

## АНОТАЦІЯ

*Моргун Г.М.* Особливості мікроеволюції та адаптації чужорідних безхребетних тварин унаслідок інвазії в водойми Азово-Чорноморського басейну. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

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

Дисертаційна робота присвячена дослідженню інвазій безхребетних тварин в водойми Азово-Чорноморського басейну і виявленню особливостей перебігу мікроеволюції в цих популяціях та їх фенотипічного різноманіття.

Чужорідні популяції тварини є зручними об'єктами для досліджень процесів географічної ізоляції, гібридизації з близькими видами та адаптації до нових природних умов. Дані таких досліджень роблять внесок у розуміння мікроеволюційних процесів, що виникають під час інвазії, адже генетичне різноманіття вселенців сформоване ефектом засновника (випадковими генотипами з нативного ареалу). Дані про чужорідних тварин додають до розуміння їхньої екології, систематики, поширення та мінливості видів, оскільки нові екологічні умови, відмінні від нативних, здатні сприяти морфологічним змінам у популяціях у новому ареалі.

Азово-Чорноморський басейн характеризується значним антропогенним впливом і великою різноманітністю біотопів, що робить його донором, реципієнтом та транзитним регіоном для багатьох чужорідних видів. Таксономічна ідентифікація низки чужорідних видів цього регіону (жалких, молюсків, ракоподібних, кільчастих червів) за допомогою сучасних молекулярних методів, порівняння їх генетичного

різноманіття з нативним регіоном та дослідження морфологічного різноманіття допомагають відповісти на низку регіональних питань, зокрема додають до розуміння шляхів еволюції (гіпотези ефекту засновника й множинності вселення), що і стало метою нашого дослідження. Для здійснення цієї мети ми вивчили морфологічну мінливість чужорідних тварин, ідентифікували таксони за молекулярними маркерами та дослідили філогенетичну структуру кількох модельних видів. Крім цього, було ідентифіковано низку нативних таксонів Азово-Чорноморського басейну.

Дослідження проводилося на матеріалах колекції кафедри зоології та екології тварин Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, на матеріалах колекції Інституту морської біології НАН України та на зразках, зібраних авторкою особисто. Всього було проаналізовано близько 83 зразків. Спершу була досліджена зовнішня морфологія зразків, потім проведені молекулярні дослідження – було виділено геномну ДНК і отримано послідовності генів *cox1* та проведено філогенетичні аналізи з залученням послідовностей взятих з GenBank.

Проведений нами аналіз BLAST безхребетних Азово-Чорноморського басейну підтвердив наявність 47 нативних і 19 чужорідних таксонів, які належать до чотирьох типів тварин. Після таксономічної ревізії морфологічними і молекулярними методами у вибраних видів (п'явка *Helobdella europaea*, ракоподібні *Procambarus virginalis* та *Macrobrachium nipponense*, молюски *Mytilopsis leucocephalum*, *Arcuatula senhousia*, *Rapana venosa* та *Corbicula* sp.) виявили генетичну структуру популяції. Для двох видів (*R. venosa* та *Corbicula* sp.) додатково застосовували багатовимірний статистичний аналіз морфометричних даних за допомогою традиційних морфометричних методів і геометричної морфометрії, аби виявити морфологічне різноманіття. Загалом проведено п'ять молекулярних філогенетичних аналізів і два морфометричні аналізи. Для 13 чужорідних видів було вперше отримано послідовності ДНК з популяцій цих тварин в

Азово-Чорноморському басейні. Види *H. europaea* та *A. senhousia* вперше зареєстровано в регіоні під час моніторингу та збору матеріалу для цього дослідження. Види *P. virginalis* і *M. nipponense* зареєстровано в нових локалітетах, що свідчить про експансію цих видів у Азово-Чорноморському регіоні.

У результаті філогенетичного аналізу виявлено загальну генетичну одноманітність послідовностей п'явки *H. europaea* як у типовому регіоні (Німеччина), так і в інших регіонах інвазії. Вкрай низьку генетичну варіабельність *H. europaea* в усіх регіонах інвазії інтерпретують як підтвердження гіпотези про інтродукцію цього виду з Центральної або Південної Америки (ефект засновника). Однак, низьке різноманіття також може бути пояснено селективним тиском у респіраторних умовах аквакультури. Продемонстровано, що особини *H. europaea* мали мінливу форму поздовжніх смуг, що може бути адаптацією до кольору субстратів, коли різне забарвлення впливає на помітність п'явки.

Філогенетичний аналіз молюсків *R. venosa* показав, що популяція Одеської затоки характеризується одним гаплотипом. Він відомий з попередніх публікацій як єдиний, що трапляється в усіх регіонах інвазії і в нативному регіоні. Високу мінливість одеської популяції проаналізували за допомогою традиційної та геометричної морфометрій і виявили відмінності у видовженості черепашок. Ці зміни форми пов'язують з адаптацією до піщаного субстрату і необхідністю полювати на молюсків, що закопуються в пісок. Отже, імовірно, велика різноманітність жертв є причиною високої конхіологічної неоднорідності молюсків. Не виявлено значущих відмінностей у формі черепашок між самцями та самками, однак самці мали більші розміри, ніж самки, що пов'язують з потребою останніх витратити додаткову енергію на відтворення потомства. Крім того, продемонстровано, що чорноморська популяція молюсків менша від нативних за розмірами і має інакшу скульптуру та масивність черепашок.

Філогенетичний аналіз нуклеотидних послідовностей партеногенетичного рака *P. virginalis* виявив один гаплотип у Дніпропетровській та Харківській областях, який ідентичний послідовностям раків з інших регіонів інвазії, що узгоджується з гіпотезою ефекту засновника. Цей вид утворився від батьківського різностатевого *P. fallax* зі США шляхом автотриплоїдії під час інвазії. Порівняно з батьківським видом, *P. virginalis* після інвазії в Європі збільшився за розмірами, став більш плодючим, вдвічі збільшив середню тривалість життя, що пояснюють епігенетичними механізмами, зокрема інтенсивним метилювання ДНК.

Було знайдено нові локалітети та біотопи креветки *M. nipponense*, звідки про цей вид не повідомляли раніше. Також було вирішене регіональне питання щодо походження дністровської популяції, для якої передбачалось як китайське, так і японське походження. Встановлено, що секвеновані українські макробрахіуми належать до одного гаплотипу разом із креветками саме з Китаю. У роботі також виявлено інвазивну історію виду, під час якої креветка поетапно була зареєстрована спочатку на території Узбекистану і Казахстану, потім Росії, Білорусі, Молдови, і лише після цього стала з'являтися в Дністровському басейні. Філогенетичний аналіз креветки виявив, що в різних регіонах інвазії трапляються різні гаплотипи, наприклад, у сусідньому Каспійському басейні поширені інші. Це може свідчити про множинну інвазію виду, а не одноразове вселення.

Зареєстровано новий чужорідний двостулковий молюск у регіоні досліджень, *A. senhousia*. Молекулярний аналіз виявив два різні нові гаплотипи, невідомі з попередніх досліджень, зокрема з нативного ареалу. Велика генетична відстань між цими гаплотипами є результатом явища подвійної однобатьківської передачі мт ДНК притаманному цьому виду: молюски одночасно мають два різні мітогеноми: F- (самки) і M-типу (самці). Філогенетичний аналіз з залученими послідовностями з попередніх

досліджень (Asif & Krug 2012) виявив, що наш зразок М-типу належить до холодноводної кладі разом з іншими зразками з Європи. Формування двох клад (тепло- та холодноводної) пов'язують з температурною преадаптацією цих моллюсків. Моніторинг стану популяції за період 2018–2021 рр. виявив успішне закріплення виду в місцевому біоценозі. Було виявлено мінливість *A. senhousia* за забарвленням фону стулок, вираженості звивистих смуг і наявності світлих та темних радіальних ділянок. Малюнок і колір стулок залежать від спадковості, отже фенотипічна мінливість імовірно пояснюється адаптацією до різних середовищ існування цих тварин.

Знайдено цитоядерні невідповідності, які призводять до помилкової ідентифікації морфотипів *Corbicula* за допомогою ДНК-баркодингу. Український зразок корбікули (морфотип R) має той самий гаплотип *cox1*, що й корбікули морфотипів R1c та S. У Дунаї виявлено два різні морфотипи. Дослідження варіацій форми стулок українських моллюсків та деяких близьких видів включав матеріал із різних регіонів світу. Було виділено чотири морфовиди: *C. fluminalis*, *C. fluminea*, *C. leana* та невідомий вид *Corbicula* sp., який, за нашим припущенням, є гібридом між *C. fluminalis* і *C. leana*, оскільки він має проміжні ознаки: скульптуру *C. leana* і форму замка *C. fluminalis*. Крім цього, вивчено мінливість ознак стулок *C. leana* в нативному регіоні і виділено два тамтешні «географічні» морфотипи («японський» та «корейський»).

Грунтуючись на отриманих даних про молекулярне різноманіття та мінливість, модельні види (п'явка *H. europaea*, ракоподібні *P. virginalis* і *M. nipponense*, молюски *M. leucosephalum*, *A. senhousia*, *R. venosa* та *Corbicula* sp.) класифіковано у контексті концепції Генетичного парадоксу біологічних інвазій (Estoup et al. 2016), де парадоксальним є те, що під час вселення непристосовані спочатку до нового середовища популяції зі збіднілим через ефект горловини генетичним потенціалом здатні закріплюватися та процвітати в новому середовищі. За результатами

класифікації, “справжній” генетичний парадокс біологічних інвазій характерний для *P. virginialis* та *Corbicula* sp., які хоча і мають надзвичайно низьке генетичне різноманіття, проте демонструють значну фенотипічну мінливість. Для *H. europaea* і *R. venosa* може бути як “справжній”, так і “сумнівний” парадокс, оскільки їхні гаплотипи *cox1* могли бути відібрані завдяки селективному тиску або преадаптації. В інвазії *M. nipponense* немає генетичного парадоксу, оскільки філогенетичний аналіз свідчить про вселення декількох гаплотипів у різні регіони інвазії. Для *A. senhousia* ми передбачаємо також відсутність парадоксу, оскільки існує значне генетичне різноманіття в регіонах інвазії та гаплотипи, наразі характерні лише для України.

Наукова новизна цієї роботи полягає в тому, що нами було молекулярно визначено таксономічний склад низки чужорідних та нативних тварин. Було виявлено два нових чужорідних таксони, про які раніше не повідомлялося для регіону. Було виявлено особливості мікроеволюції модельних чужорідних видів. Уперше для цих видів у регіоні була виявлена значна фенотипічна мінливість.

Теоретичне значення роботи полягає в тому, що на основі молекулярно-філогенетичних даних були вивчені мікроеволюційні процеси в популяціях чужорідних видів у Азово-Чорноморському басейні. Оцінено морфологічна мінливість цих тварин у регіоні. Була запропонована класифікація модельних видів у контексті Генетичного парадоксу біологічних інвазій, коли інвазія характеризується “справжнім” парадоксом, “сумнівним”, або ж коли парадокс відсутній. Досліджено процес закріплення нового чужорідного молюска *A. senhousia* в новому угрупованні. Аналіз *Corbicula*, що базується на ознаках стулок та геометричному морфометричному аналізі, виявився ефективним для розрізнення морфовидів молюсків цього роду.

Практичну цінність роботи підтверджує те, що результати дослідження сприятимуть розробці стратегії контролю популяцій чужорідних видів, що дозволить зменшити шкоду для нативних видів і екосистем у водоймах Азово-Чорноморського басейну. Матеріали дослідження можуть бути використані під час викладання курсів «Зоологія безхребетних», «Навчальна практика з зоології безхребетних», «Зоологія», «Молекулярна еволюція та філогенетика» тощо. Розроблено спеціальний маніпулятор для фотографування *R. venosa*.

Ключові слова: інвазія, морфологія, філогенетика, аквакультура, адаптація, фауна, мінливість, водні безхребетні.