

37. OTDK Biológia Szekció:

Az invazív *Mnemiopsis leidyi* bordásmedúza (Ctenophora) faj szaporodása és korai egyedfejlődése az Észak-Adriai-tengerben

Papp Krisztián Szabolcs, Biológia BSc 4. évfolyam

Eszterházy Károly Katolikus Egyetem, Ruđer Bošković Intézet

Témavezetők: Dr. Tjaša Kogovšek és Dr. Murányi Dávid

Tartalomjegyzék

Bevezető	3
<i>Észak-Adriai-tenger</i>	3
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	3
Célkitűzés	3
Anyagok és módszerek	4
<i>Gyűjtés</i>	4
<i>Inkubációs kísérletek</i>	5
<i>Hermafrodita reprodukció különböző hőmérsékleteken</i>	5
<i>Peték fejlődése</i>	6
<i>Peték fejlődésének követése</i>	7
<i>Adatelemzés</i>	7
Eredmények	8
<i>Méret hatása a reprodukcióra</i>	8
<i>Korai egyedfejlődés</i>	10
<i>Peték fejlődésének követése</i>	11
Diskusszió	12
Köszönetnyilvánítás	13
Nyilatkozat a MI használatról	14
Irodalom	14

Bevezető

Észak-Adriai-tenger

Egy magas sótartalmú, sekély tenger 60 méter alatti átlagmélységgel (Giani et al., 2012). A hőmérséklet-tartománya 12°C és 28 °C között terjed, 16°C-os évi középhőmérséklettel. A felszíni áramlatokat erős délkeleti szelek cirkulálják, a tengervíz először északtól halad északnyugati irányba, ahonnan délre halad tovább. Világszerte az egyik legérzékenyebb partszakaszok egyikéhez tartozik: környezetszennyezésnek, túlhalászatnak és klímaváltozásnak van kitéve, aminek élőhelypusztulás az eredménye, mindez antropogén nyomás hatására (Malej et al., 2017).

Mnemiopsis leidyi

Mnemiopsis leidyi A. Agassiz, 1865 a Ctenophora törzsön belül a Tentaculata osztályhoz tartozik, pontosabban a Lobata rendhez és a Bolinopsidae családhoz. Az egyetlen *Mnemiopsis* nemzetséghez tartozó faj, amióta bebizonyították a polimorfizmusban kifejeződő kitűnő adaptációs képességüket genetikai kutatások elvégzésével. Ebből adódóan, további két különböző fajként lett leírva, nevezetesen *Mnemiopsis gardeni* L. Agassiz, 1860, illetve *M. mccradyi* Mayer, 1900, egyaránt érvénytelenek napjainkban (Shiganova, 2020).

Az Atlanti-óceán nyugati partjain őshonos bordásmedúza, aktuális elképzelések szerint, hajók ballasztvizéből került az Adriai-tengerbe, ami 2016 óta foglalkoztatja a kutatókat (Malej et al., 2017). Ezenkívül, a Természetvédelmi Világszövetség nem meglepően a Föld 100 leginvazívabb fajai közt tartja számon, mivel a fentiekben érintett alkalmazkodóképességük eredményeképp tág fiziológiai toleranciatartománnyal és gyors egyedfejlődéssel rendelkeznek. Hermafrodita, planktivor szervezetek magasfokú szaporodóképességgel párosítva (Costello et al., 2012). Invazív jellegüket kiemelve, populációikat természetes ragadozójuk kizárólag őshonos vizeiben kontrollálja. A faj kutatása, ökofiziológiai plaszticitása következményeként, minden élőhelyén szükséges a tengerek biodiverzitásának fenntartása érdekében.

Célkitűzés

Egy fejlesztett elképzelést kialakítani az invazív faj populációdinamikájáról, a meglepően kiváló adaptációs képességekre való tekintettel. Ez magában foglalja a hőmérséklet és a teljes testhossz (TTH) hatásának vizsgálatát hermafrodita szaporodásuk keretében, a kezdetleges ontogenezisük tanulmányozásával együttvéve.

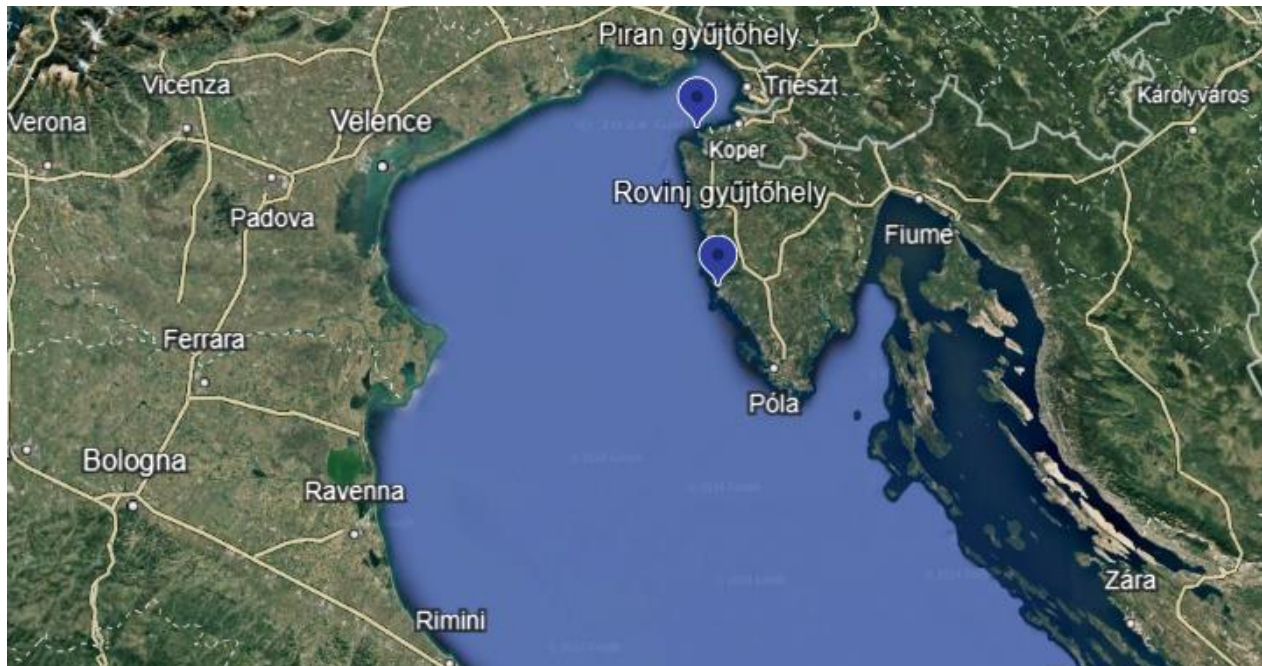
Anyagok és módszerek

Gyűjtés

Összesen 91 *M. leidy* egyed hermafrodita szaporodását vizsgáltam meg, amelyek az Észak-Adriai-tengerből kerültek begyűjtésre (1. ábra). A gyűjtések dagálykor történtek a tengerpartról, egy teleszkópos halászháló és egy vödör segítségével (1. Táblázat). Az állatok sérülésének elkerülése érdekében a használt háló lyukbőssége kicsi, a vödörben található tengervíz helyben került feltöltésre és a begyűjtés mozdulata finom, viszont gyors volt, illetve a közvetlen napsütéstől is védve voltak az organizmusok. Egy órán belül a laboratóriumba szállítottam a begyűjtött bordásmedúzákat.

1. ábra

Gyűjtőhelyek elhelyezkedése Google Earth térképen.



1. Táblázat

A gyűjtés pontos adatai, a begyűjtött példányok számával, illetve inkubációjuk körülményeivel.

Időpont	Helyszín (Koordináták)	Egyedszám	Kísérlet körülményei
2023.10.03	Rovinj (45.085951, 13.637828)	7	22°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2023.10.05	Rovinj (45.085951, 13.637828)	1	22°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2023.10.11	Rovinj (45.085951, 13.637828)	20	22°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2023.10.16	Rovinj (45.085951, 13.637828)	7	22°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2023.11.14	Piran (45.527114, 13.567285)	14	17°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2023.11.14	Piran (45.527114, 13.567285)	5	Szobahőmérséklet
2023.11.27	Piran (45.527114, 13.567285)	13	14°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2023.11.27	Piran (45.527114, 13.567285)	5	Szobahőmérséklet
2024.06.19	Rovinj (45.085951, 13.637828)	6	25°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2024.07.08	Rovinj (45.085951, 13.637828)	1	25°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2024.08.06	Rovinj (45.085951, 13.637828)	3	25°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2024.08.28	Rovinj (45.085951, 13.637828)	2	25°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2024.08.30	Rovinj (45.085951, 13.637828)	1	25°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség
2024.10.08	Rovinj (45.085951, 13.637828)	6	25°C, 12 óra fény / 12 óra sötétség

A kutatás kezdeténél kontrollcsoport kialakítására fókuszáltam, minden potenciális méretből gyűjtöttem bordásmedúzákat. A kontrollcsoport inkubációit 22°C-on végeztem el és egyidejűleg elkezdtem kiértékelni az eredményeket is. Ebből kifolyólag kirajzolódott egy tendencia, aminek következtében kizárólag 6,0 cm teljes testhosszt (TTH) meghaladó egyedeket gyűjtöttem be. Ennek ellenére, a 25°C-on történt inkubációkhoz kisebb példányokat is felhasználtam, mivel ritkán fordultak elő az organizmusok abban az időszakban.

Inkubációs kísérletek

Hermafrodita reprodukció különböző hőmérsékleteken

A laborban először ellenőriztem az egészségüket, annak érdekében, hogy kizárólag sértetlen állapotú egyedeket használjak a kísérletekhez. Korábbi kutatások inkubációs standardprotokollját követtem (Sasson & Ryan, 2016), miszerint a bordásmedúzákat külön-külön, szűrt tengervízzel (Whatman GF/F szűrő, 0.8 µm pórusátmérővel) teli főzőpoharakban helyeztem el. A kicsi, két centiméternél kisebb példányokhoz 100 ml-es, a nagy, 6,0 centiméter feletti egyedekhez 1000 ml-es és a közepes méretűekhez pedig 600 ml-es főzőpoharakat használtam. Ezt követően inkubátorban tartottam a bordásmedúzákat 24 órán át, 12 óra nap, illetve 12 óra éjszaka beütemezett szimulálásával. Az inkubáció az *in situ* körülményeket törekedett imitálni, ezért a

hőmérséklet az akkor aktuális tengeri vízhőmérséklethez viszonyítva volt előre beállítva $\pm 1^{\circ}\text{C}$ eltéréssel, a termikus stressz elkerülésének érdekében.

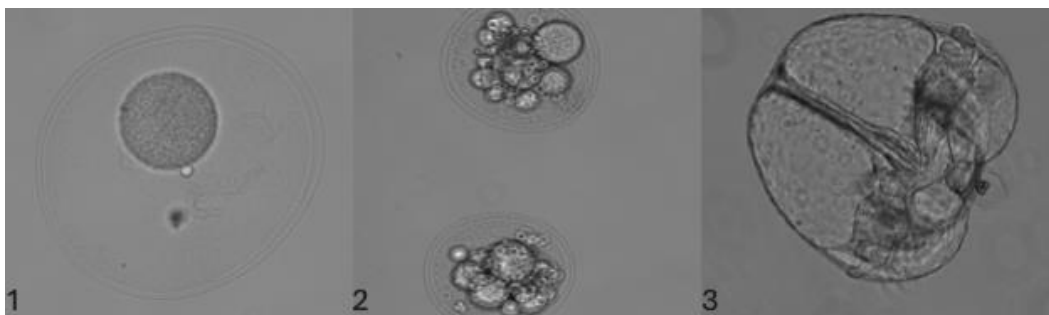
Összegezve, 13 *M. leidyi* inkubálása történt 14°C -on, 14 egyed 17°C -on, 35 példány 22°C -on és 25°C -on pedig 19, miközben képtelenek voltak táplálkozni. Miután véget ért az inkubáció, kivettem a bordásmedúzákat a főzőpoharukból és azonnal Petri-csészébe helyeztem őket, amiben lemértem a teljes testhosszukat (TTH) vonalzóval $\pm$ milliméter pontosságra. A következő lépésben, főzőpoharak vízminta tartalmát műanyag flakonokba átöntve fixáltam, amihez formaldehidet használtam fel. Ez szükséges volt a peték fejlődésének megállításához, ezzel pontos adatokat elérve egy 24 órás inkubáció keretében. A vízmintákból homogenizálás után egy Petri-csészébe öntöttem részmintákat, aminek kockás mintázatú alja volt, ezzel elősegítve az utódszám meghatározásának nyomon követését. Ezeket a részmintákat egy Leica MZ10 F sztereo mikroszkóp alatt vizsgáltam át. Egy hosszú tű alkalmazásával biztosítottam a Petri-csésze szélén rejtőzködő ivadékok számbavételét. Ezen kívül, egy mechanikus kézi számláló használata segített az utódok megszámlolásában. A teljes minta átvizsgálása után a részminták összegéből lett kifejezve az egy nap alatt termelt utódok száma bordásmedúzánként ($N/\text{ind} \cdot \text{d}$).

Peték fejlődése

Két féle módon jegyeztem fel az ivadékok fejlődését. Az első megközelítés szerint, miközben a fentiekben leírt inkubációk nagyszámú peterakásait számoltam, párhuzamosan három kategóriába soroltam be az utódokat. Ez a 3 kategória nevezetesen: 1 – fejletlen pete; 2 – szegmentált pete; és 3 – kifejlett, szabadon úszó lárva (2. ábra). Az első kategóriába kerültek azok a peték, amelyek nem mutatták a fejlődés jelét. A második kategória egy tág spektrumot foglal magába, ide számítottam azokat a petéket, amelyek fejlődésnek indultak, de még nem érték el a lárvális fejlődési szakaszt. Végül elkülönítve számoltam a kifejlett lárvákat a harmadik kategóriába. Mindez 26 *M. leidyi* (6 példány 14°C -on, 13 egyed 22°C -on és 25°C -on pedig 7) petéinél valósult meg. Nem állt módomban valamennyi inkubált bordásmedúza petéinek kategorizálása, mivel egyes egyedek nem produkáltak eredményeket a kis méretük miatt, illetve a 17°C -os inkubációk eredményeit több, mint egy fél év után voltam képes átvizsgálni és azon a ponton fixálás ellenére is képtelenség volt az utódok fejlődési stádiumát meghatározni.

2. ábra

Korai egyedfejlődés különböző stádiumai: 1 – fejletlen pete; 2 – szegmentált pete; és 3 – kifejlett, szabadon úszó lárva



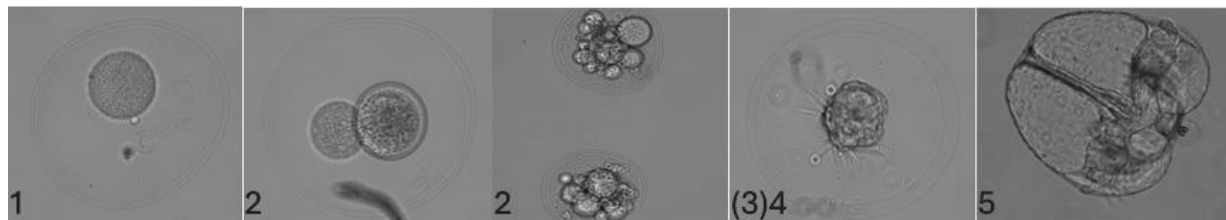
Peték fejlődésének követése

A második megközelítés szerint, tíz szobahőmérsékleten tartott *M. leidy*i közül három egyed petéinek fejlődését kísértem figyelemmel. Az előzőekben leírt kísérletektől eltérően nem használtam inkubátort, hogy képes legyek a vízmintákat petelerakás észleléséig átkutatni. A szűrt tengervízzel (Whatman GF/F szűrő, 0.8 μ m pórusátmérővel) teli főzőpoharakat, amikben az állatokat tartottam, kicseréltem három, öt, hat és kilenc óra után. Ez lehetővé tette a kezdetleges egyedfejlődésük pontos megfigyelését (t_0).

Összesen 50 petét izoláltam pipettával egy 96-lyukú mikrolemezen, két időben elválasztott kísérletben. A peték fejlődését közel óránként tartottam szemmel egy Leica MZ10 F sztereo mikroszkóp használatával. Így egy teljes képet tudtam alkotni a korai egyedfejlődésükről, viszont pontosabb fejlődési stádiumok bevezetését igényelte ez a folyamat (3. ábra). Fejlődésük nyomon követése a fejletlen peténél (1) kezdődik, majd a pete osztódásnak indul, eléri a szegmentált stádiumot (2). Következik a gastrula állapot (3), amit egy átmeneti fázis (4) követ és csak ezután fejlődik ki a lárva (5).

3. ábra

Részletes korai egyedfejlődés szakaszai. Kiemelten, a pete első osztódásától kezdve szegmentáltnak számít, ezen kívül nem készült külön kép a gastrula állapotról, viszont az átmeneti fázistól csak a csillók hiányában tér el. 1 – fejletlen pete; 2 – szegmentált pete; 3 – gastrula állapot; 4 – gastrula/ lárva átmeneti fázis; 5 – lárva



Adatelemzés

Valamennyi grafikon (4–7. ábra) Microsoft Excel-ben készült. A számadatok statisztikai elemzése RStudio használatával történt.

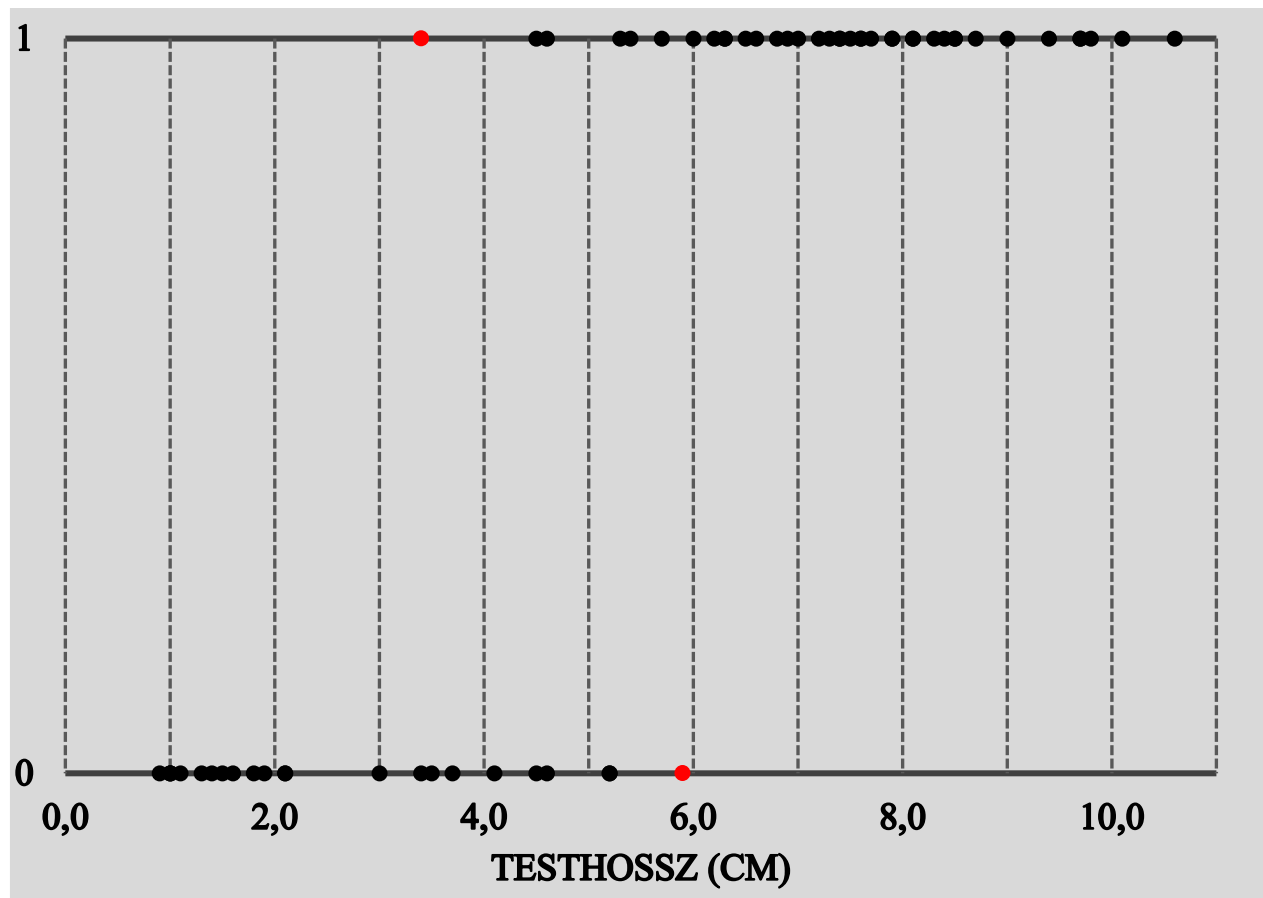
Eredmények

Méret hatása a reprodukcióra

Az inkubációs kísérletekben összesen 81 egyed szaporodását vizsgáltam meg 14°C, 17°C, 22°C és 25°C-os hőmérsékleten. A teljes testhosszukat (TTH) tekintve 0,9 és 10,6 cm közötti példányok egyaránt előfordultak (átlagméret $\pm$ szórás: 5,7 cm $\pm$ 2,6 cm). Testméretet tekintve, a legkisebb szaporodó bordásmedúza 3,4 cm (TTH) volt, egy petét rakott le az inkubáció során (4. ábra).

4. ábra

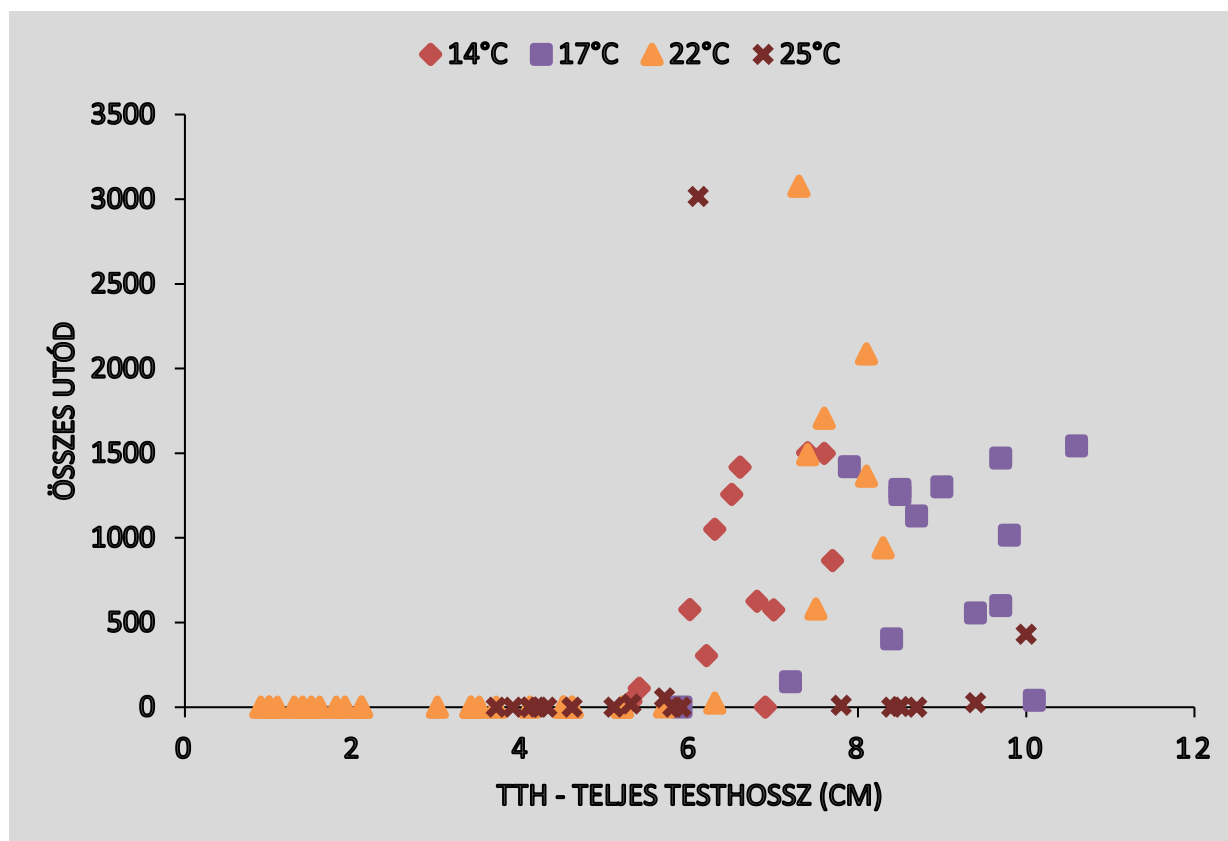
Bordásmedúzák reprodukciója teljes testhossz (TTH) tekintetében. A nem szaporodó példányokat 0 értékkel különítettem el az 1-el jelölt szaporodó egyedektől, amelyek legalább egy petét raktak le. A legkisebb szaporodó és a legnagyobb eredmény nélküli bordásmedúzát pirossal emeltem ki.



Összesítve, a 6,0 centiméternél kisebb (TTH) bordásmedúzák kevesebb, mint 100 utódot hoztak létre naponta, egy 5,4 cm (TTH) példány kivételével, amely 14°C-os inkubáció során 111 petét rakott le (5. ábra). Ugyanakkor, az említett mérettartományhoz tartozó állatok mindössze 18,6%-a mutatta a szaporodás jeleit. Ezzel ellentétben, a 6,0 cm (TTH) méretet meghaladó példányok mindegyike szaporodott, három 25°C-on inkubált egyed kivételével (6,0 cm, 8,4 cm és 8,7 cm TTH). Hat nagyméretű *M. leidyi* rendhagyóan kevés petét rakott le (6,9 cm TTH 14°C-on összesen 1-et, 10,1 cm TTH 17°C-on 40-et, 6,3 cm TTH 22°C-on 25-öt, 7,8 cm TTH 25°C-on 12-öt, 8,5 cm TTH 25°C-on 4-et és 9,4 cm TTH 25°C-on 26-ot). A lerakott peték számának mediánja, >6,0 cm méretű (TTH) bordásmedúzák esetében, 979.

5. ábra

Teljes utódszám elkülönítve 14°C-os, 17°C-os, 22°C-os és 25°C-os inkubációk eredményeire. Az adatok átláthatóságának javítása érdekében, egy kiugró értéket okozó bordásmedúza eredményét nem tartalmazza (7,9 cm TTH, 22°C-on 5161 utódot hozott létre).



Kizárólag a >6,0 cm TTH egyedek eredményeit tekintve (2. Táblázat), a 25°C-on történt inkubációk kivételével, mind normál eloszlású. Azonban kétmintás t-próba alkalmazásával nem találtam szignifikáns összefüggést a méretük és utódszámuk között ($t = 1.092$, $p = 0.303$ 14°C-on, $t = 0.475$, $p = 0.644$ at 17°C-on és $t = 0.928$, $p = 0.384$ 22°C-on). Egyszempontos varianciaanalízist végeztem el a 14°C-os, 17°C-os és 22°C-os csoportok eredményeinek összehasonlítására, ami szignifikáns eltérésre utalt a csoportok között ($F = 3,374$, $p = 0,048$), viszont a Tukey-Kramer-próba még a kiugró értékeket beleszámítva se mutatott statisztikailag szignifikáns eltéréseket a csoportok között (14°C csoportja összehasonlítható 17°C csoportjával 0,987 p-értékkel, 14°C és 22°C csoportok összehasonlításának p-értéke 0,067, illetve 17°C és 22°C összehasonlításának p-értéke 0,076).

2. Táblázat

Valamennyi 6,0 cm TTH meghaladó bordásmedúza átlag mérete, legkisebb, illetve legnagyobb produkált eredménye és az átlag utódszám szórással együtt, elkülönítve a négy vizsgált hőmérsékleten.

Hőmérséklet	Átlag TTH $\pm$ Szórás (cm)	MIN Utódszám	MAX Utódszám	Átlag Utódszám $\pm$ Szórás
14°C	6.8 $\pm$ 0.6	1	1503	879 $\pm$ 508
17°C	9.0 $\pm$ 1.0	40	1542	936 $\pm$ 521
22°C	7.6 $\pm$ 0.6	25	5161	1826 $\pm$ 1528
25°C	8.1 $\pm$ 1.4	0	3017	436

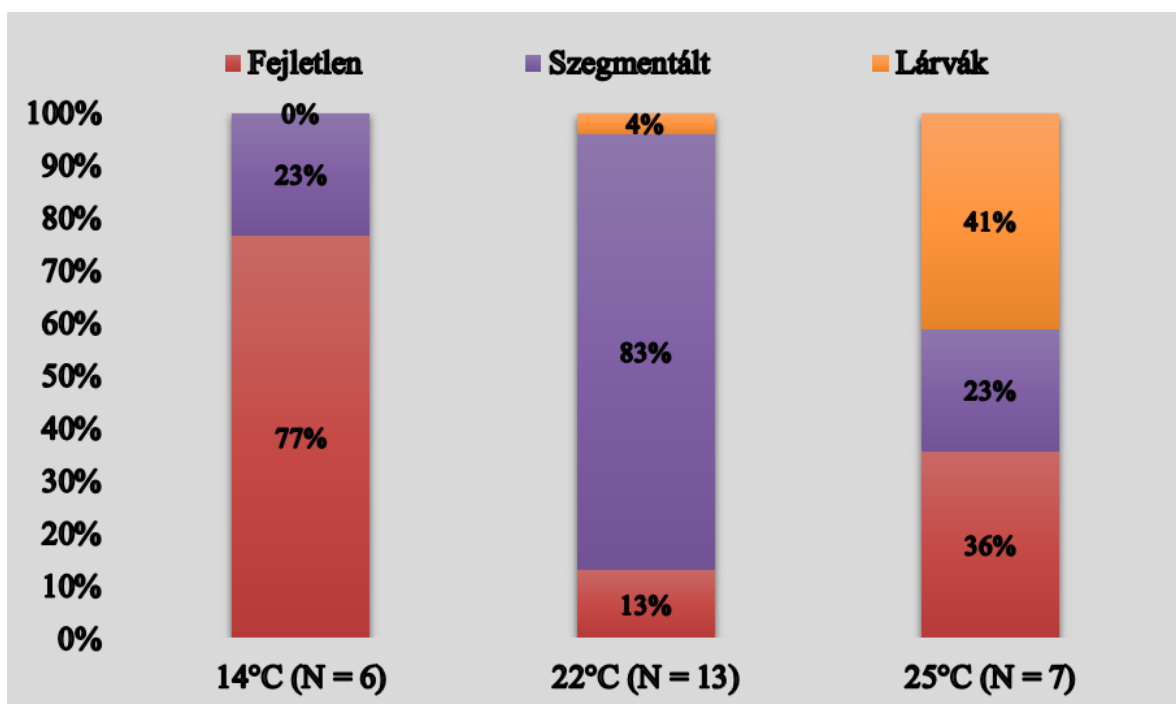
Korai egyedfejlődés

Eltekintve attól, hogy a mennyiségi számadatok nem mutatnak szignifikáns eltérést különböző hőmérsékleteken, az utódok fejlődésének varianciája szembetűnő volt 14°C, 22°C és 25°C csoportjai között (6. ábra). A kísérletek kimutatták, hogy 14°C-on látványosan lassabban fejlődtek a peték, mivel a 24 órás inkubáció során egyetlen utód se érte el a kifejlett lárvális állapotot. Ennek ellenében, 22°C-on a peték 4%-a lárva állapotban volt jelen, 25°C sikeres inkubációinál pedig az ivadékok 41%-a szabadon úszó lárva volt. Mann-Whitney-próbát alkalmazva azonos kategóriák összehasonlítására, szignifikáns eltéréseket mutatott 14°C és 22°C között (fejletlen peték: $p < 0,001$, szegmentált peték: $p < 0,001$ és kifejlett lárvák: $p = 0,038$),

14°C és 25°C között (kifejlett lárvák: $p = 0,007$), illetve 22°C és 25°C között (szegmentált peték: $p < 0,001$ és kifejlett lárvák: $p = 0,010$).

6. ábra

Valamennyi sikeresen szaporodó Ctenophora utódszámának átlagai a három fejlődési kategóriára osztva 14°C, 22°C és 25°C-on.

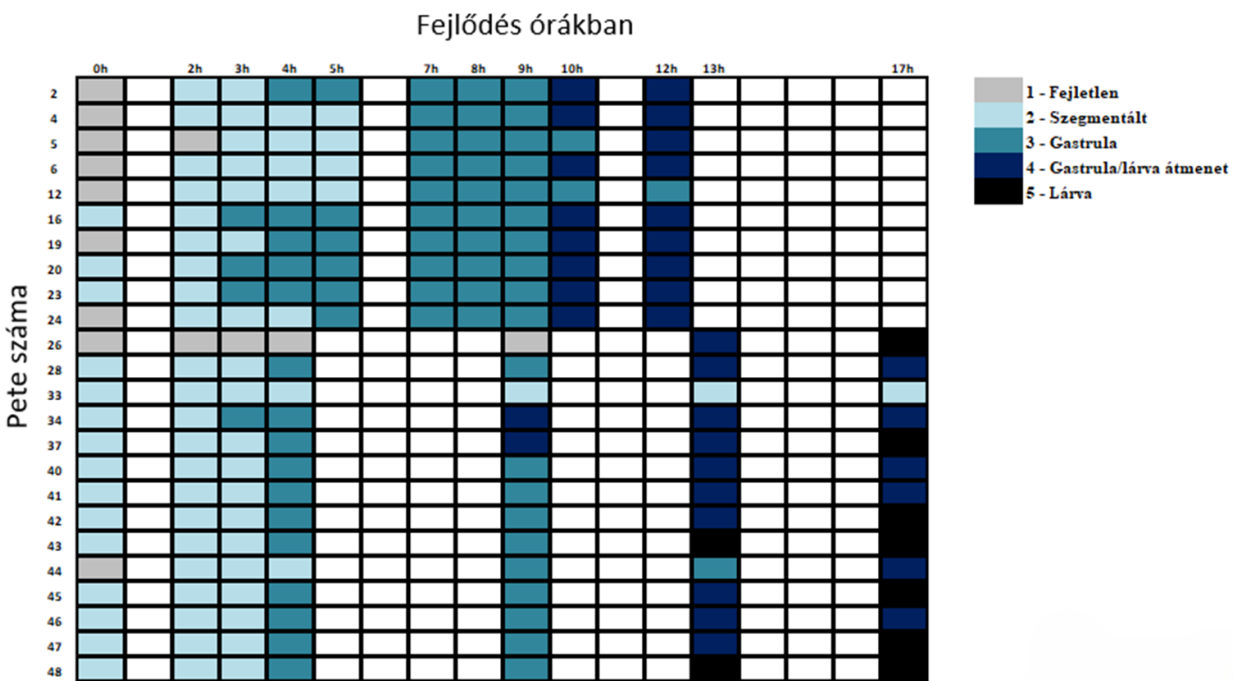


Peték fejlődésének követése

Mindkét kísérletet egybevéve, összesen 50 pete fejlődését követtem szobahőmérsékleten közel óránkénti intervallumokban. Ezek közül 26 pete nem fejlődött tovább a vizsgálat során. A fennmaradt 24 egyedi eltérést mutató sebességgel fejlődött (7. ábra). A friss peték akár egy órán belül elkezdhetnek osztódni, de ez három óráig is eltarthat. Ezen a ponton két-három órát töltenek szegmentált peteként. Ezt követi a gastrula állapot, ami három vagy akár öt órát is igénybe vehet, ezzel a leghosszabb fejlődési szakasznak számít. A gastrula/lárva átmeneti fázisban rendkívül változatos időt töltenek el. Mindezek ellenére fontos kiemelni, hogy a leggyorsabban fejlődő utódok 13 óra alatt elérték a lárvális állapotot.

7. ábra

A fentiekben említett 24 pete fejlődése az idő függvényében.



Diszkusszió

A vizsgálat a *M. leidyi* szaporodóképességének és korai egyedfejlődésének kutatására törekedett. Korábbi kutatások ugyan vizsgálták a faj reprodukcióját, azonban nem az Észak-Adriai-tengerre és nem specifikusan a hőmérséklet befolyásoló hatására fókuszáltak a kezdetleges ontogenezist tekintve.

A pályamunkában kimutattam, hogy az Adriai-tengerben a 6,0 cm (TTH) feletti egyedek szaporodnak számottevően, ami eltér más élőhelyen folytatott kutatásoktól (Shiganova, 2020). Kiváltó tényezője feltehetően a bordásmedúzák energiaallokálása; nagyméretű példányok képesek energiát fordítani a gaméták termelésére. Feltételezhetően a raktározott energia abundanciája miatt nincs szignifikáns korreláció méret és utódszám között. Ezenkívül, az Adriai-tenger magas sótartalmának elviselése érdekében nőnek a bordásmedúzák nagyobbra, mint más tengerekben (Shiganova, 2020).

A hőmérsékletet figyelembe véve, 14°C-tól 22°C-ig zavartalanul működtek az egyedek, ennek ellenében 25°C-os inkubációk során tapasztaltam sérült példányokat, illetve az eredményeik sem voltak normal eloszlásúak. A faj hőmérsékleteti optimuma pontosan nem rajzolódott ki, viszont minimum 14°C-tól 22°C-ig ideálisak számukra a körülmények, ami jellemző az Észak-Adriai-tenger hőmérsékletére. Magasabb hőmérsékleten felgyorsul az anyagcsere, így éhezésnek kitéve elkezdenek bomlani, ezzel szemben az utódok gyorsabban fejlődnek.

Nem állt módomban óránként megfigyelni az ivadékokat, így a gastrula/lárva átmeneti fázisban töltött időtartam bizonytalan, illetve érdemes lenne jövőbeli kutatásokban alacsonyabb hőmérsékleten nyomon követni a peték fejlődését. Kiemelkedő eredménynek számítanak az utódok, amelyek 13 óra alatt fejlődtek lárvákká, ugyanis korábbi kutatások feljegyzése szerint ez a folyamat 18 vagy akár 24 órát is igénybe vehet (Pang & Martindale, 2008). Ezt szintén a magasabb hőmérséklet teszi lehetővé, ami a természetben esszenciális lehet a túlélésük kapcsán. Ebből adódóan, a globális felmelegedés fokozza az invazív faj életképességét.

Továbbá a kutatás során szándékoztam párhuzamosan az őshonos bordásmedúza, *Leucothea multicornis* Quoy & Gaimard, 1824 szaporodásának tanulmányozását is, összehasonlítható eredmények érdekében. Ez nem valósult meg a faj jelenlétének hiányában, jelenleg egy kutatás sem foglalkozott *L. multicornis* reprodukciójával.

Összefoglalva, az invazív *M. leidyi* bordásmedúza kiváló kompetitor, ugyan kizárólag antropogén beavatkozással képes terjedni, azonban folyamatos nyomást gyakorol őshonos fajokra és nem mutatják a lassítás jelét.

Köszönetnyilvánítás

A Tempus Közalapítvány Erasmus+ programja nélkül nem értem volna el az eredmények felét sem, amiért hálás vagyok és amit nagyra becsülök. Elsőként köszönöm a mentoromnak, Dr. Tjaša Kogovšek kutatónak a szívélyes fogadtatását, a szakmai ismeretterjesztését és a segítségét a kutatás koordinálásában. Kiemelt köszönetet érdemel Dr. Murányi Dávid tanszékvezető egyetemi docens, aki az első félétől kezdve segítőkészen konzultált, majd keresett olyan gyakorlati helyeket, ahol szívesen kutatnék, elérte hogy elfogadjanak ott kezdőként és elősegített, hogy el is juthassak oda. Szeretném megköszönni Dr. Manja Rogelja szíves segítségét, a Piranból származó medúzákat ő bocsátotta rendelkezésünkre. Továbbá köszönöm a Ruđer Bošković Intézetnek,

hogy igénybe vehettem a kutatáshoz szükséges eszközöket és külön köszönöm az intézet kutatócsapatának a kedves hozzáállását.

Nyilatkozat a MI használatról

Kijelentem, hogy a pályamunka semmilyen MI-technológia által előállított tartalmat sem foglal magában.

Irodalom

Costello, J.H., K.M. Bayha, H.W. Mianzan, T.A. Shiganova & J.E. Purcell (2012) Transitions of *Mnemiopsis leidyi* (Ctenophora: Lobata) from a native to an exotic species: a review. *Hydrobiologia* 690: 21–46.

<https://doi.org/10.1007/s10750-012-1037-9>

Giani, M., T. Djakovac, D. Degobbis, S. Cozzi, C. Solidoro & S.F. Umani (2012) Recent changes in the marine ecosystems of the northern Adriatic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 115: 1–13.

<https://doi.org/10.1016/j.ecss.2012.08.023>

Malej, A., V. Tirelli, D. Lučić, P. Paliaga, M. Vodopivec, A. Goruppi, S. Ancona, M. Benzi, N. Bettoso, E. Camatti, M. Ercolessi, C.R. Ferrari & T. Shiganova (2017) *Mnemiopsis leidyi* in the northern Adriatic: here to stay? *Journal of Sea Research* 124: 10–16.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.seares.2017.04.010>

Pang, K. & M.Q. Martindale (2008) *Mnemiopsis leidyi* spawning and embryo collection. *Cold Spring Harb Protocols* 2008: pdb.prot5085.

<https://doi.org/10.1101/pdb.prot5085>

Sasson, D.A. & J.F. Ryan (2016) The sex lives of ctenophores: the influence of light, body size, and self-fertilization on the reproductive output of the sea walnut, *Mnemiopsis leidyi*. *PeerJ* 4: e1846.

<https://doi.org/10.7717/peerj.1846>

Shiganova, T.A. (2020) Adaptive strategies of *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz 1865 in different environments of the Eurasian seas. *Marine Pollution Bulletin* 161(Part A): 111737.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111737>