

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА  
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики

доцент Олексій Юрійович Нипорко

Протокол №\_\_\_\_ засідання кафедри

від «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

**УГРУПОВАННЯ ГЕЛЬМІНТІВ ВУЖА ЗВИЧАЙНОГО (*NATRIX*  
*NATRIX* (L., 1758)) ІЗ ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна робота бакалавра  
студента спеціальності 091 Біологія  
ОП «Біологія (високі технології)»  
**Нечая Андрія Олександровича**

Науковий керівник  
асистент кафедри молекулярної  
біотехнології та біоінформатики  
**Світін Роман Сергійович**

Робота виконана у відділі паразитології  
Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України  
під керівництвом пр. н. с. **Ю. І. Кузьмін**

Оцінка захисту роботи

---

## Зміст

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| Зміст .....                                                    | 2  |
| Анотація .....                                                 | 3  |
| Вступ .....                                                    | 4  |
| Розділ 1. Огляд літератури .....                               | 6  |
| 1.1. Поняття угруповання гельмінтів .....                      | 6  |
| 1.2. Історичний нарис із вивчення угруповань гельмінтів .....  | 7  |
| 1.3. Видовий склад угруповань гельмінтів вужа звичайного ..... | 11 |
| 1.3.1. Облігатні види гельмінтів .....                         | 12 |
| 1.3.2. Факультативні види гельмінтів .....                     | 19 |
| 1.3.3. Постциклічний (транзитний) паразитизм .....             | 28 |
| Розділ 2. Матеріали та методи досліджень .....                 | 30 |
| 2.1. Збір та розтини вужів .....                               | 30 |
| 2.2. Збір та ідентифікація гельмінтів .....                    | 30 |
| 2.3. Молекулярні методи ідентифікації .....                    | 31 |
| 2.4. Методи аналізу даних .....                                | 35 |
| Розділ 3. Результати та обговорення .....                      | 39 |
| 3.1. Аналіз параметрів зараження .....                         | 39 |
| 3.2. Аналіз інфраугруповань .....                              | 48 |
| 3.2.1. Порівняння параметрів зараження .....                   | 48 |
| 3.2.2. Індекс Шеннона .....                                    | 49 |
| 3.2.3. Візуалізація структури інфраугруповань .....            | 49 |
| 3.3. Асоціації та коваріації .....                             | 52 |
| Висновки .....                                                 | 58 |
| Список джерел .....                                            | 60 |

### Анотація

Нечай А. О. Угрупування гельмінтів вужа звичайного (*Natrix natrix* (L., 1758)) із території України. – Випускна кваліфікаційна робота бакалавра за спеціальністю 091 Біологія ОП «Біологія (високі технології)».

Робота присвячена характеристиці угруповань гельмінтів вужа звичайного та визначення тенденцій до їх змін за останні півстоліття. У ході дослідження були зібрані модельні вибірки вужа звичайного з території України на основі власних та колекційних даних. Визначення проводили класичними морфологічними та молекулярними методами. Також у рамках роботи було проведено оцифровування картотеки розтинів Інституту зоології ім. Шмальгаузена.

Для вибірок були оцінені та порівняні показники зараження кожного виду гельмінтів. Більшість спільних видів показали низький, але достовірний рівень подібності. Порівняння інфраугруповань за індексом біорізноманіття Шеннона показало достовірно вищий рівень біорізноманіття у нашій вибірці. Також була виявлена слабка позитивна кореляція довжини тіла вужа звичайного та загальної кількості особин гельмінтів у ньому.

Отримані результати свідчать про відсутність радикальних змін в угрупованнях гельмінтів вужа звичайного протягом останніх 50-70 років.

*Ключові слова:* вуж звичайний, гельмінти, інфраугруповання, статистичний аналіз.

## Вступ

*Актуальність.* Гельмінтофауна рептилій, зокрема змій, представляє великий інтерес для спільнот паразитологів не лише України, а й усього світу. Протягом останнього часу він лише зріс, що виражається, зокрема, у створенні нових методів аналізу угруповань гельмінтів (Morris et al., 2014). Крім того, розвиток комп'ютерних обчислювальних технологій забезпечив відносну легкість проведення складних статистичних розрахунків на великих обсягах даних.

*Проблематика.* Вивчення поточного стану та динаміки угруповань гельмінтів є корисним не лише з позиції ветеринарної медицини (гельмінтози), а й екології. Було неодноразово показано на прикладі риб (Shah et al., 2013; Sures, 2001), що стан популяцій їх гельмінтів є показником стану популяції хазяїна як середовища проживання I порядку, так і біогеоценозу, середовища проживання II порядку, загалом. Власні гельмінти вужа звичайного включають трематод та цестод, які мають гетероксенні життєві цикли, та нематод, що заражають хазяїна напряду (Шарпило, 1976). Складні життєві цикли деяких гельмінтів піддаються впливу багатьох чинників, а отже, є чутливими до змін у різних складових біогеоценозу; разом зі специфічністю гельмінтів до хазяїна, це підвищує надійність використання перших як біоіндикаторів (Marcogliese, 2020). Такий аналіз є особливо корисним для визначення ступеню антропогенного навантаження на популяцію хазяїна та екосистему в цілому.

Угруповання гельмінтів змій на території України добре вивчені у фауністичному плані, хоч і найбільш свіжий ґрунтовний визначник видів гельмінтів рептилій датується 1976 роком (Шарпило, 1976). На популяційному рівні такі дослідження або проводились на обмеженій території, а саме – на півдні Дніпропетровської та частині Запорізької області (Єрмоленко, 2016), або не проводились узагалі. У зв'язку з цим, враховуючи важливість і показовість подібних досліджень для моніторингу зокрема

герпетофауни України, існує необхідність поглибленого вивчення даної теми.

*Метою* даної роботи було визначено проаналізувати угруповання гельмінтів вужа звичайного на території України за допомогою сучасних лабораторних та статистичних методів. Відповідно, *завданнями* стали наступні:

- 1) Зібрати модельні вибірки вужа звичайного з території України;
- 2) Зібрати гельмінтологічний матеріал та визначити зібрані види гельмінтів за морфологічними ознаками, використовуючи методи світлової мікроскопії;
- 3) Підтвердити визначення окремих видів молекулярно-генетичними методами;
- 4) Провести фауністичний аналіз та аналіз угруповань гельмінтів із застосуванням статистичних методів;
- 5) Зробити відповідні висновки.

## Розділ 1. Огляд літератури

### 1.1. Поняття угруповання гельмінтів

Гельмінтофауна вужа звичайного *Natrix natrix* (L., 1758) є досить різноманітною, проте, цей термін є дуже широким, адже включає усі види гельмінтів на усьому ареалі хазяїна, тобто практично весь Європейський континент. Розглядаючи лише територію України, ми наближаємось до поняття фауністичних комплексів та угруповань, що складаються із популяцій гельмінтів. За загально визначеним поняттям, популяція – це група особин одного виду, що мають власний генофонд і морфотип та населяють визначену територію (Лановенко О. Г., Остапішина О. О., 2013), проте у випадку гельмінтів ситуація дещо інша. На відміну від вільноживучих організмів, гельмінти (і паразити загалом) мають складніші життєві цикли, і, закономірно, складнішу структуру популяції.

Найнижчим рівнем структури популяції паразитів є *інфрапопуляція* – сукупність особин одного виду гельмінта в одній особині хазяїна (Loker & Hofkin, 2015). Сукупністю інфрапопуляцій в одній особині хазяїна є *інфраугруповання*. Наступним рівнем є *компонентна популяція*, що об'єднує інфрапопуляції на рівні популяції хазяїна. *Компонентне угруповання* ж являє собою усі інфрапопуляції гельмінта, що пов'язані з популяцією хазяїна, або ж із відповідними абіотичними умовами – у випадку вільноживучих проміжних стадій (Bush et al., 1997). Сукупністю компонентних угруповань є, відповідно, *метаугруповання*. Нарешті, третім і найвищим рівнем організації структури популяції гельмінтів є *супрапопуляція* – сукупність особин одного виду гельмінта на усіх фазах розвитку у межах даного біоценозу.

Дані терміни є класичними у екології, зокрема паразитів, і є описані у статті за авторством Bush et al. (1997) разом із кількісними параметрами оцінки популяцій гельмінтів і використовуються у сучасній літературі, зокрема Eads et al. (2023); Kuzmin et al., (2020) та інших.

## 1.2. Історичний нарис із вивчення угруповань гельмінтів

Вивчення угруповань гельмінтів як явища почало відчутно спостерігатись у 1970-х роках, адже індекси біорізноманіття, наприклад, Шеннона та Сімпсона, почали публікуватись у статтях наприкінці 1940-х років (Shannon, 1948; Simpson, 1949), а індекс Бергера-Паркера був описаний у 1970 році (Berger & Parker, 1970). Відомі тогочасні публікації досліджень риб, водоплавних птахів, черепах, дрібних гризунів і вовків. Джей Ді Гейр (Jay Dee Hair) у 1975 році опублікував дисертаційну роботу, де досліджував угруповання гельмінтів кишківника американської черні *Aythya affinis* (Eyton, 1838) у центральній Альберті, Канада (Hair, 1975). Дослідження було присвячене вивченню важливості розділення екологічних ніш у просторовому та часовому вимірі при формуванні угруповань паразитів. Автор використав тонкий кишківник 82 особин птахів (30 дорослих і 52 ювенільних), розділивши його на 20 рівних частин, та проаналізував структуру угруповань їх гельмінтів за індексом Шеннона ( $H'$ ), зворотним індексом Сімпсона ( $S_i$ ), рівномірністю ( $J$ ) та загальною кількістю видів ( $S$ ). Було виявлено поступове ускладнення структури угруповань у ювенільних особин з віком, на противагу її відносній стабільності у дорослих птахів; також, у дорослих відзначався спад біорізноманіття вздовж кишківника, тоді як у молодняка розподіл значень індексів біорізноманіття наближався до нормального із піком у середині кишківника та спадом на обох кінцях.

У свіжішому дослідженні 2018 року (Toledo et al., 2018) група бразильських паразитологів дослідила структуру інфра- та компонентних угруповань гельмінтів 13 симпатричних видів безхвостих амфібій та її кореляцію з поведінковими особливостями хазяїв. Були використані такі параметри, як видове багатство (кількість видів), індекс Шеннона та рівномірність ( $J'$ ) для характеристики біорізноманіття; індекс Брилюена та рівномірності ( $E$ ) для порівняння інфраугруповань; тест Крускала-Уолліса для порівняння різноманіття та видового багатства між хазяями; індекс Бергера-Паркера – для визначення домінантних видів гельмінтів; тест

Спірмана для визначення кореляції між параметрами зараженості та розміром тіла хазяїна; індекс Соренсена з кластерним аналізом був використаний для визначення подібності компонентних угруповань. Автори дійшли висновків, що розмір тіла, харчові вподобання та поведінкові звички мають більший вплив на формування структури угруповань гельмінтів, ніж філогенетична близькість хазяїв. Таким чином, більші амфібії були сильніше заражені; у наземних, деревних та підземних видах були присутні переважно нематодами, тоді як у водних та пов'язаних з водою, – трематоди.

Мотивуватись подібні дослідження можуть також вивченням змін у біотопах, спричинених антропогенним впливом. Цьому присвячена стаття індійських учених (Shah et al., 2012), котрі порівнювали компонентні угруповання гельмінтів форелі *Schizothorax niger* (Heckel, 1838) протягом двох років у трьох озерах, що різняться ступенем евтрофікації – Анчар, Дал і Манасбал (за спаданням). Крім дефінітивних, були вивчені також проміжні хазяї (молюски, поліхети та дрібні ракоподібні), та проведений аналіз забрудненості води в озерах. Для порівняння угруповань були використані: кількість видів, індекс домінантності Бергера-Паркера, індекси різноманіття Шеннона та Сімпсона; також був використаний однофакторний дисперсійний аналіз із тестом Тьюкі для корекції результатів, та кореляційний коефіцієнт Пірсона. За результатами, найвищі індекси різноманіття спостерігались для угруповань з озера Анчар. Автори дійшли висновку, що чисельні характеристики угруповань гельмінтів, разом із фізико-хімічним дослідженням якості води, можна використовувати для оцінки стану забрудненості водойми.

Однак, забруднена вода може також і негативно впливати на біорізноманіття гельмінтів, а, відповідно, і їх хазяїв. Стаття фінських паразитологів висвітлює вплив кислотності водойми на гельмінтів окуня річкового *Perca fluviatilis* (L.) (Halmetoja et al., 2000). Порівнювались інфраугруповання паразитів (включаючи найпростіших та ектопаразитів) трьох водойм (двох штучних резервуарів, та озера) за допомогою індексу

Шеннона та розрахунку відсотку схожості, а відмінності між водоймами оцінювались однофакторним дисперсійним аналізом із тестом Тьюкі. За результатами, більшість видів трематод були присутні у природній водоймі (за винятком одного, який був зареєстрований також у резервуарі; був знайдений також акантоцефал, проміжний хазяїн якого, водяний віслючок *Asellus aquaticus* (L.), стійкий до рівня рН води. Знижене біорізноманіття паразитів у штучних ставках автори пояснюють зокрема підвищеною кислотністю та промерзанням взимку, що негативно впливає на популяції проміжних хазяїв.

Відступаючи від царини енвайронментології, склад угруповань гельмінтів може дати інформацію щодо особливостей біології хазяїна (Marcogliese, 2004). Наразі поширеною є методика вивчення вмісту травної системи хазяїв для виявлення особливостей харчової поведінки, проте лише за минулу добу, у той час як видовий склад інфраугруповань гельмінтів – за кілька тижнів або і місяців (залежно від тривалості життя паразита). Таким чином, знаючи життєві цикли гельмінтів, можна відслідковувати сезонні зміни харчової поведінки хазяїв, зміну їх екологічної ніші, оцінювати рівень антропогенного навантаження, тощо.

У 2019 році була захищена дисертаційна робота Сироти Я. Ю. (Сирота, 2019), присвячена угрупованням гельмінтів водно-болотних птахів українського Полісся. Вибірка мала 189 особин птахів, що належали до 31 виду; загалом було визначено 100 видів гельмінтів, 40 з яких були зареєстровані на даній території вперше. Робота присвячена порівнянню угруповань гельмінтів водно-болотних птахів Полісся та Чорноморського узбережжя України на рівні фауністичних комплексів. Крім вже неодноразово згаданих індексів біорізноманіття, у роботі були використані методи оцінки репрезентативності фауністичної характеристики угруповань гельмінтів у вибірках, а саме – Chao1, Chao2, Bootstrap і Jackknife1 (Colwell, 2013; Poulin, 1998). За результатами, було виявлено відсутність суттєвих змін у популяціях гельмінтів крижня *Anas platyrhynchos* (L.) за останні

півстоліття; суттєві відмінності угруповань гельмінтів мартинів та чапель двох досліджуваних регіонів, зумовлені харчовою поведінкою та особливостями середовища проживання. Водночас, показані загальні риси схожості фауністичних комплексів паразитичних червів досліджуваних територій та доведена ефективність застосованих статистичних методів для аналізу малих вибірок.

Стосовно світу амфібій, одним з нещодавніх ґрунтовних досліджень є робота Kuzmin et al. (2020). У статті проведено порівняння угруповань гельмінтів жаби озерної *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) та їстівної *P. kl. esculentus* (L.) на рівні інфраугруповань на 143 особинах, що були зібрані на Поліссі; загалом, було зібрано 27 видів гельмінтів, 17 з яких виявились спільним для обох видів хазяїв. Порівняння було проведене також на рівні окремих видів гельмінтів, для яких визначалась середня інтенсивність інвазії (далі – II), середня поширеність та екстенсивність інвазії (далі – EI) для кожного з видів хазяїв окремо та об'єднаної вибірки. Для оцінки відмінностей у екстенсивності був застосований безумовний точний тест, а для двох інших параметрів – bootstrap *t*-тест. Для інфраугруповань було також пораховано видове багатство та рясність (загальна кількість особин гельмінтів у хазяїні). Крім цього, була побудована матриця подібності Брея-Кертиса (*Bray-Curtis*), яка була далі використана в ANOSIM (англ. *analysis of similarities*, аналіз подібності) та візуалізована методом nMDS (англ. *non-metrical multidimensional scaling*, неметричне багатовимірне шкалювання). За результатами, як пишуть самі автори, було виявлено незначні, проте достовірні відмінності у структурі угруповань гельмінтів двох згаданих видів хазяїв: попри однакове видове багатство, рясність була значно вища у *P. ridibundus*. Також було виявлено доволі слабкий рівень кореляції між розміром тіла жаби та кількістю особин гельмінтів у ній.

На території України та сусідніх держав подібних робіт по рептиліях практично не проводилось. Найяскравішим твором є монографія В.П. Шарпило (1976), про яку буде неодноразово згадано у цій роботі, містить

фауністичні дані, однак без аналізу угруповань гельмінтів. У даній монографії зібрана переважна більшість видів гельмінтів рептилій фауни України, країн Середньої Азії та навіть Далекого Сходу з детальними описами та рисунками, тож головна її цінність полягає саме у здатності визначити більшість гельмінтів герпетофауни території України до рівня виду, що слугує основою для проведення будь-якого екологічного дослідження та статистичного аналізу.

Водяний та звичайний вужі стали також об'єктом уваги Єрмоленко С. В., який у 2018 році презентував дисертацію на ступінь кандидата наук, присвячену їх екологічним особливостям (Єрмоленко, 2018). Дослідження проводились на популяціях вужів із Дніпропетровської та Запорізької областей. У роботі також застосовані індекси біорізноманіття Шеннона, Бріллюена та Бергера-Паркера для характеристики інфраугруповань гельмінтів та порівняння біогеоценозів із різним ступенем антропогенного навантаження, а саме – промислових (штучні водойми для зливу відходів), антропогенно трансформованих та природних (лісових) водойм. Автор доходить висновку про збідненість угруповань гельмінтів біля промислових об'єктів і загальне переважання тут автогенних видів (для яких вуж є дефінітивним хазяїном).

### 1.3. Видовий склад угруповань гельмінтів вужа звичайного

Вуж звичайний *N. natrix* є фоновим видом герпетофауни України та виступає дефінітивним та паратенічним хазяїном для багатьох видів гельмінтів. Такий ефект зумовлюють його харчові уподобання, серед яких перше місце посідають амфібії (Єрмоленко, 2018).

Загалом відомо близько 50 видів гельмінтів вужа звичайного, з яких 11 (22%) є облігатними, усі інші ж паразитують на личинковій стадії або заражають хазяїна випадково, як приклад постциклічного чи паратенічного паразитизму (Шарпило, 1976).

### 1.3.1. Облігатні види гельмінтів

**Клас Trematoda.** Серед облігатних гельмінтів абсолютна перевага належить трематодам. Усього у вужа звичайного зафіксовано 7 облігатних видів (63,6%), 5 личинкових та 1 вид, якому властивий постциклічний паразитизм. За загальновідомими даними, переважна більшість трематод має гетероксенний життєвий цикл зі зміною поколінь, а трематоди рептилій використовують моллюсків у якості першого проміжного хазяїна, а амфібій – як другого проміжного (Невядомська та ін., 2007; Шарпило, 1976). Враховуючи специфіку харчових уподобань вужа, домінування трематод у ядрі гельмінтофауни не викликає запитань. У табл. 1.1. перелічені проміжні хазяї кожного виду та вказана локалізація у дефінітивному хазяїні трематод, що паразитують у вужів на стадії марити (Фауна України, 1989; Шарпило, 1976).

Табл. 1.1. – Облігатні трематоди вужа звичайного.

| Вид                                                 | Локалізація          | Проміжні хазяї                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Astiotrema monticelli</i>                        | Кишківник            | <b>Перший:</b> <i>Bithynia leachi</i> (Sheppard, 1823).<br><b>Другий:</b> <i>Pelobates fuscus</i> (Laurenti, 1768), <i>Hyla arborea</i> (L.), <i>P. ridibundus</i> , <i>Rana arvalis</i> (Nilsson, 1842).                    |
| <i>Encyclometra colubrimurorum</i> (Rudolphi, 1819) | Шлунок               | <b>Додатковий:</b> <i>H. arborea</i> , <i>P. fuscus</i> , <i>P. esculentus</i> , <i>P. ridibundus</i> , <i>R. arvalis</i> .                                                                                                  |
| <i>Leptophallus nigrovenosus</i> (Bellingham, 1844) | Стравохід, кишківник | <b>Перший:</b> <i>Lymnaea stagnalis</i> (L.), <i>Ladislavella emarginata</i> (Say, 1821), <i>Ampullaceana balthica</i> (L.).<br><b>Другий:</b> <i>Alytes</i> (Wagler, 1830), <i>Triturus</i> (Rafinesque, 1815), <i>Bufo</i> |

|                                                     |                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                     |                      | (Garsault, 1764), <i>Bombina</i> sp. (Oken, 1816), <i>Rana</i> spp (L.).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <i>Macrodera longicollis</i><br>(Abildgaard, 1788)  | Повітряний мішок     | <b>Перший:</b> <i>Planorbis planorbis</i> (L.).<br><b>Другий:</b> <i>P. ridibundus</i> , <i>R. temporaria</i> (L.).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <i>Metaleptophallus gracillimus</i><br>(Lühe, 1909) | Стравохід, кишківник | <b>Перший:</b> <i>Planorbarius corneus</i> (L.).<br><b>Другий:</b> <i>R. arvalis</i> , <i>R. temporaria</i> , <i>P. ridibundus</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <u><i>Opisthioglyphe ranae</i></u>                  | Кишківник            | <b>Перший:</b> <i>A. balthica</i> , <i>L. stagnalis</i> , <i>Lymnaea fragilis</i> (L.), <i>P. corneus</i> , <i>Radix auricularia</i> (L.), <i>Stagnicola palustris</i> (O.F.Müller, 1774), <i>S. corvus</i> (Gmelin, 1791).<br><b>Другий:</b> <i>Rana</i> , <i>Bufo</i> , <i>Bombina</i> , <i>Triturus</i> spp., <i>Physella acuta</i> (Draparnaud, 1805), <i>Anisus spirorbis</i> (L.), <i>S. palustris</i> , <i>P. planorbis</i> , <i>L. stagnalis</i> , <i>Galba truncatula</i> (O.F.Müller, 1774), <i>R. auricularia</i> , <i>Musculium lacustre</i> (O.F.Müller, 1774). |
| <i>Paralepoderma cloacicola</i> (Lühe, 1909)        | Клоака, кишківник    | <b>Перший:</b> <i>P. planorbis</i> .<br><b>Другий:</b> <i>Bombina bombina</i> (Linnaeus, 1761), <i>H. arborea</i> , <i>P. fuscus</i> , <i>R. esculenta</i> , <i>P. ridibundus</i> , <i>R. arvalis</i> , <i>R. temporaria</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <i>Telorchis assula</i><br>(Dujardin, 1845)         | Кишківник            | <b>Перший:</b> <i>P. planorbis</i> .<br><b>Другий:</b> <i>P. ridibundus</i> , <i>R. temporaria</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

Усі перелічені види мають триксенний життєвий цикл, що передбачає наявність трьох хазяїв у ньому, включно з дефінітивним (*E. colubrimurorum*,

завдяки паратенічному паразитизму, може мати й більше). Зараження наступного хазяїна часто відбувається шляхом поїдання попереднього. Для трематод загалом, зокрема, молюски є характерним першим проміжним хазяїном; для гельмінтів вужа більшість з останніх належать до родин Bithyniidae, Limnaeidae та Planorbidae. При цьому, у деяких видів трематод спостерігається специфічність до першого проміжного хазяїна – крім *O. ranae* та *L. nigrovenosus*. Важливо зазначити, що *O. ranae* не є облігатним гельмінтом вужа звичайного, проте, може «переходити» до нього від з'їдених амфібій – своїх дефінітивних хазяїв. Натомість, життєвий цикл *E. colubrimurorum* на сьогодні повністю не вивчений. Єдине, що відомо, то другим проміжним (додатковим) хазяїном є амфібії, які є основною стравою у раціоні вужа звичайного, через що забезпечується стійкий трофічний канал для подальшої циркуляції гельмінта.

**Клас Cestoda.** Загалом у родини Вужових (Colubridae) зафіксовано близько 11 видів цестод, у звичайного ж вужа – лише 1 облігатний вид – *Ophiotaenia europaea* (Odening, 1963). Локалізується у кишківнику, нерідко займаючи значну частину просвіту. Зараження відбувається перорально, шляхом поїдання проміжного хазяїна остаточною (Шарпило, 1976).

Першим проміжним хазяїном є дрібні ракоподібні. Жоуеух та Ваєр (1933) експериментальним шляхом визначили, що ними можуть бути *Paracyclops fimbriatus* (Fischer, 1853), *Megacyclops viridis*, *Diacyclops bicuspidatus bicuspidatus* та *Cyclops strenuus*. Вони провели ряд експериментів щодо дослідження життєвого циклу *O. europaea*, заражаючи пуголовків *Rana* sp. (Linnaeus, 1758) та форель і виявивши розвиток паразита в останній, проте не визначили ролі цього хазяїна у циклі паразита. Шарпило та Монченко (1971) виявили ще 6 видів циклопів, що можуть бути першим проміжним хазяїном, а саме – *Macrocyclus albidus* (Jurine, 1820), *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851), *Denticyclops denticulatus* (Graeter, 1903), *Cyclops furcifer* (Claus, 1857), *C. kikuchii* (Smirnov, 1932), *Acanthocyclops americanus* (Marsh, 1893). Наступним етапом були заражені кандидати на статус другого

проміжного хазяїна, а саме – ставкова та гостроморда жаби *P. ridibundus* та *R. arvalis*, відповідно, та дефінітивний хазяїн – полоз великий *Dolichophis jugularis* (L.). За результатами розтинів було виявлено інкапсульованих личинок у порожнині тіла полоза та гостромордої жаби і їх відсутність в озерної (полоза розітнули 2 місяці потому, амфібій через 40 днів). Інкапсульованими личинками з гостромордої жаби заразили мідянку *Coronella austriaca* (Laurenti, 1768); після розтину 64 дні потому, у кишківнику було виявлено кілька дорослих особин цестоди, що свідчить про триксенний цикл розвитку з участю циклопів, амфібій та змій. Сімнадцять років потому Biserkov та Genov (1988) додали до списку перших проміжних хазяїв *Acanthocyclops robustus robustus* (Sars G.O., 1863), *Eudiaptomus vulgaris vulgaris* (Schmeil, 1896) та *Cyclops vicinus*. У ролі другого проміжного хазяїна, окрім озерної жаби, були розглянуті особини інвазивних видів риб, а саме барбуса суматранського *Puntigrus tetrazona* (Bleeker, 1855) та мечоносця зеленого *Xiphophorus hellerii* (Heckel, 1848). Вуж водяний *Natrix tessellata* (Laurenti, 1768), вже згадана мідянка та полоз великий використовувалися як дефінітивні хазяї, причому першого заражали личинками безпосередньо з циклопів, а двох інших – плероцеркоїдами з амфібій та риб. Таким чином, було доведена необхідність наявності додаткового хазяїна у циклі розвитку цестоди, адже вужі, проковтнувши заражених циклопів, не заразились, на відміну від полоза та мідянки (мечоносець, до речі, також не заразився). Водночас, автори продемонстрували адаптацію личинок гельмінта до інтродукованих видів, що може становити загрозу для біорізноманіття біогеоценозу та свідчити про відносно низьку специфічність щодо вибору хазяїв. Схожа ідея розглядалась у дослідженні Ondračková et al. (2021), де автори виявили у природних умовах наявність плероцеркоїдів *O. europaеа* у коричневого сомика *Ameirus nebulosus* (Lesueur, 1819). Личинки були ідентифіковані, зокрема, молекулярно-генетичними методами, а саме аналізом послідовностей фрагментів гену 18S, 28S рРНК ядерної ДНК та cox1 мітохондріальної ДНК. Автори припускають можливість полювання

водяного та звичайного вужів на сомика через його високу щільність популяції. Сомик харчується як дрібними ракоподібними, так й іншими рибами та навіть амфібіями, що робить його одночасно потенційним паратенічним та додатковим хазяїном. На території України була зафіксована наявність плероцеркоїдів *O. europaea* у риб, а саме ротаня-головешки *Perccottus glenii* (Dybowski, 1877) у Дністрі (Kvach et al., 2013). Водночас, досліджень життєвого циклу цієї цестоди наразі недостатньо для точного визначення природних проміжних хазяїв.

**Тип Nematoda.** Головними особливостями нематод змій в екологічному плані є моноксенні життєві цикли, які включають лише одного хазяїна та різноманіття поколінь у межах життєвого циклу, а саме гетерогонія – чергування паразитичного партеногенетичного чи гермафродитного та вільноживучого роздільностатевого покоління.

Варто зазначити, втім, що дана особливість стосується не всіх нематод, паразитуючих у родини вужових, а тільки легеневих нематод родини *Rhabdiasidae* (Tkach et al., 2014), з яких у вужі звичайному оселився лише один вид – *Serpentirhabdias fuscovenosa* (Railliet, 1899). Він був початково описаний як *Ancylostomum fuscovenosum*, у 1899 році Railliet. Шарпило (1976) згадує його як *Rhabdias fuscovenosus*, проте у 2014 році був описаний рід *Serpentirhabdias* (Tkach et al., 2014), куди віднесли і згадану нематоду.

Локалізується дана нематода у респіраторній системі вужа, конкретно – правій легені, яка зазвичай розвинута повністю (Soldt et al, 2015), на відміну від рудиментарної лівої, де локалізується згадана вище *M. longicollis*. Шлях інвазії є дискусійним питанням, проте найбільш прийнятною наразі версією є потрапляння інвазійної личинки перорально. Натомість, яйця виводяться назовні через трахею та травну систему (Шарпило, 1976; Chu, 1936).

Railliet у 1899 році описав життєвий цикл цього виду і виявив відсутність статевого диморфізму у вільноживучого покоління, на противагу виду з ропухи сірої *Bufo bufo* – *Rhabdias bufonis* (Schrunk, 1788) Stiles & Hassall, 1905. Цей факт був підтверджений британським паразитологом Т.

Goodey (1924), який вивчав матеріал, отриманий із легені вужа звичайного, відомого тоді як *Tropidonotus natrix* (L.). Він описав також у деталях морфологію усіх личинкових стадій та дорослих особин *S. fuscovenosa*, відмітивши негативний геотропізм інвазійних личинок а також те, що зараження відбувається перорально, із міграцією інвазійної личинки напряду з травної системи у легеню. Крім цього, автор припускає, що дорослі гермафродитні самки спочатку розвивають чоловічі статеві органи, які продукують велику кількість спермійів, що надалі зберігаються у спермотеці (*receptaculum seminis*), а потім статева система диференціюється у жіночий тип.

Chu (1936) також провів ґрунтовні дослідження життєвого циклу й біології близькородного виду, відомого на той час, як *R. fuscovenosa* var. *catanensis* (Rizzo, 1902). Хоча гельмінти були отримані з інших видів хазяїв, а саме – північноамериканських *Nerodia (Natrix) sipedon* (L.) та *Thamnophis sirtalis* (L.), вони є близькими родичами *S. fuscovenosa* з нашого звичайного вужа. Особливістю дослідження є використання спеціальної культиваційної камери, завдяки якій були вперше зафіксовані роздільностатеві самці й самки у вільноживучому поколінні. Роздільностатеве покоління *S. fuscovenosa* присутнє завжди у дуже невеликій кількості, порівняно з гермафродитним, не більше 15% у дослідях Chu, причому самців завжди більше (рис. 1.1). Особливістю культиваційної камери є висока ефективність підтримання стабільної вологості, що забезпечує вищий відсоток загального рівня розвитку личинок і, відповідно, можливість фіксації вільноживучого покоління.

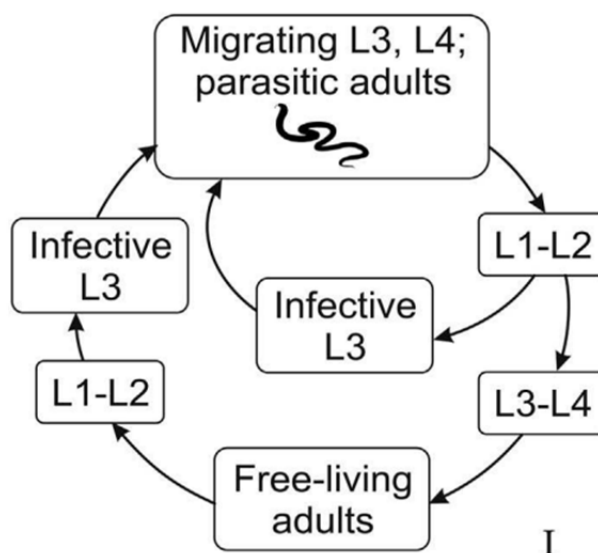


Рис. 1.1. – Життєвий цикл *S. fuscovenosa* (Tkach et al., 2014).

Автором також була підтверджена неможливість інвазійних личинок прорити крізь шкірні покриви хазяїна, навіть за умови поміщення їх під луску. Крім цього, філярієподібна личинка, що є нащадком вільноживучого покоління (рис. 1.2), не здатна викликати зараження взагалі, на відміну від рабдитидної інвазійної личинки, отриманої від паразитичного покоління.

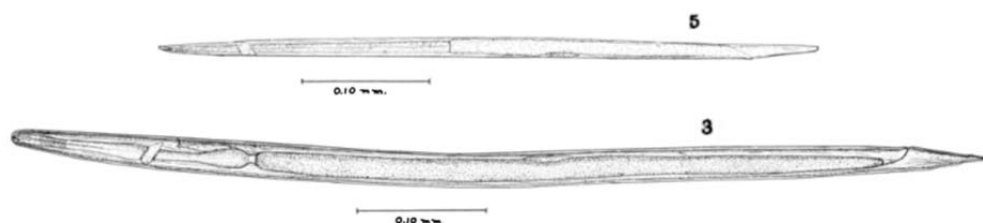


Рис. 1.2. – Личинки *S. fuscovenosa*: 3 – рабдитидна інвазійна, 5 – філярієподібна «інвазійна». Масштаб 0.1 мм.

Другим видом є насправді загадковий *Strongyloides mirzai* (Singh, 1954) з родини Strongyloididae. Він є одним з небагатьох видів нематод, що зафіксовані у гельмінтофауні вужа звичайного на території України (а саме з м. Київ), і відмічений Шарпило (1976) як поширений, але рідкісний, адже відомий лише за одиничними знахідками, тож ЕІ оцінити доволі важко.

Життєвий цикл, морфологія та біологія загалом детально вивчена автором таксону Singh (1954) з індійських змій родини Colubridae, а саме – *Ptyas mucosa* (L.). Увагу гельмінт привернув тим, що на початку спостережень був помилково визначений як варіація *S. stercoralis*, який є

паразитом ссавців, – *S. stercoralis* var. *eryxi*. Оскільки доволі дивно було б припускати, що нематода паразитує з однаковою ефективністю у ссавців та рептилій, Singh порівняв ці два види і дійшов висновку про їх різну таксономічну приналежність. Морфологічно, відмінності спостерігаються у будові хвоста та способі орієнтації личинки у яйці. Окрім цього, спроба експериментального зараження дефінітивних хазяїв – собак – яйцями гельмінта від змій провалилась. Водночас, автор відмічає потенційну можливість вивчати таким чином *S. stercoralis* якраз через близькостпорідненість даних видів, адже останнього доволі важко отримати з природних хазяїв, а він асоційований із багатьма серйозними патологіями, навіть канцерогенезом (Schär et al., 2013); водночас, його поширеність у змій Індії Singh оцінює у 100%.

Життєвий цикл, як і у випадку із *S. fuscovenosa*, є моноксенним із появою вільноживучого покоління, хоча співвідношення роздільностатевих вільноживучих до паразитичних особин тут радше на користь перших (Singh, 1954). Дорослі паразитичні партеногенетичні самки локалізуються у змій у кишківнику у складках слизового епітелію і є доволі дрібними – 2,67-3,69 мм у довжину (Singh, 1954; Шарпило, 1976). Яйця виводяться природним шляхом із фекаліями, ззовні відбувається розвиток до інвазивної філярієподібної личинки, яка, найімовірніше, проникає у вужа перорально через щільність шкірного покриву (щитки), проте шлях інвазії точно не встановлений (Singh, 1954).

### 1.3.2. Факультативні види гельмінтів

Усі вищезгадані види гельмінтів зафіксовані у вужа на дорослій стадії та використовують його як дефінітивного хазяїна. Проте, багато гельмінтів потрапляють у вужа випадково. Цей підрозділ фокусується на личинкових стадіях різних гельмінтів та прикладах паратенічного паразитизму.

**Тип Acanthocephala.** Найпершим прикладом буде *Sphaerirostris picae* (Rudolphi, 1819) (Acanthocephala: Centrorhynchidae), дорослих представників

якого у вужа звичайного не зафіксовано. У вужа звичайного цей вид відомий за одиничними знахідками з півдня та сходу України, хоча він відмічений Шарпило (1976) як один з найпоширеніших паразитів рептилій: на півдні України ЕІ ящірки прудкої, мідянки чи полоза жовточеревого сягає 20-60%, а ІІ – 38 екземплярів. Дефінітивними хазяями є птахи *Pica pica* (L.), *Corvus frugilegus* (L.) та *Sturnus vulgaris* (L.). Також фіксувалось зараження птахів роду *Milvus* (Lacapede, 1799), *Circus* (Lacapede, 1799), *Burhinus* (Illiger, 1811), *Charadrius* (L.), *Coracias* (L.), *Lanius* (L.), *Turdus* (L.), *Oenanthe* (Vieillot, 1816), *Muscicapa* (Brisson, 1760), *Pyrrocorax* (Tunstall, 1771), *Coloeus* (Kauo, 1829), зокрема з країн Середньої Азії, Франції, Болгарії та Ірану (Лісіцина, 2019). Проміжним хазяїном відмічений рачок *Armallidium versicolor* (Stein, 1859), а паратенічними – рептилії *Lacerta agilis* (L.), *Podarcis tauricus* (Pallas, 1814), *Darevskia lindholmi* (Szczerebak, 1962), *Natrix tessellata* (L.), *Dolichophis caspius* (Gmelin, 1789), *Coronella austriaca* (Laurenti, 1768), *Vipera renardi* (Christoph, 1861), а також навіть ссавці – *Erinaceus europaeus* (L.), *Sorex araneus* (L.) та *S. minutus* (L.) (Лісіцина, 2019).

Ідентифікація проводиться зазвичай за морфологією, зокрема, хоботка (ростеллума): кількість і характер розміщення рядів гачків та шипів на ньому є досить виразними ознаками для дорослих особин та личинкових стадій. Варто зазначити, що у паратенічних хазяїв зафіксована стадія акантели, яка спостерігається у проміжного (Невядомська та ін., 2007; Шарпило, 1976). У дефінітивних хазяях гельмінт локалізується у кишківнику. У вужа звичайного *S. picae* локалізується зазвичай у порожнині тіла, а саме на стінці травної трубки, печінці та навіть у скелетних м'язах. Зараження відбувається перорально, шляхом поїдання проміжного хазяїна, з подальшою линькою та міграцією гельмінта крізь стінку травного тракту. Це може призвести до дискомфорту для хазяїна, адже залоз проникнення у акантели немає, і міграція відбувається механічним шляхом з супутньою невеликою кровотечею та помірними запальними процесами (Krasnoshchekov et al., 2009).

**Клас Trematoda.** Як і у випадку з облігатними гельмінтами, найбільша кількість личинок гельмінтів, що були знайдені у вужа звичайного, є трематодними мета- або мезоцеркаріями (Шарпило, 1976). Переважну більшість із них складають паразити птахів та ссавців різних родин.

Першим і найцікавішим у даній секції видом є *Alaria alata* (Goeze, 1782) Krause, 1914 з родини Diplostomidae. Вона є одним із найчисельніших і найпоширеніших гельмінтів вужа звичайного і не тільки, адже її сягає 5-12 тис. особин, ЕІ тримається на рівні 80-100%, а місця знахідок розкидані по усій території України (Шарпило, 1976).

У вужі трематода локалізується у різних зонах порожнини тіла, часто на поверхні кишківника та у жировій тканині. Важливо відмітити, що стадія розвитку на цей момент носить назву мезоцеркарія і характеризується тонкою і ніжною оболонкою капсули, високою рухливістю та наявністю чотирьох великих залоз проникнення у передній половині тіла при детальному вивченні морфології (Невядомська, 2007).

Трематода має за дефінітивних хазяїв представників найчастіше родини Canidae, як-то вовк *Canis lupus* (L.), лисиця *Vulpes vulpes* (L.), собака *Canis familiaris* (L.) та інших хижих ссавців, у яких локалізується у тонкому кишківнику (Korpysa-Dzirba et al., 2021). Яйця виходять із фекаліями, розвиваються у мірацидії, поглинаються прісноводними молюсками *Planorbis* (Müller, 1773), *Helisoma* (Swainson, 1840), *Lymnaea* (Lamarck, 1799) та *Anisus* spp. (Studer, 1820), з яких у вигляді вже церкарії проникають у другого проміжного хазяїна – амфібію (рис. 1.3). Ними можуть бути *Rana arvalis*, *R. pipiens*, *R. temporaria*, *Pelophylax esculentus*, *P. ridibundus*, *Bufo bufo*, *B. viridis* та багато інших, які на території України не трапляються (Möhl et al., 2009). Саме тут, у порожнині тіла амфібії, церкарія перетворюється на мезоцеркарію, і, за умови поїдання остаточною хазяїном, мігрує у легені, де перетворюється на метцеркарію, яка вже, так званим мукоциліарним ескалатором виштовхується у глотку, заковтується і потрапляє нарешті у тонкий кишківник.

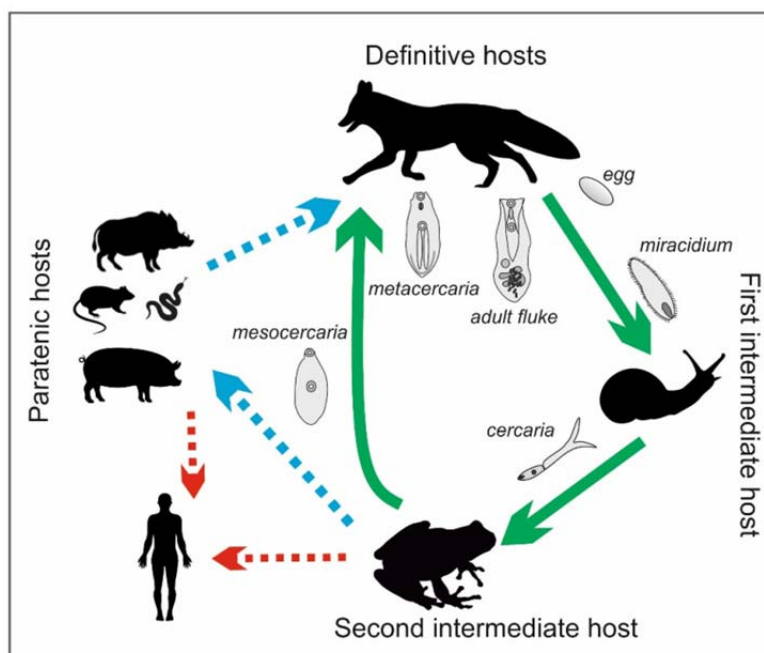


Рис. 1.3. – Життєвий цикл *A. alata*. Автор J. Karamon (Korpysa-Dzirba et al., 2021).

Проте, якщо амфібію з'їсть, до прикладу, кабан або вуж, метаморфозу не відбувається; натомість, личинка проникає крізь стінку травного тракту у порожнину тіла або м'язи і там інкапсулюється (Möhl et al., 2009). У випадку кабана *Sus scrofa* (L.) або домашньої свині така інвазія розглядається як потенційно небезпечна, як й інвазія *Trichinella spiralis*, тож є причиною стурбованості багатьох європейських дослідників (Duscher, 2011; Berger & Paulsen, 2014; Bilska-Zajak et al., 2021). Проте, значно серйознішим фактором є ризик патогенезу у людини, яка може заразитись шляхом споживання у їжу проміжних хазяїв (амфібій). адже кабани, наприклад, є мисливським видом відповідно чинного законодавства України – закон №1478-III «Про мисливське господарство та полювання» від 20 лютого 2000 року (<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1478-14#Text>). Наразі існує кілька випадків зараження з Європи та Північної Америки, де є близькоспоріднений вид – *A. americana* (Wasiluk, 2013). Симптоми можуть сильно варіювати залежно від локалізації мезоцеркарій та інтенсивності інвазії. Був зафіксований нейроретиніт (McDonald et al., 1994), також відмічені типові симптоми трихінельозу як-то біль у животі, слабкість, лихоманка тощо. Один

із найсерйозніших випадків спостерігали у Канаді (Freeman et al., 1976), коли двоє чоловіків, після куштування жаб'ячих лапок під час походу потрапили до лікарні із легкими симптомами отруєння, які за кілька днів розвинулись у системне порушення функціонування внутрішніх органів із летальним виходом. Аутопсія продемонструвала масивну внутрішню кровотечу внаслідок перфорації стінки травної трубки близько півтора тисячами мезоцеркарій *A. alata*. Відповідно, акцент на додатковій екзаменації м'ясних харчових продуктів на наявність *A. alata* додатково до *T. spiralis* не викликає подиву і є цілком обґрунтованим.

Наступними видами є два представники родини Strigeidae, які є кишковими паразитами птахів. *Strigea sphaerula* (Rudolphi, 1803) Szidat, 1928, наприклад, має за дефінітивних хазяїв воронових птахів, як-то грак *Corvus frugilegus* (L.), ворона сіра *Corvus cornix* (L.), сорока *Pica pica* (L.), тощо. На території України вона поширена скрізь, ЕІ сягає також 80-100%, проте ІІ дещо менша за *A. alata* – максимум кілька сотень екземплярів (Шарпило, 1976).

Життєвий цикл починається із «вилуплення» мірацидія, який трофічним шляхом потрапляє у молюска (Сударіков, 2002). Ними зазвичай у природі є *Anisus vortex* (L.), *A. leucostoma* (Millet, 1813), *P. planorbis* та *Segmentina nitida* (Müller, 1774). Другим проміжним хазяїном, уже для церкарії, є амфібія, а саме – *P. ridibundus*, *P. lessonae* (Camerano, 1882), *H. arborea* та *Lissotriton vulgaris* (L.). Також, випадки інвазії відмічались у *N. natrix*, *N. tessellata* (L.), *Vipera berus* (L.) Шарпило (1976), проте потенційно коло резервуарних хазяїв може бути значно ширшим. В амфібії церкарія локалізується у порожнині тіла на поверхні внутрішніх органів, у м'язах та жировому тілі статевих залоз, перетворюється на метациркулюючу й інцистується, готова до проникнення у птаха. У паратеничних хазяїв відбувається цілком аналогічний процес – оригінально життєвий цикл розшифрував Odening (1967) у Німеччині.

*Strigea falconis* (Szidat, 1928) є другим видом родини, і морфологічно відрізняється від *S. sphaerula* співвідношенням ротового та черевного присосків (перший менший) та овоїдною формою цисти (Сударіков, 2002). Шарпило у своїй монографії не згадує цей вид, що може пояснюватись відсутністю достатньої кількості даних для його ідентифікації та детального опису.

Життєвий цикл досліджений Odening (1967) на теренах Німеччини, і першим проміжним хазяїном були відмічені майже ті самі види моллюсків – *P. planorbis*, *Pl. carinatus* (Müller, 1774), *Planorbarius corneus* (L.), *Anisus contortus* (L.), *A. leucostoma*, *A. vortex*, *S. nitida*. Другим проміжним виступають *P. lessonae*, *P. ridibundus*, *R. arvalis*, *R. temporaria*, *Bombina bombina*, *P. fuscus*. Резервуарними хазяями можуть виступати велика кількість рептилій, птахів-батрахофагів та навіть ссавців; типовою локалізацією є поверхня внутрішніх органів, жирова тканина, а у птахів – під шкірою, навколо трахей та у м'язах грудей, шиї, голови та ніг (Сударіков, 2002). Дефінітивними хазяями є денні хижі птахи, у яких трематода локалізується у кишківнику.

Наступною парою видів пташиних трематод є представники родини Diplostomidae роду *Neodiplostomum* (Railliet, 1919). Насправді, інформації по них існує відносно небагато, адже ці види досить важко розрізнити морфологічно, що ускладнює розшифровку життєвих циклів та досліджень загалом.

*Neodiplostomum major* (Dubinina, 1950) був на початку описаний Дубініною (1950) із вужів та жаб дельти р. Волги (Рижиков та ін., 1980), проте, через, імовірно, недостатню на той момент вивченість диференційних морфологічних ознак був помилково визначений як *N. spathoides*. Природні дефінітивні хазяї, як і перші проміжні хазяї, або невідомі, або у літературі не згадуються (Шарпило, 1976; Рижиков, 1980; Сударіков, 2002). Другими проміжними хазяями є амфібії, а саме *H. arborea*, *P. ridibundus*, *P. lessonae*, у яких трематода локалізується на поверхні внутрішніх органів,

паренхіматозних органах, під шкірою, у м'язах та жировій тканині (Рижиков та ін., 1980). Паратенічними хазяями можуть виступати *N. natrix*, *N. tessellata*, *V. berus* та *Malpolon* sp., локалізація метацеркарії у них така сама; ЕІ у вужів сягає 100% (Шарпило, 1976).

*Neodiplostomum spathoides* (Dubois, 1937) на початку був досліджений Дубініною (1950) і описаний як *N. minor*, проте Odening (1965) спростував це визначення. Диференційними визначними ознаками є майже вдвічі менші параметри тіла, порівняно з *N. major* та менше співвідношення розмірів фаринксу до ротового присоска (Рижиков, 1980).

Життєвий цикл розшифрований Odening (1965) на теренах столиці Німеччини. Першим проміжним хазяїном він відмітив молюска *P. planorbis* як у природних, так і в експериментальних умовах. Церкарії, що з нього виходять, заражають жаб *P. ridibundus* та *P. lessonae*, локалізуючись у жировій тканині гонад та інших зонах порожнини тіла (Рижиков, 1980). Дефінітивними хазяями Сударіковим (2002) відмічені підорлик великий *Aquila clanga* (Pallas, 1811), шуліка чорний *Milvus migrans* (Boddaert, 1783), лунь очеретяний *Circus aeruginosus* (L.) та кібчик *Falco vespertinus* (Linnaeus, 1766). Коло паратенічних хазяїв доволі широке, Шарпило (1976) відмічав зокрема вужів звичайного *N. natrix* і водяного *N. tessellata*, гадюку звичайну *V. berus* і степову *V. renardi* (Christoph, 1861) та ящіркову змію *Malpolon* sp., проте потенційно ними можуть бути й інші птахи та ссавці. Локалізація метацеркарій та сама, що й у другому проміжному хазяїні.

**Тип Nematoda.** Нематоди – друга за чисельністю факультативних видів група у гельмінтофауні вужа звичайного. Серед них також є потенційно небезпечні для людини представники, наприклад – *Spirocerca lupi* (Rudolphi, 1809) з родини Spirocercidae. Шарпило (1976) вид відмічений як звичайний і широко поширений паразит рептилій, особливо часто зустрічається у ящірок – ЕІ може сягати 23%.

Життєвий цикл досліджували Singh та Chhabra (1972), виявивши преінвазивні личинкові стадії у жуків-копрофагів родини Scarabaeidae, із

детальним описом морфології та підтвердженням неінвазійності другої стадії. Пізніше цикл розвитку (рис. 1.4) був вивчений детальніше: в Ізраїлі Gottfried та ін. (2008) визначили проміжного хазяїна як *Onthophagus sellatus* (Klug, 1845), а у Південній Африці – *O. pugionatus* (Fåhræus, 1857), *O. ebenus* (Péringuey, 1888), *Gymnopleurus virens* (Erichson, 1843) (Du Toit et al., 2008). Дефінітивним хазяїном часто є собака *C. familiaris*, проте потенційно можуть бути й інші представники родини Canidae, наприклад, лисиця *V. vulpes*, вовк *C. lupus* та навіть інших родин, як-то кіт *Felis catus* (L.) та рись *Lynx rufus* (Schreber, 1777) з родини Felidae (Rojas et al., 2019).

Великий інтерес наукової спільноти нематода привернула здатністю викликати у тварин спіроцеркоз, хоча про випадки зараження людини наразі не відомо. Інвазійна личинкова стадія проникає у остаточно хазяїна, і локалізується у стінці грудної аорти, що простягається вздовж практично всього тіла (Rothmann, 2016). Звідти вона починає міграцію у краніальному напрямку, яка може тривати до 160 днів, доходячи до місця тісного контакту аорти зі стравоходом і мігрує вже у стінці стравоходу, де утворює випинання у просвіт (Rojas et al, 2020). Існують численні дослідження, що пов'язують виникнення злоякісних новоутворень у собак із спіроцеркозом, та низкою інших патологічних станів, наприклад, аневризми аорти, утворення наростів у стравоході, та міграція у інші тканини – спинний мозок, сечові канали, порожнину тіла та під шкіру (Rojas et al., 2020; Porras-Silesky, 2021). Натомість, патологій, пов'язаних із личинковими стадіями у паратенічних хазяях, зокрема вужі звичайному, поки не спостерігалось.

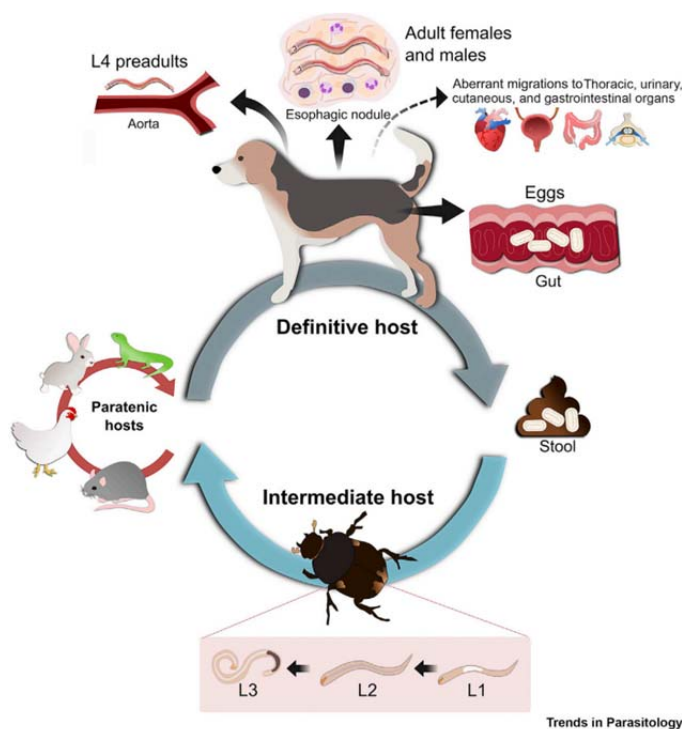


Рис. 1.4. – Життєвий цикл *S. lupi* (Rojas et al., 2020).

*Spiroxys contortus* (Rudolphi, 1819) Schneider, 1866 є більш поширеним і менш патогенним порівняно зі *S. lupi*, Шарпило (1976) відмічає його як звичайного паразита черепах, ЕІ сягає 100% по всій території України.

Життєвий цикл досліджений Hedrick (1935) у Північній Америці, зокрема, на матеріалі з Європи від черепахи болотної *Emys orbicularis* (L.), яка є дефінітивним хазяїном нематоди. Першим проміжним хазяїном є дрібне ракоподібне – циклоп – *Mesocyclops leuckarti* (Claus, 1857), *Macrocyclops albidus subsp. albidus* (Jurine, 1820), *Eucyclops agilis subsp. agilis* (Koch, 1838) або *Acanthocyclops brevispinosus* (Herrick, 1884), яких Hedrick заражав експериментально. Наступним експериментальним проміжним хазяїном стали умбра американська *Umbra limi* (Kirtland, 1840), сомик коричневий *Ameiurus nebulosus* (Lesueur, 1819), який є інвазивним видом у Європі (Kutsokon et al., 2018), зелена жаба *Lithobates clamitans* (Latreille, 1801), тритон східноамериканський *Notophthalmus viridescens* (Rafinesque, 1820), молюск *Ladislavella emarginata* (Say, 1821) та німфи тонкочеревців *Sympetrum* sp. (Newman, 1833). Розвиток (метаморфоз) личинок був зафіксований у циклопів та амфібій, значно менш ефективним виявився шлях передачі через

риб та молюсків (Hedrick, 1935). Незважаючи на можливість прямої передачі личинки від молюска до черепахи, другий проміжний хазяїн часто є необхідним через харчові уподобання дефінітивного хазяїна.

*Physaloptera clausa* (Rudolphi, 1819) є порівняно менш представленим видом у гельмінтофауні вужа звичайного – найбільша ЕІ відмічена у ящірок і сягає 20% (Шарпило, 1976).

Нематода є облігатним гельмінтом ссавців, конкретніше – їжака європейського *Erinaceus europaeus*, і щодо неї відомо відносно мало. Проміжними хазяями можуть бути жуки, таргани та цвіркуни, паратенічними – амфібії, комахоїдні та інші ссавці, плазуни та навіть птахи, що свідчить про низьку специфічність личинки до хазяїна. У паратенічного хазяїна локалізується у слизовій або стінці шлунку, як і у дефінітивного. В останньому випадку були помічені випадки серйозних патологій – анорексія, втрата ваги, діарея та сильні шлункові виразки; крім того, нематода може періодично змінювати місце прикріплення, спричиняючи постійну кровотечу (Chen et al., 2017). У паратенічних хазяїв подібного впливу помічено не було, крім виразок (Widmer, 1970). Її видовою особливістю є наявність яєць у самців – у клоаці, статевих шляхах та дистальному відділі кишківника; ймовірно, таке явище є адаптацією для підвищення шансів нащадкам проникнути у наступного хазяїна, наприклад, із паратенічного до дефінітивного (Gorgani et al., 2013).

### 1.3.3. Постциклічний (транзитний) паразитизм

Життєвий цикл гельмінта обов'язково включає хоча б одного хазяїна; останній вважається дефінітивним (остаточним) за умови факту статевого розмноження паразита у ньому, проміжним – за нестатевого та наявності метаморфозу, і паратенічним – за відсутності розмноження гельмінта та метаморфозу, проте можливого росту (Loker & Hofkin, 2015). Проте, може виникнути ситуація, коли остаточного хазяїна з'їдає інший хижак, а гельмінт, замість того, аби покинути незвичне і несприятливе середовище існування,

адаптується і деякий час живе у новому хазяїні, а іноді навіть починає відкладати там яйця. Таке явище трапляється достатньо рідко і носить назву постциклічного паразитизму, або ж висхідного ускладнення життєвого циклу (Benesh et al., 2021). Тим не менш, воно характерне для більшості типів гельмінтів (нематод, цестод, акантоцефалів та трематод).

Наприклад, у вужа звичайного такими є *Oswaldocruzia filiformis* (Goeze, 1782) Skrjabin & Schultz, 1952, *O. duboisi* (Ben Slimane, Durette-Desset & Chabaud, 1993) (Nematoda: Molineidae), *Oxysomatium brevicaudatum* (Zeder, 1800), *Neyraplectana schneideri* (Travassos, 1931) (Nematoda: Cosmocercidae), *O. ranae* (Trematoda: Telorchidae). Дефінітивними їх хазяями у природі є амфібії, тож випадки фіксації їх у вужа звичайного, зокрема, Шарпило (1976) та нами, не викликають подиву.

Враховуючи все вищесказане, можемо зробити висновок про зручність та інформативність дослідження угруповань гельмінтів вужа звичайного, адже велике видове багатство забезпечує комплексну інтегрованість вужа у систему екологічних зв'язків біоценозу. Відповідно, практично будь-які зміни в екосистемі впливатимуть на популяцію вужа звичайного та його гельмінтів, особливо це є корисним для визначення ступеню антропогенного навантаження та оцінки стану біорізноманіття біоценозу загалом. Крім цього, деякі факультативні види гельмінтів вужа потенційно здатні заражати свійських тварин та людей, і викликати широкий спектр патологій аж до летального виходу, тож моніторинг їх поширення та чисельності може бути предметом уваги епідеміологів та інших фахівців.

## Розділ 2. Матеріали та методи досліджень

### 2.1. Збір та розтини вужів

Збір та розтин вужів звичайних проводився протягом квітня 2018 р., липня та жовтня 2022 р. та березня-травня 2023 р. Всього було зібрано 21 дорослих особин вужа з Київської області. Вужів евтаназували шляхом ін'єкції 10% розчину лідокаїну гідрохлориду у головний мозок. Повний гельмінтологічний розтин вужів проводився за загальноприйнятою методикою у лабораторії відділу паразитології Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України (ІЗАН). Крім власноруч зібраного матеріалу, було визначено гельмінтів із трьох вужів, що зберігались у колекції Інституту та використано дані картотеки розтинів В. П. Шарпило стосовно Київської області за 1950-1970-і роки. Картотека включає дані розтину 58 особин вужа звичайного.

### 2.2. Збір та ідентифікація гельмінтів

Гельмінти були зібрані з кількох основних місць локалізації у тілі хазяїв, а саме порожнина тіла, шлунково-кишковий тракт і легеня. Для цього відповідний орган відокремлювався, поміщався у фізіологічний розчин, розтинався, а гельмінти збирались із нього за допомогою пензликів, для збереження цілісності екземплярів, у випадку трематод і нематод, і пінцетами – у випадку цестод. Після цього нематоди і трематоди фіксувались гарячим етанолом (70%), а цестоди – гарячою водою, і поміщались у пробірки з 70%-ним етанолом для подальшого зберігання.

Під час визначення, трематод і нематод перекладали з етанолу спочатку у дистильовану воду за кімнатної температури, а потім просвітлювали у розчині лактофенолу (Kuzmin et al., 2020). Інцистовані личинки трематод попередньо ексцистувались за допомогою гострих пінцетів та голок. Після повного просвітлення, яке визначалось візуально під бінокулярним мікроскопом, виготовлявся тимчасовий препарат, вивчався й фотографувався під мікроскопом Zeiss AxioImager M1 System (у центрі

колективного користування науковими приладами Animalia (<http://izan.kiev.ua/cen-coll.htm>)), обладнаним системою диференційного інтерференційного контрасту (DIC), цифровою фотокамерою та програмним забезпеченням AxioCam.

Морфологія цестод зазвичай вивчається на тотальних постійних препаратах, а самі екземпляри фарбуються за різними методиками. Ми використовували метод фарбування залізним ацетокарміном (Georgiev et al., 1986). Цестоди перекладалися зі спирту у розчин ацетокарміну, де витримувалися певний час. Час витримки залежить від розміру зразків, а результат визначається візуально – цестоди мають набуті темно-червоного кольору, в нашому випадку фарбування зайняло приблизно 30 хв. Після барвника, гельмінти диференціювалися у підкисленому спирті (5-7 крапель конц. соляної кислоти на 100 мл 70%-го спирту). Тривалість диференціювання контролювалась під бінокуляром і тривала доки фарба переставала виходити у розчин. Далі матеріал поміщався у чашку Петрі з фільтрувальним папером на дні, розрівнювався голками й накривався покривними скельцями. Наступним етапом цестоди зневоднювались етанолом зростаючої концентрації: 70%, 80%, 90%, 96% та 100%; час кожного промивання склав приблизно 15 хв, а для етанолу вищих концентрацій – 10 хв. Після цього, цестоди витримувались у гвоздичній олії приблизно 20-25 хв, поміщались у канадський бальзам на предметне скельце й накривались покривним. Для затвердіння бальзаму необхідно мінімум кілька діб, тому мікроскопіювання та мікрофотографування проводили за три доби після приготування препарату.

### 2.3. Молекулярні методи ідентифікації

Окрім морфології, останніми роками дієвою методикою ідентифікації видів гельмінтів є молекулярні методи дослідження, що базуються на послідовностях ядерної та мітохондріальної ДНК, варіації у яких є видоспецифічними. У нашій роботі було проведено екстракцію ДНК та

полімеразно-ланцюгову реакцію (ПЛР) зразків, за люб'язної допомоги Дмитрієвої Іванни Георгіївни у Центрі дослідження природи (Nature Research Center), м. Вільнюс, Литва.

Для молекулярних досліджень використовувалися фрагменти паразитів кожного виду. Для трематод та цестод відрізалися невеличкі ділянки, що не містять таксономічно важливих морфологічних ознак. Для нематод відрізалися ділянки середини тіла, в той час як передній та задній кінці залишалися для морфологічної ідентифікації. Для найдрібніших метацеркарій трематод використовували цілу личинку. Для кожного екземпляра, що використовувався для молекулярних досліджень, створено ваучери, що зберігаються у 70% етиловому спирті у окремих пробірках. Для найдрібніших видів паразитів та для личинкових стадій, яких доводилося використовувати цілком для екстракції ДНК, створені електронні ваучери (фотомікрографії на тимчасових препаратах у краплі дистильованої води). ДНК виділяли одним з двох наборів для екстракції — KAPA Express Extract Kit або ZYMO Research Quick-DNA Miniprep Kit. У протоколі виділення ДНК використовували кроки, рекомендовані виробниками з деякими модифікаціями. Перед початком процесу виділення ДНК, проби з фрагментами тканин гельмінтів були попередньо позбавлені етанолу за допомогою термоблоку Biosan серії TS-100C.

Процедура екстракції з використанням KAPA Express Extract Kit складалась з наступних етапів: послідовне додавання в пробірку для ПЛР 80 мкл молекулярної води, 10 мкл буферу, 2 мкл ферменту протеїнази К, перемішування всіх компонентів за допомогою вортексу. Після чого проби були поміщені в ПЛР-машину із наступним температурним протоколом: 25 хв при 75°C та 7 хв при 95°C. Після завершення циклу ПЛР, проби перекладали в центрифугу на 5 хвилин за 12000 об/хв і згодом транспортували 70 мкл супернатанту з готовими екстракціями із пробірок для ПЛР в стерильні пробірки Еппендорф.

Процес виділення ДНК за допомогою ZYMO Research Quick-DNA Miniprep Kit включав в себе цикл послідовного додавання буферних рідин та центрифугування протягом 1 хв за 12000 об/хв. В пробірки Еппендорф з фрагментами тканин гельмінтів додавали 500 мкл лізуючого буферу, перемішували за допомогою вортексу і залишали на 10 хв. Після чого рідину з пробірок Еппендорф транспортували в нові пробірки з фільтрами, які поміщали в збірні пробірки. Далі центрифугували, викидали збірні пробірки з відфільтрованою рідиною та замінювали їх на нові. Після додавання 200 мкл попередньо-очищаючого буферу та 500 мкл очищаючого буферу (з подальшими центрифугуваннями), пробірки з фільтрами поміщали в стерильні пробірки Еппендорф та додавали 45 мкл буферу для елюції ДНК. Через 5 хв центрифугували протягом 30 с за найвищої швидкості. Пробірки Еппендорф з готовими екстракціями зберігали в морозильній камері для подальшої ампліфікації ДНК.

Для полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) використовувалися відповідні групам паразитів праймери (Табл. 2.1) та температурні протоколи. Для ампліфікації гену *cox1* плоских червів (трематод і цестод) використовувалися праймери Dig\_cox1Fa та Dig\_cox1R із наступним температурним протоколом: попередня денатурація ДНК протягом 4 хв за температури 94°C; 35 циклів ампліфікації, що включають 30 с при 94°C, 30 с при 50 °C та 30 с при 72°C; остаточне подовження ланцюгів за температури 72°C протягом 7 хв. Також для цестод було використано праймери JB3 та JB4.5 із наступним температурним протоколом: попередня денатурація ДНК протягом 5 хв за температури 94°C; 35 циклів ампліфікації, що включають 50 с при 94°C, 30 с при 55 °C та 1 хв при 72°C; остаточне подовження ланцюгів за температури 72°C протягом 5 хв. Для ампліфікації цього ж гену у деяких видів трематод використовувалися праймери Dice1F та Dice1R із наступним температурним протоколом: попередня денатурація ДНК протягом 4 хв за температури 94°C; 35 циклів ампліфікації, що включають 40 с при 94°C, 40 с при 51 °C та 1 хв при 72°C; остаточне подовження ланцюгів за температури

72°C протягом 7 хв. Для ампліфікації гену *cox1* нематод використовували пару універсальних праймерів LCO1490 та HCO2198 із наступним температурним протоколом: попередня денатурація ДНК протягом 3 хв за температури 94°C; 40 циклів ампліфікації, що включають 30 с за 94°C, 30 с за 45 °C та 60 с за 72°C; остаточне подовження ланцюгів за температури 72°C протягом 10 хв. Ділянки гену 18S для всіх груп паразитів (завдяки високій консервативності цієї ділянки геному) були ампліфіковані з використанням праймерів 18SU467F та 18SL1310R із наступним температурним протоколом: попередня денатурація ДНК протягом 2 хв за температури 94°C; 35 циклів ампліфікації, що включають 30 с при 94°C, 60 с при 55 °C та 2 хв при 72°C; остаточне подовження ланцюгів за температури 72°C протягом 7 хв. Підбір праймерів здійснювався на основі літературних даних, що перевірялися вручну у програмі MEGA X на основі попередньо відомих послідовностей максимально наближених до досліджуваних видів паразитів.

Табл. 2.1. – Використані у роботі праймери.

| Код праймеру | Послідовність (5' – 3')                                               |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Dig_cox1Fa   | ATG ATW <sup>1</sup> TTY <sup>2</sup> TTY TTY YTD <sup>3</sup> ATG CC |
| Dig_cox1R    | TCN <sup>4</sup> GGR <sup>5</sup> TGH <sup>6</sup> CCR AAR AAY CAA AA |
| JB3          | TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT                                       |
| JB4.5        | TTC YTG AAG TTA ACA GCA TCA                                           |
| Dice1F       | ATT AAC CCT CAC TAA ATT WCN TTR GAT CAT AAG                           |
| Dice11R      | TAA TAC GAC TCA CTA TAG CWG WAC HAA ATT THC<br>GAT C                  |
| LCO1490      | GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G                                     |
| HCO2198      | TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA                                    |
| 18SU467F     | ATC CAA GGA AGG CAG CAG GC                                            |
| 18SL1310R    | CTC CAC CAA CTA AGA ACG GC                                            |

<sup>1</sup>W – слабка (A або T); <sup>2</sup>Y – піримідин (C або G); <sup>3</sup>D – A, G або T; <sup>4</sup>N – будь-який нуклеотид; <sup>5</sup>R – пурин (A або G); <sup>6</sup>H – A, C, або T (Nomenclature Committee, 1985).

Підготовка ПЛР суміші виконувалася у розрахунку на об'єм 20 або 25 мкл, що завжди включала 12.5 мкл суміші DreamTaq Green PCR Master Mix 2X (включає оптимальне співвідношення ДНК-полімерази, нуклеотидів, нейтрального буферу із зеленим барвником та  $MgCl_2$ ), 1.25 мкл кожного праймеру (у концентрації 10 пікоМоль), 1-3 мкл розчину екстрагованої ДНК та відповідної кількості деіонізованої води. Ампліфікація виконувалася у приладі Thermo Fisher Scientific MiniAmp Plus Thermal Cycler та SimpliAmp Thermal Cycler. Після ампліфікації, наявність ампліфікованих фрагментів перевірялася за допомогою електрофорезу у 1% агарозному гелі із напругою 85 вольт протягом 45 хв або 100 вольт протягом 30 хв для 18S та *cox1* ампліконів, відповідно. Очищення ДНК після ампліфікації здійснювали за допомогою ДНКнуклеазної суміші ExoSAP-IT Express протягом 5 хв та 30 с (4 хв за температури 37°C, 1 хв та 30 с за температури 80°C). Очищені проби ДНК відправлялися до приватних компаній для подальшого секвенування. Отримані послідовності (сиквенси) збиралися та вирівнювалися у програмі Geneious Prime, після чого аналізувалися шляхом порівняння із раніше відомими послідовностями (за допомогою системи Basic Local Alignment Search Tool – BLAST) та між собою. Остаточні варіанти отриманих сиквенсів завантажувалися до бази даних нуклеотидних послідовностей ГенБанк, використовуючи BankLit tool шлях завантаження для обох типів генів. Для протеїн-кодуючого гену *cox1* було перевірено амінокислотну послідовність (використовуючи генетичний код “mitochondrial invertebrate”) для переконання відсутності помилок і зсуву рамки зчитування. Амінокислотна послідовність перевірялася у програмі Mega X та за допомогою відповідного сервісу BLAST.

#### 2.4. Методи аналізу даних

Кількісні параметри кожного виду гельмінтів представлені інтенсивністю інвазії II (медіана, мінімальне та максимальне значення) як кількістю особин гельмінта у особині хазяїна; екстенсивністю інвазії EI, як відсотком заражених певним видом хазяїв; індексом рясності IP, як

середньою кількістю особин певного виду гельмінта в усій вибірці хазяїв (Bush et al., 1997); також була оцінена рівномірність розподілу видів гельмінтів у хазяях шляхом побудови гістограми, де на осі абсцис розташувались інтервали кількостей видів гельмінтів, а по ординат – їх відносна частота – операцію проводили у програмі MS Excel.

Оскільки наведені параметри, окрім EI, мають зазвичай не нормальний розподіл, а ближчий до негативного біноміального, для їх усереднення ми використовували медіанне значення, а порівнювали за допомогою непараметричного критерія Манна-Уїтні (Mann & Whitney, 1947). Крім наведених вище, була порахована кількість видів гельмінтів на особину хазяїна (видове багатство у інфраугрупованнях), і також порівняна за допомогою даного критерію. Також, для наведених параметрів були розраховані довірчі інтервали за значення  $p = 5\%$  за допомогою програми Quantitative Parasitology 3.0 (QP3) (Reiczigel & Rózsa, 2005). На основі його нижньої межі були виокремлені статистично недостовірні види, фіксація яких у вуза звичайного є цілком випадковим явищем.

Для аналізу угруповань були використані *індекси біорізноманіття* – чисельні параметри, що, базуючись на вихідних даних щодо чисельності та наявності певних видів гельмінтів у певному інфраугрупованні, здатні оцінити структуру угруповання загалом. Для цього формувалась об'єднана таблиця, де кожен стовпець відповідав певному виду гельмінта і кількості його екземплярів у кожній особині хазяїна, які розташовані по рядках, і завантажувалась у програму Primer6 (Clarke & Gorley, 2006).

Індекс Шеннона  $H'$  обраховувався за формулою (1).

$$H' = - \sum_{i=1}^n \left( \frac{N_i}{N} \right) \log_2 \left( \frac{N_i}{N} \right) \quad (1)$$

Тут  $N$  та  $N_i$  – це чисельність загальна та певного  $i$ -го виду, відповідно, а  $n$  – кількість видів.

Що цікаво, цей параметр був винайдений Shannon (1948) для застосування у сфері теорії комунікацій, проте виявився доволі зручним для застосування у сфері екології та паразитології, оскільки залежить від видового багатства (Morris et al., 2014; Грод, Шевчик, 2020). Концептуально, він є мірою ентропії біологічної системи; відповідно, що він вищий, то вища неупорядкованість, нерівномірність розподілу популяцій гельмінтів у популяції хазяїв.

Для візуалізації порівняння нашої вибірки та літературних даних картотеки ІЗАН вихідну таблицю з даними стандартизували (чисельність кожного виду гельмінта нормували на загальну кількість його особин у певному екземплярі хазяїна), трансформували функцією  $\log(x + 1)$  для зручності подальшої обробки та створили триангулярну матрицю подібності на основі індексу Брея-Кертиса (*Bray-Curtis*) (Bray & Curtis, 1957). Наступним кроком проводили неметричне багатовимірне шкалювання (*non-metrical multidimensional scaling*, nMDS) отриманої матриці, що представляє взаємозв'язки між зразками вибірки у 2D просторі, також у програмі Primer6 (Clarke & Gorley, 2006). На матриці подібності Брея-Кертиса також проводили відсоткове визначення подібності (*similarity percentage*, SIMPER), що бере за основу середню поширеність та визначає відмінності між видами всередині кожної з вибірок, та між ними, визначаючи також відносний (у %) внесок кожного виду у відмінності (Clarke & Gorley, 2006).

Для аналізу міжвидових взаємодій в угрупованнях гельмінтів використовували дві параметри – асоціації та коваріації (Laguerre & Poulin, 2015). З метою мінімізації випадкових факторів, було вибрано види з ЕІ не менше **10%**. Асоціація вказує на частоту фіксації двох видів разом у одному хазяїні – якщо це відбувається частіше, ніж поодинокі фіксації, асоціація вважається позитивною. Найчастіше це означає наявність спільного проміжного хазяїна у гельмінтів із гетероксенним життєвим циклом; зовнішнє від хазяїна середовище має значну вагу для даного параметру. Ми вважали доцільним обраховувати цей параметр для видів, які є спільними для

обох вибірок, адже присутність певного виду лише в одній вибірці може пояснюватись іншими факторами: наприклад, фактична відсутність виду на даній території, агрегованість розподілу чисельності популяції гельмінта у популяції хазяїна, людський фактор під час збору матеріалу тощо. Схема обрахунку являє собою класичний  $\chi$ -квадрат із попереднім ранжуванням даних за критерієм спільності для обох вибірок. Отримане значення порівнюється з табличним **3,84** ( $p = 0.05$ ) й, у разі перевищення цього значення, асоціація вважається присутньою із подальшою необхідністю виявити її характер. Асоціації між видами гельмінтів візуалізували у вигляді мережі за допомогою мови програмування R 4.2.0 (R Core Team, 2022), користуючись пакетом *cooccur* (обрахунок асоціацій), *visNetwork* (обрахунок параметрів мережі) та *igraph* (побудова діаграми).

Коваріація описує взаємодії видів гельмінтів на стадії паразитування у хазяїні, тобто навколишнє середовище має значно менший вплив на цей параметр. Він виражається через кореляцію чисельності двох видів гельмінтів у особинах хазяїна, коефіцієнт якої може бути визначений методом Спірмена (Spearman, 1904) через агрегований розподіл даних. Додатне значення коефіцієнту означає позитивну коваріацію, тобто чисельність видів гельмінтів достовірно більша за умови сумісного, аніж поодинокого, трапляння у хазяїні. Негативний коефіцієнт кореляції, відповідно – негативна коваріація, може свідчити про міжвидову конкуренцію, зумовлену, наприклад, спільним використанням ресурсу в хазяїні.

### Розділ 3. Результати та обговорення

За результатами підготовки даних було сформовано дві вибірки, позначені для зручності запису **N** та **S**. Для підвищення рівномірності та достовірності результатів, ми використовували записи лише з території Київської області, оскільки їх найбільше саме звідти. Перша вибірка включає зібрані власноруч дані: 21 особину вужа звичайного та 6401 екземпляр гельмінтів, що належать до 18 видів з трьох великих таксономічних груп: тип Nematoda (7), клас Trematoda (10), клас Cestoda (1). Результати аналізу даної вибірки також були опубліковані у вигляді датасету (Marushchak et al., 2024). Друга представляє собою записи картотеки ІЗАН, які були оцифровані у ході даної роботи, складається з 58 особин вужа звичайного та налічує 13594 екземпляри гельмінтів 21 виду: тип Nematoda (8), клас Trematoda (12), клас Cestoda (1).

#### 3.1. Аналіз параметрів зараження

Для кожного виду гельмінта з обох вибірок були пораховані  $\Pi$ , EI та IP та довірчі інтервали, результати представлені у табл. 3.1, 3.2 та 3.3, відповідно.

Для  $\Pi$  наведене середнє значення (*mean*) й, у дужках, медіана (*median*) і діапазон значень (*min-max*) (якщо середнє та медіана збігаються, наведене одне значення поза дужками). Довірчий інтервал обраховували за методом *bootstrap*. Також наведене р-значення порівняння арифметичних середніх за *bootstrap-t* тестом (ВТТ). Результати представлені у табл. 3.1. Обрахунок та порівняння проводили у програмі QP3.0.

Табл. 3.1. – Порівняння  $\Pi$  видів гельмінтів двох вибірок, N – наші дані, S – записи колекції ІЗАН. Жирним виділено середнє значення.

| Вид (таксон)           | N, mean ( <b>median</b> ; min-max) | S, mean ( <b>median</b> ; min-max) | $p_{ВТТ}$ |
|------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------|
| <i>S. fuscovenosa</i>  | 14,84 ( <b>21</b> ; 2-57)          | 10,27 ( <b>5</b> ; 1-30)           | 0,32      |
| <i>L. nigrovenosus</i> | 4,5 ( <b>8</b> ; 1-13)             | 9,71 ( <b>5</b> ; 1-255)           | 0,24      |

|                                             |                                |                               |      |
|---------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------|
| <i>S. contortus</i>                         | <b>1*</b>                      | 24,22 ( <b>15</b> ; 1-111)    | 1    |
| <i>E. colubrimurorum</i>                    | 28,4 ( <b>15</b> ; 2-99)       | 14,74 ( <b>40</b> ; 1-69)     | 0,09 |
| <i>M. longicollis</i>                       | 5,2 ( <b>2</b> ; 1-22)         | 3,88 ( <b>5</b> ; 1-15)       | 0,45 |
| <i>P. cloacicola</i>                        | 18,2 ( <b>21</b> ; 1-99)       | 39,14 ( <b>39</b> ; 2-219)    | 0,12 |
| <i>M. gracillimus</i>                       | 12,64 ( <b>36,5</b> ; 2-53)    | 13,08 ( <b>58</b> ; 1-58)     | 0,94 |
| <i>A. monticelli</i>                        | 118 ( <b>1</b> ; 1-424)        | 65,56 ( <b>208</b> ; 1-208)   | 0,29 |
| <i>T. assula</i>                            | 49,58 ( <b>114,5</b> ; 7-162)  | 32,71 ( <b>2</b> ; 1-200)     | 0,27 |
| <i>A. alata</i>                             | 136,67 ( <b>165</b> ; 7-250)   | 284,33 ( <b>18</b> ; 1-1500)  | 0,07 |
| <i>S. sphaerula</i>                         | 125,92 ( <b>110,5</b> ; 1-380) | —**                           | —    |
| <i>Metastrongyloidea</i><br><i>gen. sp.</i> | 12 ( <b>8</b> ; 4-30)          | —                             | —    |
| <i>O. europea</i>                           | 6,67 ( <b>2</b> ; 1-51)        | —                             | —    |
| <i>O. ranae</i>                             | <b>2,5</b> (2-3)               | —                             | —    |
| <i>O. duboisi</i>                           | <b>9*</b>                      | —                             | —    |
| <i>O. bravicaudatum</i>                     | <b>48*</b>                     | —                             | —    |
| <i>N. schneideri</i>                        | <b>32*</b>                     | —                             | —    |
| <i>Cosmocercidae</i><br><i>gen. sp.</i>     | <b>2*</b>                      | —                             | —    |
| <i>S. falconis</i>                          | —                              | 114,71 ( <b>5,5</b> ; 1-1000) | —    |
| <i>Oswaldocruzia sp.</i>                    | —                              | 6,67 ( <b>1</b> ; 1-12)       | —    |
| <i>O. filiformis</i>                        | —                              | <b>1*</b>                     | —    |
| <i>N. minor</i>                             | —                              | <b>13</b> (1-25)              | —    |
| <i>N. major</i>                             | —                              | <b>14*</b>                    | —    |
| <i>S. mirzai</i>                            | —                              | <b>1*</b>                     | —    |
| <i>S. lupi</i>                              | —                              | <b>12*</b>                    | —    |
| <i>Agamospirura sp.</i>                     | —                              | <b>7*</b>                     | —    |

\*Єдиний випадок реєстрації; \*\*немає даних.

Використовуючи дані табл. 3.1, була побудована діаграма розподілу II за медіаною та довірчим інтервалом (рис. 3.1).

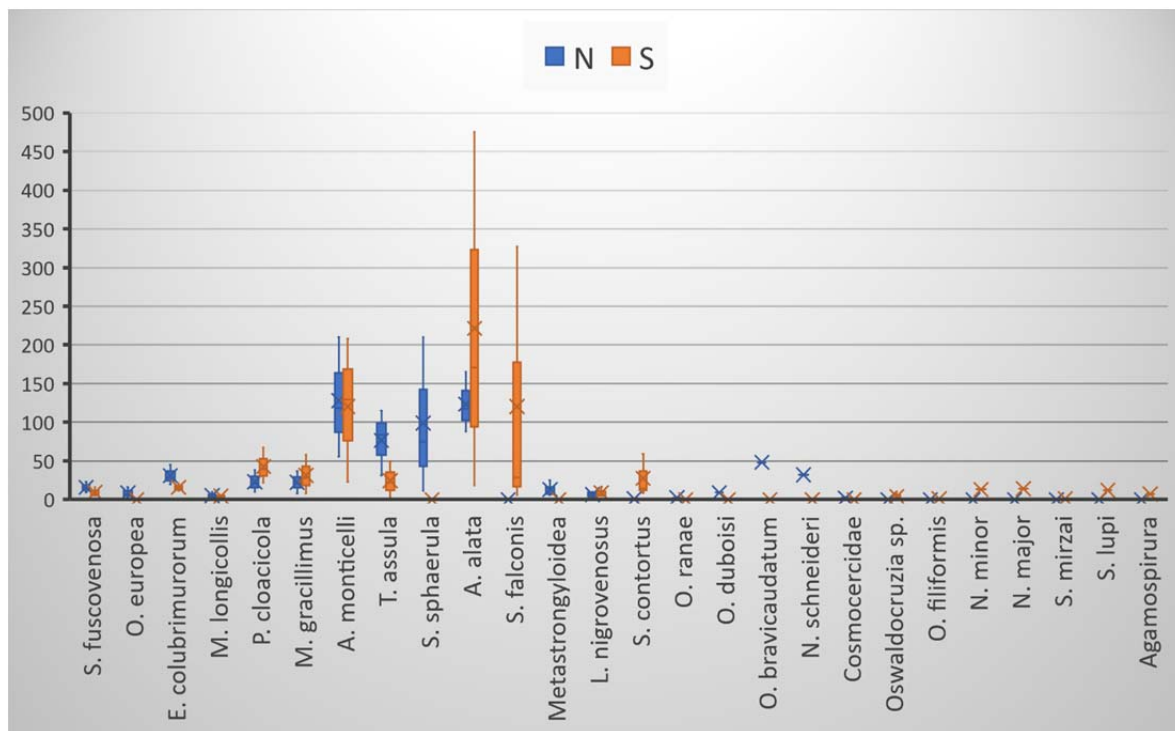


Рис. 3.1. – Розподіл інтенсивності інвазії в аналізованих вибірках.

Статистично достовірних відмінностей не показало порівняння даних жодного аналізованого виду. Проте, виходячи з діаграми, відчутні відмінності були зафіксовані для *E. colubrimurorum* ( $p_{BTT} = 0,09$ ), із вищою II у вибірці N. Найвищу II має *A. alata* (165) із вибірки N, що недостовірно, проте більше за вибірку S ( $p_{BTT} = 0,11$ ); протилежна картина спостерігається у *P. cloacicola* ( $p_{BTT} = 0,11$ ). Найвищий рівень подібності показав, що цікаво, *S. contortus* ( $p_{BTT} = 1$ ), для якого вуж є паратенічним хазяїном; проте, такий результат може бути спотворений, адже у нашій вибірці він зафіксований лише у одного вужа. З облігатних видів це *M. gracillimus* ( $p_{BTT} = 0,94$ ), що може свідчити про відсутність тенденцій до зміни інтенсивності зараження цими видами вужів. Загалом, більшість видів виявляють тенденцію до збільшення II у нашій вибірці – *A. monticelli* ( $p_{BTT} = 0,29$ ), *T. assula* ( $p_{BTT} = 0,29$ ), *M. longicollis* ( $p_{BTT} = 0,45$ ), *S. fuscovenosa* ( $p_{BTT} = 0,32$ ); водночас, наприклад, *L. nigrovenosus* ( $p_{BTT} = 0,24$ ) показав протилежну картину. Окрім цього, наша вибірка поповнилась новими видами, що відсутні у картотеці –

*O. europaea*, *S. sphaerula*. Також на графіку наявна низка видів, що представлені одиничними екземплярами й у одному хазяї з вибірки – найчастіше це постциклічні або личинкові стадії гельмінтів.

У табл. 3.2 наведені дані щодо екстенсивності інвазії (EI) виявлених видів гельмінтів у вибірках. Наведене значення й у дужках довірчий інтервал (*min-max*) – обраховували за поліпшеним методом Штерна або Вальда (*Sterne or Wald*). Також наведене р-значення порівняння арифметичних середніх за безумовним точним тестом (*UET*) тестом. Обрахунок та порівняння проводили у програмі QP3.0 та MS Excel.

Табл. 3.2. – Порівняння EI видів гельмінтів двох вибірок, N – наші дані, S – записи колекції ІЗАН. Жирним виділено середнє, довірчий інтервал 95%.

| Вид (таксон)                                | N, mean (min-max)           | S, mean (min-max)          | $p_{UET}$       |
|---------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------|
| <i>S. fuscovenosa</i>                       | <b>0,905</b> (0,696-0,983)  | <b>0,19</b> (0,105-0,309)  | <b>&lt;0,01</b> |
| <i>L. nigrovenosus</i>                      | <b>0,19</b> (0,068-0,403)   | <b>0,103</b> (0,058-0,231) | 0,272           |
| <i>S. contortus</i>                         | <b>0,048</b> (0,0025-0,233) | <b>0,132</b> (0,069-0,234) | 0,403           |
| <i>E. colubrimurorum</i>                    | <b>0,714</b> (0,494-0,868)  | <b>0,5</b> (0,381-0,618)   | 0,087           |
| <i>M. longicollis</i>                       | <b>0,714</b> (0,494-0,868)  | <b>0,353</b> (0,249-0,478) | <b>&lt;0,05</b> |
| <i>P. cloacicola</i>                        | <b>0,714</b> (0,494-0,868)  | <b>0,426</b> (0,314-0,552) | 0,243           |
| <i>M. gracillimus</i>                       | <b>0,667</b> (0,449-0,841)  | <b>0,191</b> (0,111-0,3)   | <b>&lt;0,01</b> |
| <i>A. monticelli</i>                        | <b>0,619</b> (0,403-0,803)  | <b>0,132</b> (0,069-0,234) | <b>&lt;0,01</b> |
| <i>T. assula</i>                            | <b>0,571</b> (0,354-0,767)  | <b>0,603</b> (0,478-0,714) | 1               |
| <i>A. alata</i>                             | <b>0,429</b> (0,233-0,646)  | <b>0,397</b> (0,286-0,522) | 1               |
| <i>O. europea</i>                           | <b>0,857</b> (0,645-0,96)   | —*                         | —               |
| <i>S. sphaerula</i>                         | <b>0,571</b> (0,354-0,767)  | —                          | —               |
| <i>Metastrongyloidea</i><br><i>gen. sp.</i> | <b>0,238</b> (0,099-0,455)  | —                          | —               |
| <i>O. ranae</i>                             | <b>0,095</b> (0,017-0,305)  | —                          | —               |
| <i>O. duboisi</i>                           | <b>0,048</b> (0,0025-0,233) | —                          | —               |

|                                         |                             |                             |   |
|-----------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---|
| <i>O. braviicaudatum</i>                | <b>0,048</b> (0,0025-0,233) | —                           | — |
| <i>N. schneideri</i>                    | <b>0,048</b> (0,0025-0,233) | —                           | — |
| <i>Cosmocercidae</i><br><i>gen. sp.</i> | <b>0,048</b> (0,0025-0,233) | —                           | — |
| <i>S. falconis</i>                      | —                           | <b>0,206</b> (0,123-0,322)  | — |
| <i>Oswaldocruzia sp.</i>                | —                           | <b>0,044</b> (0,012-0,123)  | — |
| <i>O. filiformis</i>                    | —                           | <b>0,029</b> (0,0053-0,1)   | — |
| <i>N. minor</i>                         | —                           | <b>0,029</b> (0,0053-0,1)   | — |
| <i>N. major</i>                         | —                           | <b>0,015</b> (0,0008-0,078) | — |
| <i>S. mirzai</i>                        | —                           | <b>0,015</b> (0,0008-0,078) | — |
| <i>S. lupi</i>                          | —                           | <b>0,015</b> (0,0008-0,078) | — |
| <i>Agamospirura sp.</i>                 | —                           | <b>0,015</b> (0,0008-0,078) | — |

\* немає даних.

За даними табл. 3.2 була побудована діаграма розподілу поширеності видів у популяціях хазяїв (рис. 3.2).

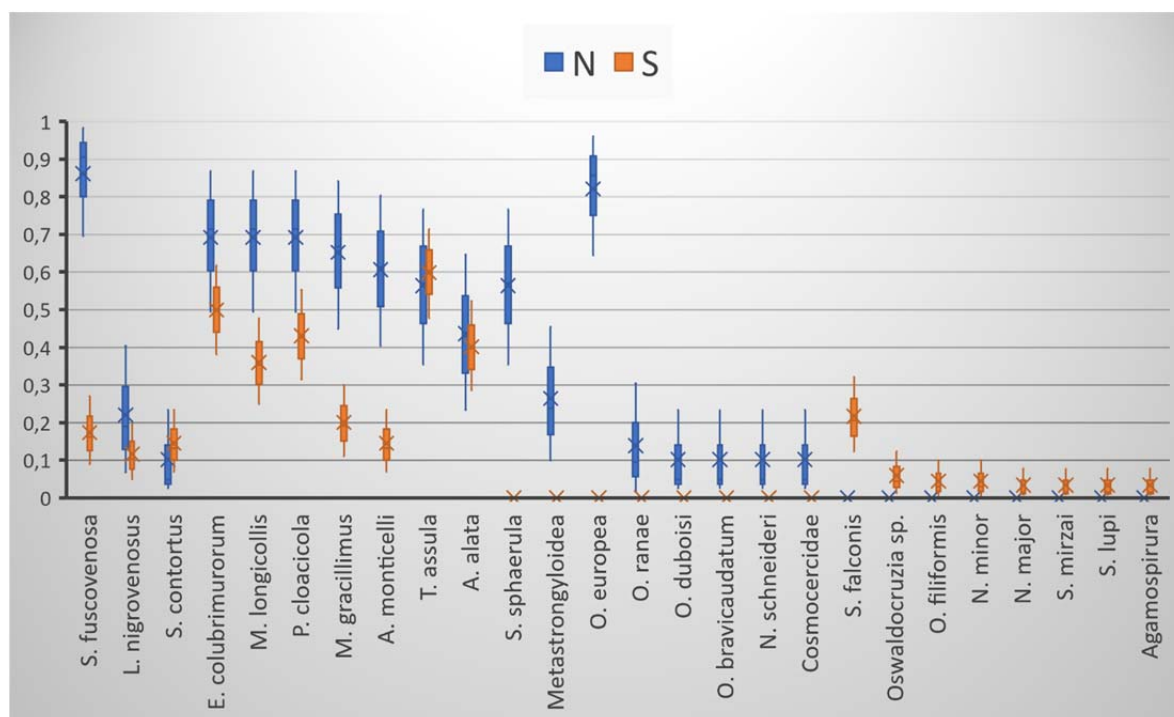


Рис. 3.2. – Порівняльний розподіл екстенсивності інвазії в аналізованих вибірках.

Як можна побачити з рис. 3.2, більшість видів статистично достовірно не відрізняються за аналізованим параметром. Найбільша подібність виявлена для трематод *T. assula* та *A. alata* ( $p_{UET} = 1$ ). Що є цікавим, інші види трематод, що домінують у складі гельмінтофауни вужа звичайного, значно менш яскраво представлені у вибірці *S*. Наприклад, *A. monticelli* не має і найменшого перекриття довірчих інтервалів EI ( $p_{UET} < 0,01$ ); у вибірці *N* її екстенсивність склала 61,9%, а у порівнюваній – 13,2%. *M. gracillimus*, попри свою спорідненість до *P. cloacicola*, *M. longicollis* та *L. nigrovenosus* (Tkach et al., 1999), має порівняно значно нижчі показники: значення  $p_{UET}$  становить 0,0001 проти 0,243, 0,0037 та 0,272, відповідно. Отже, *M. longicollis* та *M. gracillimus* достовірно більш поширені у вибірці *N* (71,4% проти 35,3% та 66,7% проти 19,1%, відповідно), що непрямым чином вказує на меншу інтенсивність циркуляції та ймовірно меншу поширеність проміжних хазяїв. Також цікавим фактом є достовірна відмінність у поширеності *S. fuscovenosa* ( $p_{UET} = 0$ ), причому, за даними вибірки *S*, EI становить лише 16,2%, тоді як у наших даних цей параметр сягає 90,5%. Цікавим даний факт є через моноксенний життєвий цикл даної нематоди, тож результати дають підстави зробити висновок до підвищення її поширеності та інтенсивності циркуляції.

Нарешті, у табл. 3.3 наведені дані щодо індексу рясності (IP) виявлених видів гельмінтів у вибірках. Наведене значення індексу (*mean*) й, у дужках, довірчий інтервал (*min-max*) – обраховували за методом *bootstrap*. Також наведене р-значення порівняння арифметичних середніх за *bootstrap-t* тестом (BTT). Обрахунок, порівняння та візуалізацію проводили у програмі QP3.0 та MS Excel.

Табл. 3.3. – Порівняння IP гельмінтів двох вибірок, *N* – наші дані, *S* – записи колекції ІЗАН. Жирним виділений індекс. Наведений довірчий інтервал 95%.

| Вид (таксон)          | <i>N</i> , mean (min-max) | <i>S</i> , mean (min-max) | $p_{BTT}$    |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------|--------------|
| <i>S. fuscovenosa</i> | <b>13,43</b> (8,43-20,9)  | <b>1,95</b> (0,86-3,97)   | <b>0,016</b> |

|                                             |                             |                               |       |
|---------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------|
| <i>L. nigrovenosus</i>                      | <b>0,86</b> (0,14-3,1)      | <b>1,17</b> (0,43-2,76)       | 0,73  |
| <i>S. contortus</i>                         | <b>0,05</b> (0-0,14)        | <b>3,76</b> (1,1-10,98)       | 0,22  |
| <i>E. colubrimurorum</i>                    | <b>20,29</b> (12,52-34,62)  | <b>8,64</b> (5,74-12,83)      | 0,072 |
| <i>M. longicollis</i>                       | <b>3,71</b> (2,19-7,1)      | <b>1,06</b> (0,98-2,52)       | 0,12  |
| <i>P. cloacicola</i>                        | <b>13</b> (6,24-29,62)      | <b>19,57</b> (10,28-35,41)    | 0,42  |
| <i>M. gracillimus</i>                       | <b>8,43</b> (4,76-15,81)    | <b>2,93</b> (1,38-6,83)       | 0,09  |
| <i>A. monticelli</i>                        | <b>73,05</b> (33,24-139,67) | <b>10,17</b> (3,12-25,57)     | 0,073 |
| <i>T. assula</i>                            | <b>28,33</b> (15,1-52,1)    | <b>23,12</b> (14,95-36,48)    | 0,63  |
| <i>A. alata</i>                             | <b>58,57</b> (27,57-97,48)  | <b>132,36</b> (73,31 -234,83) | 0,104 |
| <i>S. sphaerula</i>                         | <b>71,95</b> (36,48-134,95) | —                             | —     |
| <i>Metastrongyloidea</i><br><i>gen. sp.</i> | <b>2,86</b> (0,86-7,76)     | —                             | —     |
| <i>O. europea</i>                           | <b>5,71</b> (2,67-13,29)    | —*                            | —     |
| <i>O. ranae</i>                             | <b>0,24</b> (0-0,67)        | —                             | —     |
| <i>O. duboisi</i>                           | <b>0,43</b> (0-1,29)        | —                             | —     |
| <i>O. bravicaudatum</i>                     | <b>2,29</b> (0-6,68)        | —                             | —     |
| <i>N. schneideri</i>                        | <b>1,52</b> (0-4,57)        | —                             | —     |
| <i>Cosmocercidae gen.</i><br><i>sp.</i>     | <b>0,1</b> (0-0,29)         | —                             | —     |
| <i>S. falconis</i>                          | —                           | <b>27,69</b> (6,67-95,22)     | —     |
| <i>Oswaldocruzia sp.</i>                    | —                           | <b>0,34</b> (0,02-1,02)       | —     |
| <i>O. filiformis</i>                        | —                           | <b>0,03</b> (0-0,09)          | —     |
| <i>N. minor</i>                             | —                           | <b>0,45</b> (0-2,16)          | —     |
| <i>N. major</i>                             | —                           | <b>0,24</b> (0-0,72)          | —     |
| <i>S. mirzai</i>                            | —                           | <b>0,02</b> (0-0,05)          | —     |
| <i>S. lupi</i>                              | —                           | <b>0,21</b> (0-0,62)          | —     |
| <i>Agamospirura sp.</i>                     | —                           | <b>0,12</b> (0-0,36)          | —     |

\*немає даних

За даними табл. 3.3, була побудована діаграма розмаху середньої кількості особин гельмінта у особині хазяїна (рис. 3.3).

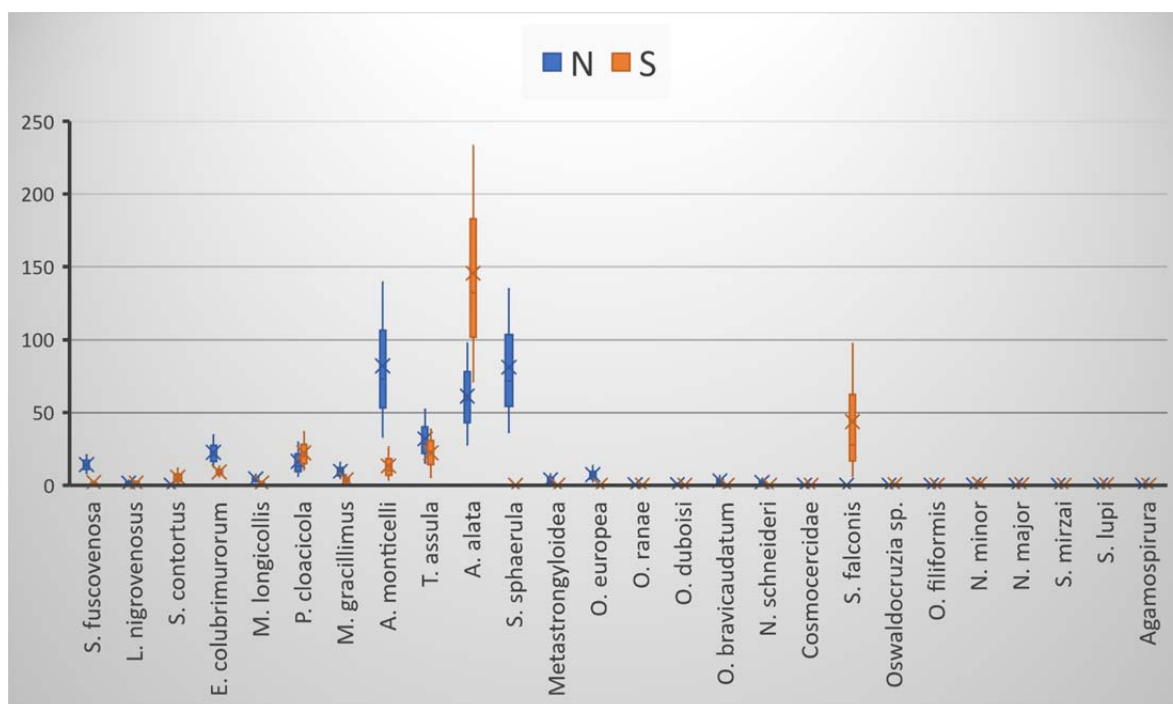


Рис. 3.3. – Розподіл та порівняння ІР аналізованих вибірок.

Концептуально, ІР відображає щільність, або розподіл чисельності інфрапопуляції гельмінтів у популяції хазяїна, і пов'язаний з поширеністю та кількістю особин певного виду гельмінта, що робить його доволі цікавим параметром. Отже, статистично достовірні відмінності виявлені лише для *S. fuscovenosa* ( $p_{BTT} = 0,016$ ), тобто значення вибірки N достовірно більше за таке з вибірки S. Причина, враховуючи різницю у ЕІ, може полягати на особливостях вибірки – в S місць збору більше, тож вона є менш однорідною, порівняно з N; також, саме ЕІ може робити найбільший внесок у розбіжність ІР. Параметр для трематод *M. gracillimus*, *E. colubrimurorum*, *A. monticelli* та *M. longicollis* показали трохи вищий рівень подібності –  $p_{BTT}$  склало 0,09, 0,072, 0,073, та 0,12 відповідно, з яких лише *A. alata* має вищі показники у вибірці S. Інші види облигатних видів гельмінтів, такі як *P. cloacicola*, *L. nigrovenosus* та *T. assula* мають значно вищий ступінь подібності ( $p_{BTT} = 0,42$ ; 0,73 та 0,63 відповідно), що може свідчити про їх приналежність до т.з. ядра гельмінтофауни вужа звичайного. З факультативних видів найвищі значення  $p_{BTT}$  має *S. contortus* (0,22) та *A. alata* (0,104), причому більші ІР

спостерігаються у вибірці S, що може обумовлюватись розміром вибірки (імовірність знайти факультативний вид більша у більшій за обсягом вибірці), або ж менша інтенсивність циркуляції даних видів на наших місцях збору, зумовлена взаємозв'язками із остаточними та проміжними хазяями цих видів; така ж причина може стосуватись й облигатних видів.

Окрім наведених параметрів, на основі даних про довжину тіла вужів звичайних та кількості екземплярів гельмінтів у них, для об'єднаної вибірки  $N$  та  $S$  був побудований кореляційний графік та обрахований відповідний коефіцієнт для виявлення та характеристики взаємозв'язку між цими двома параметрами. Оскільки чисельність видів гельмінтів характеризується розподілом Пуассона, був обраний ранговий коефіцієнт кореляції Спірмена. У вибірці  $N$  такі дані наявні для 15 вужів з 21, у вибірці  $S$  – для 43 з 58. Кореляцію було розраховано для загальної кількості екземплярів гельмінтів та візуалізовано на рис. 3.4. Обрахунок проводили у Statistics Kingdom (<https://www.statskingdom.com/>).

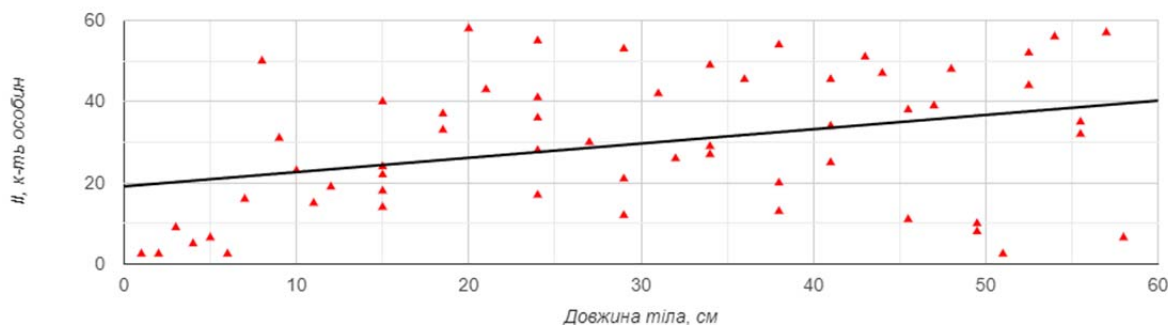


Рис. 3.4. – Кореляційна крива довжини тіла вужа та його загальної П.

За результатами аналізу розрахований коефіцієнт кореляції  $r_s$  склав 0,352, що свідчить про помірну позитивну кореляцію, що також відображає нахил прямої на графіку. Отже, існує зв'язок довжини тіла та загальної П вужа звичайного, що логічно пояснюється з біологічної точки зору, адже більші вужі, особливо самки, харчуються більше, споживаючи більшу кількість потенційних проміжних хазяїв і, відповідно, інтенсивніше заражаються гельмінтами. Також, ймовірною причиною може бути накопичення гельмінтів, особливо – личинкових стадій, протягом життя

вужа; проте, через відсутність даних щодо терміну життя окремих видів гельмінтів, внесок даного фактору може бути переоцінений.

### 3.2. Аналіз інфрагруповань

У цьому підрозділі наведено порівняння аналізованих вибірок на фауністичному рівні та з наступним розрахунком індексів біорізноманіття для інфрагруповань гельмінтів. Також проведена візуалізація отриманих даних за допомогою nMDS (див. п. 2.4). Також проведено порівняння EI, II, IP та видового багатства на рівні популяцій за допомогою непараметричного тесту Манна-Уїтні, адже перевірка на нормальність за допомогою тесту Шапіро-Уїлка показала достовірно негативний результат для усіх зазначених параметрів.

#### 3.2.1. Порівняння параметрів зараження

У табл. 3.4 наведені значення  $p_{MW}$  за тестом Манні-Уїтні для порівняння EI, загальної кількості особин гельмінтів у хазяїні, IP та кількості видів гельмінтів у одному хазяїні на рівні вибірки. Довірчим інтервалом було обрано 95%, відповідно, якщо отримане значення є меншим за 0,05, відмінності вважаються статистично достовірними.

Табл. 3.4. – Результати порівняння параметрів за тестом Манна-Уїтні.

| Параметр                      | $p_{MW}$ |
|-------------------------------|----------|
| EI                            | 0,142    |
| II                            | 0,3483   |
| К-ть видів на особину хазяїна | < 0,01   |
| IP                            | 0,5277   |

Як видно з табл. 3.4, достовірна відмінність вибірок виявлена у кількості видів гельмінтів у інфрагрупованні. Проте, вибірка S характеризується більшою кількістю точок збору, тоді як у N більшість екземплярів вужів зібрані з одного місця (окол. с. Лісники, м. Київ), що може

вплинути на розмах у даних всередині самої вибірки, та підвищує шанс на виявлення факультативних та малочисельних видів гельмінтів.

### 3.2.2. Індекс Шеннона

Наступним етапом для кожного інфрагрупування був обчислений індекс Шеннона  $H'$  у програмі Primer6 (Clarke & Gorley, 2006). Отримані набори даних були перенесені у програму Past 3.0, де ми обраховували середнє арифметичне, стандартне відхилення ( $SD$ ) та  $t$ -тест для порівняння арифметичних середніх двох вибірок (*two-sample t-test*). Для нашої вибірки (N) середнє значення індексу для усіх інфрагруповань склало  $1,87 \pm 0,91$ , для вибірки S –  $1,05 \pm 0,53$ . За результатами порівняння,  $p$ -значення склало  $4,89 * 10^{-6}$ , що означає наявність достовірних відмінностей даного параметру для вибірок. Іншими словами, середнє значення  $H'$  для вибірки N перевищує таке для вибірки S, отже, біорізноманіття для цих інфрагруповань вище. Внесок у таку різницю може вносити місце збору, адже заказник «Лісники» (нині частина Голосіївського НПП) характеризуються високим рівнем видового багатства як екосистема (Ю. Кузьмін – *усне повідомл.*). Враховуючи різноманітність точок збору колекційного матеріалу та їх розташування переважно поза межами м. Київ, можна припустити, що відповідні екосистеми мають дещо нижчі показники біорізноманіття; крім цього, варіювати умови проживання для вужів та їх здобичі можуть також у відносно незаселеній, сільській чи міській місцевості.

### 3.2.3. Візуалізація структури інфрагруповань

Метод *nMDS* (див. п. 2.4) дозволяє відобразити окремі інфрагрупування у вигляді двовимірної сітки, де кожному з них відповідає окрема точка. Таке представлення дозволяє оцінити схожість та однорідність екземплярів у вибірках за мірою розкидання точок та перекриття їх скупчень, адже відстані між окремими точками відповідають ступеню їх подібності.

На рис. 3.5 відображено результат застосування даного методу для наших вибірок.

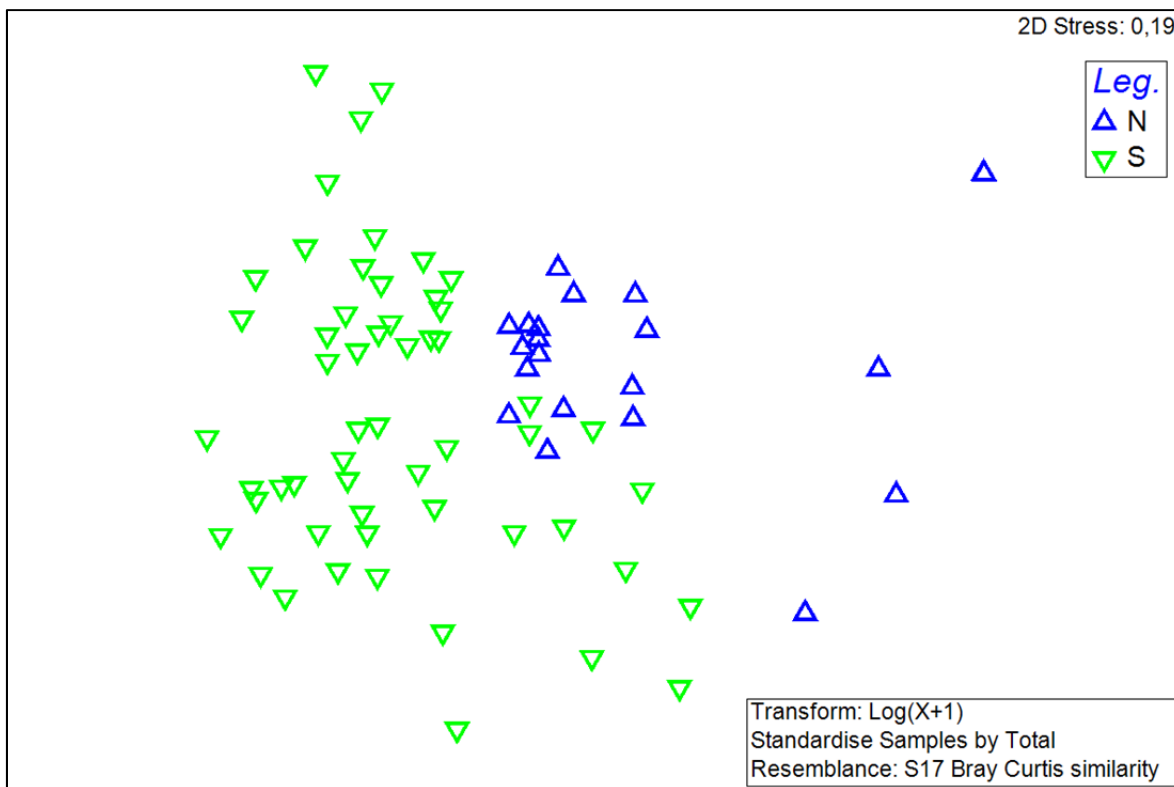


Рис. 3.5. – nMDS аналізованих вибірок на основі індексу Брей-Кертиса.

Як видно із рис. 3.5, вибірки утворюють дві більш-менш відокремлені групи, які значною мірою поєднуються. У спільну область потрапляє частина вибірки N з околиць с. Лісники, що закономірно, та один екземпляр з о. Ольжин. Що цікаво, у ту ж групу, проте на дещо більшій відстані, потрапили також екземпляри з оз. Алмазне та с. Боярка, які представляють собою дещо відокремлені субпопуляції. Натомість, інші екземпляри з о. Ольжин, с. Золоче та с. Балико-Щучінка розташовані на значному віддаленні від усіх інших інфрагруповань, що свідчить про значні відмінності.

Натомість, вибірка S характеризується виділенням одного кластеру, проте жодної географічної закономірності між його складовими виявлено не було – там переважають вужі з с. Бране Поле, с. Биківня, с. Козин, с. Нові Шепелічі та Пуща-Водиця. Інші екземпляри відносно рівномірно розподілені по площині, проте на значно більшій відстані. По одному екземпляру з с.

Козин, с. Бране Поле та Пуща-Водиці виявили значний ступінь схожості з такими з с. Лісники.

Для кількісного опису однорідності вибірок та відмінностей всередині них та між ними на рівні інфрагруповань був застосований метод SIMPER за допомогою програми Primer6 (Clarke & Gorley, 2006). Метод застосовували на матриці після стандартизації за загальною чисельністю гельмінтів для об'єднаної вибірки  $N + S$ , розділеної за фактором. Даний метод також дозволяє оцінити відносний вплив окремих видів гельмінтів на відмінності між вибірками та всередині них. За його результатами, внутрішня подібність у вибірках N та S склала 39,49% та 31,97%, відповідно; відносна відмінність була оцінена у 76,48%. Ситуація, найімовірніше, обумовлена розсіянням точок збору матеріалу та їх кількістю. Також може мати вплив різниця у роках – вибірка S датується часовим діапазоном 1950-і-70-і роки, тоді як N – 2018-23 роки, а за цей період умови навколишнього середовища, особливо забудова міста та глобальні тенденції (потепління), могли суттєво збільшити антропогенний тиск на флору та фауну. Проте, на нашу думку, чинники такого масштабу мало вплинули на нашу конкретну ситуацію.

Оцінка внеску окремих видів у міжвибіркові відмінності показала, що найбільший належить трематоді *T. assula* – 12,52% (табл. 3.5). Наступними за важливістю видами є *A. alata* (11,81%), *S. fuscovenosa* (10,75%) та *O. europaea* (10,34%), причому дані про останню відсутні у вибірці S. Інші види трематод, наприклад, *E. colubrimurorum*, *P. cloacicola* та *A. monticelli* також вносять суттєвий, хоча і менший внесок: 8,34%, 8,13% та 7,65% відповідно. Зважаючи на поліксенність життєвих циклів названих гельмінтів (крім *S. fuscovenosa*), можна припустити, що, у середньому, у місцях збору, зафіксованих у картотеці ІЗАН на Київщині, проміжні хазяї поширені менше – або чисельністю, або щільністю, порівняно із точками збору нашого матеріалу; у першу чергу, мова йде про амфібій, розмноження яких зазвичай вимагає наявності водойм; проте пересихання останніх може призвести до стресу для популяції як хазяїв – жаб, так і їх гельмінтів, у тому числі –

личинкових стадій. Відповідно, циркуляція гельмінтів інтенсифікується для забезпечення виживання популяції. Із нематодою *S. fuscovenosa* ситуація може пояснюватись схожим чином, незважаючи на відсутність у життєвому циклі проміжних хазяїв. Адже поблизу с. Лісники, де проводили збори матеріалу, спостерігається протягом останніх десятиліть пересихання ставків, що закономірно веде до зміщення ареалу популяції амфібій та рептилій.

Табл. 3.5. – Результати тесту SIMPER для аналізованих вибірок.

| Вид (таксон)             | Середній IP |           | Внесок, % |
|--------------------------|-------------|-----------|-----------|
|                          | Вибірка N   | Вибірка S |           |
| <i>T. assula</i>         | 7,76        | 22,34     | 12,52     |
| <i>A. alata</i>          | 6,55        | 17,5      | 11,81     |
| <i>S. fuscovenosus</i>   | 16,72       | 3,78      | 10,75     |
| <i>O. europea</i>        | 15,81       | 0         | 10,34     |
| <i>E. colubrimurorum</i> | 9,13        | 13,67     | 8,34      |
| <i>P. cloacicola</i>     | 5,97        | 12,58     | 8,13      |
| <i>A. monticelli</i>     | 9,13        | 5,36      | 7,65      |
| <i>M. gracillimus</i>    | 6,63        | 5,35      | 5,98      |
| <i>S. sphaerula</i>      | 8,34        | 0         | 5,45      |
| <i>L. nigrovenosus</i>   | 3,74        | 3,5       | 4,35      |
| <i>M. longicollis</i>    | 4,54        | 4,94      | 3,81      |
| <i>S. falconis</i>       | 0           | 4,63      | 3,03      |

### 3.3. Асоціації та коваріації

Аналіз асоціації зводиться до визначення, чи частота спільної інвазії для двох видів гельмінтів вища, ніж така для кожного з них окремо. Найбільша увага приділяється видам зі схожими життєвими циклами, адже наявність спільних проміжних хазяїв підвищує ймовірність спільного трапляння в остаточному хазяїні.

Асоціації визначали та візуалізували за допомогою мови програмування R (R Core Team, 2022) та відповідних бібліотек (див. п. 2.4)

для кожної з вибірок та на об'єднаній вибірці  $N + S$ . Для підвищення достовірності та наочності результатів, види з  $EI < 10\%$  не були враховані. Таким чином, з вибірки N були вилучені гельмінти *O. ranae*, *O. duboisi*, *O. bravicaudatum*, *N. schneideri*, *Cosmocercidae gen. sp.*, *S. contortus*. З вибірки S було вилучено *N. major*, *N. minor*, *S. mirzai*, *O. filiformis*, *Oswaldocruzia sp.*, *S. lupi* та *Agamospirura sp.*

Результати представлені на рис. 3.3.1А, де суцільними лініями позначені позитивні асоціації, а пунктирними – негативні. Відсутність ліній означає відсутність асоціацій між видами, це стосується більшості факультативних та випадкових (часто личинкових) видів гельмінтів та випадків постциклічного паразитизму. Натомість, рис. 3.3.1Б демонструє так зване ядро гельмінтофауни вужа звичайного на теренах Київщини, тобто облігатні види та ті, які утворюють асоціації різного характеру.

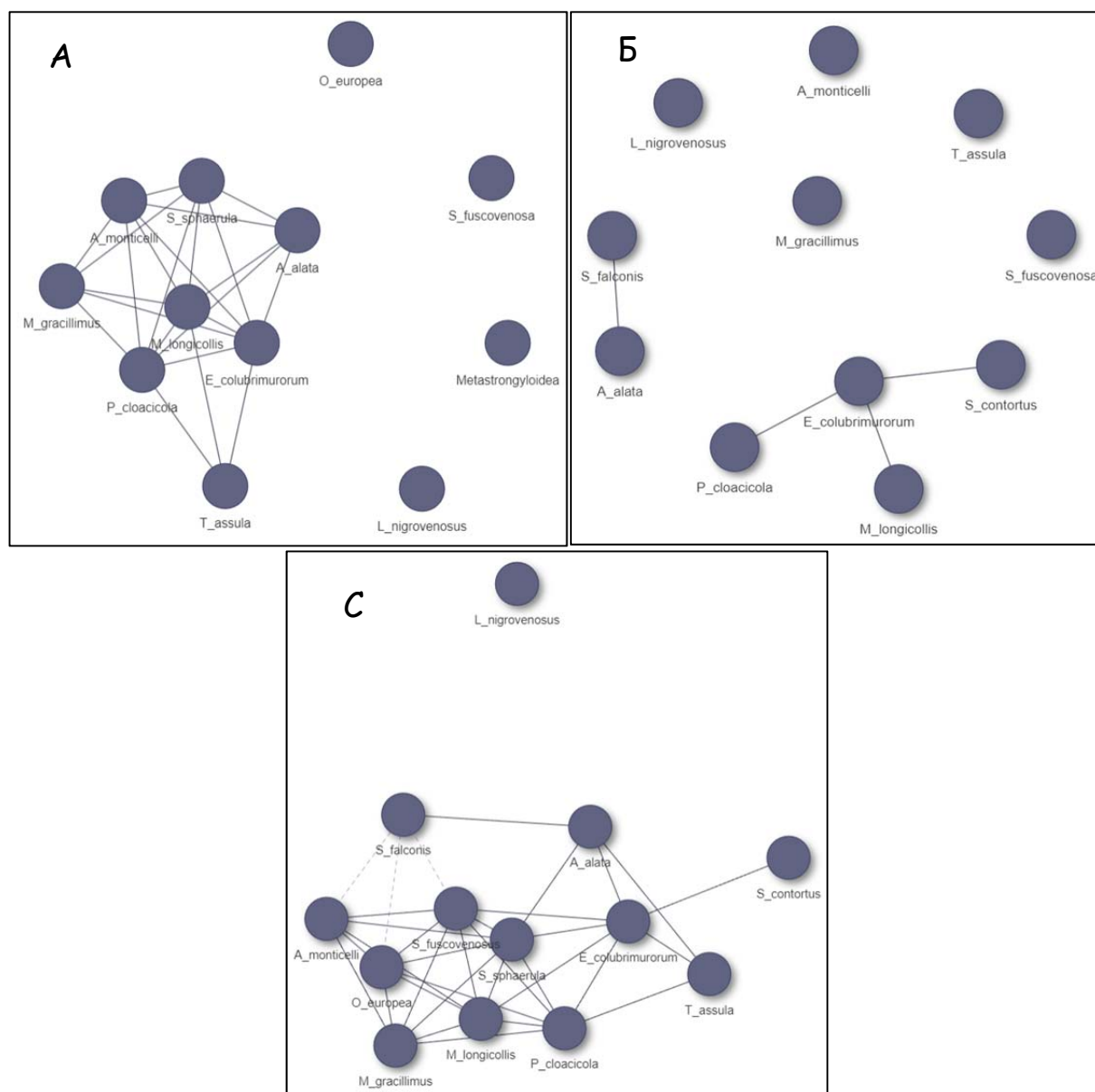


Рис. 3.6. – Діаграма асоціацій видів гельмінтів вужа звичайного:

А – для вибірки N, Б – для S, С – для об'єднаної вибірки.

Як можна побачити з рис. 3.6А, лише 4 види не утворюють асоціацій – *O. europaea*, *L. nigrovenosus*, *S. fuscovenosa* та личинки нематод родини *Metastrongyloidea*. Оскільки останні не можуть бути ідентифіковані за морфологічними ознаками, важко робити припущення, проте три інші види характеризуються відсутністю проміжних хазяїв (*S. fuscovenosa*), мають за них унікальні види (*O. europaea*), або ж не є поширеними достатньо у аналізованих екосистемах для виникнення подібних зв'язків (*L. nigrovenosus*), що унеможливорює спільну інвазію хазяїна. Усі інші види утворюють стійкі позитивні асоціації, що може пояснюватись, крім схожості

проміжних хазяїв, особливо додаткового, також особливістю вибірки, адже більша її частина забрана на околицях с. Лісники.

На рис. 3.6Б бачимо різко протилежну картину – більшість видів не утворюють асоціативних зв'язків зовсім. Натомість, позитивний зв'язок виявила пара видів *A. alata* та *S. falconis*, що може пояснюватись високою інтенсивністю циркуляції та схожими життєвими циклами. Також подібний зв'язок спостерігався для трематоди *E. colubrimurorum* з *P. cloacicola*, *M. longicollis* та нематоди *S. contortus*, яка теж може циркулювати через амфібій. Що цікаво, незважаючи на генетичну подібність, між *M. longicollis* та *P. cloacicola* зв'язку не виявлено, як і зі *S. contortus*.

У випадку об'єднаної вибірки (рис. 3.6, С) картина виявилась досить схожою на вибірку N, адже більшість видів, особливо трематод, виявляють позитивні асоціації одне з одним; найімовірніше, цьому сприяють спільні додаткові хазяї – амфібії, зокрема представники роду *Rana*. Цікавість полягає у появі негативних асоціацій, а саме метацеркації трематоди *S. falconis* із *A. monticelli*, *O. europaea* та *S. fuscovenosa*. Біологічного пояснення подібного явища знайти вкрай важко, тож ми схиляємось до статистичного впливу особливостей вибірок – адже *S. falconis* та *O. europaea* є унікальними для вибірок S та N відповідно.

Заключним етапом статистичного аналізу інфраугруповань є коваріації між видами гельмінтів. Даний метод доцільно використовувати у разі позитивної асоціації між видами, наявності їх в обох вибірках одночасно для уникнення хибно-позитивних результатів і спільною локалізацією в організмі хазяїна. Також, у даному разі просторово-часові відмінності між вибірками та окремими екземплярами хазяїв мають мінімальний вторинний вплив на інтерпретацію результатів, адже міжвидові взаємодії гельмінтів розглядаються на рівні певного органу локалізації, після проникнення. З цієї причини аналізували об'єднану вибірку  $N + S$  для досягнення кращого рівня репрезентативності.

Табл. 3.6. – Коефіцієнти кореляції між видами гельмінтів.

Жирним виділено значення, для яких  $p < 0,05$ .

|                          | <i>E. colubrimurorum</i> | <i>T. assula</i> | <i>M. longicollis</i> | <i>L. nigrovenosus</i> | <i>M. gracillimus</i> | <i>P. cloacicola</i> | <i>A. monticelli</i> | <i>A. alata</i> | <i>S. fuscovenosa</i> |
|--------------------------|--------------------------|------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|-----------------|-----------------------|
| <i>E. colubrimurorum</i> |                          |                  |                       |                        |                       |                      |                      |                 |                       |
| <i>T. assula</i>         | 0,15                     |                  |                       |                        |                       |                      |                      |                 |                       |
| <i>M. longicollis</i>    | 0,16                     | 0,17             |                       |                        |                       |                      |                      |                 |                       |
| <i>L. nigrovenosus</i>   | 0                        | -0,577           | 0,026                 |                        |                       |                      |                      |                 |                       |
| <i>M. gracillimus</i>    | 0,42                     | 0,064            | <b>0,45</b>           | 0                      |                       |                      |                      |                 |                       |
| <i>P. cloacicola</i>     | 0,106                    | 0,036            | -0,3                  | <b>0,44</b>            | 0,11                  |                      |                      |                 |                       |
| <i>A. monticelli</i>     | <b>0,8</b>               | <b>0,58</b>      | 0,32                  | 0,28                   | 0,48                  | 0,34                 |                      |                 |                       |
| <i>A. alata</i>          | 0,005                    | -0,027           | 0,24                  | <b>0,44</b>            | 0,12                  | <b>0,44</b>          | -0,082               |                 |                       |
| <i>S. fuscovenosa</i>    | 0,186                    | -0,01            | 0,22                  | 0,013                  | <b>1</b>              | 0,013                | -0,009               | -0,41           |                       |

За результатом аналізів, було виявлено пари видів, що показують достовірну позитивну кореляцію чисельності. Найсильніший зв'язок був виявлений між трематодою *M. gracillimus* та нематодою *S. fuscovenosa*, що навряд має біологічне підґрунтя; також сильний позитивний зв'язок виявила пара трематод *E. colubrimurorum* та *A. monticelli* ( $r_s = 0,8$ ), що може означати наявність спільних проміжних хазяїв, адже асоціації цих видів також були позитивними. Також позитивну кореляцію чисельності виявили *T. assula* та *A. monticelli*, незважаючи на спільну локалізацію та загальну морфологічну подібність. Цікавим є також утворення видами *L. nigrovenosus*, *P. cloacicola* та *A. alata* достовірних позитивних коваріацій між собою ( $r_s = 0,44$ ). Достатньо важко знайти біологічне пояснення такого явища, адже усі трематоди мають різні життєві цикли, параметри зараження та локалізацію у хазяїні. Ми припускаємо, що таке поєднання видів само по собі є поширеним у вибірці. Нарешті, схожий рівень коваріації показала пара видів

*M. longicollis* та *M. gracillimus*, що у доповненні з позитивною асоціацією показує, що дані види використовують часто одного проміжного хазяїна для проникнення у дефінітивного.

## Висновки

У ході роботи зібрано та досліджено гельмінтів вужа звичайного із 8 пунктів із м. Київ. Отримані дані щодо популяцій та угруповань гельмінтів були порівняні із аналогічними даними з картотеки розтинів рептилій відділу паразитології ІЗАН. Наша вибірка містить дещо свіжіші дані – 2018-23 рр., тоді як записи картотеки датуються 1950-70-ми рр., проте відлов та розтин усіх вужів проводився в сезон – з квітня по серпень.

Проаналізовані на сучасному рівні дані дозволили зробити наступні висновки.

- 1) У власноруч зібраному матеріалі було визначено 6401 особину з 18 видів гельмінтів (вибірка N), а також використано дані щодо 13594 особин з 21 виду для вибірки з картотеки ІЗАН (вибірка S). Вцілому, із 26 виявлених видів, 10 були спільними, а 16 – унікальними (по 8 для кожної вибірки).
- 2) На основі отриманих послідовностей генів *cox1* та *18S* була підтверджена ідентифікація видів трематод *E. colubrimurorum*, *A. alata* та нематоди *S. fuscovenosa*; дані послідовності були вперше отримані на матеріалі з території України.
- 3) За результатами порівняння екстенсивності інвазії, інтенсивності інвазії та індексу рясності методами bootstrap t-test та безумовного точного тесту, більшість спільних видів показали низький, але достовірний рівень подібності ( $0,05 < p < 0,5$ ) за всіма параметрами. Водночас, було виявлено більшу поширеність *S. fuscovenosa*, *M. gracillimus*, *M. longicollis* та *A. monticelli* з вибірки N. Порівняння параметрів зараження виявило подібність вибірок, крім кількості видів гельмінтів на особину хазяїна.
- 4) Порівняння інфраугруповань за індексом біорізноманіття Шеннона показало достовірно вищий рівень біорізноманіття у вибірці N ( $p < 0,01$ ). Окрім цього, була виявлена слабка позитивна кореляція

довжини тіла вужа звичайного та загальної кількості особин гельмінтів у ньому.

- 5) Отримані результати свідчать про відсутність радикальних змін в угрупованнях гельмінтів вужа звичайного протягом останніх 50-70 років. Водночас, деякі відмінності у параметрах поширення і чисельності окремих видів та характери, ймовірно, пов'язані з унікальними умовами збору матеріалу, що необхідно брати до уваги у подальших дослідженнях подібної тематики.

### Список джерел

1. (1985), Nomenclature for incompletely specified bases in nucleic acid sequences. *European Journal of Biochemistry*, 150, 1-5. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1985.tb08977.x>
2. Benesh, D. P., Parker, G., & Chubb, J. C. (2021). Life-cycle complexity in helminths: What are the benefits? *Evolution*, 75(8), 1936–1952. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/evo.14299>
3. Berger, E.M. & Paulsen, Peter. (2014). Findings of *Alaria alata* mesocercariae in wild boars (*Sus scrofa*, Linnaeus, 1758) in west Hungary (Transdanubia regions). *Wiener Tierarztliche Monatsschrift*, 101, 120-123.
4. Berger, W. H. & Parker, F. L. (1970). Diversity of Planktonic Foraminifera in Deep-Sea Sediments. *Science* 168, 1345-1347. <https://doi.org/10.1126/science.168.3937.1345>
5. Bilska-Zajac, E., Marucci, G., Piróg-Komorowska, A., Cichocka, M., Różycki, M., Karamon, J., Sroka, J., Belcik, A., Mizak, I., & Cencek, T. (2021). Occurrence of *Alaria alata* in wild boars (*Sus scrofa*) in Poland and detection of genetic variability between isolates. *Parasitology research*, 120(1), 83–91. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06914-x>
6. Biserkov, Valko & Genov, T. (1988). On the life cycle of *Ophiotania europaea* Odening 1963. *Хелминтология*. 25. 7-14.
7. Bray, J. R., & Curtis, J. T. (1957). An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, 27(4), 325–349. <https://doi.org/https://doi.org/10.2307/1942268>
8. Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., Shostak, A. W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of parasitology*, 83, 575–583. <https://doi.org/10.2307/3284227>
9. Chen, H., Ju, H., Li, Y. & Li, L. (2017). Further study on *Physaloptera clausa* Rudolphi, 1819 (Spirurida: Physalopteridae) from the Amur hedgehog *Erinaceus amurensis* Schrenk (Eulipotyphla: Erinaceidae). *Acta Parasitologica*, 62(4), 846-852. <https://doi.org/10.1515/ap-2017-0102>

- 10.Chhabra, R. C., & Singh, K. S. (1972). On the life cycle of *Spirocerca lupi*: preinfective stages in the intermediate host. *Journal of helminthology*, 46(2), 125–137. <https://doi.org/10.1017/s0022149x00022203>
- 11.Chu, T. (1936). Studies on the Life History of *Rhabdias fuscovenosa* var. *catanensis* (Rizzo, 1902). *The Journal of Parasitology*, 22(2), 140–160.
- 12.Clarke, K., & RN, Gorley. (2006). Primer v6: User Manual/Tutorial. In PRIMER-E.
- 13.Colwell, R. K. 2013. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 9. User's Guide and application published at: <http://purl.oclc.org/estimates>.
- 14.du Toit, C. A., Scholtz, C. H., & Hyman, W. B. (2008). Prevalence of the dog nematode *Spirocerca lupi* in populations of its intermediate dung beetle host in the Tshwane (Pretoria) Metropole, South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 75(4), 315–321.
- 15.Duscher G. (2011). “Duncker’s muscle fluke” – *Alaria alata* in red foxes from Austria in relation to the occurrence of wild boars. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 98(11/12), 251-254.
- 16.Eads, D. A., Huyvaert, K. P., & Biggins, D. E. (2023). Estimating parasite infrapopulation size given imperfect detection: Proof-of-concept with ectoparasitic fleas on prairie dogs. *International journal for parasitology. Parasites and wildlife*, 20, 117–121. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2023.01.002>
- 17.Freeman, R.S., Stuart, P.F., Cullen, S.J., Ritchie, A.C., Mildon, A.; Fernandes B.J., & Bonin, R. Fatal human infection with mesocercariae of the trematode *Alaria americana*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 25(6), 803-807. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1976.25.803>.
- 18.Georgiev B., Biserkov V. & Genov T. (1986). In toto staining method for cestodes with iron acetocarmine. *Helminthologia*, 23, 279-281.
- 19.Goodey, T. (1924). The Anatomy and Life-History of the Nematode *Rhabdias fuscovenosa* (Railliet) from the Grass Snake *Tropidonotus natrix*. *Journal of Helminthology*, 2(2), 51-64.

20. Gorgani, T., Naem, S., Farshid, A. A., & Otranto, D. (2013). Scanning electron microscopy observations of the hedgehog stomach worm, *Physaloptera clausa* (Spirurida: Physalopteridae). *Parasites & Vectors*, 6(1), 87. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-87>
21. Gottlieb, Y., Markovics, A., Klement, E., Naor, S., Samish, M., Aroch, I., & Lavy, E. (2011). Characterization of *Onthophagus sellatus* as the major intermediate host of the dog esophageal worm *Spirocerca lupi* in Israel. *Veterinary Parasitology*, 180(3-4). <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.03.008>
22. Hair, J. D. (1975). The structure of the intestinal helminth communities of lesser scaup *Aythya affinis*.
23. Halmetoja, A., Valtonen, E.T. & Koskenniemi, E. (2000). Perch (*Perca fluviatilis* L.) parasites reflect ecosystem conditions: a comparison of a natural lake and two acidic reservoirs in Finland. *Int. J. Parasitol.* 30, 1437–1444.
24. Hedrick, L. R. (1935). The Life History and Morphology of *Spiroxys contortus* (Rudolphi); Nematoda: Spiruridae. *Transactions of the American Microscopical Society*, 54(4), 307–335. <https://doi.org/10.2307/3222323>
25. Joyeux Ch. & Baer. J.-G. (1933). Sur le cycle évolutif d'un *Tenia* de serpent. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*. T. 196, № 24. Paris.
26. Korpysa-Dzirba, W., Różycki, M., Bilska-Zajac, E., Karamon, J., Sroka, J., Belcik, A., Wasiak, M., & Cencek, T. (2021). *Alaria alata* in Terms of Risks to Consumers' Health. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(7), 1614. <https://doi.org/10.3390/foods10071614>
27. Krasnoshchekov, G.P., & Lisitsyna, O.M. (2009). On the Migration of *Cystacanthus Sphaerirostris Picae* (Acanthocephala, Centrorhynchidae) in Paratenic host *Lacerta Agilis*, Histopathology.
28. Kutsokon, Y., Kvach, Y., Dykyy, I., & Dzyziuk, N. (2018). The first report of the brown bullhead *Ameiurus nebulosus* (Le Sueur, 1819) in the Dniester River drainage, Ukraine. *BioInvasions Records*, 7, 319–324. <https://doi.org/10.3391/bir.2018.7.3.14>

29. Kuzmin, Y., Dmytrieva, I., Marushchak, O. et al. Helminth Species and Infracommunities in Frogs *Pelophylax ridibundus* and *P. esculentus* (Amphibia: Ranidae) in Northern Ukraine. *Acta Parasit.* 65, 341–353 (2020). <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00164-3>
30. Kvach, Y., Drobinia, O., Kutsokon, Y., & Hoch, I. (2013). The parasites of the invasive Chinese sleeper *Perccottus glenii* (Fam. Odontobutidae), with the first report of *Nippotaenia mogurndae* in Ukraine. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 409, 5. <https://doi.org/10.1051/kmae/2013048>
31. Lagrue, C., & Poulin, R. (2015). Spatial covariation of local abundance among different parasite species: the effect of shared hosts. *Parasitology Research*, 114(10), 3637–3643. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4590-0>
32. Loker, E., & Hofkin, B. (2015). *Parasitology: A Conceptual Approach* (1st ed.). Garland Science. <https://doi.org/10.1201/9780429258695>
33. Mann, H. B., & Whitney, D. R. (1947). On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other. *The Annals of Mathematical Statistics*, 18(1), 50–60. <https://doi.org/10.1214/aoms/1177730491>
34. Marcogliese, D. J. (2023). Major drivers of biodiversity loss and their impacts on helminth parasite populations and communities. *Journal of Helminthology*, 97, e34. doi:10.1017/S0022149X2300010X
35. Marcogliese, D.J., 2004. Parasites: small players with crucial roles in the ecological theatre. *EcoHealth* 1, 151–164.
36. Marushchak O, Syrota Y, Dmytrieva I, Kuzmin Y, Nechai A, Lisitsyna O, Svitin R (2024) Helminths found in common species of the herpetofauna in Ukraine. *Biodiversity Data Journal* 12: e113770. <https://doi.org/10.3897/BDJ.12.e113770>
37. McDonald HR, Kazanos KR, Schatz H et al. Two cases of intraocular infection with *Alaria mesocercaria* (Trematoda). *Am J Ophthalmol* 1994; 117: 447-455.
38. Möhl K., Grosse K., Hamedy A., Wüste T., Kabelitz P., Lückner E. Biology of *Alaria* s and human exposition risk to *Alaria mesocercariae* – A review. *Parasitol. Res.* 2009; 105:1 – 15. doi: 10.1007/s00436-009-1444-7.

39. Morris, E. K., Caruso, T., Buscot, F., Fischer, M., Hancock, C., Maier, T. S., Meiners, T., Müller, C., Obermaier, E., Prati, D., Socher, S. A., Sonnemann, I., Wäschke, N., Wubet, T., Wurst, S., & Rillig, M. C. (2014). Choosing and using diversity indices: insights for ecological applications from the German Biodiversity Exploratories. *Ecology and evolution*, 4(18), 3514–3524. <https://doi.org/10.1002/ece3.1155>
40. Odening, K. (1967). Die Lebenszyklen von *Strigea falconis palumbi* (Viborg), *S. strigis* (Schränk) und *S. sphaerula* (Rudolphi) (Trematoda, Strigeidae) im Rhein. *Zool. Jahrb. Syst.*, 94(1), s. 1-47.
41. Ondračková, M., Bartáková, V. & Kvach, Y. (2021). *Ophiotaenia europaea* Odening, 1963 (Cestoda: Onchoproteocephalidea) adopts a North American brown bullhead catfish *Ameiurus nebulosus* Lesueur, 1819 as intermediate/paratenic host in Europe. *BioInvasions Records*, 10(4), 948–959. <https://doi.org/10.3391/bir.2021.10.4.19>
42. Porras-Silesky, C., Mejías-Alpízar, M. J., Mora, J., Baneth, G., & Rojas, A. (2021). *Spirocerc* *lupi* Proteomics and Its Role in Cancer Development: An Overview of Spirocercosis-Induced Sarcomas and Revision of Helminth-Induced Carcinomas. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 10(2), 124. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020124>
43. Poulin, R. 1998. Comparison of three estimators of species richness in parasite component communities. *The Journal of parasitology* 84, 485–490.
44. R Core Team (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
45. Reiczigel J, Rózsa L 2005. Quantitative Parasitology 3.0. Budapest.
46. Rojas A., Dvir E., Baneth G. (2019). Insights on *Spirocerc* *lupi*, the Carcinogenic Dog Nematode. *Trends Parasitol.* 36, 52–63. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.10.004>.

47. Rothmann, W 2016, Characterization of *Spirocerca lupi* in wild and domestic canids, MSc Dissertation, University of Pretoria, Pretoria, viewed 2024, April 19 <http://hdl.handle.net/2263/56134>
48. Schär, F., Trostorf, U., Giardina, F., Khieu, V., Muth, S., Marti, H., Vounatsou, P., & Odermatt, P. (2013). *Strongyloides stercoralis*: Global Distribution and Risk Factors. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(7), e2288. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002288>
49. Shah, H. B., Yousuf, A. R., Chishti, M. Z., & Ahmad, F. (2013). Helminth communities of fish as ecological indicators of lake health. *Parasitology*, 140(3), 352–360.
50. Shannon, C. E. (1948). A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Technical Journal*, 27(3), 379–423. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
51. Simpson, E. (1949). Measurement of Diversity. *Nature* 163(688). <https://doi.org/10.1038/163688a0>
52. Singh, S. N. (1954). Studies on the Morphology and Life-History of *Strongyloides mirzai* n.sp. from Snakes in India. *Journal of Helminthology*, 28(1–2), 25–34. [doi:10.1017/S0022149X00032697](https://doi.org/10.1017/S0022149X00032697)
53. Spearman, C. (1904). The Proof and Measurement of Association between Two Things. *The American Journal of Psychology*, 15(1), 72–101. <https://doi.org/10.2307/1412159>
54. Sures, B. (2001). The use of fish parasites as bioindicators of heavy metals in aquatic ecosystems: a review. *Aquatic Ecology*, 35(2), 245–255.
55. Tkach, V. V., Kuzmin, Y., & Snyder, S. D. (2014). Molecular insight into systematics, host associations, life cycles and geographic distribution of the nematode family Rhabdiasidae. *International journal for parasitology*, 44(5), 273–284. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.12.005>
56. Tkach, V.V., Grabda-Kazubska, B., Pawłowski, J., & Świdorski, Z. (1999). Molecular and morphological evidence for close phylogenetic affinities of the

- genera Macrodera, Leptophallus, Metaleptophallus and Paralepoderma [Digenea, Plagiorchiata]. *Acta Parasitologica*, 44(3), 170-179.
57. Toledo, G. M., Schwartz, H. O., Nomura, H. A. Q., Aguiar, A., Velota, R. A. M. V., da Silva, R. J., & Anjos, L. A. (2018). Helminth community structure of 13 species of anurans from Atlantic rainforest remnants, Brazil. *Journal of Helminthology*, 92(4), 438–444. <https://doi.org/10.1017/S0022149X17000608>
  58. van Soldt, B. J., Metscher, B. D., Poelmann, R. E., Vervust, B., Vonk, F. J., Müller, G. B., & Richardson, M. K. (2015). Heterochrony and early left-right asymmetry in the development of the cardiorespiratory system of snakes. *PloS one*, 10(1), e116416. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116416>
  59. Wasiluk, A. (2013). *Alaria alata* infection-threatening yet rarely detected trematodiasis. *J Lab Diagn*, 49, 33-37.
  60. Widmer E. A. (1970). Development of third-stage Physaloptera larvae from *Crotalus viridis rafinesque*, 1818 in cats with notes on pathology of the larvae in the reptile. (Nematoda, Spiruroidea). *Journal of wildlife diseases*, 6(2), 89–93. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-6.2.89>
  61. Грод І. М., Шевчик Л. О. Застосування інформативних індексів з метою оцінки біорізноманіття екосистем // Сучасні інформаційні технології та інноваційні методики навчання: досвід, тенденції, перспективи: матеріали V Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Тернопіль, 30 квітня, 2020). Тернопіль : ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2020. С. 112-114
  62. Дубініна М. Н. Екологічне дослідження паразитофауни озерної жаби (*Rana ridibunda* Pall.) дельти Волги. – Паразитол. зб. Зоол. ін-та АН СРСР, 1950, 12, с. 300-350.
  63. Єрмоленко С. В. Екологічні особливості змій роду *Natrix* в умовах степового Придніпров'я: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. Дніпро, 2018. 23 с.
  64. Загальна паразитологія / К. Невядомська, Т. Пойманська, Б. Магніцька, А. Чубай. К.: Наук. думка, 2007. 484 с.

- 65.Лісіцина, О. І. Фауна України: в 40 т. Т. 31. Акантоцефали (Acanthocephala) (російською). Ред. Корнюшин В.В. Інститут зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України. Київ: Наукова думка, 2019. 222 с.
- 66.Метацеркарії трематод – паразити прісноводних гідробіонтів Центральної Росії (рос.) / В. Е. Сударіков, А. А. Шигин, Ю. В. Курочкин, В. В. Ломакін. Р. П. Стенько, Н. І. Орлова; Відпов. Ред. В. І. Фрезе. – М.: Наука, 2002. – 298 с.
- 67.Рижиков, К. М., Шарпіло, В. П., Шевченко, Н. Н. Гельмінти фауни СРСР. (рос.). – М.: 1980. 279 с.
- 68.Сирота, Я. Ю. УГРУПОВАННЯ ГЕЛЬМІНТІВ ВОДНО-БОЛОТНИХ ПТАХІВ УКРАЇНСЬКОГО ПОЛІССЯ : дис. ... канд. біол. наук: 03.00.25. Київ, 2019. 165 с.
- 69.СЛОВНИК – ДОВІДНИК З ЕКОЛОГІЇ: Навчально-методичний посібник / О. Г. Лановенко, О. О. Остапішина. – Херсон: ПП Вишемирський В.С., 2013. – 226 с.
- 70.Шарпило В. П. Паразитичні черви плазунів СРСР [рос.]. К: Наукова думка, 1976. 289 с.
- 71.Шарпило, В. П., В. И. Монченко. 1971. Про життєвий цикл офіотенії європейської *Ophiotaenia europaea* Odening, 1963 (Cestoda, Ophiotaeniidae) [рос.]. – Вестн. зоол., № 6, 90-92.