

**GAMTOS TYRIMŲ CENTRO EKOLOGIJOS INSTITUTAS
VILNIAUS UNIVERSITETAS**

Robertas Staponkus

**LIETUVOS APSKRITAŽIOMENIŲ (CEPHALASPIDOMORPHI)
BIOLOGIJA IR POPULIACINĖS-GENETINĖS STRUKTŪROS YPATUMAI**

Daktaro disertacija Biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra (03B)

Vilnius, 2015

Disertacija rengta 2010–2014 metais Gamtos tyrimų centro Ekologijos institute.

Darbo mokslinis vadovas:

Dr. **Vytautas Kesminas** (Gamtos tyrimų centro Ekologijos institutas, biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra - 03B)

Mokslinis konsultantas:

Dr. **Dalius Butkauskas** (Gamtos tyrimų centro Ekologijos institutas, biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra - 03B)

Turinys

1. Santrumpos	5
2. Įvadas.....	6
3. Literatūros apžvalga	11
3.1. Tyrimo objektas.....	11
3.1.1. Pasaulio nėgių apžvalga	11
3.1.2. Trumpa Europos ir Lietuvos nėgių apžvalga	11
3.1.3. Nėgių gyvenimo ciklas	13
3.1.4. Nėgių tyrimai pasaulyje ir Lietuvoje	15
3.1.5. Verslinė nėgių reikšmė	17
3.2. Upinė ir mažoji nėgė.....	18
3.2.1. Populiacinė-genetinė struktūra.....	18
3.2.2. Citogenetiniai <i>L. fluviatilis</i> ir <i>L. planeri</i> tyrimai	19
3.2.3. Molekuliniai <i>L. fluviatilis</i> ir <i>L. planeri</i> tyrimai	20
3.3. Ukraininė nėgė	25
4. Medžiaga ir metodai	30
5. Rezultatai ir jų aptarimas.....	47
5.1. Apskritažiomenių (Cephalaspidomorphi) paplitimas, gausumas ir juos įtakojantys veiksniai	47
5.1.1. <i>L. fluviatilis</i> ir <i>L. planeri</i> paplitimas ir gausumas Lietuvoje	47
5.1.2. <i>Lampetra</i> spp. vingilių paplitimą ir gausumą upėse lemiantys veiksniai	55
5.2. Vingilių sklaida upėse.....	58
5.3. Apskritažiomenių (Cephalaspidomorphi) molekuliniai tyrimai	62
5.3.1. <i>L. fluviatilis</i> ir <i>L. planeri</i> mtDNR regionų tyrimai	62
5.3.2. MtDNR NCR-I sekų genetinė įvairovė.....	75
5.3.3... <i>L. planeri</i> , <i>L. fluviatilis</i> ir <i>E. mariae</i> <i>in situ</i> hibridizacijos tyrimai.....	77
5.4. NATURA2000 tinklo buveinių apsaugai svarbių teritorijų įvertinimas ...	78
5.5. Rezultatų aptarimas	85

6. Išvados.....	97
7. Rekomendacijos	99
7.1. Rekomendacijos dėl nėgių vingilių tankumo kriterijų nustatymo	99
7.2. Rekomendacijos dėl nėgių būklės monitoringo protokolo Lietuvos upėse.....	99
8. Literatūros sąrašas	110
9. Disertacijos tema publikuoti straipsniai ir konferencijų tezės.....	131
10. Padėkos	132
11. Priedai	133

1. Santrumpos

AGE – elektroforezė agarozės gelyje (angl. *agarose gel electrophoresis*)

bp – bazių poros

BAST – buveinių apsaugai svarbi teritorija

HE – hidroelektarinė

NCR-I – pirmasis neteikiantis genetinės informacijos mtDNR fragmentas
(angl. *Non-coding region I*)

h – haplotipų įvairovės parametras (angl. *haplotype diversity*)

K – nukleotidų pakaitų vidurkio koeficientas (angl. *average number of nucleotide differences*)

IUCN – Pasaulio gamtos apsaugos organizacija (angl. *International Union for Conservation of Nature*)

MJ – medianų-jungimo metodas (angl. *median joining*)

ML – didžiausio tikėtimumo metodas (angl. *maximum likelihood*)

MP – mažiausio galimo pokyčio skaičiavimo metodas (angl. *maximum parsimony*)

NJ – kaimynų-jungimo metodas (angl. *neighbor joining*)

PGR – polimerazinė grandininė reakcija

S – polimorfinių saitų DNR grandinėje skaičius (angl. *polymorphic sites*)

T_M – pradmenų lydymosi temperatūra

η – bendras mutacijų skaičius (angl. *total number of mutations*)

π – nukleotidų įvairovės parametras (angl. *nucleotide diversity*)

2. Įvadas

Darbo aktualumas.

Nėgės (*Petromyzontiformes*) priklauso bežandžių (*Agnatha*) gyvūnų grupei, jų seniausios žinomos fosilijos aptiktos Pietų Afrikoje uolienose, kurių amžius siekia Devono periodą ir yra datuojamos 365 milijonų metų (Janvier *et al.* 2004, Gess *et al.* 2006). Nėgės, kaip ir kremzlinės žuvis, laikomos viena iš seniausių stuburinių taksonominių grupių. Tokių nėginių apskritažiomenių (*Cephalaspidomorphi*) ilgaamžiškumą ir evoliucinę sėkmę lėmė šios gyvūnų grupės ekologinis plastiškumas.

Šiuo metu pasaulyje žinoma 40 nėgių rūšių (Renaud 2011). Didžiausia jų įvairovė pasižymi Europos ir Šiaurės Amerikos žemynai. Nepaisant šios grupės evoliucinės sėkmės, daugelis nėgių rūšių šiuo metu yra nykstančios arba atsidūrusios prie išnykimo ribos. Visuotinai sutariama, jog būtent antropogeninė veikla per pastarąjį šimtmetį tapo pagrindiniu veiksniu, neigiamai įtakojusiu nėgių paplitimą, išgyvenamumą, reprodukciją ir kitus ekologinius rodiklius (Kirchhofer 1996). Iki šio disertacinio darbo Lietuvoje buvo žinomos trys Petromyzontidae šeimos nėgių rūšys: nereguliariai užklystanti jūrinė nėgė (*Petromyzon marinus* L., 1758) bei dažnos upinė (*Lampetra fluviatilis* L., 1758) ir mažoji nėgės (*Lampetra planeri* Bloch, 1784). Visos trys Lietuvoje aptinkamos rūšys saugomos pagal Berno konvenciją (Appendix III) ir Europos Buveinių direktyvą (Annex II, V) (European Council Decision 82/72/EEC 1998, EEC. Council Directive 92/43/EEC 1992). Nėgių apsaugai turi būti išskirtos svarbios teritorijos NATURA2000 saugomų teritorijų tinkle ir užtikrinta gera jų populiacijų būklė.

Lietuvos ichtiocenozių tyrimai, tipišku atveju, yra vykdomi siekiant nustatyti kaulinių žuvų (Osteichthyes) populiacijų būklę, paplitimą, gausumą ir apsaugos statusą. Nėgėms, kaip sistematinei grupei, būdingas savitas gyvenimo ciklas: didžiąją gyvenimo dalį jos praleidžia lervos (vingilio) stadijoje įsirausios į dugno gruntą. Po metamorfozės suaugėliai keletą mėnesių

praleidžia gimtosiose upėse arba kelerius metus aktyviai maitinasi jūroje. Dėl tokio gyvenimo ciklo suaugėlių ekologiniai tyrimai yra reti, o vingilių tyrimams būtina specifinė gaudymo metodika (Kesminas *et al.* 2009, Lasne *et al.* 2010b), kuri Europoje iki šiol vis dar tobulinama (Staponkus *et al.* nepublikuoti duomenys). Dėl anksčiau minėtų priežasčių Lietuvoje nėgių tyrimai yra fragmentiški ir neišsamūs: menkai ištirta rūšinė įvairovė, taip pat maža duomenų apie nėgių populiacijos būklę, paplitimą, gausumą ir apsaugos būklę. Pažymėtina, kad istoriniai verslinių laimikių duomenys dažniausiai nėra pakankami, norint išsamiai įvertinti nėgių populiacijų pokyčius. Visos Lietuvoje aptinkamos nėgių rūšys yra įrašytos į Pasaulio gamtos apsaugos organizacijos (IUCN, angl. *International Union for Conservation of Nature*) raudonuosius sąrašus, kuriuose jos priskirtos kategorijai rūšių, kurių būklė visame areale kelia mažiausią rūpestį (angl. *Least Concern*). Vis dėlto pastaraisiais metais Baltijos jūros regione yra išsamiai įvertinta *P. marinus* ir *L. fluviatilis* populiacijų būklė. Remiantis IUCN vertinimo kriterijais, jūrinei nėgei Baltijos jūroje yra suteiktas pažeidžiamos rūšies (VU) C2a(i) statusas, o upinė nėgė laikoma artimoje ateityje galinčia tapti pavojingai nykstančia (NT) A2bd (HELCOM 2013).

Genetinių išteklių apsauga pagrįstą nėgių valdymą komplikuoja taksonominė painiava, esanti tarp parazitinių *L. fluviatilis* ir neparazitinių *L. planeri*. Abi rūšys yra laikomos dvyninėmis (angl. *paired species*) (Zanandrea 1959) arba palydovinėmis (angl. *stem-satellite species*) (Vladykov ir Kott 1979), kurias geba pasirinkti alternatyvias gyvenimo strategijas. Parazitinės *L. fluviatilis* migruoja į jūras ar į didesnius atviro vandens telkinius, kuriuose minta kaulinių žuvų (Osteichthyes) krauju ir kūno audiniais, o neparazitinės *L. planeri* po metamorfozės nebesimaitina ir lieka natalinėse upėse. Tokios skirtingos gyvenimo strategijos būdingos septynioms, įskaitant *Lampetra* gentį, iš dešimties nėgių genčių, aptinkamų Europoje, Šiaurės Amerikoje ir Australijoje, o palydovinės rūšys yra žinomos bent penkiose gentyse (Docker *et al.* 2009). Todėl tikėtina, kad kai kurių rūšių nėgės, veikiant aplinkos

veiksniams, geba kardinaliai keisti savo gyvenimo strategiją. Lietuvoje ir Baltijos jūros regione vienintelė upinė nėgė yra reikšminga versliniu požiūriu (Thiel *et al.* 2009). Siekiant tvariai eksploatuoti *L. fluviatilis*, kaip verslinės žvejybos objektą, ir nesukelti pavojaus jų genetiniams ištekliams, būtina sukaupti pakankamai duomenų apie šios rūšies populiacinę-genetinę struktūrą. Šiuo metu Baltijos jūros regione daugelio nėgių populiacinės genetikos tyrimai yra neišsamūs (Espanhol *et al.* 2007, Blank *et al.* 2008, Pereira *et al.* 2010), o Lietuvoje tokių tyrimų iki šiol nebuvo.

Darbo naujumas:

1. Atrasta nauja Lietuvos faunai rūšis – ukraininė nėgė *Eudontomyzon mariae*;
2. Ištirta Pietryčių Baltijos regiono nėgių genetinė įvairovė;
3. Nustatyti mažosios ir upinės nėgės paplitimą tirtuose Lietuvos regionuose įtakojantys veiksniai;
4. Nustatytas vingilių augimo tempas ir jų nukeliamas atstumas nuo išsiritimo vietų iki vietų, kuriose vyksta metamorfozė.

Mokslinė ir praktinė darbo reikšmė.

Šiame disertaciniame darbe ištirtas *L. fluviatilis* ir *L. planeri* paplitimas ir gausumas Lietuvos upėse bei apžvelgti šiuos rodiklius įtakojantys veiksniai, o taip pat įvertinta nėgių lervinių stadijų sklaida upėse. Pasitelkus molekulinės sistematikos metodus, buvo aptikta nauja nėgių rūšis Lietuvai – ukraininė nėgė *Eudontomyzon mariae* (Berg, 1931) (Staponkus *et al.* 2014). Tyrimų rezultatai yra reikšmingi ir svarbūs *L. fluviatilis* ir *L. planeri* populiacinės-genetinės struktūros ir rūšių formavimosi procesų suvokimui. Remiantis molekulinį tyrimų rezultatais, išsiaiškinta, kad *L. fluviatilis* ir *L. planeri* priklauso tai pačiai evoliucinei linijai, o genų srautas tarp skirtingomis gyvenimo strategijomis pasižyminčių rūšių individų yra įmanomas. Tai patvirtina sėkmingas bendruose lizduose neršiančių *L. fluviatilis* ir *L. planeri in situ* kryžminimas. Praktiniu požiūriu darbas taip pat svarbus tuo, kad gauti nauji genetinių tyrimų duomenys gali būti panaudoti nėgių apsaugai. Galiausiai,

įvertinta ES svarbos nęgių rūšių apsaugos būklė ir jos pokytis pastarąjį dešimtmetį bei pateikiamos rekomendacijos tolimesniems nęgių tyrimams ir būklės monitoringui Lietuvoje.

Darbo tikslas ir uždaviniai.

Šio darbo tikslas – išsiaiškinti Lietuvoje aptinkamų nęgių rūšinę priklausomybę panaudojant mtDNR žymenis ir skirtingų nęgių rūšių kryžminimosi galimybes bei nustatyti nęgių paplitimą, populiacijų gausumą ir būklę Lietuvos vidaus vandenyse. Tikslui pasiekti buvo suformuluoti šie uždaviniai:

1. Įvertinti nęgių gausumą ir paplitimą skirtingose Lietuvos upių sistemose;
2. Įvertinti nęgių paplitimą ir gausumą Lietuvos upėse įtakojančius veiksnius;
3. Nustatyti Lietuvos nęgių rūšinę priklausomybę, naudojant mtDNR NCR-I ir cyt *b* regionų sekas;
4. Naudojant mtDNR NCR-I žymenį, nustatyti *L. fluviatilis* ir *L. planeri* vidurūšinės genetinės įvairovės parametrus ir genetinius atstumus tarp šių rūšių pietryčių Baltijos regione;
5. Eksperimentiškai įvertinti *L. fluviatilis* ir *L. planeri* kryžminimosi galimybes;
6. Palyginti gautus Rytų Baltijos jūros baseino mtDNR duomenis su kitų Europos geografinių regionų *Lampetra* spp. populiacijų parametrais;
7. Apžvelgti *Lampetra* spp. galimą populiacijų kilmę bei formavimosi dėsningumus, atsižvelgiant į istorinius gamtinius procesus Baltijos jūros formavimosi metu.

Ginamieji teiginiai:

1. Šiuo metu Lietuvoje aptinkamos keturios nęgių rūšys: upinė nęgė (*Lampetra fluviatilis*), mažoji nęgė (*Lampetra planeri*), jūrinė nęgė (*Petromyzon marinus*) ir ukraininė nęgė (*Eudontomyzon mariae*);
2. Skirtingose Lietuvos upių sistemose nęgės paplitusios nevienodai ir dėl skirtingų sąlygų upių sistemose nęgių populiacijų tankiai skiriasi;
3. Lietuvos upių sistemose upinė nęgė (*Lampetra fluviatilis*) ir mažoji nęgė (*Lampetra planeri*) geba kryžmintis;
4. Tarp upinių nęgių (*Lampetra fluviatilis*) ir mažųjų nęgių (*Lampetra planeri*) populiacijų Pietryčių Baltijoje genetinė diferenciacija silpnai išreikšta.

Rezultatų pristatymas ir aprobavimas. Disertacinio darbo rezultatai paskelbti 3 moksliniuose straipsniuose ir 2 tarptautinėse konferencijų tezėse. Disertacijos tema perskaitytas pranešimas Lietuvoje ir pristatytas standinis pranešimas tarptautinėje mokslinėje konferencijoje Didžiojoje Britanijoje.

3. Literatūros apžvalga

3.1. Tyrimų objektas

3.1.1. Pasaulio nęgių apžvalga

Šiuo metu pasaulyje žinoma 40 nęgių rūšių (Renaud 2011). Nęgių paplitimo arealas labai platus: jos aptinkamos abiejų pusrutulių poliariniuose ir vidutinių platumų regionuose, išskyrus tropinius regionus, t.y. nuo 30° Šiaurės platumos iki 30° Pietų platumos (Hardisty & Potter 1971). Pagrindinis nęgių paplitimą ribojantis veiksnys – aukšta vandens temperatūra ankstyvosiose nęgių vystymosi stadijose: esant aukštesnei nei 30°C temperatūrai lervos neišgyvena (Macey & Potter 1978). Vienintelė *Tetrapleurodon* gentis aptinkama Meksikos subtropikų regionuose, tačiau šios genties atstovai randami tik aukštikalnėse, kur vyrauja vėsesnis klimatas nei aplinkiniuose regionuose (Salewski 2003). Šiaurės pusrutulyje aptinkamos 36 nęgių rūšys, priklausančios vienintelei *Petromyzontidae* šeimai ir septynioms skirtingoms gentims: *Caspiomyzon*, *Eudontomyzon*, *Ichthyomyzon*, *Lampetra*, *Lethenteron*, *Petromyzon*, *Tetrapleurodon*. Pietų pusrutulyje aptinkamos tik 4 nęgių rūšys, priklausančios *Geotiidae* ir *Mordaciidae* šeimoms. Manoma, kad Pietų ir Šiaurės pusrutulių nęgės išsiskyrė prieš 200 milijonų metų, atsiskiriant Gondvanos ir Laurazijos kontinentams bei plečiantis Tetijos jūrai (Gill *et al.* 2003).

Iš 40 nęgių rūšių net 22 rūšys neturi parazitinės suaugėlio stadijos, t.y. suaugėlio stadijoje, kuri trunka nuo šešių iki devynių mėnesių, nesimaitina. Be to, šios nęgės nemigruoja ir lieka gimtosiose upėse (Renaud 2011). Likusios 18 rūšių turi parazitinę gyvenimo stadiją, kuri trunka nuo kelių mėnesių iki keleto metų, o subrendusios nęgės migruoja į upes ir neršia iš anksto suformuotuose nerštiniuose lizduose, kurie taip pat būdingi tiek lašišinėms žuvims, tiek kai kurioms karpinių žuvų rūšims.

3.1.2. Trumpa Europos ir Lietuvos nęgių apžvalga

Europoje randama 12 nęgių rūšių, tai sudaro beveik trečdalį šiuo metu žinomų nęgių rūšių (Renaud 2011). Septynios iš jų turi redukuotą parazitinę gyvenimo

stadiją ir yra sėslios, t.y. visą savo gyvenimą praleidžia gimtosiose upėse: italinė nėgė *Lethenteron zanandreaei*, *Eudontomyzon hellenicus*; mažoji nėgė *L. planeri*, ukraininė nėgė *Eudontomyzon mariae*; *E. stankokaramani* (kai kurie autoriai išskiria kaip *E. mariae* porūšį); *E. vladykovi* (kai kurie autoriai išskiria kaip *E. mariae* porūšį); ir galimai *Lethenteron ninae* (Naseka *et al.* 2009). Tačiau esama ir išimčių iš šių dviejų labiausiai paplitusių gyvenimo strategijų. vengrinė nėgė *E. danfordi* visas gyvenimo stadijas praleidžia gimtosiose upėse, tačiau turi ir gerai išreikštą parazitinę gyvenimo stadiją. *L. fluviatilis* yra praeivė rūšys, tačiau Europoje yra žinomos ir kelios vidaus vandenyse izoliuotos populiacijos (Kottelat & Freyhof 2007, Renaud 2011). Europos kontinente tik kaspijinė nėgė *Caspiomyzon wagneri*, *Lethenteron camtschaticum*, upinė nėgė ir jūrinė nėgė pasižymi anadromine migracija. *C. wagneri* yra endeminė Kaspijos jūros baseino rūšis, o likusios trys rūšys aptinkamos Europos pakrančių vandenyse ir upėse, įtekančiose tiesiogiai į jūras.

Lietuvos faunai šiuo metu priskiriamos trys nėgių rūšys: *L. fluviatilis*, *L. planeri* ir *P. marinus*. Lietuvoje vykdoma mažos apimties *L. fluviatilis* verslinė žvejyba Nemuno žemupyje ir Šventosios upėje (Baltijos jūra), o *L. planeri* dėl savo mažo dydžio ekonominės reikšmės neturi. *P. marinus* yra reta ir neoficialiais duomenimis Kuršių mariose kasmet sugaunami tik pavieniai individai (Repečka 2007, Kesminas & Svecevičius 2008). Vis dėlto, dokumentuotų atvejų apie jų sugavimus yra maža. Dėl šios priežasties ji yra įtraukta į Lietuvos raudonąją knygą kaip prie išnykimo ribos atsidūrusi rūšis (I kategorija). Pažymėtina, kad jos sugavimai versliniuose laimikiuose visada buvo reti (Theil *et al.* 2009), o šios rūšies pasirodymui Kuršių mariose gali turėti įtakos Baltijos jūroje vyraujančios srovės (Birzaks, žodinė komunikacija). Iki šiol konkrečių duomenų apie ukraininės nėgės *E. mariae* paplitimą Lietuvos vidaus vandenyse nebuvo, nors kai kurių mokslininkų nuomone (Zhukov 1965, Rembiszewski 1968, Kappus *et al.* 1995) į šios rūšies arealą patenka dalis Nemuno baseino.

3.1.3. Nėgių gyvenimo ciklas

Visos šiuo metu žinomos nėgių rūšys pasižymi semelparija (angl. *semelparity*), tad konkretus individas per savo kelių ar keliolikos metų trukmės (Manion & Smith 1978) gyvenimą neršia tik vieną kartą (Renaud 2011). Daliai nėgių būdinga anadromija, t. y. dalį savo gyvenimo ciklo jos praleidžia jūroje, o neršti migruoja į upes (Maitland & Campbell 1992, Virbickas 2000). Kai kurioms rūšims būdinga potamodromija, kuomet nėgių migracija vyksta tik vidaus vandenyse arba yra labai ribota dėl suaugėlių afagijos. Neršia poromis arba grupėmis iš anksto suformuotuose nerštiniuose lizduose. Patinas prisisiurbia prie patelės galvos srityje, užpakaline kūno dalimi staigiai apjuosia jos liemenį ir stumdamas susidariusią kilpą išspaudžia porcijomis iš patelės kūno ertmės ikrus (Virbickas 2000, Renaud 2011). Didžiausias nėgių aktyvumas būna naktį (Sjöberg 1977), tačiau neršto piko metu jas galima stebėti ir šviesiuoju paros metu. Nėgės dažniausiai neršia sekliose vietose, t.y. upių sraunumų pradžioje, ant žvyringo ar akmenuoto dugno. Nuvalyti akmenys ir šviesesni žvirgždo ploteliai bei neršiantys nėgių suaugėliai išsiskiria tamsaus upės substrato fone, todėl, dėl silpnai išreikštos vengimo reakcijos, nėgių populiacijos yra jautrios gaudymui ir plėšrūnų poveikiui neršto metu (Renaud 2011).

Po išsiritimo nėgių lervos išeina iš lizdų ir srovės yra nuplukdomos pasroviui į ramesnės tėkmės zonas (angl. *ammocoete beds*), kur kaupiasi smulkus gruntas (aleuritas, smulkus smėlis) ir smulkios organinės dalelės. Nėgių lervų anatomija ir gyvenimo būdas akivaizdžiai skiriasi nuo suaugusių nėgių: akių užuomazgos paslėptos po oda, burnos piltuvai nepilnai išsivystę ir pritaikyti filtravimui (burna beveik keturkampė, be raginių dantų, burnos piltuvai nesuaugę į diską, jo vietoje ilga viršutinė lūpa). Dėl šių morfologinių skirtumų nėgių lervos vadinamos vingiliais (lot. *ammocoetes* (graik. *ámmo* (s) smėlis + *koítē* lova)) ir iki pat XIX a. nėgių lervos ir suaugėliai laikyti skirtingais organizmais. Dėl šių morfologinių skirtumų įvairiuose Lietuvos regionuose ir senesnėje mokslinėje literatūroje nėgės ir vingiliai taip pat vadinti skirtingai:

nėgės vadintos septyntaškėmis, devynakėmis, minėgais, graužavirbėmis, vingiliai – smegžėmėmis, graužvirbomis, aklinėmis vėnagomis, apākėlėmis ar vijūnais (Elisonas 1935, Kapočius 1953, Didžiulytė 1966, Virbickas 2000). Vingiliai gyvena įsirausę į upių dugno gruntą ir minta filtruodami vandens srovės atneštas organines daleles, pirmuonis ir vienaląščius dumblius. Net 86–93 % viso raciono sudaro detritas (Mundahl *et al.* 2005). Mitybos būdas artimas primityviems chordiniams (*Urochordata, Acrania*), kuomet įtrauktos maisto dalelės yra sulipinamos ryklės gleivėmis ir gleivių juosta transportuojamos į ryklę (Maitland 2003).

Nėgių vingiliams būdinga metamorfozė. Nėgių vingilių kūno sistemų organizacija paprasčiausia iš visų šiuo metu žinomų stuburinių. Manoma, kad ji yra analogiška ankstyvųjų stuburinių sistemų organizacijai, o nėgių suaugėlių sandara yra artimesnė šiuolaikiniams stuburiniams (McNabb 1992). Ši metamorfozė atspindi reikšmingą evoliucinį šuolį tarp stuburinių potipių atstovų, kurį, manoma, nulėmė nėgių genomo duplikacija (Sharman *et al.* 1997, Mehta *et al.* 2013). Metamorfozė gali trukti 4–5 savaites ir ilgiau. Jos metu keičiasi vingilių atspalvis, kūnas pradeda „sidabrėti“, išryškėja akys, susiformuoja disko formos burnos piltuvai su gremžimui skirtais raginiais dantimis. Šie individai kai kada yra laikomi suaugėliais, tačiau dauguma autorių laikosi griežtesnio nėgių gyvenimo stadijų skirstymo, o tokiems metamorfozėjantiems individams apibūdinti, kaip ir ungių atveju, naudojamas *Macrophthalmia* (graik. *makrós* didelis + *ophthalmos* akis) terminas. Pasibaigus metamorfozei nėgės migruoja į didesnius vandens telkinius, kur parazituoja vandens gyvūnus (dažniausiai žuvis), minta jų audiniais, krauju ir kūno skysčiais. Jei pažeidžiama žuvų kūno ertmė, auka dažniausiai neišgyvena, todėl nėgės kai kuriuose kraštuose yra laikomos kenkėjais, o kovai su jomis yra taikomi įvairūs kovos būdai (užtvankų statymas migracijos keliuose, vingilių naikinimas lampricidais, pvz., 3-trifluorometil-4-nitrofenolis ir kt. (Lech & Statham 1975, Schultz & Harman 1978, Jorgensen & Kitchell 2005). Misdamos baltymingu maistu nėgės greitai auga, o po kelių

metų subrendusios migruoja į vidaus vandenį neršti. Sėslios nęgių rūšys suaugėlio stadijoje nesimaitina ir neršia gimtosiose upėse, todėl, tipišku atveju, šios rūšys yra akivaizdžiai mažesnės nei anadrominių nęgių ir ne didesnės nei visiškai užaugę vingiliai.

3.1.4. Nęgių tyrimai pasaulyje ir Lietuvoje

Pirmasis nęginių apskritažiomenių (*Cephalaspidomorphi*) vystymosi ciklą ir gyvenimo stadijas 1666 m. aprašė Strasbūro gamtininkas, žvejas ir medžiotojas Leonard Baldner savo veikale „Strasbūro vandenų gamtos istorija“ (pranc. *L'Histoire naturelle des eaux strasbourgeoise*) (Geus 1964). Deja, šis darbas buvo mažai kam žinomas, o vėlesniuose gyvūnų klasifikavimo darbuose Carl Linnaeus (1758) visų nęgių rūšių vingilius apjungė į vieną *Petromyzon branchialis* rūšį. Dar vėliau Dumeril (1812) išskyrė apskritažiomenių šeimą, kurią suskirstė į tris gentis: nęges, miksinas ir vingilius, kuriems suteikė *Ammocoetus* pavadinimą, plačiai taikytą aprašant naujas rūšis. Pavyzdžiui, Kirtland (1840), DeKay (1842) ir Agassiz (1850) neidentifikuotus *Ichthyomyzon* genties vingilius atitinkamai apibūdino kaip *Ammocoetes concolor*, *A. unicolor* ir *A. borealis*. Galiausiai, 1856 m. August Müller aprašė nęgių gyvenimo ciklą ir išsiaiškino, jog vingiliai – lervinės nęgių stadijos.

Nęgių tyrimai Lietuvoje gana fragmentiški ir nenuoseklūs. Nęgių tyrimų pradininkas Lietuvoje – A. Mackevičius. Jo surinkti duomenys pateikiami Zoologijos ir parazitologijos instituto (šiuo metu Gamtos tyrimų centro Ekologijos institutas) ataskaitoje „Upinės nęgės (*Lampetra fluviatilis*) paplitimo, biologijos ir išteklių tyrimai Lietuvos TSR vidaus vandenyse“ (Mackevičius 1966) ir straipsnyje „Apie kai kurias upinių nęgių *Lampetra fluviatilis* (L.) verslinės žvejybos ypatybes ir galimybes Nemuno upės baseine“ (rus. *О некоторых особенностях и возможностях промысла речной миноги Lampetra fluviatilis (L.) в бассейне р.Нямунас*) (Gaigalas & Mackevičius 1968). Vėliau Mackevičius (1969) surinktus duomenis papildė ir

apibendrino savo diplominiame darbe „Upinė nėgė, jos paplitimas Lietuvos vandenyse ir kai kurie biologijos bruožai“. Taip pat nemažai duomenų yra sukaupta apie nėgių verslinę žvejybą ir verslinius laimikius Kuršių mariose (Gaigalas 1968, Gaigalas *et al.* 1992, Gaigalas 2001). Vėlesniu laikotarpiu nėgių tyrimai taip pat vykdyti Vilniaus universiteto Ekologijos institute, siekiant nustatyti apskritažiomenių gausumą ir migracijos ypatumus Lietuvos vidaus vandenyse (Virbickas *et al.* 1996). Upinių nėgių žvejybos efektyvumo tyrimai rudeninės migracijos metu buvo atliekami 2003 m. rytinėje Kuršių marių priekrantėje. Jų metu nustatyta sužvejojamų nėgių bei žuvų rūšinė sudėtis, matmeninė-lytinė struktūra ir vislumas. Pateiktos išvados ir rekomendacijos dėl upinių nėgių žvejybos tikslingumo Kuršių mariose (Repečka 2008). Jankauskienė ir Jurgaitytė (2008) įvertino antropogeninės apkrovos fizinį poveikį vingilių gausumui 100 m intensyviai naudojamoje Minijos upės atkarpoje.

Nėgių paplitimo ir gausumo atžvilgiu, išsamiausias Mackevičiaus (1969) diplominis darbas. Jame ne tik patvirtinami tuo pačiu laikmečiu kitų autorių gauti rezultatai, bet atskleidžiami ir nauji nėgių ekologiniai parametrai. Upinės nėgės vingiliams atpažinti Mackevičius naudojo McDonald (1959) atpažinimo raktą, kurio pagrindinis požymis vingiliams identifikuoti buvo liemeninių miomerų skaičius (miomerų skaičius tarp paskutiniojo žiaunų plyšio ir anuso). Vėlesni Potter ir Osborne (1975) tyrimai parodė, kad tiek upinių nėgių vingilių, tiek mažųjų nėgių vingilių miomerų skaičius varijuoja ir patikimai pagal šį požymį jų atskirti neįmanoma. Todėl tikėtina, jog dalis pagautų vingilių buvo klaidingai identifikuoti kaip *L. planeri*. Vingilių tankumas Mackevičiaus tirtose Lietuvos upėse pateiktas 1 lentelėje.

1 lentelė. Mackevičiaus (1969) Lietuvos upėse nustatytas vingilių tankumas 1966–1967 m.

Upė	Tyrimų vieta	Vingilių tankumas, ind./m ²
Nemunas		10
Neris		19
Minija		98
Jūra	Ties Taurage	90
	Ties Didkiemiu	83
Mituva		50
Dubysa		38
Šventoji		42
Judinys		85
Širvinta		76
Siesartis		76
Žeimena		74
Peršokšna		10

3.1.5. Verslinė nėgių reikšmė.

Europoje tik anadrominės rūšys *Lethenteron camtschaticum*, *C. wagneri*, *L. fluviatilis* ir *P. marinus* dėl savo dydžio yra verslinės žvejybos objektas (Renaud 2011). Vis dėlto šių nėgių, kaip daugumos Europoje aptinkamų nėgių, būklė dėl antropogeninio poveikio upių sistemoms prastėja (Kirchhofer 1996). Pagrindiniai prastą nėgių būklę lemiantys faktoriai yra užtvankų ar kitų kliūčių atsiradimas migracijos keliuose, upių suregulavimas ir buveinių nykimas, vandens užterštumas bei per daug intensyvus jo naudojimas (Potter 1980, Renaud 1997). Tai puikiai iliustruoja *C. wagneri* pavyzdys. Versliniai šių nėgių laimikiai Volgos žemupyje ir Kuros upėje kasmet siekdavo nuo 1915 iki 3784 t (Berg 1948, Magalhaes & Costa 2009). Tačiau XX a. viduryje, pastačius Volgogrado ir Mingečevyro užtvankas, sekė nėgių populiacijų nykimas ir visiškas nėgių žvejybos sunykimas (Holčík 1986).

Iš Lietuvoje aptinkamų nėgių tik upinė nėgė yra verslinės žūklės objektas. Prieš 100 metų upinės nėgės buvo svarbus verslinės žvejybos objektas visoje Baltijos jūroje, o pagrindiniai jų žvejybos regionai buvo Kuršių marios, Aistmarės ir Ščecino įlanka (Thiel *et al.* 2009). Šiuo metu nėgių verslinė žvejyba vykdoma Švedijoje, Suomijoje, Estijoje, Latvijoje ir Lietuvoje, tačiau

tik Latvijoje ir Suomijoje nęgių žvejojimas išliko ekonomiškai svarbi. Didžiausias fiksuotas nęgių laimikis Suomijoje sudarė apie 130 t (Tuunainen *et al.* 1980), tačiau pastarąjį dešimtmetį nęgių laimikiai sumažėjo ir kasmet sugaunama tik apie 900 tūkst. individų (Aronsuu 2011), t.y. apie 40 t nęgių. Latvijoje nęgių žvejojimas vis dar yra gana svarbi vietinėms žvejų bendruomenėms. Nors nęgių sugavimai neviršija fiksuotų rekordinių laimikių, kada didžiausi laimikiai sudarė net 270 t, tačiau nęgių laimikis 2003 m. vis dar sudarė 30% visų vidaus vandenyse sugaunamų žuvų (Sjöberg 2011). Lietuvoje nuo XIX a. specializuotą upinių nęgių žūklę Kuršių mariose, Minijoje ir Nemuno žemupio atšakose vykdė nemažai žvejų. Didžiausias užregistruotas nęgių laimikis vien Skirvytėje tuo metu buvo 140 tūkst. individų, tai sudarytų apie 25 t. Per I-ąjį pasaulinį karą ir ilgą laiką po jo nęgių išteklių nebuvo eksploatuojami. Po karo pagal mokslininkų rekomendacijas atnaujinus specializuotą upinių nęgių žūklę, ji vėl pasiekė prieškarinį lygį. Tačiau, vis mažėjant upinių nęgių populiacijai ir laimikiams, ji buvo įtraukta į Europos Komisijos Buveinių direktyvos (92/43/EEC) (1) II priedą, kaip Europos bendrijos svarbos rūšis, kurios apsaugai būtina steigti teritorijas, ir Berno konvencijos III priedą, kuriuo leidžiama tik ribota šios rūšies verslinė žvejojimas. Todėl šiuo metu dėl išteklių išsekimo ir specializuotos žvejojimos apribojimų upinė nęgė priskiriama antrareikšmių žuvų grupei.

3.2. Upinė ir mažoji nęgė

3.2.1 Populiacinė-genetinė struktūra

Satelitinių *L. fluviatilis* ir *L. planeri* rūšių sisteminio statuso kaita. Po Müller (1856) išaiškinto apskritažiomenių gyvenimo ciklo, *L. fluviatilis* ir *L. planeri* taksonominis statusas net keletą kartų keitėsi. Wajgel (1883) pakartotinai apžvelgdamas Europos nęgių sistematiką tarp *L. planeri* bei *L. fluviatilis* vingilių nerado jokių skirtumų, todėl abejoms rūšims buvo suteiktas nominalios *L. fluviatilis* rūšies statusas, o *L. planeri* laikyta viena iš lervinių stadijų. Po tokio suskirstymo buvo iškeltos dar kelios konkuruojančios

hipotezės dėl šių rūšių statuso, kurių nė viena neįsitvirtino. Loman (1912) pabrėždamas skirtingų gyvenimo ciklų svarbą, siūlė išlaikyti dviejų rūšių statusą, Weissenberg (1925) šias rūšis laikė aiškiai išreikštais tos pačios rūšies biotipais, o Enequist (1937) dėl suaugėlių morfologinio panašumo šias dvi rūšis taip pat siūlė laikyti vienos rūšies ekologine modifikacija. Dabartinę šių dviejų rūšių koncepciją suformavo Hardisty ir Potter (1971) bei Holčik (1986). Pagal ją *L. planeri* ir *L. fluviatilis* skiriamos kaip dvi savarankiškos rūšys. Nors šių rūšių sisteminė padėtis šiuo metu yra nusistovėjusi, tačiau atsiranda vis daugiau molekulinų tyrimų duomenų, kurie verčia abejoti tokiu šių rūšių išskyrimu (Espanhol *et al.* 2007, Blank *et al.* 2008, Pereira *et al.* 2010).

Tarp lytiškai besidauginančių organizmų be alopatriinio rūšių susidarymo galimi treji rūšių formavimosi būdai. Pirma, parapatrinis susidarymo būdas, kuomet artimos rūšys vystosi prisitaikydamos prie gretimų, bet erdviškai atskirtų buveinių, o kartu aptinkamos tik tai siauroje sąlyčio zonoje (Bush 1994, Berner *et al.* 2009). Antra, simpatrinis susidarymo būdas, kuomet rūšys susidaro pradinės rūšies viduje, nesant išankstinės erdvinės izoliacijos, bet pasireiškiant išteklių specializacijai ir veikiant išskiriančiajai atrankai (poliploidiniuose organizmuose, veikiant šiam rūšių susidarymo būdai, dalis konkrečios rūšies individų turės padidintą chromosomų skaičių (Coyne 2007)). Galiausiai, rūšies susidarymas dėl dviejų rūšių hibridizacijos, kai naujos rūšys sparčiai vystosi dėl dviejų giminingų rūšių kryžminimosi, kas taip pat dažnai sukelia chromosomų skaičiaus pokyčius (Bush 2001, Mable *et al.* 2011).

3.2.2. Citogenetiniai *L. fluviatilis* ir *L. planeri* tyrimai

Kariologiniai nėgių tyrimai. Nėgių kariologija Lietuvoje netirta, tačiau remiantis esamais duomenimis Petromyzontidae šeimai būdingas modalinis $2n=164$ chromosomų rinkinys (Caputo *et al.* 2011). *Lampetra* genties nėgės gali turėti 60, 94-6, 142, 146, 156 ir 165-74 chromosomų rinkinius, tuo tarpu kitoms nėgėms būdingi 76, 164 ir 168 chromosomų rinkiniai (Chiarelli 1973).

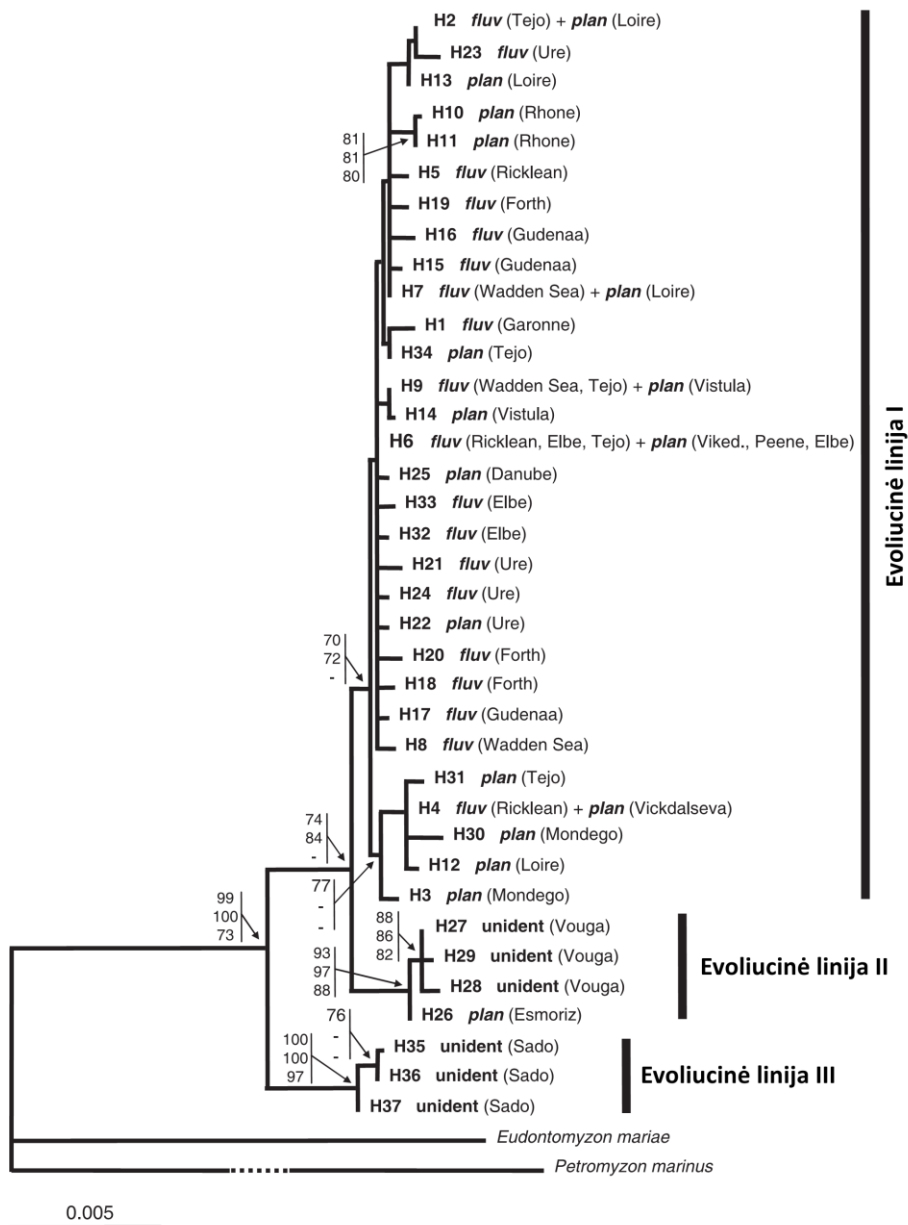
L. fluviatilis ir *L. planeri* chromosomų modalinis skaičius taip pat yra $2n=164$ (Hardisty 1986, Klinkhardt *et al.* 1995), tačiau žinoma atvejų, kuomet nustatytas skaičius skiriasi nuo įprasto skaičiaus. *L. fluviatilis* individuose taip pat randamas $2n=156$ chromosomų rinkinys (Klinkhardt *et al.* 1995), o *L. planeri* – $2n=146$ (Arkhipchuk 1999, Klinkhardt *et al.* 1995, Vasil'ev 1980).

3.2.3. Molekuliniai *L. fluviatilis* ir *L. planeri* tyrimai bei bendros žinios apie šių rūšių populiacinę-genetinę struktūrą

Satelitinių *L. fluviatilis* ir *L. planeri* rūšių alozimų polimorfizmo tyrimai. Alozimai – tai to paties geno skirtingų alelių koduojami izofermentai. Esant aktyviam lokusui abu aleliai veikia kodominuojančiai: homozigotose vyksta vieno tipo subvienetų sintezė, heterozigotose – dviejų. Tokių subvienetų struktūros skirtumai nedideli, nes jie skiriasi tik atskiromis aminorūgštimis. Konkrečios rūšies individo aleliai negali užtikrinti didelės fermentų įvairovės, tačiau visame rūšies genofonde alelių skaičius gali būti pakankamai didelis. Tai atspindi individualų organizmų biocheminį kintamumą ir variabilumą. Alozimai, kaip biocheminiai žymenys, svarbūs tiriant genetinius išteklius, populiacijų genetinę struktūrą ir giminiškumą tarp populiacijų, taip pat tiriant dauginimosi sistemas. Vieninteliai Schreiber ir Engelhorn (1997, 1998) atliko išsamius *P. marinus*, *L. fluviatilis*, *L. planeri* ir *E. mariae* alozimų tyrimus. Reino, Dunojaus ir Oderio upių baseinuose (Vokietija) jie surinko 424 nėgių suaugėlius (*L. planeri* – 321, *L. fluviatilis* – 83, *E. mariae* – 11 ir *Petromyzon marinus* – 9). Tarp sugautų nėgių buvo išskirti 24 proteinus koduojantys lokusai, kurie pasižymėjo polimorfizmu: Glpdh*, Ldh*, Mdh-1*, Mdh-2*, Me-1*, Me-2*, Idhp-1*, Idhp-2*, Sod-1*, Sod-2*, Pnp*, Aat-1*, Aat-2, Ck*, Ak-1*, Ak-2*, Es-1*, Es-2*, Gal*, Hex*, Lgl*, Mpi*, Gpi-1*, Gpi-2*, Pgm*. *Lampetra* gentyje rasta 12 polimorfinių lokusų (Ldh*, Sod-2*, Pnp*, Aat-1*, Ak-1*, Es-2*, Lgl*, Mpi*, Gpi-1*, Gpi-2*, Pgm*, Idhp-2*) ir po 2 lokusus *P. marinus* (Mdh-1*, Me-2*) bei *E. mariae* (Gpi-1*, Me-2*). Nustatyti aleliniai

žymenys leido aiškiai atskirti tik *P. marinus* ir *E. mariae* (ypač lervinių stadijų) nuo *Lampetra* genties, tačiau ne konkrečią *Lampetra* genties rūšį.

Satelitinių *L. fluviatilis* ir *L. planeri* rūšių mtDNR tyrimai. Pirmieji šių dviejų rūšių mtDNR tyrimai Europoje atlikti Espanhol *et al.* (2007). Jie genetinės įvairovės žymenimis pasirinko mtDNR cyt *b* (1173 bp) ir ATPazės 6 ir 8 subvienetus (828 bp) bei ištyrė 63 *L. fluviatilis* ir *L. planeri* individus iš 21 vietovės Europoje. MtDNR žymenys, kaip ir alozimai, neparodė skirtumų tarp abiejų rūšių. Vis dėlto šių autorių tyrimas leido *Lampetra* gentyje, nepriklausomai nuo rūšies, išskirti 3 evoliucines linijas (1 pav.), iš kurių I ir II linijos yra plačiai paplitusios Europos upėse, o III linijos paplitimas apsiriboja Pirėnų pusiasaliu. Espanhol *et al.* (2007) teigimu, genetinė įvairovė pastarojoje linijoje didžiausia, kadangi keli paskutiniai apledėjimai aplenkė Pirėnų pusiasalį, kuriame išliko didesnė nėgių genetinė įvairovė. Priešingai III linijai, I ir II įvairovė grupės viduje yra nedidelė. Apskaičiuota, kad I ir II linijos galėjo atsiskirti nuo III–ios prieš 2000 kartų (prieš 10000–14000 m.). Pasak Espanhol *et al.* (2007), Europos upių kolonizacija vyko pasibaigus ledynmečiui, o *L. planeri* vėliau nepriklausomai evoliucionavo iš I ir II linijos praeivių nėgių, todėl sėslias *L. planeri* ir praeives *L. fluviatilis* galima laikyti tos pačios rūšies ekotipais, t.y. tos pačios rūšies organizmų grupėmis, kurios yra prisitaikiusios prie specifinių aplinkos sąlygų, todėl pasižymi fenotipiniais skirtumais, tačiau sugeba kryžmintis su kitais tos pačios rūšies atstovais, jų palikuonims neprarandant fertilumo.

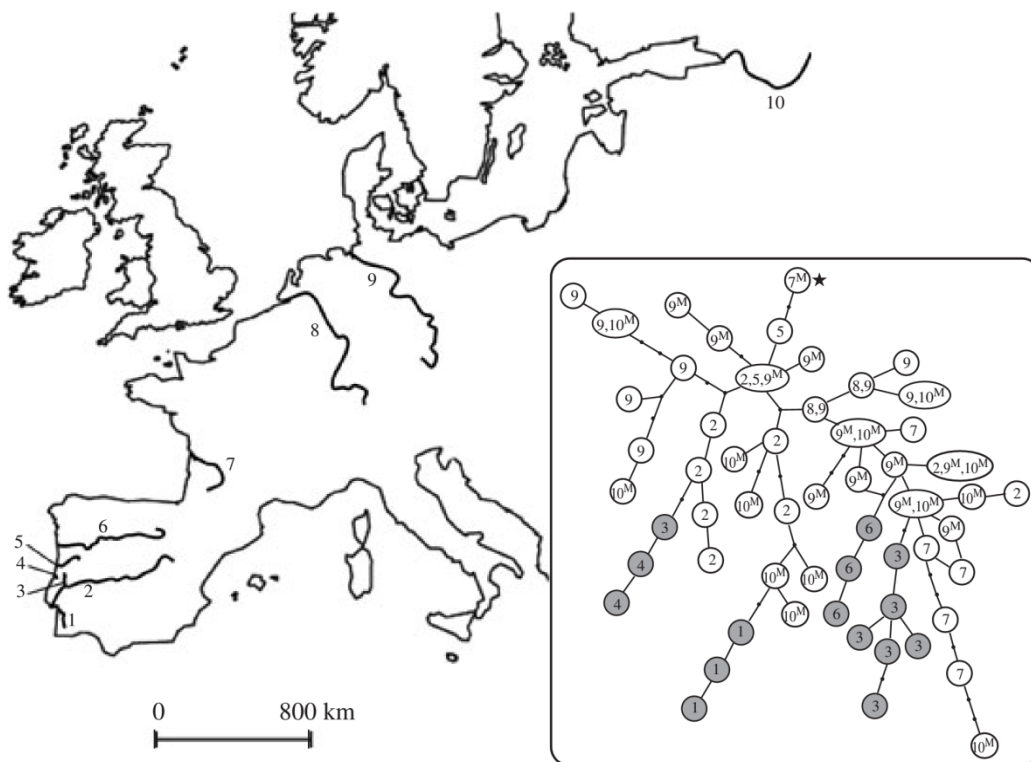


1 pav. ML molekulinės filogenijos dendrograma, sukonstruota iš 37-ių *Lampetra* mtDNR *cyt b* haplotipų pagal Epsnahol *et al.*(2007). Upė ir nėgės rūšis nurodyta šalia haplotipų numerio. Santrumpos: *fluv* – *L. fluviatilis*; *plan* – *L. planeri*. Ties mazgais (angl. *nodes*) iš viršaus į apačią nurodomos kaimynų-jungimo NJ, mažiausio galimo pokyčių skaičiavimo MP ir didžiausio tikėtumo ML analizės metodų vertės

Satelitinių *L. fluviatilis* ir *L. planeri* rūšių mtDNR NCR-I regiono tyrimai.

Blank *et al.* (2008) pirmieji *L. fluviatilis* ir *L. planeri* tyrimuose panaudojo mtDNR NCR žymenis. Tirtą 3800 bp mtDNR seką sudarė 11 genų, kurių pagrindą sudarė 16S rRNA, COI, *cyt b*, ND3 (+NCR) tirti regionai. Tyrimo tikslas buvo nustatyti greičiausiai mutuojančius mtDNR regionus, kurie padėtų

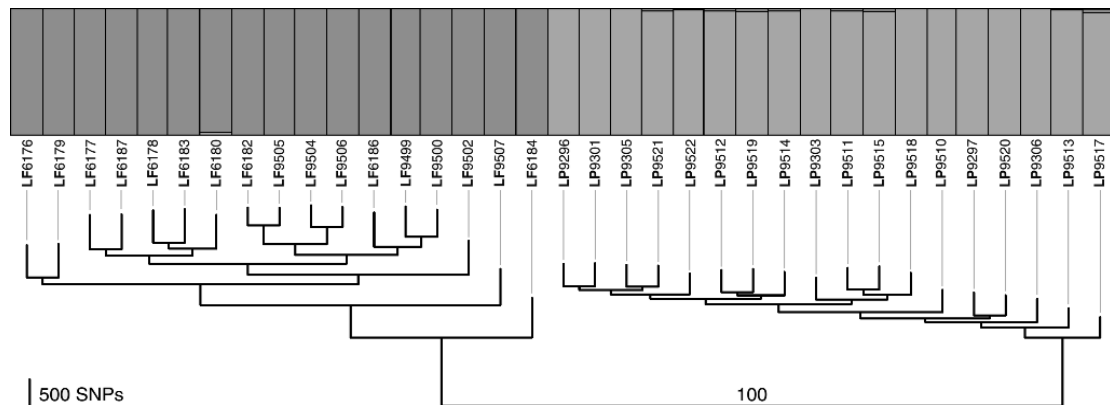
išspręsti dvyninių rūšių klausimą. Iš viso tyrime naudotos 8 skirtingų rūšių nėgės (*L. planeri* – 3, *L. fluviatilis* – 3, *P. marinus* – 2 ir 2 *E. mariae* vingiliai); 4 nėgės (*L. planeri* – 2, *L. fluviatilis* – 2) buvo sugautos Baltijos jūroje ar Baltijos jūros baseine. Šio tyrimo metu nustatyta, kad didžiausiu kintamumu pasižymėjo ND3 genas. Tokią tendenciją galima paaiškinti NCR-I, NCR-II ir dalinės ND3 sekų sujungimu. Vis dėlto nustatyti genetiniai atstumai tarp abiejų rūšių neleido atskirti *L. fluviatilis* ir *L. planeri*. Remdamiesi šiais rezultatais Blank *et al.* (2008) teigia, kad *L. planeri* ir *L. fluviatilis* atsiskyrimas yra įvykęs labai neseniai arba tarp jų vis dar vyksta genų mainai. Vėlesniuose tyrimuose, kuriuose naudotas tik mtDNR NCR-I žymuo (644 bp), tirtas gerokai didesnis individų skaičius (Pereira *et al.* 2010). Šių tyrimų metu tirtos 6 *L. planeri* populiacijos Portugalijos upėse ir *L. planeri* / *L. fluviatilis* Šiaurės jūros upių populiacijos (n=243) bei 24 *L. fluviatilis* individai iš Nevos upės Baltijos jūros baseine. Nustatyta, kad 4 iš 6 Pirėnų pusiasalio populiacijų pasižymėjo unikaliais haplotipais (2 pav.), o kiti nustatyti haplotipai buvo aptinkami tiek *L. fluviatilis*, tiek *L. planeri* individuose skirtingų upių nėgių populiacijose.



2 pav. Pereira *et al.* (2010) tirtų nęgių sugavimo vietų žemėlapis ir mtDNR NCR-I haplotipų tinklas. Upės: 1 – Sado, 2 – Tagus, 3 – Nabao, 4 - Sao Pedro, 5 – Mondego, 6 – Inha, 7 – Garonne, 8 – Elbe, 9 – Rhine, 10 – Neva. Haplotipai, pažymėti indeksu ^M, priklauso *L. fluviatilis*. Pilka spalva pažymėti 4 upėse rasti unikalūs haplotipai.

Satelitinių *L. fluviatilis* ir *L. planeri* rūšių tyrimai restrikcijos vietų asocijuotos DNR sekoskaitos (RADseq, angl. *Restriction site-associated DNA sequencing*) metodu (Mateus *et al.* 2013b). Šiam tyrimui nėgės surinktos Sorraia upėje, Tagus upės intake, Portugalijoje. Tyrimui panaudotos 17 upinių nęgių, sugautų *Macrophthalmia* stadijoje migruojančių į jūrą, ir 18 mažųjų nęgių, sugautų neršto metu. Nepaisant anksčiau publikuotų molekulinė mtDNR tyrimų, nustatyta, jog tarp *L. fluviatilis* ir *L. planeri* egzistuoja didelė genetinė diferenciacija bei diagnostiniai pavienių nukleotidų polimorfizmai (SNP, angl. *Single nucleotide polymorphism*) (3 pav.). Šie skirtumai yra pastovūs 12-oje genuose: su imunologinėmis funkcijomis susijusiuose genuose (MASP-1, IKLF2, VLR, CD45), už osmoreguliacinius procesus atsakingame gene (vatocin), už gonadų brendimą ir migraciją atsakingame gene (GnRH2), už morfogenezę atsakinguose genuose

(HoxW10a, Hox7, Emx), gene, susijusiam su nervinių signalų sklidimu (VGSC), ir gene, susijusiam su viduląstelių procesų reguliacija (PTPRA).



3 pav. MP filogenijos dendrograma sukonstruota iš 35 nėgių individų 14691 SNP. Bajeso populiacijų atskyrimo metodas su struktūra ir atitinkamas vertinimas su struktūros retinimu atskleidė dviejų grupių (K=2) egzistavimą SNP rinkinyje, kuris atitinka dvi simpatrines rūšis *L. fluviatilis* ir *L. planeri*. Kiekvienas stulpelis atitinka individo priskyrimo tikimybę (nuo 0 iki 1) vienai iš šių dviejų grupių (*L. fluviatilis* – raudona spalva ar *L. planeri* – violetinė spalva).

3.3. Ukraininė nėgė *Eudontomyzon mariae*

Manoma, kad *E. mariae* paplitimo arealas apima ir Pabaltijo regioną (Lietuvą) (Zhukov 1965), tačiau konkrečios informacijos apie šią rūšį regione nesama. Nors *E. mariae* ir *L. planeri* priklauso skirtingoms gentims, tačiau vizualiai lauko tyrimų metu jas atskirti gana sudėtinga. Viena iš galimų priežasčių, kodėl ši rūšis Lietuvoje iki šiol nerasta – klaidingas *E. mariae* identifikavimas kaip *L. planeri*. Todėl duomenų apie šią rūšį surinkimas ir apibendrinimas gali pasitarnauti patikimai *E. mariae* identifikacijai ir tolimesniems šių nėgių tyrimams Lietuvoje.

Sisteminė padėtis. Šią rūšį apibūdino Lev Berg dirbdamas Sankt Peterburgo (tuo metu Leningrado) universitete bei pavadino *Eudontomyzon* (graik. *eu* = tikras + *odous* = dantis + *myzo* = žįsti) *mariae* savo žmonos Marija Ivanova-

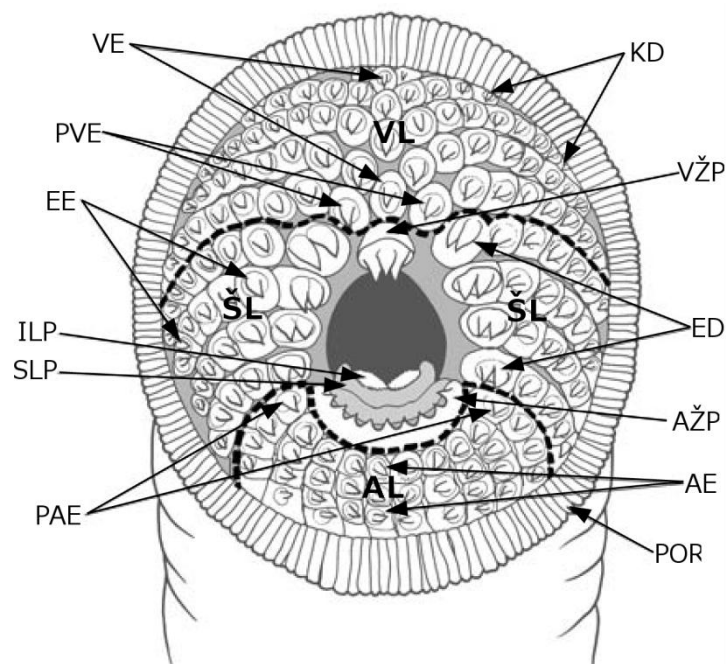
Berg garbei (Romero 2002). Apie pastarąją nęgių rūšį, lyginant su kitomis Lietuvoje aptinkamomis nęgėmis, yra sukaupta gana nedaug duomenų. Dalis meristinių požymių *Edontomyzon* gentyje yra smarkiai kintantys arba jie yra laipsniškai kintantys gretimose tos pačios rūšies populiacijose (Holčík & Delič 2000). Tai apsunkina rūšies identifikavimą. Šios rūšies sisteminė padėtis taip pat nėra nusistovėjusi, todėl kai kurie autoriai *E. stankokaramani* (sin. *E. vladykovi stankokaramani* Karaman 1974) ir *E. vladykovi* (sin. *E. danfordi vladykovi* Oliva & Zanandrea 1959) laiko greičiau *E. mariae* porūšiais nei savarankiškais rūšimis (Kottelat & Freyhof 2007). Tai suteikia pagrindą manyti, kad po nominaliu *E. mariae* pavadinimu gali slypėti ištisas rūšių kompleksas, todėl šios rūšies sisteminį statusą būtina išsamiai peržiūrėti (Renaud 2011).

Geografinis paplitimas. Ukraininė nęgė paplitusi Baltijos jūros, Juodosios jūros, Kaspijos jūros, Adrijos ir Egėjo jūros baseinuose. Baltijos jūros baseine: Vyslos upės baseine (Narew, Bug, Biebrza, Jeziorka, Skawa, Wilga, Belniana, Bobrza, Czarna Nida, Mierzawa, Sufraganiec, Nida ir Rudawa upėse) (Oliva & Hensel 1962, Rembiszewski 1968, Holčík 1970, 1995, Kappus *et al.* 1995, Witkowski 1995, 2001, Drąg-Kozak 2011), Nemuno upės baseine (Berezyna, Isloch ir Peretut upės) (Zhukov 1965); Juodosios jūros baseine: Dniepro upės baseine (Iput, Ratomka, Svisloch, Volma Desna, Goryn, Irpen, Perga, Sozh, Teterev, Uzh upėse ir pačiame Dnepre) Dono upės baseine (Ilovlya upės baseine, Sineomutovka, Serdoba, Tauza, Vorona, Donets, Kharkiv, Lopanj upėse ir pačiame Done) (Levin & Holčík 2006), Dnestro upės baseine (Strwiąż ir Dnestro upėse) (Rembiszewski 1971), Dunojaus upės baseine (Drava ir Mur upėse bei Argeş, Bratia, Suceava Biela Orava, Hron, Ipel, Rudava, Turiec, Hraničný Kriváň, Jelešná, Mutniana, Sava, Prut, Siret upėse ir pačioje Dunojaus upėje) (Balon & Holčík 1964, Renaud & Holčík 1986); Kubanės upės baseine (Il upė ir visos Vakarų Kaukazo upės Rusijos Federacijoje ir Gruzijoje, įtekančios tiesiogiai į Juodąją jūrą); Kaspijos jūros baseine: Volgos upės baseine (Sura ir Elan–Kadada upės bei Chardym, Ardym,

Uza, Verkhozimka, Tera, Muromka) (Levin 2001, Levin & Holčik 2006); Adrijos jūros baseine: Ohrid ežere, Beli Drim upės baseine (Istočka, Bistrica ir Rastavički upės). Egėjo jūra (Vardar upė) (Renaud 2011).

Biotopas. *E. mariae* suaugėliai randami vidaus vandenyse: upeliuose, upėse ir ežeruose. Dažniausiai aptinkamos švariose kalnų ir priekalnių upėse su stipria srove ir smėlio bei gargždo gruntu (Renaud 2011). Vingilių pasiskirstymą upėse ar jų atkarpose lemia analogiški veiksniai kaip ir kitų nęgių rūšis (Maitland 2003), todėl mikrobeveinėse gali būti randami kartu su jūrinės, upinės ir mažosios nęgių vingiliais.

Morfologiniai bruožai.



4 pav. Nęgės suaugėlio burnos piltuvo schema pagal Renaud (2011). Punktyrinės linijos žymi pagal Hubbs ir Potter (1971) išskirtus burnos piltuvo laukus: (VL – viršutinis laukas; VE – viršutinės eilės; EE – egzolateralinės eilės; POR – piltuvo odos raukšlės; PVE – pirmoji viršutinė eilė; PAE – pirmoji apatinė eilė; AŽP – apatinė žiočių plokštelė; ED – šoniniai cirkumoraliniai arba endolateraliniai dantys; ŠL – šoninis laukas; ILP – išilginė liežuvio plokštelė; KD – kraštiniai dantys; AL – apatinis laukas; AE – apatinės eilės; VŽP – viršutinė žiočių plokštelė; SLP – skersinė liežuvio plokštelė.

Viena iš nedaugelio suragėjusio kūno struktūrų nėgėse yra dantys, todėl bendru atveju nėgių atpažinimui naudojamos dantų formulės (4 pav.). Viršutinėje žiočių plokštelėje paprastai yra tik 2 višakiai dantys, mažiau nei 10% individų viršutinėje žiočių plokštelėje taip pat randami 1–3 mažesni višakiai dantys; apatinėje žiočių plokštelėje paprastai yra 5–10 višakiai dantys, tačiau 1–2 šoniniai dantys gali būti dvišakiai; dažniausiai 3 endolateraliniai dantys abiejose pusėse (83%), tačiau pasitaiko 4 (11%), 1 (4%) ir 2 (2%); tipišku atveju, endolateralinių dantų formulė: 1–2–2 (26%), 1–2–1 (22%), 2–2–1 (13%), 2–2–2 (11%), rečiau pasitaiko ir 1–1–1, 2–2–3, 1–1–2–2 (abiejų dažnumas po 6%), 2, 1–1–2–1 (abiejų dažnumas po 4%), 1–2, 1–2–2–2 (abiejų dažnumas 2%) – pagal Naseka *et al.* (2009) taip pat pasitaiko individų su 5 endolateraliniais dantimis, kurių formulė: 1–1–2, 1–3–1, 2–1–1, 2–3–2, 1–2–2–1, 2–1–2–2, 1–1–2–1–1; 2–5 viršutinių dantų eilės; pirmoji viršutinė eilė su 5–10 višakiais dantimis, išskirtiniais atvejais šoniniai eilės dantys gali būti dvišakiai; 1–4 egzolateralinės eilės; apatinių eilių 0–3 (10% sugautų individų apatiniame lauke dantų neturi); pirma apatinė eilė pilna su 12–20 višakiais dantimis (62% individų) arba nepilna su pertrūkiais su 1–12 višakiais dantimis (38% individų). Naseka *et al.* (2009) taip pat aprašė *E. mariae* individus, kuriems būdinga pilna apatinė eilė, sudaryta iš 10 višakių dantų su 1 dvišakiu dantimi; nepilna eilė iš 13–17 višakių dantų bei eilė iš 4 višakių dantų ir 1 dvišakiu dantimi; ant skersinės liežuvio plokštelės 3–7 višakiai dantys su padidėjusiu viduriniu dantimi (79% individų šis dantis ilgesnis ir platesnis nei likusieji dantys, o 21% individų jis tik platesnis); išilginės liežuvio plokštelės su 5–11 višakiais dantimis. Tačiau daugumos meristinių požymių, taip pat ir dantų formulės kintamumas, *E. mariae* rūšies viduje didelis, lyginant su kitomis nėgių rūšimis. Todėl, norint patikimai identifikuoti šią rūšį, reikalingi ir molekuliniai metodai.

Dauginimasis. Subręsta po 6–7 mėnesių nuo metamorfozės pabaigos. Neršia nuo balandžio iki birželio pradžios, kai vandens temperatūra būna 11–16°C. Neršto metu nesimaitina. Neršia ant žvyro, smėlio, taip pat gali neršti ir ant

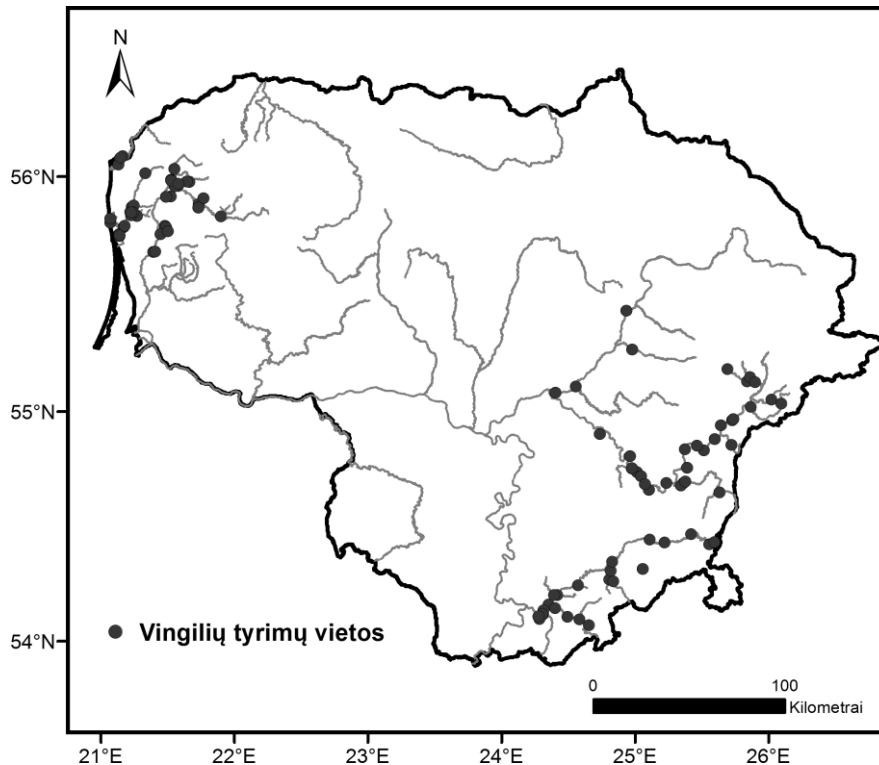
liosio (eolinės kilmės nuosėdinė uoliena, sudarytas iš molio ir smulkaus smėlio dalelių). Neršia srovėje, nedideliame gylyje (apie 20–30 cm). Nerštas dažniausiai vyksta saulėtu oru. Vislumas 2–7 tūkstančiai ikrelių, kurių skersmuo 0,7–1,6 mm. Iškart po neršto žūva.

Mityba. Nors, bendru atveju, *E. mariae* gyvenimo ciklas yra analogiškas *L. planeri*, t.y. didžiąją gyvenimo dalį praleidžia vingilio stadijoje, o subręsta ir neršia gimtosiose upėse, tačiau žinomi reti atvejai, kuomet šios rūšies nėgėse pasireiškia fakultatyvinis ektoparazitizmas. Tokie atvejai fiksuoti Jelešná upėje Slovakijoje ir Pruto upėje Ukrainoje (Renaud 2011). Vingilių mityba analogiška kitoms nėgių rūšims, kurių lervos minta srovės atnešamais mikroorganizmais ir detritu.

Amžius ir augimas. Vingiliai 5–6 m. praleidžia įsirausę upių substrate. Vingiliai dažniausiai užauga iki 150–230 mm, tačiau manoma, kad gali pasiekti ir 250 mm ilgį (Renaud 2011). Kol subręsta, kūno ilgis sumažėja 2–3 cm, todėl žinomas suaugėlių kūno ilgis 120–222 mm. Suaugusių individų 131–195 mm kūno svoris 3,61–12,69 g. Metamorfozės pradžia priklauso nuo geografinės platumos: Slovakijoje ir Lenkijoje ji prasideda rugsėjo mėnesį, o Ukrainoje ji prasideda gerokai anksčiau – liepą.

4. Medžiaga ir metodai

Nėgių vingilių paplitimo ir tankumo tyrimas. Kadangi nėgių vingiliai yra bentosiniai gyvūnai, jų kiekio įvertinimas mėginyje buvo atliekamas hidrobiologiniu metodu, nustatant individų skaičių kvadratiname metre. Vingilių gausumas buvo tirtas šiuose upių baseinuose: Šventosios (Baltijos jūra), pajūrio upių, Nemuno (5 pav.).



5 pav. Vingilių paplitimo ir gausumo tyrimų vietos Lietuvoje.

Upėse stotys parenkamos taip, kad būtų apimama kaip galima vienodesniais atstumais visa upė. Kai kuriais atvejais vingilių tankumas tirtas stotyse, esančiose aukščiau užtvankų, siekiant išsiaiškinti, ar aukščiau esančiose upių atkarpose nėra izoliuotų populiacijų. Mėginiai imami keliaujant upe aukštyn, taip siekiant išvengti teoriškai galinčio pasireikšti pakartotino vingilių sugavimo. Mėginiai imti bentosiniu semtuvu, iškasant gruntą 1 m² biotopo plote (Kesminas *et al.* 2008), ir Lasne *et al.* (2010b) pasiūlytu modifikuotu Surber tipo bentosiniu semtuvu (6 pav.). Pirmuoju atveju vingiliai išrenkami paimtą bandinį paskleidžiant ant polietileninio patiesalo, antruoju atveju substratas yra išplaunamas tinklelyje. Kad būtų įmanoma vingilius identifikuoti

ir išmatuoti ilgį vietoje, jie buvo anestezuojami 10–15 ml/l dietilo eterio arba 2-fenoksi etanolio 0,5 ml/l tirpalu. Vėliau jie buvo laikomi inde su vandeniu, kol atsigaus, ir paleidžiami atgal į tą patį biotopą.



6 pav. Vingilių gaudymui naudotas Surber tipo bentosinis semtuvas, modifikuotas pagal Lasne *et al.* (2010b)

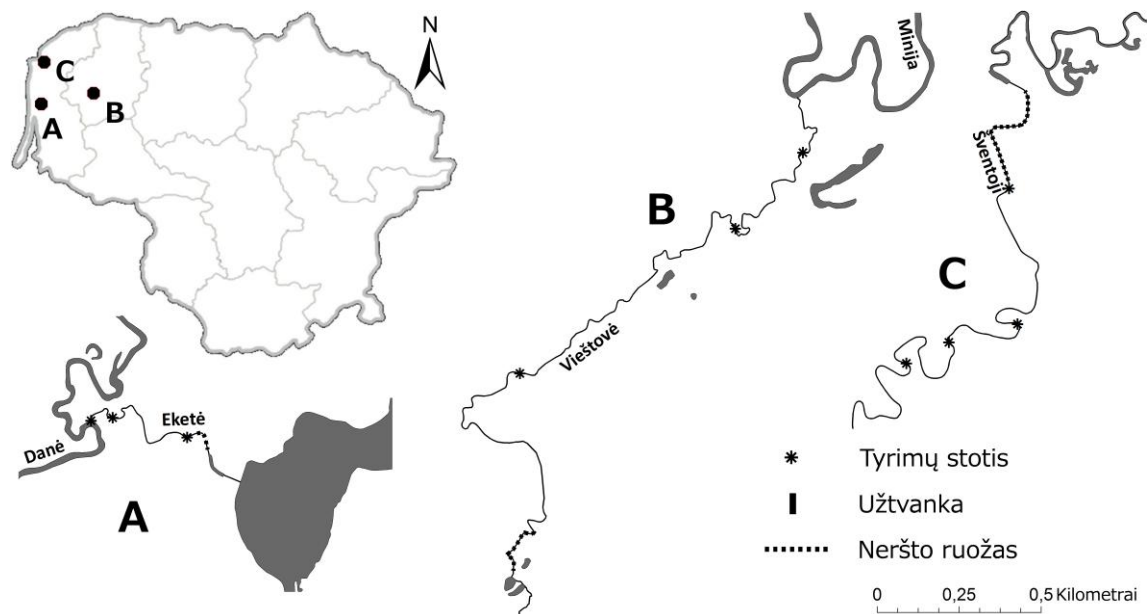
Stotyse taip pat vizualiai įvertinama grunto sudėtis (%), upės vagos užžėlimas augalais (%), išmatuojamas srovės greitis (m/s), fiksuojamas tinkamų buveinių kiekis.

Vingilių identifikacija. Vingilių atpažinimui naudotas Gardiner (2003) raktas, paremtas keturiais pagrindiniais požymiais: liemeninių miomerų skaičiumi, galvos kvėpavimo aparato pigmentacija, ventralinės ir uodeginės pelekinės klostės pigmentacija (žr. priede, 1 pav.).

Nėgių būklės įvertinimas. Upinių ir mažųjų nėgių populiacijų būklės tyrimai vykdyti 2008 metų birželio–rugpjūčio mėnesiais ir 2012–2013 m. liepos–spalio mėnesiais. Tyrimai atlikti 41-oje stotyje Minijos upėje, 9 stotyse Neries upėje, 6 stotyse Šventosios upėje (Neries baseino), 4 stotyse Žeimenos upėje (15 lentelė). Tyrimų stotys buvo pasirinktos atsižvelgiant į vingiliams optimalias buveines, kurių šiose upėse yra gausu. Svarbiausias kriterijus vertinant nėgių populiacijų būklę – jų tankumas. *L. fluviatilis* apsaugai svarbiose upėse arba jų atkarpose šios rūšies individų tankumas turi būti ne mažesnis kaip 60 individų

viename kvadratiname metre, o mažosios nėgės *L. planeri* apsaugai svarbiose upėse arba jų atkarpose šis kriterijus – 10 individų viename kvadratiname metre (Aplinkos ministerija 2008).

Vingilių sklaidos modeliavimas upėse. Vingilių pasyvios migracijos tyrimams pasirinktos upių atkarpos, kuriose žinoma, kad upinės nėgės neršia kasmet, migracijos kelias iki nerštaviečių laisvas, t. y. nėra užtvankų ar kitų dirbtinių kliūčių, gerai išreikštos ir koncentruotos nerštavietės lokalizuotos iškart žemiau užtvankų, o 1,5–2 km ruože žemiau jų nėra kitų potencialių nerštui ruožų. Todėl tyrimui pasirinktos Šiaurės vakarų Lietuvos upės – Šventoji (Baltijos jūra), Viešтовė ir Eketė, kurios atitiko visus anksčiau minėtus kriterijus (7 pav.).



7 pav. Vingilių migracijos tyrimų atkarpos ir vietos Eketės (A), Viešтовės (B) ir Šventosios upėse (C).

Visos trys upės priklauso skirtingiems baseinams: Šventosios upė teka tiesiogiai į Baltijos jūrą ir formuoja atskirą baseiną, Viešтовės upė yra kairysis Minijos intakas, kuri yra viena didesnių Nemuno baseino upių, Eketės upė priklauso Danės-Akmenos upės baseinui. Vingiliai visose trijose upėse rinkti skirtingais metais: Viešтовėje – 2007 m. gegužės pradžioje; Eketėje – 2008 m.

kovo pabaigoje; Šventosios upėje – 2010 m. kovo pabaigoje. Detalesnė informacija apie upes pateikta 2 lentelėje.

2 lentelė. Hidrologiniai tirtų upių duomenys ir tyrimų vietų koordinatės

Upė /tyrimų vieta	Vidutinis metinis debitas (m ³ /s)	Upės ilgis (km)	Upės įtekėjimo vieta nuo žiočių (km)	Baseino teritorija (km ²)	Tyrimo vietos koordinatės (WGS84)
Šventoji	5,38	68,4	-	471,9	
SV1					N56.07931
SV2					N56.07570
SV3					N56.07506
SV4					N56.07447
Viešтовė	1,08	11,8	132,5	23,2	
VI1					N55.86450
VI2					N55.86883
VI3					N55.87100
Eketė	1	23,1	16,2	96,3	
EK1					N55.79204
EK2					N55.79250
EK3					N55.79240

Kadangi vingilių ilgių dažnio analizei reikalingas pakankamai didelis duomenų kiekis, į analizę buvo įtraukti vingilių ilgiai tuo pačiu metu surinkti 31-oje stotyje, devyniose tame pačiame regione tekančiose upėse Minijos upės pabaseinyje: Alanto, Salanto, Žvelsos ir Minijos upėse; Danės-Akmenos upės baseine: Babrūnės, Bonės, Danės ir Šaltupio upėse (3 lentelė).

3 lentelė. Į vingilių dažnio analizę įtrauktų individų sugavimo vieta, tyrimo vietų skaičius, sugautų vingilių skaičius ir laikas.

Upė	Tyrimo vietų skaičius	Vingilių skaičius	Data	
Minija		1	3	2008.04.14
Alantas		5	47	2008.04.15
Salantas		4	59	2008.04.20
Žvelsas		1	1	2008.04.12
Mišupė		6	180	2008.04.20
Danė		4	13	2008.04.16
Babrūnė		3	21	2008.04.11
Bonė		3	4	2008.04.14
Šaltupis		2	37	2008.04.11
Šventoji (Baltijos)		2	48	2010.05.03

Tyrimų vietų koordinatės nustatytos, naudojant GARMIN GPSMAP 60CSx rankinį GPS imtuvą. Tyrimo vietų koordinatės vėliau perkeltos į georeferentinę Lietuvos teritorijos (GDR10LT) duomenų bazę. Šių vietų atvaizdavimui buvo pasinaudota ArcView® (ESRI Redlands, Kalifornija, JAV) programine įranga. Vingilių amžinių grupių dydžių ribos apskaičiuotos pasitelkiant ilgio dažnių analizę. Vingilių ilgiams sugrupuoti buvo panaudota nehierarchinė K-vidurkių klasterinė analizė, kuri kaip atstumo matą naudoja Euklido atstumą. Kadangi K-vidurkių metodui reikalinga pakankamai didelė imtis, be 114 vingilių, sugautų Vieštovėje, Eketėje ir Šventojoje, į analizę buvo įtraukti 413 *Lampetra* genties vingilių duomenys iš devynių anksčiau išvardintų upių, esančių Minijos pabaseinyje ir Danės-Akmenos baseine. Žinoma, kad vingilio stadija priklausomai nuo priklausomai nuo nęgių gyvenimo strategijos trunka 5,5–6,5 metus (Maitland 2003). Atsižvelgiant į tai, kiekvienas vingilių ilgio įrašas buvo priskirtas k klasteriui su artimiausiu vidurkiu, atitinkančiam amžinę grupę. Vėliau šie klasteriai buvo normalizuoti ir apskaičiuotos kiekvienos amžinės grupės dydžių ribos naudojant $\pm 1,645$ standartinius nuokrypius, kurie atitinka 90% normaliojo skirstinio.

Vertinant vingilių amžinių grupių sklaidą žemiau nerštaviečių, patikrintos tiesinės ir netiesinės regresijos modeliai ir atrinkti modeliai geriausiai aprašantys šių duomenų pasiskirstymą. Modeliui atstumas iki nerštavietės buvo pasirinktas kaip nepriklausomas kintamasis, o vingilių ilgis – kaip priklausomas kintamasis.

Remiantis nacionaline klasifikavimo sistema, Eketė ir Vieštovė yra priskiriamos mažoms upėms (1 tipas: baseino plotas $<100 \text{ km}^3$), o Šventosios upė – vidutinio dydžio upėms (2 tipas: baseino plotas $>100 \text{ km}^3$, upės nuolydis $<0,7 \text{ m/km}$) (Aplinkos ministerija 2005b, Aplinkos apsaugos agentūra 2011). Remiantis šiuo skirstymu buvo sukurti du sklaidos modeliai skirtingų tipų upėms.

Priklausomai nuo vyraujančios temperatūros pavasarį, nėgės Lietuvos upėse neršia nuo trečios balandžio dekados iki antros gegužės dekados (Nika 2011), o kiaušinių inkubacinis periodas trunka 15–30 dienų (Maitland 2003). Kadangi visi vingiliai buvo renkami prieš nerštą arba tik po jo, mažiausių tik išsiritusių vingilių nebuvo rasta. Siekiant padidinti modelių tikslumą, buvo dirbtinai į duomenis įtraukti mažiausi 10 mm individai (Quintella *et al.* 2003).

Prieš analizę Šapiro-Vilk (angl. *Shapiro-Wilk test*) ir Kolmogorovo ir Smirnovo testo Lilliefors modifikacija (angl. *Kolmogorov-Smirnov test with Lilliefors correction*) buvo patikrinta, kaip duomenys atitinka normalumo sąlygas. Kai normalaus pasiskirtymo sąlygos nebuvo tenkinamos, duomenys buvo naudotos $\log_{10}(x)$, $\log_{10}(1/x)$, $\arcsin(x)$ bei Box-Cox ($0 \leq \lambda \leq 0,2$) transformacijos. Tuo atveju, kai duomenys po transformacijų netenkino Šapiro-Vilk kriterijaus, buvo atsižvelgiama į asimetrijos (g_1) ir eksceso (g_2) koeficientus. Skirstinys laikytas artimu normaliam, kai $-0,5 < g_1 < 0,5$, o $-1 < g_2 < 1$ (George & Mallery 2010).

Duomenų analizei buvo naudoti standartiniai statistiniai parametriniai ir neparametriniai metodai: parametrinė vienfaktorinė dispersinė analizė (angl. *One-way ANOVA*) ir daugialypės tiesinės regresijos analizė (angl. *multiple regression*), Pirsono koreliacija (angl. *Pearson correlation*), neparametriniai Kruskalo-Voliso dispersinė analizė (angl. *Kruskal-Wallis ANOVA*), Mano-Vitnio rangų sumų kriterijus (angl. *Mann-Whitney U test*) ir Vilkoksono ženklų kriterijus priklausomoms imtims (angl. *Wilcoxon signed-rank test*). Duomenys darbe pateikiami standartiniu būdu: pateikiant vidurkius, standartinius nuokrypius (vidurkis \pm SD), standartines paklaidas (vidurkis \pm SE) ir pasikliautinius intervalus. Rezultatai buvo laikomi patikimais kai reikšmingumo lygumo buvo $p \leq 0,05$.

Upių baseinų parametrų ir upių hidrologinių charakteristikų, kurios daro įtaką vingilių paplitimui ir gausumui nustatymui naudota daugialypė tiesinė regresija. Taikytas atbulinis (angl. *Backward*) kintamųjų eliminavimo

žingsninis metodas, siekiant atrinkti tik turinčius reikšmingą įtaką parametrus. Analizėje buvo panaudoti šio darbo metu nustatyti vingilių gausumo upėse duomenys bei literatūrinuose šaltiniuose (Gailiušis *et al.* 2001) pateikiami upių parametrai (upių ilgis, debitas, baseino plotas, nereguluotos upės dalis) ir kiti, pasinaudojus šiais duomenimis, išvesti parametrai (upės ploto (A) ir ilgio (L) tiesioginis santykis, baseino plotis, baseino ištęstumas, baseino ploto ir ilgio parabolinio ryšio α parametras). Upių intakų eilės numerių nustatymui naudotas Lietuvos Respublikos upių ir tvenkinių klasifikatorius (Aplinkos ministerija 2001), vidutinis upės nuolydis ir upės nuolydis tyrimų stotyje (200–600 m atkarpoje) apskaičiuoti naudojant Lietuvos reljefo žemėlapius (Lietuvos nacionalinis atlasas, www.maps.lt). Regresijos riktai atrinkti naudojant Mahalanobis atstumus. Vingilių paplitimo ir gausumo variacijos skirtumų tarp upių sistemų reikšmingumui nustatyti naudota neparametrinė Kruskalo-Voliso (Kruskal-Wallis ANOVA) dispersinė analizė ir Tjukio daugkartinio lyginimo (angl. *post hoc Tukey HSD*) kriterijus, kuomet lyginti upių. Analizuojant upės nuolydžio įtaką vingilių pasiskirstymo Lietuvos upėse dėsningumui buvo naudota dalinė Pirsono koreliacinė analizė, o nustatant skirtumus tarp nuolydžio klasių vienfaktorinė dispersinė analizė kartu su Tjukio daugkartinio lyginimo kriterijumi. Pagal nuolydį upės atkarpos buvo suskirstytos į mažo nuolydžio (0–1 m/km), vidutinio nuolydžio (1–3 m/km), didelio nuolydžio (3–7 m/km) ir labai didelio nuolydžio ($7 \leq$ m/km) klases.

Vingilių gausumas tarp upių sistemų tyrimų lyginti Mano-Vitnio rangų sumų kriterijumi, o jų gausumo upėse palygimui 1966 m., 1992 m. ir 2008 – 2013 m. tyrimų laikotarpiais naudotas Vilkoksono ženklų kriterijus priklausomoms imtims.

Duomenys statistiškai apdoroti naudojant Excel, Statistica ir R programinės įrangos paketais.

Medžiagos surinkimas genetiniams tyrimams. Iš viso genetiniams tyrimams panaudotos 76 upinės nėgės ir 42 mažosios nėgės, iš kurių trys individai vėliau molekuliniais metodais identifikuotos kaip *E. mariae* (lentelė 4). Šventosios (Baltijos jūra), Danės, Eketės, Salanto, Blendžiavos, Lūšies upėse nėgių suaugėliai sugauti elektrožūklės metodu, naudojant HANS GRASSL GmbH gamybos (Vokietija) IG 200/2 serijos testuotą ir Lietuvoje registruotą elektros žūklės aparatą Nr. 14880306. Renkant duomenis buvo laikomasi CEN (2003) (angl. *European Committee for Standardization*) EN 14011 standartų ir Lietuvos Respublikos aplinkos ministerijos teisės aktų (Aplinkos ministerija 2005a). Salanto, Blendžiavos, Šventosios (Baltijos jūra) bei Musės upėje neršiančios nėgės taip pat gaudytos rankiniu graibštu. Molekuliniams tyrimams naudoti vingiliai sugauti Merkio upėje modifikuotu Surber bentosiniu semtuvu (6 pav.). Kauno HE izoliuotoje Merkio upėje visi sugauti vingiliai buvo identifikuoti kaip *L. planeri*. Gaujos upės (Latvijos Respublika) *L. fluviatilis* imtys tyrimams gautos iš Latvijos žemės ūkio universiteto, Maisto saugos, gyvūnų sveikatos ir aplinkos instituto „BIOR“ (lat. *Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts*). Nėgės paimtos iš žvejų, versliniais žvejybos įrankiais gaudančių migruojančias nėges Gaujos žemupyje ties Carnikava gyvenvietė. Vyslos upės imtis gauta iš Lenkijos Stanisłavo Sakovičiaus vardo vidaus vandenų žuvininkystės instituto (lenk. *Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie*); šiuo atveju nėgės buvo pagautos ungurinėmis gaudyklėmis Vyslos žemupyje ir paimti upinių nėgių uodeginių pelekinių klosčių gabaliukai.

4 lentelė. Tyrimams panaudotų nęgių sugavimo vieta, laikas, individų skaičius.

Rūšis	Upė	Upė baseinas	Sugavimo data ir koordinatės/duomenų šaltinis	Individų skaičius
<i>L. fluviatilis</i>	Luoba	Bartuvos	2011 04 28 56° 14' 33.25", 21° 43' 25.25"	7
	Danė-Akmėna	Pajūrio upių	2011 05 07 55° 53' 13.45", 21° 14' 7.27"	4
	Eketė	Pajūrio upių	2011 05 07 55° 47' 31.51", 21° 10' 37.41"	10
	Šventoji	Šventosios (Baltijos jūra)	2011 05 08 56° 4' 47.31", 21° 8' 43.84" ir 56° 3' 24.82", 21° 8' 12.96"	10
	Blendžiava	Nemuno	2011 05 08 ir 2012 05 05 55° 58' 59.93", 21° 31' 40.43"	8
	Gauja	Gaujos	2013 10 20 57° 09' 06.1", 24° 16' 40.4"	15
	Musė	Nemuno	2013 05 13 54° 56' 22.6", 24° 49' 24.27"	4
	Vysla	Vyslos	2013 11 17 54°07'38,1", 18°49'30,6"	17
	Nėva	Nėvos	GenBank: EU596026 - EU596049	24
	Reinas	Reino	GenBank: EU596118 - EU596144	27
	Garrone	Garrone	GenBank: Y18683	1
<i>L. planeri</i>	Mišupė	Nemuno	2011 05 01 55° 57' 52.18", 21° 34' 44.84"	2
	Šventoji	Šventosios (Baltijos jūra)	2011 05 08 56° 4' 47.31", 21° 8' 43.84" ir 56° 3' 24.82", 21° 8' 12.96"	10
	Lūšis	Vėntos	2011 05 17 56° 25' 28.34", 22° 2' 1.94"	1
	Luoba	Bartuva	2011 04 28 56° 14' 33.25",	1

			21° 43' 25.25	
	Blendžiava	Nemuno	2012 05 05 55° 58' 59.93", 21° 31' 40.43"	1
	Musė	Nemuno	2013 05 13 54° 56' 22.6", 24° 49' 24.27"	9
	Viešėtė	Ventos	2011 05 17 56° 15' 0.88", 22° 16' 48.29" (8
	Merkys	Nemuno	2013 08 07 54° 7' 8.92", 24° 18' 13.29"	8*
	Mondego	Mondego	GenBank: EU596016 – EU596025	11
	Sado	Sado	GenBank: 595960 – 596008; GQ340531; GQ340538; GQ340539	32
	Garrone	Garrone	GenBank: EU596110 - EU596117	8
	Sao Pedro	Sao Pedro	GenBank: EU595972 - EU595979; GQ34047 - GQ3405; - EU596187	22
<i>E. mariae</i>	Šventoji	Šventosios (Baltijos jūra)	2011 05 05 56° 3' 24.82", 21° 8' 12.96"	1
	Blendžiava	Nemuno	2012 05 05 55° 58' 59.93", 21° 31' 40.43"	2

* Tyrimams naudoti vingiliai

Laboratorinės procedūros. DNR buvo išskirta naudojant Aljanabi ir Martinez (1997) metodą su nežymiais pakeitimais; dažniausiai buvo naudojamas iš uodeginės arba nugarinės srities paimtas raumeninis audinys ar pelekinės klostės dalis. Išskirtos DNR ir amplifikuotų mtDNR produktų koncentracijos nustatytos spektrofotometrais (Biophotometer, Eppendorf, Vokietija ir NanoPhotometer P330, Implen, Vokietija). Pietryčių Baltijos nęgių populiacinės-genetinės struktūros tyrimai, pagrįsti mtDNR žymenų analize, kurių amplifikacijai panaudotos dvi pradmenų poros: pirmoji Lamp-1F ir Lamp-1R pradmenų pora, skirta daliai NCR-I regiono (angl. *non-coding region I*) amplifikacijai (Blank *et al.* 2008), antroji LA ir PRO pradmenų pora

– dalinės mtDNR cyt *b* sekos amplifikacijai (Espanhol *et al.* 2007). Pradmenys susintetinti „Biomers.net GmbH (5 lentelė).

5 lentelė. MtDNR regionų amplifikacijai skirtų pradmenų charakteristikos.

Regionas	Pora	Pradmenų sekos (5'-3')	T _m , C°	Pozicija
NCR-I	Lamp-1F/ Lamp-1R	F: ACACCCAGAAACAGCAACAAA R: GCTGGTTTACAAGACCAGTGC	63 64	11877-11897/ 11244-11264*
cyt <i>b</i>	LA/PRO	F: GCGACTTGAAAAACCACCGTT R: TAGATACAGAGGTTTGAATCCC	64 59	11957-11977/ 13355-13376*

*Pagal *Lampetra fluviatilis* nustatyta mtDNR (GenBank: Y18683)

PGR atliktos naudojant Eppendorf firmos Mastercycler personal prietaisą. Kiekvieno pavyzdžio PGR buvo vykdoma 25 µl tūryje, o reakcijos komponentais buvo: 0,04-0,06 µg genomine DNR, 1 x PGR buferis (turintis 50 mM KCl), 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 0,75 U Taq polimerazė (MBI Termo Fisher Scientific, Lietuva), pradmenys (kiekvieno pradmens koncentracija mišinyje sudarė 0,2 µM) ir vanduo. MtDNR regionams amplifikuoti naudotos PGR sąlygos pateiktos 6 lentelėje.

6 lentelė. PGR sąlygos *Lampetra* spp. ir *E. mariae* mtDNR regionams amplifikuoti. C – ciklų skaičius; I – pradinė denatūracija; II – ciklo denatūracija; III – ciklo pradmenų hibridizacija; IV – ciklo naujos DNR grandinės sintezė; V – galutinis elongacijos žingsnis.

Regionas	I		II		III		IV		C	V	
	C°	min	C°	min	C°	min	C°	min		C°	min
NCR-I	94	4	94	1	55	1	72	1	30	72	10
cyt <i>b</i>		3			60						

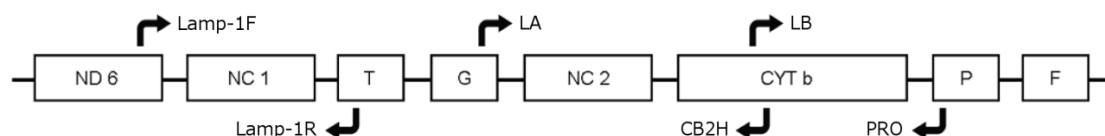
Elektroforezė agarozės gelyje (AGE, angl. *agarose gel electrophoresis*), skirta išskirtos DNR medžiagos ir amplifikuotų mtDNR fragmentų vizualizacijai, buvo atliekama horizontaliuose 1,5% agarozės geliuose. AGE atlikimo tvarka:

1) sustingus geliui, kuriame etidžio bromido koncentracija 1 mg/ml, į kiekvieną šulinėlį įdedama 5 µl amplifikuotos DNR ir 2 µl dažo (6 x Loading Dye Solution; MBI Thermo Fisher Scientific, Lietuva); 2) į du šulinėlius įdedama 4 µl DNR ilgio standarto GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder (MBI Thermo Fisher Scientific, Lietuva); 3) 35-40 minučių vykdoma elektroforezė, esant 100-120 V įtampai. Agarozės geliai buvo stebimi ir fotografuojami naudojant Herolab firmos MiniDoc™ Documentation System prietaisą.

Padauginti PGR produktai, ruošiant sekoskaitos reakcijoms, buvo gryninami naudojant egzonukleazių rinkinį. 5 µl PGR amplifikato buvo sumaišytas su 10 U koncentracijos egzonukleaze I 0,5 µl ir FastAP 1 l egzonukleaze (UAB Thermo Fisher Scientific, Lietuva). Reakcija vykdyta 15 min. 37°C ir 15 min 85°C temperatūroje.

DNR sekoskaita. Visų mtDNR sekų sekoskaita atlikta Gamtos tyrimų centro Ekologijos institute, Molekulinės ekologijos laboratorijoje, pasinaudojant Gamtos tyrimų centro atviros prieigos centro „3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems / Hitachi, JAV)“.

MtDNR sekų analizė. Upinių ir mažųjų nęgių genetinė įvairovė tirta lyginant sekas, sudarytas iš NADH dehidrogenazės 6 subvieneto geno dalies (1-103 bp) ir NCR-I dalies (104-592 bp) (8 pav.).



8 pav. Dalinis *L. fluviatilis* mtDNR genomai (Y18683; Delarbre *et al.* 2000) su pažymėtomis pradmenų prisijungimo vietomis (juodos rodyklės) ir amplifikuotais fragmentais.

Iš viso upinių ir mažųjų nęgių mtDNR NCR-I regiono sekų analizei panaudotos 243 individų 562-611 bp ilgio sekos, iš kurių 118 sekų nustatyta, vykdant šį disertacinį darbą, o 125 buvo deponuotos genų banke anksčiau tyrimus vykdžiusių mokslininkų (Pereira *et al.* 2010, Pereira *et al.* 2013 (125

sekos; GenBank: EU595972–EU596008, EU596015–EU596049, EU596110–EU596144, EU596178–EU596187, Y18683, GQ340546–GQ340550). Konstruojant dendrogramas, kaip palyginamosios grupės (angl. *outgroups*) buvo naudotos ukraininės nėgės *Eudontomyzon (Lampetra) mariae* (Blank *et al.* 2008 (GenBank: EU404078)) ir jūrinės nėgės *Petromyzon marinus* (Lee & Kocher 1995 (GenBank: NC_001626)) sekos. Dėl nepastovių heteroplazmininių mtDNR delecijų (angl. *heteroplasmic mtDNA deletions*) 2 bp fragmente ir dėl kai kurioms nėgių rūšims būdingos 39 bp fragmento delecijos (White & Martin 2009, Pereira *et al.* 2010), abu fragmentai iš statistinių analizių buvo pašalinti (White & Martin 2009; Pereira *et al.* 2010). Tai pat iš analizės pašalintas dviejose sekose duplikavęsis 10 bp fragmentas. Statistinė analizė atlikta su pagrindinėmis imtimis ir kai kuriomis imčių kombinacijomis.

Tiriamų nėgių rūšių DNR sekų sulyginimas bei dendrogramų, paremtų didžiausio tikėtinumo metodu (ML, angl. *maximum likelihood*) (Saitou & Nei 1987), naudojant Kimuros dviejų parametrų modelį (K2P, angl. Kimura 2-parameter), konstravimas buvo atliktas naudojant MEGA 6.05 (Tamura *et al.* 2013) programa. MEGA 6.05 programos atveju, DNR sekų sulyginimui naudotas ClustalW (Thompson *et al.* 1994) algoritmas. Polimorfinių saitų DNR grandinėje skaičius (S), bendras mutacijų skaičius (η), haplotipų įvairovės parametras (h) (Nei 1987), nukleotidų įvairovės parametras (π) (Lynch & Crease 1990), nukleotidų pakaitų vidurkio koeficientas (K) (Tajima 1983), genetinis atstumas tarp lyginamų populiacijų, kuris yra išreiškiamas nekoreguotu nukleotidų pakaitų vidurkiu fragmentui, t. y. lyginamų sekų grupių skirtumų koeficientas (K_{XY}) (Nei 1987) ir fiksacijos indeksas (F_{ST}) (Hudson *et al.* 1992b) su patikimumo vertėmis (p) (Hudson *et al.* 1992a) buvo apskaičiuoti naudojant DNASP 5.10.01 programą (Librado & Rozas 2009). Atliekant skaičiavimus DNASP 5.10.01 programa delecijos buvo vertinamos kaip penkta pozicija (A, C, G, T, -), tačiau dėl pasikartojančių heteroplazmininių delecijų (angl. *heteroplasmic mtDNA deletions*) į analizę

neįtraukti 39 bp ir 2 bp fragmentai. Taip pat iš analizės pašalintas dviejose sekose duplikavęsis 10 bp fragmentas. Haplotipų tinklai buvo konstruojami naudojant medianų-jungimo metodą (MJ, angl. *median joining*) (Bandelt *et al.* 1999) įdiegtą NETWORK 4.6.1.1 programoje (www.fluxus-engineering.com). Siekiant supaprastinti *L. fluviatilis* ir *L. planeri* mtDNR NCR-I regiono haplotipų tinklą, pasitelktas papildomas mažiausio galimo pokyčių skaičiavimo (MP, angl. *maximum parsimony*) (Polzin & Daneshmand 2003) metodas, kuris taip pat įdiegtas NETWORK 4.6.1.2 programoje. Konstruojant haplotipų tinklus delecijos visada būdavo vertinamos kaip penkta pozicija, tačiau minėtieji 39 bp, 10bp ir 2 bp fragmentai į analizę neįtraukti. Remiantis sukonstruotais haplotipų tinklais, filogenetiškai artimiausios, t.y. mažai tarpusavyje besiskiriančios, mtDNR sekos sujungtos tarpusavyje į haplogrupes. Pagrindiniai kriterijai šių haplogrupių išskyrimui: mutacijų skaičius tarp sekų, reprezentuojančių skirtingus haplotipus, haplotipų dažnis, mutacinių žingsnių, skiriančių retus haplotipus nuo juos jungiančio haplotipo, pasižyminčio didesniu dažniu, skaičius.

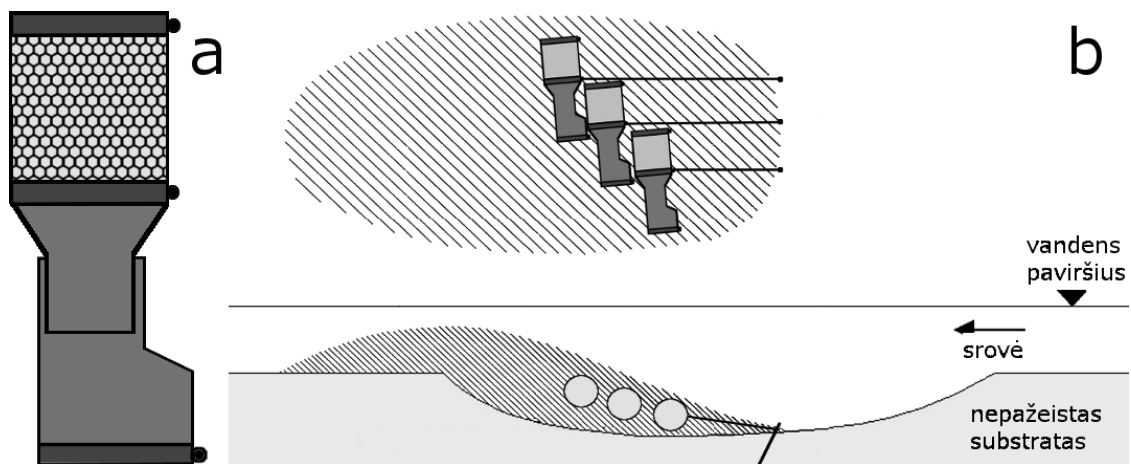
Nėgių rūšinės priklausomybės nustatymas. Siekiant patikimai identifikuoti rūšinę priklausomybę individų, kurių mtDNR NCR-I sekos filogenetinės analizės metu atsiskyrė nuo *L. planeri* ir *L. fluviatilis* nėgių klados buvo papildomai atlikta mtDNR cyt *b* sekų filogenetinė analizė. Gautos sekos palygintos su genų banke deponuotomis 484 bp ilgio *Eudontomyzon lanceolata*, *E. mariae*, *E. stankokaramani*, *E. vladykovi* ir *P. marinus* homologinėmis sekomis (7 lentelė). Palyginimas atliktas naudojant programą MEGA 6.05 bei remiantis Kimuros dviejų parametrų modeliu. Dendrograma sukonstruota remiantis ML metodu.

7 lentelė. *E. mariae* rūšinei priklausomybei nustatyti naudotos genų banke deponuotos *L. lanceolata*, *E. stankokarami*, *E. vladykovi*, *P. marinus* ir *E. mariae* mtDNR cyt *b* sekos.

Nr.	Rūšis	Ilgis, bp	GenBank
1	<i>Lampetra (Eudontomyzon) lanceolata</i>	484	GQ206176
2	<i>E. mariae</i>		EU404062
			EU404063
			AM051061
			GQ206162
			GQ206189
6	<i>E. stankokaramani</i>		GQ206161
7	<i>E. vladykovi</i>		NC_001626
8	<i>P. marinus</i>		

***L. fluviatilis* ir *L. planeri* hibridizacijos *in situ* eksperimentas.** Siekiant išsiaiškinti hibridizacijos galimybes tarp abiejų nėgių gyvenimo strategijų natūraliomis sąlygomis, Šventosios (Baltijos jūra), Blendžiavos ir Salanto upių 2012 05 05 – 2012 05 26, o taip pat ir Musės, Salanto ir Šventosios (Baltijos jūra) upių 2013 04 20 – 2013 05 13 neršto ruožuose, buvo atliekami *L. planeri* ir *L. fluviatilis* kryžminimo eksperimentai. Šiems eksperimentams visos nėgės buvo sugautos neršiančios lizduose. Eksperimentų metu Lietuvoje buvo žinomos tik dvi neršiančios nėgių rūšys – *L. planeri* ir *L. fluviatilis*. Abiejų rūšių nėgių patelės ir patinėliai atskirti pagal antrinius lytinius požymius, būdingus subrendusiems individams: patelės – pagal išburkusią pelekinę klostę tuoj už kloakos, patinėliai – pagal kloakoje susiformavusį lytinį spenelį (Renaud 2011). Visi kryžminimai atlikti tarp unikalių porų. Kadangi lizduose taip pat buvo išneršusių patelių, eksperimentui buvo pasirinktos patelės atsižvelgiant į jų kūno ertmės užpildymą ikrais ir per permatomą odą kloakos srityje gerai matomus ikrus. Patinėliai kryžminimo eksperimentui buvo atrinkti atsitiktinai. Neršiantys *L. planeri* ir *L. fluviatilis* anestezuoti 2-fenoksi etanolio 0,5 ml/l tirpalu. Abiejų lyčių lytiniai produktai rankiniu būdu buvo išspausti į modifikuotas lašišinių žuvų ikrių inkubavimo dėžutes (Rubin 1995, Nika 2011), kurios iš anksto buvo patalpintos 0,75 l talpos inde su švariu vandeniu, paimtu iš upės aukščiau nerštinių lizdų. *L. planeri* ir *L. fluviatilis* kryžminimai buvo

vykdomi tarp skirtingų lyčių ir kontrolinės grupės *L. fluviatilis* × *L. fluviatilis*. Kiekvienos kryžminamos poros lytiniai produktai buvo patalpinti individualios inkubacijos dėžutėse. Inkubacinės dėžės buvo pagamintos iš polivinilchlorido (PVC) cilindro (skersmuo: 8 cm; aukštis: 10 cm; tūris: 500 cm³). Dėžučių sienelės pagamintos iš dviejų skirtingo akytumo tinklų: išorinio – apsauginio PVC tinklo, kurio akių dydis 6 mm, ir vidinio – malūninio šilko su 200 μm akies sluoksniu, kuris skirtas apsaugoti inkubacinės dėžutės vidų nuo nešmenų ir sulaikyti išsiritusias lervutes (9a pav.). PVC lankai ir tinklo sluoksniai sutvirtinti metalinėmis sąvaržomis.



9 pav. Modifikuota inkubacijos dėžutė (a) ir dėžučių išdėstymo schema nėgių nerštiniuose lizduose (b).

Nėgių kiaušinėlių ovuliacija prasideda kaudalinėje kūno dalyje (Larsen 1970), todėl siekiant iš patelių paimti tik ovuliuotus kiaušinėlius, ikrai į dėžutes buvo išspaudžiami lengvu rankos judesiu perbraukiant išilgai nėgės. Du trečdaliai ovuliuotų kiaušinėlių ploto yra padengti storu lipnių gleivių sluoksniu (Larsen 1970), todėl kiaušinėliai greitai prisitvirtina prie inkubacinių dėžučių vidinio tinklelio taip, jog animalinis kiaušinėlio polius, per kurio paviršius patenka spermatozoidas, lieka atviras. Iš patelių paimtų kiaušinėlių skaičius svyravo nuo kelių dešimčių *L. planeri* atveju iki keleto tūkstančių *L. fluviatilis*. Pasak Kille (1960), nėgių spermatozoidai gėlame

vandenyje gali išlikti gyvybingais apie 50 sekundžių. Atsižvelgiant į tai, dėžutės buvo laikomos vandens inde ne mažiau minutės.

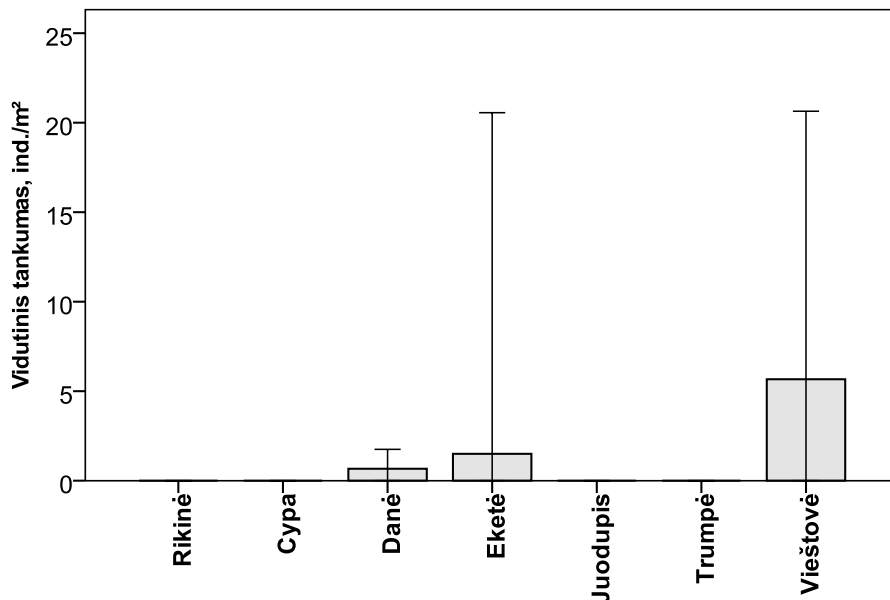
Inkubacijos dėžutės su apvaisintais kiaušinėliais buvo patalpintos tuose pačiuose lizduose, kuriuose buvo sugauti tėviniai individai, o, siekiant sumažinti nuostolius, papildomai įtvirtintos dugno substrate (9b pav.).

5. Rezultatai ir jų aptarimas

5.1. Apskritažiomenių (*Cephalaspidomorphi*) paplitimas, gausumas ir juos įtakojantys veiksniai

5.1.1 *L. fluviatilis* ir *L. planeri* paplitimas ir gausumas Lietuvoje

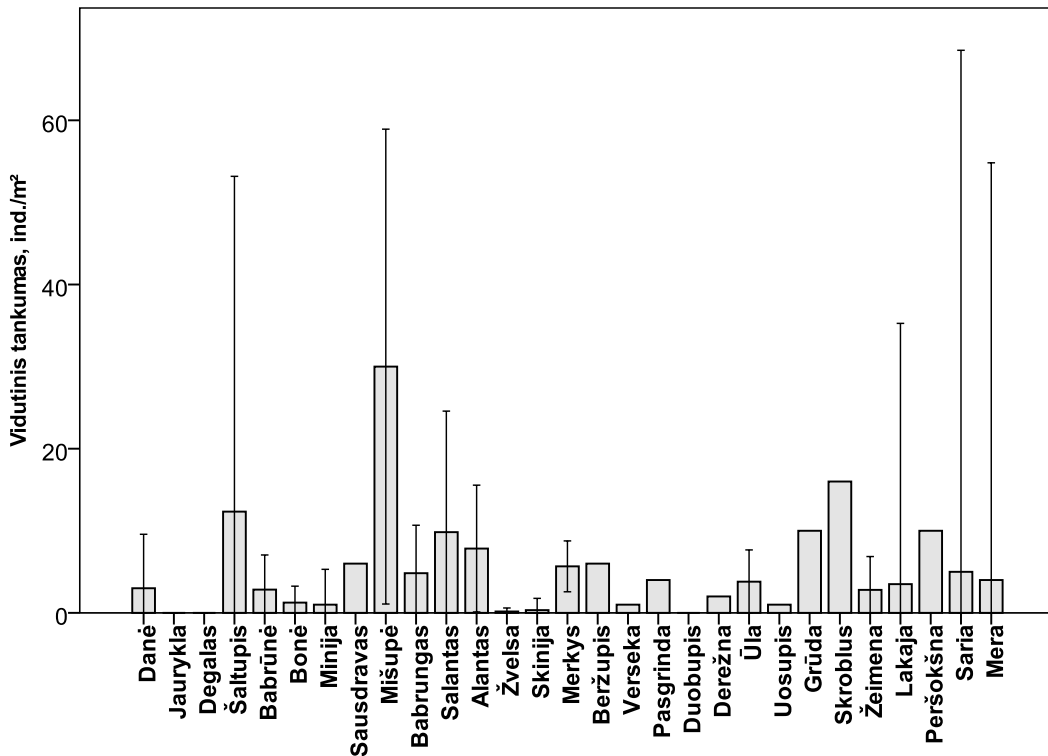
Lietuvoje upinė nėgė paplitusi daugelyje upių, kuriose įmanoma laisva jų migracija, o mažoji nėgė aptinkama tiek izoliuotose, tiek atvirose upėse. Tyrimų metu ištirtas vingilių gausumas ir paplitimas Lietuvos upių sistemose, kuriose aptinkamos nėgės. Taip pat nustatyti veiksniai, lemiantys nėgių paplitimą šiose upių sistemose.



10 pav. Nėgių vingilių vidutinis tankumas (ind./m²) ir 95% pasikliautiniai intervalai 2007 m. tirtose upėse.

2007 metais upinių nėgių rasta 42,9% visų tirtų upių. Mažesnis upinių nėgių aptinkamumas buvo tyrimų stotyse – 35,3%. Stotyse vingilių tankumas buvo labai žemas: nuo 2 iki 12 ind./m². Iš viso tyrimų stotyse buvo sugauti tik 24 vingiliai. Vidutinis vingilių tankumas tirtose upėse buvo labai mažas ir kito nuo 0,7 ind./m² iki 5,7 ind./m² (10 pav.). Rikinės, Cypos, Trumpės ir jos intako Juodupio upėse vingilių nesugauta. Visos tirtos upės priklauso Pajūrio upių baseinui (Rikinė, Cypa, Danė, Eketė) ir Minijos pabaseiniui (Viešтовė,

Trumpė, Juodupis). Nustatytas vidutinis vingilių tankumas Pajūrio upių baseine buvo $0,6 \pm 0,8$ ind./m² (vid.±SD), o Minijos pabaseinyje – $2,6 \pm 4,6$ ind./m² (±SD), tačiau statistiškai patikimo skirtumo tarp vingilių tankumo šių upių baseinuose nerasta (*Mann-Whitney U* testas; $U=37,5$, d.f.=18, $p=1$).

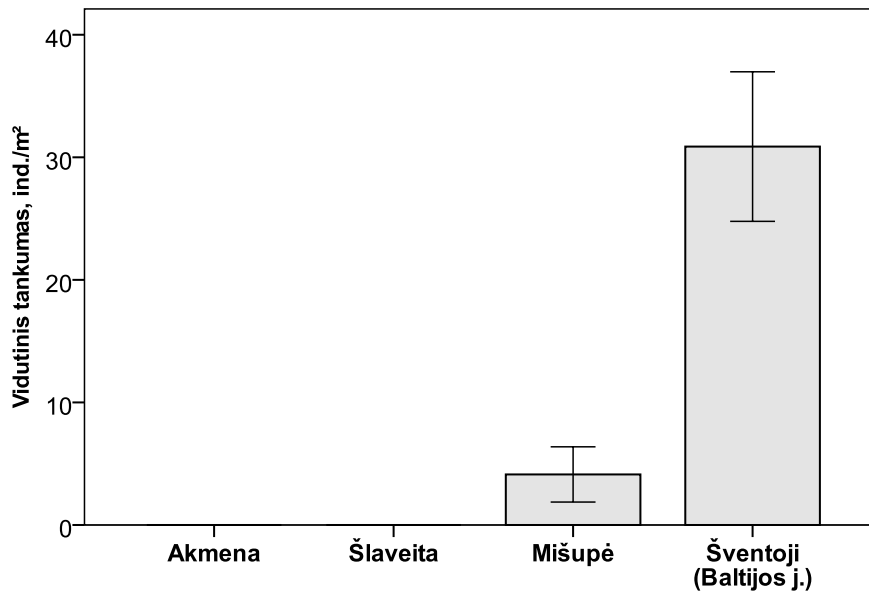


11 pav. Nėgių vingilių vidutinis tankumas (ind./m²) ir 95% pasikliautinieji intervalai 2008 m. tirtose upėse.

2008 m. nėgių aptikta 89,6 % visų tirtų upių ir 34% stočių. Vingilių tankumas stotyse buvo 1–64 ind./m² (didžiausiais tankumas fiksuotas Mišupės upėje). Iš viso 2008 m. buvo sugauti 553 vingiliai keturiuose tirtose upių sistemose: Danės-Akmenos baseine bei Minijos, Merkio ir Žeimenos pabaseiniuose. Vingilių nesugauta tik trijose upėse: Jaurykloje ir Degale – Danės-Akmenos baseine ir Duobupio upėje – Merkio pabaseinyje. Didžiausias nustatytas vidutinis tankumas Danės-Akmenos baseine Šaltupio upėje – $12,3 \pm 16,4$ ind./m² (±SD), Minijos pabaseinyje, Mišupės upėje – $30 \pm 27,6$ ind./m² (±SD), Merkio pabaseinyje, Skroblaus upėje – 16 ind./m², Žeimenos pabaseinyje, Peršokšnos upėje – 10 ind./m² (11 pav.).

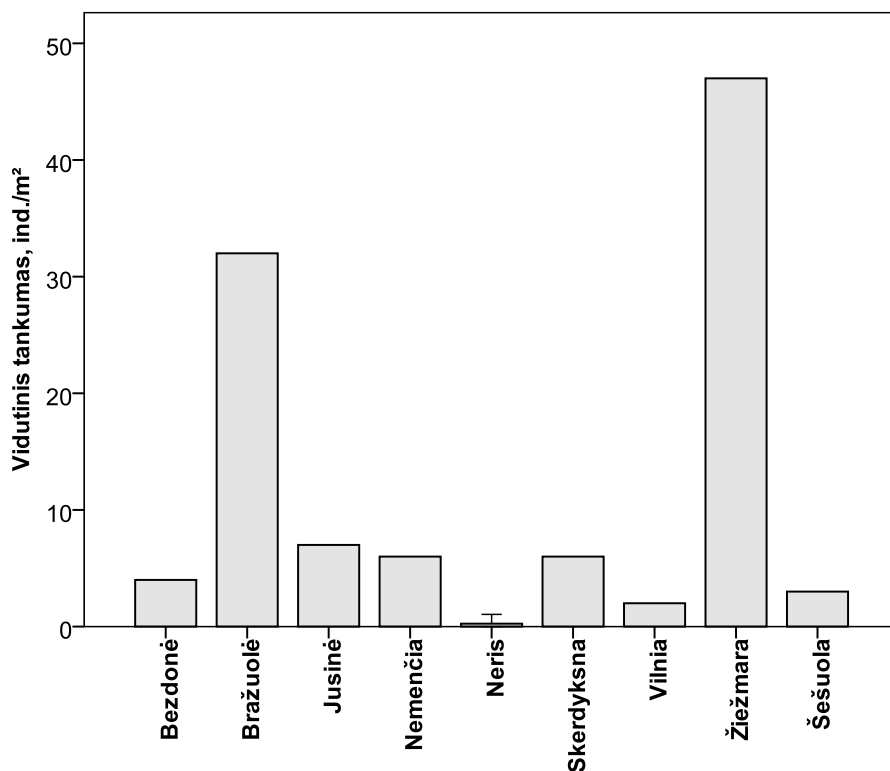
Kauno hidroelektrinės (HE) yra neįveikiama žuvų ir upinių nėgių migracijos kliūtis. Ji užkerta kelią iki dalies Nemuno baseino upių, todėl visose tirtose

upėse, kurios priklauso Merkio upių sistemai, aptinkamos tik mažosios nėgės. Žeimenos pabaseinyje taip pat vyrauja mažosios nėgės, tačiau yra duomenų, jog upinės nėgės gali pakilti nerštui iki Meros, Sarios ar net Peršokšnos upių (Virbickas *et al.* 1996). Vis dėlto tai greičiau pakankamai retas reiškinys, kuris pasireiškia tik, esant specifinėms hidrologinėms sąlygoms. Žeimenos intakuose kasmet yra vykdomas pavasarinės rituolių migracijos tyrimai. Kadangi lašišinių žuvų rituolių migracijos į jūrą ir nėgių migracijos į nerštavietes laikotarpiai sutampa, tyrimų metu taip pat sugaunami migruojantys mažųjų bei upinių nėgių suaugėliai. Atsižvelgiant į tyrimų duomenis (Kesminas *et al.* 1998), Meroje paskutinį kartą upinės nėgės buvo sugautos 1998 m. Todėl, esant ilgesniam nei vienos generacijos laikotarpiui nuo paskutinės fiksuotos upinių nėgių migracijos į Žeimenos baseiną, visi Žeimenoje ir jos intakuose sugauti vingiliai priskirti mažosios nėgėms. Mažųjų nėgių vingilių tankumas abejose upių sistemose buvo panašus (*Mann-Whitney U* testas; $U=116$, $d.f.=33$, $p=0,56$): Žeimenos pabaseinyje – $4,1 \pm 4,1$ ind./m² ($\pm SD$), o Merkio pabaseinyje – $5 \pm 4,3$ ind./m² ($\pm SD$). Tuo tarpu Pajūrio upių baseine ir Minijos pabaseinyje, tipišku atveju, vyrauja upinės nėgės, nors dalyje Minijos intakų upinės ir mažosios nėgės aptinkamos kartu. Kaip ir 2007 m., vidutinis vingilių tankumas buvo didesnis Minijos pabaseinyje – $8,8 \pm 15,7$ ind./m² ($\pm SD$) nei Danės-Akmenos baseine – $3,1 \pm 6,8$ ind./m² ($\pm SD$) (12 pav.), tačiau statistiškai patikimai nesiskyrė (*Mann-Whitney U* testas, $U=299$, $d.f.=58$, $p=0,08$).



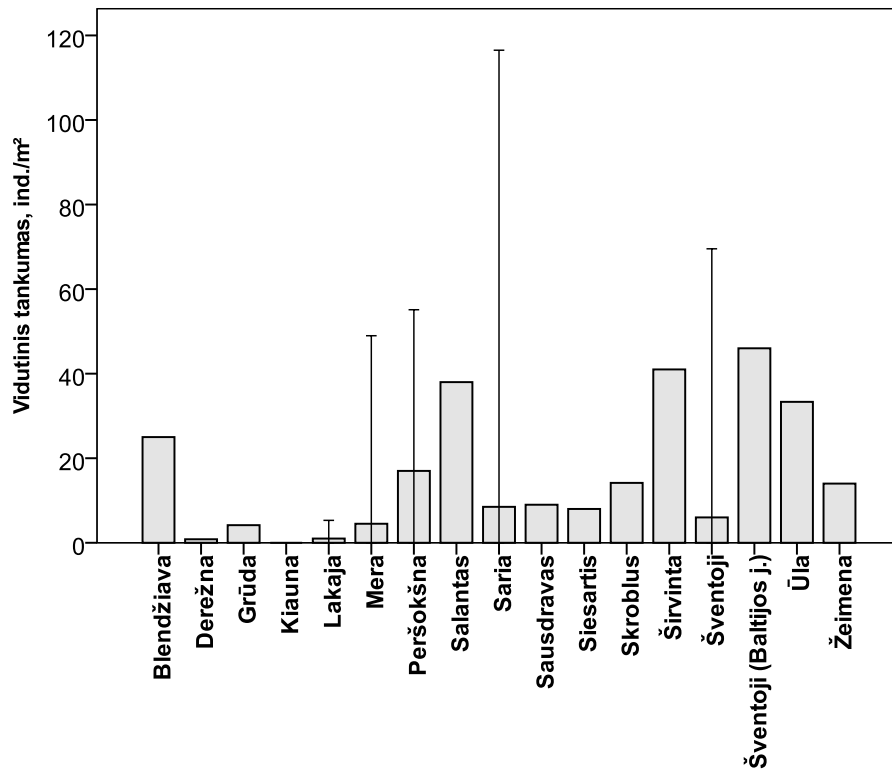
12 pav. Nėgių vingilių vidutinis tankumas (ind./m²) ir 95% pasikliautinieji intervalai 2010 m. tirtose upėse.

2010 m. tyrimai vykdyti tik keturiose upėse: Šventojeje (Baltijos jūra), Mišupėje, Šlaveitoje ir Akmenoje. Nėgių vingiliai rasti tik pusėje iš tirtų upių, tačiau bendras jų aptinkamumas stotyse buvo 68,2%. Iš viso buvo sugauta 280 vingilių. Vingilių nerasta Akmenos ir Šlaveitos upėse, kurios nuo žemupio yra atskirtos Kretingos malūno, Kurmaičių ir Tūbausių užtvankomis, nors žinoma, kad anksčiau upinės nėgės šiose upėse neršdavo (Mackevičius 1969). Šventosios upėje (Baltijos jūra) vingilių rasta visose tyrimų stotyse, o vidutinis tankumas $30,9 \pm 7,3$ ind./m² (\pm SD) čia buvo didžiausias iš visų iki tol tirtų upių. Mišupės upėje buvo tirtas vidurupyje esantis ruožas, todėl vingilių tankumas čia buvo daug žemesnis nei 2008 m. nustatytas žemupyje ir siekė tik $4,1 \pm 2,7$ ind./m² (\pm SD).



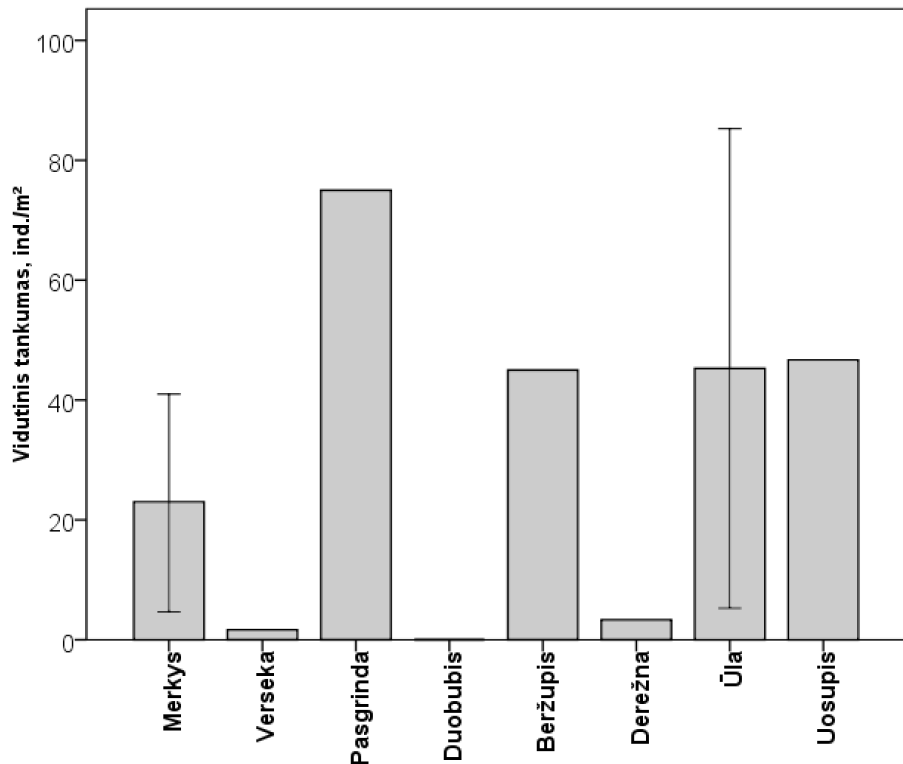
13 pav. Nėgių vingilių vidutinis tankumas (ind./m²) ir 95% pasikliautinieji intervalai 2011 m. tirtose upėse.

2011 m. vingiliai tirti trijuose pabaseiniuose: Neries, Žeimenos ir Šventosios, kuriuose sugauti 108 vingiliai. Vingiliai rasti visose tirtose upėse, o jų nustatytas aptinkamumas stotyse buvo 72,7%. Nustatyti vingilių tankumai upėse buvo nuo 0,3 ind./m² iki 47 ind./m² (13 pav.). Nors manoma, kad Žeimenos ir Neries baseinuose atitinkamai vyrauja mažosios ir upinės nėgės, tačiau nustatyti tankumai buvo gana panašūs (*Mann-Whitney U* testas; $U=4,5$, d.f.=10, $p=0,28$). Neries pabaseinyje – $10,2 \pm 17,1$ ind./m² (\pm SD), o Žeimenos – $6,7 \pm 0,7$ ind./m² (\pm SD).



14 pav. Nėgių vingilių vidutinis tankumas (ind./m²) ir 95% pasikliautinieji intervalai 2012 m. tirtose upėse.

2012 m. vingilių sutinkamumas upėse buvo – 94,1%, o tyrimų stotyse – 82,6%. Vingiliai tirti penkiose upių sistemose: Šventosios (Baltijos jūra), Neries, Šventosios, Žeimenos ir Merkio. Tyrimų metu iš viso sugauta 318 vingilių. Nustatyti vingilių tankumai buvo nuo 0,8 ind./m² iki 46 ind./m². Upių sistemose didžiausias tankumas nustatytas: Šventosios pabaseinyje, Širvintos upėje – 41 ind./m², Minijos pabaseinyje, Salanto upėje – 38 ind./m², Merkio pabaseinyje, Ūlos upėje – 33,3 ind./m², Žeimenos pabaseinyje, Peršokšnos upėje – 17 ind./m². Vingilių tankumas taip pat vertintas vienintelėje Šventosios upės (Baltijos jūra) tyrimų stotyje, kurioje buvo nustatytas didžiausias 46 ind./m² vingilių tankumas (14 pav.). Lyginant vidutinius vingilių tankumus tarp upių sistemų, mažiausi tankumai nustatyti Merkio – 13,1±14,6 ind./m² (±SD) ir Žeimenos – 7±7,8 ind./m² (±SD) pabaseiniuose.

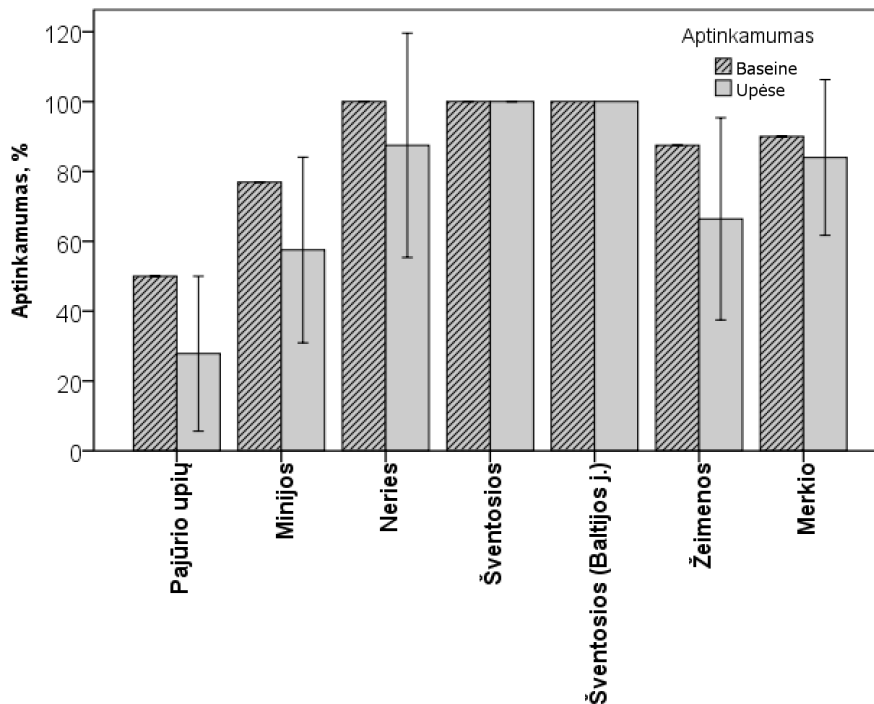


15 pav. Nėgių vingilių vidutinis tankumas (ind./m²) ir 95% pasikliautinieji intervalai 2013 m. tirtose upėse.

2013 m. vingilių gausumo tyrimai, kurių metu sugauti 729 vingiliai, daryti išskirtinai Merkio pabaseinyje. Tarp tirtų upių vingiliai nesugauti tik Duobupio upėje (15 pav.), o jų sutinkamumas stotyse siekė 85,7%. Šiuo periodu fiksuotas vidutinis vingilių tankumas buvo gerokai didesnis nei nustatytas 2008 m. bei 2012 m. ir siekė $27,5 \pm 35,1$ ind./m² (\pm SD).

Bendras vingilių sutinkamumas visose 2007–2013 m. tirtose upėse buvo 81,1%, o tyrimų stotyse – 69,4%. Tiek upėse, tiek tyrimų stotyse sutinkamumo dažnis kito maksimaliose ribose, t.y. nuo 0% iki 100%. Viso šio tyrimo laikotarpio metu vingilių nebuvo sugauta dešimtyje upių. Vingilių nesugauta keturiose Danės-Akmenos baseino ir Minijos pabaseinio upėse: Akmenoje, Šlaveitoje ir Trumpėje bei Juodupyje. Į šias upes *L. fluviatilis* migracija negalima dėl migracijos keliuose pastatytų užtvankų, o izoliuotų *L. planeri* populiacijų neaptikta. Vingilių taip pat nerasta Degalo, Jauryklos, Duobupio ir Kiaunos upėse bei dviejose tiesiogiai į Baltijos jūrą įtekančiose upėse –

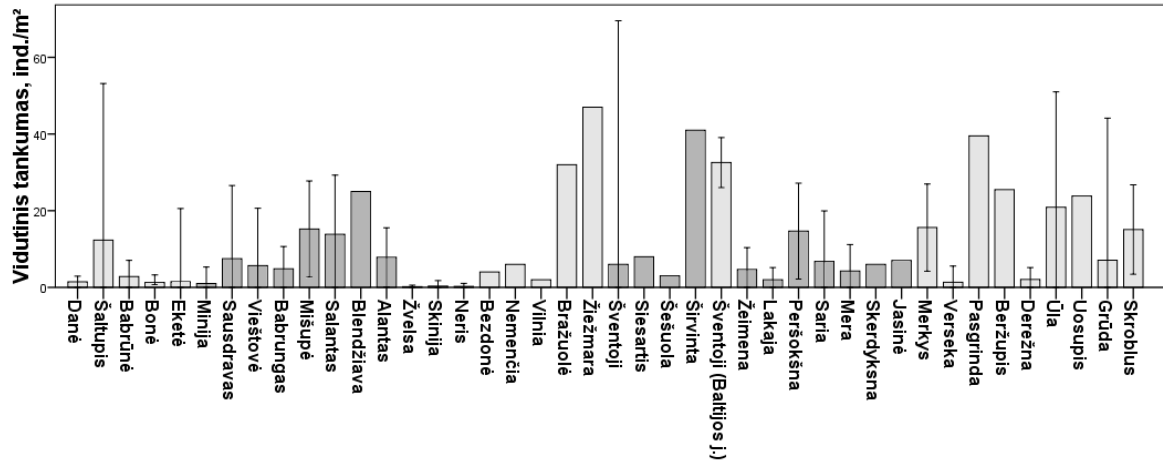
Rikinėje ir Cypoje. Dažniausiai vingiliai buvo sutinkami Neries, Šventosios ir Šventosios (Baltijos jūra) upių sistemose, vingilių čia rasta visose tirtose upėse.



16 pav. *Lampetra* spp. sutinkamumo dažniai ir 95% pasikliautiniai intervalai Lietuvos upių baseinuose (pabaseiniuose) 2007-2013 m.

Tyrimų stotyse nustatytas vidutinis vingilių sutinkamumas, daugeliu atvejų, buvo mažesnis nei upėse (16 pav.). Pagal vingilių sutinkamumą stotyse taip pat išsiskyrė Šventosios ir Baltijos jūros Šventosios sistemos (iki Laukžemės malūno užtvankos), kurių visose tyrimo stotyse rasti vingiliai. Rečiausiai vingiliai buvo aptinkami Pajūrio upėse, kuriose vidutinis vingilių sutinkamumas upėse ir stotyse atitinkamai buvo tik 50% ir 27,8%. Minijos pabaseinyje šie rodikliai taip pat nebuvo aukšti. Bendras vingilių sutinkamumas upėse buvo 76,9%, o jų vidutinis sutinkamumas upių stotyse buvo 57,5%. Merkio ir Žeimenos pabaseiniuose vingilių sutinkamumo dažniai buvo panašūs: sutinkamumas upėse atitinkamai buvo 90% ir 87,5%, o vidutinis sutinkamumas upių stotyse – 84% ir 79,3%. Vingilių aptinkamumo dažnis skirtinguose baseinuose ar pabaseiniuose reikšmingai skyrėsi (*Kruskal-Wallis ANOVA*; $H_{5, 51}=19,6$, $p<0,01$). Daugkartiniai lyginimai parodė, jog vingilių aptinkamumas Baltijos pajūrio upių baseine yra mažesnis nei Šventosios,

Neries ar Merkio pabaseiniuose (*bost hoc Tukey HSD* testas, $p < 0,001$), o taip pat didesnis vingilių aptinkamumas nustatytas Šventosios pabaseinyje lyginant su Minijos pabaseiniu ($p < 0,001$).



17 pav. Vidutinis *Lampetra* spp. vingilių tankumas ir 95% pasikliautiniai intervalai 2007-2013 m. tirtose upėse.

Upinių ir mažųjų nęgių tankumas visose Lietuvos upių stotyse 2007–2013 m. svyravo nuo 0,83 ind./m² iki 121,3 ind./m² (Ūla ties Žiūrais 2013 m.). Daugiametis vidutinis vingilių tankumas skirtinguose upių baseinuose (pabaseiniuose) gana žymiai skyrėsi. Pajūrio upių baseine didžiausi tankumai nustatyti Šaltupio upėje – 12,3 ind./m², Minijos pabaseinyje, Blendžiavoje – 25 ind./m², Neries pabaseinyje, Žiežmaros upėje – 47 ind./m², Žeimos pabaseinyje, Peršokšnoje – 13,5 ind./m², Merkio pabaseinyje Pasgrindoje – 39,5 ind./m² ir pajūrio Šventosios upėje, kuri formuoja atskirą baseiną – 32,6 ind./m² (17 pav.).

5.1.2. Vingilių paplitimą ir gausumą upėse lemiantys veiksniai

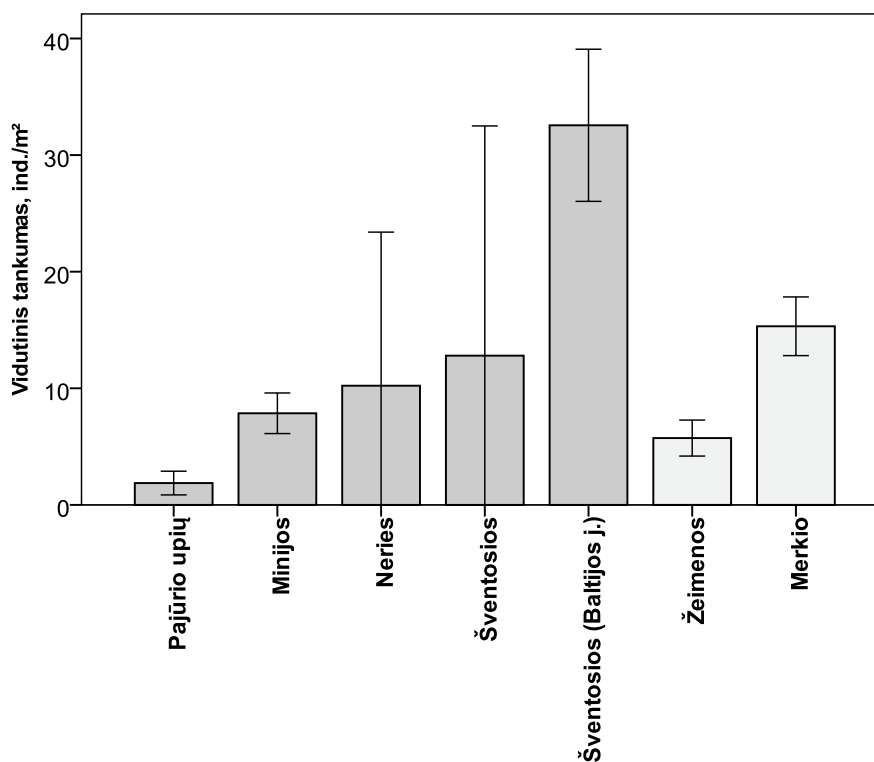
Siekiant nustatyti veiksnius, galinčius lemti nęgių paplitimą Lietuvoje, buvo pritaikyta daugialypė regresija. Po 7 mažiausiai reikšmingų kintamųjų eliminavimo žingsnių, nustatyta, kad reikšmingą įtaką vingilių paplitimui daro upės nuolydis, natūralios upės dalies dydis ir priklausomybė konkrečiam upės baseinui (visų $p < 0,001$; 8 lentelė).

8 lentelė. Svarbiausi aplinkos veiksniai, darantys įtaką vingilių gausumui upėse. Daugialypės tiesinės regresijos ir daugiafaktorinės (pagrindinių efektų) dispersinės analizės rezultatai.

	Veiksniai	Daugialypė regresija			Vienfaktorė dispersinė analizė			
		Beta	r_d	p	F	p	r	r^2
Vingilių tankumas					20,84	<0,001	0,54	0,29
	(Box-Cox, $\lambda=0$) Nuolydis	0,44	0,43	<0,001				
	(arcsin) Natūrali upės dalis	0,21	0,21	<0,001				
	Baseinas	0,29	0,31	<0,001				

Nustatytas ryšys tarp vingilių tankumo ir natūralios upės dalies ($r=0,22$) labai silpnas. Taip pat silpnas ryšys nustatytas tarp vingilių tankumo ir tirtu baseino (pabaseinio) bei nuolydžio tyrimų atkarpoje (atitinkamai $r=0,43$ ir $r=0,31$). Todėl detaliau nagrinėtas tik pastarųjų dviejų veiksnių poveikis nęgių paplitimui.

Vidutiniai daugiamečiai vingilių tankumai nustatyti upių baseinuose (pabaseiniuose) 2007–2013 m. statistiškai reikšmingai skyrėsi (*Kruskal-Wallis ANOVA*, $H_{6, 192}=83,6$, $p<0,001$) ir varijavo nuo $1,9 \pm 3,2$ ind./m² (vid.±SD) Pajūrio upių baseine iki $32,6 \pm 8,5$ ind./m² (±SD) pajūrio Šventosios baseine. Kituose pabaseiniuose daugiamečiai vingilių tankumas buvo: Minijos – $7,8 \pm 6,5$ ind./m² (±SD), Neries – $10,2 \pm 17,1$ ind./m², Šventosios – $12,8 \pm 15,9$ ind./m² (±SD), Žeimenos pabaseinyje – $5,6 \pm 3,8$ ind./m² (±SD) ir Merkio – $15,3 \pm 8,8,5$ ind./m² (±SD) (19 pav.).



19 pav. Vidutinis *Lampetra* spp. tankumas ir 95% pasikliautiniai intervalai Lietuvos upių baseinuose (pabaseiniuose) 2007-2013 m. Tamsūs stulpeliai – migruojančios *L. fluviatilis*, šviesūs stulpeliai – sėslios *L. planeri*.

9 lentelė. Vingilių gausumo skirtumų palyginimas tarp skirtingų Lietuvos baseinų ir pabaseinių, naudojant *post hoc Tukey HSD* testą. Reikšmingos tikimybės paryškintos.

	Pajūrio upių	Minijos	Neris	Šventosios	Šventosios (Baltijos j.)	Žeimenos
Minijos	<0,001					
Neris	0,43	0,99				
Šventosios	0,03	0,89	0,8			
Šventosios (Baltijos j.)	<0,001	<0,001	<0,001	0,16		
Žeimenos	<0,001	0,68	0,7	1	<0,01	
Merkio	<0,001	<0,001	0,06	0,99	0,04	0,47

Tjukio daugkartinių lyginimų metu nustatyta, jog pagal daugiamečių vingilių tankumą labiausiai išsiskiria Pajūrio upių ir pajūrio Šventosios baseinai (9 lentelė). Vidutinis vingilių tankumas Pajūrio upių baseine buvo reikšmingai mažesnis nei Minijos ($p < 0,001$), Žeimenos ($p < 0,001$), Merkio ($p < 0,001$), Šventosios ($p = 0,03$) ir pajūrio Šventosios ($p < 0,001$) baseinuose ar pabaseiniuose. Tuo tarpi pajūrio Šventosios baseinas pasižymėjo didesniu

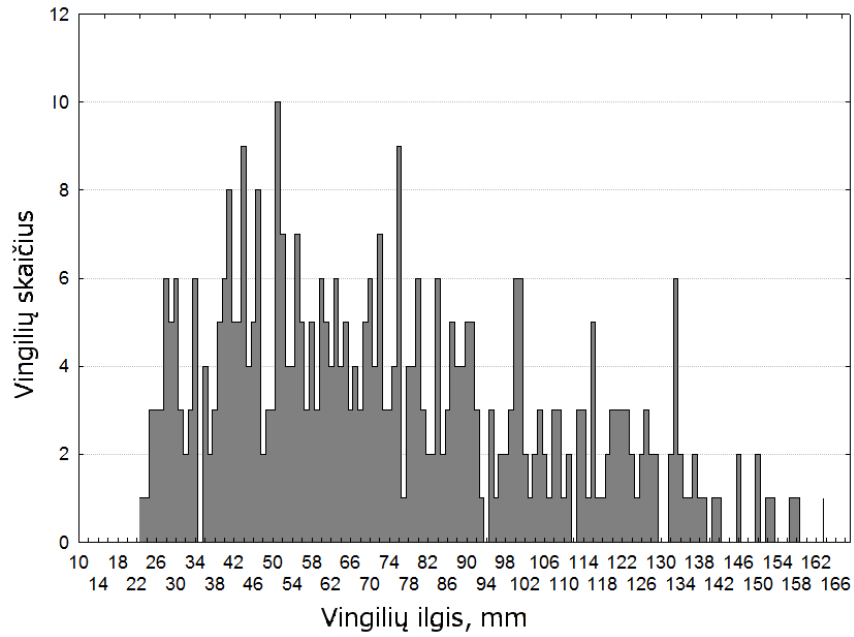
vingilių gausumu, lyginant su Pajūrio upių ($p < 0,001$), Minijos ($p < 0,001$), Neries ($p < 0,001$), Žeimenos ($p < 0,001$) ir Merkio ($p = 0,04$) baseiniais ar pabaseiniais. Taip pat didesnis gausumas nustatytas Žeimenos ($p < 0,001$) ir Merkio ($p < 0,001$) pabaseiniuose atitinkamai, lyginant su Pajūrio upių ir Minijos pabaseiniais. Tarp kitų baseinų dėl skirtingo tankumo neigiamų populiacijų ar mažų imčių statistiškai patikimų skirtumų nerasta.

Detaliau nagrinėjant išskirtų nuolydžio klasių poveikį vingilių gausumui, nustatyta, kad vingilių gausumas reikšmingai skiriasi priklausomai nuo esamos nuolydžio klasės (*one-way ANOVA*; $F = 6,3$, $p < 0,001$). Vingilių gausumas pirmos nuolydžio klasės upių atkarpose buvo mažesnis nei antros, trečios ir ketvirtos klasės upių atkarpose (*post hoc Tukey HSD*, visų $p < 0,01$).

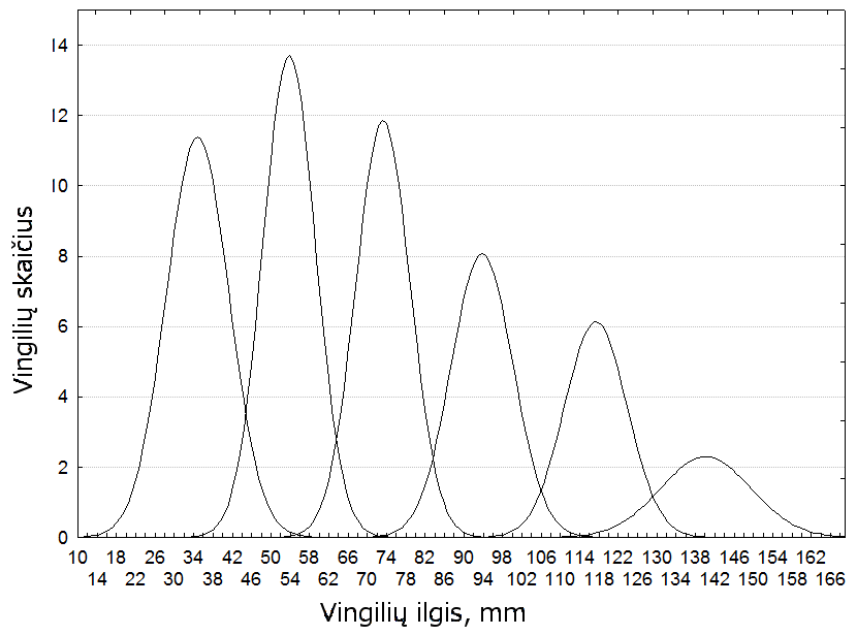
Vertinant vingilių gausumo ryšio stiprumą priklausomai nuo esamo nuolydžio tirtoje upės atkarpoje naudota dalinė Pirsono koreliacija, taip pat atsižvelgiant į duomenų pasiskirstymą baseinuose. Kaip ir daugialypės regresijos atveju, nustatyta silpnas, tačiau didesnis ryšys tarp vingilių gausumo ir nuolydžio ($r = 0,4$).

5.2. Vingilių sklaida upėse

Vienas iš veiksnių, galinčių riboti vingilių paplitimą upėse, yra tinkamų nerštaviečių stoka. Vykdamas šį tyrimą iš viso buvo sugauti 537 *Lampetra* genties vingiliai, kurių ilgis buvo 22–163 mm (20 pav.). K-vidurkių klasterinės analizės metu po 26 iteracijų ($F_{1, 536} = 2084$, $p < 0,001$) buvo nustatyti šeši ilgių klasteriai. Nustatyti K klasteriai buvo panaudoti, apskaičiuojant vingilių dydžių ribas kiekvienoje amžiaus grupėje (21 pav.). Nustatytos amžiaus dydžių ribos iš esmės atitinka kitų autorių tyrimų rezultatus Lietuvos upėse (Virbickas *et al.* 1996) (10 lentelė).



20 pav. Vingilių amžinių grupių ilgio klasių nustatymui panaudotų 537 *Lampetra* spp. individų ilgių dažniai.

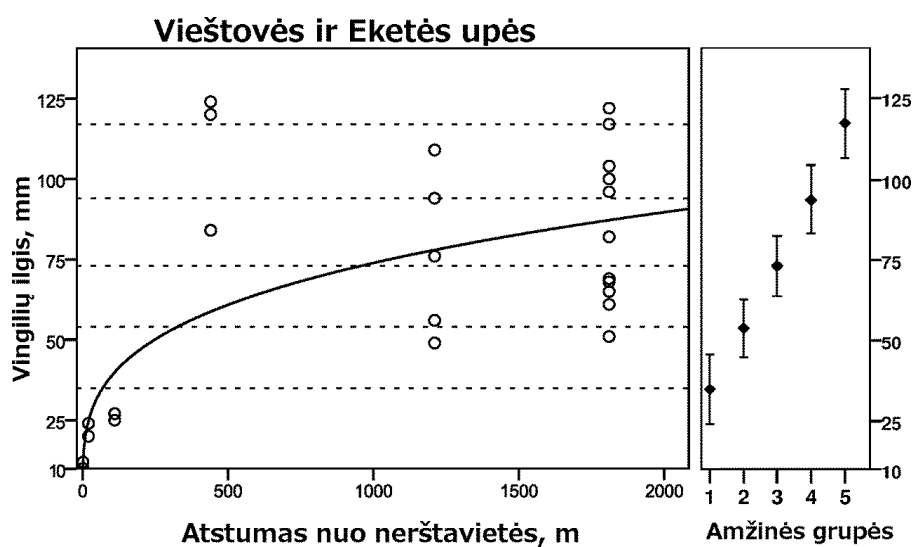


21 pav. Normalizuoti k-vidurkių klasterinės analizės metu nustatytų ilgio klasių pasiskirstymai.

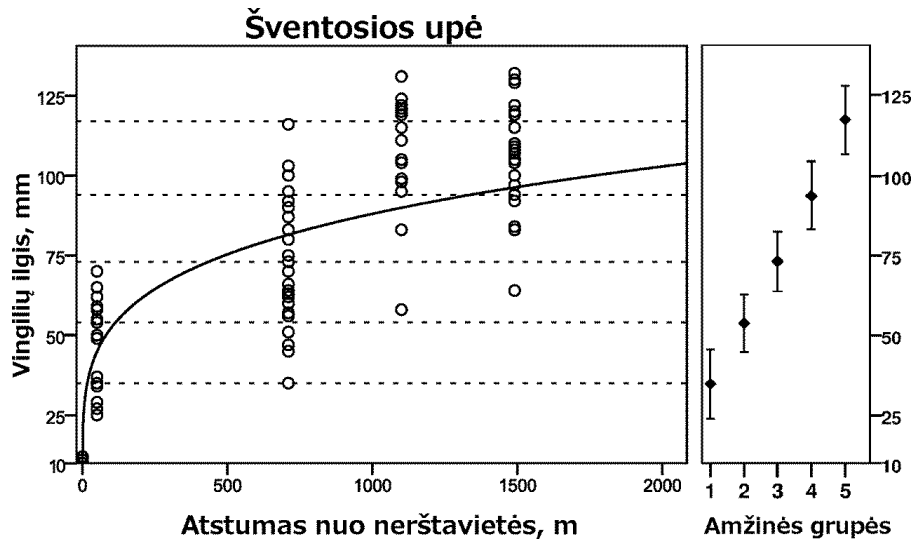
10 lentelė. Šio darbo metu ir ankstesnių tyrimų metu Lietuvoje (Virbickas *et al.* 1996) nustatytos vingilių ilgio klasės ir amžiaus grupės.

Amžiaus grupė	Vingilių ilgių ribos (vidurkis) mm	Vingilių ilgių ribos (Virbickas <i>et al.</i> 1996) mm
I	24-45 (34,8)	29-37
II	44-63 (53,8)	45-53
III	64-83 (73,2)	63-79
IV	84-104 (93,8)	85-95
V	107-128 (117,3)	112-123
VI	125-156 (140,1)	-

Duomenys surinkti Vieštovėje, Eketėje ir Šventosios upėse taip pat buvo panaudoti, nustatant geriausiai vingilių sklaidą upėse paaikškinančius deterministinius modelius atitinkamai mažoms ($R^2=0,81$, $p < 0,001$; 22 pav.) ir vidutinio dydžio (Šventosios upės pavyzdžiu) upėms ($R^2=0,67$, $p < 0,001$; 23 pav.).



22 pav. Vingilių amžinių grupių pasiskirstymas žemiau nerštaviečių Vieštovės ir Eketės upėse. Apskritimais pažymėti sugautų vingilių ilgiai.



23 pav. Vingilių amžinių grupių pasiskirstymas žemiau nerštaviečių Šventosios (Baltijos jūra) upėje. Apskritimais pažymėti sugautų vingilių ilgiai.

Priklausomybė tarp vingilių kūno ilgio ir įveikto atstumo po išsiritimo mažose ir vidutinio dydžio upėse atitinkamai aprašyta regresijomis:

$$S = 10,7 \cdot L^{0,28} \quad \text{ir} \quad S = 14,3 \cdot L^{0,25}$$

kur: L – vingilio kūno ilgis, mm, S – atstumas nuo nerštavietės (km).

Remiantis šio darbo metu pritaikytais vingilių laipsninės sklaidos modeliais (Ratkowsky 1983), *Lampetra* spp. nėgių vingiliai iki metamorfozės geba nukeliauti vidutiniškai (apskaičiuojant atstumą naudota viršutinė penktosios amžinės grupės riba $L = 127$ mm) $6,3 \pm 0,272$ km (vid. \pm SE) vidutinio dydžio upėse ir iki $6,9 \pm 0,372$ km (\pm SE) mažose upėse. Viršutinė 95% pasikliautinių intervalų riba, kuri parodo maksimalų tikėtiną vingilių paplitimą upėje, mažose upėse buvo 11,9 km, o vidutinio dydžio upėse – 9,7.

5.3. Apskritažiomenių (Cephalaspidomorphi) molekuliniai tyrimai

5.3.1. *L. fluviatilis* ir *L. planeri* mtDNR regionų tyrimai

Nėgių rūšinės priklausomybės nustatymas remiantis mtDNR NCR-I. Panaudojus Lamp-1R ir Lamp-1F pradmenų porą, skirtą nėgių mtDNR NCR-I sekoms padauginti, buvo sėkmingai amplifikuotos visų tirtų 118 nėgių mtDNR NCR-I sekos. Atlikus tiriamų nėgių mtDNR NCR-I sekų ir 125 611 bp ilgio sekų, kurios buvo paimtos iš GenBank duomenų bazės, palyginamąją analizę, nustatyta, kad visų Pietryčių Baltijos regione sugautų *L. fluviatilis* ir *L. planeri* sekos grupuojasi kartu su kitų autorių į GenBank duomenų bazę deponuotomis sekomis, sudarydamos atskirą monofiletinę *Lampetra* genties grupę (24 pav.). Šioje grupėje nežymiai išsiskiria tik Sado upėje (Portugalija; H36 ir H37) sugautų *L. planeri* sekos.

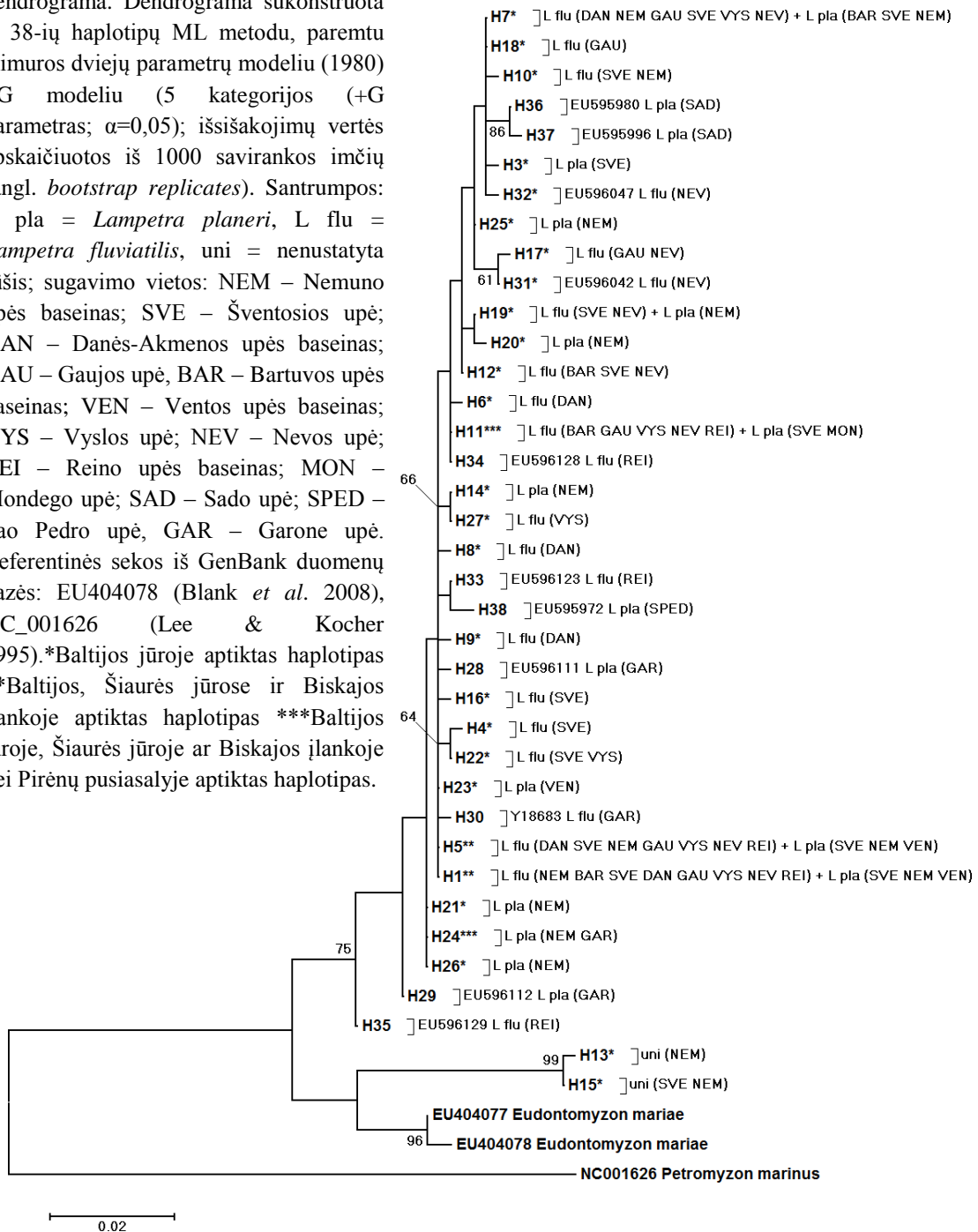
Didžioji dalis rastų haplotipų aptinkami pavieniai skirtingose upėse, tačiau 11 haplotipų rasta daugiau nei vienoje upėje. H3, H19 ir dažniausi H1, H5, H7, H11 (58% visos imties) haplotipai būdingi abiejų rūšių *L. fluviatilis* ir *L. planeri* individams. Remiantis šiuo žymeniu, nustatytas genetinis atstumas tarp *L. fluviatilis* ir *L. planeri* buvo $0,4 \pm 0,2$ % (vid. \pm SE). Esant tokiems nedideliems genetiniams atstumams, tikėtina, kad skirtingose upių sistemose Pirėnų pusiasalyje, Šiaurės jūros baseine ir Baltijos jūros baseine aptinkamos sėslios *L. planeri* nėgės kartu su migruojančiom *L. fluviatilis* rūšies nėgėm sudaro rūšių kompleksą. Nesant fizinių barjerų, šis kompleksas koegzistuoja tinkamose buveinėse. Silpnai išreikšta šių dviejų rūšių divergencija atspindi nesenus gamtinius įvykius, galimai susijusius su klimatiniais pokyčiais, lėmusiais aplinkos ir gyvenimo sąlygų diversifikaciją Europos žemyne, dalies populiacijos izoliaciją ir migracijų apribojimą, kintant hidrologiniam režimui. Todėl ledynmetis, galimai, inspiravo dviejų genotipiškai labai artimų rūšių formavimąsi.

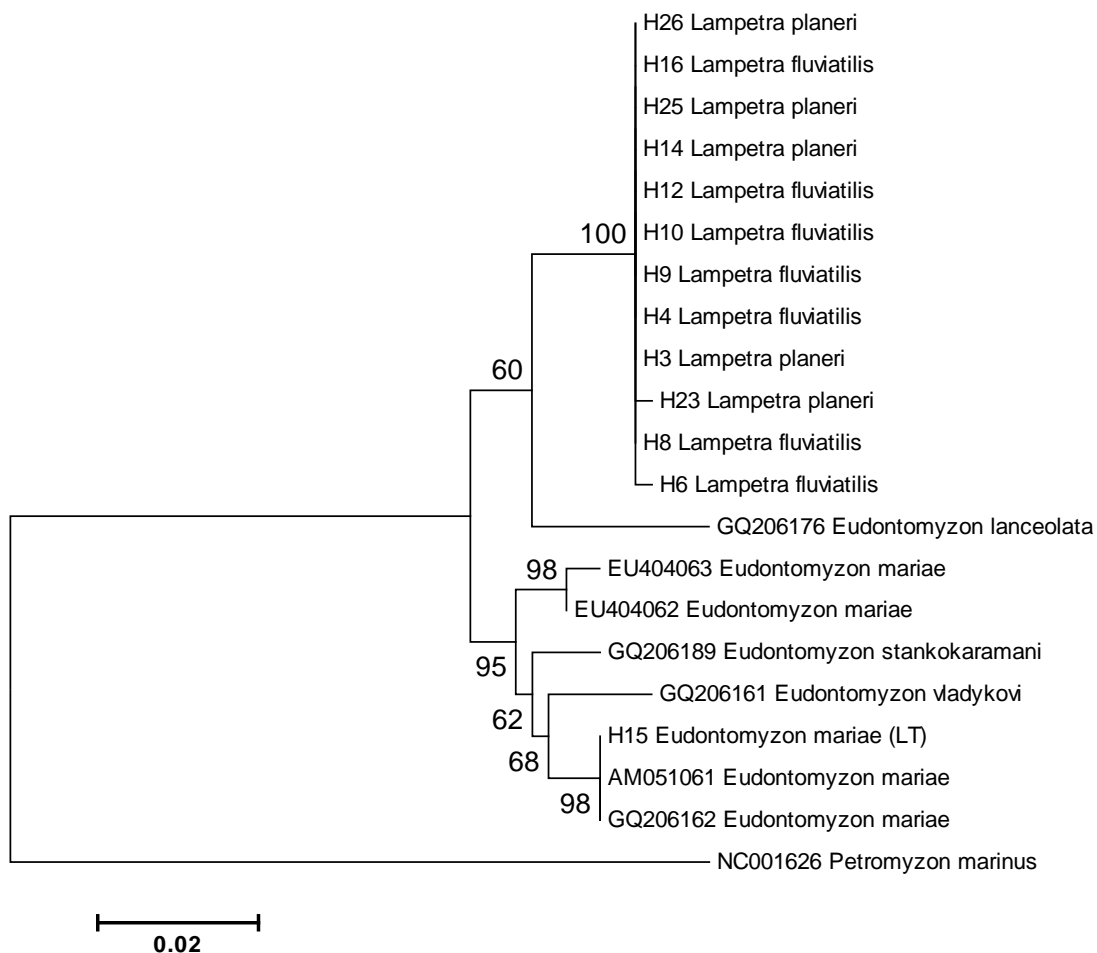
Pažymėtina, kad tarp tirtų Lietuvos upėse sugautų nėgių taip pat aptikti keli individai, kurių sekos grupavosi kartu su Dunojaus baseino upėse aptiktomis *E.*

mariae rūšies nėgėms būdingomis homologinėmis NCR-I regiono sekomis. Genetiniai atstumai tarp *L. fluviatilis* ir *E. mariae* bei *L. planeri* ir *E. mariae* buvo panašūs: tarp *E. mariae* ir *L. fluviatilis* buvo $6,1 \pm 2,4$ % (\pm SE), o tarp *E. mariae* ir *L. planeri* buvo $6,2 \pm 2,5$ % (\pm SE). Esant tokiems tarprūšinio masto genetiniams atstumams tarp mtDNR NCR-I sekų, galima iškelti hipotezę, kad Nemuno (Lietuvos teritorija) ir Šventosios upėse (Baltijos jūra) yra aptinkamas *E. mariae* porūšis, atskirtas kriptinių barjerų ir dėl ilgalaikės geografinės izoliacijos genetiškai diferencijuotas nuo kitų *E. mariae* rūšies porūšių. Vis dėlto, esant mažam šių nėgių aptinkamumo dažnumui, o rūšies nustatymui naudojant vienintelį molekulinį žymenį, daryti konkrečias išvadas dėl šių nėgių sisteminę padėtį problematiška.

Tyrimo metu, naudojant skirtingais mtDNR NCR-I haplotipais pasižyminčių individų DNR, pagausinti ir mtDNR cyt *b* geno fragmentai bei nustatytos sekos, kurios, kartu su GenBank duomenų bazėje deponuotomis *Eudontomyzon* genties mtDNR cyt *b* homologinėmis sekomis, buvo panaudotos filogenetinėje analizėje, konstruojant ML dendrogramą (25 pav.).

24 pav. Pietryčių Baltijoje ir kituose Europos geografiniuose regionuose aptinkamų nėgių rūšių mtDNR NCR-I 556 bp ilgio homologinių sekų pagrindu sukonstruota ML molekulinės filogenijos dendrograma. Dendrograma sukonstruota iš 38-ių haplotipų ML metodu, paremtu Kimuros dviejų parametrų modeliu (1980) +G modeliu (5 kategorijos (+G parametras; $\alpha=0,05$); išsišakojimų vertės apskaičiuotos iš 1000 savirankos imčių (angl. *bootstrap replicates*). Santrumpos: L pla = *Lampetra planeri*, L flu = *Lampetra fluviatilis*, uni = nenustatyta rūšis; sugavimo vietos: NEM – Nemuno upės baseinas; SVE – Šventosios upė; DAN – Danės-Akmenos upės baseinas; GAU – Gaujos upė, BAR – Bartuvos upės baseinas; VEN – Ventos upės baseinas; VYS – Vyslos upė; NEV – Nevos upė; REI – Reino upės baseinas; MON – Mondego upė; SAD – Sado upė; SPED – Sao Pedro upė, GAR – Garone upė. Referentinės sekos iš GenBank duomenų bazės: EU404078 (Blank *et al.* 2008), NC_001626 (Lee & Kocher 1995). *Baltijos jūroje aptiktas haplotipas **Baltijos, Šiaurės jūrose ir Biskajos įlankoje aptiktas haplotipas ***Baltijos jūroje, Šiaurės jūroje ar Biskajos įlankoje bei Pirėnų pusiasalyje aptiktas haplotipas.





25 pav. Žinomos rūšinės priklausomybės individų, priklausančių *E. lanceolata*, *E. mariae*, *E. stakokaramani*, *E. vladykovi* ir *P. marinus* ir 14 *Lampetra* spp. nėgių, pasižyminčių skirtingais mtDNR NCR-I haplotipais, homologinių mtDNR cyt *b* sekų pagrindu sukonstruota ML dendrograma. H ir dviejų skaitmenų kombinacija prieš rūšies pavadinimą nurodo nustatyto individo mtDNR NCR-I haplotipą, o aštuonių simbolių kodas žymi įkeltos į GenBank sekos kodą.

Pateiktoje ML dendrogramoje tyrime panaudotų nėgių sekos susigrupavo į dvi pagrindines kladas (25 pav.), iš kurių pirmąją reprezentuoja Pietryčių Baltijoje sugauti *L. fluviatilis* ir *L. planeri* bei iešmutinės nėgės *Lampetra (Eudontomyzon) lanceolata* individai, o antrąją – *Eudontomyzon* genties nėgės, kurioms priskirti ir Lietuvoje aptikti *E. mariae* haplotipai.

Pirmojoje kladoje greta dažniausiai aptinkamo cyt *b* H26 haplotipo grupuojasi unikalių, tik Pietryčių Baltijoje aptinkamų mtDNR NCR-I haplotipų *L. fluviatilis* ir *L. planeri* atstovai (25 pav.), jų cyt *b* sekos identiškos arba

pasižymi minimaliu mutacijų skaičiumi (H6 ir H23). Nustatytas genetinis atstumas tarp *L. fluviatilis* ir *L. planeri* pagal mtDNR cyt *b* taip pat yra minimalus ($0,1 \pm < 0,01\%$, vid. \pm SE). Atskleistas daugeliui rūšių būdingas reiškinys, t.y. nustatytas mažesnis, palyginus su NCR-I sekomis, cyt *b* geno kintamumas, tad šio geno sekų palyginamieji tyrimai rekomenduotini, siekiant nustatyti tarprūšinius skirtumus. Deja, tiriant vidurūšinius skirtumus šio molekulinio žymens skiriamoji geba dažnai nepakankama.

Tyrimų metu aptiktas *E. mariae* haplotipas identiškas Ukrainoje Ivankos upėje (GQ206162; Lang *et al.* 2009) ir Dunojaus upėje (AM051061; Espagnol *et al.* 2007) sugautų *E. mariae* individų haplotipams. Vidutiniai genetiniai atstumai, nustatyti lyginant *E. mariae* su *L. fluviatilis* bei su *L. planeri* pagal mtDNR cyt *b* geno sekas, beveik nesiskyrė ir atitinkamai buvo $3,6 \pm 0,1\%$ (\pm SE) ir $3,7 \pm 0,1\%$ (\pm SE). Šie genetiniai atstumai, panašiai kaip ir mtDNR NCR-I molekulinio žymens atveju, atspindi tarprūšinės genetinės įvairovės skirtumus tarp *Lampetra* spp. ir aptiktų Lietuvoje *E. mariae* nėgių. Taip pat būtina paminėti, kad grupuojant mtDNR NCR-I sekas buvo panaudotos vienintelės GenBank esančios referentinės dviejų *E. mariae* individų sekos iš Gail upės Austrijoje (Dunojaus baseinas) (EU404077, EU404078; Blank *et al.* 2008). Tų pačių individų mtDNR cyt *b* sekos (EU404077→EU404063, EU404078→EU404062; Blank *et al.* 2008) buvo panaudotos grupuojant mtDNR cyt *b* sekas (25 pav.). Šie individai grupavosi į atskirą kladą nei *E. mariae*, rasta Šventosios, Ivankos ir Dunojaus upėse, o tarprūšinė divergencija tarp šios ir kitų nėgių rūšių buvo artima ar viršijo 2% ribą, kuria pagal mtDNR cyt *b* skiriasi dvyninės rūšys (Walker 1999) (11 lentelė). Remdamiesi mtDNR sekų palyginimo duomenimis galime teigti, kad dviejų individų iš Gail upės Austrijoje priskyrimas *E. mariae* rūšiai netiksliai atspindi jų sistematinę padėtį, bei neatmestina prielaida, kad šie individai galimai atstovauja neapibūdintą nėgių rūšį.

11 lentelė. Genetinių atstumų poriniai palyginimai tarp *Eudontomyzon* genties rūšių. Genetinis atstumas (žemiau įstrižainės) ir standartinė paklaida \pm SE (virš įstrižainės)

n	<i>E. vladikovi</i> (SVK)	<i>E. stankokaramani</i> (MNE)	<i>E. mariae</i> (LTU, UKR)	<i>E. mariae</i> (AUT)
<i>E. vladikovi</i> (SVK)	1	0,007	0,006	0,007
<i>E. stankokaramani</i> (MNE)	0,023	1	0,006	0,006
<i>E. mariae</i> (LTU, UKR)	0,019	0,017	3	0,006
<i>E. mariae</i> (AUT)	0,025	0,019	0,019	2

LTU – Lietuva, UKR – Ukraina, AUT – Austrija, SVK – Slovakija, MNE – Juodkalnija

Panaudojus skirtingus mtDNR NCR-I ir mtDNR cyt *b* molekulinis žymenis gauti beveik identiški rezultatai, todėl galima užtikrintai teigti, kad Lietuvoje be trijų jau žinomų nėgių rūšių aptinkama ir ketvirtoji – ukraininė nėgė *Eudontomyzon mariae*.

5.3.2. MtDNR NCR-I sekų genetinė įvairovė

Baltijos jūros rytinių upių *Lampetra* spp. genetinės įvairovės charakteristikos. Detali informacija apie rytinės Baltijos jūros upių *Lampetra* genties nėgių populiacijų genetinės įvairovės charakteristikas pateikta 12 lentelėje.

12 lentelė. Pagrindiniai *Lampetra* spp. genetinės įvairovės parametrai tirtose Baltijos jūros upių baseinuose ir Nevos upėje (Pereira *et al.* 2013) apskaičiuoti, naudojant *Lampetra* spp. mtDNR NCR-I duomenis: haplotipų įvairovės parametras (h), nukleotidų įvairovės parametras (π), polimorfinių saitų skaičius (S) ir nukleotidų pakaitų vidurkio koeficientas (K).

Baseinas	N	Skirtingų haplotipų skaičius	Unikalūs haplotipai	$h \pm SD$	$\pi \pm SD$	S	K
Baltijos jūros	139	25	-	0,639±0,044	0,003±0,0003	15	1,836
Nemuno	32	12	41,6%	0,635±0,091	0,003±0,001	9	1,861
Ventos	9	3	0%	0	0	0	0
Danės-Akmenos	14	7	57,1%	0,747±0,111	0,005±0,002	8	2,088
Bartuvos	8	4	0%	0,643±0,184	0,003±0,001	4	1,464
Šventosios	20	9	11,1%	0,787±0,086	0,004±0,001	9	2,289
Gaujos	15	5	25%	0,543±0,133	0,003±0,001	6	1,848
Vyslos	17	5	40%	0,640±0,117	0,003±0,002	6	1,647
Nevos	24	8	25%	0,728±0,116	0,004±0,002	6	2,116

Daugiausia skirtingų haplotipų nustatyta Nemuno baseine – 12, Šventojoje (Baltijos jūra) – 9 ir Nevoje – 8. Upių imtys pagal tirtų individų skaičių buvo neproporcingos ir varijavo nuo 8 iki 36 individų. Didesnės nei 0,7 haplotipų įvairovės parametro vertės ir didžiausios nukleotidų pakaitų vidurkio vertės nustatytos Danės–Akmenos, Šventosios (Baltijos jūra) ir Nevos upių sistemose. Bendras šių upių bruožas – jog jos yra neilgos arba didžioji jų dalis yra neprieinamos nęgių nerštui, o mažas nerštaviečių kiekis gali padidinti tikimybę nerštavietėse surasti didesnę įvairovę arba, priešingai, pasireikšti plataus masto homogeniškumui. Mažiausias šis parametras nustatytas Gaujos upėje ($h=0,543$), o Ventoje haplotipų įvairovę iš turimų duomenų sunku įvertinti, nes fiksuotas nedidelis mutacijų skaičiaus bei taškinės delecijos ir insercijos. Nukleotidų įvairovė buvo nedidelė, varijavo gana siaurose ribose (tarp 0,3% ir 0,5%). Šie duomenys rodo, jog nęgių genetinė įvairovė tirtose Baltijos jūros baseino upėse yra panaši.

Skirtinguose Baltijos jūros upių baseinuose aptinkamų *L. fluviatilis* ir *L. planeri* populiacijų genetinės diferenciacijos tyrimai remiantis mtDNR NCR-I sekų duomenimis. Šio tyrimo metu nustatytų F_{ST} ir p verčių palyginimas pateiktas 13 lentelėje.

13 lentelė. Nėgių populiacijų porinių palyginimų tarp tirtų Baltijos jūros upių baseinų ir Nevos upės (Pereira *et al.* 2013), naudojant *Lampetra* spp. mtDNR NCR-I duomenis, F_{ST} vertės (žemiau įstrižainės) ir skirtumų patikimumo vertės p (virš įstrižainės).

	Nemuno	Ventos	Danės- Akmenos	Bartuvos	Šventosios	Gaujos	Vyslos	Nevos
Nemuno		0,617	0,109	0,306	0,245	0,355	0,270	0,180
Ventos	0,149		0,213	0,251	0,436	0,285	0,317	0,421
Danės- Akmenos	0	0,094		0,471	0,377	0,324	0,256	0,256
Bartuvos	-0,048	0,163	-0,015		0,943	0,593	0,550	0,945
Šventosios	0,006	0,261	0,016	-0,050		0,657	0,660	0,760
Gaujos	-0,022	0,185	-0,017	-0,074	-0,033		0,578	0,843
Vyslos	-0,014	0,117	-0,039	-0,060	0,005	-0,034		0,484
Nevos	0,021	0,295	0,004	-0,035	0,004	0,034	0,003	

Remiantis gautais rezultatais galima teigti, jog genetinės diferenciacijos tarp Rytų Baltijos baseino upėse aptinkamų *Lampetra* spp. nėgių populiacijų nėra arba ji yra silpnai išreikšta ($F_{ST} < 0,05$). Šiame regione išsiskiria tik Ventos upės nėgių populiacija, kurią lyginant su kitomis populiacijomis, priklausomai nuo lyginamų porų, genetinės diferenciacijos intensyvumas kinta nuo vidutinės ($0,05 < F_{ST} < 0,15$) iki labai intensyvios ($F_{ST} > 0,25$). Pagrindinis veiksnys, lemiantis šios nėgių populiacijos diferenciaciją, yra neįveikiama natūrali kliūtis – Ventos slenkstis (lat. *Ventas rumba*), dėl kurios didžioji Ventos upės dalis yra izoliuota. Išskyrus šią išimtį, galima teigti, kad tyrimo metu analizuotos *Lampetra* genties atstovų subpopuliacijos Baltijos jūros baseine formuoja panmiksinę populiaciją. Siekiant atskleisti subtilesnius genetinius skirtumus tarp skirtingų Baltijos jūros upių baseinų nėgių populiacijų būtina pasitelkti įvairesnius ir jautresnius molekulinis žymenis ir metodus.

Siekiant įvertinti nėgių genetinės diferenciacijos situaciją kontinentiniu mastu, buvo palyginta *Lampetra* spp. nėgių diferenciacija tarp skirtingų Europos geografinių regionų. Tirtos Rytų Baltijos upės buvo sujungtos į bendrą Baltijos jūros imtį, nėgių iš Reino ir Garrone upių molekulinį žymenų tyrimų duomenys atstovavo Šiaurės jūros ir Biskajos įlankos imtį (Pereira *et al.* 2010), o Pirėnų pusiasalio Sao Pedro, Sado ir Mondego upėse sugautos nėgės priskirtos bendrai Pirėnų pusiasalio imčiai (Pereira *et al.* 2010, Pereira *et al.* 2013). Šių regionų nėgių hipotetinių populiacijų genetinės diferenciacijos porinių palyginimų vertės pateiktos 14 lentelėje.

14 lentelė. Nėgių populiacijų poriniai palyginimai tarp Baltijos jūros upių, Šiaurės jūros ir Biskajos įlankos bei Pirėnų pusiasalio (Pereira *et al.* 2010, Pereira *et al.* 2013) *Lampetra* spp. populiacijų, remiantis mtDNR NCR-I duomenimis, F_{ST} vertės (žemiau įstrižainės) ir skirtumų patikimumo vertės p (virš įstrižainės).

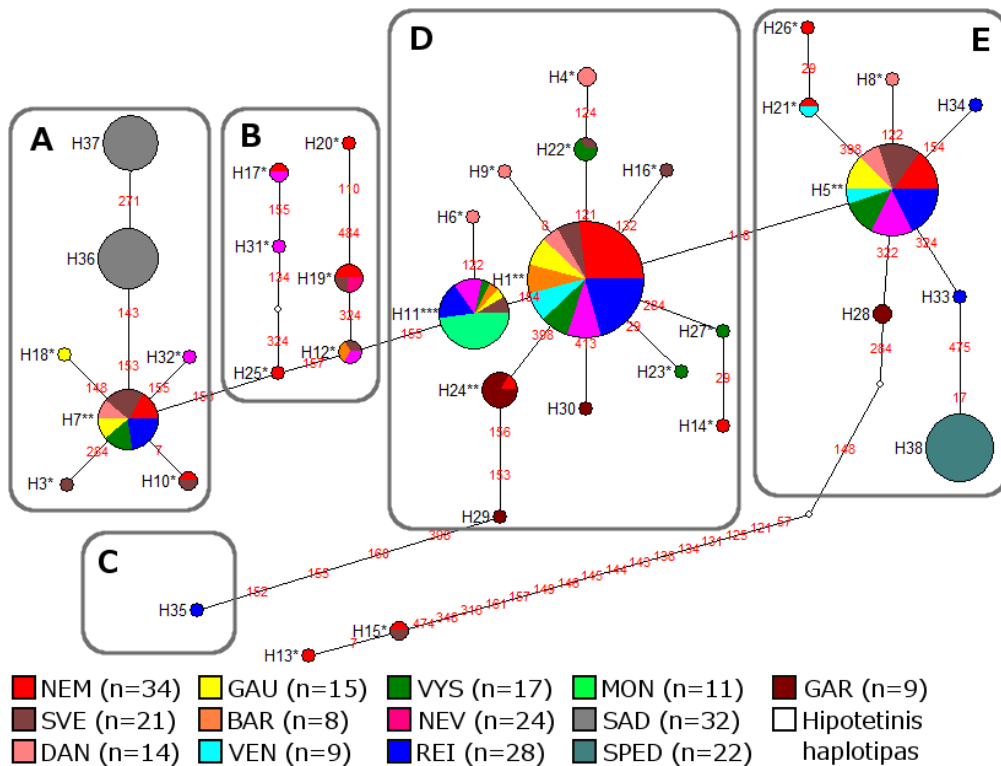
	Baltijos jūra	Šiaurės jūra ir Biskajos įlanka	Pirėnų pusiasalis
Baltijos jūra	139	0,007	<0,001
Šiaurės jūra ir Biskajos įlanka	0,082	36	<0,001
Pirėnų pusiasalis	0,181	0,298	89

Tarp visų lyginamų *Lampetra* spp. hipotetinių populiacijų porų nustatyta statistiškai patikima genetinė diferenciacija. Sprendžiant iš rezultatų, gautų lyginant skirtingus Europos geografinius regionus, tarp Baltijos jūros ir Šiaurės jūros bei Biskajos įlankos populiacijų nustatyta vidutinio intensyvumo, o tarp Baltijos jūros ir Pirėnų pusiasalio – intensyvi diferenciacija. Natūralu, jog didėjant geografiniam atstumui tarp tiriamų populiacijų didėja ir diferenciacija tarp jų. Tačiau stebina nustatyta labai intensyvi diferenciacija tarp Pirėnų pusiasalio ir Šiaurės jūros bei Biskajos įlankos nėgių, kuri galimai gauta lyginant neproporcingas individų skaičiumi imtis. Gauti duomenys indikuoja, kad tarp geografiškai nutolusių populiacijų genų mainų intensyvumas yra žemas bei suteikia pagrindo išskirti skirtingas populiacijas *Lampetra* spp. paplitimo areale.

***L. fluviatilis* ir *L. planeri* rūšių mtDNR NCR-I haplotipų tinklas.** Siekiant išsiaiškinti galimas priežastis, dėl kurių genetinės diferenciacijos skaičiavimai tarp įvairių lyginamų *Lampetra* spp. imčių porų parodė genetinės diferenciacijos nebuvimą tiriamose rūšyse, buvo nuspręsta panagrinėti *Lampetra* genties genetinę įvairovę ir evoliuciją. *L. fluviatilis* ir *L. planeri* MP haplotipų tinklas sukonstruotas iš 239 abiejų rūšių nėgių mtDNR NCR-I sekų, kurios buvo nustatytos disertacinio darbo bei ankstesnių tyrimų (Pereira *et al.* 2010, Pereira *et al.* 2013) metu, pateiktas 26 pav. Haplotipų tinkle atstumai tarp dviejų skirtingų sekų varijuoja nuo vieno iki šešiolikos mutacinių žingsnių (*E. mariae* atvejis), tačiau tolimiausias atstumas tarp gretimai tinkle išsidėsčiusių atskirų *Lampetra* spp. haplotipų buvo keturi mutaciniai žingsniai. Dažniausiai aptinkamas H1 (61 seka) haplotipas. Iš viso haplotipų tinklą sudaro 37 skirtingi haplotipai, iš kurių 17 nustatyti pirmą kartą, atliekant molekulinis tyrimus šio disertacinio darbo metu: H3, H4, H6, H8, H9, H10, H13, H14, H15, H16, H20, H21, H22, H23, H25, H26, H27. Po keturis iš šių haplotipų nustatyti tik Nemuno baseine (H14, H20, H25, H26) ir Danės-Akmenos baseine (H4, H6, H8, H9). Du unikalūs haplotipai taip pat nustatyti Vyslos baseine (H23, H27) ir po vieną Šventosios (H16) ir Gaujos (H18) baseinuose.

Siekiant supaprastinti haplotipų tinklo analizę, remiantis metodinėje disertacinio darbo dalyje aprašytais haplogrupių identifikavimo principais, visos *Lampetra* spp. artimų haplotipų sekos buvo sujungtos į didesnius vienetus – haplogrupes. Nėgių haplotipai sugrupuoti į penkių mtDNR NCR-I MP haplogrupių tinklą. Haplotipų tinklo konfigūracija indikuoja, kad *Lampetra* genties nėgių populiacinė-genetinė struktūra pasižymi keliomis aiškiai išreikštomis genetinėmis linijomis, paplitusiomis visoje Europoje (A, D ir E haplogrupės), kurių kilmę, matyt, nulėmė istorinė reprodukcinė izoliacija, pietinėse Europos kontinento populiacijose egzistuojanti iki šiol. Labiau tarp nustatytų haplogrupių išsiskyrė B ir C haplogrupės. B haplogrupė išskirtinai aptikta tik Baltijos jūroje. Ši haplogrupė neturi gerai išreikšto centrinio

haplotipo, todėl tikėtina, jog į šią genetinę liniją sudaro, dėl klimato kaitos ciklą Šiaurės Europoje anksčiau nepriklausomai besiformavusių, tačiau dalinai sunykusių, linijų atstovai. C haplogrūpei priskirtas vienintelis haplotipas (H35), kuris haplotipų tinkle maksimaliai nutolęs nuo kitų *Lampetra* spp. haplotipų. Šis haplotipas gali reprezentuoti šiame darbe netirtas Britų salų ar Norvegijos populiacijas arba, kaip ir B haplogrupės atveju, gali būti sunykusios linijos atstovas.



26 pav. *Lampetra* spp. mtDNR NCR-I MJ haplotipų tinklas, sudarytas iš 243 sekų: baltais apskritimais pažymėtos hipotetinių haplotipų sekos, kurios nebuvo nustatytos šio tyrimo metu, bet buvo sugeneruotos, konstruojant haplotipų tinklą; skaičiai tarp taškų parodo mutacijų skaičių, o skaičių vertės konkrečias mutacijų pozicijas DNR sekoje; skritulių dydis rodo haplotipų aptikimo dažnumą nuo 1 iki 61; NEM – Nemuno upės baseinas; SVE – Šventosios upė; DAN – Danės-Akmenos upės baseinas; GAU – Gaujos upė, BAR – Bartuvos upės baseinas; VEN – Ventos upės baseinas; VYS – Vyslos upė; NEV – Nevos upė; REI – Reino upės baseinas; MON – Mondego upė; SAD – Sado upė; SPED – Sao Pedro upė, GAR – Garonne upė.).*Baltijos jūroje aptiktas haplotipas **Baltijos, Šiaurės jūrose ir Biskajos įlankoje aptiktas haplotipas ***Baltijos jūroje, Šiaurės jūroje ar Biskajos įlankoje bei Pirėnų pusiasalyje aptiktas haplotipas.

***Lampetra* genties mtDNR NCR-I haplotipų pasiskirstymas tirtuose Pietryčių Baltijos upių baseinuose.** Informacija apie nustatytų haplotipų paplitimą tirtose upėse ir upių baseinuose yra pateikta 15 lentelėje.

15 lentelė. Disertacinio darbo metu nustatytų *Lampetra* mtDNR NCR-I haplotipų priskyrimas haplogrupėms bei paplitimas tirtose vietovėse.

Nr.	Haplotipas	Haplogrupė	Upė/upės baseinas						
			NEM	SVE	DAN	GAU	BAR	VEN	VYS
1	H3	A	1	1					
2	H7		3	4	2	2			3
3	H10		1	1					
4	H18					1			
5	H12	B		1			1		
6	H17		1						
7	H19		2	1					
8	H20		1						
9	H25		1						
10	H1	D	17	4	3	5	5	5	5
11	H4				2				
12	H6				1				
13	H9				1				
14	H11			2		1	1		1
15	H14		1						
16	H16			1					
17	H22			1					2
18	H23								1
19	H24		1						
20	H27							1	
21	H5	E	6	6	3	5		2	5
22	H8				1				
23	H21		1						
24	H26		1						

NEM – Nemuno upės baseinas; SVE – Šventosios upė; DAN – Danės-Akmenos upės baseinas; GAU – Gaujos upė, BAR – Bartuvos upės baseinas; VEN – Ventos upės baseinas; VYS – Vyslos upė

Ištyrus 118 Pietryčių Baltijos upėse sugautas nėges nustatyti aštuoni ankstesnių tyrimų metu (Pereira *et al.* 2010, Pereira *et al.* 2013) aptikti haplotipai: H1, H5, H7, H11, H12, H17, H19, H24. Keturi iš šių haplotipų (H1, H5, H7, H11) aptikti daugiau nei dviejuose upių baseinuose ir priklauso trimis haplogrupėms

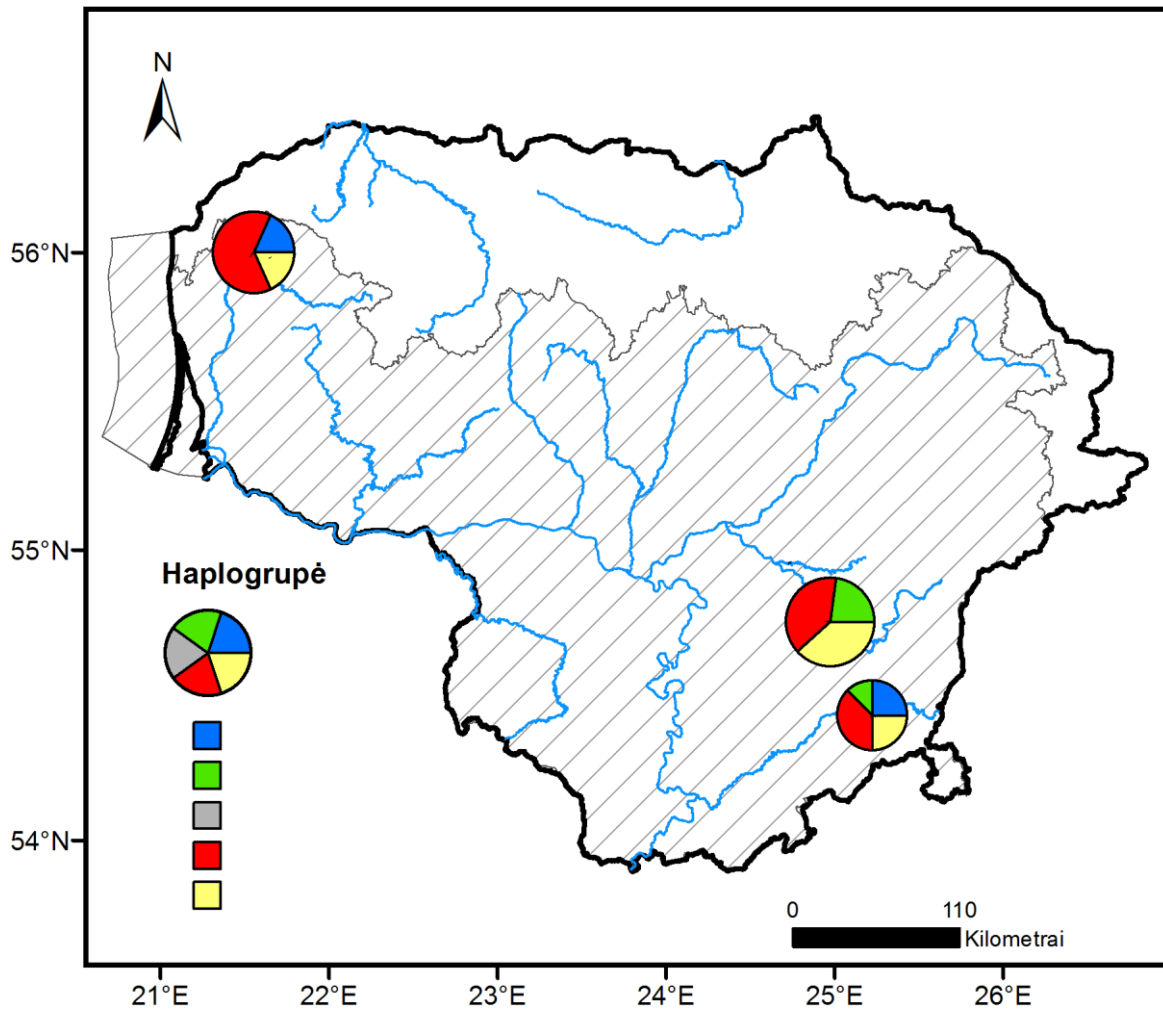
(A, D ir E). Iš viso Pietryčių Baltijos upėse nustatyti 24 skirtingi haplotipai, priklausantys keturioms haplogrupėms (A, B, D, E).

***L. fluviatilis* ir *L. fluviatilis* rūšies mtDNR NCR-I haplogrupių paplitimas Nemuno baseine.** Nemunas yra viena didžiausia regiono upių, kurios baseinas Lietuvoje užima 46695,4 km², o tai sudaro 71,5% Lietuvos teritorijos. Dėl užimamos didelės teritorijos baseinas pasižymi didele upių sistemų bei buveinių įvairove. Nemune aptinkamos nėgių populiacijos gali būti skirstomos į artimos migracijos, tolimos migracijos ir izoliuotas populiacijas. Siekiant nustatyti galimus genetinius skirtumus tarp šių populiacijų, buvo palygintos Minijos (artimos migracijos), Neries (tolimos migracijos) ir Merkio (izoliuota) pabaseinių nėgių populiacijos, grupuojant jas poromis (16 lentelė) ir apžvelgiant haplogrupių pasiskirstymą tirtose populiacijose (27 pav.).

16 lentelė. Poriniai palyginimai tarp Minijos, Neries ir Merkio pabaseinių *Lampetra* spp. populiacijų, remiantis mtDNR NCR-I duomenimis, F_{ST} vertės (žemiau įstrižainės) ir skirtumų patikimumo vertės p (virš įstrižainės).

Baseinai	Minijos	Neries	Merkio
Minijos		0,326	0,084
Neries	0,012		0,054
Merkio	0,017	0,08	

Sprendžiant iš porinių palyginimų tarp Nemuno pabaseinių, genetinės diferenciacijos tarp pabaseinių nėra arba jos intensyvumas yra menkas. Tik tarp Merkio ir Neries pabaseinių nustatytas reikšmingumo lygmuo buvo artimas statistiškai patikimam lygmeniui ($p = 0,054$), o genetinė diferenciacija buvo vidutiniškai išreikšta ($F_{ST}=0,08$). Todėl prieš dirbtinai izoliuojant Merkio pabaseinį genų mainai tarp šiuo metu izoliuotų *L. planeri* ir *L. fluviatilis* greičiausiai vyko, kuomet esant palankioms sąlygoms *L. fluviatilis* pakildavo iki Merkio upės ir jos intakų, kas šiuo metu stebima Žeimenos pabaseinyje.

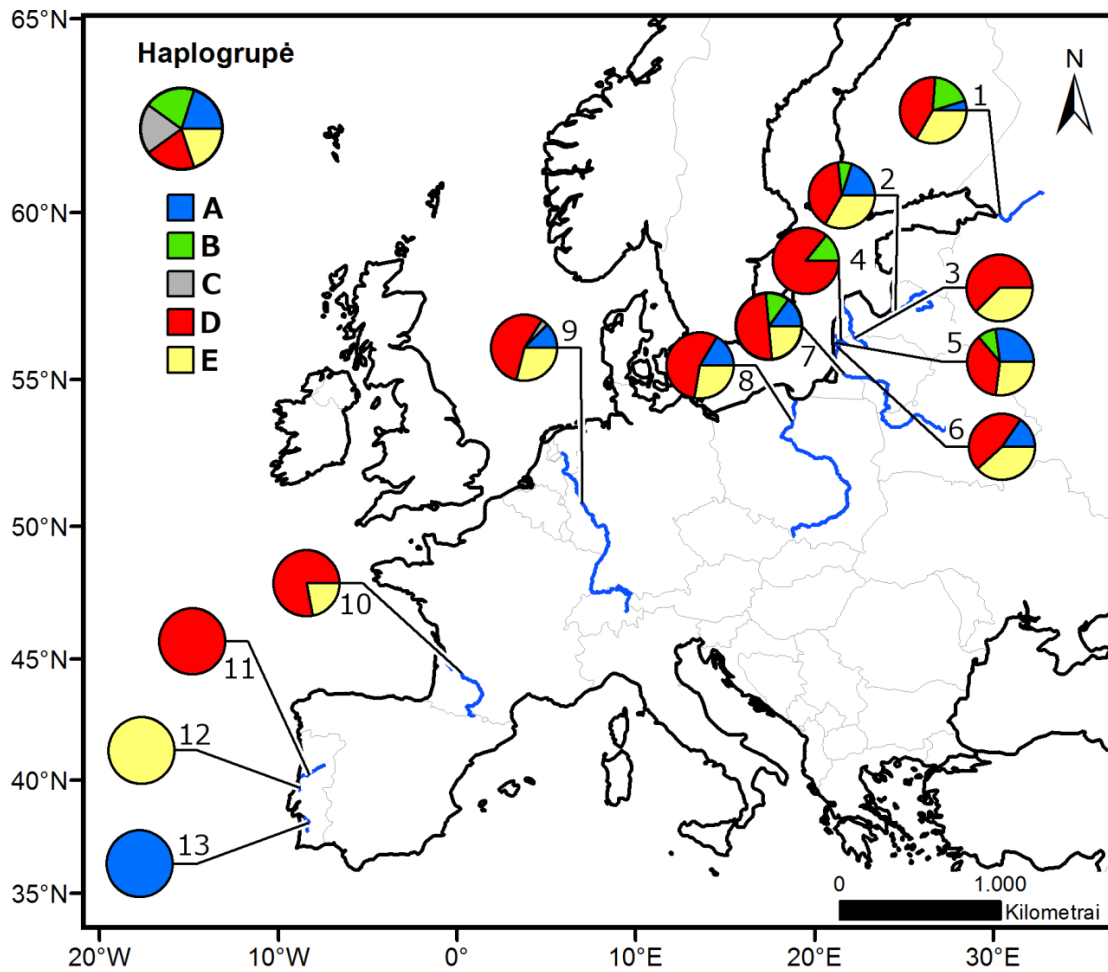


27 pav. *Lampetra* spp. mtDNR NCR-I haplogrupių paplitimas trijuose pabaseiniuose Nemuno baseine. Iš kairės į dešinę Minijos pabaseinis, Neries pabaseinis ir Merkio pabaseinis. Skritulinių diagramų diametras proporcingas sekų skaičiui nuo 8 iki 17 sekų.

***L. fluviatilis* ir *L. fluviatilis* rūšies mtDNR NCR-I haplogrupių paplitimas Europoje.** *Lampetra* spp. haplogrupių paplitimas Europoje pateiktas 28 pav.

Gauti duomenys atskleidžia Pirėnų pusiasalio, kaip refugiumo, iš kurio, atsitraukus ledynui, *Lampetra* spp. atstovai rekolonizavo Šiaurinius Europos vandenį, svarbą. Visos tyrime panaudotos Pirėnų pusiasalį reprezentuojančių nėgių sekos priklauso izoliuotoms *L. planeri* populiacijoms. Dėl šios priežasties Sado, Sao Pedro ir Mondego upėse genų mainai tarp *L. planeri* ir *L. fluviatilis* negalimi, o kiekvienoje upėje fiksuoti skirtingų A, D ar E haplogrupių atstovai. Remiantis haplogrupių paplitimu Europoje, galime teigti,

kad Europos vandenys nepriklausomai viena nuo kitos rekolonizavo skirtingos Pirėnų pusiasalio populiacijos.



28 pav. *Lampetra* spp. mtDNR NCR-I haplogrupių paplitimas Europoje. Šio disertacinio darbo duomenys reprezentuoja nėgių populiacijas: 2 – Gaujos upėje, 3 – Bartuvos upės baseine, 4 – Ventos upės baseine, 5 – Šventosios upės baseine (Baltijos jūra), 6 – Danės-Akmenos upės baseine, 7 – Nemuno upės baseine, 8 – Vyslos upėje. Ankstesnių tyrimų duomenys (Pereira *et al.* 2010, Pereira *et al.* 2012) reprezentuoja šias populiacijas: 1 – Nevos upėje, 9 – Reino upėje, 10 – Garrone upėje, 11 – Mondego upėje, 12 – Sao Pedro upėje ir 13 – Sado upėje.

5.3.3. *L. planeri*, *L. fluviatilis* ir *E. mariae* *in situ* hibridizacijos tyrimai

Siekiant išsiaiškinti hibridizacijos galimybes tarp abiejų nęgių gyvenimo strategijų natūraliomis sąlygomis, buvo atliekami *L. planeri* ir *L. fluviatilis* kryžminimo eksperimentai. Atlikus molekulinis tyrimus paaiškėjo, kad 2012 m. Blendžiavos upėje kryžmintos ♂ *E. mariae* × ♀ *L. fluviatilis* rūšių nėgės. Iš viso bendruose nerštiniuose lizduose buvo sugautos 36 nėgės (23 – *L. fluviatilis*, 12 – *L. planeri* ir 1 – *E. mariae*). Pirmaisiais tyrimų metais (2012 m.) visuose lizduose sugauti *L. fluviatilis* ir *L. planeri* patinai ir patelės. Antraisiais metais (2013 m.) *L. planeri* patelių Musės ir Blendžiavos upėse nesugauta, todėl kryžminimas atliktas tik tarp galimų kombinacijų. Abejais tyrimų metais nerštiniuose lizduose dominavo *L. fluviatilis*, o *L. planeri*/*L. fluviatilis* santykis lizduose kito 0,35–0,45. Bendras abiejų rūšių patelių ir patinėlių santykis buvo panašus: *L. fluviatilis* jis kito 0,45–0,55, o *L. planeri* – 0,25–0,71. Nepaisant papildomų apsaugos priemonių 2012 m. visos inkubacinės dėžutės buvo prarastos Salanto upėje ir viena dėžutė Šventosios upėje. Dėžutės galimai nuneštos upės tėkmės arba surinktos vietinių „žvejų“ pavasarinės nęgių žvejybos metu. Likusios dėžės buvo tikrinamos kas tris dienas.

Iš viso tyrimų laikotarpiu išsiriti 246 lervos, kurių 16 buvo ♂ *L. planeri* × ♀ *L. fluviatilis* ar ♂ *L. fluviatilis* × ♀ *L. planeri* hibridai, 18 ♂ *E. mariae* × ♀ *L. fluviatilis* ir 212 *L. fluviatilis* lervos grupėje, kurios buvo naudojamos kaip kontrolinė grupė (17 lentelė). Išsiritusių lervų skaičius dėžutėse gana smarkiai kito (nuo 1 iki 148). Visgi remiantis šiais duomenimis, problematiška daryti išvadas apie hibridų išgyvenamumą. Nežinant ikrų lipnumą mažinančių priemonių poveikio išgyvenamumui ir siekiant, kad eksperimento sąlygos maksimaliai atspindėtų natūralias, jokių papildomų priemonių nebuvo naudota, o nęgių lytiniai produktai išspausti tiesiai į inkubacines dėžutes. Dėl šios priežasties tikslus ikrų skaičius inkubacinėse dėžutėse nebuvo nustatytas. Tačiau vertinant vizualiai, jis galėjo svyruoti nuo kelių dešimčių iki kelių tūkstančių ikrų. Lervų išsiritimas stebėtas po 21 inkubacijos dienos. Vėliau

lervos dar 41 dieną laikytos dėžutėse, stebint jų išgyvenamumą. Per šį laikotarpį nepastebėtas hibridų mirtingumas, tad eksperimento metu neatskleistas hibridų mirtingumo padidėjimas pradinėse nėgių gyvenimo stadijose.

17 lentelė. Kryžminimo eksperimento metu naudotos individų poros ir išsiritusių lervučių skaičius.

Upė	Metai	Kryžminimo pobūdis	Perintuvių skaičius	Lervų skaičius
Blendžiava	2012	♂ <i>E. mariae</i> × ♀ <i>L. fluviatilis</i>	1	18
		♂ <i>L. fluviatilis</i> × ♀ <i>L. fluviatilis</i>	1	21
Šventoji	2012	♂ <i>L. planeri</i> × ♀ <i>L. fluviatilis</i> *	1	-
		♂ <i>L. fluviatilis</i> × ♀ <i>L. planeri</i>	1	1
		♂ <i>L. fluviatilis</i> × ♀ <i>L. fluviatilis</i>	1	148
Musė	2013	♂ <i>L. planeri</i> × ♀ <i>L. fluviatilis</i>	2	5
		♂ <i>L. fluviatilis</i> × ♀ <i>L. planeri</i>	2	1
Salantas	2013	♂ <i>L. planeri</i> × ♀ <i>L. fluviatilis</i>	1	5
		♂ <i>L. fluviatilis</i> × ♀ <i>L. fluviatilis</i>	1	0
Šventoji	2013	♂ <i>L. fluviatilis</i> × ♀ <i>L. planeri</i>	3	4
		♂ <i>L. fluviatilis</i> × ♀ <i>L. fluviatilis</i>	1	43

* Inkubacinė dėžutė prarasta eksperimento metu

5.4. NATURA2000 tinklo buveinių apsaugai svarbių teritorijų įvertinimas

Lietuvoje, kaip ir Vakarų Europos šalyse, gamtinė aplinka dėl žmogaus veiklos patyrė didelius pokyčius. Biologinės įvairovės mažėjimas, ypač jautrių aplinkos pokyčiams organizmų grupių nykimas, yra viena iš opiausių šiandienos aplinkosauginių problemų. Viena iš tokių nykstančių gyvūnų grupių – apskritažiomeniai, kuriuos reprezentuoja 12 Europoje aptinkamų nėgių rūšių. Nėgių nykimas stebimas daugelyje Europos šalių, tarp jų ir Lietuvoje. Lyginant šio darbo metu surinktus duomenimis su 1966 m. (Mackevičius 1966) ir 1992 m. (Virbickas *et al.* 1996) duomenis, vingilių gausumas, nustatytas upėse 2008–2013 m. tyrimų periodu, buvo reikšmingai mažesnis nei nustatyti 1966 m. ir 1992 m. (*Wilcoxon signed-rank* testas, $p < 0,05$). Manoma, kad toks populiacijų sumažėjimas yra pirmiausia susijęs su upių hidrologinio tinklo pokyčiais, t.y. dirbtinėmis migracijos kliūtėmis, upių tiesinimu ir kanalizacija.

Siekiant užkirsti kelią laukinės Europos faunos ir floros nykimui bei apsaugoti natūralias buveines, 1979 m. buvo priimta Europos laukinės gamtos ir gamtinės aplinkos konvencija (Berno konvencija), kuri įsigaliojo 1982 m. Vėliau, 1992 m. Europos Taryba patvirtino natūralių buveinių ir rūšių apsaugos direktyvą (Europos buveinių direktyva), kuri yra privaloma visoms ES narėms. Lietuva Berno konvenciją ratifikavo 1996 m., o Europos buveinių direktyva įsigaliojo nuo įstojimo į ES, t.y. nuo 2004 m. Lietuva tokiu būdu prisiėmė ilgalaikius įsipareigojimus saugoti bioįvairovę ir natūralias buveines.

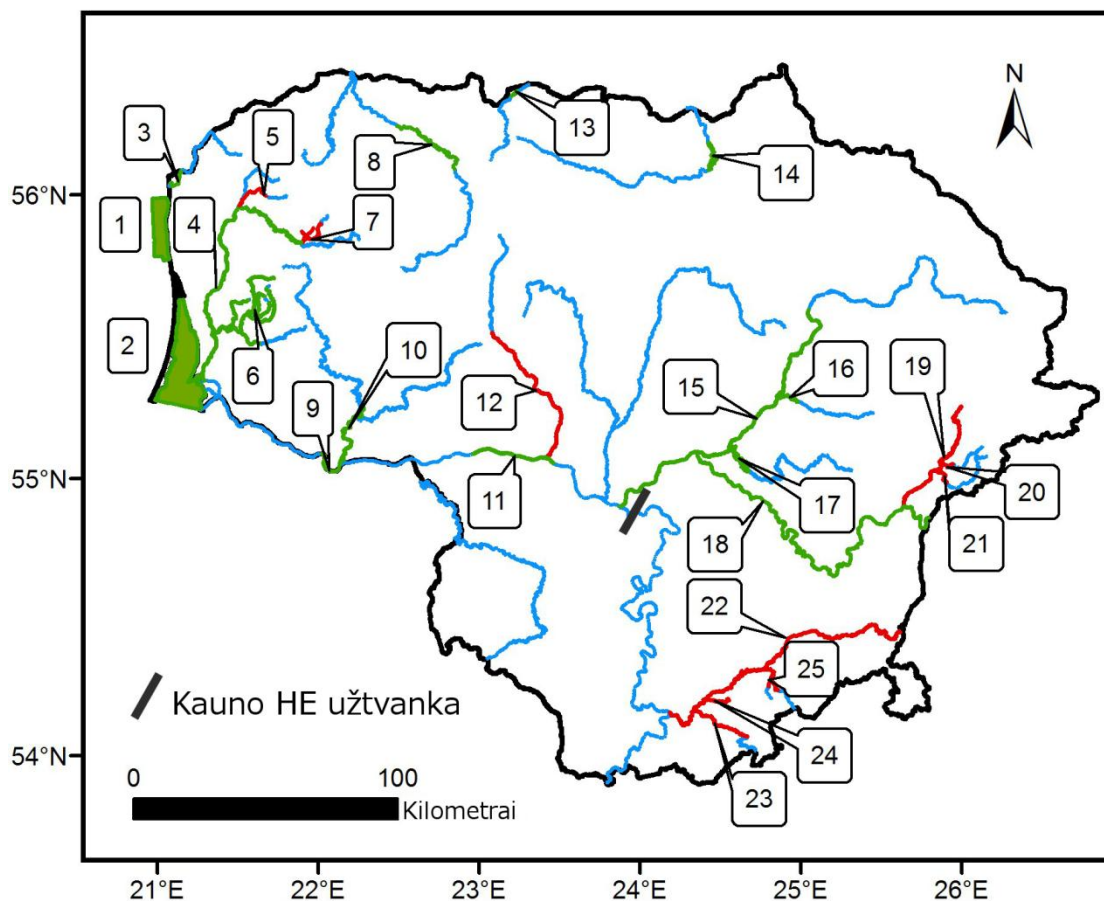
Į Buveinių direktyvos II priedą įtraukta 14 Lietuvoje randamų žuvų ir nęgių rūšių, kurių apsaugai, gausumui ir būklei užtikrinti yra išskirtos specialios teritorijos (Kesminas ir Svecevičius 2008). Šiuo metu Lietuvos vandenyse žinomos trys nęgių rūšys, kurios saugomos pagal Berno konvenciją ir ES Buveinių direktyvą (1992). Jūrinė nėgė įtraukta į Lietuvos Raudonąją knygą (2007). Ketvirtoji šio disertacinio darbo metu rasta rūšis – ukraininė nėgė *E. mariae*, taip pat yra įtraukta į Berno konvenciją ir ES Buveinių direktyvos II priedą, todėl šios rūšies apsauga Lietuvoje taip pat turi būti užtikrinta. Vis dėlto šiuo metu duomenų apie *E. mariae* paplitimą Lietuvoje beveik nesama. Todėl, norint užtikrinti šios rūšies apsaugą, būtini išsamūs tyrimai.

Įgyvendinant ES Buveinių direktyvos reikalavimus išsiplėtė saugomų teritorijų tinklas. Buvo išskirtos paukščių apsaugai (PAST) ir buveinių apsaugai svarbios teritorijos (BAST) NATURA2000 tinkle.

Buveinių direktyvos 17-ame straipsnyje numatoma, kad:

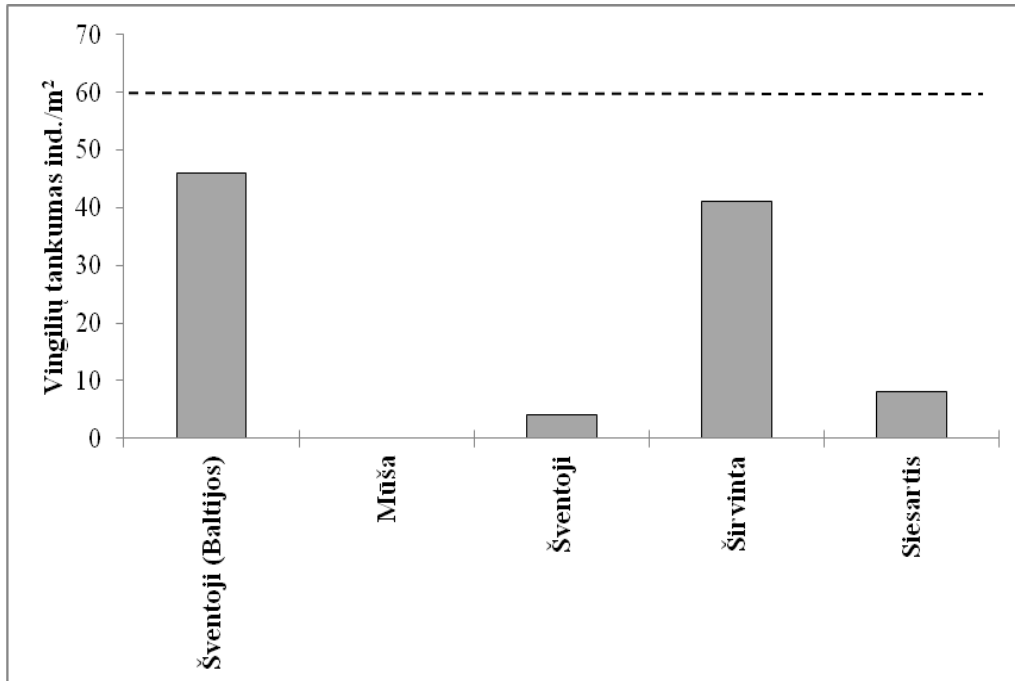
„Pasibaigus 23 straipsnyje nurodytam laikotarpiui, kas šešeri metai valstybės narės pateikia ataskaitą apie taikytą pagal šią direktyvą priemonių įgyvendinimą. Į šią ataskaitą įtraukiama informacija apie 6 straipsnio 1 dalyje nurodytas apsaugos priemones ir tų priemonių poveikio I priedo natūralių buveinių tipų ir II priedo rūšių apsaugos būklei įvertinimas bei pagrindiniai 11 straipsnyje nurodytos priežiūros rezultatai. Pagal Komiteto formą parengta ataskaita pateikiama Komisijai ir turi būti prieinama visuomenei.“

Siekiant įgyvendinti šiuos reikalavimus, 2008 m. bei 2012 m. ir 2013 m. NATURA2000 tinkle, Lietuvos upėse, vykdytas upinių ir mažųjų nęgių monitoringas (30–33 pav.). Įvertintas nęgių gausumas, paplitimas, saugomų populiacijų būklė nęgių apsaugai numatytose BAST Lietuvoje (29 pav, žr. priedus 1–4 lentelės).

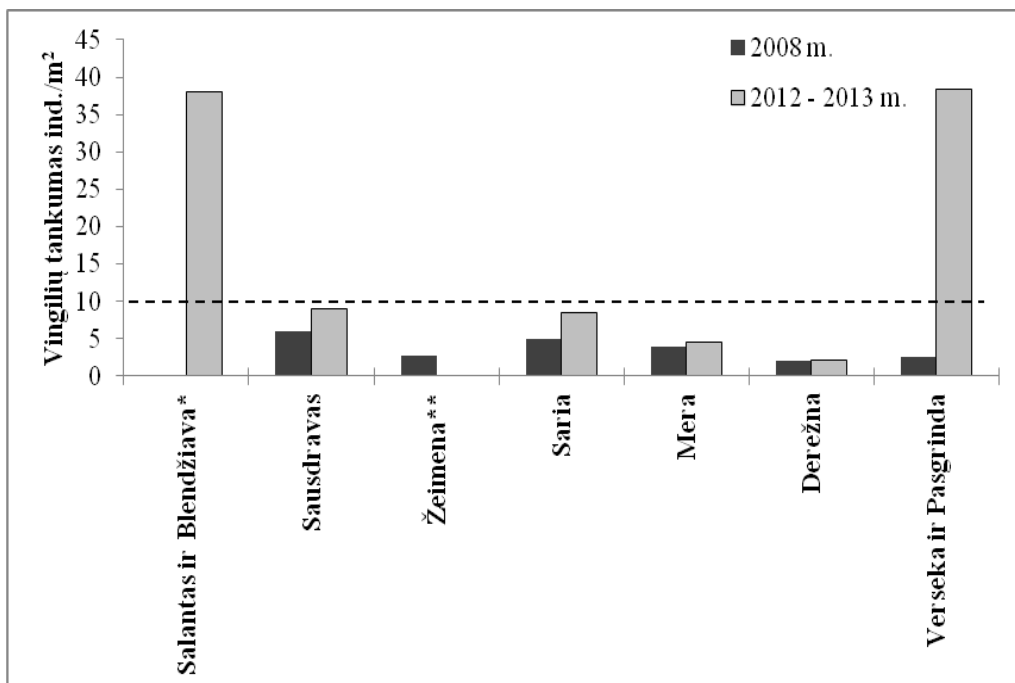


29 pav. Lietuvoje pasiūlytos *L. fluviatilis* ir *L. planeri* buveinių apsaugai svarbios teritorijos (BAST). Raudona spalva pažymėtos *L. planeri* buveinių, o žalia spalva – *L. fluviatilis* buveinių apsaugai svarbios teritorijos. Skaičiais pažymėti BAST: 1. Baltijos jūros priekrantė; 2. Kuršių marios; 3. Šventosios (Baltijos jūra) upė; 4. Minijos upė; 5. Salanto ir Blendžiaivos upės; 6. Veiviržo ir Šalpės upės; 7. Sausdravo upė; 8. Ventos upė; 9. ir 11. Nemunas; 10. Jūros upė; 12. Dubysos upė; 13. Švėtės upė; 14. Mūšos upė; 15. Šventosios upė; 16. Siesarties upė; 17. Širvintos upė; 18. Neries upė; 19. Žeimenos upė; 20. Sarios upė; 21. Meros upė; 22. Merkio upė; 23. Ūlos upė; 24. Derežnos upė; 25. Versekos ir Pasgrindos upės.

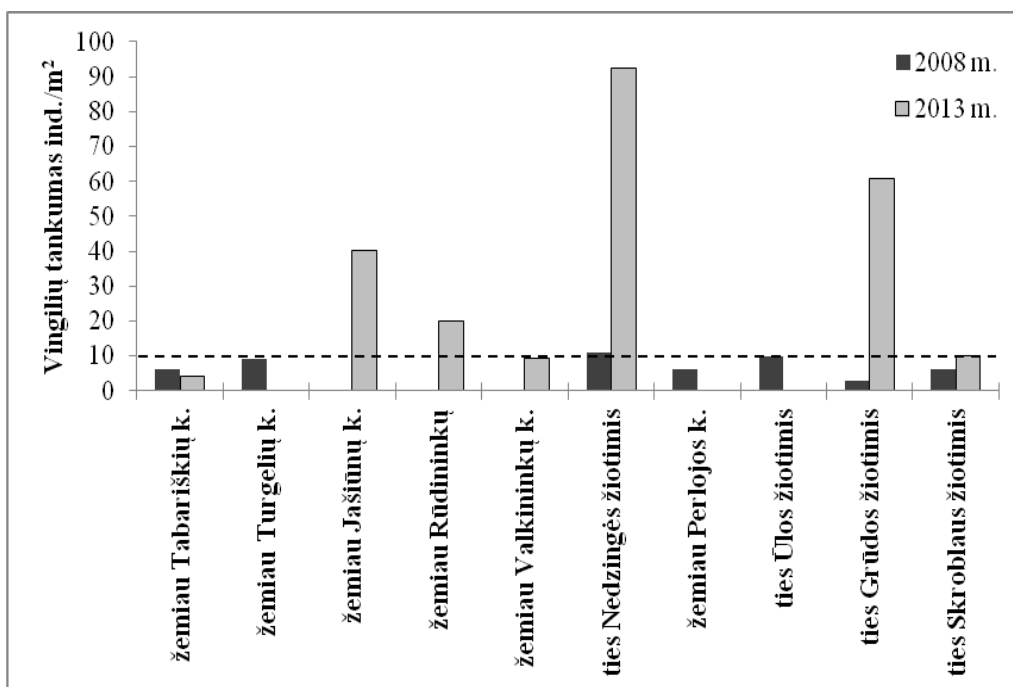
Upinei nęgei numatytos teritorijos apima: Minijos upę su intakais, Neries upę su intakais, Šventosios upę su intakais, Žeimenos upę su intakais.



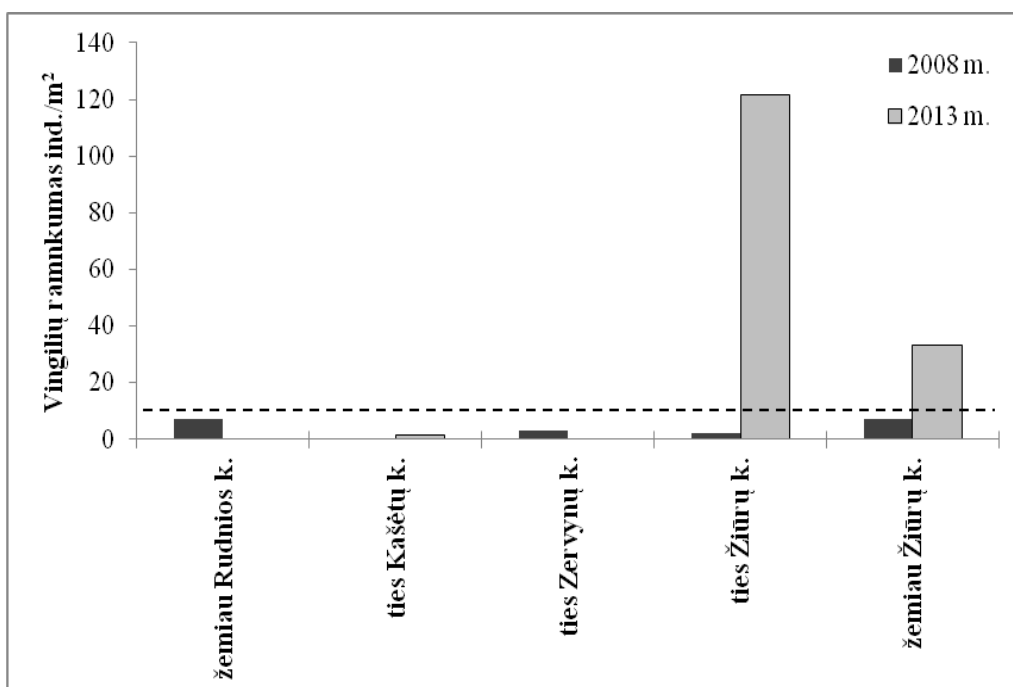
30 pav. Vidutinis *L. fluviatilis* vingilių tankumas, nustatytas 2012 m. monitoringo metu. Punktyrinė linija – *L. fluviatilis* taikomas tankumo kriterijus.



31 pav. Vidutinis *L. planeri* vingilių tankumas nustatytas, 2008 m. ir 2012–2013 m. monitoringo metu. Punktyrinė linija – *L. planeri* taikomas tankumo kriterijus.



32 pav. Vidutinis *L. planeri* vingilių tankumas nustatytas monitoringo metu Merkyo upėje 2008 m. ir 2013 m. Punktyrinė linija – *L. planeri* taikomas tankumo kriterijus.



33 pav. Vidutinis *L. planeri* vingilių tankumas, nustatytas monitoringo metu Ūlos upėje 2008 m. ir 2013 m. Punktyrinė linija – *L. planeri* taikomas tankumo kriterijus.

L. fluviatilis ir *L. planeri* BAST 2008 m. – 2013 m. įvertinimas pateiktas 18 lentelėje, kur žalia spalva reiškia gerą populiacijos būklę, geltona – patenkinamą, o raudona – blogą būklę.

18 lentelė. Upinės ir mažosios nėgės apsaugos statusas jų buveinių apsaugai svarbiose teritorijose 2008, 2012 ir 2013 metais.

BAST kodas (Teritorijos Nr. pateiktas 29 pav.)	Upės pavadinimas	Tyrimų stočių skaičius	Aptinkamumas 2008–2013 m. %	Apsaugos statusas (AS) 2008 m.		Apsaugos statusas (AS) 2012 m./2013 m
LTKRE0006 (3)	Šventoji (Baltijos)	1	100	Neįvertintas		Netinkamas- nepakankamas
LTKRE0005 (5)	Salantas ir Blendžiava	2	100	Neįvertintas		Tinkamas
LTPLU0011 (7)	Sausdravas	1	100	Netinkamas- nepakankamas		Netinkamas- nepakankamas
LTPAS0002 (14)	Mūša	1	0	Nežinomas		Netinkamas- blogas
LTUKM0002 (15)	Šventoji*	3	67	Tink.	Nežin.	Netinkamas- nepakankamas
LTUKM0005 (16)	Siesartis*	1	100	Tinkamas		Netinkamas- nepakankamas
LTJOA0002 (17)	Širvinta*	1	100	Tinkamas		Netinkamas- nepakankamas
LTSVE0020 (19)	Žeimena	5	60	Netinkamas- nepakankamas		Neįvertintas
LTSVE0024 (20)	Saria	2	50	Netinkamas- nepakankamas		Netinkamas- nepakankamas
LTSVE0008 (21)	Mera	2	50	Netinkamas- nepakankamas		Netinkamas- nepakankamas
LTVAR0011 (22)	Merkys	9	78	Netinkamas- nepakankamas		Tinkamas
LTVAR0012 (23)	Ūla	5 (3)	88	Netinkamas- nepakankamas		Netinkamas- nepakankamas
LTVAR0015 (24)	Derežna	2	100	Netinkamas- nepakankamas		Netinkamas- nepakankamas
LTVAR0016 (25)	Verseka ir Pasgrinda	2	100	Netinkamas- nepakankamas		Tinkamas

19 lentelė. Nėgių apsaugos statuso Lietuvoje pokyčio matrica tarp 2008 m. ir 2012 m. – 2013 m.

Nėgių apsaugai išskirtos BAST	2012 m. – 2013 m.								
	Tinkamas	Nepakankamas gerėjantis	Nepakankamas	Nepakankamas prastėjantis	Blogas gerėjantis	Blogas stabilus	Blogas prastėjantis	Nežinomas	Iš viso:
2008 m.									
Tinkamas	3	0	0	0	0	0	0	0	3
Nepakankamas	2	4	1	0	0	0	0	1	8
Blogas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nežinomas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Apsaugos statusas neįvertintas 2008 m.	1	0	1	0	0	1	0	0	3
Iš viso:	3	4	5	0	0	1	0	1	14

Lyginant 2008 m. ir 2012–2013 m. tyrimų periodus, matome, kad 7 BAST bendras nėgių apsaugos statusas pagerėjo arba pirmą kartą buvo nustatytas kaip tinkamas. Tačiau 6 BAST apsaugos būklė suprastėjo. Vienoje BAST teritorijoje statusas išliko nepakankamas, trys pirmą kartą buvo identifikuotos kaip nepakankamos ar blogos apsaugos statuso teritorijos, o trijose BAST apsaugos statusas iš tinkamo pasikeitė į netinkamą. Tokie BAST statusų pasikeitimai gali būti paaiškinti skirtingų būklės vertinimo metodų taikymu 2008 m. ir 2012–2013 m. Šventojoje, Širvintoje ir Siesartyje. Šiose upėse 2008 m. upinių nėgių gausumas vertintas pagal nerštinių lizdų kiekį ir plotą, o 2012 m. šis vertinimo metodas pakeistas upinių nėgių vingilių tankumo tyrimais. Taikant skirtingus tyrimo metodus, tiesioginis rodiklių palyginimas tarp abiejų laikotarpių negalimas. Lyginimas įmanomas tik, lyginant bendrą apsaugos statuso pokytį (19 lentelė). Šiuo atveju, apsaugos statusas pasikeitė visose tirtose upėse iš tinkamo į nepakankamą-netinkamą.

5.5. Rezultatų aptarimas

Nėgių paplitimo Lietuvoje ir paplitimą lemiančių faktorių aptarimas.

Nėgių paplitimui ir populiacijos būklei nustatyti dažniausiai naudojami vingilių gausumo tyrimais paremti metodai. Vingiliai upėse ir upeliuose yra pasiskirstę nevienodai (Moser *et al.* 2007, Torgersen & Close. 2004), o savo buveines vingiliai yra linkę palikti tik esant deguonies trūkumui arba iškilus pavojui (Potter *et al.* 1970). Todėl siekiant įvertinti vingilių buveinių pasirinkimą ir tokių buveinių optimalias sąlygas, atlikta nemažai tyrimų. Dažniausiai tirti tokie faktoriai kaip upės gylis ir tėkmės greitis, apšviestumas, substrato dalelių dydis, organinių medžiagų ir chlorofilo kiekis. Nustatyta, kad daugiausiai įtakos vingilių gausumui ir aptinkamumui turi substrato tipas buveinėse (Young & Kelso 1990, Ojutkangas *et al.* 1995, Beamish & Lowartz 1996, Almeida & Quintella 2002) ir tėkmės greitis (Beamish & Jebbink 1994, Beamish & Lowartz 1996, Almeida & Quintella, 2002, Sugiyama & GoTo 2002).

Vis dėlto tyrimų, kurie paaiškintų vingilių gausumą ir paplitimą didesnio masto skalėje nei mikrobuveinėje, maža. Vienareikšmiškai galima teigti, kad pagrindinis veiksnys, darantis įtaką *L. fluviatilis* paplitimui Lietuvoje – užtvankos. Nors upėse ties užtvankomis įrengiama vis daugiau žuvų pralaidų, pastarųjų metų tyrimai Europoje atskleidė, kad dažniausiai žuvų pralaidų efektyvumas, nėgių atžvilgiu, yra neįveikiama kliūtis (Foulds & Lucas 2013). Šventosios upėje *L. fluviatilis* pakyla iki Laukžemės malūno užtvankos. Iš pajūrio baseino upių verta paminėti Danės-Akmenos upę, kuria anksčiau *L. fluviatilis* pakildavo neršti iki Šlaveitų kaimo (Mackevičius 1969). Deja, šiuo metu migracijos kelią užtveria Bajorų užtvanka, o vienintelis nerštui tinkamas ruožas prasideda iškart žemiau užtvankos. Didžiausias šioje atkarpoje esantis Eketės intakas taip pat yra patvenktas žemupyje. Iš šį kartą nerštavietės prasideda iškart žemiau užtvankos. Minijos baseine situacija kiek kitokia – Minijos upė patvenkta tik aukštupyje. Visgi visi didžiausi jos intakai, įskaitant ir dalį mažesnių, taip pat yra patvenkti.

Disertacinio darbo metu nustatyta, kad fiksuotas vidutinis vingilių tankumas labai susijęs su pasirinkta tyrimui vieta konkrečiame baseine (pabaseinyje). Geologinė sąranga, klimatiniai rodikliai bei kiti gamtiniai veiksniai, lyginant įvairių upių baseinus Lietuvoje, yra skirtingi. Visa tai apsprendžia unikalias hidrologines sąlygas baseinuose, o kartu *Lampetra* spp. paplitimą ir gausumą upėse. Mažiausias *L. fluviatilis* vidutinis vingilių tankumas nustatytas pajūrio upių baseine ir Minijos pabaseinyje. Kiek didesnis tankumas nustatytas Šventosios ir Neries pabaseiniuose. Didžiausias vingilių tankumas nustatytas Šventosios (Baltijos jūra) upėje. Šventosios upėje tyrimai daryti nuo Laukžemės malūno užtvankos iki žiočių (17,6 km upės atkarpoje). Didelį vingilių tankumą šioje upės atkarpoje sąlygoja užtvankos poveikis. Nesugebėdamos įveikti dirbtinės kliūties ir negalėdamos migruoti toliau, nėgės dideliais tuntais susikaupia ir neršia žemutinėje upės atkarpoje. Vertinant upių sistemas (išskyrus pajūrio Šventąją), stebima tendencija, kad giliau žemyninėje dalyje esantys upių baseinai (pabaseiniai) pasižymi didesniu vingilių tankumu. Atskirai vertinant upių sistemas, kuriose aptinkamos *L. planeri*, nustatytas gerokai didesnis vidutinis vingilių tankumas Merkio pabaseinyje, palyginus su Žeimenos pabaseiniu. Todėl, jei *L. fluviatilis* atveju, stebimas Vakarų-Rytų gradientas, tai *L. planeri* atveju, stebimas Šiaurės-Pietų gradientas.

Nustatyta, kad vingilių gausumas taip pat priklauso nuo nuolydžio, tačiau ryšio stiprumas silpnas ($r=0,4$). Didesnio nuolydžio upių atkarpose fiksuotas didesnis vingilių tankumas. Akivaizdžiai mažesnis vingilių gausumas fiksuotas upių atkarpose, kuriose upės nuolydis iki 1 m/km. Upių atkarpose, kuriose nuolydis nuo 2–17 m/km, taip pat stebimas didėjimas, tačiau šiame nuolydžio intervale tokia tendencija nėra aiškiai išreikšta. Žinoma, kad didėjant upės nuolydžiui, atstumai tarp sraunumos-duburių kompleksų mažėja (Wohl *et al.* 1993), todėl upėje daugėja nėgių reprodukcijai tinkamų atkarpu.

Quintella *et al.* (2003) nustatė, kad upėse gali atsirasti vingilių tankumo gradientas, kuomet vingilių gausa, leidžiantis upe žemyn, mažėja, o 0+ ir 1+ amžiaus grupių vingilių sankaupos žemiau nerštinių ruožų kai kuriais atvejais

gali būti labai didelės ir siekti iki 400 ind./m² (Mackevičius 1969). Todėl buvo tirtas vingilių visos lervinės stadijos metu įveikiamas atstumas ir vingilių sklaidos dinamika žemiau nerštaviečių, kaip vienas iš pagrindinių veiksnių, įtakančių vingilių aptinkamumą ir tankumą upių sistemose. Tirtose skirtingo dydžio upėse nustatyti artimi vingilių iki metamorfozės įveikiami vidutiniai atstumai. Mažose ir vidutinio dydžio upėse šios reikšmės atitinkamai yra 6,9 km ir 6,3 km. Maksimalus tikėtinas migracijos atstumas mažose upėse – 11,9 km, o vidutinio dydžio upėse – 9,7 km. Abiejų upių tipų modeliai indikuoja mažą pirmųjų amžinių grupių vingilių sklaidą. Tarp jaunų individų pasireiškia didelis mirtingumas dėl plėšrūnų poveikio, kuris su amžiumi greitai mažėja (Potter 1980). Todėl toks mažas vingilių mobilumas gali būti plėšrūno vengimo strategija.

Ribota sklaida gali būti viena pagrindinių priežasčių, kodėl vingilių tankumai skiriasi upėse. Nerštinių ruožų gausa ir išsidėstymas yra pagrindiniai veiksniai, lemiantys nęgių paplitimą Lietuvos upėse, o daugelio autorių rastas ryšys su vandens tėkmės greičiu ir grunto sudėtimi (Young & Kelso 1990, Ojutkangas *et al.* 1995, Beamish & Jebbink 1994, Beamish & Lowartz 1996, Almeida & Quintella 2002, Sugiyama & GoTo 2002) yra antraeilės svarbos veiksniai, kurie lemia vingilių pasiskirstymą mikrobeveinėse. Vykdamt nęgių būklės monitoringą, būtina atsižvelgti į disertacinio darbo metu gautus rezultatus, nes, pasirenkant monitoringo vietas upėje atsitiktinai, yra didelė tikimybė, kad populiacijos būklė ir dydis nebus tinkamai įvertinti. Kuomet vingilių tyrimams pasirenkamos upių atkarpos, esančios žemiau nerštaviečių, taip pat atsiranda galimybė aptikti konkrečias nęgių populiacijas, kurių skaitlingumas yra labai mažas. Galiausiai, tokie tyrimai įgalina stebėti sparčiai vykstančius populiacijos struktūros ir skaitlingumo pokyčius.

Lietuvos ir Pietryčių Baltijos regiono apskritažiomenių rūšinės priklausomybės nustatymas. Šio darbo metu tirtos *L. fluviatilis* ir *L. planeri* populiacijos, naudojant mtDNR NCR-I ir cyt *b* genetinius žymenis. Tyrimai atlikti 7 upių sistemose Pietryčių Baltijos ir Centrinės Baltijos regionuose.

Darbe taip pat panaudoti GenBank deponuoti duomenys iš vienos Baltijos jūros Šiaurės Rytų regiono upės. Nors pastaruoju metu Vakarų Europoje daugėja informacijos apie *L. fluviatilis* ir *L. planeri* artimą giminybę ir galimus genų mainus tarp abiejų rūšių (Espanhol *et al.* 2007, Blank *et al.* 2008, Hume *et al.* 2013a), iki šio disertacinio darbo sukauptų duomenų apie *Lampetra* spp. genetinę struktūrą Baltijos jūros regione buvo per maža, kad būtų galima daryti konkrečias išvadas apie genetinę struktūrą ir rūšinę šių nęgių priklausomybę regione. Vienas pagrindinių šio darbo tikslų buvo ištirti parazitinių ir sėslių nęgių genetinę įvairovę ir rūšinę priklausomybę Pietryčių Baltijos regione.

Nors iki šiol Lietuvoje buvo žinomos tik trys nęgių rūšys (*Petromyzon marinus*, *L. fluviatilis* ir *L. planeri*), tiriant šių *L. fluviatilis* ir *L. planeri* rūšinę priklausomybę, naudojant mtDNR žymenis, nustatytos trys sekos, priklausančios *E. mariae* rūšiai. Ši Lietuvoje iki tol nežinoma rūšis aptikta Šventosios (Baltijos jūra) baseine, Šventosios upės žemupyje ir Minijos pabaseinyje, Blendžiaivos upės žemupyje. Lyginant *E. mariae* ir *L. fluviatilis* bei *L. planeri* pagal mtDNR cyt *b* geno sekas, vidutiniai genetiniai atstumai beveik nesiskyrė ir atitinkamai buvo $3,6 \pm 0,1\%$ (vid. \pm SE) ir $3,7 \pm 0,1\%$ (\pm SE). Analogiški genetinių atstumų skaičiavimai, naudojant mtDNR NCR-I sekas, taip pat atskleidė didelius genetinius atstumus tarp *E. mariae* ir *L. fluviatilis* $6,1 \pm 2,4\%$ (\pm SE), o taip pat tarp *E. mariae* ir *L. planeri* $6,2 \pm 2,5\%$ (\pm SE). Panaudojus du skirtingus žymenis, gauti panašūs rezultatai, patvirtinantys, kad Lietuvoje be anksčiau žinomų trijų nęgių rūšių taip pat aptinkama dar viena nęgių rūšis – ukraininė nėgė *E. mariae*. Pažymėtina, kad *E. mariae* ir *L. planeri* tirtose upėse aptinkamos kartu. Šventosios upėje *E. mariae* sudarė 11,1% nuo identifikuotų kaip *L. planeri* individų, o Blendžiaivos upėje – 66,7%. Šios kartu aptinkamos rūšys pasižymi panašiais morfologiniais bruožais ir gyvenimo strategija, todėl tikėtina, kad *E. mariae* ilgai *a priori* buvo klaidingai identifikuojama kaip *L. planeri*. Manoma, kad *E. mariae* kilmės centras yra Juodosios jūros baseinas, o rūšies susiformavimo mechanizmas yra artimas *L. fluviatilis* ir *L. planeri*, kuomet iš migruojančių *Eudontomyzon* spp. kamieno

atsiskyrė daugybė sėslių *E. mariae* populiacijų, o migruojanti forma sunyko (Zhukov 1965, 1968). Labai tikėtina, kad *E. mariae* į Lietuvos upes atkeliavo iš Dniepro baseino, tačiau kolonizacijos keliai ir mechanizmas kol kas nėra išaiškinti. Nors *E. mariae*, kaip ir *L. planeri*, suaugėlio stadijoje nesimaitina ir nemigruoja, tačiau manoma, kad *E. mariae* bei dar kelioms nėgių rūšims, būdingas didelis plastiškumas (Hubbs 1971). Jelesná upėje Slovakijoje ir Pruto upėje Ukrainoje aprašyti *E. mariae* fakultatyvinio parazitizmo atvejai, todėl realu, jog ši nėgė gali būti nauja Lietuvos ichtiofaunos egzoparazitų rūšis, kuri savo areale gali parazituoti vidaus vandenų žuvų rūšis arba net Baltijos jūros žuvis.

Nustatyti genetiniai atstumai tarp Baltijos jūros *L. fluviatilis* ir *L. planeri* yra labai nedideli: $0,4 \pm 0,2\%$ (\pm SE) ir $0,1 \pm < 0,01\%$ (\pm SE), atitinkamai, naudojant mtDNR NCR-I ir cyt *b* genetinius žymenis. Johns ir Avise (1998) lygindami genetinius atstumus tarp dvyninių rūšių nustatė, kad, naudojant mtDNR cyt *b* žymenį, 90% atvejų genetiniai atstumai yra didesni nei 2% (Walker 1999). Atstumai tarp kai kurių dvyninių nėgių rūšių yra artimi arba didesni nei ši vertė. Pavyzdžiui, Reid *et al.* (2011) apskaičiavo, kad atstumas tarp *L. pacifica* ir *L. richardsoni* yra 2,85–3,2%. Boguski *et al.* (2012), tirdami *Lampetra* spp. populiacijas Oregono ir Kalifornijos valstijose, nustatė, jog genetiniai atstumai tarp keturių populiacijų siekė net iki 8,0%. Šie mokslininkai taip pat nustatė, kad tarp šiuo metu žinomų nėgių rūšių genetiniai atstumai svyruoja nuo 2,3% iki 5,7%. Todėl tikėtina, kad šios populiacijos reprezentuoja iki šiol neapibūdintas rūšis. Vis dėlto tarp artimų nėgių rūšių gali būti fiksuojami ir mažesni atstumai. Pavyzdžiui, tiriant mtDNR cyt *b*, nustatyta, kad sėslių *Eudontomyzon hellenicus* ir *Eudontomyzon graecus* skiria tik 0,8% atstumas (Renaud & Economidis 2010). Daugiau pavyzdžių: tarp *Lethenteron kessleri* ir *Lethenteron reissneri* yra 0,2% atstumas, o tarp sėslios *Lethenteron appendix* ir *Lethenteron alaskense* nustatytas 0,9% genetinis atstumas (Mateus *et al.* 2013a). Tačiau disertaciniame darbe nustatyti genetiniai atstumai tarp *L. fluviatilis* ir *L. planeri* buvo mažesni nei išvardintų autorių darbuose ir yra identiškai apskaičiuotiems vidurūšiniams atstumams. Tai nesutampa su

naujausiais *L. planeri* ir *L. fluviatilis* tyrimų rezultatais, gautais antros kartos Illumina RADseq sekoskaitos metodu (Mateus *et al.* 2013b). Pastarųjų mokslininkų rezultatai rodo, kad Pirėnų pusiasalyje, Tagus upės baseine, *L. fluviatilis* ir *L. planeri* rūšys genetiškai žymiai skiriasi, o šie skirtumai yra pastovūs tokiuose genuose, kurie yra atsakingi už osmoreguliacinius procesus, imunologines funkcijas ar organizmo morfogenezę (Mateus *et al.* 2013b). Vis dėlto šiuos rezultatus derėtų vertinti atsargiai, kadangi Pirėnų pusiasalis per paskutinius apledėjimus atliko refugiumo vaidmenį. Jame išlikusios *L. planeri* ir *L. fluviatilis* populiacijos turėjo pakankamai ilgą evoliucinį laikotarpį diverguoti į sėslias alopatrines rūšis. Ši teiginį dalinai patvirtina tos pačios mokslininkų grupės (Mateus *et al.* 2013b) atlikti tyrimai, kurių metu kitame Tagus upės intake – Nabao upėje, aprašoma sėsli nauja mokslui nežinoma rūšis *L. auremensis*. Genetinis atstumas tarp *L. auremensis* ir *L. planeri*, remiantis mtDNR cyt *b* ir ATPazės 6 ir 8 subvienetus koduojančiais genais, varijuoja nuo 0,5 iki 1,2% (vidutinis±SD – 0,8±0,2). Morfologiniai požymiai tarp šių rūšių persidengia. Todėl, nesant papildomų mtDNR rezultatų, negalima atmesti prielaidos, kad Illumina RADseq sekoskaitai buvo panaudota *L. auremensis* ar kitame Tagus intake aptinkama alopatrinė *L. planeri* populiacija, pakankamai senai divergavusi iš *L. fluviatilis* ir pretenduojanti į savarankiškos rūšies statusą.

L. planeri ir *L. fluviatilis* kartu aptinkamos daugelyje Europos upių sistemų, tačiau labiausiai jų paplitimo arealai persidengia Nemuno, Vyslos bei Volgos baseine (Zhukov 1965, Rembiszewski 1968, Levin & Holčík 2006). Nors *L. planeri* vizualiai pastebėti lizduose sunku dėl polinkio slėptis nerštinių lizdų substrate, tačiau abiejų rūšių bendro neršto atvejai žinomi tiek Lietuvoje, tiek kituose Europos regionuose (Lasne *et al.* 2010a, Staponkus & Kesminas 2014). *In situ* hibridizacijos eksperimentų metu nustatyta, kad *L. planeri* ir *L. fluviatilis* geba kryžmintis, nepriklausomai nuo to, kokios rūšies patelės ir patinėliai dalyvauja, sudarant poras. Kryžminimo eksperimento metu taip pat nepastebėta išsiritusių lervučių mirtingumo atvejų ankstyvuoju gyvenimo laikotarpiu. Lervutės išlaikytos gyvybingos iki aktyvaus plaukiojimo stadijos ir

ilgiau. Vis dėlto dėl akivaizdžių morfologinių skirtumų kryžminimais tarp minėtų rūšių individų įmanomas tik sinchroniško reprodukcinį produktų išleidimo į vandenį metu, todėl natūraliai aplinkoje šių rūšių kryžminimasis gali vykti tik abejoms rūšims neršiant kartu. Tarp kaulinių žuvų stebimas patinėlių „pasalūnų“ fenomenas, kuomet neršte be neršiančios poros slapta dalyvauja gerokai mažesni patinėliai, išnaudodami galimybę, kurios antraip neturėtų, apvaisinti ikrus. Kadangi *L. planeri* neršto metu linkusi slėptis lizdų substrate, tokią *L. planeri* elgseną bandoma aiškinti „pasalūnų“ neršto strategija (Hume *et al.* 2013b). Vis dėlto eksperimento metu bendruose nerštiniuose lizduose buvo sugautos abiejų rūšių patelės ir patinėliai, todėl toks aiškinimas yra abejotinas, o ši elgsena greičiau yra energetinių resursų taupymo strategija, kuri *L. planeri* būdinga ir ne neršto metu (Renaud 2011). Eksperimente taip pat buvo sėkmingai sukryžminti *E. mariae* ir *L. fluviatilis*, bei gauti gyvybingi palikuonys. Šis rezultatas patvirtina pranešimą (Rembiszewski 1968) apie Lenkijos Jeziorka upėje rastus tris *L. planeri* ir *E. mariae* hibridų suaugėlius. Matyt, kryžminimasis natūraliomis sąlygomis tarp šių rūšių taip pat galimas, tačiau iki šiol detalčiau neaprašytas.

Remiantis molekuliniais metodais ir kryžminimo eksperimentais, *L. fluviatilis* ir *L. planeri* Baltijos jūros regione, kaip ir gyvenančio sėsliai margojo upėtakio (*Salmo trutta*) bei praeivio šlakio (*Salmo trutta*) atvejais, gali būti laikomos sėsliu ir migruojančia nominalios rūšies formomis. Toks gyvenimo strategijų išsiskyrimas, gali būti vienu iš būdų užtikrinti genų mainus tarp skirtingų migruojančios formos kohortų, kurios į nerštavietes migruoja vienodo amžiaus. Kita vertus, tai vienas iš būdų užtikrinti sėslių formų genetinės įvairovės palaikymą, kuomet migruojančios nėgės atlieka vektoriaus funkciją papildydamos sėslias populiacijas naujais genais.

***Lampetra* spp. mtDNR genetinės linijos ir jų paplitimas Europoje.** *L. fluviatilis* ir *L. planeri* genetinė įvairovė Baltijos baseino upėse, lyginant su anksčiau nustatyta Šiaurės jūros, Biskajos įlankos ir Pirėnų pusiasalio genetinė įvairovė, yra panaši. Baltijos jūros regione nustatyti 27 haplotipai tarp 143

individų, o likusiuose Vakarų Europos regionuose nustatyta 50 haplotipų, ištyrus 239 individų mtDNR sekas (Pereira *et al.* 2010). Iš viso, panaudojus 243 individų sekas, nustatyti 37 skirtingi mtDNR NCR-I haplotipai, kurie priskirti penkioms haplogrupėms. Didžiausios haplotipų įvairovės parametro reikšmės nustatytos Danės-Akmenos, Šventosios ir Nevos baseinuose (nuo 0,73 iki 0,79). Didelė haplotipų įvairovė būdinga naujoms dirbtinėms populiacijoms (Leliūna 2008) arba atviroms populiacijoms, pasižyminčioms intensyviais genų mainais.

Dažniausiai Rytų Baltijoje paplitę H1, H5 ir H7 haplotipai, atitinkamai formuojantys A, D ir E haplogrupių centrus. Gauti rezultatai patvirtina Espanhol *et al.* (2007) hipotezę, jog Pirėnų pusiasalio refugiumas išvengė kelių paskutinių apledėjimų ir sudarė sąlygas išlikti kelioms tėvinėms nėgių populiacijoms, kurios, pasitraukus ledynams, rekolonizavo Europos vandenį. Remiantis turimais duomenimis, *Lampetra* spp. genetinės linijos gali būti kildinamos iš trijų skirtingų upių ar regionų Pirėnų pusiasalio refugiume. Sao Pedro, Sado ir Mondego upėse nustatyti haplotipai, kurie priklauso skirtingoms haplogrupėms ir yra nutolę nuo išskirtų haplogrupių centrinių haplotipų per 1–3 mutacinius žingsnius. Šiuo metu Pirėnų pusiasalyje norima išskirti tris naujas nedideliais morfologiniais skirtumais pasižyminčias *Lampetra* genties rūšis: *L. alavariensis* Esmoriz upėje, *L. auremensis* Nabao upėje ir *L. lusitanica* Sado upėje (Mateus *et al.* 2011, Mateus *et al.* 2013a). Deja, morfometriniai bruožai skirtingose nėgių populiacijose gali smarkiai kisti ir nėra ypač patikimas rodiklis, o nustatyti genetiniai atstumai nuo 0,8% iki 1,5% tarp minimų populiacijų nėra pakankami, norint išskirti skirtingas rūšis. Nors Mateus *et al.* (2013b) Illumina RADseq sekoskaitos metodu nustatė, jog Naboa upėje migruojančios ir sėslios *Lampetra* spp. skiriasi pagal 13 genų, tačiau šiame darbe nustatyti genetiniai atstumai tiek Pirėnų pusiasalyje, tiek Baltijos regione, naudojant mtDNR NCR-I žymenį, nesuteikia pakankamo pagrindo išskirti A, D ir E *Lampetra* spp. genetinių linijų tėvinių populiacijų į savarankiškas rūšis. Vienintelė B haplogrupė neturi aiškiai išreikšto

vyraujančio haplotipo. Ši haplogrupė nustatyta tik Baltijos jūros upėse, Nemune ir šiauriau esančiose upėse. Nors mtDNR NCR-I yra vienas variabiliausių mtDNR regionų, tačiau haplotipų ir haplogrupių įsitvirtinimas populiacijoje yra ilgai trunkantis procesas. Genner *et al.* (2012), remdamiesi ankstesniais daugelio apskritažiomenių genų mutacijų dažniais (Kuraku *et al.* 2006), nustatė, kad mtDNR NCR-I mutacijų dažnis nėgėse yra 0,34% milijonui rūšies gyvavimo metų. B haplogrupė sujungia per vieno ar dviejų mutacinių žingsnių atstumą nutolusius haplotipus, todėl įmanoma, jog tai yra vėlyvojoje pleistoceno epochoje šiandieninės Baltijos jūros vietoje tekėjusios Eridano upės deltoje susiformavusi genetinė linija, kuri gali būti prisitaikiusi gyventi mažo druskingumo vandenyje. Šios genetinės linijos paplitimas gali būti glaudžiai susijęs su Europos apledėjimų metu vykusių ledynų formavimusi ir tirpimu, todėl ši haplogrupė gali būti nerandama piečiau esančiuose Europos geografiniuose regionuose. Tačiau toks B haplogrupės kilmės aiškinimas ir galima daugkartinė Europos rekolonizacijos dinamika (įskaitant Centrinės ir Šiaurinės Baltijos jūros kolonizaciją) yra hipotetinė ir reikalauja nuoseklesnių tyrimų Šiaurės Europoje. C haplogrupę reprezentavo tik vienas haplotipas (H35), kuris aptiktas Reino upėje. Šis haplotipas nustatytas tik vieną kartą, o nuo visų kitų haplotipų jį skyrė didžiausias keturių mutacinių žingsnių atstumas. Ši haplogrupė gali byloti apie negausią alternatyvią genetinę liniją, ankstesniu tarp ledynmečiu kolonizavusią šiaurinius Europos vandenį, tačiau iki šių dienų neišlikusią.

Tiriant haplogrupių paplitimą Nemuno baseine, kaip ir Pietryčių Baltijos upėse, vyrauja D, E ir A haplogrupės, o B haplogrupė aptinkama tik tolimos migracijos Neries pabaseinyje. Poromis palyginus Minijos ir Neries bei Minijos ir Merkio pabaseinių F_{ST} , taip pat nerasta didesnės diferenciacijos, o apskaičiuotos vertės nebuvo statistiškai reikšmingos. Vienintelėje lygintoje Neries pabaseinio ir izoliuoto Merkio pabaseinio poroje divergencija buvo artima statistiškai patikimam skirtumui ($p=0,054$), o nustatyta divergencija buvo vidutiniškai išreikšta ($F_{ST}=0,08$). Merkio pabaseinio izoliacijos laikotarpis po Kauno HE užtvankos pastatymo yra per mažas, kad atsirastų

žymesnė divergencija, todėl nustatyta divergencija yra artima prieš izoliaciją buvusiems skirtumams tarp abiejų upių populiacijų. Todėl išskyrus populiacijas, izoliuotas dėl antropogeninės veiklos, manoma, kad tarp Lietuvoje aptinkamų *Lampetra* spp. populiacijų gali vykti genų mainai, kurie eliminuoja genetinės diferenciacijos pasireiškimą. Tiriant genetinę diferenciaciją tarp Rytų Baltijos upių populiacijas reprezentuojančių nėgių imčių, tipišku atveju, mažos fiksacijos indeksų vertės ir nenustatyta statistiškai patikima genetinė diferenciacija parodo jos nebuvimą arba labai mažą diferenciacijos intensyvumą. Vienintelė išimtis tarp visų tirtų nėgių imčių, kuri galimai patvirtina atsitiktinį upių pasirinkimą – Ventos upės nėgių populiacija. Tokie skirtumai gali atsirasti susiformavus gamtiniam barjerui, lemiančiam ilgalaikę populiacijos reprodukcinę izoliaciją bei nutrūkusius genų mainus tarp anksčiau buvusių atvirų populiacijų. Realiausia tokios izoliacijos priežastis – 1,6–2,2 m Ventos slenkstis, kuris veikia kaip natūrali kliūtis *L. fluviatilis* migracijos kelyje. Ši populiacija Ventos upėje greičiausiai buvo izoliuota Litorinos jūros laikotarpiu prieš 5000 metų, kuomet jūros lygis ties Latvijos krantais buvo 5-10 m aukštesnis nei šiandieninis, o Baltijos jūros regione vis dar vyko aktyvi glacioizostazija (Raukas 1991).

Molekulinių tyrimų analizė bei gauti kryžminimo rezultatai leidžia teigti, jog tarp sėklių ir migruojančių *Lampetra* spp. populiacijų iki šiol vyksta genų mainai, kuriuos palaiko intensyvi *L. fluviatilis* individų migracija tarp Rytų Baltijos upių. Todėl galima manyti, jog *L. fluviatilis* rūšiai nebūdingas natalinio homingo reiškinys, o priešnerštinė migracija į upes vyksta atsitiktinai ir priklauso nuo suaugėlių lokalizacijos prieš prasidedant nerštinei migracijai.

Nėgių apsauga Lietuvoje

Dėl užtvankų ir kitų kliūčių šiuo metu Lietuvoje aptinkamos tiek izoliuotos *L. planeri*, tiek atviros populiacijos, kuriose aptinkamos *L. fluviatilis* arba *L. fluviatilis* kartu su *L. planeri*. Remiantis istoriniais tyrimų duomenimis, Lietuvoje, kaip ir daugelyje Europos geografinių regionų, per pastaruosius 40 metų stebimas žymus nėgių (ypač *L. fluviatilis*) populiacijų sumažėjimas

(Mackevičius 1969, Thiel *et al.* 2009). Atsižvelgiant į šio disertacinio darbo duomenimis, galima teigti, kad Baltijos jūros baseino upėse tarp *L. planeri* ir *L. fluviatilis* vyksta intensyvus genų srautas. Todėl visų Baltijos jūroje aptinkamų *Lampetra* genties nėgių būklė greičiau priklauso ne tiek nuo jų apsaugos pavienėse upėse ar konkrečiose valstybėse, kiek nuo taikomų apsaugos priemonių visame Baltijos jūros regione. Tiesa, kai kurios upės minimu laikotarpiu patyrė mažesnę antropogeninį poveikį, todėl gyvybingos šių upių nėgių subpopuliacijos atlieka svarbų vaidmenį, papildydamos gretimų regionų nėgių populiacijas. Todėl tokių upių apsauga turi ypatingą svarbą, palaikant gyvybingas nėgių populiacijas Baltijos jūros baseine.

Lietuvoje yra išskirtos 25 *L. fluviatilis* ir *L. planeri* apsaugai BAST, iš jų nėgių būklė įvertinta 14 BAST. *L. fluviatilis* apsaugai svarbiose teritorijose nustatytas kriterijus yra ne mažesnis kaip 60 ind./m², o *L. planeri* šis kriterijus – ne mažesnis kaip 10 ind./m². Šie kriterijai yra vieni pagrindinių, vertinant nėgių apsaugos būklę. Lietuvoje nėgių apsaugai skirtuose BAST *L. fluviatilis* ir *L. planeri* apsaugos statusas dažniausiai vertinamas kaip "Nepakankamas-netinkamas".

Bendrą apsaugos statuso pokytį tarp 2008-2013 m. vienareikšmiškai vertinti gana sunku: 7 teritorijose nustatyta gera-gerėjanti, o 6 – prasta-prastėjanti populiacijos būklė. Stebima tendencija nėra palanki nėgių populiacijų būklės atžvilgiu, ypač turint galvoje tai, kad pokyčiai buvo vertinami apsaugai skirtose teritorijose. Vis dėlto tokią tendenciją reikia vertinti atsargiai, kadangi *L. fluviatilis* būklės vertinimo metodika minėtuoju laikotarpiu keitėsi. Taip pat būtina atsižvelgti į tai, kad Lietuvoje nustatyto vingilių tankumo kriterijaus reikšmė yra labai aukšta. Šiuo metu šis kriterijus tenkinamas tik ypatingose susikaupimo vietose, t.y. žemiau nerštaviečių. Disertacinio darbo laikotarpiu, toks *L. fluviatilis* tankumas užfiksuotas vienintelėje tyrimų vietoje: Mišupės upėje, Minijos pabaseinyje. Svarbu pastebėti, kad kituose Europos geografiniuose regionuose nėgių apsaugai taikomi kriterijai yra gerokai mažesni, pavyzdžiui, Didžiojoje Britanijoje geras statusas yra nustatomas, kai

konkrečioje upėje vingilių tankumas ne mažesnis kaip 10 ind./m², o vertinant vidutinį tankumą baseine, vingilių tankumas yra ne mažesnis kaip 0,2 ind./m² (Harley & Cowx 2003). Todėl, atsižvelgiant į istorinius duomenis, būtų tikslinga peržiūrėti šį kriterijų.

Apsaugos statusas didesnėse upėse tiesiogiai priklauso nuo atvirų migracijos kelių iki šių upių intakų, kur dažniausiai yra pagrindinės nerštavietės. Norint pasiekti gerą nęgių apsaugos statusą, ypač migruojančių nęgių, būtina atverti migracijos kelius iki buvusių nerštaviečių. Vis dėlto dauguma šiuo metu eksploatuojami žuvitakių tipai yra neefektyvūs arba jais nęgių migracija nevyksta. Įrengiant naujus žuvitakius, pirmenybė turėtų būti teikiama natūralaus akmeninio apėjimo kanalo tipo žuvitakiams. Siekiant užtikrinti sėkmingą nęgių migraciją jau įrengtuose žuvitakiuose, viena iš galimų taikyti priemonių – srovės labiausiai veikiamų paviršių padengimas „nęgių plytelėmis“ (angl. *lamprey tiles*) arba latakų dugno papildymas natūralaus grunto substratu. Pažymėtina, kad šių priemonių efektyvumas vietinėms nęgių rūšims Europoje nėra įvertintas, tad tikslinga atlikti šių priemonių efektyvumo tyrimus.

Dažniausiai išskirtuose BAST be nęgių taip pat saugomos kitos Buveinių direktyvos svarbos rūšys ar pakrančių buveinės. Tokia saugomų teritorijų steigimo strategija yra pragmatiška, kadangi sumažina išlaidas, skirtas teritorijų monitoringui ir valdymui. Tačiau, vadovaujantis tokia strategija, be apsaugos gali likti tos buveinės, kurios yra ypatingai svarbios nęgių apsaugai ir kurios upių sistemose palaiko nęgių populiacijas. Todėl ateityje atsiranda poreikis įsteigti papildomų vien tik nęgių apsaugai skirtų teritorijų.

Remiantis disertaciniu darbu ir kitų autorių duomenimis, galime teigti, kad *L. fluviatilis* ir *L. planeri* pasižymi bendru genų fondu, todėl turėtų būti laikomos greičiau tos pačios rūšies skirtingomis ekologinėmis formomis nei dviem nominaliomis rūšimis (Espanhol *et al.* 2007). Lietuvoje šiuo metu saugomos abi rūšys, todėl neaišku kaip turėtų būti užtikrinta jų tolimesnė apsauga. Vis

dėlto sėslioms *L. planeri* subpopuliacijoms gali tekti esminis vaidmuo, užtikrinant genų mainus *L. fluviatilis* subpopuliacijoje. Tiek migruojančios *L. fluviatilis*, tiek sėslios *L. planeri* gali būti laikomos evoliuciškai svarbiais vienetais (de Guia & Saitoh 2007), o jų abiejų apsauga turi būti užtikrinta.

6. Išvados

1. Pagal šiuo metu priimtą sistematiką, Lietuvos upėse aptinkamos keturios nėgių rūšys: nereguliariai užklystanti *P. marinus*, dažnos *L. fluviatilis* ir *L. planeri* ir naujai aptikta *Eudontomyzon mariae*.
2. Skirtinguose Lietuvos upių baseinuose nėgių *Lampetra* spp. paplitimas ir populiacijų tankumas skiriasi. Labiausiai nėgės paplitusios Neries, Šventosios ir Šventosios (Baltijos jūros intakas) upių sistemose. Gausiausia populiacija rasta Šventosios (Baltijos jūros intakas) baseine, o mažiausiu gausumu ir paplitimu pasižymėjo Pajūrio upių baseinas.
3. Nėgių gausumui turi įtakos skirtingų upių baseinų ar pabaseinių hidrologinis ir hidromorfologinis savitumas ($r=0,43$) bei nuolydis tirtose upių atkarpose ($r=0,4$), kuris apsprendžia reprodukcijai tinkamų buveinių skaičių ir hidrologines sąlygas jose.
4. Dėl sąlyginai nedidelės vingilių sklaidos upėse (6,3–6,9 km iki metamorfozės pradžios), atstumas iki nerštaviečių yra vienas iš esminių veiksnių darančių įtaką skirtingam vingilių amžinių grupių paplitimui (įvairaus dydžio upėse $0,88 < r < 0,9$) ir fiksuojamam gausumui.
5. Naudojant NCR-I ir cyt *b* mtDNR molekulinis žymenis, tarp pietryčių Baltijos regione aptinkamų *L. fluviatilis* ir *L. planeri* atitinkamai nustatyti $0,4 \pm 0,2$ % (vid. \pm SE) ir $0,1 \pm < 0,01$ % (vid. \pm SE) genetiniai atstumai, kurie buvo identiškai nustatytiems vidurūšiniams atstumams.
6. Naudojant mtDNR NCR-I molekulinį žymenį, nustatyta, jog *Lampetra* spp. nėgės Pietryčių Baltijos regione pasižymi panašia genetinė įvairove kaip ir kituose tirtuose Europos geografiniuose regionuose aptinkamos

nėgės, o šių nėgių populiacinei-genetinei struktūrai būdingos kelios gerai išreikštos linijos, kurias reprezentuoja išskirtos A, D ir E haplogrupės.

7. Tarp Baltijos jūros *Lampetra* spp. populiacijos ir kitų Europos teritoriniuose vandenyse aptinkamų populiacijų nustatyta vidutiniškai ar intensyviai išreikšta genetinė diferenciacija ($0,08 < F_{ST} < 0,18$), o tarp pietryčių Baltijos jūros *Lampetra* spp. populiacijų genetinės įvairovės skirtumai yra nežymūs ($0 < F_{ST} < 0,02$). Juos lemia menka reprodukcinė izoliacija tarp skirtingų nėgių populiacijų. Šiame regione išsiskiria izoliuota Ventos baseino *L. planeri* populiacija, kuri pasižymi genetinės įvairovės skirtumais nuo kitų regiono nėgių populiacijų ($0,09 < F_{ST} < 0,3$).

7. Rekomendacijos

7.1. Rekomendacijos dėl nęgių vingilių tankumo kriterijų nustatymo

Upinių nęgių apsaugai svarbioms teritorijoms numatyta tankumo kriterijaus reikšmė yra labai aukšta – 60 ind./m². Toks kriterijaus lygis atitinka Mackevičiaus (1969) tyrimų metu nustatytą vingilių vidutinį tankumą tirtose upėse – 59,5 ind./m². Deja, panašus vingilių tankumas šiuo metu fiksuojamas labai retai ir yra galimas tik ypatingose jų susikaupimo vietose, t.y. žemiau nerštaviečių. Pastarųjų tyrimų laikotarpiu, artimas numatytam vingilių tankumo kriterijui *L. fluviatilis* tankumas užfiksuotas vienintelėje tyrimų vietoje: Mišupės upėje, Minijos pabaseinyje. Remiantis Mackevičiaus (1969) duomenimis, apskaičiuotos 95% pasikliautinės ribos, kurių intervalas buvo nuo 39,8 5 ind./m² iki 79,1 ind./m². Todėl, vertinant upių pasiekiamumo pokyčius ir visame regione stebimą upinių nęgių mažėjimą, aktualu kriterijaus vertę sumažinti iki apatinės pasikliautinių intervalų ribos, o pastovioms ir stabilioms populiacijoms taikyti 40 ind./m² kriterijaus reikšmę. Tuo tarpu, remiantis skirtingu mažųjų ir upinių nęgių vislumu, mažosioms nęgėms taikomas kriterijus turi būti gerokai mažesnis, todėl šiuo metu esanti 10 ind./m² kriterijaus vertė yra pakankama.

7.2. Rekomendacijos dėl nęgių būklės monitoringo protokolo Lietuvos upėse

Stebėjimo vietų pasirinkimo principas. Upinių ir mažųjų nęgių stebėjimui pasirenkamos upės, kuriose yra gargždo ar žvirgždo rėvų, taip pat, jei esama duomenų, kad nęgės kasmet neršia šiose upėse. Paprastai didelėse ir vidutinio dydžio upėse nęgės neršia tik aukštupiuose arba mažesniuose intakuose, o dėl ribotos vingilių sklaidos vingilių gausumas jose yra mažas arba jų nerandama. Nors vingiliams tinkamų buveinių tokiose didelėse ir vidutinio dydžio upėse yra gausu, tačiau jos yra svarbios tik kaip upinių nęgių migracijos koridoriai, užtikrinantys laisvą migraciją iki nerštaviečių. Upinės nęgės neturi galimybių

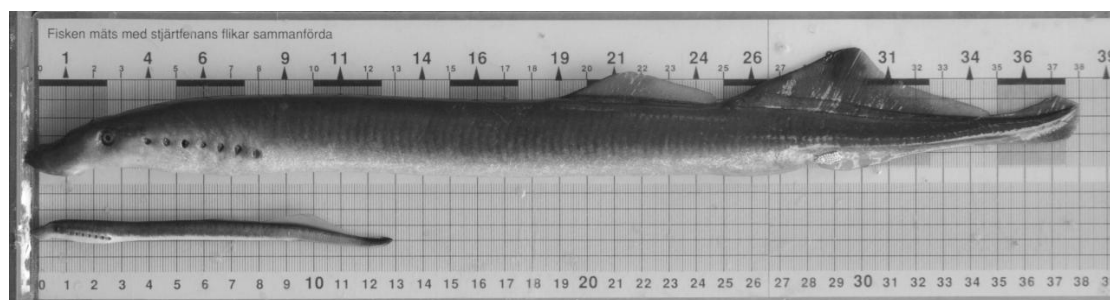
patekti į upių atkarpas ir intakus, kurie yra izoliuoti užtvankomis, o šios rūšies migracijos efektyvumas žuvitakiais taip pat labai žemas arba ji visai nevyksta. Todėl mažosios nėgės monitoringas vykdomas upėse ar jų atkarpose aukščiau užtvankų, neatsižvelgiant į tai, ar jose yra įrengti žuvitakiai. Lietuvoje mažoji nėgė aptinkama Ventos baseine (LR teritorijoje), Nemuno baseine, t.y. Merkyje ir jo intakuose, Strėvoje, Žeimenos pabaseinyje: Peršokšnos, Lakajos, Meros, Sarios upėse, Minijos pabaseinyje: Sausdravo ir Salanto upėse, Dubysos upėje. Upinių nėgių pagrindinės nerštavietės yra aptinkamos Minijos, Jūros, Dubysos, Šventosios, Neries, Šventosios (Baltijos jūra), Mūšos ir Bartuvos baseinų upėse. Nėgių apsaugai išskirtos šios NATURA2000 apsaugos teritorijos: Nemuno upė Rambyno ir Panemunių RP ribose bei Minijos, Ventos, Jūros, Šventosios ir Širvintos upės.

Stebėjimo vietos charakteristika. Upinių nėgių telkimosi, neršto ir vingilių laikymosi vietos priklauso nuo konkretaus laiko, todėl į tai būtina atsižvelgti, pasirenkant stebėjimo vietą ir tyrimo metodą. Upinių nėgių reproduktoriai, migruodami į nerštavietes, susirenka prie užtvankų, sunkiai įveikiamų kliūčių ar prie nerštaviečių esančiose upių duburiuose. Telkimosi vietose nėgės matomos vizualiai, jos nuolat plaukioja, ieško vietų, kur galėtų įveikti kliūtį, ar migruoja link nerštaviečių. Nerštavietes nėgės pasirenka upės vagoje, akmenuotame ar žvirgždėtame grunte, tačiau negilioje vietoje (30-60 cm, retkarčiais iki 1,2 m). Nėgės neršto metu aktyviai prisisiurbia prie akmenų, todėl aplink lizdą būna ir didesnių akmenų. Lizdo dugnas yra išvalytas nuo dumblo ir nešmenų, matyti iš toliau (šviesesnė dėmė upės dugne).

Nėgių vingilių ieškoma tose pačiose upių atkarpose, kuriose stebimas jų nerštas. Tinkamos nerštavietės retai būna koncentruotos viename ruože, dažniausiai būna pasklidusios 200 – 1000 m upės atkarpoje. Vingiliai kasami žemiau nerštaviečių. Tokiose stebėjimo vietose dažniausiai aptinkami įvairių amžinių grupių vingiliai, tačiau tipišku atveju vyrauja pirmųjų amžinių grupių vingiliai.

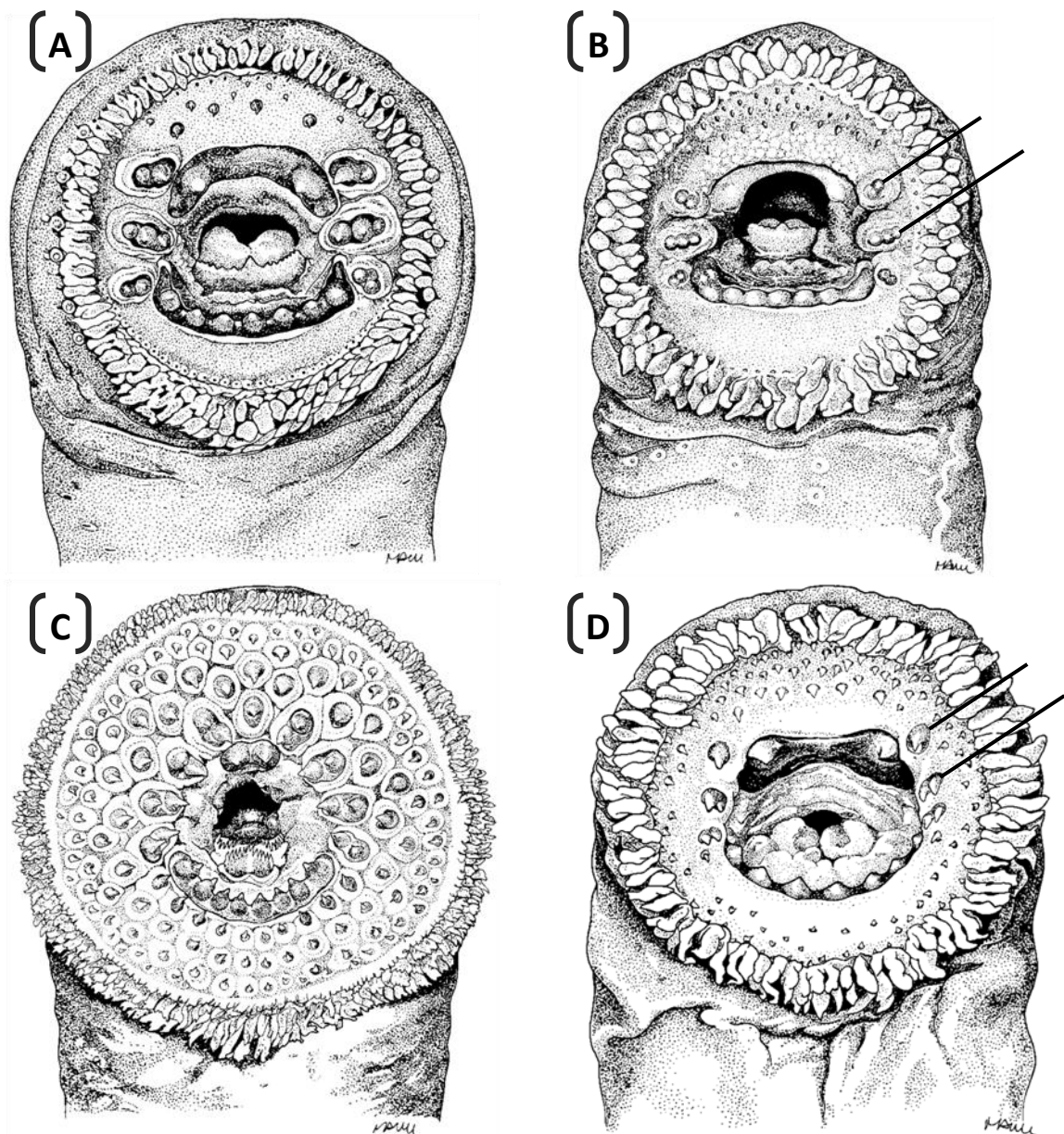
Vingilių buveinės suskirstomos į optimalias ir suboptimalias. Optimalios buveinės dažniausiai formuojasi sekliuose upės vingių vidinėse dalyse, kur srovė sulėtėja arba vyrauja atgalinė srovė, o kartu kaupiasi smulkus smėlis ir smulkios organinių nešmenų dalelės. Suboptimalios buveinės formuojasi už riedulių, į vandenį suvirtusių medžių, tiltų polių, tarp vandenyje panirusių medžių šaknų. Sraunumose, kuriose vyrauja kietas gruntas, tokios buveinės randamos/formuojasi upių pakraščiuose sunešto smėlio ar organinių nešmenų sankaupose arba smėlio sankaupose tarp upės vagoje esančių panirusių augalų.

Stebimo objekto aprašymas. Upinių ir mažųjų nęgių suaugėlių skaičius nerštavietėse priklauso nuo paros meto (neršto intensyvumas didesnis nakties metu) ir hidrologinių sąlygų upėse. Esant staigiems vandens temperatūros pokyčiams, neršto pikas gali trukti vos keturias dienas, o vyraujant pastoviai vandens temperatūrai, jis gali išsitęsti iki keturių savaičių. Nuo neršto intensyvumo tiesiogiai priklauso ir stebimas individų skaičius suformuotuose nerštiniuose lizduose. Dažniausiai nerštiniuose lizduose stebima nuo kelių iki 20 – 30 nęgių viename lizde. Dėl neprognozuojamų veiksnių nęgių nerštaviečių ir gausumo vizualiniai tyrimai neleidžia tiksliai įvertinti jų gausumo ir fiksuoti populiacijos gausumo pokyčius stebėjimo vietose. Vis dėlto ši informacija svarbi kartografuojant nęgių nerštavietes, nustatant nęgių apsaugai svarbius ruožus žemiau nerštaviečių, bei numatant papildomas arba tikslinant esamas stebėjimo vietas. Vienas svarbiausių požymių identifikuojant nęges – jų dydis. Upinių nęgių ilgis 25–50 cm, o mažųjų nęgių 10–16 cm. Abiejų rūšių suaugėlių dydis akivaizdžiai skiriasi, todėl abi rūšis nerštiniuose lizduose lengva atskirti vizualiai (34 pav.).



34pav. Upinės ir mažosios nęgės suaugėliai.

Lietuvos vandenyse taip pat aptinkamos retos jūrinės nėgės. Neoficialiais duomenimis jų kasmet sugaunama Kuršių mariose, tačiau konkrečių duomenų apie jų paplitimą Lietuvos upėse nėra. Remiantis nepublikuotais moksliniais duomenimis tikėtina, kad šios nėgės gali retkarčiais neršti Minijos upės intakuose, esančiuose aukščiau ir žemiau Gargždų miesto. Lietuvoje ieškotina ir ukraininė nėgė, kurios izoliuotos populiacijos aptinkamos Šventosios (Baltijos jūra) baseine ir Minijos pabaseinyje (Staponkus & Kesminas 2014). Savo dydžiu ir išvaizda ukraininių nėgių suaugėliai panašūs į mažąsias nėges. Vienas iš patikimų jų skiriamųjų bruožų yra endolateralinių dantų šakų skaičius prisisiurbimo diske (Renaud 2011) (35 pav.)



35 pav. Lietuvoje aptinkamų nęgių rūšių prisisiurbimo diskai: A – upinės nęgės; B – mažosios nęgės; C – jūrinės nęgės; D – ukraininės nęgės. Juodomis rodyklėmis pažymėti upinės ir mažosios nęgės pagrindiniai skiriamieji požymiai. Manuela D’Antoni perpieštos Paul I.Voevodine iliustracijos, FAO pasaulio nęgių kataloge (Renaud 2011).

Artimų nęgių rūšių vingilių apibūdinimas yra labai kompliktuotas. Migruojanti upinė nęgė ir sėsli mažoji nęgė kartu aptinkamos daugelyje Lietuvos upių, pavyzdžiui Blendžiavoje, Salante, Šventojoje (Baltijos jūra), Musėje, Širvintoje, o tarp tokių artimų rūšių dažnai nerandama net genetinių skirtumų. Vienintelis požymis, kuris leidžia dalinai identifikuoti vingilius – jų ilgis.

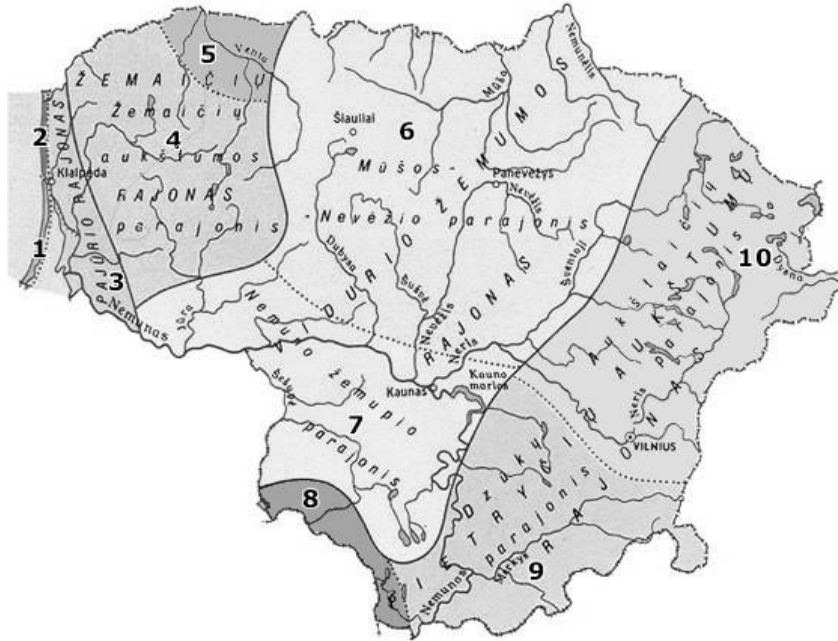
Ilgesnius nei 120 mm vingilius priimta laikyti mažosios nėgės vingiliais, kurie dėl ilgiau trunkančios lervinės stadijos užauga didesni (Gardiner 2003). Taigi, nustatant stebėjimų vietoje vyraujančią rūšį, būtina atsižvelgti į vizualinius nerštaviečių tyrimų duomenis.

Stebimi parametrai ir stebėjimų dažnumas. Stebėjimo vietų skaičiaus upėse (n) nustatymui naudojamos Bohlin *et al.* (1990) tikslumo lygio klasės, kurios buvo išskirtos žuvų tyrimams. Siekiant nustatyti esamą nėgių būklę, vertinant pagal vingilių gausumą, tyrimams rekomenduojama trečia tikslumo klasė (Harley & Cowx 2003). Tokių tyrimų tikslumas nėra aukštas, tarp stebėjimų jis leidžia, su 80% tikimybe, esant 5% reikšmingumo lygmeniui, fiksuoti dvigubą populiacijos pokytį. Toks tikslumo lygis atitinka ne didesnę nei 0,16 (V_{III}) variacijos koeficientą. Apskaičiuojant vietų skaičių, taip pat būtina atsižvelgti į galimų tyrimo vietų skaičių (S), bei remtis moksliniuose straipsniuose ir tyrimų ataskaitose esančiais duomenimis apie netolygų vingilių erdvinį pasiskirstymą upėse, kuris išreiškiamas variacijos koeficientu (V = standartinis nuokrypis/aritmetinis vidurkis). Pageidautina, kad stebėjimų vietos būtų parenkamos vienodais atstumais viena nuo kitos.

$$n = \frac{S \times V^2}{(S \times V_{III}^2) + V^2};$$

Pagrindiniai stebimi parametrai: vingilių vidutinis tankumas ir amžinių grupių aptinkamumas. Kadangi vingiliai ne vienerius metus praleidžia gimtosiose upėse, todėl stebėjimų dažnumas yra pagrindinis veiksnys, leidžiantis įvertinti populiacinius pokyčius. Idealiu atveju vingilių tyrimai turi būti atliekami kasmet, kad būtų galima stebėti 0+ amžinės grupės (iki 35 mm) vingilių gausumo pokyčius, o tuo pačiu ir neršto efektyvumą. Rekomenduojama rečiausiai stebėjimus atlikti kas trejus metus. Tokiu būtų fiksuojami 0+, 1+ ir 2+ amžinių grupių (iki 73 mm) vingiliai, o vėlesnių amžinių grupių vingilių aptinkamumas rekomenduojamose stebėjimo vietose dažniausiai būna žemas.

Stebėjimų procedūra. Nėgių tyrimo laikas parenkamas priklausomai nuo naudojamo metodo. Mažųjų ir upinių nėgių stebėjimus rekomenduojama atlikti gegužės pirmąją dekadą. Tačiau reikia atsiminti, kad nėgių nerštas gali trukti nuo balandžio vidurio iki birželio vidurio. Tai priklauso nuo meteorologinių sąlygų ir klimatinio regiono (36 pav.).

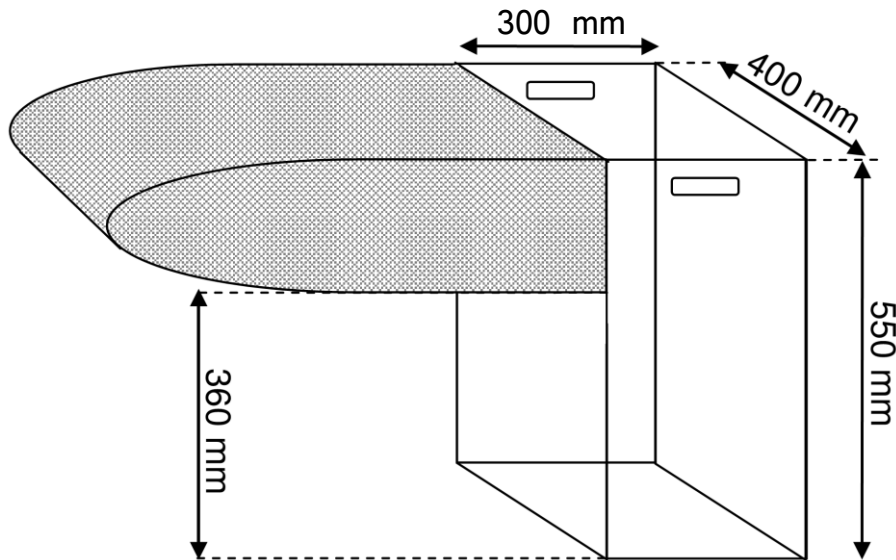


36 pav. Lietuvos klimatinių rajonų (išsistinė linija) ir parajonių (punktyrinė linija) ribos pagal Drobni *et al.* (1981). Pajūrio rajonas: 1 – Kuršių nerijos parajonis, 2 – Jūros pakrantės parajonis, 3 – Pajūrio žemumos parajonis. Žemaičių rajonas: 4 – Žemaičių aukštumos parajonis, 5 – Ventos vidurupio žemumos parajonis. Vidurio žemumos rajonas: 6 – Mūšos-Nevėžio parajonis, 7 – Nemuno žemupio parajonis. Pietryčių aukštumos rajonas: 8 – Sūduvos parajonis, 9 – Dzūkų parajonis, 10 – Aukštaičių parajonis.

Tipišku atveju Lietuvos klimatinuose parajoniuose stebima tokia nėgių neršto seka $7 < 6 < 10 < 3 < 5 < 4 < 8 < 9$ (36 pav.). Stebėjimas atliekamas vizualiniu būdu, einant upės pakrante ar brendant upe prieš srovę. Šiai inventorizacijai būtina turėti poliarizuotus akinius, GPS prietaisą ar 1:50000 mastelio žemėlapi.

Vingilių apskaita vykdoma nuo liepos mėnesio iki vėlyvo rudens, kol leidžia hidrologinės sąlygos. Optimalios ir suboptimalios buveinės pasirenkamos vizualiai bei patikrinamos paimant kelis substrato mėginius. Vingiliai su substratu kasami optimaliose buveinėse, kuriose tikėtinas didžiausias vingilių

tankumas, o tokių buveinių nesant, mėginiai turi būti imami suboptimaliose buveinėse (Moser *et al.* 2007). Mėginiai imami modifikuotu Surber bentosiniu semtuvu (Lasne *et al.* 2010b), kurio tinkliuko akies dydis yra 0,5 – 1 mm (37 pav.).



37 pav. Nėgių vingilių tyrimams pritaikytas Surber bentosinis semtuvas pagal Lasne *et al.* (2010b).

Semtuvas 20 cm įstumiamas į substratą, viršutinis 15 cm substrato sluoksnis iškasamas į tinklėlį, tokiu būdu paimamas 0,12 m² ploto grunto mėginys. Iškasus gruntą pakartotinai paimamas substratas, siekiant sugauti kasimo metu pasprukusius vingilius. Tokia procedūra kartojama mažiausiai du kartus arba kol nebesugaunama vingilių. Kiekvienoje stebėjimų vietoje imama 15 mėginių, esant nepalankioms hidromorfologinėms sąlygoms minimaliai gali būti imami 8 mėginiai. Praplautas substratas iškratomos į kiuvetę. Pincetu išrenkami nėgių vingiliai ir sudedami į indą su vandeniu. Kad būtų galima vingilius išmatuoti jie anestezuojami 0,3 ml/l koncentracijos 2-difeniletanolio (tinka ir kiti žuvų anestetikai) tirpalu. Stotyse fiksuojamas vingilių skaičius ir bendras kūno ilgis. Vingiliai išmatuojami ir suskaičiuojami, o duomenys surašomi į žurnalą. Atlikus matavimus, vingiliai suleidžiami į indą su švairiu vandeniu ir, pasibaigus anestezijos poveikiui, paleidžiami atgal į upę.

Stebėjimų registracijos procedūra

20 lentelė. Siūlomas tyrimų vietos protokolas

Upės pavadinimas:						
Vietos pavadinimas ir/arba vietos kodas:						
Koordinatės						
					Tyrėjai:	
Tyrimų data ir laikas:						
Upės plotis (m):					Tirtos atkarpos ilgis (m):	
Upės gylis tyrimų vietoje (cm):					Mėginių skaičius:	
Substratas (5% žingsnis):	Molis	Smėlis	Žvirgždas	Gargždas	Stambūs akmenys	Kitas substratas
Mikrobuveinės						
Mėginio						
Augalija	Viršvandeninė augalija			Panirusi augalija		
Tyrimų atkarpos						
Pakrančių augmenija	Kairysis krantas			Dešinysis krantas		
Ūkinė veikla gretimose teritorijose	Kairysis krantas			Dešinysis krantas		
Tyrimo duomenys	Vingilių skaičius			Sugautų vingilių ilgiai (mm)		
Hidrologinės charakteristikos						
Pastabos						

Stebėjimo vietų registracijos formoje (20 lentelė) surašoma: upės pavadinimas ir užrašomas rėvos ar vietovės pavadinimas, GPS imtuvu nustatytos koordinatės ir koordinatinių paklaidų, tyrimų data ir laikas, tyrėjas (esant ne vienam tyrėjui, užrašomi visi dalyvavę asmenys), vidutinis upės plotis, vidutinis gylis tyrimų vietoje, tirtos atkarpos ilgis, bentosiniu semtuvu paimtų

mėginių skaičius, bendras pagautų vingilių skaičius, visų išmatuotų vingilių ilgis.

Stebėjimų vietos įvertinimo procedūra. Stebėjimo vietų registracijos formoje taip pat nurodoma stebėjimo vietos parametrai: skirtingų substratų procentinė sudėtis mėginiuose ir viso dugno paviršiaus projekcijoje, projekcinis dugno padengimas helofitais ir vandens augalais, pakrančių augalijos tipas, pavyzdžiui, spygliuočiai medžiai, lapuočiai medžiai ir krūmai, žolinė augalija ar kita, kartu nurodant užpavėsintą vandens paviršiaus dalį (5% žingsnis), ūkinės veiklos tipas aukščiau stebėjimo vietos, pavyzdžiui, spygliuočių miškas, lapuočių miškas, natūrali pieva, ganykla, ariamas laukas ir kt.

Pastabose rekomenduojama pateikti informaciją apie oro sąlygas, nerštavietes, esamas ar galimas grėsmes (brakonieriaavimas, bebrų užtvankų skaičius) ir kitokią papildomą ekspertinę informaciją.

Didžiausias grėsmes nėgių populiacijoms kelia: 1. – Upės vagų ištiesinimas, užtvankų ar kitokių hidrotechninių įrenginių statyba, kuri keičia natūralias upines buveines ir sunaikina migracijos kelius; 2. – Vandens tarša; 3. – Verslinė, mėgėjiška ir nelegali žvejyba nėgių migracijos keliuose ir nerštinėse upėse. Todėl buveinių būklė vertinama pagal migravimo į nerštavietes galimybes: „0“ – aukščiau ir žemiau tyrimo vietos yra dirbtinių kliūčių nėgių migravimui, mažas nerštui tinkamų atkarpų bendras plotas; „3“ – kliūčių migravimui nėra arba kliūtis yra tik aukščiau tyrimo vietos, vagoje iki kliūties nerštui tinkamų atkarpų bendras plotas yra didelis; vandens kokybę: „0“ – vandens kokybė pagal kokybės elementus prastesnė nei vidutinė, „3“ – vandens kokybė pagal kokybės elementus gera; 3 – žūklės intensyvumą: „0“ – labai intensyvi verslinė, mėgėjiška ir nelegali žūklė, nėgės ir vingiliai upėje gaudomi masalui „3“ – ekstensyvi žūklė arba nėgės ir jų vingiliai negaudomi

Duomenų analizės būdai. Vėliau, ekstrapolijuojant surinktus duomenis duomenis, nustatomas vingilių tankumas 1 m^2 tirtose upėse. Taip pat apskaičiuojama: 1. – Vidutinis nėgių reproduktorių gausumas upėje, ind./ m^2 ; 2.

– Nerštinių lizdų skaičius, vnt./km; 3. – Vidutinis stebėtų prie lizdų reproduktorių skaičius; 4. – Vingilių tankumas, ind./m². Upinių nęgių populiacijos dydis upėje nustatomas ekstrapoliavimo būdu, įvertinus ištirtų biotopų plotą ir visos upės tinkamų biotopų plotą.

Duomenų kokybės užtikrinimas

Tyrėjas turi būti kvalifikuotas specialistas, atpažinti žuvų ir nęgių rūšis, žinoti jų biologiją ir tyrimo metodus. Taip pat turi mokėti naudotis stebėjimams būtina įranga ir turėti atitinkamus leidimus tyrimams.

Pageidautina, kad vingilių tyrimai kiekvienu stebėjimo laikotarpiu būtų atliekami tuo pačiu metų laiku.

8. Literatūros sąrašas

Aljanabi, S. M., Martinez, I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res* 25(22): 4692-4693.

Almeida, P. R., Quintella, B. R. 2002. Larval habitat of the sea lamprey (*Petromyzon marinus* L.) in the River Mondego (Portugal). In: *Freshwater fish conservation: options for the future*. Eds: M. J Collares-Pereira; M . M. Coelho and I.G. Cowx, Blackwell Science, Oxford, UK.

Agassiz, L. 1850. *Lake Superior: Its physical character, vegetation, and animals, compared with those of other regions*. Gould, Kendall, and Lincoln, Boston, Massachusetts.

Aplinkos apsaugos agentūra 2010. Paviršinių vandens telkinių vertinimas. <http://vanduo.gamta.lt/files/Pavirsiniu%20vandens%20telkiniu%20vertinimas.pdf> 2014.05.06

Aplinkos ministerija 2001. Lietuvos Respublikos upių ir tvenkinių klasifikatoriaus (Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2001 m. gruodžio 12 d. įsakymu Nr. 594).

Aplinkos ministerija 2005a. Žuvų išteklių tyrimų metodika (Aplinkos ministro 2005 m. spalio 20 d. įsakymas Nr. D1-5010).

Aplinkos ministerija 2005b. Paviršinių vandens telkinių tipų aprašas, paviršinių vandens telkinių kokybės elementų etaloninių sąlygų rodiklių aprašas ir kriterijų dirbtiniams, labai pakeistiems ir rizikos vandens telkiniams išskirti aprašas (Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2005 m. gegužės 23 d. įsakymas Nr. D1-256).

Aplinkos ministerija 2008. Gamtinių buveinių apsaugai svarbių teritorijų kriterijų sąrašas (Lietuvos Respublikos Aplinkos ministro 2008 metų liepos 21 d. įsakymas Nr. D1-389).

Arkhipchuk, V. V. 1999. Chromosome database. Database of Dr. Victor Arkhipchuk. World Wide Web electronic publication. Version (02/2007).

Aronsoo, K. 2011. State of lamprey in Finland in First International Forum on the Recovery and Propagation of Lamprey (eds. L. Greig & A. Hall). Workshop Report. ESSA Technologies Ltd., Vancouver

Balon, E. K., Holčík, J. 1964. Kilka nowych dla Polski form krągłoustych i ryb z dorzecza Dunaju (Czarna Orawa). Państwowe Wydawnictwo Naukowe.

Bandelt, H. J., Forster, P., Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16: 37-48.

Beamish, F. W. H., Jebbink, J. A. 1994. Abundance of lamprey larvae and physical habitat. *Environ Biol Fishes* 39: 209–214.

Beamish, F. W. H., Lowartz, S. 1996. Larval habitat of American Brook Lamprey. *Can J Fish Aquat Sci* 53(4): 693–700.

- Berner, D., Grandchamp, A.-C. & Hendry, A. P. 2009. Variable progress towards ecological speciation in parapatry: stickleback across eight lake-stream transitions. *Evolution* 63: 1740-1753.
- Berg, L. S. 1948. *Freshwater Fishes of the USSR and Adjacent Countries*. Guide to the Fauna of the USSR 27(1): 504. Israel Program for Scientific Translations Ltd., Jerusalem.
- Blank, M., Jürss, K. & Bastrop, R. 2008. A mitochondrial multigene approach contributing to the systematics of the brook and river lampreys and the phylogenetic position of *Eudontomyzon mariae*. *Can J Fish Aquat Sci* 65(12): 2780-2790.
- Bush, G. L. 1994. Sympatric speciation in animals – new wine in old bottles. *Trends in Ecol Evolut* 9:285-288.
- Bush, G. L. 2001. The process of speciation, In: *Encyclopaedia of Biodiversity* (Levin, S. A.). Academic Press, San Francisco.
- Caputo, V., Giovannotti, M., Cerioni, P. N., Splendiani, A., Tagliavini, J. & Olmo, E. 2011.. Chromosomal study of a lamprey (*Lampetra zanandreaei* Vladykov, 1955)(Petromyzonida: Petromyzontiformes): conventional and FISH analysis. *Chromosome Res* 19(4): 481-491.
- CEN 2003. *Water quality—sampling of fish with electricity*. European Standard, Brussels.
- Chiarelli, A. B. 1973. *Evolution of the primates*. New York: Academic Press.

- de Guia, A. P. O. & Saitoh, T. 2007. The gap between the concept and definitions in the Evolutionarily Significant Unit: the need to integrate neutral genetic variation and adaptive variation. *Ecol Res* 22(4): 604-612.
- DeKay, J. E. 1842. *Zoology of New-York, or the New-York fauna; comprising detailed descriptions of all the animals hitherto observed within the state of New-York, with brief notices of those occasionally found near its borders, and accompanied by appropriate illustrations. Part IV. Fishes.* W. A. White & J. Visscher, Albany, New York.
- Didžiulytė, J. 1966. *Stuburinių zoologijos laboratoriniai darbai.* Vilnius, Mintis.
- Docker, M. F. 2009. A review of the evolution of nonparasitism in lampreys and an update of the paired species concept. In *American Fisheries Society Symposium Vol. 72*: 71-114.
- Drąg-Kozak, E., Nowak, M., Szczerbik, P., Klaczak, A., Mikołajczyk, T., Fałowska, B., Socha, M. & Popek, W. 2011. New data regarding the distribution and ichthyocoenological affinities of the Ukrainian brook lamprey, *Lampetra (Eudontomyzon) mariae* (Cephalaspidomorphi: Petromyzontiformes: Petromyzontidae), in southern Poland. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 41(2): 123-127.
- Dumeril, C. 1812. *Dissertation sur la famille des poissons cyclostomes, pour démontrer leurs rapports avec les animaux sans vertèbres: suivie d'un*

mémoire sur l'anatomie des lamproies, pour le concours ouvert devant la Faculté des sciences de Paris, le 28 mars 1812. Didot. Paris.

EEC. Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. 1992.

Elisonas, J. Smegžemė (*Gobio fluviatilis*). Kosmos, XVI, Kaunas, 1935.

Enequist, P. 1937. Das Bachneunauge als Ökologische Modifikation des Flussneunauges – Über die Fluss – und Bachneunaugen Schwedens Vorläufige Mitteilung. Ark Zool 29A(20): 1–22.

Engelhorn, R. & Schreiber, A. 1997. Allozyme polymorphisms and biochemical-genetic taxon markers in lampreys (*Lampetra*, *Eudontomyzon*, *Petromyzon*). Biochem genet 35(7-8): 233-249.

Espanhol, R., Almeida, P. R., Alves M. J. 2007. Evolutionary history of lamprey paired species *Lampetra fluviatilis* (L.) and *Lampetra planeri* (Bloch) as inferred from mitochondrial DNA variation. Mol Ecol 16: 1909–1924.

European Council Decision 82/72/EEC of 3 December 1981 concerning the conclusion of the Convention on the conservation of European wildlife and natural habitats (Bern Convention). Official Journal L 38, 10.02.1982, Official Journal L 358, 31. 12. 1998.

- Foulds, W. L. & Lucas, M. C. 2013. Extreme inefficiency of two conventional, technical fishways used by European river lamprey (*Lampetra fluviatilis*). *Ecol Eng* 58: 423-433.
- Gaigalas, K., Mackevičius, A. 1968. Apie kai kuriuos verslinės upinių nęgių *Lampetra fluviatilis* (L.) žūklės ypatumus ir galimybes Nemuno upėje [О некоторых особенностях и возможностях промысла речной миноги *Lampetra fluviatilis* (L.) в бассейне р.Нямунас. *Ichtiologijos klausimai* [Вопросы ихтиологии] 8, 2 (49): 216-224
- Gaigalas, K., Gerulaitis, A., Kesminas, V. ir kt. 1992. Lietuvos retosios žuvis. Vilnius. Academia.
- Gaigalas, K. 2001. Kuršių marių žuvis ir žvejyba. Klaipėda, Eglė
- Gailiušis, B.; Jablonskis, J.; Kovalenkoviėnė, M. 2001. Rivers of Lithuania. Hydrography and Flow (A monograph). Lithuanian Energy Institute. Kaunas.
- Gardiner, R., 2003. Identifying lamprey: A field key for sea, river and brook lamprey. *Conserving Natura 2000 Rivers Conservation Techniques Series* No. 4, English Nature, Peterborough.
- Genner, M. J., Hillman, R., McHugh, M., Hawkins, S. J. & Lucas, M. C. 2012. Contrasting demographic histories of European and North American sea lamprey (*Petromyzon marinus*) populations inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Mar Freshwater Res* 63(9): 827-833.

- George, D., & Mallery, M. 2010. SPSS for Windows Step by Step: A Simple Guide and Reference, 17.0 update (10a ed.) Boston: Pearson.
- Gess, R. W., Coates, M. I & Rubidge, B. S. 2006. A lamprey from the Devonian period of South Africa. *Nature* 443: 981-984.
- Geus, A. 1964. Leonhard Baldner, a Strasbourg fisherman. *Isis*, 195-199.
- Gill, H. S., Renaud, C.B, Chapleau, F., Mayden, R.L & Potter, I.C. 2003. Phylogeny of living parasitic lampreys (Petromyzontiformes) based on morphological data. *Copeia* 2003(4): 687–703.
- Hardisty, M.W. 1961. The growth of larval lampreys. *Journal of Animal Ecology*, 357-371.
- Hardisty, M. W. & Potter I.C. 1971. Paired species. [In: Hardisty MW & Potter IC (eds)] *The biology of lampreys*. Academic Press, London.
- Hardisty, M.W. 1986. Petromyzontiforma. In: Holcik J. (ed) *The freshwater fishes of Europe*. Aula-Verlag, Wiesbaden.
- Harvey, J.; Cowx, I. 2003. Monitoring the river, brook, and sea lamprey, *Lampetra fluviatilis*, *L. planeri*, and *Petromyzon marinus*. In: *Conserving Natura 2000 Rivers*. Conservation Techniques Series No. 5 English Nature, Peterborough.
- HELCOM 2013. Red List of Baltic Sea species in danger of becoming extinct. *Balt Sea Environ Proc* 140: 69–73.

- Holčík, J. 1970. Number and variation of trunk myomers in *Lampetra planeri* with regard to population from the Poprad and Hornád River basins. *Biológia*, Bratislava 25: 123-128.
- Holčík, J. 1986: *Caspiomyzon wagneri* (Kessler, 1870). In: The Freshwater Fishes of Europe vol. 1, part I, Petromyzontiformes. Eds: J. Holčík, AULA-Verlag GmbH, Wiesbaden, 119–142.
- Holčík, J. 1995. Geographische Verbreitung von Neunaugen (Petromyzontiformes) in der mittleren and unteren Donau (zwischen Österreich und dem Schwarzen Meer). *Fischökologie* 8: 23–30.
- Holčík, J. & Delić, A. 2000. New discovery of the Ukrainian brook lamprey in Croatia. *J Fish Biol*, 56(1), 73-86.
- Hubbs, C. L. & Potter, I. C. 1971. Distribution, phylogeny and taxonomy.. In Hardisty, M.W. & I.C. Potter, eds. *The Biology of Lampreys*, vol. 1, Academic Press, London, 1–65.
- Hudson, R. R, Boos, D. D., Kaplan, N. L. (1992a). A statistical test for detecting population subdivision. *Mol Biol Evol* 9: 138-151.
- Hudson, R. R, Slatkin, M., Maddison, W. P. (1992b). Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics* 132:583-589
- Hume, J. B., Adams, C.E., Mable, B. & Bean, C. W. 2013a. Post-zygotic hybrid viability in sympatric species pairs - a case study from European lampreys. *Biol J Linn Soc*, 108: 378-383.

- Hume, J. B., Adams, C. E., Mable, B. & Bean, C.W. 2013b. Sneak male mating tactics between lampreys exhibiting alternative life history strategies. *J Fish Biol* 82: 1093-1100.
- Jankauskienė, R. & Jurgaitytė, A. 2008. Distribution of juvenile river lamprey (*Lampetra fluviatilis* L.) in different habitats. *Ekologija*, 54(2): 104-109.
- Janvier, P., Lund, R. & Grogan, E. D. 2004. Further consideration of the earliest known lamprey, *Hardistiella montanensis* Janvier and Lund, 1983, from the Carboniferous of Bear Gulch, Montana, USA. *J Vert Paleontol* 24(3): 742-743.
- Jorgensen, J. C. and J. F. Kitchell. 2005. Growth potential and host mortality of the parasitic phase of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*) in Lake Superior. *Can J Fish Aquat Sci* 62: 2343-2353.
- Kappus, B., Janse, W., Fok, P., Rahman, H. 1995. Threatened lamprey (*Lampetra planeri*) populations of the Danube Basin within Baden-Wuerttemberg, Germany. *Miscenea Zool Hung* 10(0): 85-98.
- Kapočius, J. 1953. Lietuvių enciklopedija. I tomas; A. Lietuvių enciklopedijos leidykla. Bostonas.
- Karaman, M. S. 1974. *Eudontomyzon vladykovi stankokaramani* spp., a new subspecies of lamprey from tributaries of the Ohrid–Drim–Skadar System in west Balkan Peninsula. *Folia Balc* 3(5): 1–10.

- Kesminas, V., Svecevičius, G. 2008: Rare and Vanishing Fishes of Lithuania: State and Ways of Stock Restoration. In: Proceedings on an International Scientific Conference on Actual State and Active Protection of Vanishing Natural Populations of Sturgeon Fish. Eds: R. Kolman *et al.*, Pzhyshek-Torun, Poland.
- Kesminas, V., Virbickas, T., Stakėnas, S., Steponėnas, A. 1998. Lašišinių žuvų monitoringas (tyrimų ataskaita). Ekologijos institutas, Vilnius.
- Kesminas, V., Virbickas, T., Steponėnas, A., Ložys, L., Repečka, R. 2009. European importance lampreys and fish. In: Fauna monitoring methods. Ed: Arbačiauskas K., 86-104.
- Kille, R. A. 1960. Fertilization of the lamprey egg. *Exp Cell Res* 20(1): 12–27.
- Kirchhofer, A. 1996. Biologie, menaces et protection des lamproies en Suisse. Informations concernant la pêche no 56. Berne: Office federal de l'environnement, des forêts et du paysage.
- Kirtland, J.P. 1840. Descriptions of the fishes of the Ohio River and its tributaries. *Boston J Nat Hist* 3(3–4): 338–352.
- Klinkhardt, M., Tesche, M. & Greven, H. 1995. Database of fish chromosomes, FAO.
- Kottelat, M., Freyhof, J. 2007. Handbook of European freshwater fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany.

- Kuraku, S. & Kuratani, S. 2006. Time scale for cyclostome evolution inferred with a phylogenetic diagnosis of hagfish and lamprey cDNA sequences. *Zool Sci* 23(12): 1053-1064.
- Larsen, L. O. 1970. The lamprey egg at ovulation (*Lampetra fluviatilis* L. Gray). *Biol Reprod* 2(1): 37-47.
- Lasne, E. Sabatié, M.-R., Evanno, G. 2010a. Communal spawning of brook and river lampreys (*Lampetra planeri* and *L. fluviatilis*) is common in the Oir River (France). *Ecol Freshw Fish* 19: 323–325.
- Lasne, E., Sabatie, M.-R., Tremblay, J., Beaulaton, L., Roussel, J.-M., 2010b. A new sampling technique for larval lamprey population assessment in small river catchments. *Fish Res* 106(1): 22-26.
- Lech, J. J., & Statham, C. N. (1975). Role of glucuronide formation in the selective toxicity of 3-trifluoromethyl-4-nitrophenol (TFM) for the sea lamprey: comparative aspects of TFM uptake and conjugation in sea lamprey and rainbow trout. *Toxicol Appl Pharm* 31(1): 150-158.
- Lee, W. J. & Kocher, T. D. 1995. Complete sequence of a sea lamprey (*Petromyzon marinus*) mitochondrial genome: early establishment of the vertebrate genome organization. *Genetics*, 139(2): 873-887.
- Leliūna, E. 2008. Nemuno baseino lašių (*Salmo salar* L.) ir šlakių (*S. trutta trutta* L.) populiacijų fenotipinės ir genetinės struktūros ypatumai (Phenotype and genotype variation in salmon (*Salmo salar* L.) and sea

- trout (*S. trutta trutta* L.) populations of the Nemunas River basin). PhD dissertation, Institute of Ecology of Vilnius University, Vilnius.
- Levin, B. A. 2001. Finding of the Ukrainian lamprey *Eudontomyzon mariae* (Petromyzontidae) in the Volga Basin. *J Ichthyol* 41(9): 810–811.
- Levin, B. A. & Holcik, J. 2006. New data on the geographic distribution and ecology of the Ukrainian brook lamprey, *Eudontomyzon mariae* (Berg, 1931). *FOLIA ZOOLOGICA-PRAHA* 55(3): 282.
- Librado, P. & Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11): 1451-1452.
- Loman, J. C. C. 1912. Über die Naturgeschichte des Bachneunauges *Lampetra planeri*. *Zool Jb (suppl.)* 15: 243–270.
- Lynch, M., Crease, T. J. 1990. The analysis of population survey data on DNA sequence variation. *Mol Biol Evol* 7: 377-394.
- Mable, B. K., Alexandrou, M. A. & Taylor, M. I. 2011. Genome duplications in amphibians and fish: an extended synthesis. *J Zool* 284: 151-182.
- Macey, D. J. and Potter, I. C. 1978. Lethal temperatures of ammocoetes of the Southern Hemisphere lamprey, *Geotria australis* Gray. *Environ Biol Fish* 3(2): 241-243.
- Mackevičius, A., 1966. Upininės nęgės (*Lampetra fluviatilis*) paplitimo, biologijos ir išteklių tyrimai Lietuvos TSR vidaus vandenyse. Ataskaita. Lietuvos TSR Mokslų akademijos Zoologijos ir parazitologijos institutas.

- Mackevičius, A., 1969. Upinė nėgė, jos paplitimas Lietuvos vandenyse ir kai kurie biologijos bruožai. Diplominis darbas. Vilnius, VU.
- Magalhaes, J. P., Costa, J. 2009. A database of vertebrate longevity records and their relation to other life-history traits. *J Evolution Biol* 22(8): 1770-1774.
- Manion, P. J., Smith, B.R. 1978. Biology of larval and metamorphosing sea lampreys, *Petromyzon marinus*, of the 1960 year class in the Big Garlic River, Michigan. Part II, 1966–72. Great Lakes Fishery Commission Technical Report 30: 1-35.
- Mateus, C., Alves, J., Quintella, B. & Almeida, P. R. 2013a. Three new cryptic species of the lamprey genus *Lampetra* Bonnaterre, 1788 (Petromyzontiformes: Petromyzontidae) from the Iberian Peninsula.
- Mateus, C. S., Stange, M., Berner, D., Roesti, M., Quintella, B. R., Alves, M. J., Almeida, P. R. & Salzburger, W. 2013b. Strong genome-wide divergence between sympatric European river and brook lampreys. *Current Biology*, 23(15): R649-R650.
- Mateus, C. S., Rodríguez-Muñoz, R., Quintella, B. R., Alves, M. & Almeida, P. R. 2012. Lampreys of the Iberian Peninsula: distribution, population status and conservation. *Endanger Species Res* 16: 183-198.
- Maitland, P. S. & Campbell, R. N. 1992. *Freshwater Fishes of the British Isles*. Harper Collins, Somers.

- Maitland, P. S., 2003. Ecology of the River, Brook and Sea Lamprey, Conserving Natura 2000 Rivers, Ecology Series No. 5 English Nature, Peterborough.
- McDonald, T. H., 1959. Identification of ammocoetes of British lampreys. Glasgow Naturalist, vol. 18, nr. 2. Glasgow.
- McNabb, M. B., Center R. (1992). The Larval Lamprey. In Centre E. M. (Ed.). Vertebrates. Jones & Bartlett Learning.
- Mehta, T. K., Ravi, V., Yamasaki, S., Lee, A. P., Lian, M. M., Tay, B. H. & Venkatesh, B. 2013. Evidence for at least six Hox clusters in the Japanese lamprey (*Lethenteron japonicum*). Proceedings of the National Academy of Sciences 110(40): 16044-16049.
- Moser, M. L.; Butzerin, J. M.; Dey, D. B., 2007. Capture and collection of lampreys: the state of the science. Rev Fish Biol Fish 17: 45–56.
- Müller, A., 1856. Ueber die Entwicklung der Neunaugen. Einvorläufiger Bericht. Arch Anat Physiol Wiss Med, 323–339.
- Mundahl, N. D., Erickson, C., Johnston, M. R., Sayeed, G. A., & Taubel, S. 2005. Diet, feeding rate, and assimilation efficiency of American brook lamprey. Environ Biol Fish 72(1): 67-72.
- Naseka, A. M., Tuniyev, S. B., Renaud, C.B. 2009. *Lethenteron ninae*, a new nonparasitic lamprey species from the north-eastern Black Sea basin (Petromyzontiformes: Petromyzontidae). Zootaxa 2198: 16-26.

- Nika, N. 2011. Reproductive ecology and success of sea trout *Salmo trutta* L. in a small lowland stream of western Lithuania. Doctoral dissertation, Klaipėda university, Coastal Research and Planning Institute, Klaipėda.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York.
- Ojutkangas, E., Aronen, K., Laukkanen, E. 1995. Distribution and abundance of river lamprey (*Lampetra fluviatilis*) ammocoetes in the regulated river Perhonjoki. Regul Rivers Res Manage 10(2-4): 239-245.
- Oliva, O. & Zanandrea, G. 1959. Posizione sistematica di una lampreda di Cilistovo (Cecoslovacchia). Doriana 2(98): 1–5.
- Oliva, O. & Hensel, K. 1962. On the occurrence of the south Russian lamprey, *Lampetra (Eudontomyzon) mariae* Berg 1931, in the Vistula basin. Acta Univ Carol Biol 1962(1): 99–104.
- Pereira, A. M., Robalo, J. I., Freyhof, J., Maia, C., Fonseca, J. P., Valente, A., & Almada, V. C. 2010. Phylogeographical analysis reveals multiple conservation units in brook lampreys *Lampetra planeri* of Portuguese streams. J Fish Biol 77(2): 361-371.
- Pereira, A. & Almada, V. C. 2013. Contrasts in the phylogeography of two migratory lampreys in western Europe. Frontiers of Biogeography, 5(1).
- Polzin, T., Daneshmand, S. V. 2003. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. Operations Research Letters 31: 12-20.

- Potter, I. C., Hill, B. J., Gentleman, S., 1970. Survival and behaviour of ammocoetes at low oxygen tensions. *J Exp Biol* 53 (1): 59-&.
- Potter, I. C. & Osborne, T. S. 1975: The systematics of British larval lampreys. *J Zool* 176: 311-329.
- Potter, I.C., 1980. Ecology of larval and metamorphosing lampreys. *Can J Fish Aquat Sci* 37: 1641-1657.
- Quintella, B. R.; Andrade, N. O.; Almeida, P. R., 2003: Distribution, larval stage duration and growth of the sea lamprey ammocoetes, *Petromyzon marinus* L., in a highly modified river basin. *Ecol Freshw Fish* 12: 286–293.
- Ratkowsky, D.A. 1983. *Nonlinear Regression Modeling: A Unified Practical Approach*. Marcel Dekker, New York, NY
- Raukas, A. 1991. Transgressions of the Baltic Sea and the peculiarities of the formation of transgressive coastal deposits. *Quaternaire* 2(3): 126-130.
- Rembiszewski, J. M. 1968. Observations on hybrids of *Lampetra* (*Lampetra*) *planeri* (Bloch, 1784) X *Lampetra* (*Eudontomyzon*) *mariae* Berg, 1931. *Vest Cs Spol Zool* 32(4): 390–393.
- Rembiszewski, J. M. 1971. Minogi dorzec Sanu i Strwiąza. [On lampreys of San and Strwiąg Rivers drainage basins.] *Fragmenta Faunistica Musei Zoologici Polonici* 17: 545–557. (In Polish)

- Renaud, C. B. 1997: Conservation status of Northern Hemisphere lampreys (Petromyzontidae). *J Appl Ichthyol* 13(3): 143–148.
- Renaud, C. B. 2011: Lampreys of the world. An annotated and illustrated catalogue of lamprey species known to date. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes No. 5. Rome.
- Renaud, C.B. & Holčík, J. 1986. *Eudontomyzon danfordi* Regan, 1911. pp. 146–164. In Holčík, J., ed. The Freshwater Fishes of Europe, Vol. 1, Part I, Petromyzontiformes, AULA–Verlag, Wiesbaden.
- Repečka, R., 2007. Jūrinė nėgė. *Petromyzon marinus* (Linnaeus, 1758). In V. Rašomavičius (ed.) Red Data Book of Lithuania. Vilnius: Lututė.
- Repečka, R. 2008 Upinių nėgių verslo Kuršių mariose galimybės. *Žuvininkystė Lietuvoje* 8: 84 – 97.
- Romero, P. 2002. An etymological dictionary of taxonomy. Madrid, unpublished. In FishBase.us
- Rubin, J.F. 1995. Estimating the success of natural spawning of salmonids in streams. *J Fish Biol* 46: 603–622.
- Saitou, N., Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4: 406-425
- Salewski, V. 2003. Satellite species in lampreys: a worldwide trend for ecological speciation in sympatry?. *J Fish Biol* 63(2): 267-279.

- Schreiber, A. & Engelhorn, R. 1998. Population genetics of a cyclostome species pair, river lamprey (*Lampetra fluviatilis* L.) and brook lamprey (*Lampetra planeri* Bloch). *J Zool Syst Evol Res* 36(12): 85-99.
- Sharman, A. C., Ai-S Chmidt, A. H. & Holland, P. W. H. 1997. Cloning and analysis of an HMG gene from the lamprey, *Lampetra fluviatilis*: gene duplication in vertebrate evolution. *Gene* 184: 99–105.
- Schultz, D. P. & Harman, P. D. 1978. Uptake, distribution, and elimination of the lampricide 2', 5-dichloro-4'-nitro [¹⁴C] salicylanilide (Bayer 2353) and its 2-aminoethanol salt (Bayer 73) by largemouth bass. *J Agric Food Chem* 26(5): 1226-1230.
- Sjöberg, K. 1977. Locomotor activity of river lamprey *Lampetra fluviatilis* (L.) during the spawning season. *Hydrobiologia*, 55(3): 265-270.
- Sjöberg, K. 2011. River lamprey *Lampetra fluviatilis* (L.) fishing in the area around the Baltic Sea. *Journal of Northern Studies*, 5.2 (2011): 51-86.
- Staponkus, R., Butkauskas D., Kesminas V., Sruoga, A. 2014. Investigation into genetic variability of parasitic and non-parasitic lampreys inhabiting western rivers in Lithuania. *Veterinarija ir Zootechnika*, 68(90): 77- 83.
- Staponkus, R. & Kesminas, V. (2014). Confirmation on hybrids of river lamprey *Lampetra fluviatilis* and brook lamprey *Lampetra planeri* from *in situ* hybridisation experiment in lowland rivers of Lithuania. *Polish Journal of Natural Sciences*, Vol 29(1): 49-54.

- Sugiyama, H., Goto, A. 2002. Habitat selection by larvae of a fluvial lamprey, *Lethenteron reissneri*, in a small stream and an experimental aquarium. *Ichthyol Res* 49: 62–68.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics* 105: 437-460.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A. & Kumar, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 30(12): 2725-2729.
- Thiel, R., Winkler, H. M., Riel, P., Neumann, R., Gröhsler, T., Böttcher, U., Spratte, S. & Hartmann, U. 2009. Endangered anadromous lampreys in the southern Baltic Sea: spatial distribution, long-term trend, population status. *Endanger Species Res* 8(3): 233-247.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22: 4673-4680
- Torgersen, C. E.; Close, D. A. 2004. Influence of habitat heterogeneity on the distribution of larval Pacific lamprey (*Lampetra tridentata*) at two spatial scales. *Freshwater Biol* 49: 614–630.

- Tuunainen, P., Ikonen, E. & Auvinen, H. 1980. Lampreys and lamprey fisheries in Finland. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37:1953–1959.
- Vasil'ev, V. P. 1980. Chromosome numbers of fish and fish-like animals. *J Ichthyol. USSR*, 20387.
- Virbickas, J., Gaigalas, K., Kesminas, V., Rudzianskienė, G., Stakėnas, S., Virbickas, T. 1996. Apskritažiomenių gausumas ir migracijos Lietuvos vandenyse (tyrimų ataskaita). Ekologijos institutas, Vilnius.
- Virbickas, J., 2000. Lietuvos žuvys. Vilnius, Trys žvaigždutės.
- Vladykov, V. D. & Kott, E. 1979. Satellite species among the Holarctic lampreys (Petromyzonidae). *Can J Zool* 57(4): 860–867.
- Young, R. J., Kelso, J. R. M. 1990. Occurrence, relative abundance, and size of landlocked sea lamprey (*Petromyzon marinus*) ammocoetes in relation to stream characteristics in the Great Lakes. *Can J Fish Aquat Sci* 47: 1773–1778.
- Zanandrea, G. S. J. 1959. Speciation among lampreys. *Nature* 184: 380.
- Zhukov, P. I., 1965: Distribution and evolution of fresh-water lampreys in the BSSR waters. *Vopr Ikhtiol* 5: 240-244. (In Russian).
- Wajgel, L. 1883. Die Zusammenziehung der zwei Arten *Petromyzon* (*P. Planeri* und *P. fluviatilis*) in Eine. *Verh Zool-Bot Ges, Wien*, 33: 311–320.

Weissenberg, R. 1925. Fluss- und Bachneunauge (*Lampetra fluviatilis* L. und *Lampetra planeri* Bloch), ein morphologisch-biologischer Vergleich. Zool Anz 63: 293–306.

White, M. M. & Martin, H. R. 2009. Structure and conservation of tandem repeats in the mitochondrial DNA control region of the least brook lamprey (*Lampetra aepyptera*). J Mol Evol 68: 715–723.

Witkowski, A. 1995. Stan obecny i perspektywy ochrony minogów Petromyzonidae w Polsce. [The present state and prospects [sic!] of lampreys Petromyzonidae in Polish waters.] Chrońmy Przyrodę Ojczystą 4: 19–29. (In Polish)

Witkowski, A. 2001. *Eudontomyzon mariae* (Berg, 1931). pp. 327–328. In: Głowaciński Z. (ed.) Polish red data book of animals. Vertebrates. PWRiL, Warszawa. (In Polish).

Wohl, E. E., Vincent K. R. and Merritts D. J. 1993. Pool and riffle characteristics in relation to channel gradient. Geomorphology 6(2): 99-110.

Lietuvos nacionalinis atlasas. www.geoportal.lt. Prisijungta 2014.09.20.

www.maps.lt. Vektorinių ir ortofografinių žemėlapių reljefo duomenis.

Prisijungta 2015. 05.15

9. Disertacijos tema publikuoti straipsniai ir konferencijų tezės

Publikuoti straipsniai:

Staponkus, R. & Kesminas, V. (2014). Confirmation on hybrids of river lamprey *Lampetra fluviatilis* and brook lamprey *Lampetra planeri* from *in situ* hybridisation experiment in lowland rivers of Lithuania. *Polish Journal of Natural Sciences*, Vol 29(1): 49-54.

Staponkus, R. & Kesminas, V. (2014). Status assessment of lampreys in Natura 2000 network in Lithuania. *Biologija*, 60(1):1-7.

Staponkus, R., Butkauskas D., Kesminas V., Sruoga A. (2014). Investigation into genetic variability of parasitic and non-parasitic lampreys inhabiting western rivers in Lithuania. *Veterinarija ir Zootechnika*, 68(90): 77- 83.

Konferencijų tezės:

Bioateitis: gamtos ir gyvybės mokslų perspektyvos 2011. Lietuvos nęginių apskritažiomenių būklės pokytis per 50 metų ir „ankstyvo perspėjimo“ monitoringo metodikos tobulinimas, Vilnius.

11th International Congress on the Biology of Fish 2014. Investigation into genetic variability of parasitic and non-parasitic lampreys inhabiting western rivers in Lithuania, Edinburgas.

10. Padėkos

Yra gana nemažai žmonių, kurie suteikė visokeriopą pagalbą ir palaikymą visų doktorantūros studijų laikotarpiu bei motyvavo disertacinio darbo rašymo metu. Vis dėlto pirmiausia noriu padėkoti Dovilei Barčkutei ir savo tėvams, Ričardui ir Neringai, už pagalbą ir emocinį bei finansinį palaikymą bakalauro, magistro ir galiausiai doktorantūros studijų metu.

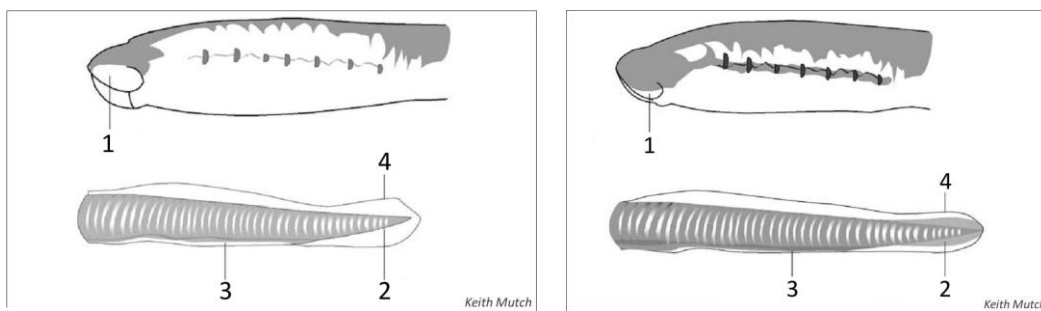
Dėkoju savo disertacinio darbo vadovui dr. Vytautui Kesminui už vadovavimą ir paskatinimą studijuoti Vilniaus universiteto ir Gamtos tyrimų centro Ekologijos instituto jungtinėje doktorantūroje, Hidrobiontų ekologijos ir fiziologijos laboratorijoje. Už visokeriopą pagalbą, palaikymą bei jaukią ir geranorišką aplinką esu dėkingas Molekulinės ekologijos laboratorijos kolektyvui: dr. (hb) D. Butkauskui, A. Ragauskim, prof., habil. dr. A. Sruogai ir dr. P. Prakui.

Dėkoju visiems savo mokslinių straipsnių bendraautoriams už bendradarbiavimą. Noriu padėkoti dr. Nerijui Nikai ir Kasparui Bagdonui iš Klaipėdos universiteto už pagalbą, renkant medžiagą Vakarų Lietuvos upėse, o taip pat dr. Janis Birzaks ir Kaspars Abersons iš Latvijos žemės ūkio universiteto, Maisto saugos, gyvūnų sveikatos ir aplinkos instituto „BIOR“ (lat. *Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts*) ir Piotr Debowski iš Lenkijos Stanislaw Sakowicz vardo vidaus vandenų žuvininkystės instituto Olštyne (lenk. *Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie*) už surinktus nęgių pavyzdžius iš Gaujos ir Vyslos upių baseinų.

11. Priedai

Vingilių identifikacija naudotas Gardiner (2003) raktas. Dėl didelio *L. planeri* ir *L. fluviatilis* panašumo, šiuo raktu galima atskirti tik *Lampetra* ir *Petromyzon* genčių individus.

Šis raktas paremtas šiais 5 požymiais:



Lampetra genties vingilis

Petromyzon marinus vingilis

1 pav. *Lampetra* genties ir *P. marinus* vingilių skiriamieji bruožai pagal Gardiner (2003).

Jūrinės nėgės vingilių lūpą beveik ištiesai dengia pigmentinės ląstelės – melanoforai, o *Lampetra* genties rūšių lūpos ventralinė dalis yra nepigmentuota, todėl tipiškai išryškėja pusemūlio formos šviesi dėmė.

1. Vienas iš požymių atskirti *Lampetra* spp. ir *Petromyzon marinus* vingilius – uodeginės pelekinės klostės pigmentacija. *Lampetra* gentyje melanoforai išsidėsto tik ant uodegos pamato; jūrinės nėgės vingilių pigmentacija intensyvesnė, o melanoforai išsidėsto ir ant pačios pelekinės klostės. Tipišku atveju, pirmiausia dėmesys kreipiamas į šį požymį, kadangi lūpos pigmentacija tarp *Lampetra* genties individų gali smarkiai varijuoti.

2. Ventralinės klostės pigmentacija jūrinės nėgės vingiliuose taip pat intensyvesnė, nes visa klostė būna nusėta melanoforų, tuo tarpu *Lampetra* spp. klostėse stebimi tik pavieniai melanoforai.

3. Uodeginės klostės forma taip pat skiriasi tarp šių dviejų genčių. *Lampetra* genties ji rombiška, o *P. marinus* – ovalo formos.

4. Paskutinis požymis – liemeninių miomerų skaičius (nuo paskutinio žiauninio plyšio iki analinės angos) dažniausiai naudojamas

identifikuoti individus, kurių rūšinę priklausomybę sunku nustatyti pagal jau išvardintus požymius. *Lampetra* spp. vingiliams būdingas miomerų skaičius – 57–66, *P. marinus* vingiliams – 69–75.

Mažosios ir upinės nęgių būklės kriterijų vertinimas

1 lentelė. Mažosios nęgės būklės kriterijų įvertinimas 2008 m.

Kriterijus	Upė	Būklė			
		Tinkamas	Netinkamas – Pakankamas	Netinkamas – blogas	Nežinomas (Nepakankamas informacijos kiekis įvertinimui)
Paplitimas	Merkys	Paplitusios daugelyje upės vietų, gausiau aukštupyje, žemupyje retesnės dėl netinkamų buveinių			
	Ūla	Paplitusios tinkamose upės vietose			
	Derežna	Paplitusios visose upės vietose			
	Verseka	Paplitusios visose upės vietose			
	Pasgrinda	Paplitusios visose upės vietose			
	Žeimena	Paplitusios tinkamose upės vietose			
	Saria	Paplitusios tinkamose upės vietose			
	Mera	Paplitusios tinkamose upės vietose			
	Sausdravas	Paplitusios visose upės vietose			
Populiacija	Merkys		Tankumas kinta nuo 0 iki 11 ind./m ² (vidurkis – 5 ind./m ²).		
	Ūla		Tankumas kinta nuo 0 iki 7 ind./m ² (vidurkis – 3 ind./m ²).		
	Derežna		Populiacija negausi (vidurkis – 2 ind./m ²).		

	Verseka		Populiacija negausi (vidurkis – 1 ind./m ²).		
	Pasgrinda		Populiacija negausi (vidurkis – 4 ind./m ²).		
	Žeimena		Populiacija negausi (vidurkis – 3 ind./m ²).		
	Saria		Populiacija negausi (vidurkis – 1 ind./m ²).		
	Mera		Populiacija negausi (vidurkis – 4 ind./m ²).		
	Sausdravas		Populiacija negausi (vidurkis – 6 ind./m ²).		
Tinkamos buveinės rūšiai	Merkys		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Ūla		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Derežna	Tinkamų buveinių gausu			
	Verseka		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Pasgrinda		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Žeimena		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Saria		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Mera		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Sausdravas	Tinkamų buveinių labai gausu			
Ateities perspektyvos	Merkys	Ypatingų grėsmių nėra			
	Ūla	Ekologinės			

		sąlygos geros.			
	Derežna	Ekologinės sąlygos geros			
	Verseka		Pakankamai geros		
	Pasgrinda	Pakankamai geros			
	Žeimena	Pakankamai geros			
	Saria	Pakankamai geros			
	Mera	Pakankamai geros			
	Sausdravas	Pakankamai geros			

2 lentelė. Upinės nėgės būklės kriterijų įvertinimas 2008 m.

Kriterijus	Upė	Būklė			
		Tinkamas	Netinkamas - Pakankamas	Netinkamas - blogas	Nežinomas (Nepakankamas informacijos kiekis įvertinimui)
Paplitimas	Šventoji	Neršia visose tinkamose vietose, nerštaviečių gausumas vidutinis. Žemupyje upinių nėgių užsilaiko nedaug, migruoja aukštyn upe, neršia intakuose (upėje stebėtas tik vienas ruožas)			
	Siesartis	Paplitusios visose upės vietose, aptinkamumo dažnis – 100%			
	Širvinta	Gausiai paplitusios. Neršto metu nerštaviečių gausu			
Populiacija	Šventoji	Populiacija vidutiniškai gausi, tyrimo metu rastos 8 nerštavietės (upėje stebėtas tik vienas ruožas)			

	Siesartis	Populiacija vidutiniškai gausi, tyrimo metu rasta 17 nerštviečių 1,2 km upės ruože.			
	Širvinta	Populiacija gausi, tyrimo metu rastos 34 nerštavietės 1,2 km upės ruože.			
Tinkamos buveinės rūšiai	Šventoji	Tinkamų buveinių yra	Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Šventoji (Baltijos jūra)	Tinkamų buveinių gausu			
	Mūša		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Siesartis	Tinkamų buveinių labai gausu			
	Širvinta	Tinkamų buveinių labai gausu			
	Šventoji		Populiacija gausi, tačiau skirtingais metais gausumas varijuoja. Grėsmių sumažėjimui nėra.		
	Siesartis	Populiacija turėtų išlikti stabili,			
	Širvinta	Populiacija turėtų išlikti stabili,			

3 lentelė. Mažosios nėgės būklės kriterijų įvertinimas 2012 m. – 2013 m.

Kriterijus	Upė	Būklė			
		Tinkamas	Netinkamas – Pakankamas	Netinkamas – blogas	Nežinomas (Nepakankamas informacijos kiekis įvertinimui)
Paplitimas	Merkys	Paplitusios daugelyje upės vietų, gausiau aukštupyje, žemupyje retesnės dėl netinkamų buveinių			
	Ūla	Paplitusios tinkamose upės vietose			
	Derežna	Paplitusios visose upės vietose			
	Verseka	Paplitusios visose upės vietose			
	Pasgrinda	Paplitusios visose upės vietose			
	Žeimena	Paplitusios tinkamose upės vietose			
	Saria	Paplitusios tinkamose upės vietose			
	Mera	Paplitusios tinkamose upės vietose			
	Sausdravas	Paplitusios visose upės vietose			
	Populiacija	Merkys	Tankumas kinta nuo 0 iki 93 ind./m ² (vidurkis – 26 ind./m ²).		
Ūla		Tankumas kinta nuo 2 iki 122 ind./m ² (vidurkis 56 ind./m ²).			
Derežna			Populiacija negausi (vidurkis – 2 ind./m ²).		
Verseka			Populiacija negausi (vidurkis – 1 ind./m ²).		
Pasgrinda			Populiacija negausi (vidurkis – 4 ind./m ²).		
Žeimena			Populiacija negausi (vidurkis – 3		

			ind./m ²).		
	Saria		Populiacija negausi (vidurkis – 1 ind./m ²).		
	Mera		Populiacija negausi (vidurkis – 4 ind./m ²).		
	Sausdravas		Populiacija negausi (vidurkis – 6 ind./m ²).		
Tinkamos buveinės rūšiai	Merkys	Tinkamų buveinių gausu			
	Ūla	Tinkamų buveinių gausu			
	Derežna	Tinkamų buveinių gausu			
	Verseka		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Pasgrinda		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Žeimena		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Saria		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Mera		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Sausdravas	Tinkamų buveinių labai gausu			
Ateities perspektyvos	Merkys	Ypatingų grėsmių nėra			
	Ūla	Ekologinės sąlygos geros.			
	Derežna	Ekologinės sąlygos geros			
	Verseka		Pakankamai geros		
	Pasgrinda	Pakankamai geros			
	Žeimena	Pakankamai geros			
	Saria	Pakankamai geros			
	Mera	Pakankamai geros			
Sausdravas	Pakankamai geros				

4 lentelė. Upinės nėgės būklės kriterijų įvertinimas 2012 m. – 2013m.

Kriterijus	Upė	Būklė			
		Tinkamas	Netinkamas - Pakankamas	Netinkamas - blogas	Nežinomas (Nepakankamas informacijos kiekis įvertinimui)
Paplitimas	Šventoji		Paglitusios iki Kavarsko užtvankos, aptinkamumo dažnis – 66%		
	Šventoji (Baltijos jūra)		Paplitusios iki Laukžemės malūno užtvankos, aptinkamumo dažnis – 100%		
	Mūša			Vingilių nesugauta	
	Siesartis	Paplitusios visose upės vietose, aptinkamumo dažnis – 100%			
	Širvinta		Paplitusios tik dalyje upės, aptinkamumo dažnis – 50%		
Populiacija	Šventoji		Populiacija stabili ir gausi (vidurkis 4 ind./m ²).		
	Šventoji (Baltijos jūra)		Populiacija stabili ir gausi (vidurkis 46 ind./m ²).		
	Mūša			Vingilių nesugauta	
	Siesartis		Populiacija negausi (vidurkis - 8 ind./m ²).		
	Širvinta		Populiacija negausi (vidurkis – 41 ind./m ²).		
Tinkamos buveinės rūšiai	Šventoji		Tinkamų buveinių vidutiniškai gausu		
	Šventoji (Baltijos jūra)	Tinkamų buveinių gausu			
	Mūša		Tinkamų buveinių		

			vidutiniškai gausu		
	Siesartis	Tinkamų buveinių gausu			
	Širvinta	Tinkamų buveinių gausu			
Ateities perspektyvos	Šventoji (Baltijos jūra)	Ekologinės sąlygos geros.			
	Mūša	Ekologinės sąlygos geros.			
	Šventoji	Ekologinės sąlygos geros.			
	Siesartis	Ekologinės sąlygos geros			
	Širvinta	Pakankamai geros			