

БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ**BIOLOGICAL RESOURCES****БІЯЛАГІЧНЫЯ РЭСУРСЫ**

УДК [575.2+ 575.8]:597.5

В. И. Головенчик¹, Е. С. Гайдученко¹, В. К. Ризевский¹, А. М. Роман², Т. П. Липинская¹¹ Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам, Минск, Беларусь,
e-mail: vika.golovenchik@mail.ru, gajduchenko@tut.by, rvk869@mail.ru, tatsiana.lipinskaya@gmail.com² Институт гидробиологии Национальной академии наук Украины, Киев, Украина,
e-mail: aroman.fish@gmail.com**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ГЕНА COI У ЧУЖЕРОДНЫХ И АБОРИГЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЗАПАДНОГО ТУПОНОСОГО БЫЧКА (PROTERORHINUS SEMILUNARIS (HECKEL, 1837))**

Аннотация. Представлены сравнительные данные о генетической вариабельности гена COI западного тупаносого бычка (*Proterorhinus semilunaris* (Heckel, 1837)) в популяциях нативного и приобретенного ареала. Показано, что популяция западного тупаносого бычка в Центральном инвазионном коридоре (Беларусь) характеризуется высоким уровнем генетического разнообразия, сравнимым с таковым у аборигенных популяций, что в свою очередь исключает «эффект основателя» и «эффект бутылочного горлышка». Это дает нам возможность предположить, что проникновение вида в водоемы Беларуси произошло путем случайных интродукций.

Ключевые слова: чужеродные виды, генетическая вариабельность, ген COI, гаплотипическое разнообразие, западный тупаносый бычок

V. I. Golovenchik¹, H. S. Gajduchenko¹, V. K. Rizevsky¹, A. M. Roman², T. P. Lipinskaya¹¹ Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources, Minsk, Belarus,
e-mail: vika.golovenchik@mail.ru, gajduchenko@tut.by, rvk869@mail.ru, tatsiana.lipinskaya@gmail.com² Institute of Hydrobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine,
e-mail: aroman.fish@gmail.com**GENETIC VARIABILITY OF GENE COI OF ALIEN AND NATIVE POPULATIONS OF TUBENOSE GOBY (PROTERORHINUS SEMILUNARIS (HECKEL, 1837))**

Abstract. Genetic variability and structure of non-indigenous vs native populations are compared for the tubenose goby (*Proterorhinus semilunaris*) that established in Belarusian rivers since 2007. The present study examined sequence COI gene of tubenose gobies from Eurasian and Great Lakes locations. Results showed that native and alien populations of tubenose goby characterize by diverse number of haplotypes. The genetic characters of invasive populations also indicate high genetic variability. The sequence of the COI gene characterizes by a relatively high index of haplotype diversity and a low index of nucleotide diversity. Such indicators of genetic diversity are characteristic of stable and genetically integral populations, which expand their range with a high value of the effective number.

Keywords: alien species, genetic variability, COI gene, haplotype diversity, tubenose goby

В. І. Галавенчык¹, А. С. Гайдучэнка¹, В. К. Рызеўскі¹, А. М. Раман², Т. П. Ліпінская¹¹Навукова-практычны цэнтр Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі па біярэсурсах, Мінск, Беларусь,
e-mail: vika.golovenchik@mail.ru, gajduchenko@tut.by, rvk869@mail.ru, tatsiana.lipinskaya@gmail.com²Інстытут гідрабіялогіі Нацыянальнай акадэміі навук Украіны, Кіеў, Украіна,
e-mail: aroman.fish@gmail.com**ГЕНЕТЫЧНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ГЕНА COI У ЧУЖЕРОДНЫХ И АБОРИГЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЗАХОДНЯГА ТУПАНОСАГА БЫЧКА (PROTERORHINUS SEMILUNARIS (HECKEL, 1837))**

Анотацыя. Прадстаўлены параўнальныя дадзеныя аб генетычнай варыябельнасці гена COI заходняга тупаносага бычка (*Proterorhinus semilunaris* (Heckel, 1837)) у папуляцыях натыўнага і набытага арэала. Паказана, што папуляцыя заходняга тупаносага бычка ў Цэнтральным інвазійным калідоры (Беларусь) характарызуецца высокім узроўнем генетычнай разнастайнасці, параўнальным з такім у аборыгенных папуляцыях, што ў сваю чаргу выключыць «эфект заснавальніка» і «эфект рыльца». Гэта дае нам магчымасць выказаць здагадку, што пранікненне віду ў вадаёмы Беларусі адбылося шляхам выпадковых інтрадукцый.

Ключавыя словы: чужародныя віды, генетычная варыябельнасць, ген COI, гаплатыпічная разнастайнасць, заходні тупаносы бычок

Введение. В последние десятилетия наблюдается активное заселение чужеродными видами рыб водных экосистем. По территории Беларуси проходит так называемый Центральный инвазионный коридор, который включает в себя реки бассейнов Черного (Днепр, Припять, Пина) и Балтийского (Мухавец, Зап. Буг, Висла) морей [1, 2], соединенные между собой Днепро-Бугским каналом. Особенности территориального расположения нашей страны способствует тому, что заселение чужеродных видов в реки Беларуси в ближайшем будущем будет только усиливаться [3].

Среди чужеродных видов рыб особое место занимают представители семейства Gobiidae (Бычковые), которые проникают в водные экосистемы Беларуси из Понто-Каспийского региона. В настоящее время в водоемах Беларуси обитают 5 видов бычков: *Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1814) – бычок-песочник, *Neogobius gymnotrachelus* (Kessler, 1857) – бычок-гонец, *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) – бычок-кругляк, *Proterorhinus semilunaris* (Heckel, 1837) – западный тупаносый бычок и *Benthophilus stellatus* (Sauvage, 1874) – звездчатая пуголовка [4]. Успех расширения ареала данных видов рыб связан с особенностями их экологических адаптаций (сложные формы поведения в размножении, охрана потомства, эвригалинность и эврифагия) [5], а также с увеличением числа подходящих биотопов, которые стали доступны благодаря построению каскада водохранилищ на р. Днепр и межбассейновых каналов.

Проникновение чужеродных видов рыб в аборигенные экосистемы несет за собой ряд экологических угроз. Среди них можно выделить такие, как снижение численности аборигенных видов или полное их вытеснение, конкуренция за ресурсы, распространение гельминтов, в том числе новых видов и т. д. [4, 6–8]. Уже проведен ряд работ по изучению биологии и экологии инвазивных видов на территории Беларуси [4, 7, 9]. Однако нет никаких данных о том, что происходит на молекулярно-генетическом уровне при заселении чужеродными видами экосистем на территории республики. Следует отметить, что для целостного изучения и понимания процесса инвазий крайне важен комплексный подход, который помимо биологии и экологии видов-вселенцев включает молекулярно-генетические исследования их популяций в естественном и приобретенном ареалах.

Уровень генетической вариабельности – один из основных показателей успешности инвазии вида. Высокая генетическая изменчивость, как считается [10], положительно коррелирует со способностью чужеродных популяций проникать, адаптироваться и успешно расселяться в новых местах обитания. Инструменты молекулярной биологии позволяют определять места, из которых идут инвазии. Сравнение последовательностей ДНК между нативными и чужеродными популяциями также важно для понимания процесса расселения чужеродных видов: происходит ли оно самостоятельно или в результате случайных интродукций; а также наблюдается ли «эффект основателя» или «эффект бутылочного горлышка», или заселение произошло большим количеством генетически разнообразных особей. Полученные данные по генетической вариабельности могут быть использованы для прогнозов дальнейшего распространения видов, а в случае обнаружения факта случайной интродукции – для разработки мер по предупреждению их распространения [11].

Одним из относительно недавно заселившимся на территорию Беларуси видом является западный тупаносый бычок (*Proterorhinus semilunaris*), естественный ареал которого включает пресные и солоноватые воды устьев рек бассейна Черного и Эгейского морей [12], также он к настоящему моменту колонизировал пресноводные водоемы Европы и систему Великих Американских озер [13–15]. Впервые на территории Беларуси чужеродный вид был зарегистрирован в 2007 г. и описан как бычок-цуцик (*Proterorhinus marmoratus* (Pallas, 1814)) [16]. Однако проведенный авторами данной статьи молекулярно-генетический анализ показал принадлежность рыб рода *Proterorhinus*, обитающих на территории Беларуси, к виду *P. semilunaris* [17]. Одним из основных вопросов, касающихся распространения данного вида бычка, является способ его инвазии. До сих пор не установлено, каким образом данный вид проник на территорию Беларуси:

путем самостоятельного расселения или вследствие случайной интродукции. Анализ генетической вариабельности позволит оценить микроэволюционные процессы, которые произошли при продвижении вида по Центральному инвазионному коридору, определить характерны ли для него «эффект основателя» или «эффект бутылочного горлышка» и в целом установить уровень генетической вариабельности популяции западного тупоносового бычка на территории Беларуси.

Таким образом, цель настоящей работы – на основании анализа гена COI сравнить генетическую вариабельность чужеродной популяции вида *P. semilunaris* на территории Беларуси с уровнем генетической вариабельности в его естественном ареале.

Материалы и методы. В качестве материала для данного исследования использовали последовательности западного тупоносового бычка (*P. semilunaris*), полученные авторами статьи и депонированные из международных баз данных BOLD и GenBank (табл. 1).

Образец ткани от каждой отловленной особи помещали в отдельную пробирку и хранили в 96 %-ном спирте. Подготовку ДНК для ПЦР реакции проводили при помощи наборов Genomic DNA Purification with spin column (Jena Bioscience). Методику производителя адаптировали для работы с образцами ткани рыб: время инкубации образцов от каждой особи в лизирующем буфере увеличили до 12 ч. Для получения целевого фрагмента использовали праймеры: L6468 (5'-GCTCAGCCATTTTACCTGTG-3'); H7696 (5'-CAATTYTRGCTTTGGGAG-3') [18]. Реакционная смесь для ПЦР содержала в 25 мкл: 200 мкМ dNTP, 0,5 мМ каждого праймера, 2,0 мМ MgCl₂, 1xPfu Buffer, 1U Pfu-полимеразы, 0,5 мкг ДНК-матрицы. ПЦР проводили в режиме: 94° – 2 мин; 35 циклов по 94° – 45 с, 53° – 45 с, 72° – 60 с; 75° – 10 мин. Результаты амплификации анализировали при помощи электрофореза в 1,5 %-ном агарозном геле в TBE-буфере в присутствии бромистого этидия. Продукт ПЦР очищали при помощи ферментов экзонуклеазы и фосфотазы. Секвенирование провели в ЦКП «Геном» ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» на 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems), с BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). Первичный анализ результатов секвенирования, редактирование и выравнивание последовательностей проводили в пакетах программ MEGA 7 [19]. Для выравнивания последовательностей применяли алгоритм Muscle, с назначенным пенальти за вставку пробелов -400 [20]. Филогенетический анализ, построение дендрограмм проводили с использованием программы MEGA 7 [19]. Филогенетическое дерево было построено при помощи метода максимального правдоподобия (ML) [21], модель Jukes-Cantor [22]. Надежность ветвления филогенетического дерева была определена при помощи бутстреп-анализа с учетом 1000 псевдо-реплик [23]. В качестве внешней группы для филогенетического анализа были выбраны другие представители сем. Gobiidae: бычок-песочник (*Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1814) и бычок-гонец (*Neogobius gymnotrachelus*, (Kessler, 1857) (номера в GenBank MG865727.1 и EU444694.1 соответственно).

При расчете генетических дистанций учитывали все три позиции в кодоне. Анализ внутригруппового генетического разнообразия проводили в программе DnaSP 6 [24]. Парсимониальные сети гаплотипов строили в программе PopArt [25].

Результаты и их обсуждение. В ходе работы были проанализированы 60 последовательностей митохондриального гена COI западного тупоносового бычка длиной 563 п.н. Все последовательности, полученные авторами данной статьи, были депонированы в международную базу данных BOLD (набор данных (dataset) «PRSEMBY»). В ходе анализа всех 60 последовательностей было обнаружено 9 гаплотипов, при этом 4 из них встречаются на территории Беларуси (рис. 1). Частота встречаемости и распределение гаплотипов наглядно представлено на медианной сети гаплотипов (рис. 2).

Анализ медианной сети четко показывает наличие двух наиболее широко распространенных гаплотипов по гену COI у западного тупоносового бычка: гаплотип 3 и гаплотип 2. Оба данных гаплотипа встречаются на территории Беларуси. При этом самым распространенным и наиболее древним является гаплотип 3, который наиболее широко представлен как на территории Беларуси, так и в системе Великих Американских озер (США и Канада). От данного гаплотипа

Т а б л и ц а 1. Проанализированные в работе образцы западного тупоносого бычка

База данных	Год сбора	Номер в GenBank или BOLD	Место сбора	Широта	Долгота
BOLD	2016	292, 293-16fB, 298-16fB	р. Припять, д. Гольцы, Беларусь	52.064	26.185
		654-16fB, 663-16fB	р. Днепр, д. Нижние Жары, Беларусь	51.165	30.342
	2017	2031-17fB– 2033-17fB			
		1914-17fB– 1916-17fB	р. Припять, г. Мозырь, Беларусь	52.031	29.152
	2016	911-16fU, 912-16fU, 914-16fB– 916-16fB	р. Ольшанка, Украина	49.125	31.142
	2016	927-16fU, 926-16fU	р. Супой, Украина	50.360	31.391
	2006	BCF-0815-5, BCF-0815-1, BCF-0815-3, BCF-0815-2	оз. Эри, Канада	–	–
	2005	BayFi 04790	р. Майн, Нижняя Франкония, Германия	49.86	10.179
		BayFi 02781	р. Вилс, Нижняя Бавария, Германия,	48.63	13.182
	2004	BayFi 01687	р. Дунай, Нижняя Бавария, Германия	48.903	11.843
		BayFi 01896	р. Изар, Нижняя Бавария, Германия	48.803	12.968
	2011	IFCZE1013	р. Старая Дие, Чехия	48.762	16.86
	2009	IFCZE0098	р. Дие, Чехия	48.754	16.295
	2009	IFCZE0097, IFCZE0096, IFCZE0094		48.889	15.649
	2011	IFCZE1014, IFCZE1007, IFCZE1006		48.826	16.77
	2010	IFCZE0889	р. Морава, Чехия	48.741	17.027
	2012	SL-TUG-03_COI, SL-TUG-04_COI	оз. Супериор, р. Сэнт Луис, США	46.7044	-92.2054
		SL-TUG-02_COI, SL-TUG-01_COI		46.6728	-92.1853
	2013	TUG106_COI		46.6962	-92.015
	2004	MY-3 P. mar.	р. Днестр, д. Сороки, Украина	–	–
	2006	BCF-765-2	оз. Сэнт Клэр, Канада	42.372	-82.42
		BCF-767-1		42.344	-82.432
	–	NXG2013346		–	–
2012	KR477240, KR477084, KR477085	р. Дунай, Верхняя Австрия	–	–	
GenBank NCBI	–	WH12A3, WH12A2	р. Марица, Греция	41.072	26.267
		WH12A9	р. Струма, Греция	41.1	23.588
		MG865731.1, MG865730.1	р. Висла, Польша	–	–
		EU444677.1	р. Дунай, Сербия	44.638	21.909
		EU444691.1	Симферопольское водохранилище, Украина	44.921	34.155
		EU444686.1	Кучурганское водохранилище, Украина	46.100	30.200
		EU444683.1	Мыс Малый фонтан, г. Одесса, Украина	46.450	30.766
		EU444690.1	оз. Супериор, США	46.666	- 92.200
		EU444674.1	оз. Сэнт Клэр, США	42.594	- 82.803
		KP019198.1	р. Днепр, Беларусь	51.212	30.375
KP019195.1					

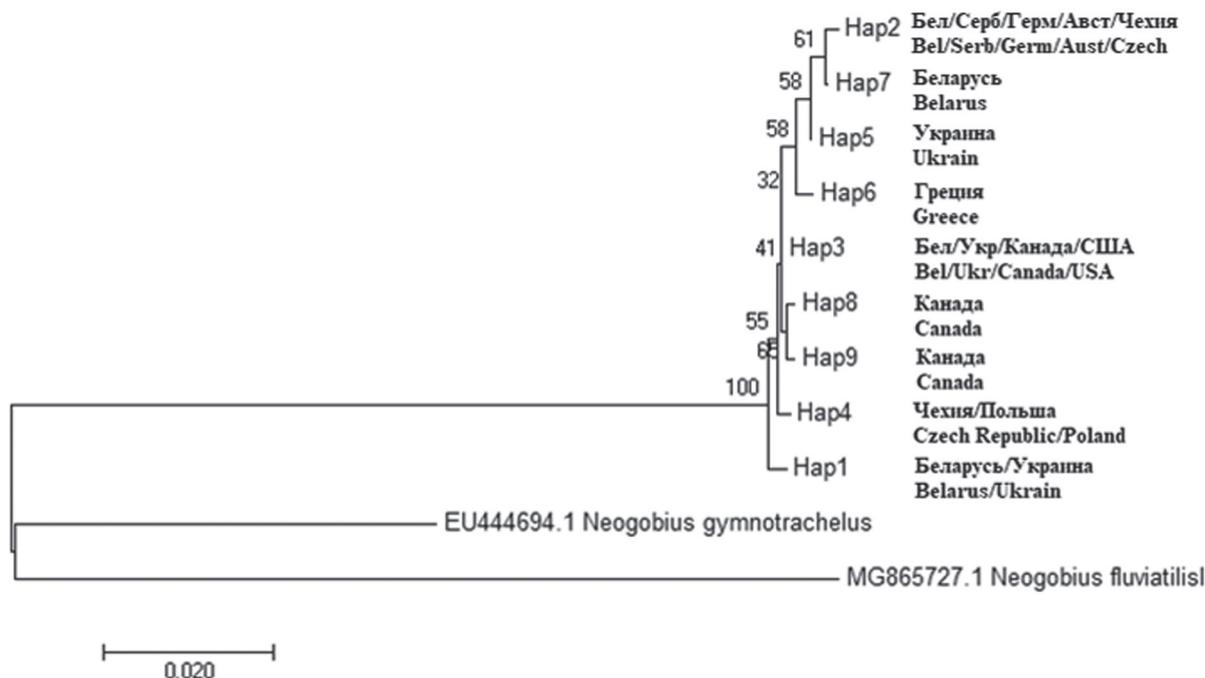


Рис. 1. Филогенетическое дерево обнаруженных в ходе анализа гаплотипов гена COI западного тупоного бычка, построенное методом максимального правдоподобия (ML), модель Jukes-Cantor

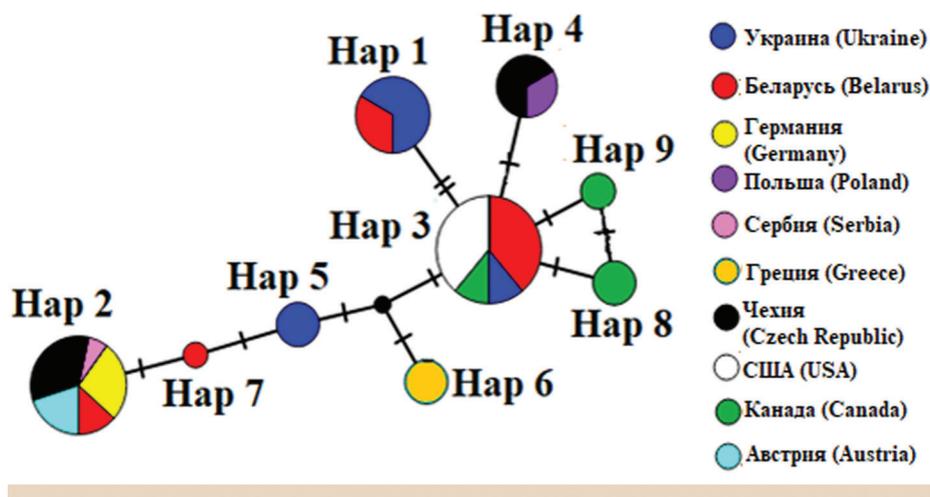


Рис. 2. Медианная сеть гаплотипов гена COI западного тупоного бычка

посредством одной мутации образовались гаплотипы 8 и 9 (система Великих озер, отмечены в оз. Сэнт-Клэр и оз. Эри), также за счет одной мутации от наиболее древнего гаплотипа 3 образовался гаплотип 4, который встречается в Чехии и Польше. Посредством двух мутаций от гаплотипа 3 образовался гаплотип 1, широко представленный в реках Припять (Беларусь), Супой (приток Днепра, Украина) и в естественном ареале в Симферопольском водохранилище. Гаплотип 2 наиболее отдален от «предкового» гаплотипа 3 и встречается преимущественно в бассейне р. Дунай (Германия, Австрия, Сербия и Чехия), однако особи с гаплотипом 2 были также обнаружены в Беларуси в р. Припять. Географическое распределение гаплотипов наглядно показано на рис. 3.

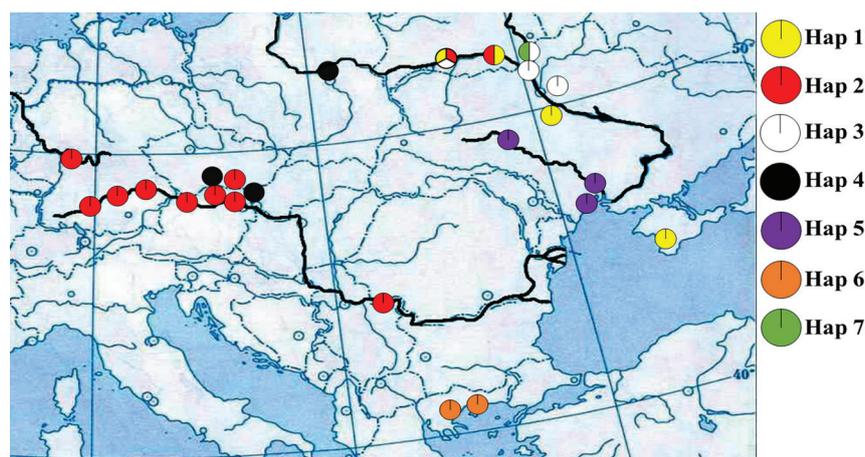


Рис. 3. Географическое распределение гаплотипов гена COI западного тупоносого бычка (на рисунке представлена только часть Евразии, без Северной Америки)

Анализ географического распределения гаплотипов показал несколько интересных закономерностей: в Южном инвазионном коридоре (р. Дунай и притоки) присутствует только два гаплотипа гена COI западного тупоносого бычка (гаплотип 2 и 4, рис. 3), однако в Центральном инвазионном коридоре на участке р. Днепр севернее Каховского водохранилища и р. Припять на территории Беларуси присутствует 4 гаплотипа (гаплотип 3, «предковый» распространенный как в системе Великих озер, так и в реках Припять и Днепр, севернее Каховского вдхр.; гаплотип 7 – р. Днепр, д. Нижние Жары (Беларусь); а также гаплотип 2, распространенный в бассейне р. Дунай). При этом можно заметить еще один интересный факт: в Польше в р. Висла были исследованы особи *P. semilunaris* [13], которые относятся к гаплотипу 4, характерному для бассейна р. Дунай, что свидетельствует в пользу продвижения вида по водным коридорам в глубь материка и возможного скорого обнаружения данного гаплотипа в Припяти. При этом наибольшее гаплотипическое разнообразие наблюдается в районе Пинска, там, где впервые был обнаружен западный тупоносый бычок (рис. 3).

Все проанализированные последовательности были разделены нами на пять групп:

1) образцы из приобретенного ареала – Беларусь; 2) образцы из приобретенного ареала – р. Дунай и притоки; 3) образцы из приобретенного ареала – р. Днепр севернее Каховского вдхр.; 4) образцы из приобретенного ареала – система Великих Американских озер (США); 5) образцы из естественного ареала – Черное и Эгейское моря, Симферопольское вдхр. Для каждой группы были рассчитаны показатели генетического разнообразия (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Данные генетического разнообразия гена COI западного тупоносого бычка, рассчитанные в программе DnaSP 6

<i>P. semilunaris</i>	<i>N</i>	<i>S</i>	<i>H</i>	$Hd \pm SD_{Hd}$	$\pi \pm SD_{\pi}$	<i>k</i>	<i>p</i>
Беларусь	13	6	4	0,679±0,012	0,004±0,0009	2,2	0,004
р. Дунай и притоки	19	5	2	0,456±0,007	0,004±0,0008	2,3	0,004
р. Днепр севернее Каховского вдхр.	20	6	4	0,658±0,004	0,003±0,0007	2	0,004
Система Великих Американских озер (США)	14	1	3	0,560±0,020	0,001±0,0002	0,56	0,001
Черное и Эгейское моря, Симферопольское вдхр.	7	5	3	0,714±0,070	0,004±0,002	2	0,004

П р и м е ч а н и е. *N* – число последовательностей; *S* – число переменных сайтов; *H* – число гаплотипов; *Hd* – гаплотипическое разнообразие; π – нуклеотидное разнообразие; *k* – среднее число нуклеотидных различий; *p* – общая генетическая дистанция; *SD* – стандартное отклонение.

Анализ данных генетического разнообразия показал, что образцы из всех пяти групп характеризуются высоким гаплотипическим разнообразием при низких значениях нуклеотидного

(табл. 2). Такие показатели генетического разнообразия, как правило, характерны для стабильных и генетически целостных популяций, которые расширяют свою среду обитания с высокой величиной эффективного числа основателей. Следует отметить, что «эффекта основателя» и «эффекта бутылочного горлышка» не наблюдается ни в одной из групп вне зависимости от ареала. Генетическое разнообразие в чужеродных популяциях сравнимо с генетическим разнообразием в естественном ареале. Сходные данные были получены американскими коллегами при изучении инвазий западного тупоносового бычка в систему Великих озер [11]. Данный факт был объяснен множественными инвазиями и случайными интродукциями особей *P. semilunaris* с балластными водами. Экстраполируя выводы, сделанные американскими коллегами на полученные нами данные, можно предположить, что и для Беларуси применимо данное объяснение.

Таким образом, генетические данные показывают, что успешное расселение западного тупоносового бычка из Понто-Каспийского региона в Беларусь по Центральному Европейскому инвазионному коридору характеризуется достаточно высоким числом гаплотипов и генетическим разнообразием чужеродных популяций, сравнимым с популяциями из естественного ареала, при этом отсутствует «эффект бутылочного горлышка» и «эффект основателя».

Учитывая собственные и литературные данные, можно предположить, что вселение данного вида в речные экосистемы Беларуси произошло за счет случайной множественной интродукции [16]. Следует также отметить, что в ближайшее время планируется изучение большего числа маркеров и образцов западного тупоносового бычка для дополнения полученной к настоящему моменту информации.

Заключение. Показано, что популяция западного тупоносового бычка в Белорусской части Центрального инвазионного коридора характеризуется генетическим разнообразием, сравнимым с уровнем генетического разнообразия в аборигенных популяциях. Показано, что чужеродные популяции являются стабильными и генетически целостными, расширяющими свою среду обитания с высокой величиной эффективного числа основателей. Из 9 обнаруженных гаплотипов 4 представлены на территории Беларуси, при этом 2 гаплотипа являются наиболее распространенными. Максимальное число гаплотипов (3) западного тупоносового бычка было обнаружено нами в р. Пина, в месте ее впадения в р. Припять в районе речного порта. Учитывая факт наличия на территории Польши в р. Висла особей *P. semilunaris*, принадлежащих к гаплотипу 4, характерному для Южного инвазионного коридора, вполне вероятно расселение вида с данным гаплотипом по водным коридорам в глубь материка. На основании полученных данных можно предполагать, что расселение западного тупоносового бычка в реки Беларуси идет путем случайных интродукций и в дальнейшем данный вид также будет успешно расселяться по водоемам на территории Беларуси.

Благодарности. Сбор и первичная обработка материала осуществлялась в рамках темы «Пространственно-биотопическое распределение чужеродных видов рыб на участке Припять–Днепробугский канал–Мухавец» (ГПНИ 2016–2020 годы «Природопользование и экология»); этап пробоподготовки, пре-ПЦР и постановка ПЦР (частично), пост-ПЦР, секвенирование, загрузка данных в BOLD – в рамках проведенного в 2018 г. тренинга «Использование ДНК-технологий для идентификации и изучения инвазивных и находящихся под угрозой исчезновения видов», организованного в рамках проекта Глобальной таксономической инициативы (№ P1-33BEL-000149) и проекта Инициативы «БиоМост» (№ 351225-683op) при поддержке Секретариата Конвенции о биологическом разнообразии, Японского фонда биоразнообразия и Министерства окружающей среды Республики Кореи. Также авторы статьи выражают благодарность члену-корреспонденту НАН Беларуси, доктору биологических наук В. П. Семенченко за ценные советы в процессе написания работы.

Acknowledgements. This study has been partly supported by the National Academy of Sciences of (Task 24 of the Government Program “Nature Management and Ecology”) – VR. Molecular analysis was partially completed during the joint GTI–BBI training at the Scientific and Practical Center for Bioresources and Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus in 2018 (GTI № P1-33BEL-000149; BBI № 351225-683op) – TL. The funders had no role in study

design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. Professor Vitaliy Semenchenko (Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources) is greatly acknowledged for his valuable comments.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Olenin, S. Black Sea – Baltic Sea invasion corridors / S. Olenin // Alien marine organisms introduced by ships in the Mediterranean and Black seas, Istanbul, 6-9 November, 2002.
2. Инвазии чужеродных рыб в бассейнах крупнейших рек Понто-Каспийского бассейна: состав, векторы, инвазионные пути и темпы / Ю. В. Слынько [и др.] // Рос. журн. биол. инвазий. – 2010. – № 4. – С. 74–89.
3. Семенченко, В. П. Проблема чужеродных видов в фауне и флоре Беларуси / В. П. Семенченко, А. Пугачевский // Наука и инновации. – 2006. – №10. – С. 16–20.
4. Понто-Каспийские иммигранты в структуре молоди рыб прибрежной мелководной зоны р. Днепр (в пределах Беларуси) / В. К. Ризевский [и др.] // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. – 2014. – Вып. 30. – С. 267–280.
5. Романеску, В. К. Бычковые рыбы (Perciformes: Gobiidae) водоемов Республики Молдова / В. К. Романеску // материалы VII Междунар. конф.: Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона; г. Керчь, 20–23 июня 2012 г. – Керчь, 2012. – Т. 2. – С. 171–174.
6. Бычкова, Е. И. Гельминтофауна чужеродных видов рыб семейства Gobiidae в речных экосистемах Беларуси / Е. И. Бычкова // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2015. – Т. 59, № 2. – С. 84–86.
7. Гулюгин, С. Ю. Эколого-биологическая характеристика бычка-песочника рек Беларуси: автореф. дис. ... канд. биол. наук: ВАК РФ 03.00.10, Ихтиология / С. Ю. Гулюгин; КГТУ. – Калининград, 2001. – 20 с.
8. Grabowska, J. Diet and feeding habits of Monkey goby (*Neogobius fluviatilis*) in a newly invaded area / J. Grabowska, M. Grabowski, A. KostECKA // Biological Invasions. – 2009. – Vol. 11. – P. 2161–2170. <https://doi.org/10.1007/s10530-009-9499-z>
9. Бычок-песочник *N. fluviatilis* – Понто-Каспийский чужеродный вид рыбы в бассейне р. Неман / В. К. Ризевский [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2015. – Т. 59, № 4. – С. 83–88.
10. Williamson, M. Biological Invasions / M. Williamson – USA: Springer Science & Business Media, 1996. – 244 p.
11. Stepien, C. A. Invasion genetics of Ponto-Caspian gobies in the Great Lakes: a 'cryptic' species, absence of founder effects, and comparative risk analysis / C. A. Stepien, M. A. Tumeo // Biological Invasions. – 2006. – Vol. 8. – P. 61–78. <https://doi.org/10.1007/s10530-005-0237-x>
12. Freyhof, J. *Proterorhinus tataricus*, a new tubenose goby from Crimea, Ukraine (Teleostei: Gobiidae) / J. Freyhof, A. M. Naseka // Ichthyological Exploration of Freshwaters. – 2007. – Vol. 18. – P. 325–334.
13. Grabowska, J. Tubenose goby *Proterorhinus marmoratus* (Pallas, 1814) has joined three other Ponto-Caspian gobies in the Vistula River (Poland) / J. Grabowska, D. Pietraszewski, M. Ondračková // Aquatic Invasions. – 2008. – Vol. 3. – P. 261–265. <https://doi.org/10.3391/ai.2008.3.2.20>
14. New data on the historical and expanded range of *Proterorhinus marmoratus* (Pallas, 1814) (Teleostei: Gobiidae) in eastern Europe / A. M. Naseka [et al.] // Appl. Ichthyol. – 2005. – Vol. 21 – P. 300–305.
15. Kocovsky, P. M. Expansion of tubenose gobies *Proterorhinus semilunaris* into western Lake Erie and potential effects on native species / P. M. Kocovsky, C. A. Stepien // Biological Invasions. – 2011. – Vol. 13. – P. 2775–2784.
16. First record of the invasive Ponto-Caspian tubenose goby *Proterorhinus marmoratus* (Pallas, 1814) from the River Pripyat, Belarus / V. Rizevsky [et al.] // Aquatic Invasions. – 2007. – Vol. 2. – P. 275–277. <http://dx.doi.org/10.3391/ai.2007.2.3.15>
17. Данные о видовой принадлежности представителей рода *Proterorhinus*, обитающих в водных объектах Беларуси, на основании анализа последовательности гена COI / В. И. Головенчик [и др.]: материалы XVI Междунар. конф. молодых ученых; Молодежь в науке – 2019, г. Минск, 14 – 17 октября 2019 г. – Минск, 2019. – С. 141–143.
18. Thacker, C. E. Molecular phylogeny of the gobioid fishes / C. E. Thacker // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2003. – Vol. 26. – P. 354–368.
19. Kumar S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. – 2016. – Vol. 33. – P. 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
20. Edgar, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput / R. C. Edgar // Nucleic Acids Research. – 2004. – Vol. 32. – P. 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
21. Samuel, S. W. Mathematical Statistics. Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics / S. W. Samuel. – USA: John Wiley and Sons Ltd, 1962. – 664 p.
22. Jukes, T. H. Evolution of protein molecules. In Munro HN, editor, Mammalian Protein Metabolism / T. H. Jukes, C. R. Cantor. – USA: Academic Press, 1969. – Vol. 21. – 132 p.
23. Varian, H. Bootstrap Tutorial / H. Varian // Mathematica Journal. – 2005. – Vol. 9. – P. 768–775.
24. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets / J. Rozas [et al.] // Molecular Biology and Evolution. – 2017. – Vol. 34. – P. 3299–3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
25. Leigh, J. W. PopART: Full-feature software for haplotype network construction / J. W. Leigh, D. Bryant // Methods Ecological Evolution. – 2015. – Vol. 6. – P. 1110–1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>

Поступила 24.12.2019