

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені В. Н. КАРАЗІНА
Біологічний факультет
Кафедра зоології та екології тварин

Кваліфікаційна робота
здобувачки другого (магістерського) рівня вищої освіти
за темою:

МОРФОЛОГІЯ ТА ФІЛОГЕНІЯ ПРЕДСТАВНИКІВ

***Grylotalpa grylotalpa complex* (L., 1758) УКРАЇНИ**

Спеціальність (спеціалізація) 091 Біологія та біохімія
Освітня програма Біологія

Виконавець: _____  Ірина Рідкокаша

Науковий керівник:  _____ Андрій Утевський

Харків – 2025

АНОТАЦІЯ

Метою роботи було комплексне морфологічне та молекулярно-філогенетичне дослідження представників роду *Gryllotalpa* з різних регіонів України та Словенії з метою уточнення їх систематичного положення та оцінки внутрішньо- і міжпопуляційної мінливості.

В ході роботи виконано огляд наукової літератури щодо систематики, морфології та молекулярно-генетичного аналізу представників родини *Gryllotalpidae*; здійснено морфометричний аналіз зразків із використанням індексних співвідношень; проведено статистичне оцінювання варіабельності та порівняння вибірок за допомогою t- та F-критеріїв. Виділено геномну ДНК зразків з різних регіонів України та Словенії; ампліфіковано та секвеновано фрагмент мітохондріального гену COI з вибраних зразків, реконструйовано філогенетичне дерево для цих зразків.

Морфологічні дані дозволили охарактеризувати ступінь варіабельності пропорцій тіла та оцінити відмінності між групами, що виділені за географічними ознаками (Лівобережна Україна, Правобережна Україна, Словенія). Молекулярно-філогенетичний аналіз виявив наявність двох відокремлених клад з великим бутстрепом, та засвідчив значну генетичну диференціацію між окремими зразками, що перевищує рівень внутрішньовидової мінливості, характерний для роду *Gryllotalpa*.

У роботі застосовано сучасні методи молекулярної біології: виділення ДНК, полімеразна ланцюгова реакція, гель-електрофорез, секвенування, аналіз нуклеотидних послідовностей, побудова філогенетичних дерев баєсівським методом.

У роботі наведено узагальнені дані про видове різноманіття роду *Gryllotalpa* на території України та Європи. Отримані результати молекулярного аналізу, зокрема структура побудованого філогенетичного дерева та значення генетичних дистанцій між дослідженими зразками, свідчать про те, що на території сучасної України мешкають представники капустянок, які демонструють суттєву генетичну відокремленість і можуть належати до раніше не ідентифікованих філогенетичними та морфологічними характеристиками, що потребує подальшого дослідження.

Дипломна робота складається з 65 сторінок, містить у собі 29 таблиць, 10 рисунків, 1 формулу, 43 використані джерела.

Ключові слова: родина *Gryllotalpidae*, капустянка, морфометрія, морфологічні індекси, молекулярна філогенетика, мітохондріальний ген COI, секвенування, систематика, статистичний аналіз.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД І АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1. Біологія та екологічна роль представників інфраяду <i>Gryllidea</i>	8
1.2. Родина Капустянки (<i>Gryllotalpidae</i>): морфологічні особливості та систематика.....	14
1.3. Огляд фауни <i>Gryllotalpa</i> Східної Європи та України. Сучасні уявлення про <i>Gryllotalpa gryllotalpa complex</i>	16
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	23
2.1. Матеріали дослідження.....	23
2.2. Методи дослідження.....	25
2.2.1. Морфометричний аналіз.....	25
2.2.2. Методи молекулярно-генетичних досліджень.....	29
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	36
3.1. Морфологічний аналіз.....	36
3.2. Філогенетичний аналіз.....	51
3.3. Порівняння дендрограми кластерного аналізу та філогенетичного дерева.....	55
ВИСНОВКИ	57
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	58

ВСТУП

Актуальність теми: Представники ряду Прямокрилих (*Orthoptera*) – є одними з найбільш значущих мешканців трав'янистих екосистем. Їх можна вважати одними з найдревніших комах. Загалом у цьому ряді налічується близько 22 500 видів [1].

Прямокрилі, насамперед саранові, можуть споживати значну частину фітомаси – іноді до 30% і більше. При цьому вони виступають у ролі стимуляторів мікробіологічного процесу розпаду та мінералізації рослинної маси в степових екосистемах, а також є їжею для багатьох м'ясоїдних хребетних, хижих та паразитичних безхребетних тварин. Завдяки цьому вони виступають індикаторами стану природних екосистем та є необхідними для підтримання біологічної рівноваги.

Однією з гілок ряду Прямокрилих є надродина Цвіркуни (*Gryllidae*). Цвіркуни поширені по всьому світу, причому найбільше різноманіття спостерігається в тропіках [26]. Вони зустрічаються в різноманітних середовищах існування: від луків, чагарників і лісів до боліт, пляжів і печер. Цвіркуни колонізували багато великих і малих островів, іноді пролітаючи над морем, щоб досягти цих місць, а іноді переміщувалися на плавучій деревині чи разом з діяльністю людини [29]. Представники цієї надродини включають як трав'яїдні, так і хижі види, зафіксовано також випадки канібалізму. В житті людини цвіркуни також мають велику роль. У багатьох країнах їх використовують у якості їжі, наприклад, як закуски, або роблять з них борошно; згадки про цвіркунів зустрічаються у деяких фольклорних та літературних творах [2]; цвіркунів тримають як домашніх тварин, і в деяких країнах вони вважаються символом удачі. Але велика частина людства знає деякі групи цвіркунів, як шкідників сільськогосподарських культур.

Прикладом таких «шкідливих» цвіркунів є родина Капустянок (*Gryllotalpidae*). Це родина крупних риючих комах, які належать до надродини Цвіркуни (*Grylloidea*), підряду Довговусі (*Nematocera*). Представники цієї родини можуть шкодити технічним, кормовим, овочевим культурам, як у відкритому ґрунті, так і в парниках. Крім того, зустрічаються по берегах різних водойм, де вони живляться багатьма видами ґрунтових безхребетних [42]. Як зазначає І.Я. Трускавецька у своїй роботі «Фітосанітарний моніторинг капустянки звичайної (*Gryllotalpa gryllotalpa* L.) в овочевих агроценозах присадибної ділянки с. Седлище Любешівського району» (2019): «Капустянка звичайна (*Gryllotalpa gryllotalpa* L.) – вид, що останніми роками почав інтенсивно розмножуватися, в результаті чого значно зросла його шкідливість та є досить актуальною проблемою у період сьогодення» [40]. Проте, у Великій Британії з 1996 року діє програма (UK Biodiversity Action Plan (UK BAP)) по збереженню, штучному розведенню та поширенню *Gryllotalpa gryllotalpa* L [8].

Попри наявність відомостей про шкодочинність капустянок, і постійну боротьбу з ними, питання їхнього видового різноманіття на території України залишається малодослідженим. Існуючі дані мають переважно фрагментарний характер і не дають повної картини таксономічного складу та поширення цих комах у різних регіонах. Відсутність узагальненої інформації ускладнює розуміння особливостей формування їхніх популяцій та зв'язків з умовами середовища, а також прогнозування спалахів їх чисельності. Це особливо актуально в умовах зміни клімату, інтенсифікації землеробства та глобалізації, які сприяють змінам ареалів і навіть інтродукції нових видів.

Результати дослідження зможуть бути використані для розробки регіональних карт поширення капустянок, удосконалення системи фітосанітарного моніторингу, оптимізації заходів захисту рослин, а також

для оцінки біорізноманіття й екологічного стану агроландшафтів. Це робить обрану тему дослідження видового складу та таксономії капустянок не лише актуальною, а й науково цікавою.

- **Мета дослідження:** Дослідити морфологічні ознаки та філогенетичні зв'язки представників роду *Gryllotalpa* sp. на території України.

Завдання:

- Провести порівняння морфологічних ознак зібраних зразків;
- Виділити геномну ДНК зі зразків, зібраних у Словенії та різних регіонах України;
- Провести полімеразну ланцюгову реакцію фрагменту мітохондріального гену COI та його секвенування із зазначених зразків;
- Реконструювати філогенетичне дерево представників роду *Gryllotalpa* за фрагментом мітохондріального гену COI;
- Зробити висновки щодо систематичного положення представників роду *Gryllotalpa* sp. з території України та Словенії, на основі морфологічного та філогенетичного аналізу.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД І АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Біологія та екологічна роль представників інфраряду

Gryllidea.

Цвіркуни – група надродин (*Grylloidea* та *Gryllotalpoidea*) прямокрилих комах з інфраряду *Gryllidea*, які відносяться до підряду Довговусі прямокрилі (*Ensifera*). Вони є спорідненими з чагарниковими цвіркунами (*Tettigoniidae*), які формують окремий інфраряд у складі підряду *Ensifera*. За даними сучасної систематики нараховується близько 2400 представників цієї надродини [34].

Цвіркуни – комахи маленького або середнього розміру, тіла яких, переважно, мають циліндричну форму трохи сплющену вертикально. Голова має кулеподібну форму з довгими тонкими членниковими антенами, що виходять з конусоподібних черешків (перших сегментів), і відразу за ними розташовані два великих складних ока. На лобній частині голови розташовані три простих вічка [27].

Грудний відділ цвіркунів має трапецієподібну форму, вона добре склеротизована, з великим вмістом хітину. На кінчику черевця є пара довгих церок, а у самок зазвичай циліндричний, довгий та вузький яйцеклад. Передні ноги ходильні, інколи бувають риючі, як, наприклад, у родини Капустянки. На гомілках передніх ніг розташовані один або два тимпальні органи, які виконують функцію сприйняття звуку. Задні ноги багатьох цвіркунів пристосовані до стрибків (але не у всіх видів), бо мають подовжені та розширені стегна. Гомілки задніх ніг, а інколи і передніх, озброєні низкою рухливих шпор, розташування яких залежить від виду [27].

Цвіркуни мають ротовий апарат гризучого типу, щелепи відносно потужні, та відомо декілька видів, які можуть кусати людей. Харчуються як тваринною, так і рослинною їжею. Деякі види повністю травоядні,

харчуються листям, квітами та фруктами. Також багато цвіркунів відомі, як шкідники сільськогосподарських культур, вони пошкоджують саджанці, трави, шматочки листя та пагони молодих рослин. Інші види є більш хижими, та можуть додавати до свого раціону яйця безхребетних тварин, личинок, лялечок, щитівок та попелиць, інколи відомі навіть випадки канібалізму [16].

Крила лежать щільно притиснуті на тілі і сильно різняться за розміром у різних видів. Деякі види, наприклад, *Myrmecophilidae* та *Mogoplistidae* мають повністю редуковані крила; інші мають невеликі передні крила і не мають задніх крил, наприклад, *Copholandreus*; також є види позбавлені задніх крил і мають укорочені передні крила лише у самок, тоді як четверті мають задні крила довші за передні. Надкрила мають великий вміст хітину, та пристосовані для захисту від хижаків та механічних пошкоджень. У самців на крилах містяться стридуляційні органи для вироблення звуку. Задня пара крил – тонка перетинчаста, складається віялоподібно під передньою парою. У багатьох видів крила не пристосовані до польоту, але є види, такі як, наприклад, *Gryllus assimilis*, які злітають та літають дуже ефективно [31].

Поліморфізм крил часто спостерігається у багатьох рядах комах, особливо у видах *Orthoptera*, *Coleoptera* та *Hemiptera*. Поліморфізм полягає у дискретних відмінностях у довжині крил, причому морфологічні форми мають повністю розвинені (макроптерні), зменшені (брахіптерні) або повністю відсутні крила (аптерні). Окрім відмінностей у довжині крил, морфологічні форми часто відрізняються за деякими іншими морфологічними, фізіологічними та біологічними характеристиками, такими як ступінь розвитку м'язів, необхідних для польоту, тривалість стадії німфи, час до першого розмноження, фертильність та діапауза [20].

Є також види, наприклад, *Gryllus firmus*, які мають поліморфічні крила [4]. Тобто деякі особини цього виду мають довгі та повністю функціональні задні крила, в той час як інші мають короткі крила та не спроможні до польоту. У другому випадку, самиці, у яких крила короткі, мають менш розвинені літальні м'язи, але в той же час, мають більший розвиток яєчників і виробляють більше яєць. У деяких довгокрилих особин літальна мускулатура погіршується у дорослому стані, і репродуктивні можливості комах покращуються. Отже, поліморфізм пристосовує цвіркуна або до розповсюдження, або до розмноження, в залежності від умов зовнішнього середовища [20].

Цвіркуни поширені від тропічних до помірних регіонів, причому найбільша різноманітність спостерігається в тропіках. Вони зустрічаються в різноманітних середовищах існування: від луків, чагарників і лісів до боліт, пляжів і печер [26]. Поширення цвіркунів по всьому світу відбувається двома способами, по-перше, перельотом популяцій з одного регіону в інший, по-друге, через діяльність людини, таку як торгівля, випадкове транспортування вантажу та навмисне випускання для біологічного контролю або в якості домашніх тварин. Здатність цвіркунів швидко розмножуватися, пристосовуватися до різних середовищ і виживати без спеціалізованих середовищ існування також допомогла їх глобальному поширенню.

Більшість видів цвіркунів ведуть нічний спосіб життя і проводять день, сховавшись у тріщинах, під корою, всередині листя, що скручується, під камінням або поваленими колодами, в опалому листі або у тріщинах у землі, які утворюються в суху погоду. Деякі викопують власні неглибокі нори в гнилій деревині або під землею і згинають вусики, щоб приховати свою присутність. Деякі з цих нір є тимчасовими притулками, які використовуються протягом одного дня, але інші служать більш постійними місцями проживання та місцями для спарювання, відкладання

яєць. Цвіркуни риють нори або за допомогою передніх риючих ніг, або за допомогою нижніх щелеп, розпушують ґрунт, а потім переносять його кінцівками, відкидають його назад задніми лапами або штовхають головою.

Іншими способами захисту є камуфляж, втеча та агресія. Деякі види мають забарвлення, форми та візерунки, які ускладнюють їх пошук хижаками, які полюють за допомогою зору. Вони, як правило, мають різні відтінки коричневого, сірого або зеленого кольорів, а пустельні види, як правило, мають бліде забарвлення, яке зливається з навколишнім середовищем [29].

Не зважаючи на те, що частіше цвіркунів можна зустріти у нічний час, удень їх можна почути, завдяки їхньому «співу». Більшість самців цвіркунів видають голосні звуки за допомогою стридуляції. Стридуляційний орган розташований на передньому крилі, яке має шкірясту структуру. Велика вена проходить уздовж центру кожного щитка з гребінчастими зазубринами (приблизно від 50 до 250 зубців) на її краю, а на задньому краї щитка є спеціальний скребок. Частота звучання залежить від кількості вдарених зубів за секунду і коливається від 1500 циклів за секунду у найбільших видів цвіркунів до майже 10 000 циклів за секунду для найменших [3]. Надкрила тримаються під кутом до тіла й ритмічно піднімаються й опускаються, що змушує скребок на одному крилі стукати по напилку іншого. Центральна частина надкрила містить «арфу», ділянку товстої склеротизованої мембрани, яка резонує та підсилює гучність звуку, як і повітряна кишеня між надкрилком та стінкою тіла. Більшість самок цвіркунів не мають необхідних пристосувань для стридуляції, тому не видають звуків [1].

У репертуарі деяких видів є кілька типів пісень. Наприклад, заклична гучна пісня приваблює самок і відштовхує інших самців. Пісня залицяння використовується, коли самка цвіркуна знаходиться поруч, і заохочує її

спарюватися з тим, хто кличе. Тріумфальна пісня звучить протягом короткого періоду після успішного спарювання і може зміцнити шлюбний зв'язок, щоб заохотити самку відкласти кілька яєць, а не знайти іншого самця. Агресивна пісня запускається контактними хеморецепторами на антенах, які виявляють присутність іншого самця цвіркуна.

Цвіркуни співають з різною швидкістю залежно від свого виду та температури навколишнього середовища. Більшість видів співають інтенсивніше, чим вище температура. Взаємозв'язок між температурою та чистотою скрекотання відомий як закон Долбера. Це емпіричний закон, який встановлює взаємозв'язок між температурою повітря зі швидкістю стрекотіння цвіркунів і дозволяє визначити температуру повітря, якщо вона знаходиться між 5°C і 30°C. Він був сформульований Амосом Долбером і опублікований в 1897 в статті під назвою «Цвіркун як термометр» [6].

Цвіркуни – геміметаболичні комахи, життєвий цикл яких складається зі стадії яйця, стадії личинки або німфи та дорослої особини або імаго. Цвіркуни проходять серію з 9 – 11 німфальних стадій, та стають все більш схожими на імаго з кожним послідовним линянням. Після останньої линьки, статева система та крила повністю розвинені, але перед тим як цвіркун буде готовий до розмноження, потрібен пройти період дозрівання [22].

Самці, які здатні до стридуляції, закликають самиць за допомогою пісень, а нестридуляційні види мають інші механізми приваблювання. Після того, як пара встановила антенний контакт, може наступити період залицання, при якому змінюється характер пісні. В процесі копуляції самка сідає на самця, і один сперматофор переноситься на зовнішні статеві органи самки. З цього сперматофору сперма потрапляє в яйцепровід самки протягом декількох хвилин або до години, в залежності від виду. Після копуляції самка може видалити або з'їсти сперматофор.

Більшість цвіркунів відкладають свої яйця у ґрунт або в стебла рослин, і для цього самки цвіркунів мають довгий, схожий на голку або шаблеподібний орган для відкладання яєць, який називається яйцекладом. Деякі види, що живуть на землі, обходяться без нього, яйцеклад у таких видів може бути вкорочений. Вони відкладають яйця в підземну камеру, яку вони вирили до цього, або штовхають їх у стінку нори. Прикладом таких цвіркунів є родина Капустянок.

Цвіркуні зустрічаються у різних аспектах людської життєдіяльності. По-перше, усім відомо, що деякі види цвіркунів використовуються людиною, як їжа. У південній частині Азії, цвіркунів зазвичай їдять як закуску. У Таїланді є 20 000 фермерів, які вирощують цвіркунів, з приблизною продукцією 7500 тон на рік [14]. Цвіркунове борошно можна використовувати як добавку до харчових продуктів, вони використовуються в протеїнових батончиках, кормах для домашніх тварин, харчових добавках та інших промислових цілях. Організація об'єднаних націй стверджує, що використання білка комах, наприклад, борошна з цвіркунів, може мати вирішальне значення для годування зростаючого населення планети, водночас завдаючи меншої шкоди навколишньому середовищу [10].

Ще один прикладом використання цвіркунів у житті людини є те, що їх тримають як домашніх тварин, і в деяких країнах використовують для «притягнення удачі». В Китаї є традиційна розвага, яка називається «Cricket fighting», діяльність азартна гра, яка пов'язана з боротьбою самців цвіркунів, і бере свій початок понад 1000 років з часів династії Тан [18].

Також з цвіркунами пов'язано багато фольклорних оповідань, міфів та літературних творів. Наприклад, цвіркуні є головними героями романів і дитячих книжок (повість Чарльза Діккенса «Цвіркун домашнього вогнища» 1845 року тощо).

1.2. Родина Капустянки (*Gryllotalpidae*): морфологічні особливості та систематика.

Родина капустянок (*Gryllotalpidae*) належить до надродина *Grylloidea* підряд *Ensifera* ряд *Orthoptera* і об'єднує крупних, риючих комах, пристосованих до підземного способу життя. Морфологічні особливості цих комах тісно пов'язані з їх екологією та поведінкою.

Довжина тіла більшості видів становить 40 – 80 мм, забарвлення переважно буре або коричнево-буре (в залежності від умов існування), інколи з темними плямами на переднеспинці.

Тіло подовжене, помірно сплюснуте, з добре розвиненою кутикулою, що захищає під час пересування у ґрунті. Голова велика, направлена вперед і дещо видовжена, як і переднеспинка. На голові є потужні мандибули, які пристосовані для живлення як рослинами, так і тваринним кормом. Очі відносно невеликі, фасеткові. Вусики короткі та дещо потовщені, що є очевидною адаптацією до їхнього підземного способу життя, вони виконують тактильну та хемосенсорну функцію.

Переднеспинка сильно склеротизована і дещо куполоподібна, прикриває частину голови та грудей. Передні крила вкорочені, щільні, з вираженою жилкуватістю, у самців пристосовані до стридуляції. Задні крила перетинчасті, добре розвинені, але використовуються рідко, здебільшого під час розселення.

Усі види родини проводять своє життя у підземних тунелях, які викопують модифікованими передніми кінцівками, які перетворені в потужні копальні органи: гомілки сплюснуті, з великими зубцями та розширеними передніми лапками, що виконують роль «лопат». Середні та задні ноги більш тонкі, проте мають добре розвинену мускулатуру для пересування у ґрунті та на поверхні. Черевце має церкальні придатки – чутливі органи, які реагують на коливання повітря та ґрунту, а також

допомагають рухатись назад у підземних норах. У самок відсутній зовнішній яйцеклад [24].

Родина капустянок включає п'ять родів і більше ніж 100 описаних видів, відносно широко поширених по світу [24]. Вони мешкають на сільськогосподарських полях, трав'янистих ділянках, по берегах водойм. Капустянки викопують тунелі двох типів: вертикальні нори, які використовуються для сховку від хижаків, зимівлі та линьки, і горизонтальні тунелі для годування, спарювання та втечі.

Самці стридулюють увечері та вночі зі спеціальної акустичної камери, зазвичай циліндричної форми, з одним або декількома розширеними вгору отворами (горнами). Акустична активність починається з другої половини червня та продовжується відносно недовго, приблизно, 2 – 3 тижні. При цьому температура ґрунту не повинна опускатись менше 18 – 19 °С. Кількість співаючих самців завжди дуже низька, відстань між кожним з них складає десятки та сотні метрів. Частіше за інших співають самці-одинаки, котрі мешкають на невеликих ізольованих ділянках з вологим ґрунтом. Відомі п'ять типів пісень: заклична, докопуляційна («залицяльна»), територіальна, агресивна та погрозлива (протестувальна) [19].

У роду *Gryllotalpa* частоту співу можна використовувати при розпізнаванні видів, наприклад, вид *G. gryllotalpa* та *G. vineae*, або відрізнити види *G. gryllotalpa*, *G. unispina* та *G. stepposa*. Інші морфологічні характеристики, які використовуються для розрізнення видів, це: геніталії самців, жилкування крил, кількість зубів у стридуляційного апарату, морфометрія, кількість хромосом і навіть кутикулярні вуглеводні [17].

Родина *Gryllotalpidae* поділяється на кілька родів, серед яких найбільш відомі *Gryllotalpa*, *Neocurtilla* та *Neoscapteriscus* [15]. У Європі найбільш поширеними є представники роду *Gryllotalpa*, який містить

кілька близьких видів та видові комплекси, важкі для ідентифікації [17]. Класифікація цієї групи ускладнюється високою морфологічною подібністю між видами, що часто потребує залучення молекулярних методів для точної діагностики.

1.3. Огляд фауни *Gryllotalpa* Східної Європи та України. Сучасні уявлення про *Gryllotalpa gryllotalpa complex*.

Капустянки є на всіх континентах, за винятком пустель та Антарктиди; до 2014 року було описано більше 100 видів, і, ймовірно, буде виявлено більше, особливо в Азії. Наприклад, *Scapteriscus didactylus* – вид шкідників, що походить з Південної Америки; він поширився на Вест-Індію та Новий Південний Уельс в Австралії [11]. Африканська капустянка (*Gryllotalpa africana*) – головний шкідник у Південній Африці; інші види роду Капустянки (*Gryllotalpa*) широко поширені в районах Європи, Азії та Австралії.

Група видів роду *Gryllotalpa* зустрічається по всій Європі, від Великобританії до Ірану та Центральної Азії. У роді *Gryllotalpa* відомо 15 видів, з яких 12 зустрічаються в Європі: *G. gryllotalpa* (Linnaeus, 1758) – поширений по всій Європі, за винятком найпівденніших районів; *G. septemdecimchromosomica* (Ortiz, 1958) – поширений на Піренейському півострові, півдні Франції, Тоскані та Умбрії в Італії; *G. vinae* (Bennet-Clark, 1970) – на півдні Франції; *G. sedecim* (Baccetti&Capra, 1978) і *G. octodecimo* (Baccetti&Capra, 1978) – у північно-західній Італії, південно-східній Франції та Сардинії; *G. quindecim* (Baccetti&Capra, 1978) – на півдні Італії та Сицилії, *G. viginti* (Baccetti&Capra, 1978) – на північному заході Італії (Лігурія); *G. cossyrensis* (Baccetti&Capra, 1978) – на острові Пантеллерія; *G. vigintiunum* (Baccetti, 1991) – на Сардинії; *G. kimbasi* (Baccetti, 1992) – у Греції; *G. stepposa* (Zhantiev, 1991) – на Балканському півострові, Молдові, півдні України, півдні степової зони Європейської Росії, Кавказі, Середній Азії, Саудівській Аравії; і *G. unispina*

(Saussure, 1874) – уздовж узбережжя Чорного і Каспійського морів і в Центральній Азії [17].

В дослідженнях Iorgy I. S., Iorgu E. I., Puskas G. et al. (2016) [17] визначено, що на території сучасної східної Європи відомо три види капустянок. Капустянка звичайна (*Gryllotalpa gryllotalpa* L.), котра населяє лісну, лісостепову та північ степних зон; описана у 1991 р. Жантієвим Р. Д. Капустянка степова (*Gryllotalpa stepposa* Zhant.), ареал котрої включає південь степної зони, Кавказ та передгір'я Копетдагу; та широко поширена у Середній Азії – Капустянка одношипна (*Gryllotalpa unispina* Sauss.), яку також можна зустріти і на узбережжі Чорного та Каспійського морів [17].

Капустянка звичайна (*Gryllotalpa gryllotalpa* L.)

Це досить велика комаха, довжина тіла якої сягає приблизно 3,5 – 5 см, має тверді хітинові покриви. Забарвлення складається з темно-бурих кінцівок, голови, грудей та черевця з верхньої сторони, котре світлішає до низу.

Черевце приблизно у 3 рази довше ніж головогруди, м'яке, крила віялоподібної форми. Церки на кінці черевця дорівнюють близько 1 см. Головний панцир твердий, голова може частково ховатися для захисту. Ротовий апарат гризучого типу. На голові розташовані два великих ока та довгі вуси. Задні лапи не здатні до стрибків, передні лапи видозмінені у так звані «лопати», призначенні для проривання тунелів під землею. Задні гомілки мають по 3 – 4 шипа на внутрішньому боці. Мають дві пари великих крил: шкірясті, потовщені передні надкрила та тонкі, сітчасті задні крила [35].

Не дивлячись на нормальний розвиток крил та надкрил та повну відсутність короткокрилих форм, цей вид, судячи з усього, не має здібностей до повноцінного польоту, незалежно від статі та стадії розвитку.

Самиця відкладає яйце діаметром приблизно 3 – 3,5 мм, за формою та розміром воно нагадує просяне зерно, темне, з легким коричневим нальотом і зеленуватим полиском. Личинки схожі на імаго, мають різні розміри на різних стадіях линяння: у I віці до 15 мм, у II – до 20 мм, в III – до 25 мм і в IV – 35 мм. Кількість члеників вусиків становить відповідно 34, 70, 85 і 100. У пронімф (личинок IV віку) з'являються зачатки крил завдовжки не менш як 2 мм, після п'ятого, шостого линяння вони сягають 7 – 8 мм.

Цей вид широко поширений на території майже всієї Європи, його місцезнаходження поширюється від Піренейського півострова, Італії та Македонії на півдні до Англії, південної Швеції та північно-західної європейської Росії на півночі. В лісній зоні він спостерігається на узбережжях невеличких озер та інших прісноводних водоймищах, ніде не досягаючи великої чисельності. У лісостеповій та степовій зонах звичайна капустянка є масовим видом, котрий мешкає на будь-яких ділянках з достатньо високою вологістю – по узбережжя річок, прісноводних озер, на зрошених землях та інше [4].

Капустянка звичайна добре плаває та може долати значні водні перешкоди. Під час повені можуть переноситись на плаваючих об'єктах.

Зимують дорослі комахи, німфи та личинки. Із місць зимівлі виходять у різні строки, що невід'ємно пов'язано з температурним режимом навколишнього середовища. У верхніх шарах ґрунту з'являються, коли він прогріється на глибині 20 – 30 см до 8 – 10 °С. На весні самка викопує спеціальну земляну камеру на глибині 10 – 20 см, куди відкладає до 360 яець. Личинки відроджуються у червні – липні, а вже у серпні – вересні популяція капустянки складається з личинок III – IV віків і дорослих комах. Повний цикл розвитку капустянки звичайної у Лісостепу України триває близько двох років, а у північній частині – ще більше [36].

Капустянка степова (*Gryllotalpa stepposa* Zhant.)

Довжина тіла представників цього виду сягає 4 – 5,5 см. Голова, переднеспинка, черевце, дорсальна поверхня задніх стегон бурі, інші покриви буро-жовті.

Переднеспинка подовжено-овальна, інколи потовщено-яйцеподібна, її довжина приблизно у 1,5 рази перевищує максимальну ширину. Передні ноги видозмінені, риючі. На задніх гомілкях 4 – 5 шипів на внутрішній поверхні зверху. Надкрила потовщені, добре розвинуті з добре пігментованими поперечними жилками. Крила заходять за кінець черевця. У представників степових капустянок зустрічаються окремі особини з вкороченими крилами. Самці та самиці з нормально розвиненими крилами мають добрі здібності до польоту. Можуть бути спіймані за рахунок світлових або звукових пасток.

Ареал цього виду включає Молдову, південь України, Прекавказ'я, Кавказ та південь Туркменії. Цей вид дуже схожий за своїм екологічним положенням до звичайної капустянки, він також мешкає у зоні підвищеної вологості ґрунту, по узбережжям прісноводних водоймищ та зрошених землях, але відрізняється більшою здатністю витримувати високі температури та підвищеною стійкістю до дефіциту вологи [17].

Капустянка одношипна (*Gryllotalpa unispina* Sauss.)

Велика комаха з довжиною тіла близько 4 см. Забарвлення тіла від бурого до буро-жовтого. Переднеспинка витягнута, подовжено-овальної форми. Надкрила довгі, потовщені, мають маленькі поперекові жилки, які мають невелику пігментацію. Крила можуть виходити за межі черевця, але є особини, які мають їх вкорочені. Самці та самки з нормально розвиненими крилами добре літають [17]. Передні лапи потовщені, видозмінені, та слугують для риття, мають великі зубці. Гомілки задніх лап

мають по 2 – 3 шипи, які розділені великим проміжком між першим та наступними.

Представників цього виду можна знайти від берегів Чорного та Каспійського морів, через Казахстан, Середню Азію, Іран, Афганістан до південного Китаю. На відміну від попередніх видів, одношипна капуста – це галофіт, яка мешкає лише в засолених ґрунтах по берегам морів, озер і на вологих солончаках [17].

Для України історично вважалось, що фауна капустянок представлена одним видом – *Gryllotalpa gryllotalpa* L., однак сучасні дослідження показують, що ця назва охоплює цілий комплекс морфологічно близьких форм, які можуть мати статус окремих видів або підвидів [17]. Так званий *Gryllotalpa gryllotalpa complex* включає популяції, що відрізняються за набором генів, акустичними сигналами та певними морфометричними ознаками, але зберігають подібний зовнішній вигляд.

Складність ідентифікації видів комплексу зумовлює необхідність поєднання класичних морфологічних методів з молекулярно-генетичними, а також аналізом акустичної сигналізації самців. Це особливо важливо для виявлення критичних видів і уточнення ареалів їх поширення.

Gryllotalpa vinae Bennet-Clark

Цей вид капустянки вперше був описаний у 1970 році у південно-західній Європі. У межах Піренійського півострова цей вид є одним із чотирьох зареєстрованих видів капустянок, які розрізняють переважно за розмірами та пропорціями тіла. Найближчим морфологічним аналогом є *G. gryllotalpa*, і для їхньої діагностики зазвичай потрібні детальні біометричні дослідження.

Визначними видовими ознаками *G. vinae* є 42 - 50 зубців у стридулюючій дузі самця; 18,5 - 21,5 мм – довжина передніх крил; довжина

задніх крил сягає приблизно 35 - 45 мм. Оптимальним середовищем існування для цього виду є сухі добре дреновані ґрунти [31].

Вважається, що цей вид відрізняється від звичайної капустянки своїм характерним співом. *G. vineae* видає голосніший звук, ніж інші капустянки. Самці продукують шлюбний сигнал шляхом швидких ритмічних рухів передніх крил: задній край лівого крила, що виконує функцію плектра, третється об нижній край правого, на якому розташований ряд зубців. Унаслідок цього виникають вібрації з частотою близько 3500 коливань за секунду, а спеціалізована ділянка крила, що виконує роль «арфи», резонує на тій самій частоті та підсилює звук.

Стридуляція відбувається всередині нори, що має Y-подібну форму: два отвори виходять на поверхню, а нижче за ними розміщена розширена камера. Самець повертається хвостовою частиною тіла до цієї камери й виконує «спів» у напрямку розгалуження тунелю. Розширення нори працює як природній резонатор, знано підсилюючи звук. На відстані 1 м сила сигналу досягає приблизно 90 дБ, а почути його можна на дистанції до 600 м [13].

Підсумовуючи наведені літературні дані, можна стверджувати, що питання систематики та видового складу роду *Gryllotalpa* на території Східної Європи та, зокрема, України залишається відкритим. Незважаючи на наявність морфологічних описів окремих видів та порівняльних характеристик [17], доступна інформація щодо структури групи все ще є фрагментарною. Висока морфологічна подібність між близькими видами зумовлює потребу у використанні сучасних молекулярно-генетичних методів аналізу.

Окрему увагу привертає той факт, що сучасні роботи, присвячені вивченню фауни капустянок у межах України, охоплюють лише певні регіони та не створюють цілісної картини їх поширення. Так, роботи щодо

фітосанітарного моніторингу *G. gryllotalpa* здебільшого зосереджені на локальних агроценозах [40], тоді як дані про поширення видів у Східній Європі подаються переважно у вигляді окремих знахідок або ревізій окремих груп [11, 17]. Також частина інформації базується на застарілих класифікаційних підходах, які не враховують сучасні генетичні дослідження. Це призводить до суперечностей у літературі та ускладнює визначення реальної видової структури групи в Україні.

Сукупність цих факторів потребує уточнення про видовий склад і філогенетичні зв'язки представників роду *Gryllotalpa* на території України. Тому проведення комплексного дослідження, що поєднує морфологічний аналіз та молекулярно-філогенетичні методи, є доцільним і науково обґрунтованим. Такий підхід дозволить не тільки уточнити дані про видовий статус, алей й поглибить розуміння еволюційних взаємозв'язків між популяціями, а також сформувати більш доповнену картину поширення цих комах у різних регіонах.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Матеріали дослідження

Збір живого матеріалу проходив протягом 2022 – 2024 років. Студенти біологічного факультету Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна надсилали на кафедру зоології та екології тварин представників родини Капустянки, яких збирали під час проходження літньої польової практики. Також були надіслані зразки з території м. Любляна, Словенія. Самців та самиць відловлювали розкопуючи ґрунт, та зберігали у морозильній камері у 96° спирті, для подальших досліджень у лабораторії ХНУ ім. В. Н. Каразіна. Загалом було отримано близько 20 особин з різних регіонів України та Словенії.

У 2024 році в лабораторії молекулярної філогенетики та еволюції кафедри зоології та екології тварин біологічного факультету ХНУ ім. В. Н. Каразіна було відібрано 15 особин для подальшої роботи та проведення філогенетичного аналізу. Ці зразки обирались за регіоном їхнього походження (рис. 2.1), в пріоритеті були особини, які набули стадії імаго.

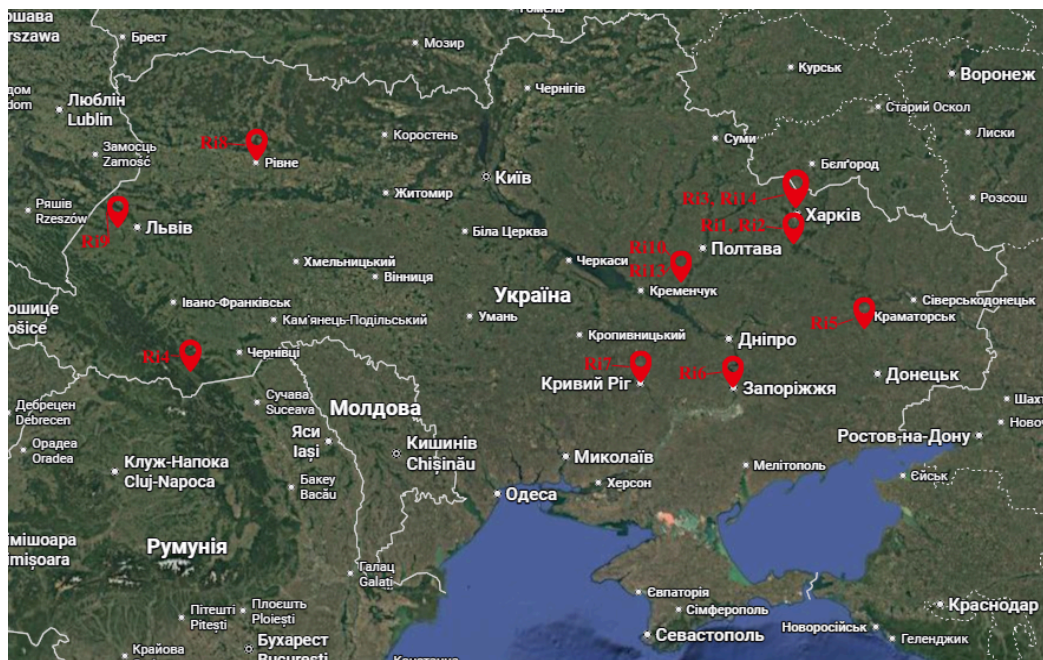


Рис. 2.1. Місце збору особин, позначене у GoogleMaps

Кожному зразку надали власний номер, який разом з регіоном їх збору надається у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

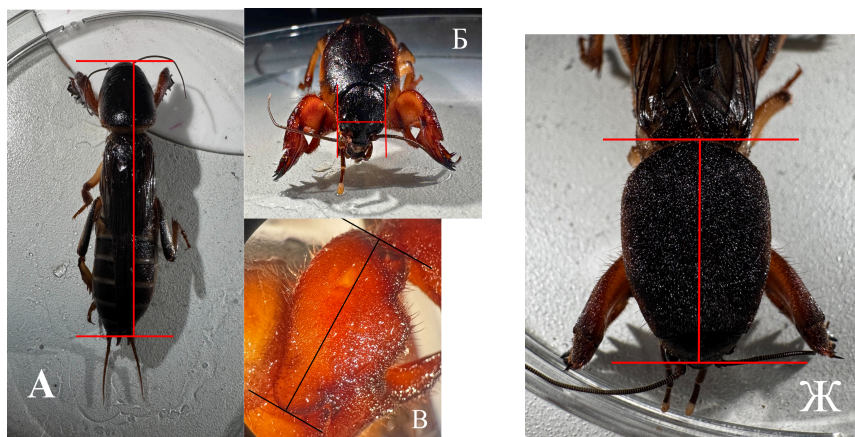
Зведені дані про локації збору зразків та номер їх ідентифікації

Номер зразку	Життєва форма	Місце збору
Ri1	Імаго	Україна, Харківська область, с. Гайдари, берег Іськова ставка (49.628611, 36.282148)
Ri2	Імаго	Україна, Харківська область, с. Гайдари, берег Іськова ставка (49.628611, 36.282148)
Ri3	Імаго	Україна, Харківська область, м. Харків (49.936585, 36.327649)
Ri4	Личинка	Україна, Чернівецька область, с. Путила (47.996403, 25.088023)
Ri5	Імаго	Україна, Донецька область, м. Дружківка (48.613281, 37.546737)
Ri6	Імаго	Україна, Запорізька область, м. Запоріжжя (47.835508, 35.087026)
Ri7	Імаго	Україна, Дніпропетровська область, м. Кривий Ріг (47.881094, 33.344998)
Ri8	Імаго	Україна, Рівненська область, м. Рівне (50.601750, 26.195894)
Ri9	Імаго	Україна, Львівська область, біля с. Мальчиці (49.8550611, 23.7808667)
Ri10	Імаго	Україна, Полтавська область, с. Вітрова Балка (49.2531944, 34.0359722)
Ri11	Імаго	Словенія, м. Любляна (46.0489027, 14.4757329)
Ri12	Імаго	Словенія, м. Любляна (46.0489027, 14.4757329)
Ri13	Личинка	Україна, Полтавська область, с. Вітрова Балка (49.2531944, 34.0359722)
Ri14	Імаго	Україна, Харківська область, м. Харків (50.0481280, 36.2013680)
Ri15	Імаго	Словенія, м. Любляна (46.0489027, 14.4757329)

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Морфометричний аналіз.

Морфометричний аналіз зразків капустянок (*Gryllotalpa* sp.) проводився з метою кількісного оцінювання морфологічної варіабельності між особинами та уточнення їх видового складу. Для цього виконували детальні вимірювання морфологічних ознак, що є діагностично значущими для представників роду *Gryllotalpa*. Зокрема, вимірювали загальну довжину тіла (рис. 2.2 А), що визначалась від вершини голови до початку церок, ширину голови (рис. 2.2 Б), яка фіксувалась між зовнішніми краями очей, довжину та ширину переднеспинки (рис. 2.2 Ж, З), а також довжину передніх стегон і гомілок (рис. 2.2 В, Г), які є важливими для визначення видових ознак копальних структур. Крім цього, проводили підрахунок зубців на копальних гомілках, що є важливою морфологічною ознакою для диференціації близьких видів. Вимірювали довжину надкрил та крил (рис. 2.2 Д, Е), і розраховували їх співвідношення до загальної довжини тіла. Окремо враховували довжину церок (рис. 2.2 Є), які є стабільними ознаками і мають значення при визначенні таксономічного статусу окремих популяцій.



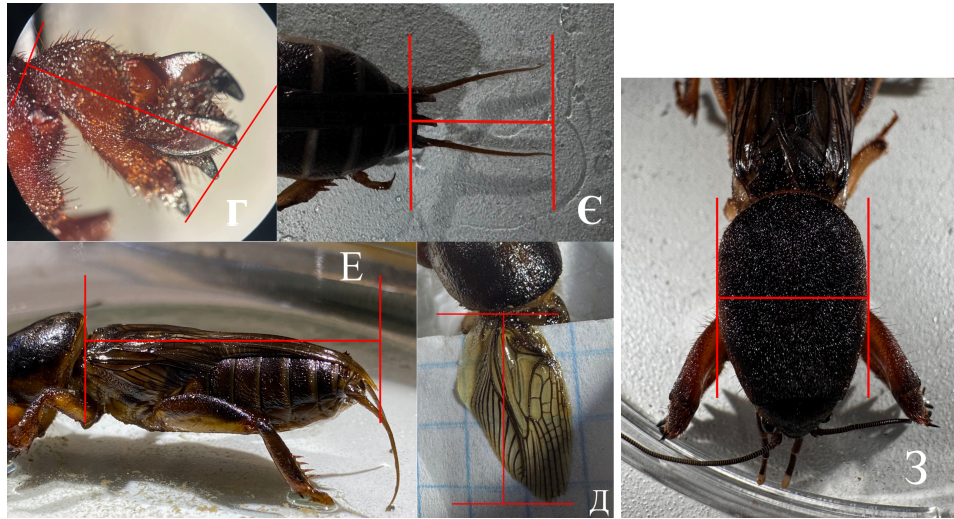


Рис. 2.2. Схема вимірювання морфологічних ознак (А – загальна довжина тіла; Б – ширина голови; В – довжина передніх стегон; Г – довжина передніх гомілок; Є – довжина церок; Е – довжина крил; Д – довжина надкрил; Ж – довжина переднеспинки; З – ширина переднеспинки)

Для забезпечення максимальної точності вимірювання використовували штангенциркуль із точністю 0,02 мм, який дозволяв отримати лінійні параметри з високою відтворюваністю, та стереомікроскоп Olympus SZX16 для детального вивчення дрібних структур, таких як зубці на передніх ногах. Кожну морфометричну ознаку вимірювали тричі, після чого визначали середнє арифметичне значення для кожної особини, що дозволило мінімізувати вплив випадкових похибок. Похибку вимірювання лінійних параметрів розраховували за стандартною формулою середньоквадратичної похибки повторних вимірювань, яка визначається як

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \langle x \rangle)^2}{n(n-1)}}$$

де: x_i – окреме вимірне значення ознаки;

$\langle x \rangle$ – середнє арифметичне всіх вимірювань для даної особини;

n – кількість повторювальних вимірювань

В даному дослідженні середньоквадратична похибка сягала – 0,42 , що забезпечувало достатню точність для проведення порівняльного аналізу [38].

Результати промірів представлені в таблиці 3.1. Також розраховані індекси співвідношення визначених параметрів до довжини тіла, довжини надкрил до довжини церок, довжини передніх стегон до довжини гомілок, довжини грудного відділу до його ширини. Отримані індекси використані у якості ознак, виділених за місцями збору, груп зразків.

Для проведення статистичних розрахунків та побудови графічних залежностей використовували програмне забезпечення Statistica 10.0 – це універсальний пакет статистичного аналізу, в якому реалізовані основні математичні методи аналізу даних. Цей пакет розроблено фірмою StatSoft, Inc (США). Дана програма є однією з найбільш поширених систем для багатофакторного статистичного аналізу у природничих науках. Вона забезпечує широкий набір інструментів для виконання описової статистики, перевірки гіпотез, дисперсійного, регресійного, факторного, кластерного та дискримінантного аналізів [41]. Порівняння виділених за географічними ознаками груп проведено з використанням t та F критеріїв при рівні значущості $p = 0,05$. Т-критерій Стьюдента (t-test) застосовується для оцінки того чи відрізняються середні значення двох вибірок статистично значуще. Цей метод застосовується у кількох типових ситуаціях: для порівняння середніх значень двох залежних вибірок (парний t-тест); для порівняння показників двох незалежних вибірок (незалежний t-тест); для порівняння середнього значення однієї вибірки з певною константною (t-тест для однієї вибірки). Використання t-критерію дає змогу оцінити, наскільки виявлені відмінності між вибірками є статистично значущими, і відповідно – наскільки обґрунтованими є подальші висновки щодо цих розбіжностей [39]. Критерій Фішера (F-тест) застосовується для порівняння двох і більше вибірок з метою визначення,

чи відрізняються їхні дисперсії між собою статистично значимо. Цей критерій використовують у випадках: щоб встановити, чи можна вважати порівнювальні групи однорідними за рівнем варіації; для перевірки припущення про рівність дисперсій перед застосуванням інших параметричних тестів (наприклад, t-тесту); при аналізі стабільності та варіативності морфометричних або біологічних показників у різних популяціях тощо. Якщо дисперсії вибірок істотно відрізняються, це свідчить про структурні або біологічні відмінності між групами та впливає на вибір подальших статистичних методів [25].

Проведено також дисперсійний аналіз (Tukey HSD test) трьох виділених географічних груп (лівобережна та правобережна Україна, Словенія) за отриманими індексами при рівні значущості $p = 0,05$. Процедура тесту Тьюкі-Крамера дає можливість одночасно порівняти всі можливі пари групових середніх і перевірити нульову гіпотезу про їхню рівність. Метод враховує випадковість і незалежність спостережень, нормальність розподілу в групах та однорідність дисперсій. На відміну від окремих t-тестів, тест Тьюкі контролює частоту помилки першого роду на рівні сімейства, що робить його надійнішим при великій кількості попарних порівнянь. Для кожної пари груп формується оцінка середньої різниці, стандартної помилки та дворічного інтервалу; якщо інтервал охоплює нуль, різниця вважається статистично значущою [43].

За визначеними індексами проведено кластерний аналіз (Евклідова відстань) всіх зразків для перевірки можливості використання цього методу для визначення групування об'єктів дослідження за географічними та морфологічними ознаками, та їх кореляцію з кладами філогенетичних дерев. Кластерний аналіз використовується для групування об'єктів у такі кластери, всередині яких елементи є максимально подібними між собою, а між кластерами – максимально відмінними. Основою оцінювання подібності слугує метрика відстані. Однією з найпоширеніших є евклідова

відстань, яка вимірює геометричну дистанцію між об'єктами у багатовимірному просторі ознак. Використання евклідової метрики дозволяє виявити структуру багатовимірних даних та визначити природні групи спостережень, що широко застосовується у статистиці та аналізі даних [9].

Додатково для кожного зразка проводити фотографування надкрил із використанням стереомікроскопа та камери, що надало змогу отримати зображення для подальшого морфометричного аналізу. Порівнювали їх форму, наявність і розташування жилок різного порядку. Особливу увагу приділяли будові стридуляційного апарату, оскільки він є важливою діагностичною ознакою для розрізнення стадій та морфів.

Дорослі особини усіх морф мають довгі крила, однак статі можна розрізнити за специфікою жилкування передніх крил. У самців передні крила містять пару великих трикутних комірок, які мають арфоподібну форму та виконують функцію у формуванні звукових сигналів. Ці дві комірки утворюють стридуляторну зону, що бере участь у резонуванні та створенні шлюбного співу. У самок ця зона редукована або повністю відсутня, що відповідає їх нездатності до вокалізації [20].

2.2.2. Методи молекулярно-генетичних досліджень.

Молекулярна філогенетика направлена на відтворення еволюційного процесу розвитку життєвих форм на Землі, створення їх еволюційної класифікації та пошук родинних зв'язків між цими формами, а також ідентифікацію за молекулярними ознаками. Молекулярно-філогенетичний аналіз являє собою отримання нових генетичних послідовностей, їх порівняння з раніше отриманими даними, вирівнювання та філогенетичний аналіз.

Вибір моделі є критичною проблемою в молекулярній філогенетиці, він впливає на якість аналізів, у тому числі на оцінку філогенії, рівня змін,

бутстреп аналіз, а також оцінку ключових параметрів популяції, таких як генетична різноманітність, рекомбінації, ріст популяції та природній відбір. Модель еволюції просто визначає, зі статистичної точки зору, ймовірність характер зміни в даних (нуклеотидних чи амінокислотних послідовностях). Так, для даних нуклеотидних послідовностей, наприклад, модель визначає ймовірність зміни від А до, Т, С, G або знов А і аналогічно для інших нуклеотидів.

Практична робота з генетичною інформацією являє собою отримання нових генетичних послідовностей, їх редагування та зберігання, порівнювання з раніше отриманими в світі послідовностями, вирівнювання та філогенетичний аналіз [37].

Молекулярні дослідження цієї роботи включали аналіз фрагментів полімеразно-ланцюгової реакції та побудову і аналіз філогенетичного дерева.

Виділення ДНК. Геномна ДНК була виділена з гонад та м'язів за допомогою протоколу Gene Elute Mammalian Genomic DNA Miniprepkit (Sigma-Aldrich).

ПЛР. Для полімеразно-ланцюгової реакції з кожного зразка було взято по фрагменту мітохондріального гена COI.

Реакція ампліфікації фрагмента мітохондріального гена проведена за допомогою двох праймерів: HCO2198-LCO1490 та dgLCO-dgHCO. Програма ампліфікації на ампліфікаторі АВ-9700. Інкубація проходила за таких умов: 94°C – 5 хв – денатурація; 5 циклів – предампліфікація: 94°C – 35 с – денатурація, 45°C – 40 с – енілінг, 72°C – 50 с – елонгація; 35 циклів – ампліфікація: 94°C – 35 с – денатурація; 51°C – 40 с – енілінг; 72°C – 50 с – елонгація; 72°C – 5 хв – термінація.

Якість ПЛР продуктів перевірялась за допомогою гель-електрофорезу в агарозному гелі (рис. 2.3)

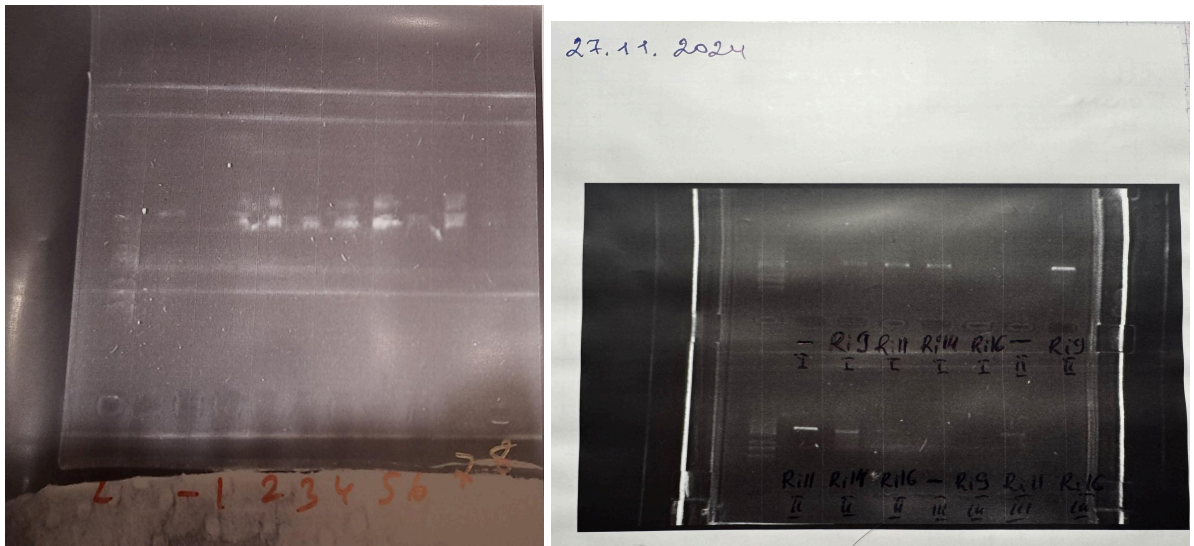


Рис. 2.3. Результати проведення ПЛР та гель-електрофорезу, проведених у 2024 та 2025 роках.

Після декількох невдалих перших спроб ампліфікації було вирішено, що потрібно перевірити кількість та чистоту ДНК в отриманих зразках. Цей процес було виконано у лабораторії науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» Національної академії наук.

Перевірка проходила методом спектрофотометрії. Цей метод полягає в тому, що розчин з ДНК розміщується в спектрофотометрі, який вимірює поглинання світла розчином при певних довжинах хвиль. Для ДНК характерне поглинання світла при довжинах хвиль 260 нм. З цих даних можна розрахувати концентрацію ДНК у зразку. Для роботи використовувався спектрофотометр – DeNovix DS – 11. За результатами спектрофотометрії (рис. 2.4) кількість ДНК та чистота кожного зі зразків були в межах норми.

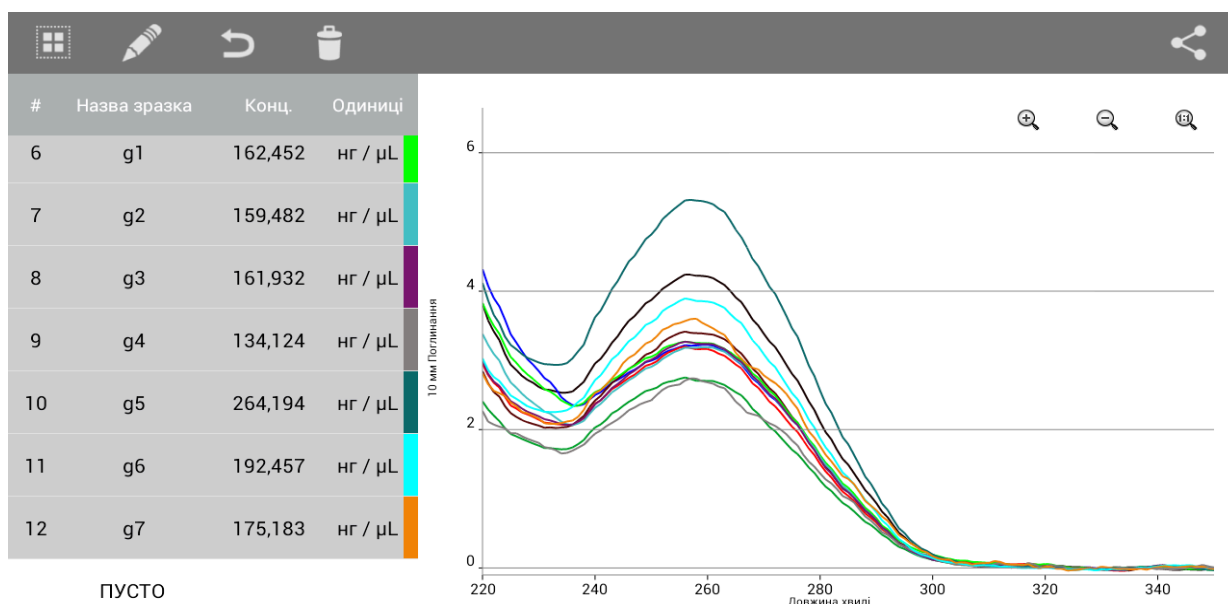


Рис. 2.4. Результати визначення концентрації ДНК в дослідних зразках

Секвенування. Секвенування фрагменту мітохондріального гену COI було виконано у компанії MACROGENE (Амсетрадрм).

Ген COI – це інформативний мітохондріальний маркер, ген субодиниці 1 цитохромоксидази *c*, у еукаріот. Він характеризується своєю гаплоїдністю, відсутністю інтронів, високою швидкістю еволюції та чітко лінійною передачею спадкової інформації у ряді поколінь. Для COI характерне послідовне накопичення мутацій при спадкуванні, у зв'язку з чим можливо визначити походження та ступінь диференціації міжвидових варіантів послідовностей ДНК [21].

Реконструкція філогенетичного дерева. Реконструкція філогенії проведена на основі мітохондріального гену COI. Після отримання даних секвенування від компанії MACROGENE, за допомогою програми ChromasPro було створено контінги для кожного зразку (рис. 2.5). Контінги – це набір фрагментів ДНК, що перекриваються, які в сукупності являють собою консенсусну область ДНК. Отримані послідовності переносили у форматі *.fasta до матриці генів.



Рис. 2.5. Створення контингів за допомогою програми ChromasPro

Матриця генів скомпільована та вирівняна у програмі MEGA11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11), де також розраховували генетичну відстань. MEGA – це програмне забезпечення, яке було розроблене з метою забезпечення біологів інтегрованим набором інструментів для статистичного аналізу даних ДНК і білкових послідовностей з еволюційної точки зору [37].

До складу матриці включені всі наявні послідовності з сервісу NCBI. Всього для роботи було використано 54 послідовності (рис. 2.6), з них: 41 послідовності взято з сайту NCBI, 6 послідовностей, які були секвеновані у 2024 році (у мережі – Ri1 CD01, Ri4 C04, Ri5 D05, Ri7 CD07, Ri8 B05, Ri8 AB06), 6 послідовностей, які були секвеновані у 2025 році (у мережі – Ri9, Ri10, Ri11, Ri13, R14, Ri15), та 1 послідовність, яку було знайдено та секвеновано у 2021 році під час проходження літньої польової практики (у мережі – from Gaidary). У якості аутгрупи використано 3 види: *Nipponomeconema sinica* відноситься до родини Справжні коники (*Tettigoniidae*), роду *Meconematinae* та мешкає на території Китаю [7]; *Lebinthus nattawa* відноситься до надродина Цвіркуни (*Grylloidea*), він широко поширений на Меланезійських архіпелагах, у Південно-Східній

Азії, Північній Австралії та Новій Каледонії [30]; *Caiella pugny* відноситься до ряду Лускокрилі (*Lepidoptera*), родини Слизевидки (*Limacodidae*), ареал цього виду знаходиться у районі півдня Китаю та на острові Тайвань [12].

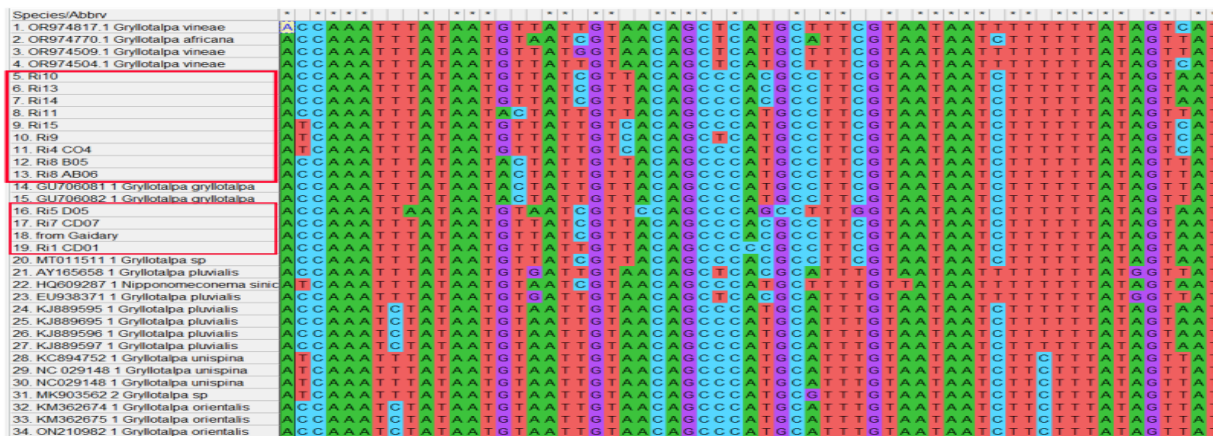


Рис. 2.6. Матриця послідовностей фрагменту гену COI

Власне філогенетичне дерево будували за допомогою програми MrBayes – це програма для баєсівського висновку та вибору моделі для широкого спектру філогенетичних та еволюційних моделей. MrBayes використовує методи Монте-Карло з використанням Марковських ланцюгів для оцінки апостеріорного розподілу параметрів моделі [23].

Програма підтримує широкий спектр моделей еволюції нуклеотидних та амінокислотних послідовностей, включно з можливістю комбінувати кілька типів даних у єдиному аналізі. Крім того, MrBayes забезпечує різноманітні діагностичні інструменти для оцінки конвергенції ланцюгів та стабільності отриманих результатів, що робить інтерпретацію

більш надійною. Для підготовки аналізу, а саме розрахунку моделей субституції було використано програмний пакет Kakusan 4.

У нашому аналізі для реконструкції філогенетичних взаємозв'язків ми використали 10 000 000 генерацій, що дало змогу досягти достатньо конвергенції та отримати статистично значущі оцінки. Параметри аналізу – 2 рани, 24 ланцюги, 25000 гарячих ланцюгів. Результати було використано для побудови консенсусного дерева із зазначенням «posterior probability» для кожної гілки. Такий підхід дозволив сформувати еволюційну реконструкцію із чіткою оцінкою того, наскільки впевнено кожна клада підтримується даними.

Отримане дерево було укорінене та приведене до стандартного формату візуалізації за допомогою програми FigTree, з метою подальшого коректного відображення та інтерпретації результатів.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Морфологічний аналіз

Для 15 проаналізованих зразків капустянок статеву належність було встановлено на основі морфології та жилкування надкрилків (рис. 3.1).

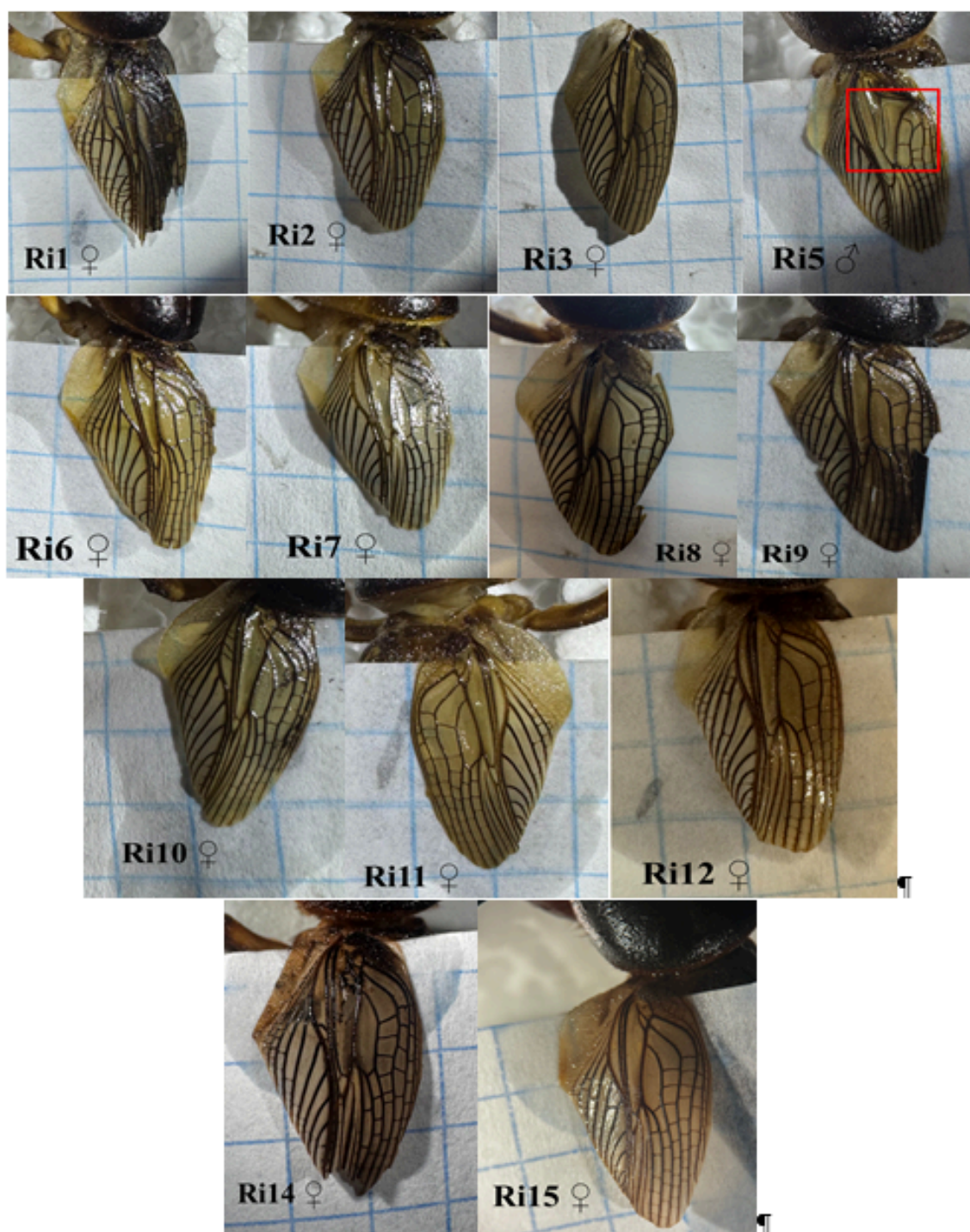


Рис. 3.1. Передні крила зібраних зразків
Примітка: червоним позначено стридуляторний апарат

Встановлено, що 12 особин належать до жіночої статі, оскільки у них повністю відсутня або редукована стридуляторна зона, характерна для самців. У двох зразків визначити будову жилкування не вдалося, через те що вони були зібрані на стадії личинки, тому їх надкрила ще не були розвинені повністю. Натомість зразок Ri5 продемонстрував наявність виразних трикутних арфоподібних комірок, що формують стридуляторний апарат, характерний для самців. Це дає підстави віднести зразок Ri5 до чоловічої статі, а також свідчить про репродуктивну активність популяції в місці відбору (м. Дружківка).

Порівняння жилкування передніх крил між усіма зразками показало відносну однорідність у їх морфології, без ознак значних внутрішньовидових відмінностей. Жилкування було стабільним за формою та розташуванням основних жилок, а також за характером формування стридуляційної зони, що є важливим діагностичним маркером роду *Gryllotalpa*. Відсутність суттєвої різниці у будові передніх крил може свідчити про те, що зібрані особини належать до одного виду або підвидів, які іноді зустрічаються на території Європи.

На основі проведених морфометричних вимірювань, було отримано низку кількісних показників, що характеризують морфологічні особливості досліджуваних зразків. Зведені результати представлені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Результати морфометричних вимірів

№ зразку	Загальна довжина тіла				Ширина голови				Довжина передніх стегон				Довжина гомілок			
	вим.1	вим.2	вим.3	середнє	вим.1	вим.2	вим.3	середнє	вим.1	вим.2	вим.3	середнє	вим.1	вим.2	вим.3	середнє
Ri1	43,9	44,68	44	44,19	5,2	5,3	5,28	5,26	8,44	8,34	8,5	8,43	7	6,58	6,88	6,82
Ri2	44,36	45,2	45,08	44,88	5	5	4,94	4,98	7,8	7,68	8	7,83	7,2	7,26	6,7	7,05
Ri3	43,5	43,9	43,7	43,70	5	5	5,3	5,10	9,06	9,02	8,8	8,96	7,24	7,58	7	7,27
Ri4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ri5	45,4	45,7	46	45,70	5	5	5	5,00	8,3	8,42	8,3	8,34	7,5	7	6,86	7,12
Ri6	48,64	48,7	48,66	48,67	4,8	4,9	4,8	4,83	8,2	7,8	8,44	8,15	7,88	7,78	8,1	7,92
Ri7	42,36	42,85	42,4	42,54	5,3	5,2	5,3	5,27	8,3	8	8	8,10	7,46	8,04	7,7	7,73
Ri8	46	45,5	46	45,83	5,5	5,5	5,5	5,50	8,62	8,6	8,44	8,55	7,5	7,46	7,5	7,49
Ri9	37	37,2	37,26	37,15	5,3	5,3	5,20	5,27	8	8	8	8,00	7,46	7,1	7	7,19
Ri10	47,1	47,26	47,2	47,19	4,9	5,34	5,4	5,21	8,64	8,54	9	8,73	8,2	7,7	7,8	7,90
Ri11	51,5	51	51,88	51,46	5,5	5,3	5,4	5,40	7,4	8	8,34	7,91	7,6	7,48	7,8	7,63
Ri12	50,8	49	49,72	49,84	5,38	5,3	5,4	5,36	7,88	8,2	8,4	8,16	6,8	7,26	7	7,02
Ri13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ri14	46,28	47	47	46,76	5,5	5,4	5	5,30	8,4	8,54	8,4	8,45	7,7	7	6,6	7,10
Ri15	50,8	50,8	51,7	51,10	5,7	5,6	5,7	5,67	9	8,84	9,1	8,98	8,5	8,5	8,2	8,40

Продовж. табл. 3.1

№ зразку	Довжина церок				Довжина переднеспинки				Ширина переднеспинки				Довжина надкрил				Довжина крил			
	вим.1	вим.2	вим.3	середнє	вим.1	вим.2	вим.3	середнє	вим.1	вим.2	вим.3	середнє	вим.1	вим.2	вим.3	середнє	вим.1	вим.2	вим.3	середнє
Ri1	15,3	14,52	15,2	15,01	14,1	14,1	13,6	13,93	10,68	10,7	10,52	10,63	18,1	17	17	17,37	-	-	-	-
Ri2	14,84	14	14,12	14,32	12,36	12,56	12,6	12,51	10	9,8	10	9,93	16,08	16,58	16,4	16,35	36,48	35,9	36,2	36,19
Ri3	13,74	13,94	13,82	13,83	14,26	14,22	14,2	14,23	10,8	11	10,9	10,90	16,3	15,8	15,88	15,99	33,62	33,9	34,08	33,87
Ri4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ri5	16,28	15,5	15,7	15,83	13,82	13,74	13,9	13,82	10,7	10,7	10,7	10,70	15,6	15,82	15,6	15,67	26	25,72	25,5	25,74
Ri6	-	-	-	-	14,2	14,1	14	14,10	10,5	10,28	10,4	10,39	19,1	18,3	18,9	18,77	38,1	38	37,68	37,93
Ri7	-	-	-	-	13,32	13	13,3	13,21	10	10	10	10,00	14,52	14,4	14,2	14,37	25,5	24,32	24,52	24,78
Ri8	15,3	14,92	15	15,07	13	13	13	13,00	10	10,2	10	10,07	17	17,4	17,1	17,17	35,62	35	35,9	35,51
Ri9	-	-	-	-	13	12,56	12,9	12,82	9,60	9,38	9,42	9,47	14,76	14,9	15,5	15,05	31	31,2	31,22	31,14
Ri10	13,78	13,28	13,58	13,55	15	15	15	15,00	11,2	11	11,1	11,10	15,42	15,6	15,7	15,57	27	27,46	28	27,49
Ri11	16,7	16,28	16,7	16,56	13,12	13,32	13,1	13,18	10,2	10	9,8	10,00	15,3	15,3	16	15,53	34,3	34	34,5	34,27
Ri12	13	14	13,82	13,61	13,46	13,6	13,5	13,52	10,6	10,6	10,9	10,70	16,2	15,2	15,64	15,68	32	33	32,38	32,46
Ri13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ri14	-	-	-	-	14,6	14,5	14,5	14,53	11	11	11	11,00	16,38	16,4	16,2	16,33	34,3	35	34,78	34,69
Ri15	15,3	14	14	14,43	14	14	14	14,00	10,9	11,3	11,38	11,19	17,5	17,4	16,68	17,19	36,5	36,4	37,2	36,70

Кожній морфологічній ознаці було присвоєно певне позначення, яке наведене у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Таблиця позначень морфологічних ознак

Загальна довжина тіла	Ширина голови	Довжина передніх стегон	Довжина гомілок	Довжина надкрил	Довжина крил	Довжина церок	Довжина переднеспинки	Ширина переднеспинки
DT	ShGol	DPS	DGom	DN	DK	DC	DGr	ShGr

На основі морфометричних вимірювань, представлених у таблиці 3.1, були розраховані індекси, що характеризують пропорції тіла досліджуваних зразків. Отримані значення подано в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Морфометричні ознаки-індекси досліджених зразків

id	ShGol/DT	DPS/DT	DGom/DT	DN/DT	DK/DT	DC/DT	DGr/DT	ShGr/DT	DN/DC	DPS/Dgom	DGr/ShGr
Ri1	0.119	0.1907	0.1543	0.393	0.716	0.3396	0.3153	0.2406	1.1573	1.2356	1.3103
Ri2	0.111	0.1744	0.1572	0.3644	0.8064	0.3191	0.2787	0.2213	1.142	1.1096	1.2591
Ri3	0.1167	0.205	0.1664	0.366	0.775	0.3166	0.3256	0.2494	1.1561	1.2319	1.3052
Ri5	0.1094	0.1825	0.1558	0.343	0.5632	0.3463	0.3024	0.2341	0.9903	1.1713	1.2916
Ri6	0.0993	0.1674	0.1627	0.3856	0.7793	0.3229	0.2897	0.2136	1.1224	1.0286	1.3566
Ri7	0.1238	0.1904	0.1818	0.3379	0.5826	0.3229	0.3105	0.2351	1.1224	1.0474	1.3207
Ri8	0.12	0.1866	0.1633	0.3745	0.7747	0.3289	0.2836	0.2196	1.1389	1.1425	1.2914
Ri9	0.1418	0.2153	0.1934	0.4052	0.8381	0.3229	0.3451	0.2548	1.1224	1.1132	1.3542
Ri10	0.1105	0.1849	0.1674	0.33	0.5825	0.2871	0.3179	0.2352	1.1496	1.1046	1.3514
Ri11	0.1049	0.1538	0.1482	0.3019	0.6659	0.3218	0.2561	0.1943	0.938	1.0376	1.318
Ri12	0.1074	0.1635	0.1407	0.3142	0.6505	0.2727	0.2709	0.2144	1.1524	1.1624	1.2636
Ri14	0.1133	0.1806	0.1518	0.3492	0.7419	0.3229	0.3076	0.2352	1.1224	1.1897	1.3156
Ri15	0.1109	0.1757	0.1644	0.3365	0.7182	0.2825	0.274	0.2044	1.1912	1.069	1.2908

Примітка:

Європа + Правобережжя –
Лівобережжя –



Україна – Ri1
Словенія – Ri11

Українську та словенську вибірки достовірно, з високим рівнем значущості ($p \leq 0,05$), можна відрізнити за морфологічними ознаками віднесеними до довжини тіла. Для кожного співвідношення було проведено порівняння середніх арифметичних індексів із застосуванням t-критерію, а також порівняння дисперсій за допомогою F-критерію. Середні співвідношення ширини голови, довжини гомілки та довжини крил до довжини тіла, в обох вибірках не продемонстрували значущих

відмінностей. Аналогічно, відсутність достовірної різниці не встановлено для співвідношення довжини надкрил до довжини церок, довжини передніх стегон до довжини гомілки, довжини переднеспинки до її ширини (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Порівняння двох груп: України та Словенії

	Mean 0	Mean 1	t-value	df	p
ShGol/DT	0.116481	0.107748	1.297313	11	0.221072
DPS/DT	0.187794	0.164346	2.643708	11	0.022842
DGom/DT	0.165430	0.151090	1.688219	11	0.119483
DN/DT	0.364872	0.317515	3.024956	11	0.011553
DK/DT	0.715981	0.678197	0.613817	11	0.551819
DC/DT	0.322912	0.292312	2.586927	11	0.025276
DGr/DT	0.307633	0.267012	3.303286	11	0.007037
ShGr/DT	0.233907	0.204377	3.603025	11	0.004148
DN/DC	1.122366	1.093868	0.594186	11	0.564408
DPS/Dgom	1.137446	1.089676	1.042820	11	0.319408
DGr/ShGr	1.315607	1.290776	1.223427	11	0.246730

	Valid N 0	Valid N 1	Std.Dev. 0	Std.Dev. 1	F-ratio	p
ShGol/DT	10	3	0.011217	0.002993	14.04697	0.136391
DPS/DT	10	3	0.013964	0.011002	1.61095	0.881890
DGom/DT	10	3	0.013073	0.012112	1.16503	1.000000
DN/DT	10	3	0.024959	0.017538	2.02514	0.748159
DK/DT	10	3	0.102018	0.035488	8.26416	0.225105
DC/DT	10	3	0.015633	0.026004	2.76708	0.231402
DGr/DT	10	3	0.020155	0.009553	4.45180	0.393680
ShGr/DT	10	3	0.012923	0.010052	1.65300	0.866243
DN/DC	10	3	0.048531	0.136373	7.89634	0.020925
DPS/Dgom	10	3	0.070586	0.064910	1.18254	1.000000
DGr/ShGr	10	3	0.031579	0.027224	1.34550	0.994701

Примітка: 0 – українська група, 1 – словенська група; червоним кольором віділено середні значення морфометричних індексів з достовірним рівнем відмінності $p \leq 0,05$

Порівняння досліджених зразків за іншим географічним розподілом – Лівобережна Україна та Правобережна Україна + Словенія, за зазначеними нижче середніми індексами (табл. 3.5) не продемонстрували значущих відмінностей. Для кожного співвідношення було проведено порівняння середніх арифметичних індексів із застосуванням t-критерію, а

також порівняння дисперсій за допомогою F-критерію. Це свідчить про ненадійність виділення зазначених географічних угруповань.

Таблиця 3.5

Порівняння двох груп: Лівобережна Україна та Правобережна + Словенія

	Mean 0	Mean 1	t-value	df	p
ShGol/DT	0.112882	0.117000	-0.671133	11	0.515981
DPS/DT	0.184500	0.178996	0.568468	11	0.581137
DGom/DT	0.162190	0.162010	0.021858	11	0.982953
DN/DT	0.358626	0.346452	0.677123	11	0.512317
DK/DT	0.693372	0.729486	-0.679987	11	0.510570
DC/DT	0.322167	0.305744	1.367307	11	0.198818
DGr/DT	0.305954	0.285946	1.453390	11	0.174042
ShGr/DT	0.233080	0.217514	1.661146	11	0.124889
DN/DC	1.120302	1.108569	0.279030	11	0.785398
DPS/Dgom	1.139852	1.104935	0.867889	11	0.403992
DGr/ShGr	1.313807	1.303589	0.552942	11	0.591363

	Valid N 0	Valid N 1	Std.Dev.0	Std.Dev.1	F-ratio	p
ShGol/DT	8	5	0.007345	0.014971	4.154699	0.098149
DPS/DT	8	5	0.011394	0.023790	4.359482	0.087983
DGom/DT	8	5	0.009751	0.020250	4.312568	0.090189
DN/DT	8	5	0.022605	0.042907	3.602812	0.134096
DK/DT	8	5	0.100859	0.077881	1.677155	0.645778
DC/DT	8	5	0.017564	0.026093	2.207045	0.339625
DGr/DT	8	5	0.015386	0.034487	5.023863	0.063027
ShGr/DT	8	5	0.011068	0.022992	4.315663	0.090041
DN/DC	8	5	0.054629	0.098682	3.263087	0.164790
DPS/Dgom	8	5	0.079445	0.051483	2.381205	0.419800
DGr/ShGr	8	5	0.031331	0.034233	1.193864	0.783716

Примітка: 0 – Лівобережжя, 1 – Правобережжя + Словенія

Для дисперсійного аналізу морфологічних ознак було виділено три географічних угруповання – 1 – Лівобережжя, 2 - Правобережжя та 3 – Словенія.

З метою оцінки статистично достовірних відмінностей між групами застосовано дисперсійний аналіз із подальшим множинним порівнянням за критерієм Tukey HSD test. Для індексу «ширина голови/довжина тіла» були розраховані середні значення цього показника окремо для кожного

угруповання (табл. 3.6), що дало змогу визначити потенційні міжгрупові відмінності та простежити ступінь варіабельності ознаки.

Таблиця 3.6

Середні значення «ширина голови/довжина тіла» для кожного географічного угруповання

Група	ShGol/DT - середнє	ShGol/DT - Std.Err.	ShGol/DT -95.00%	ShGol/DT - +95.00%	N
1	0.112882	0.002811	0.106619	0.119146	8
2	0.130877	0.005622	0.118351	0.143404	2
3	0.107748	0.004590	0.097520	0.117976	3

Розрахунок рівня значущості відмінностей між середніми значеннями індексу «ширина голови/довжина тіла» по групах представлений в таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

Рівень значущості відмінностей між середніми значеннями індексу «ширина голови/довжина тіла» по групах

Групи	1	2	3
	p		
1		0.041097	0.620725
2			0.024195
3	0.620725	0.024195	

Примітка: тут і далі – червоним виділено рівень значущості відмінностей $p \leq 0,05$; жовтим – $p \approx 0,05$

За зазначеним індексом достовірно відрізняються угруповання лівобережжя-правобережжя та правобережжя-Словенія. У той же час лівобережне угруповання не відрізняється від словенського, хоча варто було очікувати відсутність відмінностей між правобережним та словенським угрупованням.

При проведенні дисперсійного аналізу (Tukey HSD test) для індексу «довжина передніх стегон/довжина тіла», були розраховані середні показники індексу в кожному угрупованні (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Середні значення «довжина передніх стегон/довжина тіла» для кожного географічного угруповання

Групи	DPS/DT - Mean	DPS/DT - Std.Err.	DPS/DT – -95.00%	DPS/DT - +95.00%	N
1	0.184500	0.004420	0.174651	0.194348	8
2	0.200971	0.008840	0.181275	0.220667	2
3	0.164346	0.007218	0.148264	0.180428	3

Розрахунок рівня значущості відмінностей між середніми значеннями індексу «довжина передніх стегон/довжина тіла» по групах представлений в таблиці 3.9.

Таблиця 3.9

Рівень значущості відмінностей між середніми значеннями індексу «довжина передніх стегон/довжина тіла» по групах

Групи	1	2	3
	p		
1		0.264634	0.089734
2	0.264634		0.023317
3	0.089734	0.023317	

За цим індексом достовірно відрізняються тільки правобережне та словенське угруповання. Відмінності лівобережного угруповання від правобережного і словенського не зафіксовані.

Дисперсійний аналіз (Tukey HSD test) не виявив значущих відмінностей між угрупованнями за індексом «довжина гомілки/довжина тіла» (табл. 3.10). Для аналізу розраховані середні показники індексу в кожному угрупованні (табл. 3.11).

Таблиця 3.10

Тест на наявність значущих відмінностей між угрупованнями за індексом «довжина гомілки/довжина тіла»

	SS	df	MS	F	p
Групи	0.000894	2	0.000447	3.168	0.085959

Таблиця 3.11

Середні значення «довжина гомілки/довжина тіла» для кожного географічного угруповання

Групи	DGom/DT - середнє	DGom/DT - Std.Err.	DGom/DT - -95.00%	DGom/DT - +95.00%	N
1	0.162190	0.004201	0.152831	0.171550	8
2	0.178389	0.008401	0.159670	0.197108	2
3	0.151090	0.006860	0.135806	0.166374	3

В результаті проведення дисперсійного аналізу (Tukey HSD test) для індексу «довжина надкрил/довжина тіла», було виявлено певні відмінності між групами (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Тест на наявність значущих відмінностей між угрупованнями за індексом «довжина надкрил/довжина тіла»

	SS	df	MS	F	p
Групи	0.006736	2	0.003368	7.226	0.011440

Для аналізу розраховані середні показники індексу в кожному угрупованні (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Середні значення «довжина надкрил/довжина тіла» для кожного географічного угруповання

Групи	DN/DT - Mean	DN/DT - Std.Err.	DN/DT - -95.00%	DN/DT - +95.00%	N
1	0.358626	0.007633	0.341619	0.375633	8
2	0.389857	0.015266	0.355842	0.423871	2
3	0.317515	0.012465	0.289742	0.345288	3

Розрахунок рівня значущості відмінностей між середніми значеннями індексу «довжина надкрил/довжина тіла» по групах представлений в таблиці 3.14.

Таблиця 3.14

Рівень значущості відмінностей між середніми значеннями індексу «довжина надкрил/довжина тіла» по групах

Групи	1	2	3
	p		
1		0.209634	0.044617

2	0.209634		0.011076
3	0.044617	0.011076	

Показана достовірна відмінність між лівобережним, правобережним угрупованнями та словенським угрупованням. Відмінності між ліво- та правобережним угрупованнями не виявлені.

Дисперсійний аналіз (Tukey HSD test) не виявив значущих відмінностей між трьома угрупованнями за індексом «довжина крил/довжина тіла» (табл. 3.15). Для аналізу розраховані середні показники індексу в кожному угрупованні. Результати розрахунків представлені у таблиці 3.16.

Таблиця 3.15

Тест на наявність значущих відмінностей між угрупованнями за індексом «довжина крил/довжина тіла»

	SS	df	MS	F	p
Групи	0.023742	2	0.011871	1.5674	0.255798

Таблиця 3.16

Середні значення «довжина крил/довжина тіла» для кожного географічного угруповання

Групи	DK/DT - Mean	DK/DT - Std.Err.	DK/DT - -95.00%	DK/DT - +95.00%	N
1	0.693372	0.030769	0.624813	0.761930	8
2	0.806420	0.061539	0.669303	0.943536	2
3	0.678197	0.050246	0.566241	0.790152	3

Застосування дисперсійного аналізу (Tukey HSD test) показало відсутність достовірних відмінностей між угрупованнями за індексом «довжина церок/довжина тіла» (табл. 3.17). Середні показники даного індексу по кожній групі подано в таблиці 3.18.

Таблиця 3.17

Тест на наявність значущих відмінностей між угрупованнями за індексом «довжина церок/довжина тіла»

	SS	df	MS	F	p
Групи	0.002183	2	0.001092	3.093	0.090040

Таблиця 3.18

Середні значення «довжина церок/довжина тіла» для кожного географічного угруповання

Групи	DC/DT - Mean	DC/DT - Std.Err.	DC/DT - -95.00%	DC/DT - +95.00%	N
1	0.322167	0.006642	0.307367	0.336966	8
2	0.325892	0.013285	0.296292	0.355492	2
3	0.292312	0.010847	0.268143	0.316480	3

Під час проведення дисперсійного аналізу (Tukey HSD test) для індексу «довжина переднеспинки/довжина тіла» були розраховані середні показники індексу в кожному угрупованні (табл. 3.19).

Таблиця 3.19

Середні значення «довжина переднеспинки/довжина тіла» для кожного географічного угруповання

Групи	DGr/DT - Mean	DGr/DT - Std.Err.	DGr/DT - -95.00%	DGr/DT - +95.00%	N
1	0.305954	0.006824	0.290748	0.321160	8
2	0.314346	0.013649	0.283935	0.344758	2
3	0.267012	0.011144	0.242181	0.291843	3

Розрахунок рівня значущості відмінностей між середніми значеннями індексу «довжина переднеспинки/довжина тіла» по групах представлений в таблиці 3.20.

Таблиця 3.20

Рівень значущості відмінностей між середніми значеннями індексу «довжина переднеспинки/довжина тіла» по групах

Групи	1	2	3
	p		
1		0.848901	0.033923
2	0.848901		0.054827
3	0.033923	0.054827	

За цим індексом достовірно відрізняються тільки лівобережне та словенське угруповання, а також наближене значення до достовірного мають правобережна та словенська група. Відмінності лівобережного угруповання від правобережного не зафіксовані.

При проведені дисперсійного аналізу (Tukey HSD test) для індексу «ширина переднеспинки/довжина тіла» були розраховані середні показники індексу в кожному угрупованні (табл. 3.21).

Таблиця 3.21

Середні значення «ширина переднеспинки/довжина тіла» для кожного географічного угруповання

Групи	ShGr/DT - Mean	ShGr/DT - Std.Err.	ShGr/DT -95.00%	ShGr/DT +95.00%	N
1	0.233080	0.004580	0.222876	0.243283	8
2	0.237218	0.009159	0.216811	0.257626	2
3	0.204377	0.007478	0.187715	0.221040	3

Показники рівня значущості відмінностей між середніми значеннями індексу «ширина переднеспинки/довжина тіла» у різних групах наведено в таблиці 3.22.

Таблиця 3.22

Рівень значущості відмінностей між середніми значеннями індексу «ширина переднеспинки/довжина тіла» по групах

Групи	1	2	3
	p		
1		0.914728	0.021019
2	0.914728		0.047262
3	0.021019	0.047262	

За результатами аналізу виявлено достовірні відмінності між лівобережним і правобережним угрупованнями та словенською групою. У той же час між лівобережним та правобережним угрупованнями статистично значущих відмінностей не зафіксовано.

Дисперсійний аналіз (Tukey HSD test) не виявив значущих відмінностей між угрупованнями за індексами «довжина надкрил/довжина церок» (табл. 3.23), «довжина передніх стегон/довжина гомілок» (табл. 3.24) та «довжина переднеспинки/ширина переднеспинки» (табл. 3.25).

Таблиця 3.23

Тест на наявність значущих відмінностей між угрупованнями за індексом «довжина надкрил/довжина церок»

	SS	df	MS	F	p
--	----	----	----	---	---

Групи	0.00204	2	0.00102	0.176	0.841500
--------------	---------	---	---------	-------	----------

Таблиця 3.24

Тест на наявність значущих відмінностей між угрупованнями за індексом «довжина передніх стегон/довжина гомілок»

	SS	df	MS	F	p
Групи	0.00550	2	0.00275	0.518	0.610702

Таблиця 3.25

Тест на наявність значущих відмінностей між угрупованнями за індексом «довжина переднеспинки/ширина переднеспинки»

	SS	df	MS	F	p
Групи	0.00155	2	0.00078	0.75	0.496466

Середні показники кожного з індексів по кожній групі подано в таблицях 3.26, 3.27 та 3.28 відповідно.

Таблиця 3.26

Середні значення «довжина надкрил/довжина церок» для кожного географічного угруповання

Групи	DN/DC - Mean	DN/DC - Std.Err.	DN/DC - -95.00%	DN/DC - +95.00%	N
1	1.120302	0.026977	1.060193	1.180411	8
2	1.130621	0.053955	1.010403	1.250839	2
3	1.093868	0.044054	0.995710	1.192026	3

Таблиця 3.27

Середні значення «довжина передніх стегон/довжина гомілок» для кожного географічного угруповання

Групи	DPS/Dgom - Mean	DPS/Dgom - Std.Err.	DPS/Dgom - -95.00%	DPS/Dgom - +95.00%	N
1	1.139852	0.025748	1.082482	1.197222	8
2	1.127824	0.051496	1.013084	1.242564	2
3	1.089676	0.042046	0.995991	1.183361	3

Таблиця 3.28

Середні значення «довжина переднеспинки/ширини переднеспинки» для кожного географічного угруповання

Групи	DGr/ShGr - Mean	DGr/ShGr - Std.Err.	DGr/ShGr - -95.00%	DGr/ShGr - +95.00%	N
1	1.313807	0.011362	1.288491	1.339123	8
2	1.322808	0.022724	1.272175	1.373441	2
3	1.290776	0.018554	1.249434	1.332117	3

Отримані морфометричні індекси дозволили охарактеризувати варіабельність пропорцій тіла досліджених зразків та провести порівняння між географічними угрупуваннями. Аналіз показав, що частина індексів демонструє відмінності між популяціями, тоді як інші залишаються відносно стабільними. Це свідчить про те, що індексні морфологічні показники можуть бути використані для популяційних зіставлень та виявлення локальної мінливості в межах виду.

Разом з тим отримані значення індексів не формують чітко розмежованих морфологічних груп, а межі варіабельності різних вибірок значною мірою перекриваються. Така особливість є характерною для представників роду *Gryllotalpa*, які відомі своєю високою морфологічною подібністю між близькими видами. Тому на даному етапі індексні співвідношення можуть розглядатися переважно як допоміжні характеристики при аналізі зразків, що відображають популяційну та географічну мінливість, але не забезпечують достатнього рівня роздільності для однозначного вирішення таксономічних питань.

Для узагальнення морфометричної подібності між окремими зразками був проведений кластерний аналіз із використанням методу Уорда та евклідової відстані. Отримана дендрограма (рис. 3.2) демонструє ступінь морфологічної близькості між особинами та дозволяє оцінити можливу структурованість вибірки.

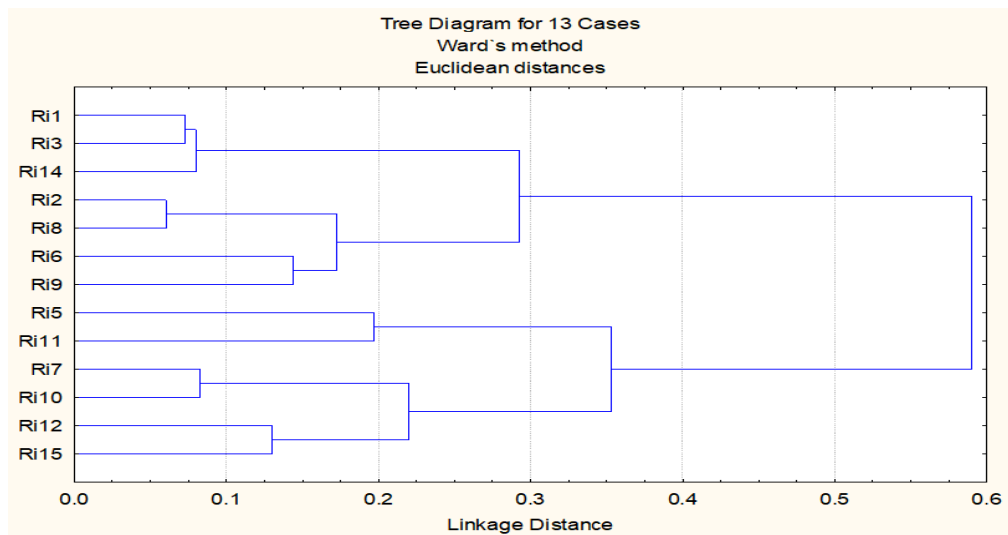


Рис. 3.2. Результати кластерного аналізу

На дендрограмі видно, що більшість зразків групуються у декілька відносно компактних кластерів, що вказує на наявність певної морфологічної подібності між окремими групами особин. Найбільш тісно пов'язані між собою зразки, наприклад, Ri1, Ri3 та Ri14, які формують невеликий кластер з мінімальними евклідовими відстанями. Аналогічно близьке сусідство демонструють пари Ri2 та Ri8, Ri7 – Ri10, Ri12 – Ri15 тощо. Саме ці невеликі пари становлять основу для формування ширших кластерів на наступних рівнях аналізу.

За збільшенням відстані до невеликих кластерів починають приєднуватись сусідні групи. У результаті формуються два основні морфологічні блоки: перший, включає більшість українських зразків, тоді як другий складається з Ri5, Ri7, Ri10, Ri11, Ri12 та Ri15, які характеризуються дещо іншими пропорціями тіла.

Фінальна структура дендрограми демонструє наявність двох великих угруповань, що відрізняються ступенем морфологічної подібності між зразками. Проте межі між цими групами не є різко окресленими, оскільки об'єднання відбувається поступово, через проміжні кластери. Це підкреслює притаманну роду *Gryllotalpa* помірну морфологічну мінливість та загальну подібність між популяціями.

3.2. Філогенетичний аналіз

Результати реконструкції філогенетичного дерева, побудованого за допомогою програми MrBayes, за фрагментом мітохондріального гену COI, представлені на рисунку 3.3.

На філогенетичному дереві видно, що досліджені нами особини (на дереві вказані – Ri1 CD01, Ri4 C04, Ri5 D05, Ri7 CD07, Ri8 B05, Ri8 AB06, Ri9, Ri15) утворили дві окремі сестринські клади з бутстрепом 98 відносно інших видів, чиї послідовності були взяті з серверу NCBI.

Зразки Ri8 B05, Ri8 AB06 та Ri11 утворили кладу разом з європейським видом *Gryllotalpa gryllotalpa* з бутстрепом 100, яка є сестринською до клади, утвореною південно-західно європейським видом *Gryllotalpa vineae*. Також спорідненою до цієї клади стала група, утворена зразками Ri4 C04, Ri9 та Ri15 (з бутстрепом 63). Усі ці зразки були зібрані на території західної частини України та Європи, а саме: Ri4 C04 – селища Путила Чернівецької області, Ri9 – міста Рівне Рівненської області, Ri8 B05, Ri8 AB06 – міста Львів Львівської області та Ri11, Ri15 – м. Любляна Словенія.

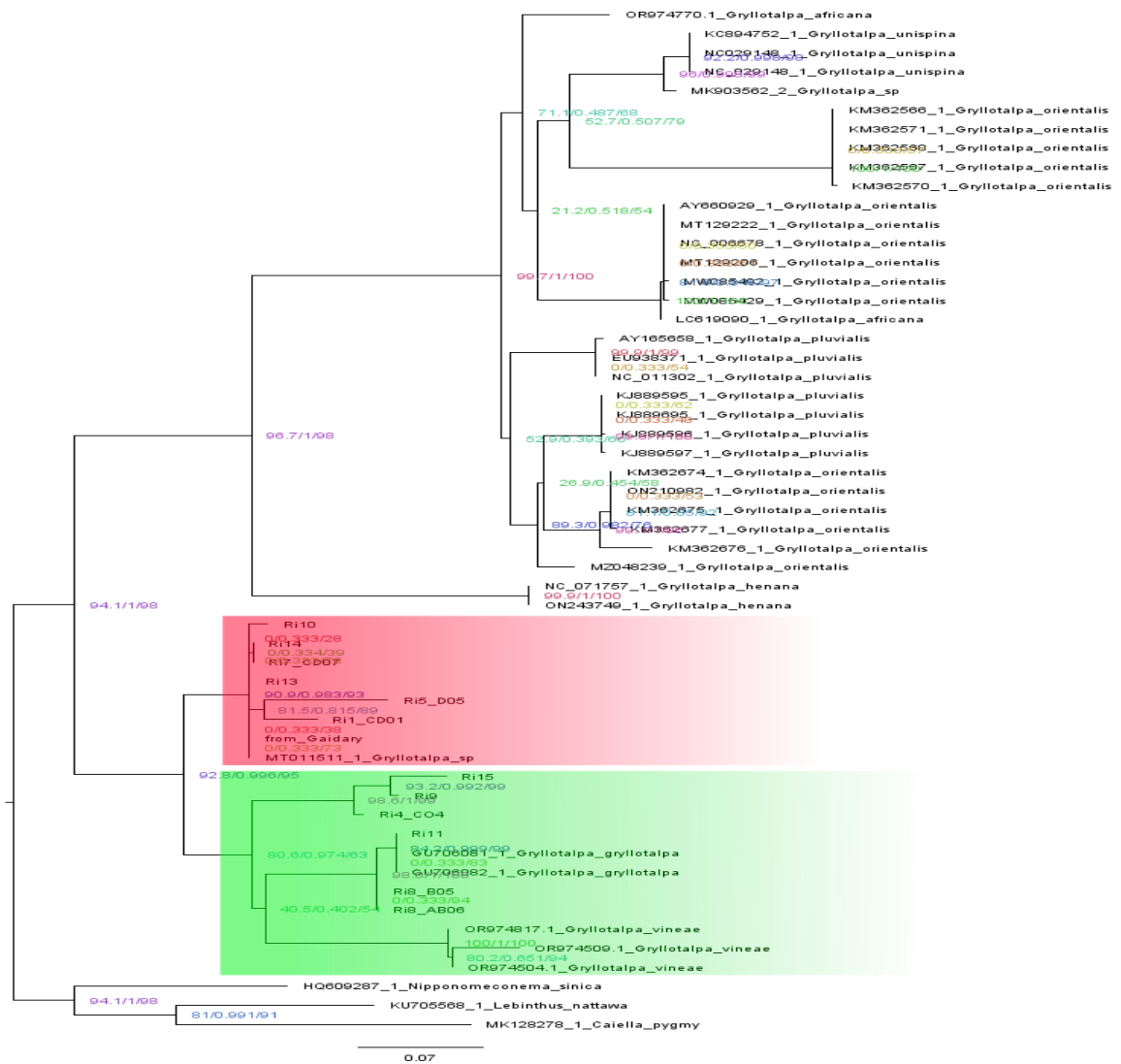


Рис. 3.3. Філогенетичне дерево, побудоване за фрагментом гену COI

Зразки Ri1 CD01 та Ri5 D05 утворюють одну кладу між собою з бутстрепом 89, і ця кладка входить до складу великої групи, утвореної зразками з селища Гайдари (from Gaidary), зразками Ri7 CD07, Ri10, Ri13, Ri14 та зразку MT01151.1. Зразок MT01151.1 – це послідовність невизначеного виду зі статті Song, H., Béthoux, O., Shin, S. Et al. 2020 [32], інші зразки зібрані у східній або південно-східній частині України, а саме: Ri1 CD01 та from Gaidary– зразки зібрані на березі Іськова ставка у селищі Гайдари Харківської області, Ri5 D05 – надійшов з міста Дружківка Донецької області, Ri7 CD07 – надісланий з міста Кривий Ріг Дніпропетровської області, Ri10 та Ri13 – це зразки зібрані на території міста Полтава та зразок Ri14 – зібраний у місті Харків.

Результати аналізу генетичних відстаней між дослідженими зразками свідчать про наявність суттєвих відмінностей між окремими групами представників роду *Gryllotalpa*. Зокрема, відстані між зразками з селища Гайдари, MT01151.1, Ri1 CD01, Ri5 D05, Ri7 CD07, Ri10, Ri13, Ri14 та іншими представниками роду *Gryllotalpa* перевищують 10%. Такий рівень дивергенції є значно вищим за межі видових гепів, встановлених для більшості таксономічних груп комах, і може свідчити про наявність окремої еволюційної лінії або навіть про статус самостійного виду.

Водночас, результати порівняння нуклеотидних послідовностей показали, що генетичні відстані між послідовностями *Gryllotalpa gryllotalpa* та зразками Ri8, Ri11 становлять лише близько 1,1%, що вказує на їх високу генетичну подібність та, ймовірно, приналежність до одного виду.

Іншу картину демонструють зразки Ri4, Ri9 та Ri15. Хоча між собою вони характеризуються незначними генетичними відстанями, що вказує на їхню близьку спорідненість, порівняння цих зразків із послідовностями *Gryllotalpa gryllotalpa*, доступними в базі NCBI, показало відмінності, які перевищують 10%. Такий рівень генетичної розбіжності виходить за межі міжвидових варіацій і може свідчити про існування це однієї еволюційно відокремленої групи.

Загалом, отримані результати демонструють, що генетичні відстані менше 10% характерні для зразків, які належать до одного виду, того як відстані понад 10% вказують на більш глибокі таксономічні розбіжності – на рівні виду або роду. Отже, проведений аналіз підтверджує наявність кількох генетично відокремлених клад у межах роду *Gryllotalpa*, що узгоджується з результатами філогенетичного аналізу (рис. 3.4).

	A	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
1		R10	R13	R14	R11	R15	R19	R14_CO4	R18_B05	R18_AB06	GU706081_1_Gryllotalpa_gryllotalpa	GU706082_1_Gryllotalpa_gryllotalpa	R15_D05	R17_CD07	from_Gaidary	R11_CD01
2	OR974817_1_Gryllotalpa_vinaea															
3	OR974770_1_Gryllotalpa_africana															
4	OR974509_1_Gryllotalpa_vinaea															
5	OR974504_1_Gryllotalpa_vinaea															
6	R10															
7	R13	0,0104275548														
8	R14	0,0104275548	0,0000000000													
9	R11	0,1650740128	0,1409015415	0,1409015415												
10	R15	0,1972382110	0,1823667559	0,1823667559	0,1893843880											
11	R19	0,1909471599	0,1762263598	0,1762263598	0,1933924089	0,0379524491										
12	R14_CO4	0,1462913217	0,1411794502	0,1411794502	0,1505161624	0,0422227111	0,0287726577									
13	R18_B05	0,1478646379	0,1340275352	0,1340275352	0,0132348123	0,1753353908	0,1586088809	0,1455076245								
14	R18_AB06	0,1478646379	0,1340275352	0,1340275352	0,0132348123	0,1753353908	0,1586088809	0,1455076245	0,0000000000							
15	GU706081_1_Gryllotalpa_gryllotalpa	0,1550740128	0,1409015415	0,1409015415	0,0000000000	0,1908374914	0,1736348052	0,1505161624	0,0113752708	0,0113752708						
16	GU706082_1_Gryllotalpa_gryllotalpa	0,1550740128	0,1409015415	0,1409015415	0,0000000000	0,1908374914	0,1736348052	0,1505161624	0,0113752708	0,0113752708	0,0000000000					
17	R15_D05	0,0913979392	0,0856515143	0,0856515143	0,2354888212	0,2531474833	0,2317010858	0,1903176349	0,2117122373	0,2117122373	0,2185062400					
18	R17_CD07	0,0104275548	0,0000000000	0,0000000000	0,1409015415	0,1702924484	0,1617789837	0,1411794502	0,1337604897	0,1337604897	0,1398758570	0,0782413947				
19	from_Gaidary	0,0104275548	0,0000000000	0,0000000000	0,1409015415	0,1748389958	0,1572926197	0,1411794502	0,1337289941	0,1337289941	0,1398440613	0,0751315991	0,0022303952			
20	R11_CD01	0,0563971924	0,0446737357	0,0446737357	0,1711241235	0,1961315914	0,1783947440	0,1401642724	0,1657861162	0,1657861162	0,1656728231	0,1656728231	0,0880963699	0,0406682693	0,0380412614	
21	MT011511_1_Gryllotalpa_sp	0,0104275548	0,0000000000	0,0000000000	0,1409015415	0,1748389958	0,1572926197	0,1411794502	0,1337289941	0,1337289941	0,1398440613	0,0751315991	0,0022303952	0,0000000000	0,0380412614	

Рис. 3.4. Матриця генетичних відстаней за послідовностями гену COI

Щодо інших видів, зазначених у філогенетичному дереві, то їх ареали такі: вид *Gryllotalpa pluvialis* мешкає на територіях Австралазії, Австралії, Квінсленда та на горному масиві Блекол Рейндж [33]. Вид Капустянки дальньосхідної (*Gryllotalpa orientalis*) поширений у Японії, Китаї, Середній, Південній та Південно-Східній Азії, Індонезії, Індії, Африці, Австралії, на Філіппінських островах, зустрічається у Казахстані, Узбекистані, Туркменістані, Таджикистані та Киргизії. Капустянка африканська (*Gryllotalpa africana*) поширена на тих же територіях, що і капустянка далекосхідна.

Щодо двох інших видів, які потенційно можуть зустрічатись в Україні: *Gryllotalpa stepposa* Zhantiev, 1991 – поширена на Балканському півострові, Молдові, півдні України, півдні степової зони Росії, Кавказі, Середній Азії, Саудівській Аравії; *Gryllotalpa unispina* Saussure, 1874 – уздовж узбережжя Чорного і Каспійського морів і в Центральній Азії [17]. *Gryllotalpa unispina* утворює окрему кладу з великою генетичною відстанню від досліджених нами зразків. *Gryllotalpa stepposa* не представлена в генетичному банку жодною послідовністю. Вона має відмінну морфологію, а саме коротші крила та специфічне поширення – південні степові райони з високими температурами, що не відповідає місцям знахідок досліджених зразків другої кладі. Однак, бажано генетичне дослідження *Gryllotalpa stepposa*.

3.3. Порівняння дендрограми кластерного аналізу та філогенетичного дерева

Порівняння морфологічної кластеризації та молекулярного філогенетичного аналізу показує, що отримані дані частково узгоджуються між собою, однак між ними є й суттєві розбіжності. Кластерний аналіз за морфометричними індексами продемонстрував помірний поділ вибірки на два основні морфологічні угруповання, сформовані шляхом поступового об'єднання невеликих пар та груп зразків. На дендрограмі одна велика група об'єднує більшість зразків Ri1, Ri2, Ri3, Ri6, Ri8, Ri9, Ri14, тоді як друга група включає зразки Ri5, Ri7, Ri10, Ri11, Ri12 та Ri15. Кластери сформовані так, що не дають можливості зробити чіткі таксономічні висновки за морфологічними ознаками та не дають можливості виділити «правобережні» та «лівобережні» клади за географічними та морфологічними ознаками.

На відміну від морфологічних даних, філогенетичне дерево на основі COI забезпечує набагато чіткіший поділ зразків на дві добре підтримані кладові групи – правобережжя + Європа (зелена зона на дереві) та лівобережжя (червона зона) + референсні послідовності, що свідчать про можливу присутність іншого виду або сильно диференційованої лінії у східній частині України. Філогенетичний поділ значно глибший і чіткіший, ніж морфологічний: генетичні дистанції між групами суттєво перевищують видові гепи, тоді як морфологічні індекси не формують таких різко відокремлених груп.

Порівнюючи дві методик, можна відзначити, що деякі зразки, які групуються за морфометричними ознаками (наприклад, Ri1, Ri3 та Ri14, або Ri2 і Ri8), потрапляють до однієї філогенетичної кладі, що свідчить про часткову відповідність морфологічної та генетичної подібності. Водночас друга велика морфологічна група (Ri5, Ri7, Ri10, Ri11, Ri12, Ri15) не утворює згуртованої філогенетичної кладі: частина цих зразків

потрапляє до альтернативної групи, яка на молекулярному рівні відрізняється значно сильніше, ніж це можна побачити за морфометричними показниками. Іншими словами, морфологічна кластеризація недостатньо точно відображає реальну генетичну структуру вибірки.

Таким чином, порівняння двох підходів показує, що морфологічні індекси здатні відображати загальну подібність між окремими зразками та частково корелюють із філогенетичними результатами, проте вони не фіксують глибоких еволюційних відмінностей і не можуть самостійно розмежувати генетично диференційовані кластери. Філогенетичний аналіз, навпаки, демонструє чітку двочленну структуру та дозволяє припустити наявність окремої лінії або потенційного криптичного виду в межах вибірки.

ВИСНОВКИ

У результаті виконаного дослідження встановлено, що поєднання морфологічного та молекулярно-філогенетичного підходів дозволило всебічно охарактеризувати систематичне положення представників роду *Gryllotalpa* з території України та Словенії, виявити внутрішньовидову та міжвидову диференціацію та з'ясувати структуру їхніх еволюційних взаємин.

1. Набір морфометричних показників, а саме «довжина передніх стегон», «довжина надкрилків», «довжина церок», «довжина грудного відділу», «ширина грудного відділу» віднесені до «довжини тіла» можуть розглядатись в якості популяційних характеристик роду *Gryllotalpa*.

2. Встановлені морфометричні ознаки не можуть бути використані у якості діагностичних ознак та для філогенетичного аналізу роду *Gryllotalpa*, оскільки є характеристиками їх окремих популяцій.

3. Встановлено наявність двох клад з високим бутстрепом на підставі філогенетичного аналізу за фрагментом мітохондріального гену COI, одна з яких об'єднує зразки, споріднені з європейськими ваучерними екземплярами *Gryllotalpa gryllotalpa*, тоді як інша демонструє значний рівень генетичної відокремленості, що перевищує типові міжвидові значення.

4. Виявлено зразки з генетичною відстанню понад 10%, що свідчить про можливу наявність окремої східноукраїнської еволюційної лінії або потенційного криптичного виду, який раніше не був чітко задокументований на території України.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Chapman R. F., Simpson Stephen J., Douglas Angela E. The Insects: Structure and Function. 5th ed. New York :Cambridge University Press, 2013. p. 21. ISBN 978-0-521-11389-2.

[URL: https://books.google.com.ua/books?id=NXJEi8fo7CkC&pg=PA826&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false] (

2. Costa Neto E. V. Cricket singing means rain: semiotic meaning of insects in the district of Pedra Branca, Bahia State, northeastern Brazil. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 2006. 78 (1): 59–68. doi:10.1590/s0001-37652006000100007

[URL:https://www.researchgate.net/publication/7246718_Cricket_singing_means_rain_Semiotic_meaning_of_insects_in_the_district_of_Pedra_Branca_Bahia_State_northeastern_Brazil]

3. Cricket. Britannica

[URL: <https://www.britannica.com/animal/cricket-insect>]

4. Danilák, M., Lukáň, M., & Krištín, A. (2022). Distribution of the European mole cricket, *Gryllotalpa gryllotalpa* (Orthoptera), in Slovakia. Travaux du Muséum National d’Histoire Naturelle “Grigore Antipa”, 65(1), 15–23.

[URL:https://www.researchgate.net/publication/361951128_Distribution_of_the_European_mole_cricket_Gryllotalpa_gryllotalpa_Orthoptera_in_Slovakia]

5. Devillers James. Juvenile Hormones and Juvenoids: Modeling Biological Effects and Environmental Fate. CRC Press, 2013. p. 39. ISBN 978-1-4665-1322-8.

[URL:https://books.google.com.ua/books?id=4FDOBQAAQBAJ&pg=PA39&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false]

6. Dolbear, Amos, The cricket as a thermometer. The American Naturalist, 1897. pp. 970-971. doi: 10.1086/276739

[URL:<https://www.journals.uchicago.edu/doi/pdf/10.1086/276739#:~:text=the%20rate%20is%20120%20a,temperature%20and%20chirp%20rate%20thus>]

7. Dou Yujie, Shi Fuming. One new genus of the tribe Meconematini (Orthoptera: Tettigoniidae: Meconematinae) from China
[URL: <https://www.researchgate.net/publication/325628984>]
8. Encyclopedia of Life (EOL). (2024). *Gryllotalpa gryllotalpa* Linnaeus, 1758.
[URL: <https://eol.org/pages/500186/articles>]
9. Everitt B., Landau S., Leese M., Stahl D. Cluster Analysis. 5th ed. / Hoboken: Wiley, 2011. – 330 p.
https://cicerocq.wordpress.com/wp-content/uploads/2019/05/cluster-analysis_5ed_everitt.pdf
10. Finley Klint, "You'll eat bugs. these investors are betting millions on it". Wired, 2016.
[URL: <https://www.wired.com/2016/03/investors-bet-millions-wont-balk-eating-bugs/>]
11. Frank, J.H. Zoogeography of molecrickets (Orthoptera: Gryllotalpidae) in the West Indies
[URL: <https://www.researchgate.net/publication/305699431>]
12. Genus *Caiella* [URL: <https://www.inaturalist.org/taxa/922954-Caiella>]
13. McNeill A. R. The invertebrates. London: Cambridge University Press, 1979. 562 p.
[URL: <https://archive.org/details/invertebrates0000alex/page/442/mode/2up>]
14. Hanboonsong, Yupa; Tasanee, Jamjanya. "Six-legged livestock". *FAO*. Patrick B. Durst. Food and Agriculture Organization (United Nations), 2013.
[URL: <https://www.fao.org/4/i3246e/i3246e.pdf>]
15. Heads S. W. Family Gryllotalpidae – Mole Cricket. BugGuide.
[URL: <https://bugguide.net/node/view/4283>]
16. Huber Franz. Cricket Behavior and Neurobiology. New York: Cornell University Press, 1989. p. 28. ISBN 978-0-8014-2272-0.
[URL: https://books.google.com.ua/books?id=nAP2LkQV0X0C&pg=PA32&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false]

17. Ionuț Ștefan Iorgu, Elena Iulia Iorgu, Gellért Puskás, et al. (2016) Geographic distribution of *Gryllotalpa stepposa* in south-eastern Europe, with first records for Romania, Hungary and Serbia (Insecta, Orthoptera, Gryllotalpidae).
[URL: <https://zookeys.pensoft.net/articles.php?id=8804>]
18. Jacobs, Andrew, "Chirps and Cheers: China's Crickets Clash". New York Time, 2011.
[URL: <https://www.nytimes.com/2011/11/06/world/asia/chirps-and-cheers-chinas-crickets-clash-and-bets-are-made.html>]
19. Jafari, S., Kazemi, M. H., & Lotfalizadeh, H. (2015). Acoustic burrow structures of European mole crickets, *Gryllotalpa gryllotalpa* (Orthop.: Gryllotalpidae) in Northwestern Iran. North-Western Journal of Zoology, 11(1), 58–61.
[URL: https://www.researchgate.net/publication/270569364_Acoustic_burrow_structures_of_European_mole_crickets_Gryllotalpa_gryllotalpa_Orth_Gryllotalpidae_in_Northwestern_Iran]
20. Kazemi M. H., Jafari S., Lotfalizadeh H., Jafarloo M. (2013). Wing dimorphism of European mole cricket, *Gryllotalpa gryllotalpa* (L.) (Orthoptera: Gryllotalpidae) in the north-west of Iran. North-Western Journal of Zoology, 9(1), 45-50.
[URL: https://www.researchgate.net/publication/270340542_Wing_dimorphism_of_European_mole_cricket_Gryllotalpa_gryllotalpa_L_Orthoptera_Gryllotalpidae_in_the_north-west_of_Iran]
21. Lunt D. H., Zhang D. X., Szymura J. M., Hewitt G. M. (1996) The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. Insect Mol Biol. 5(3):153-65. doi: 10.1111/j.1365-2583.1996.tb00049.x.
[URL: https://www.researchgate.net/publication/302929460_The_insect_cytochrome_oxidase_I_gene_evolutionary_patterns_and_conserved_primers_for_phylogenetic_studies]

22. Manning, Aubrey; Dawkins, Marian Stamp, An Introduction to Animal Behaviour. Cambridge University Press, 2012. pp. 59–60. ISBN 978-1-107-37773-
[URL:https://books.google.com.ua/books?id=b3khAwAAQBAJ&pg=PA59&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false]
23. MrBayes: Bayesian Inference of Phylogeny
[URL: <https://nbisweden.github.io/MrBayes/>]
24. Naskrecki P. Grasshoppers and their Relatives. Encyclopedia of Biodiversity, 2001. Vol, 3
[URL:
<https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/gryllotalpidae>]
25. National Institute of Standards and Technology (NIST). F-Test for Equality of Two Variances.
[URL: <https://www.itl.nist.gov/div898/handbook/eda/section3/eda359.htm>]
26. Odhiambo Martha Akello, Olweny Caleb Ochia, Okuto Erick Otieno. Habitat Preference and Distribution of Crickets (Orthoptera; Gryllidae) in Western Kenya. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare, Vol.12, No.6, 2022. ISSN 2225-093X
[URL: <https://www.iiste.org/Journals/index.php/JBAH/article/view/58357>]
27. Otte Daniel, Australian Crickets (Orthoptera: Gryllidae). Acagemy of Natural Sciences. pp. 17 – 24. ISBN 978-1-4223-1928-4
[URL: <https://archive.org/details/AustralianCrickets/page/n17/mode/2up>]
28. Page R. D. M. NEXUS Data Editor for Windows. Technotron, 2001.
[URL:<https://technotron.asuscomm.com/ftproot/BIOSOFT/nde/documents/NEXUS%20Data%20Editor%20for%20Windows.htm>]
29. Resh Vincent H., Carde Ring T. Encyclopedia of Insects. 2nd ed. Burlington: Academic Press, 2009. pp. 232–236. ISBN 978-0-08-092090 -0.
[URL:https://books.google.com.ua/books?id=Jk0Hym1yF0cC&q=Grylloidea&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false]

30. Robillard T. Eneopterinae crickets (Insecta, Orthoptera, Grylloidea) from Vanuatu
[URL: <https://www.researchgate.net/publication/232688813>]
31. Rodriguez-Castilla G., Rios M. *Gryllotalpa vineae* Bennet-Clark, 1970 (Orthoptera: Gryllotalpidae), primera cita para la provincia de Córdoba (Andalucía, España). *Boletín de la SAE*. 2020. No. 30. P. 147–149.
[URL: https://www.researchgate.net/publication/344892322_Gryllotalpa_vineae_Bennet-Clark_1970_Orthoptera_Gryllotalpidae_primera_cita_para_la_provincia_de_Cordoba_Andalucia_Espana]
32. Song, H., Béthoux, O., Shin, S. et al. (2020). Phylogenomic analysis sheds light on the evolutionary pathways towards acoustic communication in Orthoptera. *Nature communication*, V. 11 (1), p.4939,
[URL: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18739-4>]
33. Species *Gryllotalpa pluvialis* (Mjöberg, 1913)
[URL: <http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1128843>]
34. Taro Mito, Cassandra G. Extavour. Chapter Ten - Cricket: The third domesticated insect. *Current Topics in Developmental Biology* V. 147, p. 291-306
[URL: <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2022.02.003>]
35. Вовчок звичайний. Вікіпедія.
[URL: https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%BE%D0%B2%D1%87%D0%BE%D0%BA_%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%87%D0%B0%D0%B9%D0%BD%D0%B8%D0%B9]
36. Капустянка звичайна - опис та перелік інсектицидів від шкідника. Super Agronom.com.
[URL: <https://superagronom.com/shkidniki-pryamokrili-orthoptera/kapustyanka-zvichayna-id16677>]

37. Методичні рекомендації для побудови філогенетичних дерев за допомогою програми MEGA5: колект. зб. // КНУ ім. Т.Шевченка. Київ, 2013. 4-5 с.

[URL: <https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Upload/Kafedry>]

38. Студентський архів. Похибки вимірювання. Файловий архів студентів. 2016.

[URL: <https://studfile.net/preview/5193883/page:3/>]

39. Твердохвалова Ю. Л. «Математичні методи в психології»: текст лекції з навчальної дисципліни (тема №7 – «Параметричні методи порівняння двох вибірок досліджуваних». *ХНУВС. Факультет №6, Кафедра соціології та психології*. Харків. 2023. С. 9

[URL: <https://nm2.univd.edu.ua/download/145802>]

40. Трускавецька І.Я. Фітосанітарний моніторинг капусти звичайної (*Gryllotalpa gryllotalpa* L.) в овочевих агроценозах присадибної ділянки с. Седлище Любешівського району

[URL: <http://ephsheir.uhsp.edu.ua/bitstream/handle/8989898989/51>]

41. Фетісов В. С. (2018). Пакет статистичного аналізу даних STATISTICA : навч. посіб. Ніжин : НДУ ім. М. Гоголя. 114 с.

[URL: <https://files.znu.edu.ua/files/Bibliobooks/Inshi72/0053477.pdf>]

42. Фокін А.В. Механізм дії ентомологічної ґрунтової пастки. *Захист і карантин рослин*. Зб. наук. праць. Вип. 43. Київ: Аграрна наука, 1996. – 132 р.

43. Що таке тест Тьюкі–Крамера для ANOVA? *Hazeta*. Електронний ресурс.[URL:

<https://hazeta.zapisi.cx.ua/maysternist/shho-take-test-tyuki-kramera-dlya-anova.html>]

ANNOTATION

The aim of the study was a comprehensive morphological and molecular-phylogenetic investigation of representatives of the genus *Gryllotalpa* from various regions of Ukraine and Slovenia in order to clarify their taxonomic status and assess intra- and interpopulation variability.

The work includes a review of scientific literature on the systematics, morphology, and molecular-genetic analysis of members of the family *Gryllotalpidae*; a morphometric analysis of specimens using index ratios; and a statistical assessment of variability and comparison of samples using t- and F-tests. Genomic DNA was extracted from specimens collected in different regions of Ukraine and Slovenia; a fragment of the mitochondrial COI gene was amplified and sequenced from selected samples, and a phylogenetic tree was reconstructed for these specimens.

Morphological data allowed characterization of the degree of variability in body proportions and assessment of differences among geographically defined groups (Left-Bank Ukraine, Right-Bank Ukraine, Slovenia). The molecular-phylogenetic analysis revealed two well-supported clades with high bootstrap values and demonstrated substantial genetic differentiation among certain specimens that exceeds the level of intraspecific variability typical for the genus *Gryllotalpa*.

The study applied modern molecular biology methods: DNA extraction, polymerase chain reaction, gel electrophoresis, sequencing, nucleotide sequence analysis, and phylogenetic tree construction using the Bayesian method.

The thesis provides summarized data on the species diversity of the genus *Gryllotalpa* in Ukraine and Europe. The results of the molecular analysis, particularly the structure of the reconstructed phylogenetic tree and the values of genetic distances between the examined specimens, indicate that mole-crickets inhabiting modern-day Ukraine show significant genetic distinctiveness and may belong to previously unidentified lineages characterized by unique phylogenetic and morphological traits, which warrants further investigation.

The thesis consists of 65 pages and includes 29 tables, 10 figures, 1 formula and 43 references.

Keywords: family *Gryllotalpidae*, mole-cricket, morphometry, morphological indices, molecular phylogenetics, mitochondrial COI gene, sequencing, systematics, statistical analysis.