

СВЕТО- И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ПЕЛОБИОНТА *PELOMYXA SECUNDA* (GRUBER, 1884) COMB. NOV.
(ARCHAMOEBAE, PELOBIONTIDA)

© М. А. Бердиева,¹ Л. В. Чистякова,¹ О. А. Митева,²
А. О. Фролов,² А. В. Гудков³

¹ С.-Петербургский государственный университет, ² Зоологический институт РАН
и ³ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: maria.berd4@yandex.ru, pelgood1@gmail.com

На светооптическом и ультраструктурном уровнях изучена морфология пелобиионта *Pelomyxa secunda* (Gruber, 1884) comb. nov. Локомоторные формы вытянутые, сигарообразные. Размерный диапазон движущихся особей составляет 200—300 мкм. Более крупные экземпляры, достигающие до 400 мкм, не способны к направленному перемещению. По бокам тела и на переднем конце могут формироваться небольшие гиалиновые псевдоподии, чаще всего пальцевидной формы. Клеточный покров представлен гликокаликсом аморфного типа толщиной до 300 нм. Под плазмалеммой лежит тонкий слой периферической цитоплазмы, лишенной каких-либо органелл, вакуолей, эндоцитобионтов и другого рода включений и отделенный от остальной массы цитоплазмы слоем микрофиламентов. У *P. secunda* имеется два типа облигатных прокариотных эндоцитобионтов, лежащих в симбионтофорных вакуолях. Ядра гранулярного типа, нуклеосомный материал представлен дискретными структурами двух типов, различающихся по размерам и электронной плотности. С наружной мембраной ядерной оболочки ассоциированы 2—3 слоя коротких микротрубочек, лежащих параллельно друг другу и поверхности ядра. Жгутиков, кинетосом и их корешковых производных не обнаружено.

Ключевые слова: Archamoebae, пелобиионты, *Pelomyxa*, морфология, ультраструктура.

Pelomyxa secunda (Gruber, 1884) — эукариотный микроорганизм, относящийся к семейству Pelomyxidae Schulze, 1877, входящему в состав группировки архамеб (Archamoebae) (Ptáčková et al., 2013). Представители рода *Pelomyxa* — это свободноживущие анаэробные протисты с амебоидным типом клеточной организации, обладающие в большинстве случаев несколькими или многочисленными неподвижными или малоподвижными жгутиками, не участвующими в клеточной локомоции; в жизненном цикле пеломикс, как правило, имеется многоядерная стадия (Griffin, 1988; Гудков и др., 2004; Фролов, 2011; Ptáčková et al., 2013; Чистякова и др., 2014).

После описания Грееффом в 1874 г. типового вида рода *Pelomyxa* — *P. palustris* (Greeff, 1874) — последовали многочисленные работы, посвященные описаниям других видов амебоидных организмов со сходной организацией, относимых к числу пеломикс. В результате уже на рубеже XIX—XX вв. в составе рода *Pelomyxa* насчитывалось более двух десятков самостоятельных видов (Гудков и др., 2004). При этом многие описания были сделаны на основании единичных и весьма неполных наблюдений, часто были малоинформативны и расплывчаты. Поэтому неудивительно, что уже в то время некоторые исследователи высказывали сомнения в отношении

систематической валидности целого ряда таких видов (см., например: Gruber, 1884; Penard, 1902).

Во второй половине XX в. возобладала тенденция к сокращению числа видов, включаемых в состав рода, в первую очередь за счет их синонимизации с типовым видом *P. palustris*. В конечном итоге на достаточно длительное время в научной литературе возобладала концепция монотипии рода *Pelomyxa* (Page, 1976; Whatley, Chapman-Andresen, 1990), несостоятельность которой была доказана лишь относительно недавно.

За последнее десятилетие на территории северо-запада России было найдено десять видов пеломикс. Шесть из них (включая типовой вид) — *P. palustris*, *P. prima*, *P. belevskii*, *P. tertia*, *P. binucleata*, *P. paradoxa* — ранее известные виды, которые были реизолированы из природы, идентифицированы и переописаны на современном уровне (Фролов и др., 2005; Frolov et al., 2005; Фролов, 2011; Чистякова и др., 2014). Остальные четыре вида — *P. corona*, *P. stagnalis*, *P. gruberi* и *P. flava* — оказались новыми для науки (Frolov et al., 2004, 2006; Фролов и др., 2010; Чистякова, Фролов, 2010). Результаты этих исследований со всей очевидностью свидетельствуют о насущной необходимости полного переисследования видового разнообразия представителей рода *Pelomyxa*.

В настоящей работе представлены результаты свето- и электронно-микроскопического исследования морфологии *P. secunda*. Этот организм был описан Грубером в 1884 г. (Gruber, 1884) под названием *Amoeba secunda* и в литературе более позднего времени практически не упоминался.

Материал и методика

Сбор материала проводили в течение летне-осенних периодов в 2010—2013 гг. Отбор проб осуществляли в Цератофиллиевом пруду (парк Сергиевка, Старый Петергоф, Санкт-Петербург) и нескольких небольших водоемах на территории Псковской обл. Указанные биотопы выбирали в соответствии с наиболее характерными условиями обитания пеломикс — пресные стоячие водоемы с большим содержанием разлагающегося органического материала растительного происхождения (Гудков и др., 2004).

Пробы, помещенные в стеклянные и пластиковые сосуды, заполненные водой и содержащие детрит из мест сбора, хранили в холодильнике при 4 °С. Светооптические исследования живых протистов проводили при помощи микроскопа Leica DM2500, снабженного дифференциальным интерференционным контрастом и цифровой камерой для съемки Nikon DS-Fi1.

Образцы для изучения тонкого строения подготавливали по адаптированному для пеломикс методу с использованием глутар-осмиевой фиксации и заключением в Эпон—Аралдит (Frolov et al., 2004; Чистякова, Фролов, 2010). Срезы готовили при помощи ультрамикротомы Ultracut E Reichert (Англия) и после контрастирования просматривали с помощью электронных микроскопов Jeol-1400, Tesla BS-500 и Zeiss Libra 120.

Результаты

В пробах среди частиц песка и детрита были обнаружены организмы, несомненно относящиеся к роду *Pelomyxa*, однако отличные от всех других признанных систематически валидными в настоящее время видов пеломикс.

Световая микроскопия. Форма клеток во время перемещения значительно вытянутая, до сигарообразной (рис. 1, а). Хорошо заметен равномерный аксиальный ток эндоплазмы. Размер движущихся особей составляет от 200 до 300 мкм. Иногда встречаются более крупные клетки, достигающие 400 мкм, но такие экземпляры практически не перемещались по субстрату. По периферии тела присутствует тонкий слой прозрачной гиалиновой цитоплазмы шириной до 3—5 мкм (рис. 1, б, г). На переднем конце и по бокам клетки могут формироваться неболь-

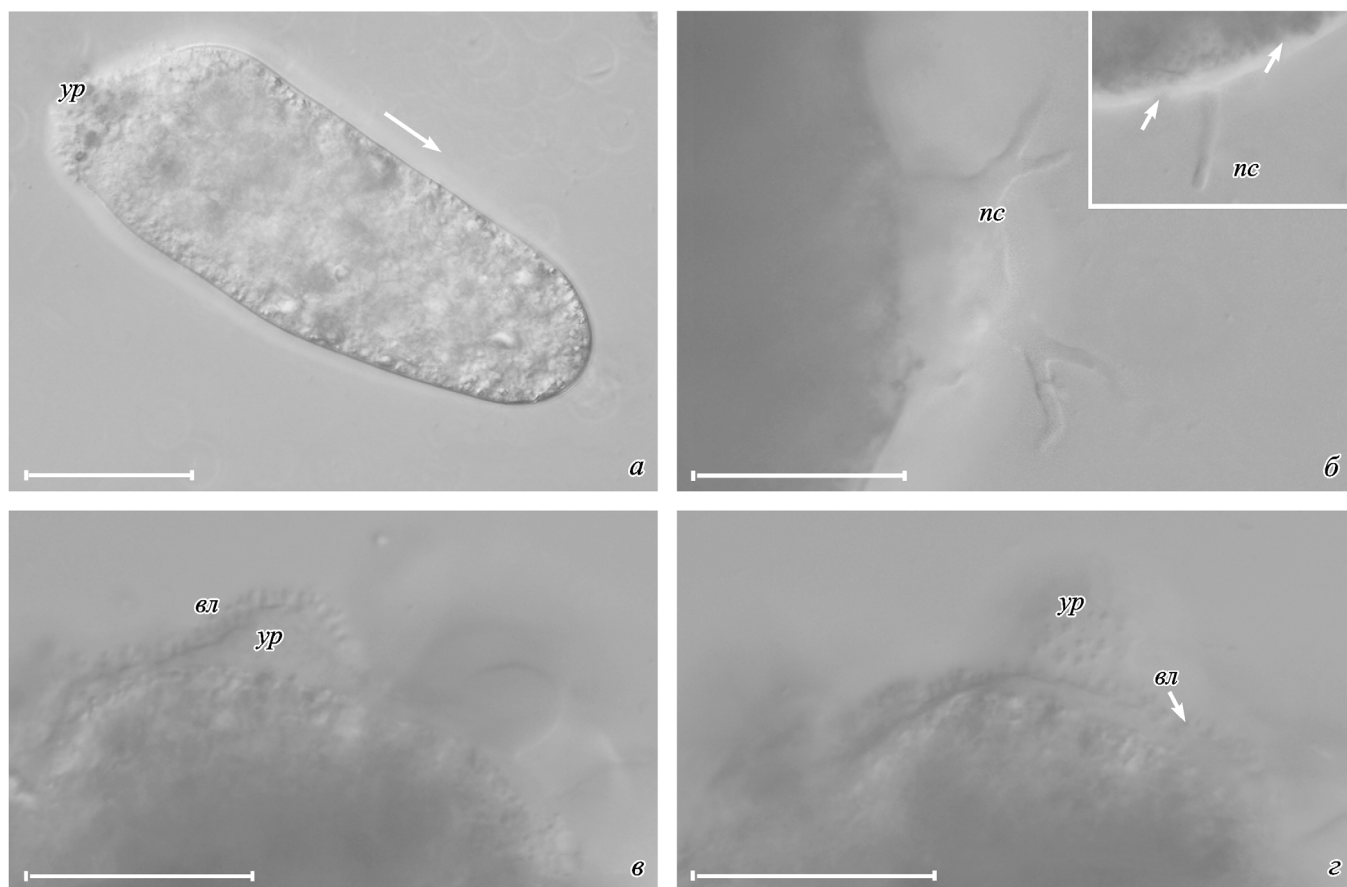


Рис. 1. Организация локомоторных форм *Pelomyxa secunda* на световом уровне.

а — клетка в процессе направленной локомоции, стрелка — направление движения; б — небольшие гиалиновые псевдоподии (nc), формируемые на переднем конце и по бокам тела (вставка); г, з — урод (ур) и прилежащие участки поверхности тела, покрытые многочисленными гиалиновыми вилями (вл). Дифференциальный интерференционный контраст. Масштабные отрезки — 100 (а) и 50 (б—г) мкм.

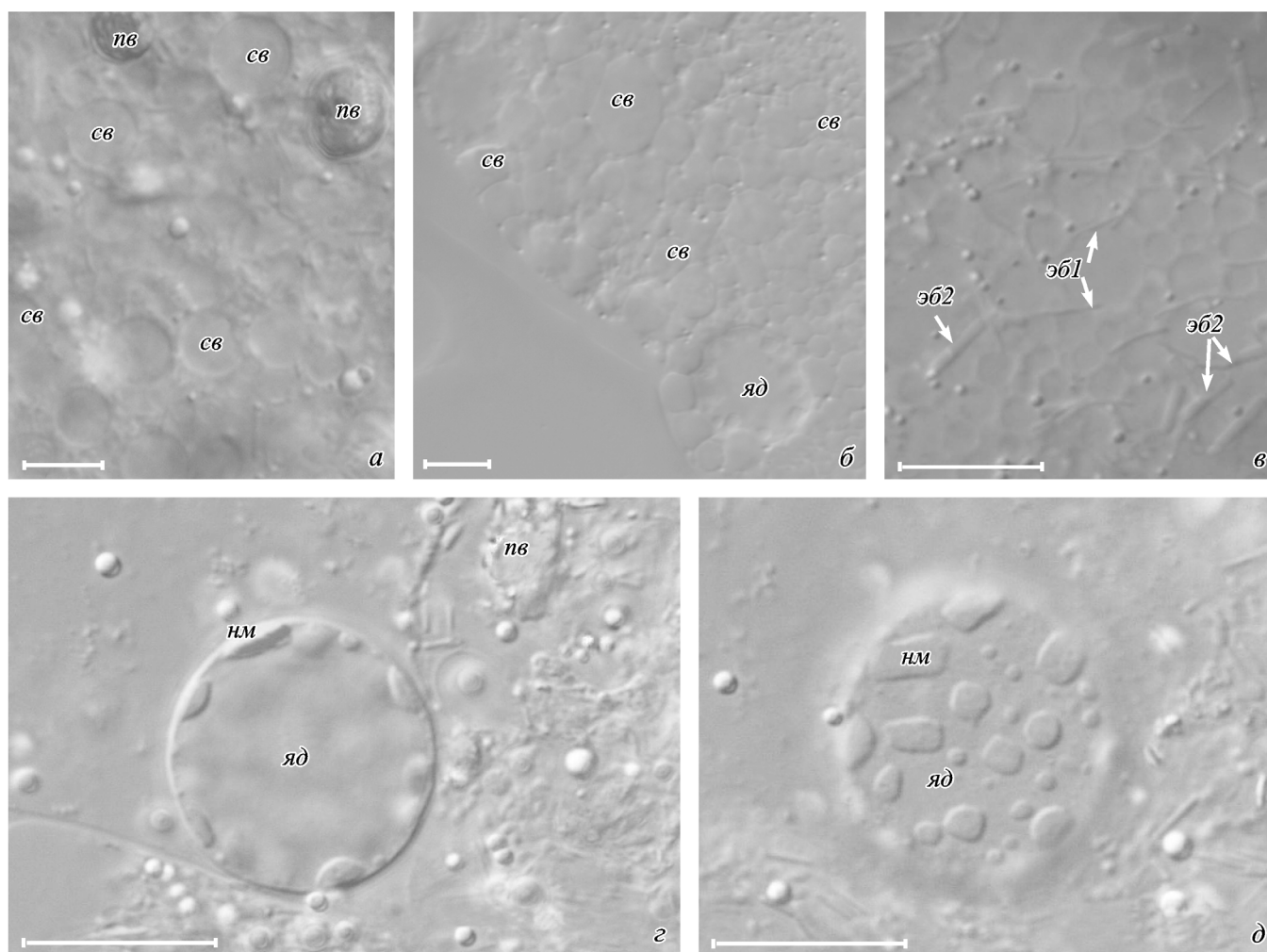


Рис. 2. Детали строения клеток *Pelomyxa secunda* на световом уровне: организация цитоплазмы (а–в) и ядра (г, д).

нм — нуклеосомный материал, пв — пищеварительные вакуоли, св — структурные вакуоли, эб1 и эб2 — бактериальные эндобионты двух типов, яд — ядро. Дифференциальный интерференционный контраст. Масштабные отрезки — 10 мкм.

шие пальцевидные гиалиновые псевдоподии, иногда ветвящиеся на боковых сторонах тела (рис. 1, б).

На заднем конце клетки у активно передвигающихся организмов имеется морфологически отчетливо выраженный урод в виде бульбовидного вздутия (рис. 1, в, г). На поверхности уроида и нередко прилежащих участков тела присутствуют многочисленные короткие ветвящиеся гиалиновые выросты — виллы (рис. 1, в, г).

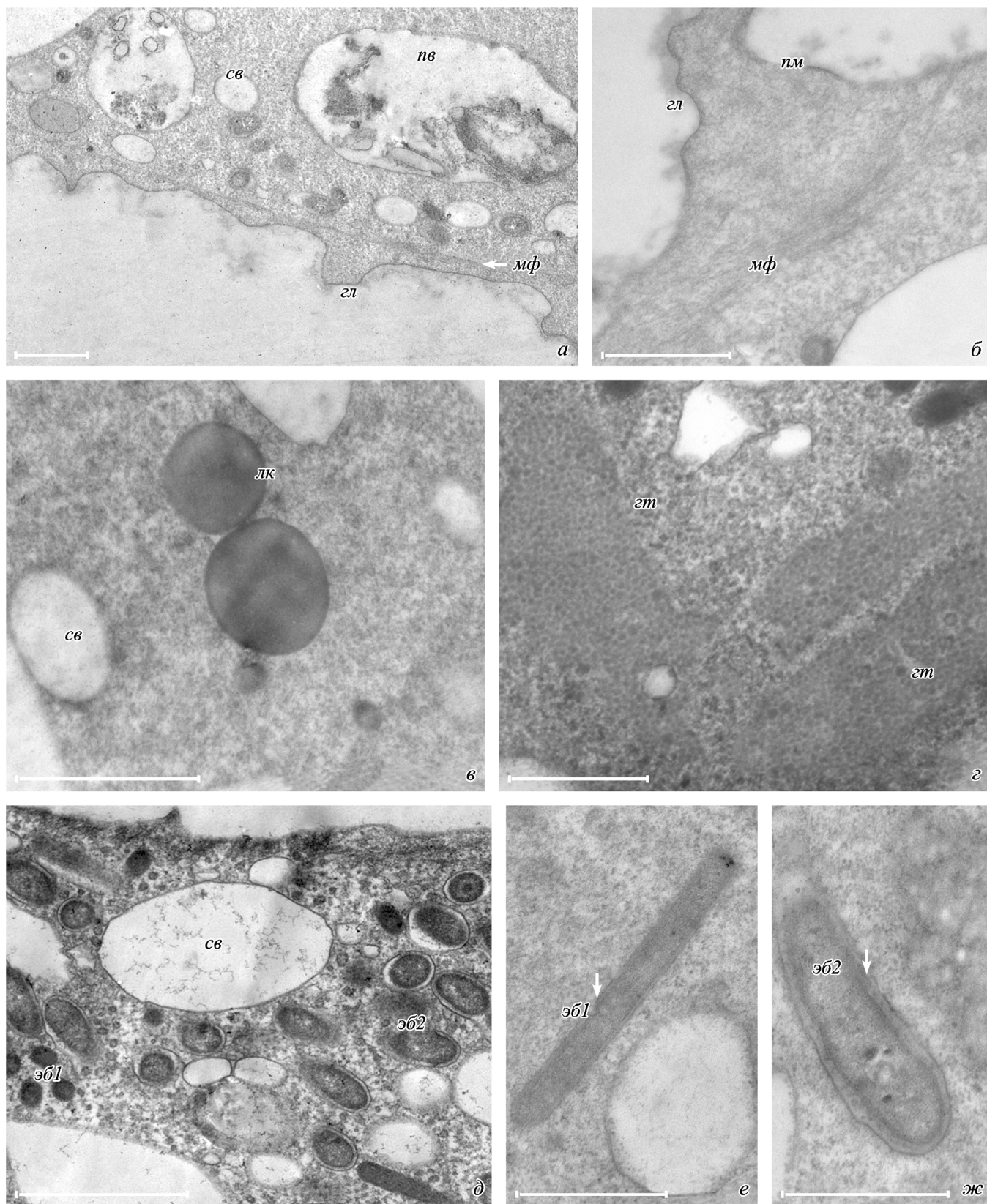
Значительную часть содержимого цитоплазмы составляют оптически пустые, так называемые структурные, вакуоли разного диаметра (Andresen et al., 1968; Гудков, Серавин, 1991) (рис. 2, а–в). Однако они часто слабо различимы в интактных клетках, в особенности у мелких форм, поскольку большую часть внутреннего объема клетки занимают крупные и мелкие пищеварительные вакуоли, содержащие частицы детрита, различные водоросли и минеральные гранулы (рис. 2, а). Вследствие значительного количества заглощенного детрита клетки исследуемых организмов имеют коричневатую окраску. В цитоплазме пеломикс присутствует большое количество мелких (около 3 мкм) палочковидных прокариотных эндоситобионтов, по всей видимости двух типов (рис. 2, в).

Исследуемые пеломиксы — многоядерные организмы. Количество ядер варьирует от нескольких штук до двух десятков в зависимости от размера клеток. Ядра сферические, гранулярного типа, их диаметр составляет от 13 до 18 мкм (рис. 2, б, г, д). Нуклеосомный материал фрагментированный, представляет собой относительно небольшие овальные и неправильной формы гранулы различных размеров, расположенные по периферии ядра (рис. 2, г, д).

Жгутиков при светооптическом исследовании не обнаружено.

Электронная микроскопия. Наружная поверхность плазматической мембраны клетки несет тонкий слой аморфного гликокаликса, достигающий в толщину около 0.3 мкм (рис. 3, а, б). Под плазмалеммой лежит зона периферической цитоплазмы, свободной от каких-либо органелл, эндоситобионтов и другого рода включений. Толщина этой зоны составляет от 0.5 до 2 мкм. Она отчетливо отграничена от остальной цитоплазмы слоем организованных в пучки актиновых микрофиламентов, лежащих параллельно поверхности тела пеломиксы (рис. 3, а, б).

Основной объем цитоплазмы занимают электронно-прозрачные структурные вакуоли различных размеров

Рис. 3. Ультраструктура *Pelomyxa secunda*.

a, б — периферические участки тела; *в, г* — характерные цитоплазматические включения; *д–ж* — бактериальные эндоцитобионты в цитоплазме. *гл* — гликокаликс, *гт* — гликогеновые тела, *лк* — липидные капли, *мф* — слой микрофиламентов, *пв* — пищеварительные вакуоли, *пм* — плазматическая мембрана, *св* — структурные вакуоли, *эб1* и *эб2* — два типа бактериальных эндоцитобионтов. Масштабные отрезки — 2 (*a, в, д*) и 1 (*б, г, е, ж*) мкм.

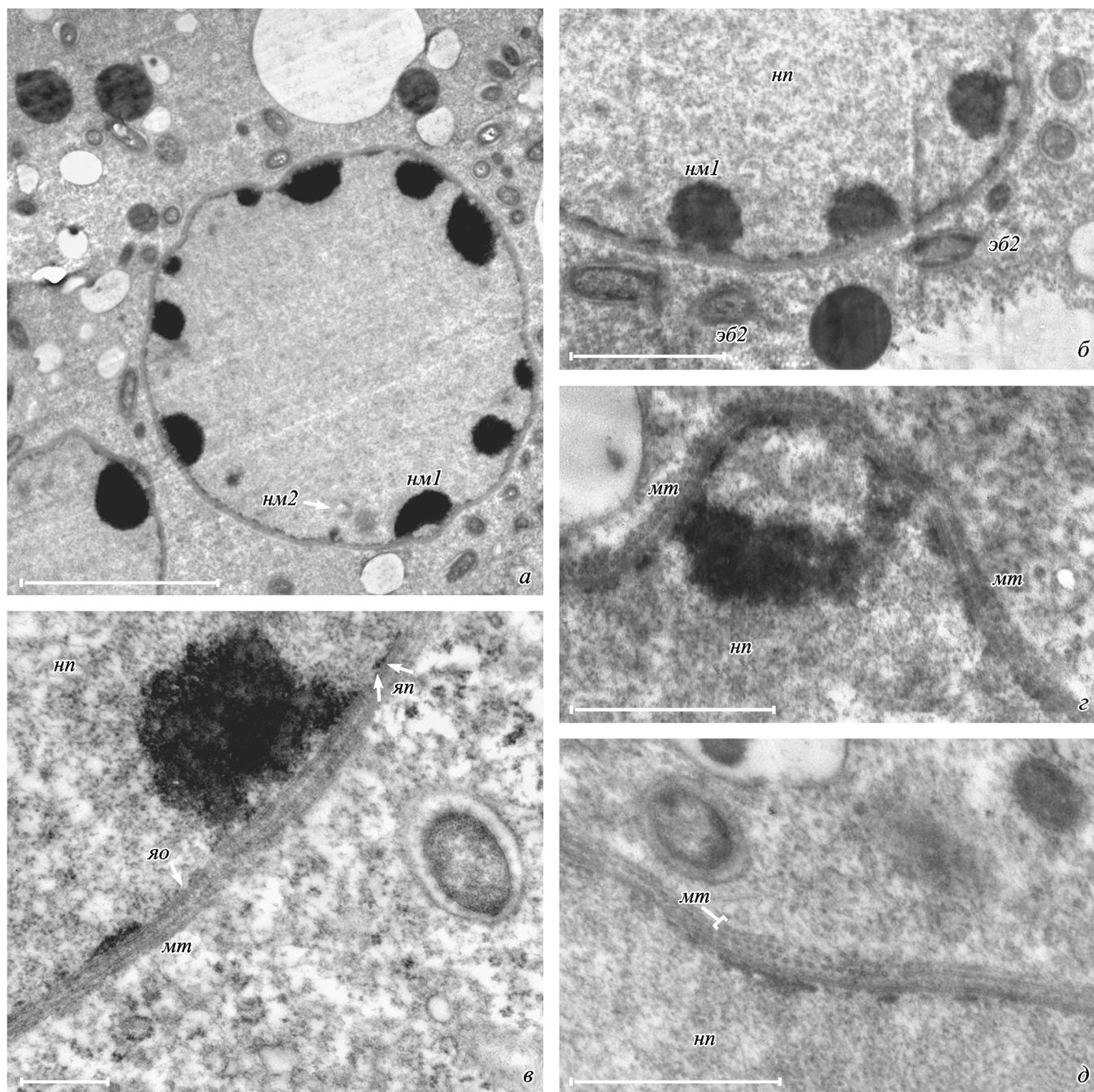


Рис. 4. Ультраструктурная организация ядер *Pelomyxa secunda*.

а — поперечный срез ядра; б — периферический участок ядра и скопление эндоцитобионтов вокруг ядерной оболочки; в—д — организация ядерной оболочки. нп — микротрубочки, нм1 и нм2 — нуклеосомный материал соответственно высокой и менее высокой электронной плотности, нп — нуклеоплазма, эб2 — эндоцитобионты 2-го типа, яо — ядерная оболочка, яп — ядерная пора (стрелки). Масштабные отрезки — 5 (а), 2 (б) и 1 (в, д) мкм, 500 нм (е).

(от менее 1 до 6—8 мкм в диаметре) и многочисленные заполненные различного рода включениями пищеварительные вакуоли (рис. 3, а, в, д).

В цитоплазме часто встречаются небольшие округлой формы тельца диаметром 1—1.5 мкм, заполненные гомогенным содержимым средней электронной плотности, весьма напоминающие липидные включения (рис. 3, в). Кроме того, имеются более крупные тельца неправильной формы с характерной зернистой структурой, размер которых составляет около 2.5 мкм (рис. 3, г). Последние,

по всей видимости, представляют собой разновидность так называемых гликогеновых телец, свойственных многим представителям рода *Pelomyxa* и являющихся способом хранения запасных веществ (Andresen et al., 1968; Daniels, 1973; Whatley, 1976; Фролов, 2011).

В цитоплазме исследуемых организмов в значительном количестве присутствуют прокариотные эндоцитобионты двух типов, лежащие в индивидуальных симбионтофорных вакуолях (рис. 3, д—ж). К первому типу относятся тонкие длинные палочковидные бактерии с

плотной бактериоплазмой. Они имеют длину 2—3 мкм, диаметр поперечного сечения 0.2—0.3 мкм и плотно прилегают к мембране симбионтофорной вакуоли (рис. 3, *е*). По своей морфологии эти бактерии напоминают метаногенные формы, часто встречающиеся в цитоплазме пеломикс и других видов свободноживущих микроаэробных протистов (Van Bruggen et al., 1983, 1988; Vogels et al., 1984).

Другой тип эндоцитобионтов представляет собой менее вытянутые и более толстые палочковидные формы (1—2 мкм в длину и до 0.8 мкм в диаметре) (рис. 3, *ж*). Эти бактерии относительно свободно располагаются внутри симбионтофорной вакуоли, их бактериоплазма обладает меньшей электронной плотностью, благодаря чему в них иногда удается рассмотреть структуру, напоминающую нуклеоид. Как правило, они более или менее равномерно распределяются в цитоплазме клетки, однако иногда встречаются их небольшие скопления вокруг ядер (рис. 4, *б*).

Весь нуклеосомный материал в ядрах исследуемого организма сосредоточен по периферии ядра и представлен дискретными структурами двух типов (рис. 4, *а*). Во-первых, это тельца с высокой электронной плотностью более или менее овальной формы размером около 1 мкм, которые частично прилегают к внутренней мембране ядерной оболочки (рис. 4, *а—в*). Во-вторых, в ядрах присутствуют сферические тельца значительно меньших размеров и меньшей электронной плотности, располагающиеся в нуклеоплазме на небольшом расстоянии от оболочки ядра (рис. 4, *а*). Кроме того, практически по всему периметру ядра имеется тонкий, неравномерной толщины, иногда практически незаметный слой электронно-плотного материала, вплотную прилегающий изнутри к ядерной оболочке (рис. 4, *б—д*).

Вплотную к наружной мембране ядерной оболочки прилежат многочисленные короткие микротрубочки, располагающиеся в два, а на некоторых участках в три слоя, лежащие строго вдоль поверхности ядра (рис. 4, *в—д*). Следует отметить, что, за исключением окооядерной зоны, никаких следов организованных микротрубочковых структур в цитоплазме клеток не обнаружено.

Обсуждение

Полученные результаты со всей очевидностью свидетельствуют о том, что амебоидный организм, изучению которого посвящена настоящая работа, несомненно принадлежит к числу представителей рода *Pelomyxa*. В то же время он не может быть идентифицирован ни с одним из десяти видов пеломикс, признанных в настоящее время систематически валидными.

Все пеломиксы обладают характерными особенностями морфологии, что нередко позволяет идентифицировать их уже на светооптическом уровне (Frolov et al., 2004, 2005, 2006; Фролов и др., 2005, 2009, 2010; Чистякова, Фролов, 2010; Фролов, 2011; Чистякова и др., 2014). К числу видоспецифичных признаков относятся, в частности, морфология и размеры локомоторной формы, детали строения ядерного аппарата, комплекс облигатных прокариотных эндоцитобионтов, наличие или отсутствие жгутиков, строение их базального аппарата, особенности организации цитоскелета и т. д.

Локомоторная форма исследуемого организма — вытянутая, цилиндрическая — в целом свойственна и мно-

гим другим представителям рода *Pelomyxa*, однако в деталях имеются определенные различия. В частности, организация уroidных структур, а также локализация и характер формирования пальцевидных гиалиновых псевдоподий на теле простейшего отличаются от соответствующих вариантов, встречающихся у других видов пеломикс.

Настоящий организм обладает гликокаликсом аморфного типа, достигающим в толщину до 300 нм. У представителей рода *Pelomyxa* встречаются три типа строения гликокаликса, в том числе и аморфный (Фролов, 2011). Он присутствует у *P. binucleata* и *P. stagnalis*. Однако толщина его у этих видов не превышает 5—7 и 15—20 нм соответственно (Frolov et al., 2005; Чистякова, Фролов, 2010).

Как уже было сказано ранее, относительно крупные включения неправильной формы с характерной зернистой структурой, иногда встречающиеся в цитоплазме изучаемого организма, по всей вероятности, представляют собой гликогеновые тельца, свойственные многим представителям рода *Pelomyxa* (Andresen et al., 1968; Daniels, 1973; Whatley, 1976; Фролов, 2011). Однако в данном случае эти образования не обладают правильной сферической формой, как это имеет место у других видов пеломикс. Они не окружены цистернами ЭПР, на их поверхности нет скоплений бактериальных эндоцитобионтов, что присуще некоторым другим представителям рода.

Присутствие облигатных бактериальных эндоцитобионтов является характерной особенностью всех представителей *Pelomyxa*, а их видовой набор часто оказывается специфическим для того или иного вида пеломикс. Долгое время считалось, что в цитоплазме всех пеломикс имеются очень крупные прямоугольной формы бактерии, так называемые large-type бактерии, с характерным щелевидным впячиванием клеточной стенки (Whatley, 1976; Van Bruggen et al., 1988; Whatley, Chapman-Andresen, 1990). Однако недавно было показано, что у двух видов — *P. stagnalis* и *P. paradoxa* — эти прокариоты отсутствуют (Чистякова, Фролов, 2010; Чистякова и др., 2014). Нет их и у исследуемого в настоящей работе вида. В то же время имеющихся у него палочковидных эндоцитобионтов 2-го типа не отмечено у других пеломикс, по крайней мере в столь заметных количествах.

Удивительной особенностью представителей рода *Pelomyxa* является чрезвычайное разнообразие и видоспецифичность организации их ядер. У пеломикс встречаются ядра как гранулярного, так и везикулярного типа (Daniels et al., 1966; Daniels, Breyer, 1967; Frolov et al., 2004, 2005, 2006; Фролов и др., 2005, 2009, 2010; Чистякова, Фролов, 2010; Фролов, 2011; Чистякова и др., 2014). Однако даже в тех случаях, когда ядра относятся к одному и тому же типу, они весьма существенно различаются деталями своего строения. Этому «правилу» следуют и ядра рассматриваемого в настоящей работе вида. Они относятся к гранулярному типу, но характерной для них картины организации и распределения нуклеосомного материала и других особенностей не наблюдается ни у одного из известных видов пеломикс.

Не менее разнообразны и специфичны структурные усложнения наружной поверхности ядерной оболочки у видов, обладающих ядрами гранулярного типа (Фролов, 2011). Так, поверх наружной ядерной мембраны могут располагаться дополнительные слои — производные каналов и пузырьков эндоплазматического ретикулума; это

может быть слой коротких микротрубочек, расположенный непосредственно в околоядерной зоне или небольшие везикулы с электронно-плотным содержимым. Рассматриваемый нами вид вполне соответствует и этому «правилу» — его ядра окружены двумя или тремя плотно сближенными слоями коротких микротрубочек, лежащих параллельно друг другу и поверхности ядра. У *P. flava* также имеется слой упорядоченно лежащих микротрубочек, окружающих ядро, однако у этой пеломиксы он единственный, к тому же у этого вида имеются еще дополнительные слои из электронно-плотного материала и цистерн эндоплазматического ретикулаума (Фролов и др., 2010).

Наконец, последнее, на что необходимо обратить специальное внимание, это отсутствие жгутиков у рассматриваемого в настоящей работе вида. Ни светооптические, ни ультраструктурные исследования не выявили ундулиподий, базальных телец и их корешковых производных. Более того, за исключением околоядерной зоны, никаких следов сколько-нибудь организованных микротрубочковых структур в цитоплазме клеток не обнаружено.

До сих пор был известен только один вид пеломикс — *P. corona*, у которого не было найдено жгутиков. Тем не менее в кортикальной зоне цитоплазмы этих организмов присутствуют крупные упорядоченные пучки микротрубочек, расположенные вдоль поверхности тела простейшего, что позволяет предполагать существование у них каких-то центров организации микротрубочек (Frolov et al., 2004).

Таким образом, как уже было сказано выше, исследуемый в настоящей работе организм не может быть идентифицирован ни с одним из десяти известных в настоящее время видов пеломикс. Тем не менее проведенный нами тщательный анализ литературы позволяет с высокой степенью уверенности идентифицировать его с видом, описанным Грубером еще во второй половине позапрошлого века под названием *Amoeba secunda* (Gruber, 1884). Основанием для такого заключения служит довольно точное светооптическое описание этого простейшего, включающее в себя характеристику локомоторной формы и особенности формирования псевдоподий, а также организацию ядерного аппарата и содержимого протоплазмы. Наблюдения и изображения амёб, данные Грубером, в целом соответствуют нашим (рис. 1, 2). Следует также отметить, что сам автор обсуждал некоторые сходства этого вида с пеломиксоподобными организмами, которых Лэйдид (Leidy, 1879) описал как разные формы *P. villosa*.

Как показывает анализ литературы, название *A. secunda* было впоследствии лишь вскользь упомянуто в двух частных публикациях (Blochmann, 1894; Hollande, 1945), а в последующих работах, в том числе посвященных анализу состава и таксономической ревизии рода *Pelomyxa*, этот вид полностью выпал из поля зрения исследователей. Фактически мы реизолировали его из природы и идентифицировали впервые с момента его первоописания в 1884 г. Таким образом, *P. secunda* стал четвертым после *P. prima*, *P. binucleata* и *P. tertia* видом из описанных Грубером (Gruber, 1884) амёб, которые были реизолированы и переописаны за последнее десятилетие (Фролов и др., 2005; Frolov et al., 2005; Фролов, 2011).

Описание вида *Pelomyxa secunda* (Gruber, 1884) comb. nov. Во время направленного перемещения особи обладают вытянутой, сигарообразной формой тела, при этом хорошо заметен аксиальный равномерный ток цент-

ральной массы эндоплазмы. Длина локомоторной формы составляет от 200 до 300 мкм. Иногда встречаются более крупные клетки, достигающие 400 мкм, но такие экземпляры практически не перемещались по субстрату. На переднем конце и по бокам периодически формируются небольшие конические или пальцевидные, иногда ветвящиеся гиалиновые выросты. На заднем конце тела располагается морфологически хорошо выраженный полусферической формы уроид, покрытый многочисленными ветвящимися гиалиновыми вилли. Количество ядер варьирует от нескольких штук до двух десятков в зависимости от размеров организма. Они имеют сферическую форму, их диаметр составляет от 13 до 18 мкм (в среднем 15 мкм). Ядра гранулярного типа; нуклеосомный материал, сосредоточенный по периферии ядра, представлен дискретными структурами двух типов, различающихся по размерам и электронной плотности. С наружной стороны ядерной оболочки присутствуют два, а на некоторых участках три плотно сближенных слоя коротких микротрубочек, лежащих параллельно друг другу и поверхности ядра. В цитоплазме присутствуют облигатные палочковидные прокариотные эндоцитобионты двух типов, лежащие в симбионтофорных вакуолях. Жгутиков, кинетосом и их корешковых дериватов не обнаружено.

Работа выполнена с использованием оборудования РЦ «Развитие молекулярных и клеточных технологий», «Культивирование микроорганизмов» и ЦКП «Хромас» СПбГУ.

Список литературы

- Гудков А. В., Серавин Л. Н. 1991. Ультраструктура гигантской амёбы *Pelomyxa palustris*. III. Вакуолярная система: ее природа, организация и функциональное значение. Цитология. 33 (9) : 17—25. (Goodkov A. V., Seravin L. N. 1991. Ultrastructure of the 'giant amoeba' *Pelomyxa palustris*. III. The vacuolar system; its nature, organization, dynamics and functional significance. Tsitologiya. 33 (9) : 17—25.)
- Гудков А. В., Чистякова Л. В., Серавин Л. В., Фролов А. О. 2004. Краткая история и современное состояние концепции пелобиионтов (класс Peloflagellata). Зоол. журн. 83 (6) : 643—654. (Goodkov A. V., Chystjakova L. V., Seravin L. N., Frolov A. O. 2004. The concept of pelobionts (class Peloflagellata): brief history and current state. Zhool. Zh. 83 (6) : 643—654.)
- Фролов А. О. 2011. Отряд Pelobiontida (Page, 1976) Griffin, 1988. В кн.: Протисты. Руководство по зоологии. СПб.: Наука. 3 : 270—307. (Frolov A. O. 2007. Order Pelobiontida (Page, 1976) Griffin, 1988. In: Protists. St. Petersburg: Nauka. 3 : 270—307.)
- Фролов А. О., Чистякова Л. В., Малышева М. Н. 2010. Свето- и электронно-микроскопическое исследование *Pelomyxa flava* sp. n. (Archamoebae, Pelobiontida). Цитология. 52 (9) : 776—784. (Frolov A. O., Chystjakova L. V., Malysheva M. N. 2010. Light and electron microscopic study of *Pelomyxa flava* sp. n. (Archamoebae, Pelobiontida). Tsitologiya. 52 (9) : 776—784.)
- Фролов А. О., Чистякова Л. В., Малышева М. Н., Гудков А. В. 2005. Свето- и электронно-микроскопическое исследование *Pelomyxa prima* (Gruber, 1884) (Peloflagellata, Pelobiontida). Цитология. 47 (1) : 89—98. (Frolov A. O., Chystjakova L. V., Malysheva M. N., Goodkov A. V. 2005. Light and electron microscopic study of *Pelomyxa prima* (Gruber, 1884) (Peloflagellata, Pelobiontida). Tsitologiya. 47 (1) : 89—98.)
- Чистякова Л. В., Бердиева М. А., Фролов А. О., Гудков А. В. 2014. Реизоляция и переописание архамебы *Pelomyxa paradoxa* Penard, 1902 (Amoebozoa, Archamoebae). Цитология. 56 (10) : 770—778. (Chystjakova L. V., Berdieva M. A., Frolov A. O., Goodkov A. V. 2014. Reisolation and redescription of pe-

lobiont *Pelomyxa paradoxa* Penard, 1902 (Archamoebae, Pelobiontida). Tsitologiya. 56 (10) : 770—778.)

Чистякова Л. В., Фролов А. О. 2010. Свето- и электронно-микроскопическое исследование *Pelomyxa stagnalis* sp. n. (Archamoebae, Pelobiontida). Цитология. 52 (6) : 451—458. (Chystjakova L. V., Frolov A. O. 2010. Light and electron microscopic study of *Pelomyxa stagnalis* sp. n. (Archamoebae, Pelobiontida). Tsitologiya. 52 (6) : 451—458.)

Andresen N., Chapman-Andresen C., Nilsson J. R. 1968. The fine structure of *Pelomyxa palustris*. Compt. Rend. Trav. Labor. Carlsberg, Ser. Chim. 36 : 285—320.

Blochmann F. 1894. Kleine Mitteilungen Liber Protozoen. Biol. Zentralbl. 14 : 82—91.

Daniels E. W. 1973. Ultrastructure. In: The biology of amoeba. New York; London: Acad. Press. 125—169.

Daniels E. W., Breyer E. P. 1967. Ultrastructure of the giant amoeba *Pelomyxa palustris*. J. Protozool. 14 : 167—179.

Daniels E. W., Breyer E. P., Kudo R. R. 1966. *Pelomyxa palustris* Greeff. II. Its ultrastructure. Zeit. Zellforsch. 73 : 367—383.

Frolov A. O., Chistjakova L. V., Goodkov A. V. 2004. A new pelobiont protist *Pelomyxa corona* sp. n. (Peloflagellata, Pelobiontida). Protistology. 3 : 233—241.

Frolov A. O., Chistjakova L. V., Goodkov A. V. 2005. Light- and electron-microscopic study of *Pelomyxa binucleata* (Gruber, 1884) (Peloflagellata, Pelobiontida). Protistology. 4 : 57—73.

Frolov A. O., Goodkov A. V., Chistjakova L. V., Skarlato S. O. 2006. Structure and development of *Pelomyxa gruberi* sp. n. (Peloflagellata, Pelobiontida). Protistology. 4 : 227—244.

Griffin J. L. 1988. Fine structure and taxonomic position of the giant amoeboid flagellate *Pelomyxa palustris*. J. Protozool. 35 : 300—315.

Gruber A. 1884. Studien uber Amoben. Zeitschr. Wissenschaft. Zool. 41 : 186—225.

Hollande A. 1945. Biologie et reproduction des rhizopodes des genres *Pelomyxa* et *Amoeba* et cycle evolutif de *Amoebophilus destructor* nov. gen. nov. spec, Chytridinee (?) parasite de *Pelomyxa palustris* Greeff. Bui. Biol. France et Belg. 79 : 31—66.

Leidy J. 1879. Freshwater rhizopods of North America. Rept. US Geol. Surv. Territ. 12 : 1—324.

Page F. C. 1976. A revised classification of the Gymnamoebia (Protozoa: Sarcodina). Zool. J. Linn. Soc. 58 : 61—77.

Penard E. 1902. Faune rhizopodique du bassin du Lemman. Genève: Henry Kundig, Librairie de l'Institut.

Ptáčková E., Kostygov A. Y., Chistyakova L. V., Falteisek L., Frolov A. O., Walker G., Patterson D. J., Cepicka I. 2013. Evolution of Archamoebae: morphological and molecular evidence for pelobionts including *Rhizomastix*, *Entamoeba*, *Iodamoeba*, and *Endolimax*. Protist. 164 : 380—410.

Van Bruggen J. J. A., Stumm C. K., Vogels G. D. 1983. Symbiosis of methanogenic bacteria and sapropelic protozoa. Arch. Microbiol. 136 : 89—95.

Van Bruggen J. J. A., van Rens G. L. M., Geertman E. G. M., Stumm C. K., Zwart K. B., Vogels G. D. 1988. Isolation of a methanogenic endosymbiont of the sapropelic amoeba *Pelomyxa palustris* Greeff. J. Protozool. 35 : 20—23.

Vogels G. D., Van der Drift C., Stumm C. K., Keltjens J. T. M., Zwart K. B. 1984. Methanogenesis: surprising molecules, microorganisms and systems. Antonie Van Leeuwenhoek. 50 : 557—567.

Whatley J. M. 1976. Bacteria and nuclei in *Pelomyxa palustris*: comments on the theory of serial endosymbiosis. New Phytol. 76 : 111—120.

Whatley J. M., Chapman-Andresen C. 1990. Phylum Karyoblastea. In: Handbok of Protoctista. Boston: Jones and Bartlett Publ. 167—185.

Поступила 18 VIII 2014

LIGHT- AND ELECTRON-MICROSCOPIC STUDY OF PELOBIONT *PELOMYXA SECUNDA* (GRUBER, 1884) COMB. NOV. (ARCHAMOEBAE, PELOBIONTIDA)

M. A. Berdieva,¹ L. V. Chystjakova,¹ O. A. Miteva,² A. O. Frolov,² A. V. Goodkov³

¹ St. Petersburg State University, ² Zoological Institute RAS and ³ Institute of Cytology RAS, St. Petersburg; e-mail: maria.berd4@yandex.ru, pelgood1@gmail.com

Morphology of a pelobiont *Pelomyxa secunda* (Gruber, 1884) comb. nov. was investigated at light- and electron-microscopical levels. Locomotive forms are elongated or cigar-shaped. The size of active forms varies from 200 to 300 µm. Larger individuals (up to 400 µm) are not able to directed movement. Organism can produce short, usually finger-shaped hyaline pseudopodia at the frontal side or laterally. The cell coat is represented by amorphous glycocalix, up to 300 nm in thickness. A thin periphery cytoplasmic zone is deprived of any organelles, vacuoles, endocytobionts and other inclusions and separated from main cytoplasm by a layer of arranged microfilaments. *P. secunda* is multinucleate organism; nuclei are of granular type. The nucleolar material is represented by two forms of discrete structures differing in size and electron density. Two or three layers of short microtubules organized in the parallel arrangement are associated with outer side of the nuclear envelop. *P. secunda* possess two types of obligate prokaryotic endocytobionts lying in individual symbiontophoric vacuoles. Undulipodia, kinetosomes and root microtubular derivatives are not observed in *P. secunda* cells as well as any developed cytoplasmic microtubular cytoskeleton.

Key words: Archamoebae, pelobionts, *Pelomyxa*, morphology, ultrastructure.