

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова праця

на правах рукопису

МОРГУН ГАЛИНА МИКОЛАЇВНА

УДК 575.8:592-045.35(262.5)(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

**«ОСОБЛИВОСТІ МІКРОЕВОЛЮЦІЇ ТА АДАПТАЦІЇ ЧУЖОРІДНИХ
БЕЗХРЕБЕТНИХ ТВАРИН УНАСЛІДОК ІНВАЗІЇ В ВОДОЙМИ АЗОВО-
ЧОРНОМОРСЬКОГО БАСЕЙНУ»**

Спеціальність 091 – «Біологія»

(Галузь знань 09 – Біологія)

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

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

 Г. М. Моргун

Науковий керівник: Утєвський Сергій Юрійович, доктор біологічних наук,
професор

*Усі примірники дисертації ідентичні за змістом.
Галузь спеціалізованості фахової ради А / Любов Францетова
ДФ 64.051.038*

Харків – 2021

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 Міністерство 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 virginialis* 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. virginialis* 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 морфометрії і виявили відмінності у видовженності 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. virginialis* 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. virginialis* 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 M-типу належить до холодноводної клади разом з іншими зразками з Європи. Формування двох клад (тепло- та холодноводної) пов'язують з температурною преадаптацією цих молюсків. 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 Rlc та S. У Дунаї виявлено два різні морфотипи. Дослідження варіацій форми стулок українських молюсків 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. virginialis* 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.

ABSTRACT

Morhun H.M. Features of microevolution and adaptation in alien invertebrate species due to invasion into the Azov-Black Sea basin. – Qualification scholarly paper: a manuscript.

Thesis submitted for obtaining the Doctor of Philosophy Degree in Biology, Specialty 091 – Biology. – V. N. Karazin Kharkiv National University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2021.

This dissertation studies the invasions of invertebrate animals in water bodies of the Azov-Black Sea basin and specifies the features of microevolution in these populations as well as their phenotypic diversity.

Exotic animals are believed to be useful objects to study the processes of geographical isolation, hybridization with closely related species, and adaptation to new natural environments. Such studies help to better understand microevolutionary processes occurring during invasion, since genetic diversity of non-native animals is determined by the founder effect (random genotypes from the native habitat). New information on non-native populations contributes to the knowledge of their ecology, systematics, distribution and the variability of these species that can be shaped by new ecological conditions that may be other than their native ones.

The Azov-Black Sea basin is characterized by great anthropogenic pressure and high abundance of biotopes, which makes it a donor, recipient, and transit region for many non-native species. Taxonomic identification of a number of alien species of this region (cnidaria, molluscs, crustaceans, and ringworms) using modern molecular methods, comparison of their genetic diversity with the native region and studies of morphological diversity are helpful to answer several regional questions, in particular add to the understanding of evolutionary pathways (e. g. singular and multiple of invasions), which became the aim of our study. For this aim, we studied the morphological variability of non-native populations, identified

taxa by molecular markers, and investigated the phylogenetic structure of several model species. We also identified a number of native taxa of the Azov-Black Sea basin.

This study was undertaken using materials from the collection of the Department of Zoology and Animal Ecology of V. N. Karazin Kharkiv National University, specimens from the collection of the Institute of Marine Biology of the NAS of Ukraine, and specimens collected by the author personally. In total, there were about 83 samples analyzed. First, the external morphology of the animal was examined, then molecular tests were performed (genomic DNA was isolated and *cox1* gene sequences were obtained), and then phylogenetic analyses were performed using newly generated sequences and those taken from GenBank.

Our BLAST analysis of invertebrates of the Azov-Black Sea basin confirmed the presence of 47 native and 19 foreign taxa belonging to four phyla of animals. After taxonomic revision by morphological and molecular methods, the genetic structure of a few model species was revealed (leech *Helobdella europaea*, crustaceans *Procambarus virginalis* and *Macrobrachium nipponense*, mollusks *Arcuatula senhousia*, *Rapana venosa* and *Corbicula* sp.). For two species (*R. venosa* and *Corbicula* sp.), we additionally applied multivariate statistical analysis of morphometric data using traditional morphometric methods and geometric morphometry to reveal morphological variability. A total of five molecular phylogenetic analyses and two morphometric analyses were performed. For 13 non-native species, DNA sequences were obtained for the first time for populations of these animals from the Azov-Black Sea basin. *Helobdella europaea* and *A. senhousia* were recorded in the region for the first time in the course of the field survey in the study area. *Procambarus virginalis* and *M. nipponense* were recorded in new localities, indicating the range expansion throughout the Azov-Black Sea region.

The phylogenetic analysis revealed an extremely low genetic diversity in sequences of *H. europaea* both in the type locality (Germany) and in other regions of invasion. This low genetic diversity of *H. europaea* in all invasion regions is

interpreted as a corroboration of the hypothesis of the introduction of this species from Central or South America (founder effect). However, the low diversity can also be explained by selective pressure in respiratory conditions of aquaculture. The variability of the coloration pattern of longitudinal stripes was documented, which probably may be an adaptation to the color of substrates, since pigmentation affects the visibility of leeches.

Phylogenetic analysis of the rapa whelk *R. venosa* demonstrated that the population of Odesa Bay shared one haplotype. It is known from previous publications as the only one that occurs both in all invasion regions and the native region. The high conchological variability of the Odesa population was analyzed using traditional and geometric morphometry and differences in shell elongation were found. These tendencies in shape changes were attributed to the mollusk's adaptation to the substrate, in particular the need to hunt burrowing mollusks in the sand. Consequently, it is likely that the high diversity of prey in Odesa Bay is a driver for the high conchological heterogeneity of the rapa whelks. No significant differences were found in the shape of shells between males and females, but males had larger sizes than females, which may be a result of the need of the latter to spend additional energy to produce offspring. Also, it has been demonstrated that the Black Sea population of the mollusks is smaller in size than the native ones and has a contrasting sculpture and massiveness of the shells.

The phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of the parthenogenetic crayfish *P. virginalis* revealed one haplotype in Dnipropetrovsk and Kharkiv regions identical to the sequences of crayfish from other invasion regions throughout the world, suggesting the founder effect. This species originated from the parental gonochronic *P. fallax* from the USA by autotriploidy during invasion. Compared to the parental species, *P. virginalis*, after invasion in Europe, increased in size, became more fertile, and doubled its average lifespan. This is attributed to epigenetic mechanisms, in particular to intensive DNA methylation.

New localities and biotopes for the shrimp *M. nipponense* were found, from which this species had not previously been reported. The regional question about

the origin of the Dniester population (Chinese versus Japanese) was also resolved. It was identified that the Ukrainian shrimps share the same haplotype with those from China. The work also revealed an invasive history of the species: shrimp was gradually recorded first in Uzbekistan and Kazakhstan, then Russia, Belarus, Moldova, and only after that appeared in the Dniester basin. The phylogenetic analysis of the shrimp found that there are different haplotypes in invasion regions, for instance, in the neighboring Caspian basin other haplotypes are present. This may indicate a multiple invasion of the species rather than a single invasion (founder effect).

A new non-native bivalve in the region, *A. senhousia*, was recorded. The molecular analysis revealed two distinct haplotypes unknown from previous studies and, in particular, from the native range. The large genetic distance between these haplotypes is the result of the phenomenon of double uniparental mtDNA inheritance, which is specific to this species: two different mitogenomes occur simultaneously: F- (females) and M-type (males). The phylogenetic analysis involving sequences from previous studies showed that our M-type sequence belongs to the cold-water clade, revealed by Asif & Krug (2012), together with other sequences from Europe. The formation of two clades (warm-water and cold-water) is thought to be associated with temperature preadaptation of these molluscs. Our field survey of this species for the period of 2018-2021 years revealed its successful establishment in the local community. The phenotypic variability of *A. senhousia* in the coloration of the clams, the expression of sinuous bands and the presence of light and dark radial areas was observed. The pigmentation pattern and color of clams depend on heredity, so that the phenotypic variability is probably explained by adaptation to different environments where mollusks occur.

Cytoneuclear mismatches in *Corbicula* were found that resulted in the wrong morphotypes identification by means of DNA barcoding. The Ukrainian sample of *Corbicula* (morphotype R) from the Danube River has the same haplotype *cox1* as morphotypes Rlc and S. The *Corbicula* clams in the Danube consisted of two different morphotypes. A study of the shape variations of this Ukrainian Danube

clams with some closely related species (included material from many different regions of the world) identified four morphospecies: *C. fluminalis*, *C. fluminea*, *C. leana* and an unknown species *Corbicula* sp., which is most probably of a hybrid origin between *C. fluminalis* and *C. leana*, since it has intermediate characters: sculpture of *C. leana* and hinge of *C. fluminalis*. In addition, the variability of *C. leana* clams in the native region was studied and two "geographic" morphotypes ("Japanese" and "Korean") were distinguished.

Based on the molecular diversity and variability, the model species (leech *H. europaea*, crustaceans *P. virginalis* and *M. nipponense*, molluscs *A. senhousia*, *R. venosa* and *Corbicula* sp.) were classified in the context of the concept of Genetic Paradox of Biological Invasions (Estoup et al., 2016), where the paradox is that, during invasion, exotic organisms that are not initially adapted to their novel environment and exhausted by bottleneck effect during invasion, are able to establish and thrive in the new environment, often to such an extent that they can even outcompete native, presumably locally adapted, species. According to our classification results, the “genuine” genetic paradox of biological invasions is characteristic to *P. virginalis* and *Corbicula* sp. which, although having extremely low genetic diversity, nevertheless demonstrate significant phenotypic variability. For *H. europaea* and *R. venosa*, it may be both a “genuine” and “spurious” paradox, since their *cox1* haplotypes could have been selected due to selective pressure or preadaptation. There is no genetic paradox in *M. nipponense* invasions, as phylogenetic analysis indicates that several haplotypes occurring in different invasion regions. For *A. senhousia*, we also assume the absence of a paradox since there is a significant genetic diversity in the invasion regions and even the haplotypes which are now known only from the Ukrainian population.

The scientific novelty of this work is that we molecularly determined the taxons of a number of non-native and native invertebrates. Two new non-native taxa not previously reported for the region were discovered. Features of the microevolution of model non-native species were identified. For the first time, significant phenotypic variability was found for these species in the region.

The theoretical value of the work includes the fact that microevolutionary processes in populations of alien species in the Azov-Black Sea basin were investigated on the basis of molecular phylogenetic data. The morphological variability of these animals in the region was analyzed. A classification of model species in the context of the Genetic Paradox of Biological Invasions was proposed when the invasion is characterized by a "genuine" paradox, a "spurious" paradox, or when no paradox is present. The process of establishment of a new exotic mollusk *A. senhousia* in a new community is examined. Morphological analysis of *Corbicula* clams, based on shell characters and geometric morphometrics, was effective for distinguishing the morphospecies within the genus.

The practical value of the work is confirmed by the fact that the results of the study will contribute to the development of population control strategies for non-native species, which will reduce the harmful effect to native species and ecosystems in the water bodies of the Azov-Black Sea basin. The materials of the study can be used in the courses of "Zoology of Invertebrate", "Educational practice in the zoology of invertebrates", "Zoology" and "Molecular evolution and phylogenetics". Moreover, a special manipulator for photographing *R. venosa* was constructed.

Key words: invasion, morphology, phylogenetics, aquaculture, adaptation, fauna, variability, aquatic invertebrates.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

Публікації у періодичних наукових виданнях держав, які входять до Організації економічного співробітництва та розвитку, що входять до міжнародної наукометричної бази:

1. Zhulidov, A.V., Kozhara, A.V., Son, M.O., **Morhun, H.**, van der Velde, G., Leuven, R.S.E.W., Gurtovaya, T.Y., Zhulidov, D.A., Kalko, E.A., Kuklina, Y.A., Kosmenko, L.S., Santiago-Fandino, V.J.R., Nalepa, T.F. (2021). Additional records of the bivalves *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831) (Dreissenidae) and *Arcuatula senhousia* (Benson, 1842) (Mytilidae) in the Ponto-Caspian region. *BioInvasions Records*, 10(1), 119–135. (**Scopus**) (особистий внесок: участь у зборі матеріалу, камеральна обробка, молекулярний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання статті).

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85100657141&origin=resultslist>

2. **Morhun, H.**, Sidorovskiy, S., Khomenko, A., Mazepa, G., Utevsky, S. (2021). First Ukrainian record of the invasive leech *Helobdella europaea* (Hirudinea: Glossiphoniidae) from an aquarium in Kharkiv: morphological variability and phylogenetic relationships. *Biologia*, 76, 193–202. (**Scopus**) (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, морфологічний опис, написання статті).

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85087404447&origin=resultslist>

3. Son, M.O., **Morhun, H.**, Novitskyi, R.O., Sidorovskiy, S., Kulyk, M., Utevsky, S. (2020). Occurrence of two exotic decapods, *Macrobrachium nipponense* (de Haan, 1849) and *Procambarus virginalis* Lyko, 2017, in Ukrainian waters. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 421, 40. (**Scopus**)

(особистий внесок: участь у зборі матеріалу, камеральна обробка, філогенетичний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання статті).

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85095717745&origin=resultslist>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

4. **Morhun, H.**, Son, M.O., Utevsky, S., Kovtun, O.O. (2021, June). Morphological and molecular studies of the rapa whelk, *Rapana venosa*, from Odesa Bay. In: Zoology in the modern world: challenges of the XXI century. Study of invertebrates (p. 90). Kyiv, I.I. Schmalhausen Institute of Zoology of National Academy of Sciences of Ukraine. (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, морфологічний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез).

5. **Morhun, H.**, Utevsky, S., Son, M.O. (2019, September). Morphological differentiation of *Corbicula* clams (Mollusca: Bivalvia) from the lower Danube. In: International zoological conference “Ukrainian fauna on the verge of XX-XXI century. Status and biodiversity of ecosystems of protected areas” (23-24 pp.) Lviv – Shatsk, Lviv National University. (особистий внесок: камеральна обробка, морфологічний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез).

6. **Morhun, H.**, Khomenko A., Utevsky S., Palatov D. (2018, July). On the taxonomic status of *Theodoxus subthermalis* (Gastropoda: Neritidae). In: “3rd Central European Symposium for Aquatic Macroinvertebrate Research” (136 p.), Łódź, University of Łódź. (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, морфологічний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез)

7. **Morhun, H.**, Khomenko, A., Palatov, D., Prokin, A., Son, M., Utevsky, S. (2018, November). *Theodoxus* in the South Caucasus: species diversity or morphological plasticity? In: “Abstract book of the Conference of young zoologists” (15 p.), Kiev, Institute of zoology. (особистий внесок: камеральна

обробка, філогенетичний аналіз, морфологічний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез)

Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації:

8. **Моргун, Г.,** Сон М.О., Утєвський С.Ю. (2021). Унікальність концепції виду в молюсків роду *Corbicula* через невідповідність мітохондріального та ядерного геномів. *Novitates Theriologicae*, 12: 274–280. (особистий внесок: камеральна обробка, аналіз літературних джерел, написання статті)

<http://terioshkola.org.ua/library/nt12-species/nt1243-morhun.htm>

ЗМІСТ

ВСТУП	20
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	26
1.1 Біологічні інтродукції.....	26
1.2 Особливості адаптації до середовища	30
1.3 Генетика фізіологічних та морфологічних змін.	32
1.4 Особливості мікроеволюційних процесів під час інвазії.....	33
1.5 Моніторинг, вивчення та менеджмент експансій.....	37
Висновки до розділу 1	43
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	44
2.1 Вивчені матеріали.....	44
2.2 Збір матеріалу.....	46
2.3 Морфологічні опрацювання	50
2.3 Виділення ДНК і ПЛР	54
2.4 Підготовка та вирівнювання нуклеотидних послідовностей	55
2.5 Філогенетичний аналіз	56
2.6 Багатовимірний аналіз морфометричних даних модельних молюсків	58
2.6.1 <i>Corbicula</i> spp.	58
2.6.2 <i>Rapana venosa</i>	61
Висновки до розділу 2	64
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ.....	65
3.1 Таксономія досліджених тварин	65
3.2 Морфологія та філогенетика вибраних видів.	84
3.2.1 <i>Helobdella europaea</i>	84

3.2.2 <i>Procambarus virginalis</i> та <i>Macrobrachium nipponense</i>	89
3.2.3 <i>Arcuatula senhousia</i>	93
3.2.4 <i>Corbicula</i> spp.	97
3.2.5 <i>Rapana venosa</i>	104
Висновки до розділу 3.....	111
РОЗДІЛ 4. ОБГОВОРЕННЯ.....	112
4.1 Інвазія акваріумної п'явки <i>Helobdella europaea</i>	113
4.2 Інвазивна рапана в Чорному морі	117
4.2.1 Морфологічна мінливість.....	117
4.2.2 Молекулярні дослідження	119
4.2.3 Морфологічні зміни рапани в ході інвазії.....	120
4.2.4 Перспективи досліджень екології рапани.....	121
4.3 Партеногенетичний рак <i>Procambarus virginalis</i>	123
4.4 Креветка <i>Macrobrachium nipponense</i>	125
4.5 Новий для України інвазивний молюск <i>Arcuatula senhousia</i>	127
4.5.1 Внутрішньовидове різноманіття <i>Arcuatula senhousia</i>	127
4.5.2 Перебіг інвазії <i>Arcuatula senhousia</i> в Азово-Чорноморському басейні	131
4.6 Морфовиди та таксономічний статус інвазивних корбікул в Україні	132
4.6.1 Унікальність видової концепції в молюсків роду <i>Corbicula</i>	133
4.6.2 Морфовиди, мінливість і таксономія <i>Corbicula</i>	135
4.6.3 Морфометричні підходи до вивчення мінливості роду <i>Corbicula</i>	144
4.6.4 Особливості екології молюсків роду <i>Corbicula</i> в регіоні досліджень	145

4.7 Генетичний парадокс біологічних інвазій.....	146
Висновки до розділу 4	151
ВИСНОВКИ.....	152
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	154
ДОДАТКИ.....	213

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Дослідження чужорідних видів та процесів біологічних інвазій одночасно вирішує великий комплекс актуальних завдань. З одного боку біологічні інвазії є ключовою рисою, притаманною сучасному етапу розвитку біосфери та одним з головних чинників антропогенних навантажень та трансформації екосистем. З іншого – з біологічними інвазіями пов'язані особливості мікроеволюції видів, які мають відмінності від процесів в їхніх історичних ареалах.

Під час вселення видів у нові регіони формуються популяції, генетичне різноманіття яких сформоване не довготривалими історичними процесами, а швидкою колонізацією нових регіонів випадковими генотипами з нативного ареалу. Отже, для видів зі статевим розмноженням у процесі інвазії характерне різке зменшення генетичного різноманіття (так званий «ефект пляшкового горла»), яке може відбуватися неодноразово внаслідок кожного акту переселення виду. У видів з партеногенезом такий випадковий процес призводить до вселення обмеженого набору клональних ліній, яке пов'язане не з адаптивним добором, викликаним умовами нового ареалу, а зумовлене лише самим переселенням. Це є принциповою особливістю чужорідних популяцій, що відрізняє їх від тих, що сформувались природним шляхом. Отже, чужорідні види в новому ареалі можуть розглядатися як своєрідні природні лабораторії для дослідження процесів географічної ізоляції та адаптації до нових умов довкілля.

Для розуміння екології та систематики виду важливим є вивчення його поширення та мінливості. Нові екологічні умови, які можуть різко відрізнятися від умов історичного ареалу виду, здатні сприяти морфологічним змінам у популяціях. Аналіз такого морфометричного різноманіття в регіонах інвазії надає можливість оцінити межі мінливості виду та порівняти їх з мінливістю в інших частинах ареалу.

Азово-Чорноморський басейн входить до низки європейських коридорів інвазії та є водночас донором, реципієнтом і транзитним регіоном

для чужорідних видів. Його природною специфікою є велика різноманітність біотопів, що сприяє інвазивній завантаженості регіону. З чужорідними безхребетними, що живуть у водоймах Азово-Чорноморського басейну, пов'язано багато питань, що лежать у площині досліджень мікроеволюції та морфології.

Для кращого розуміння масштабу біологічних інвазій, вирішення таксономічних проблем і виявлення шляхів еволюції низки чужорідних видів (жалких, молюсків, ракоподібних і кільчастих червів) необхідна їхня остаточна ідентифікація та порівняння генетичного різноманіття популяцій з інвазивних і нативних регіонів сучасними молекулярними методами.

Необхідне дослідження морфологічного різноманіття чужорідних видів у водоймах Азово-Чорноморського басейну. Воно має охоплювати види як зі статевим, так і з нестатевим розмноженням (для останніх принциповим питанням є порівняння різних клональних ліній).

Об'єкт дослідження: чужорідні водні безхребетні тварини.

Предмет дослідження: процеси мікроеволюції та морфологічної мінливості водних чужорідних безхребетних.

Мета дослідження – дослідити особливості мікроеволюції та адаптації чужорідних безхребетних тварин у водоймах Азово-Чорноморського басейну

Для досягнення вищезазначеної мети було поставлено такі **завдання**:

- 1) провести дослідження морфологічної мінливості популяцій чужорідних видів;
- 2) надійно ідентифікувати таксономічну приналежність низки чужорідних безхребетних сучасними молекулярними методами;
- 3) порівняти генетичне різноманіття чужорідних безхребетних, що вселились у Азово-Чорноморський басейн, з нативними популяціями цих видів;
- 4) перевірити низку припущень про шляхи еволюції вибраних чужорідних видів, зокрема гіпотези ефекту засновника й

множинності вселення, і розглянути ці приклади у контексті концепції генетичного парадоксу біологічних інвазій.

Для вирішення поставлених завдань використано такі **методи**: генетичні, морфологічні, таксономічні, експериментальні, польові, статистичні, геоінформаційні.

Наукова новизна. Для більшості чужорідних видів у регіоні вперше проведена таксономічна ідентифікація молекулярними методами. Уперше на цих видах в регіоні була виявлена фенотипічна пластичність популяцій. Уперше для цього були застосовані різні методи морфологічних досліджень, зокрема традиційні та геометричної морфометрії. Проведено порівняльну характеристику генетичного різноманіття чужорідних безхребетних, що вселились у Азово-Чорноморський басейн, з нативними популяціями.

Практичне значення. Дослідження дає можливість зрозуміти закономірності еволюції чужорідних видів та зробити порівняльний аналіз шляхів інвазій: встановити джерело вселення, визначити, чи було вселення одноразовим або багаторазовим. Це дозволить краще зрозуміти ризики, пов'язані з інвазією, та, відповідно, розробити стратегії нагляду та контролю чужорідних видів у водоймах Азово-Чорноморського басейну.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійним науковим дослідженням здобувачки. Авторка проаналізувала літературні джерела за темою дисертації. Отримання геномної ДНК та ампліконів ПЛР проводилась спільно зі співробітниками біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна та співробітниками Університету Лодзі (м. Лодзь, Польща). Визначення зразків і фотодокументація проводилась спільно зі співробітниками Інституту Морської Біології. Обробка хроматограм, вирівнювання послідовностей, філогенетичні та морфологічні статистичні аналізи проводились авторкою особисто. Матеріал був зібраний здобувачкою під час експедицій; крім того, частина зразків походить з колекцій кафедри зоології та екології тварин Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, з колекцій

Інституту Морської Біології, з колекцій Університету Лодзі та інших організацій.

Публікації. Результати дослідження відображено у восьми наукових працях, із них: три статті у закордонних періодичних наукових виданнях, що входять до бази даних “Scopus”, одна стаття у науковому виданні України, та чотири публікації апробаційного характеру.

Апробація результатів дослідження. Основні результати дослідження представлено й обговорено на семінарах кафедри зоології та екології тварин біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (Харків, 2017, 2021) та апробовано на науково-практичних конференціях різного рівня, зокрема:

- на міжнародних форумах: на Третьому Центральноевропейському симпозіумі з вивчення водних макро-безхребетних (3rd Central European Symposium for Aquatic Macroinvertebrate Research), 8–13 липня 2018 р., Лодзь, Польща; конференції «Фауна України на межі XX–XXI ст. Стан і біорізноманіття екосистем природоохоронних територій», 12–15 вересня 2019 р., Львів та Шацьк;
- на всеукраїнських конференціях: Конференції молодих дослідників-зоологів 14–15 листопада 2018 р., Київ; конференції “Зоологія в сучасному світі: виклики XXI століття” 1–3 червня 2021 р., Київ.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі Вступу, чотирьох розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 15 додатків. Обсяг загального тексту дисертації складає 236 сторінок, з них основного тексту 136 сторінок (5.4 д.а). Основа частина роботи складається з розділів “Огляд літератури”, “Матеріали та Методи”, “Результати”, “Обговорення” та “Висновки”. Робота ілюстрована 15 таблицями та 28 рисунками. Список використаних джерел містить 530 найменувань, із них – 476 іноземною мовою.

Зв'язок теми дисертації з науковими програмами. Дисертаційна робота була виконана на кафедрі зоології та екології тварин біологічного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна в рамках науково-дослідного проекту «Біологічні виклики і загрози, зумовлені міграціями та інвазіями: популяційно-генетичний підхід» (№ 0117U004836) за підтримки Міністерства освіти і науки України, 2017–2019 р., і була підтримана базовим фінансуванням кафедри зоології безхребетних та гідробіології Університету Лодзі (Польща) та наступними тревел-грантами: два від наукового товариства «The Malacological Society of London» в 2019 році (стажування в Польщі та проходження курсу з геометричної морфометрії) та один від наукового товариства «INVASIVENET» на літню школу «Monitoring marine alien species in ports with the SERC protocol» в 2021 р.

Подяки. Авторка щиро вдячна всім колегам і друзям, хто сприяв виконанню цієї наукової роботи: науковому керівнику – д.б.н., проф. Сергію Утєвському за ґрунтовні наукові настави та всебічну підтримку під час усього навчання в аспірантурі. Вдячна д.б.н. Михайлу Сону (Інститут морської біології НАНУ, Одеса), др.ф. Андрію Хоменко (ХНУ), проф. Маиру Гусейнову (Азербайджан) та проф. Сергію Утєвському за допомогу в організації і проведенні експедицій. Вдячна за приватні збори, надані для дослідження, д.б.н. Михайлу Сону, проф. Сергію Утєвському, др.ф. Андрію Хоменко, д.б.н. Роману Новіцькому (Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро), др.ф. Анні Лабецькій (Краків, Польща), др.ф. Герарду ван дер Вельде (Неймеген, Нідерланди), др.ф. Дену Мінчину (Ірландія). Вдячна д.б.н., проф. Максиму Вінарському (Санкт-Петербург), Ніні Петренко (Київ), та к.б.н. Олександру Зіненко (ХНУ) за допомогу в опрацюванні фондів колекцій музеїв. Також вдячна д.б.н. Михайлу Сону та др.ф. Андрію Хоменко за допомогу при фотографуванні тварин. Вдячна співробітникам Каразинського університету др.ф. Андрію Хоменко, Георгію Утєвському, к.б.н. Михайлу Горпинченку, д.б.н., проф. Ользі Утєвській,

к.б.н. Олександр Зіненко та к.б.н., доц. Андрію Утевському за допомогу в проведенні лабораторних експериментів.

Також, окремо щиро вдячна співробітникам кафедри зоології безхребетних та гідробіології Університету Лодзі (Польща), др.ф., проф. Міхалу Грабовські, др.ф. Олександрі Яблонські, др.ф. Томашу Ревічу, др.ф. Пьотру Гадавські, др.ф. проф. Кароліні Бачелі, Хедвіг Кшапо, Олександрі Зімкевич, за надану можливість працювати в лабораторії молекулярної філогенетики, за допомогу в секвенуванні зразків, та за їхню привітність, неоціненні менторські настави, та всебічну підтримку і допомогу під час стажувань в Університеті Лодзі.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Біологічні інтродукції

Дослідження біологічних інтродукції, основного рушія глобальних змін навколишнього середовища, є вкрай важливими (Simberloff et al., 2013) через втрату біорізноманіття фауни окремих регіонів у зв'язку з набуттям більш однорідної структури (Olden et al., 2011). Місцевому біорізноманіттю шкодить не тільки вимирання нативних видів через зміни біотичних та абіотичних факторів середовища, але і вселення нових, чужорідних видів (Simberloff et al., 2013), які подекуди здатні як витіснити, так і пригнічувати місцеві види (Crooks, 2002; Simberloff et al., 2013), переносити різні патогени або паразитів (Ruiz et al., 2000), до яких місцевий вид/види не адаптований, та забруднювати і знижувати якість води (McCormick et al., 2009).

Дослідження чужорідних видів дають уявлення про успішність вселень (Blackburn et al., 2015), можливість прогнозувати їхнє розповсюдження (Muirhead & MacIsaac, 2005; Panov et al., 2009; Сон, 2007), оцінювати та прогнозувати вплив на місцеві угруповання (Alexander et al., 2014; Jeschke et al., 2014; Son et al., 2020a; Gongaladze et al., 2021), розробляти стратегії запобігання та управління негативними наслідками після вселень (Pyšek & Richardson, 2010; Colautti & Lau, 2015) і отримувати дані про екологічні, еволюційні та біогеографічні теорії та концепції (Sax & Brown, 2000; Sakai et al., 2001; Facon et al., 2006; Sax et al., 2007; Roman & Darling, 2007; Lejeune et al., 2014; Estoup et al., 2016).

У багатьох випадках передбачити вплив нового чужорідного виду на нативне угруповання нелегко (Nentwig, 2007). Хоча деякі чужорідні види, безперечно, можуть завдавати надзвичайної шкоди (і саме такі види називаються «інвазивними» sensu EPA, 2001), вплив інших вселенців може бути не катастрофічним та/ або не сильним і, з певної точки зору, навіть корисним (Davis et al., 2011). Наприклад, молюск *Potamopyrgus antipodarum* є об'єктом живлення для нативних риб на заході США (Vinson & Baker, 2008); іспанські нативні птахи-хижаки збільшують свою чисельність завдяки

живленню чужорідними раками *Procambarus clarkii* (Tablado et al., 2010); тихоокеанська устриця *Crassostrea gigas* колонізує незаселені приливні смуги і утворює жорсткі рифи, які у порівнянні з місцевими мідійними обростаннями більш заселені нативними безхребетними (Ruesink et al., 2005); черевоногий моллюск *Melanoides tuberculata* на Карибських островах зменшує популяції *Biomphalaria glabrata* – головного носія збудника кишкового шистосомозу (Pointer, 1993). Більше прикладів, коли інтродукції виявились корисними, представлені у дослідженні М. Шлапфера зі співавторами (Schlaepfer et al., 2011).

Гомогенізація фаун та зростаюче розселення чужорідних видів у певній мірі пов'язане з кліматичними змінами через глобальне потепління (Parmesan & Yohe, 2003) та з активним антропогенним впливом, зокрема діяльністю промислових виробництв, сільських господарств та аквакультурних підприємств, які ведуть активну торгівлю між країнами (Naylor et al., 2001; Levine & D'Antonio, 2003) як живими морепродуктами (Charman et al., 2003), так і приманками (Kilian et al., 2012) та декоративними видами (Rhyne et al., 2012). Також розселення видів пов'язане з глобалізацією після 1950 р. транспортних шляхів, коли технічні та логістичні удосконалення прискорили легкість доставки товарів по всій земній кулі (Hulme, 2009). Крім того, були побудовані нові з'єднання між системами водовідведення, озерами й океанами (USDOT, 2007; Hulme, 2009). Усе це сприяє мобільності тварин, рослин, патогенних мікроорганізмів і паразитів у сучасному світі, які мають змогу долати великі географічні відстані та перешкоди. Водні безхребетні, окрім цілеспрямованої аквакультурної торгівлі (Levine & D'Antonio, 2003), можуть випадково транспортуватися разом з баластними водами, з обростанням на вантажних суднах та/ або суднах рекреаційного значення (Wasson et al., 2001; Mineur et al., 2008; Davidson et al., 2009; Wanless et al., 2010) та з морським сміттям (Barnes, 2002). В останні десятиліття злив баластних вод в акваторіях при портах є предметом управління та контролю (Miller et al., 2011).

Акваторії Чорного та Азовського морів характеризується великою кількістю типів водних об'єктів (затоки, лимани, озера, прибережні водно-болотні угіддя), що забезпечує різну солоність (0,2–30 ‰), глибину (0,8–36,0 м), субстрати та рослинність (Зайцев & Александров, 1998), до яких добре пристосувалися багато дуже поширених евригалінних водних організмів.

Континентальні води України належать до басейнів Чорного, Азовського та Балтійського морів. З точки зору Я. Старобогатова (1970), прісні води України належать до Палеарктичної зоогеографічної області за винятком лиманів і естуаріїв Чорного та Азовського морів, які належать до Понто-Каспійської солоноватоводної області. Цей регіон характеризується самобутньою Понто-Каспійською фауною (Зенкевич, 1956). Однак нещодавні дослідження біоти Чорноморського басейну (Gongaladze et al., 2021) вказують на стан її занепаду (скорочення видового складу) через загату річок, порушення природного освітлення, забруднення й евтрофікацію, зміну клімату та вплив інвазивних видів тварин.

Внутрішні води Європи, які з'єднують південні моря (Каспійське, Азовське, Чорне, Середземне) та північні (Балтійське, Північне, Біле), представляють з себе континентальну мережу, на основі якої були виділені три основних коридори вторгнення чужорідних видів: Південний (South Corridor), Центральний (Central) та Північний (Northern) (Bij de Vaate et al., 2002). Згодом було виділено ще два додаткових: Коридор Південного меридіана (Southern Meridian corridor) та Північного меридіана (Northern Meridian corridor) (Panov et al., 2009) (рис. 1. 1). Через Україну, а саме через Азово-Чорноморський басейн, проходять три таких коридори: два основних – Центральний (поєднує Чорне море з регіоном Балтійського моря через Дніпровський та Бузько-Прип'ятський канали) і Північний (простягається на північ по р. Дон), а також один додатковий – Коридор Південного меридіана (з'єднує Північний, Центральний та Південний коридори на півдні).

Через Центральний коридор (та частково Північний) можливе не тільки вселення тварин з Балтики в континентальні води України, але й

розселення багатьох місцевих макробезхребетних Понто-Каспійської фауни до Балтійського моря та Західної Європи. Сюди належать, наприклад, такі види, як *Chelicorophium curvispinum* (G.O. Sars, 1895) (Jazdzewski & Grabowski, 2011), *Dreissena polymorpha* (Pallas 1771), *Limnomysis benedeni* Czerniavsky, 1882, *Pontogammarus robustoides* (G.O. Sars, 1894), *Paramysis lacustris* (Czerniavsky, 1882), *Obesogammarus crassus* (G.O. Sars, 1894), *Echinogammarus ischnus* Stebbing, 1899 та *E. warpachowskyi* (G.O. Sars, 1894) (Olenin & Leppakoski, 1999) та інші.

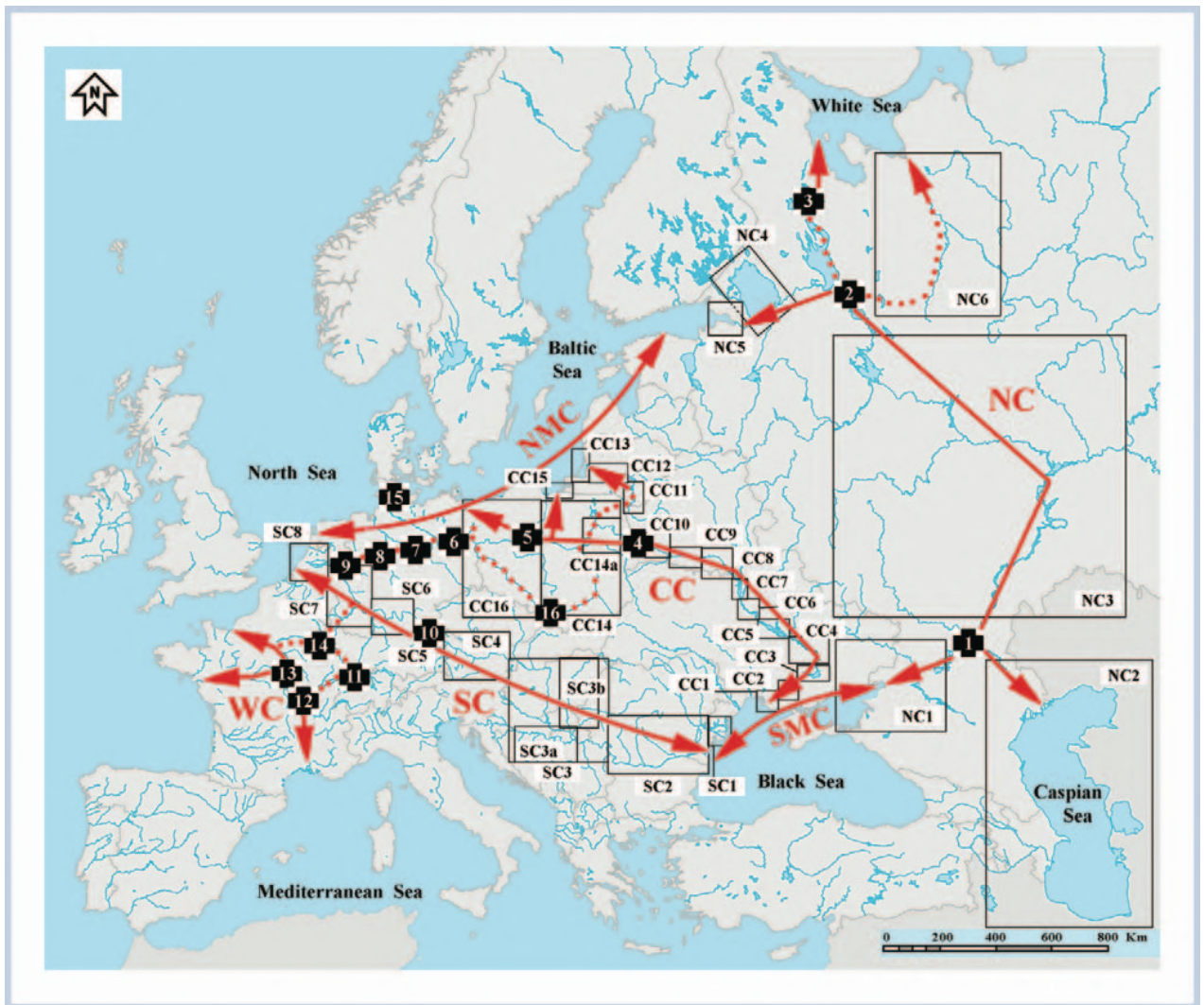


Рис. 1.1. Інвазивна мережа європейських континентальних вод (за Panov et al., 2009).

Входами в основні коридори вторгнення є лимани великих європейських річок (Дунай, Дніпро, Дон тощо), які складають більше 50% загального стоку в Чорне море (Николаенко & Решетников, 1991) та мають перехідні типи екосистеми (солонувато-прісноводний лиман, прибережна

лагуна чи озеро), які мають особливий режим солоності (Panov et al., 2008). У таких місцях потенційно евригалінні види проходять акліматизацію, що посилює їхню здатність колонізувати внутрішні води. Та, ба більше, високий рівень антропогенного навантаження (транспортування суден і гідроморфологічні зміни) (Виноградов и др. 2012) порушує лиманні екосистеми, що сприяє успішній натуралізації в них чужорідних видів (Сон, 2020). Приживання чужорідної популяції тягне за собою низку адаптаційних викликів, адже умови можуть відрізнятись від тих, які наявні в нативному ареалі.

1. 2 Особливості адаптації до середовища

Під час переселення тварин очікує багато адаптивних викликів до нових біотичних та абіотичних характеристик середовища (Blackburn et al., 2011), які подекуди сприяють еволюції адаптивних рис (Freeman & Byers, 2006; Shinen et al., 2009).

Є дані зміни форми стулок у двостулкових молюсків під дією факторів середовища, де форма, розмір, вага, параметри росту стулки тощо – все це є реакцією особин на зміну середовища. Особини *Venerupis rhomboides* (Pennant, 1777) з популяцій, що походять різних середовищ (глибина, субстрат, концентрація мулу та глини у воді) мають різну форму стулок (Eagar et al., 1984). Тенденції стрункості і кривизни стулок *Ensis macha* (Molina, 1972) пов'язані з солоністю та глибиною (Márquez et al., 2011). Було виявлено у чотирьох прісноводних видів мідій зміну форми та скульптури, пов'язаних з гідрологічними особливостями вздовж річки, що пояснюють різною необхідністю для цих молюсків зариватися (Hornbach et al., 2010). В Антарктиді, де лід є додатковим фактором стресу, *Nacella concinna* (Strebel, 1908) виробляє товщі та вищі стулки (Hoffman et al., 2010), а молюск *Laternula elliptica* (P. P. King, 1832) має міцніші стулки в регіонах з айсбергами (Harper et al., 2012).

Здатність чужорідних видів до фенотипічної пластичності забезпечує їм перевагу під час вселення в нові середовища (Baker, 1965; Sakai et al., 2001). Є дані про зміни кількості та розміру яєць у морських їжаків роду *Strongylocentrotus* (McAlister, 2007) та креветки *Macrobrachium nipponense* De Haan, 1849 (Mashiko, 1983a). У низки інвазивних водних макробезхребетних прискорюється метаболізм (Lagos et al., 2017). Спостерігається морфологічна пластичність через вплив температурних умов у інвазивних риб *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758) (Zahorska et al., 2017) та у великої зеленої жаби (Liu et al., 2010). У молюсків здатність до фенотипічної пластичності також є вкрай важливою рисою для успіху вселень (Knor & Reusser, 2012). Низка геометричних морфометричних досліджень дозволили оцінити фенотипні зміни у ході інвазії (Mikac et al., 2016; Lemic et al., 2016; Albarrán-Mélzer et al., 2019; Morhun et al., 2019, 2021a). Наприклад, інвазивний равлик *Melanoides tuberculata* (O. F. Müller, 1774) виробляє видовжені мушлі в воді з високою температурою (Elkarmi & Ismail, 2007). Інвазивні ампулярії демонструють зміну розміру під дією температури води, забруднюючих речовин та присутності хижаків (Zdelar et al., 2018). Вплив хижаків на інвазивні популяції також продемонстрували на прикладі іспанської популяції мідії *Xenostrobus securis* (Lamarck, 1819), стулки яких стають товстішими та мають сильніші привідні м'язи через присутність тутешніх хижаків-бурильників (Babarro et al., 2016), та на прикладі *Mytulis* sp., у яких збільшується перламутровий шар у воді з більшою солоністю, що надає стулкам твердості та забезпечує посилений механічний захист від хижаків (Telesca et al., 2019).

Швидкість акліматизації та натуралізації у новому середовищі визнається також важливим фактором успіху інвазії (Sakai et al., 2001). Гарними прикладами швидкої адаптації до умов нового середовища є дослідження А. Фрімана та Дж. Байерса (Freeman & Byers, 2006), де автори виявили різницю в товщині стулок між південною та північною інвазивними популяціями *Mytulis edulis* Linnaeus, 1758 з узбережжя Нової Англії, де перша популяція (південна) виявляється товстостіннішою. Цю відмінність пояснили

присутністю в останні 15 років на півдні крабів *Hemigrapsus sanguineus* (De Naan, 1835), що полюють на цих молюсків. Також гарним прикладом швидкої адаптації є дослідження, де у нащадків *M. edulis*, вирощених у лабораторії в збагачених CO₂ умовах, виявили спадкову толерантність до низького рН води (Thomsen et al., 2017). Себто фіксація корисних ознак під дією навколишнього середовища спостерігалася вже у наступного покоління молюсків.

Велика кількість статей, що показують вплив навколишнього середовища на формування морфологічних та фізіологічних тенденцій, зумовлених екологічними факторами, залишає, однак, відкритим питання генетичної складової цих змін.

1.3 Генетика фізіологічних та морфологічних змін

Два основні генетичні механізми лежать в їх основі (Clark et al., 2020). Перший, це дія добору для визначення характеристик, відповідних місцевим умовам, а другий – фенотипова пластичність, де генотип може виробляти різні фенотипи в різних середовищах (Clark et al., 2020). Ці механізми можуть діяти одночасно. Епігенетика (зміна функції гена без змін у послідовності ДНК sensu Fallet et al., 2020) відіграє важливу роль у фізіологічній гнучкості до екологічних ніш (Bastow et al., 2004; Clark et al., 2018, 2020; Fallet et al., 2020). У роботі С. Шермана зі співавторами (Sherman et al., 2016) обговорюються геномні (ДНК), транскриптомні (РНК) та епігенетичні інструменти, які можуть бути використані для виявлення генів-кандидатів, відповідальних за певні адаптаційні ознаки та для розуміння механізму епігенетичних змін в новому середовищі.

Дві антарктичні популяції молюсків *Nacella concinna* – літоральна і субліторальна – мають різну масу стулок, але генетично за мітохондріальним геном одноманітні (Hoffman et al., 2010). Однак подальші дослідження епігенетичних ефектів цих молюсків (Clark et al., 2018) виявили, що літоральні та субліторальні популяції не тільки істотно по-різному

метилують ДНК, але й мають тенденцію до зменшення експресії певних генів після того, як тварини з природних популяцій акліматизувались в акваріумі. Для інвазивного *Potamopyrgus antipodarum* (Gray, 1843) (Thorson et al., 2017) та *Crassostrea gigas* Thunberg, 1793 (Gavery & Roberts, 2010) метилювання ДНК також корелює із їхньою адаптацією до певних середовищ.

Окрім метилювання ДНК, яке зазвичай досліджується у безхребетних, епігенетичні ефекти, які впливають на морфологію, можуть бути результатом і інших механізмів (ремоделювання структури хроматину, регуляція малими молекулами РНК) або ж поєднанням усіх механізмів разом (Suarez-Ulloa et al., 2015).

Однак, будь-які дослідження морфологічних варіацій та інтерпретація результатів, зокрема в чужорідних популяціях, повинні враховувати особливості генетичної структури, потоку генів та генетичного потенціалу чужорідних популяцій (Estoup et al., 2016).

1.4 Особливості мікроеволюційних процесів під час інвазії

Популяції чужорідних тварин зазвичай мають певні особливості генетичної структури, адже генетичний дрейф під час колонізації інколи спричиняє зменшення генетичної варіації (Barrett & Kohn, 1991; Sakai et al., 2001; Roman & Darling, 2007). Це було продемонстровано у низці генетичних досліджень, де різноманіття інтродукованих популяцій тварин виявились меншим від нативного (Tsutsui et al., 2000; Chandler et al., 2008).

На генетичну структуру впливає особливості інтродукції: одноразове вселення (ефект засновника) або багаторазове вселення.

Ефект засновника вперше був описаний Ернстом Майром, відомим зоологом, орнітологом, філософом, письменником, одним із засновників синтетичної теорії еволюції. Сутність цього ефекту полягає в колонізації нового регіону невеликою кількістю особин з однієї популяції, де відокремлена частина цієї популяції несе лише частину всього генетичного різноманіття (Mayr, 1942; Provine, 2004). Таке формування нових ізольованих

популяцій супроводжується різким зменшенням чисельності (ефект горловини) і, як наслідок, веде до збільшення генетичного дрейфу в цих популяціях. Унаслідок цього інтродуковані популяції є доволі одноманітними, інколи нестабільними та навіть ослабленими через інбридинг (Бродвій, 2013; Frankham et al., 2002; Newman & Pilson, 1997, Nieminen et al., 2001). Також зменшення генетичного різноманіття може обмежити здатність популяції еволюціонувати: інвазивний вид може бути адаптований до деяких умов свого нового середовища, але інші умови будуть новими; потенціал до адаптаційної еволюції після колонізації вважається вкрай важливий для чужорідних видів (Sakai et al., 2001).

Інтродукцію за сценарієм ефекту засновника та подальшу ізоляцію популяцій використовують у ролі природної моделі для вивчення ефекту зменшення розміру популяції (Barrett & Charlesworth, 1991; Estoup et al., 2016), втрати гетерозиготності (Nei et al., 1975; Grapputo et al., 2006) та алелів (Maruyama & Fuerst, 1985; Barrett & Charlesworth, 1991), а також вивчення адаптаційної здатності популяції в новому регіоні (Dlugosch et al., 2015; Estoup et al., 2016) та досліджень того, як функціонують екологічні спільноти (Blackburn, 2009). Також ефект засновника виявляється інформативним для досліджень шляхів інвазії: порівняння генетичного різноманіття ізольованих популяцій з різноманіттям в нативному регіоні виявляє початкове джерело. Наприклад, генетичні дослідження моллюска *Rapana venosa* виявили всесвітню історію інвазії (Chandler et al., 2008). Дослідження амфіпод *Dikerogammarus villosus* виявили маршрут вторгнення в континентальні води Європи (Rewicz et al., 2015), а джерелом чужорідної популяції риби *Pterois volitans* в Мексиканській затоці виявилась популяція з Карибських островів (Johnson et al., 2016).

Дослідники А. Граппуто зі співавторами (Grapputo et al., 2006) вивчали вплив сильного ефекту горловини на генетичну різноманітність в інвазивній популяції риб *Gambusia holbrooki* Girard, 1859, утвореній кількома особинами зі США, переселеними на початку 1900-х років для боротьби з

комарами-носіями малярії в Європі. Виявилось, що хоча європейська популяція набагато бідніша генетично, риби все ж успішно розповсюдились континентальними водами Європи, що викликало зникнення деяких нативних риб. Також, є генетичне дослідження інвазивних *Pterois volitans* (Linnaeus, 1758), які також швидко розповсюдились незважаючи на сильний ефект горловини (Johnson et al., 2016). Швидке поширення багатьох чужорідних видів поза межами свого природного ареалу (попри зменшений еволюційний потенціал) розглядається як «генетичний парадокс біологічних інвазій» (Estoup et al., 2016). Цій темі присвячена низка досліджень інвазивних морських тварин (Roman & Darling, 2007; Kinziger et al., 2011).

Хоча саме ефект засновника зазвичай очікується внаслідок інтродукції в нове середовище існування, проте також доволі часто відбувається одночасне заселення з кількох джерел (Baker, 1992), а також багаторазове вселення (Kolbe et al., 2004; Darling et al., 2008; Darling, 2011). Багаторазова інтродукція часто корелює з успіхом чужорідних видів та їхньою інвазивністю (Roman & Darling, 2007).

У разі такого сценарія генетична різноманітність інтродукованої популяції може бути подібною до нативної через постійні поповнення новими алелями. Дослідження генетичної структури та різноманітності інвазивної асцидії *Styela plicata* (Lesueur, 1823) виявило, що популяція періодично поповнюється новими алелями з сусідніх популяцій після повеней і коливань температури та солоності (Pineda et al., 2016).

Також унаслідок багаторазового вселення генетичне різноманіття може стати більшим від нативного. Наприклад, тропічний прісноводний червононогий молюск *M. tuberculata* родом із Східної Африки та Близького Сходу та інвазійний у субтропіках (Facon et al., 2005) характеризується як партеногенетичним розмноженням (Jacob, 1957), так і статевим. Останнє веде до збільшення генетичної різноманітності популяцій та / або ефекту гетерозису (Facon et al., 2005), під дією якого періодично створюються нові генотипи в інвазивних регіонах (Facon et al., 2008). Вважається, що це

посилює інвазивну здатність молюска шляхом накопичення ключових ознак для пристосування до нових умов і сприяє виникненню нових морфотипів, невідомих у нативному ареалі (Facon et al., 2008).

Саме інвазії вважаються потужним чинником, який може сприяти процесам видоутворення: завдяки дії добору й генетичного дрейфу в ізольованій популяції виникає така генетична структура, яка відокремлює нову популяцію від нативної (Бродвій, 2013). Якщо раніше еволюція мітохондріальних маркерів, як вважалося, протікає за сценарієм нейтральності (Kimura, 1980), то зараз дослідники схиляються до адаптивної моделі еволюції з огляду на велике функціональне значення ферментів, що відповідають за клітинне дихання (Pentinsaari et al., 2016). Таким чином, біологічні інвазії слугують природними лабораторіями з вивчення трендів еволюційних змін унаслідок дії адаптивних викликів. Яскраві приклади впливу середовища на мітохондріальні гени представлені в низці досліджень (Consuegra et al., 2015; Harris & Munshi-South, 2017; Homola et al., 2019; Zhao et al., 2020).

Таким чином, з одного боку, ізоляція хоча і тягне за собою одноманітність і збіднення, але в перспективі вона є рушійною силою мікроеволюційних процесів, адже збалансованої інтеграція (успішна акліматизація популяції) зрештою збільшує біорізноманіття.

Загалом потенціал чужорідного виду еволюціонувати під час вселення та в подальшому (називається еволюцією інвазивності, англ. “evolution of invasiveness”) є важливим для відповіді на тиск природнього добору в новому середовищі (Sakai et al., 2001). Зокрема, явище гібридизації визнається як один із важливих стимулів для цієї «еволюції інвазивності» (Ellstrand & Schierenbeck, 2000; Sakai et al., 2001; Lee, 2002).

Під час вселення в одному ареалі можуть перебувати раніше ізольовані (або тривалий час ізольовані) таксони, що надасть їм можливість до гібридизації (Allendorf et al., 2001; Pfenninger et al., 2002; Facon et al., 2005). Є відомі приклади гібридизацій між інтродукованими і нативними видами

тварин (Perry et al., 2002), а також між двома інвазивними таксонами (Pfenninger et al., 2002; Lee et al., 2005). Гібридизація також може переносити гени від нативних до інвазивних видів і тим самим підвищувати пристосованість інвазивних видів до нового середовища (Ellstrand & Schierenbeck, 2000).

Таким чином, біологічна інвазія не завжди свідчить про генетичну однорідність і збіднення, тобто є суто руйнівним явищем для біорізноманіття. У деяких випадках вона може бути важливим фактором виникнення екологічної та еволюційної новизни (Burk & Arnold, 2001; Seehausen, 2004), створювати нові види (Baumel et al., 2001), викликати еволюцію місцевих видів. Наприклад, взаємодія з інвазивними видами може сприяти природному добору в нативних видів, надаючи перевагу тим особинам, ознаки яких мають перевагу в змінених після інвазії конкурентних взаємодіях в системі хижак-жертва (Sakai et al., 2001).

1.5 Моніторинг, вивчення та менеджмент експансій

Зважаючи на зростаючий інтерес науковців до біоінвазій, виконання ефективного моніторингу поживало потребу розробляти різні підходи, крім безпосереднього збирання окремих організмів.

Стандартизовані морфологічні опрацювання за методом «SERC», суть якого його полягає у розміщенні спеціальних субстратів у пристанях і портах (Marraffini et al., 2017), які слугують пасивними колекторами та на яких протягом певного часу оселяються гідробіонти, не тільки демонструє різноманітність видового складу локалітету та відносну щільність, але й, найголовніше, дозволяє вчасно виявляти інтродуковані види. Стандартизованість цього підходу дозволяє порівнювати й оцінювати стан середовищ усіх портів та пристаней, де він застосовується.

Крім того, використовуються новітні генетичні методи моніторингу, такі як «DNA-barcoding» (Hebert et al., 2003) і «environmental DNA» (Goldberg et al., 2015). Суть останнього полягає в збиранні відфільтрованого об'єму

води з певної акваторії або баластних вод судна, в якій фіксують присутню там ДНК, екстрагують, ампліфікують і секвенують на видо-специфічних маркерах певну область геному, а потім визначають загальний видовий склад усього зразка. У поєднанні з методами секвенування наступного покоління (“next-generation sequencing”), які наразі є доволі низькими за собівартістю, можна ідентифікувати цілі фауни (Rees et al., 2014, Couton et al., 2019), виявити малочисельні види у пробі (Zhan et al., 2013; Carugati et al., 2015), та отримувати таксономічні чек-листи баластних вод для прогнозів інвазій (Slijkerman et al., 2017). Генетичними даними моніторингів активно поповнюються всесвітні бібліотеки молекулярних даних GenBank та BOLD.

Також для моніторингу застосовують цивільну науку («Citizen Science»), важливість і неоціненний вклад якої останнім часом часто відмічається серед науковців (Bonney et al., 2014), адже громадськість ефективно сприяє дослідженню морських акваторій («Морська Цивільна Наука», англ. «Marine Citizen Science», Delaney et al., 2008; Newcomer et al., 2019), допомагаючи збирати зразки за опублікованими інструкціями (Biggs et al., 2015).

Як морфологічний, так і генетичний підходи до моніторингу мають певні обмеження. Через морфологічну ідентифікацію організм може бути неправильно або неповністю визначений, випадково пропущений або пошкоджений (Trebitz et al., 2017). Під час генетичних досліджень ДНК може бути неправильно ідентифікована через безліч помилок в генетичних базах даних (Briski et al., 2016; Harris, 2003), відсутність порівняльного матеріалу в базах; вона може бути пропущена або деградована; ампліфікацію ДНК можуть зупинити інгібітори, що містяться в пробі (Minamoto et al., 2016; Trebitz et al., 2017). Через всі ці неточності виникають таксономічна плутанина.

Наприклад, хижий черевоногий молюск *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) через морфологічну схожість спочатку ідентифікувався як вид *Rapana bezoar* (Linnaeus, 1767) (Чухчін, 1961; Драпкин, 1953; Fischer-Piette, 1960),

його досі інколи називають *Rapana thomasi* Crosse, 1861 (Namiesnik et al., 2012, та ін.), хоча за сучасною класифікацією ця назва є молодшим синонімом (WORMs). У дослідженні О. Ковтун та ін. (2012) на підставі літературних джерел і музейних колекції виявили, що в Чорному морі протягом десятиліть актинії *Diadumene lineata* (Verrill, 1869) помилково ідентифікували як *Actinothoe clavata* (Ilmoni, 1830) через те, що вид *D. lineata* в основному визначнику (Мордухай-Болтовской и др., 1969) не вказаний. Автори А. Крпала зі співавторами (Krapal et al., 2014) завдяки молекулярному маркеру *cox1*, який є висококонсервативною областю мітохондріального геному і часто використовується для розрізнення близьких видів та обраний стандартним геном для ДНК-баркодингу тварин (Hebert et al., 2003), вирішили таксономічну проблему щодо виду *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906), який морфологічно ідентифікували по-різному – *A. cornea* / *inaequivalvis* / *kagoshimensis*. Таких таксономічних незрозуміlostей як стосовно нативних Азово-Чорноморських видів, так і чужорідних видів багато в Понто-Каспійському регіоні (Wesselingh et al., 2019).

Незрозумілим залишається таксономічний статус популяції *Corbicula* в Україні. У Європі до інвазивних *Corbicula* застосовується неформальна та не латинізована тимчасова номенклатура: «сідлоподібна» форма, «кругла», «кругла світла», «форма A/B/C/D» та інші назви (Моргун та ін., 2021). «Кругла» часто ідентифікується як *C. fluminea* (O.F. Müller, 1774), але генетичне дослідження на основі *cox1* показало, що це – японський вид *C. leana* Prime, 1864, тоді як рідкісніша «кругла світла» форма ідентична виду *C. fluminea* (Pigneur et al., 2011). Щоб запобігти подальшим непорозумінням, вид *C. leana*, який довгий час вважався синонімом *C. fluminea*, був переописаний (Bespalaya et al., 2020), однак без чітких морфологічних відмінностей. Третя форма, яка дуже поширена в регіонах інвазії, називається «сідлоподібна». Її спочатку відносили до виду *Corbicula fluviatilis* (O.F. Müller, 1774) (Kinzelbach, 1991), однак згодом ідентифікували як *C. fluminalis* (O.F. Müller, 1774) (Alf, 1992). Деякі дослідження показують (Morhun et al.,

2019), що частина повідомлень про знахідки, для яких використовується ця назва (Сон, 2007; Bodís et al., 2011), стосується популяцій, що складаються як із «сідлоподібної» форми, так і з «круглої» форми, однак вони були ідентифіковані як «Дунайська» форма виду *Corbicula fluminalis* (Сон, 2007), а в Угорщині – як «морфа II» (Bódís et al., 2011). Тому, таксономічний статус (*C. fluminalis*, *C. fluminea* чи *C. leana*?) і межі морфологічної гетерогенності українських корбікул незрозумілий та потрібно порівняння з матеріалом із нативного ареалу та з інших регіонів інвазії.

У літературі авторами відмічається висока адаптивність рапани до різних умов середовища (Mann & Harding, 2003; Бондарев, 2010; Переладов, 2013; Моргун, 2017) та водночас повну відсутність генетичного різноманіття в регіонах інвазії (Chandler et al., 2008). Цікаво, що є дані про непристосованість одеської популяції до солоності, яка є звичною для молюсків у нативному ареалі (Моргун, 2017) і високу конхіологічну мінливість молюска (Бондарев, 2010; Govorin, 2019; Morhun et al., 2021a). Інтегративне вивчення та порівняння генетичного різноманіття популяції і морфологічної мінливості молюска в нативному та інвазивному регіонах покращило б розуміння екології вселенця.

Загалом для багатьох чужорідних безхребетних тварин Азово-Чорноморського басейну не виявлені особливості генетичної структури їхніх популяцій. Існують різні гіпотези про сценарії та джерело вселення чужорідних видів, зокрема для креветки *M. nipponense* передбачається як японське (Stepanok, 2014), так і китайське (Alekhnovich & Kulesh, 2001) походження. Не досліджено морфологічні та фізіологічних варіації (фенотипи) популяцій у новому регіоні. Усі ці дані є важливими і додають до розуміння ролі адаптивної еволюції (Callier, 2018).

Після десятиліть екологічного та економічного впливу чужорідних та інвазивних видів уряди та суб'єкти управління в Європі зобов'язуються здійснювати систематичний моніторинг природних середовищ для посилення ефективності державного управління в природоохоронній галузі

(Delreux & Happaerts, 2016; Skjærseth & Wettestad, 2002). Зокрема Україна зобов'язується імплементувати екологічну політику та виконувати законодавство таких європейських і міжнародних директив, конвенцій та програм: Водної рамкової директиви (англ. «The European Commission Water Framework Directive», EU, 2000; Cardoso & Free, 2008), Рамкової директиви морської стратегії («Marine Strategy Framework Directive», EU, 2008), програми ЮНЕСКО «Людина та біосфера» («UNESCO Man and Biosphere Program», UNESCO, 1972), Конвенції про охорону річки Дунай («Danube River Protection Convention», DRPC, 1994), Конвенція про біологічне різноманіття («Convention on Biological Diversity», CBD, 1992), Бухарестська конвенція про захист Чорного моря від забруднення (Black Sea Commission, 1992), Конвенція про міжнародну торгівлю видами дикої фауни та флори, що знаходяться під загрозою зникнення («Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora», CITES, 1973), Бернську конвенцію («The Convention on the Conservation of European Wild-life and Natural Habitats», Council ..., 1979), на основі якої будується Смарагдова мережа («Emerald network») заповідних територій України.

Регулярному моніторингу, оцінці та менеджменту чужорідних видів безхребетних у Азово-Чорноморському регіоні, який є водночас донором, реципієнтом та транзитним регіоном для чужорідних видів, присвячена низка робіт (Сон, 2007; Сон, 2019). Однак, крім загальнобіологічних проблем інвазій (втрата різноманіття, еволюція, адаптація тощо), є, як вже зазначалося, низка регіональних питань. Тому метою нашого дослідження було провести ДНК-баркодинг чужорідних водних безхребетних тварин та представників самобутньої Понто-Каспійської фауни для виявлення біологічного різноманіття регіону. Також ми мали на меті поповнити міжнародні бібліотеки генетичними даними, аби й інші дослідники могли використовувати їх у своїх дослідженнях для вирішення своїх регіональних питань і розробляти видоспецифічні маркери (Rees et al., 2014) для тих понто-каспійських видів, молекулярні дані яких були відсутні.

Підбиваючи підсумки, можна зауважити, що чужорідні безхребетні Азово-Чорноморського басейну наразі потребують молекулярних досліджень та філогенетичного аналізу для визначення їхніх систематики, особливостей мікроеволюції і виявлення філогенетичних зв'язків у порівнянні з популяціями з інших регіонів. Крім цього, важливим є дослідження морфологічних варіацій чужорідних тварин після акліматизації в Азово-Чорноморському регіоні.

Унікальність самобутньої Понто-Каспійської фауни спонукає додавати отримані молекулярні дані місцевих видів в публічні генетичні бази даних для того, щоб виявляти біологічне різноманіття світу загалом (Hebert et al., 2003).

Висновки до розділу 1

1. Здійснено порівняльний аналіз літературних джерел.
2. Проаналізовано теоретичні та методологічні здобутки попередніх дослідників у галузі досліджень генетики та адаптації чужорідних видів до нових умов середовища.
3. На основі цього аналізу встановлено, що акліматизація сприяє морфологічним та фізіологічним змінам в інтродукованих популяціях.
4. Обґрунтовано важливість молекулярних досліджень чужорідних тварин Азово-Чорноморського басейну об'єктів у зв'язку з екологічною пластичністю та фенотипічним змінам.

Основні положення цього розділу викладені у публікаціях автора [Моргун та ін., 2021; Morhun et al., 2019; Morhun et al., 2021a].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У цьому розділі описано емпіричні дані, покладені в основу роботи, а також описано застосовані в дослідженні методи філогенетичного та морфологічного аналізів.

2.1 Вивчені матеріали

Це дослідження проводилось на водних безхребетних тваринах з Азово-Чорноморського басейну, які належать до чотирьох Типів: Annelida, Cnidaria, Crustacea та Mollusca.

Матеріали були зібрані в експедиціях, отримані від окремих колег і надані кількома провідними науково-дослідними організаціями та університетами: Інститутом морської біології НАН України, Дніпровським державним аграрно-економічним університетом, Природничим дослідницьким інститутом Вільнюса (Литва), Університетом Лодзі (Польща). Крім того, авторка обробляла фондові колекції Національного науково-природничого музею НАН України, Київ, та Державного музею природи Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, Харків.

Усі тварини були ідентифіковані до виду за морфологічними ознаками та досліджені молекулярними методами для визначення стандартного регіону ДНК-баркодингу – мітохондріального гена цитохром-с-оксидази субодиниці 1 (*cox1*, COI) (Hebert et al., 2003). Отримані послідовності порівнювали з базою даних GenBank (blast.ncbi.nlm.nih.gov) та BOLD для пошуку гомологічних послідовностей, а потім реєстрували в базі даних BOLD.

Під час реєстрації в BOLD послідовності індексувалися на основі генетичної відстані (закономірностей зміни нуклеотидів) з іншими наявними в базі послідовностями та групувалися в унікальні Штрихкодні Індeksi BIN – Barcode Index Number (Ratnasingham & Hebert, 2013). Кожен BIN створюється на основі єдиної початкової послідовності, до якого з часом в базу додаються інші відповідні послідовності з низькою нуклеотидною

розбіжністю з нею. Таким чином, у базі BOLD після час реєстрації відбувається таксономічна ревізія усіх послідовностей, та групування за генетичною відстанню. Слід зазначити, що генетична відстань всередині кожного BIN вираховується автоматично за алгоритмами, описаними в Ratnasingham & Hebert (2013), але загальноприйнятий стандарт для тварин складає не більше 2% (Ratnasingham & Hebert, 2013). Повна база даних з BIN доступна за адресою <http://www.boldsystems.org/bin>.

Загалом секвеновано 713 послідовностей 66 видів водних безхребетних тварин, з яких 19 видів – є чужорідними в Азово-Чорноморському басейні (табл. 1). Саме на них в подальшому і зосереджене наше дослідження.

Після таксономічної ревізії чужорідних тварин морфологічним та молекулярним (BIN) методами нами були вибрані види, у яких виявили генетичну структуру популяції. Зокрема це було зроблено для п'явки *Helobdella europaea* Kutschera, 1987, ракоподібних *Procambarus virginialis* Lyko, 2017 та *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849), молюсків *Arcuatula senhousia* (Benson, 1842), *Rapana venosa* та *Corbicula* sp. (докладніше у розділі 2.5 *Філогенетичний аналіз*). Для двох видів, у яких ген *cox1* не є інформативним через повну відсутність нуклеотидної різноманітності (*Rapana venosa*) або через особливості репродуктивної стратегії в місцях інвазії («яйцевий паразитизм» у *Corbicula*, який не дозволяє коректно тлумачити отримані результати реконструкції філогенезу), додатково застосовували багатовимірний статистичний аналіз морфометричних даних, застосовуючи традиційні морфометричні методи та геометричну морфометрію, аби виявити морфологічне різноманіття (2.6 *Багатовимірний аналіз морфометричних даних*). Загалом проведено п'ять молекулярних філогенетичних аналізів і два морфометричні аналізи. Для 13 чужорідних видів було вперше отримано послідовності ДНК популяцій цих тварин з Азово-Чорноморського басейну (табл. 1).

2.2 Збір матеріалу

Відомості про використаний матеріал чужорідних безхребетних, зокрема кодування проб (розшифровка з координатами, датами, колекторами та ін. наведені у додатку 1) узагальнені в табл. 1. Опис субстратів, які наведено в розділі Результати в нарисах для кожного виду, відповідає термінології для класифікації середовищ існування EUNIS (Європейське агентство з охорони навколишнього середовища, 2012).

Таблиця 1. Відомості про використаний матеріал чужорідних безхребетних.

Тип	Вид	Код
Annelida	<i>Helobdella europaea</i> *	KhL1
Cnidaria	<i>Cordylophora</i> sp. *	A_UKR 66
Crustacea	<i>Cryptorchestia garbinnii</i>	CG_UKR (2; 7-9; 11; 13-15; 19; 21; 27; 31-32; 39; 41; 44) DNP (7; 14; 32) UKR (57)
	<i>Synurella ambulans</i> *	S_UKR 28; 33
	<i>Procambarus virginalis</i> *	A_UKR 139; 1888
	<i>Rhithropanopeus harrisii</i>	A_UKR 65
	<i>Macrobrachium nipponense</i> *	P47
	<i>Amphibalanus improvisus</i> *	A_UKR 192; A_UKR 63; P41
	<i>Amphibalanus eburneus</i> *	P38
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR (48-49; 50; 53; 76 80; 95; 100; 102; 111; 116; 120; 125; 127; 131; 135; 138; 158 180) DNP 10; CAU_A04; 33; 43
	<i>Corambe obscura</i> *	P6
	<i>Arcuatula senhousia</i> *	P39, HM3
Mollusca	<i>Corbicula leana</i> *	P37
	<i>Mya arenaria</i> *	P42
	<i>Sinanodonta woodiana</i>	P40
	<i>Mytilopsis leucophaeata</i> *	A_UKR 64
	<i>Ferrissia fragilis</i> *	A_UKR 151
	<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR (51; 70; 133; 136; 143; 157; 162; 171; 189; 191), CAU (32; 60; 63; 67-68; 72) P44, P46
	<i>Rapana venosa</i>	RV

* – вперше отримано послідовності популяцій з Азово-Чорноморського басейну

Далі наведено деталі збору матеріалу для вибраних видів тварин, для яких реконструювали філогенез і робили морфометричні аналізи.

Helobdella europaea була зібрана під час обслуговування приватного акваріума в місті Харків (2015 р.) з занурених об'єктів та підводних рослин (Morhun et al., 2021б). Було зібрано чотири глосифоніїди. П'явок релаксували в 10% спирту, потім тіло вирівнювали у пряме положення та фіксували в 96% спирту для подальших морфологічних та молекулярних досліджень. Зразки зберігаються в колекції кафедри зоології та екології тварин, Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (ХНУ).

Procambarus virginalis та *Macrobrachium nipponense* збирали упродовж 2018–2019 років в трьох областях України, з середовищ з різноманітними кліматичними та екологічними умовами (табл. 2) (Son et al., 2020б).

У колишньому кар'єрі «Котлованське озеро» (Дніпропетровська область) раків *P. virginalis* збирали вручну під час пірнання. Щільність популяції оцінювали трансектним відео. Харківський зразок зібрано вручну в рукотворному ставку Роднік.

Креветки *M. nipponense* відбирали у водоймах басейну р. Аккаржанка вздовж берега на відстані 5 метрів сіткою для лову (ISO 7828). У басейні Великого Аджаликського лиману одну особину *M. nipponense* зібрали вручну.

Ваучерні екземпляри декапод зберігаються в колекціях безхребетних тварин в Інституті Морської Біології НАН України, Каразінського університету, та відділу зоології та гідробіології безхребетних в Університеті Лодзі, Польща. Дніпровська популяція *P. virginalis* зберігається як жива аквакультура в Дніпровському державному аграрно-економічному університеті.

Arcuatula senhousia збирали у 2017–2021 рр. у різних локаціях Чорноморського басейну (табл. 2). Огляд проводився на глибині 0–3 м, застосовуючи пірнальну маску та дихальну трубку. Зразки відбирали вручну або пробовідбірником з твердого субстрату. Щільність популяції оцінювали бентосним пробовідбірником 25 × 25 см. Матеріали зберігаються у колекції

безхребетних ІМБ та відділу зоології та гідробіології безхребетних Університету Лодзі.

Corbicula leana для молекулярного аналізу збирали під час експедиції до м. Вилкове у затоці Базарчук (табл. 2).

Таблиця 2. Досліджений матеріал вибраних модельних видів.

Вид	Локація	Координати	Дата	Екологічні нотатки (субстрат)	Кільк. особин
<i>Helobdella europaea</i>	Харків (приватний акваріум)	50.004356, 36.228161	2015	Підводні рослини	4 (*1)
<i>Procambarus virginalis</i>	Харків, водойма Роднік	50.030453, 36.348038	10.10.2019	Пісок та глина	1 (*1)
	Дніпро, о. Котлаван	48.506056, 35.102197	13.11.2015	Пісок	1(*1)
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Рибний ставок (басейн р. Аккаржанка)	46.3441966, 30.5963854	23.07.2018 20.08.2018 23.08.2018	Мул	4 (*1)
	Олександрівське водосховище (басейн р. Аккаржанка)	46.336806, 30.625972	02.09.2018	Мул	-
	Водосховище в басейні Лиману Великий Аджалик	46.610917, 30.878972	13.03.2020	Мул з фрагментами очерету	-
<i>Arcuatula senhousia</i>	Сухий Ліман, Бурлача Балка, Одеса	46.344167, 30.669444	10.06.2018, 22.06.2018	Суміш осадів (мул, ракушняк, галька, сміття)	7 (*2)
	Сухий Ліман, Бурлача Балка, Одеса	46.332727, 30.661896	2021	Суміш осадів (мул, ракушняк, галька, сміття)	30
	Сухий Ліман, Олександрівка, Одеса	46.335071, 30.630943	2021	Мул, сміття	30
	Сухий Ліман, Таїрово, Одеса	46.370131, 30.643275	2021	Мул, сміття	30
<i>Rapana venosa</i>	Чорне море, Одеса	46.441415, 30.779150	2017	Гравійно-піщаний	85 (*5)
<i>Corbicula leana</i>	Затока Базарчук, Вілково	45.416944, 29.565667	26.06.2018	Замулений пісок	26 (*1)

Окрім цього, на великому матеріалі корбікул проводили широкий морфологічний аналіз (вивчали спершу якісні ознаки стулок, а потім проводили статистичний аналіз). Для якісного аналізу залучали і) матеріал з декількох локацій Азово-Чорноморського басейну (табл. 3), ii) матеріал отриманий від закордонних колег з інших регіонів інвазії (Бразилії, Ірландії, Нідерландів, Польщі, Угорщини, Німеччини та М'янми) та iii) фотографій *Corbicula* з наукової літератури (додаток В). Статистичний морфометричний аналіз *Corbicula* проводили методами традиційної та геометричної морфометрії на матеріалах з Ірландії (IE1), Нідерландів (NL1, NL2), Польщі

(PL1, PL2), України (UA1, UA2) і Бразилії (BR1) (табл. 3-а), оскільки всі фотографії цих стулок зроблені одним стандартизованим методом (сканування на сканері з плоскою платформою, аби вентральні сторони кожної стулки розташовувались в одній площині) і, таким чином, кількості показники можуть бути порівняні між собою. Цей статистичний аналіз загалом включав 277 лівих стулок дорослих *Corbicula*. Фотодокументація зберігається на кафедрі зоології та екології тварин ХНУ.

Таблиця 3. Досліджений матеріал *Corbicula* для морфологічного аналізу: а – матеріал, залучений для візуального та статистичного аналізу, б – для візуального.

	Вид	Код	Локація	Координати	Дата	N
а	<i>Corbicula leana</i>	IE1	Озеро Лох-Дерг, Ірландія	55.934167, 8.298889	- 2018	43
	<i>Corbicula leana</i>	PL2	Нове Чарнаво, р. Одра, Польща	53.212045, 14.467725	2005- 2009	32
	<i>Corbicula leana</i>	UA2	Вилкове, р. Дунай, Україна	45.401162, 29.616726	2018	24
	<i>Corbicula leana</i>	DE1	О-в Пильниць, р. Ельба, Німеччина	51.000556, 13.873056	2007	12
	<i>Corbicula leana</i>	NL1	Неймеген, р. Вааль, Нідерланди	51.869316, 5.879917	2019	43
	<i>Corbicula</i> cf. <i>leana</i>	BR1	Барра-ду-Рибейру, Бразилія	-30.296389, 51.292222	- 2012	24
	<i>Corbicula fluminalis</i>	NL2	Неймеген, р. Вааль, Нідерланди	51.869316, 5.879917	2019	34
	<i>Corbicula</i> sp.	PL1	Нове Чарнаво, р. Одра, Польща	53.212045, 14.467725	2004- 2009	28
	<i>Corbicula</i> sp.	UA1	Ізмаїл, р. Дунай, Україна	45.328270, 28.831478	2003	49
	<i>Corbicula</i> sp.	HU1	АЭС Пакш, Угорщина	-	2003	2
б	<i>Corbicula leana</i>	HU2	АЭС Пакш, Угорщина	46.577953, 18.853492	2003	2
	<i>Corbicula leana</i>	MM1	Банмо, р. Тар Пейн, Бірма	24.298611, 97.243889	2016	13
	<i>Corbicula leana</i>	PL3	Нове Чарнаво, р. Одра, Польща	53.212045, 14.467725	2005- 2006	33
	<i>Corbicula leana</i>	UA3	Очаківській рукав дельти Дунаю, Україна	-	2002	30
	<i>Corbicula fluminea</i>	CN1	Хайкоу, р. Нанду, Китай	-	1958	9
	<i>Corbicula fluminea</i>					

Rapana venosa була зібрана у Чорному морі біля Гідробіологічної станції ОНУ імені І.І. Мечнікова (Одеса) у 2015–2017 рр (Morhun et al., 2021a). Для молекулярного дослідження у п'яти особин відібрали невелику кількість м'язів ноги та фіксували у 95% етанолі. Для морфологічного аналізу використано 80 статевозрілих особин рапан (віком 2–3 роки). Молюсків збирали вручну під час занурення з аквалангом на глибину 6–10 м. Додатково

вивчали фондові колекції рапани з музеїв Національного науково-природничого музею НАНУ (Київ), Державного музею природи ХНУ.

2.3 Морфологічні опрацювання

Для встановлення роду/ виду проводили попередній візуальний огляд усіх тварин. Використовували ключі (Мордухай-Болтовской и др., 1969) для ідентифікації, а також першоописи. Нижче наведено деталі морфологічних опрацювань для вибраних модельних видів.

Helobdella europaea визначалась за статтею У. Кучери (Kutschera, 1987). Фотографії об'єкта були зроблені за допомогою стереомікроскопу Konus Crystal-45 з камерою USB HDCE-50B та з залученням програмного забезпечення Helicon software з функцією Focus Stacking. П'явки були візуально досліджені в чашці Петрі з залитим темним воском дном. Травна система вивчалась після живлення п'явок личинками хірономід – від цього кишківник заповнюється червоним лімфою личинки та чітко просвічується на світлі.

Procambarus virginalis визначали за забарвленням, розміром кліщень та наявністю середнього реберця (гребня) на рострі, що відрізняє цей вид від нативних раків (Son et al., 2020b).

У *Macrobrachium nipponense* вивчали ознаки ростру та періоподів, оскільки вони є найінформативнішими для ідентифікації видової приналежності згідно з визначниками (González-Ortegón & Cuesta, 2006).

Arcuatula senhousia відрізняється від морфологічно близького *Modiolus adriaticus* Lamarck, 1819 скульптурою своєї мушлі та замком (рис. 2-2D, E) (Zenetos et al., 2004; Zhulidov et al., 2021). Замок *A. senhousia* має чіткі ряди зубів, тоді як у *M. adriaticus* вони редуковані. За формою стулки *A. senhousia* відмінні від решти двостулкових молюсків Чорного моря.

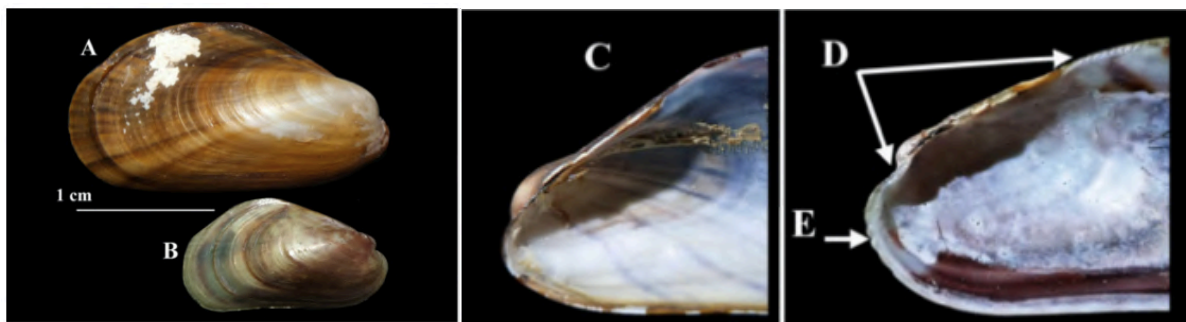


Рис. 2.2. Загальний вигляд і замок місцевого *Modiolus adriaticus* із затоки Джарилгач (А, С) та *Arcuatula senhousia* із Сухого Лиману (В, D, E): стрілки вказують на діагностичні особливості виду: кардинальні зуби (D) і передній край з кільчастими краями біля маківки (E) у *A. senhousia* (проти гладкого переднього краю у *M. adriaticus*). Модифіковано за Zhulidov et al., 2021.

Для видового визначення *Corbicula* spp. використовували як першоописи (Müller, 1774; Prime, 1867), так і аналітичні морфологічні роботи (Prashad, 1929; Korniushev, 2004; Morton, 1986; Bodon et al., 2020 та інші), так і фотографії лектотипів або голотипів корбікул (USNM; Vinarski, 2016). Застосовували наступні якісні морфологічні ознаки:

i) скульптура стулки: види розрізняються за типом формування концентричних ребер на поверхні стулки (рис 2.3.A); Тип I – тонкі, вузькі та регулярно розташовані ребра, Тип II – грубі, широко і нерегулярно розташовані ребра. В літературі (Korniushev, 2004) зустрічається «географічна» термінологія скульптури стулки, така як «західна» (Тип I) та «східна» (Тип II);

ii) симетрія заднього краю: може бути кутовим або округлим (рис 2.3.B);

iii) положення верхівки (umbo) стулки: може бути розміщена прямо в центрі або ж дещо зміщена відносно центра стулки (рис 2.3.C);

iv) ступінь виступання верхівки замка: вона може бути сплюснута, помірно витягнутою або витягнутою, що пов'язано зі ступенем дорсо-вентрального подовження стулки (рис 2.3.D).

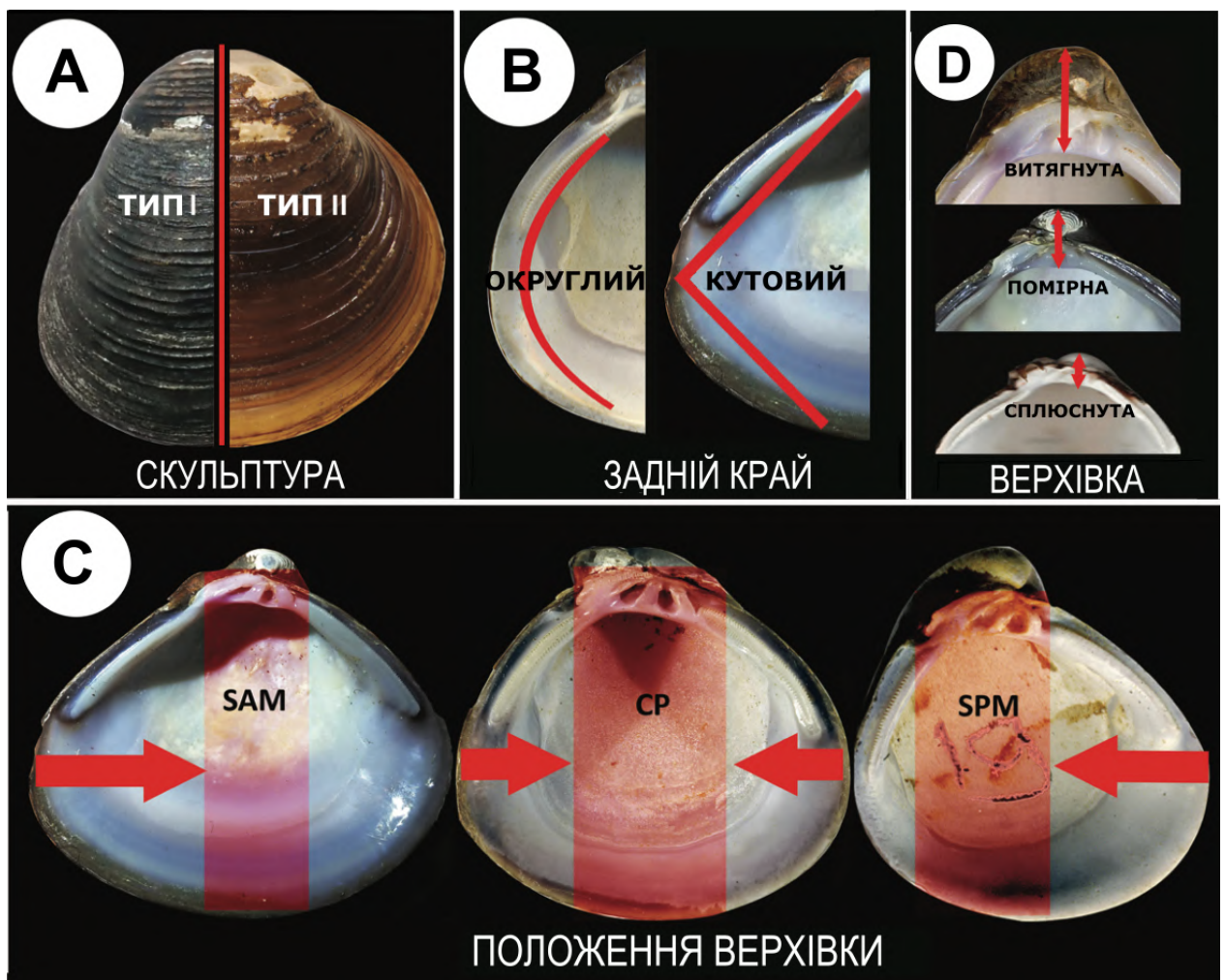


Рис. 2.3. Конхіологічні характеристики стулки *Corbicula* A-D. Положення верхівки: CP – центрально розміщений; SAM – зміщений до переднього краю; SPM – зміщений до заднього краю (докладніше див. Текст).

Стиль забарвлення та колір ступок не аналізувались як ключова ознака, оскільки на це впливає багато суб'єктивних факторів, як от освітлення під час фотографування та сканування, можливе пошкодження та / або вигорання ступок на сонці, зістареність від довгострокового зберігання в колекціях тощо. Однак, польські зразки (PL2 та PL3), незважаючи на їхню однакову морфологію, були описані в попередніх публікаціях двома окремими кольоровими формами – жовта та коричнева (Domagała et al., 2004; Labecka, 2009) – і в нашому дослідженні також розглянуті як дві окремі вибірки.

Ступки корбікул сканували та зберігали зображення для морфологічного аналізу у форматі TIFF із роздільною здатністю 600 dpi (деталі сканування наведені у додатку 3) (Morhun et al., 2019).

Rapana venosa визначали за першоописом (Valenciencess, 1846). Для багатовимірного морфометричного аналізу кожна черепашка рапани була сфотографована, а її зображення збережено. Під час фотографування ми використовували спеціальне власноруч виготовлене обладнання (рис. 2.4.3). Призначення цього обладнання полягає в тому, щоб зафіксувати мушлю в певному положенні, аби кожна була закріплена однаково за трьома точками відносно фотокамери: верхній край мушлі, нижній край мушлі та крайня точка устя. Таким чином, це обладнання дозволяє уникнути можливого викривлення форми об'єкта, пов'язаного з фотографуванням під різним кутом. У подальшому всі фотографії візуально аналізували і моллюсків поділяли на два морфотипи за такими морфологічними ознаками: перший морфотип має широкий останній оберт та низький завиток, що робить черепашку рапани на вигляд «присадкуватою» / «широкоюю», а другий має відносно струнку мушлю з видовженим висококінецьним завитком – «витягнуту» форму (Morhun et al., 2021a).

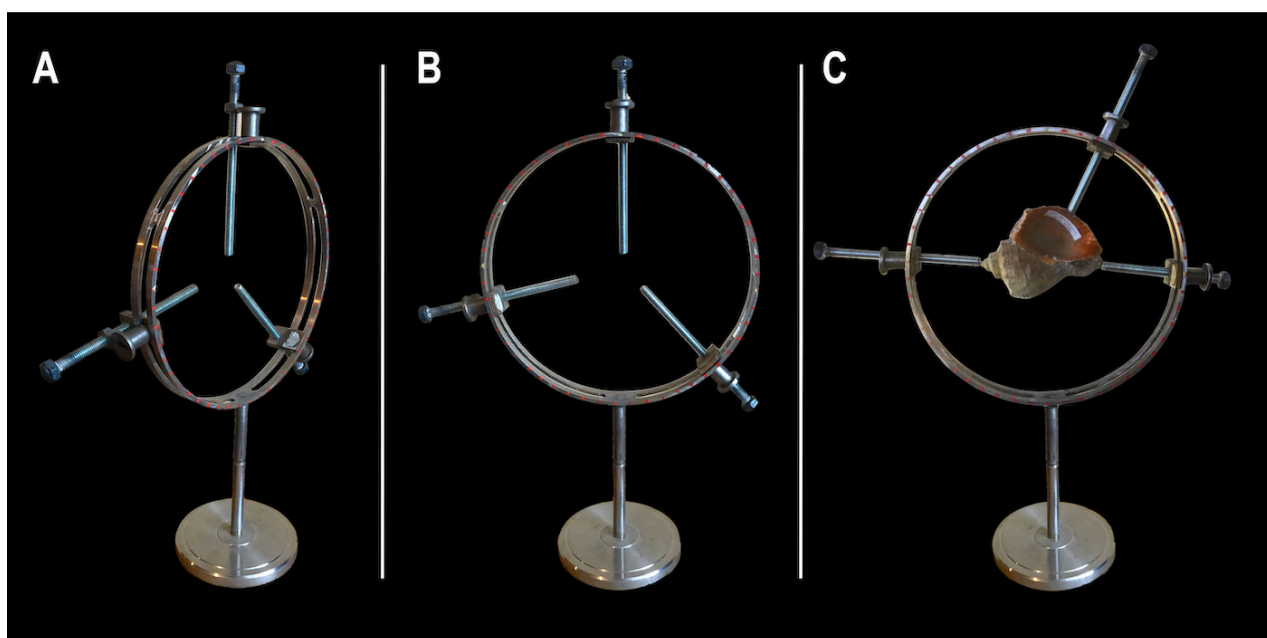


Рис. 2.4. Маніпулятор для фіксації черепашки *Rapana venosa*.

2. 3 Виділення ДНК і ПЛР

Виділення ДНК відбувалось чотирма різними методами, зокрема сольовим (рапана), колонками (решта молюсків, черви, жалкі), фенол-хлороформом (ракоподібні), буферним (Chelex) (ракоподібні). У всіх досліджених зразків ампліфікували фрагмент мітохондріальної цитохромоксидази субодиниці I (*cox1*) праймерами HCO2198, 5'-TAAACTTCAGGGTG ACCAAAAAATCA-3 ' та LCO1490, 5'-GGTC AACAAATCATAAAGATATGG (Folmer et al., 1994). Нижче наведено методологічні деталі молекулярних опрацювань для модельних видів тварин, для яких окрім таксономічної ідентифікації (Blast та BIN) ми додатково реконструювали філогенію.

Глосіфоніда *Helobdella europaea* була передана в лабораторію Департаменту екології та еволюції Лозаннського університету (Швейцарія) (Morhun et al., 2021б). Виділення ДНК проводили з невеликого шматочка м'язових тканин з бічної частини тіла п'явки; під час відрізання вживалися запобіжні заходи, щоб не торкнутися травної системи, яка часто містить кров харчового об'єкта п'явки. Геномну ДНК ізолювали за допомогою набору для екстракції DNA Blood and Tissue extraction kit (Qiagen). Ампліфікацію *cox1* проводили за наступних умов ПЛР: 95 ° C протягом 5 хв; 25 циклів від 2:15 хв 94 ° C, 20 сек 44 ° C та 1:30 хв при 70 ° C; 7 хв кроку денатурації при 72 ° C. Продукт ампліфікації очищали набором для очищення ПЛР QIAquick (Qiagen), та секвенували за допомогою праймера LCO1490 фірми Microsynth AG, Швейцарія. Отримана послідовність була зареєстрована в GenBank (MT258557). Довжина послідовності становить 713 п.н.

Для молекулярного аналізу *P. virginialis* та *M. nipponense* зразки були передані до лабораторії біогеографії та екології безхребетних, відділу зоології та гідробіології безхребетних Університету Лодзі (Son et al., 2020б). У особин відрізали невеликий шматочок м'язових тканин, та виділяли геномну ДНК за допомогою стандартного фенол-хлороформного методу (Hillis et al., 1996). Висушені на повітрі гранули ДНК елюювали (розбавляли)

в 100 мл буфера TE (pH 8.00); виділену ДНК зберігали при 4 °C для подальшої ампліфікації, а для довготривалого зберігання – в морозилці, при -20 °C. Ген *cox1* ампліфікували за наступних умов ПЛР: 94 °C протягом 3 хв; 5 циклів по 30 с при 94 °C, 1:30 хв при 45 °C і 1 хв при 72 °C; 35 циклів по 30 с при 94 °C, 1:30 хв при 51 °C і 1 хв при 72 °C; та 5 хв кроку денатурації при 72 °C (Hou et al., 2007). Продукти ПЛР (5 µl) очищали за допомогою екзонуклеази I (20 Од/µl; EURx, Польща) та лужної фосфатази Fast Polar-BAP (1 Од/µl, EURx, Польща), дотримуючись рекомендацій виробника. Очищений продукт ПЛР секвенували в MacroGen Inc. (Нідерланди) з використанням тих самих праймерів, що і на стадії ампліфікації. Послідовності були зареєстровані в GenBank (номери: MT881672 – MT881675). Довжина отриманих послідовностей *cox1* становить 635–642 п.н. для *P. virginalis* та 630–641 п.н. для *M. nipponense*.

Один екземпляр *A. senhousia* з Сухого Лиману (Одеса) та один екземпляр *Corbicula* sp. у квітні 2019 року також досліджували на базі лабораторії кафедри зоології та гідробіології безхребетних УЛ. Виділяли ДНК з невеликого шматочка м'язової тканини набором GeneMATRIX Tissue DNA Purification Kit (EURx, Poland). Згодом, у липні 2019 року, виділили ДНК ще з одного екземпляру *A. senhousia*, та з п'яти екземплярів *R. venosa* (Чорне море, Одеса) в молекулярній лабораторії на базі кафедри зоології та екології тварин біологічного факультету ХНУ. Застосовували набір для очищення ДНК тканин GeneElute Mammalian Genomic DNA minprep від Sigma-Aldrich (Стайнгейм, Німеччина). Ампліфікація *cox1* та очищення ампліконів відбувались за тією ж методологією, що описана для *P. virginalis* та *M. nipponense*. Довжина отриманих послідовностей сягала 596 і 650 п.н. – *A. senhousia*, 609 п.н. – *Corbicula* sp., та 615 п.н. – *R. venosa*.

2.4 Підготовка та вирівнювання нуклеотидних послідовностей

Усі отримані хроматограми були перевірені на наявність помилкових сигналів за допомогою програм FinchTV v. 1.5.0 (Geospiza Inc., США) або

ChromasPro 1.32 (Technelysium Pty., Queensland, Австралія). Чисті послідовності порівнювали з базою даних GenBank (blast.ncbi.nlm.nih.gov) за допомогою програм blastn та суміжних програм megablast для перевірки помилкової контамінації зразка.

Для філогенетичного аналізу вибраних модельних видів отримані самостійно послідовності та завантажені з Генетичного Банку вирівнювали (align) між собою: ряд нуклеотидів розташовується зверху відповідно нуклеотидам іншого ряду так, щоб утворювалися гомологічні ділянки послідовностей. Робили це за допомогою програми MAFFT 7.452 (Kato et al., 2017) зі стратегією FFT-NS-i, вибраною опцією “Auto”. Отримане вирівнювання потім транслювали в амінокислотні послідовності в програмі MEGA X (Kumar et al., 2018) для перевірки на наявність стоп-кодонів та біологічний сенс даних.

2.5 Філогенетичний аналіз

Філогенез реконструювали для видів *Helobdella europaea*, *Procambarus virginalis*, *Macrobrachium nipponense*, *A. senhousia* та *R. venosa*.

Для виявлення філогенетичних зв'язків *Helobdella europaea* були використані послідовності ДНК нашого зразка разом з усіма наявними в GenBank сиквенсами *cox1* п'явок роду *Helobdella*. У ролі аут-групи був застосований ген *cox1* *Hemiclepsis marginata* (O. F. Müller, 1774). Проблемні послідовності з GenBank, яким бракувало гомології та/ або які відображали прогалини (gaps) в рамці зчитування, були виключені з кінцевого набору даних. Загалом було проаналізовано 364 послідовностей. Філогенетичний аналіз проведено методом максимальної правдоподібності (Maximum Likelihood) в IQ-TREE v1.5.5 (Nguyen et al., 2015), підтримка гілок була оцінена за допомогою 1000 повторень (bootstrap) SH-like тесту приблизного коефіцієнту ймовірності (SH-aLRT; Guindon et al., 2010) та алгоритму надшвидкого бутстрепінгу (Minh et al., 2013). Опція ModelFinder була використана для визначення оптимальної моделі субституції

(Kalyaanamoorthy et al., 2017), найкращу з яких визначали згідно за критерієм Байєса (BIC): TNe + G для першого кодону, TN + F + G для другого та TIM2 + F + G для третього кодону гена. Генетичні відстані (*p-distance*) всередині груп та між групами були розраховані за допомогою MEGA X (Kumar et al., 2018). Після філогенетичного аналізу всіх доступних послідовностей роду *Helobdella* з отриманого дерева вирізали необхідну нам кладу, яка складалась тільки з таксонів, що належать до серії «*Helobdella triserialis*» (див. Oceguera-Figueroa et al., 2010) і, таким чином, кінцевий набір даних містив лише 83 зразки. Детальна інформація про локалітети та реєстраційні номери цих зразків з попередніх досліджень міститься у додатку 4 (джерела послідовностей з Bely & Weisblat, 2006; Tessler et al., 2018; Oceguera-Figueroa et al., 2010; Torres-Carrera & Oceguera-Figueroa, 2019, *unpublished*; Beresic-Perrins et al., 2019, *unpublished*; Siddall & Borda, 2003; Schmerer et al., 2013; Utevsky S & Utevsky A, 2018). Уся подальша увага була зосереджена на цій монофілетичній групі близькоспоріднених видів.

Procambarus virginalis та *Macrobrachium nipponense*. Філогенетичний аналіз проводили з залученням молекулярних даних з GenBank з попередніх досліджень (Salman et al., 2006; Feng et al., 2008; Wowor et al., 2009; Martin et al., 2010a, 2010b; Filipová et al., 2011 ; Liu & Cui, 2011; Aoki et al., 2013; Bohman et al., 2013; Quan et al., 2014; Vojkovska et al., 2014; Vogt et al., 2015; Usio et al., 2017; Cui et al., 2018; Zheng et al., 2019). Детальна інформація про локалітети та реєстраційні номери послідовностей GenBank перелічені в додатку 4. Реконструкція філогенезу була проведена з використанням статистичного методу максимальної правдоподібності (Strimmer & von Haeseler, 1996) з оцінкою підтримки гілок за допомогою 1000 непараметричних бутстреп-реплікацій (Sitnikova et al., 1995) в програмі MEGA X (Kumar et al., 2018). Аналіз базувався на моделі НКҮ з гамма-розподілом [+G, $\alpha = 0.0500$] для моделі філогенезу *P. virginalis*, та 3-параметричної моделі Тамури (Tamura, 1992) з гамма-розподілом [+G, $\alpha = 0.5572$] для філогенезу *M. nipponense*. Саме ці, розраховані в MEGA X, моделі

субституції були оцінені як найкращі за інформаційним критерієм Байєса (BIC). Генетичні відстані (*p-distance*) між послідовностями розраховували також в MEGA X. Гаплотипи визначали за допомогою програми DnaSP v.6.12.03 (Rozas et al., 2017). Усі позиції, що містили прогалини (gaps) та / або для яких були відсутні дані, не враховувались, а в кінцевому вирівнюванні всі послідовності мали однакову довжину: 614 п.н. для *P. virginialis* та 551 п.н. для *M. nipponense*.

Arcuatula senhousia. Філогенетичний аналіз проведено за методикою, наведеною вище для *H. europaea*. Для виявлення філогенетичних зв'язків були залучені доступні в GenBank послідовності молюсків роду *Mytilidae*. У ролі аут-групи застосовано ген *cox1* *M. adriaticus* (додаток Д) (джерела послідовностей: Passamonti, 2007, Passamonti et al., 2011; Asif & Krug, 2011).

Філогенію *R. venosa* реконструювали також за методикою *H. europaea* із залученням послідовностей видів *Rapana bezoar* і *Rapana rapiformis*, а в ролі аутгрупи використали *Plicopurpura patula* (Linnaeus, 1758) (додаток Д) (джерела послідовностей: Chandler et al., 2008; Claremont et al., 2012; Slynko et al., 2020).

2.6 Багатовимірний аналіз морфометричних даних модельних молюсків

2.6.1 *Corbicula* spp.

За допомогою програми обробки зображень Fiji v2.0 (Schindelin et al., 2012) вимірювали висоту та довжину лівих стулок молюсків (рис. 2.5). Кожна досліджувана вибірка була перевірена на нормальність розподілу за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова та різницею між середньою та медіаною, для кожної вибірки розрахована описова статистика в програмі STATISTICA (v.10) (додаток Е).

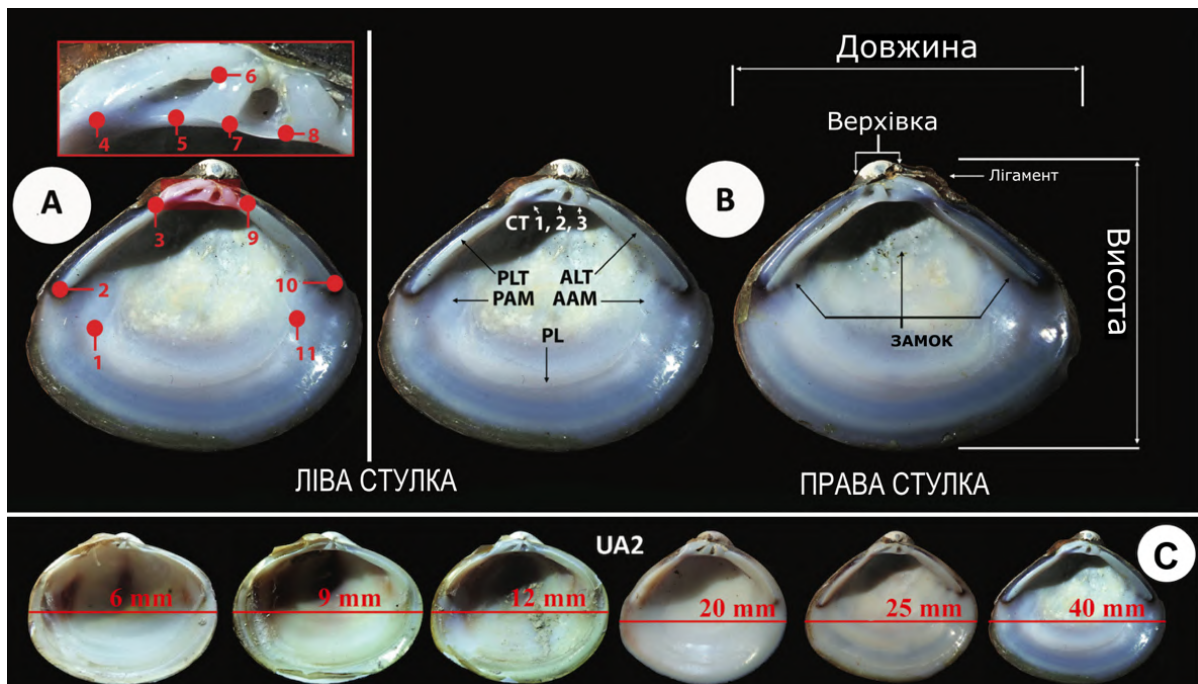


Рис. 2.5. Морфологія стулки молюска *Corbicula*: використані точки для геометричної морфометрії (LM) (A), та назви основних частин стулки (B): PL - паліальна лінія; PAM - паліальна лінія з рубцем заднього привідного м'яза; AAM - паліальна лінія з рубцем переднього привідного м'яза; СТ 1-3 – кардинальні зуби; PLT – задній бічний зуб; ALT – передній бічний зуб. Алометричний ріст *Corbicula* (G).

Традиційний морфометричний аналіз включав показник індексу округлості (далі – IR), який розраховували як співвідношення висоти до довжини стулки (рис. 2.5-B). IR є незалежним від фактичного розміру індексом і широко використовується в дослідженнях *Corbicula* (Lee et al., 2005; Sousa et al., 2007; Pigneur et al., 2011; Bódis et al., 2011; Wang et al., 2014; Sheehan et al., 2019). Фактичний розмір не аналізувався через алометричний ріст, що притаманний цим молюскам (рис. 2.5.G). Достовірна різниця в округлості (IR) між вибірками оцінена однофакторним аналізом (one-way ANOVA) та попарно порівняна тестом Tukey's *post-hoc* для нерівних груп з урахуванням поправки Бонферроні для експериментальної частоти помилок 0.01 (Rice, 1989).

Геометричний морфометричний аналіз базувався на одинадцятьох гомологічних точках (landmarks, LM) лівої стулки корбікули, раніше представлених у дослідженні Р. Соуса та співаторів (Sousa et al., 2007) (рис. 2.5.A). Ми наводимо детальну конхіологічну розшифровку кожної точки:

LM1 – з'єднання паліальної лінії з рубцем заднього привідного м'яза;

LM2 – нижні краї заднього бічного зуба;
LM3 – верхні краї заднього бічного зуба;
LM4 – край 1-х кардинального зуба;
LM5 – лівий край 2-х кардинального зуба;
LM6 – верхній край 2-х кардинального зуба;
LM7 – правий край 2-х кардинального зуба;
LM8 – край 3-х кардинального зуба;
LM9 – верхні краї переднього бічного зуба;
LM10 – нижні краї переднього бічного зуба;
LM11 – з'єднання паліальної лінії з рубцем переднього привідного м'яза.

Оцифрування зображень та збір координат проводили за допомогою програмного забезпечення tpsDig (Rohlf, 2014). Кожна стулка була оцифрована двічі, а потім кількісно визначено похибку оцифровки як коефіцієнт кореляції внутрішнього класу (ICC) (Fisher, 1958; Fleiss & Shrout, 1977), також відомий як "повторюваність" ("repeatability") даних. Обчислювали ICC за загальноновживаною формулою (Fruciano, 2016) після застосування Procrustes ANOVA з особами як категоріальною змінною (результати у додатку Ж). Похибка вимірювання була невеликою відносно варіації серед особин (ICC = 0.925), тож їх координати усереднювалися за особинами в програмі *MorphoJ* (Klingenberg, 2011) з метою зменшення похибки вимірювання, і цей усереднений набір даних використовувався для подальшого аналізу.

Варіабельність форми стулки (англ. «shape») та міжгрупова різниця були візуалізовані у програмному забезпеченні *MorphoJ* за допомогою міжгрупового методу головних компонент (bgPCA) (Boulesteix, 2005), який часто використовується в геометричних морфометричних дослідженнях (Franchini et al., 2014; Fruciano et al., 2014; Schmieder et al., 2015). 3D-графік результатів bgPCA візуалізований у програмі PAST v1.7a (Hammer et al., 2001).

Попарне порівняння середніх форм морфовидів *Corbicula* розраховано на основі Прокрустової відстані (англ. «Procrustance distance») в *MorphoJ*. Щоб перевірити нульову гіпотезу про відсутність різниці між групами використовували тест рандомізації (permutation test) з 10 000 перестановками.

На другому етапі ми додатково оцифрували фотографії трьох типових матеріалів з раніше опублікованих статей: лектотипи *C. fluminalis* та *C. fluminea* (Araújo et al., 1993, рис. 3-А, 3-С) та голотип *C. leana* з відкритого ресурсу Смітсонівського інституту, Національний музей природознавства (USNM). Дані цієї оцифровки ми додали до основного набору та проаналізували за тією ж методологією bgPCA, що і основний. Цей підхід призначений для перевірки таксономічних висновків, зроблених на основі якісних ознак (див. вище). Типові зразки використовувалися як частина відповідної видової групи в bgPCA. Слід зауважити, що зображення типових зразків були отримані попередніми дослідниками невідомим нам методом (скануванням або фотографуванням на камеру, див. додаток 3), тому результати другого графіку bgPCA слід інтерпретувати з обережністю.

2.6.2 *Rapana venosa*

Кожну мушлю зважували та вимірювали на ній цифровим штангельциркулем п'ять лінійних відстаней – висоту (H), ширину (W), висоту устя (Ha), ширину устя (Wa) та висоту останнього завитка (Ht) (рис. 2.6). Витягнутість черепашки оцінювали за співвідношенням висоти до ширини (H / W), висоти до ширини устя (Ha / Wa) та висоти останнього завитка до загальної висоти (H / Ht); за Ms / H оцінювали товщину стінки черепашки. Всі ці індекси є незалежні від фактичного розміру та скориговані на алометрію.

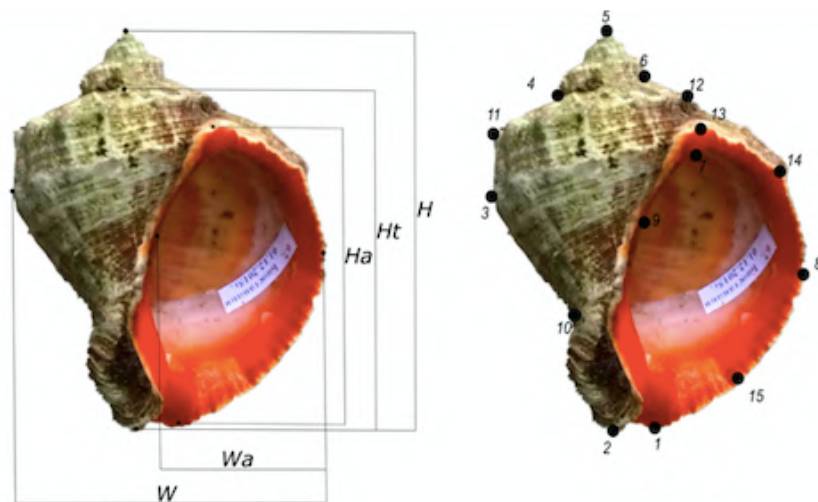


Рис. 2.6. Морфологія черепашки *Rapana venosa*: лінійні виміри (зліва) та використані точки (з права). LM: 1-9 гомологічні (англ. «fixed LM»), 10-15 – слайдери (англ. «semi-LM»).

Геометричний морфометричний аналіз проводили на основі наступних п'ятнадцятих точках (рис. 2.6):

- LM1 – крайня передня точка устя;
- LM2 – крайня передня точка сифонального каналу;
- LM3 – крайня ліва сторона витка;
- LM4 – ліва точка шва 2-го оберту на завитку;
- LM5 – вершина;
- LM6 – права точка шва 2-го оберту на завитку;
- LM7 – задній канал;
- LM8 – крайня точка устя;
- LM9 – колумелярна складка на внутрішній губі;
- LM10 – з'єднання кривою фасцилярного валіку з основою мушлі;
- LM11 – лівий зубець на останньому оберті;
- LM12 – правий зубець на останньому оберті;
- LM13 – з'єднання кривої плеча з основою;
- LM14 – крива на задній зовнішній губі устя;
- LM15 – крива на передній зовнішній губі устя.

Назви частин за Топтіков та ін. (2014, рис 4).

Оцифрування було здійснено за допомогою програмного забезпечення TPSdig2 (Rohlf, 2013). Підготовчий аналіз Прокрустової

ANOVA (Procrustes ANOVA) показав, що взаємодія між морфами та розміром центроїдів (англ. «centroid size») не є значущою ($F = 0,5206$, $p = 0,883$), тому в *Morphoj* (Klingenberg, 2011) ми провели регресійний аналіз, щоб вирахувати «регресійні передбачення» (як зміна форми черепашки залежить від розміру в кожній морфи, англ. «regression prediction») і отримали залишки після регресії (англ. «regression residuals»), які використали для подальшого аналізу, оскільки саме вони є виправленими на внутрішньогрупову алометрію, пов'язану з розміром мушлей.

Статистичні відмінності форми черепашок між морфотипами, між статями, та вплив статі на форму в межах кожного морфотипу перевіряли аналізом Прокрустової ANOVA (Procrustes ANOVA) з оцінкою значущості за допомогою F-тесту (Goodall, 1991). Тестування значущості здійснювали пермутаційним тестом – перестановки залишкових рандомізацій (англ. «residual randomisation permutation procedure») з 1000 перестановками (Collyer et al., 2015). Мінливість форми черепашок та міжгрупова різниця проаналізовані методом головних компонент (PCA) у програмному забезпеченні *MorphoJ*.

Лінійним коефіцієнтом кореляції (Пірсона) у програмі PAST v4.03 (Hammer et al., 2001) охарактеризували силу (слабкий/сильний/середній) та напрям (прямий/зворотній) зв'язку показників лінійних вимірювань черепашок (традиційна морфометрія) та показників PCA (геометрична морфометрія), поєднуючи тим самим дані двох методологічних підходів.

Висновки до розділу 2

1. Застосовано молекулярні методи дослідження для виявлення генетичної структури популяцій.
2. Використано мітохондріальний маркер цитохромоксидаза субодиниця 1 для ДНК-баркодингу.
3. У філогенетичному аналізі застосовано критерій оптимальності «максимальна правдоподібність».
4. Застосовано морфологічні методи для дослідження зовнішніх ознак і багатовимірний статистичний аналіз морфометричних даних для оцінки мінливості.
5. Вперше використано метод геометричної морфометрії та застосовано спеціальне обладнання для фотографування *Rapana venosa*.

Основні положення цього розділу викладені у публікаціях автора [Son et al., 2020б; Zhulidov et al., 2021; Morhun et al., 2019; Morhun et al., 2021a; Morhun et al., 2021б].

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ

3. 1 Таксономія досліджених тварин

Завдяки молекулярним дослідженням встановлено видову приналежність водних безхребетних тварин з Азово-Чорноморського басейну. Для визначення досліджуваних організмів були вивчені морфологічно, їх послідовності проаналізовані в онлайн програмі BLAST на основі бази даних GenBank та BOLD, потім зареєстровані в BOLD, та для кожної отриманий BIN (узагальнений таксономічний склад з BIN у додатку 8).

Аналіз виявив 19 чужорідних видів, які належать до чотирьох типів тварин. З отриманих 23 BIN, 3 виявились новими, досі не існуючими в базі. З досліджуваного матеріалу, для 13 видів вперше отримані послідовності популяцій поширених в Азово-Чорноморського басейну. Види *Helobdella europaea* та *Arcuatula senhousia* вперше зареєстровано у регіоні в ході моніторингу та збору матеріалу для дослідження. Види *Procambarus virginialis* і *Macrobrachium nipponense* зареєстровано в нових локалітетах, з яких не повідомлялись раніше.

Нижче наведені таксономічне положення та короткі нариси, де окреслені нативні й інвазивні ареали досліджуваних тварин, дані про поширення в Азово-Чорноморському регіоні, а також описи характерних оселищ, в яких ми їх збирали, та субстрат згідно класифікації EUNIS (2012).

Тип Annelida Lamarck, 1802

Клас Clitellata Michaelsen, 1919

Підклас Hirudinea Savigny, 1822

Ряд Phynchobdellida Blanchard, 1894

Родина Glossiphoniidae Vaillant, 1890

Рід *Helobdella* Blanchard, 1896

1. *Helobdella europaea* Kutschera 1987

BIN: BOLD:AAC5160

Поширення. Нативним регіоном вважається Південна та/ або Центральна Америка (Reyes-Prieto et al., 2013). Знахідки цього виду, де він вважається інвазивним, є по всьому світі, зокрема в Іспанії, Південній Африці, Тайвані, Австралії, Новій Зеландії та США (Siddall & Budinoff, 2005; Bely & Weisblat, 2006; Lai et al., 2009; Oseguera-Figueroa et al., 2010; Reyes-Prieto et al., 2013). В Україні вид зареєстровано в 2015 році, в м. Харків (Morhun et al., 2021б).

Оселище. П'явки знайдені в аквакультурі на водних рослинах. Цей вектор вважається одним з головним для розповсюдження (Lai et al., 2009; Morhun et al., 2021б). Вид описано з прісноводного струмка поблизу Фрайбурга-ім-Брайсгау (Німеччина). В інвазивних регіонах в природі п'явок знаходять в повільних струмках, зрошувальних та дренажних канавах, в відкритих каналізаціях, де вони розміщені на різних на занурених/напів-занурених твердих субстратах (камені, пластик, гілки, сміття), та на водних рослинах, а інколи – на гідробіонтах (поверхні мушель і мантийній порожнині молюсків) (Oseguera-Figueroa et al., 2010; Lai et al., 2009).

Тип Cnidaria

Клас Hydrozoa Owen, 1843

Підклас Hydroidolina Collins, 2000

Ряд Anthoathecata Cornelius, 1992

Родина Cordylophoridae von Lendenfeld, 1885

Рід *Cordylophora* Allman, 1844

2. *Cordylophora caspia* (Pallas 1771)

BIN: BOLD:AAR9096

Поширення. Вид описано з Каспійського моря (Pallas 1771), його реєстрували як інвазивний в Європі, зокрема в Балтійському морі (Leppakoski, 2005) й у данських водах (Jensen & Knudsen, 2005). Поширений по всій Західній Європі: Франція (Gouilletquer et al., 2002), континентальні води Німеччини (Nehring, 2002) та на узбережжі Північної Америки (Ruiz et

al., 2000; Folino-Rorem et al., 2009). В Азово-Чорноморському басейні цей гідроїд був відмічений у Севастопольській бухті (Марфенин, 1983), а також його колонії знайдені в Малому Аджаликському і Сухому лиманах в обростаннях водної рослинності і стулок молюсків. Трапляється в акваторіях великих портів Чорного моря (Південний, Іллічівський) (Кошелев, 2003). Нами виявлений в р. Південний Буг, м. Миколаїв.

Оселище. Траплявся на кам'яному субстраті в евригалінних умовах.

Субстрат. C2.41: *Brackish water tidal rivers*.

Тип Arthoropoda

Клас Thecostraca Gruvel, 1905

Ряд Balanomorphia Pilsbry, 1916

Родина Balanidae Leach, 1817

Рід *Amphibalanus* Pitombo, 2004

3. *Amphibalanus improvisus* (Darwin, 1854)

BIN: BOLD:AAE2482

Поширення. Вид походить з атлантичного узбережжя Америки (Darwin, 1854; Leppakoski & Olenin, 2000; de Rivera et al., 2011), зокрема з Аргентини (Wrange et al., 2016). Чарльз Дарвін під час опису виду (1854) зафіксував його популяції в Великій Британії, тому цей регіон також вважається нативним. В азіатських і європейських водах вважається інтродукованим, трапляється в Нідерландах (Kerckhof & Cattrijsse, 2001; Wolff, 2005), на німецькому узбережжі Північного моря (Gollasch & Nehring, 2006), у фіордах Норвегії (Brattegard & Holthe, 1997), в Ірландії (Minchin, 2007), у Балтійському морі (Leppakoski & Olenin, 2000; Jensen & Knudsen, 2005). В Азії знахідки походять з Японії (Kawahara, 1963; Овсянникова, 2008; Iwasaki, 2006), та Нової Зеландії (Foster & Willan, 1979). У Чорне море занесений з 1844 р. (Gomoiu et al., 2002), а в Каспійське – у 1955 р. (Grigorovich et al., 2003), імовірно через Волго-Донський канал (Звягинцев,

2003). Ми збирали зразки вздовж морського узбережжя в Приморському, в Миколаєві та між Затокою та Шабо (рис. 3.7).

Оселище. Вид обмежений солонуватими водами. Прикріплений до нерухомих об'єктів (наприклад, черепашок молюсків, каміння, штучних субстратів) в захищених від хвиль районах.

Субстрат. *C2.41: Brackish water tidal rivers; A5.2351: Facies with Lentidium mediterraneum*

4. *Amphibalanus eburneus* (Gould, 1841)

BIN: BOLD:ACD3190

Поширення. Західно-Атлантичний вид (Fofonoff et al., 2018), який розповсюдився по всьому світі судноплавством (Jaberimanesh et al., 2019). Його знаходили у Середземному й Чорному морях з 19 століття, він наразі вважається таким, що прижився в місцевих біоценозах (Zenetos et al., 2017). Трапляється в Каспійському морі (Zaika et al., 2010). В Азово-Чорному регіоні його знаходили біля Одеси (Зевина & Полтаруха, 1999; Gomiou et al., 2002), біля Севастополя, в Геленджику (Росія) та в Батумі (Грузія) (Зевина & Полтаруха, 1999). Наші знахідки походять з Сухого Лиману (Одеса) (рис 3.7).

Оселище. Траплявся в лиманних середовищах зі значними коливаннями солоності – від майже солоних до майже прісних вод – з повільними течіями. Прикріплений і до нерухомих об'єктів, і оселяється на декаподах (крабах).

Субстрат. *J4.5: Hard-surfaced areas of ports; J5.2: Highly artificial saline and brackish running waters*

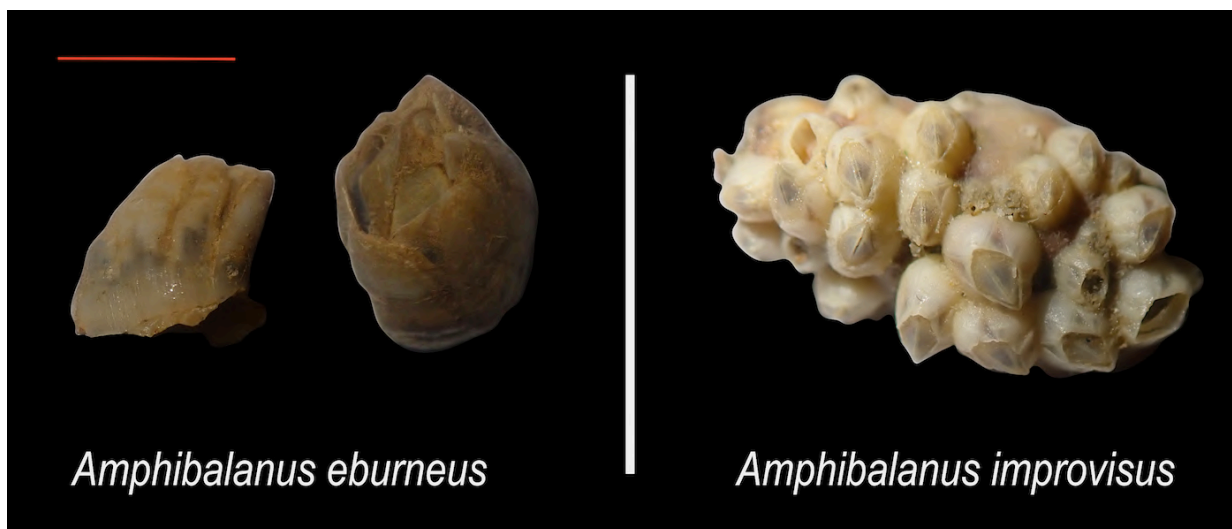


Рис. 3.7. Загальний вид *Amphibalanus* spp. Шкала – 1 см.

Клас Malacostraca Latreille, 1802

Ряд Amphipoda Latreille, 1816

Родина Talitridae Rafinesque, 1815

Рід *Cryptorchestia*

5. *Cryptorchestia garbinii* Ruffo, Tarocco & Latella, 2014

BIN: BOLD:AAD8710

Поширення. Нещодавно описаний вид з озера Гарда (Північна Італія), якого раніше називали *Orchestia cavimana* Heller, 1865 (Ruffo et al., 2014). Наразі *O. cavimana* вважається ендеміком Кіпру (Ruffo et al., 2014; Davolos et al., 2017), а *C. garbinii* (що охоплює знахідки *O. cavimana* за межами Кіпру) має європейське широке поширення біля морських узбереж, у дельтах і лиманах (Балтійське, Чорне, Мармурове, Середземне та Північне моря), живе в таких річках, як Дніпро, Дунай, Темза, Рейн, та озерах, наприклад Албано, Гарда, Охрид, Преспа, та ін. (Ruffo et al., 2014; Rewicz et al., 2020). В Азово-Чорноморському басейні зразки цього виду зібрали вздовж Азово-Чорноморського узбережжя та в басейні р. Дон (рис 3.8).

Оселище. Вид напівназемний і наземний, поширений в надліторальній пляжній зоні прісних та солонуватих вод під субстратами (каміння, сухі водорості, трава).

Субстрат. C3.61: *Unvegetated river sand banks*; C3.61: *Unvegetated river sand banks*; A2.211: *Talitrids on the upper shore and strandline*; A2.12: *Estuarine coarse sediment shores*; C3.63: *Unvegetated river mud banks*; J5.41: *Non-saline water channels with completely man-made substrate*; C3.62: *Unvegetated river gravel banks*; C2.41: *Brackish water tidal rivers*; C2.16: *Crenal streams (spring brooks)*; C2.19: *Lime-rich oligotrophic vegetation of spring brooks*; C2.32: *Metapotamal and hypopotamal streams*

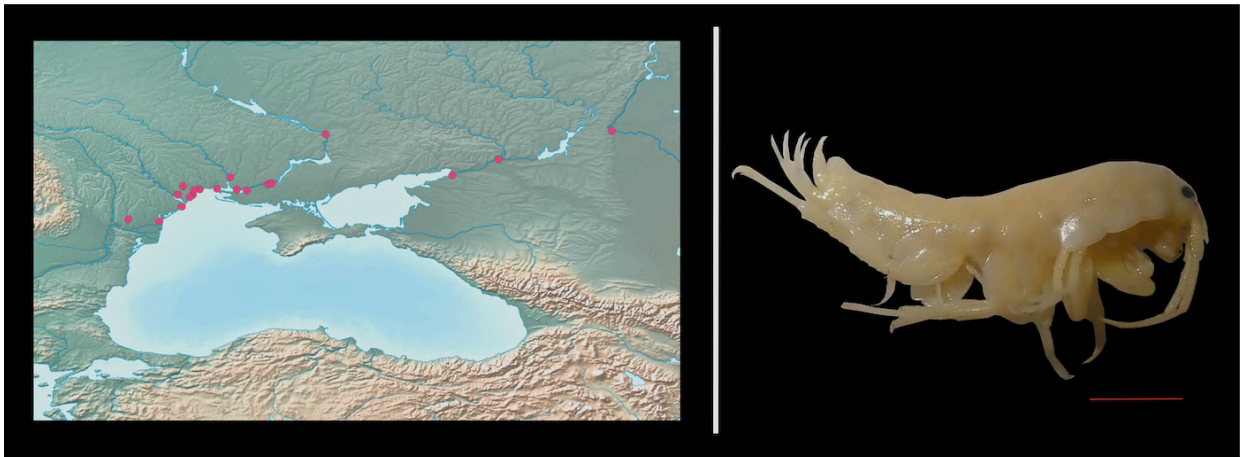


Рис. 3.8. Мапа знахідок зразків та загальний вигляд *Cryphorchestia garbinii*. Шкала – 1 см.

Родина Crangonyctidae Bousfield, 1973

Рід *Synurella* Wrześniowski, 1877

6. *Synurella ambulans* (F. Müller, 1846)

BIN: BOLD:ACH8736

Поширення. Вид описаний з каналів північної Німеччини. Через високий велику морфологічну варіабельність та складнощі в систематиці деякі дослідники вважають його давно поширеним Європою та Малою Азією (Ruffo, 1974; Karaman, 2003; Nesemann, 1993; Pezzoli, 2010; Sidorov & Palatov, 2012), однак інші, особливо в Причорноморському районі (Ketelaars, 2004), в Україні (Alexandrov et al., 2007) та в Бельгії (Boets et al., 2010) відносять вид до групи понто-каспійських чужорідних видів. Загалом вид відмічається в багатьох країнах Європи, включаючи Бельгію, Німеччину, Польщу, Литву, Білорусь та Росію (Sidorov & Palatov, 2012). В Україні вид зареєстрований в

Дніпровському водосховищі в 2000-х роках (Новіцький, 2010), а згодом – в Харківській області, вперше за 80 років (Сідоровський, 2014). Наші знахідки 2016 року походять з Миколаївської області, з притоки р. Інгул.

Оселище. Вид знайдений в водоймі, яка займає степовою западиною в басейні р. Інгул.

Субстрат. X36: *Depressions (pody) of the Steppe zone.*

Родина Asellidae Rafinesque, 1815

Рід *Asellus* Geoffroy, 1762

7. *Asellus aquaticus* (Linnaeus, 1758)

BIN: BOLD:AEC1520*; BOLD:AEC4541*; BOLD:AAA1970;
BOLD:ACW0692

* – новий BIN

Поширення. Вид походить з якогось регіону, що межує з Сибіром, звідки він був інтродукований в Європу (Verovnik et al., 2005). Наразі є найпоширенішим видом Asellidae в Європі (Kemp et al., 2020); однак, останні генетичні дослідження вказують на наявність різних генетичних ліній в Європі (Sworobowicz et al., 2015). Наші знахідки походять з Південного та Західного регіонів України (рис. 3.9)

Оселище. Траплявся у прісних і солонуватих водах, у стоячих та повільно текучих водах. У літературі є свідчення про толерантність до середовищ, забруднених органікою, а також дані про поширення виду в підземних прісних водах (Sket, 1994).

Субстрат. C2.16: *Crenal streams (spring brooks)*; C1.21: *Benthic communities of mesotrophic waterbodies*; C2.32: *Metapotamal and hypopotamal streams*; C1.11 : *Benthic communities of oligotrophic waterbodies*; C2.5: *Temporary running waters*; C1.68: *Benthic communities of temporary waters*; C2.31: *Epipotamal streams*

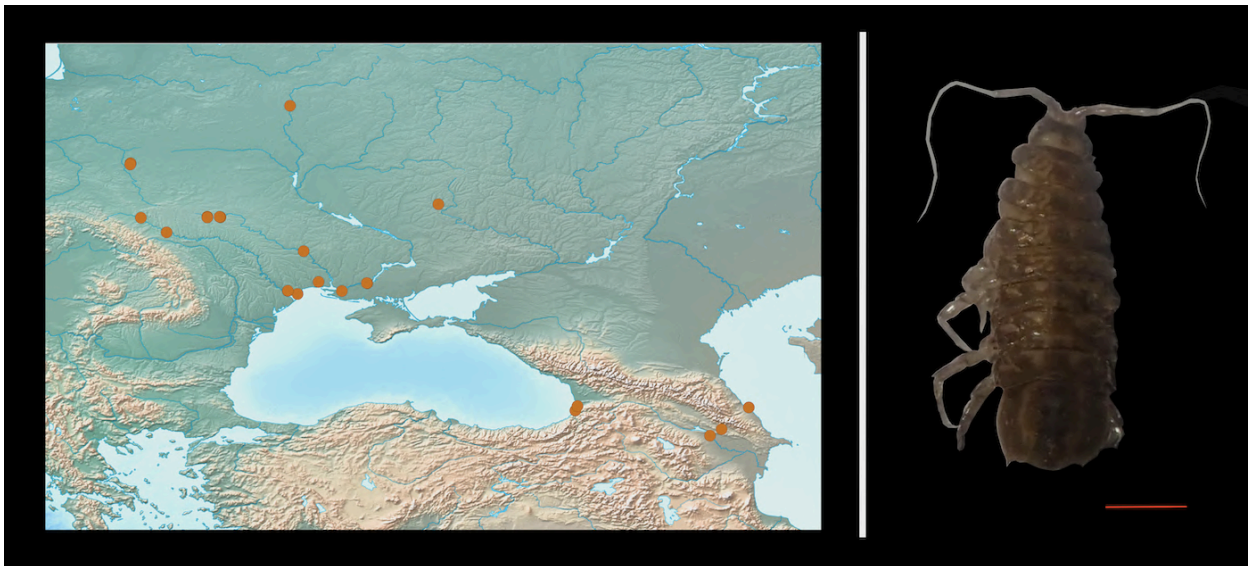


Рис. 3.9. Мапа знахідок зразків та загальний вигляд *Asellus aquaticus*. Шкала – 1 см.

Ряд Decapoda Latreille, 1802

Родина Cambaridae Н.Н.Jr. Hobbs, 1942

Рід *Procrambarus* Ortmann, 1905

8. *Procrambarus virginalis* Lyko, 2017

BIN: BOLD:ACG1580

Поширення. Вид відокремився від батьківського *P. fallax* (походить зі США) після інвазії в Європу (Vogt et al., 2015). У Європі вперше ці раки були зареєстровані в німецькій аквакультурі наприкінці 1990-х (Scholtz et al., 2003). Наразі в Європі, де ці раки знані під назвою «Marmorkrebs», їх утримують як в аквакультурах (Lyko et al., 2017; Son et al., 2020б), так і мають стабільні популяції у природному середовищі, які сформувались завдяки потраплянню туди раків з аквакультури. Такі природні популяції трапляються в багатьох країнах, зокрема на Мадагаскарі (Jones et al., 2009), у Німеччині (Chucholl et al., 2010; Lyko et al., 2017), Чехії (Lokkos et al., 2016; Patoka et al., 2016), Угорщині (Liptak et al., 2017), та в Україні (Novitsky & Son, 2016; Son et al., 2020б). Торгівлю в зоомагазинах та неконтрольовані потрапляння в природу вважають головний вектором розповсюдження (Scholtz et al., 2003; Lyko et al., 2017). В Азово-Чорноморському басейні популяції цього виду виявлено в Одесі та Дніпрі (Novitsky & Son, 2016).

Досліджені нами популяції походять з озера Котлован (Дніпро) та штучного ставка в м. Харків (Son et al., 2020б). З Харківської області цей вид не повідомлявся раніше, однак опитування місцевого населення свідчать, що цей рак дуже поширений у Харківській області (Сідоровський С.А., особисте повідомлення).

Оселище. *P. virginalis* був знайдений у прісноводних природних середовищах (рис. 3.10).

Субстрат. C1.21 : *Benthic communities of mesotrophic waterbodies.*



Рис. 3.10. Середовища існування *Procambarus virginalis*: штучний ставок “Родник” (Харків) (В), колишній кар’єр Котлованського озера (Дніпро) (С). Модифіковано за Son et al., 2020б)

Родина Panopeidae Ortmann, 1893

Рід *Rhithropanopeus* Rathbun, 1898

9. *Rhithropanopeus harrisii* (Gould, 1841)

BIN: BOLD:AAA2223

Поширення. Вид походить з атлантичного узбережжя Північної Америки. Зареєстрований у різних країнах європейського й американського континентів (Roche & Torchin, 2007), та Японії (Iseda et al., 2007). В Україні дуже поширений в річках Азовського басейну та північного Причорномор’я (Son et al., 2013). Наші зразки походили з р. Південний Буг, м. Миколаїв.

Середовище. Евригалінний вид з широкою толерантністю до коливань солоності і температури води, траплявся на кам’янистому субстраті.

Субстрат. C2.41: *Brackish water tidal rivers.*

Родина Palaemonidae Rafinesque, 1815

Рід *Macrobrachium* Spence Bate, 1868

10. *Macrobrachium nipponense* De Haan, 1849

BIN: BOLD:AAA7462

Поширення. Широко розповсюджений індо-тихоокеанський вид (Yu & Miyake, 1972; Cai & Ng, 2002;) з аквакультурним потенціалом. У регіонах інвазії в природних середовищах реєструвався в Бангладеш, Сінгапурі, Філіппінах, Казахстані, Узбекистані, Іраку, Ірані, Молдові та Україні (Alekhnovich & Kulesh, 2001; Cai & Shokita, 2006; De Grave & Ghane, 2006; Salman et al., 2006; Son et al., 2013, 2020б). Крім того, вид культивується в охолоджуючих водоймах теплових електростанцій Росії, Білорусі та Молдови (Alekhnovich & Kulesh, 2001). Поза басейном Дністра, звідки про *M. nipponense* повідомляли раніше (Макаров, 2004), ми виявили цих креветок у басейні невеликої річки Аккаржанка, в ставках басейну Сухого лиману та у водосховищі басейну Великого Аджалицького лимана (Son et al., 2020б).

Оселище. Вид заселяє як солонуваті ділянки лиманів, так і прісні води. Локації в Великому Аджалицькому лимані та в Олександрівському водосховищі представляють рідкісний тип середовища існування, верхню частину якого відокремлено і перетворено на прісну водойму, але з досі високою мінералізацією.

Субстрат. J5.32: *Intensively managed fish ponds.*

Тип Mollusca

Клас Gastropoda Cuvier, 1795

Підклас Caenogastropoda Cox 1960

Ряд Neogastropoda Wenz, 1938

Родина Muricidae Rafinesque, 1815

Рід *Rapana* Schumacher, 1817

11. *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846)

BIN: BOLD:AAA6876

Поширення. Нативний ареал простягається від Японського моря через Бохайське та Жовте моря до Східно-Китайського моря (Lai & Pan, 1980; Tsi et al., 1983; ICES, 2004). З баластними водами (Chandler et al., 2008) з 1950-х років поширився в Чорному морі (Драпкин, 1953), в Егейському морі (Koutsoubas & Voultsiadou-Koukoura, 1990; ICES, 2004) та Адріатичному морі (Ghisotti, 1971, 1974; Mel, 1976; Bombace et al., 1994; ICES, 2004), в затоці Кіберон, Франція (ICES 2004), в затоці Чесапек, США (Harding & Mann, 1999), у Ріо-де-ла-Плата між Уругваєм та Аргентиною та біля узбережжя Нідерландів (Nieweg et al., 2005). Трапляється в Чорному морі вздовж усього узбережжя. Досліджена нами популяція походить з Одеської затоки (Morhun et al., 2021a).

Оселище. Морський вид, живе на різних субстратах (пісок, каміння). Зокрема в Одеській затоці середовище характеризується змішаними (гравійно-піщаним) типом субстрату та високою мінливістю солоності води (від 4 до 18 ‰, дані Гідробіологічної станції ОНУ). Вид є толерантним до широкого температурного діапазону (від 4°C до 27°C).

Підклас Heterobranchia Burmeister, 1837

Надряд Hygrophila Férussac, 1822

Родина Physidae Fitzinger, 1833

Рід Physella Haldeman, 1842

12. *Physella acuta* Draparnaud, 1805

BIN: BOLD:AAB6433

Поширення. Вид є нативним в Північній Америці (Dillon et al., 2002, 2005, Lydeard et al., 2016). Інтродукований на всі континенти, окрім Антарктики за останні 300–400 років (Vinarski, 2017). У європейських континентальних водах поширений повсюдно (Vinarski, 2017). Перші дані про *P. acuta* в Україні опублікував Белецький (1918), який знайшов молюска в 1916 р. біля Харкова, але є музейний матеріал з околиць Києва 1919 року

(Son, 2007). До 1990 року поширився майже всією Україною та був відомий під назвою *Costatella integra* (Haldeman, 1841) (Стадниченко, 1990). Ми вивчили матеріал з багатьох місць Азово-Чорноморського та Каспійського басейнів (рис. 3.11).

Оселище. Прісноводний молюск.

Субстрат. *C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies; C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams; C1.21: Benthic communities of mesotrophic waterbodies; J5.32: Intensively managed fish ponds; C1.21: Benthic communities of mesotrophic waterbodies; C2.31: Epipotamal streams.*

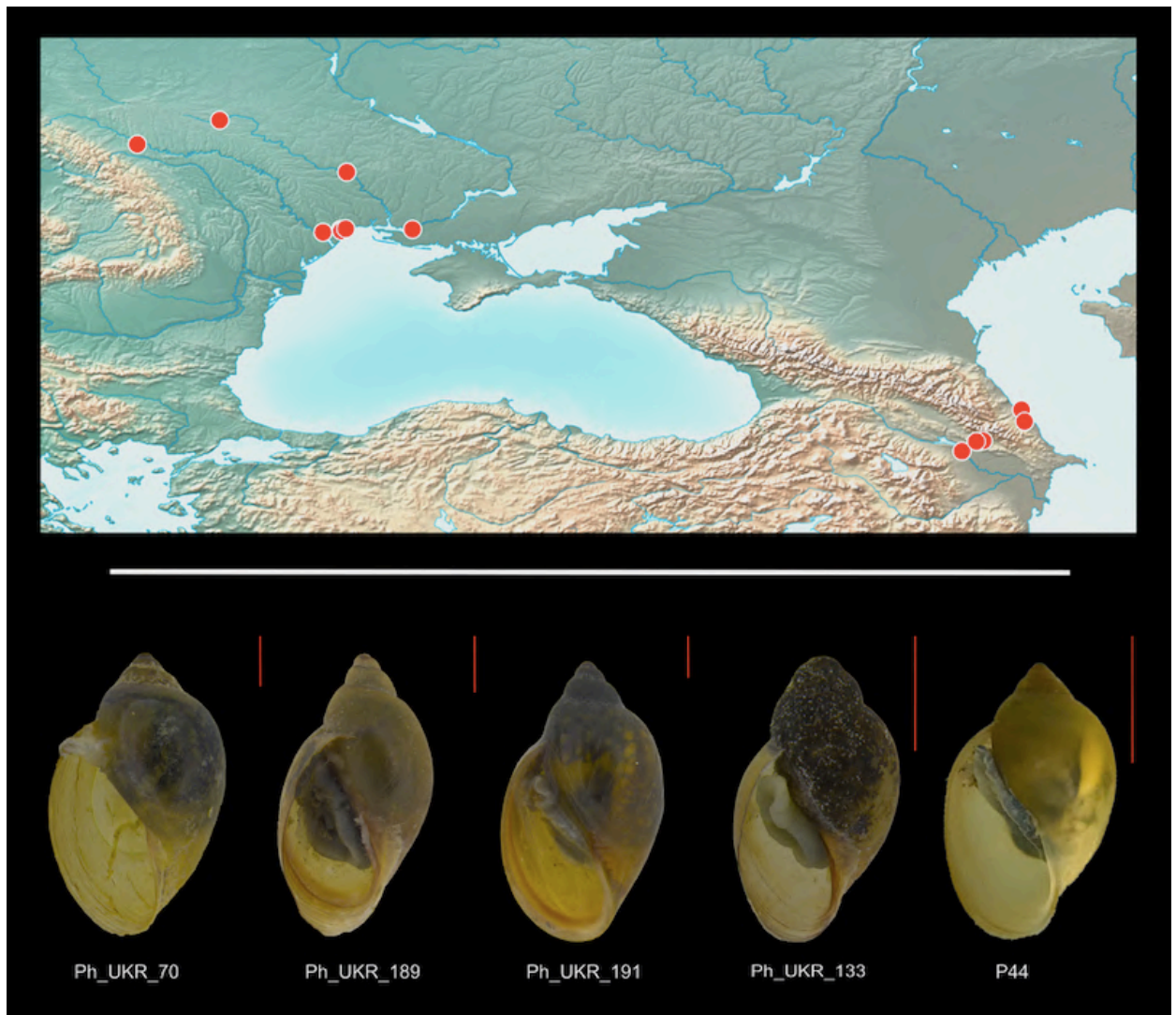


Рис. 3.11. Мапа знахідок зразків та загальний вигляд *Physella acuta* з різних місць (70 – с. Беляївка, 189 – с. Крива Балка (Одеса), 191 – с. Крижанівка (Одеса), 133 – Огуз, Азербайджан, P44 – м. Гола Пристань). Шкала – 1 см.

Родина Planorbidae Rafinesque, 1815

Рід *Ferrissia* B. Walker, 1903

13. *Ferrissia californica* (Rowell, 1863)

BIN: BOLD:AAE6642

Поширення. Нативний у Північній Америці, та інтродукований у Європу й Азію, де трапляється на Філіппінах, Тайвані та на Близькому Сході, та в Японії (Vecchioni et al., 2018). В Європі відомий з більшості країн (van der Velde & Roelofs 1977; Anderson, 2005). В Азово-Чорноморському басейні повідомляється з Туреччини (Yildirim et al., 2006), Росії (Кафанов & Старобогатов, 1971; Кантор & Сысоев, 2005). У 2003 році зареєстрований у ставку-охолоджувачі Чорнобильської АЕС, р. Прип'ять (Білорусь) (Semenchenko & Laenko, 2008), з 2007 року повідомляється зі ставка-охолоджувача Хмельницької АЕС (Силаева и др., 2010), а протягом 2002–2006 рр. – з північно-західного узбережжя Чорного моря, з нижньої частини річки Дністер (Сон, 2007). У 2013 та 2014 роках знайдений в Київському водосховищі у Дніпрі (Плигин, 2016). Є відомості про знахідки цього виду з Криму (Пузанов, 1925; Стадниченко, 1987). Наші опрацьовані матеріали походили з р. Дніпро в м. Первомайськ.

Оселище. Поширений в прісних водах на водних рослинах та солонуватих водоймах.

Субстрат. C2.32: *Metapotamal and hypopotamal streams*

Надряд Nudipleura Cuvier, 1817

Родина Corambidae Bergh, 1871

Рід *Corambe* Bergh, 1869

14. *Corambe obscura* (A. E. Verrill, 1870)

BIN: BOLD:AEK3306*

Поширення. Молюск північноатлантичного походження, який, імовірно прибув у Чорне море близько 1980 року завдяки судноплавству (Рогинская & Гринцов, 1997). Зареєстрований на узбережжі Румунії (Gomoiu

& Skolka, 1997), Болгарії (Синегуб, 1994). В Україні відомий з Криму, з гідротехнічних споруд Одеської затоки (Синегуб, 1994). Наш зразок походить з Сухого лиману (Рибпорту) (рис. 3.12).

Оселище. Траплявся в лиманній та морській воді на м'яких ґрунтах, в інфраліторалі. Вид переносить широкий діапазон температур і солоності.

Субстрат. J4.5: *Hard-surfaced areas of ports.*



Рис. 3.12. Три особини *Corambe obscura* в їх природному середовищі (Сухий Ліман).

Клас Bivalvia Linnaeus, 1758

Підклас Autobranchia Grobben, 1894

Ряд Venirida Gray, 1854

Родина Cyrenidae Gray, 1840

Рід *Corbicula* Megerle von Mühlfeld, 1811

15. *Corbicula leana* Prime, 1864

BIN: BOLD:AAC2296

Поширення. Нативний регіон знаходиться в Японії та Кореї (Kuroda, 1938; Lee & Kim, 1997; Komaru et al., 2013; Lee, 2019). У Європі

повідомляється як інвазивний з 70-х років (Mouthon, 1981; Aldridge & Müller, 2001; Gittenberger et al., 2004; Marescaux et al., 2010; Prié, 2017), у Північній Америці – з 1924 р. (McMahon, 1983) та в Південній Америці – з 1960-х або початку 1970-х (Ituarte, 1981). В Україні вперше зареєстрований в 2002 в р. Дунай (Сон, 2007; Волошкевич & Сон, 2002). Наш матеріал для молекулярного дослідження походить з дельти р. Дунай, Вилкове (P37).

Оселище. Прісноводні молюски, розповсюджені на різних субстратах: середовища з піском, гравієм, з мулом та глиною. Деякі зразки *C. leana*, які використані для морфологічних досліджень, походять з термально забрудненої води від роботи АЕС (Польські та Угорські вибірки), що говорить на користь толерантності виду до високих температур.

Субстрат. *Cl.21 : Benthic communities of mesotrophic waterbodies.*

Рід *Mytilopsis* Conrad, 1857

16. *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831)

BIN: BOLD:AAH4257

Поширення. Солонуватоводний вид двостулкових молюсків, що походить з північноамериканського узбережжя Атлантичного океану та північної частини Мексиканської затоки (Therriault et al., 2004). У нативних і інвазивних ареалах зустрічається в субтропічних і теплих помірних водах (Marelli & Gray, 1983; Van der Velde et al., 2010). Інвазивний ареал окреслений Південною Америкою (Lodeiros et al., 2019), Європою та частию Азією, зокрема Каспійським морем (Zhulidov et al., 2015). У Чорноморському регіоні вперше був зафіксований у 2001 р. з Дністровського лиману (Grigorovich et al., 2002). Потім, у 2009 р., знайдений в річці Південний Буг, Миколаїв (Heiler et al., 2010), далі в гирлі річки Туапсе (Росія) (Zhulidov et al., 2018). В басейні Азовського моря вперше виявлений у 2004 р. у Таганрозькій затоці, поблизу дельти річки Дон (Zhulidov et al., 2015). Наші знахідки походять з р. Південний Буг в м. Миколаєві.

Оселище. Вид живе на різних природних (каміння, пісок) та штучних (дерево, покришки, цегли) субстратах, де приростає до скупчень амфібаланусів. Стулки виду поширені в алювіальних і донних відкладеннях. Толерантний до низьких температур взимку – здатний закріплюватись у водах до 0 °C (Zhulidov et al., 2021).

Субстрат. C2.41: *Brackish water tidal rivers.*

Родина Myidae Lamarck, 1809

Рід *Mya* Linnaeus, 1758

17. *Mya arenaria* Linnaeus, 1758

BIN: BOLD:AAE6281

Поширення. Нативний на східному узбережжі Північної Америки (Strasser, 1999). Деякі автори також стверджують, що він також нативний в Японії (Bernard, 1979). Вважається інтродукованим на західному узбережжі Північної Америки, уздовж узбережжя Норвегії та більшої частини європейського узбережжя, як-от у Великобританії, Ірландії Португалії, у Балтійському морі, в Ісландії (Jensen, 2010). Існують знахідки із Середземномор'я. (Zenetos et al., 2003; Crocetta & Turolla, 2011). В Азово-Чорноморському басейні вперше знайдений в 1966 р. в околицях Одеси (Бешевли & Колягин, 1967; Gomoiu et al., 2002). Наш зразок походить з Березанського Лиману, біля с. Рибаківка.

Оселище. Бентосний вид з піщано-мульного субстрату.

Субстрат. X01: *Estuaries.*

Ряд Mytilida Férussac, 1822

Родина Mytilidae Rafinesque, 1815

Рід *Arcuatula* Jousseaume in Lamy, 1919

18. *Arcuatula senhousia* (Benson, 1842)

BIN: BOLD:AAB4686; BOLD:AAB4685

Поширення. Нативний ареал простягається від Сингапуру до Сибірі (Kulikova, 1978; Chuang, 1961). Інтродукований в прибережні райони Північної Америки, Океанії, та на узбережжя Європейського Атлантичного океану (Watson et al., 2021) в Західну Австралію (McDonald & Wells, 2010), Середземноморський регіон (Hoenselaar & Hoenselaar, 1989). Є знахідки виду у Мармуровому морі у 2012 році (Öztürk et al., 2017). Перша знахідка у Чорному морі зроблена в Румунії у 2002 році (Micu, 2004). Потім, у 2015 р., повідомляється з Керченської протоки (Kovalev et al., 2017), у Болгарії у 2017 р. (Chartosia et al., 2018). Наші зразки походять Сухого Лиману, з околиць Одеси, (рис. 3.13).

Оселище. Лиманний вид з мілководних заток та лиманів. Ми знаходили в основному серед морських трав, ниткоподібних водоростей (*Zostera* sp.), та в корінні очерету; однак, може перебувати і на піску, на мулі, гальці/гравії і на морському смітті. Живі екземпляри на гравійному субстраті прикріплюються ниткоподібними бісусами (рис. 3.14.А). У різних місцевостях щільність виду становила від 4 до 1000 екземплярів на квадратний метр (іноді переважали ювенільні особини). В Азово-Чорноморському басейні вид відмічений за солоності води від 14 до 16 ‰, встановлено, що *A. senhousia* уникає мілководдя зі значним опрісненням (Zhulidov et al., 2021). Загалом межі толерантності в літературі варіюють від 5 до 40 ‰ (Watson et al., 2021), однак експериментальні дані свідчать, що для виживання ембріонів потрібна вода солоністю від 15 до 35 ‰ (Liang et al., 2009).

Субстрат. J4.5: *Hard-surfaced areas of ports.*

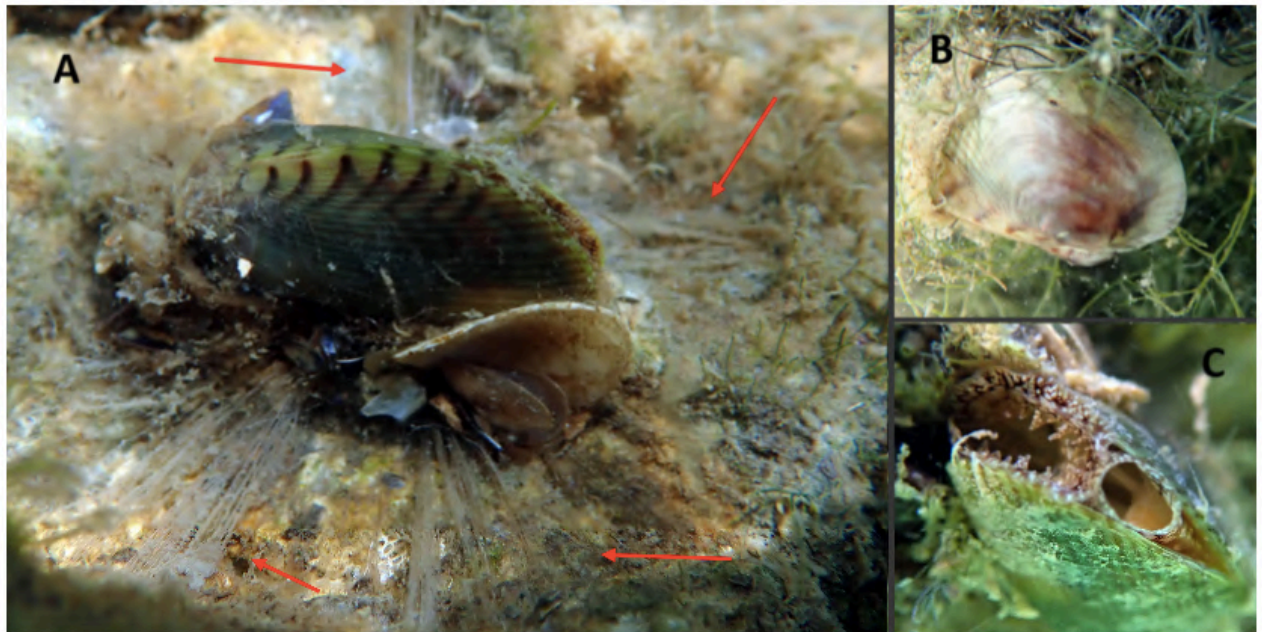


Рис. 3.13. *Arcuatula senhousia* в природному середовищі (Сухий Ліман): на ґравії (стрілки вказують на нитки бісусу) (А); в клубі нитчастих водоростей *Zostera* sp. (В); в процесі фільтрації (С). Модифіковано за Zhulidov et al. (2021).

Ряд Unionida Férussac, 1822

Родина Unionidae Rafinesque, 1820

Рід *Sinanodonta* Modell, 1945

19. *Sinanodonta woodiana* (I. Lea, 1834)

BIN: BOLD:AAD9061

Поширення. Моллюск походить із Китаю, звідки розповсюдився за межі свого природного ареалу за останні 50 років у Європу (перша знахідка у 1979 р.) (Konečný et al., 2018). Повідомляється також і у інших регіонах світу, зокрема з Індонезії (Bolotov et al., 2016), Домініканської Республіки, Коста-Ріки (Konečný et al., 2018), США (Bogan et al., 2011), Сибірі (Bespalaya et al., 2017), з Бірми (Vikhrev et al., 2017) та ін. В Азово-Чорноморському басейні розповсюджений як в дельті р. Дунай (Юришеч & Корнюшин, 2001; Ляшенко и др. 2005), так і вище за течією р. Дунай, зокрема біля Кілії, так і в Одеській області (Сон, 2006). Досліджена нами популяція походить з регіону перших знахідок беззубки в Україні – з дельти р. Дунай.

Оселище. Прісноводний бентосний вид, що заселяє м'які субстрати (пісок). Толерантний до води поганої якості (з органічним та неорганічним забрудненням).

Субстрат. C1.21: Benthic communities of mesotrophic waterbodies.

Окрім досліджених чужорідних видів Азово-Чорноморського басейну, ми додатково вивчили нуклеотидні послідовності 47-ми видів молюсків та ракоподібних з Понто-Каспійського регіону і поповнили ними базу даних Генетичного банку BOLD.

Були досліджені наступні ракоподібні: *Amathillina cristata*, *Asellus kosswigii*, *Astacus leptodactylus*, *Chaetogammarus warpachowskyi*, *Chelicorophium* sp., *Chelicorophium curvispinum*, *Chelicorophium sowinskyi*, *Deshayesorchestia deshayesii*, *Dikerogammarus bispinosus*, *Dikerogammarus haemobaphes*, *Dikerogammarus villosus*, *Echinogammarus foxi*, *Echinogammarus ischnus*, *Echinogammarus trichiatus*, *Gammarus aequicauda*, *Gammarus balcanicus*, *Gammarus birsteini*, *Gammarus komareki*, *Gammarus lacustris*, *Gammarus leopoliensis*, *Gammarus pulex*, *Gammarus fossarum*, *Gammarus kischineffensis*, *Gammarus* sp., *Gammarus varsoviensis*, *Jaera sarsi*, *Limnomysis benedeni*, *Niphargus* sp., *Niphargus thienemanni*, *Obesogammarus crassus*, *Obesogammarus obesus*, *Orchestia montagui*, *Paralicella caperesca*, *Pontogammarus borceae*, *Pontogammarus maeoticus*; *Pontogammarus robustoides*, *Pontogammarus obesus*, *Talorchestia* sp.

Досліджені молюски належать до таких видів: *Acroloxus lacustris*, *Dreissena polymorpha*, *Dreissena rostriformis bugensis*, *Mytilus galloprovincialis*, *Physa fontinalis*, *Stagnicola corvus*, *Theodoxus danasteri* та *Theodoxus fluviatilis* (Morhun et al., 20186).

Оскільки ці понто-каспійські види є чужорідними тваринами в інших регіонах світу, їх молекулярні дані сприяють виявленню генетичної структури виду та дослідженню біорізноманіття світу загалом (Herbert et al., 2003). Отримано 84 BIN, з яких 45 унікальні (додаток I).

Нижче наведено результати морфологічних та філогенетичних досліджень вибраних модельних видів, для яких ми реконструювали філогенез з метою виявлення їхньої генетичної структури в регіоні інвазії для

порівняння з нативном регіоном, та тих, на яких ми проводили багатовимірні морфометричні аналізи.

3.2 Морфологія та філогенетика вибраних виді.

3.2.1 *Helobdella europaea*

1. Морфологія. Максимальна довжина досліджених п'явок досягала 13,1 мм при ширині 1,5 мм, а мінімальна довжина – 4,8 мм при ширині 2,9 мм. Особини мали мінливий характер забарвлення за ознакою, що відрізняє *H. europaea* від *H. triserialis* (Utevsky & Mazepa, 2005): у двох особин не було прогалин на темних поздовжніх смугах на передньому кінці тіла, у однієї особини були прогалини, а інша мала рудиментарні прогалини. Типовий пігментний візерунок був розмитим на спині одного зі зразків (рис. 3.14), однак загальний характер забарвлення тіла збігається з притаманним для *H. europaea* (див. Siddall & Budinoff, 2005).

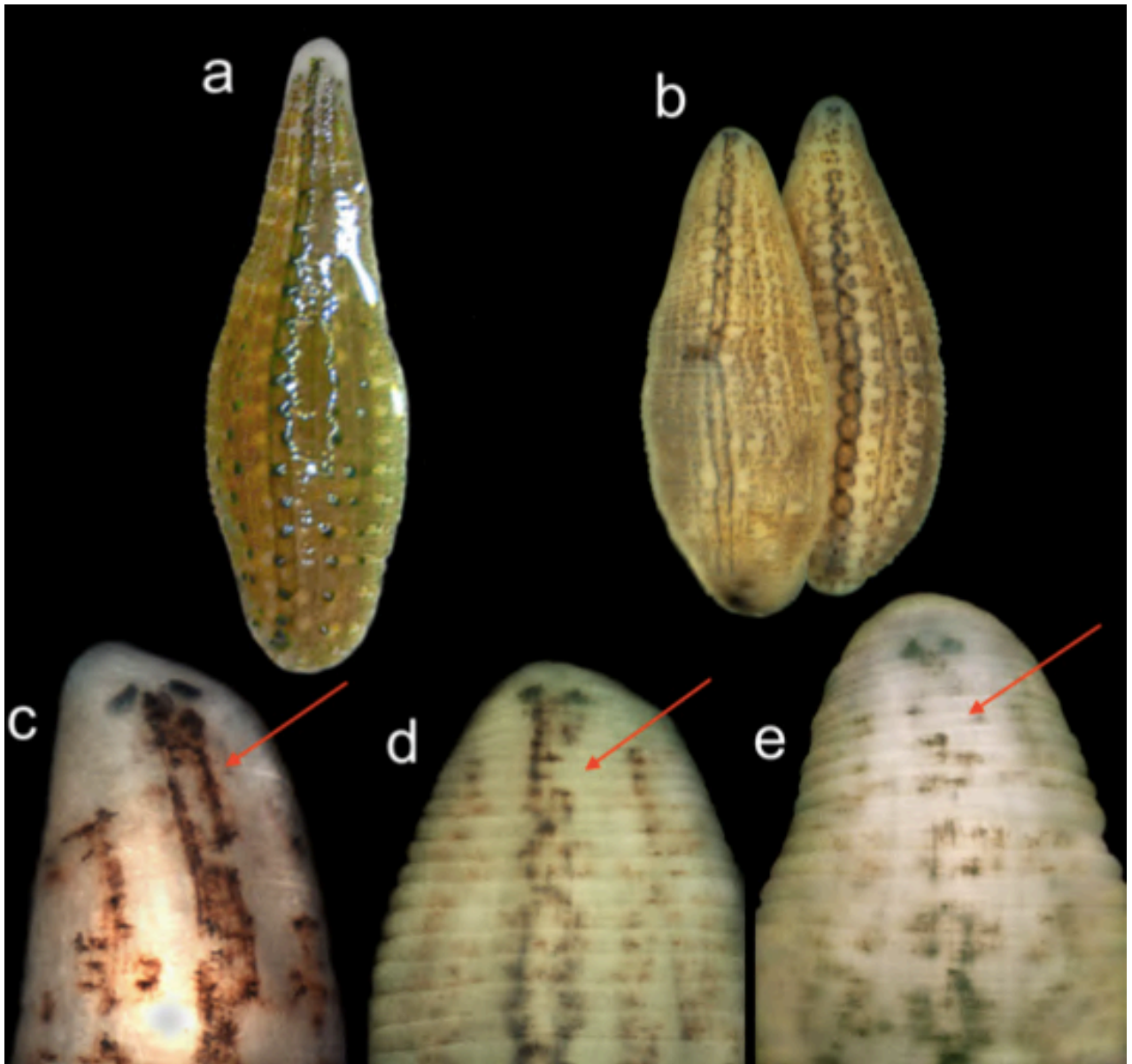


Рис. 3.14. Мінливість забарвлення у *Helobdella europaea*: а та б – загальний вигляд зразків; с, d та е – передня частина тіла трьох особин з різним ступенем вираження непігментованих прогалин (с – прогалин немає; d – рудиментарні проміжки; е – проміжки присутні) (за Morhun et al., 2021б).

Після годування досліджували травну систему п'явок (рис. 3.15). Виявлено п'ять пар нерозгалужених і гладких камер шлунку (crop caeca), що є відмінною ознакою *H. europaea* від *H. triserialis* (Kutschera, 1987).

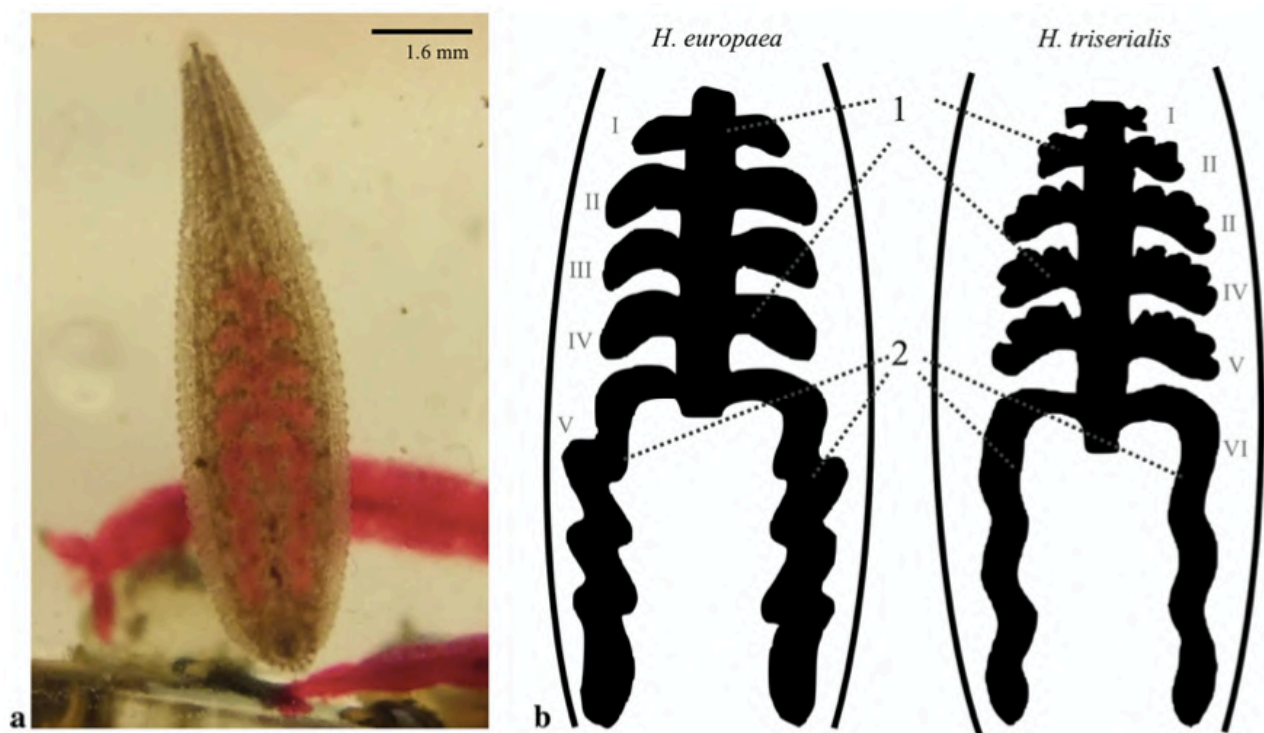


Рис. 3.15 Травна система *Helobdella europaea* після живлення: а, Харківський зразок з заповненим шлунком; б, перемальовані схеми Kutschera (1987) травних систем *H. europaea* та *H. triserialis* (1, відростки шлунку; 2, постеріорні відростки шлунку) (за Morhun et al., 2021б).

2. Баркодинг та філогенія. Отримане дерево, побудоване за методом максимальної правдоподібності (рис. 3.16) вказує, що п'явки приєдналися до клади з іншими зразками *H. europaea*, які походять із різних частин світу, а саме Іспанії, Німеччини, Угорщини, ПАР, Тайваню, Австралії, Нової Зеландії та США (Каліфорнія, Міссісіпі) (рис. 3.16). Статистична підтримка цієї монофілетичної групи дуже висока (96,6 / 100).

Генетична мінливість клади *H. europaea* є низькою ($0,002 \pm 0,001$) (табл. 4), а середня відстань між зразком з Харкова та рештою послідовностей з цієї клади ($0,003 \pm 0,002$) не виходить за межі цієї мінливості (табл. 5).

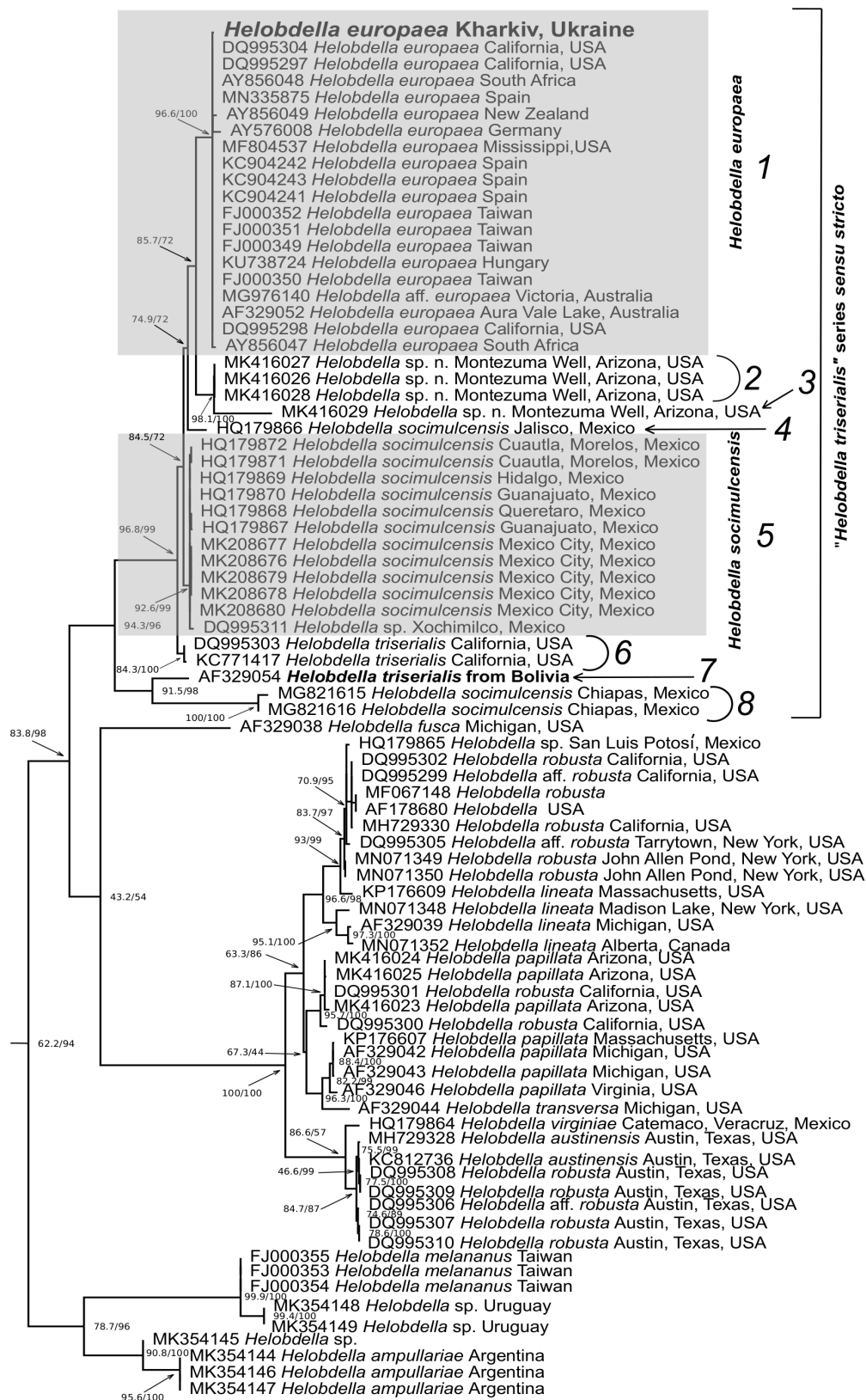


Рис. 3.16 Філогенетичне дерево серії "*Helobdella triserialis*" отримане за критерієм максимальної правдоподібності на основі *cox1*. Значення SH-aLRT тесту і бутстрепа показані для основних клад. Підклади серії «*Helobdella triserialis*» *sensu stricto* пронумеровані цифрами, використаними для розрахунку еволюційної мінливості (див. Таблиці 2 та 3) (за Morhun et al., 20216).

Таблиця 4. Розрахунок еволюційної мінливості всередині груп (середня р-відстань) серії “*Helobdella triserialis*” sensu stricto. Стандартну похибку, отриману методом бутстрепа (1000 повторів), виділено курсивом.

		<i>d</i>	S.E.
<i>Харків</i>		n/c	n/c
Клада	1	0.002	<i>±0.001</i>
	2	0.000	<i>±0.001</i>
	3	n/c	n/c
	4	n/c	n/c
	5	0.003	<i>±0.001</i>
	6	0.005	<i>±0.003</i>
	7	n/c	n/c
	8	0.012	<i>±0.005</i>

Встановлено, що *Helobdella europaеа* належить до монофілетичної групи морфологічно подібних та філогенетично близьких видів, які позначені як серія “*Helobdella triserialis*” sensu stricto (рис. 3.16). Генетична відстань харківського зразка у понад 10 разів перевищує відстань до всіх підклад цієї групи порівняно з відстанню до клади *H. europaеа* (табл. 5). Це підтверджує віднесення харківських п'явок до виду *H. europaеа*. Підклади серії “*Helobdella triserialis*” sensu stricto є генетично однорідними та досить сильно відрізняються одна від одної за генетичними відстанями (табл. 4 та 5), що підтверджує їх приналежність до різних видів. Наш філогенетичний аналіз підтвердив монофілію серії «*Helobdella triserialis*» (див. Осегуера-Фігуероа et al., 2010).

Таблиця 5. Розрахунок еволюційної мінливості між групами (середня нескорегована відстань) серії “*Helobdella triserialis*” sensu stricto. Стандартну похибку, отриману методом бутстрепа (1000 повторів), виділено курсивом.

		<i>Харків</i>	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Харків</i>			<i>±0.002</i>	<i>±0.009</i>	<i>±0.012</i>	<i>±0.009</i>	<i>±0.009</i>	<i>±0.010</i>	<i>±0.015</i>	<i>±0.015</i>
Клада	1	0.003		<i>±0.009</i>	<i>±0.012</i>	<i>±0.009</i>	<i>±0.009</i>	<i>±0.010</i>	<i>±0.015</i>	<i>±0.015</i>
	2	0.041	0.039		<i>±0.010</i>	<i>±0.010</i>	<i>±0.009</i>	<i>±0.010</i>	<i>±0.015</i>	<i>±0.015</i>
	3	0.069	0.068	0.045		<i>±0.011</i>	<i>±0.012</i>	<i>±0.012</i>	<i>±0.016</i>	<i>±0.016</i>

4	0.038	0.037	0.045	0.062		± 0.008	± 0.009	± 0.014	± 0.014
5	0.040	0.039	0.042	0.071	0.031		± 0.007	± 0.014	± 0.015
6	0.050	0.049	0.050	0.077	0.043	0.026		± 0.015	± 0.015
7	0.108	0.106	0.115	0.120	0.103	0.104	0.108		± 0.013
8	0.117	0.116	0.124	0.134	0.116	0.124	0.120	0.090	

3.2.2 *Procambarus virginalis* та *Macrobrachium nipponense*

1. Морфологія. *Procambarus virginalis* як з Дніпра, так і з Харкова має мармурове забарвлення та дрібні клішні (рис. 3.17). Це є специфічними ознаками, що відрізняють цей вид від решти інвазивних Cambaridae Європи. Оскільки *P. virginalis* належить до родини Cambaridae, його також можна надійно відрізнити за відсутністю реберця (гребня) на рострі, тим часом як усі місцеві раки (Astacidae) мають середнє реберце (гребінь) на рострі (рис. 3.17-d).

Macrobrachium nipponense (рис. 3.17-e–g) можна відрізнити від спорідненої *M. rosenbergii* (De Man, 1879) за відносно прямим ростром. Останній вид має вузький дугоподібний ростр, де верхівка чітко зігнута вгору. *Macrobrachium nipponense* відрізняється від споріднених місцевих палемонідних креветок подвійним рядом щетинок уздовж нижнього краю ростру та понад десятьма дорсальними зубцями на рострі. Усі місцеві види мають лише один ряд щетинок по нижньому краю і не більше дев'яти дорсальних зубців на рострі (González-Ortegón & Cuesta, 2006). Ще однією відмінною рисою є довгі другі перейоподи, які мають кігті і чисельні щетинки та перевищують довжину решти тіла у великих дорослих особин. Досліджені зразки мали всі ознаки виду *M. nipponense* (рис. 3.17-e,g,f).

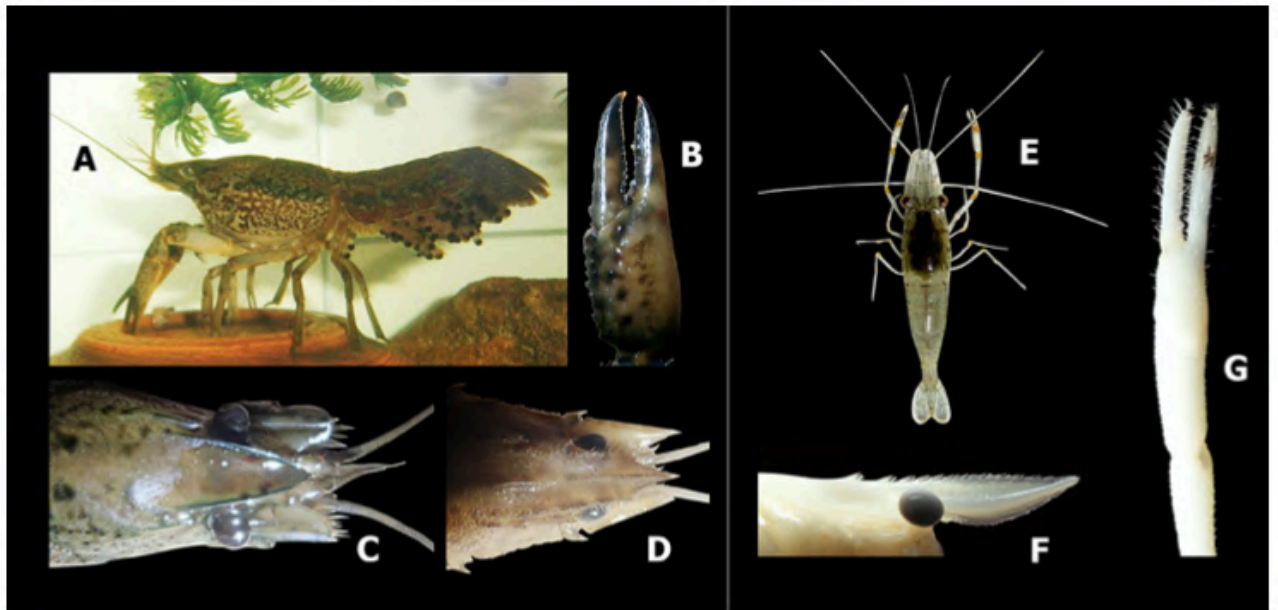


Рис. 3.17 Ознаки для визначення інвазивних декапод. *Procambarus virginalis*: загальний вигляд (А); клешня (В); рострум без гребня посередині (С); рострум Astacidae (*Astacus leptodactylus*) з гребнем (D). *Macrobrachium nipponense*: загальний вигляд (Е); рострум (F); перейопода (G). Модифіковано за Son et al. (2020б).

2. Філогенія. Послідовності *Procambarus virginalis* з Дніпропетровської та з Харківської областей абсолютно ідентичні одна одній по всім 614 п.н. і відповідають раніше опублікованим в GenBank з Німеччини, Японії, Італії та Швеції (LC228303, KJ690261, KT074364, KF033123, NM35810, NM358011, JF438007) (Martin et al., 2010a, b; Filipová et al., 2011; Bohman et al., 2013; Vojkovska et al., 2014; Usio et al., 2017) (розраховані гаплотипи показані в додатку 9). Послідовності українських зразків ідентичні голотипу виду *P. virginalis* (номер: KT074364), який був описаний з Німеччини (Vogt et al., 2015; Lyko, 2017). Філогенетичні взаємозв'язки показані на дереві на рисунку 3.18.

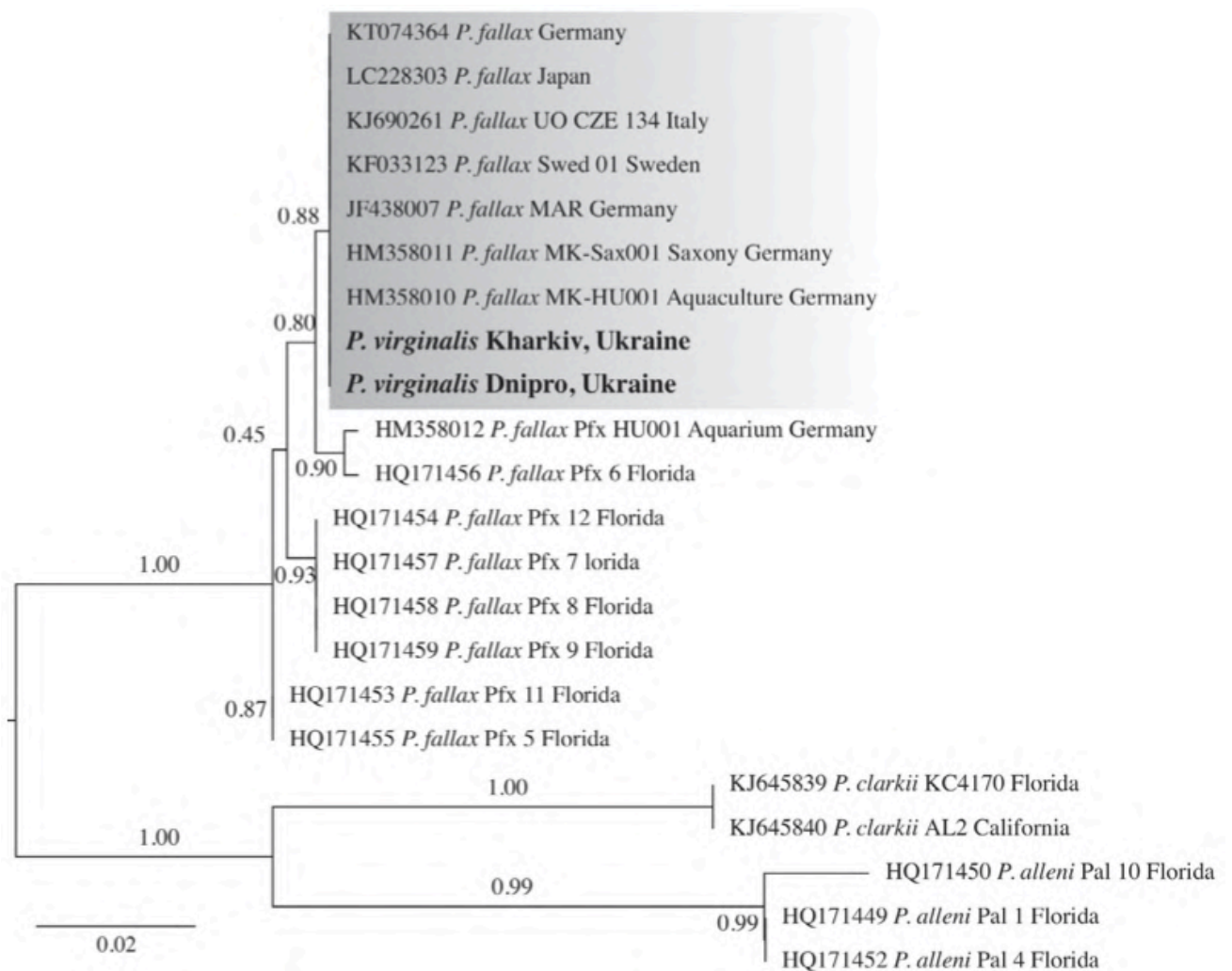


Рис. 3.18 Філогенетичне дерево *Procambarus virginalis*. Модифіковано за Son et al. (2020б).

В таблиці 6 представлена оцінки дивергенції між та всередині груп на основі генетичної відстані.

Таблиця 6. Розрахунок еволюційної мінливості всередині груп (середня нескорегована відстань) та між групами набору даних *P. virginalis*. Стандартну похибку, отриману методом бутстрефу (1000 повторів), виділено курсивом.

		Між групами				Всередині груп	
		[1]	[2]	[3]	[4]	p-dist	S.E.
<i>P. virginalis</i>	[1]		± 0.002	± 0.019	± 0.019	0.000	± 0.000
<i>P. fallax</i>	[2]	0.040		± 0.018	± 0.018	0.003	± 0.002
<i>P. allenii</i>	[3]	0.040	0.040		± 0.018	0.004	± 0.003
<i>P. clarkii</i>	[4]	0.040	0.039	0.037		0.000	± 0.000

Таблиця 7. Розрахунок еволюційної мінливості всередині груп (середня нескорегована відстань) та між групами набору даних для визначення філогенетичних зв'язків *M. nipponense*. Стандартну похибку, отриману методом бутстрепу (1000 повторів), виділено *курсивом*.

		<i>Між групами</i>					<i>Всередині груп</i>	
		[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	p-dist	S.E.
<i>M. nipponense</i>	[1]		± 0.011	± 0.021	± 0.021	± 0.020	0.01	± 0.001
<i>Macrobrachium</i> sp.	[2]	0.051		± 0.021	± 0.021	± 0.020	0.00	± 0.001
<i>M. japonica</i>	[3]	0.191	0.201		± 0.020	± 0.021	0.00	± 0.001
<i>P. stimpsoni</i>	[4]	0.231	0.230	0.251		± 0.021	n/a	n/a
<i>L. vannamei</i>	[5]	0.220	0.221	0.261	0.230		n/a	n/a

3.2.3 *Arcuatula senhousia*

1. Морфологія. За ознаками зразки молюсків віднесли до виду *Arcuatula senhousia* згідно з описом (Crooks, 1996). Розміри особин варіювали до 30 мм.

Arcuatula senhousia виявилась мінливою за, по-перше, тоном стулки (колір варіював від жовтого до чорного, з оливковими відтінками), по-друге, за малюнком (мав дуго-, чи хвиле-, чи зигзагоподібний патерн, рідко – комбінований) та, по-третє, за інтенсивністю вираженості променеподібних радіальних ділянок (рис. 3.20).

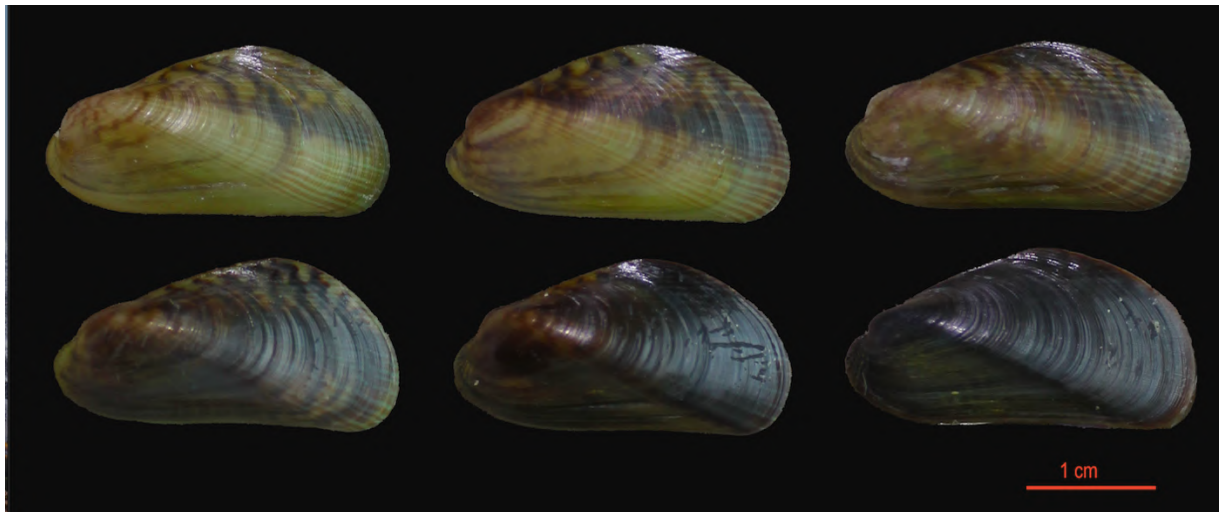


Рис. 3.20 Мінливість забарвлення *Arcuatula senhousia* з Сухого Ліману.

2. Філогенія. Послідовності *A. senhousia* з Сухого лиману (Одеса) різних гаплотипів (номери GenBank: MT878230, OL504962). Аналіз BLAST виявив 99 і 100% покриття нуклеотидів та 97 і 98% ідентичності нуклеотидів із повними мітохондріальними геномами *A. senhousia* (номери доступу: GU001953-54, Passamonti et al., 2011). Подальший філогенетичний аналіз показав, що дві послідовності *A. senhousia* суттєво відрізняються одна від одної і належать до різних клад побудованого нами дерева (рис. 3.21). На дереві ми також позначили дві екологічні клади, які виділяли у своєму дослідженні американські дослідники (Asif & Krug, 2012), чиї послідовності ми використали для реконструкції філогенезу.

(HQ891033-93, Asif & Krug, 2012) та теж з Венеціанської лагуни (AY570032-41, Passamonti, 2007). Генетична відстань між цими двома послідовностями з однієї місцевості становить 19,8% (табл. 8).

Таблиця 8. Розрахунок генетичних відстаней між групами (середня нескорегована відстань) набору даних для визначення філогенетичних зв'язків *A. senhousia*. Стандартну похибку, отриману методом бутстрепа (1000 повторів), виділено курсивом.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Зразок 1	1	<i>0.016</i>	<i>0.006</i>	<i>0.016</i>	<i>0.018</i>	<i>0.018</i>	<i>0.022</i>	<i>0.018</i>	<i>0.018</i>	<i>0.023</i>	<i>0.019</i>
Зразок 2	2	0.194	<i>0.017</i>	<i>0.003</i>	<i>0.017</i>	<i>0.017</i>	<i>0.021</i>	<i>0.017</i>	<i>0.018</i>	<i>0.023</i>	<i>0.019</i>
<i>A. senhousia</i> (1)	3	0.025	0.197	<i>0.016</i>	<i>0.018</i>	<i>0.018</i>	<i>0.022</i>	<i>0.019</i>	<i>0.018</i>	<i>0.023</i>	<i>0.019</i>
<i>A. senhousia</i> (2)	4	0.198	0.025	0.203	<i>0.017</i>	<i>0.017</i>	<i>0.021</i>	<i>0.018</i>	<i>0.018</i>	<i>0.022</i>	<i>0.019</i>
<i>Musculista</i> sp.	5	0.271	0.254	0.266	0.258	<i>0.016</i>	<i>0.022</i>	<i>0.017</i>	<i>0.017</i>	<i>0.021</i>	<i>0.018</i>
<i>A. papyria</i>	6	0.272	0.238	0.273	0.242	0.262	<i>0.017</i>	<i>0.016</i>	<i>0.017</i>	<i>0.022</i>	<i>0.019</i>
<i>P. perna</i>	7	0.254	0.257	0.261	0.257	0.272	0.171	<i>0.019</i>	<i>0.022</i>	<i>0.024</i>	<i>0.024</i>
<i>P. viridis</i>	8	0.270	0.262	0.269	0.276	0.251	0.198	0.188	<i>0.017</i>	<i>0.022</i>	<i>0.019</i>
<i>M. edulis</i>	9	0.309	0.308	0.310	0.312	0.323	0.314	0.319	0.316	<i>0.011</i>	<i>0.018</i>
<i>M. galloprovincialis</i>	10	0.304	0.311	0.308	0.310	0.297	0.296	0.321	0.294	0.097	<i>0.023</i>
<i>G. adriatica</i>	11	0.380	0.383	0.370	0.391	0.392	0.361	0.397	0.379	0.403	0.384

Різноманітність нуклеотидів всередині клад становить 1% та 3% для першої та другої клади відповідно (табл. 9).

Таблиця 9. Розрахунок нуклеотидного різноманіття всередині груп (середня нескорегована відстань) набору даних для визначення філогенетичних зв'язків *A. senhousia*. Стандартну похибку, отриману методом бутстрепа (1000 повторів), виділено курсивом.

	<i>d</i>	S.E.
Зразок 1	n/c	<i>n/c</i>
Зразок 2	n/c	<i>n/c</i>
<i>A. senhousia</i> (1)	0.006	<i>0.002</i>
<i>A. senhousia</i> (2)	0.035	<i>0.003</i>
<i>Musculista</i> sp.	0.055	<i>0.006</i>
<i>A. papyria</i>	0.009	<i>0.002</i>
<i>P. perna</i>	0.016	<i>0.003</i>
<i>P. viridis</i>	0.005	<i>0.002</i>
<i>M. edulis</i>	0.074	<i>0.007</i>
<i>M. galloprovincialis</i>	0.010	<i>0.002</i>
<i>G. adriatica</i>	0.000	<i>0.000</i>

3.2.4 *Corbicula* spp.

1. Молекулярне опрацювання. BLAST виявив 100% ідентичність нашого зразка *Corbicula* (OL441147; морфотип, відомий як «R») з послідовностями з р. Юрас, Архангельськ (Росія) (KX192336; морфотип «Rlc»), з Північної та Південної Америки (AF519495-07; морфотип «Form A»), з р. Рейн, Нідерланди, рр. Луари, Гарони та Мозель, з Франція (AF269091-93), р. Пакш, з Угорщини (GQ401361-62), та з р. Маус (AF269090) (морфотип «S») (Bespalaya et al., 2018; Siripattrawan et al., 2000; Lee et al., 2005; Renard et al., 2000; Bódis et al., 2011; Pigneur et al., 2011a).

Як бачимо, морфологія наших молюсків та тих, що представлені у літературі не завжди збігається (морфотипи наведені у дужках). Це зумовлено явищем яйцевого паразитизму притаманному андрогенетичним корбікулам в регіонах інвазії (Pigneur et al., 2011a, 2011b, 2012, 2014).

2. Морфологія. Візуальний аналіз виявив наступні морфологічні ознаки зразків.

Лише одна проба з басейну Рейну (NL2) має поєднання частих, близько розташованих ребер (тип I) та витягнуту маківку (рис. 2-А, таблиця S5). В пробі її положення варіювало: 24% стулок мали задньо-спрямоване, а у решти – центральне. Характеристики стулок відповідали лектотипу *C. fluminalis* та ідентифіковані до цього таксону.

Стулки з вибірок UA2, UA3, HU2, PL2, PL3, NL1, IE1, MM1, DE1, BR1 мали крупні, широко і рідко розташовані ребра (тип II) (рис. 3.22-F, додаток М). Задній край і положення маківки варіювали, що відповідає нещодавньому переописанню виду *C. leana* (Bespalaya et al., 2020). Бразильська вибірка (BR1) має сплюснуту маківку та кутовий постеріорний край стулки з найменшим дорсо-вентральним видовженням і саме це відрізняє вибірку від *C. leana* з Кореї та з Японії (нативного регіону *C. leana*) (рис. 3.22-E, додаток М).

Третя група зразків характеризувалася крупними та нерегулярно розташованими ребрами з помірною (в UA1) або сильно витягнутою маківкою (HU1, PL1) (рис. 3.23-С, додаток М), яка у більшості була або розміщена в центрі, або зміщена позаду (у 29% зразків PL1, та 25% UA1). Ці дорсо-вентрально видовжені стулки виявили схожість з *C. fluminalis*. Однак, на відміну від *C. fluminalis*, вони мають крупні та рідко ребра, що головним чином характерно для *C. leana*; однак від останнього вони також відрізняються – мають частіше розташування ребер.

Corbicula fluminea з натиного ареалу (CN1) мають ребра типу II, центрально розміщену маківку, та, як правило, круглу стулку (рис. 3.22-В, додаток М). Деякі стулки CN1 мали овальну форму, тим самим демонстрували мінливості за цією ознакою.

Підсумки візуального аналізу вибірок за морфологічними ознаками наведено у додатку Л.

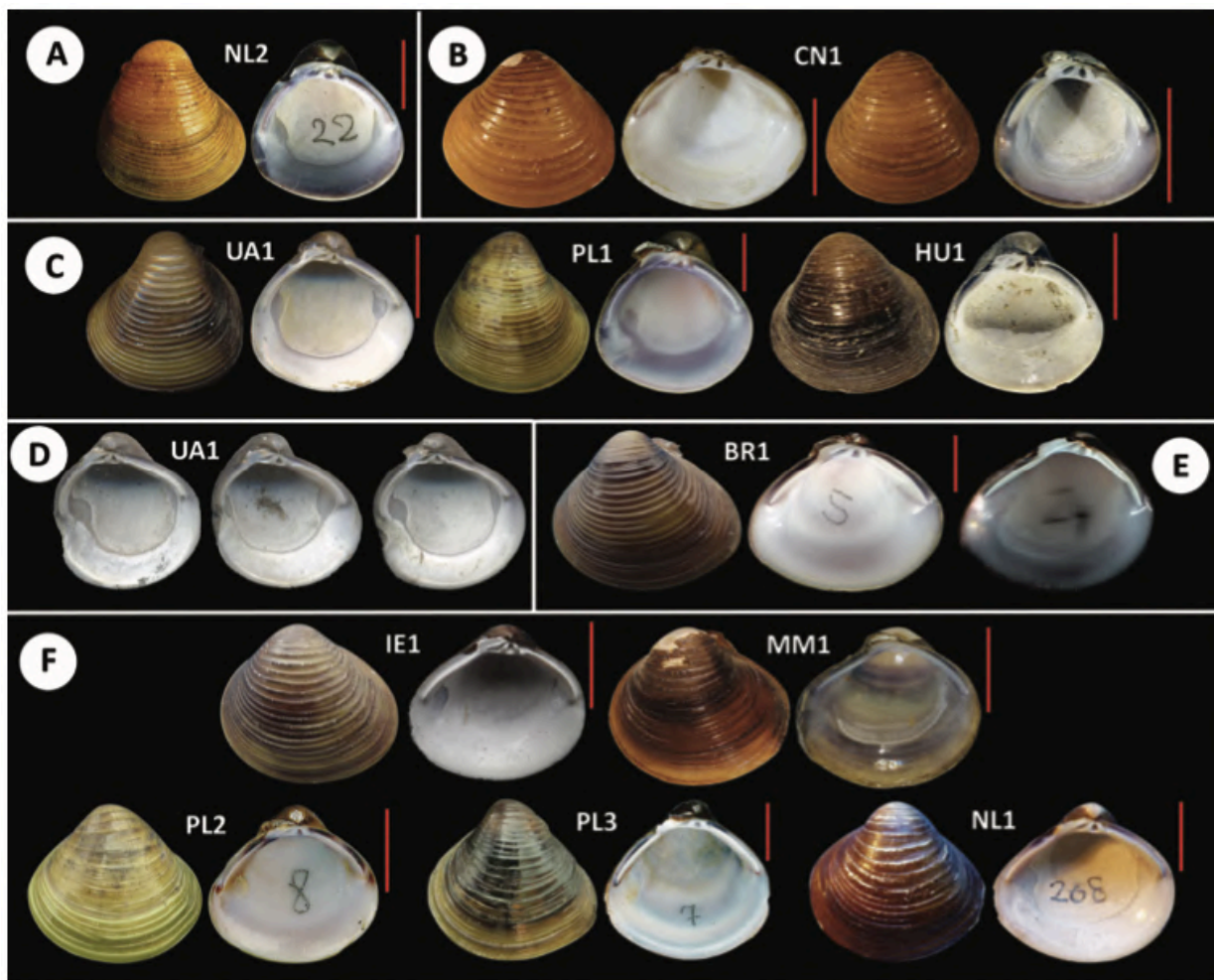


Рис. 3.22. Морфологічна різноманітність досліджуваних молюсків *Corbicula* (деталі скорочення зразків наведені в таблиці 2.2). А – *Corbicula fluminalis*; В – *Corbicula fluminea*; С – *Corbicula* sp.; D – морфологічні відхилення, що спостерігаються в мушлях *Corbicula* sp.; Е – *C. cf. leana*; F – *Corbicula leana*; G – аллометрична мінливість в *C. leana* під час росту. Шкала: 1 см.

Багатовимірний статистичний аналіз *Corbicula*. За результатами традиційного морфометричного аналізу (в основі якого покладений Індекс Округлості – IR), середні значення IR утворили континуум від видовжених бразильських стулок (BR1, середнє IR = 0,84) до округлих стулок з Нідерландів (NL2, IR = 1,04) (табл. 10, додаток Н). Однофакторний аналіз ANOVA виявив значущу різницю ($F = 198,004$, $p < 0,001$) у мінливості округлості стулок серед вибірок.

Подальше попарне порівняння вибірок показало, що корбікули з Бразилії чітко відрізняються від решти ($p < 0,001$, табл. 10); ця вибірка віднесена нами до морфорвиду *Corbicula cf. leana*.

Корбікули з України (UA2) не мають значущих відмінностей від ірландських (IE1), польських (PL2) і нідерландських (NL1) (табл. 10, $p >$

0,001). Також не виявлено різниці між вибірками NL1 та PL2, водночас вибірка з Ірландії (IE1) – значущо відрізняється від NL1 та PL2 ($p < 0,001$) (табл. 10). (Незважаючи на цю певну ступінь відмінності ірландських корбікул, ми відносимо їх до морфовиду *C. leana* зважаючи на якісні характеристики.)

Вибірки UA1 (Ізмаїл, Україна) та PL1 (Польща) не відрізняються і мають майже однакові середні значення IR (0,978 та 0,977 відповідно) (табл. 10); ми позначили їх як *Corbicula* sp.

Вибірка NL2 значуще відрізняється від решти вибірок ($p < 0,001$). Вона має найбільш округлі стулки, що відображено у найвищому середньому значенні IR серед усіх вибірок. Цю вибірку віднесено до морфовиду *C. fluminalis*.

Таблиця 10. Попарне порівняння зразків на основі співвідношення середніх значень висоти та довжини стулки (IR) (p -значення тесту Tukey's Honest Significant Difference).

ID (IR середнє)	BR1	UA2	UA1	UE1	PL1	PL2	NL2	NL1
BR1 (0.837)								
UA2 (0.905)	<.0001							
UA1 (0.978)	<.0001	<.0001						
IE1 (0.893)	<.0001	0.755	<.0001					
PL1 (0.977)	<.0001	<.0001	1.000	<.0001				
PL2 (0.935)	<.0001	0.001	<.0001	<.0001		<.0001		
NL2 (1.043)	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	
NL1 (0.917)	<.0001	0.709	<.0001	<.0001		<.0001	0.081	<.0001

Примітка: жирним позначені не достовірно значущі різниці ($p < 0,001$).

За результатами застосування методу геометричної морфометрії, Прокрустова ANOVA вказує на значущу відмінність морфовидів за формою стулок ($F = 106,11$, $p < 0,001$) (додаток О). Міжгруповий метод головних компонент (bgPCA) геометричних даних виявив три основні компоненти, де на bgPC1 припадає 67,9% варіації, на bgPC2 – 22,7%, та на bgPC3 – 9,4% (рис. 3.23-A).

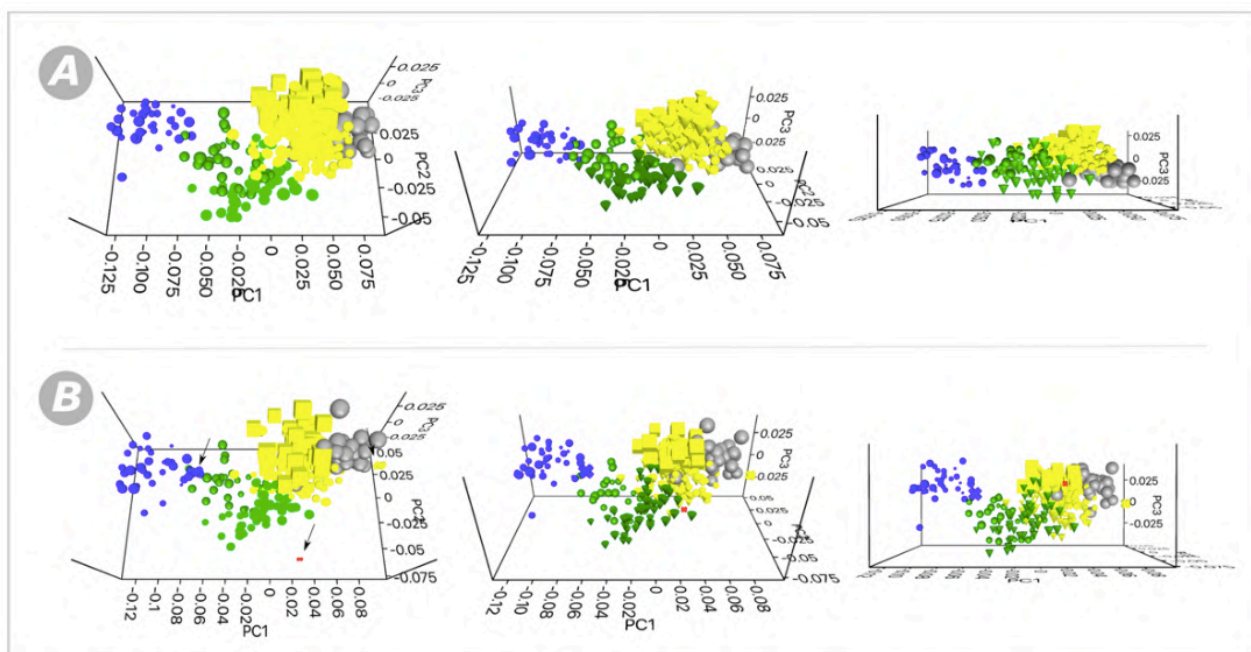


Рис. 3.23. Міжгруповий аналіз методу головних компонент (PCA). А – графік значень bgPCA – PC1 (67,9%), PC2 (22,7%) та PC3 (9,4%). В - графік значень bgPCA з доданими типовими матеріалами видів (показано квадратами, вказані стрілками). Чорний – морфотип *Corbicula* cf. *leana*, жовтий – *C. leana*, зелений – *Corbicula* sp, синій – *C. fluminalis*, червоний – *C. fluminea*.

BgPC1 пов'язана з округлістю форми стулки (рис. 3.24). Це підтверджується значущою негативною кореляцією між показниками bgPC1 та значеннями IR ($r = -0,91$, $p < 0,001$). При негативних значеннях bgPC1, LM3 (верхній край постеріального бічного зуба) має заднє положення (рис. 3.25), що призводить до більш округлого вигляду, тоді як при позитивних значеннях bgPC1 – LM3 лежить на тій самій лінії, що і перший кардинальний зуб (LM4), та має більш широку форму замка. Усі морфовиди розгалужені вздовж bgPC1, тим самим демонструють міжвидові варіації за ознакою округлості замка (рис. 3.24-A). BgPC2 відображає варіацію замка стулки від майже симетричної форми (позитивні значення) до асиметричної (негативні), що спричинено різною відстанню між зубцями привідного м'яза (LM1, 11) і нижнім краєм бічного зуба (LM2, 10) (рис. 3.24). Також, спостерігаємо зміщене положення верхнього краю переднього бічного зуба (LM9). Морфовид, позначений як *Corbicula* sp. був найбільш розподілений вздовж bgPC2, демонструючи найвищий ступінь асиметрії оболонки (рис. 3.23-A). BgPC3 пов'язаний з ротацією 2-го кардинального зуба (LM6) відносно бічних

зубів (рис. 3.24). Негативні значення bgPC3 відповідають стулкам з «трикутною» формою кардинального зуба, тоді як позитивні значення bgPC3 корелюють із розташуванням LM6 ближче до заднього бічного зуба, що призводить до асиметричного розташування кардинальних зубів. Морфовид *Corbicula* cf. *leana* з Бразилії перекриваються своїми значеннями з сусіднім *C. leana* найменше саме за bgPC3 на відміну від перекриттів по bgPC1 та bgPC2 (рис. 3.23-A).

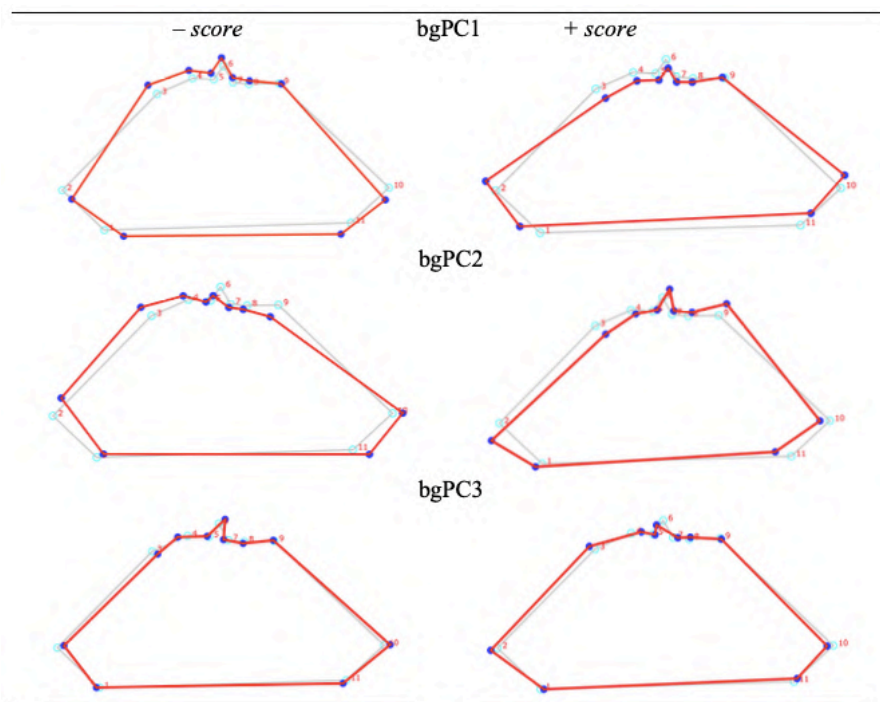


Рис. 3.24 Трансформаційна варіація форми уздовж осей bgPC відносно консенсусної конфігурації (сірим кольором).

Пермутаційний тест різниці середніх форм морфовидів були значущими для всіх парних порівнянь (табл. 11). Прокрустова відстань, що розділяє морфовиди *Corbicula* cf. *leana* з Бразилії та *C. fluminalis* була найбільшою (0,158), тоді як найменша відстань (0,045) була виявлена між *Corbicula* cf. *leana* та *C. leana*, що відповідає їхній близькій позиції та частковому перекриттю показників в аналізі bgPCA.

Значення прокрустової відстані між вибірками наведені в додатку П.

Таблиця 11. Прокрустова відстань (Procrustes distances) між морфовидами. Р-значення курсивом.

	<i>C. cf. leana</i>	<i>C. leana</i>	<i>Corbicula</i> sp.	<i>C. fluminalis</i>
<i>C. cf. leana</i>		<.0001	<.0001	<.0001
<i>C. leana</i>	0.045		<.0001	<.0001
<i>Corbicula</i> sp.	0.092	0.055		<.0001
<i>C. fluminalis</i>	0.158	0.122	0.087	

Результати bgPCA показують, що деякі стулки *Corbicula* sp. перекриваються з *C. leana* та *C. fluminalis* по bgPC1. Схожі перекриття є і серед традиційних вимірювань стулок, коли значення IR однакові (додаток Н). Це стулки з «проміжною морфологією»: посеред *Corbicula* sp. можуть бути особини морфологічно відповідні до *C. leana* і до *C. fluminalis*; однак, прокрустова відстань *Corbicula* sp. все ж ближче до *C. leana*, ніж до *C. fluminalis* (0,055 та 0,087, відповідно; табл. 11).

Тест Прокрустова ANOVA продемонстрував значущу коваріацію форми з розмірами центроїдів серед морфовидів ($F = 2,367$, $p < 0,001$) (додаток О). Це може бути як, по-перше, реальна міжвидова алометрія, і види різняться не тільки за формою черепашок, але й за розмірами, так і, по-друге, специфічність використовуваного набору даних, адже *C. fluminalis* та *Corbicula* cf. *leana* представлені популяціями лише з однієї локації, на відміну від *Corbicula* sp. та *C. leana*. В попередніх дослідженнях було показано високу мінливість розміру центроїду серед популяцій корбікул всередині одного виду (Sousa et al., 2007), тому ці результати наразі не аналізуються як ключова ознака морфовиду.

Другим етапом був аналіз із залученням типового матеріалу. Графік bgPCA, який включає типові зразки *C. fluminalis*, *C. fluminea* та *C. leana*, підтверджує наші початкові таксономічні визначення для *C. fluminalis* та *C. leana* (рис. 3.23-В). Значення bgPCA типового екземпляру як *C. fluminalis*, так і *C. leana* розташовані на краях відповідного кластеру зразків. Лектотип *C. fluminea* виявився добре відокремленим від решти, однак зразки цього виду не використовувалися в аналізі.

Узагальнюючи підсумки якісного та статистичного аналізу, ми виділили чотири морфовиди в межах досліджуваних *Corbicula*: *C. leana* (NL1, UA2, UA3, HU2, PL2, PL3, IE1, MM1, DE1 та BR1), *C. fluminea* (CN1), *C. fluminalis* (NL2) і проміжна форма між *C. leana* та *C. fluminalis*, позначена тут як *Corbicula* sp. (HU1, PL1, UA1).

3.2.5 *Rapana venosa*

1. Філогенія. Філогенетичний аналіз наших зразків разом із даними GenBank виявив еволюційну історію *R. venosa*. Побудоване філогенетичне дерево представлене на рисунку 3.25.

Результати показали, що всі п'ять зразків з Одеської затоки (номери: OL504957–61) мають один гаплотип. Він є ідентичним до раніше опублікованих в GenBank послідовностей з нативного регіону – затоки Мікава (Японія), острова Чеджу-до (Корея) і з інвазивного регіону – Чорного та Адріатичного морів, берегів Франції, Нідерландів та затоки Чесапек (США) (послідовності починаються з коду EU, MH, KU на рис. 3.25) (Chandler et al., 2008). Зокрема, у Чорному морі цей гаплотип відомий з прибережних вод Малої Азії (послідовності з кодами KP на рис. 3.25), з Криму (послідовності не були зареєстровані в Генбанк авторами Slynko et al., 2020; особисте повідомлення) та з північно-східного регіону Чорного моря (послідовності з кодом EU на рис. 3.25) (Chandler et al., 2008).

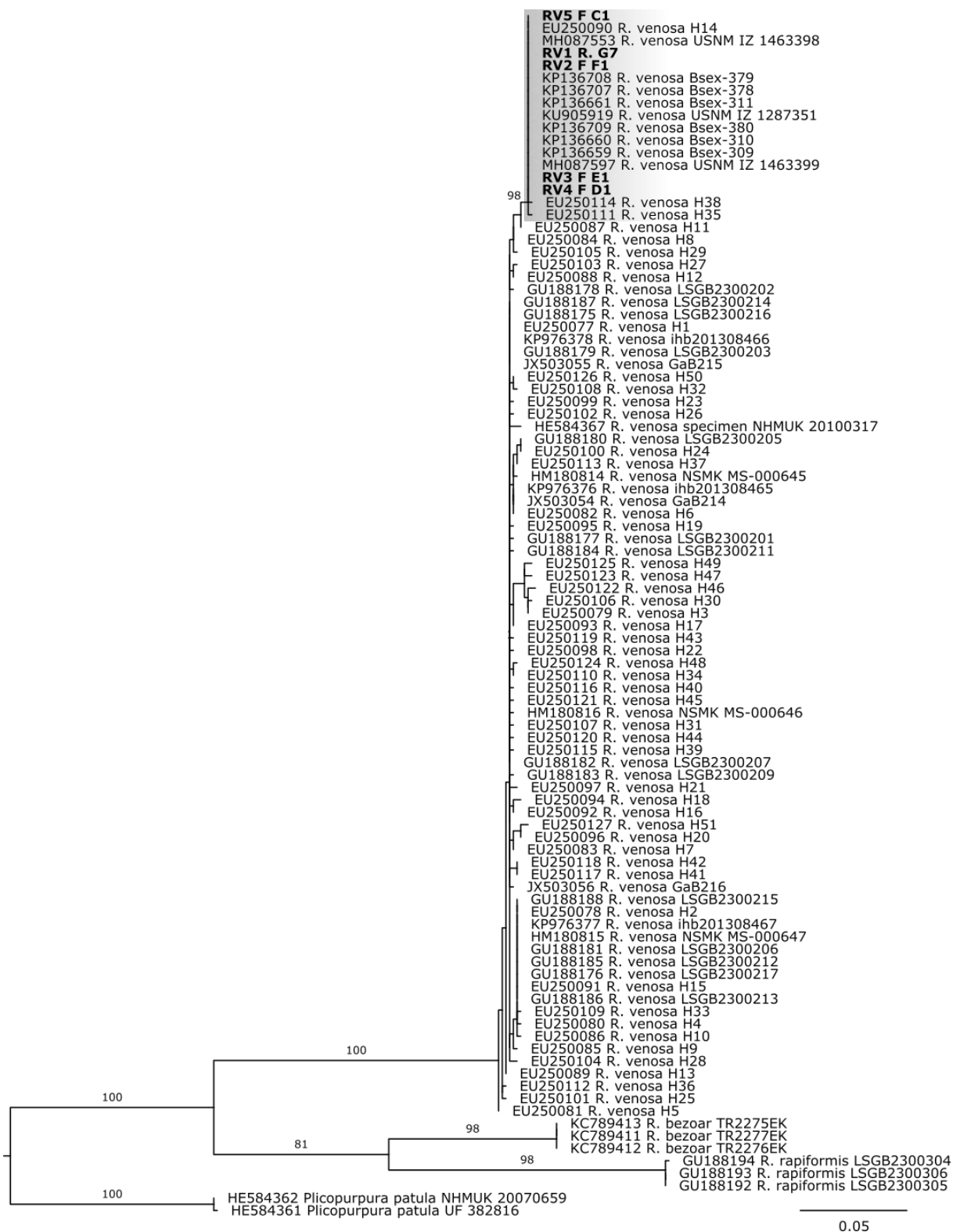


Рис. 3.25. Філогенетичне дерево групи видів *Rapana*, отримане за критерієм максимальної правдоподібності на основі *cox1*. Значення SH-aLRT тесту показані для основних клад; дерево вкорінене на *Plicopurpura patula*. Зразки з Одеської затоки виділені жирним.

Між- та внутрішньогрупову генетичну мінливість різних видів роду *Rapana* наведена в таблиці 12.

Таблиця 12. Розрахунок еволюційної мінливості всередині груп (середня нескорегована відстань) та між групами набору даних *R. venosa*. Стандартну похибку, отриману методом бутстрепа (1000 повторів), виділено курсивом.

		Між групами					Всередині груп	
		[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	p-dist	S.E.
<i>P. paluta</i>	[1]		<i>0.150</i>	<i>0.134</i>	<i>0.110</i>	<i>0.105</i>	0.001	<i>0.001</i>
<i>R. bezoar</i>	[2]	0.083		<i>0.064</i>	<i>0.072</i>	<i>0.072</i>	0.000	<i>0.000</i>
<i>R. rapiformes</i>	[3]	0.076	0.058		<i>0.134</i>	<i>0.132</i>	0.000	<i>0.001</i>
<i>R. venosa</i> Odesa	[4]	0.076	0.064	0.083		<i>0.003</i>	0.000	<i>0.000</i>
<i>R. venosa</i>	[5]	0.074	0.064	0.082	0.004		0.003	<i>0.002</i>

2. Морфологія. Морфометричні виміри популяції з Одеської затоки наведені в таблиці 13.

Результат двостороннього ANOVA виявив значущі відмінності відмінності між двома морфотипами для Н і для індексів Н/В і Нt/Н. Значуща різниця серед статей виявилась для Н, На, Wa, та для індексів Н/В, На/Wa ($p < 0,05$, табл. 1). Не виявлено жодної значущої різниці між статями в межах кожного морфотипу ні за лінійними вимірами, ні за індексами ($p > 0,05$, табл. 13).

Таблиця 13. Виміри та *R. venosa* з Одеської затоки. Коефіцієнт із $p < 0,05$ виділено жирним шрифтом.

Морфа, <i>N</i>			Лінійні відстані, мм					Ms,	Співвідношення			
<i>N</i>			H	W	Ha	Wa	Ht	мг	H/W	Ha/Wa	Ht/H	Ms/H
36	Видовжена	♀ 13 min	64.470	59.540	50.710	29.640	56.323	32.160	1.082	1.540	0.822	0.447
		max	78.620	69.300	59.710	37.090	67.899	55.370	1.202	1.859	0.874	0.726
		average	72.663	63.691	56.578	33.082	62.298	43.148	1.142	1.714	0.857	0.592
	♂ 23	min	68.630	58.490	51.740	30.090	59.524	27.810	1.105	1.553	0.833	0.379
		max	86.640	76.430	68.470	42.190	75.027	83.240	1.261	1.745	0.896	0.982
		average	77.482	66.586	60.046	36.503	66.556	52.115	1.165	1.647	0.859	0.666
44	Широка	♀ 13 min	61.730	56.350	53.530	29.800	52.714	33.790	1.095	1.608	0.807	0.491
		max	88.140	74.320	66.320	41.250	76.745	81.010	1.232	1.840	0.874	0.919
		average	77.125	65.164	58.811	34.196	65.073	48.094	1.183	1.725	0.844	0.617
	♂ 31	min	69.470	60.020	54.210	28.730	58.330	32.080	1.147	1.557	0.810	0.439
		max	89.910	77.030	75.800	40.940	78.164	82.260	1.316	1.974	0.878	0.930
		average	78.898	65.592	60.139	35.491	66.622	50.780	1.203	1.700	0.844	0.637
<i>p</i> (морфа)			0.024	0.829	0.278	0.947	0.236	0.548	0.000	0.123	0.001	0.958
<i>p</i> (стать)			0.012	0.136	0.027	0.003	0.017	0.055	0.018	0.025	0.797	0.116
<i>p</i> (морфа*стать)			0.236	0.267	0.318	0.164	0.259	0.297	0.850	0.301	0.906	0.370

Геометричний морфометричний аналіз виявив значущу різницю між морфотипами за формою мушлей ($F = 4,12, p = 0,001$) (табл. 14). Значущої різниці між статтями за формою виявлено не було ($F = 1,131, p = 0,318$), як і різниці між статтями за формою серед кожного морфотипу ($F = 0,221, p = 0,989$).

Таблиця 14. Прокрустовий аналіз (Procrustes ANOVA) оцінки значущості змін у формі між морфотипами та між статтями в межах кожного морфотипу. CS – розмір центроїда, df – число ступенів свободи, SS – сума квадратів, MS – середній квадрат, наведені F -статистика та її значимість.

	df	SS	MS	Rsq	F	Z	Pr(>F)
CS	1	0.009725	0.0097254	0.04838	4.0784	3.1615	0.001
Морфа	1	0.009909	0.0099092	0.04929	4.1555	3.2605	0.001
Стать	1	0.002692	0.0026916	0.01339	1.1288	0.5135	0.320
CS:Морфа	1	0.001241	0.0012413	0.00617	0.5206	-1.2089	0.882
CS:Стать	1	0.001986	0.0019859	0.00988	0.8328	-0.1443	0.544
Морфа:Стать	1	0.000770	0.0007702	0.00383	0.3230	-2.2098	0.989
CS:Морфа:Стать	1	0.003027	0.0030274	0.01506	1.2696	0.7102	0.242
Залишок (residuals)	72	0.171691	0.0023846	0.85401			
Усього	79	0.201042					

Метод головних компонент (PCA) геометричних даних виявив 26 основних компонентів. На PC1 припадає 26,37% варіацій, на PC2 = 20,55%, із сукупною часткою перших двох компонент разом – 46,92% (рис. 3.26). Решта компонент внесли приблизно або менше 10% від загальної варіації.

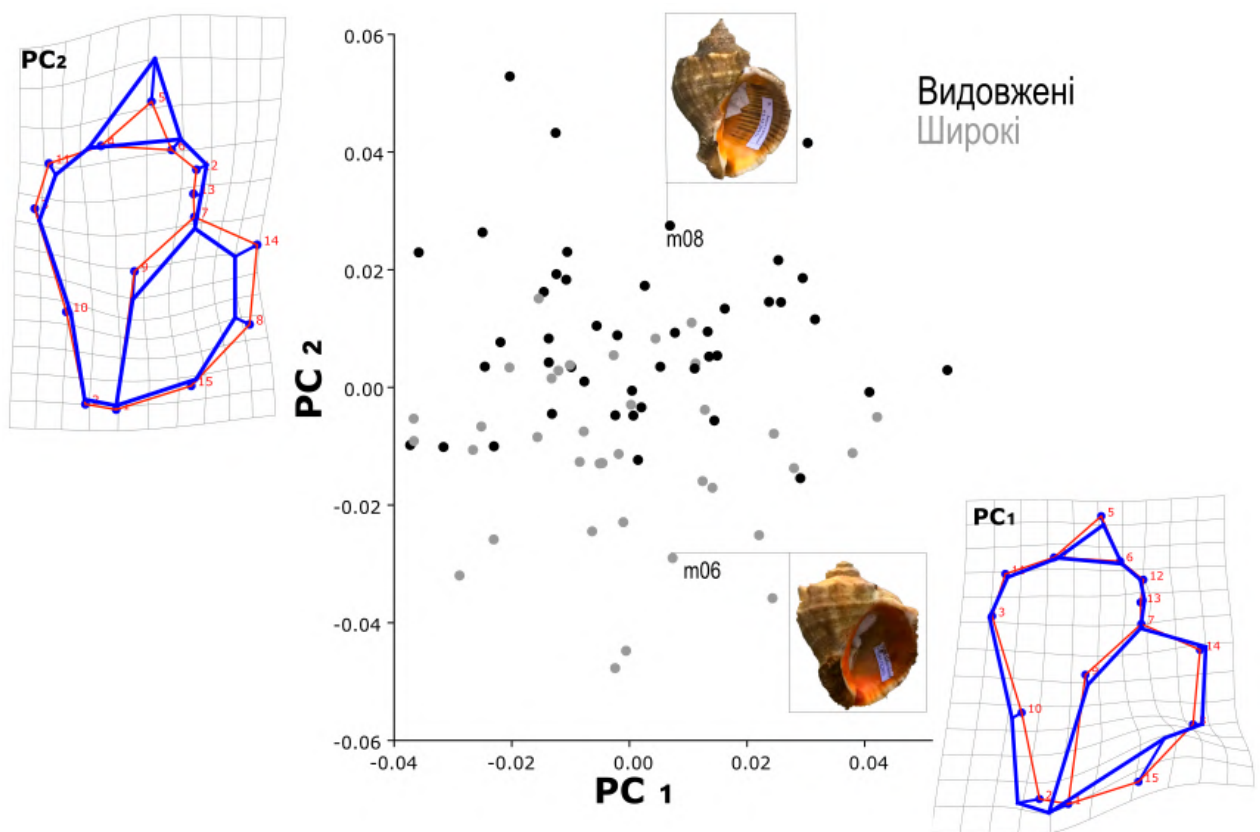


Рис. 3.26. Результати аналізу методом головних компонент для даних форми черепашок *Rapana venosa*, отриманих методом геометричної морфометрії. Зміни форми відображені на трансформаційній сітці: синім кольором – позитивні значення PC, червоним – негативні.

PC1 пов'язана із зміщенням крайньої точки устя мушлі (див. рис. 3.27). Зразки розгалужені вздовж осі PC1, але не проявляють певного закономірного морфотипного розподілу. Високої та значущої кореляції значень PC1 та коефіцієнтами традиційних морфометричних вимірювань не виявлено ($p > 0,05$, табл. 15).

Таблиця 15. Коефіцієнт кореляції лінійних вимірювань та значень PC (під діагоналлю). Стандартну похибку, отриману методом бутстрепа (1000 повторів), виділено *курсивом*; коефіцієнт із значущім $p < 0,05$ виділено **жирним шрифтом**.

	H	W	Ha	Wa	Ht	Ms	H/W	Ha/Wa	Ht/H	PC1	PC2
H		<i>0.000</i>	<i>0.000</i>	<i>0.000</i>	<i>0.000</i>	<i>0.000</i>	<i>0.002</i>	<i>0.240</i>	<i>0.555</i>	<i>0.732</i>	<i>0.030</i>
W	0.865		<i>0.000</i>	<i>0.000</i>	<i>0.000</i>	<i>0.000</i>	<i>0.122</i>	<i>0.004</i>	<i>0.001</i>	<i>0.495</i>	<i>0.618</i>
Ha	0.881	0.837		<i>0.000</i>	<i>0.000</i>	<i>0.000</i>	<i>0.176</i>	<i>0.458</i>	<i>0.003</i>	<i>0.423</i>	<i>0.851</i>
Wa	0.781	0.852	0.846		<i>0.000</i>	<i>0.000</i>	<i>0.560</i>	<i>0.000</i>	<i>0.005</i>	<i>0.129</i>	<i>0.141</i>
h	0.959	0.913	0.921	0.822		<i>0.000</i>	<i>0.130</i>	<i>0.185</i>	<i>0.002</i>	<i>0.488</i>	<i>0.727</i>
Ms	0.822	0.870	0.857	0.802	0.889		<i>0.773</i>	<i>0.056</i>	<i>0.000</i>	<i>0.336</i>	<i>0.870</i>

H/W	0.341	-0.174	0.153	-0.066	0.171	-0.033		0.002	0.000	0.528	0.000
Ha/Wa	-0.133	-0.322	-0.084	-0.599	-0.150	-0.214	0.339		0.422	0.090	0.009
Ht/H	0.067	0.353	0.329	0.310	0.343	0.395	-0.527	-0.091		0.168	0.000
PC1	0.039	0.077	0.091	0.171	0.079	0.109	-0.072	-0.191	0.155		1.000
PC2	0.242	-0.057	-0.021	-0.166	0.040	-0.019	0.579	0.290	-0.677	0.000	

PC2 пов'язана з видовженням мушлі (рис. 3.26). При негативних значеннях PC2 форма присадкувата, тоді як при позитивних значеннях PC2 – видовжена (рис. 3.26). На графіку спостерігається характерний розподіл особин вздовж PC2 на зазначені морфи. Достовірна кореляція значень PC2 виявлена для індексів H/W та Ht/H ($r = 0,58$ та $r = -0,68$ відповідно, табл. 15).

Щоб порівняти явище фенотипної пластичності рапани з Одеської затоки, деякі наявні музейні матеріали з Японії (нативного регіону) та з Керченської протоки, відібрані в 1972 році (приблизно через 25 років після вторгнення), були проаналізовані для порівняння конхіологічних характеристик черепашок (рис. 3.27).

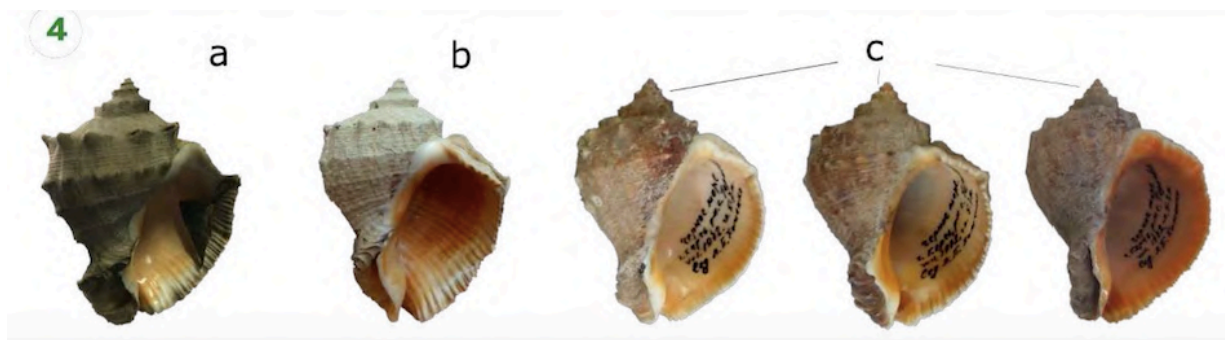


Рис. 3.27 Досліджений музейний матеріал *Rapana venosa*: а – Японське море, 1877 р., Музей природи ХНУ імені В.Н. Каразіна (Н: 16,3 см); б – Японське море, 1983 р., Національного науково-природничого музею НАН України, Київ (16,1 см); с – Чорне море, Керч, 1972 р., Національного науково-природничого музею НАН України, Київ (7,9, 7,8, 9,2 см).

По-перше, є розмірна різниця: одеські молюски менші від нативних: середня Н становить 70–80 мм, тоді як розміри мушль з Японського моря – 161 і 163 мм (рис. 3.27, а – б); однак, подібні за розмірами до Керченських. По-друге, спостерігається різниця у скульптурі та масивності черепашок: зразки з нативної місцевості (рис. 3.27, а – б) мають більш виражені шипи та

товсті стінки черепашки, ніж черепашки з Одеської затоки та Керченської протоки (рис. 3.27, с).

Висновки до розділу 3

1. Проведено молекулярну таксономічну ревізію чужорідних водних безхребетних та нативних тварин Азово-Чорноморського басейну.
2. Вивчено географічне поширення чужорідних безхребетних Азово-Чорноморського басейну.
3. Філогенетичні зв'язки свідчать про інвазивну історію родин *Helobdella*, *Procambarus*, *Macrobrachium*, *Rapana*, та *Mytilidae*. Аналіз виконаний з використанням критерію оптимальності «максимальної правдоподібності».
4. Досліджені вибрані види, зокрема *Corbicula* spp., *Rapana venosa*, *Arcuatula senhousia* та *Helobdella europaea* мають значну морфологічну мінливість
5. Методологія досліджень, використана для *Corbicula* та *Rapana venosa*, придатна для виявлення конхіологічної генеторогенності популяцій цих молюсків.

Результати досліджень даного розділу наведено в публікаціях здобувача [Son et al., 2020б; Morhun et al., 2018a; Morhun et al., 2021a; Morhun et al., 2021б; Zhulidov et al., 2021]

РОЗДІЛ 4. ОБГОВОРЕННЯ

Інвазія та поширення видів за межами їхнього природного ареалу є ключовим компонентом глобальних змін у довкіллі (Simberloff et al., 2013). Біологічні інвазії проходять певними шляхами (Panov et al., 2007) та за певними сценаріями (Dlugosch & Parker, 2008). Може бути разове вселення і подальше демографічне зростання виду (знаний «ефект засновника») або багаторазове вселення, де чужорідна популяція періодично поповнюється особинами з нативного регіону та/або з інших точок інвазії. Спосіб інтродукції впливає на генетичну структуру екзотичних популяцій та на зміну цієї структури відразу після інвазії в залежності від початкової різноманітності.

У першому випадку, при одноразовому вселенні за сценарієм ефекту засновника колонізація нового регіону відбувається невеликою кількістю особин з однієї географічної популяції, і ця відокремлена частина популяції несе лише частину всього генетичного різноманіття (Mayer, 1956). Таке формування ізольованих популяцій супроводжується різким зменшенням чисельності (ефект горловини) і, як наслідок, збільшенням генетичного дрейфу та малим нуклеотидним різноманіттям. Одноразово інтродуковані популяції є доволі одноманітними, інколи чисельно нестабільними та навіть ослабленими через виникаючий інбридинг (Бродвій, 2013).

В іншому сценарії інвазії, в разі багаторазового вселення, нуклеотидне різноманіття ізольованої популяції здатне постійно зростати. Показано, що інтродукції за таким сценарієм грають важливу роль у забезпеченні еволюційного потенціалу чужорідної популяції шляхом накопичення екзотичних варіантів і, побічно, шляхом створення нових варіантів завдяки схрещуванню між цими популяціями. Наприклад, множинна інвазія *M. tuberculata*, молюска з безстатевим розмноженням (не універсальна характеристика для інвазивних видів) дозволила побачити внесок цієї стратегії до генетичної дисперсії виду і формування нових морфотипів (Facon et al., 2008). Такі інвазії можуть об'єднувати унікальні сукупності генотипів або

видів і робити ці ізольовані популяції «гарячими» точками для еволюційної та екологічної новизни (Sakai et al., 2001).

Інтродукція супроводжується низкою викликів: чи виживе вид, чи пристосується він до нових екологічних умов. Такі виклики активізують різні адаптаційні механізми, зокрема преадаптацію виду, здатність до фенотипічної пластичності, збільшення еволюційного потенціалу (можливості гібридизації), а також сприяють мікроеволюційним процесам: відбору, потоку генів і дрейфу генів. Ми обговоримо ці невід’ємні складові біологічних інвазій на наших модельних видах, аби визначити, які особливості їм притаманні в Азово-Чорноморському басейні. Кожен досліджений вид має свої характеристики перебігу інвазії. Низьке нуклеотидне різноманіття та водночас високе морфологічне різноманіття виявлено для видів *H. europaea*, *P. virginalis*, *R. venosa* і *Corbicula* sp. Натомість, досліджені зразки *A. senhousia* мають високе нуклеотидне різноманіття і високу морфологічну гетерогенність. Аналіз гаплотипів *M. nipponense* з сусідніх регіонів інвазії демонструє поширення інших варіантів гена, що був вибраний як маркер для дослідження, що ймовірно є результатом множинної інвазії.

4.1 Інвазія акваріумної п’явки *H. europaea*

За результатами морфологічного і молекулярного аналізів, п’явки, зібрані в приватному акваріумі в Харкова, ідентифіковані як *H. europaea*. Для України, зокрема для Харківської області, зареєстровано два споріднені південноамериканські види: *H. europaea*, яка виявлена під час наших досліджень, та *H. triserialis*, виявлена С. Ю. Утевським та Г. Мазепою (Utevsky & Mazepa, 2005).

Філогенетичний аналіз наших зразків, який базувався на всіх доступних послідовностях *cox1 Helobdella* з ГенБанку, виявив загальну генетичну одноманітність послідовностей *H. europaea* як в регіонах інвазії (Іспанія, Угорщина, ПАР, Тайвань, Австралія, Нова Зеландія та США Каліфорнія, Міссісіпі), так і в типові регіоні (Німеччина). Незважаючи на

наявні поодинокі мутації в послідовності з типового регіону (AY576008) у порівнянні з *H. europaea* з регіонів інвазії, амінокислотний склад залишився незмінним. Про таку одноманітність генетичної структури у цього виду написано в низці ключових робіт (Siddall & Budinoff; 2005; Lai et al., 2009; Reyes-Prieto et al., 2013).

Helobdella europaea належить до серії видів “*Helobdella triserialis*” (див. Осегуера-Фігуєра et al., 2010). У результаті нашого філогенетичного аналізу виявлено сильно розгалужену структуру цієї серії та встановлено, що *H. europaea* є сестринською кладою для одного або двох неописаних видів гелобдел, що живуть у водоймі Монтесума, Арізона (Фредрік Говедіч, особисте повідомлення). *Helobdella europaea* описано з Європи, а саме з Німеччини (Kutschera, 1986), тоді як решта п’явок цієї серії походить з Америки. Більшість види п’явок у природному середовищі мають високу генетичну різноманітність: варіація *Salifa perspicax* (Blanchard, 1897) на території Руанди сягає 2,4% (Осегуера-Фігуєра et al., 2011), а для *Erpobdella mexicana* (Duge’s, 1876) навіть більше – 11,9% (Осегуера-Фігуєра et al., 2005). Вкрай низьке нуклеотидне різноманіття *H. europaea* (0,003%) інтерпретують як підтвердження гіпотези про інтродукцію цього виду та його походження з однієї, досі невизначеної (несеквенованої) популяції п’явок з Південної або Центральної Америки (Reyes-Prieto et al., 2013).

У низці досліджень таксономічний статус виду *H. europaea* піддавався сумніву. Згідно з І. Пфайфером і співавторами (Pfeiffer et al., 2004), *H. europaea* з Німеччини та *H. papillornata* з Австралії є генетично ідентичними за *cox1* і є одним видом. Дослідники Х. Неземанн та Е. Нойберт (Nesemann & Neubert, 1999) стверджували, що німецькі зразки (типовий матеріал), ймовірно, були представниками південноамериканської *H. triserialis* (Blanchard, 1849), які просто втекли з акваріуму (Pederzani, 1980) в струмок, з якого потім були виловлені та описані Ульріхом Кучерою (1986). Однак, у подальшому для розрізнення південноамериканської *H. triserialis* від усіх її північноамериканських споріднених груп (до яких, теоретично, і належить

H. europaea), американські гірудологи М. Сіддалл та Е. Борда надали конкретні морфологічні ознаки: *H. triserialis* має переривання темного пігменту на медіальній смузі на спинній стороні переднього кінця тіла (Siddall & Borda, 2003). Керуючись цим, С. Ю. Утевський та Г. Мазепа припустили, що саме ці переривання на смузі і є діагностичною особливістю двох п'явок: *H. triserialis* має прогалини, тоді як *H. europaea* не має чітких прогалин (Utevsky & Mazepa, 2005).

Наше дослідження показало, що п'явки з Харкова були досить мінливі за ознакою прогалин: у двох особин на темних поздовжніх смугах у передній частині тіла їх не було, тоді як у іншій особини були прогалини, а у ще однієї п'явки наявні рудиментарні прогалини. Ба більше, типовий пігментний малюнок був розмитим на спині однієї особини (рис. 3.15), але загалом забарвлення всіх п'явок збігалось з малюнком *H. europaea*, про який повідомляли попередні дослідники (Siddall & Budinoff, 2005, рис 1–с,d). Така висока варіабельність малюнка ставить під сумнів доцільність використання прогалини на передній частині тіла, як діагностичної ознаки. Її слід застосовувати обережно, долучаючи й інші ознаки, зокрема будову травної системи (рис 3.16), та, при нагоді, досліджувати молекулярними методами. Саме такий комплексний підхід ми пропонуємо як той, що достовірно й надійно ідентифікує два зафіксовані в Україні споріднені види, *H. triserialis* та *H. europaea*.

Цікаво, що картина забарвлення *H. europaea* видається досить мінливою, як було виявлено не тільки в нашому дослідженні, а й в інших (Reyes-Prieto et al., 2013) на відміну від вкрай низької мінливості послідовностей *cox1*. Подібне явище описане також для *Hirudo orientalis* Utevsky & Trontelj, 2005 (Trontelj & Utevsky, 2012; Darabi-Darestani et al., 2018). Це можна пояснити селективним тиском в умовах аквакультури, звідки *H. europaea* потрапила в природні екосистеми. За альтернативною гіпотезою, як вже зазначалось, генетична структура *H. europaea* була сформована ефектом засновника (Reyes-Prieto et al., 2013), який є досить типовим для інвазивних

видів (Estoup et al., 2016). Генетична основа мінливості забарвлення залишається невідомою, а наявна варіабельність може бути спричинена фенотипічною пластичністю.

Можна припустити, що забарвлення має екологічне значення. У такому разі причиною його мінливості є кольорове тло субстрату, де перебуває п'явка. Зовсім недавно було знайдено кілька генів, відповідальних за адаптаційну пластичність, зокрема локуси з екологічно чутливими алелями та регуляторні локуси, які змінюють рівні експресії генів у різних середовищах (Des Maraïs et al., 2013) і знайдені докази того, що епігенетичні модифікації, такі як метилювання ДНК та модифікація хроматину, відіграють помітну роль у здатності до адаптації (Bastow et al., 2004). Різне забарвлення досліджених п'явок можливо впливає на помітність п'явки, роблячи її більше чи менше помітною і тим самим маскує від хижаків, сприяючи виживанню.

Інвазивні південноамериканські п'явки мають високий інвазивний потенціал. Вони здатні поширюватися в прісноводних екосистемах Європи, оскільки можуть переносити низькі температури та живитися місцевими безхребетними. Про це свідчать як нещодавні знахідки південноамериканської гелобдели у прісних водоймах Угорщини (Málnás et al., 2016), так і попередні експерименти С. Ю. Утєвського та Г. Мазепи (Utevsky & Mazepa, 2005), а також наші власні спостереження за живленням *H. europaea* личинками місцевих хірономід. На нативну фауну регіону вид може вплинути через ненаситне харчування і шкоду популяціям безхребетних (моллюскам, тубіфіцидам, личинкам інших комах, прісноводним олігохетам) (Paez et al., 2004; Sawyer, 1986). Крім того, для виду *H. europaea* характерний високий рівень розмноження та унікальна серед анелід стратегія батьківського піклування, що притаманна родині Glossiphoniidae (Siddall et al., 2006). Наявність стабільних популяцій *H. europaea* на чотирьох континентах може свідчити про ефективність такої репродуктивної поведінки для інвазії та збереження виду в нових екосистемах (Reyes-Prieto et al., 2013).

В Україну *H. europaea*, ймовірно, потрапила випадково разом з акваріумними рибами та / або водними рослинами.

4.2 Інвазивна рапана в Чорному морі

4.2.1 Морфологічна мінливість

Якщо попередній об'єкт дискусії тільки розпочав свою інвазивну історію в Чорноморському басейні, то наступний об'єкт, *R. venosa*, перебуває тут протягом останніх 80 років (Драпкин, 1953). За цей час молюск зарекомендував себе дуже адаптивним, таким, що може переносити високі та низькі температури, є толерантним до забруднення (Топтіков та ін., 2014), евригалінним (Mann & Harding, 2003; Моргун, 2017), має високу репродуктивну здатність (Chung et al., 1993), схильний до канібалізму (Топтіков та ін., 2014), харчується падлом (Гаевская, 2006), полює на вищих крабів (Oleg Kovtun. Hydrobio, 2014) тощо. Дослідження морфологічного різноманіття *R. venosa* з різних частин північного Причорномор'я показали високу здатність змінювати конхіологію під впливом екологічних умов (Бондарев, 2010; Snigirov et al., 2013; Kos'yan, 2013). Усі систематичні ознаки мушлі, включаючи загальну форму і колір, товщину стінок, наявність і розвиток осьових і спіральних ребер і западин, шипів та інших скульптурних елементів поверхні мушлі, є змінними. Прийнято вважати, що головними факторами морфологічних є різні трофічні умови в середовищах існування (Бондарев, 2010; Ковтун та ін., 2014). Виснаження джерел їжі уповільнює ріст, веде до зменшення розміру особин (Чухчин, 1961). Нам був доступний досить великий матеріал з Одеської затоки, і ми оцінили морфологічну мінливість цього молюска. Як вже зазначалось, під час нашого сезонного моніторингу були відмічені більш округлі та видовжені черепашки. Ми дослідили, чи мають ці відмінності статистичне підґрунтя.

Значущі відмінності у формі черепашок між морфотипами, що пов'язані з видовженням завитку, узгоджуються з відміченою нами мінливістю популяції (рис. 3.26). Таке велике різноманіття габітусу черепашок

можна пояснити на основі раніше опублікованих досліджень. Видовженість черепашки пов'язують із середовищем існування трофічних об'єктів рапани: вузька і довга черепашка дає кращу можливість пересуватися по піщаному морському дну і полювати на інших молюсків, що закопуються в пісок (Бондарев, 2010). Отже, можливо, саме велика різноманітність потенційних трофічних об'єктів в Одеській затоці, на яких полює *R. venosa*, веде до високої морфологічної неоднорідності.

Геометричний морфометричний аналіз не виявив відмінностей у формі між самцями та самками в популяції рапани з Одеської затоки. Однак, цікаво, що згідно з лінійними вимірами черепашок (зокрема H , W , H_t) та деякими співвідношеннями (H/W та H_t/H) суттєві відмінності між статями все ж таки існують. Таким чином, бачимо, що різні методологічні підходи сприяли один одному, доповнили та зробили результати більш інформативними, хоча ми виявили значні відмінності між самцями та самками у розмірах черепашки (лінійні виміри), а статі не відрізняються за формою (геометрична морфометрія). Олег Ковтун та ін. (2014) також показали, що самці мають більші розміри черепашки, ніж самки. Цей факт пояснюється потребою останніх витратити додаткову енергію на відтворення потомства.

За даними І. Бондарева (2010), стать особини можна визначити, виходячи з розміру та конхіологічних ознак черепашки, зокрема з форми: самці мають вищу і вужчу черепашку, ніж самки. Ми також виявили значні відмінності у співвідношенні H/W та H_t/H між статями для популяції з Одеської затоки, але більш чутливий підхід (геометрична морфометрія) показує, що така тенденція зміни форми між статтями відсутня.

Підсумовуючи, було виявлено наступні морфологічні особливості популяції: не виявлено статевого диморфізму у формі черепашки, а різниця в розмірах між самцями та самками зумовлена потребою останніх відтворювати потомство; різноманітність габітусу черепашок може бути наслідком великої різноманітності трофічних об'єктів в Одеській затоці.

4.2.2 Молекулярні дослідження

Друга суттєва частина нашого дослідження *R. venosa* була присвячена виявленню молекулярної структури популяції з Одеської затоки, зокрема філогенетичним зв'язкам та нуклеотидній різноманітності. За нашими результатами, усі п'ять зразків мали однаковий гаплотип, відомий з попередніх публікацій як єдиний, що трапляється в регіонах інвазії по всьому світу (Chandler et al., 2008; Slynko et al., 2020) і у нативному регіоні в Японії та Кореї (о-в Чеджу); водночас, дослідження в межах нативного ареалу виявило високі генетичні варіації, а саме 110 гаплотипів гена *cox1* та *nad2* (Chandler et al., 2008).

Таке низьке генетичне різноманіття можна інтерпретувати як свідчення одноразового вторгнення рапани в Чорне море та, як прийнято вважати, подальшого розповсюдження в інших регіонах (Chandler et al., 2008). Однак, можна припустити, що світовий успіх вторгнення *R. venosa* зумовлений саме цим одним конкретним гаплотипом, тобто низька генетична варіація може бути наслідком успішної адаптації до нових умов навколишнього середовища, що впливають на еволюційний успіх у процесі інвазії та стабілізації популяції в новому регіоні (Estoup et al., 2016).

Результати, отримані з використанням інтегративного підходу, який поєднує молекулярні методи й морфологію, передбачають високу морфологічну різноманітність і, водночас, низьку генетичну мінливість. Це можна розглянути в контексті концепції генетичного парадоксу біологічних інвазій (Sax & Brown, 2000). Таким чином, одноразове вселення виду (як це було з рапанами у 1940-х роках), що супроводжувалося ефектом горловини, як правило, призводить до зниження генетичної варіації і, відповідно, до зменшення фенотипічного різноманіття інтродукованої популяції. Однак, у випадку з рапанами з Чорного моря і світу загалом, ми спостерігаємо досить високу неоднорідність морфологічних характеристик: висока фенотипічна пластичність, поява нових морф у біотопах з різними екологічними характеристиками – все це свідчить про високу здатність до пристосування

разом із повною відсутністю нуклеотидної різноманітності як для гена *cox1* (це дослідження), так і *nad2* (Chandler et al., 2008). Менш консервативні маркери можуть бути використані в майбутньому як спроба виявити вищу генетичну різноманітність популяції.

4.2.3 Морфологічні зміни рапани в ході інвазії

Порівняння Одеської популяції рапани з музейним матеріалом з нативного регіону та з Керченської протоки виявило відмінності у скульптурі і масивності черепашок. Крім цього, виявлено зменшення розмірів черепашок чорноморської популяції, яке відмічали у своїх публікаціях й інші дослідники (Іванов, 1961; Бондарев, 2010). Проаналізований музейний матеріал з Керчі, який відібраний в 1972 р. (приблизно 25 років після інвазії), мають розміри, подібні до розмірів черепашок сучасних молюсків з Одеської популяції (79–92 мм). З цього можна припустити, що рапани здрібнішали швидко після вторгнення, і це зменшення розмірів зумовлено іншими факторами, а не кількістю їжі, як вважалося (Бондарев, 2010). У 70-х роках у Керченській протоці чисельність популяцій мідій та інших двостулкових молюсків, які є основними об'єктами живлення рапан, була висока через наявність там природних популяцій і аквакультури (Іванов, 1987, Іванов & Синегуб, 2008). Таким чином, здрібнення рапани може бути результатом як впливу якихось несприятливих факторів навколишнього середовища, так і / або ефектом горловини під час інвазії.

Однак, розмір рапани ще може бути визначений потенційною здобиччю: якщо дрібна *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906), та *Mytilus* spp. переважають в раціоні, тоді і рапана сам по собі матиме невеликі розміри (Кос'ян, 2010; Kos'yan, 2013). Це пояснюється тим, що молюск віддає перевагу здобичі порівнянних з ним розмірів, таким чином компенсуючи енергію для видобутку їжі (відкриття стулочок жертв) (Savini & Occhipinti-Ambrogi, 2006; Kos'yan, 2009, 2013).

Порівнюючи розміри *R. venosa* опубліковані в попередніх дослідженнях, ми бачимо, що максимальний розмір *R. venosa* з природного ареалу становить 212,3 мм (Pisor, 2005). Ігор Бондарев (2010) встановив, що зразки з Японського моря варіюють від 75 до 168,7 мм. В інвазивних регіонах по світу спостерігаються наступні довжини черепашок: у затоці Чесапік (1998–1999) від 67 мм до 160 мм (ICES, 2004); в лимані річки Ріо-де-ла-Плата – 28–120 мм (Gilberto et al., 2006); у Середземному морі – 78–139 мм (Cesari & Pellizzato, 1985); біля узбережжя Румунії – від 50 до 95 мм (Micu et al., 2008; Sereanu et al., 2016); біля узбережжя Туреччини – від 58 до 102 мм (Seyhan et al., 2003). Зразки з нашої вибірки мали приблизно однаковий розмір (таблиця 1), без екстремів, і були подібні до тих, що були досліджені в інших регіонах інвазії. Отже, спостерігається загальний тренд до зменшення розмірів рапани у регіонах інвазії порівняно з нативним регіоном. Наше припущення про вплив саме ефекту горловини, як однієї з причин виникнення цього тренду, слід додатково вивчати шляхом проведення відповідних молекулярних досліджень разом із морфологічним аналізом на основі більш обширних вибірок (як-от музейні колекції, свіжі зразки).

Підсумовуючи, слід зазначити, що ми спостерігали велику морфологічну мінливість *R. venosa* разом із відсутністю генетичної різноманітності за *cox1*. Це можливо пояснити високим адаптаційним еволюційним потенціалом виду, який проявляється в здатності до фенотипічної пластичності в регіоні інвазії.

4.2.4 Перспективи досліджень екології рапани

Поряд із генетичним та статистичним аналізом популяції рапани з Одеської затоки ми мали на меті перевірити придатність методу геометричної морфометрії для вивчення рапани. Цей підхід показує свою ефективність і видається інформативним для вирішення низки питань щодо вивчення форми молюсків. Він застосовується для порівняння морфоструктур популяцій у межах одного виду (Leyva-Valencia et al., 2012; Nantararat et al., 2019), для

делімітації видів (Cruz et al., 2012; Doyle et al., 2018; Morhun et al., 2018a; Nantarat et al., 2019) та розмежування морфотипів (Morhun et al., 2019), для відстеження коваріантності форми під факторами навколишнього середовища (Leyva-Valencia et al., 2012) та особливостями поведінки молюсків (Serb et al., 2011), а також вирішення низки інших ключових питань в морфології. Наші дослідження та використана методологія можуть стати у нагоді для більш детального вивчення морфологічної гетерогенності чисельних морфотипів, еко-форм та форм *R. venosa*, що заселяють Чорне море. Одна з тих морф, що називається «карлик», представляє особливий інтерес.

«Карликова» форма має аномалії розміру: статевозрілий молюск у 4 рази менший за розміром, ніж звичайний (Бондарев, 2010, рис. 5-а). Ці особини зустрічаються рідко і радше унікальні у зразках, але є ключем до розуміння екології рапани. Зрілий «карлик» може використовувати трофічну стратегію ювенілів – буріння крізь стулку своєї здобичі – тоді як великі дорослі особини, як правило, відкривають двостулкові молюски (Чухчин, 1970). Вважається, що завдяки такій стратегії живлення «карлики» рапани можуть перейти в іншу екологічну нішу, що може призвести до їх генетичної ізоляції (Бондарев, 2010). Ба більше, ця стратегія живлення протягом усього життя може вплинути на форму черепашок загалом. Гіпотеза про фенотипну пластичність звичайної та карликової форм потребує подальших досліджень, аби належним чином бути перевіреною.

Доцільно також вивчити зміни форми *R. venosa* під впливом екологічних абіотичних факторів: солоність, температура, освітленість, ґрунт, глибина, тощо. Це можна зробити за допомогою часткового аналізу найменших квадратів (*Partial Least Squares analysis*) (Rohlf & Corti, 2000; Fruciano et al., 2011) або аналізу розрідження морфопросторових обсягів (*Rarefaction analysis*) (Foote, 1992; McClain et al., 2004). Подібним чином з залученням геометричної морфометрії можливо вивчити внесок спадковості у форму мушлі за допомогою тесту Мантеля (*Mantel Test*) (Liu et al., 1995; Lynch & Walsh, 1998; Klingenberg & Leamy, 2001).

Загалом, методологія, використана в цій роботі (вибрані LM, обладнання для фотографування), може бути орієнтиром для майбутніх морфометричних досліджень *R. venosa*. Геометричний морфометричний підхід виявився корисним для візуалізації морфологічної неоднорідності популяції Одеської затоки, а також корисним для перевірки та оцінки статистично достовірної різниці форм черепашок.

4.3 Партеногенетичний рак *Procambarus virginalis*

Наступний об'єкт інвазію якого ми дослідили – рак *P. virginalis*.

Морфологічні ознаки та молекулярні дані дозволяють віднести досліджені зразки до виду *P. virginalis*. Послідовності *cox1* були ідентичними зі зразкам GenBank з Німеччини, Швеції, Італії та Японії, маючи один гаплотип. Як і з попередніми *H. europaea* та *R. venosa*, це також можна пояснити недавньою інвазією, яка ще не забезпечила достатньо часу для розбіжності їхніх мітохондріальних генів. Неглибока філогенетична структура, виявлена у обох видів, узгоджується з гіпотезою ефекту засновника, яка зазвичай використовується для пояснення недавньої еволюційної історії ряду інвазивних видів (Estoup et al., 2016).

Procambarus virginalis відомий під колишньою назвою *Procambarus fallax* forma *virginalis* (Martin et al., 2010a, 2010b). Цей вид еволюціонував від батьківського різностатевого виду *P. fallax* зі статевим розмноженням шляхом автотриплоїдії (Vogt et al., 2015). У 2017 році систематичний ранг цього вже окремого таксону був офіційно підвищений до рівня виду (Lyko, 2017) на підставі дослідження німецької популяції цього раку, яка поширена там як в природі, так і в аквакультурі.

Місцевий ареал батьківського виду *P. fallax* окреслений півднем Джорджії та Флориди, США (Hobbs, 1989). У нашому дослідженні ми порівняли фрагмент гена COI наших зразків із повним геномом типового *P. virginalis*, який був опублікований разом із його офіційним таксономічним описом (Lyko, 2017), а також із послідовностями *P. fallax* з Флориди (Martin et

al., 2010b), який зазвичай розглядається як батьківський нативний ареал. Філогенетичний аналіз показав, що українські мармурові раки мали один гаплотип разом із типовим зразком *P. virginalis*, тим часом як послідовності *P. fallax* із США відокремлювались, утворюючи окремі клади. Генетична відстань між цими двома видами є низькою і лише трохи перевищує середні *p*-відстані в межах сформованих груп.

Популяції мармурових раків утримуються в аквакультурі в ХНУ імені В. Н. Каразіна та в Дніпровському університеті. В обох аквакультурах відмічена мінливість забарвлення у тварин.

Харківські раки мають різноманітний пігментний візерунок, який інші дослідники пов'язують з дією певних екологічних факторів (Vogt et al., 2018). Дніпровська культура, окрім різноманітного пігментного візерунка, має особливості кольору карапаксу, пов'язані з віком: молоді особини світліші, ніж старші (особисте повідомлення Р. О. Новицького).

У роботі С. Тьонгіс та співавторів встановлена роль живлення в інтенсивності кольору мармурових раків (Tönges et al., 2020). Кормові добавки можуть впливати на пігментацію: синтетичний корм без каротиноїдів спричинює майже повну втрату пігментації у дорослих тварин. Авторами цього дослідження запропоновано використовувати специфічні кормові добавки для отримання бажаних фенотипів тварин.

Окрім забарвлення, в літературі також описані й інші зміни ознак у інвазивних *P. virginalis*. Було показано, що *P. virginalis* після автотриплоїдизації та супутньої зміни статевої системи від гонохоризму (різностатевості) до партеногенезу, значно збільшилися за розмірами та стали більш плодовитими ніж батьківський *P. fallax*, середня тривалість життя дорослих тварин зросла приблизно з 1 року у *P. fallax* до 2 років у *P. virginalis*, що пояснюється епігенетичними механізмами, зокрема метилювання ДНК, яке бере участь в екологічній адаптації та еволюції різних екотипів з одного і того ж генотипу (Vogt, 2017). Зазначена в нашому дослідженні мінливість за візерунком та забарвленням також може бути пов'язана саме з епігенетичними

процесами, адже екологічні умови та кормова база в аквакультурах є однаковою, однак клони *P. virginalis* все одно демонструють фенотипічну пластичність. Питання ролі епігенетики як рушійної сили фенотипної пластичності потребує подальших детальних досліджень. Однак, автотриплоїдія та відокремлення виду від батьківського виду свідчать про адаптивну пластичність (Baker & Stebbins, 1965), яка дала популяціям *P. virginalis* можливість рухатись до нового адаптивного оптимуму в інвазивних регіонах: екзот *P. virginalis*, який спочатку був не пристосований до нового середовища, здатен приживатися, процвітати і навіть витіснити місцеві види, не зважаючи на низьку генетичну варіацію.

4.4 Креветка *Macrobrachium nipponense*

Морфологічні ознаки та молекулярні дані дозволяють віднести досліджені зразки креветок до виду *M. nipponense*. Філогенетичні зв'язки української *M. nipponense* підтвердили одне з припущень про інвазивну історію виду, вказуючи на китайське походження популяції. Попередні джерела подавали суперечливу інформацію походження дністровської популяції – передбачався китайський (Alekhnovich & Kulesh, 2001), так і японський (Stepanok, 2014) шлях інвазії (докладніше в Son et al., 2020b). Встановлено, що секвеновані українські макробрахіуми характеризуються низьким генетичним різноманіттям і мають один гаплотип разом із креветами з Китаю. Аналіз виявив, що в різних регіонах інвазії по всьому світі трапляються різні гаплотипи: наприклад, у сусідньому Каспійському басейні (Іран, Дагестан, Ірак) поширені інші гаплотипи.

Macrobrachium nipponense в нативному регіоні має велике нуклеотидне різноманіття (Chen et al., 2017), характеризується статевим деморфізмом (Chen et al., 2015) та має суттєві морфометричні відмінності між популяціями з прісних та лиманних водойм, яке пов'язують з еволюційним походженням, географічними подіями, та / або адаптацією до навколишнього середовища (Mashiko, 1983a, b; Mashiko, 2000; Chen et al., 2015). Нерест також має

відмінності між популяціями – лиманна відкладає велику кількість дрібних яєць, а прісноводна – невелику кількість великих яєць (Mashiko, 1983a). Зростання особин відрізняється: в верхніх прісноводних шарах воно помітно пригнічене; при цьому нерестяться більшість самок у віці 1 рік, тобто в той же самий сезон розмноження, що і більші за розміром лиманні самки (Mashiko, 1983b). У діосліджені К Машіко (Mashiko, 2000) таку тенденцію до менших розмірів тіла у зрілих прісноводних самок (порівняно з солоновато-озерними) пов'язують з пластичністю виду, яку вважають ключовою у здатності до колонізації креветок з лиманів внутрішніх прісних водойм: якби звичайна довжина тіла при дозріванні у лиманних популяцій (52,5 мм) була строго фіксованою (на генетичній основі), тоді самкам, які потрапили в прісноводні середовища знадобилось би більше 1 року для статевого дозрівання, оскільки вони зазвичай не досягають таких великих розмірів в прісному середовищі через 1 рік. Таке подовження строку дозрівання особини обов'язково призвело б до зниження виживаності особин. Таким чином, здатність до нересту при розмірах 25,0–30,0 мм сприяє лиманним популяціям поширюватися прісними водоймами.

Виявлена нами інвазивна історія виду, коли креветка поетапно була реєстрована спочатку в Узбекистані та Казахстані, а звідти перенесена в передмістя Москви для аквакультури, згодом в Білорусь, в Молдову і лише після цього стала з'являтися в Дністровському басейні (Son et al., 2020b), говорить про високу здатність *M. nipponense* розповсюджуватись та продуктивно нереститись в екологічно різноманітних середовищах через свою евригалінність.

Дослідження нуклеотидної різноманітності виявило, що в сусідньому Каспійському басейні гаплотипи відрізняються від нашого (рис. 3.20). Виявлене низьке нуклеотидне різноманіття Дністровських креветок може бути результатом генетичного відсіювання під час аквакультурного перенесення креветок, і саме цей гаплотип витримав усі адаптивні виклики на шляху інвазії.

Однак, аби підтвердити (або спростувати) останнє припущення, слід дослідити популяції з решти місць інвазії на шляху експансії виду.

Однак, при транслюванні нуклеотидного вирівнювання в амінокислоти, послідовності не відрізнялись одні від одної, тобто білок *cox I* креветок з сусіднього басейни і з Азово-Чорноморського з біологічної точки зору однакові. Наявність різних гаплотипів може бути наслідком множинної інвазії креветки.

4.5 Новий для України інвазивний молюск *Arcuatula senhousia*

4.5.1 Внутрішньовидове різноманіття *Arcuatula senhousia*

На відміну від попередніх випадків інвазії, де ми спостерігали відсутність нуклеотидного різноманіття, у нового інвазивного двостулкового молюска в басейні Чорного моря, *Arcuatula senhousia*, ДНК-баркодинг та філогенетичний аналіз виявив два різні нові гаплотипи та велику генетичну відстань, яка становить 19,8% (всередині сформованих клад – 1% та 3% для першої та другої клад відповідно).

Таке велике різноманіття є результатом явища подвійної однобатьківської передачі mtDNA (англ. «Double Uniparental Inherence, DUI»), яке є загальною рисою для багатьох різностатевих представників Bivalvia, зокрема для Donacidae, Hyriidae, Margaritiferidae, Mytilidae, Solenidae, Unionidae, та Veneridae (Breton et al., 2007; Theologidis et al., 2008; Passamonti & Plazzi, 2020). Види з DUI характеризуються наявністю двох різних мтДНК, які успадковуються або через самок (F-mtDNA), або через самців (M-mtDNA). Послідовності F- та M-типу геномів можуть мати до 52% нуклеотидної розбіжності (Doucet-Beaupré et al., 2010), мати різний склад генів (Breton et al., 2014; Milani et al., 2013) та порядок генів (Plazzi et al., 2016; Guerra et al., 2017).

Унікальне DUI у двостулкових перебігає за наступною схемою: яйцеклітини та сперматозоїди гомоплазматичні за F- и M-типами відповідно; потім, на стадії зиготи та на початку розвитку усі особини гетероплазматичні; в певний момент (ще повністю не пояснено, як і коли) самки стають

гомоплазматичними з F-типом (і, відповідно, передають F-тип в яйцеклітинах), а от самці гетероплазматичні в соматичних тканинах (може бути і F-, і M-тип), і гомоплазматичні (з M-типом) в гонадах (відповідно, передають M-тип з сперматозоїдами) (Passamonti & Plazzi, 2020).

Вважається, що геноми тварин з DUI успадкуванням еволюціонують швидше ніж геноми типових багатоклітинних тварин, та, ба більше, геном M-типу еволюціонує швидше за F-тип, що пояснюється слабшим селективним тиском гену M-типу через нерівний “розподіл праці” в системі DUI: типові мтДНК тварин функціонують у статевих залозах та соматичних тканинах обох статей, тоді як при DUI – F-тип функціонує в жіночих статевих залозах та соматичних тканинах обох статей, а M-тип – функціонує головним чином у сперматозоїдах і лише частково – у чоловічих соматичних тканинах (Stewart et al., 1996). Цікаво, що в геномах M- та F-типу були виявлені унікальні ділянки, т.н. гендерні *ORF* («*Open Reading Frames*», відкриті рамки зчитування), які не гомологічні жодним з відомих генів, функції яких визначені, та які дуже швидко еволюціонують, що призводить до швидкої втрати гомології (Breton et al., 2014;). Ці *ORF* були знайдені у багатьох видів двостулкових з DUI (Breton et al., 2007; Theologidis et al., 2008), зокрема і для нашого виду *A. senhousia* (Passamonti et al., 2011). Для Unionidae було встановлено міцний зв'язок між DUI та підтримкою гонохоризму (різностатевості) (Breton et al., 2011; Guera et al., 2017). Також вважають, що ці *ORF* беруть участь і у самому механізмі DUI: білки F-*ORF* взаємодіють з нуклеїновими кислотами, прилипають до мембран і виконують роль сигналізації, а от M-*ORF* взаємодіють з цитоскелетом і беруть участь в убіквітації (деградації білків) та апоптозі (Breton et al., 2011; Mitchell et al., 2016). Однак точний характер зв'язку між DUI, визначенням статі і функціями, які F- та M-*ORF* при цьому відіграють, залишаються наразі не до кінця виявленими.

DUI – це унікальна природно гетероплазматична система, в якій дві сильно розбіжні лінії мітохондрій співіснують в одному ядерному тлі. Аналіз

наслідків такої тканинної гетероплазмії додає до розуміння явища геномних конфліктів, які є потенційно шкідливими. Однак, задокументована кореляція між наявністю стратегії DUI та гонохоризмом двостулкових видів (Breton et al., 2011) дозволяє припускати, що, вірогідно, вона відіграє роль у механізмі визначення статі (Bachtrog et al., 2014) і, можливо, є відповідальною за перехід у деяких двостулкових від гермафродитизму до гонохоризму (Millani et al., 2016), адже для двостулкових гермафродитизм вважається типовим (Davison, 2006).

Така унікальна стратегія успадкування потребує застосування певних методологічних рішень під час філогенетичних досліджень, використовуючи лише тканини гонад самців у ролі біоматеріалу. *Arcuatula senhousia* досліджувалась саме таким чином в ряді робіт (Passamonti, 2007, Passamonti et al., 2011; Asif & Krug, 2012).

У роботі американських дослідників Дж. Асіфа та П. Круга (Asif & Krug, 2012) автори виявили еколого-генетичну диференціацію популяцій *A. senhousia* як з нативного регіону (Азії), так з інвазивного (США, Нової Зеландії, і Середземного моря). Авторам вдалося виявити дві генетично дивергентні лінії, так звану тепловодну лінію (зустрічається в Токійській затоці і південному заході Південної Кореї, в південній Каліфорнії, Новій Зеландії), та холодноватоводну (північний схід Кореї, північний захід США, Середземне море). Відображене в філогенезі формування двох клад, які корелюють з екологічними умовами існування тварини (тривалість високих температур води літом), вважається температурною преадаптацією моллюска. Саме цей екологічний фактор може впливати на успіх інвазії – градієнти температури води стримають експансію, обмежуючи розповсюдження уздовж узбережжя.

Наші філогенетичні результати узгоджуються з результатами американських колег (Asif & Krug, 2012), досліджений сіквенс М-типу об'єднався в кладу з Середземноморськими послідовностями (GU001953, Passamonti et al., 2011; AY570032-41, Passamonti, 2007), підтверджуючи

поширення саме холодноводної лінії (*sensu* Asif & Krug, 2012) в Європі. Однак, ми вважаємо, що потрібні ширші дослідження нової Чорноморської популяції *A. senhousia*, аби виявити усе наявне генетичне різноманіття. Такі популяційні дослідження, з залученням великої вибірки з різних середовищ, надали б відповідь, чи заселена у нас виключно холодноводна лінія, чи все ж присутня і друга, тепловодна лінія. Наразі, через обмеженість зразків на момент проведення секвенування (2019 рік) та подальші пандемічні умови (локдаун у 2020-2021 рр.), які не сприяли оперативним лабораторним дослідженням, не встановлено, чи вселення молюсків відбулося за сценарієм ефекту засновника, або мало/має місце багаторазове вселення. Джерело інвазії серед опублікованих в Генбанку послідовностей з нативного регіону також не знайдене (можливо, через недостатньо виявлене нуклеотидне різноманіття в нативному регіоні, лише послідовності, зроблені Asif & Krug, 2012), і не встановлено, чи трапляються в нативному регіоні популяції зі змішаними лініями – і тепло- і холодно-водні разом. Усі ці питання потребують подальших детальних молекулярних досліджень.

Однак, хоча і молекулярні лабораторні дослідження окрім зазначених зразків не проводили, ми були в змозі продовжувати моніторинг популяції в місці інвазії (Сухий лиман, Одеса).

У 2020 році був зібраний польовий матеріал, в якому молюски виявились варіабельними за забарвленням фону стулки, вираженості звивистих смуг, та наявності світлих та темних радіальних ділянок (рис. 3.21). За цими показниками (фон, смуги та світлі/темні ділянки), в літературі для двостулкових, зокрема для *Dreissena polymorpha*, зазвичай визначають Ступінь меланізації (переважання світлих або темних ділянок в малюнку стулки). Її визначають за градаціями коефіцієнту меланізації (деталі в Протасов & Горпинчук, 1997; Протасов, 1998; 2008). За ступенем меланізації описують фенотипи малюнка стулки, яку пов'язують з характером середовища (Протасов и др., 2011), зокрема з освітленістю (Шлехтин, Сидорова, 1990), з термічним режимом (Протасов, 2002). Встановлений також зв'язок

забарвлення з віком (Pavlova, 2014). Є дані про складну генетичну обумовленість малюнка мушлі двостулкових молюсків (Newkirk, 1980) і її кольору (Столбова и др., 1996). Отже, фенотип є не випадковим набором елементів, а обумовлений генетично і пов'язаний з факторами середовища, і ця мінливість може служити передумовою підвищення стійкості популяції до різних впливів. Зважаючи на термічні особливості, відображені в генетиці *A. senhousia* (Asif & Krug 2012), можна припустити, що фенотипічне різноманіття виявлене в Сухому Лимані також пов'язане з умовами середовища існування тварин, які сприяють фенотипічній пластичності виду, адаптуючи його під нові абіотичні та біотичні умови.

4.5.2 Перебіг інвазії *Arcuatula senhousia* в Азово-Чорноморському басейні

Вперше *Arcuatula senhousia* зафіксовано в Чорному морі в 2002 році Румунія (Місу, 2004) (лише одна знахідка живої тварини, і подальших підтверджень існування цього виду в Румунії не було), у 2015 році в Керченській протоці (Kovalev et al., 2017) (знахідка двох живих екземплярів), у 2017 році в Болгарії, в Бургаській затоці (один неповнолітній екземпляр) (Chartosia et al., 2018). (Поява *A. senhousia* в Болгарії очікувалася на основі згожих екологічних умов та присутності виду в сусідніх районах [Karachle et al., 2017], а саме в Мармуровому морі з 2012 року [Öztürk et al., 2017]).

Arcuatula senhousia в північно-західній частині Чорного моря була зібрана в 2018 році в Сухому Лимані та з узбережжя Чорного моря (один мертвий екземпляр) на півночі від Одеси (Zhulidov et al., 2021). Пізніше, у 2020-21 роках, зібрано більше польових матеріалів вже з різних локацій в Сухому Лимані, що свідчить про розповсюдження та успішне закріплення виду.

Цікавим є питання про можливість подальшого поширення виду в акваторії північного Азово-Чорноморського басейну. Хоча тритижневий личинковий період розвитку дозволяє естуарним молюскам розосереджуватись прибережними течіями на великі відстані (Ellingson &

Krug, 2006), однак різні середовища на шляху можуть перешкоджати з'єднанню популяцій та сприяти смертності від стресу та/або конкуренції з нативними видами. Слід також враховувати пре-адаптованість до різних екологічних умов, адже фізіологічна толерантність виду може як диктувати початковий успіх подальшої колонізації, так і обмежувати поширення уздовж берегової лінії після акліматизації. Окрім зазначених факторів, сприяти подальшій експансії *A. senhousia* може транспортування дорослих особин з іншими двостулковими, з плавучими субстратами та / або на невеликих човнах (Wasson et al., 2001; Davidson et al., 2009), і наявність в регіоні численних великих заток з діючими портами, в які може надходити велика кількість личинок з баластних вод (з яких була секвенована ДНК *A. senhousia* в голландських портах, див. Slijkerman et al., 2017), і обростань на корпусах суден (Ruiz & Crooks, 2001). Необхідні регулярні сезонні польові дослідження потенційних середовищ існування для відслідковування розповсюдження *A. senhousia*, а також морфологічні та молекулярні популяційні дослідження для виявлення різноманіття популяції.

Підсумовуючи, усі знахідки, та новий польовий матеріал 2020-21 рр. свідчать про екологічну стабільності виду в даній місцевості, та його закріплення в місцевому угрупованні тварин. В басейні Чорного моря мало місцевих двостулкових видів з біссушим прикріпленням до субстратів, і, схоже, *A. senhousia* знайшла вільну нішу (Zhulidov et al., 2021).

4.6 Морфовиди та таксономічний статус інвазивних корбікул в Україні

Як вже зазначалось в Огляді літератури, *Corbicula* мають особливості репродуктивної стратегії в місцях інвазії («яйцевий паразитизм»), який веде до проблем в застосуванні філогенетичної видової концепції до представників роду для таксономічної ідентифікації (Моргун та ін. 2021). В наступних підрозділах ми спершу окреслимо детально ці проблеми і продемонструємо на отриманій нами послідовності корбікули із затоки Бузунчук, чому результати реконструкції філогенезу неможливо коректно тлумачити для ідентифікації

таксону, а потім, в другому підрозділі, – розглянемо таксономічний статус та різноманіття молюсків *Corbicula* в Україні та інших регіонах інвазії. В останньому, третьому розділі, розглянемо методологічні аспекти вивчення конхіологічної мінливості цих молюсків.

4.6.1. Унікальність видової концепції в молюсків роду *Corbicula*

Двостулкові молюски роду *Corbicula* є успішними світовими вселенцями (Darrigran, 2002; Illarri et al., 2012) завдяки своїй здатності до швидкого росту, ранній статевій зрілості, наявності різних репродуктивних стратегій, високій плодючості та здатності оселюватись на різноманітних субстратах (McMahon, 2002; Sousa et al., 2008; Gomes et al., 2016). В нативних регіонах цим молюскам характерне як статеве (Siripattrawan et al., 2000; Glaubrecht et al., 2003; Korniushev, 2004) так і безстатеве розмноження (андрогенез), в той час як у інвазійних регіонах – лише безстатеве (Glaubrecht et al., 2003; Hedtke et al., 2008).

Таксономія роду *Corbicula* складна через відсутність єдності у дослідників стосовно кількості валідних видів роду: в Китаї від шести (Prashad, 1929) до лише двох (Morton, 1986); в Африці один вид *C. fluminalis* (Morton 1986), або існують нативні *Corbicula africana* (F. Krassus, 1848) і *Corbicula consorbina* (Cailiaud, 1823); у Японії один вид *Corbicula fluminea* Muller 1774 (Morton 1986), або чотири різні види: *C. fluminea*, *Corbicula japonica* Prime 1864, *C. leana* та *Corbicula sandai* Reinhardt 1887 (Habe, 1977). Такій плутанині сприяє морфологічне розмаїття молюсків та різну інтерпретацію, які ознаки стулків є важливими для ідентифікації.

Окрім високої мінливості морфології стулків, андрогенетичне розмноження деяких видів ускладнило використання традиційних таксономічних та філогенетичних методів для класифікації. Гермафродитні *Corbicula* з біфлагеллятними сперматозоїдами здатні до андрогенетичного запліднення – «яйцеклітинний паразитизм» (egg parasitism) або «захоплення мітохондріального геному» (mitochondrial genome capture), коли ядро

яйцеклітини замінюється ядром сперматозоїда, але мітохондрії при цьому походять від материнської клітини. В результаті, потомство є клонами чоловічих батьківських клітин (Ishibashi et al., 2002; Lee et al., 2005; Pigneur et al., 2012; Sano et al., 2020). У інвазивних і нативних регіонах різні лінії *Corbicula* можуть гібридизувати (Pfenninger et al., 2002; Lee et al., 2005) і є дані про неповне заміщення генетичного матеріалу ядра яйцеклітини, що приводить до змішаного ядерного геному (Pigneur et al., 2012). Внаслідок такого у розмноження і невідповідностей геномів, ідентифікація *Corbicula* за допомогою методів баркодингу є проблематичною, оскільки результати дослідження мітохондріальних генів можуть не збігатися з результатами ядерних генів і, відповідно, з зовнішньою морфологією молюсків (Komaru et al., 2012; Peñarrubia et al., 2017).

Наприклад, секвенований нами зразок корбікули із затоки Бузунчук (називають морфотипом «R», або форма «B» в США) має один гаплотип з послідовностями корбікул з Архангельська (Росія), річки Юрас (морфотип «Ric»), з США (форма «A»), з Нідерландів, річки Рейн, з Франції, річок Луари, Гарони та Мозель, з Угорщини, річки Пакш та послідовностей морфотипу «S» з річки Маус (Bespalaya et al., 2018; Siripattrawan et al., 2000; Lee et al., 2005; Renard et al., 2000; Bódis et al., 2011; Pigneur et al., 2011). Таким чином, бачимо невідповідність морфології та молекулярних даних.

З огляду на складність питання, чи слід враховувати цитоплазматичну спадковість у контексті окремості виду *Corbicula*, та як при цьому застосовувати філогенетичну концепцію виду (Моргун та ін., 2021), в оцінці морфологічної варіації українських корбікул та встановлення таксонів ми застосовуємо у подальшому морфовидову (типологічну) концепцію виду й оперуємо поняттям «морфовид» замість «вид». Незважаючи на першочергову причину такого рішення, яка полягає у складнощах інтерпретації молекулярних даних, ця концепція має перспективи в ширшому значенні: генетична інформація для багатьох сучасних видів по всьому світу все ще відсутня та / або не може бути отримана взагалі (наприклад, для викопних

видів, або для сучасних видів, для яких відомі тільки стулки), що ускладнює побудову таксономічної системи роду. Крім того, бракує інформації про спосіб життя та деталі анатомії для застосування біологічної концепції виду, зокрема свідчення про спосіб розмноження та особливості будови тіла або відсутні для багатьох матеріалів (зокрема типових), або не можуть бути отримані, як, наприклад, для викопних видів і для видів, відомих тільки за фотографіями. З огляду на всі ці обставини використання морфовидової концепції виду є найефективнішим підходом до вивчення морфологічного різноманіття конхіологічних ознак корбікул. Варто відзначити, що вона не суперечить ні біологічній концепції, ні філогенетичній, а лише дозволяє розділяти види, використовуючи відмінності в морфології

4.6.2 Морфовиди, мінливість і таксономія *Corbicula*

В басейні річки Дунай ми ідентифікували *C. leana* і *Corbicula* sp. в ході нашого дослідження. Це морфологічне різноманіття було порівняно з матеріалом з Європи, Бразилії та Азії, та з тим, що опублікований в науковій літературі. Загалом, морфометричний аналіз виділив види *C. fluminalis*, *C. fluminea*, *C. leana* та *Corbicula* sp. Нижче ми обговоримо систематику цих прісноводних *Corbicula*, та які є європейські інвазивні лінії.

Нативний ареал *Corbicula fluminalis* охоплює Близький Схід, басейн Каспійського моря, Африку та Центральну Азію, тому його класифікують «західним» (Korniushin, 2004). Цей молюск був описаний з річки Євфрат (“fluvio Asiae Euphrat”, тип у Копенгагенському зоологічному музеї) (Müller, 1774). Протягом останніх кількох десятиліть він повідомлявся в Європі інвазивним, зокрема у Бельгії (van Peursen, 2013), Франції (Marescaux et al., 2010), Німеччині (Glöer & Meier-Brook, 1998), Португалії, Польщі, Люксембурзі, Швейцарії, Італії, Австрії, Україні, Румунії та Сербії (Piechowski & Wawrzyniak-Wydrowska, 2016; Bodon et al., 2020).

Наступні два види, *C. fluminea* та *C. leana*, мають поширення у Східній Азії. Нативний ареал *C. fluminea* включає Китай, Тайвань і Корею (Kuroda,

1938; Lee & Kim 1997; Lee, 2019), тоді як ареал *C. leana* – охоплює лише Японію та Корею (Kuroda, 1938; Lee & Kim, 1997; Houki et al., 2011, Komaru et al., 2013; Lee, 2019). Ці види анатомічно та ембріологічно відрізняються від східноазійських різностатевих видів, від естуарного *C. japonica* та від «китайської» *Corbicula fluminalis* (тимчасова назва, потребує перегляду) бо мають пелагічну личинкову стадію, та від прісноводних *C. sandai*, які відкладають яйця на дно (Harada & Nishino, 1995; Komaru et al., 1998; Korniushev, 2004).

Corbicula fluminea зазначається інвазивним в Європі, та подекуди називається «круглою» формою («R») в літературі (Glöer & Meier-Brook, 1998; Rajagopal et al., 2000; Aldridge & Müller, 2001; Domagała et al., 2004; Paunović, 2007; Marescaux et al., 2010; Bódis et al., 2011). Однак, генетичне дослідження гену *cox1* показало, що «кругла» форма є специфічною для *C. leana*, тоді як більш рідкісна «кругла, світла» форма («Rlc») (відома з Франції та європейської Росії) відповідає як раз *C. fluminea* (Pigneur et al., 2011; Bernal et al., 2020). Таким чином, теперішнє поширення *C. fluminea* Європою неясне, і потребує перегляду, адже, ймовірно, в ряді наукових робіт вид був ідентифікований як *C. leana*.

Інвазивні види *Corbicula* важко розрізняти на тлі високої морфологічної мінливості. За даними Korniushev (2004), корисною ознакою є специфічний паттерн ребер на поверхні стулки: *Corbicula fluminalis* має скульптуру типу I (тонкі ребра), тоді як *C. fluminea* та *C. leana* – тип II (з грубими ребрами) (рис. 2.3-А) Це дозволяє легко розрізняти європейські популяції *C. fluminalis* та інші інвазивні корбікуліди. Проте, подібність у скульптурі між *C. fluminea* та *C. leana* вимагає використання інших ознак для коректної таксономічної дискримінації між ними, як от форма постеріорного краю стулки та положення верхівки.

Загалом, ідентифікація корбікул в Європі проводилась (і наразі інколи проводиться) згідно з ревізією Б. Мортонна (Morton, 1986). Цей автор використав схожість голотипу *C. fluminea* з ювенільними *C. leana* як причину

для синонімізації цих видів. Це таксономічне рішення нещодавно піддали сумніву (Bespalaya et al., 2020), і, як вже зазначалося вище, вид *C. leana* переописали на основі молекулярних даних. Хоча ці дослідники і підтвердили ідентичність останнього виду та європейських зразків «круглої» (R) форми на основі ключових молекулярних досліджень (Marescaux et al., 2010 та Pigneur et al., 2011), проте вони не надали чітких морфологічних ознак для розрізнення між *C. fluminea* та *C. leana*. Тому однією з цілей нашої роботи, окрім загального вивчення морфологічної мінливості українських корбікул, було також порівняння виділених під час нашого дослідження морфовидів. У параграфах нижче ми окреслимо типові ознаки для кожного з цих морфовидів, а також спільні для них ознаки, діапазони варіації цих ознак, морфтипи та зазначимо, які морфовиди знайдено в Україні. Також ми обговоримо наявні в літературі таксономічні проблеми, зокрема можливі неточності ідентифікації.

Corbicula fluminalis. Вид має регулярно та близько розташовані ребра і витягнуту верхівку (рис. 3.22-А, додаток М). Колір стулок від жовтого до темно-коричневого на зовнішній стороні, та фіолетовий – на внутрішній (Korniushin, 2004). Стулки представлені «сідлоподібною» формою («S») (в Європі), асиметрично трикутною (безпосередньо лектотип *C. fluminalis*, див. Korniushin, 2004, рис. 2-А) та овальною (колись значилась окремим видом *C. purpurea*, але наразі синонімізований). Під час дослідження мінливості *C. fluminalis* в її нативному ареалі (заснованого на аналізі оцифрованих колекцій Національного музею природничої історії, Париж), ми також виявили молюсків «сідлоподібної» форми у водоймах середземноморських частин Сирії.

Чітко окреслити географічне поширення виду наразі важко. По-перше, частина європейських *Corbicula* sp. (проміжні між *C. fluminalis* та *C. leana*) могла бути ідентифікована як *C. fluminalis*, а, по-друге, під час аналізу наявної літератури щодо поширення виду, ми виявили деякі неясності в низці ревізій (Morton, 1982, 1986; He & Zhang, 2013).

Про цього молюска (до досліджень Б. Мортон) не повідомляли зі Східної Азії, і вважалося, що в річці Перла в південному Китаї нативним естуарним видом є *C. manilensis* (Philippi, 1841). Деякі зразки цього виду були морфологічно подібні до *C. fluminalis* і у працях Б. Мортон вони були ідентифіковані як *C. fluminalis* (Britton & Morton, 1979; Morton, 1982, 1986). Згодом інші дослідники (Park & Kim, 2003; Korniushev, 2004) провели морфологічні, анатомічні, ембріологічні та генетичні дослідження цієї «китайської» *C. fluminalis* з річки Перли та виявили її відмінність як від *C. fluminalis*, так і від інших прісноводних андрогенетичних форм (Korniushev, 2004). Незважаючи на ці відмінності, жодних висновків щодо таксономічного статусу вивченого матеріалу автори не зробили.

Corbicula fluminea. Вид має грубі, широко і нерегулярно розташовані ребра (типу II) і центрально розміщену верхівку та, як правило, круглу форму стулки (рис. 3.22-В, додаток М). Стулка в основному симетрична (Lee & Kim, 1997, Houki et al., 2011), але асиметрія подекуди виникає, коли верхівка розміщена позаду (Wang et al., 2014, рис. 2). Саме ця симетричність стулки відрізняє вид від європейської «круглої» форми з апостеріорним розташуванням верхівки. Внутрішньовидові морфотипи цього виду розрізняють залежно від кольору поверхні стулки (Houki et al., 2011; Komaru et al., 2013; Wang et al., 2014). Хоча стулки *C. fluminea* (і лектотип виду) зазвичай мають однакову висоту і довжину (Lee & Kim, 1997, Houki et al., 2011), недавнє дослідження різноманітності у нативному районі на Тайвані виявило ще й широкі овальні стулки (Hsu et al., 2020).

Важливим для ідентифікації *C. fluminea* часто зазначають ознаку забарвлення. Стулки з молочно-світлим забарвленням внутрішньої поверхні стулки дуже поширені в нативному ареалі (Houki et al., 2011, Рисунок 1-В, Yamada et al., 2010, Рисунок 2-В Lee, 2019, Рисунок 18; Hsu et al., 2020, малюнок S1; це дослідження, CN1). У Кореї ознаку забарвлення пропонували для розрізнення *C. fluminea* (світла внутрішня поверхня) з *C. leana* (фіолетова).

Вид *Corbicula fluminea* з молочно-світлим забарвленням реєструвалась в інвазивному ареалі як «кругла, світла» форма («Rlc»), і зустрічається в нижній течії річки Рона (Mouthon, 2000; Marescaux et al., 2010), з півночі Європейської частини Росії (Bespalaya et al., 2018), та частина матеріалу в Італії (Bodon et al., 2020) мають подібну морфологію (але ідентифікований як *C. leana* або *C. cf. fluminea* у статті). Однак, стулки з фіолетовим забарвленням внутрішньої поверхні стулки наявні і в нативному ареалі виду, зокрема в озері Датонг у центральному басейні річки Янцзи (Wang et al., 2014), на острові Хайнань, Китай (це дослідження, CN1), і на Тайвані (Hsu et al., 2020). *Corbicula fluminea* також зареєстрована на Піренейському півострові (Peñarrubia et al., 2017), де наприкінці 20 століття було виявлено симетричну кругло-трикутну *C. fluminea* з фіолетовим кольором на внутрішній поверхні стулки (Araújo et al., 1993). Таким чином, забарвлення не може бути надійною діагностичною ознакою для ідентифікації цього виду. Це також підтверджує нещодавнє дослідження колег з Азії (Hsu et al., 2020), де виявили високу внутрішньовидову мінливість кольору у *C. fluminea* в межах нативного ареалу, на який, схоже, впливає не тільки генетика, але й умови навколишнього середовища.

Corbicula leana. Аналіз наших зразків та ілюстрацій з літературних джерел виявив, що цей вид в межах нативного ареалу історично формував два стабільні географічні морфотипи («японський» та «корейський»), але зараз, як в районах інвазії, так і в частині нативного ареалу, зокрема де співіснує з інвазивною *C. fluminea*, вірогідно формуються чисельні нові форми мінливості.

Обидва «географічних» морфотипи мають скульптуру II типу, як і у *C. fluminea* (рис. 3.22-F, додаток М). Довжина стулки помітно перевищує висоту, надаючи їй овальний або широкотрикутний вигляд (Bespalaya et al., 2021). Зовнішній колір має спектр градацій від зеленувато-жовтого до оливково-коричневого (Park et al., 2002; Houki et al., 2011; Lee, 2019). Можливо, через різне кольорове сприйняття один і той самий колір європейські дослідники

описували як жовтий, а азійські – як зелений. Внутрішнє забарвлення стулки зрілого молюска є фіолетовим (Park et al., 2002; Houki et al., 2011; Lee, 2019), однак це може відрізнятися у ювенільних особин (рис. 2.5-С).

Номінативний «японський» морфотип представлений голотипом *C. leana* (рис. 4.28–А). Він має відносно сплюснуту верхівку і плавно заокруглені края стулки, що робить її овальною на вигляд. Положення верхівки, яка зсунута до переднього (антеріорного) краю, робить стулку трохи асиметричною. Окрім голотипу, ці особливості добре помітні на ілюстраціях із кількох джерел (Park et al., 2002; Yamada et al., 2010).

На відміну від цього, «корейська» *C. leana*, спочатку описана як *Corbicula producta* Martens, 1905 (голотип на рис. 4.28–В), відрізняється формою свого заднього (постеріорного) краю: він більш різко і прямо відтягнутий від верхівки та виглядає начебто зрізаним (а не плавно заокругленим, як у японського). Така усічена форма заднього краю характерна для багатьох двостулкових молюсків та позначається латинським терміном «subtruncata». У корейській літературі *C. producta* вважається молодшим синонімом *C. leana* (Lee, 2019). Ці особливості корейського морфотипу добре помітні на ілюстраціях в ряді джерел (див. Kuroda, 1938, рис. 9; Glaubrecht et al., 2007, рис. 3-Е; Vinarski, 2016, рис. 7-С, D4; Lee, 2019, рис. 20). Слід зазначити, що ці диференційні ознаки морфотипів (більш сплюснена верхівка у японських, та більш зрізаний (усічений) постеріорний край у корейських популяцій) алометрично змінюються під час росту (рис. 2.5-С).



Рис. 4.28. А - голотип *Corbicula leana* USNM 122429 (© Смітсонівський інститут, Національний музей природознавства; Автор: Міг Дулі Джонсон, доступний за ліцензією Creative Commons Zero (CC0); <http://collections.si.edu/search/results.htm?view=&dsort=&date.slider=&q=corbicula+leana>); В - лектотип *Corbicula producta* (за Vinarski, 2016, змінено). Шкала: 1 см.

У наших матеріалах «японський» морфотип можна ідентифікувати для всієї сукупності екземплярів з Ірландії та М'янми (IE1, MM1), а решта європейських зразків – повністю «корейського» (UA2, UA3 та HU2), або ж – частково «корейського» і водночас включали різні проміжні варіації та відхилення (NL1, DE1, PL2, PL3). Наприклад, в зразках з басейну Північного моря NL1 та DE1 частина особин мала «проміжну» лінію заднього (постеріорного) краю, тому морфотип для них надійно не ідентифікований. До того ж, в значній частині зразків з «зрізаною» формою постеріорного краю, доволі мінливим була ознака положення верхівки: або зсунута до антеріорного краю, або мала центральне розміщення верхівки (у частині зразків – UA3, NL1, DE1; або у більшості – PL2, PL3). (При цьому, у польських зразків це призводило до значної зміни загального вигляду.) Окрім цих варіацій, бразильська популяція (BR1) поєднує в собі основні характерні ознаки японського та корейського морфотипів *C. leana*: мають сплюснену верхівку та водночас зрізаний задній край (див. рис. 3.22-Е). Через таку комбінацію ознак, ступки з вибірки класифіковані як *Corbicula* cf. *leana*.

Такі морфологічні відхилення від окреслених географічних морфотипів *C. leana* подекуди трапляються і в інших сучасних дослідженнях, як от ступки *C. leana* з повністю симетричною та широкоовальною формою (з

центрального положення верхівки), які виглядають проміжними між *C. leana* та *C. fluminea*. Такі стулки не повідомлялися в давніх роботах ні з Кореї, ні з Японії, і трапляються насамперед у районах співіснування цих двох видів. Серед матеріалу з нативного регіону, такі особливі стулки знані з Японії, а саме в локаціях співіснування *C. leana* з інтродукованою *C. fluminea* (див. Houki et al., 2011, рис. 1-A). Окрім того, такі стулки знані в інвазивному ареалі як американська “Form B” (Lee et al., 2005, рис. 1; Haponski & Foighil 2019, рис. 1-B) – в усіх цитованих трьох роботах, вони відносяться до відомих гаплотипів *C. leana* за мітохондріальними маркерами. Одиначні стулки з такою морфологією були виявлені і серед нашого матеріалу, зокрема у зразці DE1.

Окрім того, в опублікованих ілюстраціях в роботах про *Corbicula* з середземноморської Європи (Quiñonero-Salgado & López-Soriano, 2016; López-Soriano et al., 2018; Bodon et al., 2020) є подібні симетричні овальні стулки, а також широкий спектр інших перехідних форм між *C. leana* та *C. fluminea*. Наприклад, є стулки, які по формі відповідають голотипу *C. leana*, але мають молочно-світле забарвлення внутрішньої поверхні стулки (ознака, характерна для *C. fluminea*, а фіолетове – для *C. leana*) (Bodon et al., 2020, рис. 8). Також, є і інші перехідні форми, зокрема вищезазначені симетричні широкоовальні стулки (з центрального положення верхівки), але з молочно-світлим забарвленням (Bodon et al., 2020, рис. 8). Цілком ймовірно, що всі ці перехідні форми є результатом гібридизації між *C. leana* та *C. fluminea*, та, ба більше – саме сучасної гібридизації, адже в давніших літературних джерелах присвяченим нативним популяціям вони не проілюстровані (хоча, можливо тому, що були рідкісними, або тому, що досить часто у старих таксономічних роботах проміжні форми не згадувалися, оскільки вони порушували типологічну концепцію виду). Втім, в процитованих сучасних публікаціях вони не є рідкісними і проілюстровані неодноразово. Необхідні подальші ретельні дослідження, щоб зрозуміти, чи виникли ці форми внаслідок гібридизації, чи зустрічаються вони у нативних популяціях, або чи еволюціонували вони під час інвазій.

Corbicula sp. Ця криптогенна форма (UA1, HU1 та PL1) демонструє поєднання ознак вищезазначених видів: стулка сідлоподібної форми (як у *C. fluminalis*) та скульптурою більш схожою на II тип (характерна для *C. fluminea* і *C. leana*), але з особливостями ребер, які хоч і грубіші і нерівніші ніж у *C. fluminalis*, проте рідші ніж у *C. fluminea* та *C. leana* (рис. 3.22-С).

Українська проба (UA1) зібрана з дельти Дунаю, де ця морфа співіснувала разом з *C. leana* і спочатку була ідентифікована «дунайською» *Corbicula fluminalis* (Son, 2007). Пізніше, подібні зразки з Угорщини назвали «morph II», де наявність як *C. fluminea*, так і *C. leana* була підтверджена молекулярно (Bódis, 2011). Крім того, зразки з Польщі та Сербії, раніше ідентифіковані *C. fluminalis* (Labecka et al., 2005; Paunović, 2007; Skuza et al., 2009), також належать до цього морфовиду. Цілком ймовірно, що його плутали із *C. fluminalis* і інші фахівці (особливо якщо вони слідували ідентифікаційним ключам Glöer & Meier-Brook [1998]), тому чітке розповсюдження цього морфовиду в світі наразі важко окреслити.

Морфологічне різноманіття криптогенних *Corbicula* sp. спостерігається в контактних зонах *C. fluminalis* та *C. leana*, і мабуть, є гібридного походження. Гібридизація серед ліній *Corbicula*, яка веде до поліполоїдизації особин, є наслідком андрогенетичної стратегії розмноження, яке притаманне цим молюскам (Komaru et al., 1998; Ishibashi et al., 2002, 2003; Ishibashi & Komaru, 2006) (детально було описане в попередньому підрозділі 4.6.1. *Унікальність видової концепції в молюсків роду Corbicula*).

Відповідність між триплоїдією та морфологією стулки, характерне для криптогенної *Corbicula* sp., продемонстровано в польській популяції *C. fluminalis* з річки Одра (Skuza et al., 2009). В цей же час у басейні річки Рейн, недалеко від місця існування «сідлоподібної» форми (*C. fluminalis*), усі особини виявилися диплоїдними (Pfenninger et al., 2002). Тим не менше, останні дослідження (особисте спілкування з Лабєцька А.М.) показують, що

всі *Corbicula* spp. (PL1, PL2, PL3) з однієї популяції в річці Одра є триплоїдними, але мають різні каріотиби.

Подібні «сідлоподібні» стулки трапляються серед східноазіатських *Corbicula* spp. із солонуватої води, що стікає в Японське море та Південний Китай. Однак, способи розмноження та розвитку цих видів характеризуються гонохоризмом, гаплоїдними сперматозоїдами, пелагічною личинкою, що не притаманне інвазивним прісноводним *Corbicula* в Європі (Kuroda, 1938; Затравкин & Богатов, 1987; Korniushev, 2004). Наприклад, у Польщі *Corbicula* sp. (PL1), а також інші вивчені молюски з річки Одра, гермафродитні та мають біфлагелятні сперматозоїди (Labecka, 2009), що відрізняється від вищезазначених лиманих видів. Українські популяції з Дунаю (UA1, UA2 та UA3) не вивчали у цьому відношенні.

Фенотипова пластичність, що призводить до появи нових криптичних ліній чужорідних видів в інвазивних регіонах, що супроводжується низьким генетичним різноманіттям інтродукованих популяцій, як це спостерігається у інвазивних *Corbicula* (Etoundi et al., 2019), вписується в концепцію генетичного парадоксу біологічної інвазії (Estoup et al., 2016). Вважається, що адаптивна пластична реакція може дозволити популяціям рухатись до нового адаптивного оптимуму в інтродукованій зоні, збільшуючи інвазивність, та дозволяючи підтримувати придатність загарбника в несприятливих умовах. Таким чином, виявлений морфовид *Corbicula* sp., який є проміжним між *C. fluminalis* та *C. leana*, може бути результатом цієї інвазивної стратегії, а гібриди – здатні витримувати адаптаційний виклик в інвазивних регіонах.

4.6.3 Морфометричні підходи до вивчення мінливості роду *Corbicula*

Як і в випадку з рапаною, ми мали на меті не тільки виявити мінливість представників роду, але й встановити методологію їх розрізнення.

Перший метод базувався на характеристиках стулки, як от тип скульптури, ступінь розгинання замка, та контур заднього краю – все це можна дослідити, не розкриваючи і не подрібнюючи мушлю, яке призведе до загибелі

моллюсків. Це корисні ключі для польового моніторингу. Другий метод включав дослідження співвідношення довжини і висоти мушлі (IR) і часто використовується в літературі для досліджень корбікул (Alf, 1992; Renard et al., 2000; Sousa et al., 2007 ; Pigneur et al., 2011; Bódis, 2011; Wang et al., 2014; Bodon et al., 2020, та інші). Однак виявлено, що IR перекриваються серед морфовидів (додаток Н), що ускладнює встановлення певних видових показників IR для кожного окремого таксону. Третій метод застосований нами, аналіз форми замка за допомогою геометричної морфометрії, вивчає більш стабільні та постійні морфологічні ознаки, а саме форму замка стулки, яка вважається, обумовлена генетично (Clark et al., 2020).

Геометрична морфометрія, використана в нашому дослідженні, виявилася корисним та зручним інструментом і продемонструвала високу ефективність для делімітації морфовидів *Corbicula*. Цей метод відкриває перспективи для подальших досліджень, як от вивчення морфологічних тенденцій зміни форми під впливом факторів навколишнього середовища, також для визначення меж мінливості як на між-, так і на внутрішньо-специфічному рівнях, та для вивчення музейних матеріалів (зокрема типовий матеріал, колекції), для яких сучасні молекулярні методи не завжди застосовні. (Крім того, враховуючи можливість гібридизації та андрогенного розмноження, молекулярні результати важко інтерпретувати.) Також, геометрична морфометрія може стати в нагоді для дослідження аллометричних паттернів у різних видів *Corbicula*, та для таксономічної ідентифікації, і для виділення повсякденно виникаючих інвазивних криптичних морфовидів.

4.6.4 Особливості екології моллюсків роду *Corbicula* в регіоні досліджень

Окрім особливих репродуктивних стратегій, виникненню морфологічних варіацій моллюсків можуть сприяти абіотичні фактори водного середовища.

Якість води. В рамках нашого дослідження були виявлені аномальні стулки з вигином на постеріорній стороні мушлі UA1 (<1%, рис. 3.22-D). Ці стулки могли виникнути як наслідок однієї з великих техногенних катастроф в історії прісноводні екосистеми в Європі – витік забруднюючих речовин у місті Бая-Маре (Румунія) у січні 2000 р. Після аварії дамби, близько 100 000 м³ забрудненої води, що містить до 120 тон ціаніду та важких металів, вилилося в басейн річки Тиса, а потім – у головний потік Дунаю і швидко дійшла до його дельти. Ця техногенна катастрофа вплинула на обидві зони експансії *Corbicula*: Українська дельта Дунаю зазнала сильного впливу важких металів, а область навколо гирла Тиси – як важких металів, так і ціанідів (Dyatlov et al., 2001; Soldán et al., 2001; Macklin et al., 2003; Cunningham, 2005). Подібні аномалії (вигин на постеріорній стороні стулки) та супутні пухлини в зябрових клітинах та травній системі спостерігались у балтійських молюсків *Limecola balthica* (Linnaeus, 1758), які мешкали на токсичних донних субстратах, і саме ця токсичність була запропонована авторами, як основне джерело канцерогенного фактору, що вплинув на виникнення аномальної морфології стулок (Sokołowski et al., 2004).

Субстрат. Поверхня, на якій живе молюск вважається рушійною силою для зміни морфології стулки (Eagar et al., 1984). Однак, зразки *C. leana* з Ірландії (IE) були взяті з глинистого ґрунту; польські зразки *Corbicula* sp. (PL1) та *C. leana* (PL2, PL3) – піщане та мулисте річкове дно; українська *Corbicula* sp. (UA1) – щільна грязь і глина, *C. leana* (UA2) – грязь з піском і гравієм; зразки з Нідерландів (NL1, NL2) – річковий пісок. Отже, різні морфовиди співіснують разом на одному субстраті, і прямої кореляції морфології молюсків характеристик субстрату нами не виявлено.

4.7 Генетичний парадокс біологічних інвазій

Біологічні інвазії, можна оцінювати в контексті явища Генетичного Парадоксу Біологічних Інвазій (ГПБІ) (Sax & Brown, 2000), в якому парадоксальним є те, що під час вселення не пристосовані спочатку до нового

середовища популяції тварини зі збіднілим генетичним потенціалом через ефект горловини здатні закріплюватися та процвітати в новому середовищі і часто витіснити місцеві пристосовані види. Дослідники А. Єстоуп зі співавторами у своїй роботі (Estoup et al., 2016) зазначали, які саме характеристики повинні мати екзотичні популяції, аби їхні інвазії можна було називати парадоксальними: 1) популяції мають вирізнятися низьким генетичним різноманіттям; 2) напевно не зазнавати різних шкідливих наслідків, які низькі генетичні варіації можуть давати в короткостроковій перспективі для продуктивності популяції, та 3) стикатися з адаптаційними викликами в новому середовищі. Якщо популяція відповідає всім вищезазначеним критеріям, її сценарій вселення можна класифікувати або як сумнівний (spurious), або як справжній (genious) парадокс інвазії, а в інших випадках, коли популяція не несе однієї з перелічених характеристик, парадоксу немає. Наприклад, парадоксу немає, коли популяції мають велике генетичне різноманіття в регіонах інвазії, навіть більше, ніж у нативному, коли з'являються нові генотипи, зазвичай, внаслідок постійного проникнення в популяцію нових індивідуумів завдяки багаторазовому вселенню. Природний добір в регіоні інвазії може привести до зменшення різноманіття в певному локусі. Однак, згідно з думкою А. Єстоупа та ін., слід вивчати саме нейтральні маркери для об'єктивної оцінки різноманіття (Estoup et al., 2016). Також немає парадоксу, якщо відсутні адаптаційні виклики, коли середовище не відрізняється від нативного.

Сумнівний парадокс характеризується низькими генетичними варіаціями, які виміряні за вибраними нейтральними маркерами. Однак, це необов'язково свідчить втрату різноманіття в локусах, що відповідають за екологічно важливі ознаки. Отже, еволюційний потенціал популяції за такої моделі зберігається (Dlugosch & Parker, 2008; Bock et al., 2015; Dlugosch et al., 2015). Також втрата різноманітності може бути наслідком дії природного добору, коли відбувається успішна адаптація до нових умов навколишнього середовища, що веде до фіксації невеликої кількості алелів, які забезпечують

еволюційний успіх виду (приклади таких інвазій у Maynard Smith & Haigh, 1974). У цих двох прикладах, коли еволюційний потенціал зберігся або відбувся адаптивний добір, справжній генетичний парадокс інвазії відсутній, і такі випадки класифікується як «сумнівний» (*spurious*) парадокс (Estoup et al., 2016).

Справжнім парадоксом можна описати ті випадки, коли деякі особливості генетичних і негенетичних систем популяції дозволяють їм подолати різні шкідливі наслідки збіднілого генетичного потенціалу (Estoup et al., 2016). Наприклад, коли зменшена генетична варіація сприяє зміні деяких рис і є вигідною, як це відбувається в інтродукованих популяціях мурах *Solenopsis invicta*, де вони проявляють меншу агресивність до особин свого виду. У такому разі щільність колоній та чисельність популяції в інвазивних регіонах стають вищими, ніж у нативних (Krieger & Ross, 2002). Також справжнім парадоксом є випадок, коли епістаз є джерелом додаткової генетичної варіації, що веде до прояву екологічно важливих ознак. Наприклад, показаний високий рівень додаткової фенотипічної варіації у острівних жаб *Rana arvalis*, які зазнали ефекту горловини (Knorr et al., 2007). Парадоксально, коли ефект горловини під час вселення підвищує життєздатність завдяки очищенню від шкідливих мутацій і фіксації нових корисних мутацій. Наприклад, бактерії *Pseudomonas aeruginosa* накопичували мутації, що покращували загальний стан культури завдяки дії позитивного відбору (Heilbron et al., 2014). На останок, парадоксальною інвазією є випадок, коли втрата різноманітності компенсується підвищеною адаптивною фенотипічною пластичністю або епігенетичними процесами (ДНК-метилування, модифікація хроматину, див. Bastow et al., 2004), що дає можливість популяціям рухатися до нового адаптивного оптимуму в інвазивному регіоні, незважаючи на потенційно меншу генетичну варіацію (Richards et al., 2006, Davidson et al., 2011). Наприклад, було показано, що подвійне збільшення тривалості періоду розмноження в інвазивних для південної Каліфорнії (США) юнко (*Junco hyemalis*) порівняно з нативними птахами підвищувала

їхню інвазивність завдяки збільшенню в два рази кількості пташенят (Yeh & Price, 2004).

У нашій роботі досліджені тварини демонструють мінливість, яка може бути пов'язана саме з адаптаційними викликами в регіоні інвазії. Мармуровий рак *P. virginalis* заселяє різні прісноводні біотопи. Він демонструє високу пристосованість до нових оселищ і витісняє нативні види. *Procambarus virginalis* відокремився від батьківського виду після інвазії в Європи і перейшов від гонохоризму до партеногенетичного розмноження (клонування), що супроводжувалося автотриплоїдизацією. Це підвищило життєздатність популяцій мармурових раків завдяки їхній адаптивній пластичності попри низьке генетичне різноманіття. Цей випадок можна класифікувати як справжній парадокс.

Між представниками різних видів *Corbicula* в місцях інвазії з'являються гібриди, що належать до нових морфотипів, яких не знаходили в нативних регіонах. Ці гібриди, можливо, краще пристосовані до нових адаптаційних викликів у новому середовищі.

Рапана *R. venosa* суттєво зменшилася у розмірах порівняно з нативною популяцією (навіть з'явилася особлива «карликова» форма), демонструє високу евригалінність (пристосувався до зниження солоності у 8 разів) (Моргун, 2017), має конхіологічну варіабельність (Бондарев, 2010; Morhun et al., 2021a), є евритермним та витісняє нативні види (Топтіков та ін., 2014). Однак цей вид не має нуклеотидного різноманіття за дослідженими маркерами в регіонах інвазії по всьому світу (Chandler et al., 2008). Однак, випадок з рапаною можна класифікувати різним способом з огляду на ГПБІ.

З одного боку, неспадкова фенотипічна пластичність рапани може бути викликана необхідністю пристосуватися до нових умов, і в такому разі це справжній генетичний парадокс, коли попри низький генетичний потенціал популяції, вона виявляється пристосованою. З іншого боку, низьке генетичне різноманіття може бути результатом ефекту горловини, який залишив саме той гаплотип рапани, носії якого успішно пристосувалися до місцевих умов у

всіх регіонах інвазії через преадаптацію. Останній варіант, коли низьке генетичне різноманіття є наслідком ефекту горловини, а висока пристосованість поза межами нативного ареалу виникла завдяки преадаптації, можна класифікувати як сумнівний (*spurious*) парадокс за класифікацією А. Естоупа та ін. (Estoup et al., 2016). Наразі нам залишається невідомим, чи є зменшення розмірів рапан генетично зумовленою адаптацією до перебування в регіонах інвазії.

П'явки *H. europaea*, які походять з Північної або Південної Америки, також зазнали адаптаційних викликів під час інвазії в Європі і в інших частинах інвазивного ареалу. Цьому виду довелось пристосуватись до нових об'єктів живлення, до клімату, гідрології тощо. Вважається, що ці п'явки потрапили в природні водойми з акваріумів, що свідчить на користь її високого адаптивного потенціалу (Reyes-Prieto et al., 2013; Morhun et al., 2021б). Відмічена нами варіабельність забарвлення *H. europaea*, можливо, є відображенням її високої здатності до пристосування до перебування на субстратах різного кольору і структури. Імовірно, високе різноманіття візерунку на тілі цих гелобдел можна пояснити неспадковою фенотипічною пластичністю, яка проявляється попри низький генетичний потенціал за нейтральним маркером, який аналізували в різних регіонах інвазії майже на всіх континентах.

Інвазія креветки *M. nipponense* не характеризується генетичним парадоксом, оскільки для басейну Каспійського моря характерні інші гаплотипи, яких не було знайдено в дністровській популяції, що може свідчити про множинну інвазію виду. Новий чужорідний двостулковий молюск *A. senhousia* демонструє велике нуклеотидне різноманіття в регіонах інвазії, тому в контексті ГПБІ ми класифікуємо цей випадок як відсутність генетичного парадоксу. Ширші популяційні дослідження виявлять точнішу структуру і причини різноманіття, що спостерігається.

Висновки до розділу 4

1. Обговорено особливості мікроеволюції унаслідок інвазії в водойми Азово-Чорноморського басейну .
2. Морфологічна мінливість вибраних тварин обговорена у контексті адаптації до нових умов середовища.
3. Встановлено справжній та уявний парадокси біологічних інвазій на прикладі обраних модельних тварин.
4. Обговорені перспективи та напрями продовження досліджень для *Corbicula* та *Rapana venosa* методом геометричної морфометрії.

Основні положення цього розділу викладені у публікаціях автора [Son et al., 2020б; Morhun et al., 2018а; Morhun et al., 2019; Morhun et al., 2021а; Morhun et al., 2021б; Zhulidov et al., 2021]

ВИСНОВКИ

Проведене дослідження виявило молекулярні ознаки чужорідних водних безхребетних тварин Азово-Чорноморського басейну, продемонструвало особливості їхньої мікроеволюції та адаптації під час інвазії. Їхня морфологічна мінливість має велике значення для пристосування до нових умов існування. Філогенетичний аналіз виявив історичні шляхи інвазії низки вибраних видів.

1. За допомогою молекулярної ідентифікації встановлено присутність 19 видів чужорідних безхребетних тварин в Азово-Чорноморському басейні і підтверджено видовий статус 47 видів нативної фауни водних безхребетних.

2. Зареєстровано два нові чужорідні види для Азово-Чорноморського басейну, п'явку *Helobdella europaea* і двостулкового молюска *Arcuatula senhousia*.

3. *Helobdella europaea*, *Procambarus virginalis* і *Rapana venosa* мають низьке генетичне різноманіття порівняно з нативними популяціями і досить велике морфологічне різноманіття.

4. Філогенетичний аналіз виявив історичний шлях інвазії креветки *Macrobrachium nipponense* з Китаю до Східної Європи. Ці креветки є генетично різноманітними в різних регіонах інвазії.

5. Морфологічний аналіз виявив окремий морфовид *Corbicula* sp., який поєднує морфологічні ознаки *C. leana* та *C. fluminalis*.

6. *Rapana venosa* характеризується специфічними морфами та загальним зменшенням розмірів порівняно з нативними популяціями, що пояснюється пристосуванням до місцевих умов у Чорному морі.

7. “Справжній” генетичний парадокс біологічних інвазій характерний для *P. virginalis* та *Corbicula* sp., які попри своє надзвичайно низьке генетичне різноманіття демонструють значну фенотипічну

мінливість. Інвазію *H. europaea* і *R. venosa* можна охарактеризувати як “справжній” парадокс з огляду на надзвичайно низьке генетичне різноманіття за дослідженим маркером, а також як “сумнівний” парадокс, оскільки їхні мітохондріальні гаплотипи могли зазнати добору в регіонах інвазії. Інвазія *M. nipponense* не характеризується генетичним парадоксом, оскільки наш філогенетичний аналіз свідчить про вселення декількох гаплотипів у регіони інвазії. Інвазію *Arcuatula senhousia* не можна класифікувати як генетичний парадокс через значне генетичне різноманіття в усіх регіонах інвазії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Белецкий, П. (1918). Материалы к познанию фауны моллюсков России. *Труды общества испытателей природы при Харьковском университете*, 49, 69–110
2. Бондарев, И.П. (2010). Морфогенез раковины и внутривидовая дифференциация рапаны *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846). *Ruthenica*, 20(2), 69–90.
3. Бродвій, В.М. (2013). *Еволюційне вчення*. Київ: Академія.
4. Виноградов, А.К., Богатова, Ю.И., & Синегуб, И.А. (2012). *Экосистемы акваторий морских портов Черноморско-Азовского бассейна (Введение в экологию морских портов)*. Одесса: Астропринт.
5. Волошкевич, Е.В., & Сон, М.О. (2002). *Corbicula fluminalis* — новый вид двустворчатого моллюска для фауны Украины. *Вестник зоологии*, 36(6), 94.
6. Гаевская, А.В. (2006). *Паразиты, болезни и вредители мидий (Mytilus, Mytilidae). II. Моллюски (Mollusca)*. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика.
7. Драпкин, Е.И. (1953). Новый моллюск в Чёрном море. *Природа*, 9, 92–95.
8. Заика, В.Е., Сергеева, Н.Г., & Колесникова, О.А. (2010). Вселенцы в донной макрофауне Чёрного моря: распространение и влияние на сообщества бентали. *Морской экологический журнал*, 9(1), 5–22.
9. Затравкин, М.Н., & Богатов, В.В. (1987). *Крупные двустворчатые моллюски пресных и солоноватых вод Дальнего Востока СССР: Определитель*. Владивосток: Дальневосточное отделение Академии Наук СССР.
10. Звягинцев, А.Ю. (2003). Вселение видов в северо-западную часть Японского моря и проблема морского обрастания. *Биология моря*, 29(6), 377–387.

11. Зевина, Г.Б., & Полтаруха, О.П. (1999). Усоногие раки (Crustacea: Cirripedia) Черного моря. *Бюллетень московского общества испытателей природы, отделение биологии*, 104(1), 30–39.
12. Зенкевич, Л.А. (1956). *Моря СССР, их фауна и флора*. Москва: Учпедгиз.
13. Иванов, Д.А., & Синегуб, И.А. (2008). Трансформация биоценозов Керченского пролива после вселения хищного моллюска *Rapana thomasiana* и двустворчатых *Mya arenaria* и *Cunearca cornea*. В *Современные проблемы экологии Азово-черноморского региона. Материалы III Международной конференции (10-11 октября 2007 г.), Керчь* (С. 45-46).
14. Иванов, А.И. (1961). Некоторые данные о количественном распределении рапаны (*Rapana bezoar* L.) в восточной части Черного моря и Керченском проливе и об уменьшении ее размеров. *Доклады АН СССР*, 141(2). 467–469.
15. Иванов, А. И. (1987). Распределение и запасы мидий в Керченском проливе. *Океанология*, 27(5), 850–854.
16. Кантор, Ю.И., & Сысоев, А.В. (2005). *Каталог моллюсков России и сопредельных стран*. Москва: КМК.
17. Кафанов, А.И., & Старобогатов, Я.И. (1971). *Pettancylus petterdi* в СССР и аутинтродукция аквариумных моллюсков в природные водоемы. *Зоологический журнал*, 50(6), 933–935.
18. Ковтун, О.А., Санамян, Н.П., & Мартынов, А.В. (2012). Вселенец – актиния *Diadumene lineata* (Anthozoa: Actiniaria: Diadumenidae) в северной части Чёрного моря. *Морской экологический журнал*, 4(11), 27–38.
19. Ковтун, О.А., Топтиков, В.А., & Тоцкий, В.Н. (2014). Порівняльна морфологічна характеристика *Rapana venosa* (Gastropoda: Muricidae, Rapaninae) з різних акваторій північної частини чорного моря. *Вісник ОНУ*, 19 (1), 68–80.
20. Косьян, А.Р. (2010) Экологическое состояние популяций *Rapana venosa* в северной части Черного моря. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія Біологія*, 3(44), 122–127.

21. Кошелев, А.В. (2003). Гидроидные полипы рода *Cordylophora* в токсикологических исследованиях. *Экология моря*, 64, 105–108.
22. Ляшенко, А.В., Синицына, О.О., & Волошкевич, Е.В. (2005). Донные беспозвоночные — вселенцы в водоемы низовий Дуная. *Гидробиологический журнал*, 41(4), 58–69.
23. Макаров, Ю.Н. (2004). *Фауна України. Decapoda. Т.26*. Київ: Наукова Думка.
24. Марфенин, Н.Н. (1983). Новый вид *Cordylophora* (Hydrozoa, Clavidae) с Черного моря. *Зоологический журнал*, 57(11), 1732–1734.
25. Моргун, Г.М., Сон М.О., & Утєвський С.Ю. (2021). Унікальність концепції виду в молюсків роду *Corbicula* через невідповідність мітохондріального та ядерного геномів. *Novitates Theriologicae*, 12, 274–280.
26. Моргун, Г.М. (2017). Вплив солоності води на деякі життєві показники хижого молюска *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846). (Магістерська дипломна робота Одеського національного університету імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна). Отримано з http://dspace.onu.edu.ua:8080/bitstream/123456789/17764/1/8.04010201_Morhun_Halyna_Mykolaivna1.pdf
27. Николаенко, А.В., & Решетников, В.И. (1991). Исследование долгосрочных изменений баланса пресной воды в Черном море. *Водные ресурсы*, 1, 20–28.
28. Новіцький, Р.О. (2010). Нові види гідробіонтів-аутовселенців у Дніпровському водосховищі. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія Біологія*, 2(43), 373–377.
29. Овсянникова, И.И. (2008). Усоногие раки в литоральной биоте острова Русский (залив Петра Великого). В *Современное состояние водных биоресурсов: материалы научной конференции, посвященной 70-летию СМ Коновалова*, (С. 205). Владивосток: ТИНРО-центр.

30. Мордухай-Болтовской, Ф.Д., Грезе, И.И., & Василенко, С.В. (1969). *Определитель фауны Черного и Азовского морей. АН УССР Ин-т биологии южных морей*. Киев: Наукова думка.
31. Переладов, М.В. (2013). Современное состояние популяции и особенности биологии рапаны (*Rapana venosa*) в северо-восточной части Чёрного моря. *Труды ВНИРО*, 150, 8–20.
32. Плигин, Ю.В. (2016). Первая находка *Ferrissia fragilis* (Tryon, 1863)(Mollusca: Gastropoda) в Киевском водохранилище р. Днепр и некоторые вопросы таксономии, распространения и зоогеографической принадлежности этого вида. *Гидробиологический журнал*, (52,4), 18–26.
33. Протасов, А.А., & Горпинчук, Е.В. (1997). О фенотипической структуре популяций *Dreissena polymorpha* (Pall.). *Гидробиологический журнал*, 33(2), 21.
34. Протасов, А.А. (1998). Интенсивность окраски раковин как фенотипическая характеристика популяций *Dreissena polymorpha* (Pallas) (Bivalvia, Mollusca). *Экология*, 6, 479–482.
35. Протасов, А.А. (2002). Фенотипическое разнообразие популяции *Dreissena polymorpha* в озерной системе, используемой в качестве охладителя тепловых электростанций. *Вестник зоологии*, 36(4), 23—33.
36. Протасов, А.А. (2008). Из опыта исследований популяций и сообществ дрейссены. *Дрейссениды: эволюция, систематика, экология. Институт биологии внутренних вод им. ИД Папанина. ООО «Ярославский печатный двор*, 9–23.
37. Протасов, О.О., Семенченко, В.П., Силаєва, А.А., Тімченко, В.М., Бузевич, І.Ю., Гулейкова, Л.В., Дьяченко, Т.М., Морозова, А.О., Юришинець, В.І., Ярмошенко, Л.П., Морозовська, І.О., Примак, О.Б., Масько, О.М., & Голод, О.В. (2011). *Техно-экосистема АЕС. Гідробіологія, абіотичні фактори, екологічні оцінки*. Київ: Інститут гідробіології НАН України.

38. Пузанов, И.И. (1925). Материалы к познанию наземных моллюсков Крыма. Ч. 1. Моллюски горного Крыма. *Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический*, 33, 48–104.
39. Рогинская, И.С., & Гринцов, В.А. (1990). Голожаберный моллюск *Doridella obscura* Verrill-новый вселенец в Черное море. *Океанология*, 30(5), 855–857.
40. Силаева, А.А., Протасов, А.А., Ярмошенко, Л., & Бабарига, С. (2010). Инвазивные виды водорослей и беспозвоночных в водоеме-охладителе Хмельницкой АЭС. *Гидробиологический журнал*, 46 (2), 13–21.
41. Синегуб, И.А. (1994). О расширении ареала голожаберного моллюска *Doridella obscura* Verrill в Черном море. *Гидробиологический журнал*, 30(3), 106–108.
42. Сідоровський, С.А. (2014). Amphipoda (Crustacea) Харківської області. *Біологічний вісник МДПУ*, 2, 59–66.
43. Сон, М.О. (2006). Экзотические моллюски (Mollusca: Bivalvia, Gastropoda) в пресных и солоноватых водах Украины. *Еколого-функціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища. Вип. 2*, 308–311.
44. Сон, М.О. (2007). *Моллюски-вселенцы в пресных и солоноватых водах Северного Причерноморья*. Одесса: Друк.
45. Сон, М.О. (2020). Біологічні інвазії водних донних безхребетних в Азово-Чорноморському басейні. (Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук, Інститут морської біології НАН України, Одеса).
46. Стадниченко, А.П. (1987). К экологии *Pettancylus australicus* (Tate) (Bulinidae, Miratestinae)—недавнего вселенца в пресные воды СССР. *Фауна и экология животных Кавказа.—Орджоникидзе: Б. и*, 31–36.
47. Стадниченко, А.П. (1990). Прудовиковообразные (пузырчиковые, витушковые, катушковые). В: *Фауна Украины. Т. 29. Моллюски. Вып. 4*. Киев: Наукова думка.

48. Старобогатов, Я.И. (1970). *Фауна моллюсков и зоогеографическое районирование континентальных водоемов Земного шара*. Львов: Наука.
49. Столбова, Н.Г., Пиркова, А.В., Ладыгина, Л.В. (1996). Наследование цвета раковины у мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. *Цитология и генетика*, 30(6), 62–65.
50. Топтіков, В.А. Ковтун, О.О., & Алексєєва, Т.Г. (2014). *Морфологія та фізіологія червоного моллюска Rapa venosa*. Навчально-методичний посібник. Одеса: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 68 с.
51. Чухчин, В.Д. (1961). Рост рапаны (*Rapa bezoar* L.) в Севастопольской бухте. *Труды Севастопольской Биологической Станции*, 14, 169–177.
52. Чухчин, В.Д. (1970). *Функциональная морфология рапаны*. Киев, Наукова думка.
53. Шлехтин, Г.В., & Сидорова, Т.И. (1990). *Популяционные особенности окраски и рисунка дрейссены верхней зоны Волгоградского водохранилища. Фенетика природных популяций*. Москва: Наука.
54. Юришинец, В.И., & Корнюшин, А.В. (2001). Новый для Украины вид двустворчатых моллюсков *Sinanodonta woodiana* (Bivalvia, Unionidae), его диагностика и возможные пути интродукции. *Вестник зоологии*, 35(1), 79–84.
55. Abernathy, K. (1994). The establishment of a hybrid zone between red and sika deer (genus *Cervus*). *Molecular Ecology*, 3, 551–562.
56. Albarrán-Mélzer, N.C., Rangel Ruiz, L.J., Benítez, H.A., & Lagos, M.E. (2019). Can temperature shift morphological changes of invasive species? A morphometric approach on the shells of two tropical freshwater snail species. *Hydrobiologia*, 847, 151–160.
57. Aldridge, D.C., & Müller, S.J. (2001). The Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in Britain: current status and potential impacts. *Journal of Conchology*, 37, 177–183.

58. Alekhnovich, A.V., & Kulesh, V.F. (2001). Variation in the parameters of the life cycle in prawns of the genus *Macrobrachium* Bate (Crustacea, Palaemonidae). *Russian Journal of Ecology*, 32, 454–459.
59. Alexander, M. E., Dick, J. T., Weyl, O. L., Robinson, T. B., & Richardson, D. M. (2014). Existing and emerging high impact invasive species are characterized by higher functional responses than natives. *Biology letters*, 10(2), 20130946.
60. Alexandrov, B., Boltachev, A., Kharchenko, T., Lyashenko, A., Son, M., Tsarenko, P., & Zhukinsky, V. (2007). Trends of aquatic alien species invasions in Ukraine. *Aquatic invasions*, 2(3), 215–242.
61. Alf, A. (1992). Ein bemerkenswerter Fundort von *Corbicula fluminalis* Müller, 1774 im Rhein mit Anmerkungen zur Ökologie und zu weiteren Vorkommen der Art in Baden-Württemberg. *Lauterbornia*, 9, 65–72.
62. Allendorf, F.W., Leary, R.F., Spruell, P., & Wenburg, J.K. (2001). The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in ecology & evolution*, 16(11), 613–622.
63. Anderson, R. (2005). An annotated list of the non-marine Mollusca of Britain and Ireland. *Journal of Conchology*, 38(6), 607–637.
64. Aoki, M., Hamasaki, K., & Yamada, M. (2013). Identification of three *Macrobrachium* species from the Kii Peninsula, Japan using PCR-RFLP. *Japanese Journal of Limnology*, 74, 85–91.
65. Araujo, R., Moreno, D., & Ramos, M.A. (1993). The Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) in Europe. *American Malacological Bulletin*, 10, 39–49.
66. Asif, J.H., & Krug, P.J. (2012). Lineage distribution and barriers to gene flow among populations of the globally invasive marine mussel *Musculista senhousia*. *Biological Invasions*, 14, 1431–1444.
67. Babarro, J.M.F., Vazquez, E., & Olabarria, C. (2016). Importance of phenotypic plastic traits on invasion success: response of *Xenostrobus securis* to the

- predatory dogwhelk *Nucella lapillus*. *Marine Ecology Progress Series*, 560, 185–198.
68. Bachtrog, D., Mank, J.E., Peichel, C.L., Kirkpatrick, M., Otto, S.P. Ashman, T.-L., Hahn, M.W., Kitano, J., Imayrose, I., Ming, R., Perrin, N., Ross, L., Valenzuela, N., & Vamosi, J.C. (2014). Sex determination: why so many ways of doing it? *PLoS Biology*, 12: e1001899.
 69. Baker, H.G. (1965). Characteristics and modes of origin of weeds. In: ed. Baker, H.G., Stebbins, G.L., *The Genetics of Colonizing Species* (pp. 147–69). New York: Academic.
 70. Baker, A.J. (1992). Genetic and morphometric divergence in ancestral European and descendant New Zealand populations of chaffinches (*Fringilla coelebs*). *Evolution*, 46, 1784–1800.
 71. Barnes, D.K. (2002). Invasions by marine life on plastic debris. *Nature*, 416(6883), 808–809.
 72. Barrett, S.C.H., & Charlesworth, D. (1991). Effects of a change in the level of inbreeding on the genetic load. *Nature*, 352, 522–24.
 73. Barrett, S.C.H., & Kohn, J.R. (1991). Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In ed. DA Falk, KE Holsinger, *Genetics and Conservation of Rare Plants*, pp. 3–30. New York: Oxford University Press.
 74. Bastow, R., Mylne, J.S., Lister, C., Lippman, Z., Martienssen, R.A., & Dean, C. (2004). Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. *Nature*, 427, 164–67.
 75. Baumel, A., Ainouche, M.L., & Levasseur, J.E. (2001). Molecular investigations in populations of *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poaceae) invading coastal Brittany (France). *Molecular Ecology*, 10, 1689–1701.
 76. Bely, A.E., & Weisblat, D.A. (2006). Lessons from leeches: a call for DNA barcoding in the lab. *Evolution & development*, 8(6), 491–501.

77. Bernard, F.R. (1979). Identification of the living *Mya* (Bivalvia: Myoida). *Venus*, 38, 185–204.
78. Beshpalaya, Y.V., Bolotov, I.N., Aksenova, O.V., Gofarov, M.Y., Kondakov, A.V., Vikhrev, I.V., & Vinarski, M.V. (2017). DNA barcoding reveals invasion of two cryptic *Sinanodonta* mussel species (Bivalvia: Unionidae) into the largest Siberian river. *Limnologica*, 69, 94–102.
79. Beshpalaya, Y.V., Bolotov, I.N., Aksenova, O.V., Kondakov, A.V., Gofarov, M.Y., Laenko, T.M., Sokolova, S.E., Shevchenko, A.R., & Travina, O.V. (2018). Aliens are moving to the Arctic frontiers: an integrative approach reveals selective expansion of androgenic hybrid *Corbicula* lineages towards the North of Russia. *Biological Invasions*, 20, 2227–2243.
80. Beshpalaya, Y.V., Aksenova, O.V., Gofarov, M.Yu., Kondakov, A.V., Kropotin, A.V., Kononov, O.D., & Bolotov, I.N. 2020. Who inhabits the world's deepest crater lake? A taxonomic review of *Corbicula* (Bivalvia: Cyrenidae) clams from Lake Toba, North Sumatra, Indonesia. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 00, 1–11.
81. Biggs, J., Ewald, N., Valentini, A., Gaboriaud, C., Dejean, T., Griffiths, R.A., Foster, J. Wilkinson, J.W., Arnell, A., Williams, P., Dunn, F., & Brotherton, P., (2015). Using eDNA to develop a national volunteer-based monitoring programme for the Great Crested Newt (*Triturus cristatus*). *Biological Conservation*, 183, 19–28.
82. Bij de Vaate, A., Jazdzewski, K., Ketelaars, H. A., Gollasch, S., & Van der Velde, G. (2002). Geographical patterns in range extension of Ponto-Caspian macroinvertebrate species in Europe. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59(7), 1159–1174.
83. Black Sea Commission. (1992). Convention on the protection of the Black Sea against pollution. *Bucharest, April*.

84. Blackburn, T.M., Pyšek, P., Bacher, S., Carlton, J.T., Duncan, R.P., Jarošík, V., Wilson, J.R.U., & Richardson, D.M. (2011). A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in ecology & evolution*, 26(7), 333–339.
85. Blackburn, T.M., Lockwood, J.L., & Cassey, P. (2015). The influence of numbers on invasion success. *Molecular Ecology*, 24, 1942–1953.
86. Blackburn, T.M., Lockwood, J.L., & Cassey, P. (2009). *Avian invasions: the ecology and evolution of exotic birds* (Vol. 1). Oxford University Press.
87. Bock, D.G., Caseys, C., Cousens, R.D., Hahn, M.A., Heredia, S.M., Hübner, S., Turner, K.G., Whitney, K.D., & Rieseberg, L.H. (2015). What we still don't know about invasion genetics. *Molecular ecology*, 24(9), 2277–2297.
88. Bódis, E., Nosek, J., Oertel, N., Tóth, B., & Fehér, Z. (2011). A comparative study of two *Corbicula* morphs (Bivalvia, Corbiculidae) inhabiting River Danube. *International Review of Hydrobiology*, 96, 257–273.
89. Bodon, M., López-Soriano, J., Quiñonero-Salgado, S., Nardi, G., Niero, I., Cianfanelli, S., Dal Mas, A., Elvio, F., Baldessin, F., Turco, F., Ercolini, P., Baldaccini G.N., & Costa, S. (2020). Unraveling the complexity of *Corbicula* clams invasion in Italy (Bivalvia: Cyrenidae). *Bollettino Malacologico*, 56, 127–171.
90. Boets, P., Lock, K., & Goethals, P.L.M. (2010). First record of *Synurella ambulans* (Müller, 1846) (Amphipoda: Crangonictidae) in Belgium. *Belgian Journal of Zoology*, 140(2), 242–243.
91. Bogan, A.E., Bowers-Altman, J., & Raley, M.E. (2011). A new threat to conservation of North American freshwater mussels: Chinese Pond Mussel (*Sinanodonta woodiana*) in the United States. *Tentacle*, 19, 39–40.
92. Bohman, P., Edsman, L., Martin, P., & Scholtz, G. (2013). The first Marmorkrebs (Decapoda: Astacida: Cambaridae) in Scandinavia. *BioInvasions Records*, 2, 227–232.
93. Bolotov, I.N., Bespalaya, Y.V., Gofarov, M.Y., Kondakov, A.V., Konopleva, E.S., & Vikhrev, I.V. (2016). Spreading of the Chinese pond mussel, *Sinanodonta*

woodiana, across Wallacea: One or more lineages invade tropical islands and Europe. *Biochemical Systematics and Ecology*, 67, 58–64.

94. Bombace, G., Fabi, G., Fiorentini, L., & Speranza, S. (1994). Analysis of the efficacy of artificial reefs located in five different areas of the Adriatic Sea. *Bulletin of Marine Science*, 55(2–3), 559–580.
95. Bonney, R., Shirk, J.L., Phillips, T.B., Wiggins, A., Ballard, H.L., Miller-Rushing, A.J., & Parrish, J.K. (2014). Next steps for citizen science. *Science*, 343(6178), 1436–1437.
96. Boulesteix, A.-L. (2005). A note on between-group PCA. *International Journal of Pure and Applied Mathematics*, 19, 359–366.
97. Brattegard, T., & Holthe T. (1997). *Distribution of marine, benthic macro-organisms in Norway. A tabulated catalogue. Preliminary edition*. Directorate for Nature Management, Trondheim, Norway.
98. Breton, S., Doucet-Beaupré, H., Stewart, D.T., Hoeh, W.R., & Blier, P.U. (2007). The unusual system of doubly uniparental inheritance of mtDNA: Isn't one enough? *Trends in Genetics*, 23, 465–474.
99. Breton, S., Stewart, D.T., Shepardon, S., Trdan, R.J., Bogan, A.E., Chapman, E.G., Ruminas, A.J., Piontkivska, H., & Hoeh, W.R. (2011). Novel protein genes in animal mtDNA: a new sex determination system in freshwater mussels (Bivalvia: Unionoida)? *Molecular biology and evolution*, 28(5), 1645–1659.
100. Breton, S., Milani, L., Ghiselli, F., Guerra, D., Stewart, D. T., & Passamonti, M. (2014). A resourceful genome: Updating the functional repertoire and evolutionary role of animal mitochondrial DNAs. *Trends in Genetics*, 30, 555–564.
101. Briski, E., Ghabooli, S., Bailey, S.A., & MacIsaac, H.J. (2016). Are genetic databases sufficiently populated to detect non-indigenous species? *Biological Invasions*, 18, 1911–1922.
102. Britton, J.C., & Morton, B. (1979). *Corbicula* in North America: the evidence reviewed and evaluated. In: Ed. J.D. Britton, *Proceedings of the First*

International Corbicula Symposium (249–287 pp) . Texas Christian University Research Foundation, Fort Worth.

103. Burke, J.M., & Arnold, M.L. (2001). Genetics and the fitness of hybrids. *Annual review of genetics*, 35(1), 31–52.
104. Cai, Y., & Ng, P.K.L. (2002). The freshwater palaemonid prawns of Myanmar (Crustacea: Decapoda: Caridea). *Hydrobiologia*, 487, 59–83.
105. Cai, Y., & Shokita, S. (2006). Report on a collection of freshwater shrimps (Crustacea: Decapoda: Caridea) from the Philippines, with descriptions of four new species. *Raffles Bulletin of Zoology*, 54(2), 245–270.
106. Callier, V. (2018). The second biennial meeting of the Pan-American Society for Evolutionary Developmental Biology. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 330(3), 132–137.
107. Cardoso, A.C., & Free, G. (2008). Incorporating invasive alien species into ecological assessment in the context of the Water Framework Directive. *Aquatic Invasions*, 3(4), 361–366.
108. Carugati, L., Corinaldesi, C., Dell’Anno, A., & Danovaro, R. (2015). Meta-genetic tools for the census of marine meiofaunal biodiversity: an overview. *Marine Genomics*, 24, 11–20.
109. CBD. (1992). Convention on Biological Diversity. U.N.T.S. vol. 1760, p. 79.
110. Cesari, P., & Pellizzato, M. (1985). Insediamento nella Laguna di Venezia e distribuzione Adriatica di *Rapana venosa* (Valenciennes) (Gastropoda, Thaididae). *Lavori – Societa Veneziana Scienze Naturale*, 10, 3–16.
111. Chandler, E.A., McDowell, J.R., & Graves, J.E. (2008). Genetically monomorphic invasive populations of the rapa whelk, *Rapana venosa*. *Molecular Ecology*, 17, 4079–4091.
112. Chapman, J.W., Miller, T.W., & Coan E.V. (2003). Live seafood species as recipes for invasion. *Conservation Biology*, 17, 1386–1395.
113. Chartosia, N., Anastasiadis, D., Bazairi, H., Crocetta, F., Deidun, A., Despalatović, M., Di Martino, V., Dimitriou, N., Dragičević, B., Dulčić, J.,

- Durucan, F., Hasbek, D., Ketsilis-Rinis, V., Kleitou, P., Lipej, L., Macali, A., Marchini, A., Ousselam, M., Piraino, S., Stancanelli, B., Theodosiou, M., Tiralongo, F., Todorova, V., Trkov, D., & Yapici, S. (2018). New Mediterranean biodiversity records (July 2018). *Mediterranean Marine Science*, 19, 398–415.
114. Chen, P.C., Tzeng, T.D., Shih, C.H., Chu, T.J., & Lee, Y.C. (2015). Morphometric variation of the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*) in Taiwan. *Limnologica*, 52, 51–58.
115. Chen, P.-C., Shih, C.-H., Chu, T.-J., Lee, Y.-C., & Tzeng, T.-D. (2017). Phylogeography and genetic structure of the oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) in East Asia. *PLoS ONE*, 12(3), e0173490.
116. Chuang, S.H. (1961). *On Malayan shores: a log cabin book*. Muwu Shosa.
117. Chucholl, C., & Pfeiffer, M. (2010). First evidence for an established Marmorkrebs (Decapoda, Astacida, Cambaridae) population in Southwestern Germany, in syntopic occurrence with *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817). *Aquatic Invasions*, 5 (4), 405–412.
118. Chung, E.Y., Kim, S.Y., & Kim, Y.G. (1993). Reproductive ecology of the purple shell, *Rapana venosa* (Gastropoda: Muricidae), with special reference to the reproductive cycle, deposition of egg capsules and hatching of larvae. *Korean Journal of Malacology*, 9, 1–15.
119. CITES. 1973. *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*. U.N.T.S. vol. 993, p 243.
120. Claremont, M., Reid, D.G., & Williams, S.T. (2012). Speciation and dietary specialization in *Drupa*, a genus of predatory marine snails (Gastropoda: Muricidae). *Zoologica scripta*, 41(2), 137–149.
121. Clark, M.S., Thorne, M.A.S., King, M., Hipperson, H., Hoffman, J.I. & Peck, L.S. (2018). Life in the intertidal: cellular responses, methylation and epigenetics. *Functional Ecology*, 32(8), 1982–1994.

122. Clark, M.S., Peck, L.S., Arivalagan, J., Backeljau, T., Berland, S., Cardoso, J.C., & Harper, E.M. (2020). Deciphering mollusc shell production: the roles of genetic mechanisms through to ecology, aquaculture and biomimetics. *Biological Reviews*, 95(6), 1812–1837.
123. Colautti, R.I., & Lau, J.A. (2015). Contemporary evolution during invasion: evidence for differentiation, natural selection, and local adaptation. *Molecular Ecology*, 24(9), 1999–2017.
124. Collyer, M.L., Sekora, D.J., & Adams, D.C. (2015). A method for analysis of phenotypic change for phenotypes described by high-dimensional data. *Heredity*, 115, 357–365.
125. Consuegra, S., John, E., Verspoor, E., & de Leaniz, C.G. (2015). Patterns of natural selection acting on the mitochondrial genome of a locally adapted fish species. *Genetics Selection Evolution*, 47(1), 1–10.
126. Council of Europe. 1979. Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats. European Treaty Series 104.
127. Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life cycle dynamics of benthic aliens. *Management of Biological Invasions*, 10(4), 657–689.
128. Coyne, J.A., & Orr, H.A. (2004). *Speciation*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
129. Crooks, J.A. (1996). The population ecology of an exotic mussel, *Musculista senhousia*, in a Southern California bay. *Estuaries*, 19, 42–50.
130. Crooks, J.A. (2002). Characterizing ecosystem-level consequences of biological invasions: the role of ecosystem engineers. *Oikos*, 97, 153–166.
131. Cruz, R.A.L., Pante, M.J.R., & Rohlf, F.J. (2012). Geometric morphometric analysis of shell shape variation in *Conus* (Gastropoda: Conidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 165(2), 296–310.

132. Cui, F., Yu, Y., Bao, F., Wang, S., & Xiao, M.S. (2018). Genetic diversity analysis of the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*) in Huaihe River. *Mitochondrial DNA Part A*, 29, 737–744.
133. Cunningham, S.A. (2005). Incident, accident, catastrophe: cyanide on the Danube. *Disasters*, 29, 99–128.
134. Darabi-Darestani, K., Sari, A., Sarafrazi, A., & Utevsky, S. (2018). Entrapped by the uneven central and Middle Eastern terrains: Genetic status of populations of *Hirudo orientalis* (Annelida, Clitellata, Hirudinida) with a phylogenetic review of the genus *Hirudo*. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 121, 52–60.
135. Darling, J.A., Bagley, M.J., Roman, J., Tepolt, C.K., & Geller, J.B. (2008). Genetic patterns across multiple introductions of the globally invasive crab genus *Carcinus*. *Molecular Ecology*, 17, 4992–5007.
136. Darling, J.A. (2011). Interspecific hybridization and mitochondrial introgression in invasive *Carcinus* shore crabs. *PLoS ONE*, 6, e17828.
137. Darrigran, G. (2002). Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland freshwater environments. *Biological Invasions*, 4, 145–156.
138. Darwin, C. (1854). *A Monograph on the Sub-Class Cirripedia with Figures of All the Species. The Balanidae, (or Sessile Cirripedia); the Verrucidae, etc., etc., etc.* The Ray Society, London.
139. Davidson, I.C., Brown, C.W., Sytsma, M., & Ruiz, G.M. (2009). The role of containerships as transfer mechanisms of marine biofouling species. *Biofouling*, 25, 645–655.
140. Davidson, A.M., Jennions, M., & Nicotra, A.B. (2011). Do invasive species show higher phenotypic plasticity than native species and, if so, is it adaptive? A meta-analysis. *Ecology Letters*, 14, 419–31.
141. Davis, M.A., Chew, M.K., Hobbs, R.J., Lugo, A.E., Ewel, J.J., Vermeij, G.J., Brown, J.H., Rosenzweig, M.L., Gardener, M.R., Carroll, S.P., Thompson, K., Pickett, S.T., Stromberg, J.C., Del, Tredici, P., Suding, K.N., Ehrenfeld, J.G.,

- Grime, J.P., Mascaro, J., & Briggs, J.C. (2011). Don't judge species on their origins. *Nature*, 474(7350), 153–4.
142. Davison, A. (2006). The ovotestis: an underdeveloped organ of evolution. *BioEssays*, 28, 642–650.
143. Davolos, D., Matthaeis, E. D., Latella, L., & Vonk, R. (2017). *Cryptorchestia ruffoi* sp. n. from the island of Rhodes (Greece), revealed by morphological and phylogenetic analysis (Crustacea, Amphipoda, Talitridae). *ZooKeys*, (652), 37–54.
144. De Grave, S., & Ghane, A. (2006). The establishment of the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense* (de Haan, 1849) in Anzali Lagoon, Iran. *Aquatic Invasions*, 1, 204–208.
145. De Rivera, C.E., Steves, B.P., Fofonoff, P.W., Hines, A.H., & Ruiz, G.M. (2011). Potential for high-latitude marine invasions along western North America. *Diversity and Distributions*, 17(6), 1198–1209.
146. Delaney, D.G., Sperling, C.D., Adams, C.S., & Leung, B. (2008). Marine invasive species: validation of citizen science and implications for national monitoring networks. *Biological Invasion*, 10, 117–128.
147. Delreux, T., & Happaerts, S. (2016). *Environmental Policy and Politics in the European Union*. London, Palgrave Macmillan.
148. Des Marais, D.L., Hernandez, K.M., & Juenger, T.E. (2013). Genotype-by-environment interaction and plasticity: exploring genomic responses of plants to the abiotic environment. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 44, 5–29.
149. Dillon, R.T., Wethington, A.R., Rhett, J.M., & Smith, T.P. (2002). Populations of the European freshwater pulmonate *Physa acuta* are not reproductively isolated from American *Physa heterostropha* or *Physa integra*. *Invertebrate Biology*, 121, 226–234.

150. Dillon Jr, R.T., Robinson, J.D., Smith, T.P., & Wethington, A.R. (2005). No reproductive isolation between freshwater pulmonate snails *Physa virgata* and *P. acuta*. *The Southwestern Naturalist*, 50(4), 415–422.
151. Dlugosch, K.M., & Parker, I.M. (2008). Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology*, 17, 431–449.
152. Dlugosch, K.M., Anderson, S.R., Braasch, J., Alice Cang. F., & Gillette, H. (2015). The devil is in the details: genetic variation in introduced populations and its contributions to invasion. *Molecular Ecology*, 24, 2095–111.
153. Domagala, J., Labecka, A.M., Pilecka-Rapacz, M., & Migdalska, B. (2004). *Corbicula fluminea* (OF Müller, 1774)(Bivalvia: Corbiculidae) – a species new to the Polish malacofauna. *Folia Malacologica*, 12(3), 145–148.
154. Doucet-Beaupré, H., Breton, S., Chapman, E.G., Blier, P.U., Bogan, A.E., Stewart, D.T., & Hoeh, W.R. (2010). Mitochondrial phylogenomics of the Bivalvia (Mollusca): Searching for the origin and mitogenomic correlates of doubly uniparental inheritance of mtDNA. *BMC Evolutionary Biology*, 10, 50.
155. Doyle, D., Gammell, M.P., & Nash, R. (2018). Morphometric methods for the analysis and classification of gastropods: a comparison using *Littorina littorea*. *Journal of Molluscan Studies*, 84 (2), 190–197.
156. DRPC. (1994). Convention on cooperation for the protection and sustainable use of the river Danube. OJ L342, p. 19.
157. Dyatlov, S.E., Petrosyan A.G., Gangan O.F., & Dyatlova M.S. (2001). Integrated estimation of water quality and bottom sediments of the Ukrainian part of the Danube in connection with consequences of human-caused accidents. In: Ed. Aleksandrov, B.G.) *Kylia Part of the Danube Delta in spring 2000: state of ecosystem and consequences of human-caused catastrophes in the basin*, pp 73–85. Odessa Branch Institute of Biology of the Southern Seas, Odessa.

158. Eagar, R.M.C., Stone, N.M., & Dickson, P.A. (1984). Correlations between shape, weight and thickness of shell in four populations of *Venerupis rombooides* (Pennant). *Journal of Molluscan Studies*, 50, 19–38.
159. Elkarmi, A. Z., & Ismail, N. S. (2007). Growth models and shell morphometrics of two populations of *Melanoides tuberculata* (Thiaridae) living in hot springs and freshwater pools. *Journal of Limnology*, 66(2), 90–96.
160. Ellingson, R.A., & Krug, P.J. (2006). Evolution of poecilogony from planktotrophy: cryptic speciation, phylogeography, and larval development in the gastropod genus *Alderia*. *Evolution*, 60, 2293–2310.
161. Ellstrand, N.C., & Schierenbeck, K.A. (2000). Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 7043–50
162. EPA. (2001). United States Environmental Protection Agency. Accesses: <http://www.epa.gov/gmpo/nonind.html>
163. Estoup, A., Ravigné, V., Hufbauer, R., Vitalis, R., Gautier, M., & Facon, B. (2016). Is there a genetic paradox of biological invasion? *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 47, 51–72.
164. EU. (2000). Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. Pages 1-73 in Union OJotE, editor.
165. EU. (2008). Directive 2008/56/EC of the European Parliament and of the Council of 17 June 2008 establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy. Pages 19-40 in Union OJotE, editor.
166. EUNIS. (2012). European Environment Agency. EUNIS habitat classification 2012. Sublittoral mixed sediments. Available: <https://eunis.eea.europa.eu/habitats/2503> (accessed 06 April 2008)
167. Facon, B., Jarne, P., Pointier, J. P., & David, P. (2005). Hybridization and invasiveness in the freshwater snail *Melanoides tuberculata*: hybrid vigour is

more important than increase in genetic variance. *Journal of Evolutionary Biology*, 18(3), 524–535.

168. Facon, B., Genton, B., Shykoff, J., Jarne, P., Estoup, A., & David, P. (2006). A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology evolution*, 21, 130–35.
169. Facon, B., Pointier, J.P., Jarne, P., Sarda, V., & David, P. (2008). High genetic variance in life-history strategies within invasive populations by way of multiple introductions. *Current Biology*, 18, 363–67.
170. Fallet, M., Luquet, E., David, P., & Cosseau, C. (2020). Epigenetic inheritance and intergenerational effects in mollusks. *Gene*, 729, 144166.
171. Feng, J.B., Sun, Y.N., Cheng, X., & Li, J.L. (2008). Sequence analysis of mitochondrial COI gene of *Macrobrachium nipponense* from the five largest freshwater lakes in China. *Journal of Fishery Sciences of China*, 32, 517–525.
172. Filipová, L., Grandjean, F., Chucholl, C., Soes, D.M., & Petrusek, A. (2011). Identification of exotic North American crayfish in Europe by DNA barcoding. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 401(11), 1–14.
173. Fischer-Piette, E. (1960). *Rapana bezoar* L. in the Black Sea coast of Turkey. (*Rapana bezoar* L. sur la cote Turquie de la mer Noire). *Hydrobiologie, Serie B5*, 1(2), 51.
174. Fisher, R.A. (1958). *Statistical methods for research workers*. Oliver and Boyd, Edingurg, Germany.
175. Fleiss, J. & Shrout, P. (1977). The effects of measurement errors on some multivariate procedures. *American Journal of Public Health*, 67, 1188–1191.
176. Fofonoff, P.W., Ruiz, G.M., Steves, B., Simkanin, C., & Carlton, J.T. (2018). National Exotic Marine and Estuarine Species Information System. Available: <http://invasions.si.edu/nemesis/> (Accessed 4 February 2020)
177. Folino-Rorem, N.C., Darling, J.A., & D'Ausilio, C.A. (2009). Genetic analysis reveals multiple cryptic invasive species of the hydrozoan genus *Cordylophora*. *Biological Invasions*, 11(8), 1869–1882.

178. Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.
179. Foote, M. (1992). Rarefaction analysis of morphological and taxonomic diversity. *Paleobiology*, 18, 1–16.
180. Foster, B.A., & Willan, R.C. (1979). Foreign barnacles transported to New Zealand on an oil platform. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 13(1), 143–149
181. Franchini, P., Fruciano, C., Spreitzer, M.L., Jones, J.C., Elmer, K.R., Henning, F. & Meyer, A. 2014. Genomic architecture of ecologically divergent body shape in a pair of sympatric crater lake cichlid fishes. *Molecular ecology*, 23, 1828–1845.
182. Frankham, R., Briscoe, D.A., & Ballou, J.D. (2002). *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press, New York, New York, USA.
183. Freeman, A.S., & Byers, J.E. (2006). Divergent induced responses to an invasive predator in marine mussel populations. *Science*, 313, 831–833.
184. Fruciano, C., Tigano, C., & Ferrito, V. (2011). Traditional and geometric morphometrics detect morphological variation of lower pharyngeal jaw in *Coris julis* (Teleostei, Labridae). *Italian Journal of Zoology*, 78(3), 320–327.
185. Fruciano, C., Pappalardo, A.M., Tigano, C., & Ferrito, V. (2014). Phylogeographical relationships of Sicilian brown trout and the effects of genetic introgression on morphospace occupation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 112, 387–398.
186. Fruciano, C. (2016). Measurement error in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution*, 226, 139–158.
187. Gavery, M.R., & Roberts, S.B. (2010). DNA methylation patterns provide insight into epigenetic regulation in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *BMC Genomics*, 11, 483.

188. Ghisotti, F. (1971). *Rapana thomasi* Crosse, 1861 (Gastropoda, Muricidae) nel Mar Nero. *Conchiglie, Milano*, 7, 55–58.
189. Ghisotti, F. (1974). *Rapana venosa* (Valenciennes), nuova ospite Adriatica? *Conchiglie, Milano*, 10, 125–126.
190. Giberto, D.A., Bremec, C.S., Schejter, L., Schiariti, A., & Acha, E.M. (2006). The invasive Rapa whelk *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846): Status and potential impact in the Rio de la Plata estuary, Argentina-Uruguay. *Journal of Shellfish Research*, 25(3), 1–6.
191. Gittenberger, E., Janssen, A.W., Kuijper, W.J., Kuiper, J.G.J., Meijer, T., Van Der Velde, G., & De Vries, J.N. (2004). *De Nederlandse Zoetwatermollusken. Recente en fossiele weekdieren uit zoet en brak water, 2nd ed. Nederlandse Fauna 2*. Nationaal Natuurhistorisch Museum Naturalis, KNNV Uitgeverij & EIS-Nederland, Leiden.
192. Glaubrecht, M., von Rintelen, T., & Korniushev, A.V. (2003). Toward a systematic revision of brooding freshwater Corbiculidae in southeast Asia (Bivalvia, Veneroida): on shell morphology, anatomy and molecular phylogenetics of endemic taxa from islands in Indonesia. *Malacologia*, 45, 1–40.
193. Glaubrecht, M., Fehér, Z., & Köhler, F. (2007). Inventorizing an invader: Annotated type catalogue of Corbiculidae Gray, 1847 (Bivalvia, Heterodonta, Veneroidea), including Old World freshwater *Corbicula* in the Natural History Museum Berlin. *Malacologia*, 49, 243–272.
194. Glöer, P. & Meier-Brook, C. 1998. *Süßwassermollusken (12. Auflage)*. Deutscher Jugendbund für Naturbeobachtung DJN, Hamburg.
195. Goldberg, C.S., Strickler, K.M., & Pilliod, D.S., (2015). Moving environmental DNA methods from concept to practice for monitoring aquatic macroorganisms. *Biological Conservation*, 183, 1e3.
196. Gollasch, S., & Nehring, S. (2006). National checklist for aquatic alien species in Germany. *Aquatic Invasions*, 1(4), 245–269.

197. Gomes, C., Sousa, R., Mendes, T., Borges, R., Vilares, P., Vasconcelos, V., Guilhermino, L., & Antunes, A. (2016). Low genetic diversity and high invasion success of *Corbicula fluminea* (Bivalvia, Corbiculidae) (Müller, 1774) in Portugal. *PLoS ONE*, 11(7), e0158108.
198. Gomoiu, M.T., Alexandrov, B., Shadrin, N., & Zaitsev, Y. (2002). The Black Sea - a recipient, donor and transit area for alien species. In: Ed. by Leppakoski, E., Gollasch, S., Olenin, S.) *Invasive aquatic species in Europe. Distribution, impacts and management*, pp. 341-350. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers,
199. Gomoiu, M. T., & Skolka, M. (1996). Changements récents dans la biodiversité de la Mer Noire dus aux immigrants. *Geo-Eco-Marina*, 1, 49–66.
200. Gogaladze, A., Son, M. O., Lattuada, M., Anistratenko, V. V., Syomin, V. L., Pavel, A. B., Popa, O. P., Popa, L. O., ter Poorten, J.-J., Biesmeijer, J. C., Raes, N., Wilke, T., Sands, A. F., Trichkova, T., Hubenov, Z. K., Vinarski, M. V., Anistratenko, O. Y., Alexenko, T. L., & Wesselingh, F. P. (2021). Decline of unique Pontocaspian biodiversity in the Black Sea Basin: A review. *Ecology and Evolution*, 00, 1–25.
201. González-Ortegón, E., & Cuesta, J. (2006). An illustrated key to species of *Palaemon* and *Palaemonetes* (Crustacea: Decapoda: Caridea) from European waters, including the alien species *Palaemon macrodactylus*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86, 93–102.
202. Goodall, C. (1991). Procrustes methods in the statistical analysis of shape. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, 53 (2), 285–339.
203. Gouletquer, P., Bachelet, G., Sauriau, P.G., & Noel, P. (2002). Open Atlantic Coast of Europe – a century of introduced species into French waters. In: Eds. Leppakoski, E., Gollasch, S., Olenin, S.) *Invasive aquatic species of Europe. Distribution, impacts and management* (276–290 pp.). Kluwer, The Netherlands,

204. Govorin, I.A. (2019). The Predatory Marine Gastropod *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) in Northwestern Black Sea: morphometric variations, imposex appearance and biphallia phenomenon. In: *Molluscs*. Intechopen. Available online: <https://www.intechopen.com/chapters/64069> (Accessed on 10 March 2021).
205. Grapputo, A., Bisazza, A., & Pilastro, A. (2006). Invasion success despite reduction of genetic diversity in the European populations of eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Italian Journal of Zoology*, 73(01), 67–73.
206. Grigorovich, I.A., MacIsaac, H.J., Shadrin, N.V., & Mills, E.L. (2002). Patterns and mechanisms of aquatic invertebrate introductions in the Ponto-Caspian region. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59(7), 1189–1208.
207. Grigorovich, I.A., Therriault, T.W., & MacIsaac, H.J. (2003). History of aquatic invertebrate invasions in the Caspian Sea. *Biological Invasions*, 5, 103–115.
208. Guerra, D., Plazzi, F., Stewart, D.T., Bogan, A.E., Hoeh, W.R., & Breton, S. (2017). Evolution of sex-dependent mtDNA transmission in freshwater mussels (Bivalvia: Unionida). *Scientific Reports*, 7, 1551.
209. Guindon, S., Dufayard, J.-F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., & Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3), 307–321.
210. Hammer, Ø., Harper, D., & Ryan, P. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software: Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4, 1–9.
211. Haponski, A.E., & Ó Foighil, D. (2019). Phylogenomic analyses confirm a novel invasive North American *Corbicula* (Bivalvia: Cyrenidae) lineage. *PeerJ*, 7, e7484.
212. Harada, E., & Nishino, M. (1995). Differences in inhalant siphonal papillae among the Japanese species of *Corbicula* (Mollusca: Bivalvia). *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 36, 389–408.

213. Harding, J. M., & Mann, R. (1999). Observations on the Biology of the veined rapa whelk, *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) in the Chesapeake Bay. *Journal of Shellfish Research*, 18, 9–17.
214. Harper, E.M., Clark, M.S., Hoffman, J.I., Philipp, E.E.R., Peck, L.S., & Morley, S.A. (2012). Iceberg scour and shell damage in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*. *PLoS One*, 7(9), e46341.
215. Harris, S.E., & Munshi-South, J. (2017). Signatures of positive selection and local adaptation to urbanization in white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). *Molecular ecology*, 26(22), 6336–6350.
216. Harris, D.J. (2003). Can you bank on GenBank? *Trends in Ecology & Evolution*, 18, 317–319.
217. Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L., & Dewaard, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270, 313–321.
218. Hedtke, S.M., Stanger-Hall, K., Baker, R.J., & Hillis, D.M. (2008). All-male asexuality: origin and maintenance of androgenesis in the Asian clam *Corbicula*. *Evolution*, 62, 1119–1136.
219. Heilbron, K., Toll-Riera, M., Kojadinovic, M., & MacLean, R.C. (2014). Fitness is strongly influenced by rare mutations of large effect in a microbial mutation accumulation experiment. *Genetics*, 197, 981–90.
220. Heiler, K.C., Nahavandi, N., & Albrecht, C. (2010). A new invasion into an ancient lake-the invasion history of the dreissenid mussel *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831) and its first record in the Caspian Sea. *Malacologia*, 53(1), 185–192.
221. Hillis, D.M., Moritz, C., & Mable, B.K. (1996). *Molecular systematic. Second ed.* Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
222. Hobbs Jr., H.H. (1989). An illustrated checklist of the American crayfishes (Decapoda, Astacidae, Cambaridae, Parastacidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 480, 1–236.

223. Hoenselaar, H.J., & Hoenselaar, J. (1989). *Musculista senhousia* (Benson in Cantor, 1842) in the western Mediterranean (Bivalvia, Mytilidae). *Basteria*, 53, 73–76.
224. Hoffman, J.I., Peck, L.S., Hillyard, G., Zieritz, A., & Clark, M.S. (2010). No evidence for genetic differentiation between Antarctic limpet *Nacella concinna* morphotypes. *Marine Biology*, 157(4), 765–778.
225. Homola, J.J., Loftin, C.S., & Kinnison, M.T. (2019). Landscape genetics reveals unique and shared effects of urbanization for two sympatric pool-breeding amphibians. *Ecology and evolution*, 9(20), 11799–11823.
226. Hornbach, D.J., Kurth, V.J. & Hove, M.C. (2010). Variation In Freshwater Mussel Shell sculpture and shape along a river gradient. *The American Midland Naturalist*, 164, 22–36.
227. Hou, Z.G., Fu, J.H., & Li, S.Q. (2007). A molecular phylogeny of the genus *Gammarus* (Crustacea: Amphipoda) based on mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45, 596–611.
228. Houki, S., Yamada, M., Honda, T., & Komaru, A. (2011). Origin and possible role of males in hermaphroditic androgenetic *Corbicula* clams. *Zoological Science*, 28, 526–531.
229. Hsu, T.-H., Komaru, A., & Gwo, J.-C. (2020). Genetic diversity and clonality of the Asian clam *Corbicula fluminea* are reflected by inner shell color pattern. *Aquatic Invasions*, 15, 633–645.
230. Hulme, P.E. (2009). Trade, transport and trouble: managing invasive species pathways in an era of globalization. *Journal of applied ecology*, 46(1), 10–18.
231. ICES (International Council for the Exploration of the Sea). 2004. *Alien species alert: Rapana venosa (veined whelk)*. In: Eds. Mann, R., Occhipinti, A., Harding, J. M. *ICES Cooperative Research Report*, №264, pp. 1–14.
232. Ilarri, M.I., Freitas, F., Costa-Dias, S., Antunes, C., Guilhermino, L., & Sousa, R. (2012). Associated macrozoobenthos with the invasive Asian clam *Corbicula fluminea*. *Journal of Sea Research*, 72, 113–120.

233. Iseda, M., Otani, M., & Kimura, T. (2007). First record of an introduced crab *Rhithropanopeus harrisii* (Crustacea: Brachyura: Panopeidae) in Japan. *Japanese Journal of Benthology*, 62, 39-44.
234. Ishibashi, R., & Komaru, A. (2006). Abortive second meiosis detected in cytochalasin-treated eggs in androgenetic diploid *Corbicula fluminea*. *Development, Growth and Differentiation*, 48, 277–282.
235. Ishibashi, R., Komaru, A., Ookubo, K., & Kiyomoto, M. (2002). The second meiosis occurs in cytochalasin D-treated eggs of *Corbicula leana* even though it is not observed in control androgenetic eggs because the maternal chromosomes and centrosomes are extruded at first meiosis. *Developmental Biology*, 244, 37–43.
236. Ishibashi, R., Ookubo, K., Aoki, M., Utaki, M., Komaru, A., & Kawamura, K. (2003). Androgenetic reproduction in a freshwater diploid clam *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae). *Zoological Science*, 20, 727–732.
237. Ituarte, C.F. (1981). Primera noticia acerca de la introducción de pelecipodos asiáticos en el área rioplatense (Moll. Corbiculidae). *Neotropica*, 27, 79–83.
238. Iwasaki K, 2006. Human-mediated introduction of marine organisms in Japan: a review. In: Eds. by Koike, F., Clout, M.N., Kawamichi, M., Poorter, M.De, Iwatsuki, K.) *Assessment and Control of Biological Invasion Risks* (104–112 pp.). Kyoto, Japan: Shoukadoh Book Sellers.
239. Jaberimanesh, Z., Oladi, M., Nasrolahi, A., & Ahmadzadeh, F. (2019). Presence of *Amphibalanus eburneus* (Crustacea, Cirripedia) in Gomishan Wetland: Molecular and morphological evidence of a new introduction to the southern Caspian Sea. *Regional Studies in Marine Science*, 25, 100469.
240. Jacob, J. (1959). Cytological studies of Melaniidae with Special Reference to Parthenogenesis and Polyploidy. (PhD Thesis. Annamalai University, Annamalai).

241. Jazdzewski, K., & Grabowski, M. (2011). Alien crustaceans along the southern and western Baltic Sea. In: *In the Wrong Place-Alien Marine Crustaceans: Distribution, Biology and Impacts*, (pp. 323-344). Springer, Dordrecht.
242. Jensen, K.R., & Knudsen, J. (2005). A summary of alien marine benthic invertebrates in Danish waters. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 34(1), 137–162.
243. Jensen, K.R. (2010). NOBANIS – Invasive Alien Species Fact Sheet – *Mya arenaria*. Identification key to marine invasive species in Nordic waters – NOBANIS. Available: www.nobanis.org (access 16/06/2020).
244. Jeschke, J.M., Bacher, S., Blackburn, T.M., Dick, J.T., Essl, F., Evans, T., Gaertner, M., Hulme, P.E., Kühn, I., Mrugała, A., Pergl, J., Pyšek, P., Rabitsch, W., Ricciardi, A., Richardson, D.M., Sendek, A., Vilà, M., Winter, M., & Kumschick, S. (2014). Defining the impact of non-native species. *Conservation Biology*, 28(5), 1188–1194.
245. Johnson, J., Bird, C.E., Johnston, M.A., Fogg, A.Q., & Hogan, J.D. (2016). Regional genetic structure and genetic founder effects in the invasive lionfish: comparing the Gulf of Mexico, Caribbean and North Atlantic. *Marine Biology*, 163(10), 1–7.
246. Jones, J.P.G., Rasamy, J.R., Harvey, A., Toon, A., Oidtmann, B., Randrianarison, M.H., Raminosoa, N., & Ravoahangimalala, O.R. (2009). The perfect invader: a parthenogenic crayfish poses a new threat to Madagascar's freshwater biodiversity. *Biological Invasions*, 11 (6), 1475–1482.
247. Kalyaanamoorthy, S., Minh, B.Q., Wong, T.K.F., von Haeseler, A., & Jermin, L.S. (2017). ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14 (6), 587–589.
248. Karachle, P.K., Corsini Foka, M., Crocetta, F., Dulčić, J., Dzhenbekova, N., Alandi, M., Ivanova, P., Shenkar, N., Skolka, M., Stefanova, E., Stefanova, K., Surugiu, V., Uysal, I., Verlaque, M., & Zenetos, A. (2017). Setting-up a billboard

- of marine invasive species in the ESENIAS area: current situation and future expectancies. *Acta Adriatica*, 58, 429–458.
249. Karaman, G.S. (2003). New data on some gammaridean amphipods (Amphipoda, Gammaridea) from Palearctic. *Glasnik of the Section of Natural Sciences Montenegrin Academy of Sciences and Arts*, 15, 20–37.
 250. Katoh, K., Rozewicki, J., & Yamada, K. D. (2017). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics*, 20, 1160–1166.
 251. Kawahara, T. (1963). Invasion into Japanese waters by the europial barnacle *Balanus improvisus* Darwin. *Nature*, 198, 301.
 252. Kemp, J.L., Ballot, A., Nilssen, J.P., Spikkeland, I., & Eriksen, T.E. (2020). Distribution, identification and range expansion of the common Asellidae in Northern Europe, featuring the first record of *Proasellus meridianus* in the Nordic countries. *Fauna norvegica*, 40, 93–108.
 253. Kerckhof, F., & Cattrijsse, A. (2001). Exotic Cirripedia (Balanomorpha) from buoys off the Belgian coast. *Senckenbergiana Maritima*, 31(2), 245–254.
 254. Ketelaars, H.A.M. (2004). Chapter 13. Range extensions of Ponto-Caspian aquatic invertebrates in Continental Europe. In: Eds. Dumont, H., Shiganova, T.A., Niemann, U.) *Aquatic Invasions in the Black, Caspian, and Mediterranean Sea* (209–236 pp.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
 255. Kilian, J.V., Klauda, R.J., Widman, S., Kashiwagi, M., Bourquin, R., Weglein, S., & Schuster, J. (2012). An assessment of a bait industry and angler behavior as a vector of invasive species. *Biological Invasions*, 14(7), 1469–1481.
 256. Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 16(2), 111–120.
 257. Kinzelbach, R. (1991). Die Körbchenmuscheln *Corbicula fluminea* und *Corbicula fluviatilis* in Europa (Bivalvia: Corbiculidae). *Mainzer Naturwissenschaftliches Archiv*, 29, 215–228.

258. Kinziger, A.P., Nakamoto, R.J., Anderson, E.C., & Harvey, B.C. (2011). Small founding number and low genetic diversity in an introduced species exhibiting limited invasion success (speckled dace, *Rhinichthys osculus*). *Ecology and evolution*, 1(1), 73–84.
259. Klingenberg, C.P., & Leamy, L.J. (2001). Quantitative genetics of geometric shape in the mouse mandible. *Evolution*, 55, 2342–2352.
260. Klingenberg, C.P. (2011). Morphoj: an integrated software package for Geometric Morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, 11, 353–357.
261. Knop, E., & Reusser, N. (2012). Jack-of-all-trades: phenotypic plasticity facilitates the invasion of an alien slug species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1747), 4668–4676.
262. Knopp, T., Cano, J.M., Crochet, P.A., & Marila, J. (2007). Contrasting levels of variation in neutral and quantitative genetic loci on island populations of moor frogs (*Rana arvalis*). *Conservation Genetics*, 8, 45–56.
263. Kolbe, J.J., Glor, R.E., Rodriguez Schettino, L., Lara, A.C., Larson, A., & Losos, J.B. (2004). Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature*, 431, 177–181.
264. Komaru, A., Kawagishi, T., & Konishi, K. (1998). Cytological evidence of spontaneous androgenesis in the freshwater clam *Corbicula leana* Prime. *Development Genes and Evolution*, 208, 46–50.
265. Komaru, A., Houki, S., Yamada, M., Miyake, T., Obata, M., & Kawamura, K. (2012). 28S rDNA haplotypes of males are distinct from those of androgenetic hermaphrodites in the clam *Corbicula leana*. *Development Genes and Evolution*, 222(3), 181–187.
266. Komaru, A., Yamada, M., & Houki, S. (2013). Relationship between two androgenetic clam species, *Corbicula leana* and *Corbicula fluminea*, inferred from mitochondrial cytochrome *b* and nuclear 28S rRNA markers. *Zoological Science*, 30, 360–365.

267. Konečný, A., Popa, O.P., Bartáková, V., Douda, K., Bryja, J., Smith, C., Popa, L.O., & Reichard, M. (2018). Modelling the invasion history of *Sinanodonta woodiana* in Europe: Tracking the routes of a sedentary aquatic invader with mobile parasitic larvae. *Evolutionary Application*, 11, 1975–1989.
268. Korniushev, A.V. (2004). A revision of some Asian and African freshwater clams assigned to *Corbicula fluminalis* (Müller, 1774) (Mollusca: Bivalvia: Corbiculidae), with a review of anatomical characters and reproductive features based on museum collections. *Hydrobiologia*, 529, 255–270.
269. Kos'yan, A.R. (2009, November). Muricid *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) in the Black Sea. In: *Proceedings of the Ninth International Conference on the Mediterranean Coastal Environment, MEDCOAST 09 (10–14 November 2009, Sochi, Russia)*, pp. 305–315. Ankara: Middle East Technical Univ.
270. Kos'yan, A.R. (2013). Comparative analysis of *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) from different biotopes of the Black Sea based on its morphological characteristics. *Oceanology*, 53, 47–53.
271. Koutsoubas, D., & Voultsiadou-Koukoura, E. (1991). The occurrence of *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) (Gastropoda, Thaididae) in the Aegean Sea. *Bolletino Malacogico*, 26(10–12), 201–204.
272. Kovalev, E.A., Zhivoglyadova, L.A., Revkov, N.K., Frolenko, L.N., & Afanasyev, D.F. (2017). First record of the bivalve *Arcuatula senhousia* (Benson, 1842) in the Russian part of the Azov-Black Sea basin. *Russian Journal of Biological Invasion*, 8, 24–29.
273. Krapal, A.M., Popa, O.P., Levarda, A.F., Iorgu, E.I., Costache, M.A.R.I.E.T.A., Crocetta, F.A.B.I.O., & Popa, L.O. (2014). Molecular confirmation on the presence of *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906)(Mollusca: Bivalvia: Arcidae) in the Black Sea. *Travaux du Museum National d'Histoire Naturelle Grigore Antipa*, 57(1), 9–12.
274. Krieger, M.J.B., & Ross, K.G. (2002). Identification of a major gene regulating complex social behavior. *Science*, 295, 328–32.

275. Kulikova, V.A. (1978). Morphology, seasonal population dynamics, and settlement of larvae of the bivalve mollusc *Musculista senhousia* in Busse Lagoon (South Sakhalin). *Biologiya Morya-Marine Biology*. 4, 769–773.
276. Kumar, S., Stecher, G, Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547–1549.
277. Kuroda, T. 1938. Studies on Japanese Corbicula. *Venus*, 8, 21–36.
278. Kutschera, U. (1985). Beschreibung einer neuen Egelart, *Helobdella striata* nov. sp. (Hirudinea: Glossiphoniidae). *Zoologische Jahrbücher Systematik*, 112, 469–476.
279. Kutschera, U. (1987). Notes on the taxonomy and biology of leeches of the genus *Helobdella* Blanchard 1896 (Hirudinea: Glossiphoniidae). *Zoologischer Anzeiger*, 219, 321–323.
280. Labecka, A.M., Domagała, J., & Pilecka-Rapacz, M. (2005). First record of *Corbicula fluminalis* (O.F. Müller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) in Poland. *Folia Malacologica*, 13, 25–27.
281. Labecka, A.M. (2009). The reproductive cycles of the non-native bivalves' species *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834), *Corbicula fluminea* (O.F. Müller, 1774) and *Corbicula fluminalis* (O.F. Müller, 1774) (Mollusca: Bivalvia) from the cooling water of the Dolna Odra Power Plant. (PhD thesis, University of Szczecin, Szczecin, Poland).
282. Lagos, M.E., White, C.R., & Marshall, D.J. (2017). Do invasive species live faster? Mass-specific metabolic rate depends on growth form and invasion status. *Functional Ecology*, 31(11), 2080-2086.
283. Lai, K.Y., & Pan, C.W. (1980.) The *Rapana* shells of Taiwan. *Bulletin of Malacology, Republic of China*, 7, 27–32.
284. Lai, Y.T., Chang, C.H., & Chen, J.H. (2009). Two new species of *Helobdella* Blanchard, 1896 (Hirudinida: Rhynchocdellida: Glossiphoniidae) from Taiwan, with a checklist of Hirudinea fauna of the Island. *Zootaxa*, 2068, 27–46.

285. Lee, J.-S., & Kim, J.B. (1997). Systematic study of the genus *Corbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in Korea. *Korean Journal of Systematic Zoology*, 13, 233–246.
286. Lee, T., Siripattawan, S., Ituarte, C.F., & Foighil, D.Ó. (2005). Invasion of the clonal clams: *Corbicula* lineages in the New World. *American Malacological Bulletin*, 20, 113–122.
287. Lee, C.E. (2002). Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in ecology & evolution*, 17(8), 386–391.
288. Lee, T. (2019). *Invertebrate fauna of Korea. Vol. 19, no. 7. Bivalves III. Mollusca: Bivalvia: Unionoida: Unionidae. Veneroida: Kelliellidae, Trapeziidae, Cyrenidae, Glauconomidae, Sphaeriidae, Glossidae, Veneridae.* National Institute of Biological Resources, Incheon, South Korea.
289. Lejeusne, C., Saunier, A., Petit, N., Béguer, M., Otani, M., Carlton, J. T., Rico, C., & Green, A.J. (2014). High genetic diversity and absence of founder effects in a worldwide aquatic invader. *Scientific reports*, 4, 5808.
290. Lemic, D., Mikac, K.M., Kozina, A., Benitez, H.A., McLean, C.M., & Bazôk, R. (2016). Monitoring techniques of the western corn rootworm are the precursor to effective IPM strategies. *Pest Management Science*, 72(2), 405–417.
291. Leppakoski, E., Olenin, S. (2000). Non-native species and rates of spread: lessons from the brackish Baltic Sea. *Biological Invasions*, 2, 151–163.
292. Leppakoski, E. (2005). The first twenty years of invasion biology in the Baltic Sea area. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 34(1), 5–17.
293. Levine, J.M. & D'Antonio, C.M. (2003). Forecasting biological invasions with increasing international trade. *Conservation Biology*, 17, 322–326.
294. Leyva-Valencia, I., Álvarez-Castañeda, S.T., Lluch-Cota, D.B., González-Peláez, S., Pérez-Valencia, S., Vadopalas, B., Ramírez-Pérez, S., & Cruz-Hernández, P. (2012). Shell shape differences between two *Panopea* species and phenotypic variation among *P. globosa* at different sites using two geometric morphometrics approaches. *Malacologia*, 55 (1), 1–13.

295. Liang, Z.L., Kim, Y.H., Zhang, Z.F., Lim, S.M., & Kang, K.H. (2009). Water temperature and salinity tolerance of embryos and spat of the mussel, *Musculista senhousia*. *Korean Journal of Malacology*, 25, 179–187.
296. Lipták, B., Mojžišová, M., Grul'a, D., Christophoryová, J., Jablonski, D., Bláha, P., Petrusek, A., & Kouba, A. (2017). Slovak section of the Danube has its well-established breeding ground of marbled crayfish *Procambarus fallax* f. *virginalis*. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 418, 1–5.
297. Liu, Y., & Cui, Z. (2011). Complete mitochondrial genome of the Chinese spiny lobster *Panulirus stimpsoni* (Crustacea: Decapoda): genome characterization and phylogenetic considerations. *Molecular Biology Reports*, 38, 403–410.
298. Liu, J., Mercer, J.M., Stam, L.F., Gibson, G.C., Zeng, Z.B., & Laurie, C.C. (1996). Genetic analysis of a morphological shape difference in the male genitalia of *Drosophila simulans* and *D. mauritiana*. *Genetics*, 142 (4), 1129–1145.
299. Liu, X.A., Li, Y.M., & McGarrity, M. (2010). Geographical variation in body size and sexual size dimorphism of introduced American bullfrogs in southwestern China. *Biological Invasions*, 12(7), 2037–2047.
300. Lodeiros, C., González Henríquez, M.N., Cuéllar-Anjel, J., Hernández-Reyes, D., Medina-Alcaraz, C., Quinteiro, J., & Rey-Méndez, M. (2019). Invasion of the dark false mussel in shrimp farms in Venezuela: species identification and genetic analysis. *BioInvasions Records*, 8(4), 838–847.
301. Lokkos, A., Muller, T., Kovacs, K., Varkonyi, L., Specziar, A., & Martin, P. (2016). The alien, parthenogenetic marbled crayfish (Decapoda: Cambaridae) is entering Kis-Balaton (Hungary), one of Europe's most important wetland biotopes. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 417(16), 1–9.
302. López-Soriano, J., Quiñonero-Salgado, S., Cappelletti, C., Faccenda, F., & Ciutti, F. (2018). Unravelling the complexity of *Corbicula* clams invasion in Lake Garda (Italy). *Advances in Oceanography and Limnology*, 9, 97–104.

303. Lydeard, C., Campbell, D., & Golz, M. (2016). *Physa acuta* Draparnaud, 1805 should be treated as a native of North America, not Europe. *Malacologia*, 59, 347–350.
304. Lyko, F. (2017). The marbled crayfish (Decapoda: Cambaridae) represents an independent new species. *Zootaxa*, 4363, 544–552.
305. Lynch, M., & Walsh, B. (1998). *Genetics and analysis of quantitative traits (Vol. 1)*. Sunderland, MA: Sinauer.
306. Macklin, M.G., Brewer, P.A., Balteanu, D., Coulthard, T.J., Driga, B., Howard, A.J., & Zaharia S. (2003). The long term fate and environmental significance of contaminant metals released by the January and March 2000 mining tailings dam failures in Maramures. County, upper Tisa Basin, Romania. *Applied Geochemistry*, 18, 241–257.
307. Málnás, K., Kovács, K., Ficsór, M., Juhász, P., Müller, Z., Olajos, P., & Kiss, B. (2016). Appearances of the non-indigenous *Helobdella europaea* Kutschera, 1987 (Hirudinea, Glossiphoniidae) in Hungarian watercourses. *Folia Historico-Naturalia Musei Matraensis*, 40, 17–20.
308. Mann, R., & Harding, J. M. (2003). Salinity tolerance of larval *Rapana venosa*: Implications for dispersal and establishment of an invading predatory gastropod on the North American Atlantic coast. *Biological Bulletin*, 204, 96–103.
309. Marelli, D.C., & Gray, S. (1983). Conchological redescrptions of *Mytilopsis sallei* and *Mytilopsis leucophaeta* of the brackish Western Atlantic. *The Veliger*, 25, 185–193.
310. Marescaux, J., Pigneur, L.-M., & Van Doninck, K. (2010). New records of *Corbicula* clams in French rivers. *Aquatic Invasions*, 5, S35–S39.
311. Márquez, F., & Van Der Molen, S. (2011). Intraspecific shell-shape variation in the razor clam *Ensis macha* along the Patagonian coast. *Journal of Molluscan Studies*, 77, 123–128.

312. Marraffini, M.L., Brown, C.W., Ashton, G., Chang, A.L., & Ruiz, G.M. (2017). Settlement plates as monitoring devices for non-indigenous species in marine fouling communities. *Management of Biological Invasions*, 8, 559–566.
313. Martin, P., Dorn, N., Kawai, T., van der Heiden, C., & Scholtz, G. (2010a). The enigmatic Marmorkrebs (marbled crayfish) is the parthenogenetic form of *Procambarus fallax* (Hagen, 1870). *Contribution to Zoology*, 79, 107–118.
314. Martin, P., Shen, H., Füller, G., & Scholtz, G. (2010b). The first record of the parthenogenetic Marmorkrebs (Decapoda, Astacida, Cambaridae) in the wild in Saxony (Germany) raises the question of its actual threat to European freshwater ecosystems. *Aquatic Invasions*, 5, 397–403.
315. Maruyama, T., & Fuerst, P.A. (1985). Population bottleneck and nonequilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck. *Genetics*, 111, 675–689.
316. Mashiko, K. (1983a). Differences in the egg and clutch sizes of the prawn *Macrobrachium nipponense* (de Haan) between brackish and freshwaters of a river. *Zoological Magazine*, 92, 1–9.
317. Mashiko, K. (1983b). Comparison of growth pattern until sexual maturity between the estuarine and upper freshwater population of the prawn *Macrobrachium nipponense* (de Haan) within a river. *Japanese Journal of Ecology*, 33, 207–212.
318. Mashiko, K. (2000). Variations in body size of individuals at sexual maturity among local populations of the freshwater prawn *Macrobrachium nipponense* (de Haan), with special reference to freshwater colonization. *Crustacean Research*, 29, 20–26.
319. Maynard Smith, J., & Haigh, J. (1974). The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genetic Research*, 23, 23–35.
320. Mayr, E. (1942). *Systematics and the Origin of Species, from the Viewpoint of a Zoologist*. Harvard University Press, Cambridge

321. McAlister, J.S. (2007). Egg size and the evolution of phenotypic plasticity in larvae of the echinoid genus *Strongylocentrotus*. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 352(2), 306–316.
322. McClain, C.R., Johnson, N.A., & Rex, A.M. (2004). Morphological disparity as a biodiversity metric in lower bathyal and abyssal gastropod assemblages. *Evolution*, 58 (2), 338–348.
323. McCormick, F.H., Contreras, G.C., & Johnson, S.L. (2009). Effects of nonindigenous invasive species on water quality and quantity. *A dynamic invasive species research vision: opportunities and priorities*, 29, 111–120.
324. McDonald, J.I., & Wells, F.E. (2010). The apparent demise of the Asian date mussel *Musculista senhousia* in Western Australia: or using acts of god as an eradication tool. *Biological Invasions*, 12, 715–719,
325. McMahon, R.F. (1983). Ecology of an invasive pest bivalve, *Corbicula*. In: Ed. Russel-Hunter, W.D.) *The Mollusca, Vol. 6: Ecology*, pp 505–561. Academic Press, London.
326. McMahon, R.F. (2002). Evolutionary and physiological adaptations of aquatic invasive animals: selection versus resistance. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59, 1235–1244
327. Mel, P. (1976). Sulla presenza di *Rapana venosa* (Valenciennes) e di *Charonia variegata* sequenza (AR & BEN.) nell'Atlo Adriatico. *Conchiglie, Milano*, 12, 129–132.
328. Micu, S., Kelemen, B., & Mustata, G. (2008). Current distribution and shell morphotypes of *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) in the Agigea 4 m littoral. *Analele Stiintifice ale Universitatii "Al. I. Cuza" Iasi, s. Biologie animala*, 54, 185–189.
329. Micu, D. (2004). First record of *Musculista senhousia* (Benson in Cantor, 1842) from the Black Sea. In: *International Symposium Of Malacology, Abstract Book* (p. 47)

330. Mikac, K.M., Lemic, D., Bazôk, R., & Benítez, H.A. (2016). Wing shape changes: a morphological view of the *Diabrotica virgifera virgifera* European invasion. *Biological Invasions*, 18(12), 3401–3407.
331. Milani, L., Ghiselli, F., Nuzhdin, S.V., & Passamonti, M. (2013). Nuclear genes with sex bias in *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia, Veneridae): mitochondrial inheritance and sex determination in DUI species. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 320(7), 442-454.
332. Milani, L., Ghiselli, F., & Passamonti, M. (2016). Mitochondrial selfish elements and the evolution of biological novelties. *Current Zoology*, 62, 687–697.
333. Miller, A.W., Minton, M.S., & Ruiz, G.M. (2011). Geographic limitations and regional differences in ships' ballast water management to reduce marine invasions in the contiguous United States. *BioScience*, 61, 880–887.
334. Minamoto, T., Naka, T., Moji, K., & Maruyama, A. (2016). Techniques for the practical collection of environmental DNA: filter selection, preservation, and extraction. *Limnology*, 17, 23e32.
335. Minchin, D. (2007). A checklist of alien and cryptogenic aquatic species in Ireland. *Aquatic Invasions*, 2(4), 341-366.
336. Mineur, F., Johnson, M.P., & Maggs, C.A. (2008). Macroalgal introductions by hull fouling on recreational vessels: Seaweeds and sailors. *Environmental Management*, 42, 667–676.
337. Minh, B.Q., Nguyen, M.A.T., & von Haeseler, A. (2013). Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Molecular Biology and Evolution*, 30 (5), 1188–1195.
338. Mitchell, A., Guerra, D., Stewart, D. T., & Breton, S. (2016). In silico analyses of mitochondrial ORFans in freshwater mussels (Bivalvia: Unionoida) provide a framework for future studies of their origin and function. *BMC Genomics*, 17, 597.
339. Morhun, H., Khomenko A., Utevsky S., & Palatov D. (2018a, July). On the taxonomic status of *Theodoxus subthermalis* (Gastropoda: Neritidae). In: “3rd

Central European Symposium for Aquatic Macroinvertebrate Research” (136 p.), Łódź, University of Łódź.

340. Morhun, H., Khomenko, A., Palatov, D., Prokin, A., Son, M., & Utevsky, S. (2018b, November). Theodoxus in the South Caucasus: species diversity or morphological plasticity? In: “*Abstract book of the Conference of young zoologists*” (15 p.), Kiev, Institute of zoology.
341. Morhun, H., Son, M.O., Utevsky, S., & Kovtun, O.O. (2021a, June). Morphological and molecular studies of the rapa whelk, *Rapana venosa*, from Odesa Bay. In: *Zoology in the modern world: challenges of the XXI century. Study of invertebrates* (p. 90). Kyiv, I.I. Schmalhausen Institute of Zoology of National Academy of Sciences of Ukraine.
342. Morhun, H., Sidorovskiy, S., Khomenko, A., Mazepa, G., & Utevsky, S. (2021b). First Ukrainian record of the invasive leech *Helobdella europaea* (Hirudinea: Glossiphoniidae) from an aquarium in Kharkiv: morphological variability and phylogenetic relationships. *Biologia*, 76, 193–202.
343. Morhun, H., Utevsky, S., & Son, M.O. (2019, September). Morphological differentiation of *Corbicula* clams (Mollusca: Bivalvia) from the lower Danube. In: *International zoological conference “Ukrainian fauna on the verge of XX-XXI century. Status and biodiversity of ecosystems of protected areas”* (23-24 pp.) Lviv – Shatsk, Lviv National University.
344. Morton, B. (1982). Some aspects of the population structure and sexual strategy of *Corbicula* cf. *fluminalis* (Bivalvia: Corbiculacea) from the Pearl River, People’s Republic of China. *Journal of Molluscan Studies*, 48, 1–23.
345. Morton, B. (1986). *Corbicula* in Asia – an updated synthesis. *American Malacological Bulletin*, Special Edition 2, 113–124.
346. Mouthon, J. (1981). Sur la présence en France et au Portugal de *Corbicula* (Bivalvia, Corbiculidae) originaire d’Asie. *Basteria*, 45, 109–116.

347. Mouthon, J. (2000). Répartition du genre *Corbicula* Megerle von Mühlfeld (Bivalvia: Corbiculidae) en France à l'aube du XXI siècle. *Hydroécologie Appliquée*, 12, 135–146.
348. Muirhead, J.R., & MacIsaac, H.J. (2005). Development of inland lakes as hubs in an invasion network. *Journal Applied Ecology*, 42, 80–90.
349. Müller, O.F. (1774). *Vermium terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusoriorum, helminthicorum et testaceorum, non marinorum, succincta historia*, Vol. 2. Heineck & Faber, Havnie et Lipsiae.
350. Namiesnik, J., Szefer, P., Moncheva, S., Ham, K. S., Kang, S. G., Arancibia-Avila, P., Toledo, F., Goshev, I., & Gorinstein, S. (2012). Characterization of *Rapana thomasiana* as an indicator of environmental quality of the Black Sea coast of Bulgaria. *Environmental technology*, 33(2), 201–209.
351. Nantarat, N., Sutcharit, C., Tongkerd, P., Wade, C. M., Naggs, F., & Panha, S. (2019). Phylogenetics and species delimitations of the operculated land snail *Cyclophorus volvulus* (Gastropoda: Cyclophoridae) reveal cryptic diversity and new species in Thailand. *Scientific Reports*, 9 (1), 1–12.
352. Naylor, R.L., Williams, S.L., Strong, D.R. (2001). Aquaculture—A gateway for exotic species. *Science*, 294, 1655–1656.
353. Nehring, S. (2002). Biological invasions into German waters: an evaluation of the importance of different human-mediated vectors for nonindigenous macrozoobentic species. In: Eds. Leppäkoski, E., Gollasch, S., Olenin, S.) *Invasive aquatic species of Europe. Distribution, impacts and management* (373–383 pp). Kluwer, The Netherlands,
354. Nei, M., Maruyama, T., & Chakraborty, R. (1975). The bottleneck show effect and genetic variability in population. *Evolution*, 29, 1–10.
355. Nentwig, W., (2007). *Biological Invasions: Why It Matters Biological Invasions*. Springer, Berlin Heidelberg.

356. Neesemann, H., & Neubert, E. (1999). *Annelida, Clitellata: Branchiobdella, Acanthobdellea, Hirudinea*. Berlin: Süßwasserfauna von Mitteleuropa 6 / 2, Spektrum Akademischer Verlag.
357. Neesemann, H. (1993). Zur Verbreitung von *Niphargus* (Phaenogammarus) Dudich 1941 und *Synurella* Wrzeńskiowski 1877 in der ungarischen Tiefebene (Crustacea, Amphipoda). *Lauterbornia*, 13, 61–71.
358. Newcomer, K., Tracy, B.M., Chang, A.L., & Ruiz, G.M. (2019). Evaluating Performance of Photographs for Marine Citizen Science Applications. *Frontiers in Marine Science*, 6, 336.
359. Newkirk, G.F. (1980). Genetics of shell color in *Mytilus edulis* (L.) and the association of growth rate with shell color. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 47(1), 89–94.
360. Newman, D., & Pilson, D. (1997). Increased probability of extinction due to decreased genetic effective population size: experimental populations of *Clarkia pulchella*. *Evolution*, 51, 354–62.
361. Nguyen, L.T., Schmidt, H.A., von Haeseler, A., & Minh, B.Q. (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32, 268–274.
362. Nieminen, M., Singer, M.C., Fortelius, W., Schops, K., & Hanski, I. (2001). Experimental confirmation that inbreeding depression increases extinction risk in butterfly populations. *The American Naturalist*, 157, 237–44.
363. Nieweg, D.C., Post, J.J.N., & Vink, R.J. (2005). *Rapana venosa* (Gastropoda: Muricidae): a new invasive species in the North Sea. *Deinsea*, 11, 169–174.
364. Novitsky, R.A., & Son, M.O. (2016). The first records of Marmorkrebs *Procambarus fallax* (Hagen, 1870) f. *virginalis* (Crustacea, Decapoda, Cambaridae) in Ukraine. *Ecologica Montenegrina*, 5, 44–46.
365. Ocegüera-Figueroa, A., León-Re`gagnon, V., & Siddall, M.E. (2005). Phylogeny and revision of Erpobdelliformes (Annelida, Arhynchobdellidae)

- from Mexico based on nuclear and mitochondrial gene sequences. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 76, 191–198.
366. Ocegüera-Figueroa, A., León-Règagnon, V., & Siddall, M.E. (2010). DNA barcoding reveals Mexican diversity within the freshwater leech genus *Helobdella* (Annelida: Glossiphoniidae). *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 21(1), 24–29.
367. Ocegüera-Figueroa, A., Phillips, A.J., Pacheco-Chaves, B., Reeves, W.K., & Siddall, M.E. (2011). Phylogeny of macrophagous leeches (Hirudinea, Clitellata) based on molecular data and evaluation of the barcoding locus. *Zoologica Scripta*, 40(2), 194–203.
368. Olden, J. D., Lockwood, J.L., & Parr, C.L. (2011). Biological invasions and the homogenization of faunas and floras. *Conservation biogeography*, 9, 224–244.
369. Oleg Kovtun. Hydrobio. (26 серпня 2014 рік). Рапана убивает травяного краба. Rapana kills herbal crab [Відео]. Youtube: <https://www.youtube.com/watch?v=gjY1B8i-hEo>
370. Olenin, S., & Leppäkoski, E. (1999). Non-native animals in the Baltic Sea: alteration of benthic habitats in coastal inlets and lagoons. *Hydrobiologia*, 393, 233–243.
371. Öztürk, B., Bitlis, B., Doğan, A., & Türkçü, N. (2017). Alien marine molluscs along the Turkish coast, with a new record of *Varicopeza pauxilla* (A. Adams, 1855) (Mollusca: Gastropoda) from the Mediterranean Sea. *Acta Zoologica Bulgarica*, Suppl. 9, 83–92
372. Paez, D., Govedich, F.R., Bain, B.A., Kellet, M., & Burd, M. (2004). Cost of parental care on hunting behaviour *Helobdella papillornata* (Euhirudinea: Glossiphoniidae). *Hydrobiologia*, 519, 185–8.
373. Pallas, P.S. (1771). *Reise durch verschiedene Provinzen des Russischen Reichs. Theil I. Physicalische Reise durch verschiedene Provinzen des Russischen Reichs im 1768- und 1769 sten Jahren*. St. Petersburg: Kayserliche Akademie der Wissenschaften.

374. Panov, V.E. (2020). Caspian invaders vs. Ponto-Caspian locals – range expansion of invasive macroinvertebrates from the Volga Basin results in high biological pollution of the Lower Don River. *Management of Biological Invasions*, 11, 178–200.
375. Park, J., & Kim, W. (2003). Two *Corbicula* (Corbiculidae: Bivalvia) mitochondrial lineages are widely distributed in Asian freshwater environment. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29, 529–539.
376. Park, J., Lee, J.S., & Kim, W. (2002). A single mitochondrial lineage is shared by morphologically and allozymatically distinct freshwater *Corbicula* clones. *Molecules and Cells*, 14, 318–322.
377. Parmesan, C., & Yohe, G. (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, 421(6918), 37–42.
378. Passamonti, M., & Plazzi, F. (2020). Doubly Uniparental Inheritance and beyond: The contribution of the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 58(2), 529–540.
379. Passamonti, M. (2007). An unusual case of gender-associated mitochondrial DNA heteroplasmy: the mytilid *Musculista senhousia* (Mollusca Bivalvia). *BMC Evolutionary Biology*, Suppl 2(S7), 1–11.
380. Passamonti, M., Ricci, A., Milani, L., & Ghiselli, F. (2011). Mitochondrial genomes and Doubly Uniparental Inheritance: new insights from *Musculista senhousia* sex-linked mitochondrial DNAs (Bivalvia Mytilidae). *BMC Genomics*, 12, 442.
381. Patoka, J., Buřič, M., Kolář, V., Bláha, M., Petrtýl, M., Franta, P., Tropek, R., Kalous, L., Petrusek, A., & Kouba, A. (2016). Predictions of marbled crayfish establishment in conurbations fulfilled: Evidences from the Czech Republic. *Biologia*, 71 (12), 1380–1385.
382. Paunović, M. (2007). Distribution of Asian clams *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) and *C. fluminalis* (Müller, 1774) in Serbia. *Aquatic Invasions*, 2, 99–106.

383. Pavlova, V.V. (2014). The study of age-related variability of pigmentation patterns of the shells of *Dreissena polymorpha* (Bivalvia, Dreissenidae) from different parts of its range. *Vestnik zoologii*, 48(2), 137.
384. Pederzani, H.A. (1980). Ungebetene Gäste in unseren Aquarien. *Aquarien Terrarien*, 27, 370–4.
385. Peñarrubia, L., Araguas, R.-M., Vidal, O., Pla, C., Viñas, J., & Sanz, N. (2017). Genetic characterization of the Asian clam species complex (*Corbicula*) invasion in the Iberian Peninsula. *Hydrobiologia*, 784, 349–365.
386. Pentinsaari, M., Salmela, H., Mutanen, M., & Roslin, T. (2016). Molecular evolution of a widely-adopted taxonomic marker (COI) across the animal tree of life. *Scientific reports*, 6(1), 1–12.
387. Perry, W.L., Lodge, D.M., & Feder, J.L. (2002). Importance of hybridization between indigenous and nonindigenous freshwater species: an overlooked threat to North American biodiversity. *Systematic Biology*, 51, 255–275.
388. Pezzoli, E. (2010). Notes on new or rare taxa of Crustaceans and Molluscs from a “fontanile” in Arzago d’Adda, Bergamo, Italy (Crustacea, Mollusca). *Biodiversity Journal*, 1 (1/4), 45–55.
389. Pfeiffer, I., Brenig, B., & Kutschera, U. (2004). The occurrence of an Australian leech species (genus *Helobdella*) in German freshwater habitats as revealed by mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 33, 214–219.
390. Pfenninger, M., Reinhardt, F., & Streit, B. (2002). Evidence for cryptic hybridization between different evolutionary lineages of the invasive clam genus *Corbicula* (Veneroida, Bivalvia). *Journal of Evolutionary Biology*, 15, 818–829.
391. Piechocki, A., & Wawrzyniak-Wydrowska, B. (2016). *Guide to freshwater and marine Mollusca of Poland*. Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań, Poland.
392. Pigneur, L.-M., Marescaux, J., Roland, K., Etoundi, E., Descy, J.-P., & Van Doninck, K. (2011). Phylogeny and androgenesis in the invasive *Corbicula* clams (Bivalvia, Corbiculidae) in Western Europe. *BMC Evolutionary Biology*, 11, 147.

393. Pigneur, L.-M., Hedtke, S.M., Etoundi, E., & Van Doninck, K. (2012). Androgenesis: a review through the study of the selfish shellfish *Corbicula* spp. *Heredity*, 108, 581–591.
394. Pigneur, L.-M., Etoundi, E., Aldridge, D.C., Marescaux, J., Yasuda, N., & Van Doninck, K. (2014). Genetic uniformity and long-distance clonal dispersal in the invasive androgenetic *Corbicula* clams. *Molecular Ecology*, 23(20), 5102–5116.
395. Pineda, M.C., Turon X, Pérez-Portela R, & López-Legentil S (2016). Stable populations in unstable habitats: temporal genetic structure of the introduced ascidian *Styela plicata* in North Carolina. *Marine Biology*, 163, 59.
396. Pisor, D.L. (2005). *Registry of World Record Size Shells*. Hackenheim: ConchBooks.
397. Plazzi, F., Puccio, G., & Passamonti, M. (2016). Comparative large-scale mitogenomics evidences clade-specific evolutionary trends in mitochondrial DNAs of Bivalvia. *Genome Biological Evolution*, 8, 2544–2564.
398. Pointier, J.P. (1993). The introduction of *Melanoides tuberculata* (Mollusca: Thiaridae) to the island of Saint Lucia (West Indies) and its role in the decline of *Biomphalaria glabrata*, the snail intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica*, 54(1), 8–13.
399. Prashad, B. 1929. Revision of the Asiatic species of the genus *Corbicula*. III. The species of the genus *Corbicula* from China, south-eastern Russia, Thibet, Formosa and the Philippine Islands. *Memoirs Indian Museum*, 9, 49–68.
400. Prié, V. (2017). *Naïades et autres bivalves d'eau douce de France*. Muséum National d'Histoire Naturelle, Biotopie, Mèze, France.
401. Prime, T. (1867). Notes on species of the family Corbiculadae, with figures. *Annals of the Lyceum of Natural History of New York*, 8, 57–92, 213–237, 414–418.
402. Provine, W. B. (2004). Ernst Mayr: Genetics and speciation. *Genetics*, 167(3), 1041–6.

403. Pyšek, P., & Richardson, D.M. (2010). Invasive species, environmental change and management, and health. *Annual Review of Environment and Resources*, 35, 25–55.
404. Quan, A.S., Pease, K.M., Breinholt, J.W., & Wayne, R.K. (2014). Origins of the invasive red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) in the Santa Monica mountains. *Aquatic Invasions*, 9, 211–219.
405. Quiñonero-Salgado, S.Q., & López-Soriano, J.L. (2016). Revisión del género *Corbicula* von Mühlfeld, 1811 (Bivalvia: Corbiculidae) en el Baix Empordà (NE península Ibérica). *Spira*, 6, 29–39.
406. Rajagopal, S., Van der Velde, G., & Bij de Vaate, A. (2000). Reproductive biology of the Asiatic clams *Corbicula fluminalis* and *Corbicula fluminea* in the river Rhine. *Archiv für Hydrobiologie*, 149, 403–420.
407. Ratnasingham, S., & Hebert, P.D.N. (2007). BOLD: the Barcode of Life data system www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*, 7, 355–364.
408. Rees, H.C., Maddison, B.C., Middleditch, D.J., Patmore, J.R.M., & Gough, K.C. (2014). The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology. *Journal of Applied Ecology*, 51(5), 1450–1459.
409. Renard, E., Bachmann, V., Cariou, M.L., & Moreteau, J.C. (2000). Morphological and molecular differentiation of invasive freshwater species of the genus *Corbicula* (Bivalvia, Corbiculidea) suggest the presence of three taxa in French rivers. *Molecular Ecology*, 9(12), 2009–2016.
410. Rewicz, T., Wattier, R., Grabowski, M., Rigaud, T., & Bącela-Spychalska, K. (2015) Out of the Black Sea: Phylogeography of the Invasive Killer Shrimp *Dikerogammarus villosus* across Europe. *PLoS ONE*, 10(2), e0118121.
411. Rewicz, T., Brodecki, J., Bącela-Spychalska, K., Konopacka, A., & Grabowski, M. (2020). Further steps of *Cryptorchestia garbinii* invasion in Polish inland waters with insights into its molecular diversity in Central and Western Europe. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*, (421), 17.

412. Reyes-Prieto, M., Oceguera-Figueroa, A., Snell, S., Negredo, A., Barba, E., Fernández, L., Moya, A., & Latorre, A. (2013). DNA barcodes reveal the presence of the introduced freshwater leech *Helobdella europaea* in Spain. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 25(5), 1–7.
413. Rhyne, A.L., Tlustý, M.F., Schofield, P.J., Kaufman, L., Morris, J.A.Jr., & Bruckner, A.W. (2012). Revealing the appetite of the marine aquarium fish trade: The volume and biodiversity of fish imported into the United States. *PLoS ONE*, 7, e35808.
414. Rice, W.R. (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43, 223–225.
415. Richards, C.L., Bossdorf, O., Muth, N.Z., Gurevitch, J., & Pigliucci, M. (2006). Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. *Ecological Letters*, 9, 981–93.
416. Roche, D.G., & Torchin, M.E. (2007). Established population of the North American Harris mud crab, *Rhithropanopeus harrisi* (Gould 1841)(Crustacea: Brachyura: Xanthidae) in the Panama Canal. *Aquatic Invasions*, 2(3), 155–161.
417. Rohlf, F.J., & Corti, M. (2000). Use of two-block partial least-squares to study covariation in shape. *Systematic biology*, 49 (4), 740–753.
418. Rohlf, F.J. TpsDig. 2.17 ed. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. 2014. Available: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. (accessed 19 August 2015)
419. Roman, J., & Darling, J.A. (2007). Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends of Ecological Evolution*, 22, 454–464.
420. Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Snchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E., & Snchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34, 3299–3302.
421. Ruesink, J.L., Lenihan, H.S., Trimble, A.C., Heiman, K.W., Micheli, F., Byers, J.E., & Kay, M. C. (2005). Introduction of non-native oysters: ecosystem

effects and restoration implications. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 643–689.

422. Ruffo, S., Tarocco, M., & Latella, L. (2014). *Cryptorchestia garbinii* n. sp. (Amphipoda: Talitridae) from Lake Garda (Northern Italy), previously referred to as *Orchestia cavimana* Heller, 1865, and notes on the distribution of the two species. *Italian Journal of Zoology*, 81(1), 92–99.
423. Ruffo, S. (1974). Il genere *Synurella* Wrzesn. in Anatolia, descrizione di una nuova specie e considerazioni su *Lyurella hyrcana* Dersh. (Crustacea Amphipoda, Gammaridae). *Memorie Del Museo Civico Di Storia Naturale Di Verona* 1(20), 389–404.
424. Ruiz, G.M., & Crooks, J.A. (2001). Marine invaders: patterns, effects, and management of non-indigenous species. In: Eds. Gallagher, P., Bendell-Young, L.) *Waters in Peril*. Kluwer Academic Publishers, Norwell
425. Ruiz, G.M., Rawlings, T.K., Dobbs, F.C., Drake, L.A., Mullady, T., Huq, A., & Colwell, R.R. (2000). Global spread of microorganisms by ships. *Nature*, 408, 49–50.
426. Sakai, A.K., Allendorf, F.W., Holt, J.S., Lodge, D.M., Molofsky, J., With, K.A., Baughman, S., Cabin, R.J., Cohen, J.E., & Ellstrand, N.C. (2001). The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32, 305–332.
427. Salman, S.D., Page, T.J., Naser, M.D., & Yasser, A.G. (2006). The invasion of *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849) (Caridea: Palaemonidae) into the Southern Iraqi marshes. *Aquatic Invasions*, 1, 109–115.
428. Sano, N., Houki, S., Kodan, A., Kawamura, K., Yamada, M., & Komaru, A. (2020). Genetic confirmation of “egg parasitism” in androgenetic freshwater *Corbicula* clams by paternity testing using microsatellite DNA markers. *Plankton and Benthos Research*, 15, 58–62.

429. Savini, D., & Occhipinti-Ambrogi, A. (2006). Consumption rates and prey preference of the invasive gastropod *Rapana venosa* in the Northern Adriatic Sea. *Helgoland Marine Research*, 60, 153–159.
430. Sawyer, R.T. (1986). *Leech biology and behavior*. Oxford: Clarendon Press.
431. Sax, D.F., & Brown, J.H. (2000). The paradox of invasion. *Global Ecological Biogeography*, 9, 363–71.
432. Sax, D.F., Stachowicz, J.J., Brown, J.H., John F. Bruno⁴, Dawson, M.N., Gaines, S.D., Grosberg, R.K., Hastings, A., Holt, R.D., Mayfield, M.M., O'Connor, M.I., & Rice, W.R. (2007). Ecological and evolutionary insights from species invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22, 465–471.
433. Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D.J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., & Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9, 676–682.
434. Schlaepfer, M.A., Sax, D.F., & Olden, J.D. (2011). The potential conservation value of non-native species. *Conservation Biology*, 25(3), 428–37.
435. Schmerer, M.W., Null, R.W., & Shankland, M. (2013). Developmental transition to bilaterally symmetric cell divisions is regulated by Pax-mediated transcription in embryos of the leech *Helobdella austinensis*. *Development Biology*, 382(1), 149–159.
436. Schmieder, D.A., Benítez, H.A., Borissov, I.M., & Fruciano, C. (2015). Bat Species Comparisons Based on External Morphology: A Test of Traditional versus Geometric Morphometric Approaches. *PLoS ONE*, 1 (5), e0127043.
437. Scholtz, G., Braband, A., Tolley, L., Reimann, A., Mittmann, B., Lukhaup, C., Steuerwald, F., & Vogt, G. (2003). Ecology: Parthenogenesis in an outsider crayfish. *Nature*, 421, 806.
438. Seehausen, O. (2004). Hybridization and adaptive radiation. *Trends in Ecology & Evolution*, 19, 198–207.

439. Semenchenko, V., & Laenko, T. (2008). First record of the invasive North American gastropod *Ferrissia fragilis* (Tryon, 1863) from the Pripyat River basin, Belarus. *Aquatic Invasions*, 3(1), 80–82.
440. Serb, J.M., Alejandrino, A., Otárola-Castillo, E., & Adams, D.C. (2011). Morphological convergence of shell shape in distantly related scallop species (Mollusca: Pectinidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 163(2), 571–584.
441. Sereanu, V., Meghea, I., Vasile, G., Simion, M., & Mihai, M. (2016). Morphology and chemical composition relation of *Rapana thomasi* shell sampled from the Romanian Coast of the Black Sea. *Continental Shelf Research*, 126, 27–35.
442. Seyhan, K., Mazlum, E. R., Emiral, H., Engin, S., & Demirhan, S. (2003). Diel feeding periodicity, gastric emptying, and estimated daily food consumption of whelk (*Rapana venosa*) in the south eastern Black Sea (Turkey) marine ecosystem. *Indian Journal of Marine Sciences*, 32 (3), 249–251.
443. Sheehan, R., Etoundi, E., Minchin, D., Van Doninck, K., & Lucy, F. (2019). Identification of the invasive form of *Corbicula* clams in Ireland. *Water (Switzerland)*, 11, 1–13.
444. Sherman, C.D.H., Lotterhos, K.E., Richardson, M.F., Tepolt, C.K., Rollins, L.A., Palumbi, S.R., & Miller, A.D. (2016). What are we missing about marine invasions? Filling in the gaps with evolutionary genomics. *Marine Biology*, 163(10), 12.
445. Shinen, J.S., Morgan, S.G., & Chan, A.L. (2009). Invasion resistance on rocky shores: direct and indirect effects of three native predators on an exotic and a native prey species. *Marine Ecology Progress Series*, 378, 47–54
446. Siddall, M.E., & Borda, E. (2003). Phylogeny and revision of the leech genus *Helobdella* (Glossiphoniidae) based on mitochondrial gene sequences and morphological data and a special consideration of the triserialis complex. *Zoologica Scripta*, 32(1), 23–33.

447. Siddall, M.E., & Budinoff, R.B. (2005). DNA–barcoding evidence for widespread introductions of a leech from the South American *Helobdella triserialis* complex. *Conservation Genetics*, 6, 467–472.
448. Siddall, M.E., Bely, A.E., & Borda, E. (2006). Hirudinida. In: Eds. Rouse, G., Pliejel, F.) *Reproductive biology and phylogeny of Annelida* (393–429 pp.). Enfield, NH: Science Publishers..
449. Sidorov, D.A., & Palatov, D. (2012). Taxonomy of the spring dwelling amphipod *Synurella ambulans* (Crustacea: Crangonyctidae) in West Russia: with notes on its distribution and ecology. *European Journal of Taxonomy*, 23, 1–19.
450. Simberloff, D., Martin, J.-L., Genovesi, P. Maris, V., Wardle, D.A., Aronson, J., Courchamp, F., Galil, B., García- Berthou, E., Pascal, M., Pyšek, P., Sousa, R., Tabacchi, E., & Vilà, M. (2013). Impacts of biological invasions: what’s what and the way forward. *Trends in Ecological Evolution*, 28, 58–66.
451. Siripattrawan, S., Park, J.K., & Foighil, D.Ó. (2000). Two lineages of the introduced Asian freshwater clam *Corbicula* occur in North America. *Journal of Molluscan Studies*, 66(3), 423–429.
452. Sitnikova, T., Rzhetsky, A., & Nei, M. (1995). Interior-branch and bootstrap tests of phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 12, 319–333.
453. Sket, B. (1994). Distribution of *Asellus aquaticus* (Crustacea, Isopoda, Asellidae) and its hypogean populations at different geographic scales, with a note on *Proasellus istrianus*. *Hydrobiologia*, 287, 39–47.
454. Skjærseth, J.B., & Wettstad, J. (2002). Understanding the effectiveness of EU environmental policy: how can regime analysis contribute? *Environmental Politics*, 11, 99–120.
455. Skuza, L., Labecka, A.M., & Domagała, J. (2009). Cytogenetic and morphological characterization of *Corbicula fluminalis* (O.F. Müller, 1774) (Bivalvia: Veneroida: Corbiculidae): taxonomic status assessment of a freshwater clam. *Folia Biologica*, 57, 177–185.

456. Slijkerman, D.M.E., Glorius, S.T., Gittenberger, A., van der Weide, B.E., Bos, O.G., Rensing, M., & de Groot, G.A. (2017). *Monitoring Groningen Sea Ports : non-indigenous species and risks from ballast water in Eemshaven and Delfzijl. Wageningen Marine Research rapport* (No. C045/17 A). Wageningen Marine Research.
457. Slynko, E.E., Slynko, Y.V., & Rabushko, V.I. (2020). Adaptive strategy of *Rapana venosa* (Gastropoda, Muricidae) in the invasive population of the Black Sea. *Biosystems Diversity*, 28 (1), 48–52.
458. Snigirov, S., Medinets, V., Chichkin, V., & Sylantyev, S. (2013). Rapa whelk controls demersal community structure off Zmiinyi Island, Black Sea. *Aquatic Invasions*, 8(3), 289–297.
459. Sokołowski, A., Wołowicz, M., Hummel, H., Smolarz-Gorska, K., Fichet, D., Radenac, G., Thiriot-Quievreux, C., & Namiesnik, J. (2004). Abnormal features of *Macoma balthica* (Bivalvia) in the Baltic Sea: alerting symptoms of environmental adversity? *Marine Pollution Bulletin*, 49, 17–22.
460. Soldán, P., Pavonič, M., Bouček, J., & Kokeš, J. (2001). Baia Mare Accident – brief ecotoxicological report of Czech experts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49, 255–261.
461. Son, M.O., Novitsky, R.A., & Dyadichko, V.G. (2013). Recent state and mechanisms of invasions of exotic decapods in Ukrainian rivers. *Vestnik Zoologii*, 47 59–64.
462. Son, M.O., Prokin, A.A., Dubov, P.G., Konopacka, A., Grabowski, M., MacNeil, C., & Panov, V.E. (2020a). Caspian invaders vs. Ponto-Caspian locals—range expansion of invasive macroinvertebrates from the Volga Basin results in high biological pollution of the Lower Don River. *Management of Biological Invasions*, 11(2), 178.
463. Son, M.O., Morhun, H., Novitskyi, R.O., Sidorovskyi, S., Kulyk, M., & Utevsky, S. (2020b). Occurrence of two exotic decapods, *Macrobrachium*

- nipponense* (de Haan, 1849) and *Procambarus virginalis* Lyko, 2017, in Ukrainian waters. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 421, 40.
464. Son, M. (2007). *Invasive molluscs in fresh and brackish waters of the Northern Black Sea Region*. Druk Ltd, Odessa.
465. Son, M.O. (2019). Alien invertebrates in Ukrainian inland waters in the context of basin approach to river management and monitoring. *Geo&Bio*, 17, 77–44.
466. Sousa, R., Freire, R., Rufino, M., Méndez, J., Gaspar, M., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2007). Genetic and shell morphological variability of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in two Portuguese estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 74, 166–174.
467. Sousa, R., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2008). Ecology of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in aquatic ecosystems: an overview. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 44, 85–94.
468. Stepanok, N.A. (2014). Oriental river prawn of the genus *Macrobrachium* in the lower reach of the Dniester River. *Hydrobiological Journal*, 50, 110–113.
469. Stewart, D.T., Kenchington, E.R., Singh, R.K., & Zouros, E. (1996). Degree of selective constraint as an explanation of the different rates of evolution of gender-specific mitochondrial DNA lineages in the mussel *Mytilus*. *Genetics*, 143, 1349–57.
470. Strasser, M. (1999). *Mya arenaria* – an ancient invader of the North Sea coast. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 52, 309–324.
471. Strimmer, K., & von Haeseler, A. (1996). Quartet puzzling: a quartet maximum-likelihood method for reconstructing tree topologies. *Molecular Biology & Evolution*, 13, 964–971.
472. Suarez-Ulloa, V., Gonzalez-Romero, R., & Eirin-Lopez, J.M. (2015). Environmental epigenetics: a promising venue for developing next-generation pollution biomonitoring tools in marine invertebrates. *Marine Pollution Bulletin*, 98, (1–2), 5–13.

473. Sworobowicz, L., Grabowski, M., Mamos, T., Burzyński, A., Kilikowska, A., Sell, J., & Wysocka, A. (2015). Revisiting the phylogeography of *Asellus aquaticus* in Europe: insights into cryptic diversity and spatiotemporal diversification. *Freshwater Biology*, 60(9), 1824–1840.
474. Tablado, Z., Tella, J.L., Sánchez-Zapata, J.A., & Hiraldo, F. (2010). The Paradox of the long-term positive effects of a North American crayfish on a European community of predators. *Conservation Biology*, 24(5), 1230–1238.
475. Tamura, K. (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases. *Molecular Biology & Evolution*, 9, 678–687.
476. Telesca, L., Peck, L.S., Sanders, T., Thyrring, J., Sejr, M.K., & Harper, E.M. (2019). Biomineralization plasticity and environmental heterogeneity predict geographical resilience patterns of foundation species to future change. *Global Change Biology*, 25(12), 4179–4193.
477. Tessler, M., Siddall, M.E., & Oceguera-Figueroa, A. (2018). Leeches from Chiapas, Mexico, with a new species of *Erpobdella* (Hirudinida: Erpobdellidae). *American Museum Novitates*, 3895, 1–15.
478. Theologidis, I., Fodelianakis, S., Gaspar, M.B., & Zouros, E. (2008). Doubly uniparental inheritance (DUI) of mitochondrial DNA in *Donax trunculus* (Bivalvia: Donacidae) and the problem of its sporadic detection in Bivalvia. *Evolution*, 62, 959–970.
479. Therriault, T.W., Docker, M.F., Orlova, M.I., Heath, D.D., & MacIsaac, H.J. (2004). Molecular resolution of the family Dreissenidae (Mollusca: Bivalvia) with emphasis on Ponto-Caspian species, including first report of *Mytilopsis leucophaea* in the Black Sea basin. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30(3), 479–489.
480. Thomsen, J., Stapp, L.S., Haynert, K., Schade, H., Danelli, M., Lannig, G., Wegner, K.M., & Melzner, F. (2017). Naturally acidified habitat selects for ocean acidification-tolerant mussels. *Science Advances*, 3(4), e1602411.

481. Thorson, J.L. M., Smithson, M., Beck, D., Sadler-Riggelman, I., Nilsson, E., Dybdahl, M., & Skinner, M.K. (2017). Epigenetics and adaptive phenotypic variation between habitats in an asexual snail. *Scientific Reports*, 7, 14139.
482. Tönges, S., Masagounder, K., Gutekunst, J., Lohbeck, J., Miller, A. K., Böhl, F., & Lyko, F. (2020). Physiological properties and tailored feeds to support aquaculture of marbled crayfish in closed systems. *bioRxiv*, 0, 28.
483. Trebitz, A.S., Hoffmann, J.C., Darling, J.A., Pilgrim, E.M., Kelly, J.R., Brown, E.A., Chadderton, W.L., Egan, S.P., Grey, E.K., Hashsham, S.A., Klymus, K.E., Mahon, A.R., Ram, J.L., Schultz, M.T., Stepien, C.A., & Schardt, J.C., (2017). Early detection monitoring for aquatic non-indigenous species: Optimizing surveillance, incorporating advanced technologies, and identifying research needs. *Journal of Environmental Management*, 202, 299–310.
484. Trontelj, P., & Utevsky, S.Y. (2012). Phylogeny and phylogeography of medicinal leeches (genus *Hirudo*): Fast dispersal and shallow genetic structure. *Molecular Phylogenetics & Evolution*, 63, 475–485.
485. Tsi, C.Y., Ma, X.T., Lou, Z.K., & Zhang, F.S. (1983). *Illustrations of the Fauna of China (Mollusca). Vol. 2*, (1–150 pp.; plates I–IV). Beijing: Science Press.
486. Tsutsui, N.D., Suarez, A.V., Holway, D.A., & Case, T.J. (2000). Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(11), 5948–5953.
487. UNESCO. (1972). Convention for the Protection of the World Cultural and Natural Heritage. U.N.T.S. vol. 1037.
488. USDOT. (2007). North American Transportation Highlights. United States Department of Transportation – Bureau of Transportation Statistics, Washington, D.C.
489. Usio, N., Azuma, N., Sasaki, S., Oka, T., & Inoue, M. (2017). New record of Marmorkrebs from western Japan and its potential threats to freshwater ecosystems. *Cancer*, 26, 5–11.

490. USNM. National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, DC, USA. Available: <https://naturalhistory.si.edu> (accessed 16 June 2021)
491. Utevsky, S., & Mazepa, G. (2005). A record of the South American leech *Helobdella triserialis* (Hirudinea: Glossiphoniidae) from an aquarium in Kharkiv, Ukraine. *Lauterbornia*, 52, 177–180.
492. Utevsky, A., & Utevsky, S. (2018). New Antarctic deep-sea weird leech (Hirudinida: Piscicolidae): morphological features and phylogenetic relationships. *Systematic parasitology*, 95(8–9), 849–861.
493. Valenciennes, A. (1846). Atlas de Zoologie. Mollusques. In: Ed. du Petit-Thouars, A.) *Voyage autour du monde sur la frégate la Venus pendant les années 1836–1839. 4 vols*, (22 p, pl.7, fig.1). Gide et J. Baudry.
494. Velde Van der, G., & Roelofs, J.G.M. (1977). *Ferrissia wautieri* (Gastropoda, Basommatophora) in the Netherlands. *Basteria*, 41(5–6), 73–80.
495. Van der Velde, G., Rajagopal, S., & Bij de Vaate, A. (2010). *The Zebra Mussel in Europe*. Backhuys Publishers, Leiden/ Margraf Publishers, Weikersheim.
496. Van Peursen, A.D.P. (2013). Nadere informatie over de verspreiding van *Corbicula's* in Europa, België en Nederland in het bijzonder. *Gloria Maris*, 52, 62–78.
497. Vecchioni, L., Marrone, F., Arculeo, M., & Meyer-Rochow, V.B. (2018). On the occurrence of the invasive freshwater limpet *Ferrissia californica* (Mollusca: Gastropoda: Planorbidae) in Japan. *Zoological science*, 35(2), 149–152.
498. Verovnik, R., Sket, B., & Trontelj, P. (2005). The colonization of Europe by the freshwater crustacean *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda) proceeded from ancient refugia and was directed by habitat connectivity. *Molecular Ecology*, 14, 4355–4369.
499. Vikhrev, I.V., Konopleva, E.S., Gofarov, M.Y., Kondakov, A.V., Chapurina, Y.E., & Bolotov, I.N. (2017). A tropical biodiversity hotspot under the new

- threat: Discovery and DNA Barcoding of the invasive chinese pond mussel *Sinanodonta woodiana* in Myanmar. *Tropical Conservation Science*, 10, 1–11.
500. Vinarski, M.V. (2016) Eduard von Martens's contribution to the knowledge of the Russian continental malacofauna (with examination of type materials of aquatic species accepted by Russian taxonomists). *Ruthenica*, 26, 1–16.
501. Vinarski, M.V. (2017). The history of an invasion: phases of the explosive spread of the physid snail *Physella acuta* through Europe, Transcaucasia and Central Asia. *Biological invasions*, 19(4), 1299–1314.
502. Vinson, M.R., & Baker, M.A. (2008). Poor growth of rainbow trout fed New Zealand mudsnails *Potamopyrgus antipodarum*. *North American Journal of Fisheries Management*, 28, 701–709.
503. Vogt, G., Falckenhayn, C., Schrimpf, A., Schmid, K., Hanna, K., Panteleit, J., Helm, M., Schulz, R., & Lyko, F. (2015). The marbled crayfish as a paradigm for saltational speciation by autopolyploidy and parthenogenesis in animals. *Biology Open*, 4, 1583–1594.
504. Vogt, G. (2018). Investigating the genetic and epigenetic basis of big biological questions with the parthenogenetic marbled crayfish: A review and perspectives. *Journal of Biosciences*, 43(1), 189–223.
505. Vogt, G., Dorn, N.J., Pfeiffer, M., Lukhaup, C., Williams, B.W., Schulz, R., & Schrimpf, A. (2018). In-depth investigation of the species problem and taxonomic status of marbled crayfish, the first asexual decapod crustacean. *bioRxiv*, 356170.
506. Vojkovská, R., Horká, I., Tricarico, E., & Ďuris, Z. (2014). New record of the parthenogenetic marbled crayfish *Procambarus fallax* f. *virginalis* from Italy. *Crustaceana*, 87, 1386–1392.
507. Wang, G.-P., Zhang, T., Zhang, J., Li, D.-L., & Xiao, T.-Y. (2014). Morphological and molecular differentiation of genus *Corbicula* suggests that two species are sympatrically distributed in Datong Lake in the Central Yangtze River Basin. *Zoological Studies*, 53, 64.

508. Wanless, R.M., Scott, S., Sauer, W.H.H., Andrew, T.G., Glass, J.P., Godfrey, B., Griffiths, C., & Yeld, E. (2010). Semi-submersible rigs: A vector transporting entire marine communities around the world. *Biological Invasions*, 12, 2573–2583.
509. Wasson, K., Zabin, C.J., Bedinger, L., Diaz, M.C., & Pearse, J.S. (2001). Biological invasions of estuaries without international shipping: the importance of intraregional transport. *Biological Conservation*, 102, 143–153
510. Watson, G.J., Dyos, J., Barfield, P., Stebbing, P., & Dey, K.G. (2021). Evidence for self-sustaining populations of *Arcuatula senhousia* in the UK and a review of this species' potential impacts within Europe. *Scientific reports*, 11(1), 1–13.
511. Wesselingh, F.P., Neubauer, T.A., Anistratenko, V.V., Vinarski M.V., Yanina, T., Ter Poorten, J.J., Kijashko, P., Albrecht, C., Anistratenko, O.Y., D'Hont, A., Frolov, P., Ándara, A. M., Gittenberger, A., Gogaladze, A., Karpinsky, M., Lattuada, M., Popa, L., Sands, A.F., Lde, S., Vandendorpe, J., & Wilke, T. (2019). Mollusc species from the Pontocaspian region - an expert opinion list. *ZooKeys*, 827, 31–124.
512. Wolff, W.J. (2005). Non-indigenous marine and estuarine species in The Netherlands. *Zoologische mededelingen*, 79, 1–116.
513. WORMS. Available: <http://www.marinespecies.org> (accessed: 20 April 2020).
514. Wowor, D., Muthu, V., Meier, R., Balke, M., Cai, Y., & Ng, P.K. (2009). Evolution of life history traits in Asian freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) based on multilocus molecular phylogenetic analysis. *Molecular Phylogenetics & Evolution*, 52, 340–350.
515. Wrange, A.-L., Charrier, G., Thonig, A., Alm Rosenblad, M., Blomberg, A., Havenhand, J.N., Jonsson, P.R., & André, C. (2016). The Story of a Hitchhiker: Population Genetic Patterns in the Invasive Barnacle *Balanus* (*Amphibalanus*) *improvisus* Darwin 1854. *PLoS ONE*, 11(1), e0147082.

516. Yamada, M., Ishibashi, R., Kawamura, K., & Komaru, A. (2010). Interrelationships of the freshwater clams *Corbicula leana* Prime, 1864 and *C. fluminea* (Müller, 1774) distributed in Japan inferred from shell type and 11 mitochondrial DNA cyt *b* region. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 76, 926–938.
517. Yeh, P.J., & Price, T.D. (2004). Adaptive phenotypic plasticity and the successful colonization of a novel environment. *The American Naturalist*, 164, 531–42.
518. Yildirim, M.Z., Gümüş, B.A., Kebapçı, Ü., & Koca, S.B. (2006). The basommatophoran pulmonate species (Mollusca: Gastropoda) of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 30, 445–458.
519. Yu, H.-P., & Miyake, S. (1972). Five species of the genus *Macrobrachium* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) from Taiwan. *Ohmu*, 3, 45–55.
520. Zahorska, E., Balazova, M., Bhagat, Y., & Copp, G.H. (2017). Does latitude drive the phenotypic plasticity of morphological traits in non-native pumpkinseed populations from Europe? *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 418, 29.
521. Zaitsev, Yu.P., & Alexandrov, B.G. (1998). *Black Sea Biological Diversity: Ukraine Black Sea Environmental Series, Volume 7*. United Nations Publications, New-York.
522. Zdelar, M., Mullin, F., Cheung, C., Yousif, M., Baltaretu, B., & Stone, J.R. (2018). Pollution, temperature and predator induced responses in phenotypically plastic gastropod shell traits. *Molluscan Research*, 38(1), 34–40.
523. Zenetos, A., Gofas, S., Russo, G., & Templado, J. (2004). *CIESM Atlas of Exotic Species in the Mediterranean. Vol. 3. Molluscs*. CIESM Publishers, Monaco.
524. Zenetos, A., Çinar, M.E., Crocetta, F., Golani, D., Rosso, A., Servello, G., Shenkar, N., Turon, X., & Verlaque, M. (2017). Uncertainties and validation of alien species catalogues: the Mediterranean as an example. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 191, 171–187.
525. Zhan, A., Hulák, M., Sylvester, F. Huang, X., Adebayo, A.A., Abbott, C.A., Adamowicz, S.J., Heath, D.D., Cristescu, M.E., & MacIsaac, H.J. (2013). High

sensitivity of 454 pyrosequencing for detection of rare species in aquatic communities. *Methods in Ecology and Evolution*, 4, 558–565.

526. Zhao, P., Zhang, K., Jin, Z., Li, D., Xie, M., Ni, Q., Zhang, M., Yao, Y., & Xu, H. (2020). Genetic characterization of rhesus macaque populations along the southeastern Qinghai-Tibetan plateau based on a mitochondrial ATP6 gene closely related to energy metabolism. *Research Square*, 0, 21
527. Zheng, X.Z., Chen, W.J., & Guo, Z.L. (2019). The genus *Macrobrachium* (Crustacea, Caridea, Palaemonidae) with the description of a new species from the Zaomu Mountain Forest Park, Guangdong Province, China. *ZooKeys*, 866, 65–83.
528. Zhulidov, A.V., Kozhara, A.V., Van der Velde, G., Leuven, R.S.E.W., Zhulidov, D.A., Gurtovaya, T.Yu., Nalepa, T.F., & Santiago-Fandino, V.J.R. (2015). New records from the Ponto-Azov region demonstrate the invasion potential of *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831) (Bivalvia: Dreissenidae). *Journal of Molluscan Studies*, 81, 412–416,
529. Zhulidov, A.V., Kozhara, A.V., Velde, G.V.D., Leuven, R.S., Son, M.O., Gurtovaya, T.Y., Zhulidov, D.A., Nalepa T.F., Santiago-Fandino, V.J.R., & Chuikov, Y.S. (2018). Status of the invasive brackish water bivalve *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831) (Dreissenidae) in the Ponto-Caspian region. *BioInvasions Records*, 7(2), 111–120.
530. Zhulidov, A.V., Kozhara, A.V., Son, M.O., Morhun, H., van der Velde, G., Leuven, R.S.E.W., Gurtovaya, T.Y., Zhulidov, D.A., Kalko, E.A., Kuklina, Y.A., Kosmenko, L.S., Santiago-Fandino, V.J.R., & Nalepa, T.F. (2021). Additional records of the bivalves *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831) (Dreissenidae) and *Arcuatula senhousia* (Benson, 1842) (Mytilidae) in the Ponto-Caspian region. *BioInvasions Records*, 10(1), 119–135.

ДОДАТКИ

Додаток А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

*Публікації у періодичних наукових виданнях держав, які входять до
Організації економічного співробітництва та розвитку, що входять до
міжнародної наукометричної бази:*

1. Zhulidov, A.V., Kozhara, A.V., Son, M.O., **Morhun, H.**, van der Velde, G., Leuven, R.S.E.W., Gurtovaya, T.Y., Zhulidov, D.A., Kalko, E.A., Kuklina, Y.A., Kosmenko, L.S., Santiago-Fandino, V.J.R., Nalepa, T.F. (2021). Additional records of the bivalves *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831) (Dreissenidae) and *Arcuatula senhousia* (Benson, 1842) (Mytilidae) in the Ponto-Caspian region. *BioInvasions Records*, 10(1), 119–135. **(Scopus)** (особистий внесок: участь у зборі матеріалу, камеральна обробка, молекулярний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання статті).

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85100657141&origin=resultslist>

2. **Morhun, H.**, Sidorovskiy, S., Khomenko, A., Mazepa, G., Utevsky, S. (2021). First Ukrainian record of the invasive leech *Helobdella europaea* (Hirudinea: Glossiphoniidae) from an aquarium in Kharkiv: morphological variability and phylogenetic relationships. *Biologia*, 76, 193–202. **(Scopus)** (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, морфологічний опис, написання статті).

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85087404447&origin=resultslist>

3. Son, M.O., **Morhun, H.**, Novitskyi, R.O., Sidorovskiy, S., Kulyk, M., Utevsky, S. (2020). Occurrence of two exotic decapods, *Macrobrachium nipponense* (de Haan, 1849) and *Procambarus virginalis* Lyko, 2017, in Ukrainian waters.

Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, 421, 40. (**Scopus**) (особистий внесок: участь у зборі матеріалу, камеральна обробка, філогенетичний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання статті).
<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85095717745&origin=resultslist>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

4. **Morhun, H.**, Son, M.O., Utevsky, S., Kovtun, O.O. (2021, June). Morphological and molecular studies of the rapa whelk, *Rapana venosa*, from Odesa Bay. In: Zoology in the modern world: challenges of the XXI century. Study of invertebrates (p. 90). Kyiv, I.I. Schmalhausen Institute of Zoology of National Academy of Sciences of Ukraine. (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, морфологічний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез).

5. **Morhun, H.**, Utevsky, S., Son, M.O. (2019, September). Morphological differentiation of *Corbicula* clams (Mollusca: Bivalvia) from the lower Danube. In: International zoological conference “Ukrainian fauna on the verge of XX-XXI century. Status and biodiversity of ecosystems of protected areas” (23-24 pp.) Lviv – Shatsk, Lviv National University. (особистий внесок: камеральна обробка, морфологічний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез).

6. **Morhun, H.**, Khomenko A., Utevsky S., Palatov D. (2018, July). On the taxonomic status of *Theodoxus subthermalis* (Gastropoda: Neritidae). In: “3rd Central European Symposium for Aquatic Macroinvertebrate Research” (136 p.), Łódź, University of Łódź. (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, морфологічний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез)

7. **Morhun, H.**, Khomenko, A., Palatov, D., Prokin, A., Son, M., Utevsky, S. (2018, November). *Theodoxus* in the South Caucasus: species diversity or morphological plasticity? In: “Abstract book of the Conference of young zoologists”

(15 р.), Kiev, Institute of zoology. (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, морфологічний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез)

**Публікації, які додатково відображають наукові результати
дисертації:**

8. **Моргун, Г.**, Сон М.О., Утєвський С.Ю. (2021). Унікальність концепції виду в молюсків роду *Corbicula* через невідповідність мітохондріального та ядерного геномів. *Novitates Theriologicae*, 12: 274–280. (особистий внесок: камеральна обробка, аналіз літературних джерел, написання статті)

<http://terioshkola.org.ua/library/nt12-species/nt1243-morhun.htm>

Додаток Б

Тип	Таксон	Кодування	N	BIN	Колектор	Дата	Країна	Місце	Опис субстратів EUNIS	Шир.	Дов.
Annelida	<i>Helobdella europaea</i>	KhL1	1	AAC5160	Утевський С.	2015	Україна	Акваріум, Харків	-	50.0044	36.2282
Arthropoda	<i>Synurella ambulans</i>	UKR_0033	1	ACH8736	Сон М.	27.04.2016	Україна	Степова водойма, Капустянська балка	X36: Depressions (pody) of the Steppe zone	47.0574	32.0323
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_DNP_10	4	AAA1970	Моргун Г., Хоменко А., Сон М.	09.05.2019	Україна	Вустя струмка, Нова Каховка	C2.16: Crenal streams (spring brooks)	46.772	33.372
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_53	2	AAA1970	Моргун Г.	11.06.2019	Україна	Ставок, Хмельницький,	C1.21 : Benthic communities of mesotrophic waterbodies	49.431	26.972
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_76	2	AAA1970	Моргун Г., Хоменко А., Сон М.	15.06.2019	Україна	Річка Турунчук (лівий рукав Дністра), запруда, Біляївка	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	46.469	30.191
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_135	1	AAA1970	Хоменко А.	13.09.2019	Україна	Ходорів, річка Луг	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	49.391	24.311
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_131	2	AAA1970	Хоменко А., Утевський С.	26.07.2017	Україна	Озеро Острів'янське	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	51.551	23.789
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_180	2	AAA1970	Сон М.	18.06.2019	Україна	Річка Аккаджанка	C2.5: Temporary running waters	46.344	30.583
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_127	2	AAA1970	Хоменко А.	08.06.2016	Грузія	Річка на березі поруч із Ботанічним садом, Батумі	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	41.684	41.7
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_138	4	AAA1970	Хоменко А.	01.01.2018	Грузія	Болото Іспані, Кабулеті	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	41.863	41.785
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_102	2	AAA1970	Моргун Г., Хоменко А.	14.09.2019	Україна	Озеро Пісочне, Шацьк	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	51.565	23.899
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_111	2	ACW0692; AAA1970	Моргун Г., Хоменко А.	14.09.2019	Україна	Калюжа, Шацьк	C1.68: Benthic communities of temporary waters	51.566	23.899
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_95	3	AAA1970	Моргун Г.	01.08.2019	Україна	Джерело, Березанка (Миколаївський район)	C2.16: Crenal streams (spring brooks)	46.828	31.422
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_50	1	AAA1970	Моргун Г.	10.06.2019	Україна	Річка Південний Буг	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	49.427	27.464
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_49	1	AAA1970	Утевський С., Моргун Г., Farzali S	03.07.2019	Азербайджан	Стік в море (камені), Ялама,	C2.31: Epipotamal streams	41.81	48.643
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_CAU_43	3	AEC1520	Утевський С., Моргун Г., Farzali S	03.07.2019	Азербайджан	Струмок, Ялама	C2.16: Crenal streams (spring brooks)	41.81	48.644
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_CAU_33	5	AEC4541	Утевський С., Моргун Г., Huseinov M, Pzayev N	02.07.2019	Азербайджан	Озеро, Варвара	C1.21 : Benthic communities of mesotrophic waterbodies	40.681	47.09
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_48	1	AAA1970	Моргун Г.	10.06.2019	Україна	Річка Південний Буг, с. Головчинці	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	49.414	27.497
	<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_80	1	AAA1970	Моргун Г., Хоменко А., Сон М.	15.06.2019	Україна	Річка Турунчук, лівий рукав Дністра, русло, м. Біляївка	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	46.471	30.195

<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_120	4	AAA1970	Моргун Г., Хоменко А.	14.09.2019	Україна	Озеро Луцимер, Шацьк	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	51.569	23.902
<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_158	2	AAA1970	Владимирська М.	01.05.2015	Україна	Річка Немя, Могилів- Подільськ	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	48.464	27.765
<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_100	2	AAA1970	Моргун Г., Хоменко А.	14.09.2019	Україна	Озеро Пісочне, Шацьк	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	51.568	23.901
<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_125	1	AAA1970	Моргун Г.	15.09.2019	Україна	Озеро Світязь, Шацьк	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	51.52	23.885
<i>Asellus aquaticus</i>	AsAq_UKR_116	4	AAA1970	Моргун Г., Хоменко А.	14.09.2019	Україна	Озеро Пісочне, Шацьк	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	51.569	23.902
<i>Rhithropanopeus harrisi</i>	UKR_65	1	AAA2223	Сон М.	12.05.2019	Україна	Річка Інгул, Миколаїв	C2.41: Brackish water tidal rivers	46.98	31.995
<i>Amphibalanus improvisus</i>	UKR_63	1	AAE2482	Сон М.	12.05.2019	Україна	Річка Інгул, Миколаїв	C2.41: Brackish water tidal rivers	46.98	31.995
<i>Amphibalanus improvisus</i>	UKR_192	1	AAE2482	Сон М.	01.07.2017	Україна	Чорне море, с. Приморське	A5.2351: Facies with Lentidium mediterraneum	45.513	29.637
<i>Procambarus virginalis</i>	UKR_139	1	ACG1580	Кулік М.	10.10.2019	Україна	став Роднік, Харків	C1.21 : Benthic communities of mesotrophic waterbodies	50.03	36.348
<i>Procambarus virginalis</i>	UKR_188	1	ACG1580	Новіцький Р.	10.10.2019	Україна	акваріум, Дніпро	–	48.506	35.102
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0007	3	AAD8710	Сон М., Prokin A	16.08.2011	Росія	річка Волга	C3.61: Unvegetated river sand banks	48.5103	44.558
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0011	3	AAD8710	Сон М., Prokin A	20.08.2011	Росія	Дельта Дона, нори в піщаному березі, село Багаївська	C3.61: Unvegetated river sand banks	47.571	40.8355
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0014	3	AAD8710	Сон М.	04.08.2011	Україна	Берег між селами Чабанка і Григорівка	A2.211: Talitrids on the upper shore and strandline	46.59	30.9897
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0013	2	AAD8710	Сон М.	17.06.2011	Україна	Місто Очаків	A2.211: Talitrids on the upper shore and strandline	46.6129	31.5581
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0008	1	AAD8710	Сон М.	05.04.2015	Україна	рибний порт, супралітораль, Одеса	A2.211: Talitrids on the upper shore and strandline	46.3332	30.6617
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0019	1	AAD8710	Сон М.	18.07.2013	Україна	Село Крижанівка	A2.211: Talitrids on the upper shore and strandline	46.5581	30.7966
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0041	1	AAD8710	Сон М.	21.04.2018	Україна	Річка Дністер, село Маяки	C3.62: Unvegetated river gravel banks	46.4116	30.2622
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0031	3	AAD8710	Сон М.	13.08.2017	Україна	Дніпровський лиман, село Широка Балка	A2.12: Estuarine coarse sediment shores	46.5772	32.2076
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0021	1	AAD8710	Сон М.	14.04.2012	Україна	Озеро Сасик (біля Дунаю)	A2.12: Estuarine coarse sediment shores	45.5429	29.658
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0013	2	AAD8710	Сон М.	17.06.2011	Україна	Очаків	A2.211: Talitrids on the upper shore and strandline	46.6129	31.5581
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0009	1	AAD8710	Сон М., Prokin A	20.08.2011	Росія	Таганрозька затока	A2.211: Talitrids on the upper shore and strandline	47.0449	39.3054
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0021	3	AAD8710	Сон М.	14.04.2012	Україна	Озеро Сасик (біля Дунаю)	A2.12: Estuarine coarse sediment shores	45.5429	29.658
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0032	1	AAD8710	Сон М.	01.05.2017	Україна	Острів Білогрудів (дельта Дніпра), заплави річок	C3.63: Unvegetated river mud banks	46.5466	32.5367
<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0015	2	AAD8710	Сон М.	15.04.2012	Україна	Озеро Ялпуг	A2.12: Estuarine coarse sediment shores	45.6019	28.635

	<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0002	3	AAD8710	Сон М.	15.03.2011	Україна	канал N7, Одеса	J5.41: Non-saline water channels with completely man-made substrate	46.4086	30.7611
	<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0044	1	AAD8710	Сон М.	22.04.2011	Україна	Смт. Затока, узбережжя Будакського лиману	A2.12: Estuarine coarse sediment shores	46.0221	30.4008
	<i>Cryptorchestia garbinii</i>	DNP32	1	AAD8710	Моргун Г., Хоменко А., Сон М.	11.05.2019	Україна	Річка Дніпро, село Дніпріани	C3.62: Unvegetated river gravel banks	46.7626	33.2332
	<i>Cryptorchestia garbinii</i>	DNP7	8	AAD8710	Моргун Г., Хоменко А., Сон М.	09.05.2019	Україна	Річка Дніпро, узбережжя каміння, Нова Каховка	C3.62: Unvegetated river gravel banks	46.7687	33.3681
	<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR57	2	AAD8710	Сон М.	12.05.2019	Україна	річка Інгул, Миколаїв	C2.41: Brackish water tidal rivers	46.9801	31.9952
	<i>Cryptorchestia garbinii</i>	DNP14	4	AAD8710	Моргун Г., Хоменко А., Сон М.	10.05.2019	Україна	джерела, село Козацьке	C2.16: Crenal streams (spring brooks), C2.19: Lime-rich oligotrophic vegetation of spring brooks	46.7847	33.3527
	<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0009	2	AAD8710	Сон М., Prokin A	20.08.2011	Росія	Азовське море, Таганрозька затока	A2.211: Talitrids on the upper shore and strandline	47.0449	39.3054
	<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0027	3	AAD8710	Сон М.	22.05.2014	Україна	Річка Дніпро, Дніпро	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	48.3986	35.1361
	<i>Cryptorchestia garbinii</i>	CG_UKR_0039	1	AAD8710	Сон М.	21.04.2018	Україна	річка Дністер, село Маяки	C3.62: Unvegetated river gravel banks	46.6877	30.4394
	<i>Macrobrachium nipponense</i>	P47	2	AAA7462	Моргун Г., Утєвський С.	20.07.2019	Україна	Рибний ставок, басейн річки Аккаржанка	J5.32: Intensively managed fish ponds	46.3442	30.5964
	<i>Amphibalanus eburneus</i>	P38a_Aebur	2	ACD3190	Сон М.	10.06.2018	Україна	Рибпорт, Сухий Лиман	J4.5: Hard-surfaced areas of ports	46.5423	32.5591
	<i>Amphibalanus eburneus</i>	P41a_Aebur	1	AAE2482	Сон М.	08.06.2018	Україна	Другий канал між Затокою і Шабо.	J5.2: Highly artificial saline and brackish running waters	46.0648	30.4456
Cnidaria	<i>Cordylophora caspia</i>	UKR_66	1	AAR9096	Сон М.	12.05.2019	Україна	річка Південний Буг, Миколаїв	C2.41: Brackish water tidal rivers	46.983	31.99
Mollusca	<i>Ferrissia californica</i>	UKR_151	2	AAE6642	Сон М., Моргун Г.	19.09.2019	Україна	річка Південний Буг, Первомайськ	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	48.049	30.847
	<i>Mytilopsis leucophaeata</i>	UKR_64	2	AAH4257	Сон М.	12.05.2019	Україна	річка Південний Буг, Миколаїв	C2.41: Brackish water tidal rivers	46.983	31.99
	<i>Physella acuta</i>	P46	1	AAB6433	Моргун Г.	31.07.2018	Україна	джерело, село Усатове	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	46.54	30.662
	<i>Physella acuta</i>	P44	2	AAB6433	Моргун Г.	16.09.2018	Україна	Річка Конка, Гола Пристань	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	46.543	32.562
	<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_64		AAB6433	Моргун Г.	16.09.2018	Україна	Річка Конка, Гола Пристань	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	46.543	32.562
	<i>Physella acuta</i>	CAU_68	1	AAB6433	Утєвський С., Моргун Г.	04.07.2019	Азербайджан	озеро, Ксамаш	C1.21 : Benthic communities of mesotrophic waterbodies	41.467	48.744
	<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_143	1	AAB6433	Сон М., Моргун Г.	18.09.2019	Україна	річка Синюха, Первомайськ	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	48.056	30.825
	<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_191	2	AAB6433	Моргун Г.	10.09.2018	Україна	джерело, село Крижанівка	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	46.559	30.796

<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_157	2	AAB6433	Хоменко А.	10.08.2018	Азербайджан	рибна ферма, Нік	J5.32: Intensively managed fish ponds	40.958	47.651
<i>Physella acuta</i>	CAU_67	1	AAB6433	Утевський С., Моргун Г.	04.07.2019	Азербайджан	Стік озера, Ксакмаш	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	41.467	48.744
<i>Physella acuta</i>	CAU_72	3	AAB6433	Утевський С., Моргун Г.	04.07.2019	Азербайджан	Озеро (урбанізоване), Ксакмаш	C1.21 : Benthic communities of mesotrophic waterbodies	41.468	48.744
<i>Physella acuta</i>	CAU_32	2	AAB6433	Утевський С., Моргун Г.	02.07.2019	Азербайджан	Озеро, Варвара	C1.21 : Benthic communities of mesotrophic waterbodies	40.681	47.09
<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_162	2	AAB6433	Хоменко А.	10.08.2018	Азербайджан	Огуз	C2.31: Epipotamal streams	40.938	47.471
<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_136	1	AAB6433	Хоменко А.	10.08.2018	Азербайджан	Огуз	C2.31: Epipotamal streams	40.938	47.471
<i>Physella acuta</i>	CAU_63	3	AAB6433	Утевський С., Моргун Г.	04.07.2019	Азербайджан	Озеро (урбанізоване), Ксакмаш	C1.21 : Benthic communities of mesotrophic waterbodies	41.468	48.744
<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_133	3	AAB6433	Хоменко А.	10.08.2018	Азербайджан	Огуз	C2.31: Epipotamal streams	40.938	47.552
<i>Physella acuta</i>	CAU_60	2	AAB6433	Утевський С., Моргун Г.	03.07.2019	Азербайджан	Річка, Ялама	C2.31: Epipotamal streams	41.779	48.665
<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_51	1	AAB6433	Моргун Г..	10.06.2019	Україна	Річка Південний Буг	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	49.427	27.464
<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_189	2	AAB6433	Моргун Г.	17.09.2018	Україна	Струмок, Крива Балка	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	46.502	30.685
<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_171	1	AAB6433	Сон М.	12.07.2019	Україна	джерело, село Лука	C1.11 : Benthic communities of oligotrophic waterbodies	48.792	25.286
<i>Physella acuta</i>	Ph_UKR_70	1	AAB6433	Моргун Г., Хоменко А., Сон М.	15.06.2019	Україна	Річка Турунчук, лівий рукав Дністра, Біляївка	C2.32: Metapotamal and hypopotamal streams	46.466	30.195
<i>Rapana venosa</i>	RV	5	AAA6876	Ковтун О.	01.09.2017	Україна	Чорне море, Одеська затока	—	46.4421	30.7767
<i>Arcuatula senhousia</i>	P39, HM3	2	AAB4686	Сон М.	10.06.2018	Україна	Рибпорт, Сухий Ліман	J4.5: Hard-surfaced areas of ports	46.5423	32.5591
<i>Corbicula leana</i>	P37	1	AAC2296	Сон М.	26.06.2018	Україна	Річка Дунай, Базарчук, Вілкове	C1.21 : Benthic communities of mesotrophic waterbodies	45.4169	29.5657
<i>Corambe obscura</i>	P6	1	AEK3306	Сон М.	18.10.2017	Україна	Рибпорт, Сухий Ліман	J4.5: Hard-surfaced areas of ports	46.5423	32.5591
<i>Mya arenaria</i>	P42	1	AAE6281	Сон М., Моргун Г.	06.05.2018	Україна	Березанський ліман	X01 : Estuaries	46.6304	31.418
<i>Sinanodonta woodiana</i>	P40	1	AAD9061	Сон М.	26.06.2018	Україна	Річка Дунай, Базарчук, Вілкове	C1.21 : Benthic communities of mesotrophic waterbodies	45.4169	29.5657

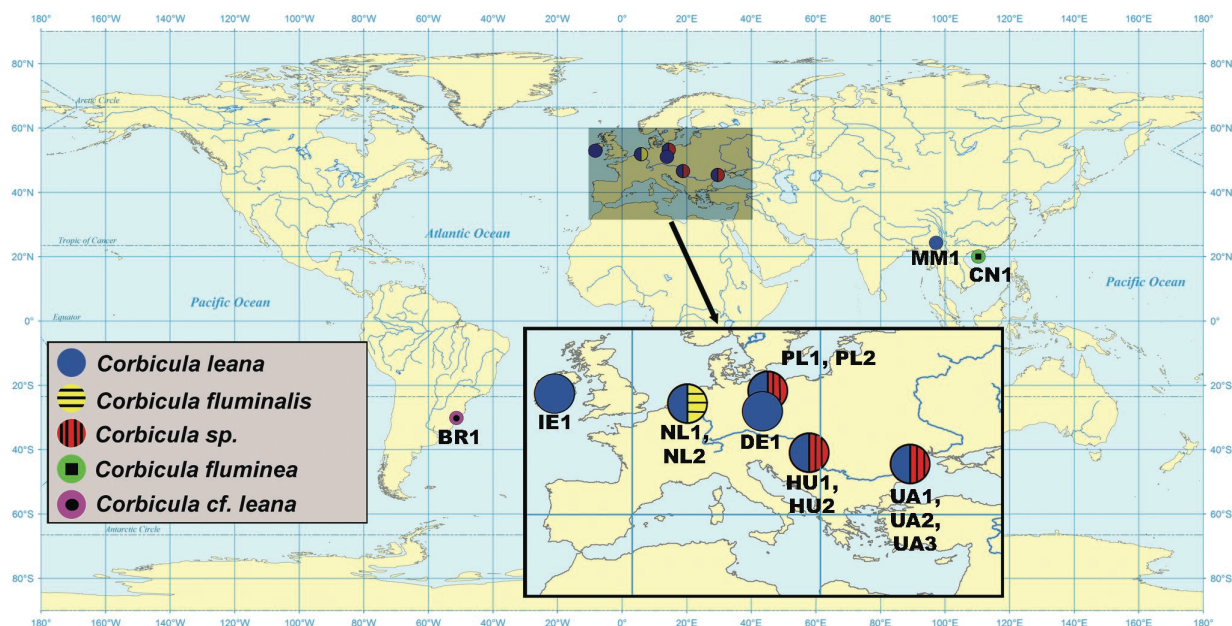


Рисунок 1. Мапа із зазначенням розташування зразків (аббревіатури як у Таблиці 2). Кодування кольорів: синій - *Corbicula leana*, фіолетовий – *Corbicula cf. leana*, жовта – *Corbicula fluminalis*, зелена – *Corbicula fluminea*, червона – *Corbicula sp.*

Сканування двостулкових молюсків для геометричного морфометричного аналізу.

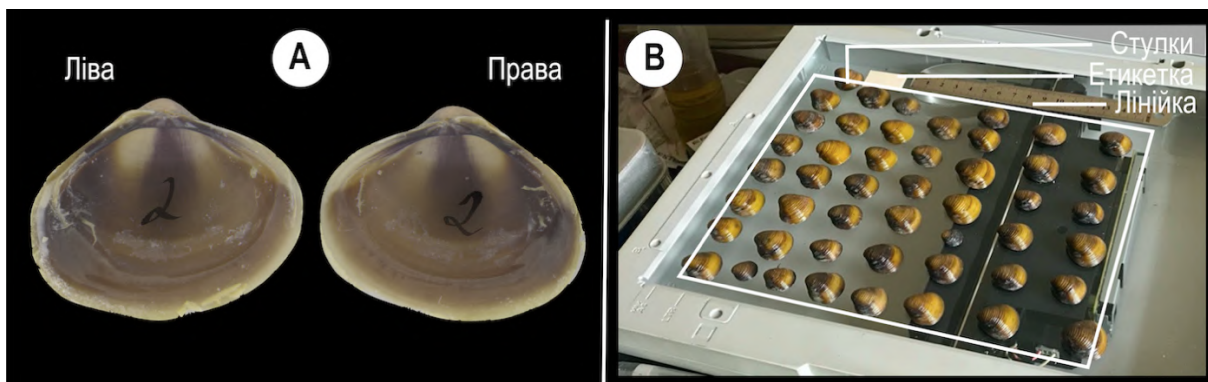
Ось кілька основних етапів отримання належних зображень.

Основні компоненти сканера:



- (1) мат, що притискає предмет.
- (2) робоча поверхня для сканування.
- (3) скануючий блок – основна частина сканера, яка випромінює світло та сканує.

1. Двостулковий молюск складається з з'єднаних замком стулок. У нашому дослідженні *Corbicula* ми використовуємо лише ліву стулку (рис. А).
2. Зробіть маркування кожної стулки, щоб вона мала власний номер (рис. А).
3. Викладіть на робочу поверхню сканера зразки, колекційну етикетку з інформацією про вибірку (місце, дата, координати тощо) та лінійку; краще, якщо лінійка буде охоплювати всю довжину сканування, що дозволить зробити помилку виміру якнайменше (рис. В).
4. Накрийте білими аркушами паперу стулки, створюючи монохромний фон. Не накривайте їх матом для документів, адже натиск може пошкодити робочу поверхню сканера.
5. Відкрийте програмне забезпечення для сканування на комп'ютері та встановіть роздільну здатність 600 dpi. Якщо у вас немає програмного забезпечення, виберіть одне з наступних статей: Mac OS <https://support.apple.com/en-us/HT204790>, Windows <https://windowsreport.com/windows-10-scanner-software/>.
6. Скануйте зразки та збережіть зображення у форматі TIFF.



Місця збору, Генбанк номери та посилання на літературні джерела для використаних послідовностей для реконструкції філогенезу .

Таксон	Місце збору	Генбанк номер Genbank No.	Джерело
<i>Helobdella europaea</i>			
<i>Helobdella ampullariae</i> Ringuelet, 1945	Аргентина	MK354144, MK354146, MK354147	Torres-Carrera & Ocegüera-Figueroa, 2019*
<i>Helobdella austinensis</i> Kutschera et al., 2013	Остін, Техас, США	MH729328	Iyer et al., 2019
<i>Helobdella austinensis</i>	Каліфорнійський університет в Берклі, Каліфорнія, США	KC812736	Kutschera et al., 2013
<i>Helobdella europaea</i> Kutschera, 1987	Харків, Україна	MT258557	Це дослідження
<i>Helobdella europaea</i>	Кастельон, Валенція, Іспанія	KC904241 – KC904243	Reyes-Prieto et al., 2013
<i>Helobdella europaea</i>	Берклі, Каліфорнія, США	DQ995304	Bely & Weisblat 2006
<i>Helobdella europaea</i>	Галт, Каліфорнія, США	DQ995297 – DQ995298	Bely & Weisblat 2006
<i>Helobdella europaea</i>	Мегілл Крік Брісбен, Австралія	AF329052	Siddall & Borda 2003
<i>Helobdella europaea</i>	Озеро Аура Вейл, Австралія	AY856047	Siddall & Budinoff 2005
<i>Helobdella europaea</i>	Нова Зеландія	AY856049	Siddall & Budinoff 2005
<i>Helobdella europaea</i>	Південна Африка	AY856048	Siddall & Budinoff 2005
<i>Helobdella europaea</i>	Німеччина	AY576008	Pfeiffer et al., 2004
<i>Helobdella europaea</i>	Міссісіпі, США	MF804537	Richardson et al., 2017
<i>Helobdella europaea</i>	потічок біля Дебрецена, Угорщина	KU738724	Langguth & Kutschera, 2016*
<i>Helobdella europaea</i>	Вікторія, Австралія	MG976140	Carew et al., 2018
<i>Helobdella europaea</i>	Іспанія	MN335875	Perera et al., 2019
<i>Helobdella europaea</i>	Тайвань	FJ000349 – FJ000352	Lai et al., 2009
<i>Helobdella fusca</i> Castle, 1900	озеро Дуглас, Мічиган, США	AF329038	Siddall & Borda, 2003
<i>Helobdella lineata</i> Verrill, 1874	Озеро Медісон, Нью-Йорк, США	MN071348	Iwama et al., 2019
<i>Helobdella lineata</i>	Альберта, Канада	MN071352	Iwama et al., 2019
<i>Helobdella lineata</i>	Озеро Дуглас, Мічиган, США	AF329039	Siddall & Borda, 2003
<i>Helobdella lineata</i>	Кунамессетт Понд, Массачусетс, США	KP176609	Richardson et al., 2015
<i>Helobdella melananus</i> Lai & Chang, 2009	Тайвань	FJ000353 – FJ000355	Lai et al., 2009
<i>Helobdella papillate</i> Moore, 1906	Аризона, США	MK416023 – MK416025	Beresic-Perrins et al., 2019*
<i>Helobdella papillata</i>	Кунамессетт Понд, Массачусетс, США	KP176607	Richardson et al., 2015
<i>Helobdella papillata</i>	Озеро Гурон, Мічиган, США	AF329042	Siddall & Borda, 2003
<i>Helobdella papillata</i>	Раунд-Лейк, Мічиган, США	AF329043	Siddall & Borda, 2003
<i>Helobdella papillata</i>	Глостер, Вірджинія, США	AF329046	Siddall & Borda, 2003
<i>Helobdella robusta</i> Shankland et al., 1992	Сакраменто, Каліфорнія, США	DQ995299 – DQ995302	Bely & Weisblat, 2006
<i>Helobdella robusta</i>	Нью-Йорк, коледж Валгалла, США	DQ995305	Bely & Weisblat, 2006

<i>Helobdella robusta</i>	Шоал-Крік, Остин, Техас, США	DQ995306 – DQ995310	Bely & Weisblat, 2006
<i>Helobdella robusta</i>	Арройо Аспінас, Уругвай	MF067148	de Carle et al., 2017
<i>Helobdella robusta</i>	Сакраменто, Каліфорнія, США	AF178680	Boore & Brown, 2000
<i>Helobdella robusta</i>	Сакраменто, Каліфорнія, США	MN729330	Iyer et al., 2019
<i>Helobdella robusta</i>	Пруд Джона Аллена, Нью-Йорк, США	MN071349 – MN071350	Iwama et al., 2019
<i>Helobdella socimulcensis</i> Caballero, 1931	Ідальго, Мексика	HQ179869	Oceguera-Figueroa et al., 2010
<i>Helobdella socimulcensis</i>	Куаутла, Морелос, Мексика	HQ179871 – HQ179872	Oceguera-Figueroa et al., 2010
<i>Helobdella socimulcensis</i>	Керетаро, Мексика	HQ179868	Oceguera-Figueroa et al., 2010
<i>Helobdella socimulcensis</i>	Гуанахуато, Мексика	HQ179867, HQ179870	Oceguera-Figueroa et al., 2010
<i>Helobdella socimulcensis</i>	Халиско, Мексика	HQ179866	Oceguera-Figueroa et al., 2010
<i>Helobdella socimulcensis</i>	Ембаркадеро Куэманко, Мехико, Мексика	MK208676 – MK208680	Jiménez-Armenta & Oceguera-Figueroa, 2019
<i>Helobdella socimulcensis</i>	Мексика	DQ995311	Bely & Weisblat, 2006
<i>Helobdella socimulcensis</i>	Ріо Фоготико, Аркотете, Чьяпас, Мексика	MG821615 – MG821616	Tessler et al., 2018
<i>Helobdella</i> sp.	Сан-Луїс-Потосі, Мексика	HQ179865	Oceguera-Figueroa et al., 2010
<i>Helobdella</i> sp.	Уругвай	MK354148 – MK354149	Torres-Carrera & Oceguera-Figueroa, 2019*
<i>Helobdella</i> sp.	–	MK354145	Torres-Carrera & Oceguera-Figueroa, 2019*
<i>Helobdella</i> sp. n.	Колодец Монтесума, Аризона, США	MK416026 – MK416029	Beresic-Perrins et al., 2019*
<i>Helobdella transversa</i> Sawyer, 1972	парк Чебойган, Мичиган, США	AF329044	Siddall & Borda, 2003
<i>Helobdella triserialis</i> E. Blanchard, 1849	Пало-Альто, Каліфорнія, США	KC771417	Schmerer et al., 2013
<i>Helobdella triserialis</i>	Сан-Франциско, Каліфорнія, США	DQ995303	Bely & Weisblat, 2006
<i>Helobdella triserialis</i>	Вулкан Лагуна, Болівія	AF329054	Siddall & Borda, 2003
<i>Helobdella virginiae</i> Oceguera-Figueroa 2007	Катемако, Веракрус, Мексика	HQ179864	Oceguera-Figueroa et al., 2010
<i>Hemiclepsis marginata</i> O.F. Müller, 1774	Гідропарк, Харків	MN643798	Utevsky & Utevsky, 2018
<i>Procambarus virginalis</i>			
<i>Procambarus virginalis</i>	Озеро Котлован, Дніпро, Україна	MT881672	Це дослідження
<i>Procambarus virginalis</i>	Ставок Роднік, Україна	MT881673	Це дослідження
<i>Procambarus virginalis</i>	Німеччина	KT074364	Vogt et al., 2015
<i>Procambarus fallax</i> f. <i>virginalis</i>	Morimatsumachi, Matsuyama, Shigenobu River, Japan	LC228303	Usio et al., 2017
<i>Procambarus fallax</i> f. <i>virginalis</i>	Аквакультура Humboldt-Universität zu Berlin, Німеччина	HM358010	Martin et al., 2010a
<i>Procambarus fallax</i> f. <i>virginalis</i>	Саксонська столиця Дрездену, річка Ельба, Німеччина	HM358011	Martin et al., 2010a
<i>Procambarus fallax</i> f. <i>virginalis</i>	Аквакультура в Берлінському університеті імені Гумбольдта, Німеччина	HM358012	Martin et al., 2010a
<i>Procambarus fallax</i> f. <i>virginalis</i>	Річка Маерстаан, Стокгольм, Швеція	KF033123	Bohman et al., 2013
<i>Procambarus fallax</i>	Озеро Моосвайхер, Фрайбург-ім-Брайсгау, Німеччина	JF438007	Filipova et al., 2011

<i>Procambarus fallax</i>	Канал По ди Майстра, Порто Толле, південь від Венеції, Італія	KJ690261	Vojkovská et al., 2014
<i>Procambarus fallax</i>	Флорида, США	HQ171453-59	Martin et al., 2010b
<i>Procambarus alleni</i>	Флорида, США	HQ171452	Martin et al., 2010b
<i>Procambarus alleni</i>	Флорида, США	HQ171449-50	Martin et al., 2010b
<i>Procambarus clarkii</i>	Зоомагазин в м. Венеція, Каліфорнія, США	KJ645840	Quan et al., 2014
<i>Procambarus clarkii</i>	Ескамбія, Флорида, США	KJ645839	Quan et al., 2014
<i>Macrobrachium nipponense</i>			
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Рибний пруд, с. Великодолинське, Україна	MT881674-75	Це дослідження
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Лагуна Анзалі, Іран	KF547935	Page & Ghane, 2013*
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Річка Янгзи, Китай	JN874539	Feng et al., 2008
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Річка Янгзи, Китай	JN874532	Feng et al., 2008
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Китай	DQ859908	Sun et al., 2006*
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Китай	DQ859913	Sun et al., 2006*
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Гаомін, Фошань, Китай	MK412772	Zheng et al., 2019
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Гаомін, Фошань, Китай	MK412783–84	Zheng et al., 2019
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Річка Гармат-Алі, Ірак	DQ656415	Salman et al., 2006
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Хуайбінь, річка Хуайхе, Китай	KY977505	Cui et al., 2018
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Озеро Ченсі, річка Хуайхе, Китай	KY977504	Cui et al., 2018
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Озеро Вабу, річка Хуайхе, Китай	KY977502–03	Cui et al., 2018
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Хуайбінь, річка Хуайхе, Китай	KY977501	Cui et al., 2018
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Бангладеш	MN200403	Ahmed et al., 2019*
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Міє, полуострів Кіі, Японія	AB762312	Aoki et al., 2013
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Міє, полуострів Кіі, Японія	AB762313	Aoki et al., 2013
<i>Macrobrachium formosense</i>	Вакаяма, полуострів Кіі, Японія	AB762310	Aoki et al., 2013
<i>Macrobrachium formosense</i>	Вакаяма, полуострів Кіі, Японія	AB762311	Aoki et al., 2013
<i>Macrobrachium japonicum</i>	Вакаяма, полуострів Кіі, Японія	AB762314–15	Aoki et al., 2013
<i>Macrobrachium hainanense</i>	Тунджа, Хайна, Китай	FM958068	Wowor et al., 2009
<i>Panulirus stimpsoni</i>	Південно-Китайське море	GQ292768	Liu & Cui, 2011
<i>Litopenaeus vannamei</i>	–	EF584003	Muhlia-Almazan et al., 2007
<i>Rapana venosa</i>			
<i>Rapana venosa</i>	Чорне море	???	Це дослідження
<i>Rapana venosa</i>	Чорне море	KP136659-61, KP136707-09	Kolukirik et al., 2014*
<i>Rapana venosa</i>	Вірджинія, США	KU905919	Aguilar et al., 2016*
<i>Rapana venosa</i>	Чорне море; США; Японія; Корея	EU250077–EU250209	Chandler et al., 2008
<i>Rapana venosa</i>	Вірджинія, США	MN087597, MN087553	Aguilar et al., 2018*
<i>Rapana venosa</i>	Південна Корея	JX503055–56	Kim et al., 2012
<i>Rapana venosa</i>	Китай	GU188175–88	Zou et al., 2009

<i>Rapana venosa</i>	Корея	HM180814–16	Kim et al., 2010
<i>Rapana venosa</i>	Китай	KP976376	Shen et al., 2015*
<i>Rapana venosa</i>	Японія	HE584367	Claremont et al., 2012
<i>Rapana bezoar</i>	Турція	KC789411-13	Keskin, 2013*
<i>Rapana rapiformis</i>	Китай	GU188192–94	Zou et al., 2009
<i>Plicopurpura patula</i>	Тобаго, Тринідад і Тобаго	HE584367	Claremont et al., 2012
<i>Arcuatula senhousia</i>			
<i>Arcuatula senhousia</i>	Сухий Ліман, Україна	????	Це дослідження
<i>Arcuatula senhousia</i>	Венеціанська лагуна, Італія	AY570032–51	Passamonti, 2007
<i>Arcuatula senhousia</i>	США, Азія	HQ891031–93	Asif & Krug, 2011
<i>Musculista senhousia</i>	—	MH924820–21	Homan, 2019*
<i>Arcuatula senhousia</i>	Канагава, Ооісо, Японія	AB076942	Matsumoto, 2016*
<i>Arcuatula senhousia</i>	Токіо, Дайдзу, Японія	AB498016	Endo et al., 2016*
<i>Musculista senhousia</i>	—	JN991299–305	Martinez et al., 2011*
<i>Arcuatula senhousia</i>	Азія	KY081302–03	Liu et al., 2018*

* послідовності з неопублікованих статей

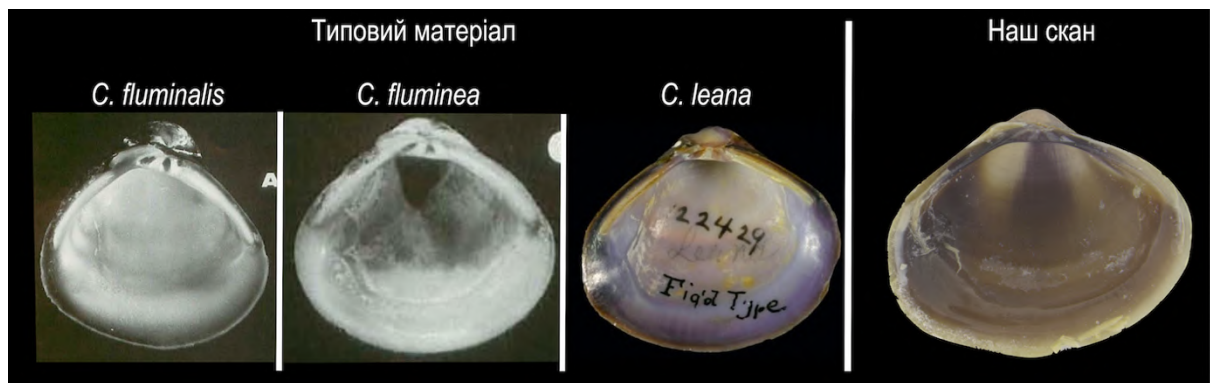
Додаток Е

Описова статистика лінійних вимірів стулок *Corbicula*: *n* – обсяг вибірки; Variable – досліджуваний параметр; Mean – середнє значення; Median – медіана; Skewness – коефіцієнт асиметрії; Kurtosis – коефіцієнт варіації; K.-S. test – * – значення тесту Колмогорова-Смірнов (Kolmogorov-Smirnov test).

Вибірка	<i>n</i>	Variable	Mean	Median	Skewness	SE Skewn.	Kurtosis	SE Kurt.	K.-S. test (крит. = 0.2)
All groups	277	Довжина	2.32	2.16	0.79	0.15	0.09	0.29	-
		Висота	2.21	2.07	1.15	0.15	1.09	0.20	-
		IR	0.94	0.93	0.27	0.15	-0.43	0.20	-
UA1	49	Довжина	2.17	2.14	0.59	0.31	0.21	0.61	>0.2
		Висота	2.11	2.12	0.27	0.31	-0.04	0.61	>0.2
		IR	0.98	0.97	0.72	0.31	1.17	0.61	>0.2
UA2	24	Довжина	3.07	3.08	0.22	0.47	-0.31	0.92	>0.2
		Висота	3.39	3.45	0.16	0.47	-0.58	0.92	>0.2
		IR	0.91	0.91	0.06	0.47	-0.47	0.92	>0.2
PL1	28	Довжина	2.02	2.05	0.03	0.44	-0.56	0.86	>0.2
		Висота	1.97	2.01	0.01	0.44	-0.50	0.86	>0.2
		IR	0.98	0.97	0.71	0.44	0.39	0.86	>0.2
PL2	32	Довжина	2.21	2.27	-0.17	0.41	-0.52	0.81	>0.2
		Висота	2.07	2.08	-0.13	0.41	-0.33	0.81	>0.2
		IR	0.94	0.93	0.48	0.41	-0.17	0.81	>0.2
NL1	43	Довжина	2.50	2.43	0.52	0.36	-0.62	0.71	>0.2
		Висота	2.29	2.23	0.42	0.36	-0.83	0.71	>0.2
		IR	0.92	0.92	-0.40	0.36	1.18	0.71	>0.2
NL2	34	Довжина	1.69	1.69	-0.19	0.40	-0.37	0.79	>0.2
		Висота	1.76	1.75	-0.30	0.40	-0.28	0.79	>0.2
		IR	1.04	1.04	-0.67	0.40	0.13	0.79	>0.2
IE1	43	Довжина	2.08	2.09	-0.27	0.36	-0.35	0.71	>0.2
		Висота	1.85	1.87	-0.36	0.36	-0.62	0.71	>0.2
		IR	0.89	0.89	0.10	0.36	0.90	0.71	>0.2
BR1	24	Довжина	3.42	3.40	1.04	0.47	1.52	0.92	>0.2
		Висота	2.86	2.84	0.77	0.47	0.70	0.92	>0.2
		IR	0.84	0.84	0.26	0.47	-0.11	0.92	>0.2

Тест Прокрустової ANOVA (Procrustes ANOVA) на повторюванність форм в наборі даних геометричної морфометрії. SS – сума квадратів, MS – середній квадрат, df – число ступенів свободи, наведені F -статистика та її значимість, ICC – коефіцієнт внутрішньокласової кореляції.

	df	SS	%Var	MS	F	Pr(>F)	ICC
Individuals	4968	2.19402119	93	0.0004416307	13.27	0.001	0.925
Residuals (digitizing)	4986	0.16589361	7	0.0000332719			
Total		2.3599148	100	0.000474903			



Фотографій опублікованих типових матеріалів *Corbicula* та наш скан.

Таблиця узагальненого таксономічного складу досліджених тварин (чужорідні виділені сірим) з BIN.
Нові BIN позначені курсивом.

Тип	Таксон	BIN
Annelida	<i>Helobdella europaea</i>	AAC5160
Cnidaria	<i>Cordylophora caspia</i>	AAR9096
Arthropoda	<i>Amathillina cristata</i>	AEC5546
	<i>Amphibalanus improvisus</i>	AAE2482
	<i>Amphibalanus eburneus</i>	ACD3190
	<i>Asellus aquaticus</i>	AEC1520, AEC4541, AAA1970, ACW0692
	<i>Asellus kosswigii</i>	ADY4008
	<i>Astacus leptodactylus</i>	AAO6408
	<i>Chelicorophium</i> sp.	AEC4240
	<i>Chelicorophium curvispinum</i>	AEE1223, AEE1224
	<i>Chelicorophium sowinskyi</i>	ADN8466
	<i>Cryptorchestia garbinii</i>	AAD8710
	<i>Deshayesorchestia deshayesii</i>	ADR3753
	<i>Dikerogammarus bispinosus</i>	ADY3531, AEC3943, ADM9911
	<i>Dikerogammarus haemobaphes</i>	AAX9262
	<i>Dikerogammarus villosus</i>	AAI9938
	<i>Echinogammarus foxi</i>	ACY7416
	<i>Echinogammarus ischnus</i>	AAB7817
	<i>Echinogammarus trichiatus</i>	AAI8951
	<i>Gammarus aequicauda</i>	AAD2658
	<i>Gammarus balcanicus</i>	AEB1505, AEB1508, AEB2281, AEB2366, AEB4069, AEC2142, AEC4021, AEC6387, ACI0728, ACQ2375, ADD2205
	<i>Gammarus birsteini</i>	AEC4061, AEC4062
	<i>Gammarus komareki</i>	AEC2141, AEC2142, AEC2143, ADY1116
	<i>Gammarus lacustris</i>	AEC3054, AEC3055, AAA2702, AEB2066
	<i>Gammarus leopoliensis</i>	ACI1563
	<i>Gammarus pulex</i>	AEC4685, AEC4687, ADY5121
	<i>Gammarus fossarum</i>	ADX9093
	<i>Gammarus kischineffensis</i>	ADY6986, ADY7237, ADY8260, ADZ0893, ADW9884
	<i>Gammarus</i> sp.	ADZ0844
	<i>Gammarus varsoviensis</i>	ADY7275, ADY7276, ADZ1019, ACH5403
	<i>Jaera sarsi</i>	ADK8576
	<i>Limnomysis benedeni</i>	AAA6355
	<i>Macrobrachium nipponense</i>	AAA7462
	<i>Niphargus</i> sp.	AEB5889
	<i>Niphargus thienemanni</i>	ADY0247
	<i>Obesogammarus crassus</i>	AAE2766
	<i>Obesogammarus obesus</i>	ADD8226
	<i>Orchestia montagui</i>	AEB4044, AEB6299, ACB5716
	<i>Paralicella caperesca</i>	ADX9568
	<i>Pontogammarus</i> sp.	AEC2144, AAF7811
	<i>Pontogammarus borceae</i>	ADZ0937
	<i>Pontogammarus maeoticus</i>	AEC2941, AEC5067, AED9115, AAB4266, AAB4267
	<i>Pontogammarus robustoides</i>	AAB7665
	<i>Pontogammarus obesus</i>	AEC2438
	<i>Procambarus virginalis</i>	ACG1580
	<i>Rhithropanopeus harrisii</i>	AAA2223
	<i>Synurella ambulans</i>	ACH8736
	<i>Talorchestia</i> sp.	AEB2800
Mollusca	<i>Acroloxus lacustris</i>	AAS0589
	<i>Arcuatula senhousia</i>	AAB4686, AAB4685
	<i>Corambe obscura</i>	AEK3306
	<i>Corbicula leana</i>	AAC2296

<i>Dreissena polymorpha</i>	AAA5298
<i>Dreissena rostriformis bugensis</i>	AAD0682
<i>Ferrissia californica</i>	AAE6642
<i>Mya arenaria</i>	AAE6281
<i>Mytilopsis leucophaeata</i>	AAH4257
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	AAA2184
<i>Physa fontinalis</i>	AAF4832
<i>Physella acuta</i>	AAB6433
<i>Rapana venosa</i>	AAA6876
<i>Sinanodonta woodiana</i>	AAD9061
<i>Stagnicola corvus</i>	AEL3150
<i>Theodoxus danasteri</i>	AAA7898
<i>Theodoxus fluviatilis</i>	AEL5134, AEK5080, AAA7899

Додаток К

Мінливі сайти послідовностей *cox1* комплексу *P. fallax*. Виявлено 5 різних гаплотипів для 17 послідовностей, використаних у цьому дослідженні. Зірочкою (*) позначена належність послідовності до певного гаплотипу.

Номер послідовності																
HM358012	HQ171456	HQ171459	HQ171458	HQ171457	HQ171454	HQ171455	HQ171453	KT074364	KF033123	HM358011	HM358010	KJ690261	JF438007	LC228303	Kharkiv	Dnipro
.	*	*	*	*	*	*	*	*	*
.	.	.	*	.	.	*
.	.	*	*	.	*
.	*
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.
.

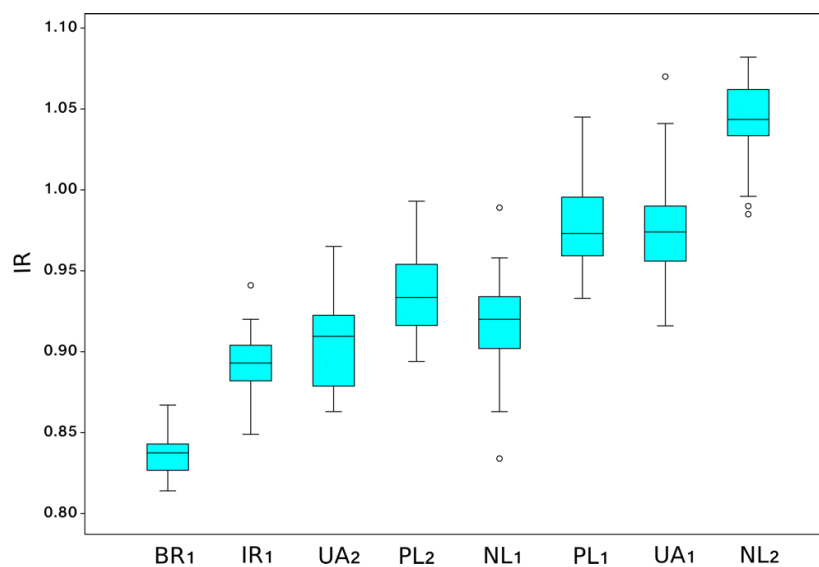
Додаток Л

Мінливі сайти послідовностей *cox1* креветок *Macrobrachium* sp. Виявлено 9 різних гаплотипів для 20 послідовностей, використаних у цьому дослідженні. Зірочкою (*) позначена належність послідовності до певного гаплотипу.

Гаплотип	Номер послідовності																			
	30	36	120	129	1123	1127	1128	1135	2017	2212	2220	2226	3001	3006	3014	3015	3017	3022	3023	3024
H1	G	T	A	A	A	C	T	C	A	A	C	G	C	C	A	C	T	C	C	A
H2	A
H3	.	.	G	.	T	T	A	T	.	.	T	.	.	.	G	A
H4	T	C
H5	T	A	.	.	G	.	C	.	T	.	G
H6	T	A	.	.	G	.	C	.	T	.	G
H7	A	T	T	.	.	.
H8	.	C	G	.	.	T	C	.	G	.	A	G	.	A
H9	.	C	G	.	G	T	C	.	G	.	A	.	T	G	.	A
AB762313
AB762312	*
DQ859913	*
MN200403
JN874532	.	*
DQ859908	*
KU977501
KU977502
KU977504	*
KU977503	*
KU977505	*
MK412784
MK412772
MK412783
Ukraine_a	.	*
Ukraine_b	.	*
KF547935	*

Порівняння якісних ознак (описи у розділі 2.3 *Морфологічні опрацювання*) серед досліджених зразків (аббревіатури у Таблиці 2).

Зразок	Скульптура	Витягнутість верхівки	Положення верхівки	Задній край стулки	Таксон
NL2	тонкі, вузькі та рівномірно розташовані ребра	витягнута	розташована по центру або зміщена до заднього краю	в основному округлий, злегка усічений (subtruncata) у кількох екземплярів	<i>C. fluminalis</i>
PL1	крупні, широко і нерівномірно розташовані ребра	витягнута	розташована по центру або зміщена до заднього краю	в основному округлий, злегка усічений у кількох екземплярів	<i>Corbicula</i> sp.
UA1	крупні, широко і нерівномірно розташовані ребра	помірно витягнута	центрально розташована або зміщена до заднього краю	округлий	<i>Corbicula</i> sp.
HU1	крупні, широко і нерівномірно розташовані ребра	витягнута	центрально розташована	округлий	<i>Corbicula</i> sp.
UA2, HU2	крупні, широко і нерівномірно розташовані ребра	помірно витягнута	зміщена до переднього краю	усічений	<i>C. leana</i>
IE1, MM1	крупні, широко і нерівномірно розташовані ребра	відносно сплюснута	зміщена до переднього краю	округлий	<i>C. leana</i>
PL2, PL3 UA3	крупні, широко і нерівномірно розташовані ребра	помірно витягнута	від центрально розташованої до зміщеної до переднього краю	усічений	<i>C. leana</i>
NL1	крупні, широко і нерівномірно розташовані ребра	помірно витягнута	від центрально розташованої до зміщеної до переднього краю	варіює від усіченого до округлого	<i>C. leana</i>
DE1	крупні, широко і нерівномірно розташовані ребра	від сплюсноті до помірно витягнутої	від центрально розташованої до зміщеної до переднього краю	варіює від усіченого до округлого	<i>C. leana</i>
BR1	крупні, широко і нерівномірно розташовані ребра	від сплюсноті до помірно витягнутої	зміщена до переднього краю	усічений	<i>C. cf. leana</i>
CN1	крупні, широко і нерівномірно розташовані ребра	сплюснута	центрально розташована	округлий	<i>C. fluminea</i>



Різниця округлості стулок *Corbicula* (IR – співвідношені висоти до довжини). На графіку показані викиди; довжина вусів – 95-и % інтервал. Тип вусів – стандартне відхилення та помилка.

Тест Прокрустової ANOVA (Procrustes ANOVA) оцінки значущості змін форм між морфотипами. CS – розмір центроїда. SS – сума квадратів, MS – середній квадрат, df – число ступенів свободи, наведені F-статистика та її значимість.

	df	SS	MS	Rsq	F	Z	Pr(>F)
Morphotype	3	0.61501	0.205002	0.55184	119.1986	10.0796	0.001**
CS	1	0.02317	0.023166	0.02079	13.4699	4.9766	0.001**
Morphotype x CS	3	0.01366	0.004553	0.01226	2.6472	3.0748	0.001**
Residuals	269	0.46264	0.001720	0.41512			
Total	276	1.11447					

MANCOVA міжгрупових осей головних компонент з формою (bgPC1-3):

	df	Pillai approx	F	numDf	den Df	Pr(>F)
Morphotype	3	1.75942	127.167	9	807	<2.2e-16***
CS	1	0.19917	22.135	3	267	7.849e-12***
Morphotype x CS	3	0.10726	3.325	9	807	0.0005319***
Residuals	269					

Terms:

	Morph	CS	Morph x CS	Residuals
bgPC1	0.5261382	0.0003068	0.0021192	0.0908348
bgPC2	0.0679368	0.0117816	0.0032488	0.0613815
bgPC3	0.0209318	0.0015603	0.0012004	0.0244172
df	3	1	3	269

Прокрустова відстань (Procrustes distances) між вибірками *Corbicula*. Р-значення курсивом.

	BR1	UA2	UA1	IE1	PL1	PL2	NL2	NL1
BR1		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
UA2	0.0527		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
UA1	0.0855	0.0822		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
IE1	0.0396	0.0414	0.0584		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
PL1	0.1002	0.0905	0.0688	0.0806		<.0001	<.0001	<.0001
PL2	0.0518	0.0381	0.0673	0.0330	0.0606		<.0001	<.0001
NL2	0.1404	0.1145	0.0915	0.1153	0.0808	0.1038		<.0001
NL1	0.0472	0.0384	0.0585	0.0283	0.0617	0.0183	0.1069	