacteroides* JY-6, *Pseudomonas paucimobilis*, *Clostridium stercorarium*, *Bacillus* sp. Gl 1) (Yadav et al., 2017). Отримані нами результати щодо ферментативної активності антарктичних морських штамів представляють науковий інтерес в якості порівняльного аналізу структурно-функціональних особливостей ферментів різного походження. Як було показано у дослідженнях, ферменти морських бактерій, що деградує полісахариди водоростей, володіють унікальною структурою порівняно з ферментами наземних бактерій і відносяться до нових родин глікозилгідролаз (Kalitnik et al., 2017; Paulsen et al., 2016).

Аналіз ферментів бактерій, що асоційовані з молюском *N. concinna*, дає можливість прослідкувати екологічні взаємозв'язки молюска і молюск-асоційованих бактерій. Ферментні системи останніх можуть відігравати вагомую роль у харчуванні антарктичного лімнета.

Дослідження ферментів морських бактерій можуть забезпечити зростаючі потреби в нових ефективних біологічно активних сполуках. Таким чином ферменти, що ефективно діють в холодних умовах завдяки їх високій активності і стабільності, можуть бути використані у промисловості без потреби нагріву реакторів, що є економічно вигідним. В харчовій промисловості використовують холодостійкі ферменти (пектинази, ксиланази, амілази, α -галактозидази, α -L-рамнозидази) для запобігання псуванню та забрудненню продуктів, для утримання лабільних та летючих ароматичних сполук соків та вин, для зведення до мінімуму різних небажаних побічних реакцій, які можуть відбуватися при більш високих температурах. Розробка миючих засобів, ефективних при

температурі навколишнього середовища, не лише економічно вигідно через зниження температури прання, а й для екології – через зниження викидів діоксиду вуглецю. Ліпази, протеази та глікозидази представляють інтерес серед адаптованих до холоду ферментів для промислового та побутового прання в холодній воді, для миючих засобів посудомийних машин тощо. Автори (Duarte et al., 2013) повідомили про виділення дріжджів з морських безхребетних Антарктики, які здатні синтезувати ряд ферментів при низькій та помірній температурі, а саме – ліпаз та ксиланаз (при 15°C) та протеаз (при 25°C). У авторів є припущення щодо можливого використання найбільш активних штамів мікроорганізмів у біотехнології.

Таким чином, у 76,4 % (26 чистих культур) серед досліджених 34 штамів було виявлено кератинолітичну активність (КерА). При культивуванні бактерій на обох середовищах (з мальтозою і желатином у якості субстрату, а також із додаванням пір'я, як основного джерела вуглецю і азоту) рівень кератинолітичної активності варіював від 1 до 4 U.

Штами 8a/1 і 8a/2, що ізольовані з донних осадів протоки Skua Creek (з глибини 10 м), мали найвищу кератинолітичну активність на рівні 4 U. Скринінг продуцентів α -L-рамнозидази серед 34 антарктичних штамів показав активність культур від 0,0025 до 0,11 од/мг білка у 8 штамів (23,5%), однак у культур 1/9 та 5/4 ця активність була слідовою. Штами 3/4 та 3/1 зі змиву раковини молюска з акваторії острова Уругвай виявили максимальну α -L-рамнозидазну активність (0,11 та 0,095 од/мг білка, відповідно), так само як і штам 1/11 (0,085 од/мг білка), що виділений із м'яких тканин того ж молюска.

На сьогоднішній день біорізноманіття антарктичних мікроорганізмів з протеолітичною активністю описана не в повній мірі. Автори (Matsui et al., 2017) виділили 71 чисту культуру мікроорганізмів з протеолітичною активністю при 4°C з прісноводних озер Антарктики. Ізоляти бактерій належали до родів *Flavobacterium* (28 штамів), *Pseudomonas* (14 штамів), *Arthrobacter* (10 штамів), *Psychrobacter* (7 штамів), *Cryobacterium* (2 штами), *Polaromonas* (1 штам) та *Hymenobacter* (1 штам). Серед виділених ізолятів родів *Flavobacterium* і

Hyumenobacter, 5 віднесли до нових видів. Половина штамів не росли при температурі вище за 25° С, тобто були психрофільними.

21 антарктична культура, що взяті нами для вивчення протеолітичних ферментів, росли при як при 19° С, так і при 28° С. Таким чином, досліджувані штами належать до психротрофних мікроорганізмів, оскільки бактерії здатні синтезувати ферменти з кератинолітичною та казеїнолітичною активністю за обох температур. Цікавими є результати, що за температури 28° С більша кількість культур синтезує ензими з кератинолітичною активністю, однак при температурі 19°С ця активність значно вища. Культури 16b/2, 17b/1 та 10b/2 (табл. 4.1), ізольовані з м'яких тканин молюсків, мали найвищий рівень кератинолітичної активності (15 Од/мл, 14 Од/мл і 8 Од/мл, відповідно) при температурі 19°С, а також культури 9с/3 та 5с/1 (14 Од/мл і 7 Од/мл, відповідно), виділені з кишкової трубки антарктичного лімпета. Лише 5 бактеріальних культур при культивуванні за температури 28°С мали казеїнолітичну активність від 0,011 до 0,074 Од/мл, в той час як при температурі 19°С цю активність проявляли 10 штамів.

Таблиця 4.1

N. concinna-асоційовані штами з найвищим рівнем ферментативної активності

№ п/п	Маркування штамів	Джерело виділення	Тип ферментативної активності	Одиниці ферментативної активності	Глибина, м	Місце відбору зразка	Морфотип молюска, з якого був виділений штам
1	3/4	змив раковини <i>N. concinna</i>	α -L-рамнозидаза	0,11 од/мг білка	16	акваторія острова Уругвай	2 морфотип
2	3/1	змив раковини <i>N. concinna</i>	α -L-рамнозидаза	0,095 од/мг білка	16	акваторія острова Уругвай	2 морфотип
3	1/11	м'які тканини <i>N. concinna</i>	α -L-рамнозидаза	0,085 од/мг білка	16	акваторія острова Уругвай	2 морфотип
4	16b/2	м'які тканини <i>N. concinna</i>	кератинолітична активність	15 Од/мл	5	Skua Creek	морфотип 1
5	17b/1	м'які тканини <i>N. concinna</i>	кератинолітична активність	14 Од/мл	3	Skua Creek	морфотип 1

6	10b/2	м'які тканини <i>N. concinna</i>	кератинолітич на активність	8 Од/мл	5	акваторія Marina Point, скеля	морфотип 3
7	9c/3	кишкова трубка <i>N. concinna</i>	кератинолітич на активність	14 Од/мл	8	Meek Channel, Grotto	морфотип 2
8	5c/1	кишкова трубка <i>N. concinna</i>	кератинолітич на активність	7 Од/мл	5	Meek Channel	морфотип 2

Автори (Martínez-Rosales & Castro-Sowinski, 2011) виділили 45 культур бактерій родів *Pseudomonas* і *Flavobacterium* зі зразків води біля Уругвайської антарктичної бази (острів Кінг-Джордж, Південні Шетландські острови). Штами росли в діапазоні температур від 4 до 18° С (бактерії роду *Flavobacterium*) та від 4 до 30° С (бактерії роду *Pseudomonas*). Продукування позаклітинної протеази було у стаціонарній фазі росту при 4° С і 18° С, але не спостерігалось при 30° С. Аналогічні дані були отримані вченими (Groudieva et al., 2004), які показали синтез ферментів α -амілази та β -галактозидази у арктичних та антарктичних культур при температурах культивування від 4 до 10° С, однак синтетична активність при температурах 20–30° С була майже відсутня.

Таким чином, отримані нами результати дозволили нам розширити знання щодо продуцентів протеолітичних ферментів, виділених з молюсків в акваторії Української антарктичної станції “Академік Вернадський” (архіпелаг Вільгельма, Земля Греяма). Ці дослідження будуть корисними для подальших, зокрема для вивчення нових властивостей протеаз антарктичних культур та їх можливого застосування у промисловості. Використання у промисловості психрофілів та психротрофів дасть змогу знизити температуру ферментативного процесу, скоротити час обробки сировини, що в свою чергу є економічно вигідним у споживанні електроенергії, оскільки процеси можуть йти як за кімнатної температури, так і при температурі водопровідної води. Дослідження антарктичних мікроорганізмів, що є продуцентами біологічно-активних речовин, є перспективними для різних галузей промисловості, зокрема холодостійкі ферменти можуть запобігати псуванню продуктів у харчовій промисловості, або бути використані у складі миючих засобів для побутового прання в холодній воді,

для посудомийних машин тощо. Таким чином, холодостійкі бактерії та синтезовані ними ферменти є перспективними об'єктами для біотехнології.

Філогенетичний аналіз молюска *N. concinna* і його супутньої мікробіоти показав, що вселення ліммета і асоційованої з ним мікрофлори в регіон Антарктики йшло різними окремими шляхами. Ймовірно досліджені нами штами є вселенцями з Північної півкулі, зокрема регіону Арктики.

Встановлено систематичне положення виділених нами антарктичних штамів (табл. 3.23) та їх біполярне розповсюдження (рис. 3.49, рис. 3.50, рис. 3.52, рис. 3.53, рис. 3.54, рис. 3.55, рис. 3.56, рис. 3.57). Штам 8b/2 має генетичну спорідненість зі штамми *Psychromonas arctica*, що були виділені з морської води біля Шпіцбергену та морського льоду одного з 4-х постійно холодних фіордів Шпіцбергену (Північний Льодовитий океан). Штам 16c/2 належить до роду *Bizionia* (родина *Flavobacteriaceae*), об'єднавшись у монофілетичну кладу зі штамми *Bizionia berychis*, які були виділені з риби *Beryx splendens*, виловленого з північної частини Тихого океану. Штам 9b/1 групується з галофільним штамом *Oceanobacillus picturae*, виділеним із льодовикової морени в Каанааку, Гренландія.

Штами AA1/1, AA1/7 та AA1/9 об'єднуються зі штамом *Pseudoalteromonas arctica*, який був виділений із зразків морської води, зібраних зі Шпіцбергену в Арктиці. Чиста культура 13c/3 об'єднується з *Shewanella vesiculosa* з різних полюсів: з прибережної зони Антарктики та з морських донних осадів Арктики. Штами 10c/1 та 15c/1 групуються зі штамом *Psychrobacter fozi*, який був виділений з донних осадів бухти Johnson's Dock біля острова Лівінгстон, Південні Шетландські острови (Антарктика) та зі штамом *P. fjordensis*, що був ізольований з морської води Kongsfjorden (Шпіцберген). Штам 16b/2 об'єднується з *Psychrobacter fozi* та з *P. glaciei*, виділених з Ny-Alesund (Арктика).

Ймовірно, виявлена біполярність зумовлена не лише океанічними течіями, а й повітряними потоками. Деякі автори (Yukimura et al., 2009) повідомляють про перенесення бактеріальних клітин на великі відстані повітряними потоками. Перенесення спороутворюючих бактерій разом з пилом з пустелі Гобі (Китай)

через Японію до Гренландії було досліджено молекулярно-генетичними методами. Ідентичність гену 16S рРНК з ізольованих штамів різних регіонів (пустеля Гобі, Гренландія), дало основу припустити авторам щодо космополітизму деяких стійких до різних чинників бактерій та вірогідне їх перенесення через повітряні потоки.

Таким чином, виявлена нами біполярність морських штамів з Антарктики може бути основою для подальших досліджень явища космополітизму бактерій.

Досліджене нами біорізноманіття асоційованої з молюском *N. concinna* мікробіоти, не може слугувати філогенетичним маркером, оскільки темпи еволюції мікроорганізмів, що представлено на філогенетичному дереві (рис. 3.49, рис. 3.50, рис. 3.51, рис. 3.52, рис. 3.53, рис. 3.54, рис. 3.55, рис. 3.56, рис. 3.57), що було побудовано за фрагментом гену 16S, значно перевищують темпи еволюції досліджених молюсків.

Такий висновок можна зробити при порівнянні довжини гілок клад молюсків і мікроорганізмів.

Було виконано оцінку індексів біорізноманіття штамів для трьох морфотипів молюска *N. concinna*, а саме – індексу Шенона, індексу Маргалефа та індексу Макінтоша (табл. 4.2, табл. 4.3). Розрахунки індексів біорізноманіття штамів у трьох морфотипах досліджених молюсків виконано в програмі BioDiversity Pro (<https://www.sams.ac.uk/science/outputs>, Scottish Association for Marine Science).

Найбільший індекс Шенона (1,146), а значить і найбільше різноманіття штамів, спостерігається у другому морфотипі *N. concinna*. Перший морфотип та третій мають значно менші індекси Шенона (0,845 та 0,778), що свідчить про менше різноманіття штамів у досліджених морфотипах, ніж у другого морфотипа. Індекс Шенона характеризує різноманіття і рівномірність розподілу видів за їх кількістю у спільноті.

Індекс Маргалефа відображає видове різноманіття на певній території. Чим більше значення індексу, тим більшим видовим біорізноманіттям характеризується спільнота. Для розрахунку індексу

Маргалефа використовується абсолютна величина – чисельність, що робить його надзвичайно чутливим до об'єму вибірки. Індекс Макінтоша розглядає спільноту, як точку в S-мірному гіперпросторі з координатами. Тоді евклідову відстань такої спільноти від початку координат можна використовувати як міру його різноманіття.

Таблиця 4.2

Описова статистика розподілу штамів у морфотипах молюска

Морфотипи	Mean Individuals	Variance	Standard Deviation	Standard Error	Total Species
Тип 1	0,259	0,199	0,447	0,086	7
Тип 2	0,519	0,259	0,509	0,098	14
Тип 3	0,222	0,179	0,424	0,082	6

Таблиця 4.3

Індекси біорізноманіття штамів у морфотипів молюсків

Індекси біорізноманіття	Тип 1	Тип 2	Тип 3
Shannon H' Log Base 10	0,845	1,146	0,778
Shannon Hmax Log Base 10	0,845	1,146	0,778
Margaleff M Base 10	30,766	22,685	33,413
Mackintosh Distance (U)	0,378	0,463	0,617
Mackintosh Diversity (D)	1,521	1,32	1,516
Mackintosh Eveness (E)	1,171	1,197	1,111

Окрім індексів біорізноманіття штамів у морфотипів молюсків, нами було визначено індекси біорізноманіття в залежності від місця збору зразків в акваторії архіпелага Вільгельма (табл. 4.4., табл. 4.5).

Таблиця 4.4

Описова статистика розподілу штамів за місцем збору зразків

Sample	Mean Individuals	Variance	Standard Deviation	Standard Error	Total Species	Mean Confidence Interval
Stella Creek	0,138	0,123	0,351	0,065	4	0,045
Meek Channel	0,207	0,17	0,412	0,077	6	0,062

Marina Point	0,172	0,148	0,384	0,071	5	0,054
Uruguai	0,207	0,17	0,412	0,077	6	0,062
Skua Creek	0,276	0,207	0,455	0,084	8	0,075

Таблиця 4.5

Індекси біорізноманіття за місцем збору зразків

Index	Stella Creek	Meek Channel	Marina Point	Uruguai	Skua Creek
Shannon H' Log Base 10	0,602	0,778	0,699	0,778	0,903
Margaleff M Base 10	46,507	35,983	40,059	35,983	31,005
Mackintosh Distance (U)	0,5	0,645	0,785	0,885	0,953
Mackintosh Diversity (D)	1,75	1,508	1,525	1,441	1,363
Mackintosh Eveness (E)	1,075	1,096	1,035	1,047	1,082

Обчислення індексів біорізноманіття штамів (індекс Шенона, індекс Маргалефа та індекс Макінтоша) у трьох морфотипів *N. concinna*, та окремо з різних місць збору в акваторії Аргентинських островів (Stella Creek, Meek Channel, Marina Point, Uruguai, Skua Creek) показали відмінності у біорізноманітті в залежності від факторів середовища (місця збору). Ці дані свідчать про наявність середовищної компоненти і можливість використовувати бактерії в якості екологічного маркера, що потребує подальших досліджень.

Досліджений нами вид черевоногого молюска *N. concinna* в акваторії архіпелагу Вільгельма представляє науковий інтерес у якості цінних біологічних ресурсів як багатий генетично гетерогенний вид, адаптований до різноманітних підводних ландшафтів та здатний до широкого розселення. Виділені з молюска чисті бактеріальні культури є потенційним ресурсом джерела різних холодостійких ферментів і подальшого їх застосування у промисловості.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У результаті проведених досліджень було визначено таксономічний статус і структуру популяцій представників роду *Nacella* з різних ділянок акваторії Аргентинських та прилеглих островів за морфологічними, молекулярно-генетичними та екологічними ознаками. В результаті дослідження можливо зробити наступні основні висновки.

1. Поділ популяції молюсків на літоральний та субліторальний морфотипи не підтверджений для акваторії дослідженої острівної системи. Розподіл популяції *N. concinna* по підводних ландшафтах не має чітких закономірностей між морфометричними параметрами раковини, вагою молюска та глибиною. У деяких випадках правило Фостера, щодо залежності розмірів від енергетичних ресурсів, може не виконуватись.
2. *N. concinna* заселяє всі доступні ландшафти, утворює популяцію з високою фенотипічною пластичністю, яка включає три морфотипи за скульптурою раковини, і становить багатий ресурс в дослідженій акваторії.
3. Молекулярно-філогенетичний аналіз за мітохондріальними 12S, 16S, CO1 генами і ядерним геном 28S показав належність трьох морфотипів *N. concinna*, виділених за морфологією раковини, до одного виду в акваторії архіпелагу Вільгельма, Західна Антарктика. Філогенетичні реконструкції продемонстрували близькі зв'язки *N. concinna* з нацеллідами Вогняної Землі і субантарктичних островів.
4. Показано філогенетичні зв'язки нацеллід з Patellogastropoda тропічних та помірних вод Атлантичного океану. Встановлено, що нацелліди є автохтонами Антарктики. Ймовірним місцем первинного видоутворення за молекулярними годинниками є Кергеленське плато і межа Антарктичного півострова та Вогняної Землі, що пов'язані з прадавньою тріасовою фауною півдня Гондвани.
5. Молекулярно-генетичний баркодинг за фрагментом гену 16S показав приналежність асоційованої з *N. concinna* мікробіоти до протеобактерій

(*Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Shewanella*, *Cobetia*, *Psychromonas*), бактероїдів (*Bizionia*) та фірмікут (*Oceanobacillus*).

6. Реконструкція філогенетичних зв'язків молюск-асоційованої мікрофлори показала їх спорідненість з бактеріями Арктичного регіону і можливий біполярний характер їх поширення.
7. Показано, що асоційовані з *N. concinna* мікробіота не може слугувати філогенетичним маркером еволюційних процесів, однак може бути використана у якості екологічного маркера підводних ландшафтів і субпопуляцій молюску.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Авдіюк, К. В., Варбанець, Л. Д., Березкіна, А. Є., Утєвський, А. Ю. (2020). Кератинолітична активність антарктичних штамів бактерій. *Мікробіологічний журнал*, 82(2), 14-21. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.02.014>.
2. Варбанець, Л. Д., Березкіна, А. Є., Авдіюк, К. В., Гудзенко, О. В., Булигіна, Т. В., Хархота, М. А., Утєвський, А. Ю. (2020). Кератинолітична і α -L-рамнозидазна активність бактеріальних ізолятів, виділених із червононогих молюсків *Nacella concinna* (Nacellidae) – мешканців Антарктики. *Мікробіологічний журнал*, 82(1), 13-21. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.01.013>.
3. Парнікоза, І., Березкіна, А., Моїсеєнко, Є., Маланчук, В., Кунах, В. (2018). Комплексна характеристика району Аргентинських островів та острова Галіндез (Морська Антарктика) як полігону для вивчення динаміки наземної рослинності. *Ukrainian Antarctic Journal*, 1(17), 73-101. DOI: [https://doi.org/10.33275/1727-7485.1\(17\).2018.34](https://doi.org/10.33275/1727-7485.1(17).2018.34).
4. Парнікоза, І., Березкіна, А., Моїсеєнко, Є., Козерецька, І., Кунах, В. (2017). Детальне картування природних умов Аргентинських островів, як основа для моніторингу динаміки наземної рослинності. *VIII Міжнародна антарктична конференція* (рр. 82-83). Київ, Україна.
5. Березкіна, А., Парнікоза, І., Моїсеєнко, Е. (2017). Применение ArcGIS технологий в создании биогеографической карты компонентов наземных экосистем острова Галиндез. *VIII Міжнародна антарктична конференція* (рр. 51-52). Київ, Україна.
6. Березкіна, А.Е., Моїсеєнко, Е.В., Норчевский, Р.В. (2013). Изучение биоразнообразия архипелага Аргентинских островов с помощью геоинформационных технологий. *VI Міжнародна антарктична конференція* (рр. 74-77). Київ, Україна.

7. Дикий, И., Утевский, А., Берёзкина, А., Калюжная, Т., Моисеенко, Е. (2014). Создание новых морских охранных районов (МОР) в районе архипелага Аргентинские острова. *I Международная научно-практическая конференция “Биологические исследования в Антарктике”* (pp. 71-73). Нарочь, Республика Беларусь.
8. Дикий, И., Берёзкина, А., Калюжная, Т., Моисеенко, Е. (2014). Криль как основной компонент питания ластоногих в районе архипелага Аргентинских островов. *I Международная научно-практическая конференция “Биологические исследования в Антарктике”* (pp. 67-71). Нарочь, Республика Беларусь.
9. Лабинская, А.С. (1978). *Микробиология с техникой микробиологических исследований*. Москва: Медицина.
10. Таширев, А.Б., Таширева, А.А., Березкина, А.Е. (2012). Роль криоценозов в формировании почв на ледниках Западной Антарктики. *Доповіді Національної академії наук України*, 4, 155-161. URL: <http://dspace.nbu.gov.ua/handle/123456789/49503>.
11. Утевский, А.Ю., Сенная, Е.И., Берёзкина, А.Е., Шмырев, Д.В., Попов, В.С. (2016). Моделирование наземных и подводных биотопов о. Галиндез (Аргентинские острова, Западная Антарктика) с использованием геоинформационных систем. *Український антарктичний журнал*, 15, 96-105. DOI: <https://doi.org/10.33275/1727-7485.15.2016.95>.
12. Aktipis, S. W., & Giribet, G. (2012). Testing relationships among the vetigastropod taxa: a molecular approach. *Journal of Molluscan Studies*, 78, 12-27. DOI: [10.1093/mollus/eyr023](https://doi.org/10.1093/mollus/eyr023)
13. Aranzamendi, M.C., Sahade, R., Tatian, M., Chiappero, M.B. (2008). Genetic differentiation between morphotypes in the Antarctic limpet *Nacella concinna* as revealed by inter-simple sequence repeat markers. *Marine Biology*, 154, 875-885.
14. Bajerski, F., Wagner, D., Mangelsdorf, K. (2017). Cell membrane fatty acid composition of *Chryseobacterium frigidisoli* PB4^T, isolated from Antarctic

- glacier forefield soils, in response to changing temperature and pH conditions. *Frontiers in Microbiology*, 8, 677. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00677>
15. Ball, A. D., Purdy, K. J., Glover, E. A., Taylor, J. D. (2009). Ctenidial structure and three bacterial symbiont morphotypes in *Anodontia (Euanodontia) ovum* (Reeve, 1850) from the Great Barrier Reef, Australia (Bivalvia: Lucinidae). *Journal of Molluscan Studies*, 75, 175-185.
 16. Beaumont, A.R., & Wei, J.H.C. (1991). Morphological and genetic variation in the Antarctic limpet *Nacella concinna* (Strebel, 1908). *Journal of Molluscan Studies*, 57(4), 443-450. <https://doi.org/10.1093/mollus/57.4.443>
 17. Berezkina, A., Shrestha, M., Sinna, O., Shmyrov, D., Utevsky, A. (2018). The distribution of the Antarctic limpet *Nacella concinna* (Nacellidae) on underwater landscapes of the Meek Channel, Argentine Islands, Graham Land. *Ukrainian Antarctic Journal*, 1(17), 102-112. DOI: [https://doi.org/10.33275/1727-7485.1\(17\).2018.35](https://doi.org/10.33275/1727-7485.1(17).2018.35).
 18. Berezkina, A., Kharkhota, M., Varbanets, L., Avdiuk, K., Gudzenko, O., Gorpynchenko, M., Utevsky, A. (2021, June). *Bipolar Distribution of the Some Bacteria Isolated from Antarctic Marine Biotopes*. Paper presented on the World Microbe Forum 2021, Virtual.
 19. Berezkina, A.Ye., Kharkhota, M.A., Varbanets, L.D., Avdiuk, K.V., Gudzenko, O.V., Gorpynchenko, M.Yu., Utevsky, A.Yu. (2021). Phylogenetic relationships of the genus *Pseudoalteromonas*, *Psychromonas* and *Oceanobacillus* in the polar regions. *X Міжнародна антарктична конференція* (pp. 39-40). Kyiv, Ukraine.
 20. Berezkina, A., & Utevsky, A. (2021). DNA-barcoding of the three morphotypes of the gastropod mollusc *Nacella concinna* in the water area of Wilhelm Archipelago, West Antarctica. *The Malacologist*, 76, 10.
 21. Berezkina, A., Kharkhota, M., Kot, Y., Utevsky, A. (2020, February). *Microorganisms from Antarctic benthic biotopes in the water area of the Argentine Islands, Graham Land, West Antarctica*. Paper presented at the Polar ecology conference 2020, České Budějovice, Czech Republic.

22. Berezkina, A., Avdiuk, K., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2020, May). *Bacterial enzymes associated with the gastropod mollusc Nacella concinna from the water area of the Argentine Islands (West Antarctica)*. Paper presented at the 44th Annual Conference of Young Scientists "Cold in Biology and Medicine: Current Problems in Cryobiology, Transplantology, and Biotechnology", Kharkiv, Ukraine.
23. Berezkina, A., Avdiuk, K., Gudzenko, O., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2020). Bacterial enzymes associated with gastropod mollusc *Nacella concinna* from the water area of the Argentine Islands (West Antarctica). *Probl Cryobiol Cryomed*, 30(3), 295. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo30.03a.295>.
24. Berezkina, A., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2020, August). *Phylogeny of the gastropod mollusk Nacella concinna and mollusk-associated bacteria from the water area of the Argentine Islands, Graham Land, West Antarctica*. Paper presented at the SCAR Open Science Conference 2020, Hobart, Tasmania, Australia.
25. Berezkina, A., Utevsky, A. (2020, November). *DNA-barcoding of the three morphotypes of the gastropod mollusc Nacella concinna in the water area of Wilhelm Archipelago, West Antarctica*. Paper presented at the Molluscan Forum 2020, Virtual.
26. Berezkina, A., Kharkhota, M., Kot, Yu., Utevsky, A. (2020, November). Bacterial biodiversity of the gastropod *Nacella concinna* and bottom sediments in the water area of the Wilhelm Archipelago, West Antarctica. Paper presented at the II Young scientists conference "Youth and modern problems of microbiology and virology", Kyiv, Ukraine.
27. Berezkina, A., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2019). Microflora of the gastropod mollusk *Nacella concinna* from the Argentine Islands Archipelago water area. *IX International Antarctic Conference* (pp. 204-206). Kyiv, Ukraine.
28. Berezkina, A., Moiseyenko, Y., Voronina, K., Utevsky, A. (2018). Antarctic limpet *Nacella concinna* in the coastal waters of the Argentine Islands

- archipelago. *VII Student Conference: «ACADEMIC AND SCIENTIFIC CHALLENGES IN THE 21ST CENTURY»* (pp. 111-112). Kharkiv, Ukraine.
29. Berezkina, A., Parnikoza, I., Moiseyenko, Y., Kunakh, V., Kozeretska, I. (2017). Galindez Island as a model area for studying Antarctic terrestrial vegetation dynamics. *12th SCAR Symposium on Antarctic Biology* (p. 251). Leuven, Belgium.
 30. Boyko, C.B., & Williams, J.D. (2009). Decapod Crustacean Phylogenetics. In J.W. Martin, K.A. Crandall & D.L. Felder (Eds.), *Crustacean parasites as phylogenetic indicators in decapod evolution* (pp. 197-220). Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor&Francis Group.
 31. Brathes, J.-C., Ferreyra, G., Vega, S. (1994). Distribution, growth and reproduction of the limpet *Nacella (Patinigera) concinna* (Strebel 1908) in relation to potential food availability, in Esperanza Bay (Antarctic Peninsula). *Polar Biology*, 14, 161-170.
 32. Bruno, S., Coppola, D., Prisco, G., Giordano, D., Verde, C. (2019). Enzymes from marine polar regions and their biotechnological applications. *Marine drugs*, 17, 544. DOI: <https://doi.org/10.3390/md17100544>
 33. Bryant, J.A., Stewart, F.J., Eppley, J.M., DeLong, E.F. (2012). Microbial community phylogenetic and trait diversity declines with depth in a marine oxygen minimum zone. *Ecology*, 93(7), 1659–1673.
 34. Castro-Sowinski, S. (Eds.). (2019). *The Ecological Role of Microorganisms in the Antarctic Environment*. Montevideo: Springer, Cham.
 35. Castillo, S., Aranzamendi, M.C., Martinez, J.J., Sahade, R. (2019). Phenotypic selection by kelp gulls against pear-shaped shells of the Antarctic limpet *Nacella concinna*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 20, 1-10.
 36. Chepeleva, L.V., Sizova, Z.A., Yukhno, G.D., Utevsky, S.Yu., Gamulya, Yu.G., Utevsky, A.Yu., Roshal, A.D. (2014). Use of chemical markers in Antarctic ecosystem studies of Demaria Mount. *Ukrainian Antarctic journal*, 13, 231-241. DOI: <https://doi.org/10.33275/1727-7485.13.2014.231>

37. Chwedorzewska, K. J., Korczak, M., Bednarek, P. T., Markowska–Potocka, M. (2010). Low genetic differentiation between two morphotypes of the gastropod *Nacella concinna* from Admiralty Bay, Antarctica. *Polish Polar Research*, 31(2), 195-200.
38. Cohen, J. E., Jonsson, T., Carpenter S. R. (2003). Ecological community description using the food web, species abundance, and body size. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), 1781-1786
<https://doi.org/10.1073/pnas.232715699>
39. Crofts, D.R. (1955). Muscle morphogenesis in primitive gastropods and its relation to torsion. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 125, 711-750.
40. Davis, D.W. (1947). Determination of flavonones in citrus juice. *Anal Biochem.*, 19(1), 46-48.
41. Duarte, A.W.F., Dayo-Owoyemi, I., Nobre, F.S., Pagnocca, F.C., Chaud, L.C.S., Pessoa, A. (2013). Taxonomic assessment and enzymes production by yeasts isolated from marine and terrestrial Antarctic samples. *Extremophiles*, 17(6), 1023-1035.
42. El-Hassayeb, A.E.H., & Abdel-Aziz, Z.M.S. (2016). Screening, production and industrial application of protease enzyme from marine bacteria. *Int J Curr Microbiol App Sci.*, 5(7), 863-874.
43. Engl, W. (2012). *Shells of Antarctica*. Hackenheim: ConchBooks.
44. Epshtein, V.M., & Utevsky, A.Yu. (1994). A new marine leech *Cryobdella ljadovi* sp.n. from Antarctic seas (Hirudinea: Piscicolidae). *Zoosystematica Rossica*, 3(1), 23-25.
45. Fedchuk, A., Parnikoza, I., Kozeretska, I., Berezkina, A., Sinna, O., Utevsky, S., Levenets, V., Utevsky, A., Pshenichnov, L., Demianenko, K., Milinevsky, G., Dykyi, E. (2019). Preliminary proposal for designation of the Antarctic Specially Protected Area in the Argentine Islands Archipelago and nearby Graham Coast Antarctic Peninsula region. *Commission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources meetings* (pp. 1-13). Hobart, Tasmania, Australia.

46. Flores, K., Lopez, Z., Levicoy, D., Munoz-Ramirez, C.P., Gonzalez-Wevar, C., Oliva, M.E., Cardenas, L. (2019). Identification assisted by molecular markers of larval parasites in two limpet species (Patellogastropoda: Nacella) inhabiting Antarctic and Magellan coastal systems. *Polar Biology*, 42, 1175-1182.
47. Frank, J.A., Reich, C.I., Sharma, S., Weisbaum, J.S., Wilson, B.A., Olsen, G.J. (2008) Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(8), 2461-2470.
48. Fretter, V., & Graham, A. (1962). *British Prosobranch Molluscs*. London: Ray Society.
49. Giudice, A.L., Azzaro, M., Schiaparelli, S. (2019). Microbial Symbionts of Antarctic Marine Benthic Invertebrates. In S. Castro-Sowinski (Eds.), *The Ecological Role of Microorganisms in the Antarctic Environment* (pp. 277-296). Montevideo: Springer, Cham.
50. Giudice, A.L., Rizzo, C. (2018). Bacteria associated with marine benthic invertebrates from polar environments: unexplored frontiers for biodiscovery? *Diversity*, 10(3), 80. <https://doi.org/10.3390/d10030080>
51. González-Wevar, C. A., Hüne, M., Rosenfeld, S., Nakano, T., Saucède, T., Spencer, H., Poulin, E. (2018). Systematic revision of *Nacella* (Patellogastropoda: Nacellidae) based on a complete phylogeny of the genus, with the description of a new species from the southern tip of South America. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 20, 1-34.
52. González-Wevar, C.A., Nakano, T., Cañete, J.I., Poulin, E. (2010). Molecular phylogeny and historical biogeography of *Nacella* (Patellogastropoda: Nacellidae) in the Southern Ocean. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56, 115-124.
53. Gonzalez-Wevar, C. A., Saucedo, T., Morley, S. A., Chown, S. L., Poulin, E. (2013). Extinction and recolonization of maritime Antarctica in the limpet *Nacella concinna* (Strebel, 1908) during the last glacial cycle: toward a model of Quaternary biogeography in shallow Antarctic invertebrates. *Molecular ecology*, 22(20), 5221-36.

54. Gonzalez-Wevar, C.A., Hune, M., Segovia, N.I., Nakano, T., Spencer, H.G., Chown, S.L., Saucedo, T., Johnstone, G., Mansilla, A., Poulin, E. (2016). Following the Antarctic Circumpolar Current: patterns and processes in the biogeography of the limpet *Nacella* (Mollusca: Patellogastropoda) across the Southern Ocean. *Journal of Biogeography*, 44(4), 861-874. DOI: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jbi.12908>
55. Gonzalez-Wevar, C. A., Nakano, T., Palma, A., Poulin, E. (2017). Biogeography in *Cellana* (Patellogastropoda, Nacellidae) with Special Emphasis on the Relationships of Southern Hemisphere Oceanic Island Species. *PLOS ONE*, 12(1), e0170103. DOI:[10.1371/journal.pone.0170103](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170103)
56. Groudieva, T., Kambourova, M., Yusef, H., Royter, M., Grote, R., Trinks, H., Antranikian, G. (2004). Diversity and cold-active hydrolytic enzymes of culturable bacteria associated with Arctic sea ice, Spitzbergen. *Extremophiles*, 8, 475–488.
57. Guzmán, L., & Ríos, C. (1987). Age and Growth of the Subantarctic Limpet *Nacella* (*Patinigera*) *magellanica magellanica* (Gmelin, 1791) from the Strait of Magellan, Chile. *The Veliger*, 30(2), 159–166.
58. Haszprunar, G., Schaefer, K., Waren, A., Hain, S. (1995). Bacterial symbionts in the epidermis of an Antarctic neopilinid limpet (Mollusca, Monoplacophora). *Phil. Trans. R. Soc. Lond*, 347, 181-185.
59. Hawe, A., Gensler, H., Haszprunar, G. (2014). Bacteriocytes in the mantle cavity of *Lurifax vitreus* Ware'n & Bouchet, 2001 (Orbitestellidae): the first case among heterobranch gastropoda. *Journal of Molluscan Studies*, 80, 337-340.
60. Heywood, J.L., Chen, C., Pearce, D.A., Linse, K. (2017). Bacterial communities associated with the Southern Ocean vent gastropod, *Gigantopelta chessoia*: indication of horizontal symbiont transfer. *Polar Biology*, 40, 2335-2342.
61. Hoffman, J.I., Peck, L.S., Hillyard, G., Zieritz, A., Clark, M.S. (2010). No evidence for genetic differentiation between Antarctic limpet *Nacella concinna* morphotypes. *Marine Biology*, 157, 765-778.

62. Jukes, T. H., & Cantor, C. R. (1969). Evolution of protein molecules. In Munro HN, editor, *Mammalian Protein Metabolism*, pp. 21-132, Academic Press, New York.
63. Kalitnik, A.A., Nedashkovskaya, O.I., Stenkova, A.M. (2017). Carrageenanolytic enzymes from marine bacteria associated with the red alga *Tichocarpus crinitus*. *J Appl Phycol.*, 30(1), 1-11.
64. Katz, S., Cavanaugh, C. M., Bright, M. (2006). Symbiosis of epi- and endocuticular bacteria with *Helicoradomenia* spp. (Mollusca, Aplacophora, Solenogastres) from deep-sea hydrothermal vents. *Marine ecology progress series*, 320, 89-99.
65. Koufopanou, V., Reid, D.G., Ridgway, S.A., Thomas, R.H. (1999) A molecular phylogeny of the patellid limpets (Gastropoda: Patellidae) and its implications for the origins of their antitropical distribution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 11(1), 138–156.
66. Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549.
67. Laich, F., Chavez, R., Vaca, I. (2014). *Leucosporidium escuderoi* f.a., sp. nov., a basidiomycetous yeast associated with an Antarctic marine sponge. *Antonie van Leeuwenhoek*, 105, 593-601.
68. Lokatis, S. & Jeschke, J. M. (2018). The island rule: an assessment of biases and research trends. *Journal of Biogeography*, 45, 289–303. DOI: 10.1111/jbi.13160
69. Lomovasky, B.J., Aranzamendi, M.C., Abele, D. (2020). Shorter but thicker: analysis of internal growth bands in shells of intertidal vs. subtidal Antarctic limpets, *Nacella concinna*, reflects their environmental adaptation. *Polar Biology*, 43, 131-141.
70. Lowry, O. H., Rosebrough, H. J., Farr, A. L., Randal, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193(1), 265–275.

71. Martínez-Rosales, C., Castro-Sowinski, S. (2011). Antarctic bacterial isolates that produce cold-active extracellular proteases at low temperature but are active and stable at high temperature. *J Polar Res.*, 30(1), 1–17.
72. Margesin, R., & Miteva, V. (2011). Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms. *Research in Microbiology*, 162, 346-361.
73. Matsui, M., Kawamata, A., Kosugi, M., Imura, S., Kurosawa, N. (2017). Diversity of proteolytic microbes isolated from Antarctic freshwater lakes and characteristics of their cold-active proteases. *Polar Sci.*, 13, 82–90.
74. Mazza, P. P. A., Rossi, M. A., Agostini, S. (2015). Hoplitomerycidae (Late Miocene, Italy), an example of giantism in insular ruminants. *J Mammal Evol*, 22(2), 271-277. DOI: 10.1007/s10914-014-9277-2
75. McClain, C. R., Boyer, A. G., Rosenberg, G. (2006). The island rule and the evolution of body size in the deep sea. *Journal of Biogeography*, 33, 1578–1584. DOI: doi:10.1111/j.1365-2699.2006.01545.x
76. Michel, G., & Czjzek, M. (2013). Polysaccharide-degrading enzymes from marine bacteria. In A. Trincone (Eds.), *Marine enzymes for biocatalysis: sources, biocatalytic characteristics and bioprocesses of marine enzymes* (pp. 429-464). Woodhead Publishing Limited.
77. Nakano, T., & Ozawa, T. (2007). Worldwide phylogeography of limpets of the order Patellogastropoda: molecular, morphological and palaeontological evidence. *Journal of Molluscan Studies*, 73, 79-99.
78. Nguyen, L-T., Schmidt, H.A., Haeseler, A., Minh, B.Q. (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 268-274. DOI: [10.1093/molbev/msu300](https://doi.org/10.1093/molbev/msu300)
79. Nickerson, W.J., Noval, J.J., Robison, R.S. (1963). Keratinase. I. Properties of the enzyme conjugate elaborated by *Streptomyces fradiae*. *Biochem. et Biophys. Acta.*, 77(1), 70–76.

80. Parnikoza, I., Berezkina, A., Dykyi, Y. (2018). *Current human impact and proposed conservation measures in the area of the Ukrainian Antarctic Station Akademik Vernadsky*. Paper presented at the III International scientific and practical conference; The Natural environment of Antarctica: ecological problems and nature protection, Minsk, Belarus.
81. Parnikoza, I., Berezkina, A., Kozeretska, I., Kunakh, V. (2018, March). *Vegetation mapping on the model Galindez Island as the basis for study of Antarctic terrestrial vegetation dynamics*. Paper presented at the 27th International Polar Conference, Rostock, Germany. URL: https://www.tib.eu/en/suchen/id/awi:doi~10.2312%252FBzPM_0716_2018/
82. Paulsen, S.S., Andersen, B., Gram, L., Machado, H. (2016). Biological potential of chitinolytic marine bacteria. *Marine Drugs*, 14(12), 230.
83. Peck, L.S., Heiser, S., Clark, M.S. (2016). Very slow embryonic and larval development in the Antarctic limpet *Nacella polaris*. *Polar Biology*, 39, 2273-2280.
84. Picken G.B. (1980). The distribution, growth, and reproduction of the Antarctic limpet *Nacella (Patinigera) concinna* (Strebel, 1908). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 42, 71-85.
85. Raulfs, E.C., Macko, S.A., Van Dover, C.L. (2004). Tissue and symbiont condition of mussels (*Bathymodiolus thermophilus*) exposed to varying levels of hydrothermal activity. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84(1), 229-234.
86. Reysenbach, A. L., Longnecker, K., Kirshtein, J. (2000) Novel bacterial and archaeal lineages from an in situ growth chamber deployed at a Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(9), 3798-3806.
87. Shabica, S. V. (1971). The general ecology of the antarctic limpet *Patinigera polaris*. *Antarctic Journal of the United States*, 6, 160-162.
88. Saether, K. P., Little, C. T. S., Marshall, B. A., Campbell, K. A. (2012). Systematics and palaeoecology of a new fossil limpet (Patellogastropoda: Pectinodontidae) from Miocene hydrocarbon seep deposits, East Coast Basin,

- North Island, New Zealand with an overview of known fossil seep pectinodontids. *Molluscan Research*, 32(1), 1–15.
89. Shabica, S.V. (1976). The natural history of the Antarctic limpet *Patinigera polaris* (Hombron and Jacquinot) (Doctoral dissertation).
90. Sinna, O., Utevsky, A., Popov, V., Ostroverh, E., Berezkina, A. (2017). Досвід застосування технологій ArcGIS для потреб біогеографічних досліджень у районі о. Галіндез (Аргентинські острови, Західна Антарктика). IV Міжнародна науково-практична конференція "Геоінформаційні технології у територіальному управлінні та експертних дослідженнях: правові, організаційні, технічні проблеми" (pp. 134-135). Одеса, Україна.
91. Smith, F.G.W. (1935). *The development of Patella vulgata*. London: Royal Society.
92. Tamura, K., Battistuzzi, F. U, Billing-Ross, P., Murillo, O., Filipski, A., Kumar, S. (2012). Estimating Divergence Times in Large Molecular Phylogenies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, 19333-19338.
93. Tamura, K., Qiqing, T., Kumar, S. (2018). Theoretical Foundation of the RelTime Method for Estimating Divergence Times from Variable Evolutionary Rates. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1770-1782.
94. Thomas, I.M. (1948). The adhesion of limpets. *Austr. J. Sci.*, 11, 28-29.
95. Utevsky, A.Yu., Shrestha, M.Yu., Utevsky, S.Yu. (2017, May). *Modelling the morphological features correlations of the Nacella concina (Strebel, 1908) (Patellogastropoda; Nacellidae) for the analysis of the benthic landscapes images*. Paper presented at the VIII International Antarctic Conference dedicated to the 24th Anniversary of Ukraine's accession to the Antarctic Treaty, Kyiv, Ukraine.
96. Utevsky, A., Solod, R., Utevsky, S. (2021). A new deep-sea fish leech of the bipolar genus *Pterobdellina* stat. rev. (Hirudinea: Piscicolidae) parasitic on the Antarctic toothfish *Dissostichus mawsoni* (Perciformes: Nototheniidae). *Marine Biodiversity* 51(15). DOI: <https://doi.org/10.1007/s12526-020-01140-1>

97. Utevsky, A., & Utevsky, S. (2018). New Antarctic deep-sea weird leech (Hirudinida: Piscicolidae): morphological features and phylogenetic relationships. *Systematic Parasitology*, 95, 849-861.
98. Utevsky, A., & Gordeev, I. (2015). New tentacled leech *Ceratobdella quadricornuta* n. g., n. sp. (Hirudinida: Piscicolidae) parasitic on the starry skate *Raja georgiana* Norman from the Scotia Sea, Antarctica. *Systematic Parasitology*, 91(3), 203-210.
99. Utevsky, A.Yu. (1997). A new species of Piscicolid leeches (Hirudinea; Piscicolidae) from Antarctic seas. *Vestnik Zoologii*, 31(1-2), 17-24.
100. Utevsky, A.Yu. (2003). An Identification Key to Antarctic Fish leeches (Hirudinea: Piscicolidae). *Ukrainian Antarctic journal*, 3, 135-144.
101. Utevsky, A.Yu. (1993). A new marine leech *Nototheniobdella sawyeri* gen. et sp. n. from Antarctic seas (Hirudinea: Piscicolidae). *Zoosystematica Rossica*, 2(2), 237-240.
102. Varbanets, L.D, Matseliukh, E.V. (2014). *Peptidases of microorganisms and methods of their investigations*. Kyiv: Naukova Dumka.
103. Walker, A. J. M. (1972). Introduction to the ecology of the Antarctic limpet *Patinigera polaris* (Hombron and Jacquinot) at Signy Island, South Orkney Islands. *British Antarctic Survey Bulletin*, 28, 49-69.
104. Yadav, P., Chauhan, A.K., Singh, P.S. (2017) α -L-Rhamnosidase: sources, production, purification and characterization of the debittering enzyme. *International Journal of Bio-Technology and Research*, 7(1), 1-10.
105. Yukimura, K., Nakai, R., Kohshima, S., Uetake, J., Kanda, H., Naganuma, T. (2009). Spore-forming halophilic bacteria isolated from Arctic terrains: Implications for long-range transportation of microorganisms. *Polar Science*, 3, 163-169.

Порівняння довжин раковин *N. concinna* на різних трансектах

Параметр	Середнє значення	Середнє значення	t-критерій	df	p-рівень значимості	Кількість екземплярів	Кількість екземплярів	Стандартне відхилення	Стандартне відхилення	p
L 3-1 vs. L 2-1	17.643	19.259	-1.348	70.000	0.182	23.000	49.000	3.589	5.187	0.063
L 3-1 vs. L 2-5	17.643	16.861	0.662	57.000	0.510	23.000	36.000	3.589	4.878	0.132
L 3-1 vs. L 2-10	17.643	15.925	0.876	25.000	0.390	23.000	4.000	3.589	3.861	0.697
L 3-1 vs. L 1-1	17.643	19.880	-1.966	36.000	0.057	23.000	15.000	3.589	3.158	0.631
L 3-1 vs. L 1-5	17.643	24.113	-5.082	36.000	0.000	23.000	15.000	3.589	4.195	0.498
L 3-1 vs. L 1-10	17.643	26.125	-3.595	25.000	0.001	23.000	4.000	3.589	7.975	0.018
L 3-5 vs. L 2-1	10.098	19.259	-6.332	88.000	0.000	41.000	49.000	8.398	5.187	0.002
L 3-5 vs. L 2-5	10.098	16.861	-4.242	75.000	0.000	41.000	36.000	8.398	4.878	0.001
L 3-5 vs. L 2-10	10.098	15.925	-1.363	43.000	0.180	41.000	4.000	8.398	3.861	0.224
L 3-5 vs. L 1-1	10.098	19.880	-4.378	54.000	0.000	41.000	15.000	8.398	3.158	0.000
L 3-5 vs. L 1-5	10.098	24.113	-6.163	54.000	0.000	41.000	15.000	8.398	4.195	0.007
L 3-5 vs. L 1-10	10.098	26.125	-3.656	43.000	0.001	41.000	4.000	8.398	7.975	1.000
L 3-10 vs. L 2-1	11.260	19.259	-3.732	57.000	0.000	10.000	49.000	9.907	5.187	0.003
L 3-10	11.260	16.861	-2.509	44.00	0.016	10.000	36.000	9.907	4.878	0.002

vs. L 2-5				0						
L 3-10 vs. L 2-10	11.260	15.925	-0.897	12.00 0	0.388	10.000	4.000	9.907	3.861	0.148
L 3-10 vs. L 1-1	11.260	19.880	-3.166	23.00 0	0.004	10.000	15.000	9.907	3.158	0.000
L 3-10 vs. L 1-5	11.260	24.113	-4.492	23.00 0	0.000	10.000	15.000	9.907	4.195	0.005
L 3-10 vs. L 1-10	11.260	26.125	-2.656	12.00 0	0.021	10.000	4.000	9.907	7.975	0.793
L 3-15 vs. L 2-1	17.544	19.259	-1.311	72.00 0	0.194	25.000	49.000	5.583	5.187	0.648
L 3-15 vs. L 2-5	17.544	16.861	0.507	59.00 0	0.614	25.000	36.000	5.583	4.878	0.458
L 3-15 vs. L 2-10	17.544	15.925	0.555	27.00 0	0.584	25.000	4.000	5.583	3.861	0.599
L 3-15 vs. L 1-1	17.544	19.880	-1.480	38.00 0	0.147	25.000	15.000	5.583	3.158	0.031
L 3-15 vs. L 1-5	17.544	24.113	-3.932	38.00 0	0.000	25.000	15.000	5.583	4.195	0.268
L 3-15 vs. L 1-10	17.544	26.125	-2.702	27.00 0	0.012	25.000	4.000	5.583	7.975	0.270
L 3-20 vs. L 2-1	30.733	19.259	3.450	50.00 0	0.001	3.000	49.000	11.659	5.187	0.020
L 3-20 vs. L 2-5	30.733	16.861	4.225	37.00 0	0.000	3.000	36.000	11.659	4.878	0.014
L 3-20 vs. L 2-10	30.733	15.925	2.437	5.000	0.059	3.000	4.000	11.659	3.861	0.106
L 3-20 vs. L 1-1	30.733	19.880	3.384	16.00 0	0.004	3.000	15.000	11.659	3.158	0.001
L 3-20 vs. L 1-5	30.733	24.113	1.839	16.00 0	0.085	3.000	15.000	11.659	4.195	0.011
L 3-20 vs. L 1-10	30.733	26.125	0.627	5.000	0.558	3.000	4.000	11.659	7.975	0.530

10										
L 2-1 vs. L 1-1	19.259	19.880	-0.438	62.00 0	0.663	49.000	15.000	5.187	3.158	0.046
L 2-1 vs. L 1-5	19.259	24.113	-3.303	62.00 0	0.002	49.000	15.000	5.187	4.195	0.389
L 2-1 vs. L 1-10	19.259	26.125	-2.449	51.00 0	0.018	49.000	4.000	5.187	7.975	0.166
L 2-5 vs. L 1-1	16.861	19.880	-2.205	49.00 0	0.032	36.000	15.000	4.878	3.158	0.084
L 2-5 vs. L 1-5	16.861	24.113	-5.029	49.00 0	0.000	36.000	15.000	4.878	4.195	0.557
L 2-5 vs. L 1-10	16.861	26.125	-3.387	38.00 0	0.002	36.000	4.000	4.878	7.975	0.125
L 2-10 vs. L 1-1	15.925	19.880	-2.134	17.00 0	0.048	4.000	15.000	3.861	3.158	0.518
L 2-10 vs. L 1-5	15.925	24.113	-3.516	17.00 0	0.003	4.000	15.000	3.861	4.195	1.000
L 2-10 vs. L 1-10	15.925	26.125	-2.302	6.000	0.061	4.000	4.000	3.861	7.975	0.264

*Примітка: червоним кольором позначені трансекти зі статистично значимими відмінностями

Таблиця 3.5

Порівняння ваги *N. concinna* на різних трансектах

Параметр	Середнє значення	Середнє значення	t-критерій	df	p-рівень значимості	Кількість екземплярів	Кількість екземплярів	Стандартне відхилення	Стандартне відхилення	p
M 3-1 vs. M 2-1	0.535	0.976	-1.491	70.00 0	0.140	23.000	49.000	0.599	1.353	0
M 3-1 vs. M 2-5	0.535	0.616	-0.355	57.00 0	0.724	23.000	36.000	0.599	0.983	0.017
M 3-1 vs. M 2-10	0.535	0.342	0.621	25.00 0	0.540	23.000	4.000	0.599	0.331	0.356
M 3-1	0.535	0.742	-1.128	36.00	0.267	23.000	15.000	0.599	0.471	0.355

vs. M 1-1				0						
M 3-1 vs. M 1-5	0.535	2.190	-4.234	36.00 0	0.000	23.000	15.000	0.599	1.733	0
M 3-1 vs. M 1-10	0.535	6.390	-3.411	25.00 0	0.002	23.000	4.000	0.599	9.001	0
M 3-5 vs. M 2-1	0.372	0.976	-2.482	88.00 0	0.015	41.000	49.000	0.840	1.353	0.002
M 3-5 vs. M 2-5	0.372	0.616	-1.173	75.00 0	0.245	41.000	36.000	0.840	0.983	0.336
M 3-5 vs. M 2-10	0.372	0.342	0.071	43.00 0	0.944	41.000	4.000	0.840	0.331	0.148
M 3-5 vs. M 1-1	0.372	0.742	-1.607	54.00 0	0.114	41.000	15.000	0.840	0.471	0.022
M 3-5 vs. M 1-5	0.372	2.190	-5.280	54.00 0	0.000	41.000	15.000	0.840	1.733	0
M 3-5 vs. M 1-10	0.372	6.390	-4.574	43.00 0	0.000	41.000	4.000	0.840	9.001	0
M 3-10 vs. M 2-1	0.532	0.976	-0.967	57.00 0	0.337	10.000	49.000	1.137	1.353	0.600
M 3-10 vs. M 2-5	0.532	0.616	-0.231	44.00 0	0.819	10.000	36.000	1.137	0.983	0.507
M 3-10 vs. M 2-10	0.532	0.342	0.322	12.00 0	0.753	10.000	4.000	1.137	0.331	0.066
M 3-10 vs. M 1-1	0.532	0.742	-0.641	23.00 0	0.528	10.000	15.000	1.137	0.471	0.004
M 3-10 vs. M 1-5	0.532	2.190	-2.658	23.00 0	0.014	10.000	15.000	1.137	1.733	0.207
M 3-10 vs. M 1-10	0.532	6.390	-2.149	12.00 0	0.053	10.000	4.000	1.137	9.001	0
M 3-15 vs. M 2-1	0.650	0.976	-1.097	72.00 0	0.276	25.000	49.000	0.857	1.353	0.018
M 3-15	0.650	0.616	0.138	59.00	0.891	25.000	36.000	0.857	0.983	0.489

vs. M 2-5				0						
M 3-15 vs. M 2-10	0.650	0.342	0.700	27.00 0	0.490	25.000	4.000	0.857	0.331	0.141
M 3-15 vs. M 1-1	0.650	0.742	-0.382	38.00 0	0.704	25.000	15.000	0.857	0.471	0.023
M 3-15 vs. M 1-5	0.650	2.190	-3.763	38.00 0	0.001	25.000	15.000	0.857	1.733	0.002
M 3-15 vs. M 1-10	0.650	6.390	-3.431	27.00 0	0.002	25.000	4.000	0.857	9.001	0
M 3-20 vs. M 2-1	3.465	0.976	2.844	50.00 0	0.006	3.000	49.000	3.188	1.353	0.014
M 3-20 vs. M 2-5	3.465	0.616	3.918	37.00 0	0.000	3.000	36.000	3.188	0.983	0.001
M 3-20 vs. M 2-10	3.465	0.342	2.012	5.000	0.100	3.000	4.000	3.188	0.331	0.004
M 3-20 vs. M 1-1	3.465	0.742	3.558	16.00 0	0.003	3.000	15.000	3.188	0.471	0
M 3-20 vs. M 1-5	3.465	2.190	1.021	16.00 0	0.322	3.000	15.000	3.188	1.733	0.126
M 3-20 vs. M 1-10	3.465	6.390	-0.528	5.000	0.620	3.000	4.000	3.188	9.001	0.227
M 2-1 vs. M 1-1	0.976	0.742	0.655	62.00 0	0.515	49.000	15.000	1.353	0.471	0
M 2-1 vs. M 1-5	0.976	2.190	-2.842	62.00 0	0.006	49.000	15.000	1.353	1.733	0.205
M 2-1 vs. M 1-10	0.976	6.390	-4.087	51.00 0	0.000	49.000	4.000	1.353	9.001	0
M 2-5 vs. M 1-1	0.616	0.742	-0.471	49.00 0	0.640	36.000	15.000	0.983	0.471	0.005
M 2-5 vs. M 1-5	0.616	2.190	-4.116	49.00 0	0.000	36.000	15.000	0.983	1.733	0.007
M 2-5	0.616	6.390	-4.059	38.00	0.000	36.000	4.000	0.983	9.001	0

vs. M 1-10				0						
M 2-10 vs. M 1-1	0.342	0.742	-1.581	17.000	0.132	4.000	15.000	0.331	0.471	0.615
M 2-10 vs. M 1-5	0.342	2.190	-2.080	17.000	0.053	4.000	15.000	0.331	1.733	0.019
M 2-10 vs. M 1-10	0.342	6.390	-1.343	6.000	0.228	4.000	4.000	0.331	9.001	0

*Примітка: червоним кольором позначені трансекти зі статистично значимими відмінностями

Таблиця 3.11

Опис популяції *N. concinna* за глибинами

Параметр	Середнє значення	Середнє значення	P	Кількість екземплярів	Кількість екземплярів	Стандартне відхилення	Стандартне відхилення	p-рівень значимості
Meek_Бухт a-1L-1 vs. Meek_Бухт a-1L-10	1,036	1,267	0,017	120	70	0,562	0,749	0,006
Meek_Бухт a-1L-1 vs. Meek_Бухт a-1L-15	1,036	2,079	0	120	49	0,562	1,254	0
Meek_Бухт a-1L-1 vs. Meek_Рене p-2L-1	1,036	1,518	0	120	33	0,562	0,626	0,408
Meek_Бухт a-1L-1 vs. Meek_Рене p-2L-5	1,036	1,433	0	120	81	0,562	0,873	0
Meek_Бухт a-1L-1 vs. Meek_Рене p-2L-10	1,036	3,012	0	120	6	0,562	0,383	0,394
Meek_Бухт a-1L-1 vs. Stella 1-1L-1	1,036	1,786	0	120	53	0,562	0,712	0,037
Meek_Бухт a-1L-1 vs. Stella 1-1L-5	1,036	1,547	0	120	69	0,562	0,675	0,082
Meek_Бухт	1,036	1,753	0	120	136	0,562	0,843	0

a-1L-1 vs. Stella 1-1L-10								
Meek_Бyxт a-1L-1 vs. Stella 2-1L-1	1,036	1,794	0	120	57	0,562	1,041	0
Meek_Бyxт a-1L-1 vs. Stella 2-1L-5	1,036	1,897	0	120	130	0,562	0,991	0
Meek_Бyxт a-1L-1 vs. Stella 2-1L-10	1,036	1,679	0	120	42	0,562	0,699	0,073
Meek_Бyxт a-1L-10 vs. Meek_Бyxт a-1L-15	1,267	2,079	0	70	49	0,749	1,254	0
Meek_Бyxт a-1L-10 vs. Meek_Pene p-2L-1	1,267	1,518	0,098	70	33	0,749	0,626	0,262
Meek_Бyxт a-1L-10 vs. Meek_Pene p-2L-5	1,267	1,433	0,213	70	81	0,749	0,873	0,195
Meek_Бyxт a-1L-10 vs. Meek_Pene p-2L-10	1,267	3,012	0	70	6	0,749	0,383	0,134
Meek_Бyxт a-1L-10 vs. Stella 1-1L-1	1,267	1,786	0	70	53	0,749	0,712	0,701
Meek_Бyxт a-1L-10 vs. Stella 1-1L-5	1,267	1,547	0,022	70	69	0,749	0,675	0,389
Meek_Бyxт a-1L-10 vs. Stella 1-1L-10	1,267	1,753	0	70	136	0,749	0,843	0,279
Meek_Бyxт a-1L-10 vs. Stella 2-1L-1	1,267	1,794	0,001	70	57	0,749	1,041	0,009
Meek_Бyxт a-1L-10 vs. Stella 2-1L-	1,267	1,897	0	70	130	0,749	0,991	0,011

5								
Meek_Byxt a-1L-10 vs. Stella 2-1L- 10	1,267	1,679	0,005	70	42	0,749	0,699	0,638
Meek_Byxt a-1L-15 vs. Meek_Pene p-2L-1	2,079	1,518	0,020	49	33	1,254	0,626	0
Meek_Byxt a-1L-15 vs. Meek_Pene p-2L-5	2,079	1,433	0	49	81	1,254	0,873	0,004
Meek_Byxt a-1L-15 vs. Meek_Pene p-2L-10	2,079	3,012	0,078	49	6	1,254	0,383	0,014
Meek_Byxt a-1L-15 vs. Stella 1-1L- 1	2,079	1,786	0,146	49	53	1,254	0,712	0
Meek_Byxt a-1L-15 vs. Stella 1-1L- 5	2,079	1,547	0,004	49	69	1,254	0,675	0
Meek_Byxt a-1L-15 vs. Stella 1-1L- 10	2,079	1,753	0,0449	49	136	1,254	0,843	0
Meek_Byxt a-1L-15 vs. Stella 2-1L- 1	2,079	1,794	0,205	49	57	1,254	1,041	0,178
Meek_Byxt a-1L-15 vs. Stella 2-1L- 5	2,079	1,897	0,313	49	130	1,254	0,991	0,039
Meek_Byxt a-1L-15 vs. Stella 2-1L- 10	2,079	1,679	0,069	49	42	1,254	0,699	0
Meek_Pene p-2L-1 vs. Meek_Pene p-2L-5	1,518	1,433	0,614	33	81	0,626	0,873	0,037
Meek_Pene p-2L-1 vs. Meek_Pene p-2L-10	1,518	3,012	0	33	6	0,626	0,383	0,274

Meek_Pene p-2L-1 vs. Stella 1-1L- 1	1,518	1,786	0,079	33	53	0,626	0,712	0,441
Meek_Pene p-2L-1 vs. Stella 1-1L- 5	1,518	1,547	0,839	33	69	0,626	0,675	0,648
Meek_Pene p-2L-1 vs. Stella 1-1L- 10	1,518	1,753	0,135	33	136	0,626	0,843	0,052
Meek_Pene p-2L-1 vs. Stella 2-1L- 1	1,518	1,794	0,169	33	57	0,626	1,041	0,003
Meek_Pene p-2L-1 vs. Stella 2-1L- 5	1,518	1,897	0,038	33	130	0,626	0,991	0,004
Meek_Pene p-2L-1 vs. Stella 2-1L- 10	1,518	1,679	0,305	33	42	0,626	0,699	0,521
Meek_Pene p-2L-5 vs. Meek_Pene p-2L-10	1,433	3,012	0	81	6	0,873	0,382	0,070
Meek_Pene p-2L-5 vs. Stella 1-1L- 1	1,433	1,786	0,015	81	53	0,873	0,712	0,116
Meek_Pene p-2L-5 vs. Stella 1-1L- 5	1,433	1,547	0,383	81	69	0,873	0,675	0,030
Meek_Pene p-2L-5 vs. Stella 1-1L- 10	1,433	1,753	0,008	81	136	0,873	0,843	0,711
Meek_Pene p-2L-5 vs. Stella 2-1L- 1	1,433	1,794	0,029	81	57	0,873	1,041	0,149
Meek_Pene p-2L-5 vs. Stella 2-1L- 5	1,433	1,897	0,001	81	130	0,873	0,991	0,222
Meek_Pene p-2L-5 vs.	1,433	1,679	0,118	81	42	0,873	0,699	0,119

Stella 2-1L-10								
Meek_Pene p-2L-10 vs. Stella 1-1L-1	3,012	1,786	0	6	53	0,383	0,712	0,166
Meek_Pene p-2L-10 vs. Stella 1-1L-5	3,012	1,547	0	6	69	0,383	0,675	0,203
Meek_Pene p-2L-10 vs. Stella 1-1L-10	3,012	1,753	0	6	136	0,383	0,843	0,081
Meek_Pene p-2L-10 vs. Stella 2-1L-1	3,012	1,794	0,006	6	57	0,383	1,041	0,033
Meek_Pene p-2L-10 vs. Stella 2-1L-5	3,012	1,897	0,007	6	130	0,383	0,991	0,040
Meek_Pene p-2L-10 vs. Stella 2-1L-10	3,012	1,679	0	6	42	0,383	0,699	0,179
MP-1L-5 vs. MP-1L-10	1,125	1,478	0,002	81	62	0,652	0,638	0,862
MP-1L-5 vs. MP-1L-15	1,125	2,032	0	81	39	0,652	0,827	0,076
MP-1L-5 vs. MP-2L-5	1,125	1,360	0,031	81	51	0,652	0,519	0,085
MP-1L-5 vs. MP-2L-10	1,125	1,403	0,004	81	126	0,652	0,669	0,819
MP-1L-5 vs. MP-2L-15	1,125	2,065	0	81	159	0,652	0,824	0,021
MP-1L-5 vs. MP-3L-5	1,125	1,477	0	81	93	0,652	0,540	0,082
MP-1L-5 vs. MP-3L-10	1,125	1,480	0,001	81	65	0,652	0,658	0,932
MP-1L-5 vs. MP-3L-15	1,125	2,334	0	81	65	0,652	0,721	0,395
MP-1L-5 vs. Meek_Byxt a-1L-1	1,125	1,036	0,304	81	120	0,652	0,562	0,141
MP-1L-5 vs. Meek_Byxt a-1L-10	1,125	1,267	0,218	81	70	0,652	0,749	0,229
MP-1L-5 vs.	1,125	2,079	0	81	49	0,652	1,254	0

Meek_Byxt a-1L-15								
MP-1L-5 vs. Meek_Pene p-2L-1	1,125	1,518	0,004	81	33	0,652	0,626	0,815
MP-1L-5 vs. Meek_Pene p-2L-5	1,125	1,433	0,011	81	81	0,652	0,873	0,009
MP-1L-5 vs. Meek_Pene p-2L-10	1,125	3,012	0	81	6	0,652	0,383	0,231
MP-1L-5 vs. Stella 1-1L- 1	1,125	1,786	0	81	53	0,652	0,712	0,476
MP-1L-5 vs. Stella 1-1L- 5	1,125	1,547	0	81	69	0,652	0,675	0,763
MP-1L-5 vs. Stella 1-1L- 10	1,125	1,753	0	81	136	0,652	0,843	0,013
MP-1L-5 vs. Stella 2-1L- 1	1,125	1,794	0	81	57	0,652	1,040	0
MP-1L-5 vs. Stella 2-1L- 5	1,125	1,897	0	81	130	0,652	0,991	0
MP-1L-5 vs. Stella 2-1L- 10	1,125	1,679	0	81	42	0,652	0,699	0,587
MP-1L-10 vs. MP-1L- 15	1,478	2,032	0	62	39	0,638	0,827	0,069
MP-1L-10 vs. MP-2L-5	1,478	1,360	0,292	62	51	0,638	0,519	0,136
MP-1L-10 vs. MP-2L- 10	1,478	1,403	0,464	62	126	0,638	0,669	0,692
MP-1L-10 vs. MP-2L- 15	1,478	2,066	0	62	159	0,638	0,824	0,024
MP-1L-10 vs. MP-3L-5	1,478	1,477	0,991	62	93	0,638	0,540	0,149
MP-1L-10 vs. MP-3L- 10	1,478	1,480	0,982	62	65	0,638	0,658	0,807
MP-1L-10 vs. MP-3L- 15	1,478	2,334	0	62	65	0,638	0,721	0,339
MP-1L-10 vs.	1,478	1,036	0	62	120	0,638	0,562	0,243

Meek_Byxt a-1L-1								
MP-1L-10 vs. Meek_Byxt a-1L-10	1,478	1,267	0,086	62	70	0,638	0,749	0,199
MP-1L-10 vs. Meek_Byxt a-1L-15	1,478	2,079	0,001	62	49	0,638	1,254	0
MP-1L-10 vs. Meek_Pene p-2L-1	1,478	1,518	0,769	62	33	0,638	0,626	0,928
MP-1L-10 vs. Meek_Pene p-2L-5	1,478	1,433	0,736	62	81	0,638	0,873	0,011
MP-1L-10 vs. Meek_Pene p-2L-10	1,478	3,012	0	62	6	0,638	0,383	0,252
MP-1L-10 vs. Stella 1- 1L-1	1,478	1,786	0,016	62	53	0,638	0,712	0,409
MP-1L-10 vs. Stella 1- 1L-5	1,478	1,547	0,552	62	69	0,638	0,675	0,654
MP-1L-10 vs. Stella 1- 1L-10	1,478	1,753	0,023	62	136	0,638	0,843	0,015
MP-1L-10 vs. Stella 2- 1L-1	1,478	1,794	0,046	62	57	0,6378	1,041	0
MP-1L-10 vs. Stella 2- 1L-5	1,478	1,897	0,003	62	130	0,638	0,991	0
MP-1L-10 vs. Stella 2- 1L-10	1,478	1,679	0,133	62	42	0,638	0,699	0,508
MP-1L-15 vs. MP-2L-5	2,032	1,360	0	39	51	0,827	0,519	0,002
MP-1L-15 vs. MP-2L- 15	2,032	2,066	0,817	39	159	0,827	0,824	0,931
MP-1L-15 vs. MP-3L-5	2,032	1,477	0	39	93	0,827	0,540	0,001
MP-1L-15 vs. MP-3L- 10	2,032	1,480	0	39	65	0,827	0,658	0,105

MP-1L-15 vs. MP-3L-15	2,032	2,334	0,053	39	65	0,827	0,721	0,326
MP-1L-15 vs. Meek_Byxt a-1L-1	2,032	1,036	0	39	120	0,827	0,562	0,002
MP-1L-15 vs. Meek_Byxt a-1L-10	2,032	1,267	0	39	70	0,827	0,749	0,471
MP-1L-15 vs. Meek_Byxt a-1L-15	2,032	2,079	0,839	39	49	0,827	1,254	0,009
MP-1L-15 vs. Meek_Pene p-2L-1	2,032	1,518	0,005	39	33	0,827	0,626	0,109
MP-1L-15 vs. Meek_Pene p-2L-5	2,032	1,433	0,001	39	81	0,827	0,873	0,725
MP-1L-15 vs. Meek_Pene p-2L-10	2,032	3,012	0,007	39	6	0,827	0,383	0,091
MP-1L-15 vs. Stella 1-1L-1	2,032	1,786	0,131	39	53	0,827	0,712	0,311
MP-1L-15 vs. Stella 1-1L-5	2,032	1,547	0,001	39	69	0,827	0,675	0,144
MP-1L-15 vs. Stella 1-1L-10	2,032	1,753	0,069	39	136	0,827	0,843	0,923
MP-1L-15 vs. Stella 2-1L-1	2,032	1,794	0,238	39	57	0,827	1,041	0,137
MP-1L-15 vs. Stella 2-1L-5	2,032	1,897	0,443	39	130	0,827	0,991	0,199
MP-1L-15 vs. Stella 2-1L-10	2,032	1,679	0,041	39	42	0,827	0,699	0,292
MP-2L-5 vs. MP-2L-10	1,360	1,403	0,685	51	126	0,519	0,669	0,044
MP-2L-5 vs. MP-2L-15	1,360	2,066	0	51	159	0,519	0,824	0
MP-2L-5 vs.	1,360	1,477	0,212	51	93	0,519	0,540	0,769

MP-3L-5								
MP-2L-5 vs. MP-3L-10	1,360	1,480	0,288	51	65	0,519	0,658	0,083
MP-2L-5 vs. MP-3L-15	1,360	2,334	0	51	65	0,519	0,721	0,017
MP-2L-5 vs. Meek_Бухт a-1L-1	1,360	1,036	0,001	51	120	0,519	0,562	0,533
MP-2L-5 vs. Meek_Бухт a-1L-10	1,360	1,267	0,443	51	70	0,519	0,749	0,007
MP-2L-5 vs. Meek_Бухт a-1L-15	1,360	2,079	0	51	49	0,519	1,254	0
MP-2L-5 vs. Meek_Pene p-2L-1	1,360	1,518	0,214	51	33	0,519	0,626	0,233
MP-2L-5 vs. Meek_Pene p-2L-5	1,360	1,433	0,590	51	81	0,519	0,873	0
MP-2L-5 vs. Meek_Pene p-2L-10	1,360	3,012	0	51	6	0,519	0,383	0,514
MP-2L-5 vs. Stella 1-1L- 1	1,360	1,786	0,001	51	53	0,519	0,712	0,027
MP-2L-5 vs. Stella 1-1L- 5	1,360	1,547	0,103	51	69	0,519	0,675	0,053
MP-2L-5 vs. Stella 1-1L- 10	1,360	1,753	0,002	51	136	0,519	0,843	0
MP-2L-5 vs. Stella 2-1L- 1	1,360	1,794	0,008	51	57	0,519	1,041	0
MP-2L-5 vs. Stella 2-1L- 5	1,360	1,897	0	51	130	0,519	0,991	0
MP-2L-5 vs. Stella 2-1L- 10	1,360	1,679	0,014	51	42	0,519	0,699	0,046
MP-2L-10 vs. MP-2L- 15	1,403	2,066	0	126	159	0,669	0,824	0,015
MP-2L-10 vs. MP-3L-5	1,403	1,477	0,382	126	93	0,669	0,540	0,032
MP-2L-10 vs. MP-3L- 10	1,403	1,480	0,446	126	65	0,669	0,658	0,905
MP-2L-10	1,403	2,334	0	126	65	0,669	0,721	0,473

vs. MP-3L-15								
MP-2L-10 vs. Meek_Byxt a-1L-1	1,403	1,036	0	126	120	0,669	0,562	0,058
MP-2L-10 vs. Meek_Byxt a-1L-10	1,403	1,267	0,192	126	70	0,669	0,749	0,268
MP-2L-10 vs. Meek_Byxt a-1L-15	1,403	2,079	0	126	49	0,669	1,254	0
MP-2L-10 vs. Meek_Pene p-2L-1	1,403	1,518	0,373	126	33	0,669	0,626	0,684
MP-2L-10 vs. Meek_Pene p-2L-5	1,403	1,433	0,776	126	81	0,669	0,873	0,007
MP-2L-10 vs. Meek_Pene p-2L-10	1,403	3,012	0	126	6	0,669	0,383	0,209
MP-2L-10 vs. Stella 1-1L-1	1,403	1,786	0,001	126	53	0,669	0,712	0,568
MP-2L-10 vs. Stella 1-1L-5	1,403	1,547	0,154	126	69	0,669	0,675	0,909
MP-2L-10 vs. Stella 1-1L-10	1,403	1,753	0	126	136	0,669	0,843	0,009
MP-2L-10 vs. Stella 2-1L-1	1,403	1,794	0,003	126	57	0,669	1,041	0
MP-2L-10 vs. Stella 2-1L-5	1,403	1,897	0	126	130	0,669	0,991	0
MP-2L-10 vs. Stella 2-1L-10	1,403	1,679	0,023	126	42	0,669	0,699	0,691
MP-2L-15 vs. MP-3L-5	2,066	1,477	0	159	93	0,824	0,540	0
MP-2L-15 vs. MP-3L-10	2,066	1,480	0	159	65	0,824	0,658	0,042
MP-2L-15	2,066	2,334	0,023	159	65	0,824	0,721	0,224

vs. MP-3L-15								
MP-2L-15 vs. Meek_Byxt a-1L-1	2,066	1,036	0	159	120	0,824	0,562	0
MP-2L-15 vs. Meek_Byxt a-1L-10	2,066	1,267	0	159	70	0,824	0,749	0,378
MP-2L-15 vs. Meek_Byxt a-1L-15	2,066	2,079	0,932	159	49	0,824	1,254	0
MP-2L-15 vs. Meek_Pene p-2L-1	2,066	1,518	0	159	33	0,824	0,626	0,069
MP-2L-15 vs. Meek_Pene p-2L-5	2,066	1,433	0	159	81	0,824	0,873	0,530
MP-2L-15 vs. Meek_Pene p-2L-10	2,066	3,012	0,006	159	6	0,824	0,383	0,089
MP-2L-15 vs. Stella 1- 1L-1	2,066	1,786	0,028	159	53	0,824	0,712	0,224
MP-2L-15 vs. Stella 1- 1L-5	2,066	1,547	0	159	69	0,824	0,675	0,064
MP-2L-15 vs. Stella 1- 1L-10	2,066	1,753	0,001	159	136	0,824	0,843	0,774
MP-2L-15 vs. Stella 2- 1L-1	2,066	1,794	0,048	159	57	0,824	1,041	0,026
MP-2L-15 vs. Stella 2- 1L-5	2,066	1,897	0,116	159	130	0,824	0,991	0,027
MP-2L-15 vs. Stella 2- 1L-10	2,066	1,679	0,006	159	42	0,824	0,699	0,220
MP-3L-5 vs. MP-3L-10	1,477	1,480	0,969	93	65	0,540	0,658	0,083
MP-3L-5 vs. MP-3L-15	1,477	2,334	0	93	65	0,540	0,721	0,011
MP-3L-5 vs. Meek_Byxt	1,477	1,036	0	93	120	0,540	0,562	0,694

a-1L-1								
MP-3L-5 vs. Meek_Byxt a-1L-10	1,477	1,267	0,039	93	70	0,540	0,749	0,003
MP-3L-5 vs. Meek_Byxt a-1L-15	1,477	2,079	0	93	49	0,540	1,254	0
MP-3L-5 vs. Meek_Pene p-2L-1	1,477	1,518	0,718	93	33	0,540	0,626	0,282
MP-3L-5 vs. Meek_Pene p-2L-5	1,477	1,433	0,691	93	81	0,540	0,873	0
MP-3L-5 vs. Meek_Pene p-2L-10	1,477	3,012	0	93	6	0,540	0,383	0,450
MP-3L-5 vs. Stella 1-1L- 1	1,477	1,786	0,004	93	53	0,540	0,712	0,021
MP-3L-5 vs. Stella 1-1L- 5	1,477	1,547	0,467	93	69	0,540	0,675	0,047
MP-3L-5 vs. Stella 1-1L- 10	1,477	1,753	0,006	93	136	0,540	0,843	0
MP-3L-5 vs. Stella 2-1L- 1	1,477	1,794	0,015	93	57	0,540	1,041	0
MP-3L-5 vs. Stella 2-1L- 5	1,477	1,897	0	93	130	0,540	0,991	0
MP-3L-5 vs. Stella 2-1L- 10	1,477	1,679	0,069	93	42	0,540	0,699	0,043
MP-3L-10 vs. MP-3L- 15	1,480	2,334	0	65	65	0,658	0,721	0,470
MP-3L-10 vs. Meek_Byxt a-1L-1	1,480	1,036	0	65	120	0,658	0,562	0,140
MP-3L-10 vs. Meek_Byxt a-1L-10	1,480	1,267	0,081	65	70	0,658	0,749	0,294
MP-3L-10 vs. Meek_Byxt a-1L-15	1,480	2,079	0,001	65	49	0,658	1,254	0
MP-3L-10	1,480	1,518	0,786	65	33	0,658	0,626	0,771

vs. Meek_Pene p-2L-1								
MP-3L-10 vs. Meek_Pene p-2L-5	1,480	1,433	0,719	65	81	0,658	0,873	0,019
MP-3L-10 vs. Meek_Pene p-2L-10	1,480	3,012	0	65	6	0,658	0,383	0,224
MP-3L-10 vs. Stella 1- 1L-1	1,480	1,786	0,017	65	53	0,658	0,712	0,549
MP-3L-10 vs. Stella 1- 1L-5	1,480	1,547	0,568	65	69	0,659	0,676	0,839
MP-3L-10 vs. Stella 1- 1L-10	1,480	1,753	0,023	65	136	0,658	0,843	0,028
MP-3L-10 vs. Stella 2- 1L-1	1,480	1,794	0,046	65	57	0,658	1,041	0
MP-3L-10 vs. Stella 2- 1L-5	1,480	1,897	0,002	65	130	0,658	0,991	0
MP-3L-10 vs. Stella 2- 1L-10	1,480	1,679	0,140	65	42	0,658	0,699	0,654
MP-3L-15 vs. Meek_Byxt a-1L-1	2,334	1,036	0	65	120	0,721	0,562	0,019
MP-3L-15 vs. Meek_Byxt a-1L-10	2,334	1,267	0	65	70	0,721	0,749	0,752
MP-3L-15 vs. Meek_Byxt a-1L-15	2,334	2,079	0,173	65	49	0,721	1,254	0
MP-3L-15 vs. Meek_Pene p-2L-1	2,334	1,518	0	65	33	0,721	0,626	0,386
MP-3L-15 vs. Meek_Pene p-2L-5	2,334	1,433	0	65	81	0,721	0,873	0,112
MP-3L-15	2,334	3,012	0,027	65	6	0,721	0,383	0,157

vs. Meek_Pene p-2L-10								
MP-3L-15 vs. Stella 1- 1L-1	2,334	1,79	0	65	53	0,721	0,712	0,932
MP-3L-15 vs. Stella 1- 1L-5	2,334	1,547	0	65	69	0,721	0,675	0,596
MP-3L-15 vs. Stella 1- 1L-10	2,334	1,753	0	65	136	0,721	0,843	0,161
MP-3L-15 vs. Stella 2- 1L-1	2,334	1,794	0,001	65	57	0,721	1,041	0,005
MP-3L-15 vs. Stella 2- 1L-5	2,334	1,897	0,002	65	130	0,721	0,991	0,005
MP-3L-15 vs. Stella 2- 1L-10	2,334	1,679	0	65	42	0,721	0,699	0,848
Stella 1-1L- 1 vs. Stella 1-1L-5	1,786	1,547	0,060	53	69	0,712	0,675	0,678
Stella 1-1L- 1 vs. Stella 1-1L-10	1,786	1,753	0,802	53	136	0,712	0,843	0,164
Stella 1-1L- 1 vs. Stella 2-1L-1	1,786	1,794	0,961	53	57	0,712	1,041	0,006
Stella 1-1L- 1 vs. Stella 2-1L-5	1,786	1,897	0,458	53	130	0,712	0,991	0,008
Stella 1-1L- 1 vs. Stella 2-1L-10	1,786	1,679	0,464	53	42	0,712	0,699	0,914
Stella 1-1L- 5 vs. Stella 1-1L-10	1,547	1,753	0,079	69	136	0,675	0,843	0,043
Stella 1-1L- 5 vs. Stella 2-1L-1	1,547	1,794	0,109	69	57	0,675	1,041	0,001
Stella 1-1L- 5 vs. Stella 2-1L-5	1,547	1,897	0,009	69	130	0,675	0,991	0,001
Stella 1-1L- 5 vs. Stella 2-1L-10	1,547	1,679	0,325	69	42	0,675	0,699	0,785

Stella 1-1L-10 vs. Stella 2-1L-1	1,753	1,794	0,773	136	57	0,843	1,041	0,052
Stella 1-1L-10 vs. Stella 2-1L-5	1,753	1,897	0,201	136	130	0,843	0,991	0,065
Stella 1-1L-10 vs. Stella 2-1L-10	1,753	1,679	0,605	136	42	0,843	0,699	0,166
Stella 2-1L-1 vs. Stella 2-1L-5	1,794	1,897	0,519	57	130	1,041	0,991	0,641
Stella 2-1L-1 vs. Stella 2-1L-10	1,794	1,679	0,535	57	42	1,041	0,699	0,009
Stella 2-1L-5 vs. Stella 2-1L-10	1,897	1,679	0,186	130	42	0,991	0,699	0,012

*Примітка: червоним кольором позначено статистично значимі відмінності між трансектами

Таблиця 3.21

Властивості ізолюваних чистих культур зі зразків 2018 року

№ п/п	Код штаму	Тип клітинної стінки	Форма клітин	Колір колонії	Наявність агаролітичних ферментів	Наявність оксидази	Зразок, з якого був ізолюваний мікроорганізм
1	2/6	Г ⁻	коки	-----	-	+	Зразок №2. Marine Point, h=15 м, доставка при +6 ⁰ С, 2 морфотип
2	4/4	Г ⁺	коки	невелика блідо-рожева	-	-	Зразок №4. Marina Point, h=14 м, доставка при -20 ⁰ С, 1 морфотип
3	1/1	Г ⁻	коки	безбарвна	+	+	Зразок №1. Акваторія о. Уругвай, h=16 м, 7.04.2018, доставка

							при -20 ⁰ С, 2 морфотип
4	2/4	Г ⁻	коки	безбарвна	+	+	Зразок №2. Marine Point, h=15 м, доставка при +6 ⁰ С, 2 морфотип
5	6/1	Г ⁻	коки	-----	-	+	Зразок № 6. Marina Point, h=7 м, доставка при -20 ⁰ С, 3 морфотип
6	1/7	Г ⁻	короткі палички	-----	-	+	Зразок №1. Акваторія о. Уругвай, h=16 м, 7.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 2 морфотип
7	3/3	Г ⁻	тонкі палички	безбарвна	+	+	Зразок №3. Змив з раковини зразка №1, 2 морфотип
8	1/3	Г ⁻	короткі палички	безбарвна	+	+	Зразок №1. Акваторія о. Уругвай, h=16 м, 7.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 2 морфотип
9	1/11	Г ⁻	короткі палички	-----	-	+	Зразок №1. Акваторія о. Уругвай, h=16 м, 7.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 2 морфотип
10	1/9	Г ⁻	короткі палички	-----	-	+	Зразок №1. Акваторія о. Уругвай, h=16 м, 7.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 2 морфотип

11	1/12	Г ⁺	коки	-----	-	+	Зразок №1. Акваторія о. Уругвай, h=16 м, 7.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 2 морфотип
12	5/5	Г ⁻	тонкі паличк и	велика, яєшнеподібн а, прозора	+	+	Зразок №5. Stella Creek, h=1 м, 9.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 1 морфотип
13	1/2	Г ⁻	тонкі паличк и	безбарвна	+	+	Зразок №1. Акваторія о. Уругвай, h=16 м, 7.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 2 морфотип
14	2/9	Г ⁻	коки	-----	-	+	Зразок №2. Marine Point, h=15 м, доставка при +6 ⁰ С, 2 морфотип
15	7/1	Г ⁻	дуже короткі паличк и	-----	-	+	Зразок № 7. Scua Creek, h=8 м, 8.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 3 морфотип
16	3/2	Г ⁻	короткі паличк и	безбарвна	+	+	Зразок №3. Змив з раковини зразка №1, 2 морфотип
17	2/11	Г ⁻	дрібні коки	-----	-	+	Зразок №2. Marine Point, h=15 м, доставка при +6 ⁰ С, 2 морфотип
18	5/1	Г ⁺	коки	безбарвна, прозора з нерівним	+	+	Зразок №5. Stella Creek, h=1

				краєм			м, 9.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 1 морфотип
19	5/2	Г ⁺	коки	яскраво- помаранчева, велика	-	+	Зразок №5. Stella Creek, h=1 м, 9.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 1 морфотип
20	5/6	Г ⁺	коки	бежева, невелика	-	+	Зразок №5. Stella Creek, h=1 м, 9.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 1 морфотип
21	2/7	Г ⁻	коки	-----	-	+	Зразок №2. Marine Point, h=15 м, доставка при +6 ⁰ С, 2 морфотип
22	2/12	Г ⁻	тонкі паличк и	червона		+	Зразок №2. Marine Point, h=15 м, доставка при +6 ⁰ С, 2 морфотип
23	3/1	Г ⁻	тонкі паличк и	безбарвна	+	+	Зразок №3. Змив з раковини зразка №1, 2 морфотип
24	3/4	Г ⁻	тонкі паличк и	безбарвна	+	+	Зразок №3. Змив з раковини зразка №1, 2 морфотип
25	5/3	Г ⁺	паличк и	яскраво- жовта	-	-	Зразок №5. Stella Creek, h=1 м, 9.04.2018, доставка при -20 ⁰ С, 1

							морфотип
26	4/2	Γ^+	коки	безбарвна, прозора, яєшнеподібна	+	+	Зразок №4. Marina Point, h=14 м, доставка при -20°C, 1 морфотип
27	5/4	Γ^+	коки	безбарвна, прозора, з нерівним краєм, яєшнеподібна	+	+	Зразок №5. Stella Creek, h=1 м, 9.04.2018, доставка при -20°C, 1 морфотип

Таблиця 3.22

Властивості ізолюваних чистих культур зі зразків 2019 року

№ п/ п	Код шта му	Тип клітин ної стілки	Форма клітин и	Колір колонії	Наявність агароліти чних ферментів	Наявність оксидаз и	Зразок, з якого був ізолюваний мікроорганізм
1	12b/ 1	Γ^-	дрібні тонкі палички	прозора, бежева	-	+	Skua Creek, h=6 м, 3.03.2019, молюск, доставка при +3°C, морфотип 1
2	12b/ 2	Γ^-	тонкі палички	персиково- рожева	+	+	Skua Creek, h=6 м, 3.03.2019, молюск, доставка при +3°C, морфотип 1
3	12b/ 3	Γ^-	коки	молочна	-	+	Skua Creek, h=6 м, 3.03.2019, молюск, доставка при +3°C, морфотип 1
4	12b/ 4	Γ^-	тонкі палички	персикова	-	+	Skua Creek, h=6 м, 3.03.2019, молюск, доставка при +3°C, морфотип 1
5	5b/1	Γ^-	короткі палички	прозора бежева	-	++	Meek Channel, h= 1 м, 9.03.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
6	5b/2	Γ^+	тонкі короткі палички	молочна	-	+	Meek Channel, h= 1 м, 9.03.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
7	2b/1	Γ^-	тонкі дрібні	персикова з прозорим	-	+	Meek Channel, Grotto, h= 8 м,

			палички	краєм			9.03.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
8	2b/2	Г ⁻	короткі палички	молочна	-	+	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 9.03.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
9	2b/3	Г ⁻	дрібні тонкі палички	прозора бежева	-	+	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 9.03.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
10	2b/4	Г ⁻	дрібні тонкі палички	помаранчев а напівпрозор а	-	+	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 9.03.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
11	2b/5	Г ⁻	тонкі довгі палички	персикова	-	+	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 9.03.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
12	10c/1	Г ⁻	короткі товсті палички	маленька молочна	-	+	Акваторія Marina Point, h= 10 м, скала, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 3
13	1a/1	Г ⁻	дрібні коки	жовта	-	-	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 9.03.19, донні осади, доставка при +3°C
14	10c/3	Г ⁻	тонкі дрібні палички	молочна	+	+	Акваторія Marina Point, h= 10 м, скала, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 3
15	9c/1	Г ⁻	коки	молочна	-	+	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 2.04.19, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 2
16	9c/2	Г ⁻	дрібні коки	бежева	-	+	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 2.04.19, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 2
17	9c/3	Г ⁻	коки	молочна	-	+	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 2.04.19, кишкова трубка, доставка при

							+3°C, морфотип 2
18	15c/1	Г ⁺	коки	молочна шкіряста	-	+	Skua Creek, h=3 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 1
19	15c/2	Г ⁻	дрібні коротк і паличк и	бежева прозора	-	+	Skua Creek, h=3 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 1
20	15c/3	Г ⁺	крупні коки	молочна	-	+	Skua Creek, h=3 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 1
21	15c/4	Г ⁻	крупні коки	бежева яєшнеподіб на	-	+	Skua Creek, h=3 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 1
22	13c/1	Г ⁺	коки	помаранчев а	-	-	Skua Creek, h= 6 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 2
23	13c/2	Г ⁻	коротк і паличк и	молочна	-	+	Skua Creek, h= 6 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 2
24	13c/3	Г ⁺	тонкі дрібні паличк и	бежева яєшнеподіб на	-	+	Skua Creek, h= 6 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 2
25	8b/2	Г ⁻	коротк і паличк и	молочна	-	+	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 2.04.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
26	8b/3	Г ⁻	дрібні тонкі коротк і паличк и	прозора бежева	-	++	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 2.04.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
27	8b/1	Г ⁻	дрібні паличк и	насичена персикова	-		Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 2.04.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
28	16b/ 1	Г ⁻	тонкі дрібні паличк и	бежева	+	+	Skua Creek, h= 5 м, молюск, морфотип 1, доставка при +3°C
29	8a/1	Г ⁺	коротк	молочна	-	+	Skua Creek, h= 10 м,

			і паличк и				донні осади, доставка при +3°C
30	8a/2	Г ⁻	паличк и	жовта	-	+	Skua Creek, h= 10 м, донні осади, доставка при +3°C
31	7a/7	Г ⁻	тонкі паличк и		-	+	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 3, донні осади, доставка при +3°C
32	17b/ 1	Г ⁻	коки	молочна	-	++	Skua Creek, h= 3 м, молюск, морфотип 1, доставка при +3°C
33	17b/ 2	Г ⁺	коки	світло- бежева	-	+	Skua Creek, h= 3 м, молюск, морфотип 1, доставка при +3°C
34	17b/ 3	Г ⁻	дрібні паличк и	бежева	-	+	Skua Creek, h= 3 м, молюск, морфотип 1, доставка при +3°C
35	17a/5	Г ⁻	тонкі паличк и	бежева прозора	-		Stella Creek, Галіндез, h= 10 м, донні осади, доставка при +3°C
36	6b/2	Г ⁻	коротк і дрібні паличк и	світло- бежева напівпрозор а	-	+	Meek Channel, h= 10, 9.03.19, молюск, доставка при +3°C
37	13b/ 1	Г ⁺	коки	велика молочна	+	++	Stella Creek, труба, h= 3 м, молюск, морфотип 3, доставка при +3°C
38	13b/ 2	Г ⁻	паличк и	велика персикова	-	+	Stella Creek, труба, h= 3 м, молюск, морфотип 3, доставка при +3°C
39	13b/ 3	Г ⁻	тонкі дрібні паличк и	персикова маленька	-	+	Stella Creek, труба, h= 3 м, молюск, морфотип 3, доставка при +3°C
40	7b/1	Г ⁺	коки	прозора повзуча амебоподіб на	-		Акваторія Marina Point, h= 10 м, скеля, молюск, морфотип 3, доставка при +3°C
41	10b/ 1	Г ⁻	паличк и	бежева з прозорими краями	-	+	Акваторія Marina Point, h= 5 м, скеля, молюск, морфотип 3, доставка при +3°C
42	10b/ 2	Г ⁺	коки	молочна	-	+	Акваторія Marina Point, h= 5 м, скеля,

							молюск, морфотип 3, доставка при +3°C
43	3b/1	Г ⁺	коки	молочна з сухою поверхнею	-		Акваторія Pitt Island, h= 12 м, 1.03.19, молюск, морфотип 2, доставка при +3°C
44	9b/1	Г ⁺	довгі палички	велика сонцеподібна молочного кольору	-	+	Акваторія Marina Point, h= 1 м, скеля, молюск, морфотип 1, доставка при +3°C
45	13c/4	Г ⁺	коки	молочна	-	++	Skua Creek, h= 6 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 2
46	13c/5	Г ⁻	короткі палички	бежева	-	++	Skua Creek, h= 6 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 2
47	13c/6	Г ⁻	тонкі палички	маленька персикова	-	++	Skua Creek, h= 6 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 2
48	16c/1	Г ⁻	тонкі палички	рожева	+	+	Stella Creek, h= 1 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 3
49	16c/2	Г ⁻	короткі дрібні палички	жовта	-	+	Stella Creek, h= 1 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 3
50	5c/1	Г ⁻	дрібні палички	прозора бежева	-	+	Meek Channel, h= 5 м, 9.03.19, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 2
51	5c/2	Г ⁻	дрібні коки	молочна	-	-	Meek Channel, h= 5 м, 9.03.19, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 2
52	6c/1	Г ⁻	короткі дрібні палички	молочна	-	+	Meek Channel, h= 1 м, 9.03.19, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 1
53	6c/2	Г ⁻	дрібні коки	бежева прозора	-	+	Meek Channel, h= 1 м, 9.03.19, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 1
54	4c/2	Г ⁺	коки	молочна шкіряста	-	+	h= 1 м, кишкова трубка, доставка при

							+3°C, морфотип 3
55	4c/3	Г ⁺	коки	молочна глянцева	-	+	h= 1 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 3
56	4c/1	Г ⁻	коки	маленька молочна	-	+	h= 1 м, кишкова трубка, доставка при +3°C, морфотип 3
57	3a/1	Г ⁻	тонкі палички	рожева	-	+	Meek Channel, h= 10 м, 9.03.19, донні осади, доставка при +3°C
58	3a/2	Г ⁻	дрібні палички	молочна	-	+	Meek Channel, h= 10 м, 9.03.19, донні осади, доставка при +3°C
59	3a/3	Г ⁻	короткі палички	світло- бежева прозора	-	+	Meek Channel, h= 10 м, 9.03.19, донні осади, доставка при +3°C
60	16a/1	Г ⁻	короткі дрібні палички	молочна велика	-	+	Stella Creek, Tumb, h= 5 м, донні осади, доставка при +3°C
61	16a/2	Г ⁻	тонкі довгі палички	персикова	-		Stella Creek, Tumb, h= 5 м, донні осади, доставка при +3°C
62	6a/4	Г ⁻	дрібні коки	жовта	-	+	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 2, донні осади, доставка при +3°C
63	6a/5	Г ⁻	дрібні коки	молочна	-		Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 2, донні осади, доставка при +3°C
64	16b/ 5	Г ⁻	короткі палички	молочна глянцева	-	+	Skua Creek, h= 5 м, молюск, морфотип 1, доставка при +3°C
65	5a/4	Г ⁻	короткі і тонкі палички	велика молочна	+	+	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 1, донні осади, доставка при +3°C
66	6a/7	Г ⁻	коки	бежева прозора	-	+	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 2, донні осади, доставка при

							+3°C
67	7a/3	Г ⁻	коротк і паличк и	велика молочна	+	+	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 3, донні осади, доставка при +3°C
68	7a/4	Г ⁻	коротк і дрібні паличк и	бежева глянцева	-		Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 3, донні осади, доставка при +3°C
69	7a/2	Г ⁻	дрібні паличк и	маленька бежева	-	+	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 3, донні осади, доставка при +3°C
70	6a/3	Г ⁻	крупні коки	маленька персикова	-		Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 2, донні осади, доставка при +3°C
71	16b/ 6	Г ⁺	коки	молочна матова	-	+	Skua Creek, h= 5 м, молюск, морфотип 1, доставка при +3°C
72	5a/1	Г ⁻	тонкі дрібні паличк и	бежева	-		Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 1, донні осади, доставка при +3°C
73	5a/2	Г ⁻	коки	бежева прозора	-	+	Спуск 5, Skua Creek, Winter (яма), sediments 1, донні осади, доставка при +3°C
74	10a/4	Г ⁻	коки	бежева	-		Skua Creek, h= 6 м, донні осади, доставка при +3°C
75	12a/1	Г ⁺	коки	жовта	-	-	Stella Creek, h= 10 м, донні осади, доставка при +3°C
76	15a/1	Г ⁻	коротк і тонкі паличк и	бежева напівпрозор а	-		Stella Creek, h= 10 м, донні осади, доставка при +3°C
77	17a/3	Г ⁻	товсті паличк и	молочна	-	-	Stella Creek, Галіндез, h= 10 м, донні осади, доставка при +3°C
78	10a/1	Г ⁻	коки	бежева шкіряста	-		Skua Creek, h= 6 м, донні осади, доставка при +3°C

79	10a/3	Г ⁻	дуже дрібні короткі палички	жовта	-	+	Skua Creek, h= 6 м, донні осади, доставка при +3°C
80	10a/5	Г ⁻	тонкі дрібні палички	молочна	-	-	Skua Creek, h= 6 м, донні осади, доставка при +3°C
81	1a/2	Г ⁻	короткі палички	молочна	-	+	Meek Channel, Grotto, h= 8 м, 9.03.19, донні осади, доставка при +3°C

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

(* - особистий внесок здобувача)

Публікації у наукових фахових виданнях України:

1. Berezkina, A., Shrestha, M., Sinna, O., Shmyrov, D., Utevsky, A. (2018). The distribution of the Antarctic limpet *Nacella concinna* (Nacellidae) on underwater landscapes of the Meek Channel, Argentine Islands, Graham Land. *Ukrainian Antarctic Journal*, 1(17), 102-112. DOI: [https://doi.org/10.33275/1727-7485.1\(17\).2018.35](https://doi.org/10.33275/1727-7485.1(17).2018.35) (Автором виконано опис результатів, узагальнення та представлення результатів).
- 1a. Парнікоза, І., Березкіна, А., Моїсеєнко, Є., Маланчук, В., Кунах, В. (2018). Комплексна характеристика району Аргентинських островів та острова Галіндез (Морська Антарктика) як полігону для вивчення динаміки наземної рослинності. *Ukrainian Antarctic Journal*, 1(17), 73-101. DOI: [https://doi.org/10.33275/1727-7485.1\(17\).2018.34](https://doi.org/10.33275/1727-7485.1(17).2018.34) (Автором створено серію картографічних творів наземних екосистем Антарктики, виконано опис складових біотичних та абіотичних компонентів антарктичних екосистем).
2. Утевский, А.Ю., Сенная, Е.И., Берёзкина, А.Е., Шмырев, Д.В., Попов, В.С. (2016). Моделирование наземных и подводных биотопов о. Галиндез (Аргентинские острова, Западная Антарктика) с использованием геоинформационных систем. *Український антарктичний журнал*, 15, 96-105. DOI: <https://doi.org/10.33275/1727-7485.15.2016.95> (Автором виконано обробку матеріалів, прийнято участь в написанні та редагуванні статті).
3. Таширев, А.Б., Таширева, А.А., Березкина, А.Е. (2012). Роль криоценозов в формировании почв на ледниках Западной Антарктики. *Доповіді Національної академії наук України*, 4, 155-161. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/49503> (Автором прийнято участь в написанні та оформленні статті).

**Публікації у науковому фаховому виданні України, що входить до
міжнародної наукометричної бази Scopus:**

4. Авдіюк, К. В., Варбанець, Л. Д., Березкіна, А. Є., Утєвський, А. Ю. (2020). Кератинолітична активність антарктичних штамів бактерій. *Мікробіологічний журнал*, 82(2), 14-21. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.02.014> (Scopus) (Автором виділено чисті антарктичні культури, проведено дослідження їх морфолого-культуральних та деяких фізіолого-біохімічних властивостей).
5. Варбанець, Л. Д., Березкіна, А. Є., Авдіюк, К. В., Гудзенко, О. В., Булигіна, Т. В., Хархота, М. А., Утєвський, А. Ю. (2020). Кератинолітична і α -L-рамнозидазна активність бактеріальних ізолятів, виділених із черевоногих молюсків *Nacella concinna* (Nacellidae) – мешканців Антарктики. *Мікробіологічний журнал*, 82(1), 13-21. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.01.013> (Scopus). (Автором виділено чисті антарктичні культури, проведено дослідження їх морфолого-культуральних та деяких фізіолого-біохімічних властивостей).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Berezkina, A., Kharkhota, M., Varbanets, L., Avdiuk, K., Gudzenko, O., Gorpynchenko, M., Utevsky, A. (2021, June). *Bipolar Distribution of the Some Bacteria Isolated from Antarctic Marine Biotopes*. Paper presented on the World Microbe Forum 2021, Virtual.
7. Berezkina, A.Ye., Kharkhota, M.A., Varbanets, L.D., Avdiuk, K.V., Gudzenko, O.V., Gorpynchenko, M.Yu., Utevsky, A.Yu. (2021). Phylogenetic relationships of the genus *Pseudoalteromonas*, *Psychromonas* and *Oceanobacillus* in the polar regions. *X Міжнародна антарктична конференція* (pp. 39-40). Kyiv, Ukraine.
8. Berezkina, A., & Utevsky, A. (2021). DNA-barcoding of the three morphotypes of the gastropod mollusc *Nacella concinna* in the water area of Wilhelm Archipelago, West Antarctica. *The Malacologist*, 76, 10.
9. Berezkina, A., Kharkhota, M., Kot, Y., Utevsky, A. (2020, February). *Microorganisms from Antarctic benthic biotopes in the water area of the Argentine*

- Islands, Graham Land, West Antarctica*. Paper presented at the Polar ecology conference 2020, České Budějovice, Czech Republic.
10. Berezkina, A., Avdiuk, K., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2020, May). *Bacterial enzymes associated with the gastropod mollusc Nacella concinna from the water area of the Argentine Islands (West Antarctica)*. Paper presented at the 44th Annual Conference of Young Scientists "Cold in Biology and Medicine: Current Problems in Cryobiology, Transplantology, and Biotechnology", Kharkiv, Ukraine.
 11. Berezkina, A., Avdiuk, K., Gudzenko, O., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2020). Bacterial enzymes associated with gastropod mollusc *Nacella concinna* from the water area of the Argentine Islands (West Antarctica). *Probl Cryobiol Cryomed*, 30 (3), 295. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo30.03a.295>.
 12. Berezkina, A., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2020, August). *Phylogeny of the gastropod mollusk Nacella concinna and mollusk-associated bacteria from the water area of the Argentine Islands, Graham Land, West Antarctica*. Paper presented at the SCAR Open Science Conference 2020, Hobart, Tasmania, Australia.
 13. Berezkina, A., Utevsky, A. (2020, November). *DNA-barcoding of the three morphotypes of the gastropod mollusc Nacella concinna in the water area of Wilhelm Archipelago, West Antarctica*. Paper presented at the Molluscan Forum 2020, Virtual.
 14. Berezkina, A., Kharkhota, M., Kot, Yu., Utevsky, A. (2020, November). Bacterial biodiversity of the gastropod *Nacella concinna* and bottom sediments in the water area of the Wilhelm Archipelago, West Antarctica. Paper presented at the II Young scientists conference "Youth and modern problems of microbiology and virology", Kyiv, Ukraine.
 15. Berezkina, A., Kharkhota, M., Utevsky, A. (2019). Microflora of the gastropod mollusk *Nacella concinna* from the Argentine Islands Archipelago water area. *IX International Antarctic Conference* (pp. 204-206). Kyiv, Ukraine.
 16. Fedchuk, A., Parnikoza, I., Kozeretska, I., Berezkina, A., Sinna, O., Utevsky, S., Levenets, V., Utevsky, A., Pshenichnov, L., Demianenko, K., Milinevsky, G.,

- Dykyi, E. (2019). Preliminary proposal for designation of the Antarctic Specially Protected Area in the Argentine Islands Archipelago and nearby Graham Coast Antarctic Peninsula region. *Commission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources meetings* (pp. 1-13). Hobart, Tasmania, Australia.
17. Parnikoza, I., Berezkina, A., Dykyi, Y. (2018). *Current human impact and proposed conservation measures in the area of the Ukrainian Antarctic Station Akademik Vernadsky*. Paper presented at the III International scientific and practical conference; The Natural environment of Antarctica: ecological problems and nature protection, Minsk, Belarus.
18. Parnikoza, I., Berezkina, A., Kozheritska, I., Kunakh, V. (2018, March). *Vegetation mapping on the model Galindez Island as the basis for study of Antarctic terrestrial vegetation dynamics*. Paper presented at the 27th International Polar Conference, Rostock, Germany. URL: https://www.tib.eu/en/suchen/id/awi:doi~10.2312%252FBzPM_0716_2018/
19. Berezkina, A., Moiseyenko, Y., Voronina, K., Utevsky, A. (2018). Antarctic limpet *Nacella concinna* in the coastal waters of the Argentine Islands archipelago. *VII Student Conference: «ACADEMIC AND SCIENTIFIC CHALLENGES IN THE 21ST CENTURY»* (pp. 111-112). Kharkiv, Ukraine.
20. Березкіна, А., Парнікоза, І., Моїсеєнко, Е. (2017). Применение ArcGIS технологий в создании биогеографической карты компонентов наземных экосистем острова Галиндез. *VIII Міжнародна антарктична конференція* (pp. 51-52). Київ, Україна.
21. Парнікоза, І., Березкіна, А., Моїсеєнко, Є., Козерецька, І., Кунах, В. (2017). Детальне картування природних умов Аргентинських островів, як основа для моніторингу динаміки наземної рослинності. *VIII Міжнародна антарктична конференція* (pp. 82-83). Київ, Україна.
22. Berezkina, A., Parnikoza, I., Moiseyenko, Y., Kunakh, V., Kozheritska, I. (2017). Galindez Island as a model area for studying Antarctic terrestrial vegetation dynamics. *12th SCAR Symposium on Antarctic Biology* (p. 251). Leuven, Belgium.

23. Sinna, O., Utevsy, A., Popov, V., Ostroverh, E., Berezkina, A. (2017). Досвід застосування технологій ArcGIS для потреб біогеографічних досліджень у районі о. Галіндез (Аргентинські острови, Західна Антарктика). *IV Міжнародна науково-практична конференція "Геоінформаційні технології у територіальному управлінні та експертних дослідженнях: правові, організаційні, технічні проблеми"* (pp. 134-135). Одеса, Україна.
24. Дикий, И., Утевский, А., Берёзкина, А., Калюжная, Т., Моисеенко, Е. (2014). Создание новых морских охранных районов (МОР) в районе архипелага Аргентинские острова. *I Международная научно-практическая конференция "Биологические исследования в Антарктике"* (pp. 71-73). Нарочь, Республика Беларусь.
25. Дикий, И., Берёзкина, А., Калюжная, Т., Моисеенко, Е. (2014). Криль как основной компонент питания ластоногих в районе архипелага Аргентинских островов. *I Международная научно-практическая конференция "Биологические исследования в Антарктике"* (pp. 67-71). Нарочь, Республика Беларусь.
26. Берёзкина, А.Е., Моисеенко, Е.В., Норчевский, Р.В. (2013). Изучение биоразнообразия архипелага Аргентинских островов с помощью геоинформационных технологий. *VI Міжнародна антарктична конференція* (pp. 74-77). Київ, Україна.