

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н.КАРАЗІНА
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ ЗООЛОГІЇ ІМ. І. І. ШМАЛЬГАУЗЕНА
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ХОМЕНКО АНДРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 57.063::595[575+591.4+591.9]

ДИСЕРТАЦІЯ
ТАКСОНОМІЧНА РЕВІЗІЯ П'ЯВОК РОДИНИ ERPOBDELLIDAE
(ANNELIDA, CLITELLATA, HIRUDINIDA) ПАЛЕАРКТИКИ:
МОРФОЛОГІЯ, ФІЛОГЕНІЯ І ГЕОГРАФІЧНЕ ПОШИРЕННЯ

Спеціальність 091 – Біологія
(09 – Біологія)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

_____ А. М. Хоменко

Науковий керівник Утевський Сергій Юрійович, доктор біологічних наук

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

Хоменко А. М. Таксономічна ревізія п'явок родини Eprobdeidae (Annelida, Clitellata, Hirudinida) Палеарктики: морфологія, філогенія і географічне поширення. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – «Біологія». Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків; Інститут зоології імені І.І. Шмальгаузена НАН України, Київ, 2021.

Дисертаційна робота присвячена встановленню класифікації п'явок родини Eprobdeidae, насамперед палеарктичних її представників, та виявленню закономірностей морфологічної еволюції та географічного поширення. За останні двадцять років внаслідок накопичення нових даних було виявлено багато невідповідностей між філогенетичним положенням, морфологічними особливостями окремих таксонів та діагнозами родів, що в свою чергу зумовлює необхідність проведення таксономічної ревізії з максимальним охопленням таксонів, використанням сучасних філогенетичних методів і дотриманням принципів стабільності номенклатури, що і стало нашою метою. Для здійснення цієї мети нами було досліджено філогенетичну структуру родини Eprobdeidae, досліджено морфологічні особливості представників різних еволюційних ліній глоткових п'явок та описано закономірності їхнього географічного поширення.

Дослідження проводилося на матеріалах колекції кафедри зоології та екології тварин Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна та зразках, зібраних автором особисто. Всього автором було проаналізовано близько двохсот тридцяти зразків п'явок, що належать до чотирьох родів і тридцяти видів, зібраних з вісімдесят семи локалітетів. Була досліджена зовнішня та внутрішня морфологія зразків, для візуалізації поширення деяких досліджених таксонів було застосовано ГІС-програми. Для філогенетичного

аналізу з частини зразків було виділено геномне ДНК та отримано послідовності генів *cox1*, 12S та 28S, які були проаналізовані разом із послідовностями глоткових п'явок взятих з GenBank. Також було проаналізовано послідовності гену 18S, наявні у GenBank. До послідовностей гену *cox1* також були застосовані методи делімітації видів.

Проведений нами філогенетичний аналіз виявив дуже чітку філогенетичну структуру родини Erpobdellidae, яка значною мірою підтверджує морфологічні дані і біогеографію на рівні родів. Виявлені нами сім еволюційних ліній глоткових п'явок відповідають сімом родам, а саме *Erpobdella*, *Dina*, *Trocheta*, *Blanchardia*, *Fadejewobdella*, *Nephelopsis* та *Mooreobdella*. Більшість досліджених нами видів роду *Trocheta* утворили окрему від типового виду *T. subviridis* еволюційну лінію. До цієї еволюційної лінії належить, зокрема, і *T. cylindrica*, типовий вид для синонімізованого раніше роду *Blanchardia*. Неарктичні види роду *Erpobdella*, як виявилось, належать до тієї самої еволюційної лінії, що й види родів *Mooreobdella* та *Motobdella*. Так само неарктичні види роду *Dina* належать до тієї самої еволюційної лінії, що і монотипний рід *Nephelopsis*. Послідовності видів *T. subviridis* і *F. quinqueannulata*, типові види родів *Trocheta* та *Fadejewobdella* утворили дві окремі від інших досліджених п'явок еволюційні лінії. Також наші результати частково вказують на реальність підродин Erpobdellinae і Trochetinae та заперечують існування підродини Mooreobdellinae в її початковому складі.

Завдяки дослідженню морфологічних ознак ми дійшли висновку, що кількість кілець у соміті не є ознакою, яка дозволяє надійно виявити приналежність виду до якогось з родів, проте значення кільчастості для розрізнення видів залишається надзвичайно важливим. Наприклад, такі ознаки, як положення гонопорів відносно кілець соміту або ступінь розділеності деяких кілець є важливою діагностичною характеристикою для розрізнення багатьох схожих видів. Водночас представники різних еволюційних ліній глоткових п'явок добре розрізняються за особливостями будови статеві системи,

переважно формою атріуму та його рогів. Форма атріуму та форма яйцевих мішків мають велике значення для розрізнення видів глоткових п'явок.

Аналізуючи виявлену філогенетичну структуру глоткових п'явок та поширення окремих представників різних еволюційних ліній, ми з'ясували, що ареали п'явок роду *Erpobdella* обмежені Палеарктикою, натомість ареали родів *Dina* і *Trocheta* обмежені Західною Палеарктикою. Монотипного рід *Fadejewobdella* живе лише в північно-східній частині Азово-Чорноморського басейну. Загалом фауна Західної Палеарктики виявилася значно різноманітнішою, ніж фауна Східної Палеарктики. Неарктичні та неотропічні п'явки, яких відносили/відносять до родів *Erpobdella* та *Dina*, насправді належать до інших еволюційних ліній. Було показано, що Південний Кавказ, насамперед його західна частина, є санктuarioм для багатьох видів глоткових п'явок та одним із центрів різноманіття цієї групи разом із Балканами. Фауна глоткових п'явок бореальної зони та зони Євразійського степу є збідненою, проте вони включають окремі ендемічні види та збагачуються завдяки одна одній і окремих елементів карпатської і балканської фаун. Фауна п'явок Криму, зі свого боку, була сформована під значним впливом фауни Кавказу і Балкан.

Наукова новизна цієї роботи полягає в тому, що нами було визначено філогенетичну структуру родини Erpobdellidae. Було показано, що палеарктичні представники родів *Erpobdella* та *Dina* насправді не належать до тих саме еволюційних ліній, що і неарктичні представники цих родів, а склад родів *Erpobdella*, *Dina*, *Mooreobdella* та *Nephelopsis* потребує перегляду. Варто зазначити, що представники різних еволюційних ліній обмежені в своєму поширенні Палеарктикою або Неарктикою, що суперечить попереднім уявленням. Також результати філогенетичного аналізу вказують на те, що види роду *Trocheta* належать до двох еволюційних ліній, одна з яких відповідає роду *Trocheta*, а інша – *Blanchardia*, який було синонімізовано більш ніж вісімдесят років тому. За допомогою методів делімітації видів було продемонстровано значне видове різноманіття глоткових п'явок Західної Палеарктики, насамперед

серед кавказьких представників родів *Trocheta* і *Dina*. Встановлено, що різні типи кільчастості виникали в різних еволюційних лініях глоткових п'явок незалежно.

Теоретичне значення роботи визначається в тому, що на основі молекулярно-філогенетичних, а також морфологічних і біогеографічних даних було переглянуто систематику родини *Erpobdellidae* на рівні родів. На основі цих даних було запропоновано переглянути склад родів *Erpobdella*, *Dina*, *Trocheta*, *Mooreobdella* та *Nephelopsis*. У роботі було виявлено закономірності поширення глоткових п'явок і продемонстровано криптичне різноманіття глоткових п'явок Кавказу. Було досліджено систематичну значущість ознак зовнішньої та внутрішньої морфології. Крім того, було доопрацьовано стандарт опису глоткових п'явок і вдосконалено методику розтину. Під час цього дослідження було підібрано генетичні маркери, які найкраще відображають еволюційну історію глоткових п'явок у різних масштабах.

Практичну цінність роботи підтверджує те, що результати дослідження лягли в основі пропозицій щодо зміни переліку видів глоткових п'явок, внесених до Червоної книги України. Для деяких видів було запропоновано змінити природоохоронний статус. Матеріали дослідження можуть бути використані під час викладання курсів «Зоологія безхребетних». «Навчальна практика з зоології безхребетних», «Зоотомія», «Молекулярна еволюція та філогенетика» тощо.

Ключові слова: кільчасті черви, систематика, синонімія, молекулярна філогенетика, делімітація, фауна, ендемізм, знахідки, Кавказ, Україна, криптичні види, нові види, кільчастість, статева система, мінливість.

Summary

Khomenko A. M. Taxonomic revision of leeches of the family Erpobdellidae (Annelida, Clitellata, Hirudinida) of the Palaearctic: morphology, phylogeny and geographical distribution. - Qualifying scientific work printed as a manuscript.

The dissertation for a scientific degree of the doctor of philosophy on a specialty 091 "Biology", V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv; I. I. Schmalhausen Institute of Zoology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to the establishment of the classification of leeches of the family Erpobdellidae, primarily its Palearctic members, and to the determination of patterns of morphological evolution and geographical distribution. Over the past twenty years, the accumulation of new data has led to revealing many inconsistencies between phylogenetic positions and morphological features of individual taxa and diagnoses of genera, which in turn necessitates a taxonomic revision with maximum coverage of taxa, using modern phylogenetic methods and taking into account the principle of stability, which became our goal. To achieve this goal, we studied the phylogenetic structure of the family Erpobdellidae, the morphological features of representatives of different evolutionary lineages of erpobdellid leeches and described the patterns of their geographical distribution.

The study was conducted using the materials of the collection of the Department of Zoology and Animal Ecology of V. N. Karazin Kharkiv National University and samples collected by the author personally. In total, the author analysed about two hundred and thirty specimens of leeches belonging to four genera and thirty species collected from eighty-seven localities. The external and internal morphology of the samples was studied and GIS programs were used to visualize the distribution of some of the studied taxa. For phylogenetic analysis, genomic DNA was isolated from some samples and the *cox1*, 12S and 28S gene sequences were obtained and analysed together with the sequences of erpobdellids taken from

GenBank. The sequences of the 18S gene available in GenBank were also analysed. Species delimitation methods were applied to *cox1* gene sequences.

Our phylogenetic analysis revealed the very clear phylogenetic structure of the family Erpobdellidae, which largely confirms to the morphological data and biogeography at the level of genera. Seven evolutionary lineages of erpobdellids we found correspond to seven genera, namely *Erpobdella*, *Dina*, *Trocheta*, *Blanchardia*, *Fadejewobdella*, *Nephelopsis*, and *Mooreobdella*. Most of the species of the genus *Trocheta* studied by us formed an evolutionary lineage separated from the type species of the genus, *T. subviridis*. *Trocheta cylindrica*, a type species of the synonymized genus *Blanchardia*, also belongs to this evolutionary lineage. The Nearctic species of the genus *Erpobdella* turned out to belong to the same evolutionary line as the species of the genera *Mooreobdella* and *Motobdella*. Nearctic species of the genus *Dina* belong to the same evolutionary line as the monotypic genus *Nephelopsis*. Sequences of *T. subviridis* and *F. quinqueannulata*, type species of the genera *Trocheta* and *Fadejewobdella*, formed two evolutionary lineages separately from other leeches studied. Also, our results partially confirm the reality of the subfamilies Erpobdellinae and Trochetinae and deny the existence of the subfamily Mooreobdellinae in its initial composition.

Through the study of morphological features, we came to the conclusion that the number of annuli in the segment is not a feature that makes it possible to reliably identify the species belonging to any of the genera, but the value of annulation to distinguish species remains extremely important. For example, features such as the position of the gonopores relative to annuli of the segment or the degree of separation of some annuli are important diagnostic features for distinguishing between similar species. At the same time, representatives of different evolutionary lineages of erpobdellids differ well in the structure of the reproductive system, mainly the shape of the atrium and its cornua. The shape of the atrium and the shape of the ovisacs are important for distinguishing between the species of erpobdellid leeches.

Analyzing the phylogenetic structure of pharyngeal leeches and the distribution of individual representatives of different evolutionary lines, we found that the habitats of leeches of the genus *Erpobdella* are limited to the Palearctic, while the habitats of the genera *Dina* and *Trocheta* are limited to the Western Palearctic. The monotypic genus *Fadejewobdella* lives only in the northeastern part of the Azov-Black Sea basin. In general, the fauna of the Western Palearctic turned out to be much more diverse than the fauna of the Eastern Palearctic. Non-Arctic and neotropical leeches, which belonged to the genera *Erpobdella* and *Dina*, actually belong to other evolutionary lines. It has been found that the South Caucasus, especially its western part, is a sanctuary for many species of pharyngeal leeches and one of the centers of diversity of this group, along with the Balkans. The pharyngeal leech fauna of the boreal zone and the Eurasian steppe zone is impoverished, but they include some endemic species and are enriched by each other and individual elements of the Carpathian and Balkan fauna. The Crimean leech fauna, on the other hand, was formed under the significant influence of the fauna of the Caucasus and the Balkans.

Analyzing the phylogenetic structure of erpobdellids and the geographical distribution of individual representatives of different evolutionary lineages, we found that the ranges of leeches of the genus *Erpobdella* are limited to the Palaearctic, while the ranges of the genera *Dina* and *Trocheta* are restricted by the Western Palearctic. The monotypic genus *Fadejewobdella* occurs only in the northeastern part of the Azov-Black Sea basin. In general, the fauna of the Western Palearctic turned out to be much more diverse than the fauna of the Eastern Palearctic. Nearctic and Neotropical leeches, which had been assigned to the genera *Erpobdella* and *Dina*, actually belong to other evolutionary lineages. It was found that the South Caucasus, especially its western part, is a sanctuary for many species of erpobdellids and one of the centers of diversity of this group, along with the Balkans. The erpobdellid fauna of the Boreal zone and the Eurasian steppe zone is impoverished, but they include some endemic species and are enriched by each other and individual elements of the Carpathian and Balkan faunae. The Crimean leech fauna, on the other hand, was formed under the significant influence of the fauna of the Caucasus and the Balkans.

The scientific novelty of this work is that we determined the phylogenetic structure of the family Erpobdellidae. It was shown that the Palearctic members of the genera *Erpobdella* and *Dina* do not actually belong to the same evolutionary lines as the Nearctic members of these genera, and the composition of the genera *Erpobdella*, *Dina*, *Mooreobdella* and *Nephelopsis* needs to be revised. It should be noted that the representatives of different evolutionary lineages are limited in their distribution by the Palearctic or the Nearctic, which contradicts previous views. Also, the results of phylogenetic analysis indicate that the species of the genus *Trocheta* belong to two evolutionary lineages, one of which corresponds to the genus *Trocheta*, and the other, *Blanchardia*, was synonymized more than eighty years ago. Species delimitation demonstrated significant species diversity of erpobdellids in the Western Palearctic, especially among Caucasian members of the genera *Trocheta* and *Dina*. Different types of annulation was found to occur in different evolutionary lineages of erpobdellids independently.

The theoretical significance of the work is determined by the fact that on the basis of molecular-phylogenetic, as well as morphological and biogeographical data, the taxonomy of the family Erpobdellidae at the level of genera was revised. Based on these data, it was proposed to review the composition of the genera *Erpobdella*, *Dina*, *Trocheta*, *Mooreobdella* and *Nephelopsis*. The paper revealed the patterns of distribution of erpobdellids and demonstrated the cryptic diversity of erpobdellid leeches in the Caucasus. The systematic significance of features of external and internal morphology was investigated. In addition, the standard for describing erpobdellid leeches was revised and the dissection technique was improved. During this research, genetic markers were selected that best reflect the evolutionary history of erpobdellid leeches at different scales.

The practical value of this work is confirmed by the fact that the results of the study formed the basis for proposals to change the list of species of erpobdellid leeches listed in the Red Book of Ukraine. For some species, it was proposed to change the conservation status. These research materials can be used for the teaching

of courses "Zoology of Invertebrates", "Educational Practice in Invertebrate Zoology", "Zootomy", "Molecular Evolution and Phylogenetics" etc.

Key words: annelids, systematics, synonymy, molecular phylogenetics, delimitation, fauna, endemism, new records, Caucasus, Ukraine, cryptic species, new species, annulation, reproductive system, variability.

Список публікацій здобувача, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

У виданнях, які включені до міжнародних наукометричних баз даних:

1. **Khomenko, A.**, Utevsky, S., Utevsky, A., Trontelj, P. (2020). Unrecognized diversity of *Trocheta* species (Hirudinea: Erpobdellidae): resolving a century-old taxonomic problem in Crimean leeches. *Systematics and Biodiversity*. 18(2), p. 129–141. (**Web of Science Core Collection та Scopus**) (*особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, морфологічний опис, написання статті*).

2. **Khomenko, A.**, Utevsky, S., Palatov, D., Huseynov, M., Farzali, Sh., Dadashova, L., Darabi-Darestani, K., Utevsky, A. (2018). On the distribution of *Dinastschegolewi* (Hirudinida: Erpobdellidae) in the South Caucasus. *Zoology in the Middle East*. 64(1). p. 88–90. (**Web of Science Core Collection та Scopus**) (*особистий внесок: камеральна обробка, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання статті*).

Публікації у наукових фахових виданнях України

3. **Хоменко, А. М.**, Утєвський, С. Ю., Сон, М. О., Шпрестха, М. Ю., Дядичко, В. Г. (2019). Рідкісні види глоткових п'явок (Hirudinea: Erpobdellidae) Причорноморської низовини: Ідентифікація і поширення. *Вісник ОНУ. Біологія*. 24(2). С. 97–109. (**Фахове видання**) (*особистий внесок: участь у зборі матеріалу, камеральна обробка, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання статті*).

Публікації, які засвідчують апробацію результатів дисертації

4. Utevsky, S., **Khomenko, A.**, Utevsky, A., Trontelj, P. (2019, September). *Trocheta* leeches (Hirudinea: Erpobdellidae) of the Black Sea region: Taxonomy, biogeography and phylogeny. In: 2nd International Symposium on Limnology and Freshwater Fisheries (p. 3). Elazığ, Eğirdir Fisheries Research Institute. (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів).
5. **Khomenko, A.**, Utevsky, S., Son, M., Shrestha, M., Palatov, D., Dyadichko, V. (2019, June). Rare erpobdellids species (Erpobdellidae) of Black Sea Lowland: Biogeography and evolutionary history. In: Achievements in studies of marginal effect in water ecosystems and their practical significance (p. 33). Odesa, Institute of marine biology NAS of Ukraine. (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, морфологічний опис, написання тез).
6. **Хоменко, А.**, Утєвський, С., Палатов, Д. (2018, листопад). Про меланізм *Erpobdella monostriata* (Hirudinida: Erpobdellidae) в північній частині її ареалу. В: Тези доповідей Конференції молодих дослідників-зоологів – 2018 (с. 24). Київ, Інститут зоології імені І. І. Шмальгаузена НАН України. (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез).
7. **Khomenko, A.**, Utevsky, S., Palatov, D., Huseynov, M., Farzali, Sh., Shrestha, M., Son, M., Utevsky, A. (2018, July). Geographical distribution and taxonomic status of *Dina stschegolewi* (Lukin & Epshtein, 1960) (Hirudinida: Erpobdellidae). In: 3rd Central European Symposium for Aquatic Macroinvertebrate Research (p. 122). Łódź, University of Łódź. (особистий внесок: камеральна обробка, філогенетичний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез).
8. Utevsky, S., Vladymyrska, M., **Khomenko, A.** (2018, July). Geographical ranges and species concepts in leeches (Annelida: Hirudinida) In: 3rd Central European Symposium for Aquatic Macroinvertebrate Research (p. 76). Łódź,

University of Łódź. (*особистий внесок: філогенетичний аналіз, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів*).

9. **Хоменко, А.**, Утєвський, С., Сон, М., Дядичко, В., Шрестха, М. (2018, Квітень). Поширення найбільшої європейської п'явки *Trocheta danastrica* (Hirudinida: Erpobdellidae) в Україні. В: Молодь і поступ біології (с. 203). Львів, Львівський національний університет імені Івана Франка. (*особистий внесок: збір матеріалу, камеральна обробка, аналіз літературних джерел, інтерпретація результатів, написання тез*).

Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації

10. **Хоменко, А. М.**, Утєвський, С. Ю. (2019). Рідкісні види п'явок (Hirudinida) України. В: Інститут зоології імені І. І. Шмальгаузена НАН України (Ред.). Матеріали до 4-го видання Червоної книги України: Тваринний світ: Том 2 (с. 437–440). Чернівці, Друк Арт. (*особистий внесок: камеральна обробка, аналіз літературних джерел, обговорення, написання тексту статті*).

АНОТАЦІЯ.....	2
ABSTRACT.....	6
ЗМІСТ.....	13
ВСТУП.....	15
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	21
1.1. Характеристика родини Erpobdellidae.....	21
1.2. Таксономічна історія підродин глоткових п'явок.....	24
1.3. Таксономічна історія родів глоткових п'явок.....	26
1.4. Комплекс <i>Dina apathyi</i>	29
1.5. Комплекс <i>Trocheta cylindrica</i>	35
1.6. Види роду <i>Trocheta</i> узбережжя Чорного моря.....	36
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	39
2.1. Матеріали.....	39
2.2. Методи.....	40
2.2.1. Збір, фіксація та збереження зразків.....	40
2.2.2. Опис зовнішньої морфології.....	41
2.2.3. Розтин, опис кільчастості та внутрішньої морфології.....	43
2.2.4. Виділення геномної ДНК, ПЛР, детекція та очищення ПЛР-продуктів.....	47
2.2.5. Отримання послідовностей та їхнє вирівнювання.....	50
2.2.6. Методи філогенетичного аналізу.....	51
2.2.7. Методи делімітації видів.....	53

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ.....	56
3.1. Систематична частина.....	56
3.1.1. <i>Erpobdella</i> Blainville, 1818.....	56
3.1.2. <i>Dina</i> Blanchard, 1892.....	70
3.1.3. <i>Trocheta</i> Dutrochet, 1817.....	88
3.1.4. <i>Fadejewobdella</i> Lukin, 1962.....	103
3.2. Молекулярний філогенетичний аналіз.....	106
3.2.1. Філогенетична структура родини Erpobdellidae.....	106
3.2.2. Делімітація видів глоткових п'явок.....	115
РОЗДІЛ 4. ОБГОВОРЕННЯ.....	129
4.1. Еволюційна історія і таксономія глоткових п'явок.....	129
4.1.1. Закономірності еволюції родини Erpobdellidae.....	129
4.1.2. Видове різноманіття глоткових п'явок.....	133
4.2. Морфологія.....	138
4.2.1. Таксономічне значення кільчастості.....	138
4.2.2. Таксономічне значення ознак статевої системи.....	140
4.2.3. Морфологічна характеристика основних еволюційних ліній глоткових п'явок.....	142
4.3. Біогеографія глоткових п'явок.....	144
ВИСНОВКИ.....	159
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	161
ДОДАТКИ.....	181

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Глоткові п'явки є важливим компонентом прісноводних екосистем з огляду на їхню функціональну роль і чисельність (Sket & Trontelj, 2008). Ця родина складає значну частину різноманіття п'явок Палеарктики. За останню чверть сторіччя кількість описаних таксонів ерпобделід суттєво збільшилася завдяки зусиллям кількох європейських дослідників (Sket & Trontelj, 2008; Minelli, Sket & de Jong, 2014). Внаслідок їхніх досліджень було виявлено значне псевдокриптичне різноманіття глоткових п'явок, серед яких виявилася низка регіональних ендеміків (Sket & Trontelj, 2008).

Класифікація глоткових п'явок потребує ретельного перегляду внаслідок накопичення нових даних, які суперечать поширеним уявленням про приналежність усіх глоткових п'явок до єдиного роду *Erpobdella* Blainville, 1818 (Siddall, 2002; Ocegüera-Figueroa et al., 2011). Філогенетичні зв'язки і закономірності географічного поширення глоткових п'явок були визначені лише для невеликих наборів таксонів, часто обмежених певним регіоном (Ocegüera-Figueroa, León-Régagnon & Siddall, 2005; Trajanovski et al., 2010; Kaygorodova et al., 2014; Tessler, Siddall & Ocegüera-Figueroa, 2018; Jiménez-Armenta & Ocegüera-Figueroa, 2019; Anderson, Braoudakis & Kvist, 2019). Значущість морфологічних ознак у систематиці ерпобделід довгий час залишалася невизначеною, висувалися припущення щодо паралельного виникнення окремих типів кільчастості, особливостей будови статевої системи і способів життя (Trontelj & Sket, 2000; Pfeiffera, Breniga & Kutschera, 2005; Grosser, 2015).

Усе це зумовлює необхідність таксономічної ревізії глоткових п'явок Палеарктики за допомогою як морфологічних, так і молекулярних філогенетичних методів. Цей підхід дозволить дослідити еволюційну історію

глоткових п'явок, закономірності їхньої морфологічної еволюції та географічного поширення.

Об'єкт дослідження: п'явки родини *Erpobdellidae* Blanchard, 1894.

Предмет дослідження: генетичне та видове різноманіття п'явок родини *Erpobdellidae*, їхні морфологічні особливості, філогенетичні зв'язки та географічне поширення.

Мета і завдання. Основною метою дисертаційного дослідження є проведення ревізії класифікації родини *Erpobdellidae*, а також виявлення закономірності їхньої морфологічної еволюції та географічного поширення. Відповідно до поставленої мети були сформульовані наступні завдання:

- 1) виявити філогенетичну структуру родини *Erpobdellidae* та на цій основі переглянути класифікацію глоткових п'явок;
- 2) дослідити морфологічні особливості представників різних еволюційних ліній глоткових п'явок;
- 3) з'ясувати закономірності географічного поширення глоткових п'явок.

Методи дослідження. Для виявлення філогенетичних зв'язків між таксонами глоткових п'явок нами було застосовано філогенетичний аналіз нуклеотидних послідовностей ДНК глоткових п'явок. Для делімітації видів ми використали послідовності мітохондріального гена *cox1*, який найчастіше використовується для ДНК-баркодингу, і декілька найуживаніших критеріїв делімітації видів. Морфологічні описи проводилися за загальноприйнятою схемою з деякими авторськими доповненнями. Для фіксації координат і створення мап використали низку геоінформаційних методів.

Наукова новизна отриманих результатів. На основі філогенетичного аналізу чотирьох генів було визначено філогенетичну структуру родини *Erpobdellidae* і виявлено головні еволюційні лінії, які значною мірою відповідають родам глоткових п'явок за традиційною класифікацією.

Продemonстровано значне видове різноманіття глоткових п'явок Західної Палеарктики, насамперед серед представників родів *Trocheta* Dutrochet, 1817 і *Dina* Blanchard, 1892 Південного Кавказу.

Установлено, що різні типи кільчастості можуть виникати в різних групах глоткових п'явок незалежно, ця ознака не є надійною для побудови класифікації. Натомість будова статеві системи і насамперед форма атріуму мають важливе систематичне значення.

З'ясовано, що концепція політипного виду може бути застосована до окремих видів родини Eprobdeidae, насамперед видів роду *Eprobdeia* та виду *D. stschegolewi*, однак у більшості випадків локальні форми широко розповсюджених видів виявилися самотійними видами.

Під час роботи було доопрацьовано стандарт опису глоткових п'явок і вдосконалено методику розтину. Унаслідок використання цього стандарту було виявлено декілька раніше невідомих видів.

Особистий внесок здобувача. Робота є самотійним науковим дослідженням здобувача. Автор провів аналіз літературних джерел за темою дисертації. Камеральна обробка зразків, а саме їхнє визначення, препарування, фотодокументація морфологічних ознак і опис проводилися здобувачем особисто. Робота з отримання геномної ДНК та ПЛР-продуктів у лабораторії проводилася спільно зі співробітниками біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Секвенування ПЛР-продуктів проводилося на комерційній основі компанією Macrogen (Нідерланди). Обробка хроматограм, вирівнювання послідовностей і філогенетичний аналіз автором проводилася особисто. Переважна більшість досліджених здобувачем зразків походять з колекції кафедри зоології та екології тварин Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, проте частина досліджених матеріалів була зібрана здобувачем під час експедицій та екскурсій.

Публікації. За темою дисертації вийшли друком чотири публікації в наукових виданнях, зокрема одна стаття в науковому виданні, включеному до переліку наукових фахових видань України, дві – в закордонних виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection і / або Scopus та віднесених до першого-третього квартилів (Q1–Q3) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank і / або Journal Citation Reports.

Апробація матеріалів дисертації. Доповіді за результатами дисертаційного дослідження було представлено й обговорено на семінарах кафедри зоології та екології тварин біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (Харків, 2017, 2020) та на кількох конференціях, зокрема на XIV конференції «Молодь і поступ біології», 10–12 квітня 2018 р., Львів; Третьому Центральноєвропейському симпозиумі з вивчення водних макро-безхребетних (3rd Central European Symposium for Aquatic Macroinvertebrate Research), 8–13 липня 2018 р., Лодзь, Польща; Конференції молодих дослідників-зоологів 14–15 листопада 2018 р., Київ; Конференції «Досягнення у вивченні крайового ефекту водних екосистем та їх практичне значення» (Achievements in studies of marginal effect in water ecosystems and their practical significance), 13–14 червня 2019 р., Одеса, і конференції «Фауна України на межі XX–XXI ст. Стан і біорізноманіття екосистем природоохоронних територій», 12–15 вересня 2019 р., Львів та Шацьк.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 208 сторінках, складається з анотації, змісту, основної частини, списку використаних джерел (163 посилання, з них латинкою 135) та 5 додатків. Основна частина складається з таких розділів: вступ, огляд літератури, матеріали і методи, результати, обговорення та висновки і викладена на 147 сторінках. Текст дисертації містить 54 малюнкв і 4 таблиці.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. 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 грантом Systematics Research Fund «Taxonomic revision of the Caucasian leeches (Annelida, Hirudinida)» 2017–2018 р.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дослідження лягли в основі пропозицій щодо зміни переліку видів глоткових п'явок, внесених до Червоної книги України. Для деяких видів було запропоновано змінити природоохоронний статус. Матеріали дослідження можуть бути використані під час викладання курсів «Зоологія безхребетних», «Навчальна практика з зоології безхребетних», «Зоотомія», «Молекулярна еволюція та філогенетика».

Подяки. Автор щиро вдячний усім друзям і колегам, чий збори потрапили до колекції кафедри зоології та екології тварин Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна й були використані в цій роботі, а саме Сергію та Андрію Утєвським (ХНУ імені В. Н. Каразіна, Харків), Бено Лекаплєну (Дінар, Франція), Іллі Турбанову (ІБВВ імені І.Д. Папаніна, Борок), Михайлу Сону та Василю Дядічку (ІМБ, Одеса), Павлу Коперському (Варшавський університет, Варшава), Каве Дарабі-Дарестані (Тегеранський університет, Тегеран), Роберту Варговичу (ІЗ імені І. І. Шмальгаузена, Київ), Глібу Мазепі (Лозанський університет, Лозанна), Наталі і Анастасії Ковальчук та Марії Шрестхсі (ХНУ імені В.Н. Каразіна, Харків). Окремо хочу подякувати Дмитру Палатову (ІПЕіЕ імені О.М. Сєверцова, Москва) за надані матеріали, важливість яких для цієї роботи неможливо переоцінити. Хочу висловити глибоку вдячність за допомогу в організації і проведенні експедицій та в зборі матеріалу Сергію Утєвському, Маїру Гусейнову і Асіфу Манафову (Інститут зоології, Баку), Михайлу Сону, Віталію Гукову і Галині Моргун (ХНУ імені В.Н. Каразіна, Харків), Дар'ї Королєсовій (Чорноморський БЗ, Гола Пристань)

та Василю Матейчику (Шацький НПП, Шацьк). Також хочу подякувати Сергію та Андрію Утєвським, Галині Моргун, Наталі та Анастасії Ковальчук, Михайлу Горпинченку, Ользі Утєвській, Олександру Зіненку, Марії Шрестхсі та Георгію Утєвському (ХНУ імені В.Н. Каразіна, Харків), Валерії Закшек (Люблянський університет, Любляна) та Оксані Зленко (ІНЦ ІЕКВМ, Харків) за організацію роботи в лабораторії, допомогу в корекції протоколів і безпосередню допомогу під час роботи, а також Петеру Тронтелю (Люблянський університет, Любляна), Міхалу Грабовському (Університет Лодзі, Лодзь) та Глібу Мазепі за допомогу в секвенуванні зразків.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Характеристика родини Erpobdellidae

Карл Лінней запропонував першу наукову назву для одного з видів глоткових п'явок (*Hirudo octoculata* L., 1758), який пізніше став типовим для родини ерпобделід. Дослідження глоткових п'явок як окремої групи були започатковані Р. Бланшаром, який виділив глоткових п'явок в окрему родину (Blanchard, 1894), а також описав рід *Dina* (Blanchard, 1892) і досліджував різні форми роду *Trocheta* (Blanchard, 1893). Значно вплинули на дослідження глоткових п'явок роботи П. Мура, який запропонував записувати кільчастість п'явок у вигляді формули (Harding & Moore, 1927), що було застосовано до глоткових п'явок К. Манном, який встановив основні варіанти кільчастості для глоткових п'явок Європи (Mann, 1952). Вагому роль у дослідженні різноманіття ерпобделід відіграють роботи М. Гедройця та Л. Павловського, які описали такі роди, як *Blanchardia* (Gedroyć, 1916) і *Mooreobdella* (Pawlowski, 1955) відповідно та поглибили розуміння видового різноманіття глоткових п'явок. Великий внесок у дослідження глоткових п'явок зробив Є. Лукін, який описав рід *Fadejewobdella* (Лукін, 1962), вперше дослідив закономірності поширення п'явок (Лукин, 1976) та спільно зі своїм учнем В. Епштейном вивчав глоткових п'явок Криму і Кавказу (Лукин, 1953; Лукин, 1959; Лукин и Эпштейн, 1960; Лукин и Эпштейн, 1964; Лукин, 1976). Значну роль у дослідженні систематичних ознак глоткових п'явок відіграє доробок Б. Скета (Sket, 1968). Також ним було детально досліджено видове різноманіття глоткових п'явок Балкан та особливо озера Охрид (Sket, 1989). Спільно зі своїм вчителем Б. Скетом методи молекулярної філогенетики в дослідженні глоткових п'явок вперше впровадив П. Тронтель (Trontelj & Sket, 2000). Вагомий внесок у дослідження видового різноманіття глоткових п'явок Палеарктики зробили Г. Неземанн (Nesemann, 1993a; Nesemann & Neubert, 1999) та К. Гроссер (Grosser, 2000; Grosser, 2015; Jueg & Grosser, 2017). Велику серію статей про філогенію та різноманіття глоткових п'явок Неарктики опублікував М. Сіддалл

та його учні, М. Теслер і А. Осегуера-Фигуєроа (Siddall, 2002; Oseguera-Figueroa et al., 2011; Tessler, Siddall & Oseguera-Figueroa, 2018). Також значний доробок в цьому напрямі було зроблено Ф. Говедічем (Govedich et al., 1998) та С. Квістом (Anderson, Braoudakis & Kvist, 2019). Закономірності поширення глоткових п'явок Палеарктики та їхнє криптичне різноманіття були виявлені завдяки працям С. Утєвського (Утєвський, 2014; Утєвський, Владимирська та Палатов, 2015). Згаданій тематиці присвячена також ця дисертація

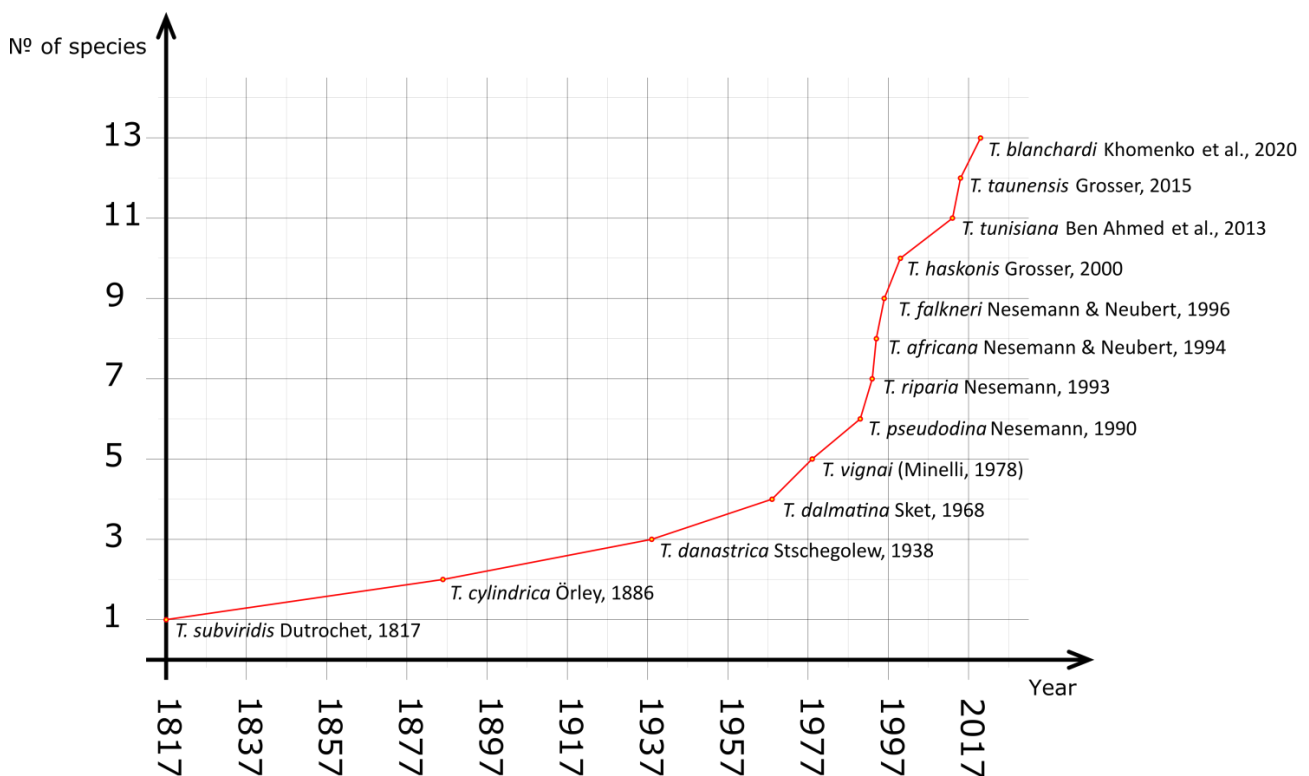


Рис. 1. Зростання кількості описів нових видів роду *Trocheta* включно з підвидами, пізніше піднятими до рангу виду, та видами, перенесеними до роду *Trocheta*.

За зовнішньою морфологією глоткові п'явки відрізняються наявністю чотирьох пар очей, хоча є і винятки, та будовою соміта (Sawyer, 1986). Кільчастість у різних таксонів може різнитися, проте вихідним вважається соміт, що складається з п'яти кілець (Sawyer, 1986). Також глоткові п'явки характеризуються відсутністю стилетів у глотці й численними сім'яними мішками у вигляді грон, по декілька на соміт (Sawyer, 1986).

Глоткові п'явки (Erpobdellidae) є однією з найбільших за кількістю видів родин п'явок, яких на 2008 рік нараховували 69 видів. За кількістю видів вони поступаються лише пласким і риб'ячим п'явкам (Glossiphoniidae та Piscicolidae відповідно) і є найбільшою родиною за кількістю видів серед безхоботних п'явок (Sket & Trontelj, 2008). Ерпобделіди є важливим компонентом прісноводних екосистем Голарктики як з огляду на їхню біомасу, так і через їхню функціональну роль хижаків (Sawyer, 1986). Таксономія родини Erpobdellidae зазнала труднощів через відсутність надійних морфологічних ознак, що пояснює значне криптичне і псевдокриптичне різноманіття серед глоткових п'явок (Sket & Trontelj, 2008). Очевидно, що значення кільчастості, забарвлення тіла й анатомії статеві системи слід переосмислити з огляду на сучасні досягнення молекулярної філогенетики (Siddall, 2002). Яскравий приклад подібних таксономічних проблем надає систематика роду *Trocheta*. Недостатня увага до регіональних форм та особливостей будови статеві системи довгий час не дозволяли класифікувати види цього роду, і лише з початку 90-х років XX сторіччя види роду *Trocheta* почали активно виявляти та описувати (Khomenko et al., 2020; рис. 1). Нижче ми розглянемо деякі групи криптичних і псевдокриптичних видів глоткових п'явок Палеарктики та основні проблеми їхньої таксономії.

Поширення глоткових п'явок переважно обмежене Голарктикою, проте деякі види живуть і в Неотропічній біогеографічній області. Знахідки глоткових п'явок в Австралійській біогеографічній області можуть бути помилковими (Sket & Trontelj, 2008). Ці п'явки переважно живуть у різноманітних прісних водоймах, проте доволі добре відомі винятки з цього правила. Наприклад, представники родів *Trocheta* та *Fadejewobdella* ведуть амфібіотичний спосіб життя, а п'явка *Archaeobdella esmonti* крім прісних водойм живе і в солонуватій воді опріснених ділянок морів (Лукин, 1976). Також доволі поширені глоткові п'явки в печерних екосистемах, а на Балканах, в Анатолії, на Кавказі та в Північній Америці відомі навіть ендемічні види троглобіонтних ерпобделід (Sket & Trontelj, 2008).

1.2. Таксономічна історія підродин глоткових п'явок

Доцільність використання систематичної категорії підродини у глоткових п'явок викликає багато заперечень. Представники американської гірудологічної школи (Sawyer, 1986) зазвичай не використовують підродини для опису різноманіття глоткових п'явок, однак європейськими дослідниками цей ранг доволі активно використовувався (Pawlowski, 1968; Nesemann, 1993a; Nesemann & Neubert, 1999). Загалом було описано три (Nesemann & Neubert, 1999) підродини глоткових п'явок: Erpobdellinae Blanchard, 1894, Trochetinae Perrier, 1897 і Mooreobdellinae Nesemann, 1993. Також американські дослідники (Govedich et al., 1998) описали рід *Motobdella*, якого не віднесли до жодної з підродин, так само як і пізніше описаний хорватськими зоологами рід *Croatobranchus* (Kerovec, Kučinić & Jalžić, 1999).

За Г. Неземанном (1993a), представники підродини Erpobdellinae Blanchard, 1894 мають «суктороїдний» (рис. 2) ротовий присосок, соміт із п'яти кілець однакової ширини, а гонопори в них завжди знаходяться на XII соміті. Варто зазначити, що у глоткових п'явок чоловічий гонопор завжди знаходиться на XII соміті, а жіночий – на XII соміті або на межі між XII та XIII сомітами (Nesemann & Neubert, 1999). Преатріальні петлі досягають XI соміту (Nesemann, 1993a). У визначенні Г. Неземанна (1993a) також вказано, що представники цієї підродини мають численні сім'яні мішки та не мають стилетів, проте ці ознаки характерні для всіх глоткових п'явок, і винятки з цього правила невідомі. Також відомо, що у представників цієї підродини завжди добре розвинений задній присосок, а недорозвинений задній присосок є унікальною рисою монотипного роду *Archaeobdella* (Nesemann & Neubert, 1999). Отже, розвинутий присосок, найімовірніше, є симплезіоморфією для всіх глоткових п'явок. Так само у більшості видів глоткових п'явок жіночий гонопор розташовано на XII соміті або на межі між XII та XIII сомітами, і лише у одного виду, *T. subviridis*, він знаходиться на XIII

соміті, тобто ця ознака також є симплезіоморфією для *Erpobdellinae*. До цієї підродини Г. Неземанн (1993a) відносив роди *Erpobdella* та *Nephelopsis*, не зважаючи на те, що у *Nephelopsis* (= *Erpobdella*) *obscura* кількість кілець у соміті коливається між шістьма та сімома (Davies & Govedich, 2001), а інколи може сягати восьми кілець (Madill & Hovingh, 2007), що суперечить діагнозу підродини, запропонованого самим автором. Також до цієї підродини віднесли нещодавно описаний рід *Erpobdellopsis* Grosser, 2017, у якого преатріальні петлі відсутні (Jueg & Grosser, 2017), що суперечить уявленню Г. Неземанна про комплекс ознак, характерних для підродини (1993a). Отже, підродина *Erpobdellinae* складається з родів, які суттєво розрізняються між собою за морфологічними ознаками і лише один з яких, *Erpobdella*, відповідає діагнозу Г. Неземанна (1993a).

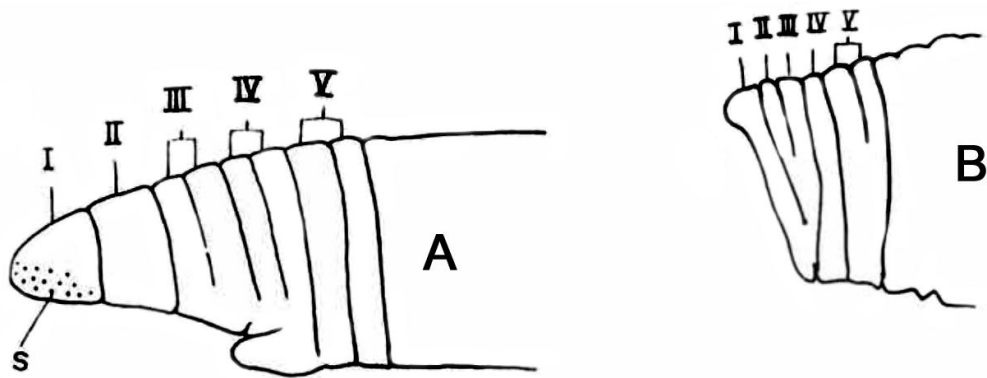


Рис. 2. Типи присосків за термінологією, запропонованою Г. Неземанном (1993a). А – ростелюїдний ротовий присосок, В – сукторюїдний ротовий присосок.

Друга підродина, *Trochetinae* Perrier, 1897, за Г. Неземанном (1993a), включає у себе п'явок, соміт яких складається з п'яти або більше кілець нерівної ширини. Водночас останнє кільце соміту завжди ширше за інші або розділене на два-три кільця (Nesemann, 1993a). У п'явок цієї підродини ротовий присосок «ростелюїдний» (Nesemann, 1993a; рис. 2). Чоловічий гонопор завжди знаходиться на XII соміті, але жіночий може зміститися на XIII соміт (Nesemann, 1993a). Преатріальні петлі дуже довгі, витягнуті, нескручені роги досягають XI соміту (Nesemann, 1993a). Традиційно до цієї підродини відносять роди *Trocheta*, *Dina* та *Archaeobdella* (Nesemann, 1993a), проте філогенетичні

дослідження вказують на відсутність монофілії у цього таксону (Trontelj & Sket, 2000).

До підродини Mooreobdellinae, за Г. Неземанном (1993a), входять п'явки, які мають соміт, що складається з п'яти-шести кілець нерівної ширини й не мають преатріальних петель. Неземанн відніс до цієї підродини два роди, *Mooreobdella* та *Fadejewobdella*, але останній з них не відповідає діагнозу підродини через те, що соміт *Fadejewobdella* має п'ять кілець рівної ширини (Лукин, 1976), а чоловіча статева система характеризується наявністю преатріальних петель (Jueg & Grosser, 2017).

Отже, узагальнюючи, можна стверджувати, що діагнози чинних підродин глоткових п'явок суперечать даним про морфологію таксонів, що входять до них. Для опису підродин були використані симплезіоморфії, які можуть бути характерними для різних груп таксонів і тому не несуть інформації для розрізнення підродин глоткових п'явок.

1.3. Таксономічна історія родів глоткових п'явок

Надзвичайно дискусійним питанням систематики глоткових п'явок є розділення цієї родини на роди. Стосовно цієї проблеми існує дві точки зору. З одного боку, серед глоткових п'явок традиційно виділяють сім родів (Sawyer, 1986), водночас значна частина європейських таксономістів виділяють до десяти-одинадцяти родів глоткових п'явок (Sket & Trontelj, 2008; Jueg & Grosser, 2017), проте деякі американські дослідники зводять усе різноманіття глоткових п'явок лише до одного роду *Erpobdella* (Siddall, 2002; Oseguera-Figueroa et al., 2011).

Традиційна точка зору полягає в тому, що основні євразійські роди глоткових п'явок, *Erpobdella*, *Dina* і *Trocheta*, розрізняються за будовою соміту. Отже, за традиційними уявленнями, до роду *Erpobdella* відносять п'явок із сомітом, що складається з п'яти кілець рівної ширини; морфологічно близькі до них п'явки, що мають соміт із п'яти кілець, останнє з яких було розширене або

навіть розділене додатковою борозною, відносили до роду *Dina*, а у видів роду *Trocheta* кількість кілець у соміті коливається від восьми до одинадцяти (Sawyer, 1986; Nesemann, 1993a). Водночас були відомі й винятки. Наприклад, у *Trocheta vignai* (Minelli, 1978) кількість кілець у соміті обмежувалася сімома, через що її спочатку віднесли до роду *Dina* (Nesemann & Neubert, 1999). У *Dina punctata mauchi* Nesemann, 1995 (Nesemann, 1995a) соміт може складатися з одинадцяти кілець (Nesemann & Neubert, 1999), через що її помилково повторно описали як вид роду *Trocheta* (Kutschera, 2010; Grosser, 2015). Інші ж роди відрізнялися за такими ознаками, як особливості будови статевої системи або ж унікальна зовнішня морфологія (Лукин, 1976; Nesemann & Neubert, 1999; Kerovec, Kučinić & Jalžić, 1999).

Рід *Archaeobdella* Grimm, 1876 був описаний з Каспійського моря і наразі залишається монотипним. Унікальною морфологічною особливістю цієї п'явки є те, що її задній присосок дуже сильно видозмінений та перетворився на своєрідну лопатку, а передній присосок перетворився на невеличкий хоботок (Kowalevski, 1896).

У своїй монографії, присвяченій фауні п'явок України, Є. Лукін (1962) описав монотипний рід *Fadejewobdella*. Серед морфологічних особливостей, на основі яких було описано цей рід, Є. Лукін виділив соміт із п'яти кілець, що не характерно для видів роду *Trocheta*, які мають близькі розміри. Також *F. quinqueannulata* в порівнянні з видами роду *Trocheta* має відносно короткі яйцеві мішки і дуже своєрідний атріум із довгими сильно закрученими рогами (Лукін, 1962). Г. Неземман (1993a) у своїх роботах помилково зазначав, що *F. quinqueannulata* не має преатріальних петель, проте пізніше це було спростовано (Jueg & Grosser, 2017). Ще однією унікальною рисою *F. quinqueannulata* є форма коконів, які на відміну від коконів інших глоткових п'явок мають форму витягнутого овалу (Лукін, 1962).

Рід *Croatobranchus*, представлений єдиним видом *C. mestrovi*, якого було описано з печер Хорватії. Цей вид є вузькоспеціалізованим троглобіонтом і має

унікальну особливість – десять або більше пар бокових відростків, що не характерно для інших глоткових п'явок (Kerovec, Kučinić & Jalžić, 1999). Унікальна морфологія цього виду спонукала виділити його в окремий рід, проте результати філогенетичного аналізу, а також деякі особливості морфології цього виду вказують на близьку спорідненість *C. mestrovi* з п'явками роду *Dina* (Sket et al., 2001).

Також нещодавно німецький фахівець з глоткових п'явок К. Гроссер описав рід *Erpobdellopsis* Grosser, 2017. Представники цього роду за зовнішньою морфологією майже не відрізняються від видів роду *Erpobdella*, проте будова їхньої статевої системи є дещо іншою. На відміну від інших палеарктичних глоткових п'явок представники цього роду не мають преатріальних петель (Jueg & Grosser, 2017).

Окремо варто розглянути неарктичних п'явок. Для цього регіону виділяли п'ять родів глоткових п'явок, а саме *Erpobdella*, *Dina*, *Nephelopsis*, *Mooreobdella* та *Motobdella* (Davies & Govedich, 2001). Відмінність переважної більшості американських видів, яких традиційно відносять до роду *Erpobdella*, полягає в тому, що вони мають не чотири, а три пари очей. Доволі схожими на них є п'явки роду *Motobdella*. Ці п'явки так само, як і американські *Erpobdella* мають п'ятикілечний соміт, проте в них збільшена передня пара очей та наявні сліпі відростки шлунку (Govedich et al., 1998). Американські п'явки, що були віднесені до роду *Dina*, мало чим відрізняються від євразійських і так само мають шість кілець у соміті та чотири пари очей (Davies & Govedich, 2001). П'явки родів *Nephelopsis* та *Mooreobdella* доволі схожі на п'явок роду *Dina*, проте *N. obscura* сильно відрізняється за формою атріуму, а п'явки роду *Mooreobdella* відрізняються тим, що мають три пари очей замість чотирьох (Klemm, 1982).

Інколи до глоткових п'явок відносять австралійський рід *Dineta*, проте цей монотипний рід було описано лише за єдиним типовим зразком, який було втрачено (Mason, 1976; Nesemann & Sharma, 2012).

Отже, згідно з вищесказаним глоткових п'явок наразі розділяють на десять або одинадцять родів, проте така точка зору не є єдиною. Північноамериканські дослідники схилиються до того, щоб вважати роди *Dina*, *Mooreobdella*, *Nephelopsis*, *Trocheta* та *Motobdella* синонімами роду *Erpobdella*. Такі різкі зміни в систематиці не були прийняті європейськими таксономістами, і тому у вжитку знаходяться два варіанти розділення глоткових п'явок на роди.

1.4. Комплекс *Dina apathyi*

Наразі серед глоткових п'явок виділяють низку морфологічно подібних між собою видів, які мають забарвлення, що складається зі світлих плям на темному тлі, кільчастість, характерну для родів *Dina* і *Trocheta*, а також декілька спільних рис у будові статеві системи. Німецькі дослідники (Jueg, 2010; Grosser, 2015) включають до цього комплексу наступні види: *Dina apathyi* Gedroyć, 1916, *D. stschegolewi* (Lukin & Epshtein, 1960), *D. pseudotrocheta* Grosser & Eiseler, 2008 і *Trocheta pseudodina* Nesemann, 1990.

Таксономічна історія комплексу. Історія дослідження видів цієї групи починається в першій половині XX сторіччя з опису *Dina apathyi* Gedroyć, 1916. Цей вид описав польський гірудолог М. Гедройць (1916) з терен нинішньої західної України (с. Новосільці Львівської області) і, найімовірніше, західної Білорусі (Полісся, оз. Біле). На думку автора, описаний ним вид є дуже близьким до *Nephelis grandis* Apathy, 1888, який на той час уже вважався невалідним (Gedroyć, 1916). М. Гедройць у своїй роботі підкреслює, що описана ним *D. apathyi* має плямисте забарвлення, схоже на забарвлення *Herpobdella atomaria* (Carena, 1820) (= *Erpobdella octoculata* (Linnaeus, 1758)), і кільчастість, як у *D. quadristriata* (Grube, 1850) (= *D. lineata* (O.F. Müller, 1774)).

Трохи згодом з Іспанії була описана *D. lineata* var. *punctata* Johansson, 1927, яка так само як і *D. apathyi* має плямисте забарвлення (Johansson, 1927), проте на відміну від неї має повздовжні смуги, характерні для *D. lineata* (Nesemann & Neubert, 1999). Згодом Л. Павловський,

дослідивши типові зразки *D. apathyi*, заперечував видову самостійність *D. apathyi* (Pawlowski, 1936). Отже, за Л. Павловським, *D. apathyi* так само, як і *D. lineata* var. *punctata*, слід відносити до виду *D. lineata*, проте альтернативною була думка Є. Лукіна та В. Епштейна. Вони вважали *D. apathyi* і *D. lineata* окремими видами, а *D. lineata* var. *punctata* – молодшим синонімом або формою *D. apathyi* (Лукин и Эпштейн, 1960). Ці автори аргументували свою точку зору тим, що за їхніми спостереженнями у *D. lineata* ніколи не буває світлих плям, характерних для *D. apathyi* та *D. lineata* var. *punctata*. До того ж, вони детально дослідили п'явок з о. Сардинія, які за зовнішньою морфологією відповідали опису *D. lineata* var. *punctata*. Як виявилось, форма атріуму цих п'явок дуже подібна до атріуму *D. apathyi*, описаного Л. Павловським (Pawlowski, 1936; Лукин, 1976). Згодом зразки з Сардинії були використані Є. Лукіним та В. Епштейном для складання диференційного діагнозу *Herpobdella stschegolewi* Lukin & Epshtein, 1960 (= *D. stschegolewi*) (Лукин и Эпштейн, 1960; Лукин и Эпштейн, 1964).

Другий вид з цієї групи, *Dina stschegolewi* (Lukin & Epshtein, 1960), описали Є. Лукін і В. Епштейн (1960) під ім'ям *Herpobdella stschegolewi*. Його знайшли в Криму, а саме в околицях Бахчисараю та в р. Альма поблизу сіл Віліно й Отрадне. Серед відмінностей між *D. stschegolewi* і п'явками з Сардинії, які, на думку авторів, належали до *D. apathyi*, було виявлено різницю у розмірах тіла, забарвленні та формі атріуму (Лукин и Эпштейн, 1960).

Згодом диференційний діагноз *D. apathyi* та *D. stschegolewi* доповнювався. Спочатку в Угорщини А. Шоош виявив п'явок, яких він ідентифікував як *D. apathyi*. У своєму визначнику він (Soós, 1963) повідомив, що в *D. apathyi* довжина яйцевих мішків сягає чотирьох сомітів на відміну від *D. stschegolewi*, в якій яйцеві мішки сягають семи сомітів (Лукин и Эпштейн, 1960). Пізніше Г. Неземанн повідомляє про присутність в Угорщини двох видів п'явок, *D. apathyi* та *D. punctata* (Nesemann, 1993a). У своїх роботах він на підставі дослідження великої кількості зразків *D. punctata* з

різних країн Європи описує морфологічні особливості цього виду, за якими його можна легко відрізнити, внаслідок чого стає зрозумілим те, що цей вид належить до зовсім іншої групи видів роду *Dina* (Nesemann, 1993a; Nesemann & Neubert, 1999). Також Г. Неземанн описує морфологічні особливості п'явок, яких він ідентифікував як *D. apathyi*. На його думку, *D. apathyi* має атріум з довгими прямими паралельно розташованими рогами (Nesemann, 1993a). Оновлений диференційний діагноз для *D. stschegolewi* та *D. apathyi* було надано К. Гроссером (2015). За його описами, *D. apathyi* відрізняється від *D. stschegolewi* лише більш прямими рогами атріуму, але ці види не розрізняються за довжиною яйцевих мішків (Grosser, 2015). Отже, описи *D. apathyi* в роботах Г. Неземанна (Nesemann, 1993a; Nesemann & Neubert, 1999) і К. Гроссера (Grosser, 2015) збігаються і доповнюють один одного. Водночас в їхніх роботах *D. apathyi* за будовою статевої системи майже не відрізняється від *D. stschegolewi*, що суперечить описам Л. Павловського (Pawlowski, 1936), який досліджував типові зразки цього виду, і А. Шооша (Soós, 1963), хоча спостереження останнього насправді могли стосуватися *D. punctata* (Nesemann, 1993a).

Існують й інші морфологічно близькі види п'явок, з якими можна сплутати вищезгаданих *D. stschegolewi* та *D. apathyi*. Наприклад, *D. pseudotrocheta* Grosser & Eiseler, 2008 дуже походить на *D. stschegolewi* за своєю кільчастістю, забарвленням, туберкуляцією та будовою статевої системи (Grosser & Eiseler, 2008). На думку К. Гроссера (2015), цей вид відрізняється від *D. stschegolewi* дещо більшими розмірами, більшими світлими плямами на поверхні тіла, а його передній кінець тіла забарвлений світліше через злиття світлих плям і відсутність темних парамедіальних ліній, які лише інколи трапляються у *D. stschegolewi*. Крім того, *D. pseudotrocheta* відрізняється вужчим, ніж у *D. stschegolewi* атріумом; за розміром яйцевих мішків відмінностей немає (Grosser, 2015).

Також до цієї групи видів додають *Trocheta pseudodina* Neesemann, 1990 (Jueg, 2010; Grosser, 2015). Цей вид було описано Г. Неземанном з Німеччини (Гессен), і він також має подібне до вищеназваних видів плямисте забарвлення (Neesemann & Neubert, 1999). Водночас цей вид має низку відмінних рис. По-перше, соміт *T. pseudodina* складається з дев'яти кілець, з яких кільця a2 і b5 мають значно більшу ширину (Neesemann & Neubert, 1999). Як і в інших видів цієї групи, забарвлення *T. pseudodina* складається з жовтуватих, пов'язаних з сосочками плям на темнішому тлі. Але на відміну інших видів, *T. pseudodina* має вісім, зрідка дев'ять, поперечних рядів світлих плям на повному соміті (Neesemann & Neubert, 1999). У дорослих особин посередині тіла формується темна поздовжня медіальна смуга, на якій світлі сосочки відсутні (Neesemann & Neubert, 1999). Ці сосочки на різних кільцях мають різний розмір: на кільці a2 знаходиться один ряд великих світлих сосочків; на кільцях c11 та d24 сосочки набагато менші, ніж на інших кільцях; на кільці d23 сосочки майже завжди відсутні (Neesemann & Neubert, 1999). Варто зазначити, що за будовою статевої системи *T. pseudodina* дуже близька до інших видів цього комплексу, *D. stschegolewi* та *D. pseudotrocheta* (Grosser, 2015).

Отже, можна окреслити групу морфологічно близьких видів, до якого належать *D. apathyi*, *D. stschegolewi*, *D. pseudotrocheta* і *T. pseudodina*. До цього комплексу не слід відносити *D. punctata*, яка морфологічно сильно відрізняється від цієї групи видів. Описи статевої системи *D. apathyi* авторства Є. Лукіна з В. Епштейном спираються на досліджені зразків іншого виду, *D. punctata*. Описи будови статевої системи *D. apathyi* у Г. Неземанна та К. Гроссера суперечать описам Л. Павловського, який досліджував типові зразки цього виду. Через це диференційний діагноз *D. apathyi* та *D. stschegolewi* потребують уточнення. Морфологічні відмінності *D. pseudotrocheta* від *D. stschegolewi* дуже незначні, і через це таксономічний статус *D. pseudotrocheta* потребує підтвердження додатковими дослідженнями. Валідність *T. pseudodina* не викликає сумнівів, але надійно визначити цей вид можна лише за зовнішньою морфологією.

Поширення видів комплексу. Вид *D. apathyi* було описано з околиць с. Новосільці, що неподалік Львова, та з Білого озера у Поліссі (Gedroyć, 1916), і якщо розташування першого оселища є однозначним, то уточнень з приводу другого місця в тексті першоопису немає. Пізніше Л. Павловський (1936) дослідив типові зразки цього виду. Посилаючись на це дослідження, було ідентифіковано п'явок з Польщі, з околиць Лодзі (Sandner, 1951). Згодом *D. apathyi* знаходили у Варшаві (Koperski, 2010) та по всій північній половині Польщі (Bielecki et al., 2011). Нами (Хоменко та ін., 2019) було з'ясовано, що зразки П. Коперського (2009) повністю відповідають описам М. Гедройця (1916), Л. Павловського (1936) та Г. Занднера (1951).

Відомо про знахідки *D. apathyi* в Угорщині (Soós, 1963), проте їхня достеменна локалізація залишається невизначеною, а даних про будову статевієї системи цих п'явок недостатньо для того, щоб розрізнити *D. apathyi* від *D. punctata*, які на той момент були синонімізованими. У Румунії в дельті Дунаю *D. apathyi* була знайдена разом із *D. stschegolewi* (Cristea & Manoleli, 1975). Ця знахідка відповідає діагнозу, наданому А. Шоошем (1963). Відомо про знахідки *D. apathyi* в Австрії (Nesemann, 1997), проте морфологічно ці п'явки не відповідають опису Л. Павловського (1936). Також відрізняються від описаних Л. Павловським п'явок зразки з північної Німеччини (Grosser, 2003), ідентифіковані як *D. apathyi*.

Нові дані про поширення *D. stschegolewi* постійно доповнюються. Отже, Є. Лукін і В. Епштейн знайшли цей вид в Криму (1960), а пізніше – на чорноморському узбережжі Кавказу (1964) і припустили, що він може жити на Балканах та в Анатолії. Згодом *D. stschegolewi* знайшли в дельті Дунаю (Cristea, 1975), де цю знахідку було підтверджено фотографією та малюнком статевієї системи. Також *D. stschegolewi* двічі була відмічена для Ірану (Salimi et al., 2011; Darabi-Darestani, Sari & Sarafrazi, 2016) в річках басейну Каспійського моря, а пізніше також була знайдена в східній Грузії та Азербайджані (Khomenko et al., 2018).

Також існують знахідки, приналежність яких до *D. stschegolewi* сумнівна. Наприклад, п'явки, схожі на *D. stschegolewi*, були знайдені в Болгарії (Jueg, 2010), але за словами автора через те, що вони мали недорозвинені статеві органи однозначно ідентифікувати їх було неможливо. Крім того, Г. Неземанн (1993b) знаходив *D. stschegolewi* в Туреччині та Леванті, але ці п'явки суттєво відрізнялися від типової *D. stschegolewi*. Пізніше ця форма була знайдена К. Гроссером та В. Пешичем (2006) у Ірані та через деякий час була спільно з Г. Неземанном описана як *D. orientalis* (Grosser, Nesemann & Pešić, 2011). Александр Белецький (1978) знайшов п'явок, подібних до *D. stschegolewi* в Польщі, проте інформації про них недостатньо, щоб бути впевненими в правильності їхньої ідентифікації.

Trocheta pseudodina була описана з Гессену, Німеччина (Nesemann & Neubert, 1999). За твердженням Г. Неземанна та Е. Нойберта (1999), *T. pseudodina* поширена в Ірландії, Великобританії, Франції, Бельгії, Люксембурзі, Нідерландах і західній Німеччині. Ареал цього виду на заході обмежується басейном Рейну, а на півдні доходить до басейну Рони. Пізніше цю п'явку було знайдено в Німеччині далі на схід, у Саксонії (Grosser & Keitel, 2001) та Тюрінгії (Grosser, 2019) в межах басейну Ельби. Отже, ареал *T. pseudodina* включає значну частину Західної Європи, проте в басейні Балтійського моря знахідок цього виду не було зафіксовано.

Dina pseudotrocheta було описано з околиць м. Аахен що у Північній Рейн-Вестфалії, з р. Ітербах, що входить до басейну Маасу (Grosser & Eiseler, 2008). Згодом цей вид було знайдено у Саксонії (Grosser, Hellwig & Röbber, 2011) в околицях м. Геррнгут в р. Ерліхбах (басейн Одри) та на околиці м. Вердау у р. Мюльбах (басейн Ельби). Отже, всі знахідки цього виду зосереджені в Німеччині в басейні Північного та Балтійського морів.

1.5. Комплекс *Trocheta cylindrica*

Ще одна група морфологічно подібних видів складається з трьох відомих нині видів, це *T. cylindrica* Örley, 1886, *T. haskonis*, *T. taunensis*. Усі вони живуть у проточних водоймах Європи та близькі між собою за зовнішньою морфологією. Перший вид з цієї групи, *T. cylindrica*, був описаний зі Словаччини, проте доволі скоро цей таксон було нівельовано (Košel, 2004), а трохи згодом було описано схожий вид із Прикарпаття, *T. bykowskii* Gedroyć, 1913, для якого згодом був виділений рід *Blanchardia* (Gedroyć, 1916). І хоча рід *Blanchardia* потім було синонімізовано із родом *Trocheta* (Pawlowski, 1936), вид *T. bykowskii* став широко відомим, і довгий час більшість знахідок *Trocheta* відносили до двох видів, до *T. subviridis* або до *T. bykowskii* (Лукин, 1976; Mann, 1959; Nesemann & Neubert, 1999). Згодом значну частину цих знахідок віднесли до інших видів. Зокрема, значну частину знахідок *T. bykowskii* в Західній Європі Г. Неземанном та Е. Нойбертом класифікували як *T. pseudodina* (Nesemann & Neubert, 1999). У своїх роботах Г. Неземанн почав використовувати дві назви: *T. cylindrica* (а пізніше замість неї *Trocheta* sp.) і *T. bykowskii* (Nesemann & Neubert, 1999). Згодом В. Кошель (Košel, 2004) з'ясував, що насправді під назвою *T. bykowskii* в роботах Г. Неземанна фігурує справжня *T. cylindrica*. Що ж стосується виду, якого Г. Неземанн називав *T. cylindrica* та *Trocheta* sp., В. Кошель (2004) надав йому назву *T. longiatriata*, але потім цю назву синонімізували із *T. danastrica* (Grosser & Epshtein, 2009).

Також свого часу знахідки *T. cylindrica* (sensu Nesemann & Neubert, 1999) зі східної Німеччини (Grosser, 1999) були віднесені до нового виду, *T. haskonis*, який пізніше знайшли в Австрії та Сербії (Grosser, 2013), а потім у Боснії і Герцеговині (Grosser, Šukalo & Pešić, 2018). Ще один подібний до *T. cylindrica* вид було описано К. Гроссером (2015) з Німеччини з гір Таунус під назвою *T. taunensis*.

1.6. Види роду *Trocheta* узбережжя Чорного моря

Перші дані про п'явок роду *Trocheta* Чорноморського узбережжя були отримані Р. Бланшаром (1893), який вперше знайшов їх у Криму та описав їхню морфологію. Він знайшов цих п'явок у р. Дерекойка в Ялті і відмітив, що вони сильно відрізнялися від французьких *T. subviridis* та можуть належати до іншої форми або навіть іншого виду. Однак, через те, що п'явки цього роду були недостатньо вивчені, а в Італії ним були знайдені п'явки зі станом ознак, проміжним між французькими та кримськими, Р. Бланшар не став описувати їх як окремий таксон і відніс їх до вищезгаданого виду *T. subviridis*. Довгий час кримських трохет визначали як *T. subviridis* (Щёголев, 1949) або як *T. bykowskii* (= *T. cylindrica*), чи вважали спорідненими з останнім (Лукін, 1962; Лукин, 1976). Ця проблема була нами вирішена, чому була присвячена окрема публікація (Khomenko et al., 2020).

Після знахідки трохет у Криму О. Прендель (1923) знайшов у дельті Дністра п'явок з роду *Trocheta*, яких він відніс до того самого виду *T. subviridis*. Згодом Г. Щёголевим (1938) ці п'явки були знайдені повторно та описані як *T. subviridis* forma *danastrica*. У своїй роботі Г. Щёголев підкреслює подібність описаної ним форми і кримських п'явок, описаних Р. Бланшаром (1893) за будовою соміту та розташуванням гонопорів. У своїй пізнішій роботі Г. Щёголев (1949) відносив п'явок з усього узбережжя Чорного моря до виду *T. subviridis*, щоправда не уточнюючи, чи відносить він кавказьких і кримських трохет до описаної ним форми. Згодом п'явок, схожих на описаних Г. Щёголевим, було знайдено в дельті Дунаю (Cristea & Manoleli, 1975) та ідентифіковано як *T. bykowskii* (= *T. cylindrica*). Пізніше В. Епштейн і О. Залівадний (1995) підвищили ранг *T. subviridis* forma *danastrica* до виду. У своїй монографії Г. Неземанн та Е. Нойберт (1999) під назвою *Trocheta* sp. відмічали *T. danastrica* для Угорщини, Румунії, північної Греції та Анатолії і помилково зазначили, що типове оселище цього виду знаходиться в Грузії. Що важливо, у попередніх роботах цих авторів не описуються знахідок цього виду

в Греції та Анатолії, і, можливо, вони мали на увазі знахідки трохет за авторством І. Шакітано (1958) в районі Босфору. Згодом ми знайшли *T. danastrica* в дельті Дніпра (Хоменко та ін., 2019), і таким чином ми дійшли висновку, що на чорноморському узбережжі *T. danastrica* живе щонайменше від дельти Дунаю до Дельти Дністра. Крім Причорномор'я, *T. danastrica* була виявлена в Австрії (Košel, 2004) та Сербії (Grosser & Epshtein, 2009).

На чорноморському узбережжі Кавказу та Анатолії знахідок *Trocheta* небагато, а самі п'явки з цього регіону мало досліджені. Уперше трохети на Кавказі знайшов Г. Щьоголев (1938) в околицях м. Поті, проте самих їх дослідити автору не вдалося. Пізніше Е. Лукіним (1976) були досліджені трохети з околиць оз. Абрау, які за зовнішньою морфологією нагадували трохет з Криму, і тому він вважав, що вони належать до виду *T. bykowskii* (= *T. cylindrica*) або споріднені з ним. Що стосується трохет з Анатолії, то згадки про них здебільшого походять із посилань на роботу Г. Неземанна та Е. Нойберта (1999), які лише згадували про знахідки трохет в Туреччині без конкретної географічної інформації та посилань.

Отже, п'явки роду *Trocheta* широко розповсюджені в Причорноморі та добре відомі для Криму і Причорноморської низовини, проте трохети Кавказу та особливо Анатолії є малодослідженими. Таксономічне положення трохет з узбережжя Кавказу залишається нез'ясованим. Що стосується трохет з Анатолії, свідчення про них є поодинокими, достовірна інформація про них наразі відсутня. З огляду на складну геологічну історію Причорномор'я, філогенетичні та філогеографічні дослідження причорноморських *Trocheta* виглядають дуже перспективними.

Підбиваючи підсумки, можна зауважити, що класифікація п'явок родини *Eprobdeidae* наразі потребує ретельного перегляду на підставі детальних досліджень морфологічних ознак і молекулярного філогенетичного аналізу. Невизначеність морфологічних діагнозів родів і видів глоткових п'явок спонукає до їхнього переопису з використанням єдиного стандарту. Крім визначення систематичного статусу і філогенетичних зв'язків, для ерпобделід важливим є дослідження закономірностей їхнього географічного поширення як у світовому масштабі, так і в межах окремих регіонів.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Матеріали

Дослідження за темою дисертації проводилися впродовж 2016–2020 років. Для виконання цієї дисертаційної роботи здобувачем було досліджено близько двохсот тридцяти екземплярів глоткових п'явок, що належать до чотирьох родів і тридцяти видів та були зібрані з вісімдесяти семи точок. Більшу частину дослідженого матеріалу складають зразки з колекції кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна. Також частина матеріалу була зібрана здобувачем під час екскурсій та експедицій по Азербайджану, Словенії та Україні. Перелік досліджених зразків з інформацією про місце та час збору матеріалу, кількість екземплярів, отримані послідовності та місця депонування зразків внесено в окремий додаток (додаток 1). Географія досліджених здобувачем зразків охоплює територію тринадцяти країн від Далекого Сходу Росії до Франції.

Для аналізу філогенетичної структури нами були використані чотири матриці з послідовностями різних генів. Загальна матриця із послідовностями гену *cox1* мала довжину у 1531 позицій та містила 691 таксон з яких 65 це отримані нами послідовності, 10 - послідовності надані нашими колегами, та 616 - послідовності, що знаходяться у відкритому доступі у GenBank з яких 10 – це таксони, що складають зовнішню групу. Матриця із послідовностями гену 12S мала довжину у 794 позицій та містила 112 таксонів, з них нами було отримано 42 послідовностей, 3 надано нашими колегами, 67 знаходяться у відкритому доступі, з яких 3 складали зовнішню групу. Матриця із послідовностями гену 28S мала довжину у 2689 позицій та містила 87 таксонів, з яких нами було отримано 29 послідовностей, 3 надано нашими колегами, 55 знаходяться у відкритому доступі, один з яких належить до зовнішньої групи. Матриця із послідовностями гену 18S мала довжину у 1892 позицій та містила 61 таксон, один з яких належить до зовнішньої групи. Усі послідовності цього гену знаходяться у відкритому доступі. Перелік

послідовностей внесено в окремий додаток (додаток 2) з посиланнями на оригінальні дослідження.

Для делімітації глоткових п'явок були використані послідовності гена *cox1*, які були зібрані у три матриці відповідно до приналежності до найчисельніших за кількістю видів еволюційних ліній палеарктичних глоткових п'явок, а саме палеарктичних *Erpobdella*, палеарктичних *Dina* та *Trocheta* (= *Blanchardia*). Матриця палеарктичних *Erpobdella* має загальну довжину у 1534 позицій та складається з 52 таксонів, з яких 12 було отримано нами, 50 знаходяться у відкритому доступі, з яких 10 складають зовнішню групу. Матриця палеарктичних *Dina* має загальну довжину у 708 позицій, складається з 118 таксонів, з яких 9 було отримано нами, 1 надано нашими колегами, 108 знаходяться у відкритому доступі з яких 3 формують зовнішню групу. Матриця *Trocheta* (= *Blanchardia*) має загальну довжину у 661 позицій, складається з 60 таксонів, з яких 42 було отримано нами, 8 надано нашими колегами, 10 знаходяться у відкритому доступі, з яких 3 формують зовнішню групу.

2.2. Методи

2.2.1. Збір, фіксація та збереження зразків

П'явок збирали здебільшого вручну із занурених під воду предметів, таких як гілки, каміння, вища водна рослинність тощо. Використовували такі знаряддя для збирання матеріалу, як гідробіологічний сачок і бентосне сито (Жадин, 1960), за допомогою яких зачерпували донний субстрат або водну рослинність. Донний субстрат після цього промивали в ситі, а водну рослинність перебирали вручну. На етикетці та в польовому журналі відмічали координати точки збору, визначені за допомогою GPS-навігатора або безкоштовного мобільного додатку GPS test (Chartcross Limited, 2020).

Координати точок збору для побудови карти вносили до Google Maps (Google, 2020) та зберігали в форматі KML, після чого вносили до проєкту в програмі QGIS (Version 3.10.7; QGIS Development Team, 2020). Для побудови

карти також використовувалися шари з відкритих баз даних Natural Earth (2020), HydroSHEDS (Lehner, Verdin & Jarvis, 2008) та Global Lakes and Wetlands Database (Lehner & Döll, 2004).

Після вилову п'явок релаксували в 5–10% розчині етилового спирту до повної нерухомості (Лукин, 1976), після чого фіксували в пробірках у 95% етанолі. Через добу спирт з пробірок повністю міняли на чистий 95% етанол. Зафіксовані зразки зберігаються в морозильній камері при температурі – 20°C.

2.2.2. Опис зовнішньої морфології

Забарвлення та туберкуляцію досліджували переважно на зафіксованому матеріалі за допомогою стереомікроскопа й освітлювальних приладів – кільцевого та здвоєного бокового освітлювачів. Спершу описували забарвлення, а саме колір і візерунок на черевній та спинній сторонах, окремі елементи забарвлення, зокрема смуги або плями й закономірності їхнього розташування. У разі можливості фотографували прижиттєве забарвлення та порівнювали його із забарвленням зафіксованих зразків. Після того описували ступінь виразності туберкуляції на спинній та черевній сторонах, закономірності розташування сосочків на поверхні тіла й пов'язаність їхнього розташування з елементами забарвлення, для чого спинну та черевну сторони тіла розглядали під стереомікроскопом під різними кутами освітлення (Роскин и Левинсон, 1957).

Фотодокументацію стану морфологічних ознак проводили за допомогою описаних вище освітлювальних приладів і стереомікроскопа, масштабної лінійки, ванни, залитої парафіном, компактної фотокамери та мікроскопної USB-камери, прилаштованої до третього окуляру стереомікроскопа. Для фіксації розмірів і основного характеру забарвлення зразки фотографували в повну довжину з черевної та спинної сторін (1–2, рис. 3) з масштабною лінійкою. У більшості випадків п'явок у повному розмірі фотографували за допомогою компактної фотокамери, ванни з парафіном та освітлювальних

приладів. Дрібніших п'явок фотографували за допомогою стереомікроскопа та USB-камери, якщо вони повністю поміщалися в полі зору останньої. П'явок для фотографування клали в ванну з парафіном і заливали 95% спиртом, фіксуючи зразок за допомогою мінуцій та дрібних ентомологічних шпильок, проте якщо внаслідок фіксації або неправильного зберігання тіло п'явки було викривлено, то його вирівнювали вручну, фіксували в такому вигляді у ванні з парафіном за допомогою скелець і прозорих пластикових стрічок і тільки після того заливали спиртом для запобігання висихання екземпляра.

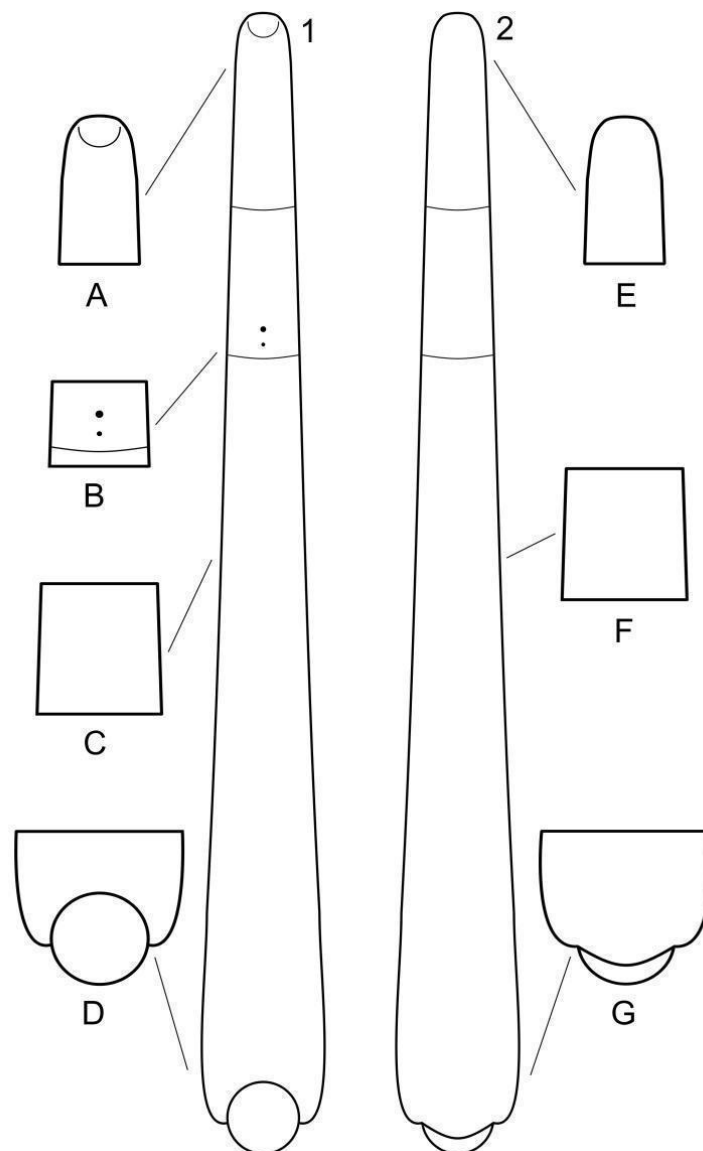


Рис. 3. Ракурси для фотодокументації морфологічних ознак глоткових п'явок. 1 і 2 – п'явка у повному розмірі з вентральної та дорсальної сторони, А і Е – передній кінець тіла, В – положення гонопорів, С і F – морфологія соміта із середини тіла, D і G – задній кінець тіла.

Також для документації дрібніших морфологічних ознак, зокрема окремих елементів забарвлення, туберкуляції, положення гонопорів тощо за допомогою стереомікроскопа та USB-камери робили фотографії з вищим збільшенням у декількох ракурсах (А – Г, рис. 3), на які потім додавали шкали за допомогою програми AxioVision (Version 4.8 1.0; Carl Zeiss Imaging Solutions GmbH, 2009). Для очищення тла і створення колажів з основними систематичними ознаками використовували програму Adobe Photoshop CS4 (Adobe Systems, 2009).

Вимірювання зразків проводилося за схемою для морфометрії «не-пісциколідних» п'явок, запропонованою І. Цихоцькою та А. Білецьким (2015). П'явки середнього та великого розміру вимірювали за допомогою штангенциркуля з ціною поділки 0,02 мм, а п'явок меншого розміру – за фотографіями з використанням програми AxioVision (Version 4.8 1.0; Carl Zeiss Imaging Solutions GmbH, 2009). Для вимірювання параметрів заднього присоска його притискали до предметного скельця і заміряли його розміри з протилежного боку.

2.2.3. Розтин, опис кільчастості та внутрішньої морфології

Однією з найважливіших морфологічних ознак для розрізнення родів глоткових п'явок є кільчастість, тому надзвичайно важливим є встановлення кількості кілець у соміті. Також надзвичайно важливою діагностичною ознакою є положення гонопорів. Ці дві характеристики можна визначити за допомогою розтину. Для цього зразок фіксують у чашці, залитій парафіном, за допомогою пластикових стрічок, які закріплюють ентомологічними шпильками, і заливають спиртом для запобігання висихання. За допомогою стереомікроскопа на черевній стороні тіла трохи нижче пояса скальпелем обережно вирізають тоненьку смужку покривів, а за допомогою препарувальної голки прибирають м'язи для того, щоб дістатися черевного нервового ланцюжка й побачити положення його гангліїв відносно кілець (рис. 4).

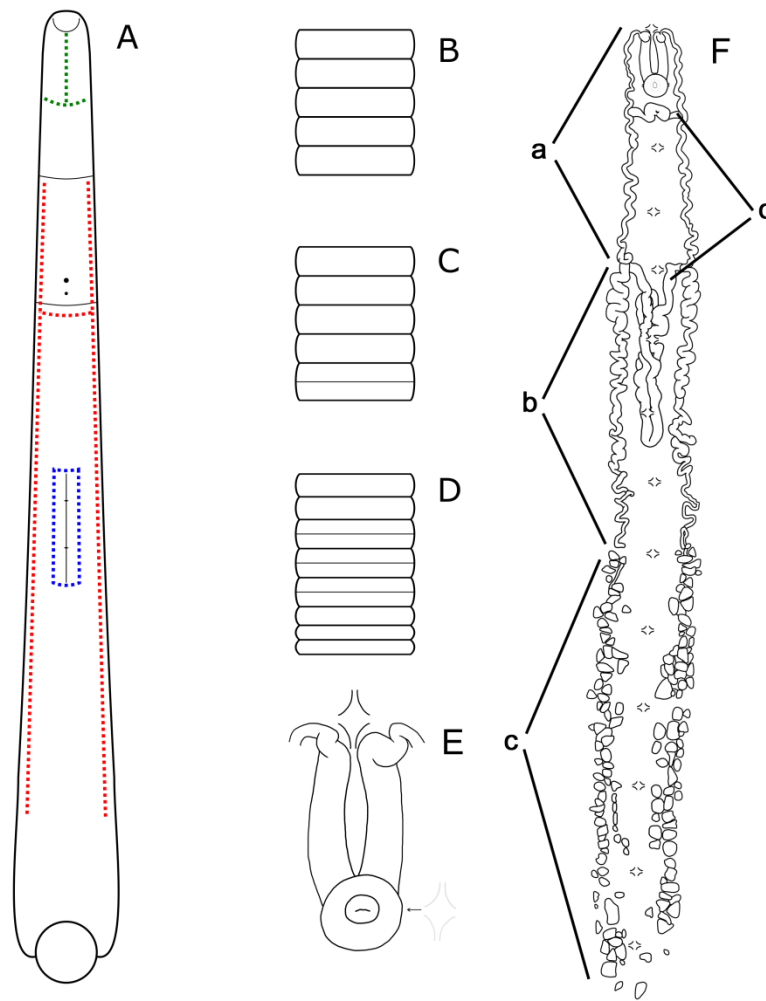


Рис. 4. Схема розтину глоткових п'явок, основні варіанти кільчастості глоткових п'явок і морфологічні ознаки статеві системи. А – схема розтину для глоткових п'явок, де зеленим кольором показано розрізи, необхідні для обстеження псевдогнат, синім кольором показано розрізи, необхідні для визначення меж сомітів, червоним кольором показано розрізи для обстеження статеві системи; В – кільчастість, притаманна видам роду *Erpobdella*; С – типова кільчастість видів роду *Dina*; D – типова кільчастість видів роду *Trocheta*; Е – атріум; F – загальний вигляд статеві системи; а – сім'явипорскувальні канали; b – сім'яні резервуари; c – сім'яні мішки; d – яйцеві мішки.

Згідно з існуючими уявленнями про будову соміта п'явок, ганглій черевного нервового ланцюжка знаходиться в центральній частині соміта, а кільце, під яким він знаходиться, відповідає середньому кільцю предкового трикільцевого соміта (Лукин, 1976). Згідно з уявленнями про еволюцію кільчастості у глоткових п'явок і п'явок загалом (Harding & Moore, 1927; Mann, 1952; Nesemann, 1993a), будова соміта описується у вигляді формули, де мала латинська літера вказує на порядок кільця, а номер поряд із нею вказує на номер кільця в гомологічному ряді відповідного порядку (рис. 5), знак «+»

вказує на наявність повноцінної борозни між цими кільцями, круглі дужки після кільця вказують на неповне розділення кільця додатковими борознами, а розділені комами позначення кілець всередині цих дужок вказують на ті кільця нижчих порядків, на які воно розділяється (Trontelj & Sket, 2000). Отже, формула соміта у *E. octoculata* буде виглядати як $b_1+b_2+a_2+b_5+b_6$, а в *T. subviridis* як $c_1+c_2+b_2(c_3,c_4)+a_2(b_3,b_4)+b_5(c_9,c_{10})+c_{11}+d_{23}+d_{24}$. Отже, дізнавшись про кількість кілець у соміті, ми можемо визначити його формулу й, врахувавши межі сомітів у пояску, точно встановити положення гонопорів.

THEORETICAL TABLE OF ANNULI OF EACH ORDER.			
Primary.	Secondary.	Tertiary.	Quaternary.
a_1	b_1	c_1	$\left\{ \begin{array}{l} d_1 \\ d_2 \end{array} \right.$
		c_2	$\left\{ \begin{array}{l} d_3 \\ d_4 \end{array} \right.$
	b_2	c_3	$\left\{ \begin{array}{l} d_5 \\ d_6 \end{array} \right.$
		c_4	$\left\{ \begin{array}{l} d_7 \\ d_8 \end{array} \right.$
a_2	b_3	c_5	$\left\{ \begin{array}{l} d_9 \\ d_{10} \end{array} \right.$
		c_6	$\left\{ \begin{array}{l} d_{11} \\ d_{12} \end{array} \right.$
	b_4	c_7	$\left\{ \begin{array}{l} d_{13} \\ d_{14} \end{array} \right.$
		c_8	$\left\{ \begin{array}{l} d_{15} \\ d_{16} \end{array} \right.$
a_3	b_5	c_9	$\left\{ \begin{array}{l} d_{17} \\ d_{18} \end{array} \right.$
		c_{10}	$\left\{ \begin{array}{l} d_{19} \\ d_{20} \end{array} \right.$
	b_6	c_{11}	$\left\{ \begin{array}{l} d_{21} \\ d_{22} \end{array} \right.$
		c_{12}	$\left\{ \begin{array}{l} d_{23} \\ d_{24} \end{array} \right.$

Рис. 5. Таблиця розділення кілець на кільця нижчого порядку за Harding & Moore, 1927.

Також додаткову інформацію для розрізнення близьких видів може надати дослідження морфології псевдогнат. Для цього від ротового отвору до середини передпояскової області тіла роблять повздовжній розріз скальпелем, після чого від кінця повздовжнього розрізу роблять неглибокий поперечний

розріз (рис. 4). Таким чином утворюється Т-подібний розріз, який дозволяє розгорнути глотку, при вершині якої можна побачити два трикутні м'язисті виступи – псевдогнати. Для подальшого фотографування краї глотки розгортають за допомогою пінцета та фіксують у такому вигляді мінуціями.

Особливе значення в розрізненні споріднених видів глоткових п'явок мають ознаки будови статевої системи. З ознак, на які звертають увагу, насамперед можна виділити форму й розмір атріуму відносно відстані між прилеглими гангліями черевного нервового ланцюжка, а також положення сім'яних мішків, сім'яних резервуарів, сім'явипорскувальних каналів та яйцевих мішків відносно гангліїв і загальні особливості їхньої морфології (рис. 4). На відміну від інших п'явок, дослідження статевої системи ерпобделіформних п'явок проводиться під час розтину з черевної сторони, для чого зазвичай робиться два поперечні розрізи вище і нижче пояскової зони та два повздовжні розрізи по краях тіла таким чином, щоб зняти покриви з пояскової зони та нижче, після чого пінцетом і препарувальними голками видаляються м'язи та паренхіматозна тканина (Лукин, 1976). Для особливо цінних екземплярів ми проводили розтин за модифікованою схемою (рис. 4), яка дозволяє зберегти покриви черевної сторони і такі важливі діагностичні ознаки, як розташування гонопорів, кільчастість та туберкуляцію черевної сторони тіла.

Після розтину фіксувалося взаємне положення органів статевої системи за допомогою стереомікроскопу, USB-камери й освітлювальних приладів. Фотографії робили з великим збільшенням у вигляді серії знімків, які потім об'єднували в один панорамний знімок за допомогою програми Image Composite Editor (Microsoft, 2019). Окремо на різній глибині різкості робили фото атріуму й прилеглих гангліїв та ділянок сім'явипорскувальних каналів, які потім об'єднували в один знімок за допомогою програми Helicon focus (Helicon Soft Limited, 2019). Потім за допомогою програми AxioVision (Version 4.8 1.0; Carl Zeiss Imaging Solutions GmbH, 2009) на знімки загального

вигляду статевої системи додавалася шкала. Пізніше загальний вигляд статевої системи, а також атріуму і псеводогнат замальовували за допомогою графічного планшету та програми Adobe Photoshop CS4 (Adobe Systems, 2009).

2.2.4. Виділення геномної ДНК, ПЛР, детекція та очищення ПЛР-продуктів

Для виділення геномної ДНК ми переважно використовували набір GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit, у якому застосовується метод виділення ДНК за допомогою зв'язувальних колонок. Для виділення ДНК таким способом у зафіксованих п'явок з боків (в задній частини тіла) одноразовим лезом відрізали шматочок тканини розміром 3*2*1 мм, який потім подрібнювали в одноразовій чашці Петрі.

Подрібнені шматочки переносили до пробірки 1,5 мл, після чого в пробірку вносили 180 мкл лізуючого розчину (Lysis Solution T) та 20 мкл розчину протеїнази К, вортексували до занурення шматочків у рідину й інкубували за температури 55°C протягом 3–6 годин до розчинення шматочків. Потім до проби додавали 20 мкл розчину для лізації РНК (RNase A Solution), після чого проба інкубувалася 2 хвилини за кімнатної температури.

Тим часом підготовлювали колонки, для чого до збірної пробірки необхідно вставити колонку, внести в неї 500 мкл підготовчого розчину (Column Preparation Solution) та центрифугувати за 12 000 g протягом 1 хвилини, після чого вилити відфільтровану рідину зі збірної пробірки.

Наступним кроком до проби додавали 200 мкл лізуючого розчину (Lysis solution C) та 15 секунд ретельно розмішували вортексом. Потім у пробу додавали 200 мкл етанолу й ретельно перемішували її на вортексі протягом 5–10 секунд.

Підготовлену пробу переносили до зв'язувальної колонки, після чого пробірку з колонкою закривали й центрифугували за 6500 g протягом 1 хвилини, відфільтровану рідину виливали. Далі колонку двічі промивали спеціальним розчином (Wash Solution), для чого до колонки вносили 500 мкл

розчину й центрифугували, перший раз за 6500 g протягом 1 хвилини, зливали відфільтровану рідину, та другий раз протягом 3 хвилин із максимальною швидкістю (12000-16000 g), щоб висушити зв'язувальну колонку, після чого відфільтровану рідину знову виливали. У разі наявності залишків промивного розчину в колонці пробірку з колонкою центрифугували ще один раз протягом 1 хвилини з максимальною швидкістю.

Після цього колонки переносили в нові збірні пробірки, додавали безпосередньо до центру колонки 60 мкл вимивного розчину (Elution Solution), інкубували за кімнатної температури 5 хвилин і центрифугували за 6500 g протягом 1 хвилини, після чого, залишаючи відфільтровану рідину у пробірці, додавали ще 40 мкл вимивного розчину та повторно центрифугували за 6500 g протягом 1 хвилини. Після другого вимивання колонку викидали, а 100 мкл отриманого розчину геномної ДНК разом зі збірною пробіркою заморожували та зберігали за температури -20°C.

Табл. 1. Програми для ампліфікації та очистки ПЛР-продуктів.

HCO2198+LCO1490		DES1+LEV		DES2+LEV2		ExoI+SAP	
К-ть цикл ів	Температура та час інкубації	К-ть цикл ів	Температура та час інкубації	К-ть цикл ів	Температура та час інкубації	К-ть цикл ів	Температура та час інкубації
*1	95°C – 3 хв.	*1	94°C – 1 хв.	*1	95°C – 3 хв.	*1	37°C – 30 хв.
*3	95°C – 30 с. 43°C – 1 хв. 30 с. 72°C – 1 хв.	*35	94°C – 45 с. 50°C – 45 с. 72°C – 1 хв.	*35	95°C – 45 с. 48°C – 30 с. 72°C – 1 хв. 30 с.		
*3	95°C – 30 с. 45°C – 1 хв. 30 с. 72°C – 1 хв.						
*3	95°C – 30 с. 47°C – 1 хв. 30 с. 72°C – 1 хв.						
*30	95°C – 30 с. 49°C – 1 хв. 30 с. 72°C – 1 хв.					*1	85°C – 15 хв.
*1	72°C – 5 хв.	*1	72°C – 3 хв.	*1	72°C – 3 хв.		

Для ПЛР ми використовували готові мастермікси DreamTaq Green PCR Master Mix (2X). Для цього готували розчин з 7,5 мкл концентрованого мастерміксу, по 1,2 мкл кожного праймера в концентрації 5 мкмоль/л та 2,1 мкл води з розрахунку на кожну пробу. Після того 12 мкл готового мастерміксу

вносили в пробірки об'ємом 0,2 мл, після чого до них додавали 3 мкл геномної ДНК. Закриті пробірки встановлювали в ампліфікатор, де термостатували залежно від використаних праймерів. Для ампліфікації застосовували наступні праймери: LCO1490 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG-3' та HCO2198 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT-3' (Folmer et al., 1994) для *cox1*, Des1 5'-CCT ACT TTG TTA CGA CTT AT-3' та Lev 5'-GCC AGC AGC CGC GGT TA-3' (Trontelj & Utevsky, 2005) для 12S, Des2 5'-GTT CAC CAT CTT TCG GGT C-3' (Verovnik, Sket, & Trontelj, 2005) та Lev2 5'-CAA GTA CCG GTG AGG GAA AGT T-3' (Zakšek, Sket, & Trontelj, 2007) для 28S. Програми для ампліфікації вказані вище (табл. 1).

Детекція ПЛР-продуктів проводили за допомогою електрофорезу в 1% агарозному гелі. На 75 г розплавленого гелю додавали 4 мкл розчину люмінесцентного барвника – бромистого етидію з концентрацією 10 г/л. Розплавлений гель заливали у ванну, після чого в гель вставляли спеціальні гребінки для формування у ньому лунок. ПЛР-продукт вносили дозатором у лунку в кількості 3 мкл. Якщо у складі мастерміксу був відсутній кольоровий барвник, до ПЛР-продукту на стадії внесення до гелю додавали барвник у пропорції 1 мкл барвника на 3 мкл ПЛР-продукту. Для цього на парафінову стрічку у вигляді окремих крапель наносили барвник, а потім до кожної з крапель додавали ПЛР-продукт, після чого вони змішувалися і вносилися до лунки. Сам барвник готували з 1 мл 1% водного розчину крезолу червоного, 16 мл гліцерину та 33 мл дистильованої води, після чого розчин розливали по пробірках і зберігали за 4°C. До однієї з лунок у гелі вносили маркер, що дозволяє визначити приблизний розмір ампліфікованого фрагмента. Електрофорез проводили у 1% розчині TBE-буфера під напругою у 60V протягом сорока хвилин. Детекцію гелю проводили у транслюмінаторі під дією UV-випромінювання з довжиною хвилі 300 нм (рис. 6). Очищення ПЛР-продуктів проводилося за допомогою ферментів екзонуклеази I та лужної фосфатази. Для цього 10 мкл ПЛР-продукту переносили в нову пробірку, в яку попередньо внесли суміш 1 мкл екзонуклеази I (ExoI) та 2 мкл креветкової

лужної фосфатази (SAP), після чого суміш інкубувалася в ампліфікаторі за вказаною в таблиці вище програмою (табл. 1). Після очистки ПЛР-продукт розділяли на дві частини по 5 мкл кожна. До кожної з них додавали прямий та зворотній праймери у кількості 5 мкл та концентрації 5 мкмоль/л.

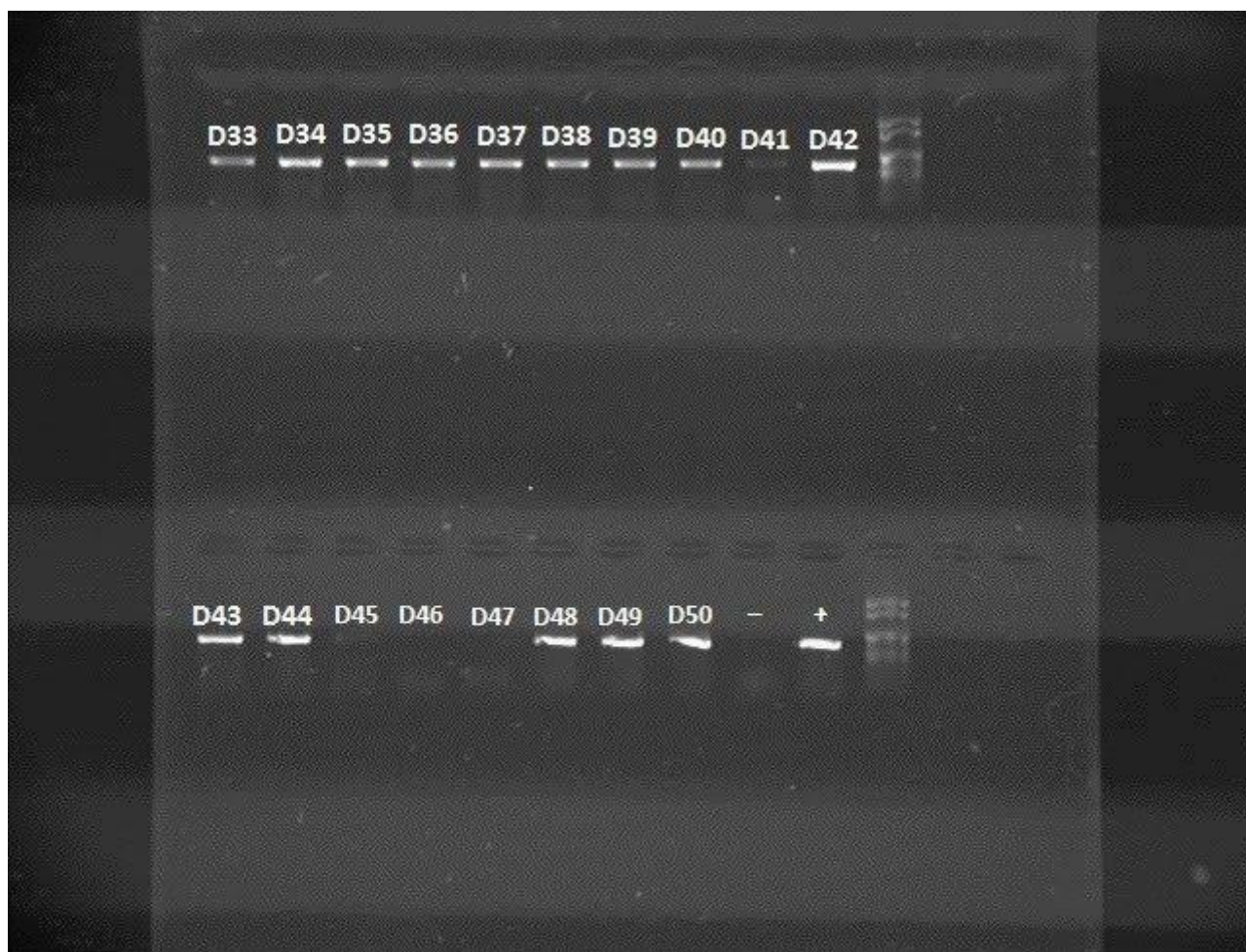


Рис. 6. Детекція ПЛР-продуктів у агарозному гелі.

2.2.5. Отримання послідовностей та їхнє вирівнювання

Секвенування ПЛР-продуктів проводилося компанією Macrogen (Нідерланди) в дві сторони з прямим та зворотнім праймерами відповідно. Отримані таким чином хроматограми редагували в програмі ChromasPro (Version 2.1.8; Technelysium, 2018; рис. 7). Отримані послідовності зберігали у форматі .fas, після чого на їхній основі формували сукупні матриці. Попередньо послідовності вирівнювали за допомогою алгоритму Clustal W (Thompson, Higgins & Gibson, 1994) у програмі BioEdit (Hall, 1999). Після

попереднього вирівнювання у послідовностей вручну в програмі BioEdit видаляли ділянки, що відповідають праймерам.

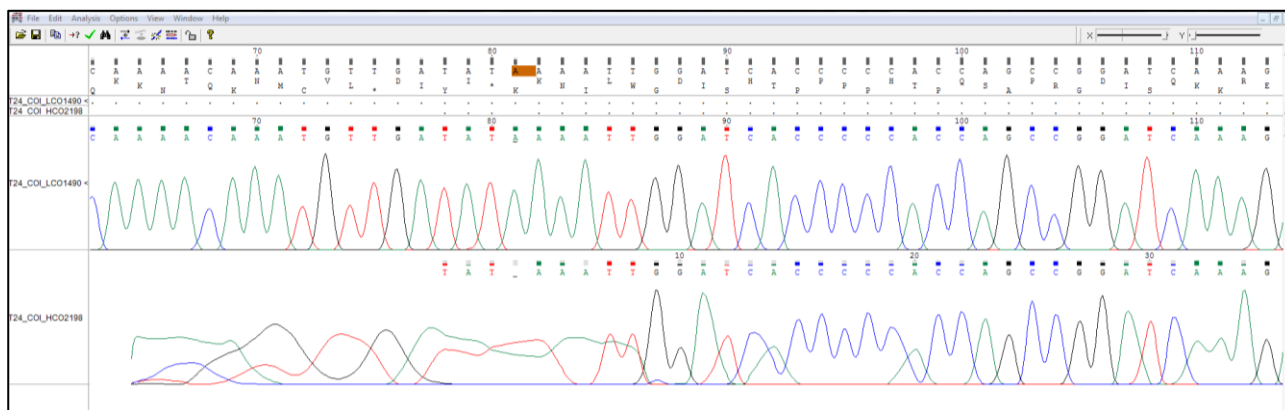


Рис. 7. Редагування хроматограм, отриманих за допомогою секвенування. Верхня та нижня хроматограми були отримані за допомогою секвенування з використанням прямого та зворотного праймерів відповідно.

Фінальне вирівнювання послідовностей ДНК проводилося за допомогою онлайн-програми Mafft (Katoh, Rozewicki & Yamada, 2019), за алгоритмом FFT-NS-1 для послідовностей *cox1*, та алгоритмом FFT-NS-i для рибосомальних генів 12S, 28S та 18S.

2.2.6. Методи філогенетичного аналізу

У попередніх роботах (Siddall, 2002; Oseguera-Figueroa et al., 2011; Tessler, Siddall & Oseguera-Figueroa, 2018) мультилокусний філогенетичний аналіз або не дозволив виявити філогенетичної структури родини або виявлені клади мали низьку ймовірнісну оцінку. З огляду на це нами було вирішено проаналізувати послідовності чотирьох найбільш досліджених для глоткових п'явок генів окремо, а саме *cox1*, 12S, 28S і 18S. Для виявлення філогенетичної структури всередині найчисленніших за кількістю видів палеарктичних еволюційних ліній глоткових п'явок та їхньої делімітації нами було проаналізовано послідовності гена *cox1* палеарктичних *Erpobdella*, палеарктичних *Dina* та *Trocheta* (=Blanchardia).

Філогенетичний аналіз проводився за методом максимальної правдоподібності в онлайн-програмі IQ-tree (Trifinopoulos et al., 2016). Для визначення рамки зчитування гена *cox1* використовували програму MEGA X

(Kumar et al., 2018). Моделі нуклеотидних замін (еволюційні моделі) були вибрані за допомогою вбудованої в IQ-tree програми ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) шляхом розрахунку Бассова інформаційного критерію. Для першої позиції кодона гена *cox1* використали модель Тамури та Нея (Tamura & Nei, 1993) із емпіричними частотами основ і чотирма гамма-категоріями (TN+F+G4 in Posada, 2008). Для другої – трипараметричну модель Кімури (Kimura, 1981) з нерівними емпіричними частотами основ та чотирма гамма-категоріями (TPM3u+F+G4 in Posada, 2008). Для третьої позиції кодона використали трансверсійну модель (Posada, 2003) із емпіричними частотами основ та чотирма гамма-категоріями (TVM+F+G4 in Posada, 2008). Для послідовностей генів 12S та 28S було використано модель GTR (Tavaré, 1986) із емпіричними частотами основ, інваріантними сайтами та чотирма гамма-категоріями (GTR+F+I+G4 in Posada, 2008). Для послідовностей гена 18S використали транзиційну модель (Posada, 2003) із двома узагальненими гамма-категоріями (TIM3e+R2 in Posada, 2008). Для оцінки статистичної підтримки клад в отриманих деревах використали метод ultrafast bootstrap (Minh et al., 2013). У разі виявлення в результаті аналізу монофілетичних груп з низькою бутстреп-підтримкою або аномальною філогенетичною структурою проводили аналіз на наявність так званих «rogue taxa», тобто таксонів, які в процесі аналізу приєднувалися до випадкової кладки, таким чином знижуючи її підтримку. Цей аналіз виконали за допомогою онлайн-програми RogueNaRok (Aberer, Krompass & Stamatakis, 2013) із використанням критерію «support on best tree estimate», оптимізованим за бутстреп-підтримкою. Після виключення таких таксонів філогенетичний аналіз проводили повторно. Отримані дерева спочатку редагували за допомогою програми FigTree (Version 1.4.4; Molecular Evolution, Phylogenetics and Epidemiology, 2018), зберігали у форматі .svg, після чого за допомогою програми Inkscape (The Inkscape Team, 2019) редагували кольори, підписи, шрифти тощо. Також за допомогою Inkscape на зображеннях з

філогенетичними деревами візуалізували результати делімітації та стани деяких морфологічних ознак.

2.2.7. Методи делімітації видів

За допомогою філогенетичного аналізу ми виявили, що такі еволюційні лінії, як палеарктичні *Erpobdella*, палеарктичні *Dina* та *Trocheta* (= *Blanchardia*) складаються з великої кількості видів. Для систематизації видового різноманіття всередині великих клад ми використовували різні методи делімітації видів. Були застосовані найбільш вживані алгоритми, а саме ABGD (Puillandre et al., 2012), PTP (Zhang et al., 2013), GMYC (Fujisawa & Barraclough, 2013) та K/θ (Birky, 2013). Для визначення того, які з чотирьох молекулярних маркерів (*cox1*, 12S, 28S та 18S) підходять для делімітації, ми за допомогою онлайн-програми ABGD побудували гістограми розподілу попарних дистанцій для того, щоб побачити, чи відображає мінливість кожного з маркерів різкий перехід між внутрішньовидовою та міжвидовою мінливістю. Завдяки цьому підходу ми з'ясували, що з чотирьох маркерів для делімітації підходить лише *cox1*. З огляду на те, що філогенетичний аналіз підтвердив, що представники вищеназваних еволюційних ліній формують монофілетичні групи, ми застосували критерії делімітації для кожної групи окремо, що покращило роздільну здатність аналізу. Отже, для делімітації видів нами були сформовані матриці з послідовностями гена *cox1*, на основі яких був проведений філогенетичний аналіз за методикою, описаною розділом вище.

Для делімітації за допомогою алгоритму ABGD в онлайн-програму завантажували матрицю, після чого необхідно було вибрати один з трьох методів розрахунку генетичної дистанції та відносну ширину розриву (relative gap width), показник якої визначає строгість результатів. Нами було використано всі три методи розрахунку генетичної дистанції: проста генетична дистанція (simple distance) та дистанції з використанням еволюційних моделей JC69 (Jukes & Cantor, 1969) і K80 (Kimura, 1980). Також аналіз проводили з

використанням трьох значень відносної ширини розриву: 0,5, 1,0 та 1,5. За допомогою аналізу нами були отримані так звані «*barcoding gaps*», тобто діапазони генетичних дистанцій, які визначають розрив між внутрішньовидовим і міжвидовим різноманіттям, а також розподіли вибірки на групи (*partition*), які потім порівнювалися між собою. Нами виключалися ті розподіли, які пропонували групи зі статусом виду, що не були монофілетичними за результатами філогенетичного аналізу цієї вибірки. Також виключалися розподіли, в яких у близькоспоріднені зразки розділялися на два або більше видів (дистанція між групами менша за *barcoding gap*). Потім перевірені таким чином розділення таксонів були візуалізовані графічно на філогенетичних деревах.

Для аналізу за допомогою алгоритму РТР дерево у форматі Newick завантажували в онлайн-програму з використанням максимальної, 500000, кількості Марківських ланцюгів (MCMC). Після отримання результатів аналізу перевіряли ступінь конвергенції, після чого розподіли таксонів, отримані за допомогою простого евристичного пошуку та методу максимальної правдоподібності, візуалізували на зображеннях з філогенетичними деревами.

Для аналізу з використанням алгоритму GMYC ми написали оригінальний скрипт (додаток 3) для програмного середовища R (R Core Team, 2018) та бібліотеки *SPeies' Limits by Threshold Statistics (splits)* (Fujisawa & Barraclough, 2013), за допомогою якого філограми, отримані в результаті філогенетичного аналізу трансформували у хронограми та за допомогою алгоритму GMYC розраховували розподіли на таксони однопороговим і багатопороговим методом. Отримані таким чином розподіли на таксони потім були візуалізовані на філогенетичних деревах.

Значення критерію Бьоркі (K/θ) розраховували вручну у програмі Microsoft Excel (Microsoft, 2010). За рекомендованою автором методикою (Birky, 2013), за допомогою критерію K/θ порівнювали між собою дві сестринські групи таксонів (або групу і один окремий таксон), які за

результатами філогенетичного аналізу мають високу статистичну підтримку (бутстреп вищий за 70). Якщо значення критерію було менше чотирьох, це вказувало на те, що порівнювані групи таксонів належать до одного виду. У такому разі ці дві групи об'єднувалися в одну та порівнювалися з іншою філогенетично найближчою групою або окремим таксоном. Для цього в програмі MEGA X (Kumar et al., 2018) для матриці визначали найкращу модель субституції, а для порівнюваних груп розраховували такі показники, як d – внутрішньогрупова мінливість та K – міжгрупова мінливість з використанням визначеної моделі субституції. Знаючи внутрішньогрупове різноманіття d та кількість зразків n , розраховували показник генетичного різноманіття π за формулою $\pi = d(n/(n-1))$. У разі, якщо $d = 0$, тобто генетичного різноманіття всередині групі не було виявлено, π розраховували за формулою $\pi = 2/Ln(n-1)$, де L це довжина вирівнювання в парах основ. Потім на основі значення π розраховували показник θ за формулою $\theta = \pi/(1-4p/3)$, після чого значення θ ділилося на міжгрупову дистанцію K . Отримані таким чином результати потім були графічно відображені на філогенетичних деревах.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ

3.1. Систематична частина

3.1.1. *Erpobdella* Blainville, 1818

П'явки невеликого або середнього розміру. Соміт складається з п'яти кілець рівної ширини, які не розділяються додатковими борознами, але винятком з цього правила є види *E. japonica* та *E. borisi*, у яких останнє кільце соміта розширене або розділене на два кільця (Nesemann, 1995b; Cichocka et al., 2015). Монофілетичність палеарктичних *Erpobdella* була підтверджена нами за допомогою аналізу послідовностей генів 12S (рис. 8; рис. 38) та 18S (рис. 41).

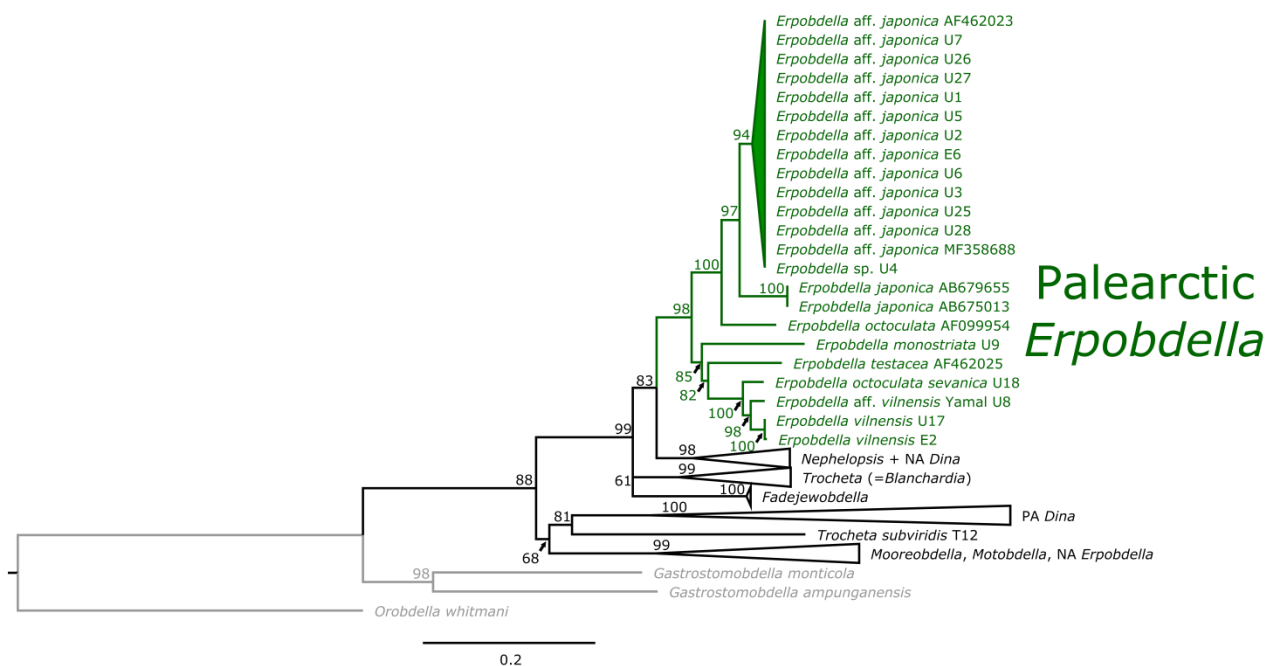


Рис. 8. Філогенетичні зв'язки між глотковими п'явками за результатами аналізу послідовностей 12S.

***Erpobdella testacea* (Savigny, 1820)**

Syn: *Nephelis testacea* Savigny, 1820

Herpobdella testacea (Savigny, 1820)

Типове оселище. Франція, околиці Парижу (Nesemann & Neubert, 1999).

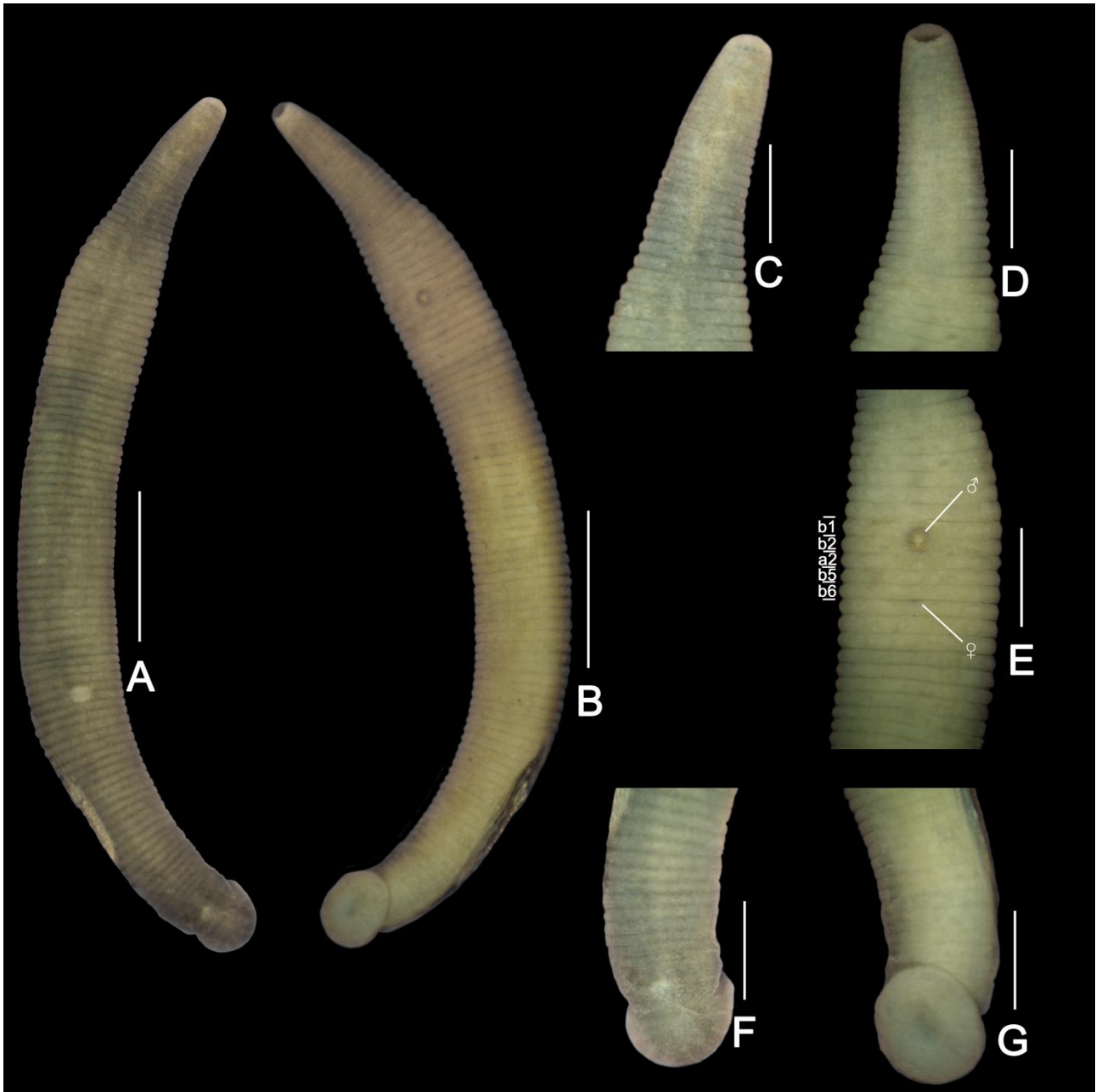


Рис. 9. Зовнішня морфологія *E. testacea*. А, В – загальний вигляд; С, D – головна частина і ротовий присосок зі спинної та черевної сторони; Е – поясок; F, G – задній присосок зі спинної та черевної сторони. Шкала для А–В – 5 мм, для В–F – 2 мм.

Поширення. Знахідки цього виду відомі в багатьох країнах Європи (Nesemann & Neubert, 1999), але з високою ймовірністю значна частина цих знахідок належить виду *E. monostriata* (див. нижче).

Зовнішня морфологія. Темнозabarвлена п'явка без візерунку (плям і смуг) (рис. 9), досягає розміру чотирьох сантиметрів (Nesemann & Neubert, 1999). Соміт складається з п'яти кілець рівної ширини, формула соміту – $b1+b2+a2+b5+b6$ (рис. 9). Чоловічий гонопор знаходиться в борозні між $b1$ і $b2$, жіночий – між кільцем $b6$ і $b1$ наступного соміту, таким чином гонопори розділені чотирма кільцями (рис. 9).

Внутрішня морфологія. Атріум *E. testacea* займає близько половини відстані між гангліями, має Y-подібну форму (рис. 10). Спільний відділ видовжений, роги атріуму сильно скручені, на кінцях товсті та закруглені (рис. 10). Зазвичай роги наполовину сховані під спільним відділом, та загнуті вперед (рис. 10).

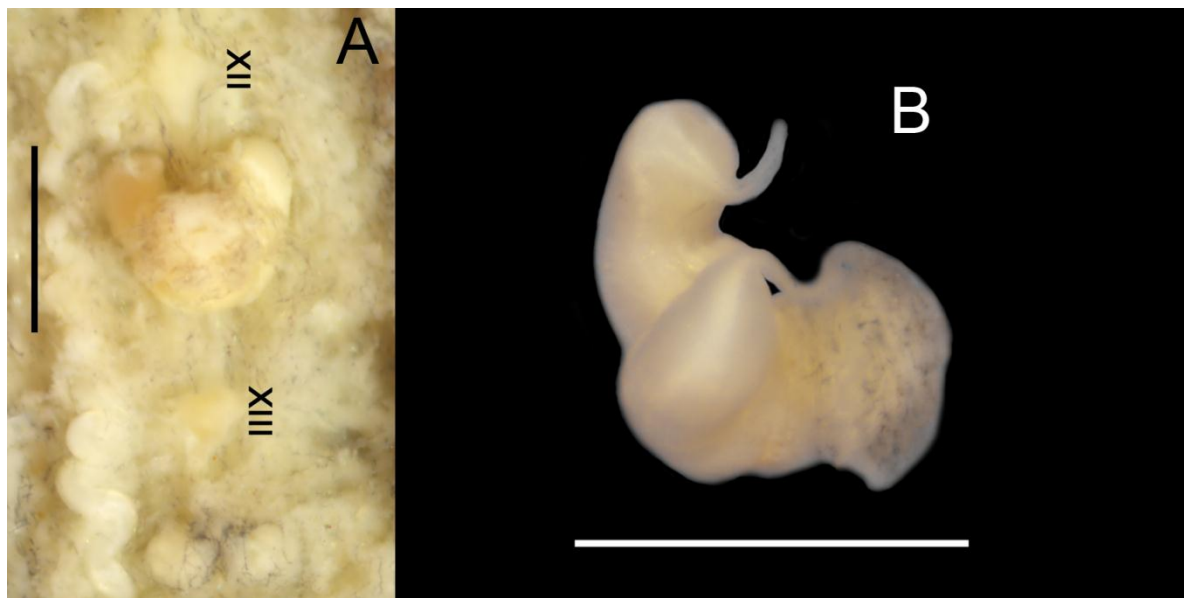


Рис. 10. Морфологія атріуму *E. testacea*. Частково та повністю відпрепарований атріум. Шкала = 1 мм.

***Erpobdella monostriata* (Lindenfeld & Pietruszynski, 1890)**

Глотківка односмугова

Syn: *Nephelis octoculata* var. *monostriata* Lindenfeld & Pietruszynski, 1890

Типове оселище. Голотип втрачено, неотип походить з Барлінецького озера, що біля м. Барлінек, Польща (Nesemann & Neubert, 1999).

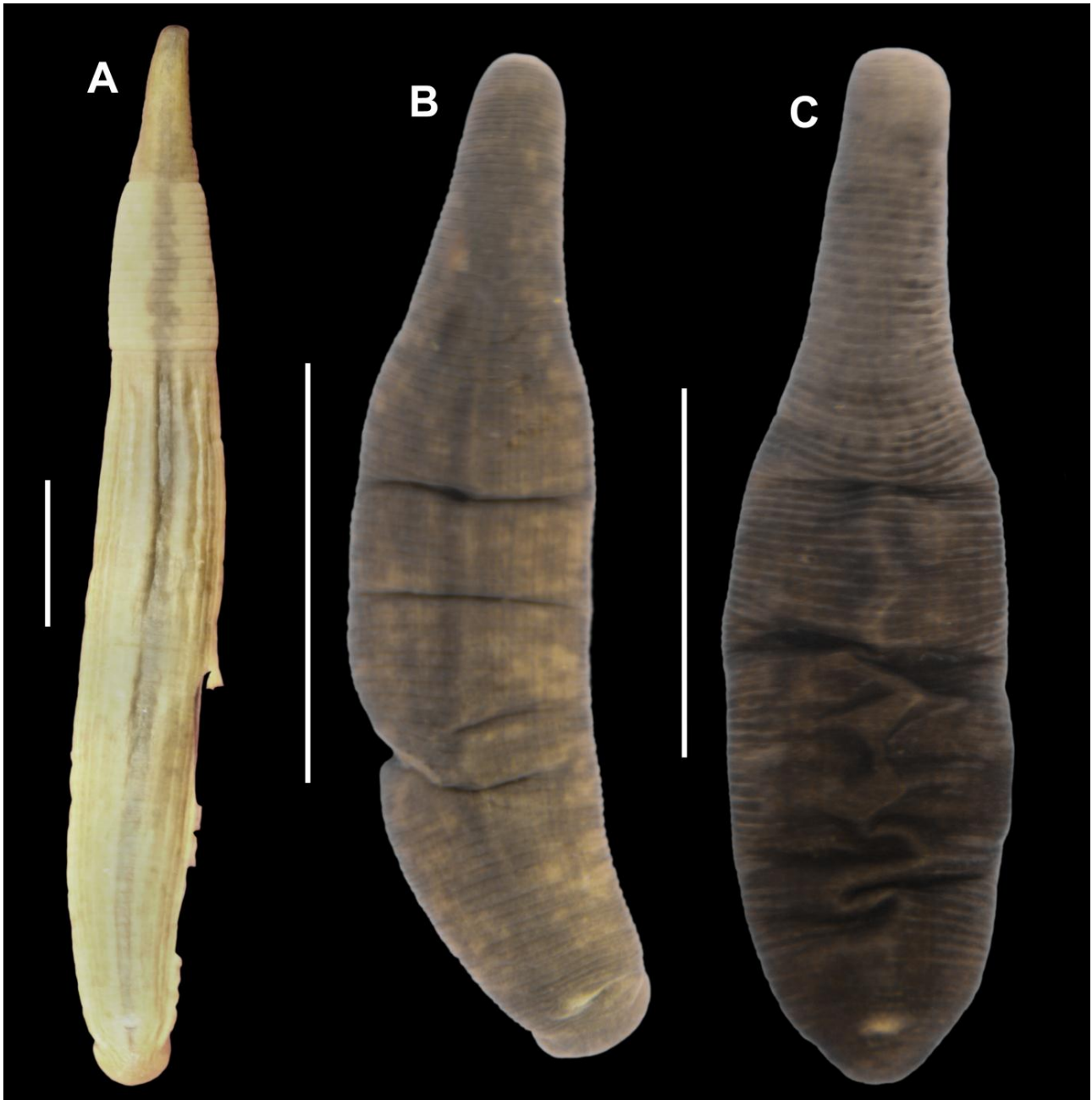


Рис. 11. Мінливість забарвлення *E. monostriata* та її форми тіла. А – оз. Біле, Харківська обл.; В – оз. Острівянське, Волинська обл.; С – р. Хлібна, Кольській півострів. Шкала 5 мм.

Поширення. Цей вид живе у північній частині Європи, від Кольського півострова на півночі (Хоменко, Утевський та Палатов, 2018) до України (Лукин, 1929) та південної Польщі на півдні (Bielecki et al., 2011) і від Большеземельської тундри на сході (Baturina, Kaygorodova & Loskutova, 2020) до Нідерландів на заході (Haaren et al., 2004). Поширення цього виду може бути недооцінене через мінливість забарвлення (див. нижче).

В Україні *E. monostriata* вперше виявив у Харківській області Є. Лукін (Лукин, 1929), але він визначив цих п'явок як *E. testacea*. Ми знайшли *E. monostriata* у Волинській області, а пізніше повторно знайдено Н. Ковальчук і А. Ковальчук в Харківській області і визначено нами як *E. monostriata*. Приналежність цих зразків до *E. monostriata* була підтверджена за допомогою філогенетичному аналізу послідовностей гена *cox1* (рис. 44).

Зовнішня морфологія. П'явка невеликого розміру, до трьох з половиною сантиметрів довжиною. Зазвичай тло забарвлення у *E. monostriata* досить світле, а на спинній поверхні тіла можна побачити чітку темну смугу, що тягнеться вздовж всього тіла, але інколи тло може бути пігментованим аж до повністю чорного забарвлення, як це було виявлено у п'явок з Кольського півострова (Хоменко, Утевський та Палатов, 2018; рис. 11). Соміт складається з п'яти кілець рівної ширини, формула соміта – $b1+b2+a2+b5+b6$ (рис. 12). Гонопори розділені чотирма кільцями. Чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями $b1$ і $b2$, а жіночий – між кільцем $b6$ і $b1$ наступного соміту (рис. 12).

Внутрішня морфологія. Атріум *E. monostriata* займає близько половини відстані між гангліями, має Y-подібну форму (рис. 13). Спільний відділ видовжений, роги атріуму трохи вигнуті у дорзовентральному напрямі, на кінцях стоншуються та утворюють завитки (рис. 13).

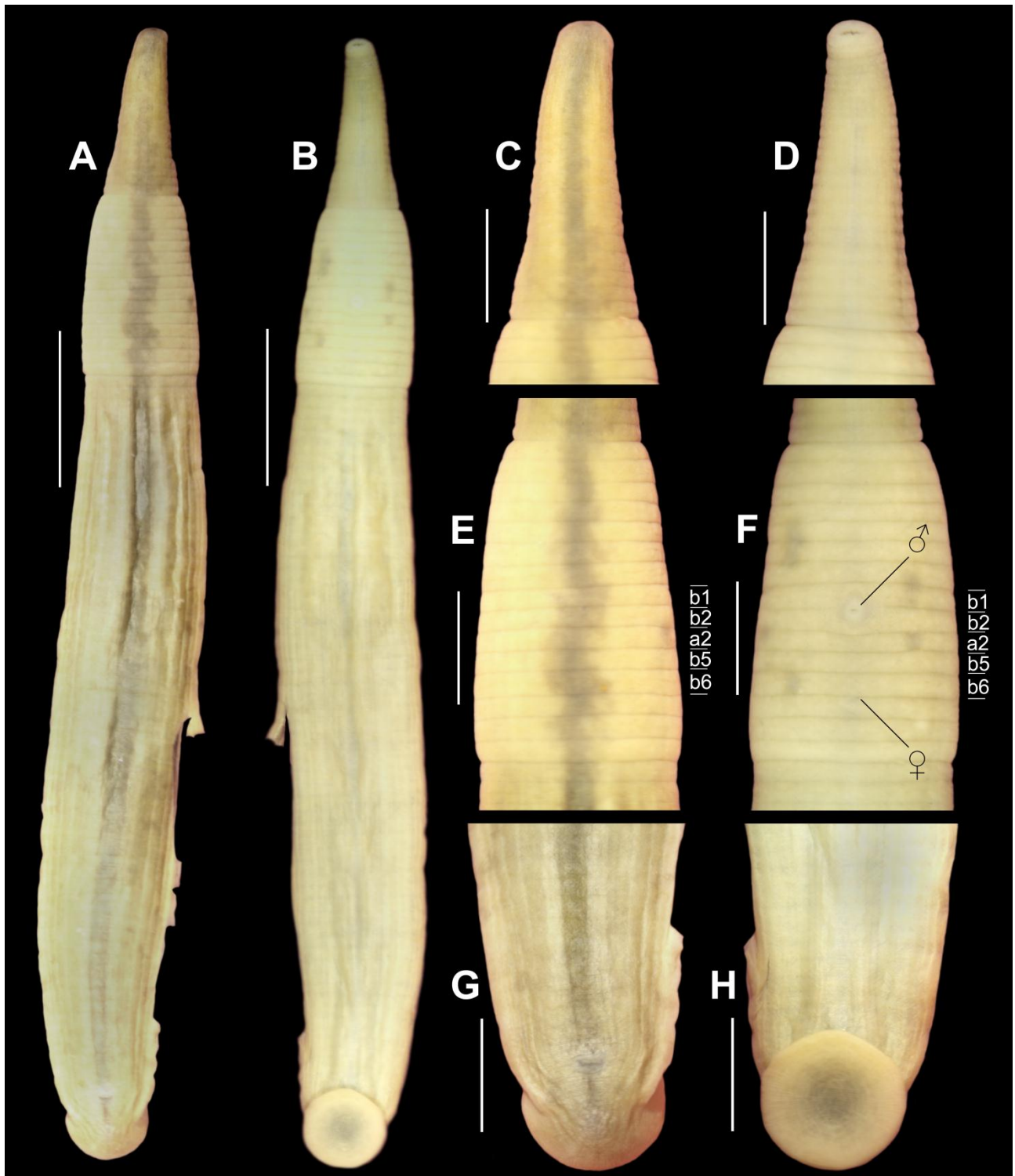


Рис. 12. Зовнішня морфологія *E. monostriata*. А, В – загальний вигляд; С, D – головний кінець тіла та ротовий присосок; Е, F – поясок; G, H – задній кінець тіла та задній присосок. Шкала для А і В = 5 мм, С-Н – 2 мм.

Диференціація. Через мінливість забарвлення у *E. monostriata* та однакову кільчастість із *E. testacea* їхнє розрізнення ускладнене. Ті екземпляри *E. monostriata*, що мають на спинній стороні чітку темну смугу та світле тло легко відрізняються від *E. testacea*, але темніше пігментованих особин

(рис. 11) за зовнішньою морфологією відрізнити неможливо. У такому разі ці види можна розрізнити за формою атріуму. У *E. testacea* атріум дуже компактний та сильно скручений (рис. 10), водночас як у *E. monostriata* він лише дещо вигнутий (рис. 13). У *E. testacea* роги атріуму направлені в дорзальному напрямі та вигинаються вперед (рис. 10), а у *E. monostriata* вони від початку направлені вперед (рис. 13). Кінці рогів *E. monostriata* дещо потоншуються та утворюють завитки (рис. 13), а в *E. testacea* роги атріуму на кінці товсті й закруглені (рис. 10).

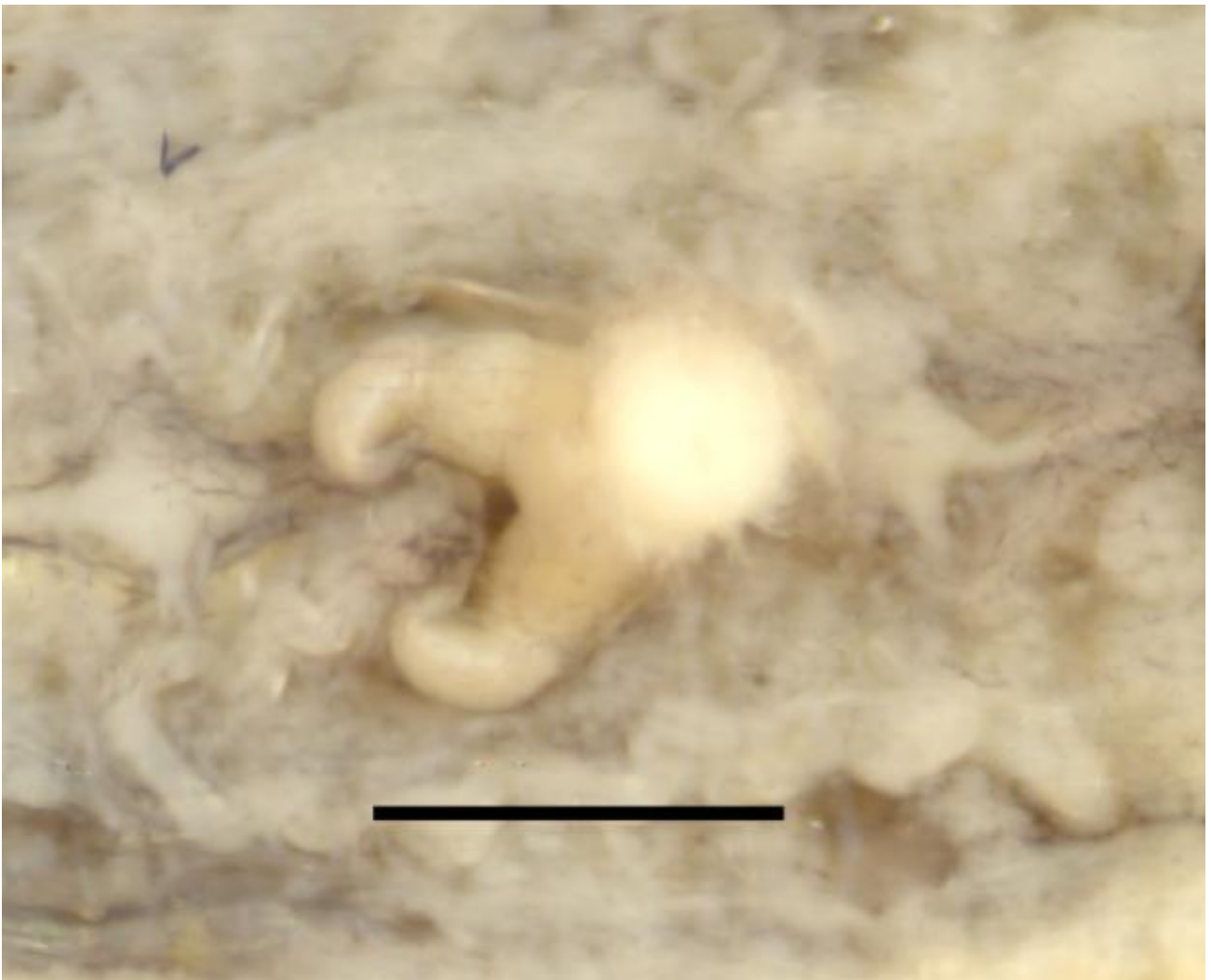


Рис. 13. Морфологія атріуму *E. monostriata*. Шкала = 1 мм.

***Erpobdella vilnensis* (Liskiewicz, 1925)**

Глотківка карпатська

Syn: *Herpobdella atomaria* var. *monostriata* Gedroyć, 1916

Herpobdella octoculata subsp. *vilnensis* Liskiewicz, 1925

Herpobdella vilnensis Liskiewicz, 1925

Erpobdella octoculata f. *monostriata* (Gedroyć, 1916)

Erpobdella monostriata (Gedroyć, 1916)

Типове оселище. Струмки в околицях м. Вільнюс, Литва (Nesemann & Neubert, 1999).



Рис. 14. Знахідки *E. vilnensis* в Україні.

Поширення. Дуже поширений у західній Палеарктиці вид. Знахідки цього виду в Європі відомі з Франції, Люксембургу, Німеччини, Австрії,

Польщі, Чехії, Словаччини, Угорщині, Словенії, Литви й Україні (Nesemann & Neubert, 1999). Схожі п'явки були знайдені в Монголії (Лукин, 1976), Киргизстані (Jueg, Grosser & Pešić, 2011), східному Казахстані (Федорова, Кайгородова и Букин, 2017) на Південному Кавказі (Квавадзе, 2002) та півострові Ямал (Утєвський, Владимирська та Палатов, 2015), але приналежність цих знахідок до *E. vilnensis* викликає сумніви або спростована (див. нижче).

В Україні *E. vilnensis* переважно поширена в басейні Тиси, Дністра та Південного Бугу (Utevsky et al., 2012; Хоменко та Утєвський, 2018), проте також відомі поодинокі знахідки в басейні Дніпра (Ковальов та Утєвський, 2015) (рис. 14). Спроби виявити *E. vilnensis* в східній частині басейну Дніпра та басейні Сіверського Дінця не дали результатів.

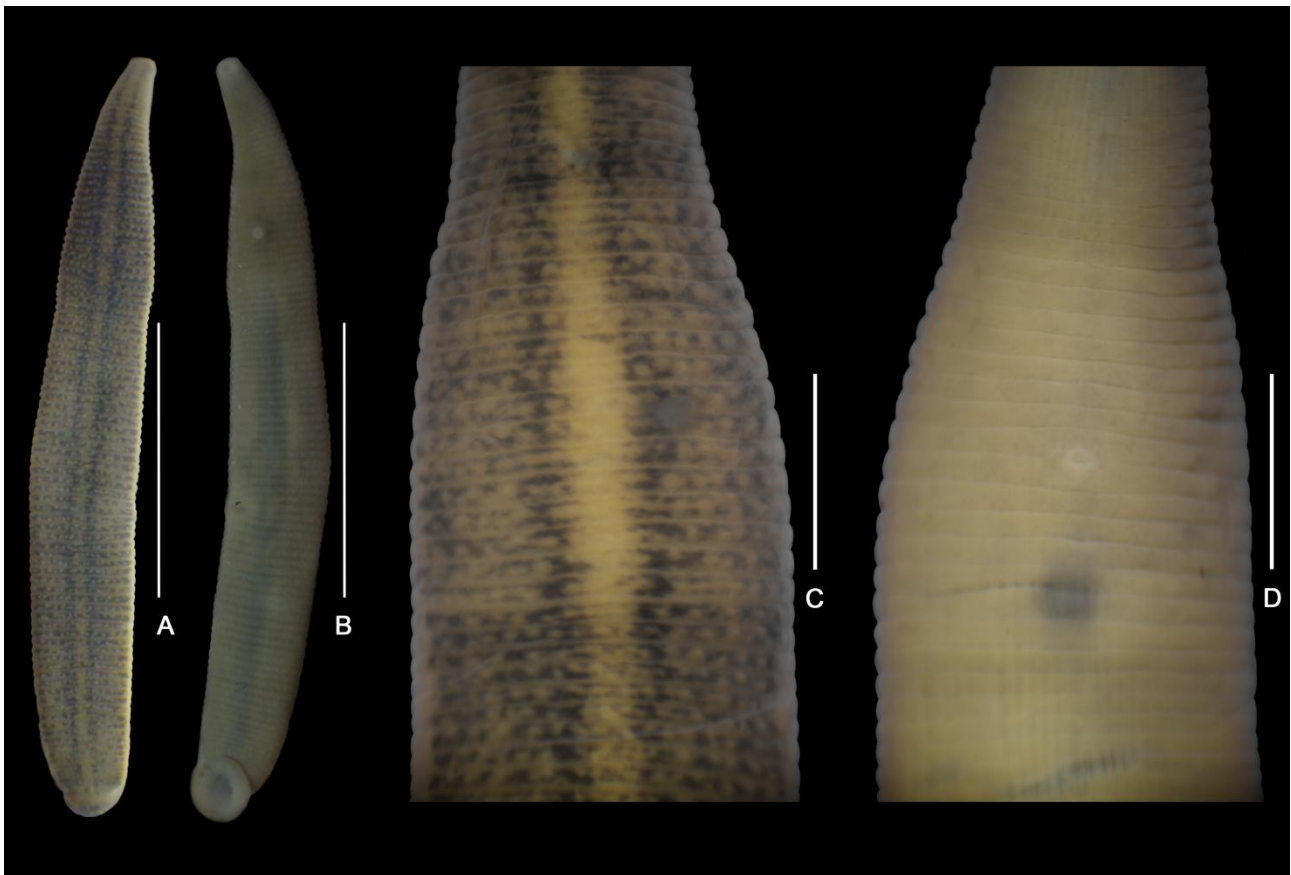


Рис. 15. Зовнішня морфологія *E. vilnensis*. А, В – загальний вигляд п'явки, С, D – пояскова зона зі спинної та черевної сторони. Шкала для А–В = 1 см, для С–D – 2 мм.

Зовнішня морфологія. Європейські *E. vilnensis* – це невеликі п’явки, до 3,5 см довжиною (Nesemann & Neubert, 1999). Загальне тло забарвлення світло-коричневе, на спинній стороні проходять дві темні смуги. Ці смуги мають дещо розмиті зовнішні краї (рис. 15). Поверх цього малюнку розкидані дрібні світлі плями (рис. 15). Іноді в європейських популяціях трапляється форма, у якої загальне тло забарвлення темніше, внаслідок чого темні смуги стають малопомітними. Однак, фонове забарвлення між темними смугами і плями у цих п’явок залишаються світлим. Соміт складається з п’яти кілець рівної ширини, формула соміту наступна: $b1+b2+a2+b5+b6$ (Nesemann & Neubert, 1999). Гонопори розділені трьома кільцями, чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями $b1$ і $b2$, жіночий гонопор – між $b5$ і $b6$ (рис. 15). П’явки з Ямалу мають схожу зовнішню морфологію, проте мають темніше забарвлення, менш виражені темні смуги, а світлі плями є більш розмитими в порівнянні з європейськими *E. vilnensis* (рис. 16).

Філогенетичне положення та генетичне різноманіття. Аналіз послідовностей гена *cox1* (рис. 44) вказує на те, що європейські *E. vilnensis* разом із подібними п’явками з Ямалу і *E. octoculata sevanica* з Південного Кавказу утворюють відокремлену від інших глоткових п’явок кладу. Водночас аналіз послідовностей гена 12S вказує на приналежність цих п’явок до спільної з іншими палеарктичними *Erpobdella* кледи (рис. 8). Філогенетична структура цієї кледи відрізняються за результатами аналізу різних маркерів, *cox1* та 12S. Отже, на дереві, побудованому за послідовностями *cox1*, ямальська *Erpobdella* утворює спільну кладу з кавказькою *E. octoculata sevanica*, проте, за результатами аналізу послідовностей 12S європейські *E. vilnensis* утворюють спільну кладу, сестринську до *E. octoculata sevanica*. Результати делімітації палеарктичних видів *Erpobdella* вказують на те, що європейські і схожі на них ямальські п’явки належать до двох окремих видів (рис. 44).

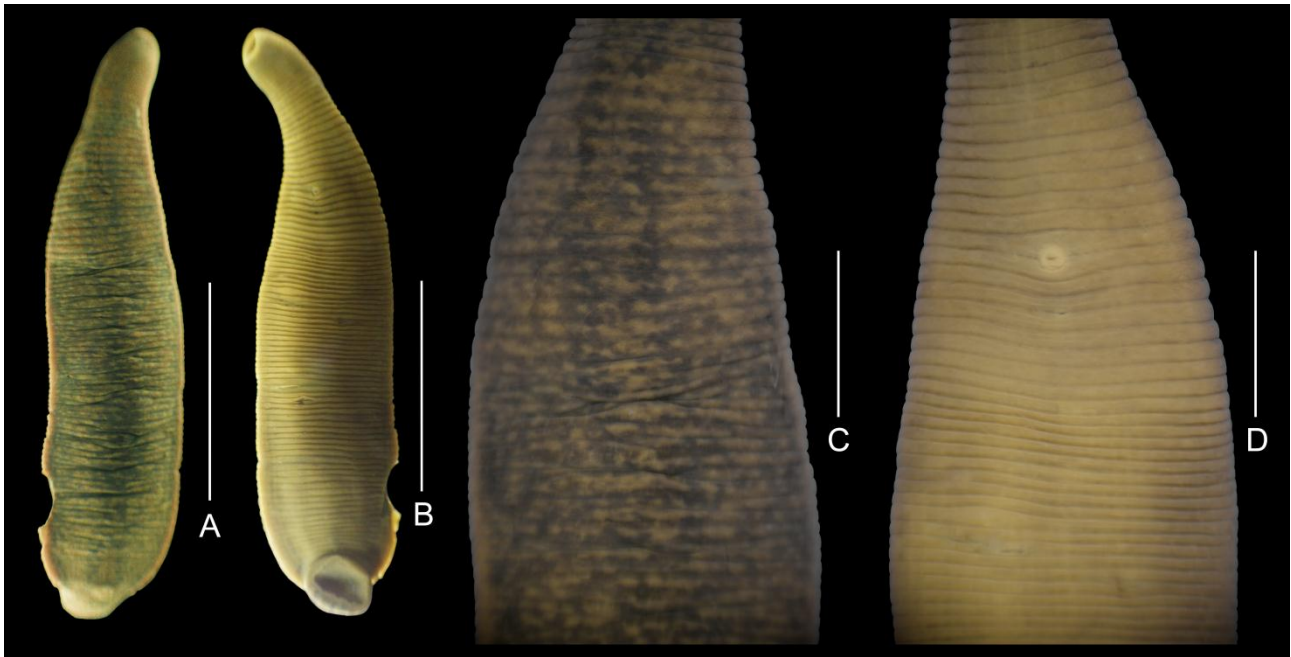


Рис. 16. Зовнішня морфологія *Erpobdella* з Ямалу. А, В – загальний вигляд п'явки, С, D – пояскова зона зі спинної та черевної сторони. Шкала для А-В = 1 см, для С-D – 2 мм.

***Erpobdella octoculata sevanica* (Meshkova, 1957)**

Syn: *Herpobdella octoculata sevanica* Meshkova, 1957

Типове оселище. Озеро Севан, Вірменія (Мешкова, 1957).

Поширення. Достовірно відомий лише з типового оселища. Схожих п'явок було виявлено в річці Бакуріанісцкалі в околицях міста Бакуріані, Грузія, і було віднесено до виду *E. monostriata* sensu Gedroyć (= *E. vilnensis*) (Квавадзе, 2002).

Зовнішня морфологія. П'явка невеликого, до двох сантиметрів, розміру (рис. 17). Забарвлення подібне до *E. vilnensis*, але світла лінія посередині і світлі плями на спинній поверхні тіла менш виражені (рис. 17). Соміт складається з п'яти кілець рівної ширини, формула соміту наступна: $b_1 + b_2 + a_2 + b_5 + b_6$. Гонопори розділені трьома кільцями, чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями b_1 і b_2 , жіночий гонопор – між b_5 і b_6 (рис. 17).

Філогенетичне положення. Філогенетичний аналіз зразків з невеликого озера поблизу о. Севан виявив, що досліджені п'явки утворюють спільну кладу

із зразками *E. vilnensis* (рис. 44). До того ж, результати делімітації видів вказують на окремий видовий статус цієї п'явки (рис. 44).

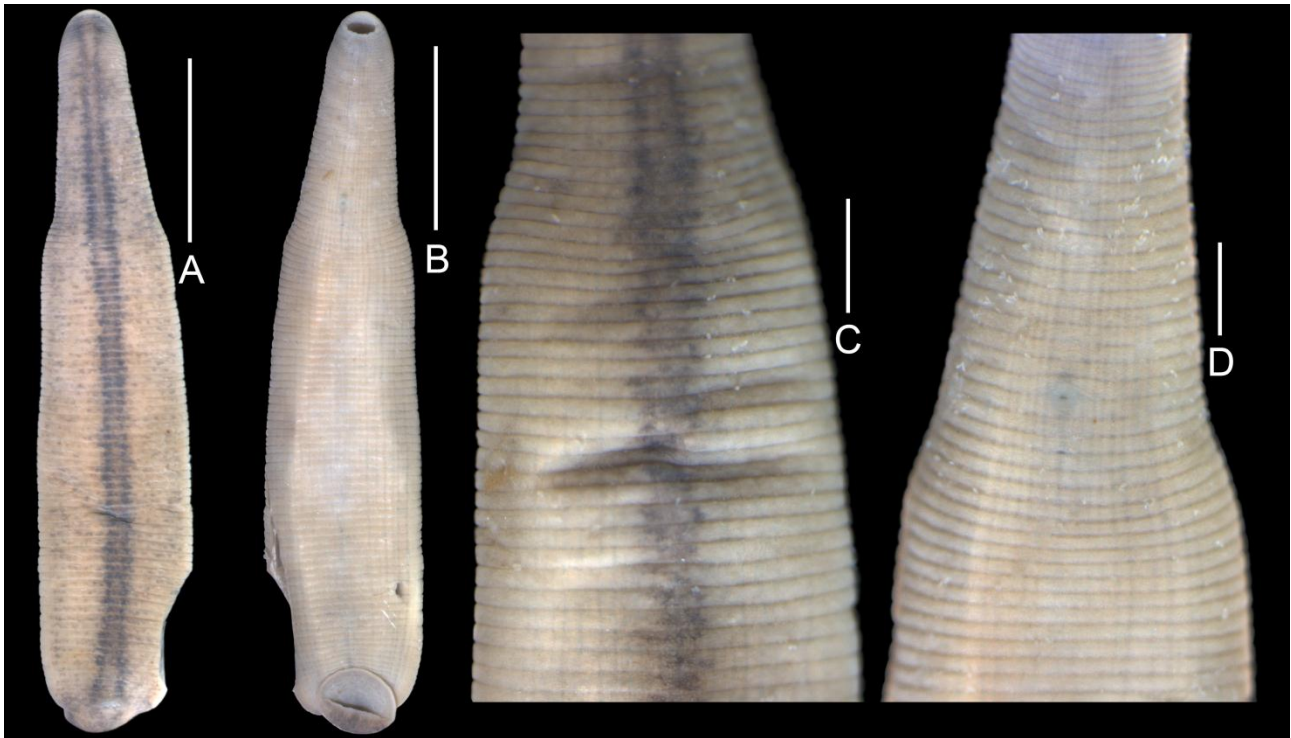


Рис. 17. Зовнішня морфологія *E. octoculata sevanica*. А, В – загальний вигляд п'явки, С, D – пояскова зона зі спинної та черевної сторони. Шкала для А-В = 5 мм., С-D = 1 мм. Фото С. Утевського.

***Erpobdella japonica* Pawlowski, 1962**

Syn: *Dina japonica* (Pawlowski, 1962)

Типове оселище. Японія, острів Хонсю, озеро Нодзірі.

Поширення. Японський архіпелаг (Nesemann, 1995b), Корейський півострів (Arapurakul, Siddall & Burreson, 1999) та Далекий Схід Росії (Утевський, Владимирська та Палатов, 2015).

Зовнішня морфологія. П'явки середнього розміру, до п'яти сантиметрів довжиною (Nesemann, 1995b). Тло забарвлення від коричневого кольору, часто з червонуватим відтінком, поверх якого можна побачити світлі плями (рис. 18). У світло забарвлених п'явок світлі плями зливаються із тлом (Nesemann, 1995b). Також на спинній стороні завжди є дві темні смуги, що тягнуться вздовж всього тіла (рис. 18). Соміт складається із шести кілець або

п'яти колець (останнє кільце розширене або подвійне). Формула соміту така: $b1+b2+a2+b5+b6(c11,c12)$ (рис. 18). Гонопори розділені двома з половиною кільцями, чоловічий гонопор знаходиться на кільці $b2$, жіночий – в борозні між кільцями $b5$ і $b6$ (рис. 18).

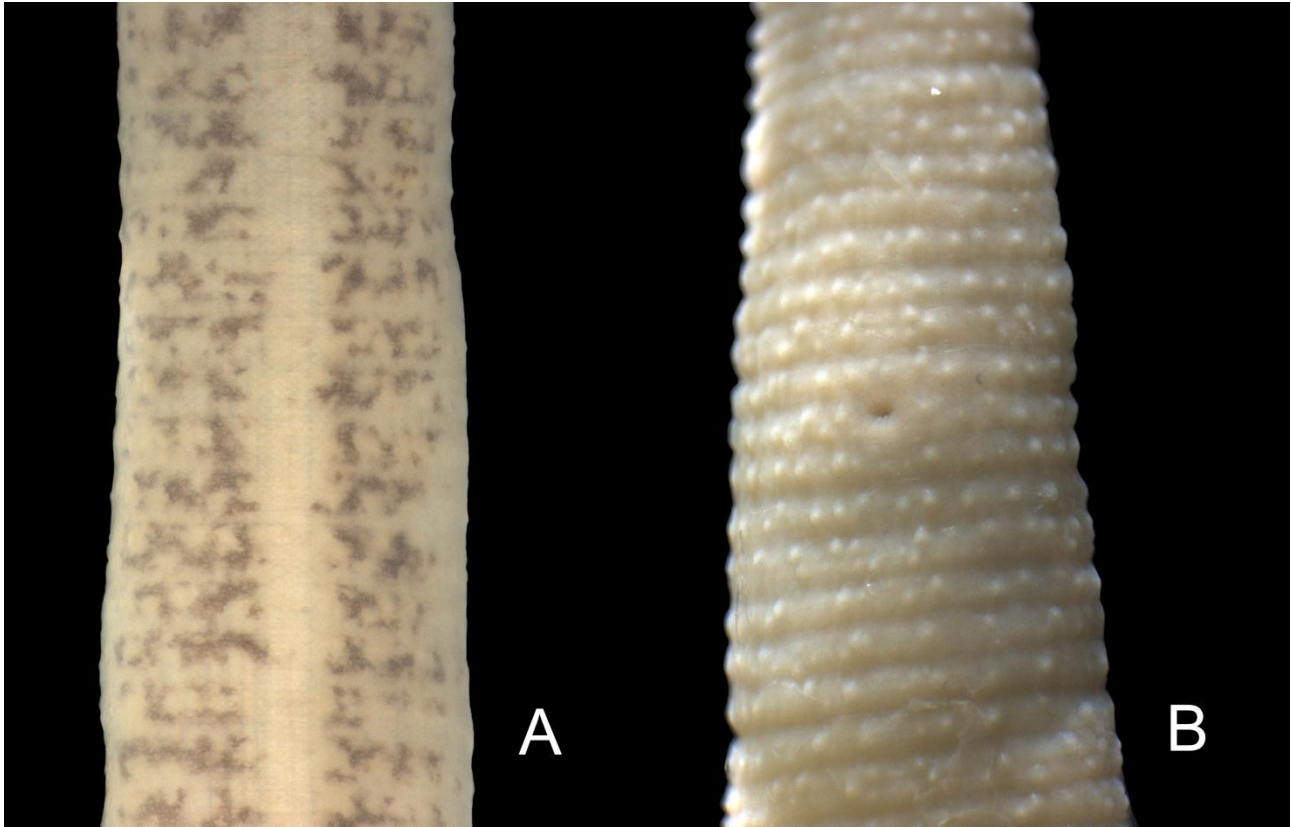


Рис. 18. Зовнішня морфологія далекосхідної *E. aff. japonica*. А – забарвлення спинної поверхні тіла, В – черевна поверхня тіла, кільчастість та туберкуляція. Фото С. Утєвського.

Філогенетичне положення та генетичне різноманіття. Аналіз послідовностей гену *cox1* вказує на те, що зразки, ідентифіковані як *E. japonica*, утворюють окрему від інших глоткових п'явок кладу (рис. 44), що розділяється на дві дочірні кледи, одна з яких представлена японськими п'явками, а друга – п'явками із Китаю, Кореї та Далекого Сходу Росії. Результати делімітації видів свідчать про те, що зразки з континентальної частини ареалу належать до окремого від острівної *E. japonica* виду (рис. 44). Результати філогенетичного аналізу за послідовностями гена 12S вказують на приналежність цієї групи до кледи палеарктичних *Erpobdella* (рис. 8).

***Erpobdella bhatiai* Neseemann, 2007**

Syn: *Erpobdella indicus* Bhatia, 1939

Типове оселище. Індія, Джамму та Кашмір, місто Срінагар, озеро Дал (Neseemann et al., 2007).

Поширення. Верхів'я ріки Інд у Кашмірі та Пенджабі (Neseemann et al., 2007).

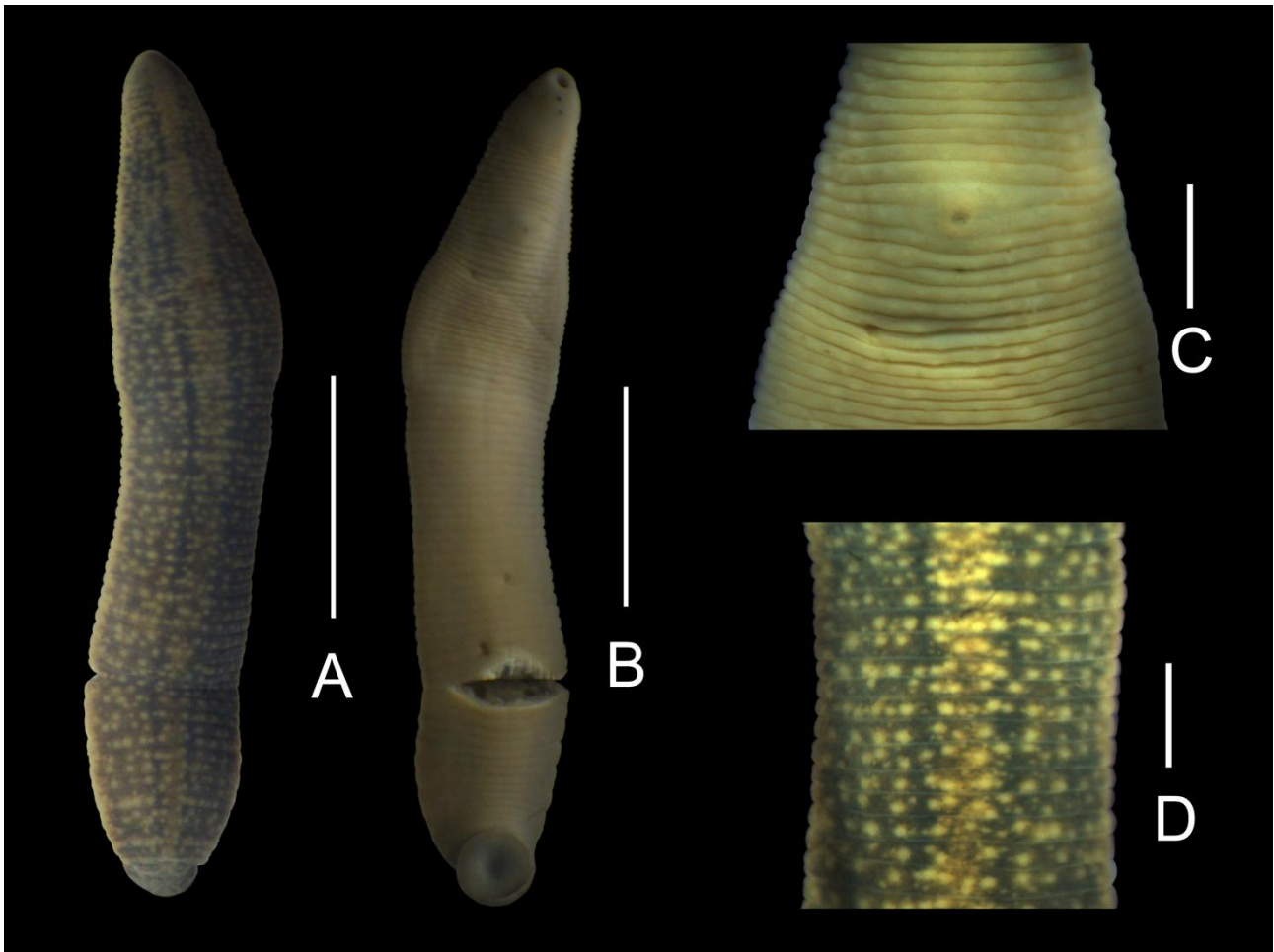


Рис. 19. Зовнішня морфологія *E. bhatiai*. А, В – загальний вигляд п'явки, С – пояскова зона з черевної сторони, D – забарвлення спинної сторони. Шкала для А–В = 1 см, для С–D – 2 мм.

Зовнішня морфологія. П'явки середнього розміру, до п'яти сантиметрів довжиною (Neseemann et al., 2007). Бічні килі дуже виражені, та починаються від пояска (рис. 19). Забарвлення коричневе, посеред тіла проходить світло-коричнева смуга, по боках від якої проходять темніші смуги (рис. 19). Поверх цього малюнку розкидані дрібні світлі плями (рис. 19). Соміт складається з

п'яти кілець рівної ширини, формула соміту наступна: $b_1+b_2+a_2+b_5+b_6$ (рис. 19). Гонопори розділені трьома або двома з половиною кільцями, чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями b_1 і b_2 або на кільці b_2 , жіночий гонопор – між b_5 і b_6 (рис. 19).

Філогенетичне положення. За результатами філогенетичного аналізу гена *cox1*, ця п'явка є сестринською до *E. octoculata sensu lato*, але сильно відрізняється від цих п'явок генетично (рис. 44). Результати делімітації видів *Erpobdella* (рис. 44) підтверджують окремий видовий статус цього виду.

3.1.2. *Dina Blanchard, 1892*

П'явки середнього розміру. Соміт складається з п'яти (останнє кільце – розширене або подвійне) або шести кілець (Nesemann & Neubert, 1999). У деяких особин через появу додаткових борозен перші чотири кільця також можуть розділятися надвоє (Nesemann & Neubert, 1999).

Dina apathyi Gedroyć, 1916

Глотківка південна

Типове оселище. Село Новосільці (найімовірніше, Жидачівський район Львівської області) та озеро Біле, Полісся (Gedroyć, 1916).

Поширення. Вид був описаний з Галичини та Полісся. Пізніше він був знайдений у Польщі (Pawlowski, 1936; Bielecki et al., 2011), Угорщині (Soós, 1963), Румунії (Cristea & Manoleli, 1975), Австрії (Nesemann & Neubert, 1999) та Німеччині (Grosser, 2003). Поширення цього виду мало вивчене через рідкісність і розбіжності у диференційних діагнозах різних авторів (Pawlowski, 1936; Nesemann & Neubert, 1999; Grosser, 2003).

Зовнішня морфологія. Темнозabarвлена п'явка середнього, до 9 см довжиною, розміру (Nesemann & Neubert, 1999). На спинній поверхні тіла знаходяться поперечні ряди світлих плям неправильної форми (рис. 20). На поверхні тіла присутні дрібні сосочки (рис. 20). Соміт складається з шести або

п'яти (останнє кільце подвійне) кільць (рис. 20). Формула сомїта наступна: $b1+b2+a2+b5+b6(c11,c12)$ (рис. 20). Чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями $b2$ і $a2$, жіночий – в борозні між кільцями $b5$ і $b6$. Отже, між гонопорами знаходиться два кільця (Gedroyć, 1916).

Внутрішня морфологія. Атріум має U-подібну форму з прямими, товстими рогами, на кінцях яких знаходяться преатріальні петлі (рис. 20). Атріум займає близько половини відстані між XI і XII гангліями (рис. 20). Спільний відділ атріуму маленький та має округлу форму (рис. 20).

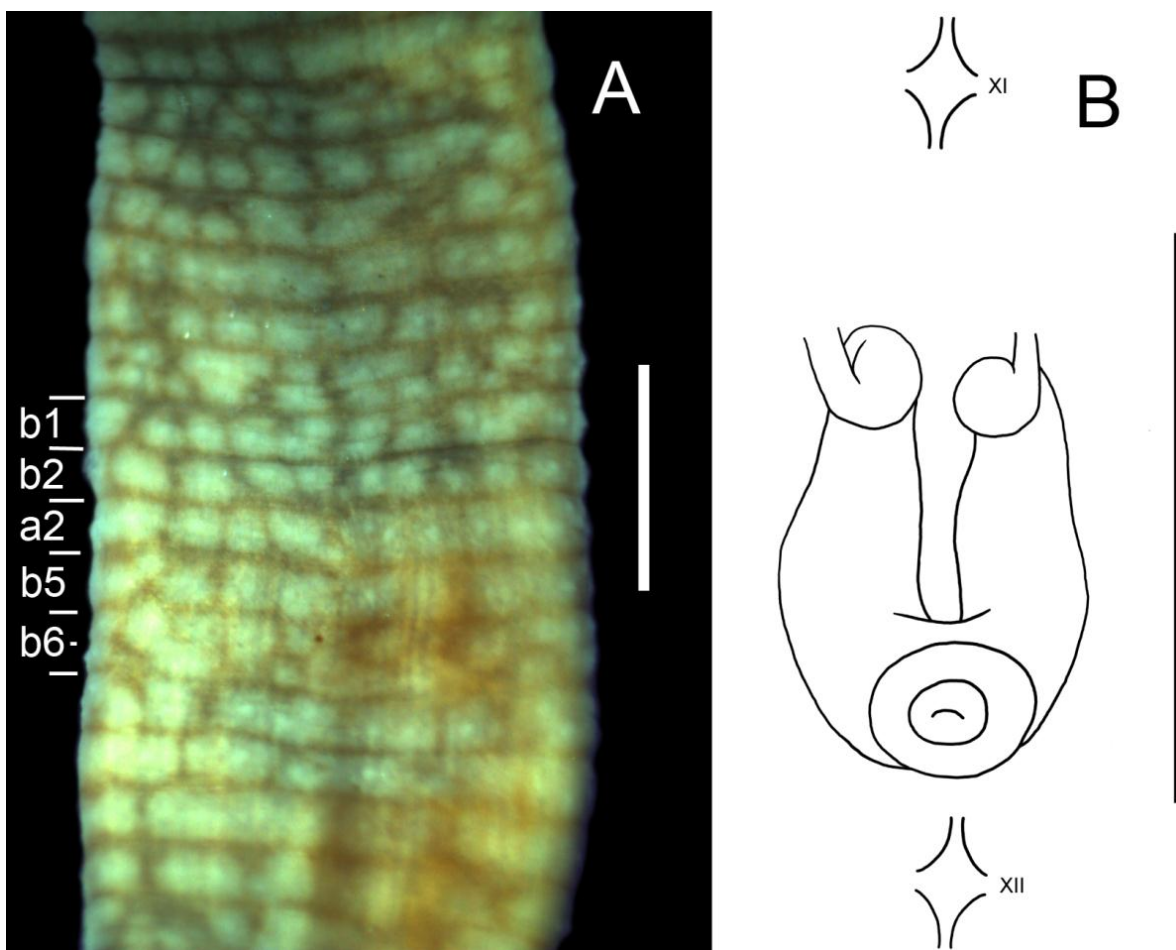


Рис. 20. Морфологічні особливості *D. apathyi*. А – забарвлення, туберкуляція та кільчастість спинної поверхні тіла, В – атріум та його відносний розмір. Шкала = 2мм.

Диференціація. Морфологічно найближчим видом до *D. apathyi* є *D. stschegolewi*, яка має схоже забарвлення і таку саму кільчастість. Їх можна відрізнити за деталями забарвлення та морфологією статеві системи. Отже, світлі плями на спинній стороні *D. stschegolewi* невеликі, мають правильну

округлу форму і знаходяться на певній відстані одна від одної (рис. 20). Проте, у *D. apathyi* світлі плями можуть мати неправильну форму, а проміжки між ними незначні, особливо на кільці a₂, на якому світлі плями мають тенденцію до злиття між собою (рис. 20). Також ці два види легко можна розрізнити за формою атріуму. Якщо у європейських *D. stschegolewi* атріум займає всю відстань між XI і XII гангліями, то у *D. apathyi* він значно коротший і займає близько половини цієї відстані (рис. 20). Крім того, *D. apathyi* має більш пласке і витягнуте в довжину тіло та менш виражені сосочки (рис. 20), але ці ознаки не дозволяють розрізняти ці два види із впевненістю.

***Dina punctata* Johansson, 1927**

Syn: *Dina lineata* var. *punctata* Johansson, 1927

Dina lineata var. *notata* Johansson, 1927

Типове оселище. Іспанія, провінція Барселона (Nesemann & Neubert, 1999).

Поширення. Ареал *D. punctata* s. l. включає південну і центральну частини Європи а також Північну Африку (Nesemann & Neubert, 1999). У Центральній Європі поширення цього виду пов'язано із передгір'ям Альп, а саме із басейнами Верхнього і Середнього Дунаю та верхнього Рейну (Nesemann, 1993a; Nesemann & Neubert, 1999). На півдні Європи *D. punctata* відома з Піренейського півострова, Франції, Балкан (Nesemann & Neubert, 1999) і Апеннінського півострова (Nesemann, 1993a; Trontelj & Sket, 2000). Також знахідки цієї п'явки були зроблені на Сардинії (Лукин, 1976; Grosser, 2015). Знахідки в Північній Африці належать до окремого підвиду *D. punctata maroccana* Nesemann & Neubert, 1994, який морфологічно сильно відрізняється від номінативного підвиду (Nesemann & Neubert, 1994) та з високою ймовірністю належить до окремого виду. Свого часу з Баварії було описано підвид *D. punctata mauchi* Nesemann, 1995, відомий лише з типового оселища (Nesemann, 1995a), і який останнім часом відносять до окремого виду

(Siddall, 2002; Govedich et al., 2019), що також підтверджують і наші результати філогенетичного аналізу (рис. 46). Знахідки номінативного підвиду відомі з Іспанії, Франції, Італії, Німеччини, Австрії та Угорщини, але навіть всередині цього ареалу номінативний підвид має значну морфологічну і генетичну мінливість (Nesemann & Neubert, 1999; Trontelj & Sket, 2000), а результати наших досліджень вказують на те, що *D. punctata* насправді є комплексом криптичних видів (рис. 46).

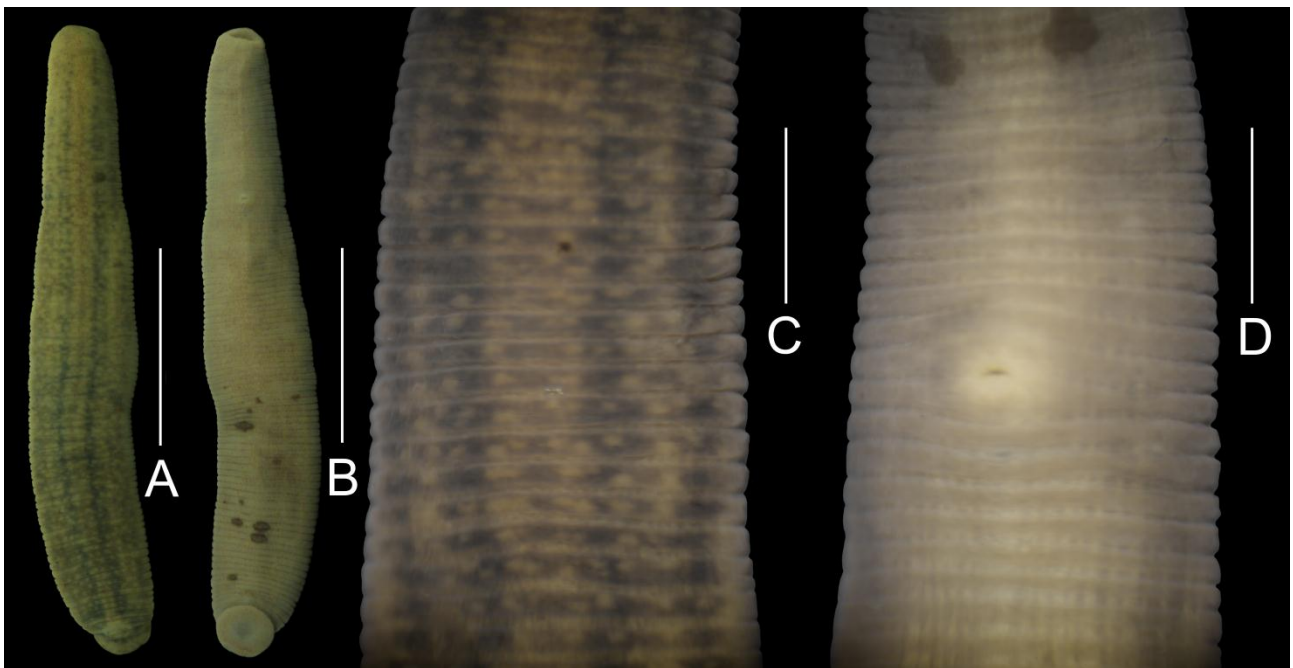


Рис. 21. Зовнішня морфологія *Dina* cf. *punctata* з Піренеїв. А-В – загальний вигляд, С-Д – пояскова зона. А-В = 1 см, С-Д – 2 мм.

Морфологія *D. punctata*. П'явка середнього розміру, до 5 см довжиною (Nesemann & Neubert, 1999). На спинній поверхні тіла є дві пари темних смуг, іноді можна також помітити ще одну, значно тоншу смугу посередині тіла (рис. 21). Поверх цього малюнку знаходяться світлі плями (рис. 21). На поверхні тіла присутні дрібні сосочки (рис. 21). Соміт складається з шести або п'яти (останнє кільце подвійне) кілець (рис. 21). Формула соміту така: $b_1+b_2+a_2+b_5+b_6(c_{11},c_{12})$ (рис. 21). Чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями b_2 і a_2 , а жіночий – в борозні між кільцями b_5 і b_6 ; таким чином між гонопорами знаходиться два кільця (рис. 21). Атріум має V-подібну форму без помітних потовщень в основі рогів.

Філогенетичне положення. Екземпляри, ідентифіковані як *D. punctata*, за результатом філогенетичного аналізу послідовностей *cox1* входять до клади палеарктичних видів роду *Dina*, проте вони не утворюють монофілетичної групи (рис. 46). Зразки п'явок, визначені як *D. punctata* з Франції та Іспанії, утворюють парафілетичну групу всередині спільної клади із печерними п'явками *D. absoloni* і *D. ratschaensis* (рис. 46). Філогенетичні відносини досліджених зразків, а також результати делімітації вказують на те, що зразки, ідентифіковані як *D. punctata*, насправді належать щонайменше до трьох різних видів включно із *D. tauchi* (рис. 46).

***Dina ratschaensis* Kobachidze 1958**

Типове оселище. Грузія, край Рача-Лечхумі та Квемо-Сванеті, Амбролаурський муніципалітет. Печери Сакінуле біля села Нікорцмінда та Сакішоре біля села Схарталі (Кобахидзе, 1958).

Поширення. Цей вид відомий з струмків та печер західної частини Південного Кавказу, а саме з краю Рача-Лечхумі та Квемо-Сванеті. Також схожих п'явок було знайдено в краю Самегрело-Земо-Сванеті (Chertoprud et al., 2020) і Абхазькій Автономній Республіці Грузії (Турбанов и др., 2018).

Зовнішня морфологія. П'явка білого кольору середньої довжини, до шести сантиметрів, на передньому кінці тіла очей немає (рис. 22). Тіло сплюснене та розширено у задній частині, задній присосок великий (рис. 22). Кільчастість типова для роду *Dina*, п'ять (з них останнє подвійне) або шість кілець у соміті (рис. 22). Формула соміту наступна: $b1+b2+a2+b5+b6(c11,c12)$ (рис. 22). Чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями $b2$ і $a2$, жіночий – в борозні між кільцями $b6$ і $b1$, на межі між XII і XIII сомітами (рис. 22).

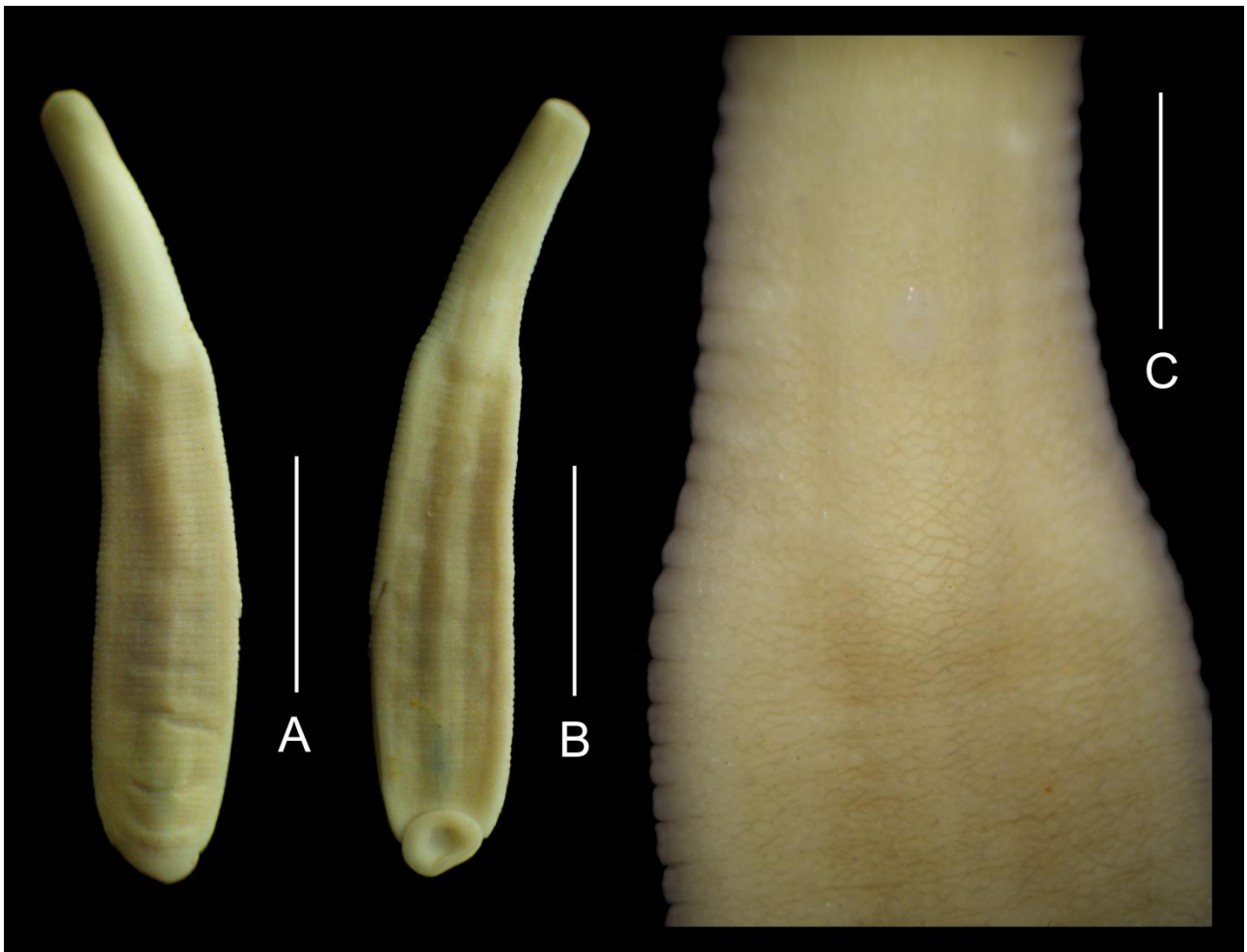


Рис. 22. Зовнішня морфологія *D.cf. ratschaensis*. А, В – загальний вигляд, С – пояскова зона з черевної сторони. Шкала для А-В = 1 см, для С – 2 мм.

Філогенетичне положення та генетичне різноманіття. За результатами філогенетичного аналізу послідовностей гена *cox1*, зразки, ідентифіковані як *D. ratschaensis*, утворюють монофілетичну групу разом із *D. absoloni* (рис. 46), що вказує на спорідненість цих печерних п'явок. Також нами було виявлено, що досліджені нами п'явки розділилися на три клади, які за результатами делімітації належать до двох або трьох видів (рис. 46).

***Dina stschegolewi* (Lukin & Epstein, 1960)**

Глотківка Щоголева

Syn: *Herpobdella* (*Dina*) *stschegolewi* Lukin & Epstein, 1960

Erpobdella stschegolewi (Lukin & Epstein, 1960)

Типове оселище. Описана з околиць Бахчисараю та р. Алма біля сіл Віліно й Отраде у Криму (Лукин и Эпштейн, 1960).

Поширення. Вид, поширений від Близького Сходу до Центральної Європи. В Ірані *D. stschegolewi* була виявлена в Ельбурзі (Darabi-Darestani, Sari & Sarafrazi, 2016). На Південному Кавказі відомі знахідки на південних схилах Великого Кавказу в Грузії та Азербайджані (Лукин и Эпштейн, 1964; Khomenko et al., 2018), Ленкоранській низовині (Khomenko et al., 2018) і Колхідській низовині (Лукин, 1976; Квавадзе, 2002).

В Україні знахідки *D. stschegolewi* відомі у Криму (Лукин и Эпштейн, 1960; Прокопов и Утевский, 2005) та Причорноморській низовині (Хоменко та ін., 2019). У Румунії знахідки цього виду добре відомі з дельти Дунаю (Cristea, 1975; Cristea & Manoleli, 1975). Також представники цього виду були знайдені в румунській частині Добруджі і Дінарському нагір'ї в Боснії та Герцеговині (рис. 23). У Німеччині і Бельгії цей вид знаходили в басейні Рур (басейн Маасу) (Grosser & Eiseler, 2008), звідки він був описаний під назвою *D. pseudotrocheta* Grosser & Eiseler, 2008, а пізніше його знайшли в Саксонії в басейні р. Заале та р. Ниса-Лужицька (басейн Ельби та Одри відповідно) (Grosser, Hellwig & Rößler, 2011).

Можливо, знахідки *D. apathyi* в Румунії, Угорщині і Австрії (Nesemann & Neubert, 1999) насправді належить до *D. stschegolewi*. Знахідки в Туреччині та Леванті пізніше були віднесені до іншого виду (Grosser, Nesemann & Pešić, 2011). Знахідки в Польщі і Болгарії (Bielecki et al., 2011; Jueg, 2010) потребують підтвердження. Згадки про

знахідки цього виду в басейні Амуру (Nesemann & Neubert, 1999), найімовірніше, пов'язані з неправильним перекладом тексту Є. Лукіна (1976).

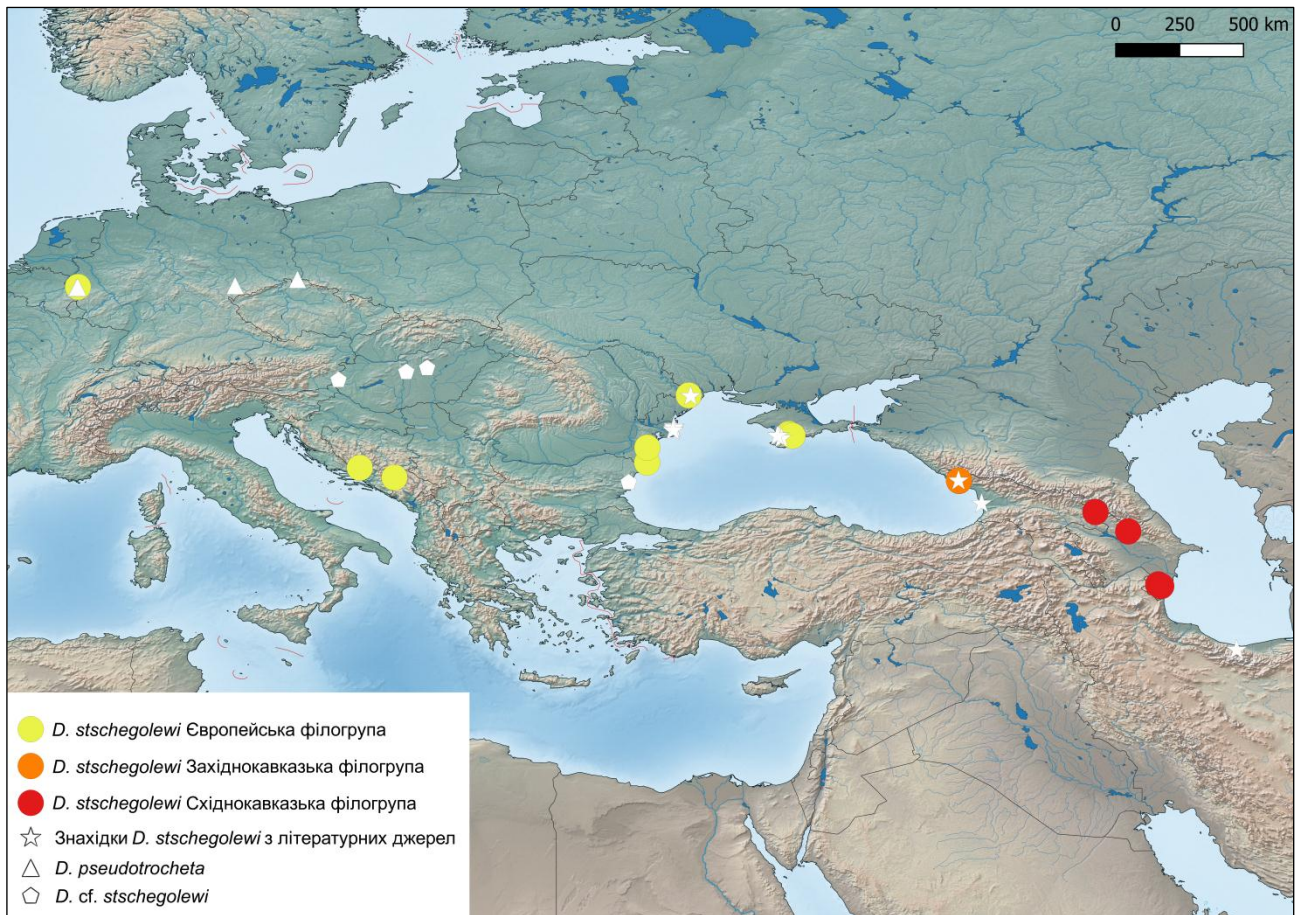


Рис. 23. Поширення *D. stschegolewi* та подібних до неї п'явок.

Зовнішня морфологія. Темнозабарвлена п'явка середнього або великого розміру (рис. 24). У зборах з Криму нами було виявлено екземпляри до 81 мм довжиною. У разі уважного розгляду на спинній поверхні тіла можна побачити світліше забарвлені сосочки, що особливо помітно після фіксації (рис. 24). Соміт складається з шести або п'яти (останнє кільце подвійне) кілець (рис. 24). Формула соміту така: $b1+b2+a2+b5+b6(c11,c12)$ (рис. 24). Чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями $b2$ і $a2$, жіночий – в борозні між кільцями $b5$ і $b6$, таким чином між гонопорами знаходиться два кільця (рис. 24).

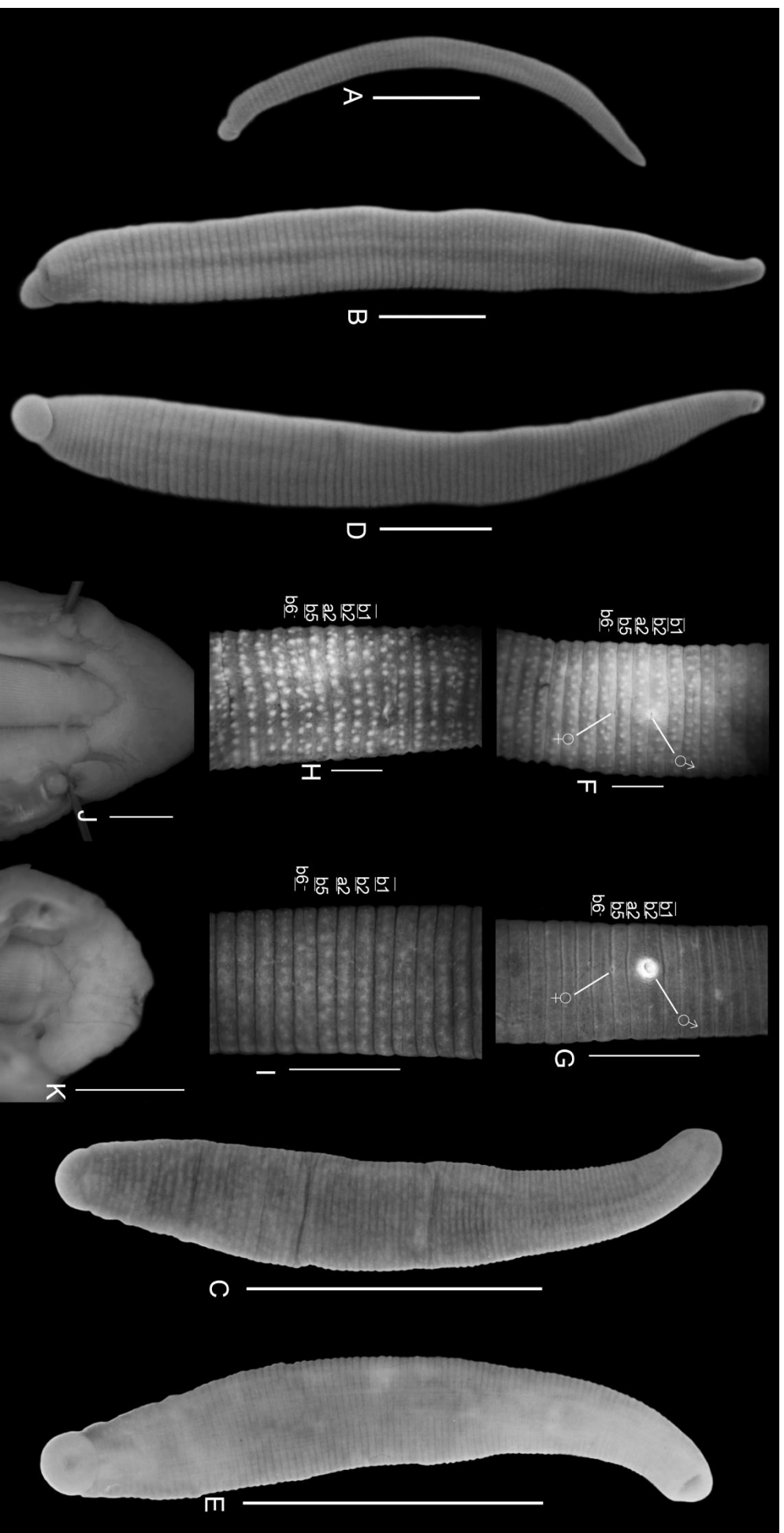


Рис. 24. Зовнішня морфологія *D. stschegolewi*. А – загальний вигляд ювенільної особини з Криму зі спинної сторони; В – загальний вигляд дорослої особини з Криму зі спинної сторони; С – загальний вигляд дорослої особини з Азербайджану зі спинної сторони; D – загальний вигляд дорослої особини з Криму з черевної сторони; Е – загальний вигляд дорослої особини з Азербайджану з черевної сторони; F – поперечна зона особини з Криму з черевної сторони; G – поперечна зона особини з Азербайджану з черевної сторони; H – забарвлення, туберкуляція та кільчастість особини з Криму; I – забарвлення, туберкуляція та кільчастість особини з Азербайджану; J – псевдогнати особини з Криму; K – псевдогнати особини з Азербайджану; шкала для A-E = 1, для F-I – 5 мм, для J-K – 2 мм.

Також було помічено, що інколи гонопори можуть бути зміщені. Найчастіше це пов'язано з тим, що чоловічий гонопор зміщається на кільце b2 (додаток 5), інколи жіночий гонопор також може зміститися, як в одного з екземплярів з Азербайджану, у якого жіночий гонопор змістився на борозну між кільцями a2 і b5 (додаток 5).

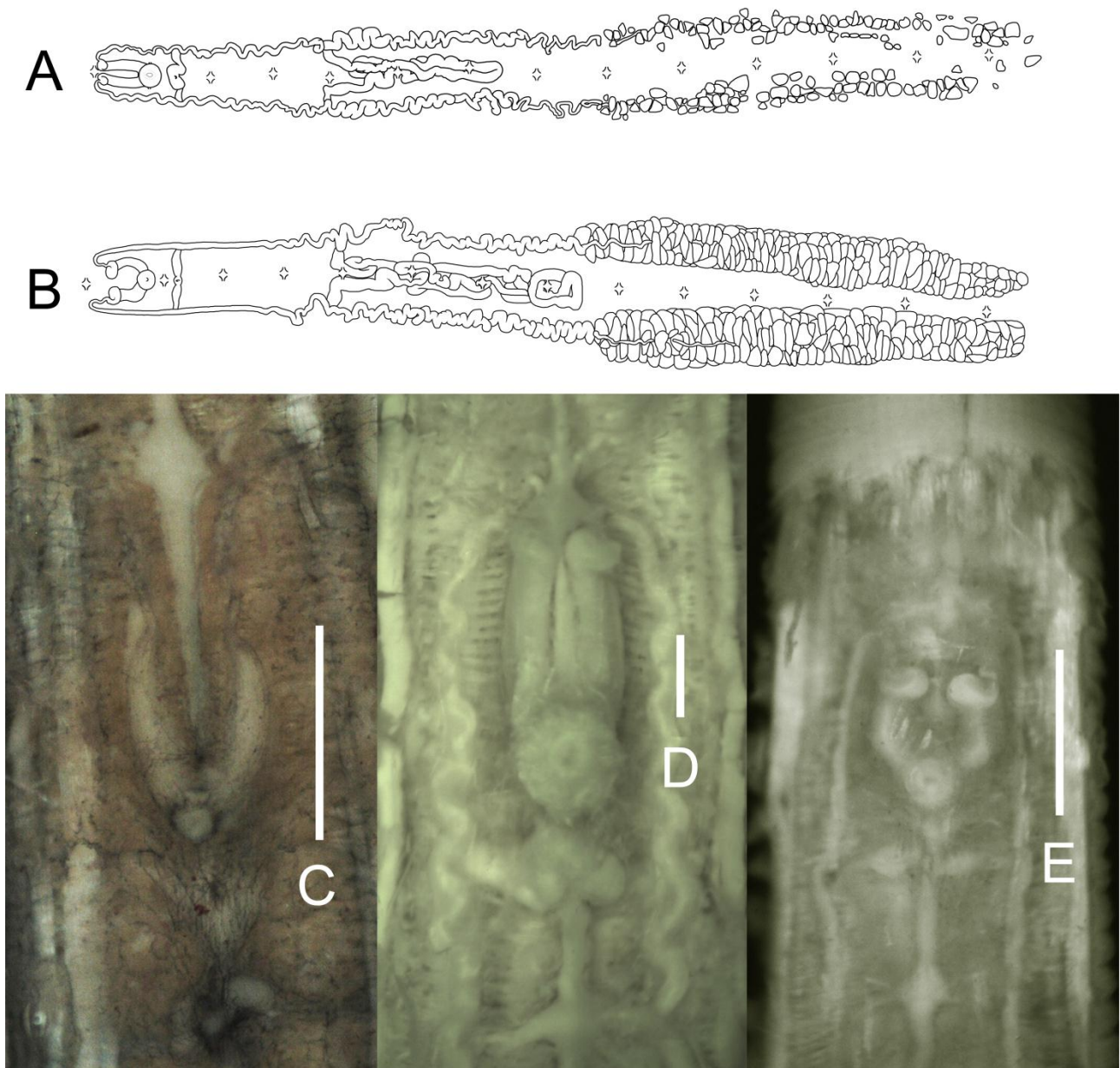


Рис. 25. Особливості морфології статеві системи *D. stschegolewi*. А – загальний вигляд статеві системи особини з Криму; В – загальний вигляд статеві системи особини з Азербайджану; С – атріум ювенільної особини з Криму; D – атріум статевозрілої особини з Криму; Е – атріум статевозрілої особини з Азербайджану. Шкала для С–Е = 1 мм.

Внутрішня морфологія. Псевдогнати відносно великі (рис. 24). Сім'яні мішки мають вигляд грон, тягнуться від заднього присоска до XIX ганглія, де різко переходять у сім'яні резервуари (рис. 25). Сім'яні резервуари мають вигляд товстих сильнозвивистих каналів, які тягнуться від XIX до XV ганглія, де плавно переходять у сім'явипорскувальні канали (рис. 25). Сім'явипорскувальні канали мають вигляд тонких прямих або слабозвивистих проток і тягнуться від XV до XI ганглія, де розвертаються у протилежний бік, формуючи преатріальні петлі, що утворюють невеликі завитки на кінці рогів атріуму (рис. 25). Атріум має довгі S-подібно вигнуті роги, довжина яких залежно від популяції може бути різною (рис. 25). Спільний відділ атріуму округлий (рис. 25). Яйцеві мішки починаються посередні тіла між XII і XIII гангліями, після чого тягнуться в різні боки під сім'яними резервуарами до XV-го ганглія, де вони знову сходяться посередині тіла й утворюють складно переплетену масу, яка досягає XVII – XX гангліїв (рис. 25).

Вікова і сезонна мінливість *Dina stschegolewi*. Виразність кільчастості й туберкуляції сильно залежить від віку досліджених п'явок. У молодих п'явок вторинна борозна на останньому кільці сомита може бути непомітною, водночас у зрілих особин додаткові борозни можуть утворюватися і на інших кільцях. Сосочки у зрілих особин також набагато краще виражені (рис. 24). Також було помічено, що у молодих особин сім'явипорскувальні канали не утворюють завитків на кінцях рогів атріуму, а спільний відділ – недорозвинений (рис. 25), що може призвести до неправильної ідентифікації.

Довжина яйцевих мішків може сильно коливатися. Наприклад, у першоописі Є. Лукіна та В. Епштейна (Лукин и Эпштейн, 1960) повідомляється, що яйцеві мішки мають довжину в сім сомітів, але у досліджених нами екземплярів з Азербайджану яйцеві мішки сягають довжини в шість сомітів (рис. 25), а в деяких кримських – п'яти сомітів (рис. 25). Наявність такої мінливості демонструє, що така ознака, як довжина яйцевих мішків не є придатною для розрізнення близьких видів глоткових п'явок і,

найімовірніше, залежить від ступеня готовності окремо взятої особини до розмноження.

Морфологічна відмінність різних популяцій *Dina stschegolewi*.

Досліджені нами екземпляри *D. stschegolewi* з різних місць розрізнялися між собою за низкою морфологічних ознак. Особливо помітною є різниця між екземплярами з європейської та кавказької субпопуляції. Отже, за розмірами тіла європейські *D. stschegolewi* можуть досягати довжини 8,1 см або більше, водночас особини з Кавказу сягають максимальної довжини 5,8 см (Лукин и Эпштейн, 1964). За забарвленням особини з Криму та Кавказу відрізняються не сильно, але кримські п'явки зазвичай мають дещо світліше тло забарвлення, а розмір світлих плям у них більший (рис. 24). Туберкуляція у кримських п'явок також краще виражена (рис. 24). Атріум у кавказьких популяцій *D. stschegolewi* значно менший та має більш вигнуті роги (рис. 25), що свого часу було вказано Є. Лукіним (1976) для п'явок з Абхазії. Нами було показано, що атріум особин з інших частин Кавказу також має подібну форму (рис. 25).

Філогенетичне положення та генетичне різноманіття. За допомогою філогенетичного аналізу послідовностей генів *cox1* (рис. 49), 12S (рис. 38) та 28S (рис. 40) нами було виявлено, що найближчими родичами *D. stschegolewi* є види роду *Trocheta*, а не *Dina*. Результати аналізу послідовностей *cox1* вказують на те, що найближчими родичами *D. stschegolewi* є види *T. cylindrica*, *T. haskonis* і *T. pseudodina* (рис. 49), остання з яких має схоже забарвлення, подібну форму атріуму, але краще виражену «трохетну» кільчастість. До клади *D. stschegolewi* увійшов зразок виду *D. pseudotrocheta* з типового оселища, що вказує на те, що *D. stschegolewi* і *D. pseudotrocheta* є одним видом, і тому *D. pseudotrocheta* має бути зведена в синоніми.

Філогенетичний аналіз послідовностей гена *cox1* виявив, що послідовності *D. stschegolewi* утворюють на дереві монофілетичну кладу, яка ділиться на дві сестринські клади, європейську та кавказько-іранську

(рис. 49). До першої, європейської, кладі входять зразки з Криму, дельти Дністра, з Добруджі, Динарського нагір'я і верхньої частини басейну Руру. Іншаклада складається зі зразків із Південного Кавказу та Ірану. Кавказько-іранськаклада характеризується порівняно більшим генетичним різноманіттям та більш розгалуженою структурою. Зокрема, дві різні субклади формують зразки з басейнів Чорного та Каспійського морів.

Екологія та природоохоронне значення. Живе у різноманітних, здебільшого проточних, водоймах (Прокопов и Утевский, 2005; Khomenko et al., 2018). Живиться різноманітними безхребетними, зокрема амфіподами (Прокопов и Утевский, 2005). Ночами може вилазити на береги для полювання (особисте повідомлення Д. Палатова).

Внаслідок господарської діяльності людини оселища *D. stschegolewi* можуть деградувати (Хоменко та Утевський, 2018). Побудова гідротехнічних споруд, надмірний водозабір, розчищення та випрямлення річок може призвести до знищення окремих популяцій виду.

***Dina* sp. 1**

Поширення. Загроські гори. Наразі цей вид відомий лише за єдиною знахідкою (Darabi-Darestani, Sari, & Sarafrazi, 2016).

Зовнішня морфологія. Довжина тіла близько 48 мм. Тло спинної поверхні тіла сіруватого кольору, посеред спини проходить світла смуга, по боках від якої проходять смуги темнішого кольору. Поверх цього малюнку також розкидані дрібні світлі плями (рис. 26). Черевна поверхня тіла помітно світліша, без помітних плям (рис. 26). На поверхні тіла є дрібні сосочки, як на спині так і на черевній поверхні тіла (рис. 26). Ротовий присосок дуже широкий (рис. 26).

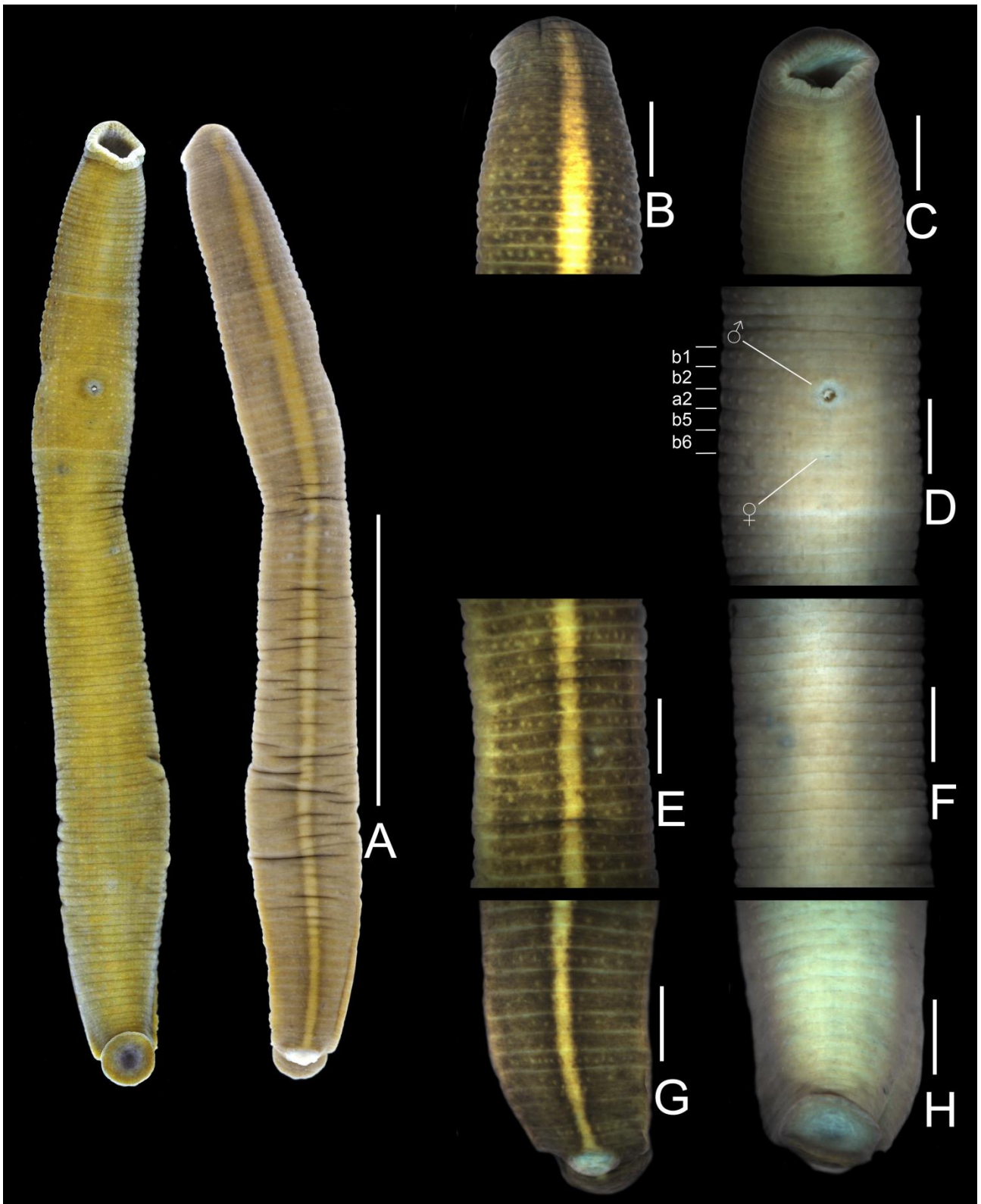


Рис. 26. Зовнішня морфологія *Dina* sp. 1. А – загальний вигляд п'явки (фото К. Даурабі-Дарестані), В, С – головний кінець тіла та передній присосок, D – пояскова зона, кільчастість та положення гонопорів, Е, F – соміт с середньої частини тіла, G, H – задній при сосок. Шкала для А = 1 см, для В-Н – 2 мм.

Соміт складається з шести або п'яти (останнє – подвійне) кілець (рис. 26).
 Формула соміту наступна: $b1+b2+a2+b5+b6(c11,c12)$ (рис. 26). У виявленої

особини гонопори розділені трьома кільцями, чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями b2 і a2, жіночий – в борозні між кільцями b6 і b1, на границі між сомітами (рис. 26).

Внутрішня морфологія. Атріум має підковоподібну форму з товстими, сильно загнутими рогами, займає близько половини відстані між XI і XII гангліями (рис. 27). Роги атріуму мають дуже виражені потовщення в основі та завитки на кінцях (рис. 27). Спільний відділ має округлу форму (рис. 27).



Рис. 27. Атріум *Dina* sp. 1. Шкала = 2мм.

Диференціація. Спочатку знайдений екземпляр цього виду було ідентифіковано як *E. vilnensis* через схожість забарвлення та кількість кілець між гонопорами (Darabi-Darestani, Sari, & Sarafrazi, 2016). У обох видів посередині тіла проходить світла смуга, обмежена двома більш темними смугами по боках. Також у обох видів поверх цього малюнку знаходяться світлі плями, але у іранської п'явки вони менш виражені. Нами було виявлено, що положення гонопорів у цих двох видів не гомологічне. У *E. vilnensis* чоловічий гонопор знаходиться у борознах між кільцями b1 і b2, а жіночий – між кільцями b5 і b6 (рис. 15). В іранської ж п'явки гонопори знаходяться в борознах між

кільцями b2 і a2 та b6 і b1 наступного соміту відповідно (рис. 26). Також іранська п'явка дещо більша за розміром, має більш витягнуте тіло, значно більший ротовий присосок та соміт, що складається з шести кілець (рис. 26).

Морфологічно та географічно найближчим до цієї п'явки є вид *D. farsa* Groszer & Pešić, 2008, яку також описали з Загроських гір (Groszer & Pešić, 2008). Цей вид має схожі повздовжні смуги на спинній стороні тіла, подібну форму тіла, великий ротовий присосок і такий самий склад соміту. Проте, *D. farsa* не має світлих плям та сосочків, а жіночий гонопор у цього виду розташований в борозні між кільцями b5 і b6, через що гонопори *D. farsa* розділені двома кільцями. Також ці два види досить подібні між собою за формою атріуму. Атріум обох видів займає близько половини відстані між гангліями, а в основі рогів атріуму є характерні потовщення. Водночас у *Dina* sp. 1 роги атріуму товстіші та розташовані один відносно одного під кутом близьким до 90° (рис. 27), а посередині вони згинаються під тупим кутом назустріч один одному, через що атріум має U-подібну форму, на відміну від *D. farsa*, у якої роги атріуму розташовані під гострим кутом та вигнуті V-подібно.

Серед видів роду *Dina* відомі й інші види, у яких гонопори розділені трьома кільцями, це *D. latestriata*, *D. absoloni* та *D. ratschaensis*, але всі вони сильно відрізняються від *Dina* sp. 1 морфологічно та не живуть у Ірані. *Dina latestriata* і *D. absoloni*, що живуть на Балканах, мають іншу форму тіла та гонопори, розташовані так само як у *E. vilnensis* (Neubert & Neseemann, 1995). Щодо забарвлення цих видів, то у *D. latestriata* крім парамедіальних темних смуг є ще латеральні темні смуги, а *D. absoloni* має повністю біле забарвлення через свій троглобіонтний спосіб життя (Neubert & Neseemann, 1995). Що стосується *D. ratschaensis*, то її гонопори розташовані таким самим чином, що й у *Dina* sp. 1, але знахідки цього виду відомі лише з печер Південного Кавказу, а сама п'явка має повністю біле забарвлення та іншу форму тіла (Лукин, 1976; Neubert & Neseemann, 1995) (рис. 22).

Філогенетичне положення. Результати філогенетичного аналізу послідовностей гену *cox1* вказують на приналежність цієї п'явки до роду *Dina* (рис. 46). Найбільш близькими до неї є балканські п'явки виду *D. lineata* та п'явки групи *D. ohridana*.

***Dina* sp. 2**

Поширення. Відома лише з о. Корсика, але близькі п'явки можуть жити на інших островах Середземного моря та Апеннінському півострові.

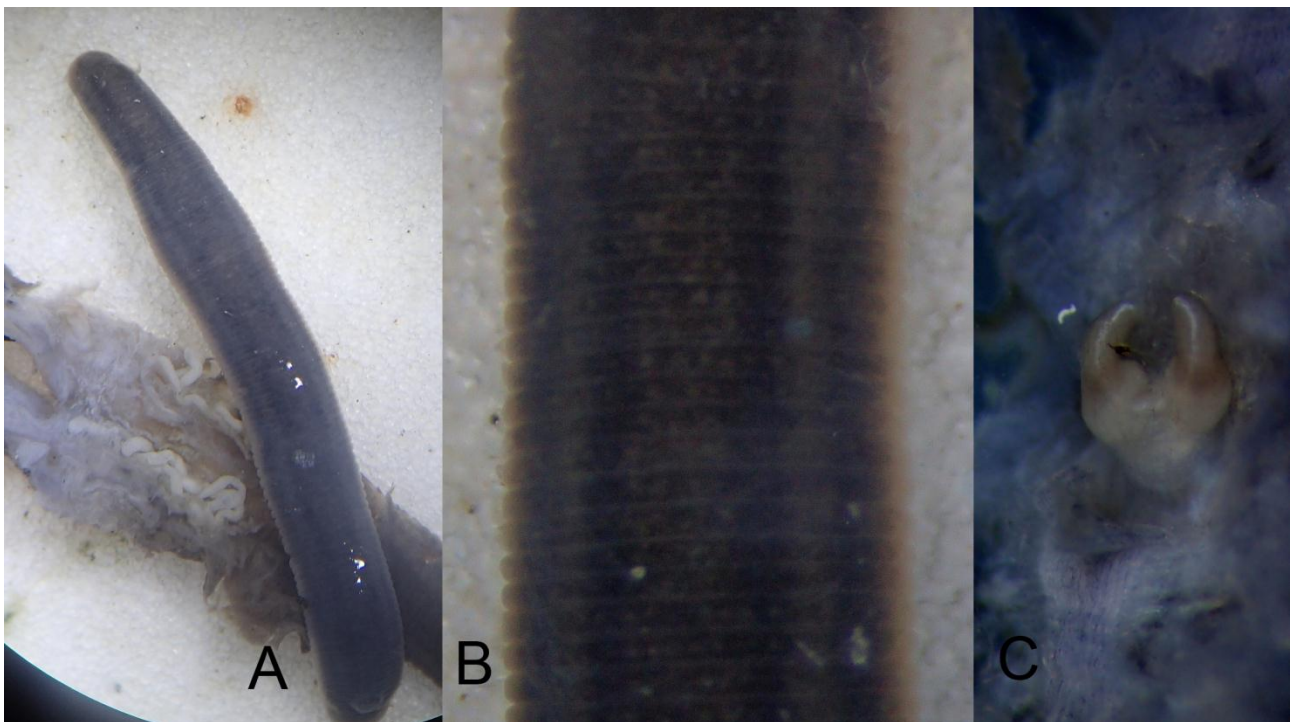


Рис. 28. Морфологічні особливості *Dina* sp. 2. А – загальний вигляд; В – забарвлення спинної поверхні тіла; С - атріум. Фото Бено Лекаплена.

Зовнішня морфологія. П'явка середнього, до п'яти сантиметрів в довжину, розміру (рис. 28). Забарвлення спинної сторони є комбінацією темних і світлих смуг на темно-коричневому тлі зі світлими плямами (рис. 28). Тло спинної сторони зі світлими плямами, проглядається посередині спини, ближче до краю проходять досить широкі світло-сірі латеральні смуги, обмежені тонкими майже чорними парамедіальними та маргінальними смугами (рис. 28). Край тіла й черевна сторона тіла світло-сіра (рис. 28). Ротовий присосок досить широкий (рис. 28). Соміт складається з шести або п'яти

(останнє – подвійне) кілець (рис. 28). Формула соміту наступна: $b1+b2+a2+b5+b6(c11,c12)$ (рис. 28). Гонопори розділені двома кільцями, чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями $b2$ і $a2$, жіночий – в борозні між кільцями $b5$ і $b6$ (рис. 28).

Внутрішня морфологія. Атріум має Y-подібну форму з товстими, вигнутими у дорсальному напрямку рогами, займає близько половини відстані між XI і XII гангліями (рис. 28). Роги атріуму мають дуже виражені потовщення в основі (рис. 28). Спільний відділ має видовжену форму (рис. 28).

Диференціація. Через кільчастість та смугасто-плямисте забарвлення цей вид можна сплутати з *D. punctata*, яка також живе в середземноморському регіоні. Від *D. punctata* цей вид відрізняється за деталями забарвлення. У *D. punctata* яскраво виділяється світліша смуга посередині спинної сторони тіла (рис. 21), тимчасом як у корсиканських п'явок їхні латеральні світлі смуги більш яскраві (рис. 28). Атріум п'явки з Корсики через потовщення в основі рогів за своєю формою не схожий на атріум номінативної *D. punctata*, а в порівнянні з атріумом *D. tauchi* має більш витягнуту форму (Nesemann & Neubert, 1999). Також за забарвленням цей вид може нагадувати *D. latestriata*, але у п'явок з Корсики посередині тіла забарвлення темніше ніж на латеральних смугах, а у *D. latestriata* – навпаки і вона значно вужча. До того ж, для *D. latestriata* характерною ознакою є наявність на кільцях $a2$ і $b5$ значно більших світлих плям, а чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями $b1$ і $b2$, через що гонопори розділені трьома кільцями (Neubert & Nesemann, 1995).

Філогенетичне положення. За результатами філогенетичного аналізу послідовностей *cox1* цей вид належить до групи палеарктичних *Dina*, а найближчими до п'явок з Корсики є *D. latestriata* та трохи далі – п'явки, ідентифіковані як *D. farsa* з Ірану та Туреччини (рис. 46).

3.1.3. *Trocheta Dutrochet*, 1817

П'явки середнього або великого розміру (Nesemann & Neubert, 1999). Зазвичай представники цього роду ведуть амфібіотичний спосіб життя (Лукин, 1976; Nesemann & Neubert, 1999). Соміт п'явок роду *Trocheta* складається з семи-одинадцяти кілець (Nesemann & Neubert, 1999). Останні три кільця соміта зазвичай мають нерівну ширину, через що в кінці соміту часто можна спостерігати одне кільце середнього розміру (c11) та два вузьких (d23, d24) (Nesemann & Neubert, 1999).

Trocheta subviridis Dutrochet, 1817

Syn: *Nephelis trochetia* Moquin-Tandon, 1826

Nephelis gigas Moquin-Tandon, 1826

Hirudo (Geobdella) trochetii Blanville, 1827

Nephelis trocheta Apathy, 1888

Типове оселище. Муніципалітет Шато-Рено, Центр-Долина Луари, Франція (Nesemann & Neubert, 1999).

Поширення. Поширений лише у Південно-західній Європі. Знахідки цього виду відомі у північній Італії, Франції, Люксембурзі, південній Англії і Ірландії (Nesemann & Neubert, 1999). Знахідки в інших регіонах були переглянуті та віднесені до інших видів.

Зовнішня морфологія. П'явка великого розміру, довжина тіла до 14 см (Nesemann & Neubert, 1999). Забарвлення світло-сіре або світло-коричневе, вздовж спинної поверхні тіла проходять дві малопомітні темніші смуги (Nesemann & Neubert, 1999). Соміт складається з восьми (з них три – подвійні) або одинадцяти кілець, формула соміта наступна: $c1+c2+b2(c3,c4)+a2(b3,b4)+b5(c9,c10)+c11+d23+d24$ (рис. 29). Чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями c2 і b2, а жіночий – кільцем d24

XII соміта та кільцем с1 XIII соміту (рис. 29). Таким чином, гонопори розділені шістьма (з них три подвійних) або дев'ятьма кільцями (рис. 29).



Рис. 29. Зовнішня морфологія *T. subviridis*. А-В – загальний вигляд, С – пояскова зона з черевної сторони. Шкала для А-В = 1 см, для С – 5 мм.

Філогенетичне положення. *Trocheta subviridis* сильно відрізняється від інших глоткових п'явок і формує кладу, окрему від інших видів, зокрема видів роду *Trocheta* (рис. 37–38). Через це ми робимо висновок, що таксономічна приналежність інших видів роду потребує перегляду.

***Trocheta cylindrica* Örley, 1886**

Трохета струмкова

Syn: *Trocheta bykowskii* Gedroyć, 1913

Blanchardia bykowskii (Gedroyć, 1913)

Типове оселище. Струмок Бистриця біля м. Банська Бистриця, Словаччина (Košel, 2004).

Поширення. Знахідки цього виду відомі в Західних та Східних Карпатах (Grosser, 2015), а саме в Україні (Gedroyć, 1916), Угорщині (Nesemann, 1993a), Словаччині (Košel, 2004), Чехії (Schenkova et al., 2009) та Польщі (Bielecki et al., 2011), але приналежність більшості з цих знахідок до *T. cylindrica* потребує підтвердження. Крім Карпат, також відомі знахідки схожих п'явок у країнах Леванту (Bromley, 1994), у Туреччині (Лукин, 1976), Болгарії (Jueg, 2010), південній Румунії (Cristea & Manoleli, 1975), колишній Югославії (Sket, 1968), Італії (Nesemann & Neubert, 1999) та північній Польщі (Bielecki et al., 2011), належність яких до вищеназваного виду малоймовірна. П'явки з західної Європи ідентифіковані як *T. cylindrica* або *T. bykowskii* згодом були описані як три окремі види, *T. pseudodina* (Nesemann & Neubert, 1999) *T. haskonis* (Grosser, 2000) та *T. taunensis* (Grosser, 2015). Нами було показано, що п'явки з Криму й Кавказу, яких ідентифікували як *T. bykowskii* (= *T. cylindrica*), належать до інших видів.

Зовнішня морфологія. Велика п'явка, зазвичай до 15 сантиметрів завдовжки, сірого або світло-коричневого кольору (рис. 30). Сосочків на поверхні тіла немає. Соміт складається з одинадцяти або восьми (з них три – подвійні) кілець (рис. 30). Формула соміту – $c1+c2+b2(c3,c4)+a2(b3,b4)+b5(c9,c10)+c11+d23+d24$. Чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями $b2$ і $a2$, жіночий – між кільцями $b5$ і $c11$ (рис. 30). Між гонопорами два подвійних (або чотири звичайних) кільця.

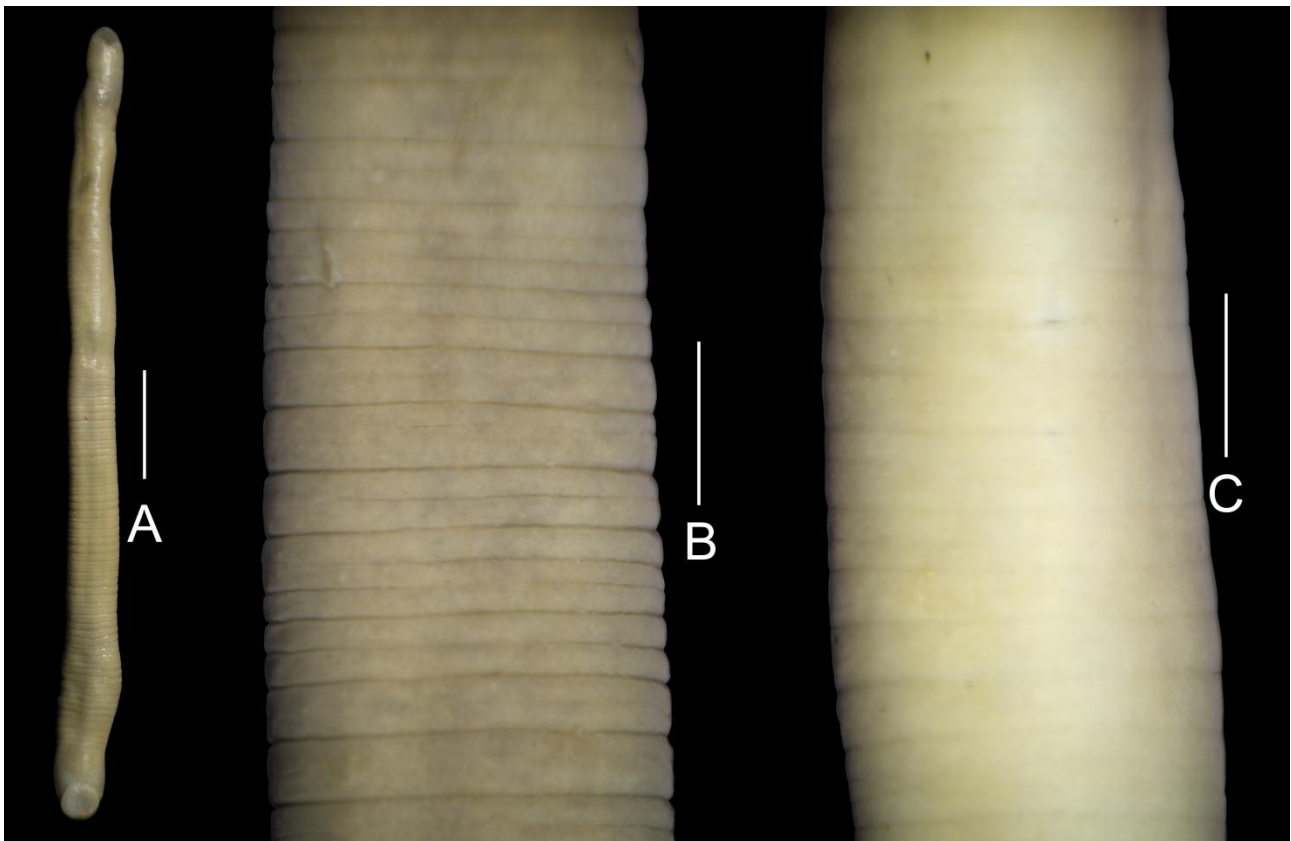


Рис. 30. Зовнішня морфологія *T. cylindrica*. А – загальний вигляд п’явки, В – соміт із середньої частини тіла, С – пояскова зона з черевної сторони. Шкала для А = 1 см, для В-С = 2 мм.

Внутрішня морфологія. Атріум невеликий, займає близько половини відстані між XI і XII гангліями (Grosser, 2015). Спільний відділ атріуму округлий, роги відносно один до одного розташовані під тупим кутом і дуже сильно вигнуті.

Філогенетичне положення. П’явки, ідентифіковані різними фахівцями як *T. cylindrica*, утворюють спільну з *T. haskonis* кладу, сестринську до *D. stschegolewi* (рис. 49). Зразки, що були ідентифіковані як *T. cylindrica*, не утворюють монофілетичної групи й сильно розрізняються між собою генетично, що вказує на невиявлене видове різноманіття цього роду в Карпатах, Альпах та інших пов’язаних з ними гірських системах Європи.

Екологія та природоохоронне значення. П’явки, що живуть у джерелах, струмках і малих річках (Košel, 2004). Зазвичай *T. cylindrica* ховається в ґрунті та між камінням на березі, але під час дощу часто виповзає на поверхню для полювання на земляних черв’яків (Лукин, 1976).

Через людську діяльність кількість придатних для цього виду оселищ зменшується. Під час проведення лісозаготівель річища струмків і малих річок часто використовуються як дороги для важкої техніки, що призводить до руйнування оселищ та загибелі великої кількості водних тварин. До таких самих наслідків призводять роботи з випрямлення та розчищення річищ. Будівництва дамб призводить до затоплення придатних для проживання *T. cylindrica* берегів. Для збереження виду необхідне проведення пошуку ще невиявлених популяцій, суворіша законодавча регуляція гідротехнічного будівництва на гірських/напівгірських річках і проведення просвітницької діяльності серед місцевого населення.

***Trocheta danastrica* Stschegolew, 1938**

Трохета потайна або дністровська

Syn: *Trocheta subviridis* forma *danastrica* Stschegolew, 1938

Trocheta longiatriata Košel, 2004

Типове оселище. Описана з дельти Дністра в околицях м. Біляївка.

Поширення. Причорноморська низовина, Валашська рівнина (частина Нижньодунайської рівнини на північ від Дунаю), Паннонська рівнина. Знахідки цього виду відомі з південної України (Хоменко та ін., 2019), Румунії (Cristea & Manoleli, 1975), Угорщині (Nesemann, 1993a) , Сербії (Grosser & Epshtein, 2009) та Австрії (Košel, 2004). Згадки про знахідки цього виду в Греції та Туреччині (Nesemann & Neubert, 1999) непідтверджені й малоймовірні через брак відповідних оселищ у цих країнах. Згадки про знахідку *T. danastrica* в Грузії (Nesemann & Neubert, 1999) з великою ймовірністю помилкові. Знайдені Щоголевым в Грузії п'явки були віднесені ним до *T. subviridis sensu lato*, а не до описаної ним *T. subviridis* forma *danastrica* (Щёголев, 1938).

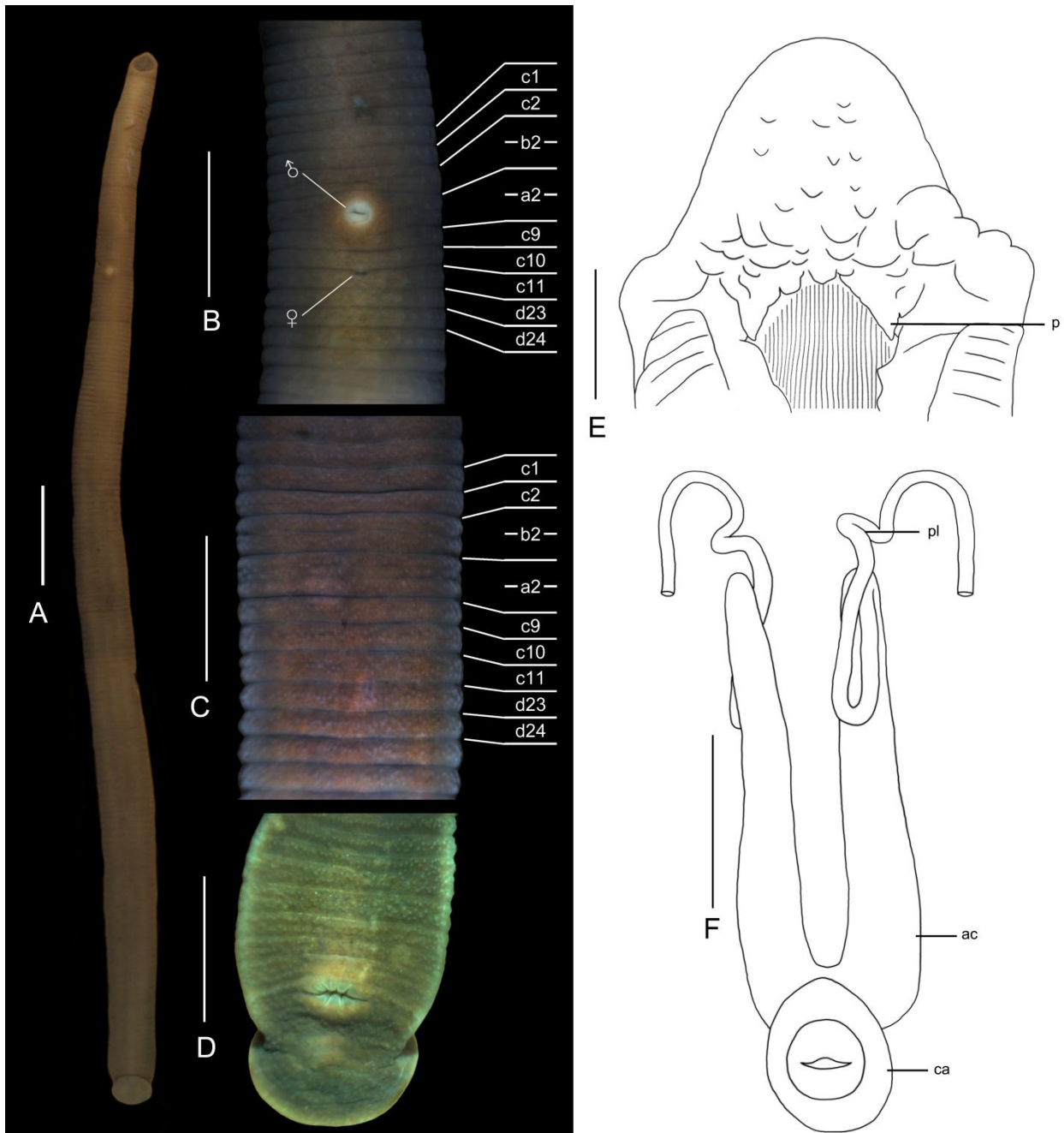


Рис. 31. Морфологічні особливості *T. danastrica*. А – загальний вигляд п'явки; В – пояскова зона з черевної сторони, С – середній соміт із спинної сторони, D – задній присосок, Е – ротовий присосок та псевдогнати, F - атріум. Шкала для А= 15 мм, для В-D – 5 мм, для Е-F – 2 мм.

Зовнішня морфологія. Велика, темнозabarвлена п'явка, до 28 см довжиною (Nesemann & Neubert, 1999). На поверхні тіла є численні сосочки, які утворюють поперечні ряди (рис. 31). Сосочки на спинній поверхні більші, ніж на черевній (рис. 31). Соміт складається з одинадцяти або дев'яти (з них два – подвійні) кілець (рис. 31). Формула соміту наступна: $c1+c2+b2(c3,c4)+a2(b3,b4)+c9+c10+c11+d23+d24$. Чоловічий гонопор

розміщений в борозні між кільцями b3 і b4 (посередині другого подвійного кільця), жіночий – в борозні між кільцями c10 і c11, часто з незначним зміщенням на кільце c11 (Щёголев, 1938). Таким чином, між гонопорами зазвичай знаходиться три (або половина подвійного і два звичайних) кільця (рис. 31).

Внутрішня морфологія. Псевдогнати невеликі за розміром та досить витягнуті (рис. 31). Діагностичною ознакою цього виду є форма атріуму. Атріум дуже довгий, сильно витягнутий вздовж тіла, займає всю відстань між XI і XII гангліями (рис. 31). Спільний відділ атріуму невеликий, знаходиться над XII ганглієм (рис. 31). Роги атріуму дуже довгі, паралельно розташовані один до одного (рис. 31), часто S-подібно вигнуті у дорсовентральному напрямі (рис. 31). Сім'явипорскувальні канали формують дуже довгі, близько з третину довжини рогів атріуму, преатріальні петлі, які лежать паралельно рогам атріуму (рис. 31), що є унікальною морфологічною ознакою.

Філогенетичне положення. *Trocheta danastrica* належить до дуже поширеної класи видів, представники якої мають однаково розміщені гонопори та живуть вздовж узбережжя Чорного моря. *Trocheta danastrica* формує незалежну, досить віддалену гілку в цій класі (рис. 48).

Екологія, природоохоронне і господарське значення. На відміну від більшості інших видів роду *T. danastrica* здебільшого живе вздовж рівнинних річок з пологими берегами, утвореними м'якими ґрунтами (Щёголев, 1938). За нашими спостереженнями, на території України ці п'явки найчастіше трапляються в дельтах Дунаю, Дністра і Дніпра, у вологому прибережному ґрунті в заплавах листяних лісах. У заростях очерету цих п'явок не виявлено. Живиться *T. danastrica* здебільшого земляними черв'яками, на яких полює а ґрунті на березі водойм (Щёголев, 1938). Ночами для полювання можуть виходити на поверхню. Інколи під час водопілля можна спостерігати масовий вихід цього виду на поверхню (М. Сон, особисте повідомлення, квітень 30, 2017).

Моніторинг чисельності *T. danastrica* ускладнений через її прихований спосіб життя. *Trocheta danastrica* використовують у аматорській риболовлі як наживка, через що в деяких країнах виловлюється в промислових масштабах (Grosser & Epshtein, 2009). Також на чисельність може впливати проведення меліоративних заходів. Утримуються та розмножується в неволі окремими аматорами (М. Pankiewicz, personal communication, January 5, 2020), що потенційно може дозволити скоротити вилов цієї п'явки. Через великі розміри, відносну простоту утримання та розмноження у майбутньому може використовуватися як модельний об'єкт у біологічних досліджень.

***Trocheta blanchardi* Khomenko, S. Utevsky, A. Utevsky & Trontelj, 2020**

Трохета кримська

Типове оселище. Україна, АР Крим, м. Ялта, р. Дерекойка. Координати – 44° 30' 17.65" N, 34° 10' 07.30" E.

Поширення. Південне узбережжя Криму. Достовірно відома лише з двох водойм в межах м. Ялта: р. Дерекойка та р. Учан-су (Прокопов и Утевский, 2005; Khomenko et al., 2020). Також існують повідомлення про знахідки трохет у р. Чорна та в околицях м. Гурзуф (Лукин, 1976; Прокопов и Утевский, 2005).

Зовнішня морфологія. П'явки середнього або великого розміру з довжиною тіла до 8,5 см. Забарвлення сірого або коричневого кольору з рожевим відтінком. На поверхні тіла багато дрібних рівномірно розкиданих сосочків. У задній частині тіла сосочки мають тенденцію до формування поперечних рядів. Повний соміт складається з одинадцяти або дев'яти (з них два – подвійні) кілець. Формула соміту наступна: $c1+c2+b2(c3,c4)+a2(b3,b4)+c9+c10+c11+d23+d24$. Чоловічий гонопор розміщений в борозні між кільцями $b3$ і $b4$ (посередині другого подвійного кільця), жіночий – в борозні між кільцями $c10$ і $c11$ (рис. 32). Отже, між

гонопорами зазвичай знаходиться три (або половина подвійного і два звичайних) кільця.

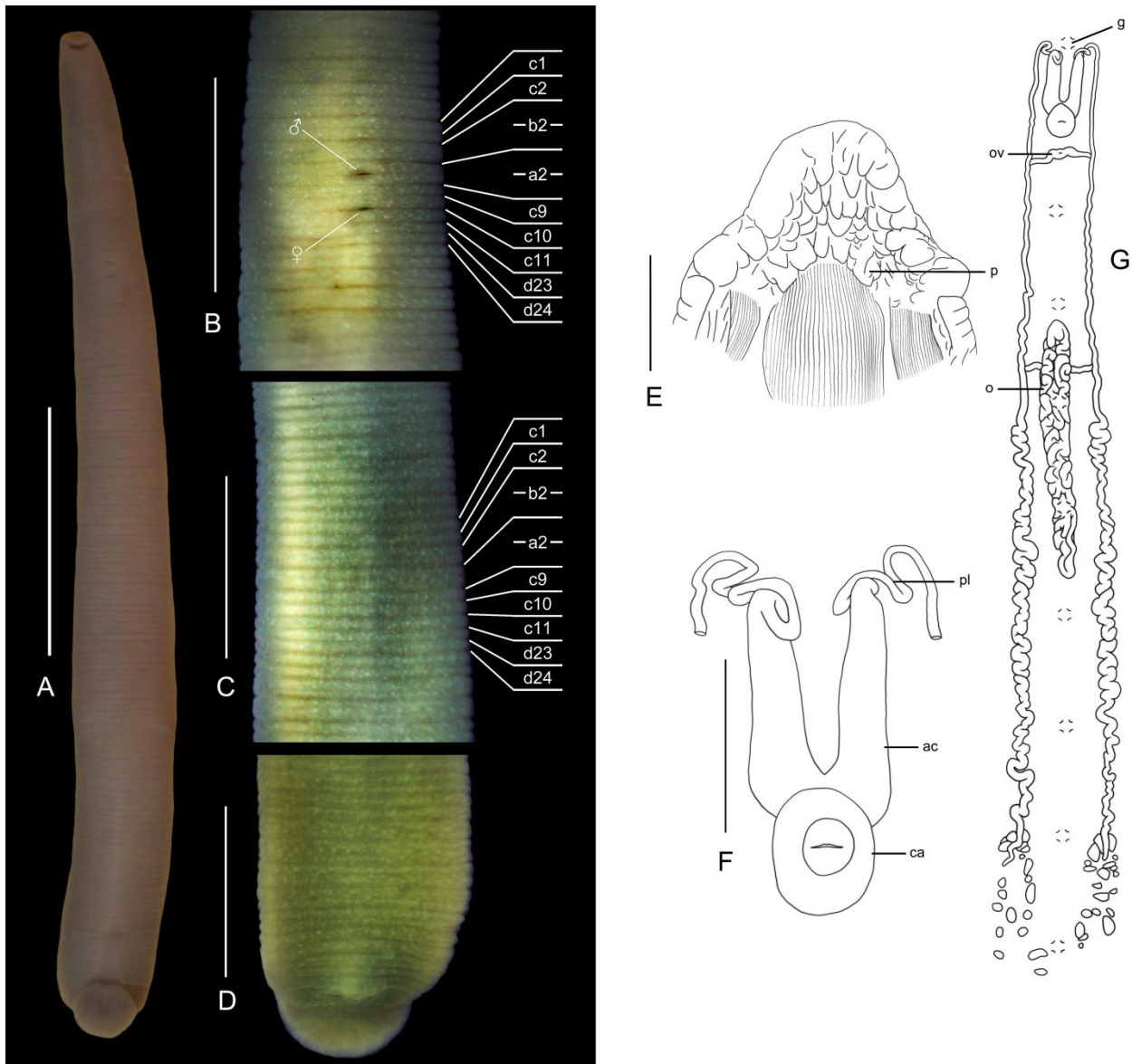


Рис. 32. Морфологічні особливості *T. blanchardi*. А – загальний вигляд п'явки; В – пояска зона з черевної сторони, С – середній соміт із спинної сторони, D – задній присосок, Е – ротовий присосок та псевдогнати, F – атріум, G – загальний вигляд статеві системи. Шкала для А= 15 мм, для В-D – 5 мм, для Е-F – 2 мм.

Внутрішня морфологія. Псевдогнати невеликі та досить широкі. Сім'яні мішки мають вигляд грон, тягнуться від заднього присоска до XIX ганглія, де різко переходять у сім'яні резервуари (рис. 32). Сім'яні резервуари мають вигляд товстих сильнозвивистих каналів, які тягнуться від XIX до XV ганглія, де плавно переходять у сім'явипорскувальні канали (рис. 32). Сім'явипорскувальні канали мають вигляд тонких прямих або слабозвивистих

проток і тягнуться від XV до XI ганглія, де розвертаються у протилежний бік, формуючи преатріальні петлі, що мають вигляд невеликих завитків на кінці рогів атріуму (рис. 32). Атріум займає всю відстань між XII і XI гангліями та має прямі товсті роги (рис. 32). Спільний відділ атріуму округлий (рис. 32). Яйцеві мішки починаються посередні тіла між XII і XIII гангліями, після чого тягнуться в різні боки під сім'яними резервуарами, і між XIV і XV гангліями сходяться посередині тіла, утворюючи складно переплетену масу, яка досягає середини між XVI і XVII гангліями (рис. 32).

Диференціація. З описаних видів найближчим до *T. blanchardi* є *T. danastrica*. Цей вид має так само розташовані гонопори та сосочки на всій поверхні тіла. Однак *T. blanchardi* значно менша за розмірами й має відносно ширше тіло та менш витягнуте тіло. Сосочки на поверхні тіла *T. blanchardi* менші за розміром і розташовані менш упорядковано. Передній присосок і псевдогнати *T. blanchardi* менш витягнуті. Соміт *T. blanchardi* і *T. danastrica* має однакову кільчастість, але у *T. blanchardi* більш виражена тенденція до розділення кілець b2 і a2. Хоча у обох видів атріум займає всю відстань між XII та XI гангліями, у *T. blanchardi* він менш витягнутий, а преатріальні петлі мають вигляд завитків, а не петель, як у *T. danastrica*. Крім того, споріднені й морфологічно близькі до *T. blanchardi* види живуть на Кавказі та в Анатолії вздовж узбережжя Чорного моря, але для виявлення морфологічних відмінностей між ними та *T. blanchardi* наявного матеріалу недостатньо.

Філогенетичне положення. *Trocheta blanchardi* належить до дуже поширеної клади видів, представники якої мають однаково розміщені гонопори й живуть уздовж узбережжя Чорного моря. *Trocheta blanchardi* разом з п'явками з Грузії та північної Анатолії формує окрему кладу зі складною філогенетичною структурою (рис. 48).

Екологія та природоохоронне значення. Живе вздовж берегів гірських річок Південного узбережжя Криму, ховаючись під камінням або утворюючи ходи в прибережному ґрунті й полюючи на різних безхребетних, зокрема на

земляних черв'яків. Достовірно відомий ареал *T. blanchardi* обмежений лише двома локалітетами, а останні спостереження вказують на зниження чисельності цього виду (Прокопов, 2018). Це вказує на вразливість цього виду внаслідок людської діяльності та змін клімату в бік аридизації, що наразі спостерігається. Ба більше, проведення природоохоронних заходів з боку України як держави є неможливим через окупацію АР Крим. Отже, виникає великий ризик вимирання *T. blanchardi* найближчим часом, для запобігання якого необхідне включення цього виду до Червоної книги України та Міжнародної червоної книги.

Комплекс *Trocheta* sp. 1

Поширення. Деякі малі водотоки, що стікають з південних схилів західної частини Великого Кавказу. Краснодарський край (РФ).

Зовнішня морфологія. П'явка середнього-великого розміру, до 73мм довжиною (рис. 33). Світло-сіре забарвлення, часто з рудим відтінком. На відміну від більшості видів роду має дуже широкий ротовий присосок та різкий перехід між трахелосоною та уросоною. На тілі є сосочки, але лише на черевній стороні (рис. 33). Соміт складається з одинадцяти або восьми (з них три – подвійні) кілець. Формула соміту така: $c1+c2+b2(c3,c4)+a2(b3,b4)+b5(c9,c10)+c11+d23+d24$ (рис. 33). Чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями $b2$ і $a2$, жіночий – між кільцями $b5$ і $c11$. Між гонопорами два подвійних або чотири звичайних кільця (рис. 33).

Внутрішня морфологія. Псевдогнати дуже маленькі. Сім'яні мішки мають вигляд грон, що тягнуться від заднього присока до XVIII ганглія, де різко переходять у сім'яні резервуари (рис. 34). Сім'яні резервуари мають вигляд товстих сильнозвивистих каналів, які тягнуться від XVIII до XV ганглія, де плавно переходять у сім'явипорскувальні канали (рис. 34). Сім'явипорскувальні канали мають вигляд тонких слабозвивистих проток і тягнуться від XV до XI ганглія, де розвертаються у протилежний бік,

формує преатріальні петлі, що мають вигляд невеликих завитків на кінці рогів атріуму (рис. 34). Атріум займає приблизно половину відстані між XI і XII гангліями.

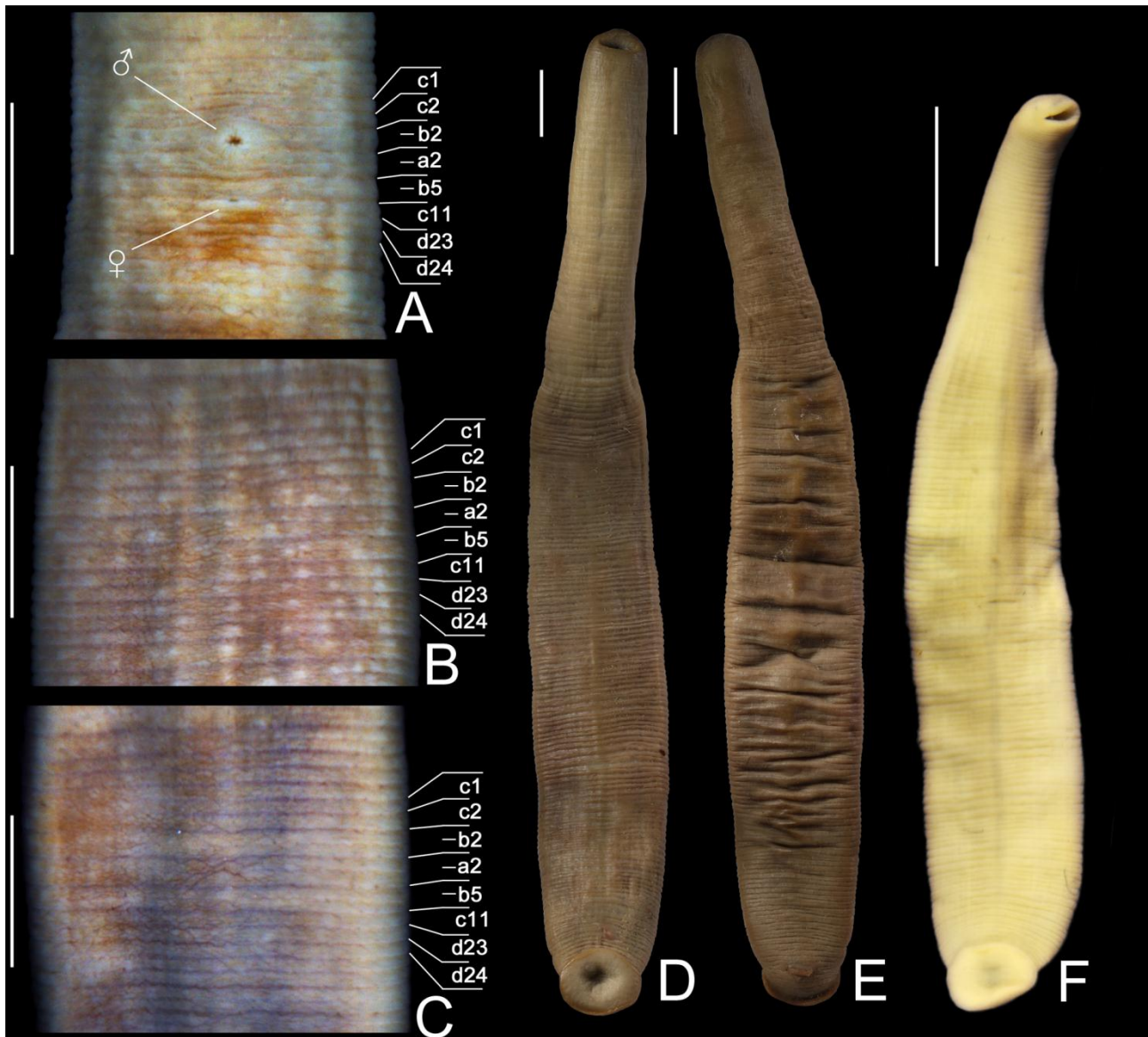


Рис. 33. Зовнішня морфологія *Trocheta* sp. 1. А – пояскова зона з черевної сторони, В – соміт середньої частини тіла з черевної сторони, С - соміт середньої частини тіла з спинної сторони, D, E – загальний вигляд п'явки, F – загальний вигляд ювенільної п'явки. Шкала = 5 мм.

Спільний відділ атріуму округлий, роги атріуму дуже сильно вигнуті та знаходяться під тупим кутом відносно один до одного. Яйцеві мішки починаються посередні тіла між XII і XIII гангліями, після чого тягнуться в різні боки під сім'яними резервуарами до XV-XVI ганглія, посередні тіла не сходяться (рис. 34).

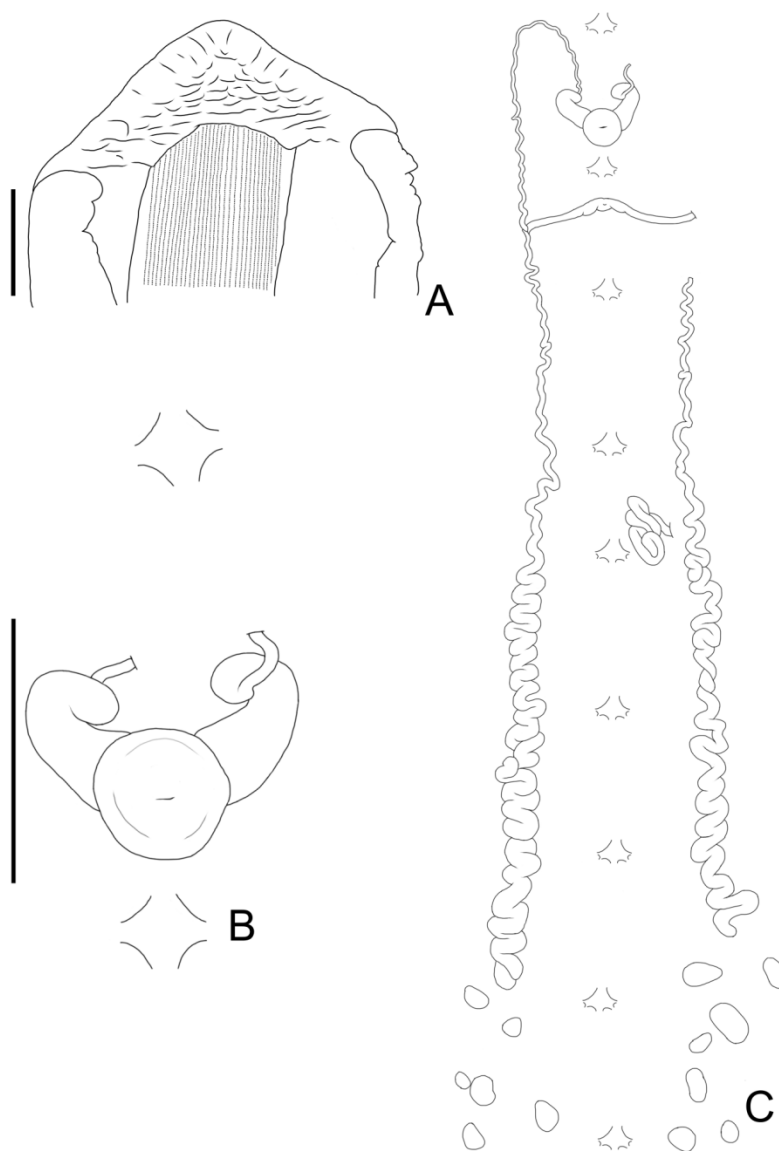


Рис. 34. Внутрішня морфологія *Trocheta* sp. 1. А – псевдогнати, В – атріум, С – загальний вигляд статеві системи. Шкала = 2 мм.

Диференціація. Найближчою морфологічно до *Trocheta* sp. 1 є *T. vignai* (Minelli, 1978), яка була описана з Туреччини. Обидва види мають різкий перехід між уросомою та трахелосомою, широкий ротовий присосок, та однакове положення гонопорів (Nesemann & Neubert, 1999), але є і кілька відмінних рис між ними. Задня третина тіла *T. vignai* дуже сильно розширена (Nesemann & Neubert, 1999), чого немає у *Trocheta* sp. 1. Соміт *Trocheta* sp. 1 складається з одинадцяти кілець, проте у *T. vignai* він складається з семи або дев'яти кілець (Nesemann & Neubert, 1999). У дорослих особин *Trocheta* sp. 1 на черевній поверхні тіла є сосочки, яких зовсім немає у *T. vignai*

(Nesemann & Neubert, 1999). Молодих особин *Trocheta* sp. 1 можна відрізнити за наявністю очей, яких також немає у *T. vignai* (Nesemann & Neubert, 1999). Така різниця виникає через те, що кільця b2 і a2 у *T. vignai* ніколи не розділяються, а кільця b5 і c12 – лише інколи (Nesemann & Neubert, 1999).

За будовою статеві системи, з тих видів, у яких її будова була досліджена, найближчою до *Trocheta* sp. 1 є *T. cylindrica*. Обидва види мають однакове положення гонопорів (Košel, 2004), схожі за своєю формою атріуми, а яйцеві мішки в обох видів не переплітаються посередині тіла (Grosser, 2015). Водночас у *T. cylindrica* сім'яні резервуари знаходяться між XVIII та XIV гангліями (Grosser, 2015), а у *Trocheta* sp. 1 – між XVIII та XV. Яйцеві мішки, судячи з малюнків К. Гроссера (2015), мають значно більшу довжину, ніж у *Trocheta* sp. 1. Хоча *Trocheta* sp. 1 і *T. cylindrica* мають однакове положення гонопорів і соміт, що складається з одинадцяти кілець, їх легко можна відрізнити за різким переходом між уросомою та трахелосомою, сосочками на череві й широким ротовим присоском.

Філогенетичне положення. Належить до однієї з трьох головних субклад всередині клади, сформованої видами роду *Trocheta* (рис. 50). Представники цієї субклади поширені виключно на території Кавказу. Найближчими родичами *Trocheta* sp. 1 є схожі п'явки, які живуть у печерних водотоках Кавказу. Генетичні відмінності всередині клади *Trocheta* sp. 1 досить значні та наводять на висновки про наявність комплексу криптичних видів.

Екологія. П'явки цієї групи живуть в невеликих струмках та джерелах, що протікають у низькогір'ї західної частини Великого Кавказу. Роль у харчовому ланцюзі цих п'явок невідома, але беручи до уваги великі розміри ротового присоска можна висунути припущення, що вони живляться водними безхребетними відносно великого до них розміру.

Грузинські печерні *Trocheta* spp.

Поширення. На Кавказі печерні *Trocheta* відомі у двох регіонах, у Абхазькій Автономній Республіці та у краю Самеґрело-Земо-Сванеті. Перший з виявлених, близький до *T. danastrica* і *T. blanchardi* видів, живе у печерах Середній Шакуранській та Голова Отапа на території Абхазької Автономної Республіки. Інший вид, один з двох близьких до *Trocheta* sp. 1 видів, був виявлений лише у Цебельда, що також у Абхазькій Автономній Республіці. Третій вид відомий нам з печер Чорцху та Гараха, що у краю Самеґрело-Земо-Сванеті, та печери Анухва, що у Абхазькій Автономній Республіці.

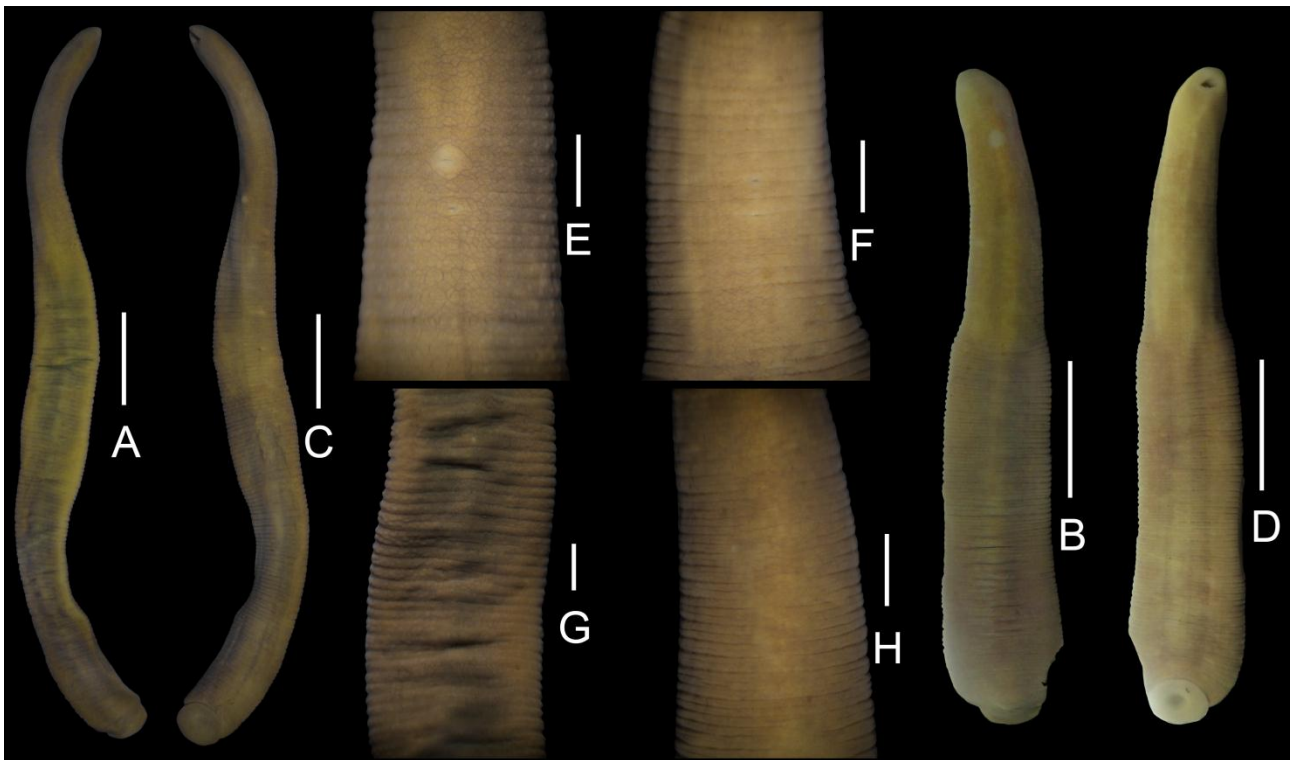


Рис. 35. Зовнішня морфологія двох видів *Trocheta* з печер Південного Кавказу. А-Д – загальний вигляд п'явок, Е-Ф – пояскова зона, G-Н – спина поверхня тіла. Шкала для А-Д = 1 см, для Е-Н – 2 мм.

Зовнішня морфологія. Один із виявлених видів так само як і *T. danastrica* та *T. blanchardi* має багаточисленні сосочки по всій поверхні тіла та такий самий склад соміту. Водночас на відміну від *T. danastrica* та *T. blanchardi* у цього виду забарвлення світлокоричневе. Відрізняється він і за положенням гонопорів. У цього виду чоловічий гонопор знаходиться в борозні між кільцями b2 і a2, жіночий – між кільцями b5 і c11. Отже, гонопори

розділені чотирма (або двома подвійними) кільцями (рис. 35). Інші два види більш схожі на *Trocheta* sp. 1. Вони мають виражений перехід між уросомою та трахелосомою та досить широкий ротовий присосок. За складом соміту та положенням гонопорів вони від *Trocheta* sp. 1 не відрізняються. Водночас, на відміну від цього виду вони не мають сосочків на черевній стороні тіла. Між собою ці види за зовнішньою морфологією дуже схожі, але у п'явок із Мегрелії можна побачити сліди пігментації у вигляді темнішого тла забарвлення, та світлої смуги, що проходить спиною (рис. 35).

Філогенетичне положення. Печерні п'явки роду *Trocheta* належать до однієї кладі і з більшістю інших видів роду, але вони не формують єдиної монофілетичної групи (рис. 48; рис. 50). Загалом можна виділити дві кладі: перша входить до однієї суперклади з *T. danastrica* і *T. blanchardi* і друга, що близька до *Trocheta* sp. 1. Зразки, що сформували першу кладу, судячи за результатами делімітації, найімовірніше, належать до одного виду. Інша ж група печерних трохет різноманітніша, вона складається з двох сестринських клад, а результати делімітації свідчать, що ці кладі відповідають щонайменше двом окремим видам.

3.1.4. *Fadejewobdella* Lukin, 1962

П'явки середнього та великого розміру, соміт складається з п'яти кілець рівної ширини. Атріум має спіральні завиті роги. Кокон має дуже своєрідну, витягнуту, форму.

***Fadejewobdella quinqueannulata* (Lukin, 1929)**

Псевдотрохета п'ятикільчаста

Syn: *Trocheta quinqueannulata* Lukin, 1929

Поширення. Ареал *F. quinqueannulata* займає північно-східну частину Азовсько-Чорноморського басейну, від берегів Дніпра до північних схилів Великого Кавказу. В Україні знахідки цього виду є в Харківській,

Дніпропетровській, Чернігівській та Сумській областях (Лукин, 1976; Utevsky, 2015). Також відомі знахідки у Росії в Ростовській області та Краснодарському краї (Лукин, 1976).

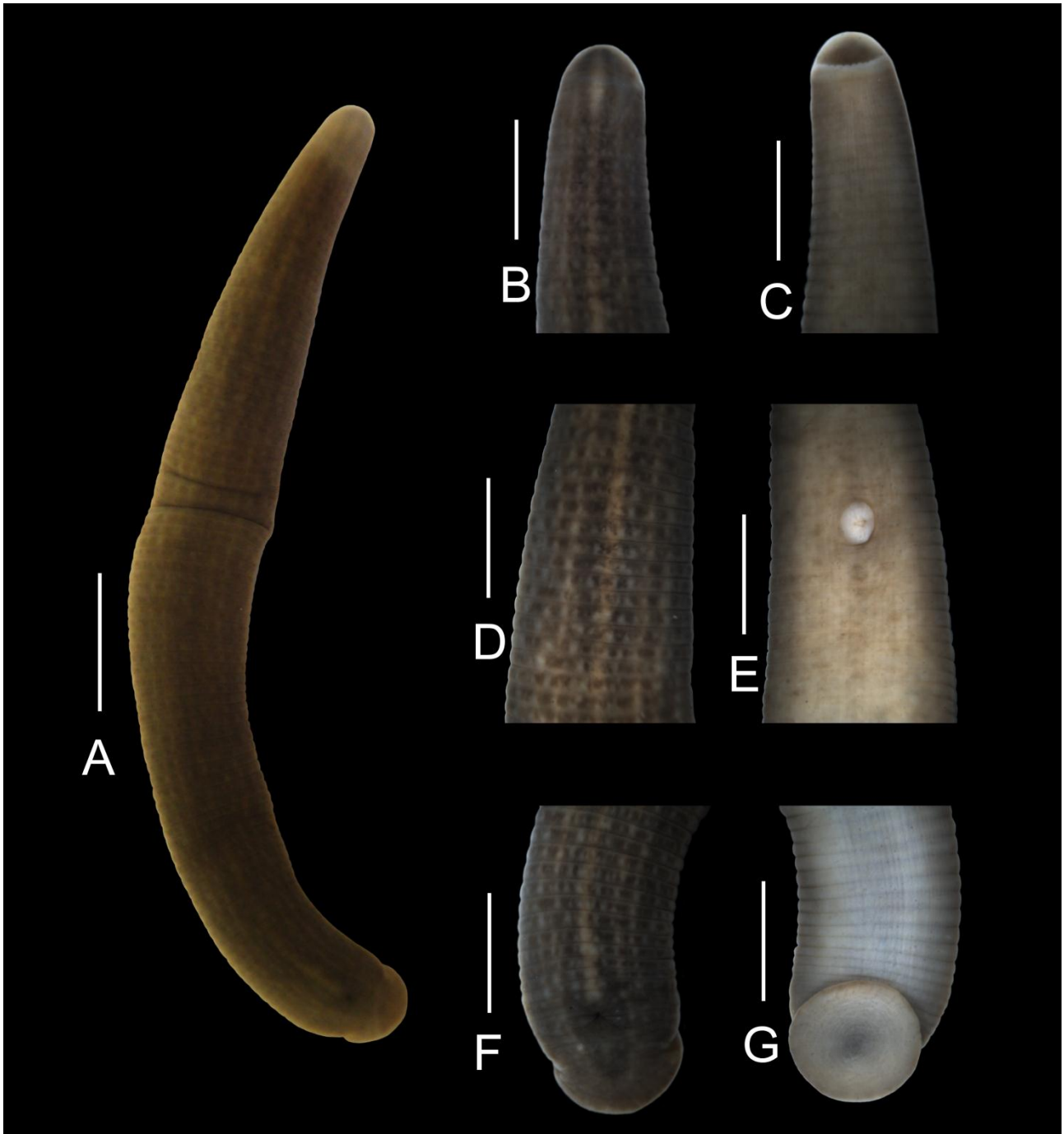


Рис. 36. Зовнішня морфологія *F. quinqueannulata*. А – загальний вигляд п'явки; В, С – головний кінець тіла та передній присосок, D, Е – пояскова зона, F, G – задній присосок. Шкала для А = 1 см, для В-Г – 5мм.

Зовнішня морфологія. Велика п'явка до 136 мм довжиною (Лукин, 1976). Спинна поверхня тіла має коричневе або оливкове тло із світлими плямами. Найбільші плями формують п'ять смуг, які тягнуться до

анального отвору (рис. 36). Центральна смуга є самою широкою та найбільш помітною. Черевна сторона тіла світло забарвлена (рис. 36). Соміт складається з п'яти кілець рівної ширини (Лукин, 1976), таким чином формула соміту наступна: $b_1+b_2+a_2+b_5+b_6$. Чоловічий гонопор знаходиться між кільцями b_1 і b_2 , а жіночий – між кільцями b_5 і b_6 , таким чином гонопори розділені трьома кільцями (рис. 36).

Філогенетичне положення. За результатами філогенетичного аналізу було виявлено, що *F. quinqueannulata* формує дуже віддалену від інших глоткових п'явок кладу у складі цієї родини (рис. 37-40).

3.2. Молекулярний філогенетичний аналіз

3.2.1. Філогенетична структура родини Erpobdellidae

Попередні дослідження, проведені за допомогою мультилокусних філогенетичних аналізів, виявили певну структуру всередині глоткових п'явок, але отримані угруповання, на думку багатьох авторів, не можуть бути охарактеризовані за своєю морфологією (Siddall, 2002; Oseguera-Figueroa et al., 2011), тому ними було прийнято рішення про синонімізацію родів *Dina*, *Trocheta*, *Croatobranchus*, *Nephelopsis*, *Mooreobdella* та *Motobdella* із родом *Erpobdella*. Однак деякі спеціалісти з таксономії п'явок не погодилися з таким рішенням (Trajanovski et al., 2010; Grosser, 2015; Govedich et al., 2019). Для розв'язання цієї проблеми ми вирішили проаналізувати окремо послідовності генів, які найчастіше використовуються для філогенетичних реконструкцій глоткових п'явок, а саме *cox1*, 12S, 28S та 18S, і спробувати охарактеризувати отримані угруповання за морфологічними ознаками.

У результаті філогенетичного аналізу послідовностей гена *cox1* нами було отримано дерево (рис. 37), на якому можна виділити одинадцять основних монофілетичних клад, які мають високу бутстреп-підтримку. Вісім клад сформовані палеарктичними п'явками, ще дві клади включають виключно неарктичних п'явок, а одна із клад була утворена видами *Trocheta subviridis*, поширеним у Палеарктиці, та *Nephelopsis obscura*, поширеним у Неарктиці. Палеарктичні п'явки роду *Erpobdella* утворюють парафілетичну групу. До спільної із ними клади також належать види роду *Trocheta*, *Mooreobdella*, *Motobdella*, *Nephelopsis*, а також неарктичні *Erpobdella* і палеарктичні *Dina*, які об'єдналися в одну кладу. Неарктичні п'явки роду *Erpobdella* утворюють спільну кладу із видами родів *Mooreobdella* та *Motobdella*. Палеарктичні види роду *Dina* разом із переважною кількістю видів роду *Trocheta* утворюють спільну кладу, яка розділяється на дві сестринські субклади, до яких входять види роду *Dina* та *Trocheta* відповідно. *Trocheta subviridis* утворює окрему

кладу разом із неарктичним видом *N. obscura*. Неарктичні види *D. parva* та *D. dubia* утворюють ще одну базальну до інших глоткових п'явок кладу. Вид *Fadejewobdella quinqueannulata* на дереві також утворює базальну, сильно відокремлену кладу.

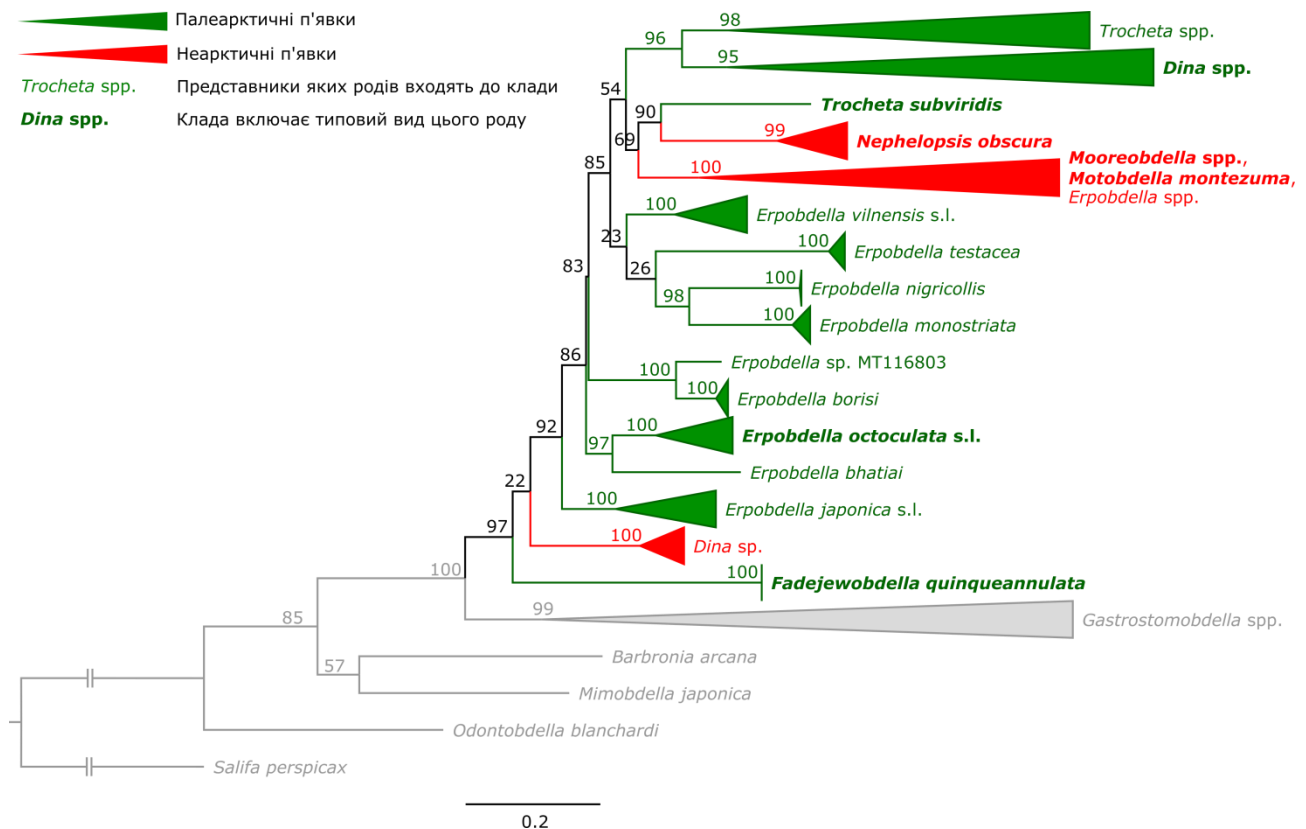


Рис. 37. Філогенетичні зв'язки глоткових п'явок, реконструйовані за допомогою аналізу послідовностей гена *cox1* за методом максимальної правдоподібності та варіанти. Числа на гілках – бутстреп підтримка, розрахована за алгоритмом ultrafast bootstrap.

Дерево, отримане внаслідок філогенетичного аналізу послідовностей гена 12S (рис. 38), демонструє принципово іншу топологію. Усього можна виділити сім головних монофілетичних груп, представники п'яти з яких мають палеарктичне поширення. Усі палеарктичні п'явки роду *Erpobdella* утворюють одну спільну кладу. Палеарктичні види роду *Dina* утворюють окрему кладу, сестринську до *T. subviridis*. Водночас, решта видів роду *Trocheta* утворюють іншу кладу. Неарктичні п'явки родів *Erpobdella*, *Mooreobdella* та *Motobdella* так само як і за результатами аналізу послідовностей *cox1* утворюють спільну монофілетичну групу. *Nephelopsis obscura* утворює спільну кладу із неарктичними *Dina*. Подібно до результатів філогенетичного аналізу гена *cox1*

F. quinqueannulata утворює окрему від інших глоткових п'явок гілку. Вищезгадані клади неарктичних *Dina* і *Nephelopsis*, палеарктичних *Erpobdella*, *F. quinqueannulata* і *Trocheta* за винятком *T. subviridis* утворюють спільну кладу з високою бутстреп-підтримкою.

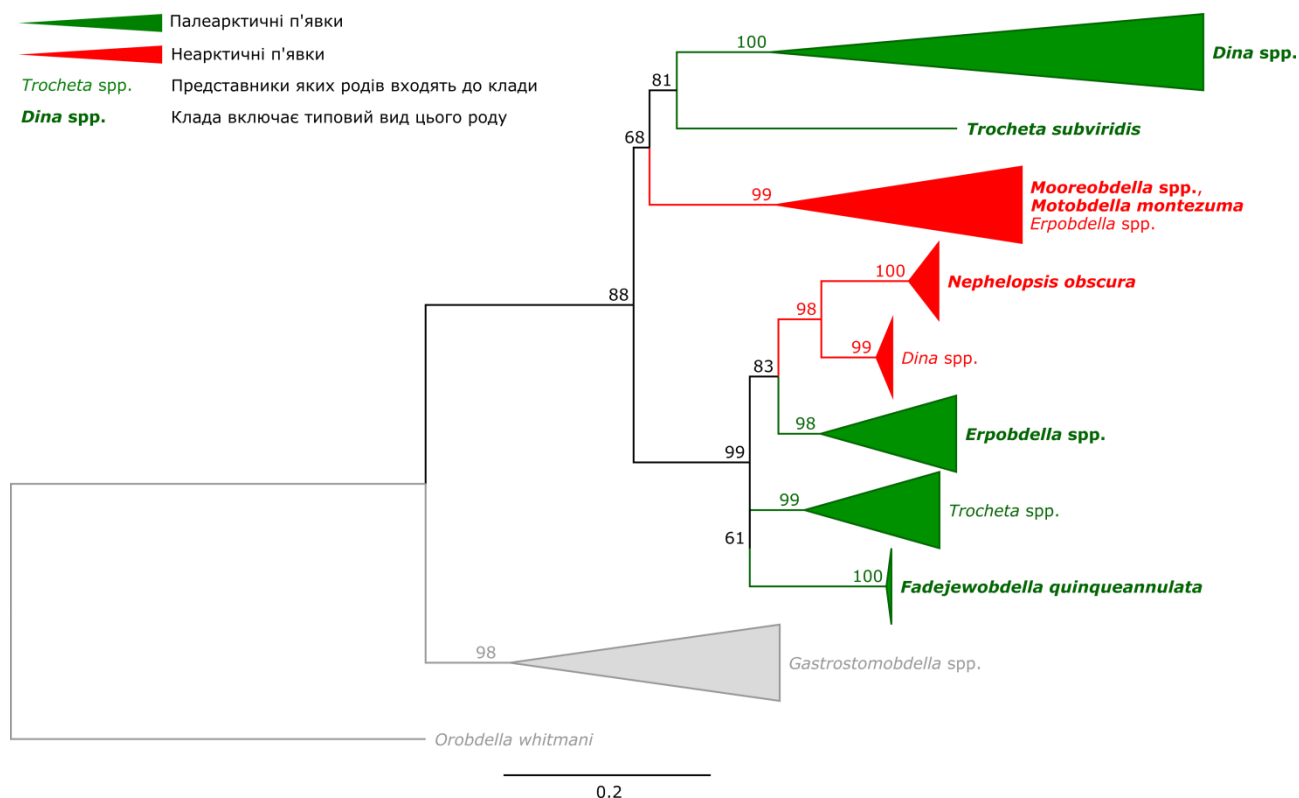


Рис. 38. Філогенетичні зв'язки глоткових п'явок, реконструйовані за допомогою аналізу послідовностей гена 12S за методом максимальної правдоподібності. Числа на гілках – бутстреп-підтримка, розрахована за алгоритмом ultrafast bootstrap.

Філогенетичний аналіз глоткових п'явок послідовностей гена 28S нами був проведений у два етапи. На першому етапі ми отримали дерево (рис. 39), бутстеп-підтримки клад якого були занадто низькими, а склад отриманих клад суперечив як морфологічним ознакам, так і філогенетичним деревам, отриманим нами внаслідок аналізу інших генів (рис. 37–41). Для того щоб виявити таксони, наявність яких призводить до цих аномалій, нами було проведено аналіз отриманих бутстреп-дерев на наявність так званих «rogue taxa» за допомогою алгоритму RogueNaRok (Aberer, Krompass & Stamatakis, 2013). Цей аналіз виявив шість подібних таксонів, серед яких були *Mooreobdella melanostoma* (AF116025), три зразки

N. obscura (MN613087, MN613091 та MN613092) та дві послідовності *Erpobdella* cf. *japonica* (U27 та U3).

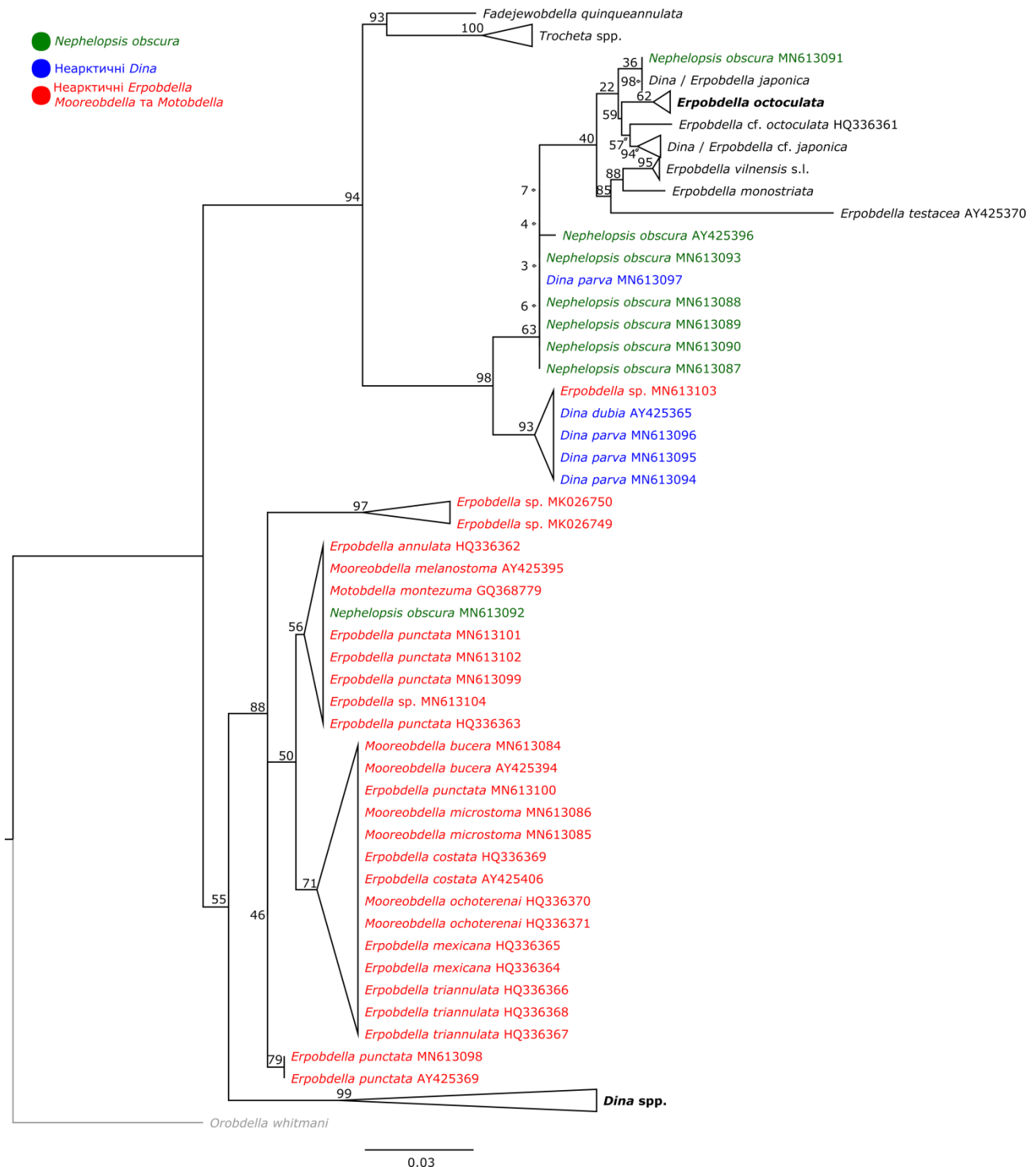


Рис. 39. Філогенетичні зв'язки глоткових п'явок, реконструйовані за допомогою аналізу послідовностей гена 28S за методом максимальної правдоподібності до виключення «rogue taxa». Числа на гілках – бутстреп-підтримка, розрахована за алгоритмом ultrafast bootstrap.

Ці таксони було видалено із матриці, також до аутгрупи було додано ще один таксон (*Gastrostomobdella ampunganensis* LC274524), після чого матрицю було

знову вирівняно за вищенаведеним методом, а філогенетичний аналіз проведено повторно. Таким чином ми отримали нову матрицю, яка складалась із 82 таксонів та мала довжину 2731 позицію. У результаті повторного аналізу нами було отримано дерево (рис. 40), яке розділяється на дві основні клади.



Рис. 40. Філогенетичні зв'язки глоткових п'явок, реконструйовані за допомогою аналізу послідовностей гена 28S за методом максимальної правдоподібності після виключення «rogue taxa». Числа на гілках – бутстреп-підтримка, розрахована за алгоритмом ultrafast bootstrap.

Одна із клад розділяється на дві сестринські клади, сформовані палеарктичним п'явкам роду *Dina* та неарктичними п'явками родів *Erpobiddella*, *Mooreobiddella* та *Motobiddella* відповідно. Друга клада так само розділяється на три віддалені гілки: це гілка *F. quinqueannulata*, клада п'явок роду *Trocheta* та спільна клада неактичних *Dina*, *N. obscura* і палеарктичних *Erpobiddella*. Ця клада розділяється на дві субклади, які представлені палеарктичними *Erpobiddella* з одного боку і неарктичними *Dina* та *N. obscura* з іншого. Ці клади мають досить низьку бутстреп-підтримку, але спільна клада, до якої вони належать, має високу підтримку.

Побудоване за послідовностями гена 18S дерево (рис. 41) розділяється на три головні клади. Перша, базальна, клада представлена п'явками роду *Trocheta*. Друга клада розділяється надвоє, на кладу палеарктичних *Dina* та гілку, представлену видом *Croatobranthus mestrovi*. До третьої клади належать неарктичні *Erpobdella*, *Mooreobdella* і *Motobdella*, а також неарктичні *Dina*, *N. obscura* і палеарктичні *Erpobdella*. Неарктичні *Erpobdella*, *Mooreobdella* і *Motobdella* утворюють парафілетичну групу. Водночас палеарктичні *Erpobdella* неарктичні *Dina* та *N. obscura* знаходяться в кроні цієї клади та утворюють монофілетичну групу, яка розділяється на три відповідні субклади з високою бутстреп-підтримкою.

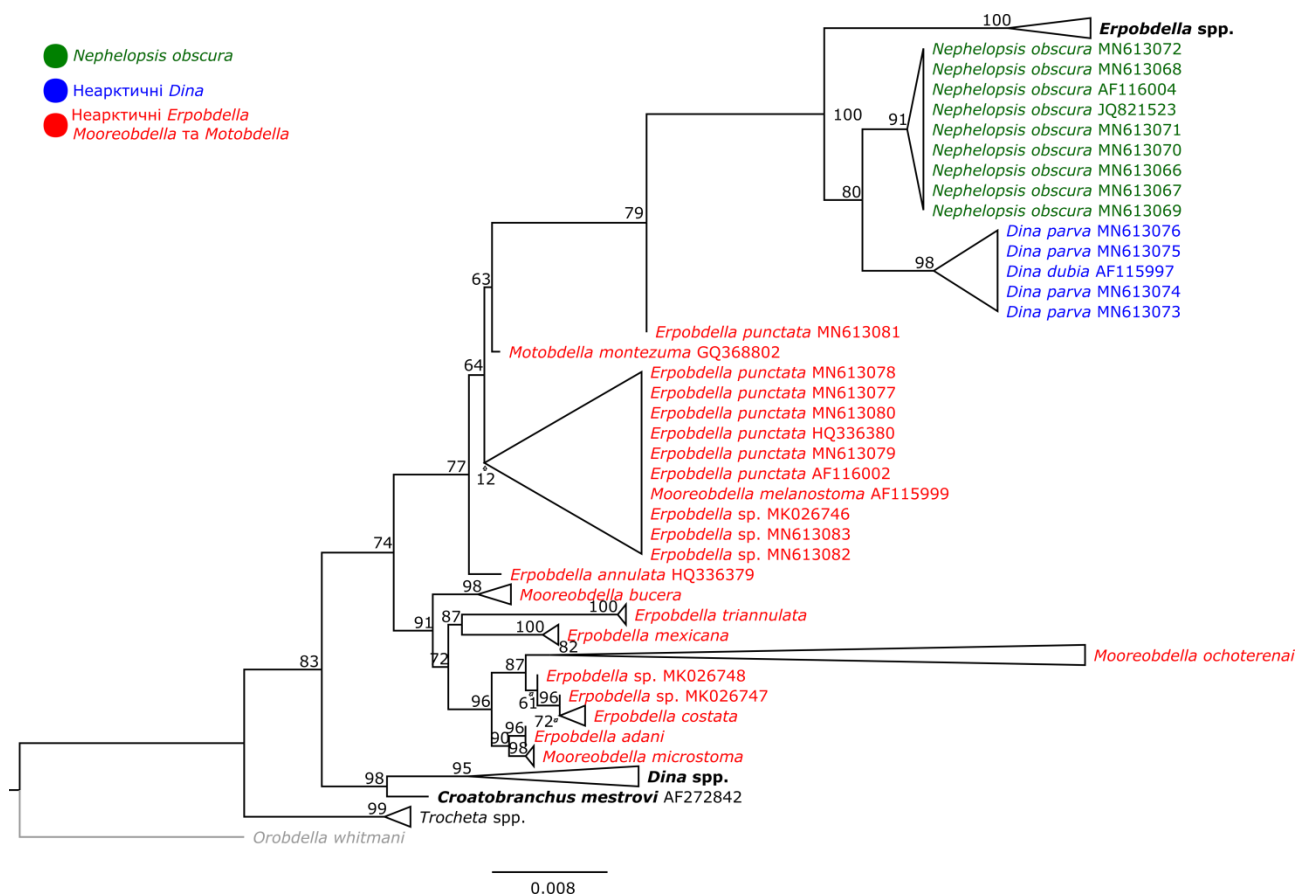


Рис. 41. Філогенетичні зв'язки глоткових п'явок, реконструйовані за допомогою аналізу послідовностей гена 18S за методом максимальної правдоподібності. Числа на гілках – бутстреп-підтримка, розрахована за алгоритмом ultrafast bootstrap.

Загалом серед проаналізованих глоткових п'явок можна виділити п'ять груп видів, які сильно відрізняються між собою генетично та монофілія яких так чи інакше була підтверджена – це палеарктичні *Erpobdella*, палеарктичні

Dina, група, сформована більшістю видів роду *Trocheta*, спільна група неарктичних *Erpobdella*, *Mooreobdella* і *Motobdella* та спільна група неарктичних *Dina* і *N. obscura*. Також два види, *F. quinqueannulata* та *T. subviridis*, утворюють окремі від всіх інших глоткових п'явок еволюційні лінії. Що ж стосується виду *C. mestrovi*, то він утворює сестринську кладу відносно палеарктичних *Dina*.

Табл. 2. Монофілія головних груп родини Erpobdellidae за різними молекулярними маркерами

	<i>cox1</i>	12S	28S	18S
PA <i>Erpobdella</i>	Парафілія	Монофілія	Монофілія ^B	Монофілія
PA <i>Dina</i>	Монофілія	Монофілія	Монофілія	Монофілія
<i>T. subviridis</i>	Окрема клада	Окрема клада	-	-
Інші <i>Trocheta</i> (=Blanchardia)	Монофілія	Монофілія	Монофілія	Монофілія
<i>Mooreobdella</i> , <i>Motobdella</i> , NA <i>Erpobdella</i>	Монофілія	Монофілія	Поліфілія	Парафілія
<i>Nephelopsis</i> + NA <i>Dina</i>	Поліфілія	Монофілія	Парафілія ^B	Монофілія
<i>Fadejewobdella</i>	Окрема клада	Окрема клада	Окрема клада	-

Червоним виділені результати, що не вказують на монофілію групи. PA – палеарктичні види, NA – неарктичні види, ^B – низька бутстреп підтримка.

Водночас в отриманих результатах є певні суперечності. Наприклад, у результаті аналізу послідовностей 12S і 18S групи палеарктичних *Erpobdella* та спільна група *N. obscura* і неарктичних *Dina* формують окремі клади (рис. 38; рис. 41; табл. 2). З іншого боку, аналіз послідовностей гені *cox1* дає парафілетичну і поліфілетичну групу відповідно (рис. 37, табл. 2). У результаті аналізу послідовностей гена 28S ці дві групи утворюють окремі клади, але вони мають низьку бутстреп-підтримку (рис. 40, табл. 2). На дереві, побудованому за результатами аналізу послідовностей гена 18S, утворюється парафілетична група із неарктичних *Erpobdella*, *Mooreobdella* і *Motobdella* (рис. 41), хоча аналіз інших генів підтверджує монофілію цієї групи (рис. 37–38; рис. 40; табл. 2). Аналіз двох мітохондріальних генів, *cox1* і 12S, демонструє, що *Trocheta* є поліфілетичним таксоном, який складається із двох віддалених одна від одної та від інших глоткових п'явок еволюційних ліній. Одна з них представлена видом *T. subviridis*, а друга – іншими дослідженими видами *Trocheta* (рис. 37–38; табл. 2). Також віддаленість більшості трохет від інших глоткових п'явок і їхню монофілію підтверджує аналіз ядерних генів 28S та 18S (рис. 40–41, табл. 2). Що стосується палеарктичних видів роду *Dina*, то аналіз

усіх вищезазначених маркерів вказує на монофілію цієї групи (рис. 37–41; табл. 2). Відокремленість *F. quinqueannulata* від інших глоткових п'явок також підтвердилася філогенетичним аналізом генів *cox1*, 12S і 28S (рис. 37–40; табл. 2).

Місце палеарктичних видів роду *Erpobdella* у філогенії родини *Erpobdellidae*. Монофілія палеарктичних *Erpobdella* підтверджується філогенетичними аналізом послідовностей генів 12S та 18S (рис. 38; рис. 41), де вони утворюють спільну групу із *N. obscura* і неарктичними *Dina*. За результатами філогенетичного аналізу послідовностей гена 28S, палеарктичні п'явки роду *Erpobdella* також утворюють монофілетичну групу, хоча бутстреп-підтримка цієї класифікації досить низька (рис. 40). Однак, палеарктичні *Erpobdella* в цьому аналізі також утворюють спільну з *N. obscura* і неарктичними *Dina* кладу, яка має високу бутстреп-підтримку. Водночас на дереві, побудованому в результаті аналізу послідовностей гена *cox1*, палеарктичні *Erpobdella* утворюють парафілетичну групу (рис. 37). Такий результат можна пояснити високою швидкістю еволюції гена *cox1*. Загалом, філогенія, побудована за результатами аналізу послідовностей рибосомальних генів, вказує на спорідненість *Erpobdella*, *N. obscura* і неарктичних *Dina* (рис. 38–41). Водночас, спорідненість палеарктичних і неарктичних *Erpobdella* не підтверджується, а результати, у яких ці дві групи утворюють спільну кладу, характеризуються низькою бутстреп-підтримкою. До групи палеарктичних *Erpobdella* увійшов вид *E. japonica*, який свого часу був віднесений до роду *Dina* через нетипову для *Erpobdella* кільчастість (рис. 37–38).

Місце палеарктичних видів роду *Dina* у філогенії родини *Erpobdellidae*. Палеарктичні *Dina* в усіх проведених нами філогенетичних реконструкціях завжди утворюють монофілетичну групу з високою бутстреп-підтримкою (рис. 37–41). Палеарктичні *Dina* не утворюють спільних клад із неарктичними видами роду, що свідчить про те, що вони належать до двох різних еволюційних ліній. Залежно від використаного маркеру палеарктичні

Dina утворюють спільні клади з різними глотковими п'явками. Наприклад, на дереві, побудованому за послідовностями гена *cox1*, палеарктичні *Dina* утворюють спільну кладу із видами роду *Trocheta* (рис. 37), неспорідненими з *T. subviridis*, натомість на дереві, побудованому за послідовностями гена 12S, палеарктичні *Dina* утворюють спільну кладу з *T. subviridis* (рис. 38). У результаті побудови філогенії за послідовностями гена 18S сестринським таксоном до палеарктичних *Dina* став представник монотипного роду *Croatobranchus C. mestrovi* (рис. 41). Філогенетичні дерева, побудовані в результаті філогенетичного аналізу послідовностей генів 28S та 18S, дещо схожі між собою тим, що клада палеарктичних *Dina* (у випадку 18S – їх спільна клада із *C. mestrovi*) є сестринською до клади, в яку входять неарктичні *Erpobdella*, *Mooreobdella* та *Motobdella* (рис. 39–41).

Місце видів роду *Trocheta* в філогенії родини *Erpobdellidae*.

Філогенетичний аналіз генів *cox1* та 12S вказує на те, що п'явки роду *Trocheta* утворюють дві окремі від інших глоткових п'явок та одна від одної еволюційні лінії (рис. 37–38). Одна з цих ліній представлена видом *T. subviridis*, водночас інші проаналізовані види роду належать до окремої клади, самостійність якої від усіх інших глоткових п'явок додатково підтверджується аналізом послідовностей генів 28S і 18S (рис. 39–41). До групи, яка включає більшість трохет, увійшов і вид *D. stschegolewi*, який має типову для *Dina* кільчастість, але за будовою статевої системи цей вид значно ближче до *Trocheta*, ніж до *Dina*, на що вже звертали увагу інші дослідники (Grosser, 2015). Аналіз гену *cox1* вказує на те, що більшість проаналізованих *Trocheta* утворюють кладу, сестринську до палеарктичних *Dina*. Водночас, аналіз генів 12S та 28S вказує на спорідненість цієї групи до *F. quinqueannulata*, палеарктичних *Erpobdella* і неарктичних *Dina* і *Nephelopsis* (рис. 38–40). Аналіз послідовностей 18S указує на базальне положення групи, що включає більшість трохет (рис. 41). За результатами аналізу послідовностей гена *cox1*, *T. subviridis* займає сестринське положення до *Nephelopsis* (рис. 37), водночас аналіз 12S вказує на спорідненість цього виду й палеарктичних *Dina* (рис. 38).

Місце виду *Fadejewobdella quinqueannulata* в філогенії родини Erpobdellidae. Філогенетичне положення монотипного роду *Fadejewobdella* було досліджено за допомогою філогенетичного аналізу генів *cox1*, 12S та 28S. У всіх трьох аналізах *F. quinqueannulata* утворювала окрему від інших глоткових п'явок філогенетичну лінію (рис. 37–39). Наприклад, за результатами аналізу послідовностей *cox1*, цей вид займав найбільш базальне положення серед усіх глоткових п'явок. Водночас аналіз генів 12S та 28S вказує на спорідненість цього виду з більшістю видів роду *Trocheta*, палеарктичними *Erpobdella* і неарктичними *Dina* і *Nephelopsis*.

Місце неарктичних п'явок в філогенії родини Erpobdellidae. Неарктичні п'явки родів *Nephelopsis* і *Dina* за результатами аналізу генів 12S і 28S утворюють спільну групу із палеарктичними *Erpobdella*, яка близька до більшості видів роду *Trocheta* і виду *F. quinqueannulata* (рис. 38–40). П'явки родів *Mooreobdella*, *Motobdella*, а також неарктичні види *Erpobdella* за результатами аналізу генів *cox1*, 12S і 28S утворюють монофілетичну групу (рис. 37–40). Результати аналізу генів 12S і 28S вказують на спорідненість цієї групи й палеарктичних *Dina* (рис. 38–40). Аналіз гена 18S дає суперечливі результати, які вказують на парафілію цієї групи і спорідненість її з неарктичними *Nephelopsis* і *Dina*, а також палеарктичними *Erpobdella* (рис. 41).

3.2.2. Делімітація видів глоткових п'явок

За допомогою онлайн-програми ABGD (Puillandre et al., 2012) нами було проаналізовано розподіл попарних генетичних дистанцій в вирівнюваннях (матрицях таксонів і молекулярних ознак) досліджених нами генетичних маркерів. Аналіз нуклеотидних послідовностей гена *cox1* (рис. 42) виявив дво модальний розподіл попарних дистанцій із чітким розривом між піками, так званий «barcoding gap», що вказує на наявність розриву між внутрішньовидовим і міжвидовим генетичним різноманіттям цього маркеру в глоткових п'явок.

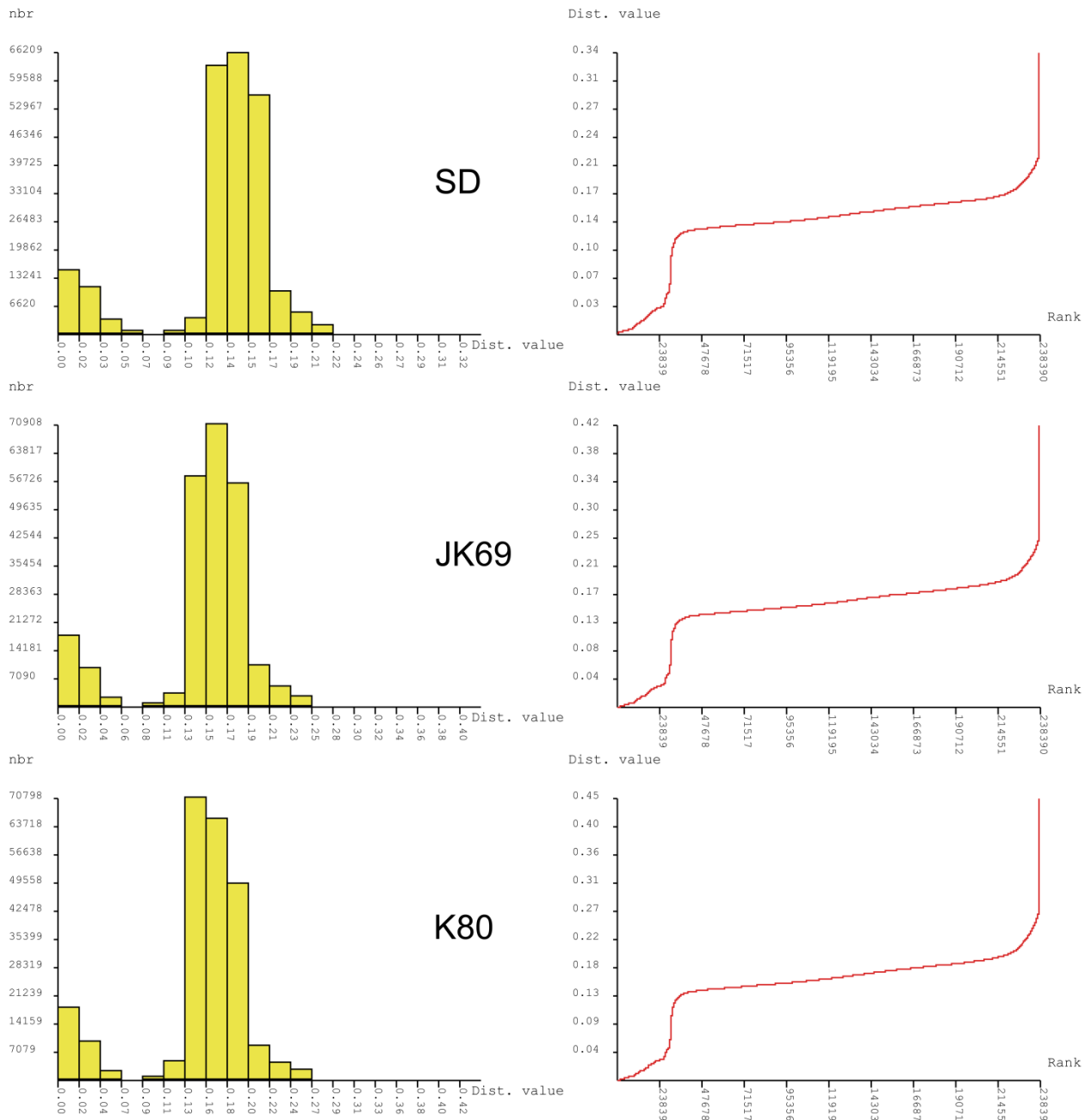


Рис. 42. Розподіл попарних генетичних дистанцій послідовностей гена *cox1* глоткових п'явок за трьома різними моделями нуклеотидних замін.

Внутрішньовидове генетичне різноманіття у переважної більшості видів глоткових п'явок обмежене сімома відсотками за прямою (нескорегованою) генетичною дистанцією та дистанцією з використанням моделі субституції Кімури (K80) (Kimura, 1980) і шістьма відсотками за генетичною дистанцією з використанням моделі субституції Джукса-Кантора (JK69) (Jukes & Cantor, 1969). Водночас, міжвидове значення генетичної дистанції для

глоткових п'явок починається від дев'яти відсотків за прямою генетичною дистанцією та дистанцією з використанням моделі субституції Кімури (K80) і від восьми відсотків за генетичною дистанцією з використанням моделі субституції Джукса-Кантора (JK69). Аналіз нуклеотидних послідовностей генів 12S, 28S, 18S (додаток 4) не виявив бімодального розподілу попарних генетичних дистанцій, внаслідок чого можна зробити висновок, що ці гени малопридатні для делімітації видів.

Також нами було проаналізовано значення внутрішньовидового й міжвидового генетичного різноманіття за геном *cox1* для трьох еволюційних ліній глоткових п'явок, широко представлених у Палеарктиці, а саме палеарктичних *Erpobdella*, палеарктичних *Dina* і видів роду *Trocheta* за винятком *T. subviridis*.

Делімітація палеарктичних видів роду *Erpobdella*. Для уточнення значення «barcoding gap» для палеарктичних видів роду *Erpobdella* було окремо проаналізовано нуклеотидні послідовності гена *cox1* за допомогою онлайн-програми ABGD (Puillandre et al., 2012). Внаслідок цього нами було виявлено двомодальний розподіл попарних дистанцій (рис. 43). Середина цього розриву припадає на чотири відсотки, але через малу кількість зразків межі внутрішньовидового і міжвидового різноманіття виділити наразі неможливо. Також нами було проаналізовано розподіли таксонів, автоматично згенеровані онлайн-програмою ABGD. Розподіли, в яких види утворювали парафілетичні та поліфілетичні групи, були відкинуті. Також були відкинуті розподіли, у яких розділяються види, які не мають сильно розгалуженої філогенетичної структури. Для палеарктичних *Erpobdella* було обрано один розподіл, у якому сорок два досліджені зразки розділяються на шістнадцять видів (рис. 44).

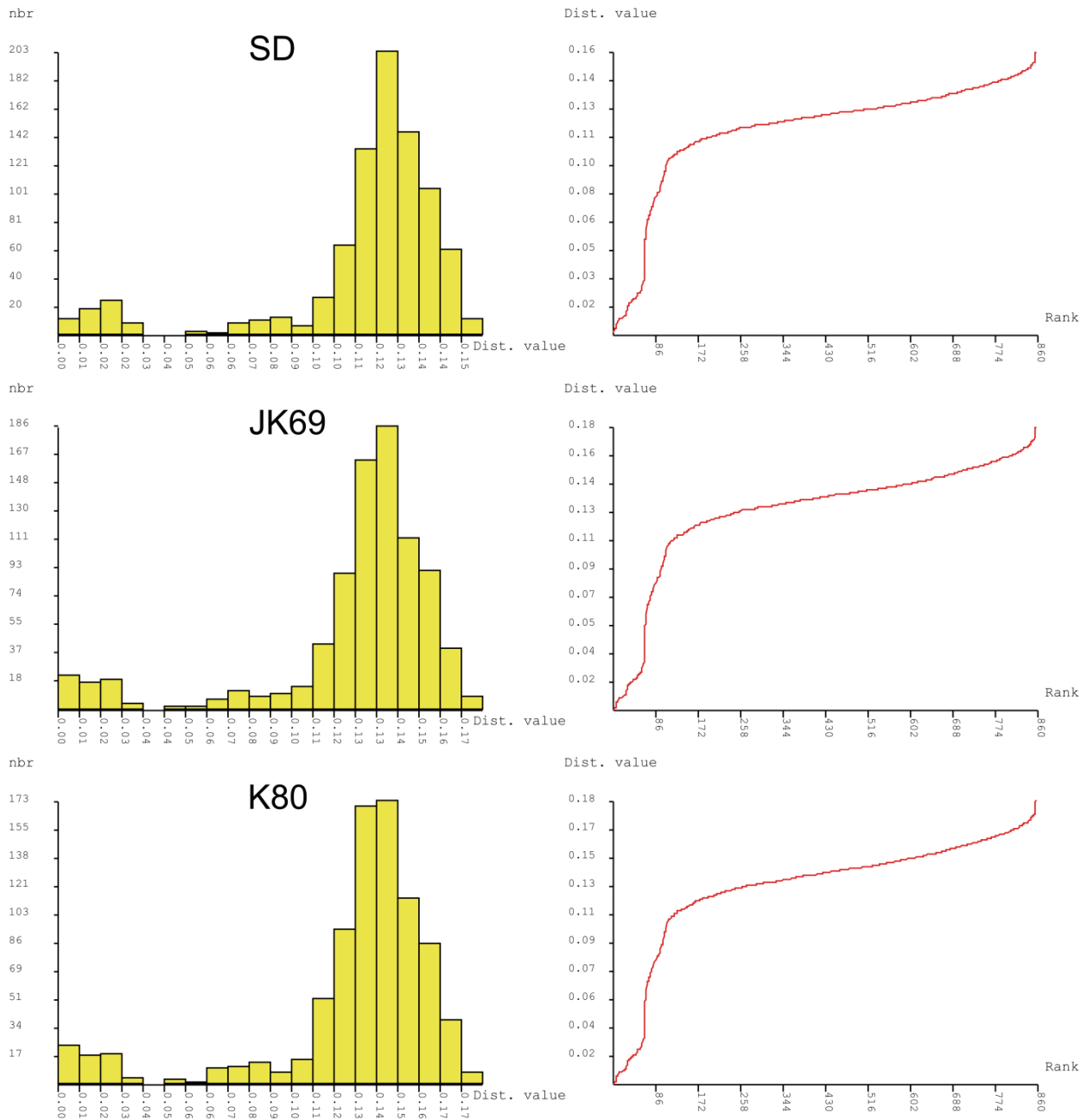


Рис. 43. Розподіл попарних генетичних дистанцій послідовностей гена *cox1* палеарктичних *Erpobdella* за трьома різними моделями нуклеотидних замін.

Зразки, визначені як *E. octoculata* розділилися на п'ять груп. Також на дві та три групи відповідно розділилися зразки, визначені як *E. japonica* s.l. і *E. vilnensis* s.l. Зразки, визначені як *E. bhatiai*, *E. borisi*, *E. testacea*, *E. nigricollis* і *E. monostriata* так само сформували окремі групи. Окремо варто виділити невизначений зразок *Erpobdella* з Туреччини, споріднений із *E. borisi*, який утворив окрему групу.

Аналіз філогенетичного дерева за допомогою алгоритму РТР (рис. 44) було проведено в онлайн-програмі bPTR web server із використанням 500 000 марківських ланцюгів за алгоритмом Монте-Карло (Zhang et al., 2013). У результаті нами було отримано два розподіли, один сформований за критерієм максимальної правдоподібності, а інший – за евристичним пошуком, що базується на критерії Баєса. Розподіли за цими критеріями виявили по сімнадцять груп, які повністю збігаються між собою. Від розподілу за алгоритмом ABGD результати РТР-аналізу відрізняються лише в розділенні зразків, визначених як *E. japonica* s. l. не на дві, а на три групи.

Аналіз дерева за алгоритмом GMYC проводився за допомогою пакету splits (Fujisawa & Barraclough, 2013) для R із одним та декількома порогами. Для аналізу дерев, побудованих в IQ-tree (Trifinopoulos et al., 2016) була використана функція chronos, що трансформує філограми в хронограми. Отримані розділення виявляють сімнадцять груп для аналізу за одиничним порогом і дев'ятнадцять – із декількома порогами (рис. 44). Розподіл з одним порогом повністю збігається з розподілами, отриманими за допомогою методу РТР. Розподіли за декількома порогами розділяють *E. japonica* s. l. на чотири групи, а *E. borisi* на дві, попри те, що послідовності цього виду мало розрізняються між собою. До окремих клад нами було застосовано критерій Бьоркі (K/θ) (Birky, 2013). Аналіз зразків, визначених як *E. japonica* s. l., вказує на те, що п'явки з континентальної частини ареалу належать до окремого виду (рис. 44). Аналіз зразків, визначених як *E. octoculata*, виявив, що всі вони можуть бути віднесені до одного виду. Водночас *E. bhatiai* відносно *E. octoculata* є окремим видом. Невизначений зразок *Erpobdella* з Туреччини за критерієм Бьоркі також належить до окремого виду. Також критерій K/θ підтверджує окремий видовий статус *E. octoculata sevanica* і *E. aff. vilnensis* з Ямалу.

Підбиваючи підсумки, ми можемо стверджувати, що досліджені зразки палеарктичних *Erpobdella* можна віднести до щонайменше дванадцяти видів.

Erpobdella japonica розділяється щонайменше на два види, які поширені в різних частинах ареалу: типова *E. japonica* – на островах Японського архіпелагу, а інший вид – на континентальній частині Далекого Сходу. *Erpobdella bhatiai*, морфологічно і генетично близький до *E. octoculata*, є окремим видом. Водночас, генетичне різноманіття *E. octoculata* є надзвичайно великим та потребує більш детального дослідження. Вид *E. borisi* і невизначений екземпляр *Erpobdella* з Туреччини належать до двох різних видів. *Erpobdella vilnensis* s.l. є комплексом криптичних і псевдокриптичних видів, близьких між собою генетично і морфологічно.

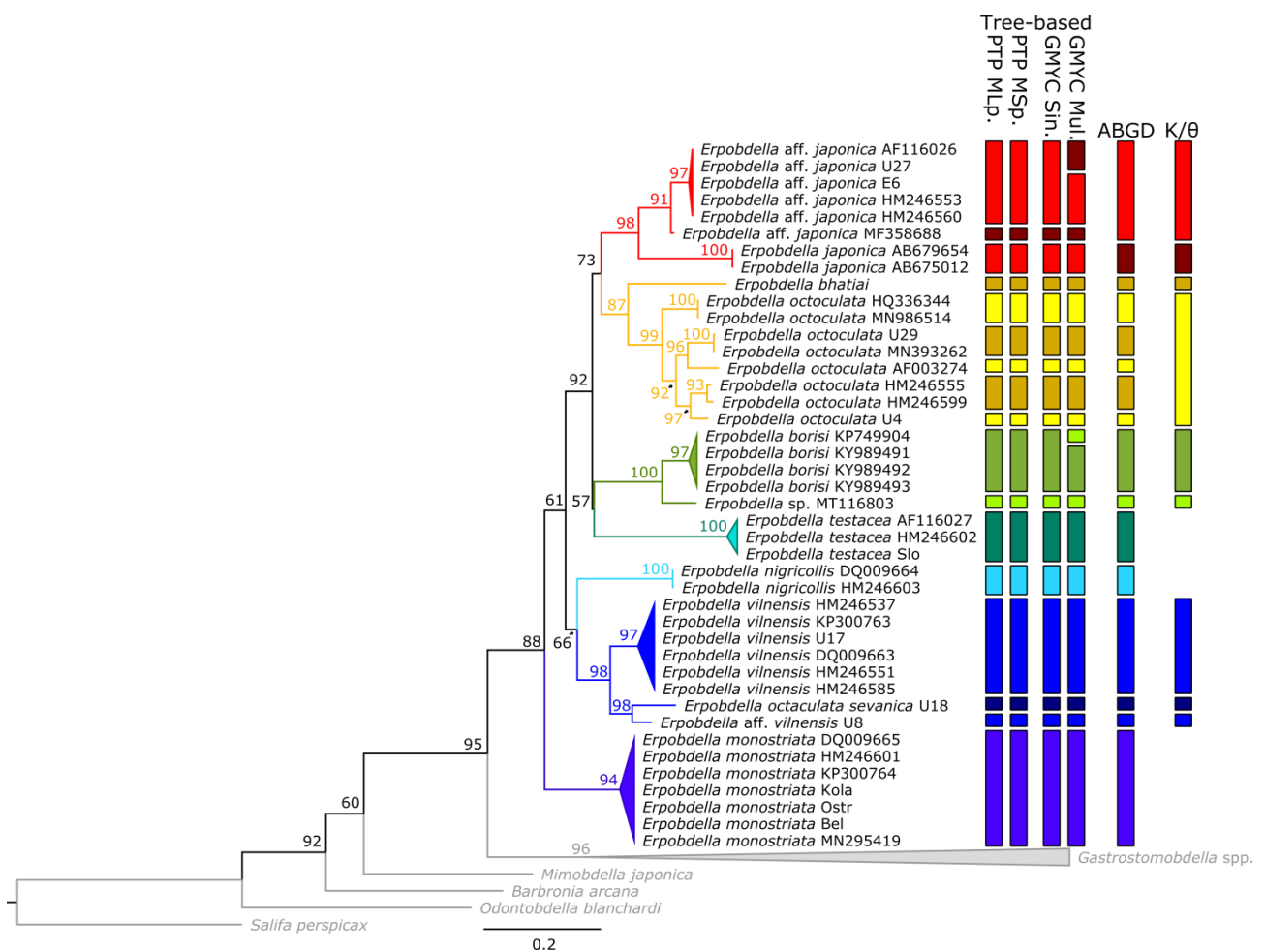


Рис. 44. Результати делімітації палеарктичних видів роду *Erpobdella* за нуклеотидними послідовностями гена *cox1*.

Водночас, види *E. testacea*, *E. nigricollis* і *E. monostriata*, попри схожу кільчастість, добре розрізняються між собою як види.

Делімітація палеарктичних видів роду *Dina*. Аналіз послідовностей гена *cox1* палеарктичних видів роду *Dina* за допомогою онлайн-програми ABGD виявив тримодальний розподіл попарних генетичних дистанцій із двома розривами (рис. 45).

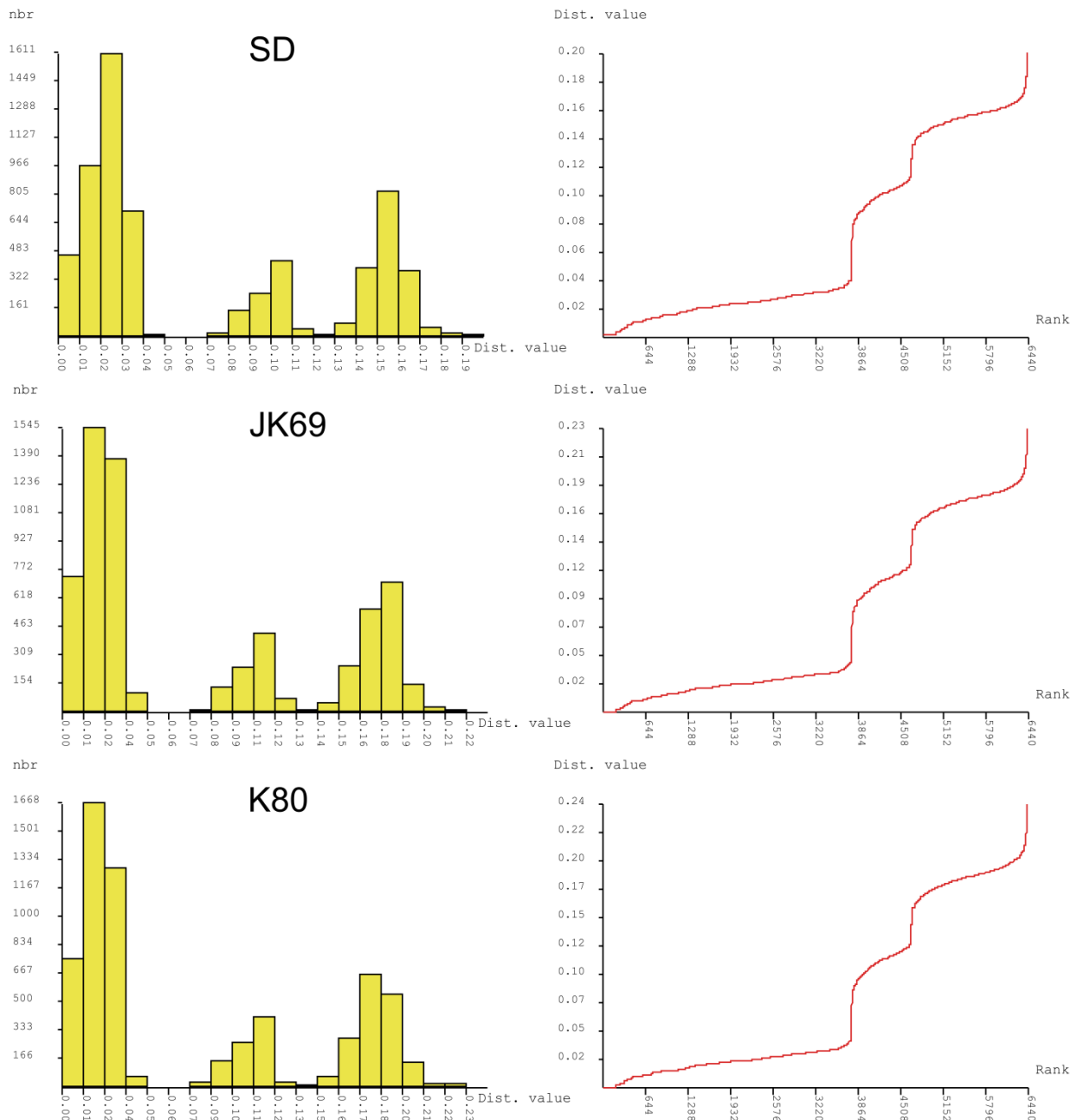


Рис. 45. Розподіл попарних генетичних дистанцій послідовностей гена *cox1* палеарктичних *Dina* за трьома різними моделями нуклеотидних замін.

Перший розрив знаходиться в діапазоні між п'ятьма і сімома відсотками, а другий – між дванадцятьма і тринадцятьма відсотками у разі розрахунку прямої генетичної дистанції (SD), тринадцятьма і чотирнадцятьма відсотками в разі

розрахунку дистанцій з використанням моделі субституції Джукса-Кантора (JK69) і тринадцятьма і п'ятнадцятьма відсотками у разі використання моделі Кімури (K80).

Серед варіантів розподілу таксонів було обрано два варіанти, які розділяють досліджені сто п'ятнадцять таксонів на чотирнадцять і п'ятнадцять видів (рис. 46). Зразки, що належать до виду *D. lineata*, в обох варіантах розподілів утворили одну групу. Також одна група була сформована зразками, що належать до комплексу *D. ohridana*. Із зразків, споріднених із двома вищеназваними видами, окремі групи сформували неописаний вид з Ірану, *Dina* sp. 1 і невизначений зразок *Dina* з Туреччини. Дві окремі групи були сформовані зразками, визначеними як *D. latestriata*, які утворюють поліфілетичну групу. Дві групи формують зразки, попередньо визначені як *D. punctata*. Також окремі групи формують зразки *Dina* sp. 2, *D. absoloni*, *D. tauchi*. Зразки, визначені як *D. ratschaensis* розділяються на дві або три групи.

Аналіз дерева за допомогою алгоритму РТР із використанням критерію максимальної правдоподібності і критерію Баєса дозволив виділити сімнадцять і двадцять груп відповідно (рис. 46). Відмінності розподілу за критерієм максимальної правдоподібності і розподілами, згенерованими алгоритмом ABGD, полягають у тому, що зразки, ідентифіковані як *D. lineata*, розділяються на три групи, тимчасом як алгоритм ABGD об'єднує їх в одну групу. Розділення за критерієм Баєса своєю чергою характеризується наявністю деяких протиріч. Наприклад, зразки з Іспанії, ідентифіковані як *D. punctata*, цим критерієм розділяються на окремі види. Водночас, зразки генетично різноманітнішої *D. latestriata* об'єднуються в одну групу.



Рис. 46. Результати делімітації палеарктичних видів роду *Dina* за нуклеотидними послідовностями гена *cox1*.

Аналіз дерева за алгоритмом GMYC із використанням одного й декількох порогів розділяє дерево на двадцять вісім та тринадцять груп (рис. 46). Запропонований розподіл із одним порогом має завищену роздільність, внаслідок чого до різних груп належать зразки, які між собою майже не відрізняються. Розподіл, сформований алгоритмом GMYC із декількома порогам, менш роздроблений, але сповнений протиріч. Наприклад, зразки ідентифіковані як *D. lineata*, а також *D. cf. farsa* з Туреччини й Ірану, розділяються на чотири і дві групи відповідно. У цьому розподілі в одну групу об'єднуються *D. latestriata* і *Dina* sp. 2, а в іншу – зразки, ідентифіковані як *D. punctata*, а також печерні п'явки *D. absoloni* з Боснії і Герцеговини та *D. ratschaensis* з Кавказу. Отже, можна стверджувати, що у випадку з палеарктичними видами роду *Dina* алгоритми делімітації, що базуються на довжині гілок філогенетичних дерев, дають сумнівні результати.

Окремі клади (рис. 46) було проаналізовано за допомогою критерію Бьоркі. Зразки, ідентифіковані як *D. lineata*, утворюють одну спільну групу. Критерій K/θ вказує на окремий видовий статус для *D. latestriata*, *Dina* sp. 2 і

D. cf. farsa. Печерні п'явки роду *Dina* з Кавказу розділяються за критерієм Бьоркі на три окремі види.

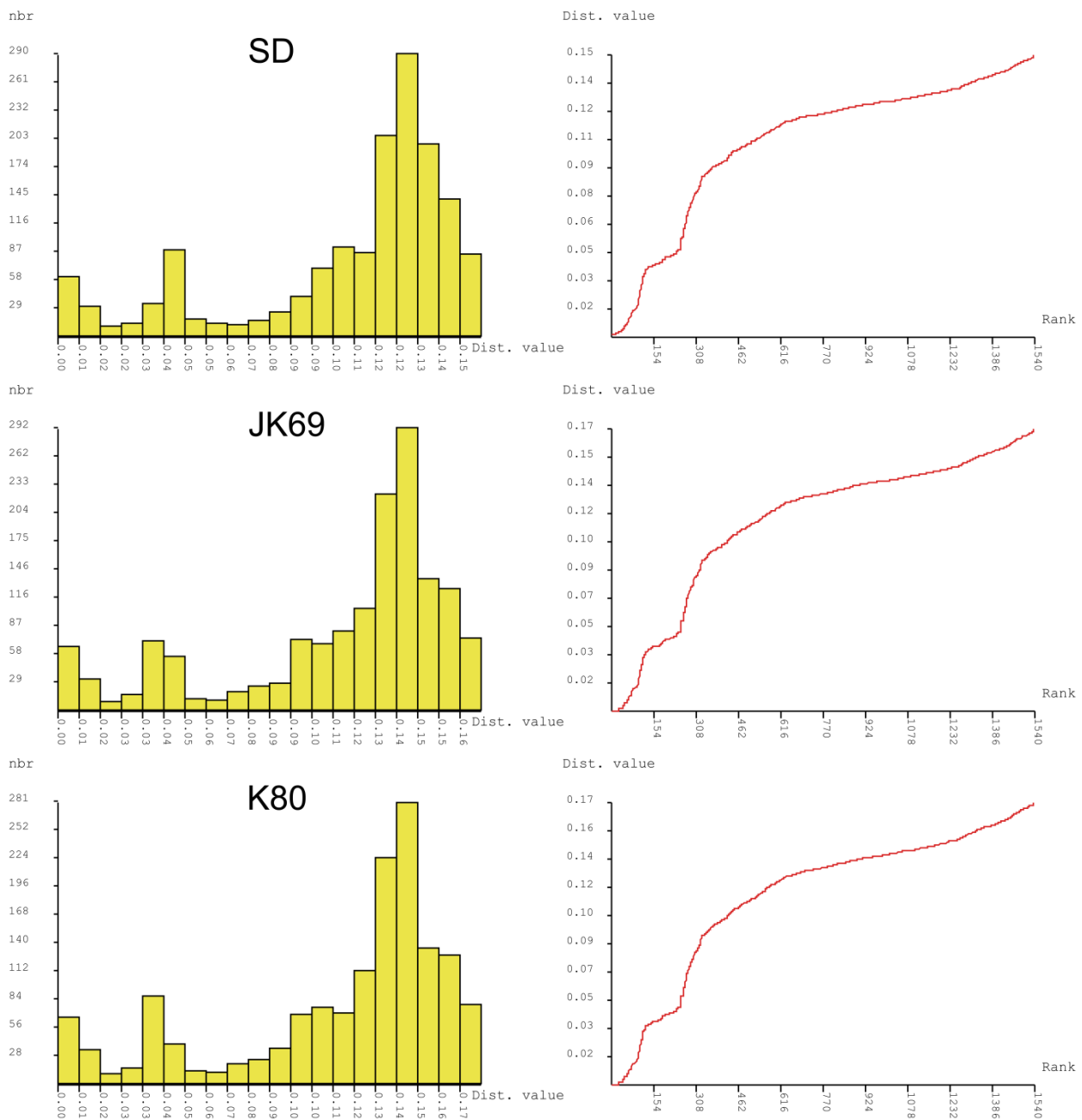


Рис. 47. Розподіл попарних генетичних дистанцій послідовностей гена *cox1* видів роду *Trocheta* за трьома різними моделями нуклеотидних замін.

Делімітація видів роду *Trocheta*. Аналіз послідовностей гена *cox1* видів роду *Trocheta* за допомогою онлайн-програми ABGD як і у випадку з палеарктичними *Dina* виявив тримодальний розподіл попарних генетичних дистанцій, однак повноцінних розривів між пікам не було виявлено (рис. 47).

Сідлова точка першого мінімуму близька до позначки у два відсотки в разі розрахунку прямої генетичної дистанції (SD) і знаходиться в діапазоні між двома і трьома відсотками, коли дистанції розраховували з використанням моделей субституції Джукса-Кантора (JK69) і Кімури (K80). Сідлова точка другого мінімуму знаходиться між позначками шість і сім відсотків у разі використанні всіх трьох варіантів розрахунку генетичної дистанції. Було вибрано чотири автоматично згенерованих варіанти розподілу таксонів, які розділяють вибірку із п'ятдесяти шістьох таксонів на чотирнадцять, п'ятнадцять, шістнадцять і двадцять одну групи. Через сильно розгалужену філогенетичну структуру аналізованої групи всі три основні субклади всередині цієї групи розглядаються окремо (рис. 48–50).

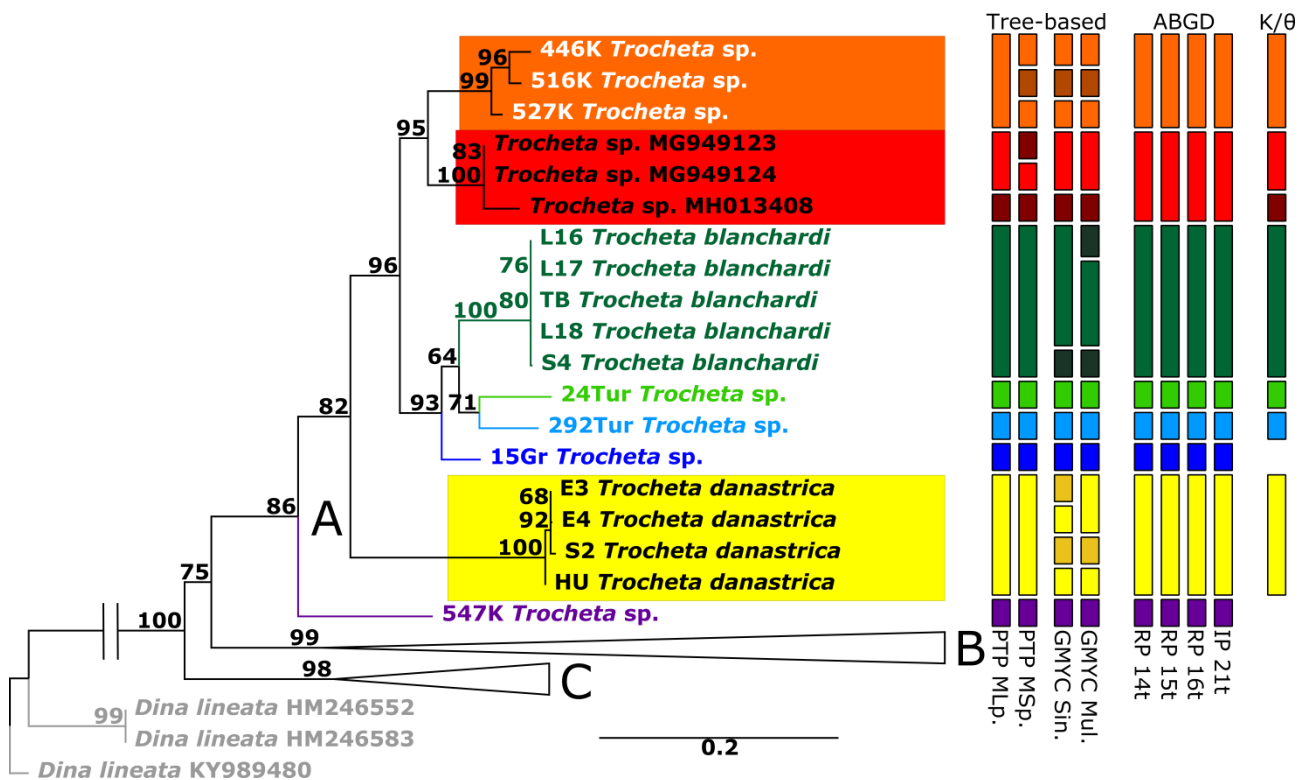


Рис. 48. Результати делімітації субклади А видів роду *Trocheta* за нуклеотидними послідовностями гена *cox1*.

Усі чотири варіанти розділення субклади А (рис. 48), до якої належать види *T. blanchardi* і *T. danastrica*, збігаються. У цій субкладі виділяються вісім груп, три з яких формують п'явки з Анатолії. Ще три групи формують п'явки з Кавказу, одна з яких на відміну від інших представників цієї класи живе в печерах. Також дві групи формують *T. blanchardi* і *T. danastrica*, які живуть на

північному узбережжі Чорного моря. Варіанти розділення субклади В (рис. 49) мають певні протиріччя між собою. Наприклад, зразки, визначені як *D. stschegolewi*, за двома варіантами розподілів належать до одного виду, тимчасом як за двома іншими – до трьох. Три з чотирьох варіантів розділення об'єднують зразки, визначені як *T. haskonis* і *T. cylindrica*, як один вид, а один – як три окремі види.

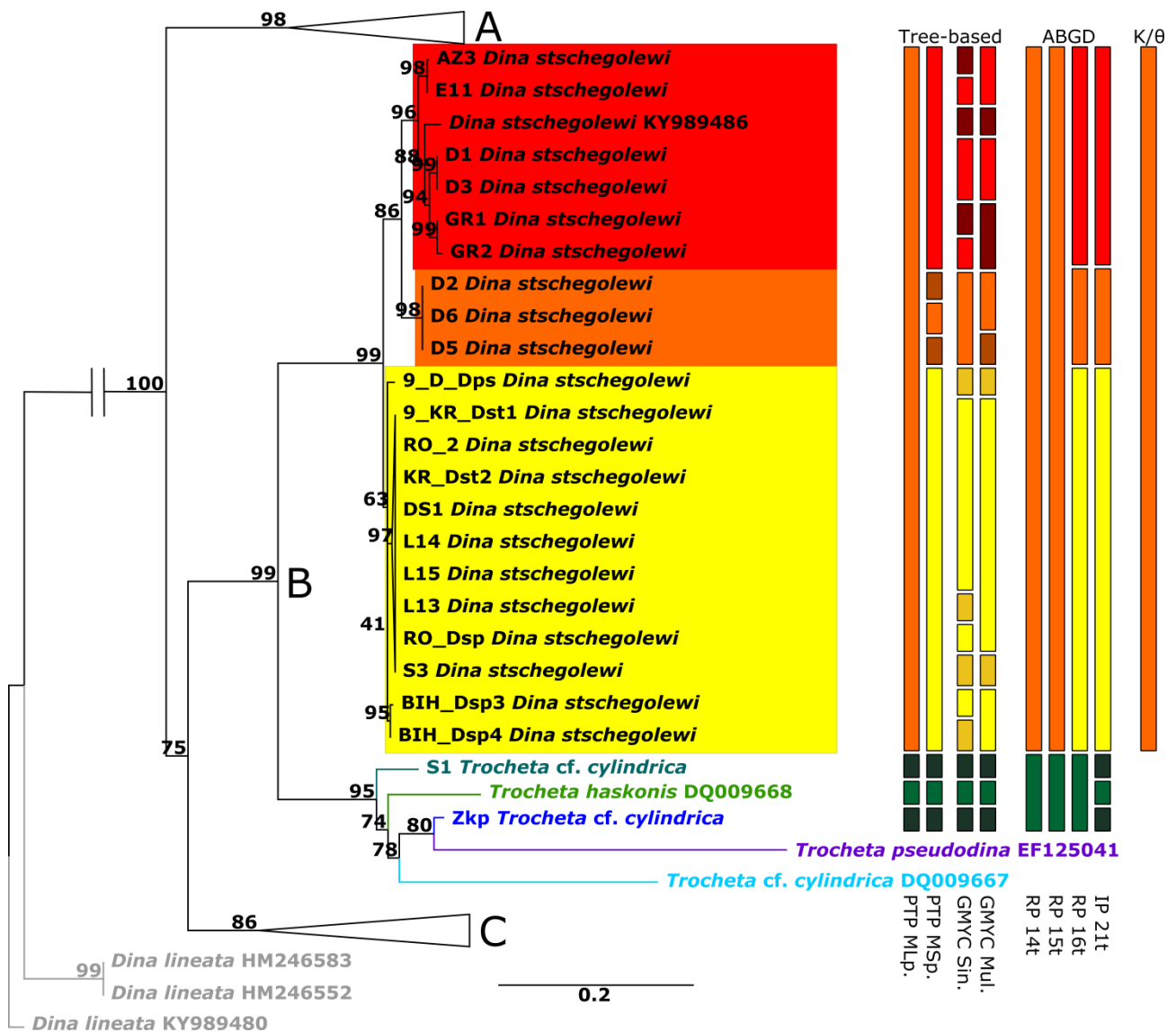


Рис. 49. Результати делімітації субклади В видів роду *Trocheta* за нуклеотидними послідовностями гена *cox1*.

Субклада С (рис. 50) розділяється щонайменше на три групи, але два з чотирьох варіантів розділення вказують на те, що одна з груп троглобіонтних трохет ще раз розділяється надвоє. Що стосується п'явок *Trocheta* sp. 1, то три варіанти розділення вказують на цілісність цієї групи, водночас один з варіантів вказує

на приналежність зразків цих п'явок до трьох окремих груп. Отже, субклада С може бути розділена на три, чотири або шість видів.

Розподіли, згенеровані алгоритмом РТР із використанням критерію максимальної правдоподібності і критерію Баєса, виявили дев'ятнадцять та двадцять шість груп відповідно (рис. 48-50). Головна відмінність розподілу РТР за критерієм максимальної правдоподібності й розподілами, згенерованими алгоритмом ABGD, полягає в тому, що не ідентифікована трохета з Туреччини (MH013408) (рис. 48) була виділена в окрему групу. Розподіл за критерієм Баєса своєю чергою характеризується надмірним розділенням деяких клад на групи, наприклад п'явок з Туреччини (MH013408, MG949123, MG949124), однієї з груп кавказьких печерних трохет (рис. 48) і виду *D. stschegolewi* (рис. 49). Також надмірне розділення клад спостерігається в разі використання алгоритму GMYC, який із застосуванням одного і декількох порогів розділив дерево на сорок дві і тридцять три групи відповідно (рис. 48-50).

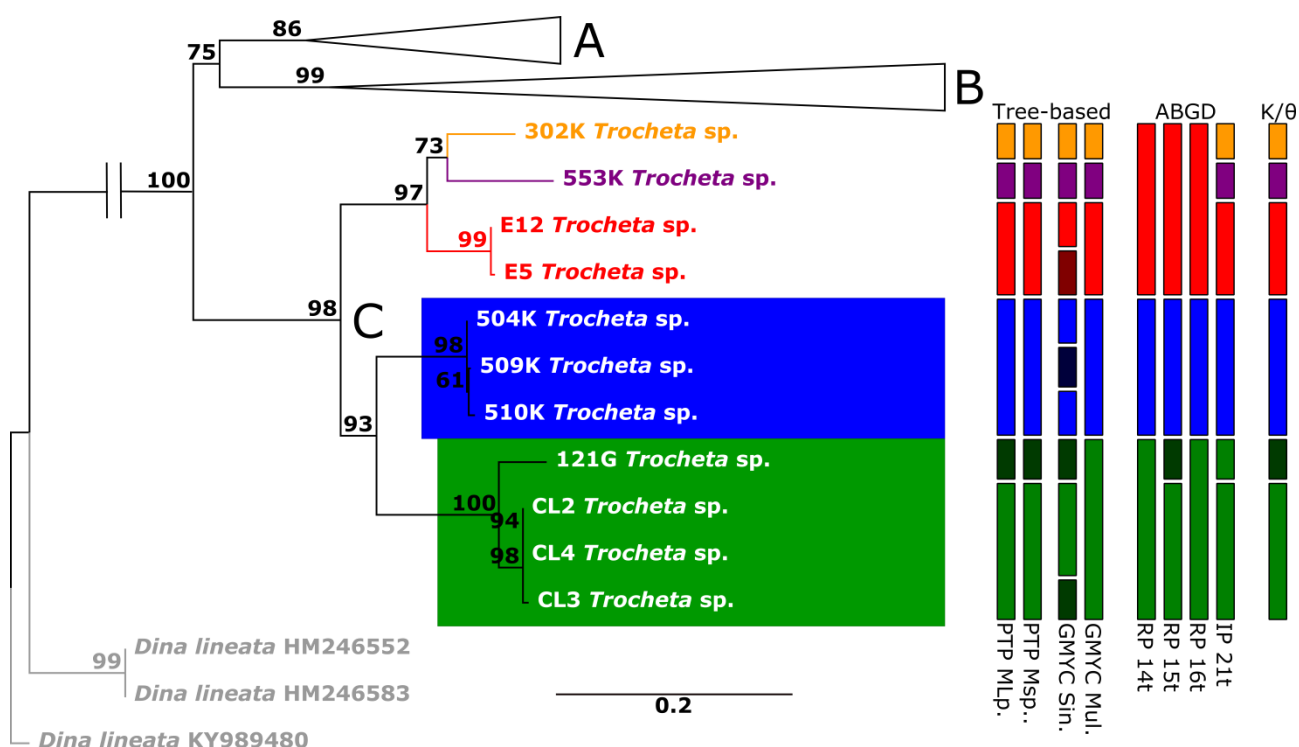


Рис. 50. Результати делімітації субклади С видів роду *Trocheta* за нуклеотидними послідовностями гену *cox1*.

Також зразки видів роду *Trocheta* були проаналізовані за критерієм K/θ. За результатами цього аналізу, до субклади А (рис. 48) входить дев'ять видів.

Троглобіонтні *Trcoheta* з цієї субклади були об'єднані в одну групу, тимчасом як споріднені п'явки з Туреччини були розділені на дві групи. Кримська *T. blanchardi* і споріднені *Trcoheta* з Анатолії були віднесені до трьох окремих видів. Також було з'ясовано, що зразки, віднесені до виду *T. danastrica*, належать до одного виду. Аналіз зразків *D. stschegolewi* (рис. 49) продемонстрував, що всі вони належать до одного поліморфного й дуже поширеного виду. П'явки з субклади С (рис. 50) за критерієм Бьоркі розділяються на шість видів, три з яких належать до групи *Trocheta* sp. 1 і ще три – це троглобіонтні *Trcoheta* з печер західного Кавказу.

РОЗДІЛ 4. ОБГОВОРЕННЯ

4.1. Еволюційна історія і таксономія глоткових п'явок

4.1.1. Закономірності еволюції родини *Erpobdellidae*

Дослідження філогенетичної структури глоткових п'явок найактивніше проводилися в 1990-х та 2000-х роках. Однією з перших робіт у цьому напрямку була робота П. Тронтеля та співавторів (1996), де вперше було досліджено поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів генів 18S та ITS2 для представників родів *Erpobdella*, *Dina* і *Trocheta* Палеарктики, а в пізнішій статті П. Тронтеля та Б. Скета (2000) вперше було досліджено філогенетичні зв'язки цих родів за допомогою філогенетичного аналізу нуклеотидних послідовностей ДНК генів 12S та ITS2. У цих роботах було помічено невідповідність зовнішньої морфології глоткових п'явок і їхньої філогенії, внаслідок чого було зроблено висновок, що загальні уявлення про систематику глоткових п'явок потребують перегляду. Пізніше М. Сіддалл (2004) провів філогенетичний аналіз глоткових п'явок Палеарктики й Неарктики з використанням генів *cox1*, 12S, 18S та морфологічних ознак, але топологія отриманого дерева не відповідала традиційному розділенню на роди, внаслідок чого було вирішено синонімізувати роди, які він досліджував і чиї послідовності використовував в аналізі, а саме *Dina*, *Trocheta*, *Nephelopsis*, *Mooreobdella* та *Croatobranchus*, і віднести їх до одного роду *Erpobdella*. Пізніше на основі результатів філогенетичного аналізу північноамериканську *Motobdella* так само віднесли до *Erpobdella* (Oceguera-Figueroa et al., 2011). Проведений нами філогенетичний аналіз всіх доступних на той момент послідовностей гена *cox1* виявив доволі чітку філогенетичну структуру (Khomenko et al., 2020), що наштовхнуло нас на думку проаналізувати послідовності різних генів окремо.

Завдяки філогенетичному аналізу генів *cox1*, 12S, 28S та 18S ми виявили, що на кожному з отриманих дерев можна виділити клади, які можуть бути

ототоженні з відомими родами глоткових п'явок (табл. 2). Водночас, порівняння отриманих дерев показало, що дерева, побудовані за різними генами, мають дуже відмінну топологію, що говорить про незалежну еволюцію різних генів, що в свою чергу могло вплинути на топологію дерев, отриманих за допомогою мультилокусного аналізу, проведеного попередніми дослідниками (Siddall, 2002). Також, аналізуючи результати філогенетичного аналізу за різними маркерами, ми виявили, що різні гени мають різну «роздільну здатність». Наприклад, аналіз послідовностей гена 12S виявив дуже чітку філогенетичну структуру всередині родини *Erpobdellidae* (рис. 38), яка значною мірою відповідає морфологічним даним і біогеографії на рівні родів, водночас спроби провести делімітацію видів за послідовностями рибосомальних генів не дали позитивного результату (додаток 4). Аналіз послідовностей *cox1* виявив лише частину з угруповань, виявлених за допомогою рибосомальних генів (рис. 37), що можна пояснити вищою швидкістю накопичення мутацій і явищем сатурації в цьому локусі. З іншого боку, аналіз послідовностей *cox1* виявився ефективним для виявлення видового різноманіття глоткових п'явок Палеарктики (рис. 42-49).

Філогенетичний аналіз виявив сім основних еволюційних ліній (клад) глоткових п'явок, п'ять з яких поширені виключно в Палеарктиці та дві – в Неарктиці (табл. 2). За результатами аналізу послідовностей 12S та 18S (рис. 38; рис. 41), палеарктичні види роду *Erpobdella* утворюють монофілетичну групу з високою бутстреп-підтримкою. За результатами аналізу послідовностей 28S, палеарктичні *Erpobdella* також утворюють єдину кладу (рис. 40), проте її бутстреп-підтримка доволі низька, а зв'язки всередині їхньої спільної кледи з *Nephelopsis* та неарктичними *Dina* не можна вважати визначеними, хоча вона і має високу бутстреп підтримку. Філогенетичний аналіз послідовностей *cox1* вказує на парафілію палеарктичних *Erpobdella* (рис. 37), що можна пояснити високою швидкістю еволюції цього маркеру та сатурацією. П'явки роду *Trocheta* утворюють дві монофілетичні групи, що підтверджується результатами аналізу як послідовностей *cox1*, так і 12S

(табл. 2). Перша група представлена типовим видом роду, *T. subviridis*, а друга – всіма іншими дослідженими нами видами. До другої групи увійшов вид *T. cylindrica*, який є типовим видом для роду *Blanchardia*, синонімізованого з *Trocheta* (Gedroyć, 1916; Pawłowski, 1936; Košel, 2004). Отже, можна зробити висновок про те, що рід *Blanchardia* слід відновити, а до його складу мають увійти всі досліджені нами види трохет за винятком *T. subviridis*. Палеарктичні види роду *Dina* в результаті аналізу всіх чотирьох маркерів утворили окрему від інших п'явок, зокрема і від неарктичних *Dina*, кладу з високою бутстреп-підтримкою (табл. 2). Також результати філогенетичного аналізу послідовностей *cox1*, 28S та 12S підтвердили значну відмінність та відповідно валідність роду *Fadejewobdella*, єдиний вид якого не увійшов до складу інших клад (табл. 2). П'явки, поширені в Неарктиці, сформували дві еволюційні лінії. До першої з них увійшли *N. obscura* і неарктичні види роду *Dina* (табл. 2). За результатами аналізу послідовностей 12S та 18S (рис. 38; рис. 41) *N. obscura* та неарктичні *Dina* утворюють єдину кладу з високою бутстреп-підтримкою, тимчасом як у разі аналізу послідовностей 28S їхня спільна клад має низьку підтримку (рис. 40). Це можна пояснити консервативністю гену 28S та нез'ясованістю філогенетичних відносин із палеарктичними *Erpobdella*, з якими вони входять до спільної кледи. Аналіз послідовностей *cox1* виявив, що *N. obscura* та неарктичні *Dina* утворюють поліфілетичну групу (рис. 37), що можна пояснити високою швидкістю еволюції цього маркеру. Враховуючи спорідненість неарктичних видів роду *Dina* із *N. obscura*, показану результатами аналізу рибосомальних генів, можна зробити висновок про те, що їхня родова приналежність була визначена помилково, і тому неарктичні *Dina* мають бути перенесені до роду *Nephelopsis*. Інша еволюційна лінія неарктичних глоткових п'явок утворена видами родів *Mooreobdella*, *Motobdella* і неарктичними видами роду *Erpobdella* (табл. 2). За результатами аналізу послідовностей *cox1*, 12S та 28S вищеназвані п'явки утворюють єдину кладу з високою підтримкою (рис. 38; рис. 40), хоча за результатами аналізу 18S *Mooreobdella*, *Motobdella* та неарктичні *Erpobdella*

утворюють парафлетичну групу (рис. 41). Поясненням цьому може бути предковий поліморфізм, характерний лише для такого консервативного гена як 18S, тимчасом як гени, що еволюціонують швидше втрачають предковий поліморфізм внаслідок накопичення мутацій. Зважаючи на спорідненість неарктичних *Erpobdella*, *Motobdella* і *Mooreobdella*, а також пріоритет останньої всі види роду *Motobdella* та неарктичні види роду *Erpobdella* мають бути віднесені до роду *Mooreobdella*. Отже, виявлені нами сім еволюційних ліній глоткових п'явок слід співставити із сімома родами глоткових п'явок, а саме *Erpobdella*, *Dina*, *Trocheta*, *Blanchardia*, *Fadejewobdella*, *Nephelopsis* та *Mooreobdella*.

Виявлені нами еволюційні лінії (клади) глоткових п'явок також формували монофілетичні групи вищого рівня. Філогенетичний аналіз рибосомальних генів (рис. 38-41) вказав на близькість палеарктичних видів роду *Erpobdella*, неарктичних *Dina* та виду *N. obscura*. Отже, якщо відносити неарктичних *Dina* до роду *Nephelopsis*, а неарктичних *Erpobdella* – до роду *Mooreobdella*, то можна дійти висновку про валідність підродини Erpobdellinae в трактуванні Г. Неземанна (1993a), із тим доповненням, що видовий склад родів *Erpobdella* та *Nephelopsis* слід ретельно переглянути. Результати аналізу послідовностей 12S та 28S вказують на спорідненість видів роду *Trocheta* (sensu *Blanchardia*) та *Fadejewobdella quinqueannulata* із клядою *Erpobdella* s. str. та *Nephelopsis* s. l. (рис. 38-40). На реальність підродини Trochetinae вказують результати аналізу послідовностей 12S (рис. 38), за яким *T. subviridis* та палеарктичні *Dina* утворили спільну кляду, проте для повної впевненості необхідно включити до аналізу послідовності генів 28S і 18S виду *T. subviridis* та послідовності виду *A. esmonti*. Результати філогенетичного аналізу не підтверджують спорідненості видів роду *Mooreobdella* та *F. quinqueannulata*, що узгоджується з їхніми морфологічними відмінностями (Jueg & Grosser, 2017) та вказує на недоцільність використання підродини Mooreobdellinae в трактуванні Г. Неземанна (1993a). Натомість результати

аналізу послідовностей 28S та 18S (рис. 39-41) вказують на спорідненість видів роду *Mooreobdella* s. l. з палеарктичними *Dina*.

4.1.2. Видове різноманіття глоткових п'явок

Криптичні, псевдокриптичні та політипні види глоткових п'явок.

Протягом цього дослідження нами було виявлено декілька груп криптичних видів, тобто видів, які за своєю морфологією не відрізняються між собою. До таких груп можна віднести троглобіонтних п'явок роду *Dina* з Південного Кавказу, які морфологічно ідентичні. Тривала ізоляція між популяціями привела до значної генетичної дивергенції (рис. 46), проте морфологічної дивергенції не відбулося. Те саме можна сказати про троглобіонтних *Trocheta* з Південного Кавказу, що формують групу видів, всередині якої види не розрізняються між собою морфологічно, проте генетична дивергенція між ними відбулася (рис. 48; рис. 50).

Окремо варто приділити увагу так званим псевдокриптичним видам глоткових п'явок, яких раніше вважали локально поширеними формами або підвидами добре відомих поширених видів, але детальніші дослідження показали, що ці популяції належать до окремих видів. До псевдокриптичних видів можна віднести вірменських *Erpobdella*, описаних як *E. octoculata sevanica*, яких різні дослідники відносили до *E. vilnensis* (= *E. monostriata* (Gedroyć, 1916)) або вважали підвидом *E. octoculata* (Мешкова, 1957; Квавадзе, 2002). Цей таксон за результатами делімітації на основі послідовностей ДНК виявився окремим видом, який морфологічно добре відрізняється від інших видів роду (рис. 44). *Erpobdella japonica* та споріднений вид (рис. 18; рис. 44), поширений в континентальній частині Північної та Східної Азії, також можна віднести до криптичних видів, але для повної впевненості необхідно дослідити морфологію справжньої *E. japonica*. Що ж стосується *Erpobdella* з Ямалу (рис. 16), то для визначення того, чи є цей вид криптичним стосовно *E. vilnensis* необхідно дослідити більшу кількість зразків цього виду, щоб з'ясувати межі його

морфологічної мінливості. Ще одним видом, виявленим нами є вид роду *Dina* з Ірану. Упродовж детального дослідження п'явки, морфологічно близької до *D. farsa* (Grosser & Pešić, 2008), нами було виявлено, що цей екземпляр суттєво відрізняється за малюнком на спинній поверхні тіла, положенням гонопорів і формою атріуму (рис. 27), що вказує на приналежність цієї п'явки до окремого виду. Також під час нашого дослідження з'ясувалося, що п'явки, яких відносять до виду *D. punctata*, є не єдиним видом, а радше групою видів, які мають схоже забарвлення та кільчастість. Філогенетичний аналіз показав, що п'явки з французької частини Піреней, Іспанії та Корсики, а також *D. punctata mauchi* не утворили жодної монофілетичної групи (рис. 46). Ще одним видом, виявленим нами під час цього дослідження, є *T. blanchardi* з Криму, яку раніше відносили до *T. subviridis* або *T. cylindrica*, але філогенетичний аналіз і детальне морфологічне дослідження дозволили підтвердити її окремий видовий статус (Khomenko et al., 2020; рис. 48).

Також серед глоткових п'явок є приклади політипних видів. Мінливість забарвлення добре відома для багатьох видів глоткових п'явок – типовим прикладом цього явища *E. octoculata*, яка має дуже різноманітне забарвлення, різні варіанти якого часто можна спостерігати навіть в одній популяції (Nesemann & Neubert, 1999). Між цими варіантами навіть спостерігається асортативність схрещування (Koperski, Milanowski & Krzyk, 2011). Крім того, для *D. apathyi* давно відоме явище меланізму (Gedroyć, 1916), яке нами також було виявлено у *E. monostriata* (Хоменко, Утєвський та Палатов, 2018; рис. 11). Незважаючи на те, що особини з різними варіантами забарвлення раніше часто описувалися як окремі види, підвиди і варіації, ці варіанти забарвлення відповідають значенню терміну «морфа». Що стосується такої категорії як підвид, то на прикладі *D. stschegolewi* можна побачити, що ця категорія може та має бути застосована у систематиці глоткових п'явок. *Dina stschegolewi* має розділений на дві частини ареал, особини з різних частин якого суттєво відрізняються за забарвленням, розмірами тіла, туберкуляцією та деталями морфології статеві системи (рис. 24–25). Наявних морфологічних

відмінностей між особинами з цих двох частин ареалу достатньо для виділення особин зі східної частини популяції до окремого виду, проте дослідження генетичного різноманіття *D. stschegolewi* показало, що дивергенція між східною та західною кладами цього виду недостатня для того, щоб вважати їх окремими видами (рис. 49). У такій ситуації для того, щоб підкреслити наявність суттєвих морфологічних і генетичних відмінностей між двома популяціями, але водночас і приналежність їх до одного виду, на нашу думку, використання категорії підвид є доцільним.

Методи делімітації та концепції видів. Незважаючи на те, що концепції виду досі є предметом дискусій серед таксономістів, наразі з'явилося чимало інструментів для розрізнення видів. Загалом можна виділити дві категорії найбільш вживаних методів для розділення видів: це морфологічні та молекулярно-філогенетичні. Щодо морфологічних методів, то вони дозволяють виявити відмінності між двома різними видами без використання спеціального лабораторного обладнання та реагентів, і тому ці методи використовуються дуже широко. Найчастіше в разі дослідження п'явок таксономісти використовують якісні ознаки, як, наприклад, положення гонопорів, кількість кілець у сомітах, а також форма, розмір і положення внутрішніх органів відносно гангліїв черевного нервового ланцюжка (Nesemann & Neubert, 1999; Groszer, 2015). Таким чином, таксономісти, що використовують морфологічні дані в своїх дослідженнях найчастіше спираються на морфологічну концепцію виду або MSC (Cronquist, 1978), тобто виділяють як вид найменшу групу організмів, що відрізняються за морфологічними ознаками. Такий підхід є простим для використання, проте його об'єктивність значною мірою залежить від кваліфікації та суб'єктивного погляду дослідника (Aldhebiani, 2018). У складніших випадках, наприклад у випадку дослідження двох морфологічно близьких видів, для розрізнення за морфологічними ознаками доцільно використовувати морфометрію та методи багатовимірної статистики (Cichocka & Bielecki, 2015), що є прикладом застосування фенетичної концепції виду (Sokal & Crovello, 1970). За цією концепцією, видом є кластер, який можна

виявити за допомогою багатовимірного статистичного аналізу максимально можливої кількості морфологічних ознак. Цей підхід дозволяє відкинути суб'єктивність дослідника, і тому вона є об'єктивнішим методом, ніж MSC (Aldhebiani, 2018). Водночас фенетична концепція виду виявилася непридатною для роботи із криптичними й політипними видами (Aldhebiani, 2018). До того ж, використання морфометрії та багатовимірної статистики в розрізненні глоткових п'явок обмежене необхідністю використання однотипної методики релаксації всіх зразків перед фіксацією (Cichocka & Bielecki, 2015), що ускладнює збір матеріалу в польових умовах і обмежує вибірку лише правильно зафіксованими зразками. Це змушує дослідника відмовитися від дослідження музейних матеріалів і зборів, зроблених іншими науковцями. Як приклад того, наскільки фіксація зразків впливає на форму їхнього тіла, можна навести досліджені нами зразки *E. monostriata*, які неозброєним оком розрізняються між собою за формою тіла (рис. 11), але за результатами філогенетичного аналізу відрізняються між собою мало і без сумніву належать до єдиного виду (рис. 44).

Що ж стосується філогенетичних підходів до делімітації видів, то наразі з'явилося багато методів делімітації, проте найбільш вживаними серед них є чотири методи: це ABGD (Puillandre et al., 2012), PTP (Zhang et al., 2013), GMYC (Fujisawa & Barraclough, 2013) та критерій Бьоркі або ж K/θ (Birky, 2013), які використовуються для аналізу однолокусних наборів даних. Найпростішими для використання є методи делімітації, які аналізують лише філогенетичне дерево – це методи PTP та GMYC. Ці методи дозволяють досить швидко проаналізувати великий обсяг даних за короткий проміжок часу й отримати один остаточний результат. Водночас через те, що ці методи були розроблені з точки зору філогенетичної концепції виду (Eldredge & Cracraft, 1980), вони часто дають дуже дрібне розділення на види, що може призводити до надмірного збільшення кількості видів, тобто так званої таксономічної інфляції (Isaac, Mallet & Mace, 2004). Значно консервативнішим методом є критерій Бьоркі, який ґрунтується на еволюційній

концепції виду (Simpson, 1951). Він дозволяє точно визначити зв'язки між двома сестринськимикладами, проте він є доволі вибагливим до розміру вибірки, а через відсутність відповідного програмного забезпечення розрахунки можна проводити виключно вручну. Ще один поширений метод делімітації видів – це ABGD. Цей метод насамперед спирається на припущення про наявність розриву між внутрішньовидовим і міжвидовим різноманіттям, яке виявляється у переважній більшості організмів (Hebert et al., 2003; Puillandre et al., 2012), тобто виходить із вищезгаданої фенетичної концепції виду. На практиці цей метод приводить до висновків, які значною мірою збігаються з висновками, отриманими за допомогою дослідження морфології, але результатом аналізу за цим методом є велика кількість потенційних розділень, які він не тестує на монофілетичність. Отже, отримані розділення необхідно ретельно перевірити, відкидаючи ті, в яких трапляються парафілетичні та поліфілетичні угруповання.

Філогенетичний аналіз послідовностей мітохондріального гена 12S виявив еволюційну історію глоткових п'явок на рівні родів. Аналіз послідовностей мітохондріального гена *cox1* відображає філогенетичні зв'язки між спорідненими видами та всередині видів. Послідовності гена *cox1* є найкращим маркером для делімітації видів глоткових п'явок.

Родина *Erpobdellidae* підрозділяється на сім основних еволюційних ліній (клад), які відповідають родами *Erpobdella*, *Dina*, *Trocheta*, *Nephelopsis*, *Blanchardia*, *Mooreobdella* та *Fadejewobdella*.

Види роду *Trocheta* за результатами філогенетичного аналізу розділилися на дві клад, одна з яких представлена типовим видом роду *T. subviridis*, а друга утворена іншими видами роду включно з *T. cylindrica*, яка є типовим видом роду *Blanchardia*, синонімізованого з *Trocheta*.

Філогенетичний аналіз послідовностей ядерних генів 28S і 18S та мітохондріального гена 12S підтверджує виокремлення підродини *Erpobdellinae*, яка включає палеарктичних *Erpobdella* та неарктичних *Nephelopsis*. Результати аналізу послідовностей 12S вказують на реальність підродини *Trochetinae*. Підродина *Mooreobdellinae* є поліфілетичною групою.

Серед глоткових п'явок Палеарктики виявлено значну кількість псевдокриптичних видів. Троглобіонтні глоткові п'явки утворюють комплекси криптичних видів. Види, що мають широке географічне поширення, характеризуються глибокою і складною філогенетичною структурою та значною морфологічною мінливістю, через що їх слід вважати політипними.

4.2. Морфологія

4.2.1. Таксономічне значення кільчастості

Кількість кілець у соміті довгий час вважалася основною ознакою для розрізнення родів глоткових п'явок (Лукин, 1976; Nesemann & Neubert, 1999), проте з часом з'явилися дані, що суперечили цьому твердженню. Наприклад, *D. krasensis*, яка спочатку була описана як вид роду *Trocheta*, за результатами молекулярного філогенетичного аналізу була перенесена до роду *Dina* (Trontelj & Sket, 2000). Нами також було знайдено приклади таких невідповідностей. Серед палеарктичних видів роду *Erpobdella* переважають види, що мають п'ятикільцевий соміт з кільцями однакового розміру, але за результатами молекулярного філогенетичного аналізу нами було з'ясовано, що *E. japonica* та *E. borisi*, які мають шестикільцевий соміт, також належать до лінії палеарктичних *Erpobdella* (рис. 44). Нами було підтверджено приналежність *D. tauchi* до лінії палеарктичних *Dina* (рис. 46), хоча її кільчастість є близькою до кільчастості видів роду *Trocheta* (Kutschera, 2010; Grosser, 2015). Ще одним прикладом виду з кільчастістю, відмінною від споріднених видів, є *Dina stschegolewi*. Цей вид має типовий для видів роду *Dina* шестикільцевий соміт (рис. 24), проте за результатами молекулярного

філогенетичного аналізу він належить до групи видів роду *Trocheta* і є доволі близьким до *T. cylindrica*, яка має до одинадцяти кілець у соміті (рис. 49). Отже, у трьох з п'яти виявлених еволюційних ліній палеарктичних глоткових п'явок кільчастість соміту є доволі мінливою. Інші ж дві палеарктичні еволюційні лінії представлені одним видом кожна, *T. subviridis* та *F. quinqueannulata* відповідно, у яких кільчастість є стабільною ознакою.

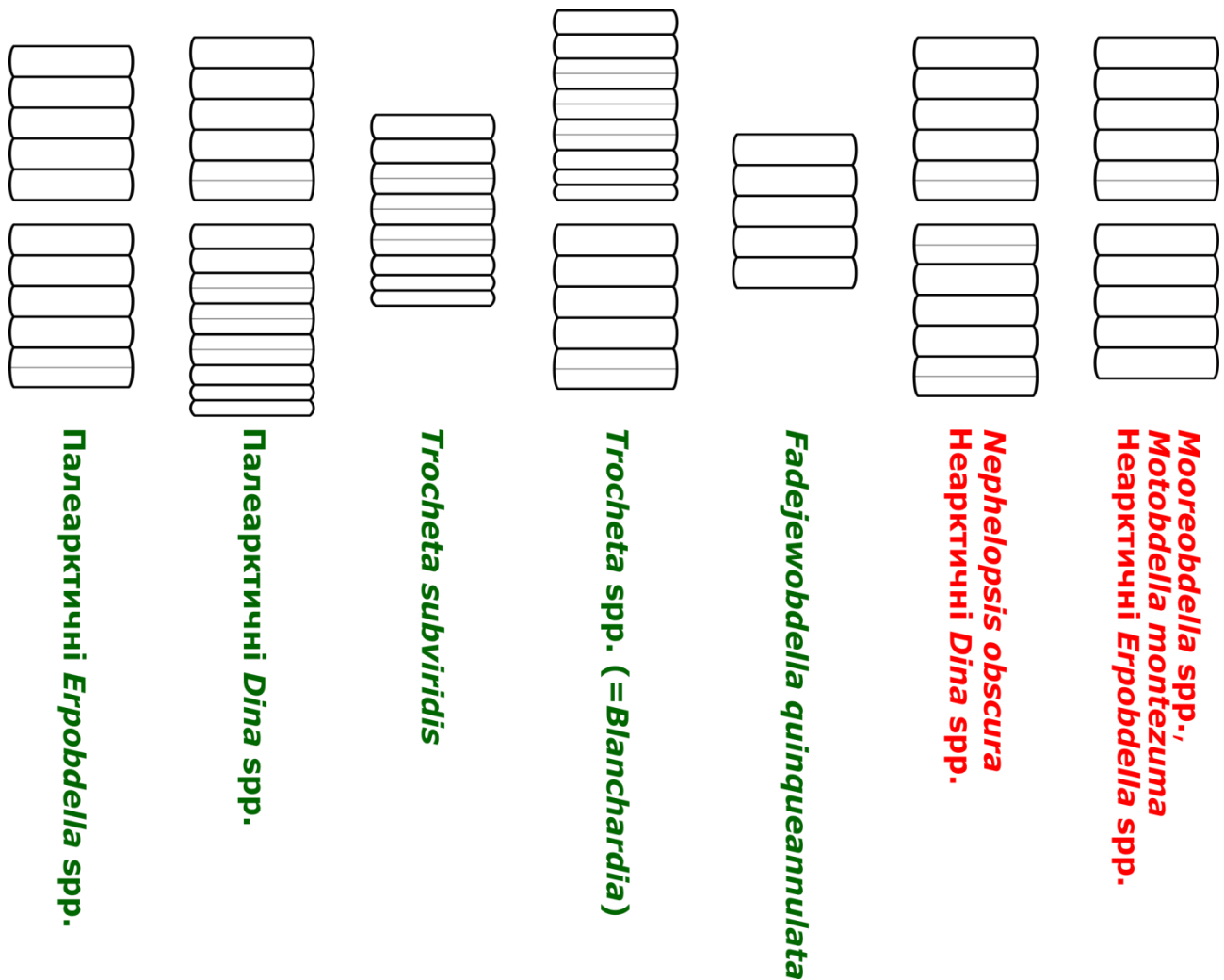


Рис. 51. Типи кільчастості у різних еволюційних ліній глоткових п'явок. Зеленим кольором виділені представники тих еволюційних ліній, що живуть у Палеарктиці, червоним – у Неарктиці. Вище показано типи кільчастості, які трапляються у переважній більшості видів, нижче – лише у деяких видів або у деяких особин певних видів.

Що ж стосується неарктичних глоткових п'явок, то для них також характерна мінливість кільчастості. Наприклад, неарктичні види родів *Erpobdella* і *Motobdella* мають п'ятикільцевий соміт, а види роду *Mooreobdella* – шестикільцевий (Govedich et al., 1998; рис. 51), і як було нами з'ясовано, за

результатом філогенетичного аналізу разом вони утворюють єдину монофілетичну групу (рис. 37–38). Також мінливість кільчастості відома для *N. obscura*, в деяких популяціях якої переважають особини із роздвоєними першим та останнім кільцями соміту (Madill & Hovingh, 2007; рис. 51), що не характерно для інших глоткових п'явок.

Отже, можна стверджувати, що кількість кілець у соміті не є ознакою, яка дозволяє правильно класифікувати приналежність виду до якогось з родів, проте значення кільчастості для розрізнення видів залишається надзвичайно важливим. Наприклад такі ознаки, як положення гонопорів відносно кілець соміту або ступінь розділеності деяких кілець є важливою діагностичною характеристикою для розрізнення багатьох схожих видів (Nesemann & Neubert, 1999).

4.2.2. Таксономічне значення ознак статевої системи

Велике значення для розрізнення видів має дослідження статевої системи, особливу увагу тут слід приділяти формі атріуму (Nesemann & Neubert, 1999). Аналіз літературних джерел, проведені нами розтини й філогенетичний аналіз дозволили виявити певні особливості морфології атріумів у різних еволюційних ліній. Наприклад, у палеарктичних *Erpobdella* переважає Y-подібний атріум, що займає близько половини відстані між прилеглими гангліями (рис. 10; рис. 13; рис. 52). У деяких палеарктичних *Erpobdella* роги атріуму сильно вигнуті, а спільний відділ і кінці рогів зорієнтовані у дорсовентральному напрямку (рис. 10), через що здається, що атріум має U-подібну форму, проте якщо повністю відділити його від оточуючих тканин, можна побачити, що він насправді також має Y-подібну форму. Для палеарктичних *Dina* характерним є атріум середнього розміру V- або U-подібної форми з округлим загальним відділом і часто з помітним потовщеннями в основі рогів (рис. 27; рис. 52). У *T. subviridis* атріум має середній розмір, характеризується округлим спільним відділом і малорозвиненими рогами (рис. 52), тимчасом як у інших видів роду *Trocheta*, які належать до іншої еволюційної лінії, атріум може

займати всю відстань між прилеглими гангліями, а роги атріуму мають значну довжину та добре розвинуті (Khomenko et al., 2020; рис. 52). Дуже своєрідну форму атріуму має *F. quinqueannulata*, у якої роги атріуму мають сильно закручену форму (рис. 52). Деякі дослідники помилково вважали, що в цього виду відсутні преатріальні петлі, через що цей вид вважали спорідненими з північноамериканськими *Mooreobdella* (Nesemann, 1993a), проте згодом виявилося, що це твердження було хибним (Jueg & Grosser, 2017). Загалом, для всіх глоткових п'явок Палеарктики характерна наявність преатріальних петель за винятком малодосліджених видів, віднесених до роду *Erpobdellopis* (Jueg & Grosser, 2017). Також для ідентифікації видів широко використовують і інші ознаки статеві системи, зокрема форму яйцевих мішків (Sket, 1968) а також довжини різних відділів статеві системи відносно гангліїв червонного нервового ланцюжка (Grosser, 2015).

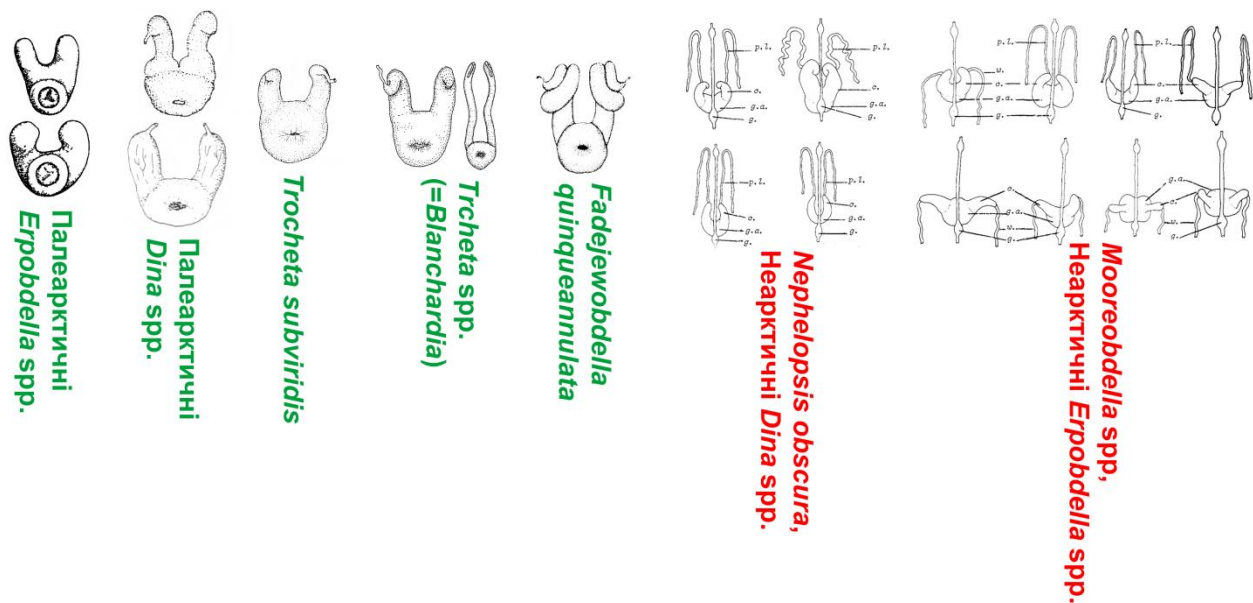


Рис. 52. Форма атріуму у різних еволюційних ліній глоткових п'явок. Зеленим кольором виділені представники тих еволюційних ліній, що живуть у Палеарктиці, червоним – у Неарктиці. Малюнки за Sandner, 1951; Nesemann & Neubert, 1999; Klemm, 1982.

4.2.3. Морфологічна характеристика основних еволюційних ліній глоткових п'явок

Переважає більшість палеарктичних видів роду *Erpobdella* характеризуються Y-подібним атріумом, який має розмір, зіставний з половиною дистанції між суміжними гангліями (рис. 52). У деяких видів палеарктичних *Erpobdella* атріум часто може бути сильно скрученим, внаслідок чого кінці рогів атріуму притискаються до спільного відділу (рис. 10). Соміт палеарктичних *Erpobdella* зазвичай складається із п'яти кілець рівної ширини, але у деяких видів, наприклад *E. japonica* та *E. borisi*, останнє кільце соміту розширюється та інколи розділяється надвоє (Nesemann, 1995b; Cichocka et al., 2015; рис. 51). Раніше через це *E. japonica* було перенесено до роду *Dina* (Nesemann, 1995b), але результати філогенетичного аналізу (рис. 38; рис. 44) заперечують це та вказують на приналежність до видів роду *Erpobdella*.

Палеарктичні *Dina* мають атріум U- або V-подібної форми, за розміром зіставний із половиною дистанції між суміжними гангліями (рис. 52). В основі рогів атріуму часто можна спостерігати характерні потовщення. Соміт палеарктичних *Dina* зазвичай складається із шести кілець, але у *D. krasensis* та *D. mauchi* він складається із семи кілець, через що їх раніше відносили до роду *Trocheta* (Trontelj & Sket, 2000; Kutschera, 2010; Grosser, 2015; рис. 51).

Як було сказано вище, представники роду *Trocheta* утворюють дві незалежні еволюційні лінії, представники яких мало розрізняються між собою за зовнішньою морфологією. Єдина відмінність між ними в зовнішній морфології полягає в тому, що *T. subviridis* має одинадцять кілець у соміті та дев'ять (або три подвійних кільця та три одинарних) кілець між гонопорами (Nesemann & Neubert, 1999), тимчасом як *Trocheta*, споріднені з *T. cylindrica* мають дуже мінливу кількість кілець у соміті, від шести до одинадцяти, та від двох до чотирьох кілець між гонопорами. У більшості досліджених нами видів роду *Trocheta* атріум доволі великий, сягає щонайменше половини дистанції

між суміжними гангліями, а у багатьох видів займає весь проміжок між ними (рис. 31-32), має V- або U-подібну форму й добре розвинуті роги, тимчасом як у *T. subviridis* атріум має менші розміри, V-подібну форму, роги атріуму мало розвинені (рис. 52).

Fadejewobdella quinqueannulata може бути сплутана із видами роду *Erpobdella* через соміт, що складається із п'яти кілець рівної ширини (рис. 51), але легко відрізняється від них своїми великими, до дев'ятнадцяти сантиметрів, розмірами, специфічним забарвленням і формою атріуму (Лукин, 1976). Її атріум має U-подібну форму, роги атріуму *F. quinqueannulata* на відміну від інших палеарктичних глоткових п'явок, сильно скручені та з черевної сторони мають вигляд подвійних спіральних завитків (рис. 52). Раніше вважалося, що у *F. quinqueannulata* преатріальні петлі відсутні (Nesemann & Neubert, 1999), проте згодом це твердження відкинули (Jueg & Grosser, 2017).

Різні еволюційні лінії неарктичних глоткових п'явок відрізняються між собою за кількістю очей. *Mooreobdella* s. l. переважно мають три пари очей (Govedich et al., 1998), тимчасом як у *Nephelopsis* s. l. їх, як і в інших глоткових п'явок, чотири пари (Klemm, 1982). Кількість кілець у соміті у різних еволюційних ліній глоткових п'явок відрізняється мало – *Mooreobdella* s. l. мають п'ять-шість кілець у соміті, а *Nephelopsis* s. l. – шість, зрідка – сім (рис. 51). Також у деяких видів *Mooreobdella* s. l. можуть бути відсутні преатріальні петлі (рис. 52) та бути присутні сліпі відростки шлунку (Govedich et al., 1998)

Різні типи кільчастості виникли у різних еволюційних лініях глоткових п'явок паралельно, тому використовувати лише кількість кілець у соміті для визначення родової приналежності недостатньо. Водночас, кільчастість та

розташування гонопорів відносно кілець сомита є надійними ознаками для ідентифікації видів.

Представники різних еволюційних ліній глоткових п'явок добре розрізняються за особливостями будови статевої системи, переважно формою атріуму та його рогів. Форма атріуму та форма яйцевих мішків мають велике значення для розрізнення видів глоткових п'явок.

4.3. Біогеографія глоткових п'явок

Однією із перших спроб систематизувати інформацію про поширення п'явок була здійснена Є. Лукіним (Лукин, 1976). Він розробив районування Палеарктики, яке було викладено в його основній монографії (Лукин, 1976). У ній він виділив чотири головні зоогеографічні «зони»: Субаркто-Камчатську, Бореальну, Південну, Амуро-Китайсько-Японську і Байкальську, які і собі розділяються на «райони» (табл. 3). На думку Є. Лукіна, використання таких нейтральних термінів як «зони» та «райони» підкреслювало попередній характер районування, проте він асоціював їх зі звичними біогеографічними термінами «підобласть» і «провінція». Це районування значною мірою перетинається із кліматичним районуванням, запропонованим В. Кеппеном (Көррен, 1936), що пояснюється насамперед тим, що Є. Лукін під час розробки свого районування здебільшого спирався на ті групи п'явок, поширення яких пов'язано із кліматом та / або поширенням їхніх хазяїв (Лукин, 1976), тимчасом як поширення глоткових п'явок більше пов'язано з історичними факторами (Утєвський, Владимирська та Палатов, 2015). Також уявлення Є. Лукіна частково перетинаються з думками Л. Берга, які він виклав у своїй статті про районування континентальних водойм Палеарктики (Берг, 1934). У роботі Л. Берга приділяється значна увага Байкалу та зонам, перехідним з іншими біогеографічними областями. Ці ідеї не призвели до виділення перехідних зон, але вплинули на зоогеографічну класифікацію палеарктичних п'явок (табл. 4) Є. Лукіна, в якій були виділені типи ареалів видів, поширених у Палеарктиці та за її межами.

Табл. 3. Районування Палеарктики, запропоноване Є. Лукіним (1976).

Зони	Райони
Субаркто-Камчатська	Європейсько-західносибірський
	Східносибірський район
	Камчатський район
Бореальна	Західноєвропейський район
	Центральний район
	Північний схід європейської частини СРСР і західний Сибір
	Східний район
Південна	Південний район
	Північний район
Амуру-Китайсько-Японська	Японський район
	Амуру-китайський район
Байкальська	

Ця класифікація розділяє палеарктичні види п'явок на чотири категорії: транспалеаркти, палеарктичні ендеміки з локальним поширенням, ефіопсько-палеарктичні види й індомалайсько-палеарктичні види. Категорія транспалеарктів за Є. Лукіним включає як таксони, що широко розповсюджені в Палеарктиці, так і таксони, поширені за її межами. Водночас, для таксонів, що живуть у суміжних біогеографічних областях і локально поширені в Палеарктиці, були виділені окремі категорії індомалайсько-палеарктичних і ефіопсько-південнопалеарктичних таксонів.

Табл. 4. Зоогеографічні групи палеарктичних п'явок за Є. Лукіним (1976).

Транспалеаркти	Голаркто-неотропічні
	Голарктичні
	Палеаркто-індомалайські
	Палеарктичні (транспалеарктичні) ендеміки
Палеарктичні ендеміки з локальним поширенням	Європейсько-західносибірські ендеміки
	Бореальні ендеміки
	Субарктичні ендеміки
	Північно-далекосхідні ендеміки
	Південні ендеміки
	Каспійські ендеміки
	Середньоазійські ендеміки
	Амурсько-Китайсько-Японські ендеміки
	Байкальські ендеміки
Ефіопсько-палеарктичні	
Індомалайсько-палеарктичні	

Утім, пізніше з'ясувалося, що видове різноманіття глоткових п'явок було сильно недооцінене за часів Є. Лукіна. Вважалося, що серед глоткових п'явок ендеміки не численні і тому для біогеографічного аналізу він здебільшого

приділяв увагу іншим родинам п'явок. З часом стало зрозуміло, що незважаючи на дуже одноманітну зовнішню морфологію, дослідження деталей будови їхньої статеві системи дозволили виділити низку нових видів і відновити частину зведених у синоніми видів (Nesemann & Neubert, 1999). Це привело до збільшення кількості видів, і якщо в основній своїй роботі Є. Лукін (1976) вказував для Палеарктики чотирнадцять видів глоткових п'явок, то в 2008 році Б. Скет та П. Тронтель (Sket & Trontelj, 2008) вказували сорок шість видів, і ця кількість поступово зростає. Чимало широко розповсюджених видів було розділено на декілька видів з більш локальним поширенням, тобто було з'ясовано, що види глоткових п'явок мають значно менші ареали, ніж вважалося до цього.

Накопичення нової інформації про видове різноманіття і поширення глоткових п'явок стало причиною для розробки нового районування, яке запропонували Г. Неземанн і Е. Нойберт (1999). Воно базувалося на районуванні континентальних водойм Й. Ілліса (1978), на основі якого ці автори виділили вісім субрегіонів: Лузітанія і Західна Європа, Центральна Європа, Східна Європа, бореальний субрегіон, понтокаспійський субрегіон, Східне Середземномор'я і Левант, а також афроазійський і північноафриканський субрегіони (рис. 53). У районуванні, запропонованому Г. Неземанном і Е. Нойбертом, субрегіони частково перетинаються між собою і таким чином скоріше описують типи ареалів, виявлені авторами у п'явок Західної Палеарктики, ніж районування, і тому мають більше спільного із зоогеографічною класифікацією п'явок Є. Лукіна. До того ж, розуміння ступені ендемізму в Г. Неземанна і Е. Нойберта дещо відрізнялося від такого в Є. Лукіна. Через більш розчленоване районування, запропоноване Й. Іллісом (Illies, 1978), види, яких Є. Лукін вважав ендеміками, не вважалися такими Г. Неземанном і Е. Нойбертом. Наприклад, Є. Лукін відносив види *E. nigricollis*, *E. vilnensis* і *D. lineata* до палеарктичних ендеміків із локальним поширенням, хоча ці види трапляються в переважній більшості країн Європи. Водночас Г. Неземанн і Е. Нойберт відносили до ендеміків види, поширені переважно в

межах одного регіону, виділеного Й. Іллісом (1978), наприклад види роду *Dina*, що живуть виключно на Динарському нагір'ї (5, рис. 53) або *T. africana*, що живе виключно в Північній Африці (28, рис. 53), але вони не відносили до них види з ширшим ареалом, як, наприклад, *Archaeobdella esmonti*.

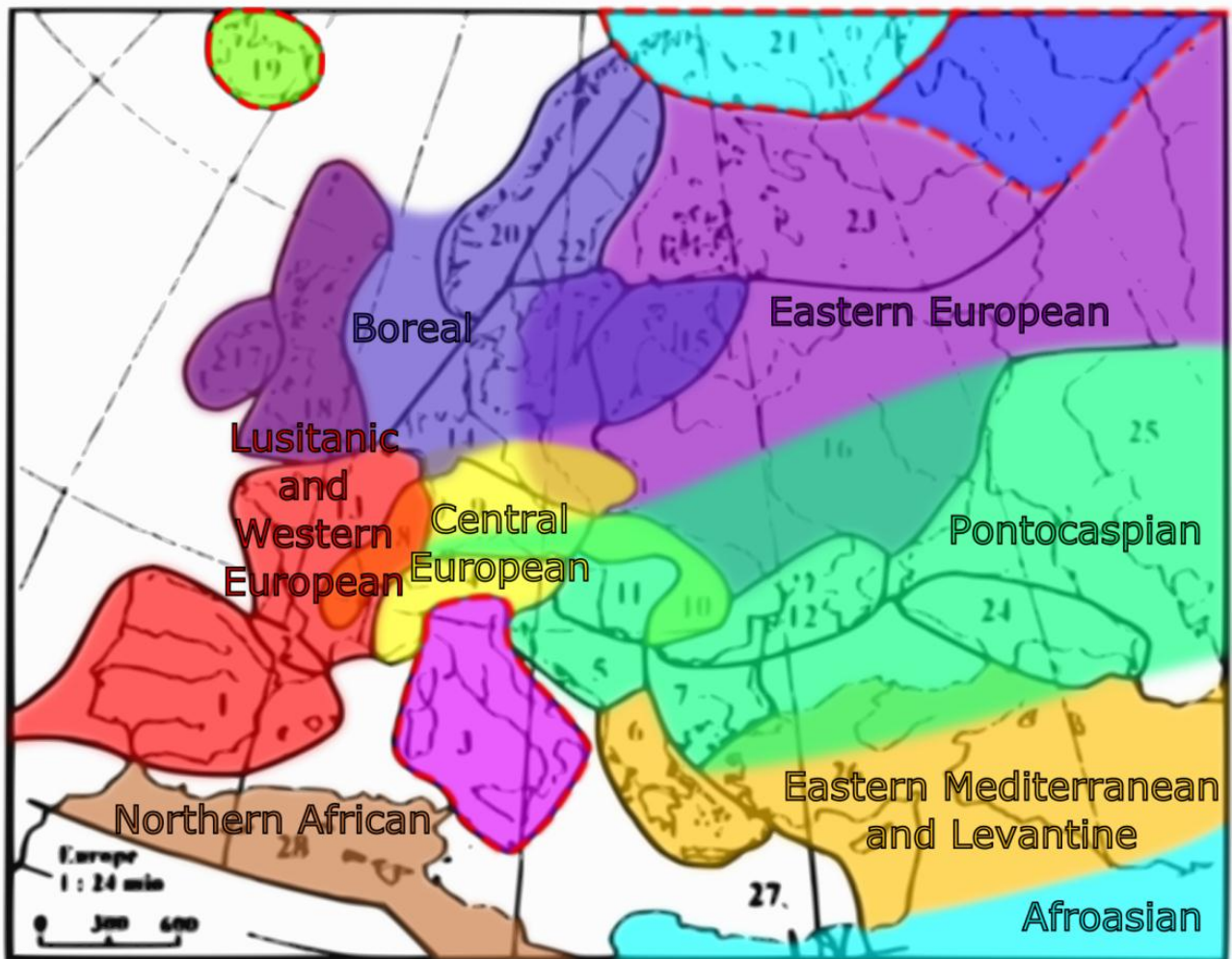


Рис. 53. Районування західної Палеарктики, запропоноване Г. Неземанном і Є. Нойбертом (1999). Обрисы регіонів (за письмовим описом авторів) та їхні назви виділено окремим кольором; зони перекриття двох регіонів показано змішаними кольорами; червоним пунктиром окреслені території, які не були включені до складу жодного з восьми субрегіонів.

Детальніший розгляд запропонованого Г. Неземанном и Є. Нойбертом районування (1999) виявив низку проблем. Наприклад, до жодного з субрегіонів не було включено Апеннінський півострів, Ісландію, зону тундри а також східну частину тайгової зони, що, можливо, пов'язано з малою кількістю інформації про п'явок цих регіонів. Також викликає сумніви необхідність виділення деяких субрегіонів. По-перше, виділений ними бореальний субрегіон

лише частково потрапляє в зону бореального клімату, а, по-друге, ареал *Glossiphonia verrucata*, яку автори та попередні дослідники наводять як приклад виду з бореальним поширенням (Лукин, 1976; Nesemann & Neubert, 1999), простягається на схід за межі виділеного регіону. Виділення ж суміжного східноєвропейського субрегіону, на думку цих авторів, спирається на дані про поширення *Theromyzon maculosum*, ареал якого навпаки простягається за межі субрегіону на захід до Ісландії (Лукин, 1976). Отже, два виділені Г. Неземанном і Є. Нойбертом субрегіони за поширенням маркерних видів становлять собою одне ціле. Масштаби деяких субрегіонів також були перебільшені. Наприклад, автори називають *T. cylindrica* типовим видом з центральноєвропейським поширенням (Nesemann & Neubert, 1999), проте з часом значну кількість знахідок цього виду віднесли до новоописаних видів *T. haskonis* і *T. taunensis* (Grosser, 2000; Grosser, 2015), що звужує поширення *T. cylindrica* до Карпат і прилеглих територій. Також Г. Неземанн і Є. Нойберт (1999), зважаючи на існуючу на той момент інформацію про поширення *D. stschegolewi* та *T. danastrica*, виділили понтокаспійський регіон, що є досить суперечливим. На той момент, як і нині, немає інформації про те, що ці види поширені по всьому виділеному цими авторами субрегіону. Незважаючи на те, що ареал *D. stschegolewi* значною мірою знаходиться в басейні Каспійського та Чорного морів, спостережень цього виду в басейні Азовського моря, на північ від Кавказу та в Анатолії не було. До того ж, беручи до уваги те, що за результатами нашого дослідження *D. pseudotrocheta* і *D. stschegolewi* є одним видом, то виявляється, що цей вид поширений і за межами Понтокаспійського регіону, а саме в басейнах Адріатичного, Північного та Балтійського морів (Grosser & Eiseler, 2008; Grosser, Hellwig & Rößler, 2011). Крім того, ареал *T. danastrica* був значно перебільшений авторами і насправді він обмежений басейном Дунаю та Причорноморською низовиною. Водночас серед глоткових п'явок є типові види з понтокаспійським поширенням, а саме *Archaeobdella esmonti*, яка вважається типовим елементом понтокаспійської фауни і насправді поширена в басейні Чорного, Азовського та Каспійського морів (Лукин, 1976),

але чомусь Г. Неземанном і Є. Нойбертом (1999) вона не була віднесена до понтокаспійських ендеміків.

Попри довготривалий тренд до дрібного розділення видових ареалів через численні описи нових видів довгий час вважалося, що роди *Erpobdella* та *Dina* мають голарктичне поширення, а окремі види цих родів живуть у Неотропічній області (Лукин, 1976; Nesemann & Neubert, 1999). У роботі М. Сіддалла (Siddall, 2002) було проведено філогенетичний аналіз з використанням послідовностей трьох генів і деяких морфологічних ознак, але чіткої філогенетичної структури не було виявлено. Через це автор прийняв рішення про синонімізацію більшості родів глоткових п'явок, хоча воно було не прийняте значною кількістю спеціалістів через невідповідність морфологічним даним (Grosser, 2015; Jueg & Grosser, 2017; Govedich et al., 2019). Як було вище сказано, проведений нами філогенетичний аналіз дозволив виявити сім еволюційних ліній, яких можна зіставити з такими родами глоткових п'явок: *Erpobdella*, *Dina*, *Trocheta*, *Blanchardia* (= *Trocheta*), *Fadejewobdella*, *Mooreobdella*, *Nephelopsis* (табл. 2), більшість з яких живуть в Палеарктиці. Також можливо, що окремі види проникають до Індомалайської та / або Афротропічної зони, але даних про це наразі немає. Роди *Nephelopsis* s. l. і *Mooreobdella* s. l. (табл. 2) поширені здебільшого в Неарктиці, але деякі види роду *Mooreobdella* s. l. живуть і в Неотропічній зоні (Davies & Govedich, 2001).

Однією із виявлених еволюційних ліній глоткових п'явок є палеарктичні види роду *Erpobdella*, до яких належить типовий вид роду *E. octoculata*. Філогенетичний аналіз дозволив нам виявити, що палеарктичні і неарктичні види *Erpobdella* насправді належать до різних еволюційних ліній (табл. 2), що додатково підтверджується їхніми морфологічними відмінностями, а саме особливостями будови органів статеві і травної систем, кількістю та положенням очей (Davies & Govedich., 2001; Govedich et al., 2019). Більша частина видів роду *Erpobdella* поширена виключно в Палеарктиці, але вид *E. bhatiai* описали з Кашміру (Nesemann et al., 2007), який знаходиться на межі

Палеарктики і Індомалаї. Проведений нами філогенетичний аналіз вказує на приналежність цього виду до еволюційної лінії палеарктичних *Erpobdella* і близьку спорідненість із *E. octoculata* (рис. 44). І хоча регіон, в якому цей вид був знайдений, відносять до Палеарктики, не можна виключати, що цей вид або види споріднені з ним трапляються і на півночі Індомалайській області.

Також було виявлено, що *E. monostriata* має значно ширше поширення, ніж вважалося раніше. Довгий час вважали, що з цей вид живе здебільшого вздовж узбережжя Балтійського та Північного морів (Nesemann & Neubert, 1999), але поодинокі знахідки (Utevsky, Dubov & Prokin, 2015) вказували на можливість ширшого розповсюдження. Нами було виявлено, що *E. monostriata* також живе за Північним полярним колом на Кольському півострові (Хоменко, Утевський та Палатов, 2018), а інші дослідники виявили цей вид в Большеземельській тундрі та біля Архангельську (Baturina, Kaygorodova & Loskutova, 2020; Bolotov et al., 2019). Виявлені особини з Кольського півострова через повністю чорне забарвлення не відрізнялися за зовнішньою морфологією від *E. testacea*, тому з високою імовірністю інформація про поширення останнього на півночі Європи насправді належить *E. monostriata*. Також було показано, що *E. monostriata* живе в Волинській та Харківській областях України (рис. 11; рис. 44). Отже, з огляду на нову інформацію про поширення цього виду ми можемо припустити, що *E. monostriata* поширена в північній частині Європи щонайменше до субарктичних широт і є одним з елементів бореальної фауни разом з іншою п'явкою *Glossiphonia verrucata*. Що ж стосується морфологічно подібної до *E. monostriata* *E. testacea*, то уявлення про її поширення в цьому світлі видається перебільшеним. Слід зауважити, що послідовності *E. testacea* з Німеччини та Словенії мало відрізняються від послідовностей цього виду з Франції (рис. 44), звідки вона була описана, що вказує на широке поширення цього виду щонайменше в межах Європи і на те, що ареали *E. testacea* і *E. monostriata* перетинаються. Також нами було досліджено

особливості статеві системи *E. testacea* і *E. monostriata* (рис. 10; рис. 13), внаслідок чого було виявлено ознаки, які дозволяють впевнено розрізняти ці два види без використання ДНК-баркодингу.

Ще одним дослідженим нами видом, що має дуже широке розповсюдження була *E. vilnensis*. Філогенетичний аналіз та методи делімітації дозволили нам підтвердити, що європейські *E. vilnensis* та популяції морфологічно близьких п'явок з Ямалу і Південного Кавказу насправді належать до трьох різних видів (рис. 44). Що ж стосується поширення *E. vilnensis* в Україні, то нами не було виявлено згадок про знахідки цього виду в Україні на схід від Дніпра та не було знайдено його досліджених природі та музейних колекціях (Хоменко та Утєвський, 2018). Отже, ми можемо припустити, що поширення справжньої *E. vilnensis* обмежене Європою, де вона живе в річках з чистою водою, насиченою киснем та швидкою течією. Також можна припустити, що європейські *E. vilnensis* сформувалася в Альпах та / або Карпатах внаслідок ізоляції, а споріднені із нею види – на Кавказі та Ямалі.

Також за допомогою методів делімітації нами було підтверджено припущення С. Утєвського та співавторів (2015), що вид *E. japonica* насправді є комплексом із щонайменше двох сестринських видів, один з яких поширено на островах Японського архіпелагу, а інший – в Східній та Північно-східній Азії від узбережжя Тихого океану до озера Байкал (рис. 44). Таке поширення частково відповідає ідеї Лукіна про розділення Амуру-Китайсько-Японської зони на Японський і Амуро-китайський райони, а наявність у фауні як типових палеарктичних видів роду *Erpobdella* та більш характерних для Індомалаї п'явок родини Salifidae і Gastrostomobdellidae (Nakano, Ramlah & Hikida, 2012; Nakano et al., 2018) вказує на перехідний характер цієї зони.

Рід *Dina* так само як і рід *Erpobdella* довгий час вважали таксоном голарктичного поширення (Soós, 1963; Davies & Govedich., 2001), однак результати проведеного нами філогенетичного аналізу демонструють, що палеарктичні і неарктичні *Dina* належать до двох різних еволюційних ліній

(табл. 2). Щодо поширеності видів цього роду в Палеарктиці, то раніше через приналежність *E. japonica* до роду *Dina* вважалося, що види цього роду поширені у всій Палеарктикою (Nesemann, 1995b), проте результати нашого філогенетичного аналізу вказують на приналежність цього виду до роду *Erpobdella* (рис. 44). Отже, можна зробити висновок про те, що підтверджене поширення видів роду *Dina* обмежено західною Палеарктикою.

Наше дослідження показало, що *D. punctata*, поширений вздовж узбережжя Середземного моря, насправді є комплексом видів, які утворюють поліфілетичну групу (рис. 46). Було виявлено, що попередньо віднесені до одного виду п'явки, що походять з північних та південних схилів Піренеїв, а також *D. punctata tauchi*, насправді належать до трьох різних видів. Також до окремого виду належить п'явка з острова Корсика, яка є досить подібною за своїм забарвленням до *D. punctata*, що вказує на недостатню вивченість видів роду *Dina* узбережжя Середземного моря.

Ще одним регіоном з багатою та маловивченою фауною видів роду *Dina* можна назвати гірський масив Загрос та верхів'я басейну Тигру та Євфрату. З цього регіону було описано види *D. farsa* та *D. orientalis* (Grosser & Pešić, 2008; Grosser, Nesemann & Pešić, 2011) та з цього регіону походить досліджена нами *Dina* sp. 1 (Darabi-Darestani, Sari & Sarafrazi, 2016; рис. 26). Також на велике різноманіття видів роду *Dina* в цьому регіоні вказує і наявні в Генетичному банку послідовностей, які входять до клади *Dina*, але утворюють окрему від інших видів роду гілку (рис. 46).

П'явки роду *Dina* з Кавказу залишаються мало дослідженими, проте ми можемо стверджувати, що в західній частині Південного Кавказу виявлено високе різноманіття печерних видів роду *Dina*, а зразки *D. lineata* з цього регіону генетично сильно відрізняються від зразків з Європи (рис. 46).

Філогенетичне дослідження виду *D. stschegolewi* виявило, що цей вид насправді належить до однієї еволюційної лінії із видами роду *Trocheta* та має

розгалужену філогенетичну структуру (рис. 49). Також було виявлено, що ареал цього виду значно ширший, ніж вважалося раніше – він насправді простягається від Бельгії до Ірану (рис. 23). Було виявлено, що зразки з Німеччини, Балкан, Причорноморської низовини та Криму належать до однієї філогрупи, тимчасом як п'явки з Кавказу та Ірану – до іншої (рис. 49). Низьке генетичне різноманіття п'явок цього виду в Криму та спорідненість кримських *D. stschegolewi* з п'явками з Добруджі і Причорноморської низовини вказують на ефект засновника або ефект пляшкового горла стосовно цієї популяції. Отже, ми можемо висунути дві альтернативні гіпотези, які могли б пояснити низьке генетичне різноманіття п'явок цього виду в Криму. Перша гіпотеза полягає в тому, що *D. stschegolewi* відносно нещодавно колонізувала Кримський півострів з заходу, а друга – в тому, що в якийсь момент чисельність цього виду в Криму різко знизилась, наприклад через кліматичні зміни. Аргументами на користь першої гіпотези є відсутність *D. stschegolewi* на південному узбережжі Криму, який є санктуарієм для багатьох видів тварин та рослин (Cameron, Pokryszko & Horsák, 2013). Г. Неземан та Е. Нойберт (1999) віднесли цей вид до понтокаспійських, проте традиційно до понтокаспійських видів відносять безхребетних, що виникли в умовах коливань солоності в Чорному, Азовському, Каспійському, Аральському морях та гирлах річок, що до них впадають (Wesselingh et al., 2019), і серед глоткових п'явок під ці критерії однозначно підходить лише *A. esmonti*.

Що ж стосується морфологічно близької до *D. stschegolewi* *D. apathyi*, то результати нашого дослідження вказують на те, що цей вид живе виключно в північній частині Європи, а знахідки цього виду в Австрії з високою ймовірністю належать до *D. stschegolewi*. Можливо *D. apathyi* можна віднести до видів з бореальним поширенням, але наразі даних про його поширення дуже мало. Твердження ж Є. Лукіна (1976) про його середземноморське походження *D. apathyi* слід віднести до виду *D. punctata*.

Завдяки філогенетичному дослідженню видів роду *Trocheta* було виявлено, що вони формують поліфілетичну групу (табл. 2). До цієї групи входять дві еволюційні лінії, представники яких відрізняються за своїм поширенням, але загалом ареали обох цих груп обмежені західною частиною Палеарктики. Лінія справжніх *Trocheta*, представлена єдиним видом, *T. subviridis*, поширеним у Західній Європі (Nesemann & Neubert, 1999). Представники іншої еволюційної лінії видів роду *Trocheta*, яку можна асоціювати з синонімізованим родом *Blanchardia*, здебільшого поширені в Центральній, Східній Європі та на Кавказі, проте фауна глоткових п'явок таких територій як Південна Європа, Близький Схід та Північна Африка є малодослідженою.

Дослідження зразків, ідентифікованих як *T. cylindrica* показало, що ці п'явки хоч і є близькоспорідненими, але сильно відрізняються генетично між собою. За результатами аналізу послідовностей *cox1* зразки *T. cylindrica* з Івано-Франківської (басейн Дністра) та Закарпатської області (басейну Дунаю) сильно відрізняються між собою та від зразка з Генетичного банку, що походить з Австрії (рис. 49). Результати делімітації вказують на те, що зразки з Прикарпаття та Закарпаття можуть належати до різних видів, але для вирішення цього питання даних недостатньо.

Крім *D. stschegolewi*, Г. Неземанном та Е. Нойбертом (1999) до понтокаспійських видів було віднесено і *T. danastrica*. Як було нами з'ясовано (Хоменко та ін., 2019), цей вид є досить поширеним в Причорноморській низовині. Найімовірніше, що цей вид спочатку був поширений лише в Паннонській низовині, яка була захищена від льодовиків Карпатами під час плейстоценових зледенінь (Sworobowicz et al., 2020), і після цього *T. danastrica* колонізувала Причорноморську низовину, яка подібного захисту не мала, на що вказує базальне положення зразка з Угорщини на філогенетичному дереві, побудованому за послідовностями *cox1*.

Також серед трохет нами було виявлено низку вузькоареальних ендеміків, наприклад *T. blanchardi* та *Trocheta* sp. 1, які живуть у Криму та на Західному Кавказі відповідно, де можна відзначити надзвичайно високе різноманіття видів *Trocheta* (рис. 48; рис. 50). Також наявні дані вказують на високе різноманіття *Trocheta* в Анатолії (Khomenko et al., 2020; рис. 48).

Поширення виду *F. quinqueannulata* обмежене басейнами Дніпра, Дону та Кубані (Лукин, 1976), а філогенетичне положення цього виду вказує на його приналежність до реліктової фауни, яка збереглася в цьому регіоні. З високою ймовірністю іншими представниками цієї фауни є такі види риб, як коротковусий пічкур *Gobio brevicirris* Fowler, 1976, пічкур донський світлоплавцевий *Romanogobio tanaiticus* Naseka, 2001 та ялець Данилевського *Leuciscus danilewskii* (Kessler, 1877) (Шандиков и Гончаров, 2008). Також дослідження молюсків цього регіону дозволило виявити, що зразки жабурниці качиної, *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758), з басейну Дону генетично сильно відрізняється від зразків з басейну Дніпра і Волги, які генетично споріднені між собою (Tomilova et al., 2020).

Дослідження п'явок Південного Кавказу та суміжних регіонів (Крим і Анатолія) виявило дуже високе різноманіття видів трохет, а саме щонайменше десять видів п'явок (рис. 48; рис. 50), з яких описаними є лише два, *D. stschegolewi* та *T. blanchardi*. Ці види належать до трьох різних філогруп, представники яких сильно розрізняються між собою морфологічно (рис. 32-35; рис. 54). Варто зазначити, що найбільше видове різноманіття *Trocheta* сконцентровано саме на Західному Кавказі, і за кількістю видів цього роду Західний Кавказ значно домінує над іншими регіонами Палеарктики з більш дослідженою фауною п'явок. Значну роль у такому масовому видоутворенні *Trocheta* можуть мати процеси орогенезу, які спричинили ізоляцію дрібних річкових басейнів, що було показано для кавказьких одноденок (Hrivniak et al., 2020). Також на Західному Кавказі нами було виявлено дуже високе різноманіття серед печерних п'явок роду *Dina*

(рис. 46), причому ці види є спорідненими з балканськими троглобіонтними *D. absoloni*. Це можна пояснити тим, що спільний предок кавказьких та балканських печерних п'явок був широко розповсюдженим видом, але не троглобіонтним а троглофільним. Загалом, подібне високе різноманіття легко пояснити тим, що Південний Кавказ, насамперед його західна частина, є плейстоценовим рефугіумом (Neiber & Hausdorf, 2015; Tarkhnishvili, Gavashelishvili & Mumladze, 2012).

Рис. 54. Філогенетичне дерево причорноморських *Trocheta* та їхнє географічне поширення.

Отримані результати вказують на те, що фауна північної частини Європи значно збіднена внаслідок плейстоценових зледенінь, проте можна виділити низку бореальних ендеміків, наприклад *D. apathy* та *E. monostriata*, які поширені виключно в цій зоні. Крім того, слід виділити збіднену зону Євразійського степу, для якої характерним ендеміком є *F. quinqueannulata*. Ці дві зони частково перекриваються між собою, та збагачуються за рахунок одна одної та інших сусідніх регіонів. Наприклад, *E. monostriata* проникає в північну частину степової зони, з заходу до степової зони проникає *E. vilnensis*, яка є характерною для Карпат, а з південного заходу проникають *T. danastrica* та *D. stschegolewi*, більш характерні для Паннонської низовини, так само до бореальної зони проникає *F. quinqueannulata*.

Отже, з огляду на аналіз отриманих даних ми можемо стверджувати, що роди глоткових п'явок мають локальніше поширення, ніж вважалося раніше. Ареали п'явок роду *Erpobdella* обмежені Палеарктикою. Натомість ареали родів *Dina* і *Trocheta* обмежені Західною Палеарктикою. Поширення монотипного роду *Fadejewobdella* обмежено північно-східною частиною Азово-Чорноморського басейну. Загалом фауна Західної Палеарктики виявляється значно більш різноманітною, ніж фауна Східної Палеарктики. Неарктичні та неотропічні п'явки, яких відносили/відносять до родів *Erpobdella* та *Dina* насправді належать до інших еволюційних ліній. Було виявлено, що Південний Кавказ, насамперед його західна частина, є санктварієм для багатьох видів глоткових п'явок та одним з центрів різноманіття цієї групи разом із Балканами. Фауна глоткових п'явок бореальної зони та зони Євразійського степу є збідненою, проте вони включають окремі ендемічні види та збагачуються завдяки одна одній і окремих елементів карпатської і балканської фаун. Фауна п'явок Криму, зі свого боку, була сформована під значним впливом фауни Кавказу і Балкан. Наявні дані вказують на перспективність дослідження видового різноманіття глоткових п'явок Загроських гір, Анатолії, Апеннінського та Піренейського півостровів а також островів Середземного моря.

Фауни глоткових п'явок Палеарктики та Неарктики були сформовані різними еволюційними лініями. Фауна Західної Палеарктики значно багатша і різноманітніша, ніж фауна Східної Палеарктики через наявність родів *Dina*, *Trocheta*, *Fadejewobdella*.

У межах Західної Палеарктики виділяються центри різноманіття на Кавказі і на Балканах та дві зони зі збідненою фауною – бореальна зона та зона Євразійського степу.

3. ВИСНОВКИ

Цю роботу присвячено таксономічний ревізії п'явок родини Erpobdellidae Палеарктики, а також вивченню закономірностей їхньої морфологічної еволюції та географічного поширення. Викладені висновки щодо еволюційної історії та таксономії глоткових п'явок ґрунтуються на результатах філогенетичного аналізу та делімітації видів. Запропонована філогенетична гіпотеза передбачає існування семи еволюційних ліній ерпобделід, які характеризуються власними морфологічними особливостями і біогеографічними патернами.

1. Філогенетичний аналіз послідовностей мітохондріального гена 12S виявив еволюційну історію глоткових п'явок на рівні родів. Аналіз послідовностей мітохондріального гена *cox1* відображає філогенетичні зв'язки між спорідненими видами та всередині видів. Послідовності гена *cox1* є найкращим маркером для делімітації видів глоткових п'явок.

2. Родина Erpobdellidae підрозділяється на сім основних еволюційних ліній (клад), які відповідають родами *Erpobdella*, *Dina*, *Trocheta*, *Nephelopsis*, *Blanchardia*, *Mooreobdella* та *Fadejewobdella*.

3. Види роду *Trocheta* за результатами філогенетичного аналізу розділилися на дві клади, одна з яких представлена типовим видом роду *T. subviridis*, а друга утворена іншими видами роду включно з *T. cylindrica*, яка є типовим видом роду *Blanchardia*, синонімізованого з *Trocheta*.

4. Філогенетичний аналіз послідовностей ядерних генів 28S і 18S та мітохондріального гена 12S підтверджує виокремлення підродина Erpobdellinae, яка включає палеарктичних *Erpobdella* та неарктичних *Nephelopsis*. Результати аналізу послідовностей 12S вказують на реальність підродина Trochetinae. Підродина Mooreobdellinae є поліфілетичною групою.

5. Серед глоткових п'явок Палеарктики виявлено значну кількість псевдокриптичних видів. Троглобіонтні глоткові п'явки утворюють комплекси

криптичних видів. Види, що мають широке географічне поширення, характеризуються глибокою і складною філогенетичною структурою та значною морфологічною мінливістю, через що їх слід вважати політипними.

6. Різні типи кільчастості виникли в різних еволюційних лініях глоткових п'явок паралельно, тому використовувати лише кількість кілець у соміті для визначення родової приналежності недостатньо. Водночас кільчастість і розташування гонопорів відносно кілець соміта є надійними ознаками для ідентифікації видів.

7. Представники різних еволюційних ліній глоткових п'явок добре розрізняються за особливостями будови статеві системи, переважно формою атріуму та його рогів. Форма атріуму та форма яйцевих мішків мають велике значення для розрізнення видів глоткових п'явок.

8. Фауни глоткових п'явок Палеарктики і Неарктики були сформовані різними еволюційними лініями. Фауна Західної Палеарктики значно багатша і різноманітніша, ніж фауна Східної Палеарктики через наявність родів *Dina*, *Trocheta* і *Fadejewobdella*.

9. У межах Західної Палеарктики виділяються центри різноманіття на Кавказі і на Балканах та дві зони зі збідненою фауною – бореальна зона та зона Євразійського степу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Берг, Л. С. (1934, апрель). Разделение Палеарктики на зоогеографические области на основании распространения пресноводных рыб. В: *Труды первого всесоюзного географического съезда: выпуск 3: секционные заседания* (3 – 10). Л.: Государственное географическое общество.
2. Жадин, В. И. (1960) *Методы гидробиологических исследований*. М.: Высшая школа.
3. Квавадзе, Э. (2002) Аннотированный список пиявок (Hirudinea) Грузии. *Proceedings of the Institute of Zoology* (Tbilisi), 21, 79 – 81.
4. Кобахидзе, Д. Н. (1958). Новый подвид пещерной пиявки из Грузинской ССР (Hirudinea, Herpobdellidae). *Сообщения академии наук Грузинской ССР*, 21 (5), 591 – 592.
5. Ковальов, В., Утєвський, С. (2015, вересень). Перша знахідка глоткової п'явки *Erpobdella vilnensis* (Liskiewicz, 1925) (Hirudinida: Erpobdellidae) у Кіровоградській області В: *Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку* (42 – 43). Шацьк: Львівський національний університет імені Івана Франка.
6. Лукин, Е. И. (1929). Биологические заметки о пиявках бассейна реки Донца. *Труды Харківського товариства дослідників природи*, 52, 33 – 76.
7. Лукин, Е. И. (1953). О составе фауны пиявок озера Севан. *Труды Севанской гидробиологической станции*, 13, 213 – 225.
8. Лукин, Е. И. (1959). К фауне пиявок Северного Кавказа. *Труды зоологического института АН СССР*, 26, 354 – 359.
9. Лукин, Е. И. (1976). *Фауна СССР: Пиявки: Пиявки пресных и солоноватых водоёмов*. Л.: Наука.

10. Лукин, Е. И., Эпштейн, В. М. (1960). Новые сведения о фауне пиявок пресных вод Крыма. *Зоологический журнал*, 39 (6), 1429 – 1432.
11. Лукин, Е. И., Эпштейн, В. М. (1964) географическом распространении двух южных палеарктических видов пиявок – *Batracobdella algira* (Mog.-Tand.) и *Herpobdella stschegolewi* Lukin et Epstein. *Зоологический журнал*, 43 (4), 607 – 608.
12. Лукін, Є. І. (1962). *Фауна України: П'явки*. К.: Видавництво АН УРСР.
13. Мешкова, А. М. (1957). Пиявки озера Севан. *Труды Севанской гидробиологической станции*, 15, 47 – 87.
14. Прендель, А. (1923). Пиявки плавней р. Днестра. *Ежегодник Зоологического музея Российской академии наук*, 24, 3 – 13.
15. Прокопов Г. А. (2018, октябрь). Анализ современного состояния популяций и местообитаний водных и амфибиотических беспозвоночных, занесенных в красную книгу республики Крым. В: *Геоэкология и природопользование: актуальные вопросы науки, практики и образования* (210 – 216). Симферополь: Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского.
16. Роскин, Г. И., Левинсон, Л. Б. (1957). *Микроскопическая техника*. М.: Советская наука.
17. Турбанов, И. С., Палатов, Д. М., Головач, С. И. (2018). Современное состояние биоспелеологии в России и странах бывшего советского союза: обзор пещерной (эндогейной) фауны беспозвоночных. 1. Введение – Crustacea. *Зоологический журнал*, 95 (10), 1136 – 1159.
18. Утевский, С. Ю., Прокопов, Г. А. (2005, апрель). Пиявки (Hirudinea) Крыма. В: *Заповедники Крыма: Заповедное дело, биоразнообразие, экообразование: Материалы III научной конференции: Ч. II. Зоология*

беспозвоночных. Зоология позвоночных. Экология (48 – 53). Симферополь: КРА «Экология и мир».

19. Утєвський, С. Ю. (2014). *Закономірності видоутворення і філогенезу п'явок (Hirudinida)*. К.: Інститут зоології імені І. І. Шмальгаузена НАН України.
20. Утєвський, С. Ю., Владимирська, М. В., Палатов, Д. (2015). Роль екологічних і історичних факторів та міжвидової конкуренції в формуванні ареалів п'явок (Hirudinida). *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Біологія»*, 25, 239 – 247.
21. Федорова, Л. И., Кайгородова И. А., Букин, Ю. С. (2017). Эколого-фаунистические особенности гирудофауны Бухтарминского водохранилища (восточный Казахстан). *Экология*, 2, 126 – 133.
22. Хоменко, А. М., Утєвський, С. Ю. (2018). Рідкісні види п'явок (Hirudinida) України. В: *Інститут зоології імені І.І. Шмальгаузена, Матеріали до 4-го видання Червоної книги України: Тваринний світ: Том 2*. (с. 437 – 440). Чернівці: Друк Арт.
23. Хоменко, А. М., Утєвський, С. Ю., Сон, М. О., Шрестха, М. Ю., Дядичко, В. Г. (2019). Рідкісні види глоткових п'явок (Hirudinea: Erpobdellidae) Причорноморської низовини: ідентифікація і поширення. *Вісник ОНУ. Біологія*, 24 (2), 97 – 109.
24. Хоменко, А., Утєвський, С., Палатов, Д. (2018, листопад). Про меланізм *Erpobdella monostriata* (Hirudinida: Erpobdellidae) в північній частині її ареалу. В: *Тези доповідей Конференції молодих дослідників-зоологів – 2018* (24). К.: Інститут зоології імені І. І. Шмальгаузена НАН України.
25. Шандиков, Г. А., Гончаров, Г. Л. (2008). Редкие виды рыб бассейна Северского Донца Северо-восточной Украины. *Вісник Харківського*

національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія «Біологія», 828 (8), 65 – 90

26. Щёголев, Г. Г. (1938). Внешняя морфология сомита *Trocheta subviridis* forma *danastrica* в связи с некоторыми соображениями о возникновении вторичной кольчатости у пиявок. *Работы лаборатории общей биологии и зоологии 3-го Московского медицинского института*, 1, 59 – 147.
27. Щёголев, Г. Г. (1949). Пиявки (Hirudinea). В: Жадин, В. И. (Ред.) *Жизнь пресных вод СССР* (131 – 145). М.: Издательство академии наук СССР.
28. Эпштейн, В. М., Заливадный, А. В. (1995, октябрь). О систематическом положении и роли в биоценозах пиявки *Trocheta subviridis* f. *danastrica* (Hirudinea, Herpobdellidae). В: *IV съезд паразитоценологов Украины: Материалы съезда* (171 – 172). Харьков: Харьковский зооветеринарный институт.
29. Aberer, A. J., Krompass, D., Stamatakis, A. (2013). Pruning Rogue Taxa Improves Phylogenetic Accuracy: An Efficient Algorithm and Webservice. *Systematic Biology*, 62 (1), 162 – 166.
30. Aldhebiani, A. Y. (2018). Species concept and speciation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25 (3), 437 – 440.
31. Anderson, K., Braoudakis, G., Kvist, S. (2020). Genetic variation, pseudocryptic diversity, and phylogeny of *Erpobdella* (Annelida: Hirudinida: Erpobdelliformes), with emphasis on Canadian species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 143, 106688.
32. Apakupakul, K., Siddall, M. E., & Burreson, E. M. (1999). Higher level relationships of leeches (Annelida: Clitellata: Euhirudinea) based on morphology and gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12 (3), 350 – 359.

33. Baturina, M. A., Kaygorodova, I. A., Loskutova, O. A. (2020). New data on species diversity of Annelida (Oligochaeta, Hirudinea) in the Kharbey lakes system, Bolshezemelskaya tundra (Russia). *Zookeys*, 910, 43 – 78.
34. Bielecki, A. (1978). *Herpobdella (Dina) stschegolewi* Lukin et Epstein, 1960 (Hirudinea, Herpobdellidae) – nowy gatunek dla fauny Polski. *Przegląd Zoologiczny*, 22 (2), 140 – 143.
35. Bielecki, A., Cichocka, J. M., Jeleń, I., Świątek, P., Adamiak-Brud, Ż. (2011) A checklist of leech species from Poland. *Wiadomości Parazytologiczne*, 57 (1), 11 – 20.
36. Birky, C. W., Jr. (2013). Species Detection and Identification in Sexual Organisms Using Population Genetic Theory and DNA. Sequences. *PLoS ONE*, 8 (1), e52544
37. Blanchard, R. (1892). Sur la présence de la *Torocheta subviridis* en Ligurie et description de cette Hirudinée. *Atti della Società Ligustica di Scienze Naturali e Geografiche*, 3 (4), 407 – 435.
38. Blanchard, R. (1893b). Courtes notices sur les Hirudinees, IX.—Variations de la constitution du somite. *Bulletin de la Societe Zoologique de France*, 18, 30 – 35.
39. Blanchard, R. (1894). Hirudinées de l'Italie continentale et insulaire. *Bollettino dei musei di zoologia ed anatomia comparata della R. Università di Torino*. 192 (9): 1 – 84.
40. Bolotov, I. N., Klass, A. L., Kondakov, A. V., Vikhrev, I. V., Bespalaya, Y. V., Gofarov, M. Yu., ... Vinarski, M. V. (2019). Freshwater mussels house a diverse mussel-associated leech assemblage. *Scientific Reports*, 9, 16449.
41. Bromley, H. J. (1994) The freshwater leeches (Annelida Hirudinea) of Israel and adjacent areas. *Israel journal of zoology*, 40 (1), 1 – 24.

42. Cameron, R. A. D., Pokryszko, B. M., Horsák, M. (2013). Forest snail faunas from Crimea (Ukraine), an isolated and incomplete Pleistocene refugium. *Biological Journal of the Linnean Society*, 109 (2), 424 – 433.
43. Chertoprud, E. S., Borisov, R. R., Palatov, D. M., Marinskiy, V. V., Krylenko, S. V., Kovacheva, N. P., Pichkhaia, I. (2020). Aquatic macro-invertebrate fauna of caves of Samegrelo-Zemo Svaneti and Imereti, western Georgia, Caucasus: Troglobiotic and epigeal species complexes. *Zoologicheskii Zhurnal*, 99(3), 275 – 289.
44. Cichocka, J. M. & Bielecki, A. (2015). Phylogenetic utility of the geometric model of the body form in leeches (Clitellata: Hirudinida). *Biologia*, 70 (8), 1078 – 1092.
45. Cichocka, J. M., Bielecki, A., Kur, J., Piłkuła, D., Kilikowska, A., & Biernacka, B. (2015). A new leech species (Hirudinida: Erpobdellidae: Erpobdella) from a cave in the West Azerbaijan province of Iran. *Zootaxa*, 4013 (3), 413 – 427.
46. Cristea V. (1975). *Dina stschegolewi* (Lukin et Epstein, 1960) (Hirudinea – Erpobdellidae) specic nouă pentru fauna României. *Studii și cercetări de biologie*, 27 (2), 85 – 88.
47. Cristea, V., Manoleli, D. (1975) Conspectus des sangsues (Hirudinea) de Roumanie avec une clef de détermination. *Travaux du Muséum d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"*, 18, 23 – 56.
48. Cronquist, A. (1978). Once again, what is a species? In: Knutson, L. V. (Ed.), *Biosystematics in Agriculture* (3 – 20). Montclair, New Jersey: Allenheld Osmin.
49. Darabi-Darestani, K., Sari, A., Sarafrazi, A., (2016) Five new records and an annotated checklist of the leeches (Annelida: Hirudinida) of Iran. *Zootaxa*, 4170 (1), 41 – 70.

50. Davies, R. W., & Govedich, F. R. (2001). Annelida: Euhirudinea and Acanthobdellidae. In Thorp, J. H., & Covich, A. P. (Eds.), *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*, 2nd ed. (465 – 504). San Diego: Academic Press.
51. Eldredge, N. & Cracraft, J. (1980). *Phylogenetic patterns and the evolutionary process: Method and theory in comparative biology*. New York: Columbia University Press.
52. 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 (5), 294 – 299.
53. Fujisawa, T. & Barraclough, T. G. (2013). Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: A revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic Biology*, 62 (5), 707 – 724.
54. Gedroyć, M. (1916). Pijawki (Hirudinea) Polski. *Studium monograficzne II. Rozprawy i Wiadomości z Muzeum im. Dzieduszyckich*, 2 (1-2), 1 – 101.
55. Govedich, F. R., Blinn, D. W., Keim, P., & Davies, R. W. (1998). Phylogenetic relationships of three genera of Erpobdellidae (Hirudinoidea), with a description of a new genus, *Motobdella*, and species, *Motobdella sedonensis*. *Canadian Journal of Zoology*, 76, 2164 – 2171.
56. Govedich, F. R., Moser, W. E., Nakano, T., Bielecki, A., Bain, B. A. & Utevsky, S. (2019). Subclass Hirudinida. In Rogers, D. C. & Thorp, J. H. (Eds.), *Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates (4th ed.): Vol. IV. Keys to Palaearctic Fauna* (491 – 507). London: Academic Press.

57. Grosser, C. & Eiseler, B. (2008): Beschreibung von *Dina pseudotrocheta* sp. nov. (Hirudinea: Erpobdellidae) aus dem deutsch-belgischen Grenzgebiet. *Lauterbornia*, 65, 27 – 41.
58. Grosser, C. & Keitel, M. (2001). Erstnachweis von *Trocheta pseudodina* (Hirudinea: Erpobdellidae) in Sachsen. *Lauterbornia*, 40, 67 – 69.
59. Grosser, C. & Pešić, V. (2008). *Dina farsa* sp. nov. (Annelida, Hirudinea: Erpobdellidae) – eine neue Egelart aus dem Iran. *Lauterbornia*, 65, 15 – 26.
60. Grosser, C. (1999). Erstnachweis von *Trocheta cylindrica* Örley 1886 (Hirudinea: Erpobdellidae) im Elbegebiet Sachsen-Anhalts. *Lauterbornia*, 36, 29 – 32.
61. Grosser, C. (2000). Beschreibung von *Trocheta haskonis* n. sp. (Hirudinea, Erpobdellidae) aus Sachsen-Anhalt. *Lauterbornia*, 38, 29 – 36.
62. Grosser, C. (2003). Erstnachweis von *Dina apathyi* (Hirudinea: Erpobdellidae) in Deutschland. *Lauterbornia*, 46, 59 – 63.
63. Grosser, C. (2013). First record of *Trocheta haskonis* Grosser, 2000 (Hirudinea: Erpobdellidae) in Serbia. *Lauterbornia*, 76, 111 – 113.
64. Grosser, C. (2015). Differentiation of some similar species of the subfamily Trochetinae (Hirudinida: Erpobdellidae). *Ecologica Montenegrina*, 2 (1), 29 – 41.
65. Grosser, C. (2019). Erstnachweis von *Trocheta pseudodina* (Hirudinida: Erpobdellidae) in Thüringen. *Lauterbornia*, 86, 5 – 9.
66. Grosser, C., & Epshtein, V. M. (2009). Zum Artstatus des Egels *Trocheta danastrica* Stschegolew, 1938 (Annelida, Hirudinea: Erpobdellidae). *Lauterbornia*, 67, 77 – 91.

67. Grosser, C., Hellwig, G. & Rössle, M. (2011). Erstnachweis von *Dina pseudotrocheta* (Hirudinea: Erpobdellidae) in Sachsen. *Lauterbornia*, 72, 17 – 25.
68. Grosser, C., Hellwig, G. & Rössle, M. (2011): Erstnachweis von *Dina pseudotrocheta* (Hirudinea: Erpobdellidae) in Sachsen. *Lauterbornia*, 72, 17-25
69. Grosser, C., Nesemann, H. & Pešić, V. (2011). *Dina orientalis* sp. nov. —an overlooked new leech (Annelida: Hirudinida: Erpobdellidae) species from the Near and Middle East. *Zootaxa*, 2746, 20 – 24.
70. Grosser, C., Nesemann, H., Pešić V. (2011) *Dina orientalis* sp. nov. — an overlooked new leech (Annelida: Hirudinea: Erpobdellidae) species from the Near and Middle East. *Zootaxa*, 2746, 20 – 24.
71. Grosser, C., Pešić, V. (2006) On the diversity of Iranian leeches (Annelida: Hirudinea). *Archives of Biological Sciences*, 58 (1), 21 – 24.
72. Grosser, C., Šukalo, G. & Pešić, V. (2018). Monster from the Vault: a new finding of one of the largest European leech *Trocheta haskonis* Grosser, 2000 from Bosnia and Herzegovina. *Ecologica Montenegrina*, 19, 69 – 72.
73. Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95 – 98.
74. Harding, W. A. & Moore, J. (1927). *The fauna of British India including Ceylon and Burma: Hirudinea*. London: Taylor & Francis
75. Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L. & deWaard J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270 (1512), 313 – 321.

76. Hrivniak, L., Sroka, P., Bojková, J., Godunko, R. J., Soldán, T., Staniczek, A. H., (2020) The impact of Miocene orogeny for the diversification of Caucasian *Epeorus* (*Caucasiron*) mayflies (Ephemeroptera: Heptageniidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 146, 106735.
77. Illies, J. (Ed.) (1978). *Limnofauna Europaea. A Checklist of the Animals Inhabiting European Inland Waters, with an Account of their Distribution and Ecology. 2nd Edition*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
78. Isaac, N. J. B., Mallet, J., & Mace, G. M. (2004). Taxonomic inflation: its influence on macroecology and conservation. *Trends In Ecology And Evolution*, 19 (9), 464 – 469.
79. Jiménez-Armenta, J. & Ocegüera-Figueroa, A. (2019). Leeches from Mexico City, remnants of the ancient lake. *Mitochondrial DNA Part A*, 30 (4), 632 – 642.
80. Johansson, L. (1927). Hirudineen aus dem nördlichen und östlichen Spanien, gesammelt von Dr. F. Haas in den Jahren 1914–1919. *Abhandlungen der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft*, 39, 217 – 231.
81. Jueg U. & Grosser C. (2017). *Erpobdellopsis graacki* n. gen., n. sp. – a peculiar leech from Spain (Annelida, Hirudinida: Erpobdellidae). *Lauterbornia*, 84, 69 – 87.
82. Jueg, U. (2010). Beitrag zur Hirudinea-Fauna von Bulgarien – Belege im Museum für Naturkunde Berlin, eigene Funde und eine vorläufige Checkliste der Hirudinea in Bulgarien. *Lauterbornia*, 70, 19 – 27.
83. Jueg, U., Grosser, C. & Pešić, V. (2013). Bemerkungen zur Egelfauna (Hirudinea) von Kirgistan. *Lauterbornia*, 76, 103 – 109.
84. Jukes, T. H. & Cantor, C. R. (1969). Evolution of protein molecules. In Munro H. N. (Ed.) *Mammalian Protein Metabolism* (21 – 132). New York: Academic Press.

85. 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, 587 – 589.
86. Katoh, K., Rozewicki, J., Yamada, K. D. (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Brief Bioinform*, 20 (4), 1160 – 1166.
87. Kaygorodova, I. A., Mandzyak, N., Petryaeva, E., & Pronin, N. M. (2014). Genetic diversity of freshwater leeches in Lake Gusinoe (Eastern Siberia, Russia). *The Scientific World Journal*, 2014, 619127.
88. Kerovec, M., Kučinić, M. & Jalžic, B. (1999). *Croatobranhus mestrovi* sp. n. - predstavnik nove endemske podzemne vrste pijavica. *Spelolog*, 44/45, 35 – 36.
89. Khomenko, A., Utevsky, S., Palatov, D., Huseynov, M., Farzali, Sh., Dadashova, L., Darabi-Darestani, K., Utevsky, A. (2018). On the distribution of *Dina stschegolewi* (Hirudinida: Erpobdellidae) in the South Caucasus. *Zoology in the Middle East*, 64 (1), 88 – 90.
90. Khomenko, A., Utevsky, S., Utevsky, A., Trontelj, P. (2020). Unrecognized diversity of *Trocheta* species (Hirudinea: Erpobdellidae): resolving a century-old taxonomic problem in Crimean leeches. *Systematics and Biodiversity*, 18 (2), 129 – 141.
91. 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.
92. Kimura, M. (1981). Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78 (1), 454 – 458.

93. Klemm D. J. (1982). *Leeches (Annelida: Hirudinea) of North America*. Cincinnati: United States Environmental Protection Agency, Environmental and Support Laboratory.
94. Koperski, P. (2010). Urban environments as habitats for rare aquatic species: the case of leeches (Euhirudinea, Clitellata) in Warsaw freshwaters. *Limnologia*, 40, 233 – 240.
95. Koperski, P., Milanowski, R., Krzyk, A. (2011). Searching for cryptic species in *Erpobdella octoculata* (L.) (Hirudinea: Clitellata): discordance between the results of genetic analysis and cross-breeding experiments. *Contributions to Zoology*, 80 (1), 85 – 94.
96. Köppen, W. (1936). *Handbuch der Klimatologie: Das geographische System der Klimate*. Berlin: Verlag von Gebrüder Borntraeger.
97. Košel, V. (2004). Taxonomical position of two species of *Trocheta* (Hirudinea) described from Central Europe. *Biologia*, 59 (15), 23 – 26.
98. Kowalevski, A. (1896). Etude sur l'anatomie de l'*Acanthobdella peledina* Grube et l'*Archaeobdella esmontii*. (Communication préliminaire.), *Bulletin de l'Académie Impériale des Sciences*, 1896, 5 (1), 1 – 4.
99. 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.
100. Kutschera, U. (2010). A new leech species from Southern Germany, *Trocheta intermedia* nov. sp. (Hirudinea: Erpobdellidae). *Lauterbornia*, 70, 1 – 9.
101. Lehner, B., & Döll P., (2004). Development and validation of a global database of lakes, reservoirs and wetlands. *Journal of Hydrology*, 296, 1 – 22.
102. Lehner, B., Verdin, K. & Jarvis A. (2008). New global hydrography derived from spaceborne elevation data. *Eos*, 89 (10), 93 – 104.

103. Madill, J., & Hovingh, P., (2007). Freshwater leech (Annelida: Hirudinida) distribution in the Canadian Province of Newfoundland and Labrador and adjacent regions: check-list, new records, new pigmentation forms, and Pleistocene refugia. *Zootaxa*, 1657, 1 – 21.
104. Mann, K. H. (1952) A revision of the British leeches of the family Erpobdellidae, with a description of *Dina lineata* (O. F. Müller, 1774), a leech new to British fauna. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 122 (2), 395 – 406.
105. Mann, K. H. (1959). On *Trocheta bykowskii* Gedroyć, 1913, a leech new to the British fauna, with notes on the taxonomy and ecology of other Erpobdellidae. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 132, 369 – 379.
106. Mason, J. (1976). Studies on the Freshwater and Terrestrial Leeches of New Zealand. 2. Orders Gnathobdelliformes and Pharyngobdelliformes. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 6 (3), 255 – 276.
107. Minelli, A., Sket, B. & de Jong, Y. (2014). Fauna Europaea: Annelida – Hirudinea, incl. Acanthobdellea and Branchiobdellea. *Biodiversity Data Journal*, 2, e4015.
108. Minh, B. Q., Nguyen, M. A. T. & von Haeseler, A. (2013). Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Molecular Biology and Evolution*, 30 (5), 1188 – 1195.
109. Nakano, T., Eto, K., Nishikawa, K., Hossman, M. Y., & Jeratthitikul, E. (2018). Systematic revision of the Southeast Asian macrophagous leeches, with the description of two new gastrostomobdellid species (Hirudinida: Arhynchobdellida: Erpobdelliformes). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 184 (1), 1 – 30.
110. Nakano, T., Ramlah, Z., & Hikida, T. (2012). Phylogenetic position of gastrostomobdellid leeches (Hirudinida, Arhynchobdellida, Erpobdelliformes)

and a new family for the genus *Orobdella*. *Zoologica Scripta*, 41 (2), 177 – 185.

111. Neiber, M. T. & Hausdorf, B. (2015). Phylogeography of the land snail genus *Circassina* (Gastropoda: Hygromiidae) implies multiple Pleistocene refugia in the western Caucasus region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 93, 129 – 142.
112. Nesemann, H. & Sharma, G. (2012). Description of a new species of the leech family Salifidae (*Odontobdella krishna* sp. nov.) from the River Ganga at Patna, Bihar (India). *Records of the Zoological Survey of India*, 111 (3), 1 – 7.
113. Nesemann, H. (1993a). Identification key to the Hungarian leeches of the subfamily Trochetinae Pawlowski, 1954, with notes on systematics of the subfamily Erpobdellinae Blanchard, 1894 (Hirudinea). *Annales historico-naturales Musei Nationalis Hungarici*, 85, 19 – 35.
114. Nesemann, H. (1993b). Bestimmungsschlüssel für mitteleuropäische Egel der Familie Erpobdellidae Blanchard 1894 (Hirudinea). *Lauterbornia*, 13, 37 – 60.
115. Nesemann, H. (1995a). Beschreibung von *Dina punctata mauchi* n. ssp. (Hirudinea, Erpobdellidae) aus Südbayern. *Lauterbornia*, 21, 79 – 84.
116. Nesemann, H. (1995b). On the morphology and taxonomy of the asian leeches (Hirudinea: Erpobdellidae, Salifidae). *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 41 (3), 165 – 182.
117. Nesemann, H. (1997). *Egel und Kriebsegel (Clitellata: Hirudinea, Branchiobdellida) Österreichs*. Rankweil: Erste Vorarlberger Malakologische Gesellschaft.
118. Nesemann, H., & Neubert, E. (1994). New data to the leeches of the subfamily Trochetinae (Hirudinea, Erpobdellidae). *Miscellanea zoologica hungarica*, 9, 19 – 28.

119. Nesemann, H., Neubert, E. (1999) Annelida, Clitellata: Branchiobdellida, Acanthobdellea, Hirudinida. In Schwoerbel, J.& Zwick, P. (Eds.) *Süßwasserfauna von Mitteleuropa* (135 – 140) Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
120. Nesemann, H., Sharma, S., Sharma, G., Khanal, S. N., Pradhan, B., Shah, D. N., Tachamo, R. D. (2007). *Aquatic invertebrates of the Ganga river system: Volume I – Mollusca, Annelida, Crustacea (in part)*. Kathmandu: Chandi Press.
121. Neubert, E. & Nesemann, H. (1995). Contribution to the knowledge of the genus *Dina* Blanchard, 1892 (Hirudinea : Erpobdellidae). *Hydrobiologia*, 315, 89 – 94.
122. Ocegüera-Figueroa, A., León-Règagnon, V., & Siddall, M. E. (2005). Phylogeny and revision of Erpobdelliformes (Annelida, Arhynchobdellida) from Mexico based on nuclear and mitochondrial gene sequences. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 76 (2), 191 – 198.
123. 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.
124. Pawlowski, L. K. (1936) Über äussere Morphologie und systematische Stellung des Egels *Blanchardia bykowskii* (Gerdoyæ), nebst Bemerkungen über einige Arten der Gattung *Herpobdella* Blainv. *Annales Musei Zoologici Polonici*, 11 (19), 347 – 358.
125. Pawlowski, L. K. (1955). Révision des genres *Erpobdella* de Blainville et *Dina* R. Blanchard (Hirudinea). *Bulletin de la Société des Sciences et des Lettres de Lodz Classe III de Sciences Mathématiques et Naturelles*, 6, 1 – 15.
126. Pawlowski, L. K. (1968). *Katalog fauny Polski, XI, 3. Pijawki (Hirudinea)*. Warszawa: Państwowe Wydawnictwo Naukowe.

127. Pfeiffer, I., Brenig, B., & Kutschera, U. (2005). Molecular phylogeny of selected predaceous leeches with reference to the evolution of body size and terrestrialism. *Theory in Biosciences*, 124 (1), 55 – 64.
128. Posada, D. (2003). Using Modeltest and PAUP* to select a model of nucleotide substitution. In: Baxevanis, A. D., Davison, D. B., Page, R. D. M., Petsko, G. A., Stein, L. D., Stormo, G. D., (Eds.), *Current protocols in bioinformatics* (p. 6.5.1 – 6.5.14). New York: John Wiley & Sons.
129. Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25 (7), 1253 – 1256.
130. Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., Achaz, G. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21 (8), 1864 – 1877.
131. Salimi, B., Mobedi, I., Haghighi-Khiabani, A. & Soltani, M. (2011) On the diversity of leeches (Annelida: Hirudina) in the freshwaters of Kurdistan province, Iran. *Archive in Biological Sciences*, 63 (3), 837 – 840.
132. Sandner, H. (1951). Badania nad fauną pijawek. *Acta Zoologica et Oecologica, Universitatis Lodziensis*, 3 (16), 1 – 50.
133. Sawyer, R. T. (1986). *Leech biology and behaviour*. Oxford: Oxford University Press
134. Schenková J., Sychra J., Košel V., Kubová N., Horecký J. (2009). Freshwater leeches (Annelida: Clitellata: Hirudinida) of the Czech Republic (Central Europe): check-list, new records, and remarks on species distributions. *Zootaxa*, 2227, 32 – 52
135. Sciacchitano, I. (1958). Irudinei di Turchia. *Monitore Zoologico Italiano*, 66, 10–17.

136. Siddall, M. E. (2002). Phylogeny of the leech family Erpobdellidae (Hirudinida: Oligochaeta). *Invertebrate Systematics*, 16, 1 – 6.
137. Simpson, G. G. (1951). The species concept. *Evolution*, 5, 285 – 298.
138. Sket, B. (1968). *K poznavanju faune pijavk (Hirudinea) v Jugoslaviji*. Ljubljana: Slovenska akademija znanosti in umetnosti.
139. Sket, B. (1989). Intralacustrine speciation in the genus *Dina* (Hirudinea, Erpobdellidae) in Lake Ohrid (Yugoslavia). *Hydrobiologia*, 182, 49 – 58.
140. Sket, B., & Trontelj, P. (2008). Global diversity of leeches (Hirudinea) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 129 – 137.
141. Sket, B., Dovc, P., Jalzid, B., Kerovec, M., Kucinid, M., Trontelj P. (2001). A cave leech (Hirudinea, Erpobdellidae) from Croatia with unique morphological features. *Zoologica Scripta*, 30, 223 – 229.
142. Sokal, R. R., & Crovello, T. J. (1970). The biological species concept: A critical evaluation. *American Naturalist*, 104, 127 – 153.
143. Soós, Á. (1963). Identification key to the species of the genus *Dina* R. Blanchard, 1892 (emend. Mann, 1952) (Hirudinea Erpobdellidae). *Acta Universitatis Szegediensis, Acta biologica*, 9, 253 – 261.
144. Sworobowicz, L., Mamos, T., Grabowski, M., Wysocka, A. (2020). Lasting through the ice age: The role of the proglacial refugia in the maintenance of genetic diversity, population growth, and high dispersal rate in a widespread freshwater crustacean. *Freshwater Biology*, 65 (6), 1028-1046.
145. Tamura, K. & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10, 512 – 526.

146. Tarkhnishvili, D., Gavashelishvili, A. & Mumladze, L. (2012). Palaeoclimatic models help to understand current distribution of Caucasian forest species. *Biological Journal of the Linnean Society*, 105, 231 – 248.
147. Tavaré, S. (1986). Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. In: Miura, R. M. (Ed.), *Lectures on Mathematics in the Life Sciences, Volume 17* (57 – 86). Providence, Rhode Island: American Mathematical Society.
148. Tessler, M., Siddall, M. E., & Ocegüera-Figueroa, A. (2018). Leeches from Chiapas, Mexico, with a new species of *Erpobdella* (Hirudinida: erpobdellidae). *American Museum Novitates*, 3895, 1 – 15.
149. Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22, (22), 4673 – 4680.
150. 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. (2020). Evidence for Plio-Pleistocene duck mussel refugia in the Azov Sea river basins. *Diversity*, 12 (3), 118.
151. Trajanovski, S., Albrecht, C., Schreiber, K., Schultheiß, R., Stadler, T., Benke, M., & Wilke, T. (2010). Testing the spatial and temporal framework of speciation in an ancient lake species flock: the leech genus *Dina* (Hirudinea: Erpobdellidae) in Lake Ohrid. *Biogeosciences*, 7 (11), 3387 – 3402.
152. Trifinopoulos, J., Nguyen, L.-T., von Haeseler, A., Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Research*, 44 (1), W232 – W235.

153. Trontelj, P. & Sket, B. (2000). Molecular re-assessment of some phylogenetic, taxonomic and biogeographic relationships between the leech genera *Dina* and *Trocheta* (Hirudinea: Erpobdellidae). *Hydrobiologia*, 438, 227 – 235.
154. Trontelj, P. & Utevsky, S. (2005). Celebrity with a neglected taxonomy: molecular systematics of the medicinal leech (genus *Hirudo*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 34, 616 – 624.
155. Trontelj, P., Sket, B., Dovč, P., Steinbrück, G. (1996). Phylogenetic relationships in European erpobdellid leeches (Hirudinea: Erpobdellidae) inferred from restriction-site data of the 18S ribosomal gene and ITS2 region. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 34, 85 – 93.
156. Utevsky, S. (2015). Occurrence of *Fadejewobdella quinqueannulata* (Hirudinida, Erpobdellidae) in the Sumy Region of Ukraine. *Vestnik zoologii*, 49 (3), 285.
157. Utevsky, S. Y., Son, M. O., Dyadichko, V. G., Kaygorodova, I. A. (2012). New information on the geographical distribution of *Erpobdella vilnensis* (Liskiewicz, 1925) (Hirudinida, Erpobdellidae) in Ukraine. *Lauterbornia*, 75, 75 – 78.
158. Utevsky, S., Dubov, P. G., & Prokin, A. A. (2015). First Russian record of *Erpobdella monostriata* (Hirudinida: Erpobdellidae): DNA barcoding and geographical distribution. *Spixiana*, 38(2), 161 – 168.
159. van Haaren, T., Hop, P., Soes, M. & Tempelman, D. (2004). The freshwater leeches (Hirudinea) of The Netherlands. *Lauterbornia*, 52, 113 – 131.
160. 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.

161. Wesselingh, F. P., Neubauer, T. A., Anistratenko, V. V., Vinarski, M. V., Yanina, T., ter Poorten, ... Wilke, T. (2019). Mollusc species from the Pontocaspian region – an expert opinion list. *ZooKeys*, 827, 31 – 124.
162. Zaknek, V., Sket, B., & Trontelj, P. (2007). Phylogeny of the cave shrimp *Troglocaris*: Evidence of a young connection between Balkans and Caucasus. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42, 223 – 235.
163. Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P. & Stamatakis, A. (2013). A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29, 2869 – 2876.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК 1: Досліджені зразки п'явок

Erpobdella octoculata

- Річка Уди, Харківська область, Україна. 1 екз. Код послідовностей – U29. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Erpobdella testacea

- Ріка Глінщиця, м. Любляна, Словенія. 1 екз. Код послідовностей – Slo. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Erpobdella monostriata

- Озеро Острів'янське, с. Острів'я, Волинська область, Україна. 2 екз. Код послідовностей – Ost. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Озеро Біле, с. Задонецьке, Харківська область, Україна. 1 екз. Код послідовностей – Bel. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Ріка Хлібна, Терський район, Мурманська область, Росія. 66°36'04.60"N 34°54'40.10"E 04.08.2015. 2 екз. Код послідовностей – Kol. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Erpobdella vilnensis

- Ріка Південний Буг, с. Куріпчине, Миколаївська область, Україна. 47°59'33.75"N 31°00'09.63"E 27.07.2011. 11 екз. Код послідовностей – E2 (KP300763). Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Ріка Південний Буг, с. Куріпчине, Миколаївська область, Україна. 47°59'33.75"N 31°00'09.63"E 07.2011. 2 екз. Код послідовностей – E2 (KP300763). Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Джерело, що впадає в ріку Південний Буг, Савранський район, Одеська область, Україна. 48°08'13.00"N 30°14'10.80"E 08.09.2010. 2 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Калюжі поблизу ріки Тереблї, с. Колочава, Міжгірський район, Закарпатська область, Україна. 48°25'04.50"N 23°41'17.10"E 13.07.2009. 6 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Річка поблизу озера Синевир, Закарпатська область, Україна. 48°37'00.10"N 23°41'21.00"E 16.07.2009. 2 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Озеро Берестувате (Чорне), с. Богданівка, Кіровоградська область, Україна. 48°46'24.10"N 32°32'36.10"E 11.04.2015. 2 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Ріка Немія, м. Могилів Подільський, Вінницька область, Україна. 48°27'56.00"N 27°46'55.30"E 05.2015. 7 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Ріка Тополниця, с. Душанці, Софійська область, Болгарія. 42°41'52.77"N 24°20'42.98"E 05.06.2011. 3 екз. Код послідовностей – U17. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Erpobdella aff. vilnensis

- Півострів Ямал, Ямало-Ненецький автономний округ, Росія. 2 екз. Код послідовностей – U8. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Erpobdella octoculata sevanica

- Озеро на північ від с. Цовагюх, марз Гегаркунік, Вірменія. 40°38'51.70"N 44°58'37.80"E 18.08.2011. 3 екз. Код послідовностей – U18. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Erpobdella aff. japonica

- Озеро Леб'яже, Приморський край, Росія. 1 екз. Код послідовностей – U7. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Озеро Ханка, Приморський край, Росія. 5 екз. Код послідовностей – U26. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Болото біля озера Ханка, Приморський край, Росія. 6 екз. Код послідовностей – U27. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Селище Лівадія, Приморський край, Росія. 3 екз. Код послідовностей – U1. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Річка Спасівка, Приморський край, Росія. 4 екз. Код послідовностей – U5. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

- Болото біля озера Ханка, Приморський край, Росія. 1 екз. Код послідовностей – U2. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Ріка Ангара, Іркутська область, Росія. 1 екз. Код послідовностей – E6. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Озеро Байкал, Іркутська область, Росія. 1 екз. Код послідовностей – U6. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Озеро Ханка, Приморський край, Росія. 1 екз. Код послідовностей – U3. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Озеро Второе біля м. Находка, Приморський край, Росія. 3 екз. Код послідовностей – U25. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Болото біля озера Ханка, Приморський край, Росія. 1 екз. Код послідовностей – U28. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Річка Спасівка, Приморський край, Росія. 2 екз. Код послідовностей – U4. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Erpobdella bhatiai

- Джамму та Кашмір, Індія. 2 екз. Код послідовностей – *Erpobdella bhatiai*. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Dina lineata

- Ріка Аракс, с. Бахрамтепе, Імішлинський район, Азербайджан. 39°44'21.90"N 47°58'18.60"E 16.08.2018. 1 екз. Код послідовностей – Araks. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Dina apathyi

- Ріка Вісла, м. Краків, Польща. 2 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Dina punctata

- Піреней, південна Франція. 3 екз. Код послідовностей – F1. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Dina cf. ratschaensis

- Печера Матена біля с. Балда, мхаре Самегрело-Земо-Сванеті, Грузія. 42°28'35.30"N 42°23'28.40"E 30.01.2017. 1 екз. Код послідовностей – CL1. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Карстові джерела в долині річки Бзіб, АР Абхазія, Грузія. 43°21'42.80"N 40°26'33.90"E 08.06.2015. 1 екз. Код послідовностей – D9. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Печера Верьовкіна, АР Абхазія, Грузія. 1 екз. Код послідовностей – T19. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Річка в печері Матена, мхаре Самегрело-Земо-Сванеті, Грузія. 41°38'42.00"N 42°51'26.90"E 17.08.2016. 1 екз. Код послідовностей – D8. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Печера Крубера, АР Абхазія, Грузія. 3 екз. Код послідовностей – CL5. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна; кафедра зоології Люблянського університету.

Dina stschegolewi

- Струмок у с. Арківан, Масаллінський район, Азербайджан. 39°00'45.70"N 48°39'00.40"E 03.04.2011. 4 екз. Код послідовностей – E11. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Річка Корчай біля с. Серчувар, Масаллінський район, Азербайджан. 38°56'50.40"N 48°46'06.80"E 23.05.2017. 2 екз. Код послідовностей – AZ3. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Річка Корчай біля с. Серчувар, Масаллінський район, Азербайджан. 38°56'50.40"N 48°46'06.80"E 19.08.2017. 2 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок поблизу м. Огуз, Огузький район, Азербайджан. 41°05'44.60"N 47°28'12.20"E 17.08.2018. 5 екз. Код послідовностей – D1, D3. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок в заплаві ріки Чіаурі, мхаре Кахетія, Грузія. 41°51'27.10"N 46°10'52.70"E 11 екз. Код послідовностей – GR1. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок, що впадає до ріки Чіаурі, мхаре Кахетія, Грузія. 41°51'43.50"N 46°10'52.00"E 3 екз. Код послідовностей – GR2. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

- Ріка Псирцха, Ахалі-Атоні, АР Абхазія, Грузія. 43°05'32.00"N 40°48'51.30"E 2 екз. Код послідовностей – D2, D6. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок, що впадає в Чорне море на пляжі в Ахалі-Атоні, АР Абхазія, Грузія. 43°05'01.30"N 40°49'04.20"E 1 екз. Код послідовностей – D5. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок біля у м. Симферопіль, АР Крим, Україна 44°56'12.20"N 34°07'59.80"E 10 екз. Код послідовностей – L13-15. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Злиття річок Салгир та Аян біля с. Зарічне, АР Крим, Україна. 44°51'25.40"N 34°16'11.20"E 2 екз. Код послідовностей – DS1, DS2. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Озеро Біле поблизу м. Біляївка, Одеська область, Україна. 46°26'53.10"N 30°11'11.50"E 1 екз. Код послідовностей – S3. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Ріка Дністер, с. Маяки, Одеська область, Україна. 46°24'42.70"N 30°15'38.30"E 1 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Dina sp. 1

- Околиці м. Нурабад, провінція Лурестан, Іран. 30°06'37.70"N 51°31'36.40"E 1 екз. Код послідовностей – *Dina* sp. 1. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Dina sp. 2

- Острів Корсика, Франція. 4 екз. Код послідовностей – *Dina* sp. 2. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Trocheta subviridis

- Ріка Луара, центральна Франція. 1 екз. Код послідовностей – T12. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Trocheta cylindrica

- Верхів'я Дністра на межі Львівської та Івано-Франківської області, Україна. 29.04.2008. 2 екз. Код послідовностей – S1 (MT013046). Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Джерело біля м. Сколе, Львівська область, Україна. 2 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок Квасовець, Закарпатська область, Україна. 48°24'24.60"N 23°41'39.10"E 31.07.2018. 2 екз. Код послідовностей – Zkr. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Trocheta danastrica

- Дельта Дунаю, околиці м. Вилкове, Одеська область, Україна. 45°24'46.00"N 29°36'27.30"E 09.06.2009. 2 екз. Код послідовностей – S2. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Ріка Дністер, с. Маяки, Одеська область, Україна. 46°24'42.70"N 30°15'38.30"E 25.06.2010. 1 екз. Код послідовностей – E4. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Ріка Дністер, околиці с. Маяки, Одеська область, Україна. 46°24'38.20"N 30°15'46.20"E 25.06.2010. 1 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Протока біля с. Стара Збур'ївка, Херсонська область, Україна. 46°27'43.90"N 32°21'27.10"E 06.2012. 3 екз. Код послідовностей – E3. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Протока біля с. Стара Збур'ївка, Херсонська область, Україна. 46°27'43.90"N 32°21'27.10"E 30.04.2017. 5 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Острів Білогрудий, околиці м. Гола Пристань, Херсонська область, Україна. 46°32'59.40"N 32°31'58.60"E 01.05.2017. 1 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Річка Раба біля с. Ікєрвар, повіт Вас, Угорщина 23.07.1992. 1 екз. Код послідовностей – HU_Tdan. Місце зберігання – кафедра зоології Люблянського університету.

Trocheta blanchardi

- Ріка Дерекойка в м. Ялта, АР Крим, Україна. 44°30'17.70"N 34°10'07.30"E 23.08.2006. 5 екз. Код послідовностей – L16 (MT013037), L17 (MT013038), L18 (MT013040), S41 (MT01304). Місце зберігання – Музей природи ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Ріка Учєн-су в м. Ялта, АР Крим, Україна. 44°29'22.70"N 34°08'37.60"E 23.08.2006. 3 екз. Місце зберігання – Музей природи ХНУ імені В.Н. Каразіна.

- АР Крим, Україна, Можливо ріка Чорна. 1 екз. Місце зберігання – Музей природи ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Ріка Дерекойка в м. Ялта, АР Крим, Україна. 2004. 1 екз. Код послідовностей – ТВ (MT013039). Місце зберігання – Національний науково-природничий музей НАН України.
- Ріка Дерекойка в м. Ялта, АР Крим, Україна. 44°30'17.70"N 34°10'07.30"E 2 екз. Місце зберігання – Зоологічний музей Гамбузького університету.

Trocheta sp. 1

- Струмок, що впадає в річку Шепсі, Краснодарський край, Росія. 44°04'25.60"N 39°11'43.80"E 19.04.2011. 2 екз. Код послідовностей – 302K. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Тимчасовий струмок в долині річки Хаджик, Краснодарський край, Росія. 43°48'18.10"N 39°30'41.80"E 18.04.2011. 5 екз. Код послідовностей – E5, E12. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Невеликий, можливо тимчасовий, струмок, що впадає в ріку Туапсе, Краснодарський край, Росія. 44°08'20.70"N 39°08'56.50"E 21.04.2011. 2 екз. Код послідовностей – 305K. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Тимчасовий струмок в долині річки Хаджик, Краснодарський край, Росія. 43°48'18.10"N 39°30'41.80"E 07.01.2020. 7 екз. Код послідовностей – K670. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

Інші *Trocheta*

- Струмок на хребті Карагуз поблизу г. Гольгверши, провінція Кастамону, Туреччина. 17.04.2010. 1 екз. Код послідовностей – 24Tur. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок біля с. Чаглайан, провінція Різе, Туреччина. 1 екз. Код послідовностей – 292Tur. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Калюжа в заплаві ріки Кінтріши під з/д мостом, АР Аджарія, Грузія 41°48'13.20"N 41°46'35.90"E 29.01.2013. 1 екз. Код послідовностей – 15Gr. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок в ботанічному саду, м. Батумі, АР Аджарія, Грузія 41°42'06.40"N 41°43'05.90"E 04.02.2013. 1 екз. Код послідовностей – 45Gr. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Північна частина озера Абрау, Краснодарський край, Росія. 44°42'32.50"N 37°35'39.90"E 18.04.2018. 10 екз. Код послідовностей – 547K. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Наскальна ванна в печері Голова Отапа, АР Абхазія, Грузія. 42°55'19.30"N 41°32'19.60"E 03.02.2015. 2 екз. Код послідовностей – 446K. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок в Середній Шокуранській печері, АР Абхазія, Грузія. 43°01'46.60"N 41°19'53.90"E 02.02.2018. 6 екз. Код послідовностей – 516K. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок, можливо тимчасовий, в невеликому вярку біля входу до печери Голова Отапа. Притока ріки Куріквара, АР Абхазія, Грузія. 42°55'17.40"N 41°32'09.90"E 06.02.2018. 2 екз. Код послідовностей – 527K. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Один з струмків печери Гараха, що в долині ріки Булебе, мхаре Самегрело-Земо-Сванеті, Грузія. 42°31'47.50"N 42°10'39.20"E 03.02.2017. 1 екз. Код послідовностей – 121G. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок у печері Чорцху біля с. Балда, мхаре Самегрело-Земо-Сванеті, Грузія. 42°30'37.40"N 42°25'10.10"E 13.08.2016. 1 екз. Код послідовностей – CL2. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Струмок на початку печери Чорцху біля с. Балда, мхаре Самегрело-Земо-Сванеті, Грузія. 42°30'37.40"N 42°25'10.10"E 02.02.2017. 1 екз. Код послідовностей – CL3. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Печера Анухвинська, АР Абхазія, Грузія. 2 екз. Код послідовностей – CL4. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Печера «Джерело Цебельда» в північній частині селища Цабал, АР Абхазія, Грузія. 43°01'33.30"N 41°17'01.30"E 30.01.2018. 7 екз. Код послідовностей – 504K. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
- Печера «Джерело Цебельда» в північній частині селища Цабал, АР Абхазія, Грузія. 43°01'33.30"N 41°17'01.30"E 01.02.2018. 1 екз. Код послідовностей – 509K. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.

- Печера «Джерело Цебельда» в північній частині селища Цабал, АР Абхазія, Грузія. 43°01'33.30"N 41°17'01.30"E 02.02.2018. 1 екз. Код послідовностей – 510K. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
-

Fadejewobdella quinqueannulata

- Стариця ріки Уди біля, с. Васищеве, Харківська область, Україна. 49°49'15.10"N 36°18'27.60"E 1 екз. Код послідовностей – U16. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
 - Стариця ріки Уди біля, с. Васищеве, Харківська область, Україна. 2 екз. Місце зберігання – колекція кафедри зоології та екології тварин ХНУ імені В.Н. Каразіна.
-

ДОДАТОК 2.1: Послідовності гену *sox1*, використані в роботі

№	Вид	Accession number або код зразка
1	<i>Dina absoloni</i>	BIH_Dab
2	<i>Dina latestriata</i>	HM246569
3	<i>Dina latestriata</i>	HM246600
4	<i>Dina latestriata</i>	HM246610
5	<i>Dina cf. latestriata</i>	HM246575
6	<i>Dina lineata</i>	Araks
7	<i>Dina lineata</i>	KY989480
8	<i>Dina lineata</i>	HM246552
9	<i>Dina lineata</i>	HM246583
10	<i>Dina lineata</i>	HM246584
11	<i>Dina lineata</i>	HM246606
12	<i>Dina lineata</i>	HM246607
13	<i>Dina lineata</i>	HM246611
14	<i>Dina mauchi</i>	DQ009669
15	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246527
16	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246587
17	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246590
18	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246591
19	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246528
20	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246530
21	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246535
22	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246545
23	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246554
24	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246559
25	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246570
26	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246576
27	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246534
28	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246540
29	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246547
30	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246581
31	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246533
32	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246531
33	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246626
34	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246629
35	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246532
36	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246538
37	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246542
38	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246558
39	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246572
40	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246586
41	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246593
42	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246625
43	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246539
44	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246543
45	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246544
46	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246556
47	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246561
48	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246571
49	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246588
50	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246597
51	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246526
52	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246578
53	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246582
54	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246589
55	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246595
56	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246541
57	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246546
58	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246549
59	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246550

60	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246563	
61	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246573	
62	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246574	
63	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246577	
64	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246548	
65	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246596	
66	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246614	
67	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246615	
68	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246618	
69	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246619	
70	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246623	
71	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246624	
72	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246631	
73	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246632	
74	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246633	
75	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246557	
76	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246562	
77	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246566	
78	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246567	
79	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246568	
80	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246579	
81	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246592	
82	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246594	
83	<i>Dina ohridana</i> species complex	HM246598	
84	<i>Dina</i> cf. <i>farsa</i>	KY989477	
85	<i>Dina</i> cf. <i>punctata</i>	HM246604	
86	<i>Dina</i> cf. <i>punctata</i>	HM246605	
87	<i>Dina</i> cf. <i>punctata</i>		F1
88	<i>Dina</i> cf. <i>ratschaensis</i>		CL5
89	<i>Dina</i> cf. <i>ratschaensis</i>		D8
90	<i>Dina</i> cf. <i>ratschaensis</i>		D9
91	<i>Dina</i> cf. <i>ratschaensis</i>		CL1
92	<i>Dina</i> cf. <i>ratschaensis</i>		T19
93	<i>Dina</i> sp. 1		<i>Dina</i> sp. 1
94	<i>Dina</i> sp. 2		<i>Dina</i> sp. 2
95	<i>Dina</i> sp.	MG949122	
96	<i>Dina</i> sp.	HM246580	
97	<i>Dina</i> sp.	HM246612	
98	<i>Dina</i> sp.	HM246613	
99	<i>Dina</i> sp.	HM246616	
100	<i>Dina</i> sp.	HM246617	
101	<i>Dina</i> sp.	HM246620	
102	<i>Dina</i> sp.	HM246621	
103	<i>Dina</i> sp.	HM246622	
104	<i>Dina</i> sp.	HM246627	
105	<i>Dina</i> sp.	HM246628	
106	<i>Dina</i> sp.	MH013409	
107	<i>Dina</i> sp.	HM246630	
108	<i>Dina</i> sp.	HM246525	
109	<i>Dina</i> sp.	HM246529	
110	<i>Dina</i> sp.	HM246536	
111	<i>Dina</i> sp.	HM246553	
112	<i>Dina</i> sp.	HM246560	
113	<i>Dina</i> sp.	HM246564	
114	<i>Dina</i> sp.	HM246565	
115	<i>Dina</i> sp.	MT116804	
116	<i>Erpobdella bhatiai</i>		<i>Erpobdella bhatiai</i>
117	<i>Erpobdella borisi</i>	KP749904	
118	<i>Erpobdella borisi</i>	KY989491	
119	<i>Erpobdella borisi</i>	KY989492	
120	<i>Erpobdella borisi</i>	KY989493	
121	<i>Erpobdella japonica</i>	AB679654	
122	<i>Erpobdella japonica</i>	AB675012	

123	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	AF116026	
124	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	MF358688	
125	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>		E6
126	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>		U27
127	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>		U4
128	<i>Erpobdella</i> <i>monostriata</i>		Bel
129	<i>Erpobdella</i> <i>monostriata</i>		Ostr
130	<i>Erpobdella</i> <i>monostriata</i>	DQ009665	
131	<i>Erpobdella</i> <i>monostriata</i>	HM246601	
132	<i>Erpobdella</i> <i>monostriata</i>	KP300764	
133	<i>Erpobdella</i> <i>monostriata</i>	MN295419	
134	<i>Erpobdella</i> <i>nigricollis</i>	DQ009664	
135	<i>Erpobdella</i> <i>nigricollis</i>	HM246603	
136	<i>Erpobdella</i> <i>octaculata</i> <i>sevanica</i>		U18
137	<i>Erpobdella</i> <i>octoculata</i>	HQ336344	
138	<i>Erpobdella</i> <i>octoculata</i>	AF003274	
139	<i>Erpobdella</i> <i>octoculata</i>	HM246555	
140	<i>Erpobdella</i> <i>octoculata</i>	HM246599	
141	<i>Erpobdella</i> <i>octoculata</i>	MN393262	
142	<i>Erpobdella</i> <i>octoculata</i>	MN986514	
143	<i>Erpobdella</i> <i>octoculata</i>		U29
144	<i>Erpobdella</i> sp.	HM246537	
145	<i>Erpobdella</i> sp.	KM095091	
146	<i>Erpobdella</i> sp.	KM095092	
147	<i>Erpobdella</i> sp.	MT116803	
148	<i>Erpobdella</i> <i>testacea</i>		Slo
149	<i>Erpobdella</i> <i>testacea</i>	AF116027	
150	<i>Erpobdella</i> <i>testacea</i>	HM246602	
151	<i>Erpobdella</i> <i>vilnensis</i>	HM246551	
152	<i>Erpobdella</i> <i>vilnensis</i>	HM246585	
153	<i>Erpobdella</i> <i>vilnensis</i>	KP300763	
154	<i>Erpobdella</i> <i>vilnensis</i>		U17
155	<i>Erpobdella</i> <i>vilnesis</i>	DQ009663	
156	<i>Erpobdella</i> aff. <i>vilnensis</i>		U8
157	<i>Fadejewobdella</i> <i>quinqueannulata</i>		U16
158	<i>Fadejewobdella</i> <i>quinqueannulata</i>		UA_Fqu
159	<i>Mooreobdella</i> <i>bucera</i>	MN612829	
160	<i>Mooreobdella</i> <i>bucera</i>	MN613038	
161	<i>Mooreobdella</i> <i>bucera</i>	AF116024	
162	<i>Mooreobdella</i> <i>melanostoma</i>	AF116025	
163	<i>Mooreobdella</i> <i>microstoma</i>	MN612934	
164	<i>Mooreobdella</i> <i>microstoma</i>	MN612935	
165	<i>Mooreobdella</i> <i>microstoma</i>	MN612936	
166	<i>Mooreobdella</i> <i>microstoma</i>	MN612996	
167	<i>Mooreobdella</i> <i>microstoma</i>	MF544828	
168	<i>Mooreobdella</i> <i>microstoma</i>	KX781833	
169	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208641	
170	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208642	
171	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208643	
172	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208644	
173	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208645	
174	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208646	
175	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208647	
176	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208648	
177	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208649	
178	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208650	
179	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208651	
180	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208652	
181	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208653	
182	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208654	
183	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208655	
184	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208656	
185	<i>Mooreobdella</i> <i>ochoterenai</i>	MK208657	

186	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	MK208658
187	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	MK208659
188	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	MK208660
189	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	MK208661
190	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235596
191	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235599
192	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235600
193	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235603
194	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612794
195	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612795
196	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612796
197	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612797
198	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612798
199	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612799
200	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612800
201	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612801
202	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612802
203	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612803
204	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612804
205	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612805
206	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612806
207	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612807
208	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612808
209	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612809
210	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612809
211	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612811
212	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612812
213	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612813
214	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612816
215	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612818
216	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612819
217	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612821
218	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612823
219	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612824
220	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612827
221	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612837
222	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612838
223	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612839
224	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612840
225	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612841
226	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612842
227	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612845
228	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612846
229	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612847
230	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612866
231	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612867
232	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612868
233	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612869
234	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612870
235	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612871
236	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612872
237	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612873
238	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612874
239	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612875
240	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612876
241	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612877
242	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612878
243	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612879
244	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612880
245	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612881
246	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612882
247	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612883
248	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612884

249	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612885
250	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612886
251	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612887
252	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612888
253	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612889
254	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612890
255	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612891
256	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612895
257	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612898
258	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612899
259	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612905
260	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612906
261	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612910
262	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612911
263	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612912
264	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612913
265	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612914
266	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612915
267	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612916
268	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612917
269	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612918
270	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612919
271	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612921
272	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612922
273	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612926
274	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612931
275	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612932
276	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612933
277	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612939
278	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612940
279	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612942
280	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612943
281	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612946
282	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612947
283	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612948
284	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612953
285	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612954
286	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612956
287	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612957
288	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612958
289	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612965
290	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612966
291	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612967
292	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612968
293	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612972
294	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612975
295	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612977
296	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612980
297	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612981
298	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612982
299	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612988
300	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612989
301	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612991
302	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612992
303	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612993
304	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612998
305	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN612999
306	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613000
307	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613001
308	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613002
309	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613003
310	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613004
311	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613005

312	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613018
313	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613020
314	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613022
315	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613024
316	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613026
317	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613029
318	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613030
319	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613031
320	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613032
321	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613034
322	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613035
323	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613036
324	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613039
325	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613040
326	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613042
327	<i>Nephelopsis obscura</i>	MG421129
328	<i>Nephelopsis obscura</i>	MF544680
329	<i>Nephelopsis obscura</i>	MF545034
330	<i>Nephelopsis obscura</i>	KM611847
331	<i>Nephelopsis obscura</i>	KM611933
332	<i>Nephelopsis obscura</i>	KM612094
333	<i>Nephelopsis obscura</i>	KM612095
334	<i>Nephelopsis obscura</i>	KM612133
335	<i>Nephelopsis obscura</i>	KM612244
336	<i>Nephelopsis obscura</i>	AF003273
337	<i>Nephelopsis obscura</i>	GU679474
338	<i>Nephelopsis obscura</i>	MG421151
339	<i>Nephelopsis obscura</i>	GU679475
340	<i>Nephelopsis obscura</i>	GU679476
341	<i>Nephelopsis obscura</i>	GU679480
342	<i>Nephelopsis obscura</i>	GU679481
343	<i>Nephelopsis obscura</i>	GU679483
344	<i>Nephelopsis obscura</i>	GU679485
345	<i>Nephelopsis obscura</i>	HQ920201
346	<i>Nephelopsis obscura</i>	HQ920538
347	<i>Nephelopsis obscura</i>	HQ961441
348	<i>Nephelopsis obscura</i>	HQ961444
349	<i>Nephelopsis obscura</i>	MG421310
350	<i>Nephelopsis obscura</i>	HQ961451
351	<i>Nephelopsis obscura</i>	HQ961457
352	<i>Nephelopsis obscura</i>	HQ961470
353	<i>Nephelopsis obscura</i>	HQ961471
354	<i>Nephelopsis obscura</i>	HQ961479
355	<i>Nephelopsis obscura</i>	HQ961503
356	<i>Nephelopsis obscura</i>	JQ821638
357	<i>Nephelopsis obscura</i>	MG421465
358	<i>Nephelopsis obscura</i>	MG423223
359	<i>Nephelopsis obscura</i>	MG423359
360	<i>Nephelopsis obscura</i>	MG423376
361	<i>Nephelopsis obscura</i>	MF544533
362	<i>Nephelopsis obscura</i>	MF544589
363	<i>Trocheta subviridis</i>	
364	* <i>Dina dubia</i>	AF116023
365	* <i>Dina parva</i>	MN612815
366	* <i>Dina parva</i>	MN612820
367	* <i>Dina parva</i>	MN612825
368	* <i>Dina parva</i>	MN612835
369	* <i>Dina parva</i>	MN612836
370	* <i>Dina parva</i>	MN612857
371	* <i>Dina parva</i>	MN612858
372	* <i>Dina parva</i>	MN612859
373	* <i>Dina parva</i>	MN612896
374	* <i>Dina parva</i>	MN612897

T12

375	<i>*Dina parva</i>	MN612900	
376	<i>*Dina parva</i>	MN612901	
377	<i>*Dina parva</i>	MN612924	
378	<i>*Dina parva</i>	MN612925	
379	<i>*Dina parva</i>	MN612929	
380	<i>*Dina parva</i>	MN612930	
381	<i>*Dina parva</i>	MN612941	
382	<i>*Dina parva</i>	MN612944	
383	<i>*Dina parva</i>	MN612945	
384	<i>*Dina parva</i>	MN612962	
385	<i>*Dina parva</i>	MN612963	
386	<i>*Dina parva</i>	MN612964	
387	<i>*Dina parva</i>	MN612971	
388	<i>*Dina parva</i>	MN612973	
389	<i>*Dina parva</i>	MN612978	
390	<i>*Dina parva</i>	MN612979	
391	<i>*Dina parva</i>	MN612997	
392	<i>*Dina parva</i>	MN613025	
393	<i>*Dina stschegolewi</i>		9_D_Dps
394	<i>*Dina stschegolewi</i>		9_KR_Dst1
395	<i>*Dina stschegolewi</i>		AZ3
396	<i>*Dina stschegolewi</i>		BIH_Dsp3
397	<i>*Dina stschegolewi</i>		BIH_Dsp4
398	<i>*Dina stschegolewi</i>		D1
399	<i>*Dina stschegolewi</i>		D2
400	<i>*Dina stschegolewi</i>		D3
401	<i>*Dina stschegolewi</i>		D5
402	<i>*Dina stschegolewi</i>		D6
403	<i>*Dina stschegolewi</i>	KY989486	
404	<i>*Dina stschegolewi</i>		DS1
405	<i>*Dina stschegolewi</i>		E11
406	<i>*Dina stschegolewi</i>		GR1
407	<i>*Dina stschegolewi</i>		GR2
408	<i>*Dina stschegolewi</i>		KR_Dst2
409	<i>*Dina stschegolewi</i>		L13
410	<i>*Dina stschegolewi</i>		L14
411	<i>*Dina stschegolewi</i>		L15
412	<i>*Dina stschegolewi</i>		RO_2
413	<i>*Dina stschegolewi</i>		RO_Dsp
414	<i>*Dina stschegolewi</i>		S3
415	<i>*Erpobdella adani</i>	MG745144	
416	<i>*Erpobdella adani</i>	MG745145	
417	<i>*Erpobdella adani</i>	MG745146	
418	<i>*Erpobdella annulata</i>	HQ336345	
419	<i>*Erpobdella costata</i>	AY425460	
420	<i>*Erpobdella mexicana</i>	DQ235595	
421	<i>*Erpobdella mexicana</i>	DQ235597	
422	<i>*Erpobdella mexicana</i>	DQ235601	
423	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208626	
424	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208627	
425	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208628	
426	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208629	
427	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208630	
428	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208631	
429	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208632	
430	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208633	
431	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208634	
432	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208635	
433	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208636	
434	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208637	
435	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208638	
436	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208639	
437	<i>*Erpobdella mexicana</i>	MK208640	

438	<i>*Erpobdella punctata</i>	HQ336346
439	<i>*Erpobdella punctata</i>	AF003275
440	<i>*Erpobdella punctata</i>	KT705575
441	<i>*Erpobdella punctata</i>	KT706410
442	<i>*Erpobdella punctata</i>	HQ946095
443	<i>*Erpobdella punctata</i>	HQ946096
444	<i>*Erpobdella punctata</i>	HQ946097
445	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612814
446	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612817
447	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612822
448	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612826
449	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612830
450	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612831
451	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612832
452	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612833
453	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612834
454	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612843
455	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612856
456	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612860
457	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612861
458	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612862
459	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612863
460	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612864
461	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612865
462	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612892
463	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612893
464	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612894
465	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612902
466	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612903
467	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612904
468	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612907
469	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612908
470	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612909
471	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612920
472	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612923
473	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612927
474	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612928
475	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612937
476	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612938
477	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612949
478	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612950
479	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612951
480	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612952
481	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612955
482	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612959
483	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612960
484	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612961
485	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612969
486	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612970
487	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612974
488	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612976
489	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612983
490	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612984
491	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612985
492	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612986
493	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612987
494	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612990
495	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612994
496	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN612995
497	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613006
498	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613007
499	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613008
500	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613009

501	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613010
502	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613011
503	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613012
504	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613013
505	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613014
506	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613015
507	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613016
508	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613017
509	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613019
510	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613021
511	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613023
512	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613027
513	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613028
514	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613033
515	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613037
516	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613041
517	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT116805
518	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT116806
519	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT116807
520	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT186392
521	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT186436
522	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT186437
523	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT186438
524	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT186439
525	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT186456
526	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT186513
527	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT186514
528	<i>*Erpobdella punctata</i>	MT186515
529	<i>*Erpobdella sp.</i>	MG421368
530	<i>*Erpobdella sp.</i>	MG949121
531	<i>*Erpobdella sp.</i>	MH013410
532	<i>*Erpobdella sp.</i>	MH013411
533	<i>*Erpobdella sp.</i>	HQ961455
534	<i>*Erpobdella sp.</i>	MG421488
535	<i>*Erpobdella sp.</i>	MG421868
536	<i>*Erpobdella sp.</i>	MG423286
537	<i>*Erpobdella sp.</i>	MG423391
538	<i>*Erpobdella sp.</i>	MF458989
539	<i>*Erpobdella sp.</i>	MG949120
540	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN612828
541	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN612844
542	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN612848
543	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN612849
544	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN612850
545	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN612851
546	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN612852
547	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN612853
548	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN612854
549	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN612855
550	<i>*Erpobdella triannulata</i>	HQ336347
551	<i>*Erpobdella triannulata</i>	DQ235602
552	<i>*Erpobdella triannulata</i>	DQ235604
553	<i>*Erpobdella triannulata</i>	MG821606
554	<i>*Erpobdella triannulata</i>	MG821607
555	<i>*Motobdella montezuma</i>	KM611825
556	<i>*Motobdella montezuma</i>	KM611937
557	<i>*Motobdella montezuma</i>	KM611989
558	<i>*Motobdella montezuma</i>	KM611994
559	<i>*Motobdella montezuma</i>	KM612138
560	<i>*Motobdella montezuma</i>	KM612253
561	<i>*Motobdella montezuma</i>	GQ368760
562	<i>*Trocheta blanchardi</i>	MT013037
563	<i>*Trocheta blanchardi</i>	MT013038

564	<i>*Trocheta blanchardi</i>	MT013040	
565	<i>*Trocheta blanchardi</i>	MT013041	
566	<i>*Trocheta blanchardi</i>	MT013039	
567	<i>*Trocheta cylindrica</i>	MT013046	
568	<i>*Trocheta cylindrica</i>	DQ009667	
569	<i>*Trocheta cylindrica</i>		Zkp
570	<i>*Trocheta danastrica</i>	MT013043	
571	<i>*Trocheta danastrica</i>	MT013044	
572	<i>*Trocheta danastrica</i>	MT013045	
573	<i>*Trocheta danastrica</i>	MT013042	
574	<i>*Trocheta haskonis</i>	DQ009668	
575	<i>*Trocheta pseudodina</i>	EF125041	
576	<i>*Trocheta</i> sp. 1		302K
577	<i>*Trocheta</i> sp. 1		553K
578	<i>*Trocheta</i> sp. 1		E12
579	<i>*Trocheta</i> sp. 1		E5
580	<i>*Trocheta</i> sp.		121G
581	<i>*Trocheta</i> sp.		446K
582	<i>*Trocheta</i> sp.		504K
583	<i>*Trocheta</i> sp.		509K
584	<i>*Trocheta</i> sp.		510K
585	<i>*Trocheta</i> sp.		516K
586	<i>*Trocheta</i> sp.		527K
587	<i>*Trocheta</i> sp.		547K
588	<i>*Trocheta</i> sp.		CL2
589	<i>*Trocheta</i> sp.		CL3
590	<i>*Trocheta</i> sp.		CL4
591	<i>*Trocheta</i> sp.		T1
592	<i>*Trocheta</i> sp.		T2
593	<i>*Trocheta</i> sp.		T3
594	<i>*Trocheta</i> sp.	MG949123	
595	<i>*Trocheta</i> sp.	MG949124	
596	<i>*Trocheta</i> sp.	MH013408	
597	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MN436005	
598	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG421088	
599	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422036	
600	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422070	
601	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422074	
602	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422087	
603	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422093	
604	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422138	
605	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422146	
606	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422194	
607	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422220	
608	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422334	
609	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG421215	
610	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422409	
611	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422505	
612	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422513	
613	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422702	
614	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422846	
615	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422910	
616	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG423103	
617	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG423248	
618	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG423342	
619	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG423364	
620	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG421247	
621	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG423450	
622	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG423464	
623	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG423558	
624	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MF544472	
625	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM611815	
626	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM611846	

627	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM611862
628	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM611868
629	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM611901
630	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM611926
631	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG421291
632	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM611949
633	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM611967
634	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM612020
635	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM612037
636	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM612083
637	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM612104
638	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM612205
639	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM612225
640	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM612228
641	<i>Erpobdellidae</i> sp.	KM612235
642	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG421313
643	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920187
644	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920195
645	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920196
646	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920198
647	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920199
648	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920200
649	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920202
650	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920203
651	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920204
652	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920205
653	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG421552
654	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920207
655	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920208
656	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ920212
657	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961443
658	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961448
659	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961449
660	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961450
661	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961452
662	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961454
663	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961458
664	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG421581
665	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961459
666	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961460
667	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961463
668	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961464
669	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961465
670	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961467
671	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961474
672	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961475
673	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961482
674	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961483
675	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG421727
676	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961485
677	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961487
678	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961490
679	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961493
680	<i>Erpobdellidae</i> sp.	HQ961500
681	<i>Erpobdellidae</i> sp.	MG422004
682	<i>Barbronia arcana</i>	DQ235598
683	<i>Odontobdella blanchardi</i>	AB675016
684	<i>Salifa perspicax</i>	HQ336341
685	<i>Mimobdella japonica</i>	AB675014
686	<i>Gastrostomobdella ampunganensis</i>	LC274559
687	<i>Gastrostomobdella ampunganensis</i>	LC274561
688	<i>Gastrostomobdella extenta</i>	LC274553
689	<i>Gastrostomobdella extenta</i>	LC274557

690	<i>Gastrostomobdella monticola</i>	LC274549
691	<i>Gastrostomobdella monticola</i>	AB679656

**Erpobdella punctata* – потребує зміни родової приналежності;

Gastrostomobdella monticola – зовнішня група.

ДОДАТОК 2.2: Послідовності гену 12S, використані в роботі

№	Вид	Accession number або код зразка
1	<i>Dina absoloni</i>	BIH_Dab
2	<i>Dina cf. punctata</i>	AF169370
3	<i>Dina cf. punctata</i>	AF169371
4	<i>Dina cf. ratschaensis</i>	CL1
5	<i>Dina cf. ratschaensis</i>	CL5
6	<i>Dina cf. ratschaensis</i>	T19
7	<i>Dina krasensis</i>	AF169373
8	<i>Dina lineata</i>	AF099952
9	<i>Dina lineata dinarica</i>	AF169369
10	<i>Dina sp.</i>	MH013414
11	<i>Dina sp.</i>	MH013415
12	<i>Dina sp. 2</i>	<i>Dina sp. 2</i>
13	<i>Erpobdellajaponica</i>	AB675013
14	<i>Erpobdellajaponica</i>	AB679655
15	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	AF462023
16	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	E6
17	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	MF358688
18	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U1
19	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U2
20	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U25
21	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U26
22	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U27
23	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U28
24	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U3
25	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U4
26	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U5
27	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U6
28	<i>Erpobdella aff. japonica</i>	U7
29	<i>Erpobdella monostriata</i>	U9
30	<i>Erpobdella octaculata sevanica</i>	U18
31	<i>Erpobdella octoculata</i>	AF099954
32	<i>Erpobdella testacea</i>	AF462025
33	<i>Erpobdella vilnensis</i>	E2
34	<i>Erpobdella vilnensis</i>	U17
35	<i>Erpobdella aff. vilnensis</i>	U8
36	<i>Fadejewobdella quinqueannulata</i>	U16
37	<i>Fadejewobdella quinqueannulata</i>	UA_Fqu
38	<i>Mooreobdella bucera</i>	AF462026
39	<i>Mooreobdella bucera</i>	MN613043
40	<i>Mooreobdella melanostoma</i>	AF462027
41	<i>Mooreobdella microstoma</i>	MN613044
42	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235586
43	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235589
44	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235590
45	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235593
46	<i>Nephelopsis obscura</i>	AF462028
47	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613045
48	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613046
49	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613047
50	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613048
51	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613049
52	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613050
53	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613051
54	<i>Trocheta subviridis</i>	T12
55	* <i>Dina dubia</i>	AF462022
56	* <i>Dina parva</i>	MN613052
57	* <i>Dina parva</i>	MN613053
58	* <i>Dina parva</i>	MN613054
59	* <i>Dina parva</i>	MN613055

60	<i>*Dina stschegolewi</i>		DS1
61	<i>*Dina stschegolewi</i>		E11
62	<i>*Dina stschegolewi</i>		L15
63	<i>*Dina stschegolewi</i>		S3
64	<i>*Erpobdella adani</i>	MG745141	
65	<i>*Erpobdella adani</i>	MG745142	
66	<i>*Erpobdella adani</i>	MG745143	
67	<i>*Erpobdella costata</i>	AY425442	
68	<i>*Erpobdella costata</i>	HQ336354	
69	<i>*Erpobdella mexicana</i>	DQ235585	
70	<i>*Erpobdella mexicana</i>	DQ235587	
71	<i>*Erpobdella mexicana</i>	DQ235591	
72	<i>*Erpobdella punctata</i>	AF462024	
73	<i>*Erpobdella punctata</i>	HQ336352	
74	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613056	
75	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613057	
76	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613058	
77	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613059	
78	<i>*Erpobdella punctata</i>	MN613060	
79	<i>*Erpobdella triannulata</i>	DQ235592	
80	<i>*Erpobdella triannulata</i>	DQ235594	
81	<i>*Erpobdella triannulata</i>	HQ336353	
82	<i>*Erpobdella sp.</i>	MH013412	
83	<i>*Erpobdella sp.</i>	MH013413	
84	<i>*Erpobdella sp.</i>	MK036052	
85	<i>*Erpobdella sp.</i>	MK036053	
86	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN613061	
87	<i>*Erpobdella sp.</i>	MN613062	
88	<i>*Motobdella montezuma</i>	GQ368820	
89	<i>*Trocheta blanchardi</i>		L16
90	<i>*Trocheta blanchardi</i>		L17
91	<i>*Trocheta blanchardi</i>		L18
92	<i>*Trocheta blanchardi</i>		S4
93	<i>*Trocheta blanchardi</i>		TB
94	<i>*Trochetacylindrica</i>		S1
95	<i>*Trocheta cf. cylindrica</i>	AF169372	
96	<i>*Trocheta dalmatina</i>	AF169374	
97	<i>*Trocheta danastrica</i>		E3
98	<i>*Trocheta danastrica</i>		E4
99	<i>*Trocheta danastrica</i>		HU_Tdan
100	<i>*Trocheta danastrica</i>		S2
101	<i>*Trocheta sp. 1</i>		E12
102	<i>*Trocheta sp. 1</i>		E5
103	<i>*Trocheta sp.</i>	MH013416	
104	<i>*Trocheta sp.</i>	MH013417	
105	<i>*Trocheta sp.</i>	MK036054	
106	<i>*Trocheta sp.</i>		T1
107	<i>*Trocheta sp.</i>		T2
108	<i>*Trocheta sp.</i>		T3
109	<i>*Trocheta sp.</i>		T5
110	<i>Gastrostomobdella ampunganensis</i>	LC274568	
111	<i>Gastrostomobdella monticola</i>	LC274569	
112	<i>Orobdeella whitmani</i>	AB675023	

**Erpobdella* - потребує зміни родової приналежності;

Gastrostomobdella monticola – зовнішня група.

ДОДАТОК 2.3: Послідовності гену 28S, використані в роботі

№	Вид	Accession number або код зразка
1	<i>Dina absoloni</i>	BIH_Dab
2	<i>Dina lineata</i>	AY425367
3	<i>Dina punctata</i>	EF417047
4	<i>Dina</i> sp.	MH013422
5	<i>Erpobdella japonica</i>	AB663652
6	<i>Erpobdella japonica</i>	LC274512
7	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	AY425366
8	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U27
9	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U3
10	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	E6
11	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U1
12	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U2
13	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U25
14	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U26
15	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U28
16	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U4
17	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U5
18	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U6
19	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	U7
20	<i>Erpobdella monostriata</i>	U9
21	<i>Erpobdella octaculata sevanica</i>	U18
22	<i>Erpobdella octoculata</i>	AY364865
23	<i>Erpobdella octoculata</i>	AY425368
24	<i>Erpobdella octoculata</i>	EF417048
25	<i>Erpobdella octoculata</i>	HQ336361
26	<i>Erpobdella testacea</i>	AY425370
27	<i>Erpobdella vilnensis</i>	EF417049
28	<i>Erpobdella vilnensis</i>	E2
29	<i>Erpobdella vilnensis</i>	U17
30	<i>Erpobdella</i> aff. <i>vilnensis</i>	U8
31	<i>Fadejewobdella quinqueannulata</i>	UA_Fqu
32	<i>Mooreobdella buccera</i>	AY425394
33	<i>Mooreobdella buccera</i>	MN613084
34	<i>Mooreobdella melanostoma</i>	AY425395
35	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	HQ336370
36	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	HQ336371
37	<i>Nephelopsis obscura</i>	AY425396
38	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613087
39	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613088
40	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613089
41	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613090
42	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613091
43	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613092
44	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613093
45	* <i>Dina dubia</i>	AY425365
46	* <i>Dina parva</i>	MN613094
47	* <i>Dina parva</i>	MN613095
48	* <i>Dina parva</i>	MN613096
49	* <i>Dina parva</i>	MN613097
50	* <i>Dina stschegolewi</i>	DS1
51	* <i>Dina stschegolewi</i>	E11
52	* <i>Erpobdella annulata</i>	HQ336362
53	* <i>Erpobdella costata</i>	AY425406
54	* <i>Erpobdella costata</i>	HQ336369
55	* <i>Erpobdella mexicana</i>	HQ336364
56	* <i>Erpobdella mexicana</i>	HQ336365
57	* <i>Erpobdella microstoma</i>	MN613085
58	* <i>Erpobdella microstoma</i>	MN613086
59	* <i>Erpobdella punctata</i>	AY425369

60	* <i>Erpobdella punctata</i>	HQ336363	
61	* <i>Erpobdella punctata</i>	MN613098	
62	* <i>Erpobdella punctata</i>	MN613099	
63	* <i>Erpobdella punctata</i>	MN613100	
64	* <i>Erpobdella punctata</i>	MN613101	
65	* <i>Erpobdella punctata</i>	MN613102	
66	* <i>Erpobdella</i> sp.	MK026749	
67	* <i>Erpobdella</i> sp.	MK026750	
68	* <i>Erpobdella</i> sp.	MN613103	
69	* <i>Erpobdella</i> sp.	MN613104	
70	* <i>Erpobdella triannulata</i>	HQ336366	
71	* <i>Erpobdella triannulata</i>	HQ336367	
72	* <i>Erpobdella triannulata</i>	HQ336368	
73	* <i>Motobdella montezuma</i>	GQ368779	
74	* <i>Trocheta blanchardi</i>		TB
75	* <i>Trocheta danastrica</i>		HU_Tdan
76	* <i>Trocheta danastrica</i>		E3
77	* <i>Trocheta danastrica</i>		E4
78	* <i>Trocheta</i> sp. 1		E12
79	* <i>Trocheta</i> sp. 1		E5
80	* <i>Trocheta</i> sp.	MH013423	
81	* <i>Trocheta</i> sp.	MK026751	
82	* <i>Trocheta</i> sp.		CL3
83	* <i>Trocheta</i> sp.		T1
84	* <i>Trocheta</i> sp.		T2
85	* <i>Trocheta</i> sp.		T3
86	* <i>Trocheta</i> sp.		T5
87	<i>Gastrostomobdella ampunganensis</i>	LC274524	
88	<i>Orobdella whitmani</i>	AB663658	

**Erpobdella punctata* – потребує зміни родової приналежності;

Orobdella whitmani – зовнішня група;

Nephelopsis obscura – таксон прибрано при повторному аналізі;

Gastrostomobdella ampunganensis – таксон додано при повторному аналізі.

ДОДАТОК 2.4: Послідовності гену 18S, використані в роботі

№	Вид	Accession number або код зразка
1	<i>Croatobranchus mestrovi</i>	AF272842
2	<i>Dina lineata</i>	AF099950
3	<i>Dina</i> sp.	MH013418
4	<i>Dina</i> sp.	MH013419
5	<i>Erpobdella</i> aff. <i>japonica</i>	AF116000
6	<i>Erpobdella japonica</i>	AB663648
7	<i>Erpobdella octoculata</i>	AF099949
8	<i>Erpobdella octoculata</i>	AF116001
9	<i>Erpobdella octoculata</i>	HQ336378
10	<i>Erpobdella testacea</i>	AF116003
11	<i>Mooreobdella buccera</i>	AF115998
12	<i>Mooreobdella buccera</i>	MN613063
13	<i>Mooreobdella melanostoma</i>	AF115999
14	<i>Mooreobdella microstoma</i>	MN613064
15	<i>Mooreobdella microstoma</i>	MN613065
16	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235606
17	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235609
18	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235610
19	<i>Mooreobdella ochoterenai</i>	DQ235613
20	<i>Nephelopsis obscura</i>	AF116004
21	<i>Nephelopsis obscura</i>	JQ821523
22	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613066
23	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613067
24	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613068
25	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613069
26	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613070
27	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613071
28	<i>Nephelopsis obscura</i>	MN613072
29	* <i>Dina dubia</i>	AF115997
30	* <i>Dina parva</i>	MN613073
31	* <i>Dina parva</i>	MN613074
32	* <i>Dina parva</i>	MN613075
33	* <i>Dina parva</i>	MN613076
34	* <i>Erpobdella adani</i>	MG745138
35	* <i>Erpobdella adani</i>	MG745139
36	* <i>Erpobdella adani</i>	MG745140
37	* <i>Erpobdella annulata</i>	HQ336379
38	* <i>Erpobdella costata</i>	AY425478
39	* <i>Erpobdella costata</i>	HQ336381
40	* <i>Erpobdella mexicana</i>	DQ235605
41	* <i>Erpobdella mexicana</i>	DQ235607
42	* <i>Erpobdella mexicana</i>	DQ235611
43	* <i>Erpobdella punctata</i>	AF116002
44	* <i>Erpobdella punctata</i>	HQ336380
45	* <i>Erpobdella punctata</i>	MN613077
46	* <i>Erpobdella punctata</i>	MN613078
47	* <i>Erpobdella punctata</i>	MN613079
48	* <i>Erpobdella punctata</i>	MN613080
49	* <i>Erpobdella punctata</i>	MN613081
50	* <i>Erpobdella</i> sp.	MK026746
51	* <i>Erpobdella</i> sp.	MK026747
52	* <i>Erpobdella</i> sp.	MK026748
53	* <i>Erpobdella</i> sp.	MN613082
54	* <i>Erpobdella</i> sp.	MN613083
55	* <i>Erpobdella triannulata</i>	DQ235602
56	* <i>Erpobdella triannulata</i>	DQ235614
57	* <i>Motobdella montezuma</i>	GQ368802
58	* <i>Trocheta</i> sp.	MH013420
59	* <i>Trocheta</i> sp.	MH013421

60	<i>*Trocheta</i> sp.	MK248615
61	<i>Orobdeila whitmani</i>	AB663657

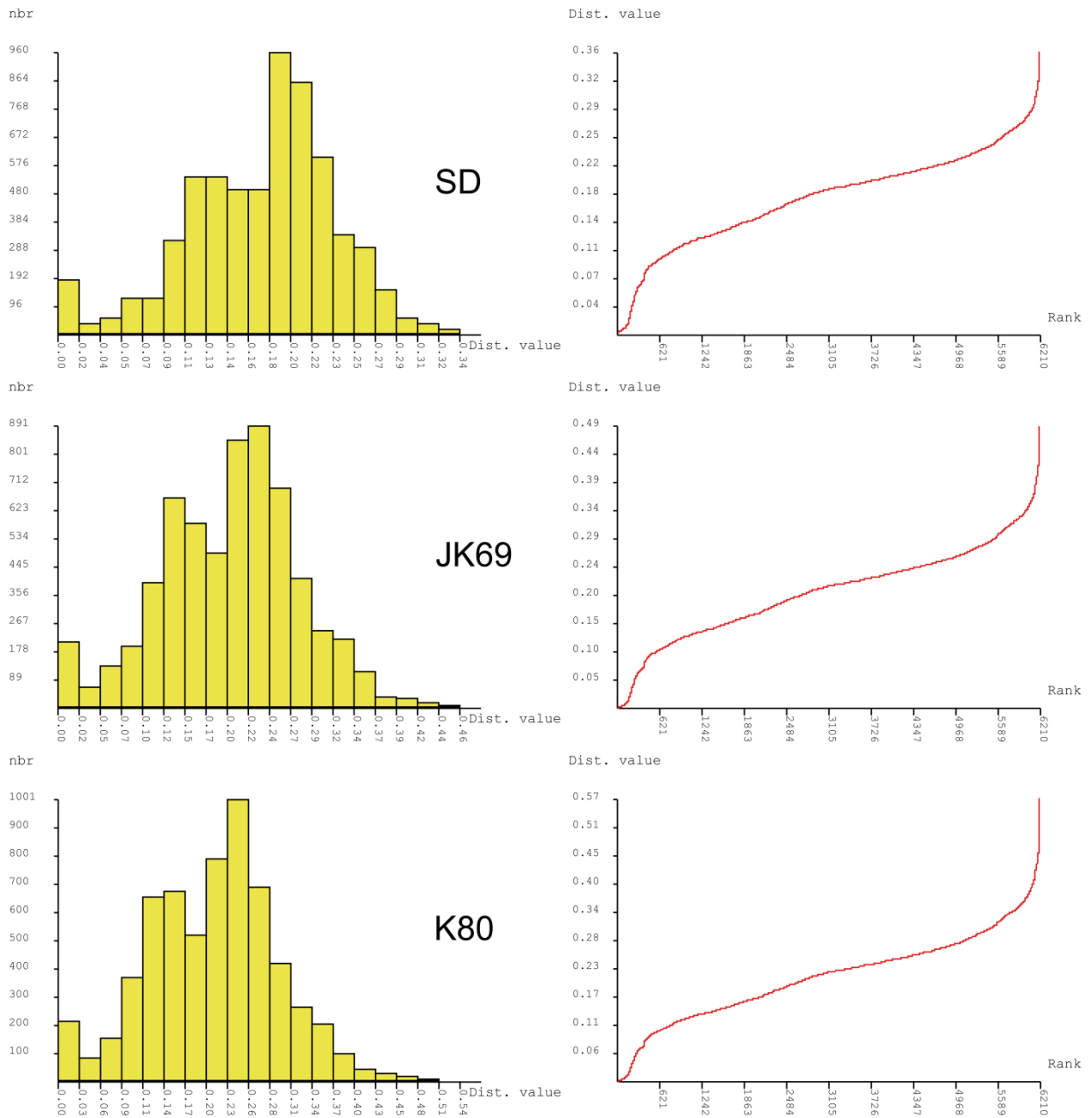
**Erpobdeila punctata* – потребує зміни родової приналежності;

Orobdeila whitmani – зовнішня група.

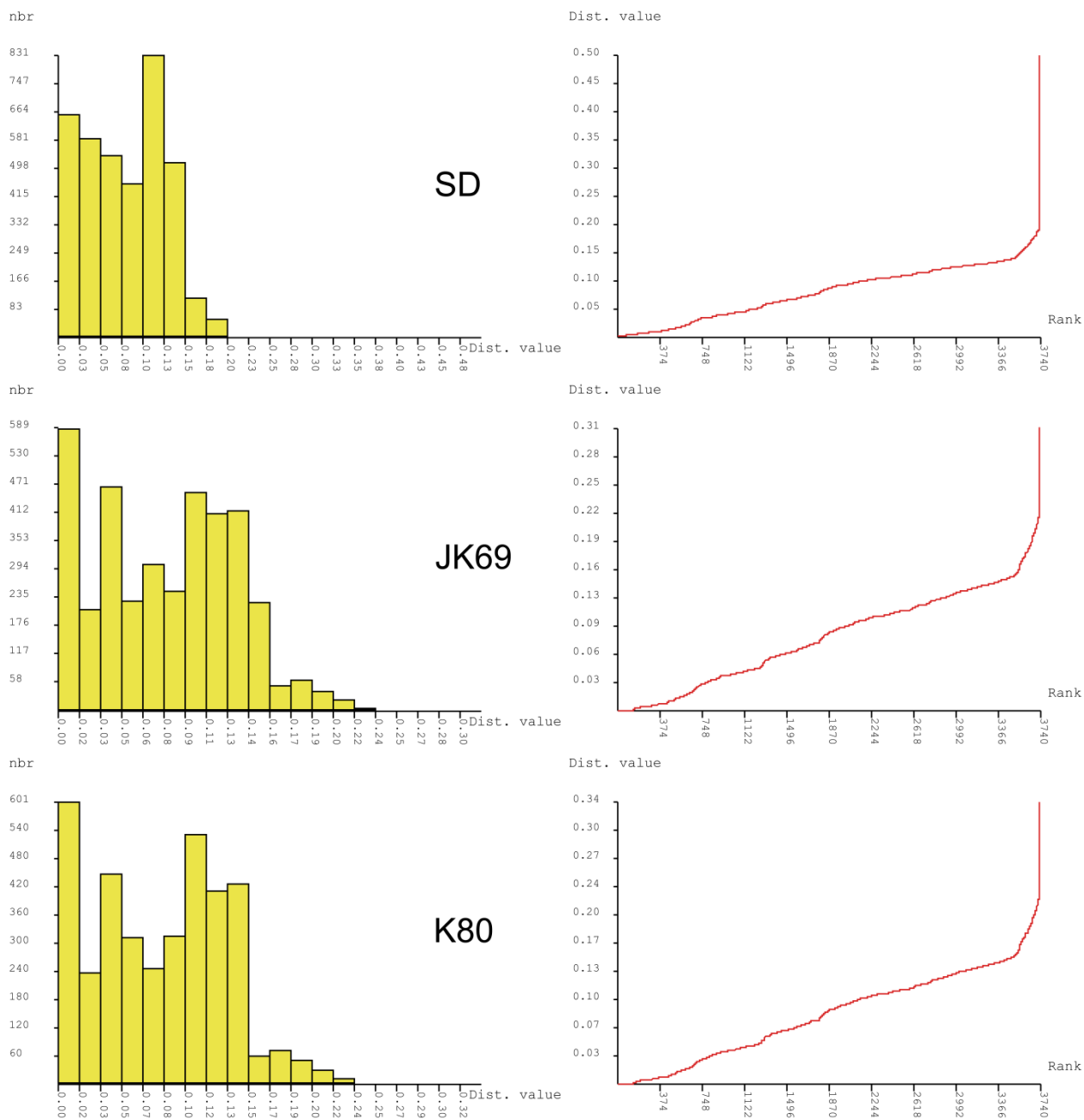
ДОДАТОК 3. Скрипт для делімітації видів за допомогою алгоритму GMYC.

```
#Блок 1 ПІДГОТОВКА ДАНИХ
#Блок 1.1 завантажування бібліотеки
library(splits)
#Блок 1.2 перевірка локалізації директорії
getwd()
#Блок 1.3 зчитування вкоріненого дерева
Tree <- read.tree("Erpo.tre")
#Блок 2 НЕ ОБОВ'ЯЗКОВИЙ, ТРАНСФОРМАЦІЯ ДЕРЕВ
#Блок 2.1 трансформація філограм у хронограми
Tree2 <- chronos(Tree)
Tree3 <- chronoMPL(Tree) #рекомендується для ультраметричних дерев
Tree4 <- chronopl(Tree, 1) #лише для дерев без гілок нульової довжини
#Блок 2.2 НЕ ОБОВ'ЯЗКОВИЙ, у випадку помилки "the tree is not dichotomous"
#Блок 2.2.1 Перетворення небіфуркаційних дерев в біфуркаційні
Tree1 <- multi2di(Tree)
#Блок 2.2.2 повторна трансформація
Tree2 <- chronos(Tree1)
Tree3 <- chronoMPL(Tree1)
Tree4 <- chronopl(Tree1, 1)
#Блок 2.3 запис файлів з ультраметричними деревами
write.tree(Tree2, "Erpo_tree2.tre")
write.tree(Tree3, "Erpo_tree3.tre")
write.tree(Tree4, "Erpo_tree4.tre")
#Блок 2.4 перевірити яке з отриманих дерев краще відповідає початковому
#Блок 3.1 розрахунок моделі для делімітації
model1 <- gmyc(Tree2, method = "single")
model2 <- gmyc(Tree2, method = "multiple")
#Блок 4.1 загальні відомості про результати
summary(model1)
summary(model2)
#Блок 4.1 графічне зображення отриманих моделей
plot(model1)
plot(model2)
#Блок 4.3 запис фінальних дерев
write.tree(model1$tree, file= "Erpo_gymc1.tre")
write.tree(model2$tree, file= "Erpo_gymc2.tre")
#Блок 4.4 формування списків виявлених видів та їх запис
species1 <- spec.list(model1)
species2 <- spec.list(model2)
write.csv2(species1, file= "Erpo_species1.csv")
write.csv2(species2, file= "Erpo_species2.csv")
```

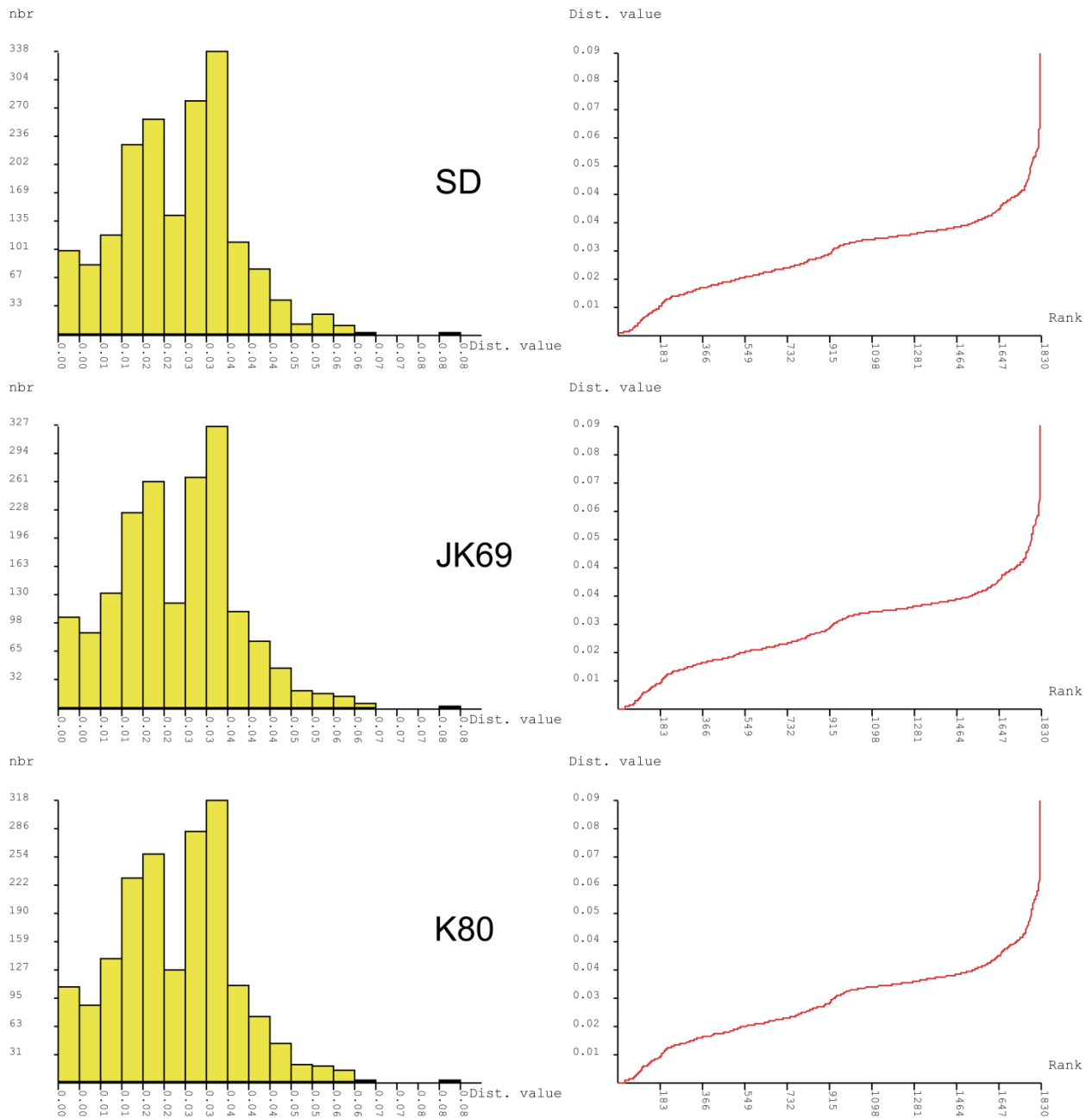

ДОДАТОК 4.1. Розподіл попарних генетичних дистанцій послідовностей гена 12S глоткових п'явок за трьома різними моделями нуклеотидних замінів.



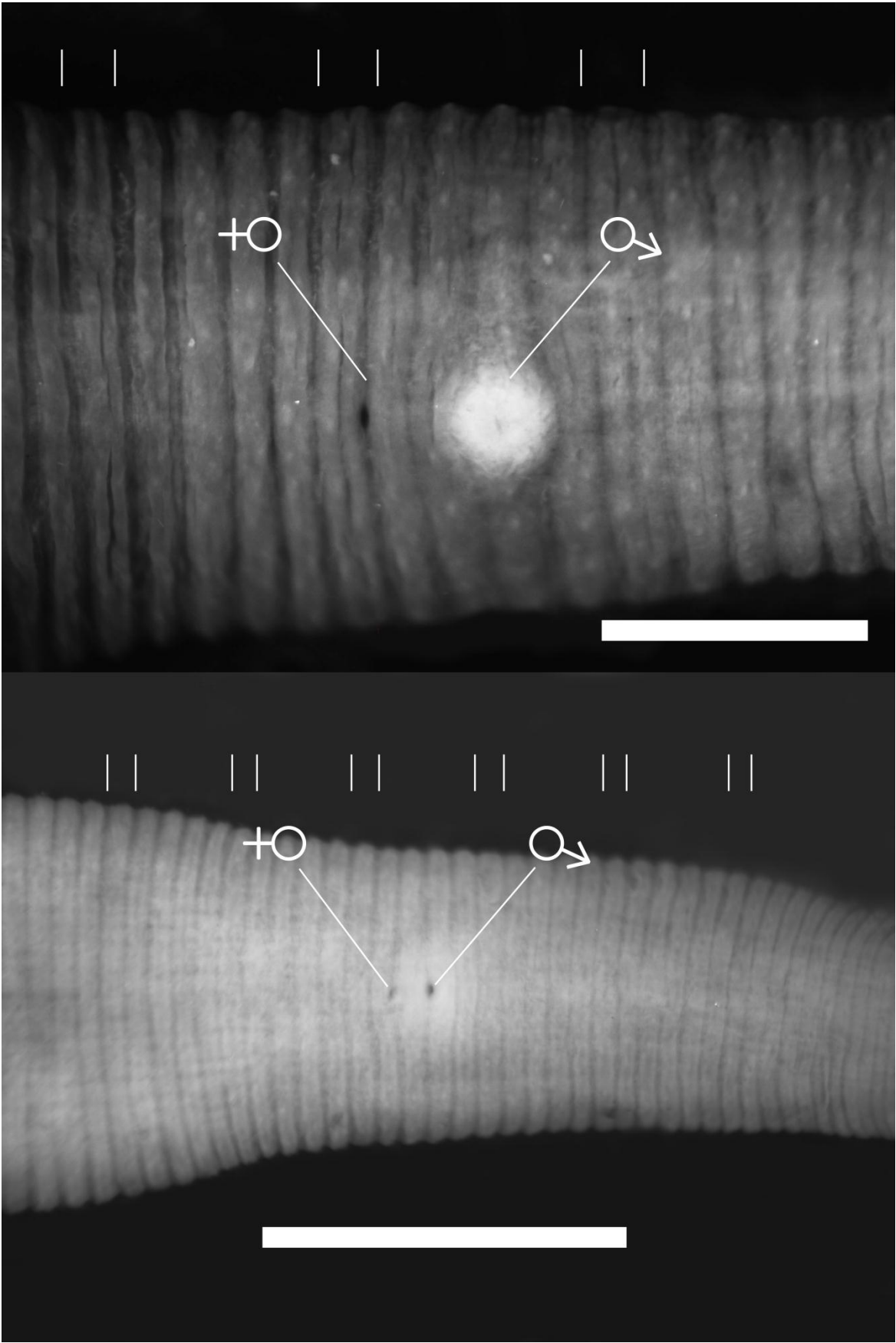
ДОДАТОК 4.2. Розподіл попарних генетичних дистанцій послідовностей гена 28S глоткових п'явок за трьома різними моделями нуклеотидних замінів.



ДОДАТОК 4.3. Розподіл попарних генетичних дистанцій послідовностей гена 18S глоткових п'явок за трьома різними моделями нуклеотидних замінів.



ДОДАТОК 5. Аномальне положення гонопорів у *D. stschegolewi*.



Шкала = 5 мм.