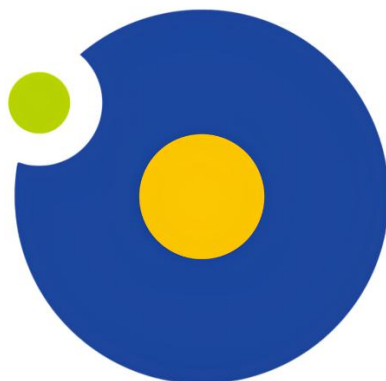


Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych



Rozprawa doktorska

**Inwazje małży z kompleksu *Corbicula* jako element zmian globalnych
oddziałujących na populacje rodzimych małży w Europie**

Promotor:

dr hab. Małgorzata Poznańska-Kakareko, prof. UMK

Katedra Zoologii Bezkręgowców i Parazytologii

Toruń, 2026

*Składam serdeczne podziękowania mojej Promotorce, Pani **dr hab. Małgorzacie Poznańskiej-Kakareko, prof. UMK**, za poświęcony czas, nieocenioną pomoc, wsparcie oraz wyjątkową serdeczność, które w istotny sposób przyczyniły się do powstania niniejszej rozprawy doktorskiej.*

*Szczególne podziękowania składam również Panu **prof. dr. hab. Jarosławowi Kobakowi** za nieocenioną pomoc merytoryczną i statystyczną, a także za cierpliwość oraz gotowość do ratowania mnie z każdej analitycznej opresji.*

*Dziękuję także wszystkim **Współautorom** publikacji wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej za pomoc w realizacji badań, inspirujące dyskusje oraz cenne uwagi podczas analizy i interpretacji uzyskanych wyników.*

*Serdeczne podziękowania kieruję również do całego **Zespołu Hydrobiologicznego** oraz **Pracowników Katedry Zoologii Beżkręgowców i Parazytologii** za życzliwość, cenne rady oraz nieocenioną, twórczą i mobilizującą atmosferę na każdym etapie realizacji pracy doktorskiej.*

*Dziękuję moim **Najbliższym** za wsparcie, słowa otuchy, cierpliwość i nieustającą motywację.*

Niniejszą rozprawę doktorską dedykuję mojej śp. ukochanej i najdroższej Mamie Jolancie. To Ty mnie ukształtowałaś, byłaś moją opoką i źródłem rodzinnego ciepła. Żyłas zbyt krótko, ale pełniłaś życie, pozostawiając po sobie miłość, siłę i wartości, które są i zawsze będą dla mnie drogowskazem. Gdziekolwiek jesteś, mam nadzieję, że Cię nie zawiodłem i że patrzysz na mnie z dumą.

Tytuł pracy w języku angielskim:

Invasions of *Corbicula* clams as a component of global change affecting native mussel populations in Europe

Wykaz publikacji i manuskryptu wchodzących w skład rozprawy doktorskiej:

Publikacja	Punkty	IF	kwartyl
	MNiSW	2-letni	
1. Szarmach D, Wiśniewski K, Kobak J, Lichocka K, Kakareko T, Sousa R, Poznańska-Kakareko M. 2024. Impact of habitat engineering by invasive <i>Corbicula</i> clams on native European unionid mussels. Science of The Total Environment, 948, 174764. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174764 .	200	8,0	Q1 (Environmental Sciences)
2. Szarmach D, Wiśniewski K, Kobak J, Kletkiewicz H, Jermacz Ł, Kakareko T, Sousa R, Augustyniak M, Plichta Z, Lichocka K, Terebiński S, Poznańska-Kakareko M. Evaluating the long-term consequences of invasion by <i>Corbicula</i> clams for European unionid mussel communities.	Manuskrypt przygotowany do wysłania do czasopisma		
3. Szarmach D, Lichocka K, Kobak J, Bomba A, Krzeszowiak A, Terebiński S, Wiśniewski K, Poznańska-Kakareko M. 2026. Clams running dry: greater drought tolerance in the non-native Asian clam (<i>Corbicula</i> complex) than in the native European <i>Sphaerium rivicola</i> . NeoBiota. 107, 225–242. https://doi.org/10.3897/neobiota.107.176248 .	140	3,2	Q2 (Biodiversity Conservation)

Finansowanie badań:

- Grant „Wpływ inwazyjnych małży z rodzaju *Corbicula* na rodzime europejskie małże z rodziny Unionidae” finansowany przez Ministerstwo Edukacji i Nauki (grant nr SKN/SP/535748/2022, kierownik: Daniel Szarmach, opiekun: Małgorzata Poznańska-Kakareko)
- Grant pt.: „Effects of the presence of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) on the native European mussel *Unio tumidus* Philipsson, 1788” finansowany z programu Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza (IDUB) Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (grant nr 33/2021, kierownik: Daniel Szarmach, opiekun: Małgorzata Poznańska-Kakareko)

Spis treści

Streszczenie.....	10
Abstract.....	13
1. Wprowadzenie do podjętej problematyki badawczej	16
1.1. Inwazje biologiczne w ekosystemach słodkowodnych.....	16
1.2. Inwazyjne małże z kompleksu <i>Corbicula</i>	19
1.3. Rodzime małże słodkowodne Europy.....	21
1.4. Susza hydrologiczna jako czynnik stresowy dla małży słodkowodnych.....	24
2. Badania wykonane w ramach rozprawy doktorskiej	27
2.1. Cele i hipotezy badawcze	27
2.2. Metodyka badań	29
2.2.1. Wpływ modyfikacji podłoża przez inwazyjne małże <i>Corbicula</i> na wybrane rodzime małże Unionidae.....	29
2.2.2. Długoterminowe konsekwencje obecności małży <i>Corbicula</i> dla wybranych rodzimych małży Unionidae.....	31
2.2.3. Wpływ suszy hydrologicznej na inwazyjne małże <i>Corbicula</i> i rodzime małże <i>Sphaerium rivicola</i>	33
3. Wyniki i ich omówienie	35
3.1. Wpływ modyfikacji podłoża przez inwazyjne małże <i>Corbicula</i> na wybrane rodzime małże Unionidae	35
3.2. Długoterminowe konsekwencje obecności inwazyjnych małży <i>Corbicula</i> dla wybranych rodzimych małży Unionidae	39
3.3. Wpływ suszy hydrologicznej na inwazyjne małże <i>Corbicula</i> i rodzime małże <i>Sphaerium rivicola</i>	43
4. Podsumowanie i wnioski	47
5. Bibliografia	50
6. Publikacja 1	70
7. Manuskrypt	88
8. Publikacja 2	143
9. Podsumowanie osiągnięć naukowych.....	167

Streszczenie

Rodzime małże słodkowodne Europy pełnią ważne funkcje w ekosystemach śródlądowych, m.in. uczestniczą w filtracji wody, obiegu materii, stabilizacji podłoża oraz tworzeniu mikrosiedlisk dla innych organizmów. Jednocześnie należą do grup szczególnie narażonych na presję środowiskową, ponieważ charakteryzują się ograniczoną mobilnością, długim cyklem życiowym i często niewielką zdolnością do szybkiej odbudowy populacji po zaburzeniach. Do głównych zagrożeń dla małży słodkowodnych należą degradacja siedlisk, zmiany reżimu hydrologicznego, zanieczyszczenia oraz gatunki inwazyjne.

Jednymi z najbardziej rozpowszechnionych inwazyjnych małży słodkowodnych są przedstawiciele rodzaju *Corbicula*. Mogą osiągać wysokie zagęszczenia, konkurować z rodzimymi małżami o pokarm i przestrzeń, a także zmieniać strukturę podłoża przez obecność żywych osobników oraz nagromadzenie pustych muszli. Taka modyfikacja podłoża może wpływać na wybór siedliska, lokomocję i zagrzebywanie się rodzimych małży. Małże z rodzaju *Corbicula* mogą być również bardziej odporne na niektóre czynniki abiotyczne, w tym okresowe obniżanie poziomu wody i ekspozycję na powietrze, co może mieć znaczenie w warunkach nasilających się susz hydrologicznych.

Głównym celem niniejszej rozprawy było określenie, w jaki sposób inwazja małży z kompleksu *Corbicula* (*Corbicula* complex) i susza hydrologiczna wpływają na funkcjonowanie rodzimych małży słodkowodnych Europy. Funkcjonowanie to rozumiano jako zespół odpowiedzi organizmów na presję biotyczną i abiotyczną, obejmujący wybór siedliska, behavior, przeżywalność, wzrost, kondycję fizyczną, rezerwy energetyczne (poziom glikogenu mierzony w nodze) oraz parametry równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej: poziom peroksydacji lipidów – TBARS, mierzony w nodze i wątrobotrzustce, oraz całkowity poziom oksydantów – TOS i antyoksydantów – TAS, mierzone w wątrobotrzustce. Badania przeprowadzono na rodzimych małżach reprezentujących dwie rodziny: Unionidae, tj. *Unio tumidus* i *Anodonta anatina*, oraz Sphaeriidae, tj. *Sphaerium rivicola*. Małże z rodzaju *Corbicula* traktowano zarówno jako czynnik przekształcający podłoże i oddziałujący na rodzime Unionidae, jak i jako takson porównawczy wobec rodzimego *S. rivicola* w warunkach suszy hydrologicznej.

W ramach rozprawy wykonano trzy prace badawcze. W pierwszej pracy określono wpływ żywych małży z rodzaju *Corbicula* oraz ich muszli na wybór podłoża, lokomocję i zagrzebywanie się małży *U. tumidus* i *A. anatina*. W drugiej pracy określono

długoterminowe konsekwencje pięciomiesięcznej ekspozycji terenowej rodzimych Unionidae na obecność małży *Corbicula*, uwzględniając przeżywalność, wzrost, kondycję fizyczną, zawartość glikogenu oraz wskaźniki stresu oksydacyjnego. W trzeciej pracy porównano wpływ suszy hydrologicznej na przeżywalność i behavior rodzimego *S. rivicola* oraz inwazyjnych małży *Corbicula*, analizując reakcje na obniżanie poziomu wody, ekspozycję na powietrze i wysychanie podłoża.

Wyniki pierwszej pracy wykazały, że modyfikacja podłoża przez małże *Corbicula* wpływała na wybór siedliska i behavior rodzimych małży Unionidae. *Unio tumidus* i *A. anatina* unikały podłoża zmodyfikowanego przez żywe osobniki małży *Corbicula* oraz ich puste muszle. *Unio tumidus* unikał podłoża z muszlami małży *Corbicula* już przy zagęszczeniu 1400 muszli m⁻², natomiast *A. anatina* reagowała przy zagęszczeniu 2100 muszli m⁻². Oba gatunki unikały żywych osobników małży *Corbicula* przy zagęszczeniu 1400 osobników m⁻². Na zmodyfikowanym podłożu małże rodzime pokonywały większe odległości w porównaniu z kontrolą, co wskazuje na trudności w znalezieniu odpowiedniego miejsca do osiedlenia się, i zagrzebywały się płycej lub wolniej niż w kontroli. Wyniki te wskazują, że małże *Corbicula* mogą oddziaływać jako organizmy modyfikujące siedlisko, ograniczając dostępność odpowiednich mikrosiedlisk dla rodzimych Unionidae.

Wyniki drugiej pracy wykazały, że pięciomiesięczna obecność małży *Corbicula* w warunkach terenowych nie spowodowała silnego efektu letalnego u rodzimych Unionidae. Śmiertelność *A. anatina* i *U. tumidus* była niska i nie zależała od obecności małży *Corbicula* ani od ogólnego zagęszczenia małży. Wpływ małży *Corbicula* ujawniał się jednak na poziomie reakcji subletalnych. U małży *A. anatina* wysokie zagęszczenie ograniczało przyrost długości muszli. Przyrost szerokości muszli i mokrej masy był większy w wariantach z małżami *Corbicula* niż w kontrolnych o takim samym ogólnym zagęszczeniu, jednak efekt ten najprawdopodobniej wynikał ze zmniejszenia presji wewnątrzgatunkowej, a nie z bezpośredniego pozytywnego wpływu małży inwazyjnych. U *A. anatina* obecność małży *Corbicula* i większe zagęszczenie zwiększały poziom TBARS w nodze, natomiast w wątrobotrzustce poziomy TOS i TBARS były niższe w wariantach z małżami *Corbicula* niż w kontrolach. U małży *U. tumidus* nie stwierdzono zmian wzrostu ani kondycji fizycznej, a poziom TBARS w nodze obniżał się przy wysokim zagęszczeniu oraz po dodaniu małży *Corbicula* przy stałej biomasie Unionidae. W wariancie wysokiego zagęszczenia z małżami *Corbicula* u małży *U. tumidus* stwierdzono również niższy poziom TAS i wyższy poziom glikogenu niż w pozostałych

wariantach. Wyniki te wskazują, że długoterminowy wpływ małży *Corbicula* na rodzime Unionidae był głównie subletalny, narządowo i gatunkowo specyficzny, a silniejsze koszty fizjologiczne wystąpiły u *A. anatina*.

Wyniki trzeciej pracy wykazały wyraźne różnice w odporności na suszę hydrologiczną między inwazyjnymi małżami *Corbicula* i rodzimymi *S. rivicola*. Wszystkie osobniki małży *Corbicula* przeżyły 15 dni ekspozycji na powietrze, nawet przy 2% zawartości wody w podłożu. U *S. rivicola* 50% śmiertelność zaobserwowano po 5,3 dniach ekspozycji na powietrze, przy zawartości wody w podłożu wynoszącej 12%, a 90% śmiertelność po 7,9 dniach, przy zawartości wody w podłożu wynoszącej 8,5%. Oba taksony różniły się także strategią behawioralną. *Sphaerium rivicola* aktywnie przemieszczały się w kierunku bardziej wilgotnych stref, ale skuteczność tej reakcji zależała od dystansu do refugium. Małże *Corbicula* nie wykazywały migracji horyzontalnej za opadającą wodą, lecz pozostawały w miejscu i zagrzebywały się głębiej w podłożu. Oznacza to, że *S. rivicola* stosowały głównie strategię ucieczki, natomiast małże *Corbicula* strategię przeczekania niekorzystnych warunków.

Podsumowując, wyniki rozprawy wskazują, że małże z rodzaju *Corbicula* mogą wpływać na rodzime małże słodkowodne na kilku poziomach. Po pierwsze, zmieniają fizyczną strukturę podłoża, przez co ograniczają dostępność odpowiednich mikrosiedlisk oraz utrudniają zagrzebywanie i lokomocję rodzimych Unionidae. Po drugie, ich obecność może wywoływać reakcje subletalne, obejmujące wzrost, stres oksydacyjny i gospodarkę energetyczną. Po trzecie, większa odporność małży *Corbicula* na wysychanie podłoża może sprzyjać ich przewadze nad bardziej wrażliwymi gatunkami rodzimymi w warunkach suszy hydrologicznej. Inwazje małży z rodzaju *Corbicula* powinny być więc rozpatrywane jako element zmian globalnych, którego skutki zależą nie tylko od interakcji biotycznych, ale także od czynników abiotycznych, takich jak obniżanie poziomu wody i wysychanie podłoża.

Słowa kluczowe: małże słodkowodne, małże *Corbicula* complex, Unionidae, Sphaeriidae, *Unio tumidus*, *Anodonta anatina*, *Sphaerium rivicola*, inwazje biologiczne, susza hydrologiczna, podłoże, stres oksydacyjny, kondycja, wzrost

Abstract

European native freshwater bivalves play important roles in inland ecosystems, including water filtration, matter cycling, substratum stabilisation and the creation of microhabitats for other organisms. At the same time, they are among the groups particularly vulnerable to environmental pressures because they are characterised by limited mobility, long life cycles and often a low capacity for rapid population recovery after disturbances. The main threats to freshwater bivalves include habitat degradation, changes in hydrological regimes, pollution and invasive species.

Among the most widespread invasive freshwater bivalves are representatives of the genus *Corbicula*. These clams can reach high densities, compete with native bivalves for food and space, and modify substratum structure through the presence of living individuals and the accumulation of empty shells. Such substratum modification may affect habitat selection, locomotion and burrowing of native bivalves. *Corbicula* clams may also be more resistant to some abiotic factors, including periodic water-level decline and air exposure, which may be particularly important under conditions of intensifying hydrological droughts.

The main aim of this doctoral dissertation was to determine how the invasion of clams of the *Corbicula* complex and hydrological drought affect the functioning of European native freshwater bivalves. Functioning was understood as a set of organismal responses to biotic and abiotic pressures, including habitat selection, behaviour, survival, growth, physical condition, energy reserves measured as glycogen content in the foot, and parameters of oxidative–antioxidant balance, including lipid peroxidation measured as TBARS in the foot and digestive gland, as well as total oxidant status (TOS) and total antioxidant status (TAS) measured in the digestive gland. The study was conducted on native bivalves representing two families: Unionidae, i.e. *Unio tumidus* and *Anodonta anatina*, and Sphaeriidae, i.e. *Sphaerium rivicola*. *Corbicula* clams were treated both as a factor modifying the substratum and affecting native Unionidae, and as a comparative taxon in relation to the native *S. rivicola* under hydrological drought conditions.

Three research studies were conducted as part of the dissertation. The first study assessed the effects of living *Corbicula* clams and their shells on substratum choice, locomotion and burrowing of *U. tumidus* and *A. anatina*. The second study determined the long-term consequences of a five-month field exposure of native unionids to the presence of *Corbicula* clams, considering survival, growth, physical condition, glycogen

content and oxidative stress indicators. The third study compared the effects of hydrological drought on the survival and behaviour of the native *S. rivicola* and invasive *Corbicula* clams by analysing responses to water-level decline, air exposure and substratum drying.

The results of the first study showed that substratum modification by *Corbicula* clams affected habitat selection and behaviour of native unionids. *Unio tumidus* and *A. anatina* avoided substrata modified by living *Corbicula* clams and their empty shells. *Unio tumidus* avoided substrata with *Corbicula* shells already at a density of 1400 shells m^{-2} , whereas *A. anatina* responded at a density of 2100 shells m^{-2} . Both species avoided living *Corbicula* clams at a density of 1400 ind. m^{-2} . On modified substrata, native unionids travelled longer distances than in the control, indicating difficulties in finding a suitable place to settle, and burrowed more shallowly or more slowly than in the control. These results indicate that *Corbicula* clams may act as habitat-modifying organisms, limiting the availability of suitable microhabitats for native unionids.

The results of the second study showed that the five-month presence of *Corbicula* clams under field conditions did not cause a strong lethal effect in native unionids. Mortality of *A. anatina* and *U. tumidus* was low and did not depend on the presence of *Corbicula* clams or on the overall density of bivalves. However, the effects of *Corbicula* clams were expressed at the level of sublethal responses. In *A. anatina*, high density reduced shell length growth. Shell width growth and wet mass gain were higher in treatments with *Corbicula* clams than in controls with the same overall density, but this effect most likely resulted from reduced intraspecific pressure rather than from a direct positive effect of the invasive clams. In *A. anatina*, the presence of *Corbicula* clams and higher density increased TBARS levels in the foot, whereas TOS and TBARS levels in the digestive gland were lower in treatments with *Corbicula* clams than in controls. In *U. tumidus*, no changes in growth or physical condition were found, and TBARS levels in the foot decreased at high density and after the addition of *Corbicula* clams at constant unionid biomass. In the high-density treatment with *Corbicula* clams, *U. tumidus* also showed lower TAS levels and higher glycogen levels than in the other treatments. These results indicate that the long-term effects of *Corbicula* clams on native unionids were mainly sublethal, organ- and species-specific, and that stronger physiological costs occurred in *A. anatina*.

The results of the third study revealed clear differences in resistance to hydrological drought between invasive *Corbicula* clams and the native *S. rivicola*. All

Corbicula individuals survived 15 days of air exposure, even at 2% water content in the substratum. In *S. rivicola*, 50% mortality was observed after 5.3 days of air exposure, at 12% water content in the substratum, and 90% mortality after 7.9 days, at 8.5% water content in the substratum. The two taxa also differed in their behavioural strategies. *Sphaerium rivicola* actively moved towards more humid zones, but the effectiveness of this response depended on the distance to the refuge. *Corbicula* clams did not show horizontal migration following the receding water line, but remained in place and burrowed deeper into the substratum. This indicates that *S. rivicola* mainly used an escape strategy, whereas *Corbicula* clams used a strategy of remaining in place and enduring unfavourable conditions.

In summary, the results of this dissertation indicate that clams of the genus *Corbicula* can affect native freshwater bivalves at several levels. First, they modify the physical structure of the substratum, thereby limiting the availability of suitable microhabitats and hindering burrowing and locomotion of native unionids. Second, their presence may induce sublethal responses involving growth, oxidative stress and energy metabolism. Third, the greater resistance of *Corbicula* clams to substratum drying may favour their advantage over more sensitive native species under hydrological drought conditions. Invasions of clams of the genus *Corbicula* should therefore be considered a component of global change whose effects depend not only on biotic interactions, but also on abiotic factors such as water-level decline and substratum drying.

Keywords: freshwater bivalves, *Corbicula* clams, Unionidae, Sphaeriidae, *Unio tumidus*, *Anodonta anatina*, *Sphaerium rivicola*, biological invasions, hydrological drought, substratum, oxidative stress, condition, growth

1. Wprowadzenie do podjętej problematyki badawczej

1.1. Inwazje biologiczne w ekosystemach słodkowodnych

Inwazje biologiczne należą do jednych z najważniejszych współczesnych czynników wpływających na różnorodność biologiczną, strukturę zespołów organizmów oraz funkcjonowanie ekosystemów (Vilà i in. 2011; Simberloff i in. 2013; Pyšek i in. 2020; IPBES 2023). Proces ten rozpoczyna się od wprowadzenia gatunku, podgatunku lub niższego taksonu poza jego naturalny zasięg geograficzny w wyniku działalności człowieka (Richardson i in. 2000; Hulme 2009; Blackburn i in. 2011; Instytut Ochrony Przyrody PAN, b.d.). Nie każdy gatunek obcy przetrwa i zadomowi się na nowym terenie, jednak niektóre gatunki tworzą stabilne, rozmnażające się populacje i/lub wywierają negatywny wpływ na gatunki rodzime, siedliska i procesy ekologiczne, prowadząc do znacznych zmian w ekosystemach (Vilà i in. 2011; Blackburn i in. 2014; Jeschke i in. 2014; Pyšek i in. 2020). Zgodnie z definicją zawartą w Ustawie z dnia 11 sierpnia 2021 r. oraz w Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) Nr 1143/2014 z dnia 22 października 2014 r. - inwazyjny gatunek obcy oznacza gatunek obcy, którego wprowadzenie lub rozprzestrzenianie się zagraża bioróżnorodności i powiązanym usługom ekosystemowym lub oddziałuje na nie w niepożądany sposób (Instytut Ochrony Przyrody PAN, b.d.). W najnowszej ocenie IPBES (Summary for Policymakers of the Thematic Assessment Report on Invasive Alien Species and their Control) inwazyjne gatunki obce zostały wskazane jako jeden z pięciu głównych bezpośrednich czynników utraty różnorodności biologicznej na świecie (IPBES 2023).

Znaczenie inwazji biologicznych stale rośnie, ponieważ liczba gatunków obcych notowanych poza naturalnym zasięgiem występowania nadal się zwiększa i nie wykazuje oznak globalnego nasycenia (Seebens i in. 2017; Pyšek i in. 2020). Wzrost ten jest związany przede wszystkim z intensyfikacją handlu międzynarodowego, transportu, turystyki, akwakultury, przemieszczania organizmów użytkowych i ozdobnych oraz przekształcaniem środowiska przez człowieka (Hulme 2009; Seebens i in. 2017; Sardain i in. 2019; Cuthbert i in. 2021). Prognozy wskazują, że do połowy XXI wieku liczba zadomowionych gatunków obcych może nadal znacząco wzrastać, przy czym szczególnie silny wzrost przewidywany jest m.in. dla Europy (Seebens i in. 2021). Wzrost liczby inwazji biologicznych ma również wymiar ekonomiczny, ponieważ gatunki inwazyjne generują wysokie i stale rosnące koszty związane m.in. ze stratami

gospodarczymi, zarządzaniem środowiskiem, ochroną infrastruktury i ograniczaniem skutków ich rozprzestrzeniania (Diagne i in. 2021; Cuthbert i in. 2021).

Ekosystemy słodkowodne są szczególnie podatne na skutki inwazji biologicznych, ponieważ łączą wysoką różnorodność biologiczną z silną presją antropogeniczną, fragmentacją siedlisk oraz naturalną izolacją wielu zbiorników wodnych (Dudgeon i in. 2006; Strayer 2010; Reid i in. 2019; Albert i in. 2021). Pomimo tego, że wody śródlądowe zajmują 0,8% powierzchni Ziemi, odgrywają nieproporcjonalnie istotną rolę w utrzymaniu globalnej różnorodności gatunkowej (Dudgeon i in. 2006; Reid i in. 2019; Albert i in. 2021). Globalna ocena zagrożenia fauny słodkowodnej wykazała, że około jedna czwarta ocenianych gatunków jest zagrożona wyginięciem, a gatunki inwazyjne i choroby należą do istotnych czynników presji obok zanieczyszczeń, budowy zapór wodnych, poboru wody, przekształceń rolniczych i nadmiernej eksploatacji (Sayer i in. 2025).

Wody śródlądowe są również szczególnie narażone na introdukcje i wtórne rozprzestrzenianie gatunków obcych ze względu na sieciowy charakter połączeń hydrologicznych. Naturalne rzeki oraz sztuczne kanały mogą działać jako korytarze dyspersji, łącząc wcześniej izolowane zlewnie i ułatwiając przemieszczanie się organizmów pomiędzy regionami biogeograficznymi (Leuven i in. 2009; Panov i in. 2009; Nunes i in. 2015). W Europie duże znaczenie mają zarówno drogi naturalne, jak i szlaki stworzone lub przekształcone przez człowieka, w tym kanały żeglugowe, a także transport śródlądowy, akwakultura, zarybienia, handel organizmami akwariowymi oraz przypadkowe przenoszenie organizmów (Panov i in. 2009; Nunes i in. 2015; Lucy i in. 2020).

Oddziaływanie gatunków inwazyjnych w ekosystemach słodkowodnych może przebiegać wielotorowo. Do najczęściej opisywanych mechanizmów należą: konkurencja o pokarm i przestrzeń, przenoszenie pasożytów i patogenów, hybrydyzacja z gatunkami rodzimymi oraz modyfikacja sieci troficznych (Strayer 2010; Gallardo i in. 2016; Ricciardi i in. 2017; Cuthbert i in. 2021). Gatunki inwazyjne mogą oddziaływać bezpośrednio poprzez interakcje z gatunkami rodzimymi oraz pośrednio przez zmianę dostępności zasobów, właściwości fizykochemicznych środowiska, struktury siedliska lub przepływu materii w ekosystemie (Crooks 2002; Strayer 2012; Gallardo i in. 2016; Pyšek i in. 2020).

Szczególnie istotną grupą są gatunki inwazyjne pełniące rolę inżynierów ekosystemu. Organizmy takie zmieniają dostępność zasobów dla innych gatunków

poprzez fizyczne, chemiczne lub biologiczne przekształcanie środowiska (Jones i in. 1994; Crooks 2002; Romero i in. 2015). W ekosystemach słodkowodnych efekty inżynierii ekosystemowej mogą obejmować zmianę struktury podłoża, przejrzystości wody, obiegu biogenów, tempa sedymentacji materii organicznej, dostępności tlenu w podłożu, stabilności dna oraz liczby mikrosiedlisk dostępnych dla organizmów bentosowych (Gutiérrez i in. 2003; Vaughn 2018; Atkinson i in. 2020). W konsekwencji wpływ gatunku inwazyjnego może utrzymywać się nawet wtedy, gdy bezpośrednie interakcje między osobnikami są ograniczone, ponieważ zmienione siedlisko nadal oddziałuje na organizmy rodzime (Jones i in. 1994; Crooks 2002; Strayer 2012; Romero i in. 2015).

Ocena skutków inwazji biologicznych jest złożona, ponieważ wpływ gatunków obcych może ujawniać się na różnych poziomach organizacji biologicznej: od zmian behawioru i parametrów fizjologicznych, wzrostu osobniczego, przeżywalności i sukcesu rozrodczego populacji, po przebudowę sieci troficznych (Parker i in. 1999; Blackburn i in. 2014; Jeschke i in. 2014; Crystal-Ornelas i Lockwood 2020). Skutki inwazji nie zawsze są natychmiast widoczne, np. jako śmiertelność organizmów rodzimych. Często wcześniej pojawiają się efekty subletalne, takie jak zmiana aktywności, sposobu wykorzystania siedliska, tempa wzrostu, kondycji lub odporności na stresory (Strayer 2012; Ricciardi i in. 2013; Crystal-Ornelas i Lockwood 2020). Z tego powodu współczesne badania nad inwazjami biologicznymi coraz częściej łączą analizy mechanizmów behawioralnych, fizjologicznych oraz siedliskowych (Jeschke i in. 2014; Dick i in. 2017; Ricciardi i in. 2017; Pyšek i in. 2020).

Z punktu widzenia ochrony różnorodności biologicznej kluczowe jest rozpoznanie nie tylko samej obecności gatunków obcych, ale także mechanizmów ich oddziaływania na gatunki rodzime i funkcjonowanie ekosystemów. Same dane o rozmieszczeniu gatunku inwazyjnego nie pozwalają przewidzieć skali jego wpływu. Dlatego coraz większe znaczenie mają badania eksperymentalne i terenowe pozwalające określić, jakie mechanizmy odpowiadają za oddziaływanie gatunku inwazyjnego i które aspekty funkcjonowania organizmów rodzimych mogą być przez nie modyfikowane (Ricciardi i in. 2013; Dick i in. 2017; Ricciardi i in. 2017; Pyšek i in. 2020).

1.2. Inwazyjne małże z kompleksu *Corbicula*

Jedną z istotnych grup inwazyjnych bezkręgowców ekosystemów słodkowodnych są małże, wśród których szczególne znaczenie mają przedstawiciele kompleksu *Corbicula* (Sousa i in. 2008; Strayer 2010; Lopes-Lima i in. 2018; Modesto i in. 2025a). Małże te są uznawane za jedne z najbardziej rozpowszechnionych i problematycznych małży słodkowodnych, ponieważ tworzą liczne populacje poza obszarem rodzimego występowania i mogą silnie wpływać na funkcjonowanie zajmowanych ekosystemów (Sousa i in. 2008; Cuthbert i in. 2021; Modesto i in. 2025a). W literaturze używany jest termin „kompleks *Corbicula*”, ponieważ identyfikacja taksonomiczna tych małży jest utrudniona przez zmienność morfologiczną, hybrydyzację oraz obecność różnych linii inwazyjnych (Pigneur i in. 2011; Morhun i in. 2022; Modesto i in. 2025a).

Rodzimy obszar występowania inwazyjnych małży *Corbicula* to Azja Wschodnia i Południowo-Wschodnia (Morton 1986; Araujo i in. 1993; Komaru i in. 2013; Modesto i in. 2025a). Poza obszarem rodzimym małże *Corbicula* zostały stwierdzone w Ameryce Północnej, Ameryce Południowej, Europie i Afryce (Korniushin 2004; Gomes i in. 2016; MacNeil i in. 2025). W Europie małże *Corbicula* zostały po raz pierwszy opisane na początku lat 80. XX wieku, kiedy Mouthon (1981) odnotował ich obecność w rzece Dordogne we Francji oraz w estuarium Tagu w Portugalii (Mouthon 1981; Araujo i in. 1993; Minchin 2014). Od pierwszych stwierdzeń małże *Corbicula* rozprzestrzeniły się w głównych europejskich systemach rzecznych, w tym w dorzeczach Renu, Dunaju, Łaby, Loary, Rodanu, Sekwany, Tagu, Douro oraz Wisły i Odry, wykorzystując zarówno naturalne korytarze rzeczne, jak i połączenia stworzone przez człowieka (Araujo i in. 1993; Bij de Vaate i Hulea 2000; Marescaux i in. 2010; Minchin 2014; Nentwig i in. 2018). Aktualne zestawienia wskazują, że morfotyp *C. fluminea* występuje w co najmniej 26 państwach Europy, *C. fluminalis* w co najmniej 12, a *C. leana* w co najmniej 3 państwach (Bodon i in. 2020; Szarmach i in. 2023; Modesto i in. 2025a).

Znaczny sukces inwazyjny małży *Corbicula* wynika z połączenia cech historii życia, plastyczności ekologicznej i zdolności do szybkiego wykorzystywania dostępnych siedlisk (McMahon 2002; Sousa i in. 2008; Modesto i in. 2025a). Do najważniejszych cech sprzyjających inwazji małży *Corbicula* należą: szybki wzrost, wczesne osiągnięcie dojrzałości płciowej, samozapłodnienie, wysoka płodność i krótki czas generacji, co warunkuje możliwość tworzenia populacji o wysokim zagęszczeniu (do kilku tysięcy osobników na metr kwadratowy) i biomasy (nawet do 90% biomasy całego bentosu), co

powoduje, że stają się dominującym elementem makrozoobentosu (McMahon 2002; Sousa i in. 2008; Caffrey i in. 2011; Ilarri i in. 2011; Pigneur i in. 2014; Modesto i in. 2025a).

Ekspansję małży *Corbicula* ułatwia także szeroka tolerancja na warunki środowiskowe (McMahon 2002; Sousa i in. 2008; Modesto i in. 2025a). Małże te mogą występować w wodach płynących i stojących, w siedliskach naturalnych i silnie przekształconych, a ich rozmieszczenie jest związane m.in. z temperaturą, natlenieniem, prędkością przepływu, dostępnością pokarmu i granulacją podłoża (Sousa i in. 2008; Ferreira-Rodríguez i Pardo 2016; Urbańska i in. 2018; Kelley i in. 2022). Preferują drobnoziarniste podłoża, takie jak piasek średni (Szarmach i in. 2023), ale w naturze występują też w innych siedliskach (Sousa i in. 2008; Bielański 2022). Skrajnie niskie lub wysokie temperatury oraz silne niedotlenienie mogą prowadzić do gwałtownych spadków liczebności populacji (McDowell i in. 2017; McDowell i Sousa 2019; Modesto i in. 2025a). Taka dynamika populacji typu „boom–bust”, obejmująca szybki wzrost liczebności i okresowe masowe śnięcia małży, może istotnie oddziaływać na funkcjonowanie ekosystemu poprzez nagłe zmiany ilości materii organicznej, zużycia tlenu i uwalniania związków azotowych (Cooper i in. 2005; McDowell i Sousa 2019; Modesto i in. 2025a).

Wpływ małży *Corbicula* na rodzime małże może obejmować kilka mechanizmów (Ferreira-Rodríguez i in. 2018; Modesto i in. 2021; Geist i in. 2025; Modesto i in. 2025b). Po pierwsze, wysokie zagęszczenia małży *Corbicula* mogą prowadzić do konkurencji o pokarm i przestrzeń, szczególnie tam, gdzie inwazyjne i rodzime małże wykorzystują podobne mikrosiedliska (Strayer 1999; Modesto i in. 2021; Hopper i in. 2022; Geist i in. 2025). Po drugie, filtracja prowadzona przez małże *Corbicula* może ograniczać przeżywalność plemników i glochidiów rodzimych Unionidae (Modesto i in. 2019). Po trzecie, modyfikacja podłoża przez żywe osobniki i muszle małży *Corbicula* może zmieniać behavior rodzimych małży, utrudniając zagrzebywanie, przemieszczanie się i wybór odpowiedniego mikrosiedliska (Ferreira-Rodríguez i in. 2018; Bolam i in. 2019; Szarmach i in. 2024). Po czwarte, oddziaływanie to może ujawniać się na poziomie subletalnym, poprzez zmiany wzrostu, kondycji, rezerw energetycznych lub parametrów fizjologicznych, bez natychmiastowego wzrostu śmiertelności (Fritts i in. 2015; Modesto i in. 2025b; Szarmach i in. manuskrypt).

Pomimo rosnącej liczby badań nad małżami z kompleksu *Corbicula*, wiedza o ich wpływie na rodzime małże słodkowodne pozostaje niepełna i fragmentaryczna (Geist i

in. 2025; Modesto i in. 2025a). Dobrze udokumentowano globalną ekspansję, wysoką inwazyjność, zdolność do osiągania dużych zagęszczeń oraz wpływ na filtrację, obieg materii i strukturę siedlisk dennych. Jednak nadal brakuje kompleksowych badań łączących kilka poziomów oddziaływania na rodzime małże, tj. behawior, śmiertelność, wzrost, kondycję fizyczną oraz odpowiedzi fizjologiczne (Sousa i in. 2008; Chappell i in. 2019; Geist i in. 2025; Modesto i in. 2025a). Szczególnie istotne jest rozpoznanie, czy modyfikacje podłoża indukowane przez żywe małże *Corbicula* i ich muszle przekładają się jedynie na krótkotrwale zmiany behawioralne, czy też mogą prowadzić do długoterminowych, subletalnych konsekwencji dla rodzimych Unionidae (Szarmach i in. 2024; Szarmach i in. manuskrypt). Uzupełnienie tej luki jest ważne dla zrozumienia mechanizmów wpływu inwazyjnych małży *Corbicula* na rodzime małże słodkowodne Europy oraz dla oceny, w jakim stopniu inwazyjne małże mogą przyczyniać się do dalszej degradacji siedlisk dennych i spadku trwałości populacji gatunków rodzimych.

1.3. Rodzime małże słodkowodne Europy

Rodzime małże słodkowodne Europy stanowią zróżnicowaną grupę organizmów bentosowych, obejmującą gatunki różniące się wielkością ciała, długością życia, wymaganiami siedliskowymi, strategią rozrodczą oraz stopniem poznania ich ekologii i rozmieszczenia (Lopes-Lima i in. 2017; Lopes-Lima i in. 2018; Halabowski i in. 2024; Lopes-Lima i in. 2025). Szczególne znaczenie dla niniejszej rozprawy doktorskiej mają przedstawiciele rodzin Unionidae i Sphaeriidae, ponieważ obejmują one zarówno duże małże denne, jak i drobniejsze gatunki często pomijane w badaniach monitoringowych i znacznie trudniejsze w oznaczaniu (Lopes-Lima i in. 2017; Halabowski i in. 2024; Lopes-Lima i in. 2025). Małże te narażone są na liczne presje środowiskowe wynikające z działalności człowieka, w tym degradację siedlisk, regulację rzek, fragmentację koryt, budowę zapór, zanieczyszczenia, eutrofizację, pobór wody, zmiany reżimu hydrologicznego oraz oddziaływanie gatunków obcych (Lopes-Lima i in. 2017; Reid i in. 2019; Sousa i in. 2023; Aldridge i in. 2023).

Rodzina Unionidae należy do najważniejszych grup rodzimych małży słodkowodnych Europy, ale jednocześnie jest jedną z grup szczególnie zagrożonych spadkiem liczebności (Lopes-Lima i in. 2017; Lopes-Lima i in. 2018; Sousa i in. 2023; Aldridge i in. 2023). Do przedstawicieli tej rodziny należą m.in. gatunki z rodzajów *Unio* i *Anodonta*, zasiedlające różne typy wód stojących i płynących, w tym rzeki nizinne,

jeziora, starorzecza i zbiorniki zaporowe (Lopes-Lima i in. 2017; Piechocki i Wawrzyniak-Wydrowska 2016). Unionidae często osiągają stosunkowo duże rozmiary ciała i znaczną biomasę w zespołach bentosowych, przez co ich obecność może istotnie wpływać na filtrację, obieg materii oraz strukturę siedlisk dennych (Vaughn 2018; Zieritz i in. 2022).

Wrażliwość Unionidae na presję środowiskową wynika z połączenia cech biologicznych, które ograniczają tempo odbudowy populacji po zaburzeniach środowiskowych (Lopes-Lima i in. 2017; Modesto i in. 2018; Sousa i in. 2023). Wiele gatunków Unionidae charakteryzuje się stosunkowo długim czasem życia, powolnym wzrostem, późnym osiągnięciem dojrzałości płciowej oraz ograniczoną zdolnością do szybkiego zwiększania liczebności po spadkach populacyjnych (Haag 2012; Lopes-Lima i in. 2017; Sousa i in. 2023). Ważną cechą Unionidae jest złożony cykl życiowy, w którym larwy – glochidia – przechodzą pasożytniczy etap rozwoju na odpowiednich gatunkach ryb żywicielskich (Modesto i in. 2018; Rock i in. 2022; Rock i in. 2024). Sukces rozrodczy Unionidae zależy również od zachowania łączności siedlisk oraz warunków umożliwiających przeżycie młodocianych stadiów po odłączeniu od żywiciela (Lopes-Lima i in. 2017; Modesto i in. 2018; Sousa i in. 2023). Unionidae charakteryzują się ograniczoną mobilnością, przez co możliwości aktywnego unikania nagłych lub długotrwałych zmian środowiskowych są niewielkie (Schwalb i Pusch 2007; Lopes-Lima i in. 2017; Cushway i in. 2025).

Dane z ostatnich lat wskazują, że regresja populacji Unionidae w Europie dotyczy nie tylko gatunków od dawna uznawanych za rzadkie, ale także gatunków wcześniej traktowanych jako szeroko rozprzestrzenione, ekologicznie plastyczne lub lokalnie stabilne (Lopes-Lima i in. 2017; Ollard i Aldridge 2023; Lopes-Lima i in. 2023). Przeglądy dotyczące stanu ochrony europejskich małży słodkowodnych wskazują na spadki liczebności, fragmentację zasięgów oraz niedostatek aktualnych danych monitoringowych dla wielu populacji Unionidae (Lopes-Lima i in. 2017; Sousa i in. 2023; Lopes-Lima i in. 2025). *Unio tumidus* Philipsson, 1788 i *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758), były uznawane za stosunkowo szeroko rozprzestrzenione, jednak aktualne oceny wskazują na pogarszający się stan ich populacji i potrzebę uwzględniania ich w badaniach nad oddziaływaniem presji środowiskowych (Lopes-Lima i in. 2017; Lopes-Lima i Prié 2024a,b). Według aktualnych ocen IUCN *U. tumidus* został sklasyfikowany w Europie jako gatunek bliski zagrożenia, natomiast *A. anatina* jako gatunek narażony na wyginięcie (Lopes-Lima i Prié 2024a,b). Z tego względu badania

nad wpływem czynników środowiskowych na Unionidae są istotne nie tylko w kontekście ochrony najrzadszych, ale również w odniesieniu do gatunków wcześniej postrzeganych jako relatywnie stabilne populacyjnie (Lopes-Lima i in. 2017; Lopes-Lima i Prié 2024a,b; Szarmach i in. 2024).

W odróżnieniu od dużych Unionidae, Sphaeriidae obejmują drobne małże, często trudniejsze do wykrycia i oznaczenia, przez co są znacznie słabiej reprezentowane w badaniach (Halabowski i in. 2024; Lopes-Lima i in. 2025). Wiedza o rozmieszczeniu, wymaganiach siedliskowych, trendach populacyjnych i znaczeniu ekologicznym Sphaeriidae jest znacznie bardziej fragmentaryczna niż w przypadku Unionidae, co utrudnia ocenę ich rzeczywistej wrażliwości na presję (Halabowski i in. 2024; Lopes-Lima i in. 2025). Niewielkie rozmiary ciała, trudności w oznaczaniu i rzadkie uwzględnianie w standardowych programach monitoringu mogą sprawiać, że pogorszenie stanu populacji Sphaeriidae pozostaje słabiej widoczne niż regresja dużych małży Unionidae (Halabowski i in. 2024; Lopes-Lima i in. 2025).

Jednym z przedstawicieli Sphaeriidae jest *Sphaerium rivicola*, gatunek rodzimy dla Europy i związany głównie z wodami wolno płynącymi oraz drobnoziarnistymi podłożami, takimi jak piasek, muł i il (Piechocki i Wawrzyniak-Wydrowska 2016; Stanicka i in. 2025). *Sphaerium rivicola* (Lamarck, 1818) jest gatunkiem silnie zależnym od warunków panujących w strefie przydennej i w powierzchniowych warstwach podłoża (Piechocki i Wawrzyniak-Wydrowska 2016; Halabowski i in. 2024; Stanicka i in. 2025). Według oceny IUCN gatunek ten został sklasyfikowany jako narażony na wyginięcie, a jego populacja wykazuje trend spadkowy, co wskazuje na potrzebę głębszego poznania czynników ograniczających jego występowanie (Prié i Lopes-Lima 2024). W porównaniu z Unionidae, biologia i ekologia *S. rivicola* są słabiej poznane, dlatego badania nad reakcją tych małży na presję środowiskową mogą uzupełniać lukę dotyczącą funkcjonowania drobniejszych rodzimych małży słodkowodnych Europy (Halabowski i in. 2024; Szarmach i in. 2026).

Wrażliwość rodzimych małży słodkowodnych Europy oraz obserwowane spadki wielu populacji wskazują na potrzebę badania czynników, które mogą dodatkowo ograniczać ich funkcjonowanie w zmieniających się ekosystemach śródlądowych (Lopes-Lima i in. 2017; Sousa i in. 2023; Aldridge i in. 2023). Szczególne znaczenie mają presje związane ze zmianami globalnymi, w tym inwazje biologiczne oraz zaburzenia klimatyczno-hydrologiczne, ponieważ mogą one oddziaływać zarówno na przeżywalność, jak i na behavior, wzrost, kondycję oraz procesy fizjologiczne małży

(Reid i in. 2019; Cushway i in. 2025; Szarmach i in. 2024). U organizmów o ograniczonej mobilności presje niewywołujące natychmiastowej śmiertelności mogą prowadzić do zmian subletalnych, które z czasem mogą wpływać na sukces rozrodczy i trwałość populacji (Fritts i in. 2015; Strayer 2017; Said i Nassar 2022). Z tego względu ocena wpływu inwazji biologicznych i czynników związanych ze zmianami klimatu na rodzime małże słodkowodne jest istotna nie tylko dla poznania mechanizmów ich reakcji na stres środowiskowy, ale także dla ochrony rodzimej bioróżnorodności i funkcji ekosystemów śródlądowych Europy (Vaughn 2018; Zieritz i in. 2022; Sousa i in. 2023).

1.4. Susza hydrologiczna jako czynnik stresowy dla małży słodkowodnych

Zmiany klimatu należą obecnie do głównych czynników przekształcających funkcjonowanie ekosystemów słodkowodnych, ponieważ wpływają na temperaturę wody, reżim przepływu, sezonowość opadów, wahania poziomu wody i częstość zjawisk ekstremalnych (Reid i in. 2019; IPCC 2023; Dudgeon i Strayer 2025). W ekosystemach śródlądowych jednym z najważniejszych skutków tych zmian jest wzrost znaczenia okresów niskiego przepływu i obniżonego poziomu wody, które mogą prowadzić do suszy hydrologicznej (Van Loon 2015; IPCC 2023; Sonny i in. 2026). Susza hydrologiczna w wodach śródlądowych oznacza długotrwały deficyt wody w systemie hydrologicznym, przejawiający się m.in. obniżeniem przepływu w rzekach, spadkiem poziomu wody w jeziorach i zbiornikach, zmniejszeniem dopływu oraz ograniczeniem łączności między fragmentami siedlisk wodnych (Tallaksen i Van Lanen 2004; Van Loon 2015; Sonny i in. 2026). Z punktu widzenia organizmów bentosowych szczególnie istotnym skutkiem suszy hydrologicznej jest cofanie się linii brzegowej, odsłanianie strefy przybrzeżnej oraz wysychanie powierzchniowych warstw podłoża, ponieważ procesy te bezpośrednio zmniejszają powierzchnię dostępnych siedlisk i mogą prowadzić do ekspozycji organizmów wodnych na powietrze (Crausbay i in. 2017; Poznańska-Kakareko i in. 2017; Cushway i in. 2025; Szarmach i in. 2026).

Prognozy wskazują, że wraz z postępującym ociepleniem klimatu susze hydrologiczne mogą stawać się częstsze, dłuższe i bardziej intensywne w wielu regionach świata (IPCC 2023; OECD 2025; Sonny i in. 2026). Analizy te wskazują również, że zmiany mogą mieć wyraźny charakter sezonowy, co jest szczególnie ważne dla organizmów związanych z płytkimi siedliskami przybrzeżnymi, ponieważ okresy

niskiego poziomu wody mogą nakładać się na wysoką temperaturę i zwiększone parowanie (IPCC 2023; Sonny i in. 2026).

Susza hydrologiczna wpływa na ekosystemy słodkowodne nie tylko poprzez zmniejszenie ilości wody, ale także przez zmianę wielu powiązanych parametrów środowiskowych (Rolls i in. 2012; Bogan i in. 2017; Machuca-Sepúlveda i in. 2024). Spadek przepływu i poziomu wody zmniejsza heterogeniczność siedlisk, może izolować fragmenty rzek lub zbiorników oraz prowadzić do koncentracji organizmów w coraz mniejszych refugiach wodnych (Rolls i in. 2012; Bogan i in. 2017; Machuca-Sepúlveda i in. 2024). W takich warunkach może wzrastać konkurencja o przestrzeń i zasoby, a jednocześnie zmieniać się presja drapieżnicza oraz struktura zespołów organizmów wodnych (Lake 2003; Rolls i in. 2012; Machuca-Sepúlveda i in. 2024). Długotrwały niski przepływ może również pogarszać warunki fizykochemiczne wody, ponieważ wyższa temperatura, słabsze mieszanie, mniejsza objętość wody i większa koncentracja substancji rozpuszczonych mogą sprzyjać spadkom natlenienia (Gómez-Gener i in. 2021; Hejduk i in. 2025).

Na skutki suszy hydrologicznej szczególnie narażone są organizmy o ograniczonej mobilności, takie jak małże słodkowodne (Gough i in. 2012; Mitchell i in. 2018; Cushway i in. 2025). Jedną z podstawowych reakcji małży na ekspozycję na powietrze jest zamykanie muszli, które ogranicza utratę wody, ale jednocześnie zmniejsza możliwość wymiany gazowej, filtracji i usuwania produktów metabolizmu (Byrne i McMahon 1994; Güler 2020; Wright i in. 2024). Przetrwanie poza wodą może więc wiązać się z obniżeniem aktywności metabolicznej oraz wykorzystaniem rezerw energetycznych, co pozwala przeżyć krótkotrwały stres, ale może mieć konsekwencje dla późniejszej kondycji, wzrostu i reprodukcji (Byrne i McMahon 1994; Gough i in. 2012; Cushway i in. 2025). Drugą ważną reakcją jest zagrzebywanie się w głębszych, wilgotniejszych warstwach podłoża, które może ograniczać utratę wody i zmniejszać narażenie na ekstremalne temperatury powierzchniowej warstwy podłoża (Golladay i in. 2004; Gough i in. 2012; Wright i in. 2024). Trzecią możliwą strategią jest przemieszczanie się w kierunku cofającej się linii wody lub wilgotniejszych mikrosiedlisk, jednak ta strategia jest skuteczna tylko wtedy, gdy odległość do refugium jest niewielka, tempo spadku poziomu wody nie przekracza możliwości lokomotorycznych zwierzęcia, a struktura podłoża umożliwia ruch (Gough i in. 2012; Mitchell i in. 2018; Cushway i in. 2025). Czwarta strategia łączy aktywne

przemieszczanie się w kierunku bardziej wilgotnych mikrosiedlisk z późniejszym zagrzebywaniem się w podłożu (Gough i in. 2012).

Gatunki lepiej przystosowane do wahań poziomu wody mogą dłużej przeżywać ekspozycję na powietrze, skuteczniej ograniczać utratę wody lub częściej wykorzystywać zagrzebywanie jako strategię przetrwania (Gough i in. 2012; Mitchell i in. 2018; Wright i in. 2024). Z kolei gatunki mniej odporne mogą być bardziej zależne od możliwości aktywnego przemieszczenia się do refugium wodnego (Gough i in. 2012; Nakano 2018; Wright i in. 2024).

Susza hydrologiczna może również zmieniać relacje między gatunkami rodzimymi i inwazyjnymi, ponieważ działa jako filtr środowiskowy faworyzujący organizmy lepiej przystosowane do obniżenia poziomu wody, ekspozycji na powietrze i wysychania podłoża (Bogan i in. 2017; Reid i in. 2019; Cushway i in. 2025). Jeśli gatunek inwazyjny wykazuje większą tolerancję na warunki suszy niż gatunki rodzime, epizody niskiego poziomu wody mogą osłabiać populacje rodzime i jednocześnie zwiększać przewagę gatunku inwazyjnego po ponownym nawodnieniu siedliska (Didham i in. 2007; Sorte i in. 2013; Reid i in. 2019). W przypadku małży słodkowodnych szczególne znaczenie może mieć porównanie gatunków współwystępujących w podobnych siedliskach, ponieważ różnice w przeżywalności, mobilności i zdolności do zagrzebywania mogą decydować o tym, które gatunki pozostaną w strefach przybrzeżnych po epizodach obniżonego poziomu wody (Gough i in. 2012; Mitchell i in. 2018; Cushway i in. 2025).

Mimo rosnącej liczby badań nad skutkami suszy hydrologicznej dla ekosystemów słodkowodnych, reakcje małży na spadek poziomu wody, odsłanianie dna i wysychanie podłoża pozostają słabiej poznane niż reakcje wielu bardziej mobilnych grup zwierząt wodnych (Poznańska i in. 2015a,b; Cushway i in. 2025; Machuca-Sepúlveda i in. 2024). Brakuje porównań gatunków rodzimych i inwazyjnych małży w podobnych warunkach hydrologicznych (Poznańska i in. 2013). Kluczowe jest określenie, czy susza może sprzyjać gatunkom inwazyjnym małży jako potencjalnie bardziej odpornym na wysychanie w porównaniu z rodzimymi, wpływając tym samym na relacje konkurencyjne między tymi organizmami oraz na strukturę zespołów bentosowych.

2. Badania wykonane w ramach rozprawy doktorskiej

2.1. Cele i hipotezy badawcze

Celem głównym niniejszej rozprawy było określenie, w jaki sposób inwazja małży z kompleksu *Corbicula* oraz susza hydrologiczna wpływają na funkcjonowanie rodzimych małży słodkowodnych Europy. Badania przeprowadzono na rodzimych małżach reprezentujących dwie rodziny: Unionidae, tj. *Unio tumidus* i *Anodonta anatina*, oraz Sphaeriidae, tj. *Sphaerium rivicola*. Małże z kompleksu *Corbicula* traktowano zarówno jako czynnik oddziałujący na rodzime Unionidae, jak i jako takson porównawczy wobec rodzimych *S. rivicola* w warunkach suszy hydrologicznej. Wybrane rodzime gatunki małży *U. tumidus*, *A. anatina* i *S. rivicola* mogą współwystępować z małżami z kompleksu *Corbicula* i wykazywać podobne preferencje względem podłoża, co umożliwia porównanie reakcji gatunku rodzimego i inwazyjnego na ten sam czynnik stresowy (Poznańska-Kakareko i in. 2021, Szarmach i in. 2023; Stanicka i in. 2025).

Wskazano trzy cele szczegółowe:

1. **Określenie wpływu modyfikacji podłoża przez żywe małże z rodzaju *Corbicula* oraz ich muszle na rodzime Unionidae.**

W ramach tego zadania sprawdzono, czy *U. tumidus* i *A. anatina* unikają podłoża zmodyfikowanego przez żywe małże *Corbicula* i/lub ich muszle oraz czy taka modyfikacja wpływa na behavior małży Unionidae. Badanie to stanowi treść pierwszej publikacji: Szarmach i in. (2024) (poz. 1, str. 6).

Sformułowano trzy hipotezy badawcze. Po pierwsze, założono, że rodzime Unionidae, czyli *U. tumidus* i *A. anatina*, będą unikały podłoża z żywymi małżami *Corbicula* oraz podłoża z ich pustymi muszlami. Po drugie, założono, że obecność małży *Corbicula* będzie zaburzać naturalny behavior rodzimych Unionidae, zwłaszcza lokomocję i zagrzebywanie. Oczekiwano, że małże rodzime będą zagrzebywać się płycej i przemieszczać się na krótsze dystanse z powodu mechanicznych przeszkód tworzonych przez żywe małże *Corbicula* i/lub ich muszle. Dopuszczono jednak także możliwość, że w przypadku aktywnego unikania małży *Corbicula* lokomocja Unionidae może być bardziej intensywna. Po trzecie, założono, że rodzime Unionidae będą silniej reagować na puste muszle małży *Corbicula* niż na żywe osobniki, ponieważ puste muszle mogą znajdować się na powierzchni podłoża lub być wymieszane z piaskiem pod różnymi kątami, podczas gdy żywe małże są zwykle pionowo zagrzebane w piasku.

2. **Określenie długoterminowych konsekwencji występowania inwazyjnych małży z rodzaju *Corbicula* na rodzime małże Unionidae.**

W ramach tego zadania analizowano skutki pięciomiesięcznej ekspozycji małży *U. tumidus* i *A. anatina* na obecność małży *Corbicula*. Uwzględniono śmiertelność, przyrost muszli, kondycję fizyczną, zawartość glikogenu oraz wskaźniki równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej, aby określić, czy wpływ inwazji może ujawniać się jako odpowiedź subletalna przed pojawieniem się wyraźnych zmian populacyjnych. Badanie to stanowi treść manuskryptu: Szarmach i in. (w przygotowaniu) (poz. 2, str. 6).

Sformułowano trzy hipotezy badawcze. Po pierwsze, założono, że długoterminowa obecność małży *Corbicula* będzie negatywnie wpływać na rodzime Unionidae, ograniczając ich wzrost, kondycję fizyczną i rezerwy energetyczne oraz zwiększając stres oksydacyjny i/lub koszty jego redukcji. Po drugie, założono, że negatywne efekty obecności małży *Corbicula* będą najsilniejsze w warunkach wysokiego zagęszczenia, ponieważ w takich warunkach konkurencja o zasoby oraz lokalna modyfikacja podłoża powinny być silniejsze. Po trzecie, założono, że reakcje na obecność małży *Corbicula* będą gatunkowo specyficzne, czyli będą różnić się między *A. anatina* i *U. tumidus*.

3. **Porównanie wpływu suszy hydrologicznej na inwazyjne małże z rodzaju *Corbicula* oraz rodzime *Sphaerium rivicola*.**

W ramach tego zadania sprawdzono, jak obniżanie poziomu wody i wysychanie podłoża wpływają na przeżywalność, migrację oraz zagrzebywanie się małży *Corbicula* i rodzimego *S. rivicola*. Rdzeń badania stanowi próba odpowiedzi na pytanie, czy susza hydrologiczna może selektywnie sprzyjać małżom inwazyjnym jako taksonom bardziej odpornym na wysychanie. Badanie to stanowi treść drugiej publikacji: Szarmach i in. (2026) (poz. 3, str. 6).

Sformułowano dwie hipotezy badawcze. Po pierwsze, założono, że badane taksony, czyli małże *Corbicula* i *S. rivicola*, będą różnić się przeżywalnością podczas obniżenia poziomu wody i ekspozycji na powietrze. Oczekiwano, że małże *Corbicula* będą bardziej odporne na wysychanie niż *S. rivicola*. Po drugie, założono, że badane taksony będą reagować na obniżanie poziomu wody poprzez przemieszczanie się za cofającą się linią wody i/lub głębsze zagrzebywanie się w podłożu. W szczególności zakładano, że małże *S. rivicola* będą przemieszczać się w kierunku wilgotniejszych mikrosiedlisk, natomiast małże *Corbicula*, jako

bardziej odporne na wysychanie, będą wykorzystywać strategię pozostania w miejscu i zagrzebywania się w podłożu.

Prezentowana rozprawa doktorska składa się zatem z trzech powiązanych tematycznie prac badawczych: pierwsza dotyczy odpowiedzi siedliskowo-behawioralnych Unionidae na modyfikację podłoża przez małże *Corbicula*, druga rozszerza tę perspektywę o długoterminowe odpowiedzi, a trzecia wprowadza kontekst suszy hydrologicznej jako czynnika mogącego zwiększać przewagę konkurencyjną małży inwazyjnych nad rodzimymi.

2.2. Metodyka badań

2.2.1. Wpływ modyfikacji podłoża przez inwazyjne małże *Corbicula* na wybrane rodzime małże Unionidae

Badania wykonane w ramach pierwszej pracy (Szarmach i in. 2024) miały charakter laboratoryjny i zostały zaprojektowane tak, aby odtworzyć modyfikację podłoża przez małże *Corbicula* i ich muszle, obserwowaną w środowisku. Zakres pracy obejmował dwa eksperymenty.

W pierwszym eksperymencie określono, czy rodzime Unionidae unikają podłoża przekształconego przez małże *Corbicula* oraz czy reagują odmiennie na obecność żywych osobników i muszli. Wykonano testy wyboru parami w zbiornikach o wymiarach $30 \times 30 \times 30$ cm, podzielonych na dwie połowy. Każdą połowę zbiornika wypełniono innym typem podłoża, tworząc warstwę o grubości 10 cm. Wybór podłoża przez Unionidae badano w obecności piasku (mieszanina piasku średniego i grubego), stanowiącego kontrolę, oraz jednego z trzech wariantów modyfikacji tego podłoża obserwowanych w terenie przez muszle małży *Corbicula*:

- 4,5 l muszli *Corbicula*, umieszczonych na powierzchni 4,5 l piasku w stosunku objętościowym 1:1. Odpowiadało to zagęszczeniu $8400 \text{ muszli m}^{-2}$, przy czym dwie połówki muszli liczono jako jednego osobnika;
- muszle wymieszane z piaskiem w stosunku objętościowym 1:1;
- muszle wymieszane z piaskiem w stosunku objętościowym 1:3, co odpowiadało zagęszczeniu $2800 \text{ muszli m}^{-2}$.

Przetestowano dwa scenariusze: obecność muszli na powierzchni piasku oraz muszli wymieszanych z piaskiem. Z obserwacji wynika, że małże *Corbicula* przed śmiercią

wynurzają się na powierzchnię podłoża. Dlatego pierwszy scenariusz odzwierciedlał sytuację, gdy muszle małży *Corbicula* występują na powierzchni podłoża. Następnie, w wyniku procesów zachodzących na dnie, takich jak sedimentacja oraz bioturbacyjna aktywność fauny bentosowej, muszle *Corbicula* mogą zostać wymieszane z podłożem. Dlatego drugi scenariusz odzwierciedlał sytuację, w której muszle są wymieszane z podłożem. Muszle mieszano w górnej, 5-centymetrowej warstwie piasku, ponieważ *Corbicula* zagrzebują się jedynie w powierzchniowej warstwie podłoża.

Następnie przetestowano różne zagęszczenia (obserwowane w środowisku) muszli wymieszanych z piaskiem: 700, 1400 i 2100 muszli m⁻² i żywych osobników małży *Corbicula* w tych samych zagęszczeniach.

Celem było określenie minimalnego zagęszczenia, które wpływa na wybór siedliska przez Unionidae. Dodatkowo zbadano wybiórczość Unionidae między żywymi małżami *Corbicula* a ich muszlami przy zagęszczeniach, które wcześniej uznano za unikane w porównaniu z podłożem kontrolnym.

Na początku każdego testu do zbiornika eksperymentalnego wprowadzono pojedynczego osobnika Unionidae na granicy między dwoma typami podłoża. Po 24 h określano położenie osobnika. Wykonano po 30 powtórzeń każdego wariantu dla każdego gatunku rodzimego.

Drugi eksperyment służył określeniu, czy modyfikacja podłoża przez małże *Corbicula* i ich muszle wpływa na behavior rodzimych Unionidae. Określono behavior małży Unionidae na piasku (kontrola) oraz na piasku z różnymi wariantami modyfikacji podłoża przez małże i muszle *Corbicula*. Wybrano te warianty, które w pierwszym eksperymencie były unikane lub nieunikane. Eksperyment przeprowadzono w tych samych zbiornikach, których użyto w części pierwszej. W każdym zbiorniku zastosowano jeden typ podłoża.

Na początku każdego testu pojedynczego osobnika Unionidae umieszczano w centrum zbiornika. Eksperyment rejestrowano przez 24 h za pomocą cyfrowych kamer wideo CCTV IP SNB-6004 wyposażonych w promienniki podczerwieni LIR-CS32. Wykonano po 15 powtórzeń każdego wariantu dla każdego gatunku rodzimego.

Uzyskane nagrania analizowano, mierząc następujące parametry behawioralne: czas rozpoczęcia ruchu, czas trwania zagrzebywania i poziom zagrzebania, dystans lokomocji oraz czas lokomocji.

2.2.2. Długoterminowe konsekwencje obecności małży *Corbicula* dla wybranych rodzimych małży Unionidae

Badania wykonane w ramach manuskryptu (Szarmach i in. w przygotowaniu) miały charakter terenowy i zostały zaprojektowane tak, aby odtworzyć zagęszczenia małży *Corbicula* i rodzimych małży Unionidae (*A. anatina* i *U. tumidus*) obserwowane w środowisku. Zakres pracy obejmował jeden eksperyment.

Przed eksperymentem każdego osobnika Unionidae zważono, zmierzono jego długość, wysokość i szerokość muszli oraz przypisano mu indywidualny numer, co umożliwiała analizę jego danych biometrycznych po eksperymentcie. Na podstawie wykonanych pomiarów ustalono, że średnia mokra biomasa osobnika Unionidae wynosiła około 26 g. Spośród osobników wybranych do eksperymentu w każdym powtórzeniu i wariancie eksperymentalnym dodatkowo oznaczono po trzy Unionidae, których biomasa była najbliższa wartości średniej. Osobniki te przeznaczono do dalszych analiz.

Na podstawie początkowych pomiarów małży ustalono, że biomasa jednego osobnika Unionidae odpowiadała w przybliżeniu biomasie 38 osobników małży *Corbicula*. Informację tę wykorzystano do utworzenia czterech wariantów eksperymentalnych (15 powtórzeń dla każdego rodzimego gatunku małża), zastosowanych oddzielnie dla *U. tumidus* i *A. anatina*:

- kontrola o niskim zagęszczeniu: 4 osobniki Unionidae (łączna biomasa 104 g, 65 osobników m^{-2}),
- wariant o niskim zagęszczeniu z małżami *Corbicula*: 3 osobniki Unionidae (78 g, 49 osobników m^{-2}), oraz 38 osobników małży *Corbicula* (26 g, 500 osobników m^{-2} ; łączna biomasa 104 g),
- kontrola o wysokim zagęszczeniu: 8 osobników Unionidae (łączna biomasa 208 g, 130 osobników m^{-2}),
- wariant o wysokim zagęszczeniu z małżami *Corbicula*: 4 osobniki Unionidae (104 g, 65 osobników m^{-2}), oraz 150 osobników małży *Corbicula* (104 g, 2000 osobników m^{-2} ; łączna biomasa 208 g).

Zastosowane zagęszczenia małży Unionidae mieściły się w zakresie wartości notowanych w naturalnych populacjach (Weber, 2005; Schwalb i Pusch, 2007). Zagęszczenia małży *Corbicula* również odpowiadały wartościom notowanym w

populacjach europejskich: od kilkuset do ponad 2000 osobników m^{-2} (Lois, 2010; Hubenov i in., 2013).

Wykorzystano 10-litrowe plastikowe pojemniki o średnicy dna 28 cm i wysokości 25 cm, wypełnione 10-centymetrową warstwą piasku. W każdym pojemniku, powyżej poziomu piasku, wycięto trzy otwory, z których każdy miał 22 cm długości i 9 cm wysokości. Otwory zabezpieczono siatką o wielkości oczek $0,5 \times 0,5$ cm, aby umożliwić swobodny przepływ wody przez pojemniki.

Pojemniki umieszczono na głębokości 1,5 m w strefie przybrzeżnej Zbiornika Włocławskiego. Zostały one zabezpieczone za pomocą stalowych prętów o długości 2 m, z których 1 m był wbity w podłoże w celu stabilizacji układu eksperymentalnego i zapobieżenia jego przemieszczaniu przez falowanie. Pojemniki pozostawały zanurzone przez 5 miesięcy, od lipca do końca listopada 2022 roku. Pod koniec listopada 2022 roku zebrano wszystkie pojemniki eksperymentalne. Z każdego pojemnika (czyli powtórzenia eksperymentu) pobrano trzy osobniki Unionidae, które wcześniej dodatkowo oznaczono do dalszych analiz.

Po zakończeniu ekspozycji terenowej oceniano również śmiertelność, licząc żywe i martwe osobniki w każdym pojemniku. Do oceny wzrostu wykorzystano zmiany wymiarów muszli i biomasy osobników, natomiast kondycję fizyczną określano na podstawie suchej masy tkanek miękkich w relacji do rozmiarów małży. Oceniano również rezerwy energetyczne poprzez pomiar zawartości glikogenu w nodze oraz parametry równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej, w tym poziom peroksydacji lipidów (TBARS) w nodze oraz wątrobotrzustce, całkowity status oksydacyjny (TOS) w wątrobotrzustce i całkowity status antyoksydacyjny (TAS) w wątrobotrzustce. Uwzględnienie tkanek pełniących różne funkcje (noga i wątrobotrzustka) umożliwiło ocenę, czy potencjalne skutki obecności małży *Corbicula* ujawniają się przede wszystkim w tkankach związanych z kontaktem z podłożem, lokomocją i zagrzebywaniem, czy też w tkankach związanych z metabolizmem i detoksykacją. Zakres tej pracy odpowiadał potrzebie sprawdzenia, czy oddziaływanie małży *Corbicula* na rodzime Unionidae, nawet jeśli nie powoduje bezpośrednio śmiertelności, może mieć charakter długoterminowy i subletalny.

2.2.3. Wpływ suszy hydrologicznej na inwazyjne małże *Corbicula* i rodzime małże *Sphaerium rivicola*

Badanie wykonane w ramach trzeciej pracy (Szarmach i in. 2026) miało charakter laboratoryjny i zostało zaprojektowane tak, aby odtworzyć dwa kluczowe elementy suszy hydrologicznej z punktu widzenia organizmów dennych: spadek poziomu wody oraz wysychanie piaszczystego podłoża. Zakres trzeciej pracy obejmował trzy eksperymenty.

W pierwszym oceniano przeżywalność małży podczas obniżenia poziomu wody i stopniowego wysychania podłoża. Eksperyment przeprowadzono w 1-litrowych plastikowych pojemnikach o średnicy dna 10,4 cm, średnicy górnej 12,3 cm i wysokości 11 cm. Każdy pojemnik wypełniono 3-centymetrową warstwą piasku oraz 3-centymetrową warstwą wody kondycjonowanej. Introdukowano po trzy osobniki małży w jednym pojemniku. Zastosowano po 15 pojemników dla wariantu suszy oraz po 15 pojemników dla wariantu kontrolnego (zalanego wodą), osobno dla małży *Corbicula* i *S. rivicola*.

W wariacie suszy, dwa dni po introdukowaniu małży, codziennie przez trzy kolejne dni odciągano 100 ml wody. W efekcie poziom wody obniżył się do powierzchni podłoża. W wariacie kontrolnym stały poziom wody utrzymywano przez cały czas trwania eksperymentu.

Od piątego dnia, czyli od momentu, w którym powierzchnia podłoża została odsłonięta i wystawiona na działanie powietrza, codziennie oceniano przeżywalność małży we wszystkich powtórzeniach. Śmiertelność rejestrowano wizualnie, gdy osobnik znajdował się na powierzchni, jego muszla była szeroko otwarta, osobnik nie reagował na bodźce dotykowe, a obserwację potwierdzał charakterystyczny zapach. Dodatkowo każdego dnia wszystkie osobniki z jednego powtórzenia w każdym wariacie sprawdzano pod kątem przeżywalności. Przenoszono je do oddzielnych zbiorników z wodą, a ich przeżywalność oceniano po 24 h na podstawie wysuwania syfonów i/lub nogi, rozwarcia muszli oraz zdolności do zamykania muszli.

Na podstawie łącznej śmiertelności stwierdzonej obiema metodami obliczano skumulowaną liczbę oraz procent osobników żywych i martwych w każdym dniu eksperymentu. Eksperyment zaplanowano na 15 dni lub krócej, jeżeli wcześniej nastąpiłaby całkowita śmiertelność.

W drugim eksperymencie analizowano migrację małży w warunkach obniżania poziomu wody, czyli zdolność przemieszczania się w kierunku wilgotniejszych lub nadal

zalanym stref podłoża. Pierwszą część przeprowadzono w prostokątnych zbiornikach o wymiarach dna 24×12 cm i wysokości 20 cm. Zbiorniki wypełniono 3-centymetrową warstwą piasku oraz 3-centymetrową warstwą wody. Każdy zbiornik podzielono szklanymi przegrodami na trzy równe strefy. Jeden z krótszych boków zbiornika uniesiono o 4,5 cm nad powierzchnię stołu laboratoryjnego, aby imitować naturalne nachylenie brzegu i utworzyć gradient głębokości wody. Trzy osobniki jednego taksonu wprowadzono w pobliżu uniesionego brzegu zbiornika. Dzień po wprowadzeniu małży usunięto szklane przegrody, aby umożliwić małżom migrację.

W wariancie suszy codziennie przez sześć kolejnych dni usuwano 150 ml wody, aby przyspieszyć obniżanie poziomu wody. W wariancie kontrolnym przez cały czas trwania eksperymentu utrzymywano stały poziom wody. Po sześciu dniach w wariancie suszy wyróżniono trzy strefy podłoża:

- strefę górną - wysychającą jako pierwsza podczas obniżania poziomu wody,
- strefę środkową - w której pod koniec eksperymentu nie było wody na powierzchni, ale w podłożu znajdowała się woda interstycjalna,
- strefę dolną - pozostającą pod wodą do końca eksperymentu.

Dzień po uformowaniu się stref, czyli ósmego dnia eksperymentu, przegrody ponownie umieszczano w zbiornikach, a następnie określano położenie każdego osobnika w jednej z trzech stref. Żywotność małży oceniano tak samo jak w eksperymencie pierwszym.

Jeżeli osobniki danego taksonu migrowały do dolnej strefy zbiornika eksperymentalnego, co dotyczyło *S. rivicola*, przeprowadzano drugą część eksperymentu migracyjnego w zbiornikach dwukrotnie dłuższych. Zbiorniki wypełniono 3-centymetrową warstwą piasku oraz 6-centymetrową warstwą wody, a jeden z krótszych boków uniesiono o 9 cm nad powierzchnię stołu laboratoryjnego.

Procedura była taka sama jak wcześniej, z tą różnicą, że ze względu na większy rozmiar zbiornika codziennie usuwano 300 ml wody, aby imitować porównywalne tempo obniżania poziomu wody. W każdej części doświadczenia, pierwszej i drugiej, zastosowano po 15 powtórzeń dla wariantu suszy i 15 dla wariantu kontrolnego, oddzielnie dla każdego taksonu.

W trzecim eksperymencie oceniano zagrzebywanie się w piaszczystym podłożu jako potencjalną reakcję na spadek poziomu wody. Eksperyment przeprowadzono w prostokątnych zbiornikach o wymiarach dna 14×14 cm i wysokości 20 cm. Zbiorniki wypełniono 10-centymetrową warstwą piasku oraz 3-centymetrową warstwą wody. W

każdym zbiorniku umieszczano trzy osobniki jednego taksonu. Liczba zbiorników wynosiła 15 dla każdego wariantu, osobno dla każdego taksonu.

W wariacie suszy codziennie przez trzy kolejne dni usuwano 125 ml wody, aby stopniowo obniżać poziom wody do powierzchni podłoża. W wariacie kontrolnym przez cały czas trwania eksperymentu utrzymywano stały poziom wody.

Dzień po zrównaniu poziomu wody z poziomem podłoża oceniano głębokość zagrzebania każdego osobnika. Podłoże podzielono na dziesięć poziomych warstw o grubości 1 cm każda, a następnie określono liczbę osobników obecnych w każdej warstwie. Osobnika przypisywano do tej warstwy, w której znajdował się szczyt jego muszli. Przeżywalność małży oceniano tak samo jak w eksperymencie pierwszym.

3. Wyniki i ich omówienie

3.1. Wpływ modyfikacji podłoża przez inwazyjne małże *Corbicula* na wybrane rodzime małże Unionidae

Wyniki pierwszej publikacji (Szarmach i in. 2024) wykazały, że modyfikacja podłoża przez małże z kompleksu *Corbicula* wpływała na wybór siedliska oraz behavior rodzimych małży Unionidae. Zarówno *U. tumidus*, jak i *A. anatina* unikały piasku zmodyfikowanego przez żywe osobniki *Corbicula* oraz ich muszle, co potwierdziło pierwszą hipotezę. Reakcja ta zależała jednak od gatunku małża rodzimego i typu modyfikacji podłoża. Małże *U. tumidus* unikały podłoża z muszlami *Corbicula* już przy zagęszczeniu 1400 muszli m^{-2} , natomiast *A. anatina* reagowały przy zagęszczeniu 2100 muszli m^{-2} . Oba gatunki unikały żywych osobników małży *Corbicula* przy zagęszczeniu 1400 osobników m^{-2} . Jednocześnie w testach wyboru małże rodzime nie rozróżniały wyraźnie podłoża z żywymi osobnikami i podłoża z pustymi muszlami małży *Corbicula*.

Zagęszczenia, przy których obserwowano unikanie zmodyfikowanego podłoża, mieszczą się w zakresie wartości notowanych w populacjach małży *Corbicula* w środowisku naturalnym. W Ameryce Północnej notowano zagęszczenia dochodzące do 10000 osobników m^{-2} , a w Europie nawet do 16000 osobników m^{-2} (Marsh 1985; Hubenov i in. 2013). Najbardziej prawdopodobnym mechanizmem tej reakcji była zmiana struktury podłoża. Żywe małże *Corbicula* oraz ich muszle zwiększały udział twardych elementów w piaszczystym podłożu. Dla małży Unionidae takie podłoże mogło być odpowiednikiem podłoża o większej granulacji, którego unikają (Poznańska-

Kakareko i in. 2021). Ponieważ małże *Corbicula* i badane gatunki Unionidae mogą preferować podobne, drobnoziarniste podłoża, ich współwystępowanie może prowadzić do konkurencji o przestrzeń (Strayer 1999; Modesto i in. 2021; Hopper i in. 2022; Poznańska-Kakareko i in. 2021).

Druga hipoteza, zakładająca wpływ *Corbicula* na behavior rodzimych Unionidae, również została potwierdzona. Modyfikacja podłoża wpływała zarówno na rozpoczęcie aktywności, jak i na lokomocję oraz zagrzebywanie się małży Unionidae. Osobniki na podłożu zmodyfikowanym przez *Corbicula* później rozpoczynały ruch niż w kontroli. U *U. tumidus* efekt ten był istotny w obecności muszli leżących na powierzchni piasku oraz żywych osobników *Corbicula* przy zagęszczeniu 1400 osobników m⁻². U *A. anatina* opóźnienie rozpoczęcia ruchu występowało w obecności muszli na powierzchni i muszli wymieszanych z piaskiem w proporcji 1:1, a także w obecności żywych osobników *Corbicula* przy zagęszczeniu 1400 osobników m⁻².

Zmiany dotyczyły także lokomocji. W warunkach kontrolnych małże *U. tumidus* nie wykazywały lokomocji horyzontalnej, natomiast małże *A. anatina* przemieszczały się w 60% przypadków, pokonując średnio 126 cm. Na podłożu zmodyfikowanym przez *Corbicula*, które było unikane w pierwszym eksperymencie, przemieszczało się 37% osobników *U. tumidus* i 48% osobników *A. anatina*. Małże *U. tumidus* pokonywały większy dystans i przemieszczały się dłuższy czas w obecności muszli *Corbicula* leżących na powierzchni oraz muszli wymieszanych z piaskiem w proporcji 1:1, a średni dystans wynosił 33 cm, podczas gdy w kontroli wynosił 0 cm. U małży *A. anatina* dystans lokomocji nie różnił się między wariantami, ale obecność muszli *Corbicula* na powierzchni wydłużała czas ruchu. Oznacza to, że u *U. tumidus* obecność muszli indukowała próbę poszukiwania optymalnego mikrosiedliska, natomiast u *A. anatina* spowalniała przemieszczanie się po zmodyfikowanym podłożu.

W kontroli zagrzebywały się wszystkie osobniki Unionidae, natomiast na podłożu zmodyfikowanym przez *Corbicula* zagrzebywało się 82% osobników *U. tumidus* i 75% osobników *A. anatina*. Obecność muszli na powierzchni skracała czas zagrzebywania obu gatunków. U *U. tumidus* średni czas zagrzebywania zmniejszał się z 75 minut w kontroli do 23 minut w obecności muszli *Corbicula* na powierzchni, a w obecności muszli wymieszanych z piaskiem w proporcji 1:1 wynosił 33 minuty. U *A. anatina* średni czas zagrzebywania zmniejszał się z 31 minut w kontroli do 0 minut w obecności muszli na powierzchni, kiedy to małże się nie zagrzebywały. W obecności żywych małży *Corbicula*

A. anatina zagrzebywała się dłużej w większości wariantów z żywymi osobnikami, średnio 74 minuty, z wyjątkiem podłoża o zagęszczeniu 700 osobników m⁻².

Różny czas zagrzebywania najprawdopodobniej wynikał z odmiennych reakcji małży. Krótsze zagrzebywanie w obecności muszli mogło być podyktowane tym, że część osobników nie była w stanie rozpocząć lub kontynuować skutecznego zagrzebywania w takim podłożu. Z kolei dłuższe zagrzebywanie *A. anatina* w obecności żywych małży *Corbicula* wskazuje, że osiągnięcie podobnego poziomu zagrzebania jak w kontroli mogło wymagać więcej czasu. Podobne reakcje małży Unionidae na niepreferowane, gruboziarniste podłoża opisywano już wcześniej; w porównaniu z podłożem drobnoziarnistym obejmowały one dłuższy czas zagrzebywania, płytszy poziom zagrzebania oraz pokonywanie dłuższego dystansu (Lewis i Riebel 1984; Jonsson i in. 2013; Hernández i in. 2021; Poznańska-Kakareko i in. 2021).

Poziom zagrzebania zależał także od gatunku rodzimych Unionidae. Małże *U. tumidus* zagrzebywały się płycej we wszystkich wariantach podłoża zmodyfikowanego przez *Corbicula*, z wyjątkiem wariantu z żywymi *Corbicula* przy zagęszczeniu 700 osobników m⁻². Małże *Anodonta anatina* zagrzebywały się płycej w obecności muszli *Corbicula* przy minimalnym zagęszczeniu 2100 muszli m⁻². Silniejszy wpływ *Corbicula* na zagrzebywanie *U. tumidus* może wynikać z różnic morfologicznych między gatunkami Unionidae. Małże *Anodonta anatina* charakteryzują się węższą muszlą niż *U. tumidus*, co może zmniejszać opór podczas zagrzebywania i częściowo tłumaczyć słabszą reakcję tego gatunku na warianty ze zmodyfikowanym podłożem (Levine i in. 2014).

W kontekście ekologii, zagrzebywanie jest jednym z podstawowych mechanizmów ochronnych małży Unionidae. Zmniejsza ono narażenie na drapieżniki oraz na niekorzystne warunki abiotyczne, takie jak wahania poziomu wody, przesuszanie podłoża, powódzie i skrajne temperatury (Schwalb i Pusch 2007; Gough i in. 2012; Haag 2012; Zając 2014; Newton i in. 2015; Sousa i in. 2019; Nagayama i in. 2020; Meira i in. 2024). Małże pozostające płycej w podłożu lub na jego powierzchni mogą być też bardziej narażone na porastanie przez epibionty, w tym inwazyjne małże z rodzaju *Dreissena*, które mogą ograniczać filtrację, oddychanie i odżywianie oraz mobilność Unionidae (McCarthy i in. 1997; Dzierżyńska-Białończyk i in. 2018; Larson i in. 2016; Müller i in. 2021). Dlatego modyfikacja podłoża przez *Corbicula* może zwiększać podatność rodzimych małży na inne stresory.

Trzecia hipoteza, zakładająca silniejszą reakcję małży Unionidae na puste muszle niż na żywe osobniki *Corbicula*, nie została potwierdzona. W testach wyboru oba gatunki

nie rozróżniały podłoża z żywymi małżami od podłoża z pustymi muszlami. Wskazuje to, że dla wyboru siedliska ważny był sam efekt fizycznej modyfikacji podłoża. Różnice między typami modyfikacji były jednak widoczne w behawiorze małży. Muszle, zwłaszcza leżące na powierzchni lub wymieszane z piaskiem, silnie ograniczały zagrzebywanie i zmieniały lokomocję. Żywe osobniki *Corbicula* częściej wydłużały czas zagrzebywania, zwłaszcza u *A. anatina*. Wynika to najprawdopodobniej z innego ułożenia muszli i żywych małży *Corbicula* w podłożu. Puste muszle mogą leżeć na powierzchni lub pod różnym kątem w podłożu, tworząc trudniejszą do penetracji warstwę. Żywe osobniki są natomiast zwykle zagrzebane pionowo w powierzchniowej warstwie podłoża.

Wyniki pierwszej publikacji pokazują więc, że małże z kompleksu *Corbicula* mogą oddziaływać na rodzime Unionidae. Ich wpływ nie ogranicza się do konkurencji o pokarm i przestrzeń (Strayer 1999; Modesto i in. 2019; Modesto i in. 2021; Hopper i in. 2022). Istotnym mechanizmem jest również fizyczna zmiana struktury podłoża przez żywe osobniki i puste muszle. Ma to szczególne znaczenie, ponieważ puste muszle *Corbicula* mogą utrzymywać się w środowisku przez wiele lat i tworzyć trwałe, trójwymiarowe struktury w podłożu (Ilarri i in. 2015; Ilarri i in. 2019). W populacjach o dużym zagęszczeniu lub takich, które okresowo doświadczają masowej śmiertelności, ilość pozostawionych muszli może być znaczna (Werner i Rothhaupt 2007; Ilarri i in. 2011; Bódis i in. 2014a, b; McDowell i Sousa 2019).

Podsumowując, pierwsza publikacja wykazała, że modyfikacja podłoża przez małże *Corbicula* ogranicza przydatność siedlisk dla rodzimych Unionidae. Małże *U. tumidus* i *A. anatina* unikały podłoża zmodyfikowanego przez żywe małże i ich muszle, a na takim podłożu zmieniały lokomocję i zagrzebywały się słabiej lub wolniej. Skutki te mogą prowadzić do wypychania rodzimych małży z preferowanych siedlisk do suboptymalnych oraz zwiększać ich ekspozycję na drapieżniki, biofouling i niekorzystne warunki abiotyczne. Biorąc pod uwagę szerokie rozprzestrzenienie małży *Corbicula* i wysokie zagęszczenia populacji oraz spadki liczebności małży Unionidae w Europie, modyfikacja podłoża przez inwazyjne małże powinna być traktowana jako jeden z mechanizmów zagrożenia dla rodzimych małży słodkowodnych (Lopes-Lima i in. 2017; Aldridge i in. 2023; Lopes-Lima i in. 2023; Nakamura i in. 2023).

3.2. Długoterminowe konsekwencje obecności inwazyjnych małży *Corbicula* dla wybranych rodzimych małży Unionidae

Wyniki przedstawione w manuskrypcie wykazały, że pięciomiesięczna obecność inwazyjnych małży *Corbicula* nie wywołała jednoznacznie negatywnego wpływu na rodzime małże Unionidae. Reakcje *A. anatina* i *U. tumidus* zależały od gatunku, zagęszczenia, analizowanego narządu (noga i wątrobotrzustka) oraz typu wskaźnika. Badania ujawniły zatem złożoność wpływu obecności małży *Corbicula* na rodzime małże.

Śmiertelność rodzimych małży Unionidae była niska i nie zależała od obecności małży *Corbicula* ani od ogólnego zagęszczenia małży, co jest zgodne z podobnymi wynikami opisanymi przez Ferreira-Rodríguez i in. (2018). Śmiertelność inwazyjnych małży *Corbicula* w wariantach z małżami *A. anatina* była wyższa niż w wariantach z małżami *U. tumidus* oraz wyższa w wariacie o wyższym zagęszczeniu niż w niższym.

Reakcje na stresory często pojawiają się na początku na poziomie subletalnym, obejmując wzrost, kondycję fizyczną, poziom rezerwy energetycznej i równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną, zanim wystąpi śmiertelność lub spadek liczebności populacji (Fritts i in. 2015; Said i Nassar 2022; Hillebrand i in. 2024). Dlatego kluczowe znaczenie miały wyniki dotyczące wzrostu, kondycji fizycznej, zawartości glikogenu oraz parametrów stresu oksydacyjnego.

Przyrost długości muszli małży *A. anatina* był większy w wariantach o niższym zagęszczeniu niż w wariantach o wyższym zagęszczeniu, a przyrost szerokości był większy w wariantach z małżami *Corbicula* niż w kontrolach o takim samym ogólnym zagęszczeniu oraz w wariantach o niższym zagęszczeniu niż w wariantach o wyższym zagęszczeniu. Przyrost mokrej masy małży *A. anatina* był większy w wariantach z małżami *Corbicula* niż w kontrolach o takim samym ogólnym zagęszczeniu oraz w wariantach o niższym zagęszczeniu niż w wariantach o wyższym zagęszczeniu. Prawdopodobnie większy przyrost szerokości muszli i mokrej masy *A. anatina* w wariantach z małżami *Corbicula* wynikał ze zmniejszenia presji wewnątrzgatunkowej ze strony innych osobników *A. anatina*, a nie z pozytywnego wpływu inwazyjnych małży. Efekty zależne od zagęszczenia są spodziewane, ponieważ małże mogą konkurować o zawieszone cząstki pokarmowe, przestrzeń i korzystne mikrosiedliska w podłożu (Ferreira-Rodríguez i in. 2018; Vaughn 2018). Wcześniejsze badania wskazywały też, że

wzrost liczebności małży *Corbicula* może ograniczać wzrost i kondycję rodzimych małży oraz zwiększać ich aktywność lokomotoryczną (Ferreira-Rodríguez i in. 2018).

Zależność między wielkością osobników małży *A. anatina* a ich suchą masą tkanek miękkich (kondycja fizyczna) różniła się w wariancie kontrolnym o wysokim zagęszczeniu. W tym wariancie mniejsze osobniki charakteryzowały się większą, a większe osobniki mniejszą suchą masą tkanek miękkich niż w pozostałych wariantach. Wskazuje to na zmianę relacji między wielkością osobnika a kondycją przy wysokim zagęszczeniu osobników własnego gatunku, a nie na efekt obecności małży *Corbicula*. U większych osobników małży *A. anatina* większe znaczenie mogła mieć konkurencja wewnątrzgatunkowa niż sama obecność małży *Corbicula*. Odwrotny wzorzec u mniejszych osobników może natomiast wskazywać, że wysokie zagęszczenie osobników własnego gatunku czasowo modyfikowało lokalne warunki w podłożu w sposób mniej niekorzystny. Mechanizm tego wzorca pozostaje jednak niejasny, ponieważ w trakcie eksperymentu nie monitorowano położenia osobników, głębokości zagrzebienia ani aktywności behawioralnej.

Wyniki dotyczące stresu oksydacyjnego u *A. anatina* były zależne od narządu. W nodze poziom peroksydacji lipidów (TBARS) zależał od interakcji zagęszczenia i obecności małży *Corbicula*. Poziom peroksydacji lipidów był wyższy przy większym zagęszczeniu, a w wariantach wysokiego zagęszczenia był wyższy w obecności małży *Corbicula* niż w kontroli. Po dodaniu małży *Corbicula* przy zachowaniu stałego zagęszczenia Unionidae poziom peroksydacji lipidów w nodze u *A. anatina* również wzrastał. Noga bierze udział w zagrzebywaniu, lokomocji, utrzymywaniu pozycji i bezpośrednim kontakcie z podłożem, dlatego może być szczególnie wrażliwa na zmianę warunków siedliskowych (Fritts i in. 2015; Canli i in. 2023; Szarmach i in. 2024). Dlatego wynik ten wskazuje, że większe zagęszczenie i obecność małży *Corbicula* mogło zwiększać aktywność małży *A. anatina*, tym samym prowadzić do wyższego poziomu stresu oksydacyjnego w nodze.

Inny wzorzec stwierdzono w wątrobotrzustce *A. anatina*. Poziom oksydantów (TOS) i peroksydacji lipidów były niższe w obecności małży *Corbicula* niż w kontrolach, a poziom peroksydacji lipidów był dodatnio skorelowany z poziomem oksydantów. Wynik ten nie potwierdza założenia, że małże *Corbicula* zwiększają stres oksydacyjny we wszystkich narządach rodzimych małży. Sugeruje raczej, że główny koszt obecności małży inwazyjnych był związany z nogą, a nie z funkcjonowaniem wątrobotrzustki.

Poziom antyoksydantów (TAS) był wyższy w wariantach o wysokim zagęszczeniu niż w wariantach o niskim zagęszczeniu. Obecność małży *Corbicula* zwiększała poziom antyoksydantów względem kontroli przy niskim, ale nie przy wysokim zagęszczeniu, a dodanie małży *Corbicula* przy stałej liczbie małży *A. anatina* również zwiększało poziom antyoksydantów. Może to wskazywać na nasilenie odpowiedzi obronnej lub kompensacyjnej w warunkach większej presji środowiskowej. Jednocześnie brak różnic między wariantami w zawartości glikogenu sugeruje, że reakcja ta nie wiązała się z wykrywalnym wyczerpaniem rezerw energetycznych, niezbędnych m.in. do utrzymania metabolizmu, wzrostu, rozrodu i odpowiedzi na stres (Fritts i in. 2015; Said i Nassar 2022; Hillebrand i in. 2024). Oznacza to, że mimo zmian w zdolności antyoksydacyjnej, małże *A. anatina* utrzymywały rezerwy energetyczne na podobnym poziomie także przy wyższym zagęszczeniu i w obecności małży *Corbicula*.

Reakcja małży *U. tumidus* różniła się od reakcji małży *A. anatina*. U małży *U. tumidus* nie stwierdzono różnic między wariantami w przyroście długości i szerokości muszli ani mokrej masy. Poziom peroksydacji lipidów w nodze małży *U. tumidus* zmniejszał się wraz ze wzrostem ogólnego zagęszczenia małży i dodatkowo obniżał się po dodaniu małży *Corbicula*, co może wskazywać na ograniczenie aktywności lokomotorycznej w warunkach większego zagęszczenia i obecności małży *Corbicula*. W krótkoterminowych testach behawioralnych *U. tumidus* zwiększał lokomocję na podłożu zmodyfikowanym przez muszle małży *Corbicula*, co można interpretować jako próbę opuszczenia niekorzystnego siedliska. W długoterminowej ekspozycji taka strategia mogła być zbyt kosztowna, dlatego małże *U. tumidus* mogły ograniczać aktywność lokomotoryczną i przyjmować bardziej zachowawczą strategię odpowiedzi na niekorzystne warunki. Małże słodkowodne mogą stosować różne reakcje na stres siedliskowy, w tym lokomocja horyzontalna, zagrzebywanie, ograniczanie aktywności lub pozostawanie w podłożu do czasu poprawy warunków (Gough i in. 2012; Archambault i in. 2014; Galbraith i in. 2015).

W wątrobotrzustce małży *U. tumidus* nie stwierdzono różnic w poziomie peroksydacji lipidów między wariantami. Brak różnic między wariantami w poziomie oksydantów u małży *U. tumidus* sugeruje, że status oksydacyjny tego gatunku pozostawał względnie stabilny. Jednocześnie poziom antyoksydantów był niższy w wariantach wysokiego zagęszczenia z małżami *Corbicula* niż we wszystkich pozostałych wariantach. Może to wskazywać, że obecność gatunku inwazyjnego nie nakładała dodatkowej presji oksydacyjnej wymagającej zwiększonej odpowiedzi antyoksydacyjnej. Wzorzec ten jest

zgodny z wyższym poziomem glikogenu odnotowanym w tym samym wariancie, co może sugerować, że energia niewykorzystana na utrzymywanie podwyższonej zdolności antyoksydacyjnej mogła zostać zmagazynowana w postaci glikogenu. Jednak nie wpłynęło to na ogólną kondycję fizyczną *U. tumidus* między wariantami. Podobnie reakcje na obecność małży *Corbicula* opisali Modesto i in. (2023), którzy wykazali, że u małży *U. delphinus* obecność żywych małży *Corbicula* nie powodowała zmian zawartości glikogenu w nodze.

Podsumowując, pierwsza hipoteza została potwierdzona u małży *A. anatina* głównie przez markery stresu oksydacyjnego w nodze. Poziom peroksydacji lipidów w nodze wzrastał przy wyższym zagęszczeniu oraz był wyższy w wariancie wysokiego zagęszczenia z małżami *Corbicula* niż w kontroli, co wskazuje na większe koszty fizjologiczne związane z wykorzystaniem podłoża, zagrzebywaniem i/lub lokomocją. Wzrost poziomu antyoksydantów u małży *A. anatina* również wspierał założenie, że większe zagęszczenie i obecność małży *Corbicula* zwiększały koszty utrzymywania równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej. Hipoteza ta nie została jednak potwierdzona u małży *A. anatina* w odniesieniu do wzrostu, zawartości glikogenu, śmiertelności, markerów stresu oksydacyjnego w wątrobotrzustce ani kondycji fizycznej, ponieważ rezerwy glikogenu były utrzymywane, śmiertelność pozostawała niska, poziomy oksydantów i peroksydacji lipidów w wątrobotrzustce były niższe w wariantach z małżami *Corbicula*, a wzrost i kondycja fizyczna nie były konsekwentnie obniżone. U małży *U. tumidus* pierwsza hipoteza nie została potwierdzona: śmiertelność, wzrost i kondycja fizyczna nie różniły się między wariantami, poziom oksydantów pozostawał stabilny, poziom peroksydacji lipidów w nodze zmniejszał się wraz ze wzrostem zagęszczenia i w obecności małży *Corbicula*, poziom antyoksydantów był niższy w wariancie wysokiego zagęszczenia z małżami *Corbicula*, a poziom glikogenu był w tym wariancie wyższy. Druga hipoteza została potwierdzona u małży *A. anatina* przez ograniczenie przyrostu muszli, podwyższony poziom peroksydacji lipidów w nodze oraz wyższy poziom antyoksydantów w warunkach wysokiego zagęszczenia, co wskazuje, że zwiększone zagęszczenie prowadziło do reakcji subletalnych. W przeciwieństwie do tego, druga hipoteza nie została potwierdzona u małży *U. tumidus*, ponieważ wysokie zagęszczenie nie ograniczało wzrostu, kondycji fizycznej ani rezerw glikogenu, a także nie zwiększało markerów stresu oksydacyjnego. Trzecia hipoteza została potwierdzona przez wyraźnie odmienne wzorce reakcji obu gatunków. Obecności małży *Corbicula* nie można więc uznać za jednolicie negatywną dla rodzimych małży Unionidae. Negatywne

efekty były widoczne tylko w wybranych parametrach, szczególnie w markerach stresu oksydacyjnego w nodze małży *A. anatina*, podczas gdy wiele innych reakcji u obu gatunków było neutralnych lub w niektórych przypadkach pozornie korzystnych.

Wyniki przedstawione w manuskrypcie wskazują, że długoterminowy wpływ małży *Corbicula* na rodzime Unionidae był złożony i nie może być interpretowany jako jednolicie negatywny ani oceniany wyłącznie na podstawie śmiertelności. Część reakcji wskazywała na koszty subletalne związane z wysokim zagęszczeniem i obecnością małży *Corbicula*, jednak inne odpowiedzi były neutralne lub pozornie korzystniejsze w wariantach mieszanych niż w kontrolach jednogatunkowych. Oznacza to, że względne znaczenie małży inwazyjnych i zagęszczenia osobników własnego gatunku zależy od gatunku Unionidae, analizowanego narządu oraz badanego wskaźnika. Jednocześnie mechanizmy stojące za tymi wzorcami nie mogą być w pełni rozstrzygnięte, ponieważ w eksperymencie nie mierzono bezpośrednio dostępności pokarmu, behawioru osobników, głębokości zagrzebania ani właściwości fizykochemicznych podłoża. Zastosowanie kilku wskaźników, obejmujących stres oksydacyjny, zawartość glikogenu, wzrost i kondycję fizyczną, pozwoliło jednak wykazać reakcje subletalne, które nie byłyby widoczne na podstawie samej przeżywalności. Przyszłe badania powinny więc łączyć pomiary fizjologiczne z obserwacjami behawioralnymi oraz analizą dostępności pokarmu i warunków chemicznych w podłożu, aby określić, które mechanizmy odpowiadają za reakcje subletalne i czy mogą one przekładać się na długoterminowe konsekwencje populacyjne.

3.3. Wpływ suszy hydrologicznej na inwazyjne małże *Corbicula* i rodzime małże *Sphaerium rivicola*

Wyniki drugiej publikacji wykazały, że susza hydrologiczna, rozumiana jako obniżenie poziomu wody i wysychanie piaszczystego podłoża, różnie wpływała na rodzime małże *Sphaerium rivicola* i inwazyjne *Corbicula*. Różnice dotyczyły zarówno przeżywalności podczas obniżenia poziomu wody i ekspozycji na powietrze, jak i strategii behawioralnych związanych z migracją z opadającą wodą oraz zagrzebywaniem do warstw silniej uwodnionych. Jest to istotne, ponieważ małże słodkowodne mają ograniczoną mobilność, a więc ich możliwość ucieczki przed szybkim spadkiem poziomu wody jest ograniczona (DuBose i in. 2019; Cosgrove i in. 2022; Cushway i in. 2025).

Pierwszy eksperyment potwierdził hipotezę o większej odporności małży *Corbicula* na suszę. Wszystkie osobniki małży *Corbicula* przeżyły 15 dni ekspozycji na powietrze, nawet gdy zawartość wody w podłożu spadła do 2%. Natomiast u małży *S. rivicola* 50% śmiertelność zaobserwowano po 5,3 dniach ekspozycji na powietrze, przy zawartości wody w podłożu wynoszącej 12%, a 90% śmiertelność po 7,9 dniach, przy zawartości wody w podłożu wynoszącej 8,5%. Różnice w przeżywalności małży *S. rivicola* między wariantem suszy a kontrolą pojawiły się między trzecim a czwartym dniem eksperymentu. Należy jednak zaznaczyć, że śmiertelność *S. rivicola* w kontroli zaczęła wzrastać od piątego dnia, dlatego wyniki dla tego gatunku trzeba interpretować ostrożnie. Mimo tego różnica między 100% przeżywalnością małży *Corbicula* a szybką śmiertelnością *S. rivicola* w warunkach suszy była wyraźna.

Przeżywalność podczas ekspozycji na powietrze małży *Corbicula* najprawdopodobniej wynika z ich cech morfologicznych i fizjologicznych. Małże *S. rivicola* mają stosunkowo cienką i porowatą muszlę, co może przyspieszać utratę wody i wysychanie tkanek miękkich (Piechocki i Wawrzyniak-Wydrowska 2016). Większa przeżywalność małży *Corbicula* podczas ekspozycji na powietrze może wynikać z ich cech morfologicznych i fizjologicznych, w tym grubszej muszli i zdolności do ograniczania metabolizmu (Ortmann i Grieshaber 2003; Ferreira-Rodríguez i Pardo 2016). Wcześniejsze badania wykazały, że małże *Corbicula* mogą przeżywać ekspozycję na powietrze przez tydzień, a czas przeżycia zależy od temperatury i wilgotności (Byrne i in. 1988; Guareschi i Wood 2020). W niniejszej pracy małże te przeżyły w podłożu piaszczystym 15 dni przy temperaturze powietrza około 19,5°C, co potwierdza ich wysoką tolerancję na wysychanie podłoża.

Różnica ta ma znaczenie ekologiczne. W ostatnich dekadach susze hydrologiczne w Europie Środkowej trwały średnio około 30 dni, a jedna z najdłuższych susz w Polsce, odnotowana w 2019 roku, trwała 158 dni (Baran-Gurgul i Wałęga 2025; Hejduk i in. 2021). Przy tak długich epizodach spadku poziomu wody zarówno małże *S. rivicola*, jak i *Corbicula* mogą ponosić straty. Jednak krótkie epizody obniżenia poziomu wody i odsłonięcia dna, trwające kilka dni, mogą być śmiertelne dla małży *S. rivicola*, a jednocześnie nie powodować śmiertelności małży *Corbicula*. Oznacza to, że susza może działać jako filtr środowiskowy, eliminując bardziej wrażliwe rodzime małże i pozostawiając w siedlisku bardziej odporne małże inwazyjne.

Druga hipoteza, zakładająca reakcję behawioralną na obniżanie poziomu wody, również została potwierdzona, ale oba taksony reagowały w odmienny sposób. W drugim

eksperymentcie większość osobników małży *Corbicula* pozostawała w miejscu introdukcji, czyli na odsłoniętym podłożu (w górnej strefie nachylonego dna), niezależnie od wariantu eksperymentalnego (kontrola i susza). Zaledwie po dwa osobniki małży *Corbicula* przemieściły się w każdym wariancie. Oznacza to, że małże *Corbicula* prawie nie reagowały na spadek poziomu wody migracją horyzontalną.

Inaczej zachowywały się małże *S. rivicola*. Gatunek ten aktywnie przemieszczał się w kierunku bardziej wilgotnej strefy lub do strefy zalanej (w dół nachylonego dna zbiornika). Odsetek osobników opuszczających strefę odsłoniętą zależał od odległości do refugium i wariantu eksperymentalnego. W krótkich zbiornikach, w warunkach suszy, strefę odsłoniętą opuściło 71% osobników, natomiast przy dłuższym dystansie, w długich zbiornikach - 36%. Spośród osobników, które zaczęły się przemieszczać, 56–75% dotarło do dolnej, zalanej strefy w krótkich zbiornikach oraz w dłuższych zbiornikach w warunkach suszy. W kontroli górną strefę opuściło 60% osobników w krótkich zbiornikach i 11% w dłuższych zbiornikach.. Żaden osobnik nie dotarł do dolnej strefy w dłuższych zbiornikach kontrolnych.

Wyniki te wskazują, że migracja małży *S. rivicola* za cofającą się linią wody może być skuteczna tylko wtedy, gdy odległość do wilgotnego refugium jest niewielka (25 cm). Przy większej odległości mniej osobników opuszczało wysychającą strefę, co wskazuje na ograniczenia energetyczne lub fizjologiczne strategii migracji. Dla gatunku o niskiej odporności na wysychanie, takiego jak *S. rivicola*, aktywna migracja może zwiększać szansę przeżycia, ale tylko wtedy, gdy osobnik szybko dotrze do wilgotniejszego miejsca. Jeśli nie znajdzie refugium, koszt lokomocji może dodatkowo przyspieszyć śmierć. Podobne ograniczenia skuteczności reakcji behawioralnych na suszę opisywano u innych małży słodkowodnych, u których przeżycie zależy od dostępności wilgotnych miejsc i możliwości ich osiągnięcia (Gough i in. 2012; Cushway i in. 2025).

Trzeci eksperyment pokazał, że małże *Corbicula* i *S. rivicola* różniły się także zagrzebywaniem podczas obniżania poziomu wody. Wszystkie osobniki małży *Corbicula* zagrzebywały się w podłożu niezależnie od wariantu eksperymentalnego. W warunkach suszy osobniki zagrzebujące się częściej osiągały głębokość większą niż 1 cm, a odsetek osobników osiągających głębokość większą niż 2 cm był marginalnie wyższy niż w kontroli. Oznacza to, że małże *Corbicula* reagowały na obniżanie poziomu wody głównie przez pozostawanie w miejscu i głębsze zagrzebywanie się.

U małży *S. rivicola* wzorzec był odwrotny. Gatunek ten zagrzebywał się częściej w kontroli niż w warunkach obniżania poziomu wody. Częściej osiągał też większą

głębokość w kontroli niż w wariancie suszy, a żaden osobnik *S. rivicola* nie zagrzebał się głębiej niż na 2 cm. Oznacza to, że pierwotne założenie, zgodnie z którym małże *S. rivicola* mogą reagować zagrzebywaniem lub migracją w kierunku zalanego refugium, zostało potwierdzone tylko częściowo. Gatunek ten rzeczywiście migrował w kierunku refugium, ale nie zwiększał głębokości zagrzebywania podczas obniżania poziomu wody.

Łącznie wyniki eksperymentów behawioralnych wskazują na dwie odmienne strategie odpowiedzi na suszę. Małże *S. rivicola* stosowały strategię ucieczki, czyli aktywne przemieszczanie się w kierunku zalanych miejsc. Strategia ta może być skuteczna przy krótkiej odległości do refugium, ale staje się mniej skuteczna wraz ze wzrostem dystansu. Małże *Corbicula* stosowały strategię pozostania w miejscu, opartą na zagrzebywaniu się w wilgotnym podłożu i wysokiej odporności na ekspozycję na powietrze. Jest to zgodne z obserwacjami, że gatunki bardziej odporne na suszę częściej pozostają zagrzebane i stosują strategię przeczekania niekorzystnych warunków, natomiast gatunki bardziej wrażliwe częściej opuszczają odsłonięte podłoże i próbują znaleźć refugium (Gough i in. 2012).

Różnice te mogą wynikać z odmiennej presji środowiskowej w rodzimych zasięgach występowania obu taksonów. W XX wieku susze występowały częściej i były silniejsze w części rodzimego zasięgu małży *Corbicula*, np. w dorzeczu Jangcy, niż w środkowoeuropejskim zasięgu *S. rivicola* (Laaha i in. 2017; Bai i in. 2024). Małże *Corbicula* mogły więc rozwinąć większą tolerancję na suszę w wyniku presji selekcyjnej w siedliskach częściej narażonych na okresowe obniżanie poziomu wody. Małże *S. rivicola*, związane z łagodniejszymi warunkami hydrologicznymi Europy Środkowej, mogą być słabiej przystosowane do obniżenia poziomu wody i odsłaniania dna.

Wyniki drugiej publikacji wskazują, że susza hydrologiczna może wzmacniać przewagę małży *Corbicula* nad rodzimymi małżami *S. rivicola*. Częstsze i dłuższe susze, związane ze zmianami globalnymi, mogą zmieniać skład zespołów małży przez różnice w przeżywalności i behawiorze. W takim układzie bardziej odporne małże inwazyjne mogą przetrwać epizody, które eliminują bardziej wrażliwe gatunki rodzime. Podobny mechanizm opisano dla *Pisidium amnicum* Muller, 1774 w rzece na Półwyspie Iberyjskim, gdzie po silnej suszy populacja gatunku rodzimego gwałtownie spadła i prawdopodobnie nie odbudowała się z powodu zajęcia niszy przez inwazyjne małże *Corbicula* (Sousa i in. 2011; Halabowski i in. 2024).

Susza może też nasilać bezpośrednie i pośrednie oddziaływania małży *Corbicula* na gatunki rodzime. Podczas obniżania poziomu wody dostępność zanurzonych refugium

maleje, a rodzime małże mogą być zmuszone do współwystępowania z małżami *Corbicula* na ograniczonej przestrzeni. Może to zwiększać konkurencję o przestrzeń i pokarm. Dodatkowo małże *Corbicula* oraz ich muszle zmieniają strukturę podłoża, co może utrudniać zagrzebywanie się rodzimych małży i zmuszać je do pozostawania na powierzchni lub zajmowania mniej korzystnych siedlisk (Werner i Rothhaupt 2007; Labaut i in. 2021; Szarmach i in. 2024). W warunkach suszy możliwość unikania takiego podłoża może być mniejsza, ponieważ liczba dostępnych wilgotnych miejsc jest ograniczona.

Podsumowując, pierwsza hipoteza została potwierdzona, ponieważ małże *Corbicula* wykazały większą odporność na ekspozycję powietrzną i wysychanie podłoża niż *S. rivicola*. Druga hipoteza również została potwierdzona, ale reakcje behawioralne obu taksonów były różne. Małże *Sphaerium rivicola* reagowały głównie migracją w kierunku wilgotniejszych stref, natomiast małże *Corbicula* prawie nie migrowały poziomo, lecz zagrzebywały się w podłożu. Założenie, że małże *S. rivicola* będą wykazywały większą tendencję do przemieszczania się lub zagrzebywania w kierunku bardziej wilgotnych mikrosiedlisk, potwierdziło się więc dla migracji horyzontalnej, ale nie dla zagrzebywania. Wyniki te pokazują, że małże *Corbicula* mogą uzyskiwać przewagę nad rodzimymi małżami *S. rivicola* nie tylko przez konkurencję i modyfikację podłoża, ale także przez większą odporność na suszę hydrologiczną. W warunkach częstszych i dłuższych epizodów obniżania poziomu wody może to sprzyjać utrwaleniu dominacji małży z rodzaju *Corbicula* oraz zastępowaniu bardziej wrażliwych gatunków rodzimych, takich jak *S. rivicola*.

4. Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone badania wykazały, że inwazyjne małże z kompleksu *Corbicula* mogą oddziaływać na rodzime małże słodkowodne i/lub uzyskiwać nad nimi przewagę na kilku poziomach: przez fizyczną modyfikację podłoża, wywoływanie reakcji subletalnych oraz większą odporność na suszę hydrologiczną. Uzyskane wyniki wskazują, że wpływ małży *Corbicula* na rodzime małże jest złożony, zależny od struktury podłoża, zagęszczenia małży inwazyjnych, gatunku rodzimego oraz warunków środowiskowych.

Na podstawie przeprowadzonych badań można sformułować następujące wnioski:

1. **Inwazyjne małże z rodzaju *Corbicula* modyfikują podłoże zajmowane przez rodzime małże Unionidae.** Zarówno żywe osobniki małży *Corbicula*, jak i ich

puste muszle tworzyły podłoże unikane przez *Unio tumidus* i *Anodonta anatina*. Oznacza to, że obecność małży *Corbicula* może ograniczać dostępność mikrosiedlisk odpowiednich dla rodzimych małży, szczególnie tam, gdzie gatunek inwazyjny osiąga wysokie zagęszczenia.

2. **Modyfikacja podłoża przez małże *Corbicula* wpływa na behawior rodzimych małży Unionidae.** Na podłożu z żywymi osobnikami lub muszlami małży *Corbicula* rodzime małże zagrzebywały się płycej, potrzebowały więcej czasu na osiągnięcie podobnego poziomu zagrzebania lub zmieniały lokomocję horyzontalną. Wskazuje to, że małże *Corbicula* mogą wpływać nie tylko na wybór siedliska przez rodzime małże, ale także ograniczać ich strategie ochronne, jak zagrzebanie i ucieczka.
3. **Puste muszle małży *Corbicula* są trwałym elementem ich oddziaływania na siedlisko.** Wpływ inwazyjnych małży nie kończy się wraz ze śmiercią osobników, ponieważ muszle pozostają na podłożu i nadal zmieniają jego strukturę.
4. **Długoterminowa obecność małży *Corbicula* w warunkach terenowych nie spowodowała silnego efektu letalnego u badanych Unionidae.** Śmiertelność *A. anatina* i *U. tumidus* była niska i nie zależała od obecności małży *Corbicula* ani od zagęszczenia małży. Wskazuje to, że skutki inwazji nie muszą być widoczne na poziomie przeżywalności rodzimych małży.
5. **Wpływ małży *Corbicula* na rodzime Unionidae ujawniał się głównie na poziomie reakcji subletalnych.** U małży *A. anatina* wysokie zagęszczenie ograniczało przyrost długości muszli, a obecność małży *Corbicula* i większe zagęszczenie ogólnie wiązały się ze wzrostem peroksydacji lipidów w nodze. Jednocześnie brak obniżenia zawartości glikogenu wskazywał, że zmiany te nie prowadziły do wyraźnego wyczerpania rezerw energetycznych. Wyniki te sugerują, że stres u rodzimych małży związany z obecnością małży *Corbicula* dotyczył głównie nogi, czyli narządu pełniącego funkcję lokomotoryczną, a nie ogólnego deficytu energetycznego.
6. **Reakcje rodzimych małży Unionidae na obecność małży *Corbicula* były gatunkowo specyficzne.** Małże *Anodonta anatina* wykazywały wyraźniejsze zmiany wzrostu i stresu oksydacyjnego w nodze, natomiast małże *U. tumidus* reagowały słabiej pod względem wzrostu i większości parametrów fizjologicznych. U małży *U. tumidus* podwyższony poziom glikogenu oraz obniżenie poziomu peroksydacji lipidów w nodze w niektórych wariantach mogą wskazywać na inną

strategię reakcji, polegającą raczej na ograniczeniu aktywności niż na zwiększaniu kosztownej lokomocji. Oznacza to, że skutków obecności małży *Corbicula* nie można uogólniać na wszystkie rodzime małże, nawet jeśli należą do tej samej rodziny.

7. **Małże z rodzaju *Corbicula* wykazały większą odporność na wysychanie podłoża niż rodzime małże *Sphaerium rivicola*.** Wszystkie osobniki małży *Corbicula* przeżyły wielodniową ekspozycję na powietrze, podczas gdy u *S. rivicola* śmiertelność dynamicznie rosła po odsłonięciu podłoża. Wynik ten wskazuje, że susza hydrologiczna może działać selektywnie na zespoły małży, faworyzując taksony bardziej odporne na okresowe wysychanie.
8. **Małże *Sphaerium rivicola* i małże *Corbicula* stosowały odmienne strategie behawioralne w odpowiedzi na obniżanie poziomu wody.** Małże *Sphaerium rivicola* aktywnie przemieszczały się w kierunku bardziej wilgotnych stref, ale skuteczność tej strategii była ograniczona dystansem do refugium. Małże *Corbicula* pozostawały natomiast w miejscu i zagrzebywały się głębiej w podłożu. Oznacza to, że *S. rivicola* stosuje strategię ucieczki, zapewne skuteczną głównie na niewielkich odległościach do refugium, natomiast małże *Corbicula* stosują strategię przeczekiwania niekorzystnych warunków w zagrzebaniu.
9. **Susza hydrologiczna może zwiększać względną przewagę małży *Corbicula* nad bardziej wrażliwymi gatunkami rodzimymi.** W warunkach częstszych i dłuższych epizodów obniżania poziomu wody gatunki rodzime o niskiej odporności na wysychanie mogą ponosić wysoką śmiertelność, podczas gdy inwazyjne małże *Corbicula* mogą przetrwać te same warunki. Susza może więc zmieniać strukturę zespołów małży, zwiększając udział taksonów bardziej odpornych na wysychanie.
10. **Oddziaływanie małży *Corbicula* na rodzime małże powinno być rozpatrywane w kontekście zmian globalnych.** Wyniki rozprawy wskazują, że skutki inwazji mogą być modyfikowane przez inne czynniki środowiskowe, zwłaszcza suszę hydrologiczną. Jednoczesne występowanie inwazyjnych małży, modyfikacji podłoża i obniżania poziomu wody może ograniczać dostępność odpowiednich mikrosiedlisk dla rodzimych małży słodkowodnych.

Podsumowując, małże z rodzaju *Corbicula* wpływają na rodzime małże słodkowodne nie tylko przez konkurencję o pokarm i przestrzeń. Jako organizmy modyfikujące siedlisko zmieniają strukturę podłoża, co utrudnia zagrzebywanie się i

przemieszczanie rodzimych Unionidae. Ich obecność może także wywoływać reakcje subletalne, obejmujące wzrost, stres oksydacyjny i gospodarkę energetyczną, nawet wtedy, gdy nie obserwuje się zwiększonej śmiertelności. Dodatkowo większa odporność małży *Corbicula* na wysychanie podłoża sprawia, że w warunkach nasilających się susz hydrologicznych mogą one uzyskiwać przewagę nad bardziej wrażliwymi gatunkami rodzimymi.

Wyniki niniejszej rozprawy pokazują, że ocena zagrożeń dla rodzimych małży słodkowodnych powodowanych przez inwazyjne małże powinna obejmować nie tylko śmiertelność, ale również reakcje subletalne, z uwzględnieniem długotrwałych skutków, wywołanych np. modyfikacją podłoża przez inwazyjne gatunki. Szczególne znaczenie ma uwzględnienie pustych muszli małży *Corbicula* jako elementu trwale i silnie zmieniającego siedliska. Ponadto wyniki rozprawy wskazują, że skutki inwazji mogą być modyfikowane przez czynniki środowiskowe powiązane ze zmianami globalnymi, jak susza hydrologiczna. Czynnikiem ten może sprzyjać przewadze konkurencyjnej inwazyjnych małży nad rodzimymi. Jednoczesne występowanie inwazyjnych małży, modyfikacji podłoża i obniżania poziomu wody może ograniczać dostępność odpowiednich mikrosiedlisk dla rodzimych małży słodkowodnych. W praktyce ochronnej oznacza to potrzebę monitorowania nie tylko żywych osobników małży *Corbicula*, ale także nagromadzeń ich muszli, zmian struktury podłoża oraz dostępności wilgotnych lub zanurzonych refugium dla rodzimych małży.

5. Bibliografia

- Albert, J. S., Destouni, G., Duke-Sylvester, S. M., Magurran, A. E., Oberdorff, T., Reis, R. E., Winemiller, K. O. & Ripple, W. J. (2021). Scientists' warning to humanity on the freshwater biodiversity crisis. *Ambio* 50: 85–94. <https://doi.org/10.1007/s13280-020-01318-8>.
- Aldridge, D. C., Ollard, I. S., Bernal, Y. V., Bolotov, I. N., Douda, K., Geist, J., Haag, W. R., Klunzinger, M. W., Lopes-Lima, M., Mlambo, M. C., Riccardi, N., Sousa, R., Strayer, D. L., Torres, S. H., Vaughn, C.C., Zając, T. & Zieritz, A. (2023). Freshwater mussel conservation: a global horizon scan of emerging threats and opportunities. *Global Change Biology* 29: 575–589. <https://doi.org/10.1111/gcb.16510>.

- Araujo, R., Moreno, D. & Ramos, M. A. (1993). The Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) in Europe. *American Malacological Bulletin* 10: 39–49.
- Archambault, J. M., Cope, W. G., & Kwak, T. J. (2014). Survival and behaviour of juvenile unionid mussels exposed to thermal stress and dewatering in the presence of a sediment temperature gradient. *Freshwater Biology*, 59(3), 601–613. <https://doi.org/10.1111/fwb.12290>.
- Atkinson, C. L., Vaughn, C. C., Forshay, K. J. & Cooper J.T. (2020). Aggregated filter-feeding consumers alter nutrient limitation: consequences for ecosystem and community dynamics. *Ecology* 101: e02988. <https://doi.org/10.1002/ecy.2988>.
- Bai, W., Zhang, C., Xiao, X., Zou, Z., Liu, Z., Li, P., Yang, J., Hu, Y., Wang, H., Li, X., Liu, W., Chen, Y. & Peng, C. (2024). Characteristics of meteorological drought evolution in the Yangtze River Basin. *Water* 16: 3391. <https://doi.org/10.3390/w16233391>.
- Baran-Gurgul, K. & Wałęga, A. (2025). Seasonal and regional patterns of streamflow droughts in Poland: A 50-year perspective. *Sustainability* 17(16): 7531. <https://doi.org/10.3390/su17167531>.
- Bielański, W. (2022). Next step of invasion: the Asian clam *Corbicula fluminea* (O. F. Müller, 1774) (Bivalvia: Cyrenidae) colonises smaller sandy rivers in Poland. *Folia Malacologica* 30: 99–108. <https://doi.org/10.12657/folmal.030.012>.
- Bij de Vaate, A. & Hulea, O. (2000). Range extension of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the River Danube: first record from Romania. *Lauterbornia* 38: 23–26.
- Blackburn, T. M., Essl, F., Evans, T., Hulme, P. E., Jeschke, J. M., Kühn, I., Kumschick, S., Marková, Z., Mrugała, A., Nentwig, W., Pergl, J., Pyšek, P., Rabitsch, W., Ricciardi, A., Richardson, D. M., Sendek, A., Vilà, M., Wilson, J. R. U., Winter, M., Genovesi, P. & Bacher, S. (2014). A unified classification of alien species based on the magnitude of their environmental impacts. *PLoS Biology* 12: e1001850. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001850>.
- Blackburn, T. M., Pyšek, P., Bacher, S., Carlton, J. T., Duncan, R. P., Jarošík, V., Wilson, J. R. U. & Richardson, D.M. (2011). A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 26: 333–339. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.03.023>.

- Bodis, E., Toth, B., Borza, P., Acs, E., Szekeres, J. & Sousa, R. (2014a). Empty native and invasive bivalve shells as benthic habitat modifiers in a large river. *Limnologia* 49: 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2014.07.002>.
- Bodis, E., Toth, B. & Sousa, R. (2014b). Massive mortality of invasive bivalves as a potential resource subsidy for the adjacent terrestrial food web. *Hydrobiologia* 735: 253–262. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1445-5>.
- Bodon, M., López-Soriano, J., Quiñonero-Salgado, S., Nardi, G., Niero, I., Cianfanelli, S., Dal Mas, A., Elvio, F., Baldessin, F., Turco, F., Ercolini, P., Baldaccini, G. N., & Costa, S. (2020). Unravelling the complexity of *Corbicula* clams invasion in Italy (Bivalvia: Cyrenidae). *Bollettino Malacologico*, 56, 127–171.
- Bogan, M. T., Boersma, K. S. & Lytle, D. A. (2017). Resistance and resilience of invertebrate communities to seasonal and suprasedasonal drought in arid-land headwater streams. *Freshwater Biology* 62: 254–266. <https://doi.org/10.1111/fwb.12822>.
- Bolam, B. A., Rollwagen-Bollens, G. & Bollens, S. M. (2019). Feeding rates and prey selection of the invasive Asian clam, *Corbicula fluminea*, on microplankton in the Columbia River, USA. *Hydrobiologia* 833: 107–123. <https://doi.org/10.1007/s10750-019-3893-z>.
- Bódis, E., Tóth, B., Borza, P., Ács, É., Szekeres, J. & Sousa, R. (2014). Empty native and invasive bivalve shells as benthic habitat modifiers in a large river. *Limnologia* 49: 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2014.07.002>.
- Bódis, E., Tóth, B. & Sousa, R. (2014). Massive mortality of invasive bivalves as a potential resource subsidy for the adjacent terrestrial food web. *Hydrobiologia* 735: 253–262. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1445-5>.
- Byrne, R. A. & McMahon, R. F. (1994). Behavioral and physiological responses to emersion in freshwater bivalves. *American Zoologist* 34: 194–204. <https://doi.org/10.1093/icb/34.2.194>.
- Byrne, R. A., McMahon, R. F. & Dietz, T. H. (1988). Temperature and relative humidity effects on aerial exposure tolerance in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. *The Biological Bulletin* 175: 253–260. <https://doi.org/10.2307/1541566>.
- Caffrey, J., Evers, S. L., Millane, M. & Moran, H. (2011). Current status of Ireland's newest invasive species – the Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774). *Aquatic Invasions* 6: 291–299. <https://doi.org/10.3391/ai.2011.6.3.06>.
- Canli, E. G., Bayköse, A., Uslu, L. H. & Canli, M. (2023). Changes in energy reserves and responses of some biomarkers in freshwater mussels exposed to metal-oxide

- nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 98, 104077. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.104077>.
- Chappell, J., Whitmire, S., Sotomayor, D. & Martínez, G. (2019). Effects of *Corbicula fluminea* on the nutrient concentration and phytoplankton biomass of tropical reservoirs. *International Aquatic Research*, 11, 401–415. <https://doi.org/10.1007/s40071-019-00247-x>.
- Cooper, N. L., Bidwell, J. R. & Cherry, D. S. (2005). Potential effects of Asian clam (*Corbicula fluminea*) die-offs on native freshwater mussels (Unionidae) II: porewater ammonia. *Journal of the North American Benthological Society* 24(2): 381–394. <https://doi.org/10.1899/04-074.1>.
- Cosgrove, P., Shields, D., Anderson, D., Massey, K., Cosgrove, C. & Sime, I. (2022). The impact of a drought on key freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* populations in Scotland. *Journal of Conchology* 44(3): 241-255.
- Crausbay, S. D., Ramirez, A. R., Carter, S. L., Cross, M. S., Hall, K. R., Bathke, D. J., Betancourt, J. L., Colt, S., Cravens, A. E., Dalton, M. S., Dunham, J. B., Hay, L. E., Hayes, M. J., McEvoy, J., McNutt, C. A., Moritz, M. A., Nislow, K. H., Raheem, N. & Sanford, T. (2017). Defining ecological drought for the twenty-first century. *Bulletin of the American Meteorological Society* 98: 2543–2550. <https://doi.org/10.1175/BAMS-D-16-0292.1>.
- Crooks, J. A. (2002). Characterizing ecosystem-level consequences of biological invasions: the role of ecosystem engineers. *Oikos* 97: 153–166. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.970201.x>.
- Crystal-Ornelas, R. & Lockwood J. L. (2020). Cumulative meta-analysis identifies declining but negative impacts of invasive species on richness after 20 yr. *Ecology* 101: e03082. <https://doi.org/10.1002/ecy.3082>.
- Cushway, K. C., Geist, J. & Schwalb, A. N. (2025). Surviving global change: a review of the impacts of drought and dewatering on freshwater mussels. *Biological Reviews* 100: 275–307. <https://doi.org/10.1111/brv.13142>.
- Cuthbert, R. N., Pattison, Z., Taylor, N. G., Verbrugge, L., Diagne, C., Ahmed, D. A., Leroy, B., Angulo, E., Briski, E., Capinha, C., Catford, J. A., Dalu, T., Essl, F., Gozlan, R. E., Haubrock, P. J., Kourantidou, M., Kramer, A. M., Renault, D., Wasserman, R. J. & Courchamp, F. (2021). Global economic costs of aquatic invasive alien species. *Science of the Total Environment* 775: 145238. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145238>.

- Diagne, C., Leroy, B., Vaissière, A. C., Gozlan, R. E., Roiz, D., Jarić, I., Salles, J. M., Bradshaw, C. J. A. & Courchamp, F. (2021). High and rising economic costs of biological invasions worldwide. *Nature* 592: 571–576. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03405-6>.
- Dick, J. T. A., Laverty, C., Lennon, J. J., Barrios-O'Neill, D., Mensink, P. J., Britton, J. R., Médoc, V., Boets, P., Alexander, M. E., Taylor, N. G., Dunn, A. M., Hatcher, M. J., Rosewarne, P. J., Crookes, S., MacIsaac, H. J., Xu, M., Ricciardi, A., Wasserman, R. J., Ellender, B. R., Weyl, O. L. F., Lucy, F. E., Banks, P. B., Dodd, J. A., MacNeil, C., Penk, M. R., Aldridge, D. C. & Caffrey, J. M. (2017). Invader Relative Impact Potential: a new metric to understand and predict the ecological impacts of existing, emerging and future invasive alien species. *Journal of Applied Ecology* 54: 1259–1267. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12849>.
- Didham, R. K., Tylianakis, J. M., Gemmell, N. J., Rand, T. A. & Ewers, R. M. (2007). Interactive effects of habitat modification and species invasion on native species decline. *Trends in Ecology & Evolution* 22: 489–496. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.07.001>.
- DuBose, T. P., Atkinson, C. L., Vaughn, C. C. & Golladay, S. W. (2019). Drought-induced, punctuated loss of freshwater mussels alters ecosystem function across temporal scales. *Frontiers in Ecology and Evolution* 7: 274. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00274>.
- Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z. I., Knowler, D. J., Lévêque, C., Naiman, R. J., Prieur-Richard, A. H., Soto, D., Stiassny, M. L. J. & Sullivan, C. A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews* 81: 163–182. <https://doi.org/10.1017/S1464793105006950>.
- Dudgeon D., Strayer D.L. 2025. Bending the curve of global freshwater biodiversity loss: what are the prospects? *Biological Reviews* 100: 205-226. doi: 10.1111/brv.13137.
- Dzierżyńska-Białończyk, A., Jermacz, Ł., Maćkiewicz, T., Gajewska, J. & Kobak, J. (2018). Mechanisms and impact of differential fouling of the zebra mussel *Dreissena polymorpha* on different unionid bivalves. *Freshwater Biology* 63: 687–699. <https://doi.org/10.1111/fwb.13107>.
- Ferreira-Rodríguez, N. & Pardo, I. (2016). An experimental approach to assess *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) resistance to osmotic stress in estuarine habitats. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 176: 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.04.017>.

- Ferreira-Rodríguez, N., Sousa, R. & Pardo, I. (2018). Negative effects of *Corbicula fluminea* over native freshwater mussels. *Hydrobiologia* 810: 85–95. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-3059-1>.
- Fritts, A. K., Peterson, J. T., Hazelton, P. D. & Bringolf, R. B. (2015). Evaluation of methods for assessing physiological biomarkers of stress in freshwater mussels. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 72, 1450–1459. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2014-0564>.
- Galbraith, H. S., Blakeslee, C. J. & Lellis, W. A. (2015). Behavioral responses of freshwater mussels to experimental dewatering. *Freshwater Science*, 34(1), 42–52. <https://doi.org/10.1086/679446>.
- Gallardo, B., Clavero, M., Sánchez, M. I. & Vilà, M. (2016). Global ecological impacts of invasive species in aquatic ecosystems. *Global Change Biology* 22: 151–163. <https://doi.org/10.1111/gcb.13004>.
- Geist, J., Benedict, A., Dobler, A. H., Hoess, R. & Hoos, P. (2025). Functional interactions of non-native aquatic fauna with European freshwater bivalves: implications for management. *Hydrobiologia* 852: 1397–1419. <https://doi.org/10.1007/s10750-022-05121-2>.
- Golladay, S. W., Gagnon, P., Kearns, M., Battle, J. M. & Hicks D.W. (2004). Response of freshwater mussel assemblages to a record drought in the Gulf Coastal Plain of southwestern Georgia. *Journal of the North American Benthological Society* 23: 494–506. [https://doi.org/10.1899/0887-3593\(2004\)023<0494:ROFMAT>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1899/0887-3593(2004)023<0494:ROFMAT>2.0.CO;2).
- Gomes, C., Sousa, R., Mendes, T., Borges, R., Vilares, P., Vasconcelos, V., Guilhermino, L. & Antunes, A. (2016). Low genetic diversity and high invasion success of *Corbicula fluminea* (Bivalvia, Corbiculidae) in Portugal. *PLoS ONE* 11: e0158108. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158108>.
- Gough, H. M., Gascho Landis, A. M. & Stoeckel J. A. (2012). Behaviour and physiology are linked in the responses of freshwater mussels to drought. *Freshwater Biology* 57: 2356–2366. <https://doi.org/10.1111/fwb.12015>.
- Gómez-Gener, L., Rocher-Ros, G., Battin, T., Cohen, M. J., Dalmagro, H. J., Dinsmore, K. J., Drake, T. W., Duvert, C., Enrich-Prast, A., Horgby, Å., Johnson, M. S., Kirk, L., Machado-Silva, F., Marzolf, N. S., McDowell, M. J., McDowell, W. H., Miettinen, H., Ojala, A. K., Peter, H., Pumpanen, J., Ran, L., Riveros-Iregui, D. A., Santos, I. R., Six, J., Stanley, E. H., Wallin, M. B., White, S. A. & Sponseller, R. A. (2021). Global carbon

dioxide efflux from rivers enhanced by high nocturnal emissions. *Nature Geoscience* 14(5): 289–294. <https://doi.org/10.1038/s41561-021-00722-3>.

Guareschi, S. & Wood, P. J. (2020). Exploring the desiccation tolerance of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) at different temperatures. *Biological Invasions* 22: 2813–2824. <https://doi.org/10.1007/s10530-020-02291-9>.

Güler, M. (2020). Survival durations and behavioural adjustments of two freshwater bivalves (*Unio terminalis*, Unionida and *Corbicula fluminea*, Venerida) under two emersion conditions. *Annales de Limnologie – International Journal of Limnology* 56: 29. <https://doi.org/10.1051/limn/2020027>.

Gutiérrez, J. L., Jones, C. G., Strayer, D. L. & Iribarne, O. O. (2003). Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. *Oikos* 101: 79–90. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2003.12322.x>.

Haag, W. R. (2012). *North American Freshwater Mussels: Natural History, Ecology, and Conservation*. Cambridge University Press, Cambridge.

Halabowski, D., Sousa, R., Lopes-Lima, M., Killeen, I., Aldridge, D. C., Zając, K., Mageroy, J. H., Cossey, D. A., Urbńska, M., Österling, M. & Prié, V. (2024). Off the conservation radar: the hidden story of Europe’s tiny pea clams (Bivalvia: Sphaeriidae). *Biodiversity and Conservation* 33(13): 3567–3581. <https://doi.org/10.1007/s10531-024-02921-x>.

Hejduk, L., Kaznowska, E., Wasilewicz, M. & Hejduk, A. (2021). Hydrological droughts in the Białowieża primeval forest, Poland, in the years 1951–2020. *Forests* 12(12): 1744. <https://doi.org/10.3390/f12121744>.

Hejduk, L., Kaznowska, E., Wasilewicz, M. & Hejduk, A. (2025). The impact of hydrological streamflow drought on pollutant concentration and its implications for sustainability in a small river in Poland. *Sustainability* 17(15): 6995. <https://doi.org/10.3390/su17156995>.

Hernández, B. A., Mitchell, Z. A., Robertson, C. R. & Schwalb, A. N. (2021). Burrowing behaviour of unionid mussels in subtropical rivers: implications for survey guidelines. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 31: 903–915. <https://doi.org/10.1002/aqc.3525>.

Hillebrand, V., Dobler, A. H., Schwalb, A. N. & Geist, J. (2024). Physiological effects of interacting native and invasive bivalves under thermal stress. *Biological Invasions*, 26, 2281–2293. <https://doi.org/10.1007/s10530-024-03315-4>.

- Hopper, G. W., Gido, K. B. & Vaughn, C. C. (2022). Invasive Asian clams alter nutrient cycling and resource availability in streams. *Freshwater Biology* 67: 1279–1291. <https://doi.org/10.1111/fw.b.13925>.
- Hopper, G. W., Buchanan, J. K., Sánchez González, I., Kubala, M. E., Bucholz, J. R., Lodato, M. B., Lozier, J. D. & Atkinson, C. L. (2022). Little clams with big potential: nutrient release by invasive *Corbicula fluminea* can exceed co-occurring freshwater mussel (Unionidae) assemblages. *Biological Invasions* 24: 2529–2545. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02792-9>.
- Hubenov, Z., Trichkova, T., Kenderov, L. & Kozuharov, D. (2013). Distribution of *Corbicula fluminea* (Mollusca: Corbiculidae) over an eleven-year period of its invasion in Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica* 65: 315–326.
- Hulme, P. E. (2009). Trade, transport and trouble: managing invasive species pathways in an era of globalization. *Journal of Applied Ecology* 46: 10–18. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2008.01600.x>.
- Ilarri, M. I., Souza, A. T. & Sousa, R. (2015). Contrasting decay rates of freshwater bivalves' shells: aquatic versus terrestrial habitats. *Limnologia* 51: 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2014.10.002>.
- Ilarri, M. I., Souza, A. T., Amorim, L. & Sousa, R. (2019). Decay and persistence of empty bivalve shells in a temperate riverine system. *Science of The Total Environment* 683: 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.208>.
- Ilarri, M. I., Antunes, C., Guilhermino, L. & Sousa, R. (2011). Massive mortality of the Asian clam *Corbicula fluminea* in a highly invaded area. *Biological Invasions* 13: 277–280. <https://doi.org/10.1007/s10530-010-9833-5>.
- Instytut Ochrony Przyrody PAN. (b.d.). Co to są gatunki obce. Gatunki obce w Polsce. Dostęp 16 czerwca 2026, z <https://www.iop.krakow.pl/ias/problem/co-to-sa-gatunki-obce>.
- IPBES. (2023). Summary for Policymakers of the Thematic Assessment Report on Invasive Alien Species and their Control. Roy, H. E., Pauchard, A., Stoett, P., Renard, Truong, T., Bacher, S., Galil, B. S., Hulme, P. E., Ikeda, T., Sankaran, K. V., McGeoch, M. A., Meyerson, L. A., Nuñez, M. A., Ordóñez, A., Rahlao, S. J., Schwindt, E., Seebens, H., Sheppard, A. W., Vandvik, V. red. IPBES Secretariat, Bonn, Germany. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7430692>.
- IPCC. (2023.) Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate

- Change. Core Writing Team, Lee, H., Romero, J. red. IPCC, Geneva, Switzerland. <https://doi.org/10.59327/IPCC/AR6-9789291691647>.
- Jeschke, J. M., Bacher, S., Blackburn, T. M., Dick, J. T. A., Essl, F., Evans, T., Gaertner, M., Hulme, P. E., Kühn, I., Mrugała, A., Pergl, J., Pyšek, P., Rabitsch, W., Ricciardi, A., Richardson, D. M., Sendek, A., Vilà, M., Winter, M. & Kumschick, S. (2014). Defining the impact of non-native species. *Conservation Biology* 28: 1188–1194. <https://doi.org/10.1111/cobi.12299>.
- Jones, C. G., Lawton, J. H. & Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. *Oikos* 69: 373–386. <https://doi.org/10.2307/3545850>.
- Jonsson, A., Bertilsson, A. & Rydgård, M. (2013). Spatial distribution and age structure of the freshwater unionid mussels *Anodonta anatina* and *Unio tumidus*: implications for environmental monitoring. *Hydrobiologia* 711: 61-70. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1455-3>.
- Kelley, T. E., Chandra, S. & Wittmann, M. E. (2022). Identifying potential drivers of distribution patterns of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea*. *Biological Invasions* 24: 2651–2667. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02813-1>.
- Komaru, A., Houki, S., Yamada, M., Miyake, T., Obata, M. & Kawamura, K. (2013). 400 million years old but still more to learn: reproductive biology of freshwater clams of the genus *Corbicula*. *Biological Journal of the Linnean Society* 108: 168-178. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2012.02005.x>.
- Korniushin, A. V. (2004). A revision of some Asian and African freshwater clams assigned to *Corbicula fluminalis* (Müller, 1774) (Mollusca: Bivalvia: Corbiculidae), with a review of anatomical characters and reproductive features. *Hydrobiologia* 529: 251-270. <https://doi.org/10.1007/s10750-004-9321-7>.
- Laaha, G., Gauster, T., Tallaksen, L. M., Vidal, J. P., Stahl, K., Prudhomme, C., Hisdal, H., Vinha, J., Hannaford, J., Fendekova, M., Blanco, C., Förster, H., Delus, C., Mediero, L., Van Lanen, H. A. J., Barker, L. J., Iglesias, A., Tóumazis, A. D. & Wong, W. K. (2017). The European 2015 drought from a hydrological perspective. *Hydrology and Earth System Sciences* 21: 3001–3024. <https://doi.org/10.5194/hess-21-3001-2017>.
- Labaut, Y., Macchi, P. A., Archuby, F. M. & Darrigran, G. (2021). Homogenization of macroinvertebrate assemblages and Asiatic clam *Corbicula fluminea* invasion in a river of the arid Patagonian plateau, Argentina. *Frontiers in Environmental Science* 9: 728620. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.728620>.

- Lake, P. S. (2003). Ecological effects of perturbation by drought in flowing waters. *Freshwater Biology* 48: 1161–1172. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2003.01086.x>.
- Larson, J. H., Evans, M. A., Richardson, W. B., Schaeffer, J. & Nelson, J. C. (2016). Spatial variation in biofouling of a unionid mussel (*Lampsilis siliquoidea*) across the western basin of Lake Erie. *The American Midland Naturalist* 176: 119–129. <https://doi.org/10.1674/0003-0031-176.1.119>.
- Leuven, R. S. E. W., van der Velde, G., Baijens, I., Snijders, J., van der Zwart, C., Lenders, H. J. R. & bij de Vaate, A. (2009). The river Rhine: a global highway for dispersal of aquatic invasive species. *Biological Invasions* 11: 1989–2008. <https://doi.org/10.1007/s10530-009-9491-7>.
- Levine, T. D., Hansen, H. B. & Gerald, G. W. (2014). Effects of shell shape, size, and sculpture in burrowing and anchoring abilities in the freshwater mussel *Potamilus alatus* (Unionidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 111: 136–144. <https://doi.org/10.1111/bij.12178>.
- Lewis, J. B. & Riebel, P. N. (1984). The effect of substrate on burrowing in freshwater mussels (Unionidae). *Canadian Journal of Zoology* 62: 2023–2025. <https://doi.org/10.1139/z84-296>.
- Lois, S. (2010). New records of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in Galicia (Northwest of the Iberian Peninsula): Mero, Sil and Deva rivers. *Aquatic Invasions* 5(Suppl. 1): S17–S20. <https://doi.org/10.3391/ai.2010.5.S1.005>.
- Lopes-Lima, M. & Prié, V. (2024a). *Anodonta anatina* (Europe assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2024: e.T155667A212997908. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2024-1.RLTS.T155667A212997908.en>.
- Lopes-Lima, M. & Prié, V. (2024b). *Unio tumidus* (Europe assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2024: e.T156111A213000426. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2024-1.RLTS.T156111A213000426.en>.
- Lopes-Lima, M., Aldridge, D. C., Álvarez, M. G., Araujo, R., Barea-Azcón, J. M., Bikashvili, A., Bragado, D., Bylyna, L., Carlevaro, A. & Černecký, J. (2025). A curated dataset on the distribution of West Palaearctic freshwater bivalves. *Scientific Data* 12: 1139. <https://doi.org/10.1038/s41597-025-05318-9>.
- Lopes-Lima, M., Burlakova, L. E., Karatayev, A. Y., Mehler, K., Seddon, M. & Sousa, R. (2018). Conservation of freshwater bivalves at the global scale: diversity, threats and research needs. *Hydrobiologia* 810: 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3486-7>.

- Lopes-Lima, M., Reis, J., Alvarez, M. G., Anastácio, P., Banha, F., Beja, P., Castro, P., Gama, M., Gil, M. G., Gomes-dos-Santos, A., Miranda, F., Nogueira, J. G., Sousa, R., Teixeira, A., Varandas, S. & Froufe, E. (2023). The silent extinction of freshwater mussels in Portugal. *Biological Conservation* 285: 110244. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2023.110244>.
- Lopes-Lima, M., Sousa, R., Geist, J., Aldridge, D. C., Araujo, R., Bergengren, J., Bernal, Y., Bódis, E., Burlakova, L., Van Damme, D., Douda, K., Froufe, E., Georgiev, D., Gumpinger, C., Karatayev, A., Kebapçı, Ü., Killeen, I., Lajtner, J., Larsen, B. M., Lauceri, R., Legakis, A., Lois, S., Lundberg, S., Moorkens, E., Motte, G., Nagel, K. O., Ondina, P., Outeiro, A., Paunović, M., Prié, V., Proschwitz, T., Riccardi, N., Rudzīte, M., Rudzītis, M., Scheder, C., Seddon, M., Şereflişan, H., Simić, V., Sokolova, S., Stoeckl, K., Taskinen, J., Teixeira, A., Thielen, F., Trichkova, T., Varandas, S., Vicentini, H., Zajac, K., Zajac, T. & Zogaris, S. (2017). Conservation status of freshwater mussels in Europe: state of the art and future challenges. *Biological Reviews* 92: 572-607. <https://doi.org/10.1111/brv.12244>.
- Lucy, F. E., Davis, E., Anderson, R., Booy, O., Bradley, K., Britton, J. R., Byrne, C., Caffrey, J. M., Coughlan, N. E., Crane, K., Cuthbert, R. N., Dick, J. T. A., Dickey, J. W. E., Fisher, J., Lucy, K., Minchin, D., Monaghan, O., Neilson, M. E., Renals, T., Ricciardi, A., Roy, H., Shaw, R., Weyl, O. L. F., Williams, F. & Zięba, G. (2020). Horizon scan of invasive alien species for the island of Ireland. *Management of Biological Invasions* 11: 155-177. <https://doi.org/10.3391/mbi.2020.11.2.01>.
- Machuca-Sepúlveda, J., López, M., Fierro, P., Beltrán, J. F., Norambuena, J.-A., Pinheiro, R., Oliveira, S., Zamorano, M. & Farias J. G. (2024). Ecological responses of freshwater macroinvertebrates to augmented drought: a literature review and projections. *Ecological Indicators* 164: 112153. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2024.112153>.
- MacNeil, C., Pande, A., Wardle, J., Growcott, A., Sinclair, S., Somerville, R., Sinclair, C. & Lee F. (2025). The gold clams, *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) and *Corbicula australis* (Deshayes, 1830) invade Aotearoa New Zealand; first records, biosecurity responses and potential long-term ecological impacts. *BioInvasions Records* 14(3): 597–607. <https://doi.org/10.3391/bir.2025.14.3.10>.
- Marescaux, J., Pigneur, L. M. & Van Doninck, K. (2010). New records of *Corbicula* clams in French rivers. *Aquatic Invasions* 5: S35–S39. <https://doi.org/10.3391/ai.2010.5.S1.009>.

Marsh, P. C. (1985). Secondary production of introduced Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in a Central Arizona canal. *Hydrobiologia* 124: 103–110.

McCarthy, T. K., Fitzgerald, J. & O'Connor, W. (1997). The occurrence of the zebra mussel *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), an introduced biofouling freshwater bivalve in Ireland. *Irish Naturalists' Journal* 25: 413–416.

McDowell, W. G., McDowell, W. H. & Byers, J. E. (2017). Mass mortality of a dominant invasive species in response to an extreme climate event: implications for ecosystem function. *Limnology and Oceanography* 62: 177–188. <https://doi.org/10.1002/lno.10393>.

McDowell, W. G. & Sousa, R. (2019). Mass mortality events of invasive freshwater bivalves: current understanding and potential directions for future research. *Frontiers in Ecology and Evolution* 7: 331. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00331>.

McMahon, R. F. (2002). Evolutionary and physiological adaptations of aquatic invasive animals: r selection versus resistance. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59: 1235–1244. <https://doi.org/10.1139/f02-105>.

Meira, A., Byers, J. & Sousa, R. (2024). A global synthesis of predation on bivalves. *Biological Reviews* 99: 1015–1057. <https://doi.org/10.1111/brv.13057>.

Minchin, D. (2014). The distribution of the Asian clam *Corbicula fluminea* and its potential to spread in Europe. *Management of Biological Invasions* 5: 165–172. <https://doi.org/10.3391/mbi.2014.5.2.10>.

Mitchell, Z. A., McGuire, J., Abel, J., Hernandez, B. A. & Schwalb, A. N. (2018). Move on or take the heat: can life history strategies of freshwater mussels predict their physiological and behavioural responses to drought and dewatering? *Freshwater Biology* 63: 1579–1591. <https://doi.org/10.1111/fwb.13187>.

Modesto, V., Dias, E., Ilarri, M., Lopes-Lima, M., Teixeira, A., Varandas, S., Castro, P., Antunes, C. & Sousa R. (2021). Trophic niche overlap between native freshwater mussels (Order: Unionida) and the invasive *Corbicula fluminea*. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 31(8): 2058–2071. <https://doi.org/10.1002/aqc.3618>.

Modesto, V., Ilarri, M., Souza, A. T., Lopes-Lima, M., Douda, K., Clavero, M. & Sousa, R. (2018). Fish and mussels: importance of fish for freshwater mussel conservation. *Fish and Fisheries* 19: 244–259. <https://doi.org/10.1111/faf.12252>.

Modesto, V., Castro, P., Lopes-Lima, M., Antunes, C., Ilarri, M. & Sousa, R., (2019). Potential impacts of the invasive species *Corbicula fluminea* on the survival of glochidia. *Science of the Total Environment* 673: 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.043>.

- Modesto, V., Ilarri, M., Castro, P., Carvalho, F., Cavalheri, T., Lopes-Lima, M., Teixeira, A., Ozório, R. O. A., Antunes, C., & Sousa, R. (2025b). Interspecific differences in the physiological condition of native freshwater mussels in response to the invasive Asian clam *Corbicula fluminea*. *Hydrobiologia*, 852, 1231–1241. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05209-3>.
- Modesto, V., Ilarri, M., Łabęcka, A. M., Ferreira-Rodríguez, N., Coughlan, N. E., Liu, X., & Sousa, R. (2025a). What we know and do not know about the invasive Asian clam *Corbicula fluminea*. *Hydrobiologia*, 852, 1183–1214. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05280-w>.
- Morhun, H., Lajtner, J., Szekeres, J., Zieritz, A., Lopes-Lima, M., Sousa, R. & Froufe, E. (2022). Morphological and molecular evidence reveals cryptic diversity in European invasive *Corbicula*. *Biological Invasions* 24: 3731–3748. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02828-8>.
- Morton, B. (1986). *Corbicula* in Asia – an updated synthesis. In Britton J. C., Prezant R. S. (eds), *Proceedings of the Second International Corbicula Symposium*. American Malacological Bulletin, Special Edition 2: 113-124.
- Mouthon, J. (1981). Sur la présence en France et au Portugal de *Corbicula* (Bivalvia, Corbiculidae) originaire d’Asie. *Basteria* 45: 109-116.
- Müller, T., Labecka, A. M., Zajac, K. & Czarnoleski, M. (2021). Growth patterns of the pan-European freshwater mussel, *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia: Unionidae), vary with sex and mortality in populations. *Ecology and Evolution* 11: 2907–2918. <https://doi.org/10.1002/ece3.7250>.
- Nagayama, S., Kume, M., Oota, M., Mizushima, K. & Mori, S. (2020). Common coypu predation on unionid mussels and terrestrial plants in an invaded Japanese river. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 421: 37. <https://doi.org/10.1051/kmae/2020029>.
- Nakamura, K., Sousa, R. & Mesquita-Joanes, F. (2023). Collapse of native freshwater mussel populations: prospects of a long-term study. *Biological Conservation* 279: 109931. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2023.109931>.
- Nakano, M. (2018). Survival duration of six unionid mussel species under experimental emersion. *Hydrobiologia* 809: 111-120. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3453-3>.
- Nentwig, W., Bacher, S., Kumschick, S., Pyšek, P. & Vilà, M. (2018). More than “100 worst” alien species in Europe. *Biological Invasions* 20: 1611–1621. <https://doi.org/10.1007/s10530-017-1651-6>.

- Newton, T. J., Zigler, S. J. & Gray, B. R. (2015). Mortality, movement and behaviour of native mussels during a planned water-level drawdown in the upper Mississippi River. *Freshwater Biology* 60: 1-15. <https://doi.org/10.1111/fwb.12461>.
- Nunes, A. L., Tricarico, E., Panov, V. E., Cardoso, A. C. & Katsanevakis, S. (2015). Pathways and gateways of freshwater invasions in Europe. *Aquatic Invasions* 10: 359-370. <https://doi.org/10.3391/ai.2015.10.4.01>.
- OECD. (2025). *Global Drought Outlook: Trends, Impacts and Policies to Adapt to a Drier World*. OECD Publishing, Paris.
- Ollard, I. S. & Aldridge, D. C. (2023). Declines in freshwater mussel density, size and productivity in the River Thames over the past half century. *Journal of Animal Ecology* 92: 112-123. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13835>.
- Ortmann, C. & Grieshaber, M. K. (2003). Energy metabolism and valve closure behaviour in the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Journal of Experimental Biology* 206: 4167–4178. <https://doi.org/10.1242/jeb.00656>.
- Panov, V. E., Alexandrov, B., Arbaciauskas, K., Binimelis, R., Copp, G. H., Grabowski, M., Lucy F., Leuven, R. S. E. W., Nehring, S., Paunović, M., Semchenko, V. & Son, M. O. (2009). Assessing the risks of aquatic species invasions via European inland waterways: from concepts to environmental indicators. *Integrated Environmental Assessment and Management* 5: 110-126. https://doi.org/10.1897/IEAM_2008-034.1.
- Parker, I. M., Simberloff, D., Lonsdale, W. M., Goodell, K., Wonham, M., Kareiva, P. M., Williamson, M. H., Von Holle, B., Moyle, P. B., Byers, J. E. & Goldwasser, L. (1999). Impact: toward a framework for understanding the ecological effects of invaders. *Biological Invasions* 1: 3-19. <https://doi.org/10.1023/A:1010034312781>.
- Piechocki, A. & Wawrzyniak-Wydrowska, B. (2016). *Guide to freshwater and marine mollusca of Poland*. Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań.
- Pigneur, L. M., Etoundi, E., Aldridge, D. C., Marescaux, J., Yasuda, N. & Van Doninck, K. (2014). Genetic uniformity and long-distance clonal dispersal in the invasive androgenetic *Corbicula clams*. *Molecular Ecology* 23: 5102-5116. <https://doi.org/10.1111/mec.12912>.
- Pigneur, L.-M., Marescaux, J., Roland, K., Etoundi, E., Descy, J.-P. & Van Doninck, K. (2011). Phylogeny and androgenesis in the invasive *Corbicula* clams (Bivalvia, Corbiculidae) in Western Europe. *BMC Evolutionary Biology* 11: 147. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-147>.

Poznańska, M., Goleniewska, D., Gulanicz, T., Kakareko, T., Jermacz, Ł. & Kobak, J. (2015a). Effect of substratum drying on the survival and migrations of a freshwater pulmonate snail *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758). *Hydrobiologia*, 747, 177–188. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-2130-z>.

Poznańska, M., Kakareko, T., Gulanicz, T., Jermacz, Ł. & Kobak, J. (2015b). Life on the edge: Survival and behavioural responses of freshwater gill-breathing snails to declining water level and substratum drying. *Freshwater Biology*, 60(11), 2379–2391. <https://doi.org/10.1111/fwb.12664>.

Poznańska, M., Kakareko, T., Krzyżyński, M. & Kobak, J. (2013). Effect of substratum drying on the survival and migrations of Ponto-Caspian and native gammarids (Crustacea: Amphipoda). *Hydrobiologia*, 700, 47–59. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1218-6>.

Poznańska-Kakareko, M., Budka, M., Żbikowski, J., Czarnecka, M., Kakareko, T., Jermacz, Ł. & Kobak, J. (2017). Survival and vertical distribution of macroinvertebrates during emersion of sandy substratum in outdoor mesocosms. *Fundamental and Applied Limnology*, 190(1), 29–47. <https://doi.org/10.1127/fal/2017/1017>.

Poznańska-Kakareko, M., Wiśniewski, K., Szarmach, D., Witkowska, A., Kakareko, T., Jermacz, Ł. & Kobak, J. (2021). Importance of substratum quality for potential competitive niche overlap between native and invasive unionid mussels in Europe. *Science of the Total Environment* 799: 149345. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149345>.

Prié, V. & Lopes-Lima M. (2024). *Sphaerium rivicola*. The IUCN Red List of Threatened Species 2024.

Pyšek, P., Hulme, P. E., Simberloff, D., Bacher, S., Blackburn, T. M., Carlton, J. T., Dawson, W., Essl, F., Foxcroft, L. C., Genovesi, P., Jeschke, J. M., Kühn, I., Liebhold, A. M., Mandrak, N. E., Meyerson, L. A., Pauchard, A., Pergl, J., Roy, H. E., Seebens, H., van Kleunen, M., Vilà, M., Wingfield, M. J. & Richardson, D. M. (2020). Scientists' warning on invasive alien species. *Biological Reviews* 95: 1511–1534. <https://doi.org/10.1111/brv.12627>.

Reid, A. J., Carlson, A. K., Creed, I. F., Eliason, E. J., Gell, P. A., Johnson, P. T. J., Kidd, K. A., MacCormack, T. J., Olden, J. D., Ormerod, S. J., Smol, J. P., Taylor, W. W., Tockner, K., Vermaire, J. C., Dudgeon, D. & Cooke, S. J. (2019). Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity. *Biological Reviews* 94: 849–873. <https://doi.org/10.1111/brv.12480>.

- Ricciardi, A., Blackburn, T. M., Carlton, J. T., Dick, J. T. A., Hulme, P. E., Iacarella, J. C., Jeschke, J. M., Liebhold, A. M., Lockwood, J. L., MacIsaac, H. J., Pyšek, P., Richardson, D. M., Ruiz, G. M., Simberloff, D., Sutherland, W. J., Wardle, D. A. & Aldridge, D. C. (2017). Invasion science: a horizon scan of emerging challenges and opportunities. *Trends in Ecology & Evolution* 32: 464–474. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2017.03.007>.
- Ricciardi, A., Hoopes, M. F., Marchetti, M. P. & Lockwood, J. L. (2013). Progress toward understanding the ecological impacts of nonnative species. *Ecological Monographs* 83: 263–282. <https://doi.org/10.1890/13-0183.1>.
- Richardson, D. M., Pyšek, P., Rejmánek, M., Barbour, M. G., Panetta, F. D. & West, C. J. (2000). Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distributions* 6: 93–107. <https://doi.org/10.1046/j.1472-4642.2000.00083.x>.
- Rock, S. L., Bergström, E., Piccolo, J. J. & Österling, M. E. (2024). First observation of a spawning mantle display in a European unionid mussel. *Ecology and Evolution* 14: e11179. <https://doi.org/10.1002/ece3.11179>.
- Rock, S. L., Watz, J., Nilsson, P. A. & Österling, M. (2022). Effects of parasitic freshwater mussels on their host fishes: a review. *Parasitology*, 149(14), 1958–1975. <https://doi.org/10.1017/S0031182022001226>.
- Romero, G. Q., Gonçalves-Souza, T., Vieira, C. & Koricheva, J. (2015). Ecosystem engineering effects on species diversity across ecosystems: a meta-analysis. *Biological Reviews* 90: 877–890. <https://doi.org/10.1111/brv.12138>.
- Said, R. M. & Nassar, S. E. (2022). Mortality, energy reserves, and oxidative stress responses of three native freshwater mussels to temperature as an indicator of potential impacts of climate change: A laboratory experimental approach. *Journal of Thermal Biology*, 103, 103154. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.103154>.
- Sardain, A., Sardain, E. & Leung, B. (2019). Global forecasts of shipping traffic and biological invasions to 2050. *Nature Sustainability* 2: 274–282. <https://doi.org/10.1038/s41893-019-0245-y>.
- Sayer, C. A., Máiz-Tomé, L. & Darwall, W. R. T. (2025). One-quarter of freshwater fauna threatened with extinction. *Nature* 638: 138–145. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08375-z>.
- Schwalb, A. N. & Pusch, M.T. (2007). Horizontal and vertical movements of unionid mussels in a lowland river. *Journal of the North American Benthological Society* 26: 261–272. [https://doi.org/10.1899/0887-3593\(2007\)26\[261:HAVMOU\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1899/0887-3593(2007)26[261:HAVMOU]2.0.CO;2).

Seebens, H., Bacher, S., Blackburn, T. M., Capinha, C., Dawson, W., Dullinger, S., Genovesi, P., Hulme, P. E., van Kleunen, M. & Kühn, I. (2021). Projecting the continental accumulation of alien species through to 2050. *Global Change Biology* 27: 970–982. <https://doi.org/10.1111/gcb.15333>.

Seebens, H., Blackburn, T. M., Dyer, E. E., Genovesi, P., Hulme, P. E., Jeschke, J. M., Pagad, S., Pyšek, P., van Kleunen, M. & Winter, M. (2017). No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nature Communications* 8: 14435. <https://doi.org/10.1038/ncomms14435>.

Simberloff, D., Martin, J. L., Genovesi, P., Maris, V., Wardle, D. A., Aronson, J., Courchamp, F., Galil, B., García-Berthou, E., Pascal, M., Pyšek, P., Sousa, R., Tabacchi, E. & Vilà, M. (2013). Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends in Ecology & Evolution* 28: 58-66. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.07.013>.

Sonny, F. Z., Moradian, S. & Olbert, A. I. (2026). Hydrological drought projections across Europe under climate change. *Natural Hazards* 3: 37. <https://doi.org/10.1038/s44304-025-00152-w>.

Sorte, C. J. B., Ibáñez, I., Blumenthal, D. M., Molinari, N. A., Miller, L. P., Grosholz, E. D., Diez, J. M., D'Antonio, C. M., Olden, J. D., Jones, S. J. & Dukes, J. S. (2013). Poised to prosper? A cross-system comparison of climate change effects on native and non-native species performance. *Ecology Letters* 16: 261-270. <https://doi.org/10.1111/ele.12017>.

Sousa, R., Antunes, C. & Guilhermino, L. (2008). Ecology of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in aquatic ecosystems: an overview. *Annales de Limnologie – International Journal of Limnology* 44: 85–94. <https://doi.org/10.1051/limn:2008017>.

Sousa, R., Ilarri, M., Souza, A. T., Antunes, C. & Guilhermino, L. (2011). Rapid decline of the greater European peaclam at the periphery of its distribution. *International Journal of Limnology* 47: 211-219. <https://doi.org/10.1051/limn/2011041>.

Sousa, R., Nogueira, J., Ferreira, A., Carvalho, F., Lopes-Lima, M., Varandas, S. & Teixeira, A. (2019). A tale of shells and claws: the signal crayfish as a threat to the pearl mussel *Margaritifera margaritifera* in Europe. *Science of the Total Environment* 665: 329-337. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.094>.

Sousa, R., Rufino, M., Gaspar, M., Antunes, C. & Guilhermino, L. (2008). Abiotic impacts on spatial and temporal distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the River Minho estuary, Portugal. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 18: 98-110. <https://doi.org/10.1002/aqc.838>.

Sousa, R., Zając, T., Halabowski, D., Aksenova, O. V., Bepalaya, Y. V., Carvalho, F., Castro, P., Douda, K., Silva, J. P., Ferreira-Rodríguez, N., Geist, J., Gumpinger, C., Labecka, A. M., Lajtner, J., Lewin, I., Lopes-Lima, M., Meira, A., Nakamura, K., Nogueira, J. G., Ondina, P., Ożgo, M., Reis, J., Riccardi, N., Shumka, S., Son, M. O., Teixeira, A., Thielen, F., Urbańska, M., Varandas, S., Wengström, N., Zając, K., Zieritz, A. & Aldridge, D. C. (2023). A roadmap for the conservation of freshwater mussels in Europe. *Conservation Biology* 37: e13994. <https://doi.org/10.1111/cobi.13994>.

Stanicka, A., Kobak, J., Hildebrand, J., Cichy, A., Wiśniewski, K., Szarmach, D., Lesiak, K., Urbaniak, J., Augustyniak, M., Dlouhy, Z., Graczyk, S., Grzeczka, A., Kowaleska, Z., Lewalska, M., Lichocka, K., Terebiński, S., Wiśniewska, A., Żbikowska, E. & Poznańska-Kakareko, M. (2025). Many evils are worse than one: an interplay between invasive biofoulers and parasites helps predict the future of an endangered freshwater fingernail clam. *Freshwater Biology* 70: e70125. <https://doi.org/10.1111/fwb.70125>.

Strayer, D. L. (2010). Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. *Freshwater Biology* 55: 152-174. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02380.x>.

Strayer, D. L. (2012). Eight questions about invasions and ecosystem functioning. *Ecology Letters* 15: 1199-1210. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01817.x>.

Strayer, D. L. (2017). What are freshwater mussels worth? *Freshwater Mollusk Biology and Conservation* 20: 103-113. <https://doi.org/10.31931/fmbc.v20i2.2017.103-113>.

Strayer, D. L. (1999). Effects of alien species on freshwater mollusks in North America. *Journal of the North American Benthological Society* 18: 74-98. <https://doi.org/10.2307/1468010>.

Szarmach, D., Lichocka, K., Kobak, J., Bomba, A., Krzeszowiak, A., Terebiński, S., Wiśniewski, K. & Poznańska-Kakareko, M. (2026). Clams running dry: greater drought tolerance in the non-native Asian clam (*Corbicula* complex) than in the native European *Sphaerium rivicola*. *NeoBiota* 107: 225–242. <https://doi.org/10.3897/neobiota.107.176248>.

Szarmach, D., Wiśniewski, K., Kobak, J., Kakareko, T., Labecka, A. M., Sousa, R. & Poznańska-Kakareko, M. (2023). Differences in substratum preferences and behaviour within the invasive *Corbicula* species complex. *Freshwater Biology* 68: 1489–1502. <https://doi.org/10.1111/fwb.14142>.

Szarmach, D., Wiśniewski, K., Kobak, J., Kletkiewicz, H., Jermacz, Ł., Kakareko, T., Sousa, R., Augustyniak, M., Plichta, Z., Lichocka, K., Terebiński, S. & Poznańska-

Kakareko, M. Evaluating the long-term consequences of invasion by *Corbicula* clams for European unionid mussel communities. Manuskrypt przygotowany do wysłania do czasopisma.

Szarmach, D., Wiśniewski, K., Kobak, J., Lichocka, K., Jermacz, Ł., Kakareko, T., Sousa, R. & Poznańska-Kakareko M. (2024). Impact of habitat engineering by invasive *Corbicula* clams on native European unionid mussels. *Science of the Total Environment* 948: 174764. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174764>.

Tallaksen, L. M. & Van Lanen, H. A. J. (2004). *Hydrological Drought: Processes and Estimation Methods for Streamflow and Groundwater*. Elsevier, Amsterdam.

Urbańska, M., Andrzejewski, W., Riccardi, N., Gierszal, H. & Golski, J. (2018). The invasive Asian clam *Corbicula fluminea* in Polish rivers: the importance of thermal discharge from power plants for its spread. *Polish Journal of Ecology* 66: 70-75. <https://doi.org/10.3161/15052249PJE2018.66.1.008>.

Van Loon, A. F. (2015). Hydrological drought explained. *WIREs Water* 2: 359-392. <https://doi.org/10.1002/wat2.1085>.

Vaughn, C. C. (2018). Ecosystem services provided by freshwater mussels. *Hydrobiologia* 810: 15-27. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3139-x>.

Vilà, M., Espinar, J. L., Hejda, M., Hulme, P. E., Jarošík, V., Maron, J. L., Pergl, J., Schaffner, U., Sun, Y. & Pyšek, P. (2011). Ecological impacts of invasive alien plants: a meta-analysis of their effects on species, communities and ecosystems. *Ecology Letters* 14: 702-708. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01628.x>.

Weber, E. (2005). Population size and structure of three mussel species (Bivalvia: Unionidae) in a northeastern German river with special regard to influences of environmental factors. *Hydrobiologia* 537: 169-183. <https://doi.org/10.1007/s10750-004-2839-1>.

Werner, S. & Rothhaupt, K.-O. (2007). Effects of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* on settling juveniles and other benthic taxa. *Journal of the North American Benthological Society* 26(4): 673-680. <https://doi.org/10.1899/07-017R.1>.

Wright, D. W., Thiem, J. D., Blackman, E., Beatty, S. J., Lymbery, A. J. & Davis, S. (2024). Differences in desiccation tolerance of two Australian freshwater mussel species with different life history characteristics is temperature dependent. *Hydrobiologia* 851: 4123-4134. <https://doi.org/10.1007/s10750-024-05570-x>.

Zajac, K. (2014). Size-dependent predation by muskrat *Ondatra zibethicus* on *Unio tumidus*. *Folia Malacologica* 22: 159–162.

Zieritz, A., Gallardo, B., Aldridge, D. C., Doua, K., Esteves, E., Ferreira-Rodriguez, N., Mageroy, J. H., Nizzoli, D., Osterling, M., Reis, J., Riccardi, N., Daill, D., Gumpinger, C. & Vaz, A. S. (2022). A global synthesis of ecosystem services provided and disrupted by freshwater bivalve molluscs. *Biological Reviews* 97(5): 1967–1998. <https://doi.org/10.1111/brv.12878>.

6. Publikacja 1

Szarmach D, Wiśniewski K, Kobak J, Lichocka K, Kakareko T, Sousa R, Poznańska-Kakareko M. 2024. Impact of habitat engineering by invasive *Corbicula* clams on native European unionid mussels. Science of The Total Environment, 948, 174764. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174764>.

Imię i nazwisko współautora	Udział [%]	Zakres wkładu w powstanie publikacji
mgr Daniel Szarmach	60	Koncepcja badań, opracowanie metodyki, zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentów, opracowanie wyników, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu; korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
mgr Kamil Wiśniewski	8	Opracowanie metodyki, zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentów, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
prof. dr hab. Jarosław Kobak	8	Koncepcja badań, opracowanie metodyki, analiza statystyczna wyników, opracowanie wyników, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
mgr Katarzyna Lichocka	2	Prowadzenie eksperymentów, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
dr hab. Łukasz Jermacz, prof. UMK	2	Zebranie materiału w terenie, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
prof. dr hab. Tomasz Kakareko	2	Zebranie materiału w terenie, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
prof. Ronaldo Sousa	2	Koncepcja badań, korekta manuskryptu podczas publikowania
dr hab. Małgorzata Poznańska-Kakareko, prof. UMK	16	Koncepcja badań, opracowanie metodyki, zebranie materiału w terenie, zarządzanie projektem, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie



Impact of habitat engineering by invasive *Corbicula* clams on native European unionid mussels

D. Szarmach^{a,*}, K. Wiśniewski^a, J. Kobak^a, K. Lichocka^a, Ł. Jermacz^b, T. Kakareko^b, R. Sousa^c, M. Poznańska-Kakareko^a

^a Nicolaus Copernicus University in Toruń, Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Department of Invertebrate Zoology and Parasitology, Lwowska 1, 87-100 Toruń, Poland

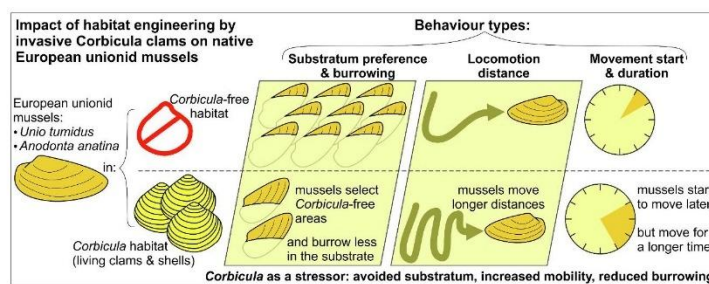
^b Nicolaus Copernicus University in Toruń, Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Department of Ecology and Biogeography, Lwowska 1, 87-100 Toruń, Poland

^c CBMA - Centre of Molecular and Environmental Biology, Department of Biology, University of Minho, Campus Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

HIGHLIGHTS

- Impact of *Corbicula* on European unionids: *U. tumidus* (Ut) and *A. anatina* (Aa)
- Sand modification by *Corbicula* negatively affected unionids
- Unionids avoided sand modified by *Corbicula* and their shells
- Unionids burrowed less in sand with living *Corbicula* and their shells
- Locomotion of Ut increased and that of Aa slowed down in sand with *Corbicula*

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Editor: Daniel Wunderlin

Keywords:
Unionidae
Asian clams
Invasive species impact
Shell beds
Substratum choice
Behaviour

ABSTRACT

Biological invasions cause biodiversity erosion on a global scale. Invasive species spreading beyond their natural range compete with native fauna for food and space, push native species to suboptimal habitats, impairing their behaviour and thus limiting their occurrence. Freshwater ecosystems are especially vulnerable to biological invasions and their ecological and economic impacts. The invasive Asian clams (*Corbicula* spp.), due to their opportunistic life style, can occur at densities of thousands ind. m⁻². They act as ecosystem engineers transforming bottom substrata through accumulation of shells. Our goal was to determine the effect of substratum modification by living *Corbicula* and their shells on substratum choice and behaviour of *Unio tumidus* and *Anodonta anatina*, two European freshwater mussel species of the highly imperilled Unionidae family. We assessed their substratum selection in pairwise choice tests (pure sand vs. sand modified by living *Corbicula* or their shells, sand modified by shells vs. living *Corbicula*). Next, we tested locomotion and burrowing of unionids on pure substratum and substrata modified by *Corbicula*. Unionids avoided sand modified by living *Corbicula* and their empty shells, not distinguishing between these two types of substratum modification. In the presence of *Corbicula*, their burrowing was shallower or it took them longer to obtain the same depth as in the pure sand. Additionally, on sand modified by *Corbicula* shells, we observed a locomotion increase (*U. tumidus*) or slowing

* Corresponding author.

E-mail address: szarmach.daniel@doktorant.umk.pl (D. Szarmach).

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174764>

Received 7 May 2024; Received in revised form 28 June 2024; Accepted 11 July 2024

Available online 14 July 2024

0048-9697/© 2024 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

down (*A. anatina*). Our research showed a novel mechanism of negative impact of *Corbicula* on unionids, consisting in pushing them away from their optimal habitats. This may contribute to their habitat loss and future declines in invaded ecosystems.

1. Introduction

Bivalves are aquatic ecosystem engineers crucial for benthic-pelagic coupling (Gutiérrez et al., 2003). As efficient filter feeders (Howard and Cuffey, 2006), they increase water transparency and affect nutrient cycling (Vaughn and Hoellein, 2018). By depositing organic matter and shells, they change the bottom quality, affecting the benthic fauna (Atkinson and Vaughn, 2015; Vaughn, 2018; Ilarri et al., 2019).

Some bivalves have become invasive beyond their native ranges (Crooks, 2001; Strayer, 2010; Keller et al., 2011), whereas others are endangered due to habitat loss and fragmentation, pollution, exploitation, climate change, and biological invasions (Lopes-Lima et al., 2014, 2017, 2018). These processes have led to decreased population sizes and ranges, or even extinctions, resulting in homogenization of bivalve communities at local, regional, and global scales (Sousa et al., 2023). One particularly endangered bivalve group are freshwater mussels of the Unionidae family (Lopes-Lima et al., 2017, 2021; Ollard and Aldridge, 2022; Aldridge et al., 2023).

A possible important threat to European Unionidae include the introduction of clams of the *Corbicula* complex: *C. fluminea* (Müller, 1774), *C. leana* Prime, 1867, *C. fluminalis* (Müller, 1774), and their hybrids (Morhun et al., 2022). Originating from subtropical Asia (Lachner, 1970; Araujo et al., 1993; Komaru et al., 2013), they have spread to Europe (Nentwig et al., 2018; Prié, 2023), America (Ludwig et al., 2023), and Africa (Korniushin, 2004; Gomes-dos-Santos et al., 2019). Even a single individual, capable of self-fertilisation, can create a stable population of a density of up to 9000 ind. m⁻² (Caffrey et al., 2011; Pigneur et al., 2014; Modesto et al., 2023). *Corbicula* can dominate the benthic community, exceeding 95 % of its biomass (Sousa et al., 2008). They compete with native mussels for food and space (Strayer, 1999; Modesto et al., 2021; Hopper et al., 2022), impairing their physical condition and locomotion (Ferreira-Rodríguez et al., 2018; Bolam et al., 2019). The clams can also reduce sperm and glochidia of native unionids by filter-feeding (Modesto et al., 2019).

Moreover, living *Corbicula* clams and shells remaining after their death modify the substratum (Sousa et al., 2008; Bódis et al., 2014a, 2014b; McDowell and Sousa, 2019; Hopper et al., 2022). Thick shells form 3-dimensional hard structures persisting for decades, and changing local habitats (Ilarri et al., 2015, 2019). Therefore, *Corbicula* is considered an ecosystem engineer (Ilarri et al., 2012, 2014; Novais et al., 2015). Large amounts of *Corbicula* shells rapidly accumulate in the environment during the fast population growth and mass mortalities (Werner and Rothhaupt, 2007; Ilarri et al., 2011; Bódis et al., 2014a, 2014b).

Corbicula clams may negatively affect co-occurring unionids, such as *Unio tumidus* Philipsson, 1788 and *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) (Sousa et al., 2005; Beran, 2006; Piechocki and Szlauer-Lukaszewska, 2013; Dobler et al., 2022), since all these species prefer the same fine-grained substrata (Poznańska-Kakareko et al., 2021; Szarmach et al., 2023). In Europe, these unionids show ongoing declines (Lopes-Lima et al., 2017). Their survival depends on the possibility of burrowing (Balfour and Smock, 1995; Schwalb and Pusch, 2007; Poznańska-Kakareko et al., 2021). Thus, if *Corbicula* shells form a physical barrier inhibiting burrowing and locomotion of the native mussels, this may be another serious mechanism of threat.

Our aim was to determine the impact of substratum modification by living *Corbicula* clams (*C. leana* and hybrid of *Corbicula* sp.) on unionids: *U. tumidus* and *A. anatina*. We hypothesized that the presence of *Corbicula* would affect the substratum choice and behaviour of native unionids. We assumed that (1) unionids would avoid living *Corbicula*

and their shells, and (2) *Corbicula* presence will disturb the natural behaviour of unionids. We suspected that mussels would burrow to a shallower depth and move over shorter distances due to mechanical obstacles formed by *Corbicula*. Alternatively, if unionids actively avoid *Corbicula*, their locomotion could be more intense in their presence. Furthermore, we assumed that (3) unionids would respond more strongly to *Corbicula* shells than to living clams. This is because of different shell positions in the substratum (on the surface or mixed with sand at different angles), in contrast to living clams, always vertically burrowed in sand.

2. Materials and methods

2.1. Collection of unionid mussels, *Corbicula* clams and shells

We collected bivalves in the spring and summer of 2021 from several locations in Poland, Central Europe. Adult native mussels (range: 65–85 mm, Table A.2) were obtained from the Koronowski Reservoir (53°25'35.1"N 17°55'37.3"E) on the Brda River, a tributary of the Vistula River (*U. tumidus*) (Fig. A.1a) and from the Włocławski Reservoir (52°21'57.2"N 20°54'17.2"E) on the Vistula River (*A. anatina*) (Fig. A.1b) by a diver from a depth of 2 m. *Corbicula* clams and their shells were collected with a Surber net from a depth of 0.5–1 m at three sites in the Oder River. Living *C. leana* (Fig. A.2a) were collected from the Middle Oder River near Głogów (51°40'36.9"N 16°01'48.8"E), and individuals of another morphospecies, presumably a hybrid of *C. leana* and *C. fluminalis* (Müller, 1774) (Morhun et al., 2022), hereafter referred to as *Corbicula* sp. (Fig. A.2b), were collected from the Lower Oder River near Gryfino (53°14'50.3"N 14°28'52.9"E). All the above-mentioned locations had water temperatures natural for the temperate climate in central Europe and have been only recently invaded by *Corbicula* (own observations). Fresh shells of both morphospecies were obtained from the post-cooling channel of a power plant connected to the Lower Oder River (53°12'42.2"N 14°28'02.7"E), which is a thermally polluted location. Due to the thermophilic character of the *Corbicula* complex in central Europe and their presence at this location for almost 20 years (Domagała et al., 2004; Labecka et al., 2005), large numbers of empty *C. leana* and *Corbicula* sp. shells have accumulated there, enabling their collection for the experiments.

2.2. Stocking of bivalves

We transported the living bivalves to the laboratory in 20-l plastic bags filled in 70 % with water from the collection site and in 30 % with oxygen. The bivalves were stocked in an air-conditioned (20 °C) laboratory with a photoperiod of 12 h light: 12 h darkness. We prepared stock tanks (240 l for 30 individuals of unionids, 84 l for 100 individuals of *Corbicula*, due to size differences) two weeks before animal collection. Each tank was equipped with an internal filter and aeration system and filled with sandy substratum of grain size (mean diameter: 0.67 mm, range: 0.20–1.40 mm) within the preference range of all the species tested (Poznańska-Kakareko et al., 2021; Szarmach et al., 2023). We fed the bivalves with a solution of dried *Chlorella* algae twice a week. Every week, we replaced 40 % of the tank volume with tap water, pre-conditioned (aerated and filtered – pore size 30 Ppi) for a minimum of 48 h. We performed weekly measurements of water quality in the stock tanks (oxygen, temperature, pH, conductivity; Table A.1a) with a multimeter Multi340i (WTW GmbH, Weilheim, Germany).

2.3. Substratum preparation

To conduct the experiments, we chose the same commercially available sand as that used as the substratum in the stock tanks. According to Corenblit et al. (2013), McDowell and Sousa (2019), and our field observations, *Corbicula* shell beds consist mainly of single valves. Therefore, we used this form of shells in the experiments. We thoroughly rinsed the sand and empty shells in tap water and cleaned the shells with a brush. The sand and shells were then dried at 60 °C by 24 h in a laboratory drier to reduce the presence of living organisms remaining after washing, cooled and conditioned for 5 days in aerated water.

2.4. Experiment I: Impact of *Corbicula* on substratum choice by unionids

To investigate the effect of living *Corbicula* and their shells on the habitat selection by Unionidae, we conducted pairwise choice tests in 30 × 30 × 30 cm tanks divided into two halves (Fig. 1). Each half of the tank was filled with a different type of substratum (a layer of 10 cm). The tanks were filled with conditioned tap water (filtered and aerated for at least 48 h) up to a level of 10 cm above the surface of the substratum.

Unionid substratum selection was carried out in the presence of pure sand (control) and one of three types of shell beds observed in the field:

- 4.5 l of *Corbicula* shells (a mixture of both morphospecies) put on the surface of 4.5 l of sand in a 1:1 volume ratio (hereafter: shells on surface (1:1)), which corresponded to 8400 shells m⁻², counting two single valves as one individual,
- shells mixed with sand in a 1:1 volume ratio (hereafter: shells mixed (1:1)),
- shells mixed with sand in a 1:3 volume ratio (hereafter: shells mixed (1:3)), which corresponded to 2800 shells m⁻².

Two scenarios were simulated using shells on the sand surface and mixed with sand, respectively. Based on our field and laboratory observations, *Corbicula* clams emerge to the surface before death and then die. Therefore, the first scenario involved freshly dead *Corbicula* shells appearing on the surface. Subsequently, due to processes occurring on the bottom, such as sedimentation and the bioturbation activity of benthic fauna, *Corbicula* shells may be mixed with sediments.

Accordingly, the second scenario involved shells mixed with substratum. Shells were mixed within the top 5-cm layer of sand, as *Corbicula* only burrow into the surface layer of the substratum (Szarmach et al., 2023).

Subsequently, we used various densities of shells mixed with sand (700, 1400 and 2100 ind. m⁻²) corresponding to densities of living *Corbicula* observed in the field (Cohen et al., 1984; Sousa et al., 2008; Ilari et al., 2011; Bonk et al., 2018). Next, we assessed the impact of living *Corbicula* clams at the same densities (i.e. 700, 1400, 2100 ind. m⁻²). Living individuals of the two morphospecies were tested separately due to potential interspecific differences in morphology, behaviour or chemical composition.

We offered unionids a choice between pure sand (control) and sand with addition of different densities of living *Corbicula* or their shells to determine the minimum density that affects unionid habitat selection. We started the tests with the density of 1400 per m⁻² and, depending on the result obtained, we increased or decreased the clam density to determine the lowest avoided value. We stopped testing after obtaining a significant response of mussels to the presence of *Corbicula* in the substratum. Additionally, we examined unionid selectivity between living *Corbicula* clams and their shells at densities previously found to be avoided in favour of pure sand.

At the beginning of each test, we introduced a single unionid individual into each experimental tank, on the border between the two substrata, with its longitudinal axis parallel to the border (Fig. 1). After 24 h, we determined the location of the unionid. We performed 30 replicates of each substratum configuration, each time with new unionid individuals (thus, each individual was used only once in the study). Altogether, we used 330 individuals of each unionid species. The length of the tested unionids was measured before the experiment with a ruler to the nearest 0.5 cm (Table A.2). We photographed living *Corbicula* individuals and their shells before the experiment to determine their length (Table A.2) using ImageJ 1.52n software (Schneider et al., 2012). Furthermore, we measured water quality parameters (oxygen concentration, temperature, pH, and conductivity) in the experimental tanks (mean water temperature: 18.0 °C) after the experiment (Table A.1b) using the multimeter Multi340i.

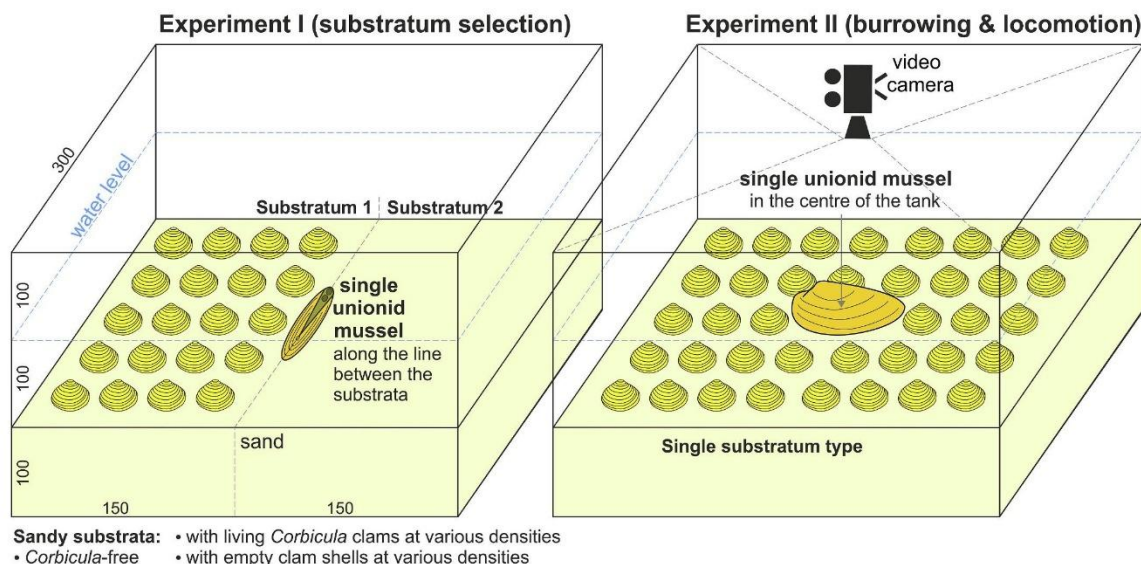


Fig. 1. Experimental setups.

2.5. Experiment II: Impact of substratum modification by *Corbicula* on unionid locomotion and burrowing

We determined the behaviour of unionid mussels on pure sand and on sand with different types of *Corbicula* substratum modification (determined as avoided and non-avoided based on results of experiment I; see section 2.4 above). The experiment was carried out in the same tanks as those used in Experiment I, under the same conditions (mean water temperature: 17.7 °C, Table A.1c), except using only one type of substratum in each tank (Fig. 1). At the beginning of each test, we introduced a single unionid individual into the centre of the tank. We recorded the experiment for 24 h (12 h light: 12 h darkness) with CCTV IP digital video cameras (SNB-6004, Samsung, South Korea) equipped

with infrared illuminators (LIR-CS32, IRLAB, Taiwan). We performed 15 replicates per each unionid species on each substratum. Each individual was used only once in the study (altogether, 180 individuals of each unionid species).

The obtained videos were analysed manually. Based on the earlier studies (Poznańska-Kakareko et al., 2021; Szarmach et al., 2023), we determined the following behavioural parameters: time of movement (burrowing or locomotion) initiation (counting from the start of the test), duration of burrowing activity, burrowing level (see section 2.6 below for the formula), locomotion distance, and locomotion time.

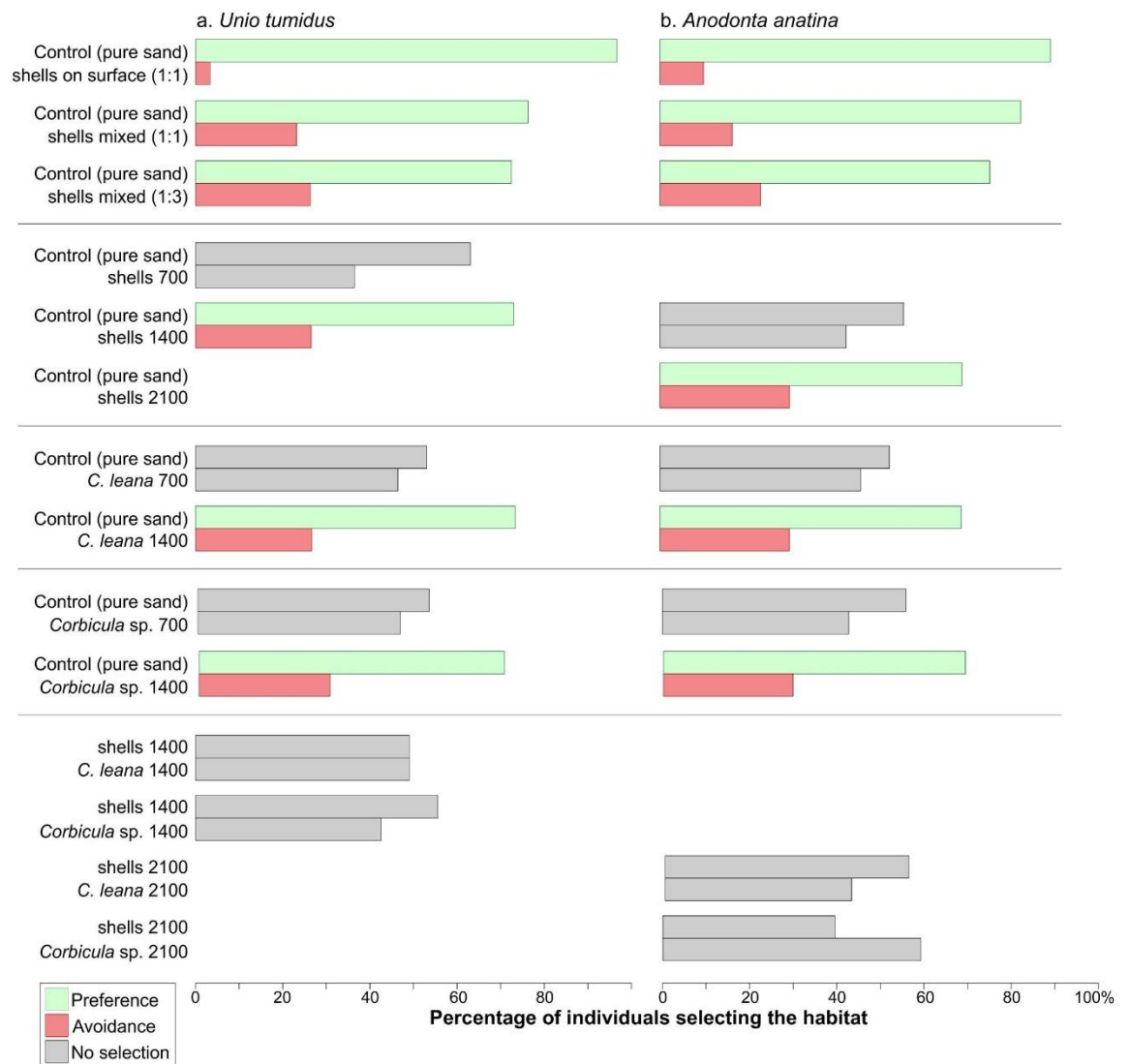


Fig. 2. Percentages of *Unio tumidus* and *Anodonta anatina* individuals selecting particular substrata in pairwise choice tests in Experiment I. Green and red bars indicate a significant preference for or avoidance of the particular substratum within a given pair, respectively (Chi-square tests of goodness of fit, see Table 1 for details). Labels “1:1” and “1:3” indicate shell:sand volumetric proportions. Numbers are densities of living individuals or shells (two valves counted as a single individual) expressed as ind. m⁻².

2.6. Data analysis

We tested substratum choice by unionids using χ^2 tests of goodness of fit to check whether the observed distribution of mussels between the two compared substrata differed significantly from a theoretical uniform distribution (50 % on each substratum, assuming no selectivity).

To determine the mean burrowing level (MB) for each individual, we used the following formula:

$$MB = \frac{\sum_{i=1}^4 [25\% \cdot t_i]}{\sum_{i=0}^4 t_i}$$

where i is burrowing level, divided into 5 steps: 0 (mussel on the surface), 1 (25 % of the mussel length buried), 2 (50 % of the mussel length buried), 3 (75 % of the mussel length buried), 4 (mussel fully burrowed); t_i is time spent by the mussel at burrowing level i .

The data on burrowing and locomotion of unionids strongly violated assumptions of a parametric test (normality and homoscedasticity, checked with Levene and Shapiro-Wilk tests, respectively). Therefore, we used sequential Bonferroni corrected Mann-Whitney tests to determine differences in mussel behaviour between the control treatment and various types of substratum modification by *Corbicula*. We processed the data using SPSS 26.0 package (IBM Inc.).

3. Results

3.1. Experiment I: Impact of *Corbicula* on substratum choice by unionids

Unio tumidus and *A. anatina* avoided substratum modified by *Corbicula* shells at the minimum density of 1400 and 2100 shells m^{-2} , respectively (Fig. 2, Table 1a-b). Both unionid species avoided living *Corbicula* (both morphospecies) at a minimum density of 1400 ind. m^{-2} and did not distinguish between empty shells and living clams (Fig. 2, Table 1a-b).

3.2. Experiment II: Impact of substratum modification by *Corbicula* on unionid locomotion and burrowing

All Unionidae individuals were active. Unionids exposed to substratum modified by *Corbicula* tended to delay their movement initiation

Table 1
Impact of *Corbicula* complex on substratum choice of *Unio tumidus* and *Anodonta anatina* in Experiment I. Results of Chi-square tests of goodness of fit comparing the distribution of individuals within a particular pair of substrata to the uniform distribution (50:50 %, assuming no selectivity). Cases of significant selectivity indicated in bold.

Substrata ¹	a. <i>U. tumidus</i>		b. <i>A. anatina</i>	
	χ^2	P	χ^2	P
Control vs. shells on surface (1:1)	26.13	<0.001	19.20	<0.001
control vs. shells mixed (1:1)	8.53	0.003	13.33	<0.001
control vs. shells mixed (1:3)	6.53	0.011	8.53	0.003
control vs. shells 700 ind. m^{-2}	2.13	0.144	N/A	N/A
control vs. shells 1400 ind. m^{-2}	6.53	0.011	0.53	0.465
control vs. shells 2100 ind. m^{-2}	N/A	N/A	4.80	0.028
control vs. <i>C. leana</i> 700 ind. m^{-2}	0.13	0.715	0.13	0.715
control vs. <i>C. leana</i> 1400 ind. m^{-2}	6.53	0.011	4.80	0.028
control vs. <i>Corbicula</i> sp. 700 ind. m^{-2}	0.13	0.715	0.53	0.465
control vs. <i>Corbicula</i> sp. 1400 ind. m^{-2}	4.80	0.028	4.80	0.028
shells vs. <i>C. leana</i> 1400 ind. m^{-2}	0.00	1.000	N/A	N/A
shells vs. <i>Corbicula</i> sp. 1400 ind. m^{-2}	0.53	0.465	N/A	N/A
shells vs. <i>C. leana</i> 2100 ind. m^{-2}	N/A	N/A	0.53	0.465
shells vs. <i>Corbicula</i> sp. 2100 ind. m^{-2}	N/A	N/A	1.20	0.273

N/A – not available (the test was not carried out because a density threshold for avoiding *Corbicula* has already been obtained for a given species / substratum modification type).

¹ control – pure sand, 1:1, 1:3 – shell to sand volumetric proportions, ind. – living individuals or two shell valves counted as a single individual.

compared to their behaviour on controls (Fig. 3a-b). For *U. tumidus*, this effect was significant in the presence of shells on the surface (1:1) and living *Corbicula* sp. at a density of 1400 ind. m^{-2} (Fig. 3a, Table 2a). For *A. anatina*, significant effects were observed in the presence of shells (1:1, on the surface and mixed with sand), living *C. leana* at a density of 1400 ind. m^{-2} and living *Corbicula* sp. at densities of 1400 and 2100 ind. m^{-2} (Fig. 3b, Table 2a).

On sand, *U. tumidus* did not show any horizontal locomotion, whereas 60 % of *A. anatina* moved horizontally (mean distance: 126 cm). In addition, 37 % *U. tumidus* and 48 % *A. anatina* crawled on sand modified by *Corbicula*, which was avoided in experiment I. *Unio tumidus* covered longer distances and moved for a longer time in the presence of shells on the surface or mixed with sand (1:1) compared to the control (mean distance: 33.0 cm and 0.0 cm, respectively) (Fig. 3c, A.3; Table 2b-c). The distances travelled by *A. anatina* did not differ between the control and any substratum modification treatments. However, *A. anatina* moved for a longer time on sand with shells on the surface (Fig. 3d, A.3; Table 2b-c).

All unionids burrowed in pure sand, while 82 % individuals of *U. tumidus* and 75 % of *A. anatina* burrowed in sand modified by *Corbicula*. The burrowing time of *U. tumidus* and *A. anatina* was shorter in the presence of shells on the surface (mean time: 23 min, and 0 min, compared to mean time on sand: 75 min, and 31 min, respectively) and the same was true for *U. tumidus* in the presence of shells mixed in sand (1:1) (mean time: 33 min) (Fig. 4a-b; Table 2d). On the other hand, *A. anatina* burrowed for a longer time in sand modified by living *Corbicula* (mean time: 74 min) (both morphospecies, except *Corbicula* sp. at 700 ind. m^{-2}) (Fig. 4b, Table 2d).

Unio tumidus showed a lower burrowing level when exposed to all types of substratum modification by *Corbicula* except living *C. leana* at a density of 700 ind. m^{-2} (though a tendency was visible also in this case) (Fig. 4c, A.4; Table 2e). *Anodonta anatina* had a lower burrowing level in sand modified by *Corbicula* shells at a minimum density of 2100 m^{-2} compared to sand (Fig. 4d, A.4, Table 2e).

4. Discussion

We demonstrated that *Corbicula* can affect the substratum choice and behaviour of European unionids. Consistently with hypothesis 1, *U. tumidus* and *A. anatina* avoided sand modified by living *Corbicula* and their shells at a density of at least 1400 ind. m^{-2} . *Corbicula* densities of as much as 10,000 and 16,000 ind. m^{-2} were observed in North America (Marsh, 1985) and Europe (Lake Constance, Hubenov et al., 2013), respectively. Thus, clam densities avoided in our study do occur in freshwater ecosystems, indicating that they are likely to degrade the quality of unionid habitats. The presence of *Corbicula* shells or living clams changes the substratum quality, especially increasing grain size (other organisms can perceive *Corbicula* shells as large substratum particles). Poznańska-Kakareko et al. (2021) showed that coarse substrata are avoided by unionids, which is a likely mechanism of *Corbicula* avoidance in our study.

Sand modification by *Corbicula* clams also changed the unionid behaviour, in accordance with hypothesis 2. In particular, the unionids reduced their percentage burrowing level and increased locomotion, especially *U. tumidus*. Unionids showed similar responses to non-preferred coarse substrata: they burrowed longer and to a shallower depth, and showed higher locomotion than on their preferred fine-grained substratum (Lewis and Riebel, 1984; Annie et al., 2013; Hernández et al., 2021; Poznańska-Kakareko et al., 2021).

Unionid burrowing is their defence against vertebrate and invertebrate predators (Haag, 2012; Zając, 2014; Sousa et al., 2019; Nagayama et al., 2020; Meira et al., 2024) and adverse abiotic conditions, such as water level fluctuations, floods, droughts, and suboptimal temperature (Tallqvist, 2001; Schwalb and Pusch, 2007; Flynn and Smee, 2010; Gough et al., 2012; Newton et al., 2015). Limited burrowing of native mussels by *Corbicula* may also expose them to biofouling, e.g. by

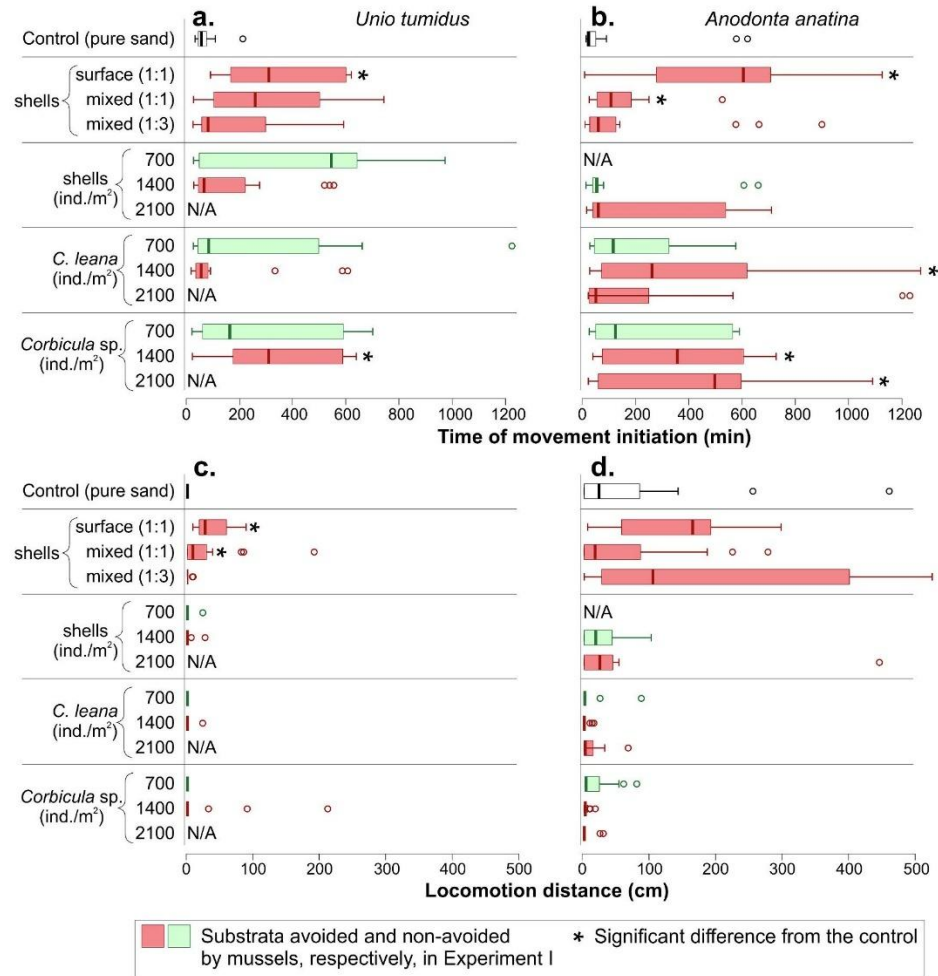


Fig. 3. Time of movement initiation (a-b), and locomotion distance (c-d) of *Unio tumidus* and *Anodonta anatina* responding to substratum modification by *Corbicula* in Experiment II. Asterisks indicate significant differences in mussel behaviour between a given treatment and the control treatment in the pure sand (Mann-Whitney tests with the sequential Bonferroni correction; See Table 2a-b for details). Red bars indicate substrata significantly avoided by mussels in favour of the pure sand control, whereas green bars show *Corbicula* densities that were non-avoided by mussels in Experiment I (see Fig. 2).

dreissenid mussels (Dzierżyńska-Białończyk et al., 2018). Fouling adversely affects unionids by interfering with their feeding, breathing (McCarthy et al., 1997; Larson et al., 2016; Müller et al., 2021), and movement (Appledorn and Bach, 2007). A change in unionid burrowing may also affect the reproduction success of such fish as the European bitterling *Rhodeus amarus* (Bloch, 1782), incubating embryos in unionid mantle cavity (Smith et al., 2004).

The increase in the unionid locomotion in the presence of *Corbicula* shells, observed in our study, may be due to the search for a more suitable microhabitat and avoidance of competition. This is confirmed by the results of Ferreira-Rodríguez et al. (2018), who observed increased unionid movement with increasing density of living *Corbicula*. On a long term, this may result in the deteriorated condition of mussels forced to prolonged locomotion (Ferreira-Rodríguez et al., 2018). In our study, *U. tumidus* delayed their activity initiation in the presence of *Corbicula*, which suggests that, despite a longer final distance covered, their movement in substratum modified by *Corbicula* was more difficult. Worse physical condition may negatively affect the reproduction of

unionids, additionally limiting their occurrence (Hua et al., 2013; Lopes-Lima et al., 2017; Lopes-Lima et al., 2021).

Hypothesis 3 was not confirmed in our study. Unionids avoided shells independent of their position, on the surface or mixed with sand. However, *A. anatina* avoided living *Corbicula* at 1400 ind. m⁻², whereas their shells only at 2100 ind. m⁻². This suggests a stronger impact of living clams compared to their shells. On the other hand, we noted no difference in habitat selection when comparing the same densities of shells and living *Corbicula*, which indicated a similar effect of living *Corbicula* and their shells on unionids. However, consistently with hypothesis 3, we observed differences in unionid behaviour depending on the substratum modification type. The burrowing level of *U. tumidus* was lower in all types of substrata modified by *Corbicula*. Whereas, *A. anatina* reduced its burrowing only in response to shells. In the presence of living *Corbicula*, it took *A. anatina* longer to obtain the same burrowing level as in control. This indicates that *A. anatina* is affected more by shells than by living *Corbicula*. This may result from the fact that randomly arranged *Corbicula* shells create a more compact substratum layer than living

Table 2
Impact of *Corbicula* complex on behaviour of *Unio tumidus* and *Anodonta anatina* in Experiment II. Results of pairwise Mann-Whitney tests comparing various types of sand modification by living clams or their shells to the control pure sand. Significant differences indicated in bold ($P < 0.05$) when the significance holds with the sequential Bonferroni correction.

Variable	Substrata ¹ Control (pure sand) vs.	Mann-Whitney U test ^{2, 3}			
		<i>U. tumidus</i>		<i>A. anatina</i>	
		Z	P	Z	P
a. Time of movement initiation	shells on surface (1:1)	-4.38	<0.001	-3.38	0.001
	shells mixed (1:1)	-2.32	0.020	-2.88	0.004
	shells mixed (1:3)	-1.91	0.056	-1.62	0.105
	shells 700 ind. m ⁻²	-1.87	0.062	N/A	N/A
	shells 1400 ind. m ⁻²	-0.64	0.520	-1.95	0.051
	shells 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-2.47	0.014
	<i>C. leana</i> 700 ind. m ⁻²	-0.91	0.361	-2.59	0.010
	<i>C. leana</i> 1400 ind. m ⁻²	-0.21	0.836	-3.36	0.001
	<i>C. leana</i> 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-2.05	0.040
	<i>Corbicula</i> sp. 700 ind. m ⁻²	-2.14	0.033	-2.55	0.011
	<i>Corbicula</i> sp. 1400 ind. m ⁻²	-3.26	0.001	-3.46	0.001
	<i>Corbicula</i> sp. 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-3.07	0.002
b. Locomotion distance	shells on surface (1:1)	-4.99	<0.001	-2.39	0.017
	shells mixed (1:1)	-3.71	<0.001	-0.11	0.915
	shells mixed (1:3)	-1.44	0.150	-1.86	0.062
	shells 700 ind. m ⁻²	-1.00	0.317	N/A	N/A
	shells 1400 ind. m ⁻²	-1.44	0.150	-0.49	0.625
	shells 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-0.58	0.559
	<i>C. leana</i> 700 ind. m ⁻²	-	-	-2.59	0.010
	<i>C. leana</i> 1400 ind. m ⁻²	-1.00	0.317	-2.74	0.006
	<i>C. leana</i> 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-1.96	0.050
	<i>Corbicula</i> sp. 700 ind. m ⁻²	-	-	-1.69	0.091
	<i>Corbicula</i> sp. 1400 ind. m ⁻²	-1.79	0.073	-2.54	0.011
	<i>Corbicula</i> sp. 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-2.71	0.007
c. Locomotion time	shells on surface (1:1)	-4.99	<0.001	-3.44	0.001
	shells mixed (1:1)	-3.71	<0.001	-0.62	0.534
	shells mixed (1:3)	-1.44	0.150	-2.47	0.013
	shells 700 ind. m ⁻²	-1.00	0.317	N/A	N/A
	shells 1400 ind. m ⁻²	-1.44	0.150	-0.02	0.983
	shells 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-0.11	0.914
	<i>C. leana</i> 700 ind. m ⁻²	-	-	-2.52	0.012
	<i>C. leana</i> 1400 ind. m ⁻²	-1.00	0.317	-2.27	0.023
	<i>C. leana</i> 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-1.69	0.091
	<i>Corbicula</i> sp. 700 ind. m ⁻²	-	-	-1.44	0.150
	<i>Corbicula</i> sp. 1400 ind. m ⁻²	-1.79	0.073	-2.50	0.012
	<i>Corbicula</i> sp. 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-2.52	0.012
d. Duration of burrowing activity	shells on surface (1:1)	-3.58	<0.001	-4.99	<0.001
	shells mixed (1:1)	-3.27	0.001	-1.09	0.276
	shells mixed (1:3)	-0.68	0.493	-0.58	0.560
	shells 700 ind. m ⁻²	-0.04	0.967	N/A	N/A
	shells 1400 ind. m ⁻²	-0.19	0.852	-0.44	0.663
	shells 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-2.24	0.025
	<i>C. leana</i> 700 ind. m ⁻²	-1.54	0.124	-2.86	0.004
	<i>C. leana</i> 1400 ind. m ⁻²	-1.20	0.229	-4.07	<0.001
	<i>C. leana</i> 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-2.68	0.007
	<i>Corbicula</i> sp. 700 ind. m ⁻²	-0.27	0.787	-2.20	0.028
	<i>Corbicula</i> sp. 1400 ind. m ⁻²	-0.44	0.663	-3.46	0.001
	<i>Corbicula</i> sp. 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-3.13	0.002
e. Burrowing level (%)	shells on surface (1:1)	-4.71	<0.001	-4.99	<0.001
	shells mixed (1:1)	-4.68	<0.001	-4.21	<0.001
	shells mixed (1:3)	-2.39	0.017	-4.51	<0.001
	shells 700 ind. m ⁻²	-3.50	<0.001	N/A	N/A
	shells 1400 ind. m ⁻²	-2.59	0.010	-2.34	0.019
	shells 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-3.50	<0.001
	<i>C. leana</i> 700 ind. m ⁻²	-1.14	0.254	-0.19	0.852
	<i>C. leana</i> 1400 ind. m ⁻²	-3.26	0.001	-1.64	0.101
	<i>C. leana</i> 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-1.10	0.272
	<i>Corbicula</i> sp. 700 ind. m ⁻²	-3.13	0.002	-0.77	0.443
	<i>Corbicula</i> sp. 1400 ind. m ⁻²	-3.46	0.001	-2.14	0.033
	<i>Corbicula</i> sp. 2100 ind. m ⁻²	N/A	N/A	-0.02	0.983

¹ 1:1, 1:3 – shell to sand volumetric proportions, ind. – living individuals or two shell valves counted as a single individual.

² N/A – not available (the trials were run with the substratum types that were also used for a given species in Experiment I).

³ dash – no movement observed in both groups to be compared.

Corbicula. A stronger impact of *Corbicula* on the burrowing of *U. tumidus* than that of *A. anatina* is probably due to the morphological differences between the unionids (Levine et al., 2014). *Anodonta anatina* is narrower than *U. tumidus*, which results in a lower resistance of the former when burrowing into the substratum.

Probably the difficulty to burrow into sand with clam shells caused changes in locomotion of both unionids. *Unio tumidus* travelled longer distances and for a longer time on sand with shells. On the other hand, the presence of *Corbicula* shells slowed down locomotion and delayed its initiation in *A. anatina*, which needed more time to cover the same distance on the modified substratum than in control conditions (no differences in distance, but a longer locomotion time). During the breeding season, unionids move and form aggregations to increase their reproductive success (Amyot and Downing, 1998; Zając and Zając, 2011). Thus, substratum modification by *Corbicula*, interfering with unionid mobility, is likely to reduce their fitness. However, further studies need to be performed to check this hypothesis.

5. Conclusion

We demonstrated that the substratum modification by *Corbicula* affects the habitat selection by native mussels, impairs their burrowing and affects horizontal locomotion (increasing in *U. tumidus*, slowing down in *A. anatina*). All of this may result in the greater exposure of mussels to adverse abiotic factors, biofouling, and predators. Our results may be of conservation importance, given the widespread distribution of *Corbicula* and the recent declines in unionids (Aldridge et al., 2023; Lopes-Lima et al., 2023; Nakamura et al., 2023). In addition to the already identified mechanisms of the negative impact of *Corbicula*, such as competition or filtration of sperm and glochidia, we have shown habitat modification by *Corbicula* shells as another threat to unionids. Even after death, the invader can still affect unionids and its legacy may be very long-lasting. They may die massively in one year, contributing with a great amount of shell material, to recover to high densities again within a few years. Since empty shells remain in the habitat for decades (Ilari et al., 2019), this legacy may be very impactful.

With climate warming, the invasion of thermophilic *Corbicula* clams is likely to increase in temperate areas, making them more widespread, and more abundant in already invaded areas. Their impact is expected to be intensified, limiting the range and abundance of native Unionidae mussels. Therefore, the findings reported here deserve conservation attention. Future management measures devoted to unionids living in sympatry with *Corbicula* need to take into account not only the role of living *Corbicula* but also their empty shells.

Funding

This study was financed from internal funds by the Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Poland.

CRediT authorship contribution statement

D. Szarmach: Writing – review & editing, Writing – original draft, Visualization, Validation, Resources, Project administration, Methodology, Investigation, Data curation, Conceptualization. **K. Wiśniewski:** Writing – review & editing, Resources, Methodology, Investigation. **J. Kobak:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Methodology, Formal analysis, Conceptualization. **K. Lichocka:** Writing – review & editing, Investigation. **L. Jermacz:** Writing – review & editing, Resources. **T. Kakareko:** Writing – review & editing, Resources. **R. Sousa:** Writing – review & editing, Conceptualization. **M. Poznańska-Kakareko:** Writing – review & editing, Supervision, Resources, Project administration, Methodology, Conceptualization.

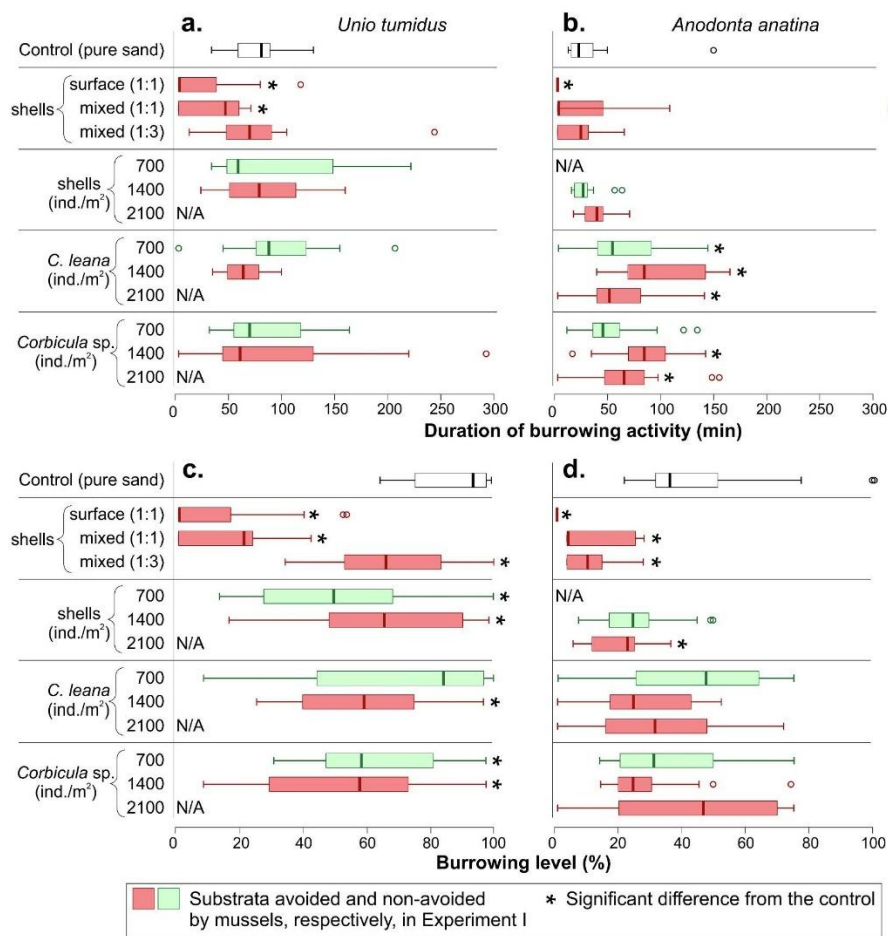


Fig. 4. Duration of burrowing activity (a-b), and burrowing level (c-d) of *Unio tumidus* and *Anodonta anatina* responding to substratum modification by *Corbicula* in Experiment II. Asterisks indicate significant differences in mussel behaviour between a given treatment and the control treatment in the pure sand (Mann-Whitney tests with the sequential Bonferroni correction; See Table 2d-e for details). Red bars indicate substrata significantly avoided by mussels in favour of the pure sand control, whereas green bars show *Corbicula* densities that were non-avoided by mussels in Experiment I (see Fig. 2).

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgments

A permit was obtained from the Regional Directorate for Environmental Protection in Bydgoszcz for stocking *Corbicula* clams as invasive organisms (WOP.672.4.2020.MO).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174764>.

References

- Aldridge, D.C., Bespalaya, J., Bolotov, I., Douda, K., Geist, J., Haag, W., Klunzinger, M., Mlambo, M., Lopes-Lima, M., Riccardi, N., Sousa, R., Strayer, D., Torres, S., Vaughn, C., Zajac, T., Zieritz, A., Olard, I., 2023. Freshwater mussel conservation: a global horizon scan of emerging threats and opportunities. *Glob. Chang. Biol.* 29, 575–589. <https://doi.org/10.1111/gcb.16510>.
- Amyot, J.P., Downing, J.A., 1998. Locomotion in *Elliptio complanata* (Mollusca: Unionidae): a reproductive function? *Freshw. Biol.* 39, 351–358.
- Annie, J., Ann, B., Mats, R., 2013. Spatial distribution and age structure of the freshwater unionid mussels *Anodonta anatina* and *Unio tumidus*: implications for environmental monitoring. *Hydrobiologia* 711 (1), 61–70. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1455-3>.
- Appledorn, M.V., Bach, C.E., 2007. Effects of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on mobility of three native mollusk species. *Am. Midl. Nat.* 158 (2), 329–337. [https://doi.org/10.1674/0003-0031\(2007\)158\[329:EOZMDP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1674/0003-0031(2007)158[329:EOZMDP]2.0.CO;2).
- Araujo, R., Moreno, D., Ramos, M., 1993. The Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) in Europe. *Am. Malacol. Bull.* 10 (1), 39–49.
- Atkinson, C.L., Vaughn, C.C., 2015. Biogeochemical hotspots: temporal and spatial scaling of the impact of freshwater mussels on ecosystem function. *Freshw. Biol.* 60 (3), 563–574. <https://doi.org/10.1111/fwb.12498>.
- Balfour, D.L., Smock, L.A., 1995. Distribution, age structure, and movements of the freshwater mussel *Elliptio complanata* (Mollusca: Unionidae) in a headwater stream. *J. Freshw. Ecol.* 10 (3), 255–268. <https://doi.org/10.1080/02705060.1995.9663445>.

- Beran, L., 2006. Spreading expansion of *Corbicula fluminea* (Mollusca: Bivalvia) in the Czech Republic. *Heldia* 6, 187–192.
- Bódis, E., Tóth, B., Borza, P., Ács, É., Szekeres, J., Sousa, R., 2014a. Empty native and invasive bivalve shells as benthic habitat modifiers in a large river. *Limnologia* 49, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2014.07.002>.
- Bódis, E., Tóth, B., Sousa, R., 2014b. Massive mortality of invasive bivalves as a potential resource subsidy for the adjacent terrestrial food web. *Hydrobiologia* 735, 253–262. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1445-5>.
- Bolam, B.A., Rollwagen-Bollens, G., Bollens, S.M., 2019. Feeding rates and prey selection of the invasive Asian clam, *Corbicula fluminea*, on microplankton in the Columbia River, USA. *Hydrobiologia* 833 (1), 107–123. <https://doi.org/10.1007/s10750-019-3893-z>.
- Bonk, M., Zając, K., Lipińska, A.M., 2018. Rapid expansion of the Asian clam *Corbicula fluminea* (OF Müller, 1774): a new alien species in the mollusk community of the Vistula. *Oceanol. Hydrobiol. Stud.* 47 (1), 75–86. <https://doi.org/10.1515/ohs-2018-0009>.
- Caffrey, J., Evers, S.L., Millane, M., Moran, H., 2011. Current status of Ireland's newest invasive species-the Asian clam *Corbicula fluminea* (Mueller, 1774). *Aquat. Invasions* 6 (3), 291–299. <https://doi.org/10.3391/ai.2011.6.3.06>.
- Cohen, R.R.H., Dresler, P.V., Phillips, E.J.P., Cory, R.L., 1984. The effect of Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, on phytoplankton of the Potomac River. Maryland. *Limnol. Oceanogr.* 29 (1), 170–180. <https://doi.org/10.4319/lo.1984.29.1.0170>.
- Corenblit, D., Julien, F., Steiger, J., Darrozes, J., Milet, B., 2013. High shell deposition of the invasive clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) on alluvial bars: exploratory investigations and biogeomorphological research perspectives. *Geomorphol. Relief, Process. Environ.* 19 (2), 153–164. <https://doi.org/10.4000/geomorphologie.10206>.
- Crooks, J.A., 2001. Assessing invader roles within changing ecosystems: historical and experimental perspectives on an exotic mussel in an urbanized lagoon. *Biol. Invasions* 3, 23–36.
- Dobler, A.H., Hoos, P., Geist, J., 2022. Distribution and potential impacts of non-native Chinese pond mussels *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) in Bavaria. Germany. *Biol. Invasions*. 24 (6), 1689–1706. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02737-2>.
- Domagala, J., Łabecka, A.M., Pilecka-Rapacz, M., Migdalska, B., 2004. *Corbicula fluminea* (OF Müller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) – a species new to the polish malacofauna. *Folia Malacol.* 12 (3), 145–148. <https://doi.org/10.12657/folmal.012.011>.
- Dzierżyńska-Białończyk, A., Jermacz, Ł., Maćkiewicz, T., Gajewska, J., Kobak, J., 2018. Mechanisms and impact of differential fouling of the zebra mussel *Dreissena polymorpha* on different unionid bivalves. *Freshw. Biol.* 63 (7), 687–699. <https://doi.org/10.1111/fwb.13107>.
- Ferreira-Rodríguez, N., Sousa, R., Pardo, I., 2018. Negative effects of *Corbicula fluminea* over native freshwater mussels. *Hydrobiologia* 810 (1), 85–95. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-3059-1>.
- Flynn, A.M., Snee, D.L., 2010. Behavioral plasticity of the soft-shell clam, *Mya arenaria* (L.), in the presence of predators increases survival in the field. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 383 (1), 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2009.10.017>.
- Gomes-dos-Santos, A., Froufe, E., Gonçalves, D.V., Sousa, R., Prié, V., Ghamizi, M., Benaissa, H., Varandas, S., Teixeira, A., Lopes-Lima, M., 2019. Freshwater conservation assessments in (semi-)arid regions: testing river intermittence and buffer strategies using freshwater mussels (Bivalvia, Unionida) in Morocco. *Biol. Conserv.* 236, 420–434. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.05.038>.
- Gough, H.M., Gscho Landis, A.M., Stoeckel, J.A., 2012. Behaviour and physiology are linked in the responses of freshwater mussels to drought. *Freshw. Biol.* 57 (11), 2356–2366. <https://doi.org/10.1111/fwb.12015>.
- Gutiérrez, J.L., Jones, C.G., Strayer, D.L., Iribarne, O.O., 2003. Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. *Oikos* 101, 79–90. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2003.12322.x>.
- Haag, W.R., 2012. North American Freshwater Mussels: Natural History, Ecology, and Conservation. Cambridge University Press.
- Hernández, B.A., Mitchell, Z.A., Robertson, C.R., Schwalb, A.N., 2021. Burrowing behaviour of unionid mussels in subtropical rivers: implications for survey guidelines. *Aquat. Conserv.* 31 (4), 903–915. <https://doi.org/10.1002/aqc.3525>.
- Hopper, G.W., Buchanan, J.K., Sánchez González, I., Kubala, M.E., Bucholz, J.R., Lodato, M.B., Lozier, J.D., Atkinson, C.L., 2022. Little clams with big potential: nutrient release by invasive *Corbicula fluminea* can exceed co-occurring freshwater mussel (Unionidae) assemblages. *Biol. Invasions* 24, 2529–2545. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02792-9>.
- Howard, J.K., Cuffey, K.M., 2006. The functional role of native freshwater mussels in the fluvial benthic environment. *Freshw. Biol.* 51 (3), 460–474. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2005.01507.x>.
- Hua, D., Neves, R.J., Jiao, Y., 2013. Effects of algal density, water flow and substrate type on culturing juveniles of the rainbow mussel (*Villosa iris*) (Bivalvia: Unionidae) in a laboratory recirculating system. *Aquaculture* 416, 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.002>.
- Hubenov, Z., Trichkova, T., Kenderov, L., Kozuharov, D., 2013. Distribution of *Corbicula fluminea* (Mollusca: Corbiculidae) over an eleven-year period of its invasion in Bulgaria. *Acta Zool. Bulg.* 65 (3), 315–326.
- Ilari, M., Freitas, F., Costa-Dias, S., Antunes, C., Guilhermino, L., Sousa, R., 2012. Associated macrozoobenthos with the invasive Asian clam *Corbicula fluminea*. *J. Sea Res.* 72, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2011.10.002>.
- Ilari, M.I., Antunes, C., Guilhermino, L., Sousa, R., 2011. Massive mortality of the Asian clam *Corbicula fluminea* in a highly invaded area. *Biol. Invasions* 13 (2), 277–280. <https://doi.org/10.1007/s10530-010-9833-5>.
- Ilari, M.I., Souza, A.T., Amorim, L., Sousa, R., 2019. Decay and persistence of empty bivalve shells in a temperate riverine system. *Sci. Total Environ.* 683, 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.208>.
- Ilari, M.I., Souza, A.T., Antunes, C., Guilhermino, L., Sousa, R., 2014. Influence of the Asian clam *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) on estuarine epibenthic assemblages. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 143, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.03.017>.
- Ilari, M.I., Souza, A.T., Sousa, R., 2015. Contrasting decay rates of freshwater bivalves' shells: aquatic versus terrestrial habitats. *Limnologia* 51, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2014.10.002>.
- Keller, R.P., Geist, J., Jeschke, M., J., Kühn, I., 2011. Invasive Species in Europe: Ecology, Status and Policy. *Sci. Eur. Environ.* <https://doi.org/10.1186/2190-4715-23-23>.
- Komaru, A., Yamada, M., Houki, S., 2013. Relationship between two androgenetic clam species, *Corbicula leana* and *Corbicula fluminea*, inferred from mitochondrial cytochrome b and nuclear 28S rRNA markers. *Zool. Sci.* 30, 360–365. <https://doi.org/10.2108/zsj.30.360>.
- Kornushin, A.V., 2004. A revision of some Asian and African freshwater clams assigned to *Corbicula fluminalis* (Müller, 1774) (Mollusca: Bivalvia: Corbiculidae), with a review of anatomical characters and reproductive features based on museum collections. *Hydrobiologia* 529 (1), 251–270. <https://doi.org/10.1007/s10750-004-9322-x>.
- Łabecka, A.M., Domagala, J., Pilecka-Rapacz, M., 2005. First record of *Corbicula fluminalis* (OF Müller, 1774) (Bivalvia: corbiculidae) – in Poland. *Folia Malacol.* 13 (1). <https://doi.org/10.12657/folmal.013.003>.
- Lachner, E., Robins, A., Courtenay, C.R., R., W., 1970. Exotic fishes and other aquatic organisms introduced into North America. *Smithsonian Contrib. Zoology.* 59, 5–23. <https://doi.org/10.5479/si.00810282.59>.
- Larson, J.H., Richardson, W.B., Kennedy, R.J., Nelson, J.C., 2016. Spatial variation in biofouling of a unionid mussel (*Lampsilis siliquoidea*) across the western basin of Lake Erie. *Am. Midl. Nat.* 176 (1), 119–129. <https://doi.org/10.1674/0003-0031-176.1.119>.
- Levine, T.D., Hansen, H.B., Gerald, G.W., 2014. Effects of shell shape, size, and sculpture in burrowing and anchoring abilities in the freshwater mussel *Potamius alatus* (Unionidae). *Biol. J. Linn. Soc. Lond.* 111, 136–144. <https://doi.org/10.1111/bj.12178>.
- Lewis, J.B., Riebel, P.N., 1984. The effect of substrate on burrowing in freshwater mussels (Unionidae). *Can. J. Zool.* 62, 2023–2025. <https://doi.org/10.1139/z84-296>.
- Lopes-Lima, M., Burlakova, L.E., Karatayev, A.Y., Mehler, K., Seddon, M., Sousa R. 2018. Conservation of freshwater bivalves at the global scale: diversity, threats and research needs. *Hydrobiologia* 810, 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3486-7>.
- Lopes-Lima, M., Reis, J., Alvarez, M.G., Anastácio, P.M., Banha, F., Beja, P., Castro, P., Gama, M., Gil, M.G., Gomes-dos-Santos, A., Miranda, F., Nogueira, J.G., Sousa, R., Teixeira, A., Varandas, S., Froufe, E., 2023. The silent extinction of freshwater mussels in Portugal. *Biol. Conserv.* 285, 110244. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2023.110244>.
- Lopes-Lima, M., Riccardi, N., Urbanska, M., Koehler, F., Vinarski, M., Bogan, A., Sousa, R., E., 2021. Major shortfalls impairing knowledge and conservation on freshwater molluscs. *Hydrobiologia* 848, 2831–2867. <https://doi.org/10.1007/s10750-021-04622-w>.
- Lopes-Lima, M., Sousa, R., Geist, J., Aldridge, D., 2017. Conservation status of freshwater mussels in Europe: state of the art and future challenges. *Biol. Rev.* 92, 572–607. <https://doi.org/10.1111/brv.12244>.
- Lopes-Lima, M., Teixeira, A., Froufe, E., Lopes, A., Varandas, S., Sousa, R., 2014. Biology and conservation of freshwater bivalves: past, present and future perspectives. *Hydrobiologia* 735, 1–13. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-1902-9>.
- Ludwig, S., Darrigran, G., Boeger, W.A., 2023. Opening the black box of the invasion of *Corbicula* clams (Bivalvia, Corbiculidae) in South America: a genetic and morphological evaluation. *Hydrobiologia* 851, 1203–1217. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05378-1>.
- Marsh, P.C., 1985. Secondary production of introduced Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in a Central Arizona canal. *Hydrobiologia* 124, 103–110.
- McCarthy, T.K., Fitzgerald, J., O'Connor, W., 1997. The occurrence of the zebra mussel *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), an introduced biofouling freshwater bivalve in Ireland. *Ir. Nat. J.* 25 (11/12), 413–416.
- McDowell, W.G., Sousa, R., 2019. Mass mortality events of invasive freshwater bivalves: current understanding and potential directions for future research. *Front. Ecol. Evol.* 7, 331. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00331>.
- Meira, A., Byers, J., Sousa, R., 2024. A global synthesis of predation on bivalves. *Biol. Rev.* 99, 1015–1057. <https://doi.org/10.1111/brv.13057>.
- Modesto, V., Castro, P., Lopes-Lima, M., Antunes, C., Ilari, M., Sousa, R., 2019. Potential impacts of the invasive species *Corbicula fluminea* on the survival of glochidia. *Sci. Total Environ.* 673, 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.043>.
- Modesto, V., Dias, E., Ilari, M., Lopes-Lima, M., Teixeira, A., Varandas, S., Castro, P., Antunes, C., Sousa, R., 2021. Trophic niche overlap between native freshwater mussels (order: Unionida) and the invasive *Corbicula fluminea*. *Aquat. Conserv.* 31 (8), 2058–2071. <https://doi.org/10.1002/aqc.3618>.
- Modesto, V., Ilari, M., Łabecka, A.M., Ferreira-Rodríguez, N., Coughlan, N.E., Liu, X., Sousa, R., 2023. What we know and do not know about the invasive Asian clam *Corbicula fluminea*. *Hydrobiologia* 1–32. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05280-w>.
- Morhun, H., Vinarski, M.V., Łabecka, A.M., Van der Velde, G., Son, M.O., 2022. Differentiation of European invasive clams of the genus *Corbicula* (Cyrenidae) using shell shape analysis. *J. Molluscan Stud.* 88, eya045. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyab045>.
- Müller, T., Łabecka, A.M., Zając, K., Czarnoleski, M., 2021. Growth patterns of the pan-European freshwater mussel, *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia:

- Unionidae), vary with sex and mortality in populations. *Ecol. Evol.* 11, 2907–2918. <https://doi.org/10.1002/eece3.7250>.
- Nagayama, S., Kume, M., Oota, M., Mizushima, K., Mori, S., 2020. Common coypu predation on unionid mussels and terrestrial plants in an invaded Japanese river. *Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst.* 421, 37. <https://doi.org/10.1051/kmae/2020029>.
- Nakamura, K., Sousa, R., Mesquita-Joanes, F., 2023. Collapse of native freshwater mussel populations: prospects of a long-term study. *Biol. Conserv.* 279, 109931 <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2023.109931>.
- Nentwig, W., Bacher, S., Kumschick, S., Pyšek, P., Vilà, M., 2018. More than “100 worst” alien species in Europe. *Biol. Invasions* 20 (6), 1611–1621. <https://doi.org/10.1007/s10530-017-1651-6>.
- Newton, T.J., Zigler, S.J., Gray, B.R., 2015. Mortality, movement and behaviour of native mussels during a planned water-level drawdown in the upper Mississippi River. *Freshw. Biol.* 60 (1), 1–15. <https://doi.org/10.1111/fwb.12461>.
- Novais, A., Souza, A., Ilari, M., Pascoal, C., Sousa, R., 2015. Facilitation in the low intertidal: effects of an invasive species on the structure of an estuarine macrozoobenthic assemblage. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 522, 157–167. <https://doi.org/10.3354/meps11168>.
- Ollard, I., Aldridge, D.C., 2022. Declines in freshwater mussel density, size and productivity in the river Thames over the past half century. *J. Anim. Ecol.* 00, 1–12. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13835>.
- Piechocki, A., Szlauer-Lukaszewska, A., 2013. Molluscs of the middle and lower Odra: the role of the river in the expansion of alien species in Poland. *Folia Malacol.* 21 (2), 73–86.
- Pigneur, L.M., Etouadi, E., Aldridge, D.C., Marescaux, J., Yasuda, N., Van Doninck, K., 2014. Genetic uniformity and long-distance clonal dispersal in the invasive and androgenetic *Corbicula* clams. *Mol. Ecol.* 23 (20), 5102–5116. <https://doi.org/10.1111/mec.12912>.
- Poznańska-Kakareko, M., Wiśniewski, K., Szarmach, D., Witkowska, A., Kakareko, T., Jermacz, L., Kobak, J., 2021. Importance of substratum quality for potential competitive niche overlap between native and invasive unionid mussels in Europe. *Sci. Total Environ.* 799 (149345), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149345>.
- Prié, V., 2023. How was France invaded? 170 years of colonisation of metropolitan France by freshwater mussels. *Hydrobiologia* 1–15. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05274-8>.
- Schwalb, A.N., Pusch, M.T., 2007. Horizontal and vertical movements of unionid mussels in a lowland river. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 26 (2), 261–272.
- Smith, C., Reichard, M., Jurajda, P., Przybylski, M., 2004. The reproductive ecology of the European bitterling (*Rhodeus sericeus*). *J. Zool.* 262 (2), 107–124. <https://doi.org/10.1017/S0952836903004497>.
- Sousa, R., Guilhermino, L., Antunes, C., 2005. Molluscan fauna in the freshwater tidal area of the river Minho estuary, NW of Iberian Peninsula. *Ann. Limnol. Int. J. Limnol.* 41 (2), 141–147. <https://doi.org/10.1051/limn/2005009>.
- Sousa, R., Nogueira, J., Ferreira, A., Carvalho, F., Lopes-Lima, M., Varandas, S., Teixeira, A., 2019. A tale of shells and claws: the signal crayfish as a threat to the pearl mussel *Margaritifera margaritifera* in Europe. *Sci. Total Environ.* 665, 329–337. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.094>.
- Sousa, R., Rufino, M., Gaspar, M., Antunes, C., Guilhermino, L., 2008. Abiotic impacts on spatial and temporal distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the river Minho estuary. Portugal. *Aquat. Conserv.* 18 (1), 98–110. <https://doi.org/10.1002/aqc.838>.
- Sousa, R., Zając, T., Halabowski, D., Aksenova, O.V., Bespalaya, Y.V., Carvalho, F., Castro, P., Douda, K., Silva, J.P., Ferreira-Rodríguez, N., Geist, J., Gumpinger, C., Labecka, A.M., Lajtner, J., Lewin, I., Lopes-Lima, M., Meira, A., Nakamura, K., Nogueira, J.G., Ondina, P., Özgo, M., Reis, J., Riccardi, N., Shumka, S., Son, M.O., Teixeira, A., Thielen, F., Urbanska, M., Varandas, S., Wengström, N., Zając, K., Zieritz, A., Aldridge, D.C., 2023. A roadmap for the conservation of freshwater mussels in Europe. *Conserv. Biol.* 37, e13994 <https://doi.org/10.1111/cobi.13994>.
- Strayer, D.L., 1999. Effects of alien species on freshwater mollusks in North America. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 18 (1), 74–98. <https://doi.org/10.2307/1468010>.
- Strayer, D.L., 2010. Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. *Freshw. Biol.* 55, 152–174. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02380.x>.
- Szarmach, D., Wiśniewski, K., Kobak, J., Kakareko, T., Labecka, A.M., Sousa, R., Poznańska-Kakareko, M., 2023. Differences in substratum preferences and behaviour within the invasive *Corbicula* species complex. *Freshw. Biol.* 68 (9), 1489–1502. <https://doi.org/10.1111/fwb.14142>.
- Tallqvist, M., 2001. Burrowing behaviour of the Baltic clam *Macoma balthica*: effects of sediment type, hypoxia and predator presence. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 212, 183–191. <https://doi.org/10.3354/meps212183>.
- Vaughn, C.C., 2018. Ecosystem services provided by freshwater mussels. *Hydrobiologia* 810 (1), 15–27. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3139-x>.
- Vaughn, C.C., Hoellein, T.J., 2018. Bivalve impacts in freshwater and marine ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 49, 183–208. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062703>.
- Werner, S., Rothhaupt, K.O., 2007. Effects of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* on settling juveniles and other benthic taxa. *J. North. Am. Benthol. Soc.* 26 (4), 673–680. <https://doi.org/10.1899/07-017R.1>.
- Zając, K., 2014. Size-dependent predation by the otter *Lutra lutra* on swan mussels *Anodonta cygnea* (Linnaeus 1758)—observations and radiotelemetry experiment. *J. Conchol.* 41, 559–564.
- Zając, K., Zając, T., 2011. The role of active individual movement in habitat selection in the endangered freshwater mussel *Unio crassus* Philipsson 1788. *J. Conchol.* 40, 446–461.

Impact of habitat engineering by invasive *Corbicula* clams on native European unionid mussels

Szarmach D.^{1*}, Wiśniewski K.¹, Kobak J.¹, Lichocka K.¹, Jermacz Ł.², Kakareko T.²,
Sousa R.³, Poznańska-Kakareko M.¹

¹ Nicolaus Copernicus University in Toruń, Faculty of Biology and Veterinary Sciences,
Department of Invertebrate Zoology and Parasitology, Lwowska 1, 87-100, Toruń,
Poland

² Nicolaus Copernicus University in Toruń, Faculty of Biology and Veterinary Sciences,
Department of Ecology and Biogeography, Lwowska 1, 87-100, Toruń, Poland

³ CBMA - Centre of Molecular and Environmental Biology, Department of Biology,
University of Minho, Campus Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

* Corresponding author: e-mail: szarmach.daniel@doktorant.umk.pl

Table of contents

Table A.1. Water parameters in stocking and experimental tanks

Table A.2. Average length (mm) of *Unio tumidus*, *Anadonta anatina*, *Corbicula leana*, *Corbicula* sp. and shells of *Corbicula* complex

Fig. A.1. Shell morphology of *Unio tumidus* and *Anadonta anatina* used in the study

Fig. A.2. Shell morphology of *Corbicula leana* and *Corbicula* sp. used in the study

Fig. A.3. Locomotion time in various substrata by *Unio tumidus* and *Anadonta anatina* responding to *Corbicula* substratum modification in Experiment II. Asterisks indicate significant differences in mussel behaviour between a given treatment and the control treatment in the pure sand (Mann-Whitney tests with the sequential Bonferroni correction; See Table 2c for details). Red bars indicate substrata significantly avoided by mussels in favour of the pure sand control, whereas green bars show *Corbicula* densities that were non-avoided by mussels in Experiment I (see Fig. 2).

Fig. A.4. Percentage time spent at particular burrowing levels in various substrata by *Unio tumidus* and *Anadonta anatina* responding to *Corbicula* substratum modification in Experiment II.

Table A.1. Water parameters in stocking and experimental tanks

	Oxygen concentration (mg/l)	Oxygen concentration (%)	Temperature (°C)	pH	Conductivity (µS/cm)
a. Stocking tanks					
Mean	8.42	95.4	21.2	8.4	727
SD	0.14	1.7	0.5	0.1	51
Min	8.18	92.5	20.5	8.2	675
Max	8.65	98.2	21.9	8.6	868
b. Experiment I					
Mean	7.85	83.5	18.0	8.43	640
SD	0.64	6.7	0.6	0.06	16
Min	6.56	70.5	17.1	8.28	615
Max	8.78	91.9	18.9	8.54	674
c. Experiment II					
Mean	8.58	90.8	17.7	8.54	645
SD	0.81	8.3	0.7	0.10	18
Min	6.82	73.3	16.7	8.34	619
Max	9.23	99.6	18.9	8.66	680

SD – standard deviation

Table A.2. Average length (mm) of *Unio tumidus*, *Anadonta anatina*, *Corbicula leana*, *Corbicula* sp. and shells of *Corbicula* complex

Research material	Mean	SD	Min	Max
<i>Unio tumidus</i>	73	4	65	85
<i>Anadonta anatina</i>	74	5	65	85
<i>Corbicula leana</i>	17	1	15	20
<i>Corbicula</i> sp.	17	1	15	20
Shells of <i>Corbicula</i> complex	18	1	15	21

SD – standard deviation

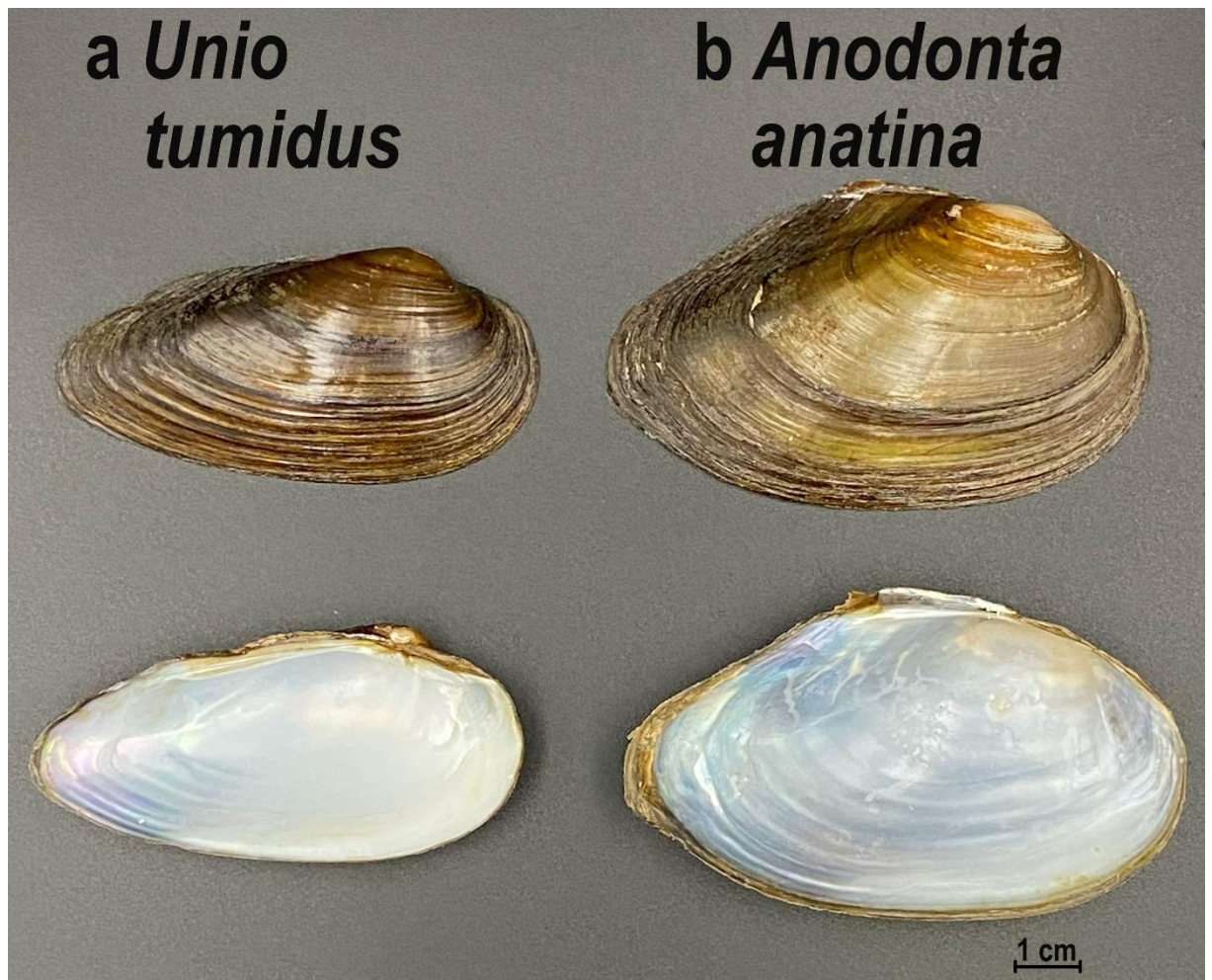


Fig. A.1. Shell morphology of *Unio tumidus* and *Anadonta anatina* used in the study

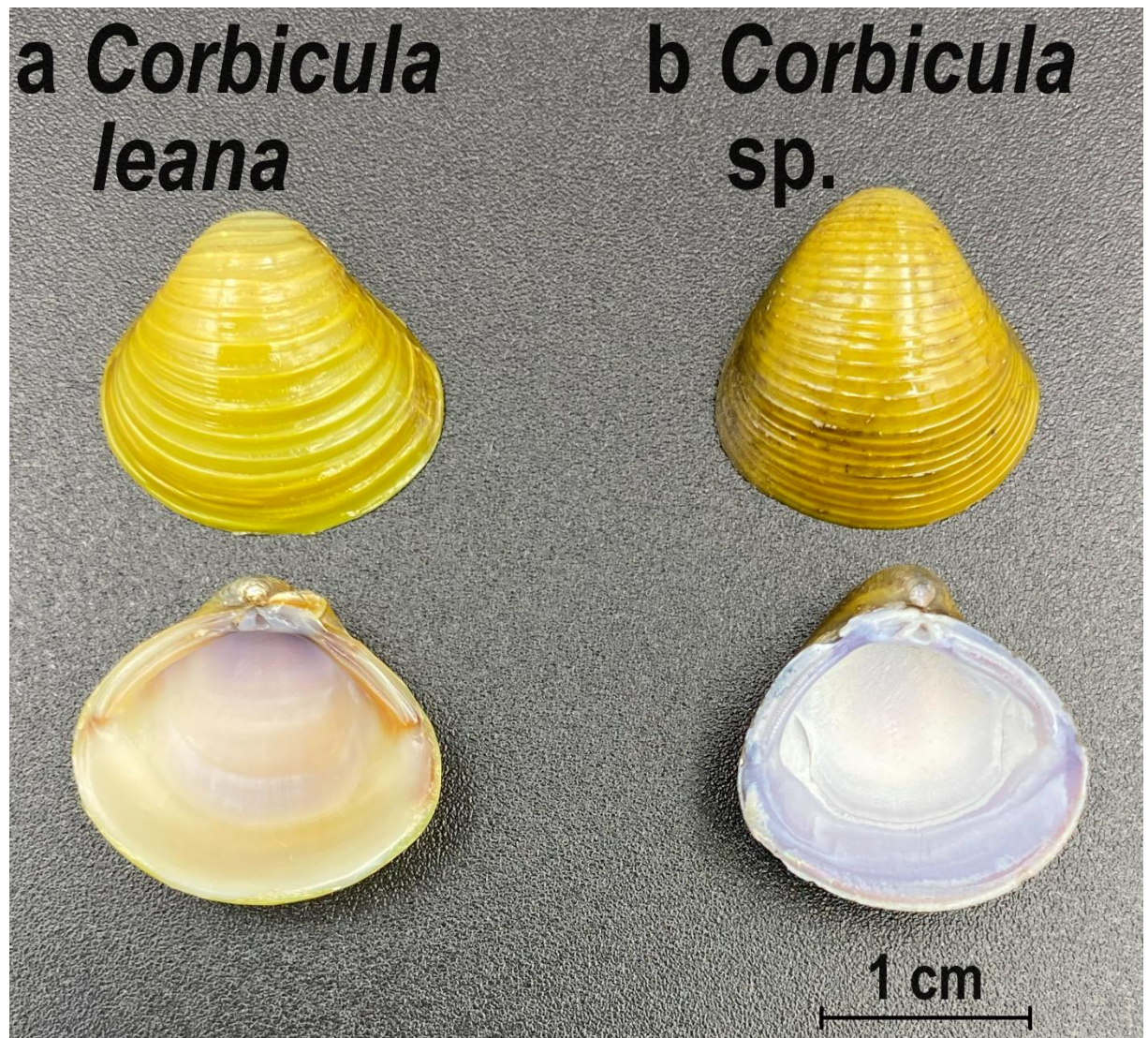


Fig. A.2. Shell morphology of *Corbicula leana* and *Corbicula* sp. used in the study

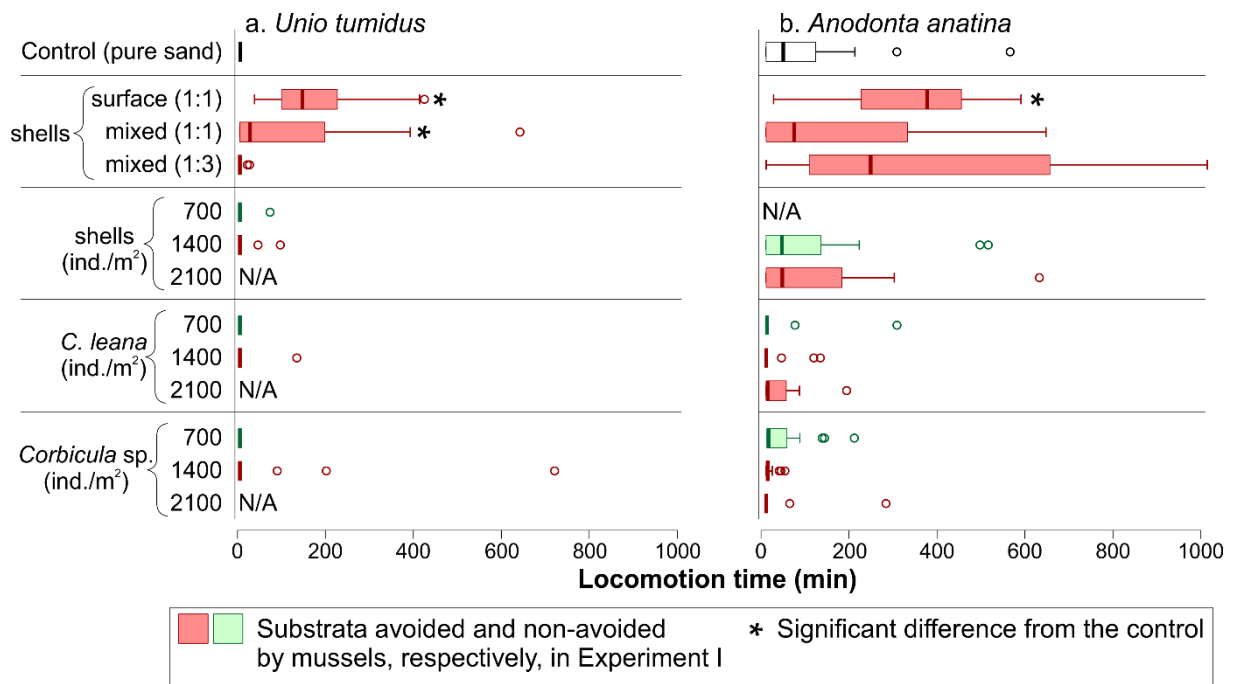


Fig. A.3. Locomotion time in various substrata by *Unio tumidus* and *Anodonta anatina* responding to *Corbicula* substratum modification in Experiment II. Asterisks indicate significant differences in mussel behaviour between a given treatment and the control treatment in the pure sand (Mann-Whitney tests with the sequential Bonferroni correction; See Table 2c for details). Red bars indicate substrata significantly avoided by mussels in favour of the pure sand control, whereas green bars show *Corbicula* densities that were non-avoided by mussels in Experiment I (see Fig. 2).

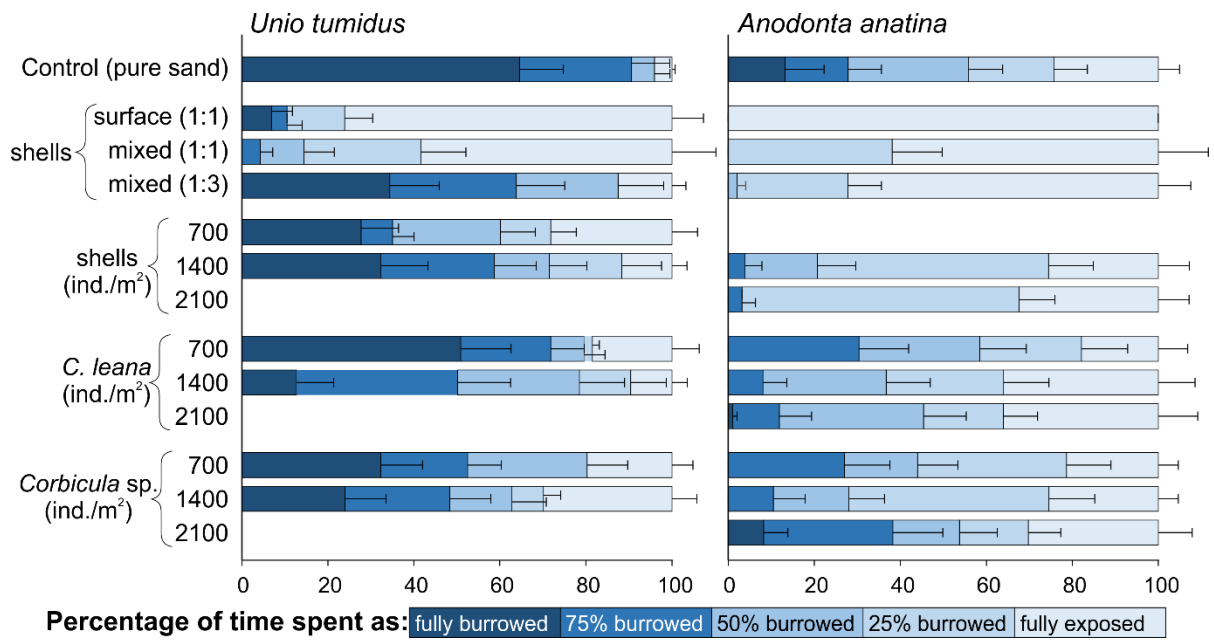


Fig. A.4. Percentage time spent at particular burrowing levels in various substrata by *Unio tumidus* and *Anodonta anatina* responding to *Corbicula* substratum modification in Experiment II.

7. Manuskrypt

Szarmach D, Wiśniewski K, Kobak J, Kletkiewicz H, Jermacz Ł, Kakareko T, Sousa R, Augustyniak M, Plichta Z, Lichocka K, Terebiński S, Poznańska-Kakareko M. (manuskrypt przygotowany do wysłania do czasopisma). Evaluating the long-term consequences of invasion by *Corbicula* clams for European unionid mussel communities.

Imię i nazwisko współautora	Udział [%]	Zakres wkładu w powstanie manuskryptu
mgr Daniel Szarmach	60	Koncepcja badań, opracowanie metodyki, zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentu, opracowanie wyników, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu; korekta manuskryptu
mgr Kamil Wiśniewski	6	Zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentu, korekta manuskryptu
prof. dr hab. Jarosław Kobak	6	Koncepcja badań, opracowanie metodyki, zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentu, analiza statystyczna wyników, opracowanie wyników, korekta manuskryptu
dr Hanna Kletkiewicz	5	Prowadzenie eksperymentu, korekta manuskryptu
dr hab. Łukasz Jermacz, prof. UMK	3	Koncepcja badań, zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentu
prof. dr hab. Tomasz Kakareko	3	Koncepcja badań, zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentu, korekta manuskryptu
prof. Ronaldo Sousa	2	Koncepcja badań, korekta manuskryptu
dr Mateusz Augustyniak	2	Zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentu, korekta manuskryptu
mgr Zuzanna Plichta	1	Prowadzenie eksperymentu, korekta manuskryptu
mgr Katarzyna Lichocka	1	Prowadzenie eksperymentu, korekta manuskryptu
mgr Sebastian Terebiński	1	Prowadzenie eksperymentu, korekta manuskryptu
dr hab. Małgorzata Poznańska-Kakareko, prof. UMK	10	Koncepcja badań, opracowanie metodyki, zarządzanie projektem, zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentu, korekta manuskryptu

Evaluating the long-term consequences of invasion by *Corbicula* clams for European unionid mussel communities

Daniel Szarmach^{1*}, Kamil Wiśniewski¹, Jarosław Kobak¹, Hanna Kletkiewicz², Łukasz Jermacz^{3†}, Tomasz Kakareko³, Ronaldo Sousa⁴, Mateusz Augustyniak³, Zuzanna Plichta¹, Katarzyna Lichocka¹, Sebastian Terebiński¹, Małgorzata Poznańska-Kakareko¹

¹ Nicolaus Copernicus University in Toruń, Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Department of Invertebrate Zoology and Parasitology, Lwowska 1, 87-100, Toruń, Poland

² Nicolaus Copernicus University in Toruń, Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Department of Animal Physiology and Neurobiology, Lwowska 1, 87-100 Toruń, Poland.

³ Nicolaus Copernicus University in Toruń, Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Department of Ecology and Biogeography, Lwowska 1, 87-100, Toruń, Poland

⁴ CBMA – Centre for Molecular and Environmental Biology/ARNET-Aquatic Research Network & IB-S, Institute of Science and Innovation for Bio-Sustainability, Department of Biology, University of Minho, 8 Campus Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

* Corresponding author: Daniel Szarmach, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Department of Invertebrate Zoology and Parasitology, Lwowska 1, 87-100 Toruń, Poland; e-mail: szarmach.daniel@umk.pl

† Deceased. The authors dedicate this work to the memory of Łukasz Jermacz.

26 **Keywords:** Unionidae, Asian clams, invasive species impact, oxidative stress, physical
27 condition, growth

28

29 **Abstract**

30

31 Biological invasions are a major component of global change, yet their sublethal
32 consequences for native freshwater bivalves remain poorly understood. Unionid mussels
33 are particularly vulnerable to environmental stressors because of their long-life span, low
34 mobility and complex life cycles, but the physiological mechanisms through which
35 invasive bivalves affect native unionids are still insufficiently resolved. We evaluated the
36 effects of five-month field exposure of two European unionids, *Anodonta anatina* and
37 *Unio tumidus*, to invasive *Corbicula* clams under low- and high-density treatments. We
38 assessed mortality, growth, physical condition, glycogen content and oxidative stress
39 biomarkers, including thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), total oxidant
40 status (TOS) and total antioxidant status (TAS). Unionids mortality remained low,
41 especially in *A. anatina*, whereas mortality of *Corbicula* was high. Responses of native
42 unionids were species-, tissue- and endpoint-specific. In *A. anatina*, high-density
43 treatment reduced growth, while treatments with *Corbicula* were associated with higher
44 width and weight increments than conspecific controls. Digestive-gland TOS and TBARS
45 levels were lower in the presence of *Corbicula*, whereas foot TBARS increased under
46 high-density conditions, indicating tissue-specific oxidative costs potentially linked to
47 sediment-mediated or behavioural stress. Glycogen content in *A. anatina* did not differ
48 among treatments, suggesting no strong energetic depletion. In contrast, *U. tumidus*
49 showed mostly neutral responses in growth, TOS and TBARS, although reduced TAS
50 and elevated glycogen in the high-density *Corbicula* treatment indicated a distinct

51 physiological response. These findings show that the impacts of *Corbicula* on native
52 unionids are not uniformly negative, but depend on species identity, tissue function and
53 are density dependent. Sublethal physiological responses may therefore reveal invasion
54 effects before mortality or population decline becomes evident. This provides critical
55 information for the development and implementation of effective conservation measures
56 for unionids, helping to prioritize management actions, and support the long-term
57 recovery and sustainability of their populations and habitats.

58

59 **1. Introduction**

60

61 Unionid mussels play a crucial role in freshwater ecosystems due to their ability to modify
62 habitats and influence ecosystem processes (Vaughn, 2018). Through intensive filtration,
63 they improve water clarity, enhance nutrient cycling, and stabilise benthic habitats
64 (Atkinson et al., 2017; Zieritz et al., 2022, 2025). They also create complex microhabitats
65 that promote biodiversity by influencing the structure and composition of
66 macroinvertebrate communities (Ollard et al., 2023). Their sensitivity to environmental
67 change and longevity make unionids valuable bioindicators of aquatic ecosystem health
68 (Buelow and Waltham, 2020; Ferreira-Rodriguez et al., 2023). In addition, unionids
69 exhibit life-history traits that make them particularly vulnerable to environmental
70 stressors, including late sexual maturity, low fecundity, and a parasitic larval stage, the
71 glochidium, which requires suitable fish hosts for successful development (Lopes-Lima
72 et al., 2017; Modesto et al., 2018; Rogers et al., 2023; de Moulpied et al., 2024).
73 Consequently, unionid populations often struggle to recover after disturbances
74 (Nakamura et al., 2023; Lopes-Lima et al., 2023; Rogers et al., 2023; de Moulpied et al.,
75 2024).

Unionids face numerous anthropogenic threats, including water pollution, habitat loss and fragmentation (Liu et al., 2023; Ollard and Aldridge, 2023; Rogers et al., 2023). More recently, the intensification of biological invasions has emerged as a major and growing concern (Tan et al., 2023). Non-native species may outcompete native species for resources and habitat, introduce novel pathogens, and alter environmental conditions, sometimes contributing to local population declines or extinctions (Prestes et al., 2024). The effects of invasions are particularly severe in freshwater ecosystems, which are characterised by high biodiversity and natural isolation (Ahmed et al., 2022).

Among non-native taxa, Asian clams from the *Corbicula* complex (Cyrenidae, Bivalvia) are particularly concerning because of their broad ecological tolerance, early maturity, high reproductive capacity, including self-fertilization reproduction, and rapid spread (Modesto et al., 2025b). *Corbicula* clams have rapidly expanded their range across Europe (Bodon et al., 2020), North America (Benson and Williams, 2021), South America (Leal et al., 2021; Hünicken et al., 2024), Africa (Clavero et al., 2012), and Australia (NSW DPI, 2025). Climate change, particularly rising water temperatures and altered hydrological regimes, may further facilitate the spread and establishment of *Corbicula* clams in suitable freshwater habitats (Crespo et al., 2015), thereby increasing their potential pressure on native species (Modesto et al., 2025a).

The impacts of *Corbicula* clams on native unionids may arise through several, non exclusive mechanisms. As efficient suspension feeders, *Corbicula* clams can compete with native unionids for suspended food resources, and modify seston quantity and quality (Ferreira-Rodríguez et al., 2018; Haag et al., 2021; Modesto et al., 2021). Further, through biodeposition of their shells, excretion, and sediment disturbance, they may also alter nutrient cycling, oxygen conditions, and the physical structure of benthic habitats (Chappell et al., 2019; Ilarri et al., 2018, 2019; Hopper et al., 2022; Szarmach et al., 2023,

2024). In addition, *Corbicula* clams may impair the survival of parasitic larvae (glochidia) of native freshwater unionids (Modesto et al., 2019). Such changes may affect native unionids at the sublethal level, including altered growth, energy allocation, burrowing behaviour, and oxidative balance (Fritts et al., 2015; Said & Nassar, 2022; Hillebrand et al., 2024; Modesto et al., 2025b; Szarmach et al., 2024) that in extreme cases can lead to an increased mortality.

Native unionids, including *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) and *Unio tumidus* Philippson, 1788 are increasingly threatened by ongoing environmental change. Both species are experiencing population declines in Europe, with *U. tumidus* currently classified as near threatened and *A. anatina* as vulnerable (Lopes-Lima and Prié, 2024a,b). Moreover, both are classified as threatened or endangered in several European countries, including Germany, Austria, Czechia, and Ireland (Lopes-Lima et al., 2017). Therefore, it is essential to understand the mechanisms underlying these declines, including the impacts of non-native species.

Despite the growing body of evidence that *Corbicula* clams may negatively affect unionid populations, their long-term physiological and ecological impacts remain poorly understood. To address this knowledge gap, the present study evaluates the long-term effects of invasion by *Corbicula* clams on European populations of *U. tumidus* and *A. anatina*. Specifically, we focus on growth, physical condition, including glycogen level, and oxidative stress (estimated using thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), total oxidant status (TOS), and total antioxidant status (TAS) as indicators). These indicators capture sublethal signs of environmental stress (Fritts et al., 2015; Said and Nassar, 2022; Hillebrand et al., 2024). By identifying species- and tissue-specific sublethal responses to invasive *Corbicula* clams, our findings may support the use of biochemical biomarkers as early-warning indicators in unionid monitoring, enabling

conservation actions before increased mortality or population decline becomes evident. Based on the expected overlap in habitat use and feeding mode between native unionids and invasive *Corbicula* clams, it was hypothesised that (1) the long-term presence of *Corbicula* clams would negatively affect native unionids by reducing their growth, physical condition, and energy reserves, while increasing mortality, oxidative stress and/or costs of its reduction. It was further predicted that (2) these effects would be strongest under high-density conditions, where resource competition and local environmental modification were expected to be more intense. Because unionid species may differ in their ecological traits, physiological tolerance, and ability to cope with invasive clams, (3) species-specific differences in responses were also expected between *A. anatina* and *U. tumidus*.

2. Materials and Methods

2.1. Bivalve collection and stocking

Bivalves were collected in June 2022 from the Włocławek Reservoir (52°21'57.2"N, 20°54'17.2"E), a large lowland dam reservoir located in the lower course of the Vistula River in central Poland. The reservoir has a strongly fluvial, channel-like character and a very short water retention time of approximately 4.5–5 days, which makes it function more as a run-of-river, super-rheolimnic, and well-oxygenated reservoir than as a typical lacustrine dam reservoir (Polak, 2004; Dembowska, 2009; Kentzer et al., 2010). It is considered a nutrient-rich/eutrophic system (Sigareva et al., 2011), inhabited by a rich benthic community (Poznańska et al., 2009).

Unionids (*U. tumidus* and *A. anatina*) were collected by professional divers from

151 a depth of 2-3m, where *Corbicula* clams are not present. *Corbicula* clams were collected
152 using a Surber net from the nearshore zone of the reservoir at depths ranging from 0.5 to
153 1.0m. The bivalves were transported to an air-conditioned laboratory in 10-litre plastic
154 bags filled with water from the collection site. The laboratory was maintained at a
155 constant air temperature of 20°C, with a controlled photoperiod of 12 hours light and 12
156 hours darkness. Stock tanks (240-l for Unionidae, 84-l for *Corbicula* clams) were
157 prepared two weeks in advance prior to the bivalve arrival to ensure optimal conditions.
158 All tanks were equipped with internal filters (pore size: 30 PPI), aeration systems, and
159 sandy substratum (mean diameter: 0.67mm, range: 0.20–1.40mm) matching the habitat
160 preferences of the bivalves tested (Poznańska-Kakareko et al., 2021; Szarmach et al.,
161 2023).

162 The bivalves were kept in the laboratory for one week before the experiment
163 began. During this period, they were fed twice a week with a suspension of crushed
164 *Chlorella* sp. tablets, a diet previously tested as suitable for bivalves. Water quality
165 parameters (dissolved oxygen, temperature, pH, and conductivity) were monitored once
166 a week (Appendix S1) with a multimeter Elmetron CX-461 (Poland).

167

168 2.2. Experimental preparation of bivalves

169

170 Collected unionids were gently dried on blotting paper, individually weighed using a
171 laboratory scale (accuracy: 0.01g) (RADWAG AS 310.R2 PLUS, Poland), and measured
172 with a digital caliper for shell length, height, and width both before the experiment
173 (Appendix S2). *Corbicula* clams were also dried and weighed before the experiment, and
174 their shell length was measured using photographs taken before the experiment and
175 ImageJ software (Appendix S2). After these measurements, each unionid was assigned a

176 unique numerical identifier and labelled with fast drying nail varnish, which allowed its
 177 biometric data to be tracked throughout the study. The mean individual wet biomass of
 178 the collected unionids was approximately 26g (SD 3.0g; range 20.2-38.8g) (Appendix
 179 S2). Based on the initial biomass measurements of *Corbicula* clams, we determined that
 180 one unionid individual had a mean wet biomass approximately equivalent to that of 38
 181 *Corbicula* clams. This information was used to establish four experimental treatments,
 182 which were applied separately to *U. tumidus* and *A. anatina*:
 183 I. Low density control treatment: 4 unionids (total biomass: 104g, SD 3.7g, 65 ind. m⁻²).
 184 II. Low density treatment with *Corbicula* clams: 3 unionids (78g, SD 2.1g, 49 ind. m⁻²)
 185 with 38 *Corbicula* clams (26g, 500 ind. m⁻²), i.e. 1 unionid individual replaced with the
 186 equivalent mass of *Corbicula* clams (total biomass: 104g).
 187 III. High density control treatment: 8 unionids (total biomass: 208g, SD 4.4g, 130 ind.
 188 m⁻²).
 189 IV. High density treatment with *Corbicula* clams: 4 unionids (104g, SD 3.0g, 65 ind. m⁻²)
 190 with 150 *Corbicula* clams (104g, 2000 ind. m⁻²), i.e. 4 unionid individuals replaced with
 191 the equivalent mass of *Corbicula* clams (total biomass: 208g).
 192 The individuals were assembled so that the total biomasses of species in each replicate
 193 matched the values stated above. This setup allowed us to check the potential effects of
 194 *Corbicula* clams on unionid unionids assuming the constant total bivalve biomass (i.e.
 195 comparing the impact of conspecifics to that of *Corbicula*: treatment I vs II and III vs IV),
 196 as well as the effect of addition of *Corbicula* clams to a given biomass of unionids
 197 (treatment I vs IV). Each treatment was replicated 15 times for each native unionid
 198 species.
 199 The experimental densities of unionids were within the range reported from
 200 natural populations, in which densities of up to 138.7 ind. m⁻² and local densities of 22–

201 289 ind. m⁻² have been recorded (Weber, 2005; Schwalb and Pusch, 2007). The densities
202 of *Corbicula* clams used in the study also reflected values recorded in European
203 populations, where the clams may occur at densities from several hundred to more than
204 2000 ind. m⁻² (Sousa et al., 2007, 2008; Lois, 2010; Hubenov et al., 2013).

205

206 2.3. Experimental setup

207

208 10-litre plastic cages (bottom diameter: 28 cm; height: 25 cm) filled with a 10 cm layer
209 of sand were used as mesocosms to expose bivalves in the above-listed treatments in the
210 natural environment. Three holes were cut above the sand level around the circumference
211 of each cage, each measuring 22 cm in length and 9 cm in height, with 5 cm gaps between
212 the holes along the cage circumference. The holes were covered with mesh (mesh size:
213 0.5 × 0.5 cm) to allow free water flow through the cages. The cages were placed at a depth
214 of 1.5m in the nearshore zone of the Włocławek Reservoir, between the unionid and
215 *Corbicula* clam collection sites, and secured using 2-m steel rods, with 1m immersed into
216 the sediments to stabilise the experimental setup and prevent displacement by
217 hydrodynamical forces. In total, the experiment involved 120 experimental cages
218 (replicates). Experimental treatments were randomly assigned to cages, and the spatial
219 distribution of cages in the field was randomized to minimize potential bias related to
220 local environmental heterogeneity. The cages remained submerged for 5 months from
221 July to the end of November 2022. Abiotic water parameters were measured at least once
222 a month (Appendix S1).

223

224 2.4. Sample collection and bivalve processing

225

226 At the end of November 2022, all experimental treatments were collected. Three unionid
227 individuals were collected from each cage (replicate) and transported to the laboratory for
228 further biometric and biochemical measurements. The remaining native unionids were
229 immediately released back into their original habitat. All *Corbicula* individuals were
230 collected, transported to the laboratory and euthanised.

231

232 2.5 Mortality

233

234 In the field, before releasing the remaining unionids, alive individuals were counted in
235 each cage (replicate). Mortality was calculated as the percentage of dead individuals
236 relative to the initial number introduced into each cage. Bivalves were considered alive if
237 they responded to mechanical stimulation (gentle probing of the foot or mantle), exhibited
238 normal valve closure behaviour, or showed movement of the foot. Individuals that did not
239 respond or remained open with exposed soft tissues were classified as dead.

240

241 2.6. Biometric measurements

242

243 The three labelled unionid individuals from each replicate were weighed and measured
244 using the same procedure as before the field exposure. Moreover, the soft tissue of one
245 individual randomly selected from these three was carefully dissected and dried at 60°C
246 for 48 hours to obtain the dry mass.

247

248 2.7. Physiological parameters

249

250 Two labelled unionids from each cage were used for physiological parameter analysis.

Each individual was placed on ice, and the adductor muscles were carefully cut to open the bivalve shell. The entire foot and digestive gland were dissected from each unionid. The digestive gland was selected because it plays an essential role in metabolism, nutrient storage, and detoxification processes, making it highly sensitive to environmental stress and oxidative damage (Canli et al., 2023). The foot was chosen as a representative muscular tissue due to its direct exposure to environmental factors and involvement in locomotion and burrowing, which may reflect overall physiological stress (Fritts et al., 2015). After dissection, each organ was separated and washed in phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) to remove impurities and then blotted dry with filter paper. The organs were weighed using a laboratory scale (accuracy: 0.0001g) and immediately snap-frozen in liquid nitrogen. The samples were stored at -80°C until further analysis.

For physiological parameter measurements, the entire frozen organ was homogenised in PBS at a ratio of 1 ml of PBS per 100 mg of tissue. Homogenisation was performed on ice using an ultrasonic homogenizer (Sonics Vibra-Cell; Sonics & Materials, Inc., USA) to prevent oxidative damage. After homogenization, an aliquot of the crude homogenate was retained for the TBARS assay. The remaining homogenate was centrifuged at $10,000 \times g$ for 10 min at 4°C , and the resulting supernatant was collected for subsequent assays.

2.7.1. Lipid peroxidation (TBARS Assay)

Lipid peroxidation was assessed as a proxy of oxidative stress experienced by unionids. The assay involves the reaction of lipid peroxidation products, primarily malondialdehyde (MDA), with thiobarbituric acid (TBA), resulting in the formation of MDA-TBA adducts, which are measured collectively as TBARS. In this study, TBARS

276 levels were measured in the foot and digestive gland of each unionid using a modified
277 method based on Kovachich and Mishra (1980), with the following modifications.

278 The assay was performed using tissue homogenates prepared as described above.
279 Standard solutions were prepared by dissolving 1,1,3,3-tetramethoxypropane in ethanol
280 to obtain MDA standard concentrations ranging from 1.25 to 30 μ M. For the assay, an
281 aliquot of the crude tissue homogenate or standard solution was mixed with equal
282 volumes of 0.37% thiobarbituric acid (TBA) in 25mM HCl and 15% (w/v) trichloroacetic
283 acid (TCA) in 25mM HCl, maintaining a 1:1:1 ratio. The mixture was incubated at 95°C
284 for 15 min in a dry block thermostat Bio TD-100 (Biosan, Latvia), and then immediately
285 cooled on ice for 10 min. The samples were centrifuged at 1,500 rpm for 5 min at 4°C,
286 and the supernatant was collected for absorbance measurement. Aliquots of each sample
287 were pipetted in duplicate into a 96-well microplate, and absorbance was measured at 532
288 nm using a multimode microplate reader Epoch 2 (BioTek Instruments, Inc., USA).
289 TBARS levels were calculated from the MDA standard curve and expressed as
290 nanomoles of MDA equivalents per milligram of tissue (nmol MDA Eq./mg tissue) for
291 both the foot and the digestive gland.

292

293 2.7.2. Oxidative and antioxidant status (TOS and TAS Assays)

294

295 The oxidative and antioxidant status of digestive glands were assessed by determining
296 Total Oxidant Status (TOS) and Total Antioxidant Status (TAS) according to the methods
297 described by Erel (2005), using commercial assay kits (Rel Assay Diagnostics, Turkey).
298 These parameters provide a comprehensive view of the redox balance in the digestive
299 glands. Elevated TOS levels indicate an increased oxidative load, while TAS reflects the
300 overall antioxidant capacity of the tissue (Canli et al., 2023).

301 For the TOS assay, an aliquot of the supernatant was used. The method is based
302 on the oxidation of ferrous ions by oxidants in the sample, resulting in the formation of
303 ferric ions, which then form a coloured complex with a chromogenic substrate. The color
304 intensity is proportional to the total amount of oxidant molecules present in the sample.
305 Each sample was measured in duplicate. Colorimetric changes in the assay were detected
306 using a multimode microplate reader Epoch 2 (BioTek Instruments, Inc., USA) at 530
307 nm. The method was calibrated with hydrogen peroxide (H₂O₂). Results are expressed in
308 terms of micromolar hydrogen peroxide equivalent per liter of tissue supernatant (μmol
309 H₂O₂ Eq./L tissue supernatant).

310 For the TAS assay, 200 μl of the tissue homogenate was also used. The assay
311 quantifies antioxidants by measuring their ability to reduce dark blue-green-coloured 2,2'-
312 azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical cations to a colourless
313 form. The degree of decolourisation is proportional to the total antioxidant capacity of the
314 sample. Each sample was measured in duplicate. Colorimetric changes in the TAS assay
315 were detected using a multimode microplate reader Epoch 2 (BioTek Instruments, Inc.,
316 USA) at 660 nm. The method was calibrated with Trolox. Results are expressed as
317 millimolar Trolox equivalents per liter of tissue supernatant (mmol Trolox Eq./L tissue
318 supernatant).

319

320 2.7.3. Glycogen content

321

322 Glycogen content was measured in the foot tissue of unionids using the Glycogen Assay
323 Kit (MAK016, Sigma-Aldrich, USA) to assess energy reserves. Glycogen serves as the
324 primary storage form of glucose in animal tissues and is a reliable indicator of the
325 metabolic condition of an organism.

Foot tissue homogenates were boiled for 10 min to inactivate endogenous enzymes and then centrifuged at $18,000 \times g$ for 10 min at 4°C. An aliquot of the resulting supernatant (50 µL) was used for the assay. The enzymatic reaction was initiated by adding 50 µL of the glycogen detection reagent provided in the kit, and the mixture was incubated at room temperature for 30 min. Absorbance was measured at 570 nm using a microplate reader. Glycogen levels were expressed as micrograms of glycogen per microlitre of tissue supernatant (µg glycogen/µL tissue supernatant).

2.5. Data analysis

We analysed mortality of unionids and *Corbicula* clams with Generalized General Mixed Models (binomial distribution, logit link function) including *Corbicula* presence (only for unionid mortality), unionids species (*A. anatina* and *U. tumidus*) and density (low, high) as fixed factors, and cage as a random factor.

To analyse unionid growth, we calculated individual increments in their wet weight, length, width, and height (as percentages of initial values). We analysed these parameters for each unionid species separately with General Linear Mixed Models including *Corbicula* presence and density as fixed factors, and cage as a random factor.

We used dry unionid weight to estimate physical condition of unionids, to reduce the bias introduced by the presence of water in the mantle cavity. General Linear Mixed Models, separate for each unionid species, included soft tissue dry weight as a dependent variable, *Corbicula* presence and density as fixed factors, unionid size as a covariate, and cage as a random factor. Size covariate was calculated as a cubit root of a product of unionid length, width, and height, thus being a joint measure of their growth in all linear dimensions. Unionid dry weight and size were log-transformed to linearize their

allometric power relationship. We assumed that, for unionids of the same linear dimensions, the higher dry weight would indicate better physical condition.

We analysed biochemical parameters in unionid tissues (TBARS in digestive gland and in foot, TOS and TAS in digestive gland, glycogen in foot) for each unionid species separately with General Linear Mixed Models including *Corbicula* presence and density as fixed factors, and cage as a random factor.

Moreover, we assumed that the biochemical parameters could be related to each other. To check this, we re-analysed TBARS in digestive gland including TAS and TOS as covariates (as the levels of oxidants and antioxidants are likely to interact to shape the final level of oxidative stress effects). We also re-analysed TOS including TAS as a covariate to check if the level of oxidants is related to the amount of antioxidants in the body.

All the models initially included all interactions of fixed factors and covariates. Then, we simplified the models by removing non-significant interactions of the highest order. For fixed effects with more than two levels, we applied pairwise contrasts to check significant differences between particular groups. For *Corbicula* presence * density interactions, we compared *Corbicula* present vs. absent treatments for each density, as well as low vs. high density for each *Corbicula* treatment. Additionally, we compared unionids kept at high density with *Corbicula* vs those kept at low density without *Corbicula*. These treatments included the same numbers of unionids and differed from each other in the presence/absence of additional *Corbicula* individuals.

We dealt with significant interactions involving covariates and categorical factors in the following way: (i) first, we checked slope significances (regression coefficient $B=0$) for each level of the categorical factor (we skipped this step for size vs weight relationships, as their occurrence is obvious); (ii) then, we compared significant slopes

376 between various levels of the categorical factor (B1=B2); (iii) finally, for parallel and
377 non-significant slopes, we applied pairwise contrasts to check differences between the
378 means for particular levels of the categorical factor.

379 If more than one covariate were involved in an interaction (see the TBARS
380 analysis), we run partial models for each level of the categorical factor included in the
381 interaction to check relationships between the covariates (viz.: TOS and TAS) in each
382 group.

383 All analyses were performed using SPSS 29.0 (IBM Corporation).

384

385 **3. Results**

386

387 **3.1. Mortality**

388

389 A higher mortality rate was recorded in *U. tumidus* (12% of mortality) compared to *A.*
390 *anatina* (3%) (Appendix S3A & S4A). Neither *Corbicula* presence nor bivalve density
391 affected unionid mortality (Appendix S4A). *Corbicula* clams exhibited higher mortality
392 in the treatments with *A. anatina* (76%) than in those with *U. tumidus* (54%) (Appendix
393 S3B & S4B), and in the high vs low density treatment (67% and 58%, respectively)
394 (Appendix S3B & S4B).

395

396 **3.2. Growth rate**

397

398 Shell length increases in *A. anatina* depended on the effect of general bivalve density, but
399 not on the presence of *Corbicula* (Table 1A). *Anodonta anatina* exhibited a greater
400 increase in shell length under low-density treatments compared to high-density treatments

401 (Fig. 1A, Table 1A). No difference in length increase of *U. tumidus* was observed between
402 the treatments (Fig. 1B, Table 1A).

403 Shell width increase of *A. anatina* depended on the general bivalve density and
404 *Corbicula* presence (Fig. 1C, Table 1B). Higher increases in width of *A. anatina* were
405 observed in the treatments with *Corbicula* clams than in the control treatments of the
406 same density, as well as in the low-density vs high-density treatments (Fig. 1C, Table
407 1B). No effect of the *Corbicula* presence was observed when the clams were added to a
408 constant *A. anatina* density (low density control vs high density *Corbicula* treatment)
409 (Fig. 1C, Table 1B). No difference in shell width increase of *U. tumidus* was observed
410 between the treatments (Fig. 1D, Table 1B).

411 No difference in shell height increase of *A. anatina* and *U. tumidus* was observed
412 between the treatments (Fig. 1E,F, Table 1C).

413 Wet weight increase of *A. anatina* depended on the general bivalve density and
414 *Corbicula* presence (Fig. 1G, Table 1D). The higher weight increase was observed in
415 treatments with *Corbicula* clams compared to controls of the same general density, as
416 well as in the low-density vs high-density treatments (Fig. 1G, Table 1D). No effect of
417 the addition of *Corbicula* clams to a constant unionid density was observed when
418 comparing the low-density control with the high-density *Corbicula* treatment (Fig. 1G,
419 Table 1D).

420 No difference in weight increase of *U. tumidus* was observed between the
421 treatments (Fig. 1H, Table 1D).

422

423 3.3. Lipid peroxidation (TBARS Assay)

424

425 3.3.1. Foot

426

427 TBARS level in *A. anatina* foot depended on a bivalve density**Corbicula* presence
428 interaction (Table 2A). TBARS level was higher under high-density compared to low-
429 density treatments (Fig. 2A, Appendix S5A). Moreover, TBARS level was higher in the
430 presence of *Corbicula* clams relative to the control in the high density, but not in the low
431 density treatment (Fig. 2A, Appendix S5A). Finally, when *Corbicula* clams were added
432 to a constant unionid density, the TBARS level in *A. anatina* increased (Fig. 2A,
433 Appendix S5A).

434 *Unio tumidus* showed reduced TBARS level under the high-density compared to
435 low-density treatment (Fig. 2B, Table 2A, Appendix S5A). When *Corbicula* clams were
436 added to a constant unionid density, the TBARS level in *U. tumidus* decreased (Fig. 2B,
437 Appendix S5A).

438

439 3.3.2. Digestive gland

440

441 TBARS level in the digestive gland of *A. anatina* depended on a significant bivalve
442 density**Corbicula* presence interaction (Table 2B). TBARS level was lower in the
443 presence of *Corbicula* clams compared to the controls (Fig. 2C, Appendix S5B). Within
444 the controls, a higher TBARS level was observed under the low vs high density conditions
445 (Fig. 2C, Appendix S5B). The addition of *Corbicula* clams to a constant unionid density
446 reduced the TBARS level (Fig. 2C, Appendix S5B). Moreover, TBARS level in *A.*
447 *anatina* was positively correlated with TOS, but not with TAS, irrespective of treatment
448 (Fig. 3A,B, Table 3A).

449 No treatment-related differences in TBARS level were observed in *U. tumidus*
450 (Fig. 2D, Table 2B). The model including relationships between various biochemical

parameters revealed a significant effect of a 3-way interaction *Corbicula* presence*TOS*TAS on TBARS level (Table 3A, Appendix S6A,B). In the control treatment, the TBARS level was high either under conditions of high TOS combined with low TAS, or under low TOS combined with high TAS, but not when both these parameters were either low or high (Fig. 3C, Appendix S6B). No relationships between TOS, TAS, and TBARS in *U. tumidus* were significant in the presence of *Corbicula* clams (Fig. 3C, Appendix S6A).

3.4. Total Oxidant Status (TOS Assays) and Total Antioxidant Status (TAS Assays; digestive gland)

TOS level in *A. anatina* depended on general bivalve density and *Corbicula* presence (Table 2C). TOS was markedly lower in the treatments with *Corbicula* clams than in the controls of the same general density, as well as under low-density vs high-density conditions (Fig. 2E, Appendix S5c). The addition of *Corbicula* clams to the constant *A. anatina* density further reduced TOS (Fig. 2E, Appendix S5C).

TAS level in *A. anatina* depended on a bivalve density**Corbicula* presence interaction (Table 2D). TAS was higher in the high-density than in low-density treatments, as well as in the presence of *Corbicula* clams compared to the control under low, but not in high density conditions (Fig. 2G, Appendix S7D). Moreover, the addition of *Corbicula* clams to a fixed number of unionids increased TAS in *A. anatina* (Fig. 2G, Appendix S5D). Additionally, TAS and TOS levels were positively correlated under the low-density control condition, but not in the other treatments, as indicated by a significant bivalve density**Corbicula* presence*TAS interaction (Table 3B, Appendix S7).

For *U. tumidus*, no treatment-related differences in TOS were detected (Fig. 2F,

Table 2C). TAS level in *U. tumidus* depended on a bivalve density**Corbicula* presence interaction (Fig. 2H, Table 2D, Appendix S5D): TAS was reduced in the high-density treatment with *Corbicula* clams relative to all other treatments (Fig. 2H, Appendix S5D).

3.5. Physical condition

No treatment-related differences in glycogen content were detected in *A. anatina* (Fig. 2I, Table 2E). Glycogen content in *U. tumidus* depended on a bivalve density**Corbicula* presence interaction (Fig. 2J, Table 2E). Glycogen level was elevated in the high-density *Corbicula* treatment compared to all other treatments (Fig. 2J, Appendix S5e).

Soft tissue dry mass of *A. anatina* depended on a 3-way interaction bivalve density**Corbicula* presence*unionid size (Appendix S8A). The slope for the high-density control treatment was less steep than those for the other treatments (Fig. 4A, Appendix S9). This indicates that smaller individuals kept in the high density without *Corbicula* clams exhibited higher soft tissue weight, whereas larger individuals from the same treatment showed lower soft tissue weight compared to the remaining treatments (Fig. 4A, Appendix S9). In *U. tumidus*, no effects of treatments on the relationship between unionid size and soft tissue dry weight were detected (Fig. 4B, Appendix S8B).

4. Discussion

The present study shows that the effects of long-term exposure of native unionids to *Corbicula* clams were not uniform and cannot be interpreted as a simple negative impact of the invader.

The low mortality of native unionids, especially *A. anatina*, indicates that the presence of *Corbicula* clams and the experimental conditions did not produce strong

501 lethal effects, and follow similar results as reported by Ferreira-Rodriguez et al. (2018)
502 for *Unio delphinus* in the Iberian Peninsula. Unionid responses to stressors appear first at
503 sublethal levels, including changes in growth, oxidative balance, and energy reserves,
504 before mortality occurs (Fritts et al., 2015; Said and Nassar, 2022; Hillebrand et al., 2024).
505 In contrast, mortality of *Corbicula* clams was high, particularly in treatments with *A.*
506 *anatina* and under high-density conditions, suggesting that the invasive clams themselves
507 experienced substantial stress. Such mortality may have reduced the intensity of direct
508 competition, but could have also altered local conditions through shell deposition,
509 decomposition, oxygen use, and ammonia production (Szarmach et al., 2024). However,
510 this did not affect unionid mortality in our experimental setup. Similar observations were
511 reported by Modesto et al. (2025b), who found no changes in unionid mortality during
512 field exposure to simulated *Corbicula* die-offs. For unionids, the presence of *Corbicula*
513 clams was associated with mixed, species- and tissue-specific responses rather than
514 uniformly negative or uniformly favourable effects. Some parameters suggested sublethal
515 costs, whereas others were neutral or apparently more favourable in treatments with
516 *Corbicula* than in conspecific controls. Positive effects were associated with favourable
517 responses, including changes in growth rate and oxidative stress in digestive gland,
518 glycogen content and physical condition. Thus, the observed responses cannot be
519 attributed to the reduced density of *Corbicula* clams during the exposure.

520 In the present study, shell length of *A. anatina* increased more under low-density
521 than under high-density conditions, whereas increments in shell width and body weight
522 were higher in treatments with *Corbicula* clams than in treatments with conspecific
523 unionids. However, the absence of such an effect when *Corbicula* was added while
524 maintaining a constant unionid density suggests that this apparent positive response was
525 not necessarily driven by facilitation by the invader, but may instead reflect reduced

526 intraspecific pressure from conspecific unionids.

527 Density dependent effects are generally expected in suspension-feeding bivalves,
528 as individuals may compete for suspended food particles, space, and favourable sediment
529 microhabitats (Ferreira-Rodríguez et al., 2018; Vaughn, 2018). In contrast, previous field
530 and experimental studies have shown that increasing *Corbicula* abundance can reduce
531 freshwater unionid growth and physiological condition, as well as increase locomotor
532 activity in *Unio delphinus* (Spengler, 1793) (Ferreira-Rodríguez et al., 2018). These
533 contrasting results may partly reflect differences in environmental conditions. The
534 experiment by Ferreira-Rodríguez et al. (2018) was conducted under lotic conditions in a
535 large river, whereas the present study was carried out in a highly productive, eutrophic
536 reservoir, where high food availability may have weakened trophic competition between
537 *Corbicula* and unionids.

538 The relationship between unionid size and soft tissue dry mass in *A. anatina*
539 differed mainly in the high-density control treatment. In this treatment, smaller
540 individuals exhibited relatively higher soft tissue dry mass, whereas larger individuals
541 showed relatively lower soft tissue dry mass compared to the remaining treatments. This
542 indicates the flattening of the size–condition relationship under high conspecific density,
543 rather than a simple positive or negative effect of *Corbicula* presence. For larger *A.*
544 *anatina*, this pattern may suggest that high conspecific density imposed stronger
545 constraints than the presence of *Corbicula*, possibly through crowding or spatial
546 interference among unionids. The opposite pattern in smaller individuals may indicate
547 that high conspecific density modified the local substratum in a way that was less
548 detrimental, or even temporarily favourable, for smaller unionids. However, because
549 individual position, burrowing depth and behaviour were not monitored, the mechanism
550 behind this size-dependent pattern remains unclear and should be assessed in future

551 studies.

552 The oxidative stress results for *A. anatina* reveal a clear tissue-specific pattern.
553 Lipid peroxidation (TBARS) in the foot were elevated under high-density conditions and
554 reached their highest values in the high-density treatment with *Corbicula*. Because the
555 foot is involved in burrowing, locomotion, positioning, and direct contact with the
556 substrata, it may be particularly sensitive to habitat modification (Fritts et al., 2015; Canli
557 et al., 2023; Szarmach et al., 2024). This mechanism is supported by evidence that
558 substratum modification by living *Corbicula* clams and their shells reduces substratum
559 suitability for native unionids: *A. anatina* exhibited impaired burrowing and locomotion
560 in the substratum with *Corbicula* (Szarmach et al., 2024). Moreover, increasing
561 intraspecific density may similarly modify local habitat conditions, producing in our
562 study effects comparable to those caused by *Corbicula* clams. Thus, elevated oxidative
563 stress in the foot of *A. anatina* may indicate the physiological cost of maintaining position,
564 burrowing, or responding to altered sediment conditions. This explanation is further
565 supported by shell growth results, which showed reduced increments with increasing
566 density. Therefore, *A. anatina* may have reallocated energy from shell growth towards
567 coping with, or avoiding, unfavourable habitat conditions. Similar effects of invasive
568 *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) on habitat selection and behaviour of European
569 unionids were shown by Wiśniewski et al. (2024).

570 In contrast, oxidative status (TOS) and lipid peroxidation (TBARS) in the
571 digestive gland of *A. anatina* were lower in treatments with *Corbicula* than in the controls.
572 These results do not support the simple expectation that *Corbicula* increases oxidative
573 stress in the digestive gland, resulting in their negative impact on native unionids. The
574 positive relationship between oxidative status (TOS) and lipid peroxidation (TBARS)
575 supports the biological link between oxidative load and lipid peroxidation (Said and

576 Nassar, 2022; Canli et al., 2023). However, the lower oxidative status (TOS) and lipid
577 peroxidation (TBARS) levels in the presence of *Corbicula* suggest that the digestive
578 gland was not the main tissue experiencing stress caused by the invader. This effect can
579 be accounted for the high food availability in the eutrophic Włocławek Reservoir
580 (Kentzer et al., 2010). Under such conditions, unionids likely had sufficient food
581 resources and therefore did not strongly compete for food. Instead, competition was
582 probably more related to living space and substratum use, which is supported by the
583 higher oxidative stress (TBARS level) in the foot with increasing density.

584 Antioxidant status (TAS) of *A. anatina* was higher in the high-density treatments
585 than in the low-density treatments and increased in the presence of *Corbicula*. This may
586 suggest that *A. anatina* increased its defensive or compensatory response to higher density
587 and the presence of *Corbicula*. However, the lack of treatment-related differences in
588 glycogen content suggests that this response was not associated with detectable depletion
589 of energy reserves, which are required for maintenance, growth, reproduction and stress
590 responses (Fritts et al., 2015; Said and Nassar, 2022; Hillebrand et al., 2024). Thus,
591 neither intraspecific competition nor interactions with *Corbicula* appeared to be strong
592 enough to produce detectable changes in foot glycogen levels in *A. anatina*, indicating
593 that energy reserves were maintained across treatments, including higher-density and
594 mixed-species conditions.

595 The response of *U. tumidus* was different than that of *A. anatina*. Growth did not
596 differ between the treatments and was generally very low. The relatively low shell growth
597 of *U. tumidus* may partly reflect species-specific growth dynamics. Previous comparative
598 data showed that *U. tumidus* can exhibit lower length-at-age and a lower von Bertalanffy
599 growth constant than *A. anatina*, indicating a slower approach to asymptotic shell size
600 (Lundquist et al., 2019). However, this pattern appears to be population- and/or habitat-

601 dependent, as recent data from Finland reported very similar growth constants for *A.*
602 *anatina* and *U. tumidus* (Abdelsaleheen et al., 2024).

603 Lipid peroxidation (TBARS) in *U. tumidus* foot decreased with increasing general
604 density and was further reduced by the addition of *Corbicula*. This pattern may indicate
605 that, under higher-density conditions and in the presence of the invader, *U. tumidus*
606 reduced its locomotor activity as a protective or stress-avoidance strategy, allowing
607 individuals to persist until habitat conditions improved. Such a response suggests a
608 different strategy from that observed in *A. anatina*. Unionids can adopt different
609 behavioural strategies under unfavourable habitat conditions, including horizontal
610 movement to avoid unsuitable areas, vertical burrowing, reduced activity, or remaining
611 buried as a form of stress avoidance (Gough et al., 2012; Archambault et al., 2014;
612 Galbraith et al., 2015). This interpretation of reduced foot lipid peroxidation (TBARS) in
613 *U. tumidus* as a possible signal of reduced locomotor activity under higher-density
614 conditions and after the addition of *Corbicula* contrasts with the short-term behavioural
615 patterns reported by Szarmach et al. (2024), who showed that substratum modification by
616 living *Corbicula* and their shells altered unionid habitat choice and behaviour, with *U.*
617 *tumidus* increasing locomotion on sand modified by *Corbicula* shells. This discrepancy
618 may reflect differences between short-term avoidance responses and long-term exposure.
619 During short-term exposure, *U. tumidus* may actively search for a more suitable
620 microhabitat, whereas during long-term exposure, prolonged searching may become
621 energetically inefficient, leading to reduced locomotion and a more conservative strategy.
622 Thus, while *A. anatina* may have responded to altered substratum conditions by
623 maintaining activity and reallocating energy from growth, *U. tumidus* may have adopted
624 a different long-term strategy based on reduced movement and stress avoidance.

625 The lack of treatment-related differences in oxidative status (TOS) in *U. tumidus*

626 suggests that oxidative status remained relatively stable across treatments. Nevertheless,
627 antioxidant status (TAS) was lower in the high-density treatment with vs without
628 *Corbicula*, which may indicate that the presence of the invader did not impose additional
629 oxidative pressure requiring an increased antioxidant response. This pattern is consistent
630 with the higher glycogen levels recorded in the same treatment, suggesting that energy
631 not invested in maintaining elevated antioxidant capacity may have been stored as
632 glycogen instead. Similar neutral or non-negative physiological responses to *Corbicula*
633 were reported by Modesto et al. (2025b), who showed that the effects of the invader on
634 native unionids; in their study *U. delphinus* did not show significant changes in foot
635 glycogen content in response to live *Corbicula*. The higher glycogen and lower
636 antioxidant status (TAS) observed in the present study may indicate that, during a long-
637 term exposure, *U. tumidus* maintained oxidative balance and energy reserves. Increased
638 glycogen could reflect improved energy storage, reduced activity, altered metabolic
639 allocation, or an indirect trophic subsidy, because glycogen reserves may respond to food
640 availability, reproductive allocation, environmental stress, and metabolic demand (Fritts
641 et al., 2015; Said and Nassar, 2022; Hillebrand et al., 2024). However, this apparent
642 energetic advantage was not reflected in greater shell or body weight increments, nor in
643 improved overall physical condition, as no treatment-related differences in physical
644 condition were detected.

645 Overall, hypothesis 1 was supported for *A. anatina* by foot oxidative stress
646 markers: foot lipid peroxidation (TBARS) increased under higher density conditions and
647 in higher density condition with *Corbicula* than in control indicating higher physiological
648 costs associated with substratum use, burrowing and/or locomotion. The increase in
649 antioxidant status (TAS) in *A. anatina* also supported the prediction that higher density
650 and *Corbicula* presence increased the costs of maintaining oxidative balance. However,

651 hypothesis 1 was not supported for *A. anatina* regarding growth, glycogen content,
652 mortality, oxidative stress markers in the digestive gland and physical condition, because
653 glycogen reserves were maintained, mortality remained low, oxidative status (TOS) and
654 lipid peroxidation (TBARS) in the digestive gland were lower in the treatments with
655 *Corbicula*, and growth and physical condition was not consistently reduced. For *U.*
656 *tumidus*, hypothesis 1 was not supported: mortality, growth and physical condition did
657 not differ among the treatments, oxidative status (TOS) remained constant, foot lipid
658 peroxidation (TBARS) decreased with the increasing density and in the presence of
659 *Corbicula*, antioxidant status (TAS) was lower in the high-density treatment with
660 *Corbicula*, and glycogen levels were higher in this treatment. Hypothesis 2 was supported
661 for *A. anatina* by reduced shell growth, elevated foot lipid peroxidation (TBARS) and
662 higher antioxidant status (TAS) under high-density conditions, showing that increased
663 density resulted in sublethal stress responses. In contrast, hypothesis 2 was not supported
664 for *U. tumidus*, because high density did not reduce growth, physical condition or
665 glycogen reserves, and did not increase oxidative stress markers. Hypothesis 3 was
666 supported by the clearly different response patterns of the two species. Thus, the presence
667 of *Corbicula* clams cannot be considered uniformly detrimental to native unionids.
668 Negative effects were evident only in selected parameters, particularly in the foot
669 oxidative stress response of *A. anatina*, whereas several other responses in both species
670 were neutral or, in some cases, apparently favourable.

671 Taken together, our results indicate that the effects of *Corbicula* on native
672 unionids were complex and cannot be interpreted as uniformly detrimental or inferred
673 from mortality alone. Although some responses suggested sublethal costs associated with
674 high density and the presence of *Corbicula*, others were neutral or apparently more
675 favourable in mixed-treatments than in conspecific controls. This highlights that the

relative effects of invasive clams and conspecific density depend on species identity, tissue type and the endpoint considered. Because food availability, individual behaviour, burrowing position and sediment chemistry were not measured directly, the mechanisms underlying these patterns cannot be fully resolved from the present data. However, the combination of oxidative stress biomarkers, glycogen content, growth and physical condition provided complementary information that would not have been evident from survival alone. Future studies should therefore combine physiological endpoints with behavioural observations, seston availability and sediment chemistry to determine which mechanisms drive these sublethal responses and whether they translate into longer-term population-level consequences.

Literature

- Abdelsaleheen, O., Taskinen, J., Kekäläinen, J., & Kortet, R. (2024). Reproduction cycle, trematode parasitism and growth of freshwater mussel *Anodonta anatina* (Bivalvia: Unionidae). *Hydrobiologia*, 851, 1789–1805. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05418-w>.
- Ahmed, S. F., Kumar, P. S., Kabir, M., Zuhara, F. T., Mehjabin, A., Tasannum, N., Hoang, A. T., Kabir, Z., & Mofijur, M. (2022). Threats, challenges and sustainable conservation strategies for freshwater biodiversity. *Environmental Research*, 214, 113808. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113808>.
- Archambault, J. M., Cope, W. G., & Kwak, T. J. (2014). Survival and behaviour of juvenile unionid mussels exposed to thermal stress and dewatering in the presence of a sediment temperature gradient. *Freshwater Biology*, 59(3), 601–613. <https://doi.org/10.1111/fwb.12290>.

701 Atkinson, C. L., Capps, K. A., Rugenski, A. T., & Vanni, M. J. (2017). Consumer-driven
 702 nutrient dynamics in freshwater ecosystems: From individuals to ecosystems. *Biological*
 703 *Reviews*, 92(4), 2003–2023. <https://doi.org/10.1111/brv.12318>.
 704 Benson, A. J., & Williams, J. D. (2021). Review of the invasive Asian clam *Corbicula*
 705 spp. (Bivalvia: Cyrenidae) distribution in North America, 1924–2019. *U.S. Geological*
 706 *Survey Scientific Investigations Report* 2021–5001, 66 pp.
 707 <https://doi.org/10.3133/sir20215001>.
 708 Bodon, M., López-Soriano, J., Quiñonero-Salgado, S., Nardi, G., Niero, I., Cianfanelli,
 709 S., Dal Mas, A., Elvio, F., Baldessin, F., Turco, F., Ercolini, P., Baldaccini, G. N., &
 710 Costa, S. (2020). Unravelling the complexity of *Corbicula* clams invasion in Italy
 711 (Bivalvia: Cyrenidae). *Bollettino Malacologico*, 56(2), 127–171.
 712 Buelow, C. A., & Waltham, N. J. (2020). Restoring tropical coastal wetland water quality:
 713 Ecosystem service provisioning by a native freshwater bivalve. *Aquatic Sciences*, 82(4),
 714 77. <https://doi.org/10.1007/s00027-020-00747-7>.
 715 Canli, E. G., Bayköse, A., Uslu, L. H., & Canli, M. (2023). Changes in energy reserves
 716 and responses of some biomarkers in freshwater mussels exposed to metal-oxide
 717 nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 98, 104077.
 718 <https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.104077>.
 719 Chappell, J., Whitmire, S., Sotomayor-Ramírez, D., & Martínez-Rodríguez, G. (2019).
 720 Effects of *Corbicula fluminea* on the nutrient concentration and phytoplankton biomass
 721 of tropical reservoirs. *International Aquatic Research*, 11, 401–415.
 722 <https://doi.org/10.1007/s40071-019-00247-x>.
 723 Clavero, M., Araujo, R., Calzada, J., Delibes, M., Fernández, N., Gutiérrez-Expósito, C.,
 724 Revilla, E., & Román, J. (2012). The first invasive bivalve in African fresh waters:
 725 Invasion portrait and management options. *Aquatic Conservation: Marine and*

726 *Freshwater Ecosystems*, 22(2), 277–280. <https://doi.org/10.1002/aqc.2231>.

727 Crespo, D., Dolbeth, M., Leston, S., Sousa, R., & Pardal, M. Â. (2015). Distribution of
 728 *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the invaded range: A geographic approach with
 729 notes on species traits variability. *Biological Invasions*, 17(7), 2087–2101.
 730 <https://doi.org/10.1007/s10530-015-0862-y>.

731 de Moulpied, M., Kiser, A. H., Robertson, C. R., Lopez, R., & Randklev, C. R. (2024).
 732 A conceptual framework to inform conservation status assessments of non-charismatic
 733 species. *Journal of Environmental Management*, 372, 123423.
 734 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.123423>.

735 Dembowska, E. (2009). Phytoplankton species diversity of the Lower Vistula from
 736 Wyszogród to Toruń. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 38(4), 63–74.
 737 <https://doi.org/10.2478/v10009-009-0044-2>.

738 Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status.
 739 *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103–1111.
 740 <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008>.

741 Ferreira-Rodríguez, N., Beggel, S., Geist, J. P., Modesto, V., Österling, M., Riccardi, N.,
 742 Sousa, R., & Urbańska, M. (2023). Freshwater mussels as sentinels for safe drinking
 743 water supply in Europe. *ACS ES&T Water*, 3(12), 3730–3735.
 744 <https://doi.org/10.1021/acsestwater.3c00012>.

745 Ferreira-Rodríguez, N., Sousa, R., & Pardo, I. (2018). Negative effects of *Corbicula*
 746 *fluminea* over native freshwater mussels. *Hydrobiologia*, 810(1), 85–95.
 747 <https://doi.org/10.1007/s10750-016-3059-1>.

748 Fritts, A. K., Peterson, J. T., Hazelton, P. D., & Bringolf, R. B. (2015). Evaluation of
 749 methods for assessing physiological biomarkers of stress in freshwater mussels.
 750 *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 72(10), 1450–1459.

751 <https://doi.org/10.1139/cjfas-2014-0564>.

752 Galbraith, H. S., Blakeslee, C. J., & Lellis, W. A. (2015). Behavioral responses of
 753 freshwater mussels to experimental dewatering. *Freshwater Science*, 34(1), 42–52.
 754 <https://doi.org/10.1086/679446>.

755 Gough, H. M., Gascho Landis, A. M., & Stoeckel, J. A. (2012). Behaviour and physiology
 756 are linked in the responses of freshwater mussels to drought. *Freshwater Biology*, 57(11),
 757 2356–2366. <https://doi.org/10.1111/fwb.12015>.

758 Haag, W. R., Culp, J., Drayer, A. N., McGregor, M. A., White, D. E. J., & Price, S. J.
 759 (2021). Abundance of an invasive bivalve, *Corbicula fluminea*, is negatively related to
 760 growth of freshwater mussels in the wild. *Freshwater Biology*, 66(3), 447–457.
 761 <https://doi.org/10.1111/fwb.13651>.

762 Hillebrand, V., Dobler, A. H., Schwalb, A. N., & Geist, J. (2024). Physiological effects
 763 of interacting native and invasive bivalves under thermal stress. *Biological Invasions*,
 764 26(7), 2281–2293. <https://doi.org/10.1007/s10530-024-03315-4>.

765 Hopper, G. W., Buchanan, J. K., Sánchez González, I., Kubala, M. E., Bucholz, J. R.,
 766 Lodato, M. B., Lozier, J. D., & Atkinson, C. L. (2022). Little clams with big potential:
 767 Nutrient release by invasive *Corbicula fluminea* can exceed co-occurring freshwater
 768 mussel (Unionidae) assemblages. *Biological Invasions*, 24(8), 2529–2545.
 769 <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02792-9>.

770 Hubenov, Z., Trichkova, T., Kenderov, L., & Kozuharov, D. (2013). Distribution of
 771 *Corbicula fluminea* (Mollusca: Corbiculidae) over an eleven-year period of its invasion
 772 in Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 65(3), 315–326.

773 Hünicken, L. A., Paolucci, E. M., Lavinia, P. D., & Sylvester, F. (2024). Morphological
 774 and genetic assessment of invasive *Corbicula* lineages in southern South America: A case
 775 study in Argentina. *Animals*, 14(13), 1843. <https://doi.org/10.3390/ani14131843>.

776 Ilarri, M. I., Amorim, L., Souza, A. T., & Sousa, R. (2018). Physical legacy of freshwater
 777 bivalves: Effects of habitat complexity on the taxonomical and functional diversity of
 778 invertebrates. *Science of The Total Environment*, 634, 1398–1405.
 779 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.070>.

780 Ilarri, M. I., Souza, A. T., Amorim, L., & Sousa, R. (2019). Decay and persistence of
 781 empty bivalve shells in a temperate riverine system. *Science of The Total Environment*,
 782 683, 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.208>.

783 Kentzer, A., Dembowska, E., Giziński, A., & Napiórkowski, P. (2010). Influence of the
 784 Włocławek Reservoir on hydrochemistry and plankton of a large, lowland river (the
 785 Lower Vistula River, Poland). *Ecological Engineering*, 36(12), 1747–1753.
 786 <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2010.07.024>.

787 Kovachich, G. B., & Mishra, O. P. (1980). Lipid peroxidation in rat brain cortical slices
 788 as measured by the thiobarbituric acid test. *Journal of Neurochemistry*, 35(6), 1449–1452.
 789 <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1980.tb09022.x>.

790 Leal, M. F., Simone, L. R. L., Lacerda, A. C. F., Silva, E. L., & Pinheiro, T. G. (2021).
 791 Current distribution of the invasive mollusk *Corbicula fluminea* (O.F. Müller, 1774)
 792 (Bivalvia, Cyrenidae) in Brazil, including a new record from the state of Piauí. *Check*
 793 *List*, 17(1), 151–157. <https://doi.org/10.15560/17.1.151>.

794 Liu, X., Ferreira-Rodríguez, N., Wu, R., Ouyang, S., & Wu, X. (2023). Sixty years of
 795 species diversity and population density decline of freshwater mussels in a global
 796 biodiversity hotspot. *Global Ecology and Conservation*, 46, e02573.
 797 <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2023.e02573>.

798 Lois, S. (2010). New records of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in Galicia (Northwest
 799 of the Iberian Peninsula): Mero, Sil and Deva rivers. *Aquatic Invasions*, 5(Suppl. 1), S17–
 800 S20. <https://doi.org/10.3391/ai.2010.5.S1.005>.

801 Lopes-Lima, M., & Prié, V. (2024a). *Anodonta anatina* (Europe assessment). *The IUCN*
 802 *Red List of Threatened Species* 2024, e.T155667A212997908.
 803 <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2024-1.RLTS.T155667A212997908.en>. Accessed
 804 on 07 April 2026.

805 Lopes-Lima, M., & Prié, V. (2024b). *Unio tumidus* (Europe assessment). *The IUCN Red*
 806 *List of Threatened Species* 2024, e.T156111A213000426.
 807 <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2024-1.RLTS.T156111A213000426.en>. Accessed
 808 on 07 April 2026.

809 Lopes-Lima, M., Reis, J., Alvarez, M. G., Anastácio, P. M., Banha, F., Beja, P., Castro,
 810 P., Gama, M., Gil, M. G., Gomes-dos-Santos, A., Miranda, F., Nogueira, J. G., Sousa, R.,
 811 Teixeira, A., Varandas, S., & Froufe, E. (2023). The silent extinction of freshwater
 812 mussels in Portugal. *Biological Conservation*, 285, 110244.
 813 <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2023.110244>.

814 Lopes-Lima, M., Sousa, R., Geist, J., Aldridge, D. C., Araujo, R., Bergengren, J.,
 815 Bernal, Y., Bódis, E., Burlakova, L. E., Van Damme, D., Douda, K., Froufe, E.,
 816 Georgiev, D., Gumpinger, C., Karatayev, A., Kebapçı, Ü., Killeen, I., Lajtner, J., Larsen,
 817 B. M., Lauceri, R., Legakis, A., Lois, S., Lundberg, S., Moorkens, E., Motte, G., Nagel,
 818 K.-O., Ondina, P., Outeiro, A., Paunović, M., Prié, V., von Proschwitz, T., Riccardi, N.,
 819 Rudzite, M., Rudzitis, M., Scheder, C., Seddon, M., Şereflişan, H., Simić, V., Sokolova,
 820 S., Stoeckl, K., Taskinen, J., Teixeira, A., Thielen, F., Trichkova, T., Varandas, S.,
 821 Vicentini, H., Zajac, K., Zajac, T., & Zogaris, S. (2017). Conservation status of freshwater
 822 mussels in Europe: State of the art and future challenges. *Biological Reviews*, 92(1), 572–
 823 607. <https://doi.org/10.1111/brev.12244>.

824 Lundquist, S. P., Worthington, T. A., & Aldridge, D. C. (2019). Freshwater mussels as a
 825 tool for reconstructing climate history. *Ecological Indicators*, 101, 11–21.

826 <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.12.048>.

827 Modesto, V., Castro, P., Lopes-Lima, M., Antunes, C., Ilarri, M., & Sousa, R. (2019).
828 Potential impacts of the invasive species *Corbicula fluminea* on the survival of glochidia.
829 *Science of The Total Environment*, 673, 157–164.
830 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.043>.

831 Modesto, V., Dias, E., Ilarri, M., Lopes-Lima, M., Teixeira, A., Varandas, S., Castro, P.,
832 Antunes, C., & Sousa, R. (2021). Trophic niche overlap between native freshwater
833 mussels (Order: Unionida) and the invasive *Corbicula fluminea*. *Aquatic Conservation:*
834 *Marine and Freshwater Ecosystems*, 31(8), 2058–2071.
835 <https://doi.org/10.1002/aqc.3618>.

836 Modesto, V., Ilarri, M., Castro, P., Carvalho, F., Cavalheri, T., Lopes-Lima, M., Teixeira,
837 A., Ozório, R. O. A., Antunes, C., & Sousa, R. (2025b). Interspecific differences in the
838 physiological condition of native freshwater mussels in response to the invasive Asian
839 clam *Corbicula fluminea*. *Hydrobiologia*, 852(5), 1231–1241.
840 <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05209-3>.

841 Modesto, V., Ilarri, M., Łabęcka, A. M., Ferreira-Rodríguez, N., Coughlan, N. E., Liu,
842 X., & Sousa, R. (2025a). What we know and do not know about the invasive Asian clam
843 *Corbicula fluminea*. *Hydrobiologia*, 852(5), 1183–1214. [https://doi.org/10.1007/s10750-](https://doi.org/10.1007/s10750-023-05280-w)
844 [023-05280-w](https://doi.org/10.1007/s10750-023-05280-w).

845 Modesto, V., Ilarri, M., Souza, A. T., Lopes-Lima, M., Douda, K., Clavero, M., & Sousa,
846 R. (2018). Fish and mussels: Importance of fish for freshwater mussel conservation. *Fish*
847 *and Fisheries*, 19(2), 244–259. <https://doi.org/10.1111/faf.12252>.

848 Nakamura, K., Sousa, R., & Mesquita-Joanes, F. (2023). Collapse of native freshwater
849 mussel populations: Prospects of a long-term study. *Biological Conservation*, 279,
850 109931. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2023.109931>.

851 NSW Department of Primary Industries. (2025). *National guidelines for the management*
852 *of Corbicula fluminea* (Version 1.0, June 2025). New South Wales, Australia.
853 [https://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0003/1642917/National-guidelines-](https://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0003/1642917/National-guidelines-for-the-management-of-Corbicula-fluminea-V1.0.pdf)
854 [for-the-management-of-Corbicula-fluminea-V1.0.pdf](https://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0003/1642917/National-guidelines-for-the-management-of-Corbicula-fluminea-V1.0.pdf).

855 Ollard, I., & Aldridge, D. C. (2023). Declines in freshwater mussel density, size and
856 productivity in the River Thames over the past half century. *Journal of Animal Ecology*,
857 92(1), 112–123. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13835>.

858 Ollard, I., Chowdhury, G. W., & Aldridge, D. C. (2023). Functional non-equivalence in
859 ecosystem engineers? Different freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae) are associated
860 with different macroinvertebrate communities in a subtropical lake. *Freshwater Biology*,
861 68(10), 1765–1775. <https://doi.org/10.1111/fwb.14164>.

862 Polak, J. (2004). Nitrification in the surface water of the Włocławek Dam Reservoir: The
863 process contribution to biochemical oxygen demand (N-BOD). *Polish Journal of*
864 *Environmental Studies*, 13(4), 415–424.

865 Poznańska, M., Kobak, J., Wolnomiejski, N., & Kakareko, T. (2009). Shallow-water
866 benthic macroinvertebrate community of the limnic part of a lowland Polish dam
867 reservoir. *Limnologica*, 39(2), 163–176. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2008.10.001>.

868 Poznańska-Kakareko, M., Wiśniewski, K., Szarmach, D., Witkowska, A., Kakareko, T.,
869 Jermacz, Ł., & Kobak, J. (2021). Importance of substratum quality for potential
870 competitive niche overlap between native and invasive unionid mussels in Europe.
871 *Science of the Total Environment*, 799, 149345.
872 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149345>.

873 Prestes, J. G., Carneiro, L., Miiller, N. O. R., Neundorf, A. K. A., Pedroso, C. R., Braga,
874 R. R., Sousa, R., & Vitule, J. R. S. (2024). A systematic review of invasive non-native
875 freshwater bivalves. *Biological Reviews*, 99(6), 2082–2107.

876 <https://doi.org/10.1111/brv.13113>.

877 Rogers, R. L., Grizzard, S. L., & Garner, J. T. (2023). Strong, recent selective sweeps
878 reshape genetic diversity in freshwater bivalve *Megaloniaias nervosa*. *Molecular Biology*
879 *and Evolution*, 40(2), msad024. <https://doi.org/10.1093/molbev/msad024>.

880 Said, R. M., & Nassar, S. E. (2022). Mortality, energy reserves, and oxidative stress
881 responses of three native freshwater mussels to temperature as an indicator of potential
882 impacts of climate change: a laboratory experimental approach. *Journal of Thermal*
883 *Biology*, 104, 103154. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.103154>.

884 Schwalb, A. N., & Pusch, M. T. (2007). Horizontal and vertical movements of unionid
885 mussels (Bivalvia: Unionidae) in a lowland river. *Journal of the North American*
886 *Benthological Society*, 26(2), 261–272. [https://doi.org/10.1899/0887-](https://doi.org/10.1899/0887-3593(2007)26[261:HAVMOU]2.0.CO;2)
887 [3593\(2007\)26\[261:HAVMOU\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1899/0887-3593(2007)26[261:HAVMOU]2.0.CO;2).

888 Sigareva, L. E., Zakonnov, V. V., & Gierszewski, P. (2011). Content and distribution of
889 the plant pigments in the bottom sediments of the eutrophic Włocławek Reservoir.
890 *Hydrobiological Journal*, 47(3), 57–66. <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v47.i3.70>.

891 Sousa, R., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2007). Species composition and monthly
892 variation of the Molluscan fauna in the freshwater subtidal area of the River Minho
893 estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 75(1–2), 90–100.
894 <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2007.02.020>.

895 Sousa, R., Nogueira, A. J. A., Gaspar, M. B., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2008).
896 Growth and extremely high production of the non-indigenous invasive species *Corbicula*
897 *fluminea* (Müller, 1774): Possible implications for ecosystem functioning. *Estuarine,*
898 *Coastal and Shelf Science*, 80(2), 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.07.013>.

899 Szarmach, D., Wiśniewski, K., Kobak, J., Kakareko, T., Łabęcka, A. M., Sousa, R., &
900 Poznańska-Kakareko, M. (2023). Differences in substratum preferences and behaviour

901 within the invasive *Corbicula* species complex. *Freshwater Biology*, 68(9), 1489–1502.
 902 <https://doi.org/10.1111/fwb.14142>.

903 Szarmach, D., Wiśniewski, K., Kobak, J., Lichocka, K., Jermacz, Ł., Kakareko, T., Sousa,
 904 R., & Poznańska-Kakareko, M. (2024). Impact of habitat engineering by invasive
 905 *Corbicula* clams on native European unionid mussels. *Science of the Total Environment*,
 906 948, 174764. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174764>.

907 Tan, K., Ya, P., Tan, K., Cheong, K. L., & Fazhan, H. (2023). Ecological impact of
 908 invasive species and pathogens introduced through bivalve aquaculture. *Estuarine,
 909 Coastal and Shelf Science*, 294, 108541. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2023.108541>.

910 Vaughn, C. C. (2018). Ecosystem services provided by freshwater mussels.
 911 *Hydrobiologia*, 810(1), 15–27. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3139-x>.

912 Weber, E. (2005). Population size and structure of three mussel species (Bivalvia:
 913 Unionidae) in a northeastern German river with special regard to influences of
 914 environmental factors. *Hydrobiologia*, 537(1), 169–183. [https://doi.org/10.1007/s10750-](https://doi.org/10.1007/s10750-004-2839-1)
 915 004-2839-1.

916 Wiśniewski, K., Szarmach, D., Kobak, J., Kakareko, T., Jermacz, Ł., & Poznańska-
 917 Kakareko, M. (2024). Dead or alive: the effect of shells and living individuals of
 918 *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) on habitat selection and behaviour of European
 919 unionid bivalves. *NeoBiota*, 94, 243–259. <https://doi.org/10.3897/neobiota.94.119622>.

920 Zieritz, A., Brian, J. I., Sousa, R., Aldridge, D. C., Atkinson, C. L., Douda, K., Vaughn,
 921 C., Bernal, Y., Richmond, T., Čmiel, A. M., Crisp, A., Dobler, A. H., Ercoli, F.,
 922 Esteves, E., Ferreira-Rodríguez, N., Geist, J., Sánchez González, I., Halabowski, D.,
 923 Hoos, P., Hopper, G. W., Hyvärinen, H., Ilarri, M., Lewin, I., Lipińska, A. M., Mageroy,
 924 J. H., Nizzoli, D., Ollard, I., Österling, M., Riccardi, N., Rock, S. L., Sjöberg, T.,
 925 Taskinen, J., Urbanič, G., Urbańska, M., Yu, Q., & Vaz, A. S. (2025). A global meta-

926 analysis of ecological functions and regulating ecosystem services of freshwater bivalves.
927 *Limnology and Oceanography*, 70(10), 2982–2997. <https://doi.org/10.1002/lno.70190>.
928 Zieritz, A., Sousa, R., Aldridge, D. C., Douda, K., Esteves, E., Ferreira-Rodríguez, N.,
929 Mageroy, J. H., Nizzoli, D., Osterling, M., Reis, J., Riccardi, N., Daill, D., Gumpinger,
930 C., & Vaz, A. S. (2022). A global synthesis of ecosystem services provided and disrupted
931 by freshwater bivalve molluscs. *Biological Reviews*, 97(5), 1967–1998.
932 <https://doi.org/10.1111/brv.12878>.

933

934 **ORCID**

935 Daniel Szarmach: <https://orcid.org/0000-0002-1362-3165>

936 Kamil Wiśniewski: <https://orcid.org/0000-0002-3220-5866>

937 Jarosław Kobak: <https://orcid.org/0000-0001-7660-9240>

938 Hanna Kletkiewicz: <https://orcid.org/0000-0003-3275-6489>

939 Łukasz Jermacz: <https://orcid.org/0000-0001-9182-116X>

940 Tomasz Kakareko: <https://orcid.org/0000-0001-5054-7416>

941 Ronaldo Sousa: <https://orcid.org/0000-0002-5961-5515>

942 Mateusz Augustyniak: <https://orcid.org/0000-0002-0035-5237>

943 Zuzanna Plichta: <https://orcid.org/0009-0007-4466-2435>

944 Małgorzata Poznańska-Kakareko: <https://orcid.org/0000-0001-7224-3093>

945

946 **Acknowledgments**

947

948 A permit was obtained from the Regional Directorate for Environmental Protection in
949 Bydgoszcz (WOP.672.4.2020.MO).

950

951 **Funding**

952

953 This research was funded by the Polish Ministry of Education and Science as part of the
954 second edition of the ‘Student Scientific Clubs Create Innovations’ competition (grants
955 no. SKN/SP/535748/2022).

956

957 **Author Contributions**

958

959 Conceptualization: Daniel Szarmach, Jarosław Kobak, Łukasz Jermacz, Tomasz
960 Kakareko, Ronaldo Sousa, Małgorzata Poznańska-Kakareko

961 Data Curation: Daniel Szarmach,

962 Formal analysis: Jarosław Kobak

963 Investigation: Daniel Szarmach, Kamil Wiśniewski, Jarosław Kobak, Hanna
964 Kletkiewicz, Łukasz Jermacz, Tomasz Kakareko, Mateusz Augustyniak, Zuzanna
965 Plichta, Katarzyna Lichocka, Sebastian Terebiński, Małgorzata Poznańska-Kakareko

966 Project Administration: Daniel Szarmach

967 Resources: Daniel Szarmach, Kamil Wiśniewski, Jarosław Kobak, Hanna Kletkiewicz,
968 Łukasz Jermacz, Tomasz Kakareko, Mateusz Augustyniak, Małgorzata Poznańska-
969 Kakareko

970 Supervision: Małgorzata Poznańska-Kakareko

971 Validation: Daniel Szarmach, Jarosław Kobak

972 Visualization: Daniel Szarmach, Jarosław Kobak

973 Writing – Original Draft Preparation: Daniel Szarmach

974 Writing – Review & Editing: Daniel Szarmach, Kamil Wiśniewski, Jarosław Kobak,
975 Hanna Kletkiewicz, Tomasz Kakareko, Ronaldo Sousa, Mateusz Augustyniak, Zuzanna

976 Plichta, Katarzyna Lichocka, Sebastian Terebiński, Małgorzata Poznańska-Kakareko

977

978 **Conflict of Interest**

979

980 The authors declare no conflicts of interest.

981

982 **Data Availability Statement**

983

984 Data are available from the authors upon reasonable request.

985

986 **Table of contents**

987

988 **Table 1.** Effects of bivalve density and *Corbicula* presence on the growth (percentage
989 increase relative to the initial parameter value) of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus*
990 (General Linear Mixed Models). Cage was included in the models as a random factor.
991 Non-significant higher order interactions were removed in the model simplification
992 procedure.

993 **Table 2.** Effects of the general bivalve density and *Corbicula* clam presence on
994 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), total oxidant status (TOS), total
995 antioxidant status (TAS), and glycogen content in *Anodonta anatina* and *Unio tumidus*
996 (General Linear Mixed models). Cage was included in the models as a random factor.
997 Non-significant higher order interactions were removed in the model simplification
998 procedure.

999 **Table 3.** Effects of the general bivalve density and *Corbicula* clam presence on
1000 relationships among thiobarbituric acid reactive substances (A), total oxidant status (B)

1001 in digestive gland of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* (General Linear Mixed
1002 models). We assumed that: (i) TBARS may depend on TAS and TOS, (ii) TOS may
1003 depend on TAS. Cage was included in the models as a random factor. Non-significant
1004 higher order interactions were removed in the model simplification procedure.

1005 **Figure 1.** Growth rates of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* in experiment. Differences
1006 between treatments are indicated by asterisks.

1007 **Figure 2.** Biochemical results of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* in experiment.
1008 Differences between treatments are indicated by asterisks. TBARS (lipid peroxidation
1009 products), TOS (Total Oxidant Status), TAS (Total Antioxidant Status).

1010 **Figure 3.** Biochemical analyses of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* in experiment.
1011 Hashtags indicate statistically significant slopes ($B \neq 0$), asterisks show significant
1012 differences between means. TBARS (lipid peroxidation products), TOS (Total Oxidant
1013 Status), TAS (Total Antioxidant Status).

1014 **Figure 4.** Relationships between soft tissue dry weight and size in *Anodonta anatina* (A)
1015 and *Unio tumidus* (B) in experiment. Size was calculated as cubic root of shell
1016 length*width*height. Individuals with higher soft tissue dry weight per unit size are
1017 assumed to be in a better physical condition. “x” marks indicate significant differences
1018 between slopes.

1019

Table 1. Effects of bivalve density and *Corbicula* presence on the growth (percentage increase relative to the initial parameter value) of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* (General Linear Mixed Models). Cage was included in the models as a random factor. Non-significant higher order interactions were removed in the model simplification procedure.

Growth parameter	Species	Source	df	F	P
A. Length increase	<i>Anodonta anatina</i>	Density	1, 61	9.277	0.003
		<i>Corbicula</i>	1, 61	2.662	0.108
		Cage	54, 120	0.954	0.568
	<i>Unio tumidus</i>	Density	1, 57	0.446	0.507
		<i>Corbicula</i>	1, 57	0.448	0.506
		Cage	53, 116	0.998	0.492
B. Width increase	<i>Anodonta anatina</i>	Density	1, 61	8.985	0.004
		<i>Corbicula</i>	1, 61	5.647	0.021
		Cage	54, 121	0.754	0.877
	<i>Unio tumidus</i>	Density	1, 58	0.157	0.694
		<i>Corbicula</i>	1, 58	0.748	0.391
		Cage	53, 115	1.141	0.276
C. Height increase	<i>Anodonta anatina</i>	Density	1, 62	2.736	0.103
		<i>Corbicula</i>	1, 62	0.590	0.445
		Cage	54, 120	0.922	0.625
	<i>Unio tumidus</i>	Density	1, 57	0.002	0.962
		<i>Corbicula</i>	1, 57	0.177	0.676
		Cage	53, 115	0.865	0.719
D. Wet wight increase	<i>Anodonta anatina</i>	Density	1, 64	7.582	0.008
		<i>Corbicula</i>	1, 63	6.617	0.012
		Cage	54, 121	0.711	0.920
	<i>Unio tumidus</i>	Density	1, 57	1.826	0.182
		<i>Corbicula</i>	1, 57	0.011	0.917
		Cage	53, 115	0.939	0.595

1027 **Table 2.** Effects of the general bivalve density and *Corbicula* clam presence on
1028 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), total oxidant status (TOS), total
1029 antioxidant status (TAS), and glycogen content in *Anodonta anatina* and *Unio tumidus*
1030 (General Linear Mixed models). Cage was included in the models as a random factor.
1031 Non-significant higher order interactions were removed in the model simplification
1032 procedure.

Factor	Species	Source	df	F	P
A. TBARS (foot)	<i>Anodonta anatina</i>	Density	1, 56	50.610	<0.001
		<i>Corbicula</i>	1, 56	0.380	0.540
		Density * <i>Corbicula</i>	1, 56	4.236	0.044
		Cage	52, 61	1.347	0.131
	<i>Unio tumidus</i>	Density	1, 58	8.212	0.006
		<i>Corbicula</i>	1, 58	3.251	0.077
		Cage	52, 58	1.072	0.397
B. TBARS (digestive gland)	<i>Anodonta anatina</i>	Density	1, 55	8.223	0.006
		<i>Corbicula</i>	1, 55	23.578	<0.001
		Density * <i>Corbicula</i>	1, 55	6.006	0.017
		Cage	52, 61	1.715	0.022
	<i>Unio tumidus</i>	Density	1, 57	2.180	0.145
		<i>Corbicula</i>	1, 57	2.774	0.101
		Cage	52, 58	1.266	0.191
C. TOS (digestive gland)	<i>Anodonta anatina</i>	Density	1, 55	52.629	<0.001
		<i>Corbicula</i>	1, 55	93.859	<0.001
		Cage	52, 61	1.728	0.020
	<i>Unio tumidus</i>	Density	1, 58	2.242	0.140
		<i>Corbicula</i>	1, 58	1.561	0.217
		Cage	52, 58	0.979	0.529
D. TAS (digestive gland)	<i>Anodonta anatina</i>	Density	1, 56	38.263	<0.001
		<i>Corbicula</i>	1, 56	8.255	0.006
		Density * <i>Corbicula</i>	1, 56	13.984	<0.001
		Cage	52, 61	1.675	0.027
	<i>Unio tumidus</i>	Density	1, 55	21.945	<0.001
		<i>Corbicula</i>	1, 55	17.711	<0.001
		Density * <i>Corbicula</i>	1, 55	11.031	0.002
E. Glycogen	<i>Anodonta</i>	Cage	52, 58	2.005	0.005
		Density	1, 56	1.210	0.276

(foot)	<i>anatina</i>	<i>Corbicula</i>	1, 56	0.710	0.403
		Cage	52, 61	2.137	0.002
	<i>Unio</i>	Density	1, 54	5.455	0.023
	<i>tumidus</i>	<i>Corbicula</i>	1, 54	18.896	<0.001
		Density * <i>Corbicula</i>	1, 54	21.399	<0.001
		Cage	52, 58	2.485	<0.001

1033

1034

1035 **Table 3.** Effects of the general bivalve density and *Corbicula* clam presence on
1036 relationships among thiobarbituric acid reactive substances (A), total oxidant status (B)
1037 in digestive gland of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* (General Linear Mixed
1038 models). We assumed that: (i) TBARS may depend on TAS and TOS, (ii) TOS may
1039 depend on TAS. Cage was included in the models as a random factor. Non-significant
1040 higher order interactions were removed in the model simplification procedure.

Factor	Species	Source	df	F	P
A. TBARS	<i>Anodonta anatina</i>	Cage	53, 58	2.031	0.004
		Density	1, 104	0.019	0.891
		<i>Corbicula</i>	1, 108	0.281	0.597
		TAS	1, 58	0.283	0.597
		TOS	1, 58	13.481	0.001
	<i>Unio tumidus</i>	Cage	52, 50	1.223	0.238
		Density	1, 51	1.514	0.224
		<i>Corbicula</i>	1, 50	3.707	0.060
		TAS	1, 50	2.681	0.108
		TOS	1, 50	3.280	0.076
		Density * <i>Corbicula</i>	1, 80	3.428	0.068
		Density * TAS	1, 50	3.912	0.053
		<i>Corbicula</i> * TAS	1, 50	3.971	0.052
		Density * TOS	1, 50	0.001	0.972
		<i>Corbicula</i> * TOS	1, 50	3.982	0.051
		TAS * TOS	1, 50	2.336	0.133
		<i>Corbicula</i> * TAS * TOS	1, 50	4.887	0.032
B. TOS	<i>Anodonta anatina</i>	Cage	52, 56	2.107	0.003
		Density	1, 59	1.225	0.273
		<i>Corbicula</i>	1, 59	0.113	0.738
		TAS	1, 56	5.058	0.028
		Density * <i>Corbicula</i>	1, 56	4.500	0.038
		Density * TAS	1, 56	8.439	0.005
		<i>Corbicula</i> * TAS	1, 59	6.197	0.016

		Density * <i>Corbicula</i> * TAS	1, 56	10.811	0.002
	<i>Unio</i>	Cage	53, 57	0.857	0.714
	<i>tumidus</i>	Density	1, 110	2.507	0.116
		<i>Corbicula</i>	1, 107	1.994	0.161
		TAS	1, 57	0.379	0.541

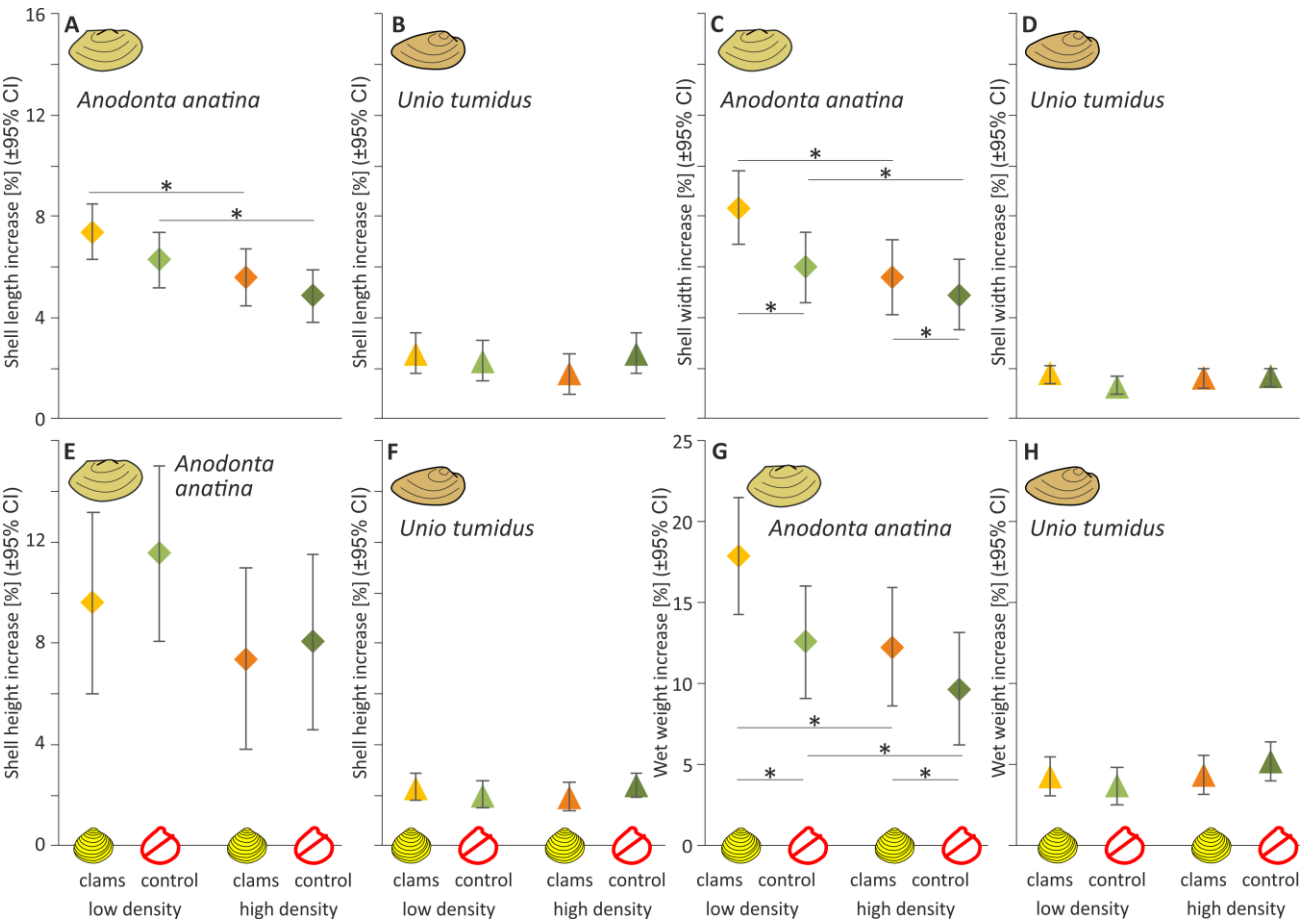


Figure 1. Growth rates of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* in experiment. Differences between treatments are indicated by asterisks.

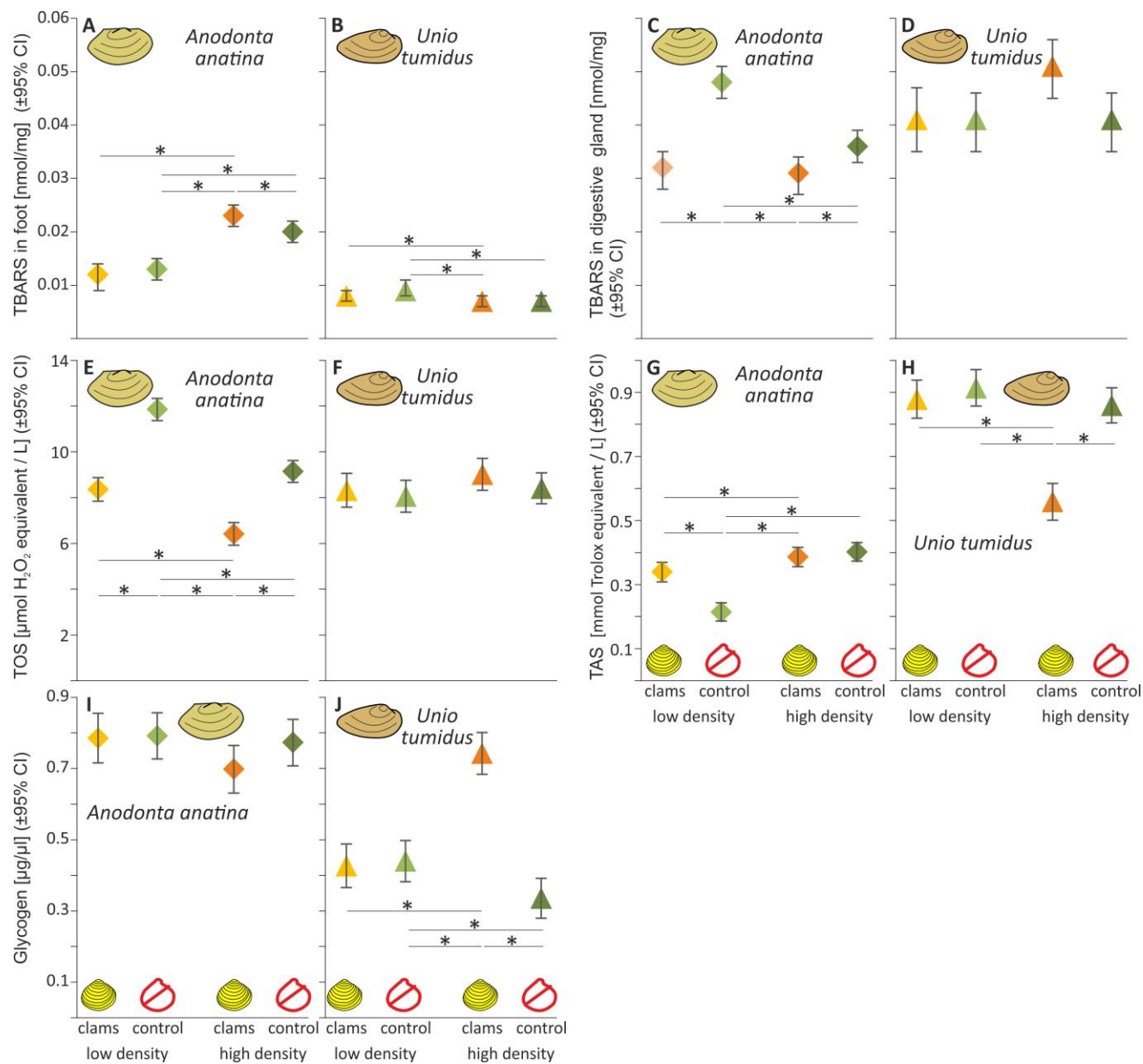


Figure 2. Biochemical results of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* in experiment.

Differences between treatments are indicated by asterisks. TBARS (lipid peroxidation products), TOS (Total Oxidant Status), TAS (Total Antioxidant Status).

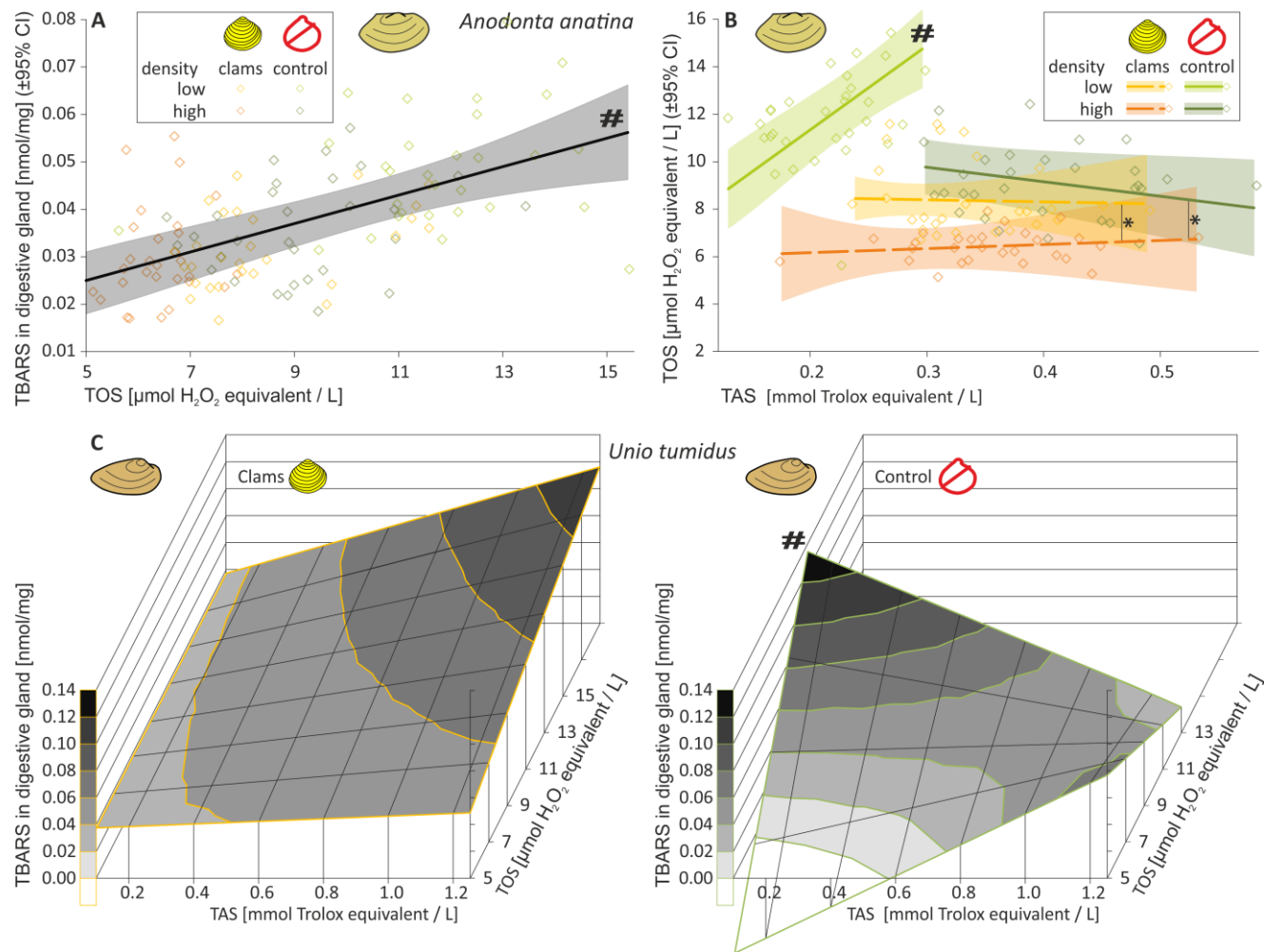


Figure 3. Biochemical analyses of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* in experiment. Hashtags indicate statistically significant slopes ($B \neq 0$), asterisks show significant differences between means. TBARS (lipid peroxidation products), TOS (Total Oxidant Status), TAS (Total Antioxidant Status).

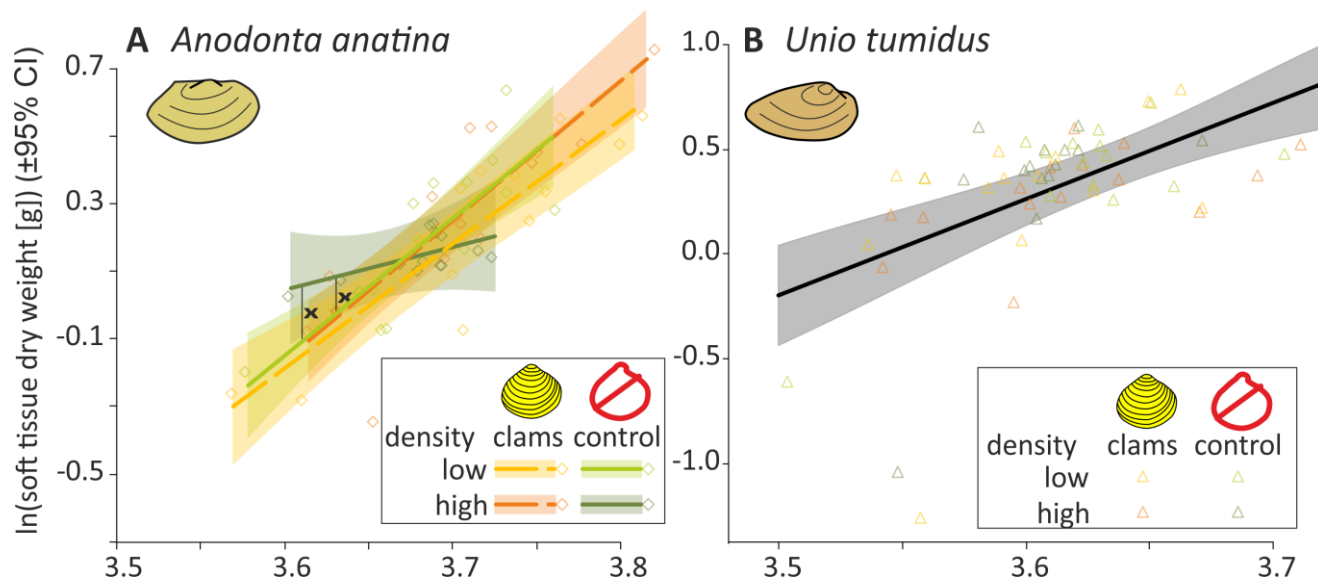


Figure 4. Relationships between soft tissue dry weight and size in *Anodonta anatina* (A) and *Unio tumidus* (B) in experiment. Size was calculated as cubic root of shell length*width*height. Individuals with higher soft tissue dry weight per unit size are assumed to be in a better physical condition. “x” marks indicate significant differences between slopes.

Evaluating the long-term consequences of invasion by *Corbicula* clams for European unionid mussel communities

Brief legends for Appendices S1 to S9

S1. Abiotic water parameters in the laboratory tanks and at the field experimental site

S2. Mean shell dimensions (mm) and weight (g) of bivalves before and after the experiment (standard deviations in parentheses)

S3. Mortality of *Anodonta anatina*, *Unio tumidus* and *Corbicula* clams in experiment. Differences between treatments are indicated by asterisks.

S4. Effects of unionid species, bivalve density and *Corbicula* presence on the mortality of *Anodonta anatina*, *Unio tumidus*, and *Corbicula* clams in the field experiment (Generalized Linear Models, binomial distribution, logit link function). Non-significant higher order interactions were removed in the model simplification procedure.

S5. Pairwise Comparisons for significant effects of General Linear Mixed models from Table 2

S6. Disentangling the effect of a 3-way interaction *Corbicula* presence*TAS*TOS interaction on the TBARS level in the digestive gland of *Unio tumidus* (Table 3). Separate models for the treatments with and without *Corbicula* presence.

S7. Disentangling the effect of a Bivalve density**Corbicula* presence*TAS interaction on TOS the level in the digestive gland of *Anodonta anatina* (Table 3)

S8. Effects of bivalve density and *Corbicula* presence on physical condition of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus*, measured as unionid soft tissue dry weight per unit shell size (cubic root of length*width*height) (General Linear Mixed Models). Cage was included in the models as a random factor. Non-significant higher order interactions were removed in the model simplification procedure.

S9. Disentangling the effect of a Bivalve density**Corbicula* presence*shell size interaction on soft tissue dry weight of *Anodonta anatina* (Appendix S8)

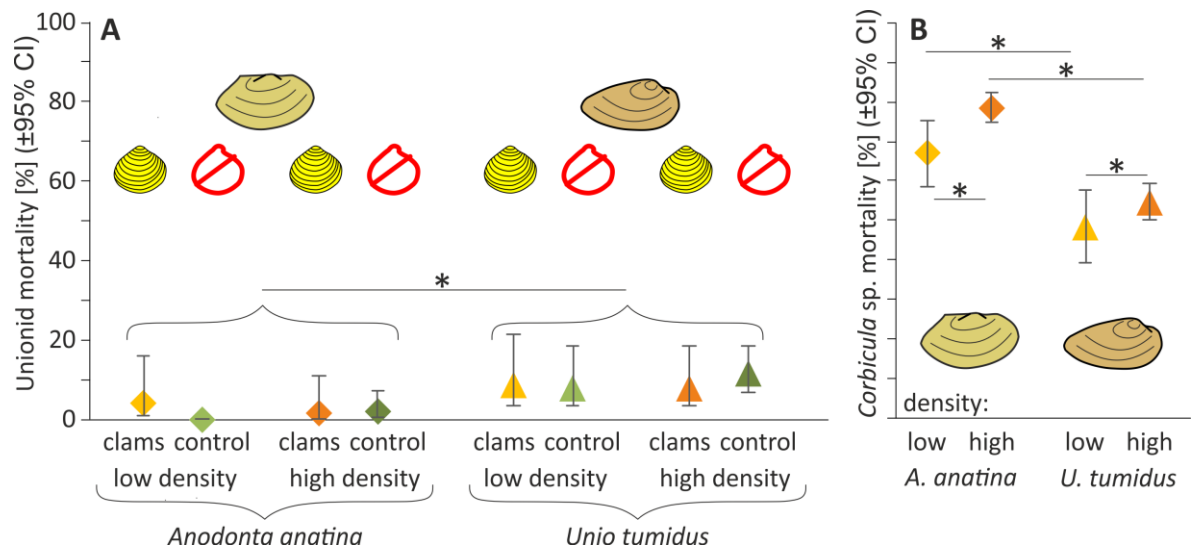
Appendices

S1. Abiotic water parameters in the laboratory tanks and at the field experimental site

		Laboratory	Field
Oxygen concentration [mg/l]	Mean	10.28	8.88
	SD	0.69	2.68
	Range	9.02-11.55	5.36-12.85
Oxygen saturation [%]	Mean	96.89	76.39
	SD	5.50	11.61
	Range	84.70-104.80	63.80-97.40
Temperature [°C]	Mean	12.6	16.1
	SD	0.8	7.5
	Range	10.8-13.6	8.9-23.2
pH	Mean	8.0	7.9
	SD	0.2	0.3
	Range	7.5-8.2	7.6-8.4
Conductivity [$\mu\text{S cm}^{-1}$]	Mean	744	824
	SD	44	59
	Range	665-815	712-896

S2. Mean shell dimensions (mm) and weight (g) of bivalves before and after the experiment (standard deviations in parentheses)

	Research material	<i>Anodonta anatina</i>	<i>Unio tumidus</i>	<i>Corbicula</i> clams
Length	Before	66.0 (5.7)	62.5 (2.9)	12.3 (1.3)
	After	70.4 (3.4)	63.9 (2.8)	20.7 (2.2)
Height	Before	34.2 (1.6)	32.5 (2.5)	-
	After	37.3 (4.3)	33.0 (1.2)	-
Width	Before	22.5 (1.4)	22.9 (1.0)	-
	After	23.9 (1.7)	23.3 (1.0)	-
Weight	Before	26.1 (3.3)	26.5 (3.0)	0.70 (0.08)
	After	29.4 (3.9)	27.8 (2.5)	2.62 (0.28)



S3. Mortality of *Anodonta anatina*, *Unio tumidus* and *Corbicula* clams in experiment. Differences between treatments are indicated by asterisks.

S4. Effects of unionid species, bivalve density and *Corbicula* presence on the mortality of *Anodonta anatina*, *Unio tumidus*, and *Corbicula* clams in the field experiment (Generalized Linear Models, binomial distribution, logit link function). Non-significant higher order interactions were removed in the model simplification procedure.

Taxon	Source	df	F	P
A. Unionidae	Species	1, 116	11.194	0.001
	Density	1, 116	0.270	0.604
	<i>Corbicula</i>	1, 116	0.018	0.893
B. <i>Corbicula</i>	Species	1, 57	66.504	<0.001
	Density	1, 57	6.792	0.012

S5. Pairwise Comparisons for significant effects of General Linear Mixed models from Table 2

	Density	<i>Corbicula</i>	<i>Anodonta anatina</i>	<i>Unio tumidus</i>
A. TBARS foot	low	present vs absent	0.249	
	high	present vs absent	0.032	
	low vs high	present	<0.001	0.006
	low vs high	absent	<0.001	
	low vs high	present absent	<0.001	
B. TBARS digestive gland	low	present vs absent	<0.001	
	high	present vs absent	0.030	
	low vs high	present	0.711	
	low vs high	absent	<0.001	
	low vs high	present absent	<0.001	
C. TOS digestive gland	low	present vs absent	<0.001	
	high	present vs absent	<0.001	
	low vs high	present	<0.001	
	low vs high	absent	<0.001	
	low vs high	present absent	<0.001	
D. TAS digestive gland	low	present vs absent	<0.001	0.395
	high	present vs absent	0.432	<0.001
	low vs high	present	0.035	<0.001
	low vs high	absent	<0.001	0.174
	low vs high	present absent	<0.001	<0.001
E. Glycogen foot	low	present vs absent		0.766
	high	present vs absent		<0.001
	low vs high	present		<0.001
	low vs high	absent		0.013
	low vs high	present absent		<0.001

S6. Disentangling the effect of a 3-way interaction *Corbicula* presence*TAS*TOS interaction on the TBARS level in the digestive gland of *Unio tumidus* (Table 3). Separate models for the treatments with and without *Corbicula* presence.

	Source	df	F	P
A. <i>Corbicula</i> presence	TAS	1, 25	0.293	0.593
	TOS	1, 25	0.276	0.604
	TAS * TOS	1, 25	0.842	0.367
B. <i>Corbicula</i> absence	TAS	1, 30	6.290	0.018
	TOS	1, 30	6.704	0.015
	TAS * TOS	1, 30	6.167	0.019

S7. Disentangling the effect of a Bivalve density**Corbicula* presence*TAS interaction on TOS the level in the digestive gland of *Anodonta anatina* (Table 3)

Density	<i>Corbicula</i>	Slope significance	Comparisons of means ¹
low	present	0.897	
high	present	0.567	
low	absent	0.005	
high	absent	0.269	
low vs high	present		<0.001
high	present vs absent		<0.001

¹ For non-significant slopes

S8. Effects of bivalve density and *Corbicula* presence on physical condition of *Anodonta anatina* and *Unio tumidus*, measured as unionid soft tissue dry weight per unit shell size (cubic root of length*width*height) (General Linear Mixed Models). Cage was included in the models as a random factor. Non-significant higher order interactions were removed in the model simplification procedure.

Species	Source	df	F	P
<i>A. Anodonta anatina</i>	Density	1, 48	2.145	0.150
	<i>Corbicula</i>	1, 48	2.582	0.115
	Shell size	1, 48	68.787	<0.001
	Density * <i>Corbicula</i>	1, 48	4.141	0.047
	<i>Corbicula</i> * shell size	1, 48	2.568	0.116
	Density * shell size	1, 48	2.139	0.150
	Density * <i>Corbicula</i> * Shell size	1, 48	4.222	0.045
<i>B. Unio tumidus</i>	Density	1, 54	0.002	0.962
	<i>Corbicula</i>	1, 54	0.937	0.337
	Shell size	1, 54	21.349	<0.001

S9. Disentangling the effect of a Bivalve density**Corbicula* presence*shell size interaction on soft tissue dry weight of *Anodonta anatina* (Sppendix S8)

Density	<i>Corbicula</i>	Comparison of slopes	Comparison of means ¹
low vs high	present	0.616	0.227
	absent	0.021	-
low vs high	present vs absent	0.706	0.191
		0.029	-
low vs high	absent vs present	0.920	0.918

¹ For the same slopes

8. Publikacja 2

Szarmach D, Lichocka K, Kobak J, Bomba A, Krzeszowiak A, Terebiński S, Wiśniewski K, Poznańska-Kakareko M. 2026. Clams running dry: greater drought tolerance in the non-native Asian clam (*Corbicula* complex) than in the native European *Sphaerium rivicola*. NeoBiota, 107, 225–242. <https://doi.org/10.3897/neobiota.107.176248>.

Imię i nazwisko współautora	Udział [%]	Zakres wkładu w powstanie publikacji
mgr Daniel Szarmach	60	Koncepcja badań, opracowanie metodyki, zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentów, opracowanie wyników, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu; korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
mgr Katarzyna Lichocka	8	Zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentów, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
prof. dr hab. Jarosław Kobak	8	Opracowanie metodyki, prowadzenie eksperymentów, opracowanie wyników, analiza statystyczna wyników, opracowanie wyników, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
Aleksandra Bomba	3	Zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentów, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
Alicja Krzeszowiak	3	Zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentów, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
mgr Sebastian Terebiński	3	Zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentów, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
mgr Kamil Wiśniewski	3	Zebranie materiału w terenie, prowadzenie eksperymentów, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie
dr hab. Małgorzata Poznańska-Kakareko, prof. UMK	12	Koncepcja badań, opracowanie metodyki, zarządzanie projektem, korekta manuskryptu podczas publikowania w czasopiśmie

Research Article

Clams running dry: greater drought tolerance in the non-native Asian clam (*Corbicula* complex) than in the native European *Sphaerium rivicola*

Daniel Szarmach¹, Katarzyna Lichocka¹, Jarosław Kobak¹, Aleksandra Bomba¹, Alicja Krzeszowiak¹, Sebastian Terebiński¹, Kamil Wiśniewski¹, Małgorzata Poznańska-Kakareko¹

¹ Department of Invertebrate Zoology and Parasitology, Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Lwowska 1, 87-100, Toruń, Poland

Corresponding author: Daniel Szarmach (szarmach.daniel@umk.pl)

Abstract

Hydrological droughts driven by climate change threaten freshwater biodiversity, including relatively immobile bivalve fauna, unable to escape from air-exposed areas. Furthermore, they may exacerbate biological invasions by more resistant alien species. We measured survival and behavioural responses (migration following receding water line and burrowing) of the vulnerable native fingernail clam *Sphaerium rivicola* and the invasive Asian clam (*Corbicula* complex) to water level reduction and sandy substratum drying in a laboratory setting, to assess their susceptibility to a hydrological drought. *Corbicula* exhibited higher drought resistance with all clams surviving 15 days of air exposure, whereas *S. rivicola* reached LT₅₀ (time at which 50% mortality occurred) in 5 days and LT₉₀ (time at 90% mortality) in 8 days. During water level reduction, *S. rivicola* migrated by crawling downwards to wetter areas and reduced their burrowing depth, whereas *Corbicula* clams remained in place, burrowing deeper into the sediments. We demonstrate that the invasive *Corbicula* clams are superior to *S. rivicola* in surviving air exposure, and their burrowing confers an advantage in drought-prone habitats. In the context of climate change, increased drought frequency and duration may facilitate *Corbicula*'s dominance and replacement of less drought-resilient native bivalves, such as *S. rivicola*.

Key words: Behaviour, Bivalvia, fingernail clams, substratum air exposure, water level reduction



Academic editor:

Francisco J. Oficialdegui
Received: 30 October 2025
Accepted: 26 March 2026
Published: 5 June 2026

Citation: Szarmach D, Lichocka K, Kobak J, Bomba A, Krzeszowiak A, Terebiński S, Wiśniewski K, Poznańska-Kakareko M (2026) Clams running dry: greater drought tolerance in the non-native Asian clam (*Corbicula* complex) than in the native European *Sphaerium rivicola*. NeoBiota 107: 225–242. <https://doi.org/10.3897/neobiota.107.176248>

Copyright: © Daniel Szarmach et al.
This is an open access article distributed under terms of the Creative Commons Attribution License (Attribution 4.0 International – CC BY 4.0).

Introduction

Biological invasions and climate change are recognised as two of the most significant drivers of global biodiversity loss and ecosystem degradation in the 21st century (Capon et al. 2021; Dudgeon and Strayer 2025). Rising global temperatures are predicted to disrupt weather patterns, leading to increasingly frequent and intense extreme events, such as heavy rainfall, floods, and prolonged hydrological droughts (Gosling and Arnell 2016; IPCC 2023). In fresh waters, drought is typically characterised by the retreat of shorelines due to increased evaporation and reduced precipitation. They lead to diminished inflow, ultimately resulting in drying of water bodies, which may become intermittent or totally disappear. Such changes pose a significant threat to organisms inhabiting near-shore and littoral bottom zones (Crausbay et al. 2017).

Prolonged drought events lead to a reduction in habitat heterogeneity. Moreover, drought affects community structure and ecosystem functioning through exacerbating intra- and interspecific competition for limited space and other resources (Machuca-Sepúlveda et al. 2024), reducing oxygen level, and raising concentrations of dissolved substances, including metabolic waste (Cooke et al. 2022; Pozojević et al. 2023; Diwan 2025). All these mechanisms result in increased mortality of aquatic organisms.

Key organisms inhabiting freshwater littoral zones include bivalves, which are providers of essential ecosystem services. They filter particulate matter suspended in the water column, thus improving water clarity, and contributing to nutrient cycling through accumulation and biodeposition (Bakshi et al. 2023). Moreover, bivalves are considered ecosystem engineers, modifying benthic habitats through shell deposition, which enhances substratum complexity and provides refuges for benthic organisms (Albertson et al. 2024). However, bivalves are characterised by limited mobility, which makes it more difficult for them to escape from rapidly changing hydrological conditions, such as water level decrease and substratum drying (Cushway et al. 2025). Consequently, bivalves are especially exposed to negative effects of droughts (DuBose et al. 2019; Cosgrove et al. 2022; Lopez et al. 2022; Stocks and McCaffrey 2025).

One such potentially sensitive species is a representative of fingernail clams (Sphaeriidae), the river orb mussel *Sphaerium rivicola* (Lamarck, 1818), which is classified vulnerable in Europe and globally, with a decreasing population trend (Van Damme 2011; Prié and Lopes-Lima 2024). *Sphaerium rivicola* predominantly inhabits slow-flowing rivers with fine-grained substrata composed of sand, mud and silt (Piechocki and Wawrzyniak-Wydrowska 2016; Vasilieva et al. 2025; Stanicka et al. 2025). *Sphaerium rivicola* remains insufficiently studied among freshwater bivalves, likely belonging to those most sensitive to environmental changes (Collas et al. 2018; Halabowski et al. 2024).

One potential novel competitor for *S. rivicola* is the invasive Asian clam (*Corbicula* complex): both taxa co-occur and share similar habitat preferences (Szarmach et al. 2023; Stanicka et al. 2025). Due to their high plasticity and broad environmental tolerance, Asian clams outcompete native bivalves for space and other resources, thereby forcing native species into suboptimal habitats (Modesto et al. 2021; Szarmach et al. 2024). Depending on the levels of drought resistance exhibited by *Corbicula* complex and *S. rivicola*, several scenarios are possible when these taxa meet in habitats undergoing global changes: (i) Competition by *Corbicula* clams may add to the negative effects of drought, further exacerbating declines in *S. rivicola* populations; (ii) Droughts may shape dominance structure of future bivalve assemblages, the more resistant taxon replacing the other in drying habitats (thus drought would either enable *Corbicula* clams to replace *S. rivicola*, or protect the latter from the invader); (iii) Both species may decline from drying habitats, if they are unable to withstand extreme conditions.

Nevertheless, specific effects of hydrological drought on *S. rivicola* and *Corbicula* clams remain poorly understood. Addressing this knowledge gap is essential for understanding the mechanisms driving species displacement in freshwater ecosystems under climate change scenarios. Therefore, the aim of our study was to assess the impact of hydrological drought, specifically water level reduction and substratum drying, on survival, migration, and burrowing

behaviour of *S. rivicola* and *Corbicula* clams. We hypothesised that the taxa tested would differ in their survival under air exposure (Hypothesis 1: Drought Resistance Hypothesis), and respond behaviourally to water level reduction (Hypothesis 2: Escape Response Hypothesis) by (i) migrating horizontally following the receding water line and/or (ii) burrowing deeper into the sediments. We assumed that the thicker shell of *Corbicula* clams is likely to act as a more effective barrier against evaporation, but also to generate higher energetic costs of movement. Therefore, we expected longer survival time of *Corbicula* clams, as well as greater tendency of *S. rivicola* to burrow and/or move to more humid microhabitats.

Materials and methods

Clams' collection

Clams were obtained during the spring and summer of 2023 and 2024 from the Włocławek Reservoir, a middle section of the River Vistula located in central Poland (52°21.57'N, 20°54.17'E). They were collected using a Surber net from sandy substratum at a depth of 0.5–1.0 m. Individuals of *S. rivicola* were collected approximately 20 m away from the nearest occurrence of *Corbicula* clams, with a reed belt in between, to ensure that their physical condition was not influenced by interspecific interactions, thereby preventing a potential bias in the experimental results.

Laboratory maintenance of clams

Clams were transported in 10-litre plastic buckets filled with water from the collection site to the laboratory equipped with air-conditioning (19.5 °C, corresponding to the summer mean air temperature in Poland; Rozbicka and Rozbicki 2023) and photoperiod of 12 h light / 12 h dark. Each taxon was maintained separately in 84-litre stock tanks prepared three weeks in advance, equipped with internal filters and aerators. The bottoms of the stock tanks were covered with a 10 cm layer of sand (mean grain diameter: 0.67 mm, range: 0.20–1.40 mm) previously found to be preferred as substratum by both *S. rivicola* (Stanicka et al. 2025) and *Corbicula* clams (Szarmach et al. 2023).

Water changes were performed weekly by replacing approximately 40% of the tank volume with tap water conditioned and aerated for at least 48 hours. Abiotic water parameters (mean $\pm$ SD): oxygen concentration 8.2 ± 0.7 mg/l; oxygen saturation $96.3 \pm 5.3\%$; temperature 19.7 ± 0.1 °C; pH 8.4 ± 0.1 ; conductivity 680 ± 30 μ S/cm, were monitored weekly using a multiparameter probe (Elmetron CX-461, Poland). The clams were fed twice a week with powdered dried *Chlorella* sp., and always three days prior to the experiment.

Experimental conditions

Experiments were conducted under the same photoperiod, air conditioning, and substratum quality settings as those experienced by clams during stocking. The air temperature was maintained at 19.5 ± 0.3 °C, and the relative air humidity was maintained at an average of $54.6 \pm 7.7\%$.

Prior to the experiments, clams were photographed, and their shell length was measured using ImageJ 1.52n software (Schneider et al. 2012). The mean shell lengths of *S. rivicola* and *Corbicula* individuals were 13.9 and 14.3 mm, respectively (ranges: 11.1–16.5 and 12.0–16.9 mm). Different individuals were used for each experiment, and no clam was tested more than once.

Experiment 1: Survival during water level reduction and substratum drying

The experiment was conducted in 1-litre plastic containers (bottom diameter: 10.4 cm, top diameter: 12.3 cm, height: 11 cm) certified for food contact (Fig. 1A), each filled with a 3-cm layer of sand (see above for the grain diameter) and a 3-cm layer of water conditioned and aerated for at least 48 h. For each species separately, three individuals were placed in a container, using 15 containers for the drought treatment and 15 for the control treatment.

In the drought treatment, starting two days after clam introduction, 100 ml of water was removed daily for three consecutive days to simulate drought, finally resulting in the water level drop to the substratum surface. In the control treatment, a constant water level was maintained throughout the experiment by adding aerated and conditioned water.

From the fifth day (immediately when the substratum surface became exposed to air) onwards, clam viability was assessed daily in all replicates. Mortality was recorded visually when an individual was on the surface and its shell was widely open, with no response to tactile stimuli, and confirmed by characteristic odour. Moreover, on each day, all individuals from one replicate per treatment were checked for mortality. They were transferred to separate tanks with water and their viability was evaluated after 24 h, based on siphon extension and/or foot protrusion or shell gaping and ability to close the valves. Based on the total mortality observed with these two approaches pooled, we calculated cumulative numbers and percentages of surviving and dying individuals on each experimental day. The experiment was planned to end after 15 days or earlier, if the total mortality was reached.

Experiment 2: Behavioural response – migration following the water level reduction

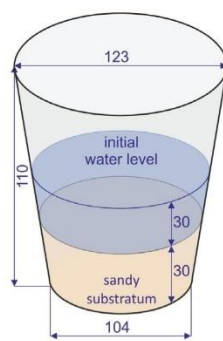
The first part of this experiment was performed in rectangular tanks (bottom: 24 × 12 cm, height: 20 cm; Fig. 1B) filled with a 3-cm layer of sand and a 3-cm layer of water. Each tank was divided into three equal zones using glass partitions. One of the shorter edges (Fig. 1B) of the tanks was elevated by 4.5 cm above the laboratory bench surface to simulate a natural riverbank slope, creating a water depth gradient. Three individuals of a single taxon were introduced near the elevated edge of the tank (upper zone; Fig. 1B). One day after the clam introduction, the glass partitions were removed to enable free migration of the clams. In the drought treatment, 150 ml of water was removed daily for six consecutive days to accelerate the water level reduction. In the control treatment, a constant water level was maintained throughout the experiment duration.

After six days, three distinct substratum zones (Fig. 1B) were identified in the drought treatment:

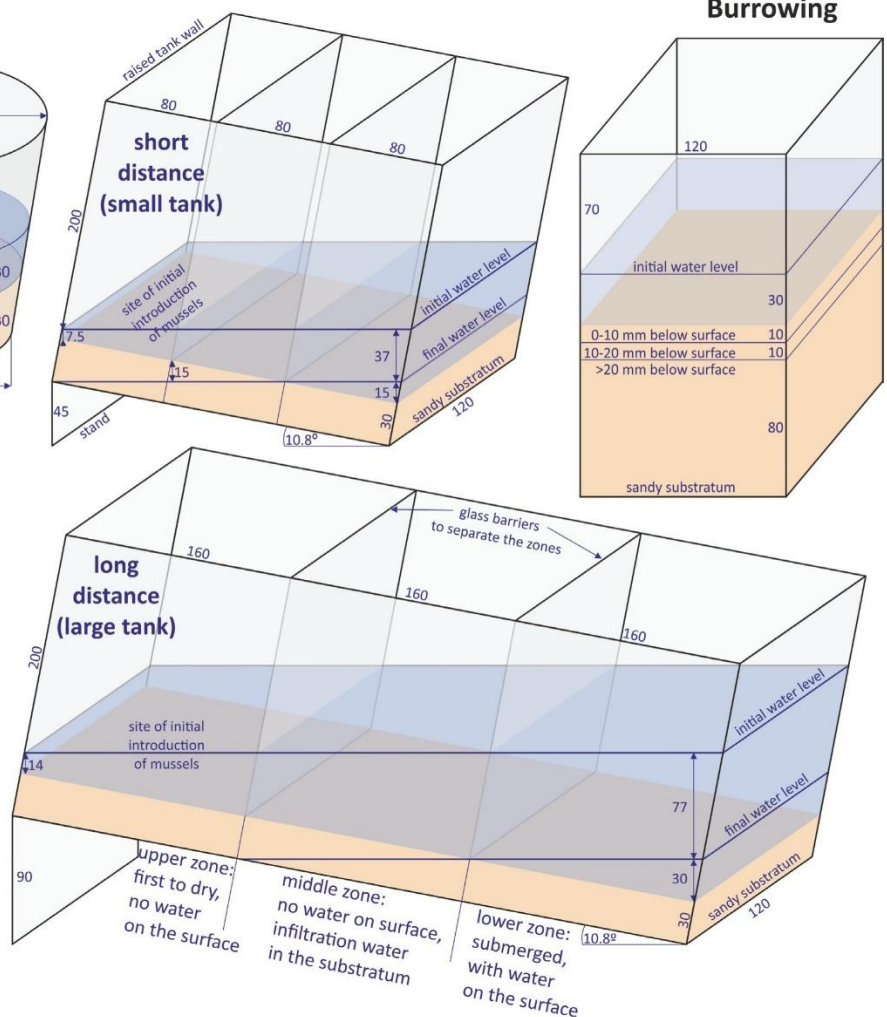
- (i) the upper zone, in the upper part of the slope, first to dry when the water level was dropping;
- (ii) the middle zone, in the middle part of the slope, with infiltration water in the substratum, but no surface water at the end of the experiment;
- (iii) the lower zone, in the lower part of the slope, covered with water until the end of the experiment.

One day after these zones were formed (i.e. on the eighth day of the experiment), the partitions were reinserted, and the position of each clam individual in one of the three zones was recorded. Clam viability was assessed as described in Experiment 1.

A. Experiment 1: Survival



B. Experiment 2: Migrations



C. Experiment 3: Burrowing

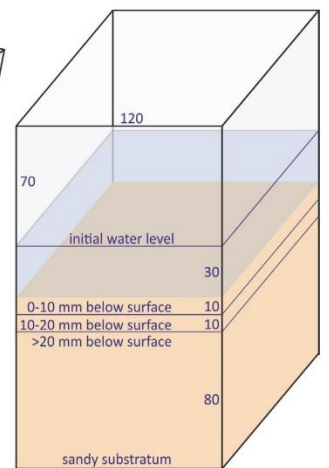


Figure 1. Experimental setups. Dimensions given in mm. The clams were tested on sandy substratum under gradually decreasing water level (drought treatment) or constantly submerged (control treatment) conditions in (i) circular containers (Experiment 1: Survival), (ii) rectangular glass tanks (two sizes) with inclined bottom to imitate a slope of a lake shore or river bank (Experiment 2: Migrations), or (iii) square glass tanks (Experiment 3: Burrowing).

If individuals of a given taxon migrated to the lower zone of the experimental tank (i.e. in the case of *S. rivicola*, see Results), the second part of the migration experiment was conducted in tanks twice as long (Fig. 1B, hereafter the tanks from the first and second part of the experiment are referred to as small and large tanks, respectively) using new individuals, to evaluate the ability of clams to migrate over an extended distance. The tanks were filled with a 3-cm layer of sand and a 6-cm water layer, with one of the shorter edges elevated 90 mm above the laboratory bench surface (Fig. 1B). The procedure remained as described above, except that, because the tank was larger, 300 (instead of 150) ml of water was removed daily to simulate comparable drought conditions. In each part of the experiment (first and second), for each species separately, 15 replicate containers were used for the drought treatment and 15 for the control treatment.

Experiment 3: Behavioural response – burrowing in response to water level reduction

This experiment was conducted in rectangular tanks (bottom: 14 × 14 cm, height: 20 cm) (Fig. 1C) filled with a 10-cm layer of sand and a 3-cm layer of water. Three individuals of a single taxon were placed in each tank (number of tanks: N = 15 per treatment). While in the drought treatment, 125 ml of water was removed daily during three consecutive days to reduce the final water level to the substratum surface, a constant 3-cm water level was maintained throughout the experiment in the control treatment. One day after the water level reached the substratum surface in the drought treatment, the burrowing depth of each individual was assessed. The substratum was divided into ten 1-cm thick horizontal layers and the number of individuals present in each layer was recorded. An individual was classified into the layer in which its umbo was located. Clam viability was assessed as described in Experiment 1.

Abiotic measurements

Abiotic water parameters were measured daily during each experiment. In the drought treatments, measurements were taken only until the water level was sufficient to immerse the probe (Suppl. material 1: table S1). Substratum water content was determined using 5 cm³ of sediment collected from the upper 2-cm layer. Substratum samples were weighed to the nearest 0.001 g before and after drying them in a laboratory oven (Multiserw-Morek SLW 115 STD, Poland) at 105 °C for 24 h (Suppl. material 1: tables S2, S3).

In Experiment 1 (survival during water level reduction and substratum drying), substratum water content was recorded daily in order to identify changes during viability checks of the clams (Suppl. material 1: table S2). In Experiment 2 (behavioural response – migration following the water level reduction), substratum water content was recorded separately for each zone in the drought treatment at the end of the experiment. In the control treatment, measurements were limited to the upper and lower zones, as the water level remained constant (Suppl. material 1: table S3). In Experiment 3 (behavioural response – burrowing in response to water level reduction), substratum water content was measured at the end of the experiment, concurrently with the determination of clams burrowing depth (Suppl. material 1: table S2).

Statistical analysis

In Experiment 1, we modelled clam mortality due to air exposure with a probit regression with a Schneider-Orelli correction for control mortality. We estimated air exposure times of 50 (LT₅₀) and 90% mortality (LT₉₀). The model was built only for *S. rivicola*, as we observed no mortality of *Corbicula* clams during the duration of the experiment. Additionally, to evaluate the rate of sediment drying, we modelled the relationship between substratum water content and exposure time (starting from the first day of substratum air exposure) using a linear regression.

In Experiment 2, for clams responding to decreasing water level on an inclined bottom, as well as for those migrating in the corresponding control tanks, we calculated:

- (1) Percentage of individuals leaving the upper zone:

$$\frac{(Middle\ zone + Lower\ zone) * 100\%}{(Upper\ zone + Middle\ zone + Lower\ zone)}$$

- (2) Percentage of translocating individuals which reached the submerged refuge in the lower zone:

$$\frac{Lower\ zone * 100\%}{(Middle\ zone + Lower\ zone)}$$

where Upper, Middle, and Lower zones represent the total number of clams in these particular tank zones (Fig. 1, Suppl. material 1: fig. S1)

As *Corbicula* clams showed very limited relocation in Experiment 2 (see the Results), we only analysed variables 1–2 for *S. rivicola* locomotion. We applied a Generalized Linear Mixed Model (binomial distribution, logit link function) including treatment (drought and control) and distance (small and large tanks) as fixed factors, and tank as a random factor.

Finally, in Experiment 3, to evaluate the burrowing activity and depth of clams (see Fig. 1C), we calculated:

- (3) Percentage of burrowing individuals:

$$\frac{(Layer1 + Layer2 + Layer3) * 100\%}{(Layer0 + Layer1 + Layer2 + Layer3)}$$

- (4) Percentage of individuals burrowing deeper than 1 cm relative to all burrowing individuals:

$$\frac{(Layer2 + Layer3) * 100\%}{(Layer1 + Layer2 + Layer3)}$$

- (5) Percentage of individuals burrowing deeper than 2 cm relative to all burrowing individuals:

$$\frac{(Layer3) * 100\%}{(Layer1 + Layer2 + Layer3)}$$

where Layers 0–3 represent numbers of clams: Layer 0 – on the surface; Layer 1 – burrowed at a depth < 1 cm; Layer 2 – burrowed at a depth of 1–2 cm; Layer 3 – burrowed at a depth > 2 cm into the substratum (Suppl. material 1: fig. S2).

We analysed variables 3–5 with Generalized Linear Mixed Models (binomial distribution, logit link function). Preliminarily, we planned the models to include species and treatment (drought and control) as fixed factors, and tank as a random

factor. However, as all *Corbicula* individuals burrowed in the substratum (see the Results), variable 3 was tested only for *S. rivicola*. Moreover, as no *S. rivicola* burrowed deeper than 2 cm, variable 5 was tested only for *Corbicula* clams.

Results

Experiment 1: Survival during water level reduction and substratum drying

No mortality of *Corbicula* clams was observed throughout the entire period of air exposure (15 days), even when the substratum water content dropped to 2%. On the other hand, *S. rivicola* clams exhibited 50% mortality after 5.3 days of air exposure (substratum water content: 12%), and 90% mortality after 7.9 days (substratum water content: 8.5%; Fig. 2). *Sphaerium rivicola* mortality in control tanks started to increase since day 5 of air exposure (Fig. 2). Differences in the survival of *S. rivicola* between the drought and control treatments appeared between the 3rd and 4th day of the experiment.

Experiment 2: Behavioural response – migration following the water level reduction

Most *Corbicula* clams remained at their introduction site, i.e. in the upper zone of the inclined tank bottom, irrespective of their exposure to drought (Suppl. material 1: fig. S1). Only two individuals of *Corbicula* clams moved in each experimental treatment (drought and control). Translocation of *S. rivicola* from the upper zone

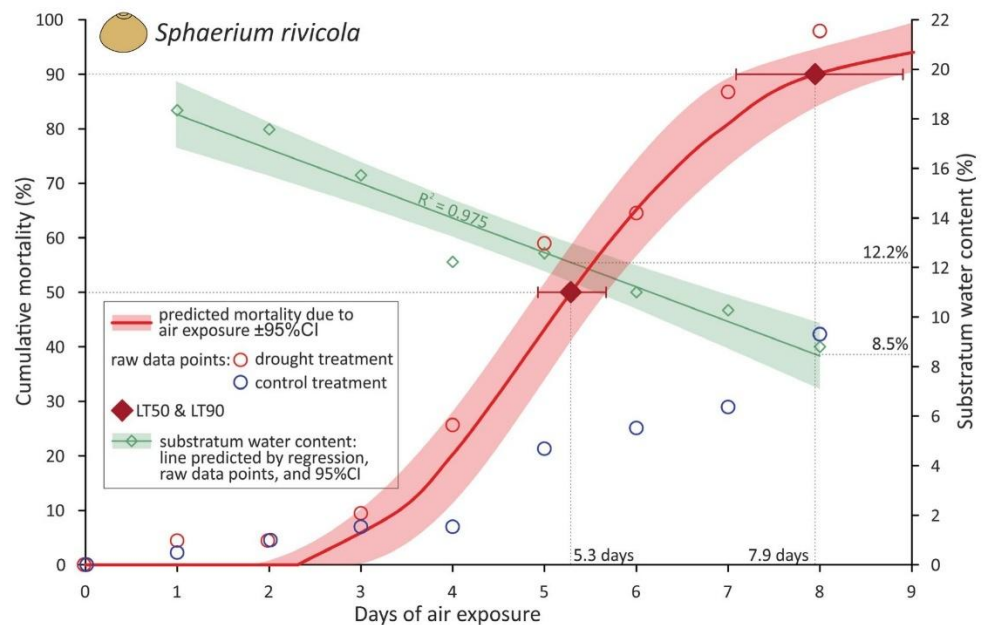


Figure 2. Mortality of *S. rivicola* clams exposed to water level reduction and substratum drying and in control conditions, as well as corresponding substratum water content in Experiment 1. Lines are predicted by the models (corrected for control mortality), shaded areas represent 95% confidence intervals, and symbols stand for raw data points.

depended on distance and drought treatment (Table 1: A). More clams left the upper zone in small tanks (71% of individuals) in the drought treatment (exposed to the water level reduction) compared to large tanks (36%) and control conditions (small control tanks 60%; large control tanks 11%), respectively (Fig. 3). Probability that a crawling clam will reach the lower zone depended on an interaction distance*treatment (Table 1: B). Percentages of migrating clams reaching the lower zone in drought-exposed large tanks, as well as in control and drought-exposed small tanks did not differ from one another (range: 56–75% of individuals). However, no individuals reached the lower zone in large control tanks (Fig. 3).

Experiment 3: Behavioural response – burrowing in response to water level reduction

All *Corbicula* clams burrowed in the sediments, irrespective of their exposure to drought (Suppl. material 1: fig. S2). *Sphaerium rivicola* burrowed significantly more often in control than in drought-exposed tanks with decreasing water level (Table 1: C, Fig. 4, Suppl. material 1: fig. S2). While burrowing *Corbicula* clams more frequently reached depths greater than 1 cm under drought conditions (Fig. 4), *S. rivicola* often burrowed deeper under control conditions (Suppl. material 1: fig. S2), resulting in a significant species × treatment interaction (Table 1: D). *Sphaerium rivicola* never burrowed to a depth higher of 2 cm (Suppl. material 1: fig. S2, Fig. 4), whereas the difference between percentages of *Corbicula* clams reaching this depth was marginally higher in drought-exposed than in control tanks (Table 1: E, Fig. 4).

Table 1. Generalized Linear Mixed Models (binomial distribution) to test the effect of drought (water level reduction) on clam migrations on the inclined bottom in Experiment 2 and clam burrowing in Experiment 3. The initial models also included a random factor tank (not shown: in Experiment 2, the estimated variance of the random effect was near 0 and thus the random term was removed from the final model; in Experiment 3, the random effects were non-significant).

Variable	Effect	F	df	P	Pairwise comparisons		
Experiment 2 ¹							
A. <i>S. rivicola</i> leaving the upper zone	Treatment	8.7	1, 56	0.005*			
	Distance	35.1	1, 56	< 0.001*			
	Interaction	2.2	1, 56	0.146			
B. <i>S. rivicola</i> moving to the lower zone					Distance	Treatment	P
	Treatment	413.4	1, 43	< 0.001*	Large (L)	D vs C	< 0.001*
	Distance	425.1	1, 43	< 0.001*	Small (S)	D vs C	0.181
	Interaction	348.0	1, 43	< 0.001*	L vs S	Drought (D)	0.199
					L vs S	Control (C)	< 0.001*
Experiment 3 ²							
C. <i>S. rivicola</i> burrowing	Treatment	36.4	1, 28	< 0.001*			
D. Both clams species burrowing > 1 cm					Species	Treatment	P
	Treatment	311.5	1, 44	< 0.001*	Csp	D vs C	0.002*
	Distance	191.5	1, 44	< 0.001*	Sr	D vs C	< 0.001*
	Interaction	423.6	1, 44	< 0.001*	Csp vs Sr	Drought (D)	< 0.001*
					Csp vs Sr	Control (C)	< 0.001*
E. <i>Corbicula</i> sp. burrowing > 2 cm	Treatment	4.1	1, 28	0.053			

Asterisks indicate significant effects and differences.

Csp – *Corbicula* clams, Sr – *Sphaerium rivicola*.

Treatment – drought (water level reduction) or control.

¹Experiment 2: Behavioural response – migration following the water level reduction.

²Experiment 3: Behavioural response – burrowing in response to water level reduction.

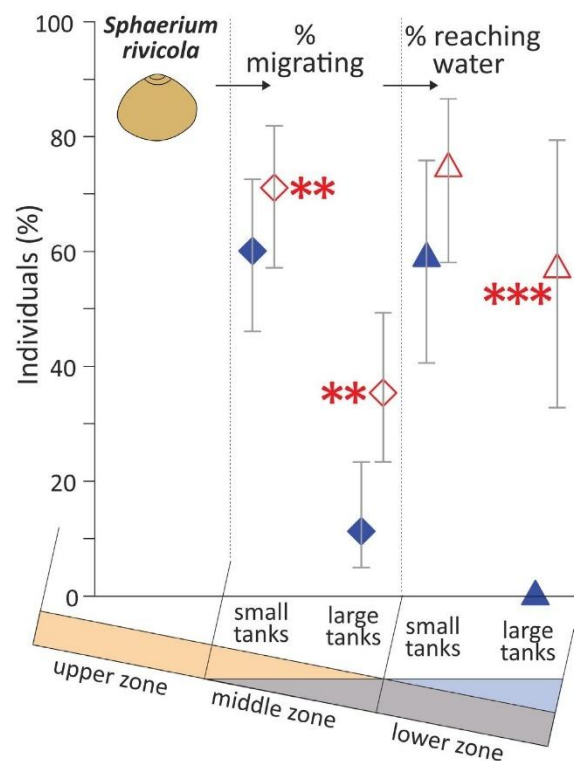


Figure 3. Migrations of *S. rivicola* clams on the inclined bottom exposed to drought (red) or under control conditions (blue) in Experiment 2 (behavioural response – migration following the water level reduction). Data are presented as means predicted by the Generalized Linear Mixed Models with 95% confidence intervals. Diamonds indicate percentages of clams leaving the upper zone, triangles show percentages of relocating clams that managed to reach the lower zone. Asterisks indicate significant differences between the drought and control treatments (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

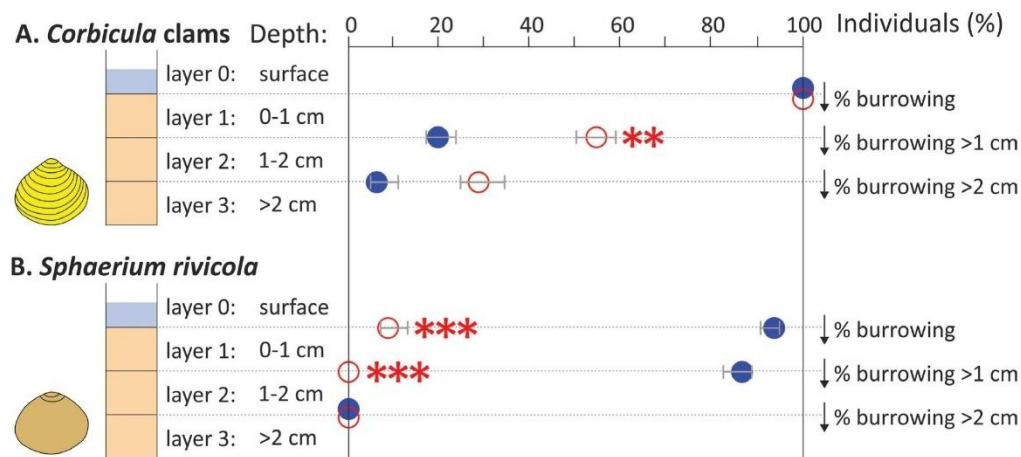


Figure 4. Burrowing of *S. rivicola* and *Corbicula* clams into sandy sediments exposed to drought (water level reduction) (red) or under control conditions (blue) in Experiment 3. Data are presented as means predicted by the Generalized Linear Mixed Models with 95% confidence intervals, except *S. rivicola* at a depth > 2 cm (no individuals reached this depth) and burrowing *Corbicula* (all individuals burrowing). Asterisks indicate significant differences between the drought and control treatments (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

Discussion

Our results show differences in survival, migration and burrowing behaviour between the vulnerable European *S. rivicola* and the invasive *Corbicula* clams when exposed to drought conditions. Under experimental air exposure and substratum drying, *Corbicula* survived longer than *S. rivicola*, supporting Hypothesis 1 on the higher drought resistance of this invader. While the invasive clam (*Corbicula* complex) survived the entire experimental period, *S. rivicola* exhibited 90% mortality after a relatively short period of air exposure, at a substratum water content of 8.5%. Under similar conditions, other taxa, including soft-bodied organisms not protected by hard shells, such as chironomid larvae *Stictochironomus sticticus* (Fabricius, 1781), were still able to survive (Poznańska et al. 2017). These results are consistent with the status of *S. rivicola* as a drought-sensitive species (Collas et al. 2018; Halabowski et al. 2024). The shell of *S. rivicola* is relatively thin-walled and porous (Piechocki and Wawrzyniak-Wydrowska 2016), potentially facilitating faster desiccation of the soft tissues, which would explain its earlier mortality. It should be noted that the control mortality of *S. rivicola* increased from the 5th day of air exposure, thus the results obtained for this species should be treated with care. However, the difference in survival under drought conditions between *S. rivicola* and *Corbicula* clams is striking.

Guareschi and Wood (2020) reported that *Corbicula* clams can survive up to one week of aerial exposure under cool and humid conditions. Byrne et al. (1988) showed that during aerial exposure *Corbicula* clams survived one day at 35 °C, three days at 25 °C and 14 days at 15 °C. In our study, all *Corbicula* clams survived 15 days at an air temperature of approximately 19.5 °C, providing additional evidence of their high tolerance to adverse environmental factors. As reported by Ortmann and Grieshaber (2003), *Corbicula* clams are capable of maintaining valve closure for up to 12 hours due to the ability to reduce the metabolic rate (Ortmann and Grieshaber 2003), which allows them to survive prolonged periods of unfavourable environmental conditions (Ferreira-Rodríguez and Pardo 2016). The high resistance of the invasive *Corbicula* to drought aligns with broader patterns in freshwater invasions, where resilient invaders are able to withstand harsh conditions, under which their native competitors cannot survive. Resistance is species-specific, depending on physiological and morphological differences and, in consequence, different survival strategies (Poznańska et al. 2015; Güler 2020). *Viviparus viviparus* (L.), a prosobranch snail, survived three weeks in dry sand (Poznańska et al. 2015), whereas large unionid mussels can survive over 40 days of air exposure given moist refuges (Güler 2020). Even a small (9 mm in shell height), thin-shelled pulmonate snail *Physa acuta* Draparnaud, 1805, can survive two days in dry, sandy substratum (Gulanicz et al. 2018).

Over the last 50 years, the average duration of hydrological droughts in Central Europe has been about 30 days (Baran-Gurgul and Wałęga 2025). In Poland, one of the longest recent events occurred in 2019, lasting 158 days (Hejduk et al. 2021). During such a prolonged water-level decline, populations of native *S. rivicola* as well as invasive *Corbicula* clams may experience high mortality. According to our results, short drought episodes would also be lethal to the native *S. rivicola*, but not to the invasive *Corbicula* clams. For populations of *S. rivicola* occurring in shallow parts of rivers, survival is only possible during short droughts lasting a few days, with water-level fluctuations not exposing a large part of the bottom, as

successful migrations of this species following the receding water line are limited to short distances. However, *S. rivicola* may also inhabit deeper river sections (Lewin 2014). Such habitats provide an opportunity to withstand even extreme hydrological droughts and subsequently recolonize shallower zones, provided that these niches are not already occupied by other, more resistant bivalves, such as invasive *Corbicula* clams. However, the scenario with *Corbicula* clams acting as earlier colonizers and superior competitors in shallow near-shore areas seems likely given the higher resistance of this taxon to air exposure.

Hypothesis 2 was also supported: the two clams exhibited contrasting behavioural strategies to cope with the water level reduction. *Sphaerium rivicola*, upon water level decrease, migrated downwards towards wetter microhabitats. Migration of this vulnerable species was more pronounced over the shorter distance, as more individuals were able to leave the upper dry zone and reach the wet refuge. Over the longer distance, fewer individuals left the upper zone, although a similar proportion of those that left successfully reached the wet refuge in the lower zone. This suggests that increasing distance to the water refuge limits the effectiveness of migration as a response to water level reduction and indicates the presence of energetic or physiological constraints. The escape strategy, combined with the low resistance of this species to substratum drying, demonstrate that it must find a wet refuge at a short distance and in a short time to avoid death. In contrast, *Corbicula* rarely migrated horizontally; instead, their strategy was to burrow into the moist substratum as the water level decreased. The response of freshwater bivalves to drought is closely linked to their tolerance of adverse conditions. Drought-resistant species, such as *Corbicula*, typically burrow and remain in place until the water level rises again (Gough et al. 2012). They can survive these periods due to several adaptations, including sealing the shell margins with mucus to reduce water loss, lowering metabolic rate and oxygen consumption, and/or tolerance to transient metabolic acidosis (McMahon and Williams 1984; Byrne et al. 1991; Ortmann and Grieshaber 2003; Gough et al. 2012). In contrast, drought-sensitive species, such as *S. rivicola*, which lack such physiological adaptations, emerge from the substratum and remain on its surface, probably due to the developed mechanism of active searching for refugia, such as small residual pools in the riverbed (Gough et al. 2012). This escape seems to be the main behavioural response of this species to drought. However, escaping seems risky compared to the strategy of burrowing in place, as a failure to locate water may hasten mortality due to the additional energetic costs of locomotion.

In the 20th century, droughts occurred more frequently and with greater intensity in the native range of *Corbicula* clams (e.g., Yangtze River Basin) compared to the native range of *S. rivicola* in Central Europe (Laaha et al. 2017; Bai et al. 2024). Therefore, following its introduction to Europe, *Corbicula* clams may now exhibit higher drought tolerance due to historical selection pressure in its native, drought-prone habitats. In contrast, *S. rivicola*, having evolved under milder hydrological conditions, appears less adapted to withstand a prolonged emersion.

More frequent and longer hydrological droughts occurring due to ongoing global change can accelerate shifts in bivalve community composition via differential survival and behaviour, including facilitation of the replacement of more sensitive native species (*S. rivicola*) with more resistant invasive taxa (*Corbicula* clams). Such a phenomenon was observed in an Iberian river with a large population of invasive

Corbicula clams. A population of the native pea clam *Pisidium amnicum* Muller, 1774, experienced a mass mortality during a severe drought in 2005, from which it has never recovered, likely due to *Corbicula* clams that entered its ecological niche (Sousa et al. 2011; Halabowski et al. 2024). Thus, drought events may act as ecological filters, inhibiting vulnerable native species, whereas invasive populations persist or recover quickly. Moreover, the presence of invasive species may prevent the recovery of native populations that would have happened in non-invaded habitats. Our results align with this scenario – the superior desiccation endurance and adaptive behaviour of *Corbicula* clams give it a strong advantage in drought-affected habitats, potentially allowing it to occupy the niche vacated by *S. rivicola*. On the other hand, *Corbicula* populations can experience “boom-bust” dynamics and mass die-offs under extreme conditions (McDowell and Sousa 2019). Nonetheless, under drought conditions, likely to become increasingly frequent with climate change (IPCC 2023), *Corbicula* seems likely to outcompete more sensitive natives or replace them after their extinction due to abiotic stress.

Corbicula clams affect freshwater environments through intensive suspension feeding, bioturbation, and competition for food and space (Geist et al. 2025). Their high filtration activity reduces the availability of trophic resources for native bivalves, leading to decreased condition and inhibited growth (Haag et al. 2021; Robb-Chavez et al. 2022). Bioturbation and the mass accumulation of individuals and their shells alter the structure of bottom sediments, resulting in changed habitat conditions and simplification of benthic assemblages (Werner and Rothhaupt 2007; Labaut et al. 2021). Notably, the presence of empty *Corbicula* shells may physically prevent native mussels from burrowing effectively, forcing them to remain on the surface or occupy suboptimal habitats (Szarmach et al. 2024). Under drought conditions, when the availability and size of submerged refugia are reduced, these interactions may become even more pronounced. Native bivalves remaining in water refugia together with *Corbicula* clams despite their tendency to avoid such habitats may face increased interspecific competition for limited space (Szarmach et al. 2024). Consequently, a drought may intensify the negative effects of *Corbicula* on native bivalves through both habitat limitation and forced coexistence within restricted refugia. As a consequence, displacement of native species, reduced reproductive success, and local population declines are observed, ultimately leading to habitat homogenization and degradation (Sousa et al. 2014; Labaut et al. 2021; Goulder and Wong 2024). Therefore, further studies explicitly addressing interactions between *Corbicula* clams and native bivalves under drought conditions are needed to better understand their combined effects on freshwater communities.

This study has important conservation implications. In the long term, droughts combined with biological invasions can hasten local extinctions of the vulnerable *S. rivicola* and probably also other Sphaeriidae, resulting in losses in biodiversity and ecosystem services. Thus, conservation strategies should take drought-invasion interactions into account. Effective management should involve maintaining minimum flow regimes, creating artificial refuges, and preserving riparian vegetation (shrubs, trees, reeds) that offers shade and reduces substratum drying, thereby protecting vulnerable native bivalves during droughts. Additionally, controlling *Corbicula* spread could reduce competitive pressure, giving the natives a better chance to recover post-drought.

Acknowledgements

Field collections and experiments were conducted with permission from the Regional Directorate for Environmental Protection in Bydgoszcz (permit no. WOP.6401.5.2.2023.MO).

References

- Albertson LK, Sklar LS, Tumolo BB, Cross WF, Collins SF, Woods HA (2024) The ghosts of ecosystem engineers: Legacy effects of biogenic modifications. *Functional Ecology* 38(1): 52–72. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14222>
- Bai W, Zhang C, Xiao X, Zou Z, Liu Z, Li P, Yang J, Hu Y, Wang H, Li X, Liu W, Chen Y, Peng C (2024) Characteristics of meteorological drought evolution in the Yangtze River Basin. *Water* 16(23): 3391. <https://doi.org/10.3390/w16233391>
- Bakshi B, Bouchard Jr RW, Dietz R, Hornbach D, Monson P, Sietman B, Wasley D (2023) Freshwater mussels, ecosystem services, and clean water regulation in Minnesota: Formulating an effective conservation strategy. *Water* 15(14): 2560. <https://doi.org/10.3390/w15142560>
- Baran-Gurgul K, Wałęga A (2025) Seasonal and regional patterns of streamflow droughts in Poland: A 50-year perspective. *Sustainability* 17(16): 7531. <https://doi.org/10.3390/su17167531>
- Byrne RA, McMahon RF, Dietz TH (1988) Temperature and relative humidity effects on aerial exposure tolerance in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. *The Biological Bulletin* 175(2): 253–260. <https://doi.org/10.2307/1541566>
- Byrne RA, Shipman BN, Smatresk NJ, Dietz TH, McMahon RF (1991) Acid-base balance during emergence in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. *Physiological Zoology* 64(3): 748–766. <https://doi.org/10.1086/physzool.64.3.30158205>
- Capon SJ, Stewart-Koster B, Bunn SE (2021) Future of freshwater ecosystems in a 1.5 C warmer world. *Frontiers in Environmental Science* 9: 784642. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.784642>
- Collas FP, Buijse AD, Hendriks AJ, van der Velde G, Leuven RS (2018) Sensitivity of native and alien freshwater bivalve species in Europe to climate-related environmental factors. *Ecosphere* 9(5): e02184. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2184>
- Cooke SJ, Galassi DM, Gillanders BM, Landsman SJ, Hammerschlag N, Gallagher AJ, Eliason EJ, Kraft CE, Taylor MK, Crisafulli CM, Shugar DH, Lennox RJ (2022) Consequences of “natural” disasters on aquatic life and habitats. *Environmental Reviews* 31(1): 122–140. <https://doi.org/10.1139/er-2022-0050>
- Cosgrove P, Shields D, Anderson D, Massey K, Cosgrove C, Sime I (2022) The impact of a drought on key freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* populations in Scotland. *Journal of Conchology* 44(3): 241–255.
- Crausbay SD, Ramirez AR, Carter SL, Cross MS, Hall KR, Bathke DJ, Betancourt JL, Colt S, Cravens AE, Dalton MS, Dunham JB, Hay LE, Hayes MJ, McEvoy J, McNutt CA, Moritz MA, Nislow KH, Raheem N, Sanford T (2017) Defining ecological drought for the twenty-first century. *Bulletin of the American Meteorological Society* 98(12): 2543–2550. <https://doi.org/10.1175/BAMS-D-16-0292.1>
- Cushway KC, Geist J, Schwalb AN (2025) Surviving global change: a review of the impacts of drought and dewatering on freshwater mussels. *Biological Reviews* 100(1): 275–307. <https://doi.org/10.1111/brev.13142>
- Diwan V (2025) The impacts of drought on the available water quality. In *Water Sustainability and Hydrological Extremes*, 255–274. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-21499-8.00013-1>
- DuBose TP, Atkinson CL, Vaughn CC, Golladay SW (2019) Drought-induced, punctuated loss of freshwater mussels alters ecosystem function across temporal scales. *Frontiers in Ecology and Evolution* 7: 274. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00274>

- Dudgeon D, Strayer DL (2025) Bending the curve of global freshwater biodiversity loss: what are the prospects?. *Biological Reviews* 100(1): 205–226. <https://doi.org/10.1111/brv.13137>
- Ferreira-Rodríguez N, Pardo I (2016) An experimental approach to assess *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) resistance to osmotic stress in estuarine habitats. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 176: 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.04.017>
- Geist J, Benedict A, Dobler AH, Hoess R, Hoos P (2025) Functional interactions of non-native aquatic fauna with European freshwater bivalves: implications for management. *Hydrobiologia* 852(5): 1397–1419. <https://doi.org/10.1007/s10750-022-05121-2>
- Gosling SN, Arnell NW (2016) A global assessment of the impact of climate change on water scarcity. *Climatic Change* 134: 371–385. <https://doi.org/10.1007/s10584-013-0853-x>
- Gough HM, Gascho Landis AM, Stoeckel JA (2012) Behaviour and physiology are linked in the responses of freshwater mussels to drought. *Freshwater Biology* 57(11): 2356–2366. <https://doi.org/10.1111/fwb.12015>
- Goulder KD, Wong WH (2024) Chemical treatments on invasive bivalve, *Corbicula fluminea*. *Animals* 14(12): 1789. <https://doi.org/10.3390/ani14121789>
- Guareschi S, Wood PJ (2020) Exploring the desiccation tolerance of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* (Müller 1774) at different temperatures. *Biological Invasions* 22(9): 2813–2824. <https://doi.org/10.1007/s10530-020-02291-9>
- Gulanicz T, Kobak J, Poznańska-Kakareko M (2018) Effects of water level fluctuations and substratum drying on the survival and behaviour of the invasive freshwater snail *Physa acuta* Draparnaud, 1805. *Marine and Freshwater Research* 69(9): 1389–1396. <https://doi.org/10.1071/MF17349>
- Güler M (2020) Survival durations and behavioural adjustments of two freshwater bivalves (*Unio terminalis*, Unionida and *Corbicula fluminea*, Venerida) under two emersion conditions. In *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 56: 29. [EDP Sciences] <https://doi.org/10.1051/limn/2020027>
- Haag WR, Culp J, Drayer AN, McGregor MA, White DE, Price SJ (2021) Abundance of an invasive bivalve, *Corbicula fluminea*, is negatively related to growth of freshwater mussels in the wild. *Freshwater Biology* 66(3): 447–457. <https://doi.org/10.1111/fwb.13651>
- Halabowski D, Sousa R, Lopes-Lima M, Killeen I, Aldridge DC, Zajac K, Mageroy JH, Cossey DA, Urbańska M, Österling M, Prić V (2024) Off the conservation radar: the hidden story of Europe's tiny pea clams (Bivalvia: Sphaeriidae). *Biodiversity and Conservation*, 1–15. <https://doi.org/10.1007/s10531-024-02921-x>
- Hejduk L, Kaznowska E, Wasilewicz M, Hejduk A (2021) Hydrological droughts in the Białowieża primeval forest, Poland, in the years 1951–2020. *Forests* 12(12): 1744. <https://doi.org/10.3390/f12121744>
- IPCC (2023) *Climate Change 2023: Impacts, adaptation and vulnerability. Contribution of working group II to the sixth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press. <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg2/> [Accessed: 15 May 2025]
- Laaha G, Gauster T, Tallaksen LM, Vidal JP, Stahl K, Prudhomme C, Hisdal H, Vinha J, Hanaford J, Fendekova M, Blanco C, Förster H, Delus C, Mediero L, Van Lanen HAJ, Barker LJ, Iglesias A, Toumazis AD, Wong WK (2017) The European 2015 drought from a hydrological perspective. *Hydrology and Earth System Sciences* 21(6): 3001–3024. <https://doi.org/10.5194/hess-21-3001-2017>
- Labaut Y, Macchi PA, Archuby FM, Darrigran G (2021) Homogenization of macroinvertebrate assemblages and Asiatic clam *Corbicula fluminea* invasion in a river of the arid Patagonian plateau, Argentina. *Frontiers in Environmental Science* 9: 728620. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.728620>
- Lewin I (2014) Mollusc communities of lowland rivers and oxbow lakes in agricultural areas with anthropogenically elevated nutrient concentration. *Folia Malacologica* 22(2). <https://doi.org/10.12657/folmal.022.012>

- Lopez JW, DuBosen TP, Franzen AJ, Atkinson CL, Vaughn CC (2022) Long-term monitoring shows that drought sensitivity and riparian land use change coincide with freshwater mussel declines. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 32(10): 1571–1583. <https://doi.org/10.1002/aqc.3884>
- Machuca-Sepúlveda J, López M, Fierro P, Beltrán JF, Norambuena JA, Oliveira RPS, Zamorano M, Farias JG (2024) Ecological responses of freshwater macroinvertebrates to augmented drought: A literature review and projections. *Ecological Indicators* 164: 112153. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2024.112153>
- McDowell WG, Sousa R (2019) Mass mortality events of invasive freshwater bivalves: current understanding and potential directions for future research. *Frontiers in Ecology and Evolution* 7: 331. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00331>
- McMahon RF, Williams CJ (1984) A unique respiratory adaptation to emersion in the introduced Asian freshwater clam *Corbicula fluminea* (Müller) (Lamellibranchia: Corbiculacea). *Physiological Zoology* 57(2): 274–279. <https://doi.org/10.1086/physzool.57.2.30163713>
- Modesto V, Dias E, Ilarri M, Lopes-Lima M, Teixeira A, Varandas S, Castro P, Antunes C, Sousa R (2021) Trophic niche overlap between native freshwater mussels (Order: Unionida) and the invasive *Corbicula fluminea*. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 31(8): 2058–2071. <https://doi.org/10.1002/aqc.3618>
- Ortmann C, Grieshaber MK (2003) Energy metabolism and valve closure behaviour in the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Journal of Experimental Biology* 206(22): 4167–4178. <https://doi.org/10.1242/jeb.00656>
- Ortmann C, Grieshaber MK (2003) Energy metabolism and valve closure behaviour in the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Journal of Experimental Biology* 206(22): 4167–4178. <https://doi.org/10.1242/jeb.00656>
- Piechocki A, Wawrzyniak-Wydrowska B (2016) Guide to freshwater and marine mollusca of Poland. Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań.
- Poznańska M, Kakareko T, Gulanicz T, Jermacz Ł, Kobak J (2015) Life on the edge: survival and behavioural responses of freshwater gill-breathing snails to declining water level and substratum drying. *Freshwater Biology* 60(11): 2379–2391. <https://doi.org/10.1111/fwb.12664>
- Poznańska M, Werner D, Jabłońska-Barna I, Kakareko T, Ung Duong K, Dzierżyńska-Białończyk A, Kobak J (2017) The survival and behavioural responses of a near-shore chironomid and oligochaete to declining water levels and sandy substratum drying. *Hydrobiologia* 788: 231–244. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-3000-7>
- Pozojević I, Dorić V, Miliša M, Ternjej I, Ivković M (2023) Defining patterns and rates of natural vs. drought driven aquatic community variability indicates the ongoing need for long term ecological research. *Biology* 12(4): 590. <https://doi.org/10.3390/biology12040590>
- Prié V, Lopes-Lima M (2024) *Sphaerium rivicola* (Europe assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2024: e.T155853A212998703. <https://doi.org/10.2305/iucn.uk.2024-1.rlts.t155853a212998703.en> [Accessed on 13 May 2025]
- Robb-Chavez SB, Bollens SM, Rollwagen-Bollens G, Counihan TD (2022) BROADSCALE DISTRIBUTION, ABUNDANCE, AND HABITAT ASSOCIATIONS OF THE INVASIVE ASIAN CLAM (*CORBICULA FLUMINEA*) IN THE LOWER COLUMBIA RIVER, USA. *International Review of Hydrobiology* 107(5–6): 179–195. <https://doi.org/10.1002/iroh.202202134>
- Rozbicka K, Rozbicki T (2023) Summer weather perception and preferences in Powsin Culture Park (Warsaw, Poland). *International Journal of Biometeorology* 67(5): 793–805. <https://doi.org/10.1007/s00484-023-02455-x>
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW (2012) NIH image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* 9: 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>

- Sousa R, Ilarri M, Souza AT, Antunes C, Guilhermino L (2011) Rapid decline of the greater European peacclam at the periphery of its distribution. *International Journal of Limnology* 47(3): 211–219. <https://doi.org/10.1051/limn/2011041>
- Sousa R, Novais A, Costa R, Strayer DL (2014) Invasive bivalves in fresh waters: impacts from individuals to ecosystems and possible control strategies. *Hydrobiologia* 735(1): 233–251. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1409-1>
- Stanicka A, Kobak J, Hildebrand J, Cichy A, Wiśniewski K, Szarmach D, Lesiak K, Urbaniak J, Augustyniak M, Dlouhy Z, Graczyk S, Grzeczka A, Kowaleska Z, Lewalska M, Lichocka K, Terebiński S, Wiśniewska A, Żbikowska E, Poznańska-Kakareko M (2025) Many evils are worse than one: an interplay between invasive biofoulers and parasites helps predict the future of an endangered freshwater fingernail clam. *Freshwater Biology* 70: e70125. <https://doi.org/10.1111/fwb.70125>
- Stocks JR, McCaffrey SL (2025) Mind the gap: flow recession mortality of the river mussel *Alathyria jacksoni* revealed from acoustic detection gaps. *Animal Biotelemetry* 13(1): 17. <https://doi.org/10.1186/s40317-025-00412-6>
- Szarmach D, Wiśniewski K, Kobak J, Kakareko T, Labecka AM, Sousa R, Poznańska-Kakareko M (2023) Differences in substratum preferences and behaviour within the invasive *Corbicula* species complex. *Freshwater Biology* 68(9): 1489–1502. <https://doi.org/10.1111/fwb.14142>
- Szarmach D, Wiśniewski K, Kobak J, Lichocka K, Kakareko T, Sousa R, Poznańska-Kakareko M (2024) Impact of habitat engineering by invasive *Corbicula* clams on native European unionid mussels. *Science of The Total Environment*: 174764. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174764>
- Van Damme D (2011) *Sphaerium rivicola*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T155853A4855157. <https://doi.org/10.2305/iucn.uk.2011-2.rlts.t155853a4855157.en> [Accessed on 13 May 2025]
- Vasilieva L, Shevchuk L, Bylyna L, Herasymchuk O, Polishchuk I, Dienichieva O (2025) Assessing the state of freshwater bottom malacofauna (Mollusca: Bivalvia: Sphaeriidae) in the Prypiat sub-basin in the context of aquatic ecosystem sustainability. *Ecological Engineering & Environmental Technology* 26(3): 330–337. <https://doi.org/10.12912/27197050/200365>
- Werner S, Rothhaupt KO (2007) Effects of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* on settling juveniles and other benthic taxa. *Journal of the North American Benthological Society* 26(4): 673–680. <https://doi.org/10.1899/07-017R.1>

Supplementary material 1

Clams running dry: Hydrological drought and survival strategies of European native *Sphaerium rivicola* and Asian non-native *Corbicula* complex

Authors: Daniel Szarmach, Katarzyna Lichocka, Jarosław Kobak, Aleksandra Bomba, Alicja Krzeszowiak, Sebastian Terebiński, Kamil Wiśniewski, Małgorzata Poznańska-Kakareko

Data type: docx

Explanation note: **table S1.** Mean abiotic water parameters in stock and experimental tank. **table S2.** Mean and standard deviation substratum water content in Experiment 1 and 3. **table S3.** Mean and standard deviation substratum water content (%) in various substratum zones in Experiment 2. **figure S1.** Percentages (means with 95% confidence intervals) of *S. rivicola* and *Corbicula* clams occupying particular zones of the inclined bottom of drought-exposed and control tanks in Experiment 2 (behavioural response - migration following the water level reduction). **figure S2.** Percentages (means with 95% confidence intervals) of *S. rivicola* and *Corbicula* clams occupying particular sediment layers in drought-exposed and control tanks in Experiment 3 (behavioural response – burrowing in response to water level reduction).

Copyright notice: This dataset is made available under the Open Database License (<http://opendatacommons.org/licenses/odbl/1.0/>). The Open Database License (ODbL) is a license agreement intended to allow users to freely share, modify, and use this Dataset while maintaining this same freedom for others, provided that the original source and author(s) are credited.

Link: <https://doi.org/10.3897/neobiota.107.176248.suppl1>

Additional information

Conflict of interest

The authors have declared that no competing interests exist.

Ethical statement

No ethical statement was reported.

Artificial Intelligence (AI) use

The authors accept full responsibility for the content of the manuscript, including the disclosure of any use of AI.
No AI tools were used in the preparation of this manuscript.

Funding

This study was financed from internal funds by the Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Poland.

Author contributions

DS: conceptualisation, methodology, resources, investigation, formal analysis, validation, visualisation, writing – original draft, writing – review and editing. KL: resources, investigation, writing – review and editing.

JK: methodology, investigation, validation, formal analysis, data curation, visualization, writing – review and editing. AB: resources, investigation, writing – review and editing. AK: resources, investigation, writing – review and editing. ST: resources, investigation, writing – review and editing. KW: resources, investigation, writing – review and editing. MPK: conceptualization, methodology, validation, formal analysis, supervision, project administration, writing – review and editing.

Author ORCIDs

D. Szarmach  <https://orcid.org/0000-0002-1362-3165>
J. Kobak  <https://orcid.org/0000-0001-7660-9240>
A. Bomba  <https://orcid.org/0009-0002-4499-5209>
A. Krzeszowiak  <https://orcid.org/0009-0005-7896-7339>
K. Wiśniewski  <https://orcid.org/0000-0002-3220-5866>
M. Poznańska-Kakareko  <https://orcid.org/0000-0001-7224-3093>

Data availability

All of the data that support the findings of this study are available in the main text or Supplementary Information.

Supplementary material 1

Title: Clams running dry: greater drought tolerance in the non-native Asian clam (*Corbicula* complex) than in the native European *Sphaerium rivicola*

Authors: Daniel Szarmach^{1*}, Katarzyna Lichocka¹, Jarosław Kobak¹, Aleksandra Bomba¹, Alicja Krzeszowiak¹, Sebastian Terebiński¹, Kamil Wiśniewski¹, Małgorzata Poznańska-Kakareko¹

¹ Nicolaus Copernicus University in Toruń, Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Department of Invertebrate Zoology and Parasitology, Lwowska 1, 87-100, Toruń, Poland

* Corresponding author: e-mail: szarmach.daniel@umk.pl

Table of contents

Table S1. Mean abiotic water parameters in stock and experimental tanks (standard deviations in parentheses). Numbers correspond to the three experiments conducted. Small / Large – tanks 24/48 cm in length.

Table S2. Mean and standard deviation (in parentheses) substratum water content in Experiment 1 (survival during water level reduction and substratum drying) and 3 (behavioural response – burrowing in response to water level reduction) (see Fig. 1 for details). *The final water content was determined after 8 days of treatment for *S. rivicola* and after 15 days for *Corbicula* clams.

Table S3. Mean and standard deviation (in parentheses) substratum water content (%) in various substratum zones in Experiment 2 (behavioural response - migration following the water level reduction) (see Fig. 1 for details).

Figure S1. Percentages (means with 95% confidence intervals) of *S. rivicola* and *Corbicula* clams occupying particular zones of the inclined bottom of drought-exposed and control tanks in Experiment 2 (behavioural response - migration following the water level reduction).

Figure S2. Percentages (means with 95% confidence intervals) of *S. rivicola* and *Corbicula* clams occupying particular sediment layers in drought-exposed and control tanks in Experiment 3 (behavioural response – burrowing in response to water level reduction).

Table S1. Mean abiotic water parameters in stock and experimental tanks (standard deviations in parentheses). Numbers correspond to the three experiments conducted. Small / Large – tanks 24/48 cm in length.

Experiment	Treatment	Oxygen concentration n [mg/L]	Oxygen saturation [%]	Temperature [°C]	pH	Conductivity [μS cm ⁻¹]
¹ Survival	control	9.1 (0.4)	101.3 (3.8)	19.9 (0.3)	8.1 (0.2)	788 (38)
¹ Survival	drought	9.1 (0.2)	101.9 (2.8)	20.0 (0.4)	8.2 (0.1)	782 (58)
² Migration	small tanks / control	9.2 (0.2)	101.6 (2.6)	19.7 (0.3)	8.1 (0.1)	666 (122)
² Migration	small tanks / drought	9.0 (0.4)	101.5 (3.5)	19.9 (0.4)	8.8 (0.7)	602 (50)
² Migration	large tanks / control	8.2 (0.5)	92.6 (3.5)	19.5 (0.3)	8.5 (0.0)	614 (17)
² Migration	large tanks / drought	7.7 (0.5)	87.0 (14.5)	19.7 (0.6)	8.4 (0.0)	616 (29)
³ Burrowing	control	7.5 (0.7)	88.8 (6.0)	20.4 (0.8)	8.5 (0.1)	735 (84)
³ Burrowing	drought	7.0 (0.1)	89.0 (1.0)	20.1 (0.3)	8.4 (0.0)	754 (11)

Table S2. Mean and standard deviation (in parentheses) substratum water content in Experiment 1 (survival during water level reduction and substratum drying) and 3 (behavioural response – burrowing in response to water level reduction) (see Fig. 1 for details). *The final water content was determined after 8 days of treatment for *S. rivicola* and after 15 days for *Corbicula* clams.

Experiment	Clams	Treatment	Initial water content [%]	Final water content [%]*
¹ Survival	<i>S. rivicola</i>	control	21.8	³ 17.7
	<i>S. rivicola</i>	drought	18.3	³ 8.1
	<i>Corbicula</i>	control	21.5	18.9
	<i>Corbicula</i>	drought	19.5	2.1
² Burrowing	<i>S. rivicola</i>	control	-	20.4 (0.9)
	<i>S. rivicola</i>	drought	-	17.1 (1.7)
	<i>Corbicula</i>	control	-	19.4 (1.0)
	<i>Corbicula</i>	drought	-	16.6 (1.8)

Table S3. Mean and standard deviation (in parentheses) substratum water content (%) in various substratum zones in Experiment 2 (behavioural response - migration following the water level reduction) (see Fig. 1 for details).

Tanks	Clams	Treatment	Upper zone ¹	Middle zone ²	Lower zone ³
Small	<i>S. rivicola</i>	control	20.8 (1.0)	-	20.7 (0.3)
	<i>S. rivicola</i>	drought	18.8 (1.7)	19.2 (1.3)	19.8 (1.1)
	<i>Corbicula</i>	control	20.1 (0.3)	-	20.3 (1.4)
	<i>Corbicula</i>	drought	19.8 (0.3)	20.1 (1.3)	20.5 (0.5)
Large	<i>S. rivicola</i>	control	19.3 (2.5)	-	20.1 (0.6)
	<i>S. rivicola</i>	drought	18.8 (0.6)	19.1 (0.9)	19.7 (0.3)

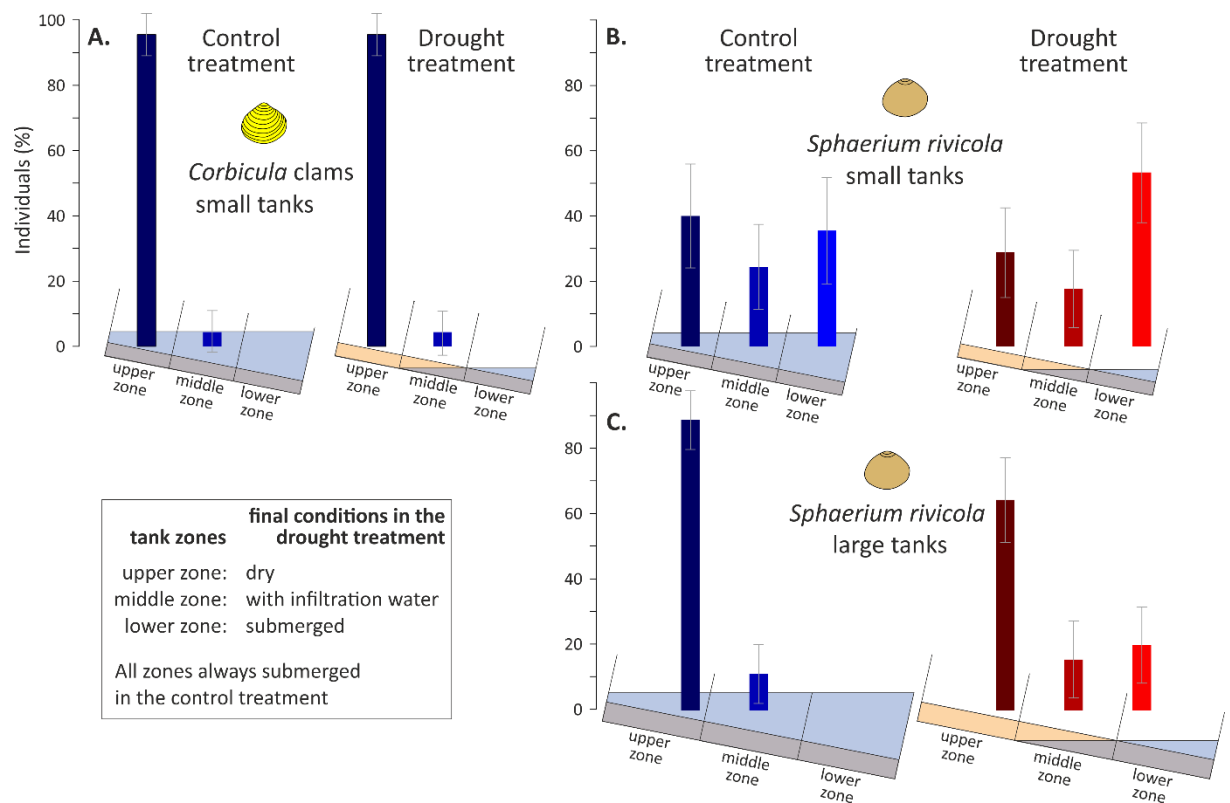


Figure S1. Percentages (means with 95% confidence intervals) of *S. rivicola* and *Corbicula* clams occupying particular zones of the inclined bottom of drought-exposed and control tanks in Experiment 2 (behavioural response - migration following the water level reduction).

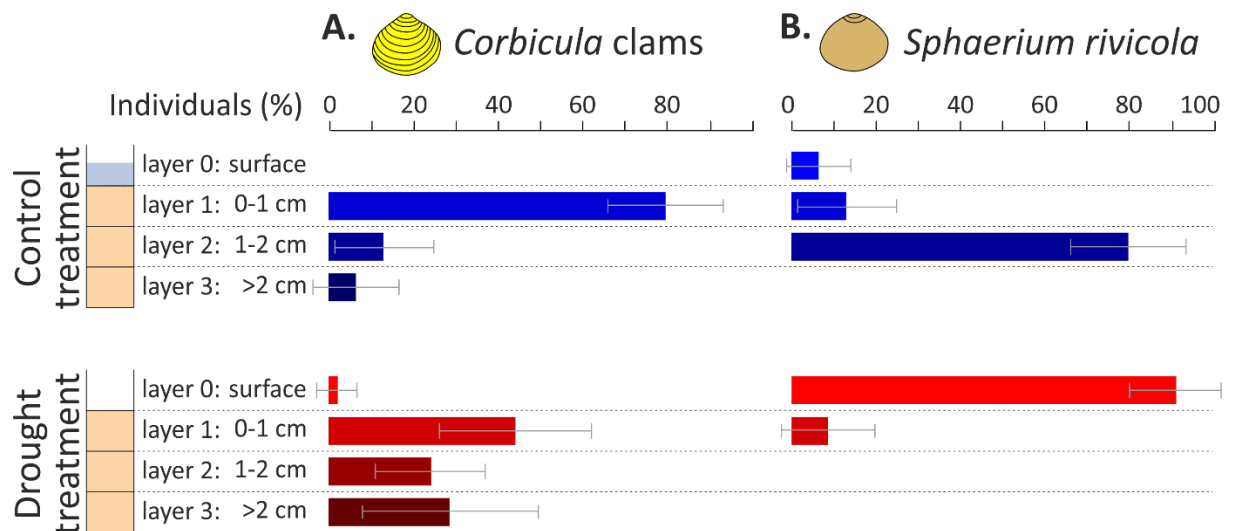


Figure S2. Percentages (means with 95% confidence intervals) of *S. rivicola* and *Corbicula* clams occupying particular sediment layers in drought-exposed and control tanks in Experiment 3 (behavioural response – burrowing in response to water level reduction).

9. Podsumowanie osiągnięć naukowych

Publikacje niewłączone w rozprawę doktorską

- Kobak, J., Wiśniewski, K., Bomba, A., **Szarmach, D.**, Balogh, C., Jermacz, Ł., Poznańska-Kakareko, M. (2026). Congener dreissenid mussels differ in their survival and behavioral responses to drought and immersion in sediments. *Integrative Zoology*, 1–11. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.70123> (Q1 in Zoology; IF 2024: 3,7).
- Stanicka, A., Kobak, J., Hildebrand, J., Cichy, A., Wiśniewski, K., **Szarmach, D.**, Lesiak, K., Urbaniak, J., Augustyniak, M., Dlouhy, Z., Graczyk, S., Grzeczka, A., Kowaleska, Z., Lewalska, M., Lichocka, K., Terebiński, S., Wiśniewska, A., Żbikowska, Ż, Poznańska-Kakareko M. (2025). Many evils are worse than one: an interplay between invasive biofoulers and parasites helps predict the future of an endangered freshwater fingernail clam. *Freshwater Biology*, 70(11), e70125. <https://doi.org/10.1111/fwb.70125> (Q1 in Marine & Freshwater Biology; IF 2024: 2,7).
- Wiśniewski, K., **Szarmach, D.**, Kobak, J., Kakareko, T., Jermacz, Ł., & Poznańska-Kakareko, M. (2024). Dead or alive: the effect of shells and living individuals of *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) on habitat selection and behaviour of European unionid bivalves. *NeoBiota*, 94, 243-259. <https://doi.org/10.3897/neobiota.94.119622> (Q1 in Biodiversity Conservation; IF 2024: 3,0).
- Wiśniewski, K., Balogh, C., Kobak, J., **Szarmach, D.**, Jermacz, Ł., & Poznańska-Kakareko, M. (2024). Native and non-native unionids respond differently to the presence of fouling dreissenid mussels. *NeoBiota*, 96, 1-18. <https://doi.org/10.3897/neobiota.96.130198> (Q1 in Biodiversity Conservation; IF 2024: 3,0).
- **Szarmach, D.**, Wiśniewski, K., Kobak, J., Kakareko, T., Labecka, A. M., Sousa, R., & Poznańska-Kakareko, M. (2023). Differences in substratum preferences and behaviour within the invasive *Corbicula* species complex. *Freshwater biology*, 68(9), 1489-1502. <https://doi.org/10.1111/fwb.14142> (Q1 in Marine & Freshwater Biology; IF 2023: 2,8).
- Poznańska-Kakareko, M., Wiśniewski, K., **Szarmach, D.**, Witkowska, A., Kakareko, T., & Kobak, J. (2021). Importance of substratum quality for potential

- competitive niche overlap between native and invasive unionid mussels in Europe. *Science of The Total Environment*, 799, 149345. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149345> (Q1 in Environmental Sciences; IF 2021: 10,75).
- Wiśniewski, K., **Szarmach, D.**, & Poznańska-Kakareko, M. (2020). The role of abiotic and biotic factors in interspecific competition of Polish crayfish – comprehensive literature review. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 49(4), 428-441. <https://doi.org/10.1515/ohs-2020-0038> (Q4 in Oceanography; IF 2020: 0,82).
 - Wiśniewski, K., Kobak, J., **Szarmach, D.**, Augustyniak, M., Kakareko, T., Poznańska-Kakareko, M. (w drugiej turze recenzji w czasopiśmie *Biological Invasions*). Invasive signal crayfish differently affects invasive and native unionid mussels. (Q2 in Biodiversity Conservation; IF 2024: 2,6)

Udział w konferencjach

- Autor referatu: 13
- Autor plakatu: 2

Granty

- 2022 – Grant pt: „Wpływ inwazyjnych małży z rodzaju *Corbicula* na rodzime europejskie małże z rodziny Unionidae” finansowany przez Ministerstwo Edukacji i Nauki (grant nr SKN/SP/535748/2022, **kierownik: Daniel Szarmach**, opiekun: Małgorzata Poznańska-Kakareko).
- 2021 – Grant indywidualny pt.: „Effects of the presence of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) on the native European mussel *Unio tumidus* Philipsson, 1788” finansowany z programu Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza (IDUB) Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (grant nr 33/2021, **kierownik: Daniel Szarmach**, opiekun: Małgorzata Poznańska-Kakareko).
- 2023-2024 – Grant zespołowy pt.: „Behavioural response of selected Unionidae bivalves to the direct and indirect presence of invasive crayfish-predators” finansowany z programu Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza (IDUB) Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (grant nr 191/2023, kierownik: Kamil Wiśniewski, **wykonawca: Daniel Szarmach**, opiekun: Małgorzata Poznańska-Kakareko).

Staże, szkolenia i kursy

- 14.08.-10.09.2023 – staż naukowy w Balaton Limnological Research Institute (Tihany, Węgry) pod opieką dr Csilla Balogh, realizacja projektu „Effects of fouling by invasive *Dreissena rostriformis bugensis* and *D. polymorpha* on the behaviour of *Corbicula* clams: a laboratory experiment”.
- 14-15.03.2023 – staż naukowy w Katedrze Zoologii Bezkręgowców i Hydrobiologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego pod opieką dr. Grzegorza Tończyka dotyczący morfologicznej identyfikacji małży z rodziny Sphaeriidae.
- 10-11.2022 – staż naukowy w Instytucie Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego pod opieką dr Anny Marii Łabęckiej dotyczący morfologicznej identyfikacji inwazyjnych małży z rodzaju *Corbicula*.
- 19.09.-02.10.2022 – staż naukowy w Balaton Limnological Research Institute (Tihany, Węgry) pod opieką dr Csilla Balogh, realizacja projektów: „Differences in fouling by *D. bugensis* and *D. polymorpha* on living *Corbicula* individuals and their shells (laboratory experiment)”, „Fouling of dreissenid mussels on *Corbicula* clams in Lake Balaton (field survey)” oraz „The effect of fouling of *Dreissena polymorpha* and *D. rostriformis bugensis* on horizontal locomotion and burrowing of native *Unio tumidus* and invasive *Sinanodonta woodiana*”, oraz „Fouling of dreissenid mussels on *Unio tumidus* and *Sinanodonta woodiana* in Lake Balaton (field survey)”.
- 2019-2020 – Szkolenie dla osób uczestniczących i wykonujących procedury z wykorzystaniem zwierząt oraz osób sprawujących opiekę nad zwierzętami doświadczalnymi.
- 23-25.05.2019 – Kurs barkodingu DNA. Przygotowanie materiału badawczego w laboratorium (izolacja, amplifikacja DNA) i analiza wyników.

Nagrody i wyróżnienia

- Indywidualna nagroda Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w 2026 roku, za osiągnięcia dydaktyczne w roku 2025.
- Zespołowa nagroda Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu I stopnia w 2025 roku, za osiągnięcia naukowe w roku 2024.
- Drugie miejsce w konkursie na najlepszą pracę magisterską na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK w Toruniu w roku akademickim 2019/2020.

- Stypendium Rektora UMK w Toruniu dla najlepszych studentów w roku akademickim 2019/2020.

Pozostała aktywność

- Asystent (pracownik naukowo-dydaktyczny) w Katedrze Zoologii Bezkręgowców i Parazytologii WNBiW UMK w Toruniu od października 2024 roku.
- Opiekun stacji terenowej w Dobiegniewie WNBiW UMK w Toruniu od wiosny 2026.
- Sekretarz Sekcji Bentologicznej Polskiego Towarzystwa Hydrobiologicznego od 27.06.2025 roku.
- Członek Polskiego Towarzystwa Hydrobiologicznego i Stowarzyszenia Malakologów Polskich od 2022 roku.
- Opiekun Sekcji Hydrobiologii i Ichtiologii Studenckiego Koła Naukowego Biologów od 2024 roku.
- Prezes Zarządu Studenckiego Koła Naukowego Biologów w latach 2023-2024.
- Członek Sekcji Hydrobiologii i Ichtiologii Studenckiego Koła Naukowego Biologów w latach 2017-2024.