

*На правах рукописи*



ТОМИЛОВА Алёна Андреевна

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ БЕЗЗУБКИ  
*ANODONTA ANATINA* РОССИИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЙ**

Специальность 1.5.12 – Зоология (биологические науки)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Архангельск 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН.

**Научный руководитель:** **Кондаков Александр Васильевич,**  
кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник  
лаборатории молекулярной экологии и биогеографии  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Федеральный исследовательский центр комплексного изучения  
Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН

**Официальные оппоненты:** **Снегин Эдуард Анатольевич,**  
доктор биологических наук, доцент, директор научно-  
исследовательского центра геномной селекции, профессор кафедры  
биологии Федерального государственного автономного  
образовательного учреждения высшего образования «Белгородский  
государственный национальный исследовательский университет»

**Ворошилова Ирина Сергеевна,**  
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник  
лаборатории экологии водных беспозвоночных Федерального  
государственного бюджетного учреждения науки Института  
биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования «Петрозаводский  
государственный университет»

Защита состоится « 18 » октября 2021 г. в 14<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 24.1.034.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН по адресу: 152742, Ярославская обл., Некоузский район, п. Борок, д. 109. Тел./факс: +7 (48547) 24042, e-mail: dissovet@ibiw.ru

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН и на сайте ФГБУН ИБВВ РАН (<http://www.ibiw.ru>), с авторефератом – в сети Интернет на сайтах ВАК РФ (<https://vak.minobrnauki.gov.ru/main>) и ФГБУН ИБВВ РАН (<http://www.ibiw.ru>).

Автореферат разослан: «      »                      2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета, доктор биологических наук



Л.Г.Корнева

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследований.** Род *Anodonta* Lamarck, 1799 включает виды с чрезвычайно высоким уровнем изменчивости формы раковины, что послужило причиной для описания исследователями большого количества видов внутри этого рода на основании конхиологических особенностей (Graf, 2007). В связи с этим возникла необходимость применения маркерных участков ДНК в дополнение к традиционным подходам при определении видовой принадлежности. В результате было показано, что род *Anodonta* не отличается значительным разнообразием видов, как считалось ранее, и многочисленные номинальные таксоны были признаны синонимами нескольких конхиологически изменчивых видов на основе морфологических, биогеографических и молекулярных данных (Haas, 1969; Klishko et al., 2018; Bolotov et al., 2020). В то же время остается ряд номинальных таксонов рода *Anodonta*, для которых корректное систематическое положение не определено. Одним из них является вид *Anodonta pseudodopsis* Locard, 1883, который имеет ограниченный ареал в пределах бассейна реки Оронт в Турции и Сирии (Schütt, 1983; Kinzelbach, 1989; Graf, 2007) и находится под угрозой исчезновения (Lopes-Lima, Seddon, 2014).

Результаты, базирующиеся на комплексном анализе набора молекулярных данных и морфологических особенностей *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758), позволяют существенно расширить возможности исследователей: выявить закономерности диверсификации внутривидовых форм, провести реконструкцию демографической истории популяций в условиях климатических и палеоэкологических изменений.

На основании молекулярно-генетических данных в нескольких регионах Европы были выявлены новые генетические линии пресноводных животных. Было определено, что Апеннинский, Пиренейский и Балканский полуострова являлись рефугиумами для континентальной фауны во время климатических похолоданий в разные геологические периоды (Taberlet et al., 1998; Albrecht et al., 2008; Froufe 2017 et al.; Grabowski et al., 2017). В них фауна развивалась изолированно, без взаимодействия с соседними регионами. При этом Понто-Каспийский регион практически не рассматривался учеными, как еще один возможный рефугиум, несмотря на то, что есть подтверждения о значительных климатических колебаниях и изменениях уровня моря в течение неоген-четвертичного периода на данных территориях. В результате климатических и палеоэкологических изменений происходило появление изолированных популяций, что подтверждено генетическим анализом рыб рода *Barbus* (Teleostei: Cyprinidae) в Европе, в котором была выделена понто-каспийская субклада в пределах этого рода (Levin et al., 2019). При этом эволюционная история малакофауны Понто-Каспийского региона остается неизученной.

Двустворчатый моллюск *Anodonta anatina* представляет собой один из наиболее подходящих модельных организмов для выявления рефугиумов и реконструкции связей между древними пресноводными бассейнами, потому что этот вид широко распространен в пресных водах умеренного и субарктического поясов Евразии и не способен самостоятельно перемещаться между изолированными водными объектами

(Froufe et al., 2014; Klishko et al., 2018; Bolotov et al., 2020). Митохондриальный геном *A. anatina* характеризуется низкой скоростью накопления нуклеотидных замен, поэтому приемлемо использовать его для реконструкции биогеографических событий в масштабе нескольких миллионов лет (Soroka, 2008). Результаты, представленные Froufe с соавторами (Froufe et al., 2014) продемонстрировали существование в Европе трех генетических линий этого вида, выявленных на основании филогенетического анализа последовательностей гена субъединицы I цитохром с оксидазы (COI) митохондриальной ДНК. В это масштабное исследование не были включены образцы *A. anatina* с территории России, которые в настоящее время с точки зрения молекулярно-генетического анализа изучены достаточно слабо, и были представлены только в результатах исследования фауны отдельного региона (Klishko et al., 2018).

**Цель диссертационной работы** - определить закономерности формирования морфологической изменчивости и провести реконструкцию расселения утиной беззубки *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) в крупнейших пресноводных бассейнах России и сопредельных территорий с применением статистических, филогенетических и филогеографических методов анализа.

**Задачи диссертационной работы:**

1) оценить пригодность использования длин транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 для идентификации беззубок;

2) сравнить морфологические параметры формы раковины *Anodonta anatina* между популяциями из разных климатических зон Евразии. Описать закономерности изменчивости очертаний раковин беззубки в широтном градиенте от субарктики до субтропиков;

3) уточнить систематическое положение номинального таксона *Anodonta pseudodopsis* Locard, 1883 из бассейна реки Оронт (Сирия и Турция);

4) изучить филогеографию *Anodonta anatina* и выявить закономерности формирования современного ареала вида в России и на сопредельных территориях;

5) провести филогенетический и демографический анализ популяций утиной беззубки.

**Научная новизна.** Выявлены биогеографические закономерности распространения утиной беззубки на основании анализа маркеров митохондриальной (COI и 16S рРНК) и ядерной (28S рРНК) ДНК. Полученные молекулярно-генетические данные дополняют недостающие сведения о филогеографии *Anodonta anatina* на территории России. Приведены новые доказательства наличия на территории Кубано-Приазовской низменности плиоцен-плейстоценового рефугиума на основе филогенетического анализа пресноводного моллюска *A. anatina* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia: Unionidae). Новая генетическая линия утиной беззубки из бассейна рек Азовского моря обнаружена и описана впервые. Определен ареал *A. anatina* на территории России.

В ходе исследований был осуществлен пересмотр статуса номинального таксона *Anodonta pseudodopsis* Locard, 1883 из бассейна реки Оронт с применением

интегративного подхода. Молекулярный и морфометрический анализ топотипов номинального таксона *A.pseudodopsis* показал, что данная внутривидовая линия представляет собой широко распространенный вид *A. anatina* (Linnaeus, 1758).

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные результаты важны для понимания закономерностей формирования фенотипической изменчивости пресноводных двустворчатых моллюсков. Проведено уточнение таксономического статуса номинального вида *Anodonta pseudodopsis* Locard, 1883, которое позволило свести данный таксон в синонимы и определить южную границу ареала утиной беззубки. Проведенный масштабный генетический анализ *A. anatina* позволил выявить новую генетическую линию моллюска в бассейнах рек Азовского моря, что указывает на наличие рефугиума на данной территории, и позволил определить закономерности формирования современного ареала данного вида в России и на сопредельных территориях. Получен большой массив нуклеотидных последовательностей генов митохондриальной (COI и 16S рРНК) и ядерной (28S рРНК) ДНК *A. anatina*, которые были депонированы в международной базе данных GenBank NCBI и в настоящий момент доступны для научного сообщества.

Результаты работы могут быть применены в учебном процессе при подготовке лекционных и практических курсов, составлении учебных пособий по зоологии беспозвоночных и гидробиологии для студентов ВУЗов.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Данные о длине нуклеотидных последовательностей транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 могут быть использованы в качестве дополнительного маркера для идентификации моллюсков рода *Anodonta*.

2. Очертание раковин двустворчатого моллюска *Anodonta anatina* имеет высокую морфологическую изменчивость. Высота раковин утиной беззубки зависит от географической широты, на которой обитает популяция, и увеличивается с ростом средней летней температуры воздуха от субарктики до субтропиков.

3. В реках бассейна Азовского моря обитает отдельная генетическая линия *Anodonta anatina*, что указывает на наличие на данной территории плиоцен-плейстоценового рефугиума.

**Степень достоверности и апробация результатов диссертации.** Результаты диссертационного исследования были представлены и обсуждены на 6 научных конференциях: XXIV и XXVI Всероссийских молодежных научных конференциях «Актуальные проблемы биологии и экологии» (с элементами научной школы) (Сыктывкар, 2017, 2019); I Международной молодежной научно-практической конференции «Арктические исследования: от экстенсивного освоения к комплексному развитию» (Архангельск, 2018); Всероссийской конференции с международным участием II Юдахинские чтения «Проблемы обеспечения экологической безопасности и устойчивое развитие арктических территорий» (Архангельск, 2019); Всероссийской научной конференции с международным участием «Моллюски: биология, экология,

эволюция и формирование малакофаун» (Борок, 2019); Международной научной конференции «Экология водных беспозвоночных» (Борок, 2020).

**Личный вклад соискателя** состоит в непосредственном участии на всех этапах работы над диссертационным исследованием: в формулировке цели и задач, сборе и камеральной обработке материала, в определении методов обработки полученных данных, проведении молекулярно-генетического, морфологического, филогеографического анализа, филогенетической реконструкции и анализа демографической истории популяций.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК и индексируемых в международных наукометрических базах данных Web of Science и Scopus.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из списка сокращений и условных обозначений, введения, трех глав, заключения, выводов и списка литературы, включающего 186 работ, в том числе 165 иностранных, а также 1 приложения. Материалы диссертации изложены на 146 страницах, иллюстрирована 27 рисунками и 16 таблицами.

**Благодарности.** Автор выражает искреннюю признательность своему научному руководителю к.т.н. А.В. Кондакову за плодотворные обсуждения полученных данных, чуткое руководство, всестороннюю поддержку и помощь на всех этапах подготовки работы. Отдельную благодарность выражаю к.г.н. А.А. Любасу за отзывчивость и неоценимую помощь в освоении филогенетических методов исследования, а также к.б.н. Н.А. Зубрий за консультации, касающиеся статистической обработки данных. Я глубоко признательна д.б.н. И.Н. Болотову, к.б.н. Е.С. Коноплевой, к.б.н. И.В. Вихреву за ценные советы и участие в обсуждении результатов исследований, а также к.г.н. М.Ю. Гофарову за подготовку карт сбора образцов. Автор благодарен О.В. Аксёновой, А.С. Аксёнову, В.С. Артамоновой, Ю.В. Беспалой, И.Н. Болотову, А.В. Боровскому, М.В. Винарскому, И.В. Вихреву, М.Ю. Гофарову, Д.А. Дворянкину, А.А. Желудковой, С.А. Игловскому, М.Б. Кабакову, Ю.С. Колосовой, А.В. Кондакову, В.В. Крячюнасу, Б.А. Левину, М.Л. Левину, А.А. Любасу, А.А. Махрову, Д.М. Палатову, В.М. Спицыну, а также иностранным коллегам А. Altun, E. Froufe, M. Gürlek, Ü. Kebarçı, M. Lopes-Lima, G. Ozcan, T. Ozcan, H. Şereflişan за сбор образцов в ходе полевых работ в период 2011-2019 гг.

Автор выражает также свою благодарность заведующей сектором аспирантуры С.Е. Тельтевской и главному ученому секретарю ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН О.Н. Ежову за помощь в организационных вопросах.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

В главе представлена характеристика моллюсков *Anodonta* и их роль в экосистемах, а также обзор работ отечественных и зарубежных исследователей по

систематике рода *Anodonta*. Рассмотрены митохондриальные и ядерные ДНК-маркеры, межгенные спейсеры ITS, используемые для идентификации двустворчатых моллюсков Unionidae. Кроме того, в работе представлены особенности филогении трибы Anodontini и проанализированы имеющиеся в литературе данные о закономерностях географического распространения *Anodonta anatina*.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Сбор полевого материала.** В качестве объекта исследования выступил пресноводный двустворчатый моллюск *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758), образцы которого были собраны в ходе экспедиций в 2011-2019 гг. из наиболее крупных речных бассейнов России, таких как Северная Двина, Кереть, Индига, Таз, Волга, Кубань, Дон, Печора, Обь, Верхняя Ангара, Селенга, Лена, а также из бассейнов рек Камчия (Болгария), Бзыбь (Абхазия), Оронт (Турция), Урал и Обь (Казахстан). Всего в ходе полевых работ было отобрано более 250 экземпляров из 54 локальных фаун. Территория исследования охватывала различные пресноводные объекты России от Псковской области до Республики Саха (Якутия).

Беззубки собирались вручную на глубине 1-1,5 метра и фиксировались 96%-м этанолом. В дальнейшем визуально проводилась первичная видовая идентификация собранных образцов унионид на основе стандартных определителей и специальных ключей (Жадин, 1952; Klishko et al., 2018; Volotov et al., 2020).

**Сравнительно-морфологический анализ раковин.** Анализ формы раковин *A. anatina* был выполнен с использованием преобразования Фурье, реализованного в пакете программ SHAPE v. 1.3 (Iwata, Ukaï, 2002) по методике, описанной в статье (Kopoleva et al., 2017). Для проверки различий формы раковин *A. anatina* применялся многомерный дисперсионный анализ (MANOVA) между выборками из локальных популяций и из климатических зон. Для проведения расчета выборка образцов раковин *A. anatina* (237 экземпляров) была разбита на 39 локальных популяций согласно месту сбора образцов. Кроме того, эти же образцы *A. anatina* были распределены на группы согласно классификации климатов Кёппена, которая основана на учёте режима температуры и осадков (Beck et al., 2018). Для иллюстрации дифференциации между многомерными средними значениями главных компонент (центроидов) PCs каждой выборки *A. anatina* использовали канонический дискриминантный анализ (DCA). Матрица оценок главных компонент для формы раковины была спроецирована на вычисленные канонические оси переменных. Оценку парных сравнений сходства форм раковин беззубки между каноническими осями (CA) для выборок из пяти климатических зон проводили на основании разницы маргинальных средних значений центроидов PCs локальных фаун. Анализ проводился с использованием программного обеспечения STATISTICA v. 10 и PAST v. 3.06 (Hammer, 2015).

Взаимосвязь между морфологической изменчивостью формы раковин, генетическим разнообразием и географическим положением популяций *A. anatina* оценивали с помощью тестов Мантеля, как степень сходства между матрицами.

Морфологическая матрица была представлена расстояниями Махаланобиса между между центроидами РСs 39 локальных фаун (237 экземпляров раковин) на основе анализа DCA, выполненного с помощью программы STATISTICA v. 10. Генетические расстояния были оценены на основе средних попарных значений параметра  $F_{ST}$  для тестируемых 147 последовательностей COI, предварительно разбитых согласно месту сбора образцов моллюсков. Расчёт проводили в программе Arlequin v. 3.5.2. (Excoffier, Lischer, 2010). Матрица географического расстояния представляла собой дистанции (в км) между точками сбора образцов *A. anatina* и была рассчитана с использованием программы PAST v. 3.06 (Hammer, 2015). Для корреляционного анализа морфологических данных использовали образцы, которые были определены при помощи молекулярно-генетических методов. Данный расчет проводили в программе PAST v. 3.06 (Hammer, 2015).

Для поиска величины зависимости формы раковины от температуры был применен регрессионный анализ. Для построения модели использовали значения средней летней температуры воздуха за пять лет, предшествующих дате сбора образцов (MST5), полученные из климатической базы данных CRU TS v. 4.04 (Harris et al., 2014).

**Молекулярно-генетический анализ.** Для проведения молекулярно-генетического анализа образцов применялись общепринятые протоколы выделения ДНК, амплификации фрагментов генов COI, 16S рРНК, 28S рРНК и секвенирования, которые подробно описаны в работе (Bolotov et al., 2017a). Участки внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 амплифицировали с использованием праймеров ITS1F и ITS1R (White et al., 1996), LT1F (Bargues et al., 2001) и ITS4R (White et al., 1996) соответственно. Выравнивание последовательностей COI, 16S рРНК и 28S рРНК проводили с использованием алгоритма ClustalW (Thompson et al., 1994).

**Определение длин фрагментов ДНК на чипах.** Определение видовой принадлежности пресноводных моллюсков с помощью сравнения длин транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2, которые расположены в рибосомной ДНК между участками 18S, 5.8S и 28S РНК (White et al., 1996; Källersjö et al., 2005), проводилось на автоматизированной электрофорезной станции Experion™ при помощи чипов (Bio-Rad, США). Для этого использовали ПЦР-продукты 26 особей *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758), шести *A. cygnea* (Linnaeus, 1758), двух *Pseudanodonta* cf. *complanata* (Rossmässler, 1835) из трибы Anodontini (Lopes-Lima et al., 2017). В качестве объектов сравнения анализировались длины последовательностей ITS1 и ITS2 особей видов *Beringiana beringiana* (Middendorf, 1851), *Sinanodonta* aff. *woodiana* (Lea, 1834), *S. lauta* (Bogatov, Starobogatov, 1996), которые относятся к другой трибе Cristariini (Lopes-Lima et al., 2017) подсемейства Anodontinae. Кроме того, проводили сравнение с представителями сестринского подсемейства Unionidae: *Unio tumidus* (Retzius, 1788) и *U. pictorum* (Linnaeus, 1758).

**Филогеографический анализ** был проведен для 328 фрагментов COI и 108 фрагментов 16S рРНК, 103 фрагментов 28S рРНК образцов *A. anatina* (частично были использованы сиквенсы из наших работ (Bolotov et al., 2020; Tomilova et al., 2020a,b) и



из работ других исследователей (Soroka, 2008; Hinzman et al., 2013; Reis et al., 2013; Froufe et al., 2014, 2017; Mezhzherin et al., 2014; Araujo et al., 2017, 2018; Klishko et al., 2018)) с помощью программного обеспечения Network v. 4.6.1.3 (Bandelt et al., 1999).

**Филогенетический анализ** и оценка гипотетического времени дивергенции генетических линий *A. anatina* проводились на основе 329 последовательностей гена COI длиной 590 п.н. с использованием программного обеспечения BEAST v. 2.1.3 (Drummond, Rambaut, 2007; Bouckaert et al., 2014). При построении филогении с использованием молекулярных часов в качестве внешней калибровки скорости эволюции для гена COI было использовано значение  $2,65 \times 10^{-9}$  замен/сайт/год, рассчитанное на основе данных дивергенции видов *Unio delphinus* Spengler, 1793 и *U. foucauldianus* Pallary, 1936 в период Мессинского кризиса солёности (Froufe et al., 2016).

**Анализ демографической истории популяций.** Для оценки достоверности филогенетических гипотез и эволюционных сценариев проводился демографический анализ популяций *A. anatina* при помощи программного обеспечения DIYABC v. 2.1.0 (Cornuet et al., 2014) с применением метода приближенных Байесовских вычислений (ABC). Для моделирования демографической истории популяций утиной беззубки были разработаны три биогеографических сценария (рис. 1), в основу которых легли данные филогенетического расчета.

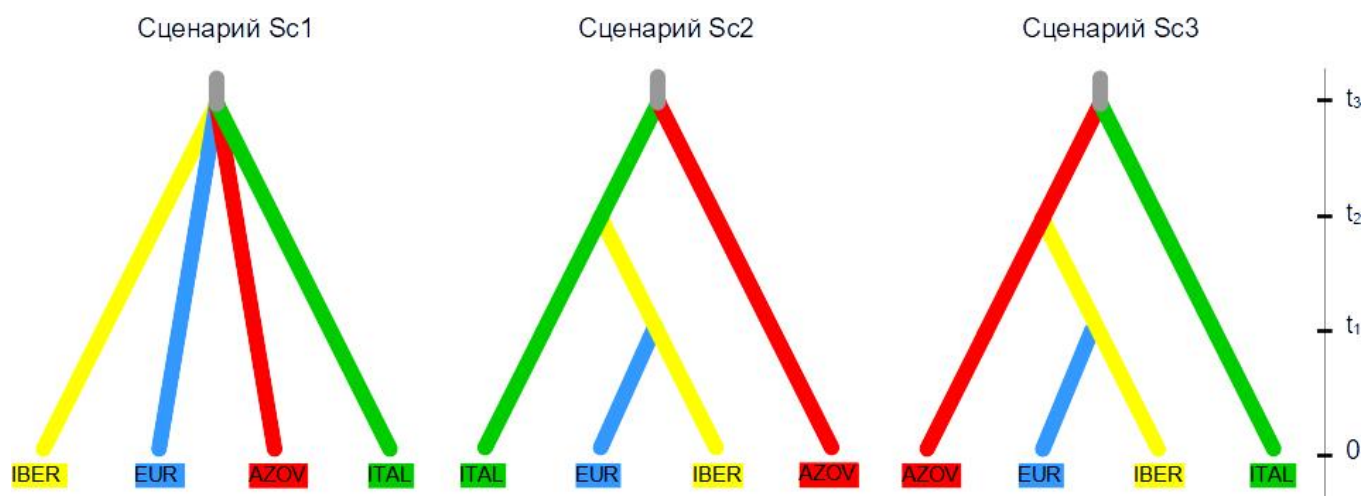


Рис. 1. Демографические сценарии гаплогрупп *Anodonta anatina*, протестированные с помощью метода ABC на основе фрагментов гена COI. Обозначение: IBER – гаплогруппа Пиренейского полуострова (без бассейна реки Эбро), EUR – Евразийская гаплогруппа (без рек бассейна Азовского моря), AZOV – гаплогруппа рек бассейна Азовского моря, ITAL – гаплогруппа Апеннинского полуострова с бассейном реки Эбро. В трех сценариях  $t_{\#}$  представляет время наступления события (выраженное в годах)

Сценарий Sc1 предполагает одновременное отделение южных популяций из-за палеогеографического события во время  $t_3$  от континентальной европейской популяции. Согласно этому сценарию, четыре гаплогруппы *A. anatina* разошлись

одновременно. Сценарий Sc2 предполагает первоначальное отделение популяции Кубано-Приазовской низменности (AZOV), а затем популяции Апеннинского полуострова с бассейном реки Эбро (ITAL) и наличие рефугиума *A. anatina* на Пиренейском полуострове (IBER) в момент времени  $t_3$ . В свою очередь, сценарий Sc3 предполагает первоначальное отделение субклада Апеннинского полуострова с бассейном реки Эбро (ITAL) от континентальной популяции, и наличие там древней генетической линии *A. anatina*. Далее по этому сценарию происходило разделение популяций Кубано-Приазовской низменности (AZOV), а затем популяций Пиренейской (IBER) и Евразийской (EUR) субклад

**Популяционно-генетический анализ.** Рассчитывались индексы генетического разнообразия популяции (разнообразие гаплотипов и нуклеотидов), статистики популяционно-генетических тестов Tajima's D (Tajima, 1989) и Fu's Fs (Fu, 1997), а также проводился анализ распределения несоответствий в рамках модели пространственного расширения с использованием программного обеспечения Arlequin v. 3.5.1.2 для оценки демографических процессов в выбранных популяциях (Excoffier, Lischer, 2010). Для этого анализа использовались те же группы, что и для моделирования демографических сценариев.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

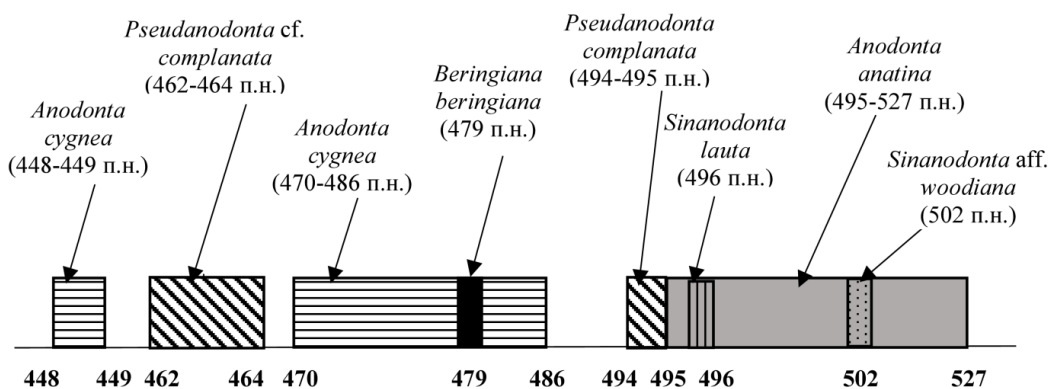
### 3.1 Применение транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2

#### для идентификации вида беззубок

В результате анализа участков ITS1 и ITS2 на чипах было выявлено, что существуют вариации по длине нуклеотидных последовательностей спейсеров ITS1 и ITS2, что обусловлено присутствием в них вставок и делеций, которые образовались в процессе эволюции. Массив данных, полученный нами, был дополнен длинами 16 последовательностей ITS1 и ITS2 пресноводных моллюсков Северо-Западной Европы из GenBank (Källersjö et al., 2005).

Согласно полученным данным (рис. 2), диапазоны длин участков ITS2 *Pseudanodonta cf. complanata* (310-321, 335 п.н.), *Anodonta cygnea* (315-339 п.н.) и *A. anatina* (321-345 п.н.) имеют перекрывающиеся области, однако длина ITS1 значительно отличается у *A. cygnea* (448-449, 470-486 п.н.) и *A. anatina* (495-527 п.н.), *A. cygnea* (448-449, 470-486 п.н.) и *P. cf. complanata* (462-464, 494-495 п.н.) – что позволяет отличить данные виды. Длина последовательности ITS2 представителей вида *Sinanodonta lauta* (273 п.н.) попадает в диапазон от 273 до 282 п.н., к которому относится двустворчатый моллюск *Sinanodonta aff. woodiana*, но существуют отличия по транскрибируемому спейсеру ITS1: *S. lauta* (496 п.н.), *S. aff. woodiana* (502 п.н.). Диапазоны длин участков ITS1 *A. anatina* (495-527 п.н.) и *Beringiana beringiana* (479 п.н.), однако по длине ITS2 данные виды отличаются.

## ITS1



## ITS2

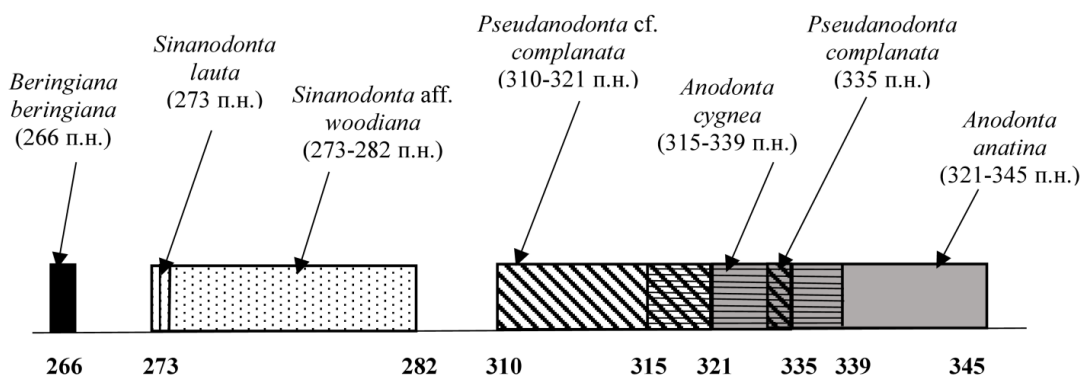


Рис. 2. Схема длин транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 для представителей родов *Anodonta*, *Pseudanodonta*, *Beringiana* и *Sinanodonta*

В ходе изучения генетических маркеров для представителей рода *Anodonta* было установлено, что длины последовательностей транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2, которые являются некодирующими последовательностями между рибосомальными РНК могут быть использоваться для идентификации вида беззубок. Результаты проведенного исследования позволяют утверждать, что совместное определение длин спейсеров ITS1 и ITS2 может быть использовано в качестве дополнительного маркера для видовой идентификации моллюсков родов *Anodonta*, *Pseudanodonta*, *Sinanodonta* и *Beringiana*. Исключением являются представители *P. complanata* и *A. anatina*, которые имеют перекрывающиеся области в длинах анализируемых последовательностей. Этот метод существенно позволяет облегчить и ускорить процесс идентификации моллюсков.

### 3.2 Морфологическая изменчивость раковин *Anodonta anatina*

Раковины исследованных особей *A. anatina* характеризуются достаточно высокой изменчивостью формы и окраски створок. В результате многомерного дисперсионного анализа (MANOVA) были установлены значимые отличия центроидов значений форм раковин утиных беззубок: как между отдельными популяциями ( $F = 7,165$ ,  $p = 0,000$ ), так и между выборками из пяти климатических зон

( $F = 2,354$ ,  $p = 0,003$ ), которые были разделены согласно классификации Кёппена. Для климатических зон установлены значимые отличия средних значений формы раковин *A. anatina* только для первых трёх канонических осей (СА1:  $F_{4,34} = 3,564$ ,  $p = 0,014$ ; СА2:  $F_{4,34} = 3,648$ ,  $p = 0,014$ ; СА3:  $F_{4,34} = 3,045$ ,  $p = 0,030$ ).

Положение значений центроидов форм раковин для изученных локалитетов (рис. 3) не демонстрирует четких морфологических отличий между разными климатическими зонами. В результате анализа парных сравнений для первой канонической оси установлены значимые отличия между формой раковины *A. anatina* из зоны с субарктическим климатом и из зоны с сухим климатом ( $i-j$ :  $-2,48 \pm 0,84$ ;  $p = 0,03$ ). Реконструированные контуры раковин для первой канонической оси (рис. 4) показывают, что для положительной проекции характерна большая высота раковины, по сравнению с контурами из отрицательной проекции.

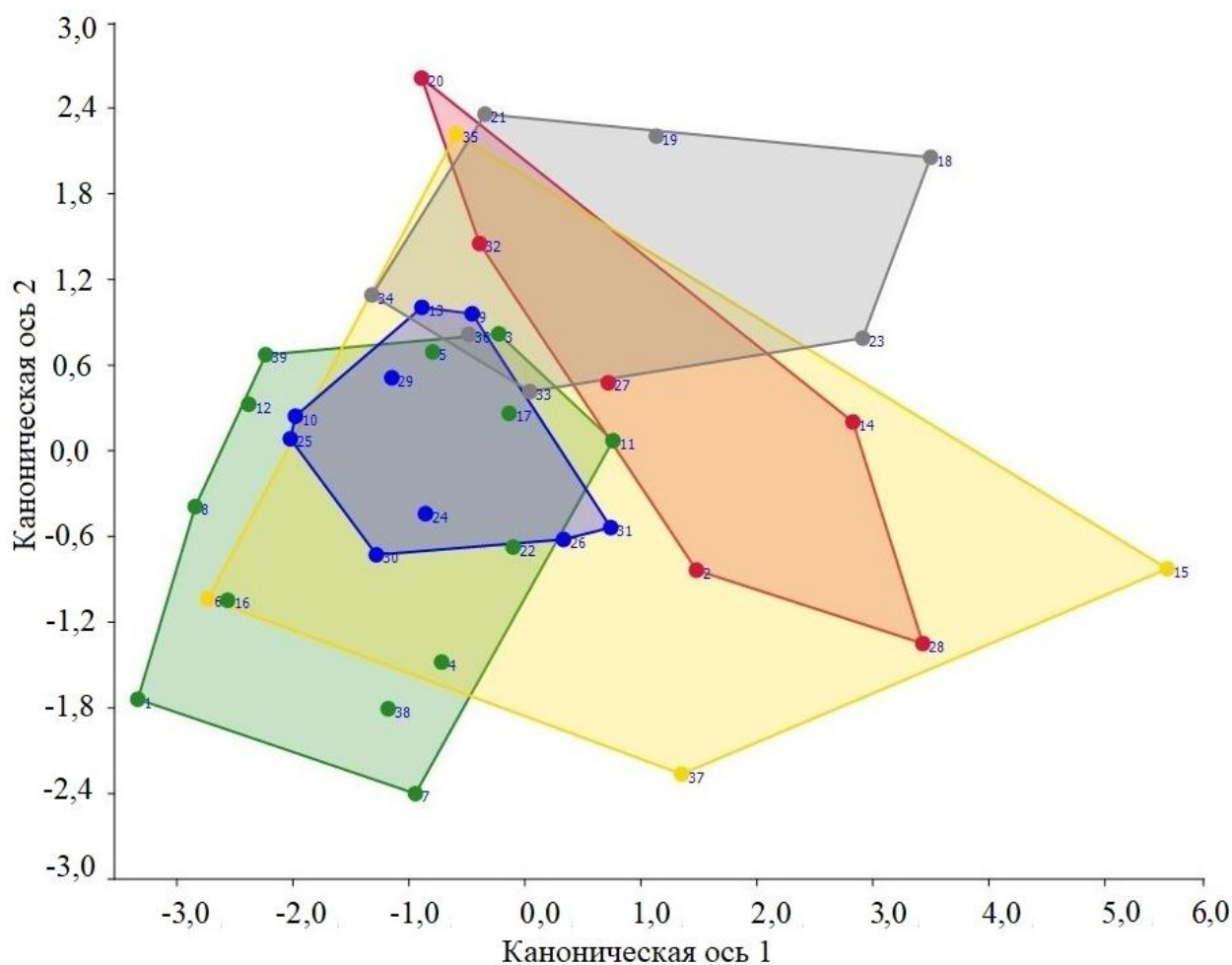


Рис. 3. График канонического анализа центроидов PCs формы раковин *Anodonta anatina* из разных локальных популяций для первых двух канонических осей. Полигоны оконтуривают крайние положения центроидов выборок разных локальных фаун в составе климатических зон: красный – DC (сухой климат), желтый – STC (субтропический климат), серый – TCH (умеренный континентальный климат с жарким летом), синий – TCW (умеренный континентальный климат с теплым летом), зеленый – SAC (субарктический континентальный климат)

Для второй канонической оси установлены значимые отличия контуров раковин беззубок между популяциями из зоны с субарктическим климатом и из зоны с умеренным континентальным климатом с жарким летом ( $i-j$ :  $-1,91 \pm 0,53$ ;  $p = 0,01$ ). Реконструированные контуры раковин для второй канонической оси (рис. 4) показывают, что для положительной проекции характерно округлое очертание брюшного края и киль, скошенный к заднему краю раковины, а для отрицательной проекции – менее выпуклое очертание брюшного края, а также более симметричный спинной край раковины относительно переднего и заднего. Выявлено, что ни для одной из тестируемых групп выборок *A. anatina*, согласно зональному делению, значения центроидов PCs не достигли значимых отличий по обоим каноническим осям.

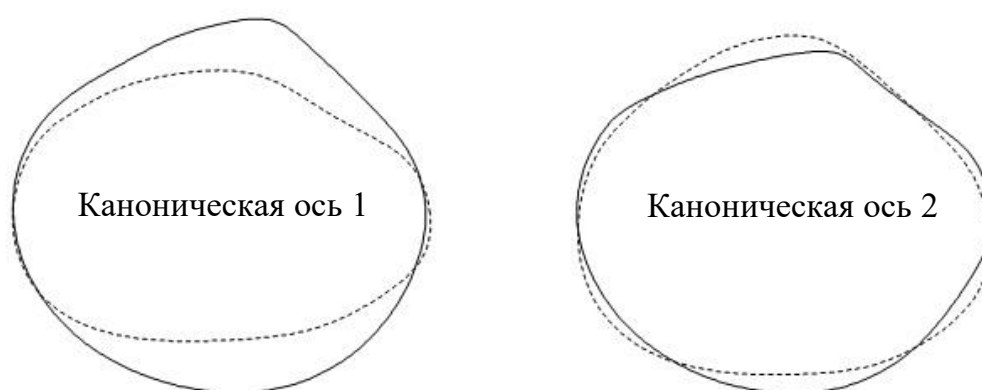


Рис.4. Реконструированные контуры *Anodonta anatina* для положительных (сплошная линия) и отрицательных (пунктирная линия) проекций двух первых канонических осей

При расчете простого теста Мантеля корреляция между морфологической и генетической матрицами была значимой и положительной ( $r = 0,1967$ ;  $p < 0,05$ ), в свою очередь корреляция между морфологической и географической матрицами не достигла значимости ( $r = 0,0968$ ;  $p > 0,05$ ). Частный тест Мантеля подтверждает установленную закономерность. Таким образом, географическая дифференциация не оказывает влияния на морфологическую изменчивость, зато наблюдается значимый вклад генетических данных в изменчивость очертаний раковин в популяциях беззубки.

Результаты анализа регрессионной модели подтверждают нашу гипотезу о наличии зонального тренда (от субарктической зоны к зоне субтропиков), выраженного в увеличении высоты раковин беззубки с повышением средней летней температуры воздуха MST5 (рис. 5). Только между выборками раковин из зон с субарктическим и сухим климатом, для которых характерны крайние значения высоты створок, обнаружены статистически значимые отличия по форме. Уровень аппроксимации в регрессионной модели составил 34,77%.

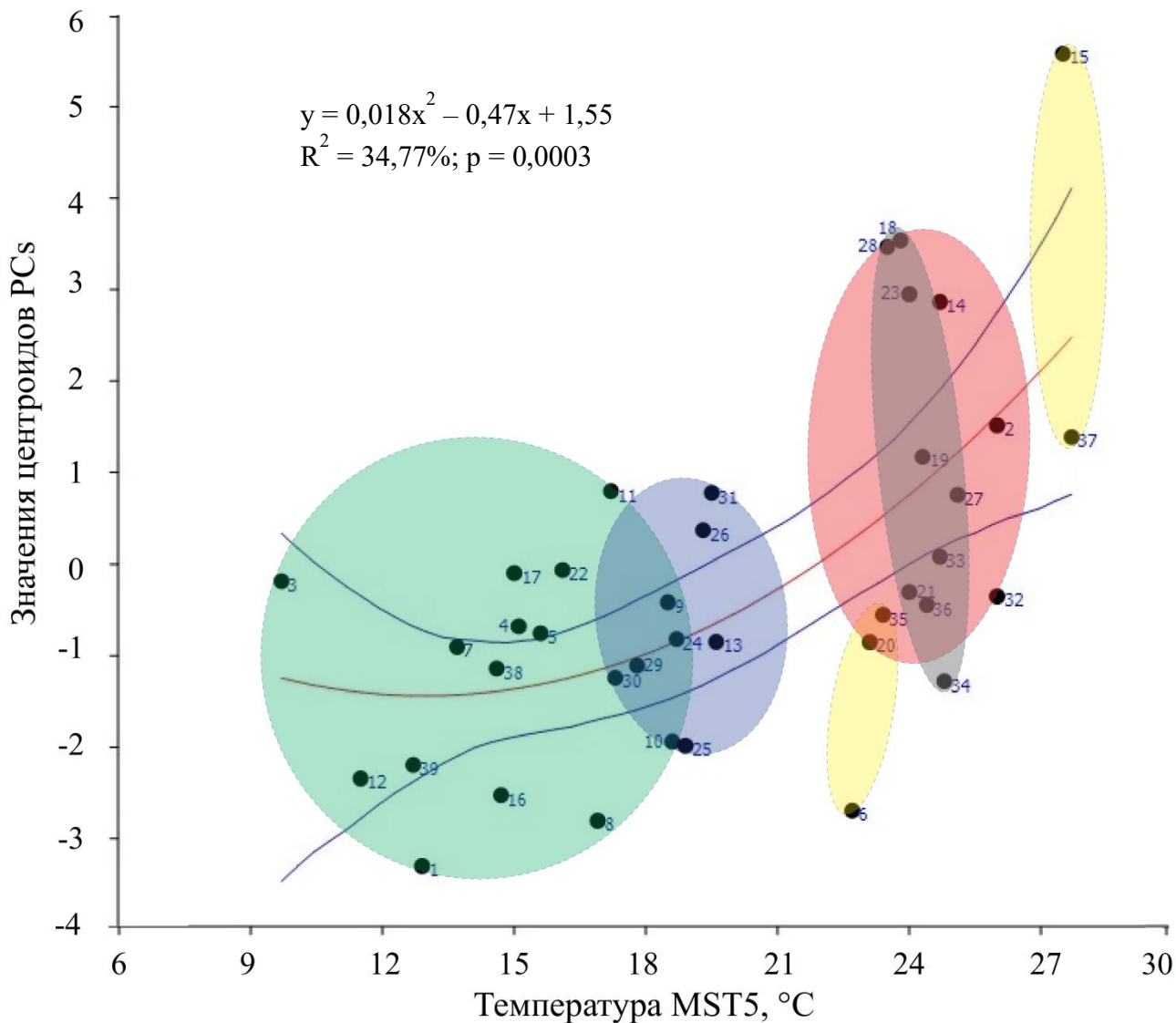


Рис. 5. График зависимости формы раковины *Anodonta anatina* от температуры MST5: красная линия – аппроксимирующая модель, синяя линия – доверительные интервалы (95%). Цветные эллипсы оконтуривают климатические зоны: красный – DC (сухой климат), желтый – STC (субтропический климат), серый – TCH (умеренный континентальный климат с жарким летом), синий – TCW (умеренный континентальный климат с теплым летом), зеленый – SAC (субарктический континентальный климат)

### 3.3 Уточнение таксономического статуса *Anodonta pseudodopsis* Locard, 1883

Остается ряд номинальных таксонов рода *Anodonta*, систематическое положение которых было установлено на основании морфологического анализа. Одним из таких видов является *Anodonta pseudodopsis* Locard, 1883, который имеет ограниченный ареал в пределах бассейна реки Оронт в Турции и Сирии (Schütt, 1983; Kinzelbach, 1989; Graf, 2007). Этот вид был описан из озера Амик, крупного пресноводного водоема в нижней части бассейна реки Оронт в провинции Хатай, которое было осушено в период 1940-1970-х годов. Это озеро покрывало часть Амикской равнины, расположенной между горами Нур (Аманус) на западе и высокогорьями на юге и востоке вдоль границы с Сирией (Yener et al., 2000).

Был изучен лектотип *A. pseudodopsis* SMF 5129: «See von Antiochia» [ТУРЦИЯ: провинция Хатай, бассейн реки Оронт, озеро Амик] (рис. 6). Размеры раковины этого

образца следующие: длина – 111,2 мм, высота – 80,2 мм и ширина – 43,1 мм. Раковина лектотипа округлая с желтовато-коричневым периостракумом. Топотипы *A. pseudodopsis* имеют округлую или яйцевидную раковину с желтым или желтовато-коричневым периостракумом (рис. 6). Лектотип и топотип отличаются неглубокими мускульными отпечатками. Передний отпечаток неправильной формы, задний отпечаток округлый или каплевидный.

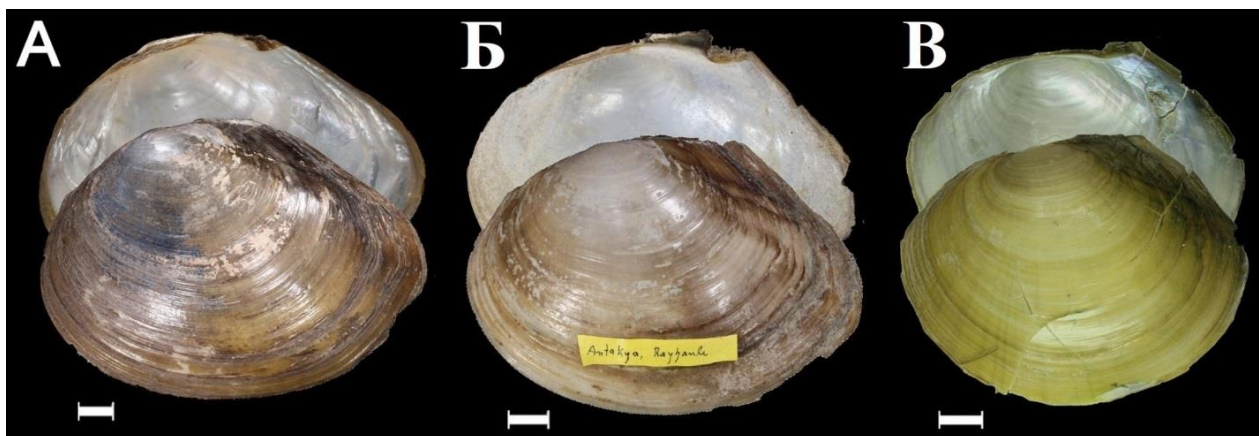


Рис. 6. Раковины таксона *Anodonta pseudodopsis* с равнины Амик, бассейн р. Оронт, Турция. Масштабная линейка 10 мм.

А – Лектотип SMF 5129; Б – Топотип SMF 345131/1; В – Топотип RMBH biv 318/5

Был проведен сравнительный анализ формы раковины 28 вновь собранных образцов (RMBH biv 315, biv 318/1-318/7 и СИМАР АА1Т-АА21Т) и 10 типовых экземпляров таксона *A. pseudodopsis* из музейных коллекций с равнины Амик (Турция) и из озера Хомс (Сирия), а также 210 образцов *A. anatina* из пресноводных бассейнов Европейской России, Сибири, Восточной Европы (Болгария) и Средней Азии (Казахстан), с использованием коэффициентов Фурье. Области 95% доверительных интервалов для выборок раковин *A. anatina* и *A. pseudodopsis* в значительной степени перекрывались. Было показано, что *A. pseudodopsis* имеет более округлую форму раковины по сравнению с *A. anatina* на основе значений компоненты PC1 (критерий Манна-Уитни:  $U = 1289$ ,  $P < 0,001$ ), хотя эллипсы 95% доверительных интервалов для этих таксонов перекрываются, тем не менее, статистически значимые различия между выборками существуют. Однако, образцы *A. pseudodopsis* и *A. anatina* не имели достоверных различий по кривизне брюшного края раковины на основе значений компоненты PC2 (критерий Манна-Уитни:  $U = 3578$ ,  $P = 0,29$ ).

В ходе филогеографического анализа оказалось, что вновь собранные топотипы *A. pseudodopsis* (в базе данных GenBank NCBI под номерами MT027825 - MT027831, MT328818 - MT328822) представлены 3 гаплотипами COI, отличающимися друг от друга одной нуклеотидной заменой и близкими по генетике к *A. anatina* из Венгрии, Чехии и Хорватии, и относятся к Евразийской генетической линии. На основании интегративного подхода было установлено, что *A. pseudodopsis* представляет собой внутривидовую линию широко распространенной беззубки *A. anatina*.

### 3.4 Филогеография утиной беззубки в России и на сопредельных территориях

В ходе филогеографического анализа на основе последовательностей гена COI было обнаружено 86 уникальных гаплотипов, которые формируют четыре гаплогруппы (рис. 7). Первая гаплогруппа (IBER) представлена 23 гаплотипами, ареал данной генетической линии ограничен западной и центральной частями Пиренейского полуострова. Вторая гаплогруппа (EUR) имеет гетерогенную структуру и высокое генетическое разнообразие (35 гаплотипов), ареал данной линии простирается от Франции на западе до бассейна реки Лена на востоке, но не включает при этом бассейн Азовского моря. Третья генетическая гаплогруппа (ITAL) наиболее гомогенна (8 гаплотипов), данная линия расселена на севере Апеннинского полуострова, а также встречается в бассейнах рек на северо-востоке Пиренейского полуострова. Четвертая генетическая линия (AZOV) представлена 20 гаплотипами и распространена в бассейнах рек Азовского моря.

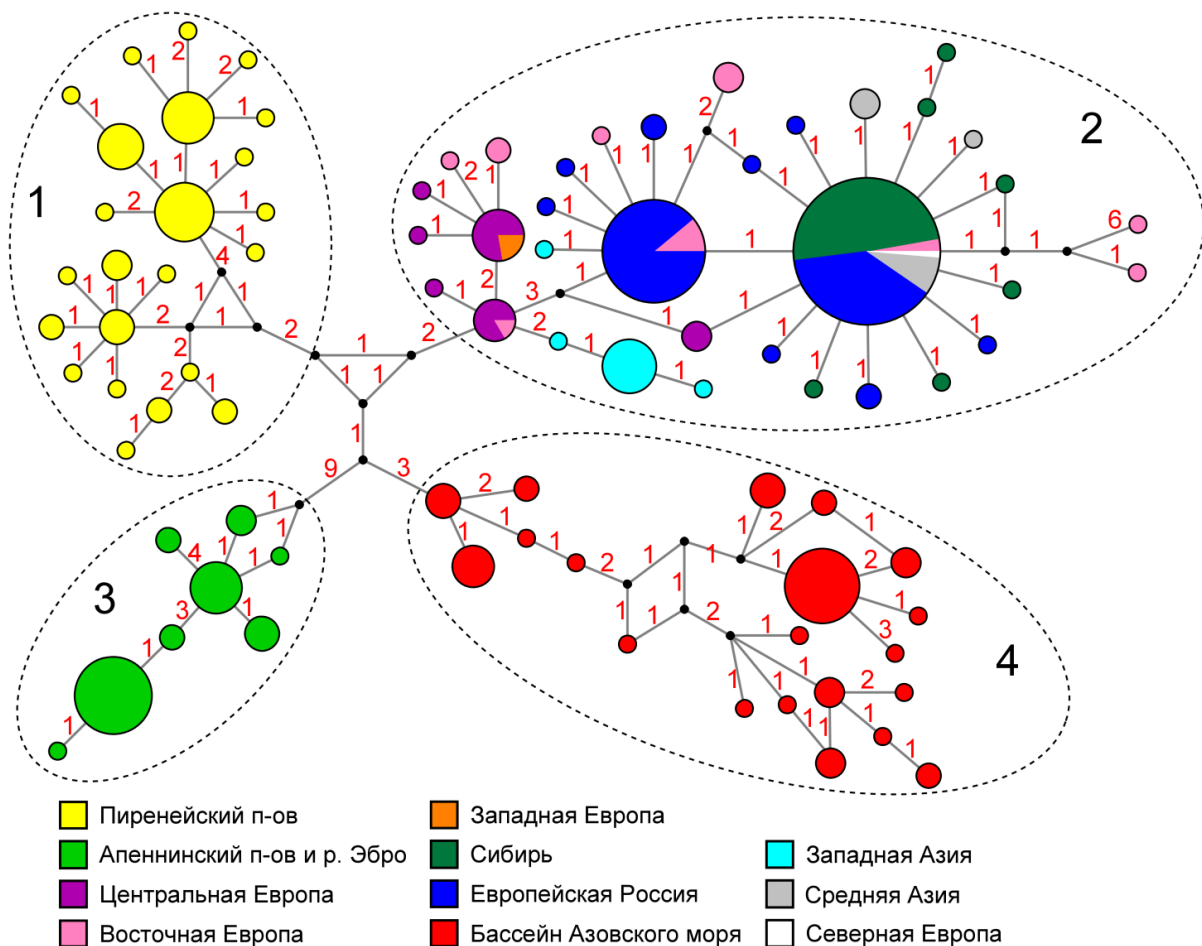


Рис. 7. Медианная сеть гаплотипов для гена COI мтДНК *Anodonta anatina*. Красные числа возле ветвей отражают абсолютное число нуклеотидных замен между гаплотипами. Черными числами обозначены субклады: 1 – Пиренейский полуостров (без бассейна реки Эбро) (IBER); 2 – континентальная Европа (без рек бассейна Азовского моря), Сибирь, Западная и Средняя Азия (EUR); 3 – Апеннинский полуостров и бассейн реки Эбро (ITAL); 4 - бассейн рек Азовского моря (AZOV). Размер кругов соответствует числу образцов с данным гаплотипом



Выявленные гаплогруппы имеют достаточно высокий уровень генетической дивергенции, который, согласно современным представлениям о молекулярной таксономии на основе COI, соответствует уровню подвидов. Следует отметить, что несмотря на гетерогенность, Евразийская генетическая линия представлена в Сибири 7 гаплотипами, 6 из которых случайны и не зафиксированы в популяциях, тогда как преобладающий гаплотип идентичен образцам из Европейской России и Восточной Европы. Это свидетельствует об относительно недавних процессах вселения данного вида в Сибирь. Гаплотипы, выявленные в Турции, отличаются на 2-4 замены от образцов из Центральной Европы, что указывает на один из путей вселения *A. anatina* в Западную Азию (рис. 8). Наличие звездообразных структур в каждой из групп свидетельствует об эволюционных процессах в популяциях утиной беззубки, связанных с адаптацией к условиям окружающей среды.

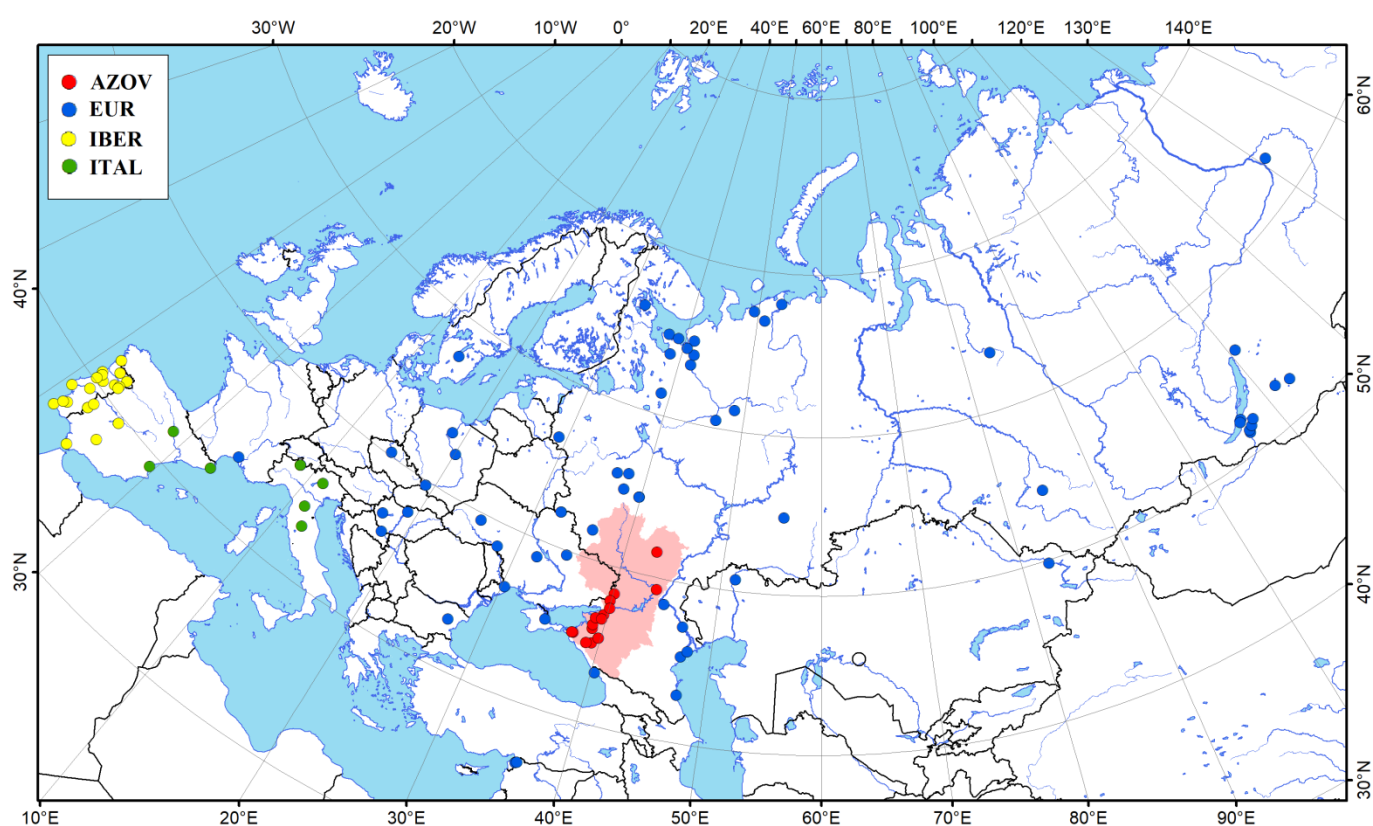


Рис. 8. Биogeография гаплогрупп *Anodonta anatina*: IBER – гаплогруппа Пиренейского полуострова (без бассейна реки Эбро), EUR – Евразийская гаплогруппа (без рек бассейна Азовского моря), AZOV – гаплогруппа рек бассейна Азовского моря, ITAL – гаплогруппа Апеннинского полуострова с бассейном реки Эбро. Розовым цветом обозначены бассейны следующих рек: Кубань, Дон, Кагальник, Кирпили, Ея, Челбас, Бейсуг

### 3.5 Филогенетический и демографический анализ популяций *Anodonta anatina*

Филогенетический анализ также выявил четыре внутривидовые генетические линии (субклады): IBER, EUR, ITAL и AZOV (рис. 9). Калиброванная по времени филогения показала, что генетическая линия ITAL, вероятно, отделилась от других

субклад 11,4 млн. лет назад, в то время как генетическая линия AZOV стала изолированной 9,9 млн. лет назад. Разделение между субкладами IBER и EUR произошло около 8,4 млн. лет назад.

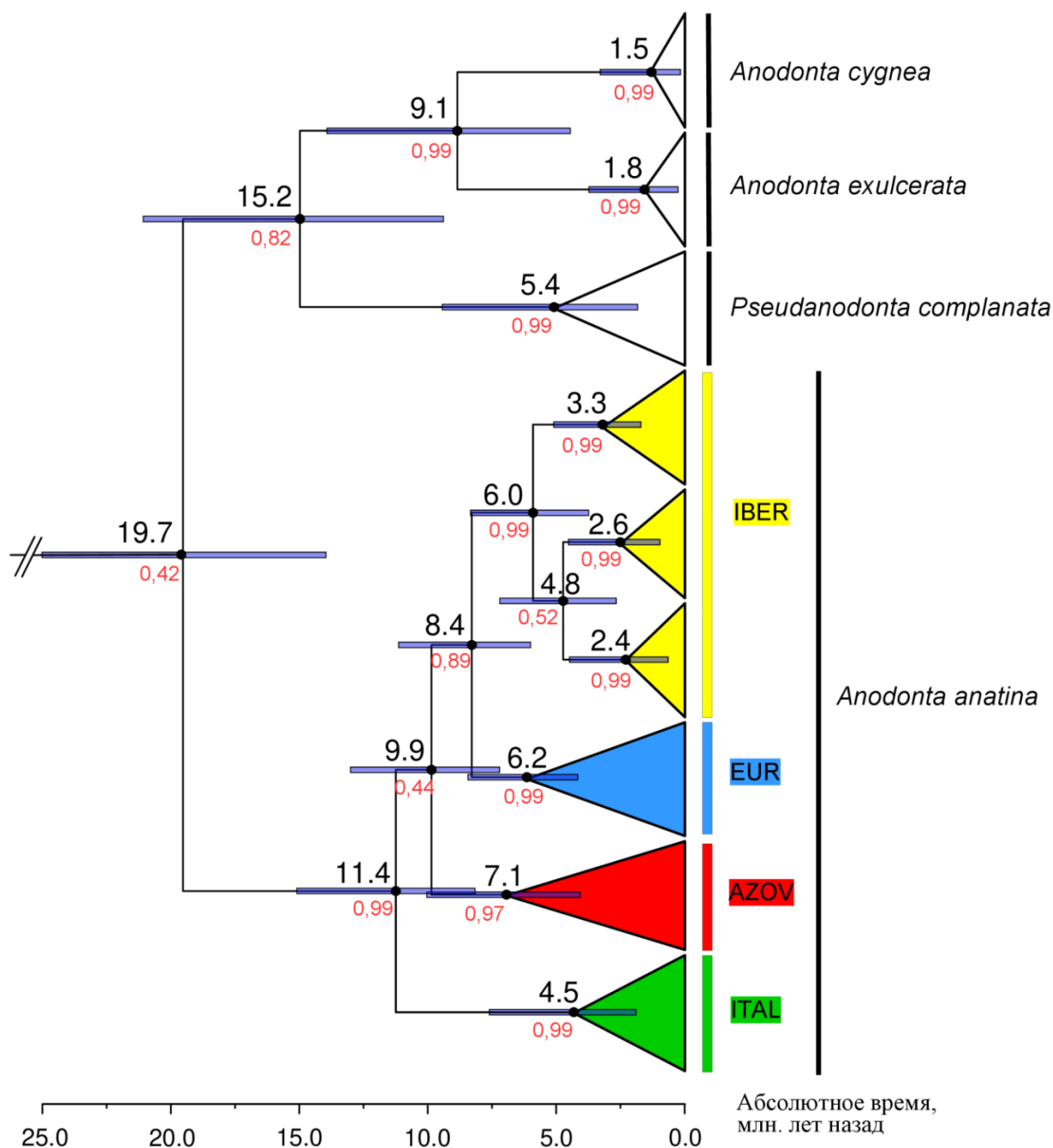


Рис. 9. Откалиброванное филогенетическое дерево, построенное на основе модели нестрогих логнормальных часов и модели видообразования Юла в программе BEAST v. 2.1.3 с использованием последовательностей гена COI представителей родов *Anodonta* и *Pseudanodonta*. Примечание. Черные числа возле узлов – это средние значения возраста, а синие прямоугольники – 95% доверительные интервалы расчетного времени расхождения между линиями (млн. лет назад). Красные числа возле узлов - это значения байесовских апостериорных вероятностей, полученные с помощью программы BEAST. Таксоны *Sinanodonta woodiana*, *S. lauta*, *Unio tumidus* и *U. pictorum* использовались в качестве внешней группы (на дереве не показаны).

Средние значения генетической дивергенции (нескорректированные *r*-дистанции) между этими субкладами варьировали от 2,10% до 3,33% (табл 1). Уровень генетической дивергенции субклады AZOV аналогичен уровню субклад IBER и ITAL. Вероятно, эти полуострова являлись рефугиумами в периоды оледенений для *A. anatina*, о чем свидетельствуют высокие значения генетической дистанции между этими субкладами и генетической линией EUR. Средние значения генетической дивергенции между гаплогруппами IBER, ITAL, EUR и субкладой AZOV варьировали от 2,10% до 2,95%, что указывает на длительную изоляцию пресноводных бассейнов Кубано-Приазовской низменности и популяций *A. anatina*, населяющих эти водные объекты.

Таблица 1. Средние значения генетической дивергенции COI (нескорректированные *r*-дистанции, %) между линиями *Anodonta anatina*

	IBER	EUR	ITAL
EUR	2,46±0,53		
ITAL	3,21±0,63	3,33±0,67	
AZOV	2,26±0,48	2,10±0,47	2,95±0,57

Генетические линии IBER и AZOV отличались от других субклад высоким гаплотипическим и нуклеотидным разнообразием, в свою очередь у гаплогрупп EUR и ITAL наблюдаются более низкие значения этих популяционных параметров (табл 2). Низкое генетическое разнообразие гаплогруппы ITAL ( $H_d = 0,725 \pm 0,058$ ,  $\pi = 0,477 \pm 0,285$ ) может быть объяснено тем, что значительная часть экземпляров в этой выборке отобрана из бассейнов трех рек: р. Рино ( $N = 12$ ), р. По ( $N = 11$ ) и р. Эбро ( $N = 7$ ). Кроме того, такие значения параметров  $H_d$  и  $\pi$  могут указывать на существование древней генетической линии, которая в настоящее время не распространяется. Высокие значения  $H_d$  ( $0,912 \pm 0,022$ ) и  $\pi$  ( $0,858 \pm 0,469$ ) для гаплогруппы IBER, вероятно, связаны с длительными эволюционными процессами, протекающими в этой субкладе в изолированных речных бассейнах, расположенных в разных частях Пиренейского полуострова. Гаплогруппа *A. anatina* из рек бассейна Азовского моря имеет высокое гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие ( $H_d = 0,873 \pm 0,035$ ,  $\pi = 0,824 \pm 0,452$ ), что может свидетельствовать о длительной изоляции этой группы.

Для анализа эволюционных процессов в популяциях на уровне нуклеотидных последовательностей мтДНК были использованы тесты Fu's  $F_s$  и Tajima's  $D$ , которые позволяют проверить данные по отдельным генетическим линиям на наличие отклонения от нейтральности отбора и популяционного равновесия. Для гаплогрупп ITAL и AZOV статистика популяционно-генетических тестов Fu's  $F_s$  и Tajima's  $D$  не показала значительного отклонения от мутационно-дрейфового равновесия, тогда как гаплогруппа IBER имела статистически значимый показатель для теста Fu's  $F_s$  (табл. 2).

Это может указывать на то, что в настоящее время распространения субклад IBER, ITAL и AZOV не происходит.

Таблица 2. Сводные показатели генетического разнообразия, оцененные по последовательностям COI для гаплогрупп *Anodonta anatina*

Суб-клады	N	n	Hd	$\pi$	Тесты на нейтральность		Анализ распределения попарных дистанций (модель пространственного расширения): оценка $\tau$
					Fu's Fs	Tajima's D	
IBER	56	23	0,912±0,022	0,858±0,469	-7,109 *	-0,737	6,720
EUR	173	36	0,779±0,027	0,507±0,294	-22,452 *	-1,759 *	0,226
ITAL	42	8	0,725±0,058	0,477±0,285	0,503	0,028	3,895
AZOV	58	20	0,873±0,035	0,824±0,452	-4,375	-0,320	5,769

Примечание. N – размер выборки, n - количество гаплотипов, Hd – гаплотипическое разнообразие,  $\pi$  – нуклеотидное разнообразие. Статистически значимые показатели тестов на нейтральность Fu's Fs и Tajima's D отмечены звездочкой ( $p < 0,05$  для Tajima's D и  $p < 0,02$  для Fu's Fs).

Образцы *A. anatina*, принадлежащие к гаплогруппе EUR, имеют низкое генетическое разнообразие ( $Hd = 0,779 \pm 0,027$ ,  $\pi = 0,507 \pm 0,294$ ) и значимые отрицательные показатели теста нейтральности Fu's Fs ( $Fs = -22,452$ ,  $p < 0,02$ ) и Tajima's D ( $D = -1,759$ ,  $p < 0,05$ ), что является свидетельством того, что эта субклада расширяет свой ареал и в настоящий момент занимает значительно большую площадь по сравнению с остальными линиями. Также в результате анализа распределения попарных нуклеотидных различий установлено, что линия EUR показала самые низкие значения параметра  $\tau$ , который отражает время, прошедшее с момента расширения популяции, по сравнению с другими гаплогруппами (табл. 2).

Моделирование демографической истории четырех генетических линий *A. anatina* из пресноводных бассейнов Европы, Сибири, Западной и Средней Азии было рассчитано на основе  $3 \times 10^6$  смоделированных наборов данных. Результаты моделирования с помощью метода ABC показали, что сценарий Sc3 имел наибольшее значение апостериорной вероятности, определенной с помощью логистического подхода, равное 0,94 (95% ДИ: 0,9284–0,9557) и, соответственно, является наиболее достоверным.

Результаты моделирования, полученные для сценария Sc3, позволили выявить порядок изоляции южных рефугиумов *A. anatina* в Европе. В частности, сценарий Sc3 позволил определить время отделения генетической линии ITAL от континентальной популяции в мессинский период миоцена (средний возраст = 6,11 млн. лет; 95% ДИ:

3,52–9,01 млн. лет). Дивергенция генетической линии AZOV, скорее всего, произошла в позднем плиоцене (средний возраст = 3,61 млн. лет; 95% ДИ: 1,85–5,73 млн. лет), а разделение между линиями EUR и IBER относится к среднему плейстоцену (средний возраст = 1,50 млн. лет; 95% ДИ: 0,769–2,49 млн. лет). Наша модель показала относительно низкую скорость накопления замен в генетических линиях *A. anatina*:  $2,66 \times 10^{-9}$  замен / сайт / год; 95% ДИ:  $2,61 \times 10^{-9}$  -  $2,70 \times 10^{-9}$  замен / сайт / год).

На основе результатов моделирования при помощи метода ABC мы можем предположить, что дивергенция гаплогрупп *A. anatina* в Южной Европе была обусловлена изменениями уровня моря и перестройкой региональных гидрологических сетей в периоды изменения климата. Практически полное пересыхание западной части Средиземноморского бассейна в конце миоцена во время мессинского кризиса солености могло быть возможной причиной прямых связей между пресноводными бассейнами Пиренейского и Апеннинского полуостровов и последующего обмена генами между генетическими линиями *A. anatina*.

Время дивергенции между генетическими линиями *A. anatina*, полученное с использованием подхода BEAST, превышало время, рассчитанное при моделировании по методу ABC, и эта разница возрастала с увеличением числовых значений возраста. В то же время в обоих анализах в качестве внешней калибровки мы использовали скорость накопления нуклеотидных замен для гена COI, рассчитанную на основе данных о дивергенции внутри рода *Unio* во время Мессинского кризиса солености (Froufe et al., 2016). Это расхождение между оценками времени дивергенции с использованием разных подходов было отмечено Feher с соавторами (2013), которые указали на необходимость улучшения калибровки временной шкалы в расчетах. Это может быть связано с тем, что подход BEAST не рассматривает возможность ускоренной эволюции и не оценивает параметры популяции, которые используются для реконструкции демографической истории с использованием подхода ABC (Bolotov et al., 2017).

## ВЫВОДЫ

1) Показано, что совместное определение длин транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 может быть использовано в качестве дополнительного маркера для идентификации представителей родов *Anodonta*, *Pseudanodonta*, *Sinanodonta* и *Beringiana*, за исключением сравнения *Anodonta anatina* с *Pseudanodonta complanata*, которые легко могут быть идентифицированы морфологически или с применением рестрикционного анализа.

2) Беззубка *Anodonta anatina* характеризуется высокой морфологической изменчивостью формы раковины в Евразии. Значимые отличия по высоте, очертанию брюшного края и симметрии спинного края раковины установлены только между крайними северными и южными популяциями вида. Высота раковины беззубки зависит от географической широты, на которой обитает популяция, и увеличивается с ростом средней летней температуры воздуха от субарктики до субтропиков.

3) Проведено уточнение таксономического статуса номинального вида *Anodonta pseudodopsis* Locard, 1883 из бассейна реки Оронт (Турция) и на основании генетического анализа и изучения морфологических признаков установлено, что данный таксон является синонимом *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758).

4) Подтверждено, что ареал *Anodonta anatina* в России охватывает всю Европейскую часть, Сибирь до бассейна реки Лена. Этот вид проникает в Арктику и встречается до 68° северной широты. На основании филогеографического анализа установлено, что *A. anatina* вселилась в Сибирь, Среднюю и Западную Азию из Европы.

5) Выявлена отдельная генетическая линия *Anodonta anatina*, ареал которой ограничен реками бассейна Азовского моря, что указывает на наличие на данной территории плиоцен-плейстоценового рефугиума.

6) На основании демографического анализа популяций утиной беззубки установлено, что распространение субклад Пиренейского (IBER), Апеннинского полуостровов (ITAL) и Кубано-Приазовской низменности (AZOV) в настоящее время не происходит, а Евразийская генетическая линия (EUR) расширяет свой ареал.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях из перечня, рекомендованного ВАК РФ, Web of Science, Scopus:

1. **Томилова А.А.**, Кондаков А.В., Кисиль О.Я. Использование транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 для идентификации беззубок родов *Anodonta* и *Pseudanodonta* (Bivalvia: Unionidae: Anodontinae) // Журнал общей биологии. 2019. Vol. 80. № 5. P. 364-371. Q4.

2. Bolotov I.N., Kondakov A.V., Konopleva E.S., Vikhrev I.V., Aksenova O.V., Aksenov A.S., Bepalaya Y.V., Borovskoy A.V., Danilov P.P., Dvoryankin G.A., Gofarov M.Y., Kabakov M.B., Klishko O.K., Kolosova Y.S., Lyubas A.A., Novoselov A.P., Palatov D.M., Savvinov G.N., Solomonov N.M., Spitsyn V.M., Sokolova S.E., **Tomilova A.A.**, Froufe E., Bogan A.E., Lopes-Lima M., Makhrov A.A., Vinarski M.V. Integrative taxonomy, biogeography and conservation of freshwater mussels (Unionidae) in Russia // Scientific Reports. 2020. Vol. 10. № 3072. P. 1-20. Q1.

3. **Tomilova A.A.**, Lyubas A.A., Kondakov A.V., Vikhrev I.V., Gofarov M.Y., Kolosova Y.S., Vinarski M.V., Palatov D.M., Bolotov I.N. Evidence for Plio-Pleistocene Duck Mussel Refugia in the Azov Sea River Basins // Diversity. 2020. Vol.12. № 3. P. 118-130. Q3.

4. **Tomilova A.A.**, Lyubas A.A., Kondakov A.V., Konopleva E.S., Vikhrev I.V., Gofarov M.Y., Ozcan T., Altun A., Ozcan G., Gürlek M. E., Şereflişan H., Kebapçı Ü., Froufe E., Lopes-Lima M., Bolotov I. N. An endemic freshwater mussel species from the Orontes River basin in Turkey and Syria represents duck mussel's intraspecific lineage: Implications for conservation // Limnologica. 2020. Vol. 84. № 125811. P. 1-9. Q2.

### Материалы и тезисы научных мероприятий:

5. **Томилова А.А.**, Кондаков А.В. Идентификация моллюсков рода *Anodonta* на основе молекулярно-генетических маркеров // Актуальные проблемы биологии и экологии: Материалы докладов XXIV Всероссийской молодежной научной конференции. Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН. 2017. С. 77-81.

6. Кондаков А.В., **Томилова А.А.**, Коноплева Е.С., Болотов И.Н. Противоречия между молекулярными и морфологическими методами идентификации двустворчатого моллюска *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) // Арктические исследования: от экстенсивного освоения к комплексному развитию: Материалы I международной молодежной научно-практической конференции. Архангельск: САФУ. 2018. Т. 2. С. 271-274.

7. **Томилова А.А.**, Кондаков А.В., Болотов И.Н., Вихрев И.В., Любас А.А., Кабаков М.Б. Генетическая дивергенция утиной беззубки *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) рек бассейна Азовского моря на основе COI // Актуальные проблемы биологии и экологии: Материалы докладов XXVI Всероссийской молодежной научной конференции. Сыктывкар: ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН. 2019. С. 64-67.

8. **Томилова А.А.**, Коноплева Е.С., Кондаков А.В., Вихрев И.В. Генетическое разнообразие пресноводных двустворчатых моллюсков (Bivalvia: Unionidae) на приарктических территориях России // Проблемы обеспечения экологической безопасности и устойчивое развитие арктических территорий: сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием II Юдахинские чтения. Архангельск. 2019. С. 508-512.

9. **Томилова А.А.**, Вихрев И.В., Кондаков А.В., Любас А.А., Болотов И.Н. Особенности расселения пресноводного моллюска *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) // Моллюски: биология, экология, эволюция и формирование малакофаун: сборник тезисов докладов Всероссийской научной конференции с международным участием. п. Борок: ИБВВ. Ярославль: Филигрань. 2019. С. 83.

10. **Томилова А.А.**, Любас А.А., Кондаков А.В., Коноплева Е.С., Вихрев И.В., Гофаров М.Ю., Froufe E., Lopes-Lima M., Болотов И.Н. Ревизия таксономического статуса сирийской беззубки *Anodonta pseudodopsis* (Bivalvia: Unionidae) на основе молекулярно-генетических и морфометрических данных // Экология водных беспозвоночных: сборник тезисов докладов Международной научной конференции, посвященной 110-летию со дня рождения Ф.Д. Мордухай-Болтовского. п. Борок: ИБВВ. Ярославль: Филигрань. 2020. С. 82.