

## **НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА**

На VI редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 15.05.2020. године, на основу молбе ментора, др Вере Николић, ванредног професора Универзитета у Београду - Биолошког факултета и др Маје Раковић, научног сарадника Универзитета у Београду, Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ - Института од националног значаја, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Николе С. Маринковића, истраживача сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ под насловом: „Таксономска диференцијација, диверзитет и дистрибуција врста подреда Eprobdeiformes (Hirudinea; Annelida) подручја западног Балкана“, у саставу:

1. др Маја Раковић, научни сарадник, Универзитет у Београду, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Институт од националног значаја за Републику Србију, ментор;
2. др Вера Николић, ванредни професор, Универзитет у Београду – Биолошки факултет, ментор;
3. др Владимир Пешић, редовни професор, Универзитет Црне Горе, Природно-математички факултет, члан.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Биолошког факултета подноси следећи

### **ИЗВЕШТАЈ**

#### **Општи подаци о докторској дисертацији**

Докторска дисертација Николе С. Маринковића под насловом: „Таксономска диференцијација, диверзитет и дистрибуција врста подреда Eprobdeiformes (Hirudinea; Annelida) подручја западног Балкана“ написана је на 119 страница и садржи 35 слика и

оригиналних фотографија, од тога 11 у поглављу Увод, 2 у поглављу Материјал и методе и 23 у поглављу Резултати. Дисертација садржи и 9 табела, 2 у поглављу Материјал и методе и 7 у поглављу Резултати. Текст докторске дисертације подељен је на следећа поглавља: 1. Увод (32 стране), Циљеви (1 страна), Материјал и методе (12 страна), Резултати (28 страна), Дискусија (7 страна), Закључци (2 стране), Литература (8 страна) и Прилози (33 стране). Поглавље литература садржи 151 библиографску јединицу. Поред наведеног, дисертација садржи насловну страну на српском и енглеском језику, податке о менторима и члану комисије, Захвалницу, Сажетак на српском и енглеском језику, Садржај, Биографију, Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу.

## **Анализа докторске дисертације**

Поглавље **Увод** докторске дисертације садржи 6 потпоглавља која на прегледан и систематичан начин дају преглед досадашњих сазнања и истраживања слатководних пијавица, као и основне елементе њихове анатомије и морфологије. Након кратког подсећања на основне одлике ове групе, кандидат у потпоглављу **Опште карактеристике пијавица и њихова класификација**, истиче да је класификација пијавица представљена према Neesemann и Neubert (1999), који су преузели класификацију предложену од стране Sawyer (1986) уз одређене модификације. Према овој класификацији Hirudinea имају статус класе и деле се на два подреда Rynchobdellida и Arynchobdellida. У наредном поглављу, **Опште карактеристике подреда Erpobdelliformes** наводи се да подред Erpobdelliformes обухвата макрофагне предаторе са стрепсилематозним ждрелом. Ждрело је троугластог облика и носи три слабо изражена, кожна набора (псеудогнате) између углова троугла. Ждрело кратко задржава ову позицију, а затим се ротира за 60° супротно од смера казаљке на сату. У ждрелу се код неких представника могу налазити зуболике специјализације, стилети, што даје основ за даљу поделу овог подреда на две групе, агнатне (fam. Erpobdellidae) и миогнатне (fam. Salifidae). Даље, у потпоглављу **Erpobdellidae на подручју Балкана**, кандидат даје детаљан преглед таксона са основним подацима релевантним за таксономију, што је од великог значаја за истраживаче који се баве овом групом са тог аспекта. У потпоглављу **Проблематика групе** наводи се да су

непостојани таксономски карактери стварали проблеме у класификацији европских ерпобделида која је често трпела промене, и да, без обзира како се подред *Erpobdelliformes* класификовао, коју таксономску категорију заузимао, консензус је постојао једино око постојања преатријалних петљи код европских представника, а које изостају код представника које насељавају Северноамерички континент. Међутим, и ова подела ерпобделида на основу присуства или одсуства преатријалних петљи се показала као непотпуно исправна. Све ово отвара нова питања о филогенетским односима европских представника и представника са подручја Северне Америке, као и о еволутивној историји групе. У потпоглављу **Подручје истраживања** дат је прецизан опис подручја означеног као западни Балкан, где се наводе најзначајнији планински масиви, водотокови, сливови и остале гео-и хидроморфолошке карактеристике испитиваног подручја. Такође се наводи да појам западни Балкан подразумева политичко-географску одредницу која обухвата државе које су настале на простору некадашње Социјалистичке Федеративне Републике Југославије без Републике Словеније, којима је придодата Република Албанија. Ово истраживање није укључило територију Републике Албаније, али је укључило западне делове Републике Бугарске. Последње потпоглавље, **Историјат истраживања**, садржи релевантне податке о свим значајним публикацијама које се односе на забележене налазе пијавица, почев од 1905. године па до данас. Када се говори о Балканском полуострву и његовој слатководној фауни треба истаћи да је ово подручје било рефугијум током Плеистоцена и да се одликује великим степеном диверзитета и ендемизма у поређењу са централном или северном Европом. Од великог значаја је Охридско језеро, највећи резервоар слатке воде у Европи. Ово старо и дубоко олиготрофно језеро је екосистем који се одликује великим бројем ендемичних врста. Ни пијавице нису изузетак, комплекс врста *Dina ohridana*\* обухвата око десет врста, а новим истраживањима овај број се увећава.

У оквиру поглавља **Циљеви истраживања** укратко су представљени главни циљеви докторске дисертације, а то су: утврђивање фаунистичког састава врста ових слатководних пијавица на подручју западног Балкана на основу новијих истраживања и материјала из претходног периода, таксономска анализа пијавица заснована на морфолошким и анатомским карактерима, примена молекуларних метода у таксономији пијавица, филогенетски односи забележених врста унутра подреда *Erpobdelliformes*, квалитативна анализа, састав и дистрибуција пијавица као компоненте бентосних

заједница истраживаног подручја, разматрање зоогеографских особина забележених заједница слатководних пијавица, анализа зависности заједнице пијавица од изабраних карактеристика воденог екосистема, као и биоиндикаторска улога пијавица у слатководним екосистемима.

Поглавље **Материјал и методе** садржи укупно 4 потпоглавља. Прво потпоглавље се односи на подручје истраживања и табеларно је дат преглед типова испитиваних локалитета, при чему је 261 локалитет груписан у три слива: црноморски, егејски и јадрански. Приликом теренских истраживања бележени су основни подаци о хидроморфолошки карактеристикама локалитета. ГПС уређајем је утврђивана позиција истраживаног локалитета, географска ширина и дужина и надморска висина. Поред ових података, бележене су и карактеристике сваког локалитета: величина водног тела, брзина тока, састав и гранулација материјала који прекрива дно. У циљу прецизније анализе дистрибуције најчешћих врста подреда *Egrobdelelliformes* локалитети су сврставани у одговарајући тип водног тела. Водна тела су подељена у шест типова, а као основа за дефинисање типова коришћена је модификована национална легислатива за типологију водних тела Републике Србије „Правилник о параметрима еколошког и хемијског статуса површинских вода и параметрима хемијског и квантитативног статуса подземних вода“. Наредно потпоглавље под називом **Прикупљање и конзервација биолошког материјала** даје детаљни опис и протокол сакупљања узорака. Наводи се период истраживања, као и начин сакупљања, конзервирања, припрему пијавица за анализу морфолошких и анатомских одлика. Такође се наводи да су за проучавање морфолошких и анатомских одлика сакупљених животиња као и за њихово фотографисање коришћене бинокуларне лупе Nikon SMZ800N (увеличања 10-80x) са камером Nikon DS-Fi2, Zeiss Stemi 2000-C (увеличања 6.5-50x) са камером AxioCam ERc 5s и фотоапарати Panasonic Lumix fz-28 и Nikon D7100. Идентификација пијавица рађена је према Nesemann и Neubert (1999) и Grosser и сар.(2007, 2016). Потпоглавље **Статистичке методе** описује методе које су коришћене током израде дисертације. Актуелна дистрибуција појединих врста је добијена мапирањем локалитета на којим су те врсте забележене. Хоролошке анализе обухватиле су истраживања актуелне и потенцијалне (моделоване) дистрибуције појединих врста. Потенцијална дистрибуција врста је детектована методом максималне ентропије. У раду је анализирана потенцијална дистрибуција врста у односу на климатске

параметре (средња температура и средња количина падавина), као и у односу на висински градијент. Климатски параметри су добијени из WorldClim базе података. Логистичка Гаусова регресија је коришћена за анализу еколошке диференцираности врста у односу на срединске факторе. Анализа фаунистичке диференцираности заједница пијавица вршена је применом читавог низа ординационих и класификационих метода. Класификација заједница вршена је применом K-means clustering методе. Канонске ординационе методе су коришћене да би се одредио утицај скупа срединских варијабли на заједнице пијавица. У раду је вршена компаративна анализа резултата добијених применом следећих канонских метода: канонска кореспондентна анализа (CCA) и канонска анализа главних координата (d-b RDA ). Да би се одредио статистички значај појединих срединских фактора на варијабилност заједница пијавица, коришћена је метода напредне (директне) селекције (forward selection, FS). Последње потпоглавље, **Молекуларне методе**, даје детаљни приказ коришћених метода и протокола. За филогенетске анализе наводи се да су филогенетски односи врста *Eprobdeiformes* утврђени су на основу 50 секвенци COI гена. Из банке гена преузето је пет секвенци за пет врста. Програм Sequencher 5.4.6. (GeneCodes Co.) коришћен је за утврђивање грешака и полиморфних места на крајевима секвенци. Поређење добијених секвенци са постојећим секвенцама из банке гена урађено је помоћу BLAST алата. Поравнавање секвенци извршено је у програмском пакету MEGA 7.0 коришћењем програма ClustalW према већ задатим параметрима. За израду филогенетских стабала у оквиру одабраних врста из подреда *Eprobdeiformes* коришћен је програмски пакет MEGA 7.0. Метод највеће вероватноће коришћен је за реконструисање филогенетског стабла. За тестирање добијеног ML стабла коришћен је модел НКУ.

Наредно поглавље, **Резултати**, обухвата 5 потпоглавља. У првом од њих, насловљеном **Фаунистички састав и дистрибуција врста из подреда *Eprobdeiformes* забележених на испитиваном подручју**, говори се о дистрибуцији и заједницама пијавица на свим испитиваним локалитетима. Резултати су приказани прегледно, уз одговарајуће графиконе који истичу најважније резултате везане за дистрибуцију по сливовима. Потпоглавље које следи, под називом **Таксономска диференцијација таксона из подреда *Eprobdeiformes* на основу морфолошких и анатомских карактера** објашњава морфолошке разлике унутар појединих таксона, па се наводи да је примарни карактер по коме се разликују три рода из фамилије *Eprobdeidae* сегментација.

Род *Eprobodella* одликује хомономна сегментација. Сви прстенови су приближно једнаке ширине. Род *Dina* одликује хетерономна сегментација, четири прстена исте ширине, прати један прстен ( $b_6$ ) који је проширен, а код неких представника и подељен на два мања ( $c_{11}+c_{12}$ ). Код представника рода *Trocheta* је присутно дељење и осталих прстенова, осим  $b_6$ , па је најчешћа формула сегментација једног телесног чланка  $c_1+c_2 +b_2 +a_2 +b_5 +c_{11} +c_{12}$ . Прстенови  $c_{11}$  и  $c_{12}$  се могу додатно поделити на два мања. Наредно потпоглавље под називом **Анализа дистрибуције најчешћих врста подреда *Eprobodelliformes*** бави се хоролошком и еколошком диференцијацијом појединих врста, па се тако наводи да су се током теренских истраживања издвојиле три врсте из подреда *Eprobodelliformes* високим процентуалним уделом у заједници пијавица истраживаног подручја. Стога су врсте *E. octoculata*, *E. vilnensis* и *D. lineata* посебно анализиране. Од 2432 јединке, колико је обухваћено овим истраживањима, 90% јединки припада наведеним врстама. Резултати ових истраживања приказани су табеларно и графички, а приказани су и резултати потенцијалне (моделоване) дистрибуције врста добијене коришћењем програмског пакета MaxEnt. Такође, у овом потпоглављу се истиче да врсте *E. octoculata* и *D. lineata* показују велику еколошку толерантност, имају широку еколошку криву, када су у питању типови водних тела. Уска еколошка толерантност је забележена код врсте *E. vilnensis* када се посматрају типови водних тела. Врста је забележена само у два језера а није констатована у великим рекама. *Analize zajednica pijavica u kojima se nalaze predstavnici podreda Eprobodelliformes, komponente diverziteta i ekološke preferenice u velikim rekaма.* У следећем потпоглављу које носи наслов **Анализе заједница пијавица у којима се налазе представници подреда *Eprobodelliformes*, компоненте диверзитета и еколошке преференце** наводи се да је ова анализа урађена је на укупно 82 крашка извора, на територији Црне Горе, током две сезоне узорковања (зима и лето). Локалитети су подељени у пет типова екосистема: пећински извори, сублакустрични, лимнокрени, рео-лимнокрени и реокрени тип. Класификација заједница пијавица базирала се на два приступа за класификацију. Први је разматрао фаунустичку сличност истраживаних заједница док је други приступ а priori класификовао заједнице пијавица према типу извора у којима су забележене. Резултати су приказани табеларно и графички. Поред поделе заједница према фаунустичкој сличности, заједнице су категорисане према типу извора у коме су забележене. Тако издвојене групе показале су мали однос унутар-групе

и међугрупне варијансе ( $VR=0,0192$ ). Варијанса унутар тако добијених група је висока, а варијанса између група је мала ( $0,0506$ ). Анализа утицаја срединских фактора на варијабилност заједница урађена је Forward селекцијом (FS). Као статистички значајне су се истакле све географске варијабле (надморска висина, лонгитуда, латитуда). Физичка и хемијска својства воде, киселост (pH), температура воде забележена у лето и у зиму, нису показали статистичку значајност због малог варирања вредности. Најнижа температура забележена у зимском периоду била је  $6,9^{\circ}\text{C}$ , највиша  $13,4^{\circ}\text{C}$  а просечна температура је износила  $10,4^{\circ}\text{C}$ . pH вредност се кретала од 6,92 до 7,59 (просек 7,3). Од варијабли које дефинишу подлогу (дно) извора само су се удео песка (SAN) и удео стена (ROC) истакле као значајне. Покривеност маховинама (MOS) је показала статистичку значајност за варијабилност заједница пијавица у изворима. Варијабле станишта, тип извора и антропогени утицај, су се такође показали као значајан фактор. Остале срединске варијабле нису имале значајан утицај на заједнице пијавица. Последње потпоглавље поглавља **Резултати** односи се на **филогенетске односе врста подреда Erpobdelliformes**. Овде се даје приказ филогенетског стабла хаплотипова за COI mDNK и на филограму се јасно уочавају четири хаплогрупе, од којих свака одговара родовима *Barbronia*, *Trocheta*, *Erpobdella* и *Dina*. ML методом је показано очекивано груписање забележених хаплотипова у хаплогрупе према важећој таксономској подели.

У поглављу **Дискусија** кандидат критички разматра резултате добијене током израде ове дисертације. Тако наводи да су поред врста са широким распрострањењем у Европи (западни Палеарктик), заступљене и бројне врсте и подврсте које показују ендемски карактер. Током истраживања забележено је присуство врста из три рода која су широко распрострањена у Европи. Поред аутохтоне европске фауне забележено је присуство алохтоне врсте из фамилије *Salifidae*. *Barbronia weberi* је врста која је у претходном периоду била присутна у више земаља Европе, а последњи налаз пријављен је у Мађарској. Како велики део истраживаног подручја припада сливу реке Дунав која припада Јужном инвазивном коридору било је за очекивати ширење ове врсте и на ове просторе. Иако је врста констатована само у једном водном телу, Савском језеру, не треба искључити могућност да врста има веће распрострањење, али да још увек није детектована односно идентификована. У овом поглављу се такође наводи да када се посматрају распрострањења и еколошке преференце врста *Erpobdelliformes* на Балканском

полуострву, јасно је да се врсте могу одвојити у две групе. Прву групу би чиниле врсте са јако малим ареалом распрострањења (ендемичне) или са веома малом фреквенцом налажења јер им овај простор представља границе познатог ареала. Другу групу би чиниле три врсте са великом фреквенцом налажења и великим ареалом распрострањења, како на Балкану тако и у Европи па и шире, и то су врсте *E. octoculata*, *E. vilnensis* и *D. lineata*. Дискутована је и чињеница да када се посматрају резултати анализа заједница пијавица које граде представници подреда Eprobdeiformes може се закључити да се већина представника јавља у заједницама које одликује ниско богатство врстама. Таксономија подреда Eprobdeiformes и фамилије Eprobdeidae је кроз историју често мењана, велике измене вршене су у таксономији родова *Dina*, *Eprobde* и *Trocheta*. Савремене методе молекуларно генетичких анализа показале су да разликовање ова три рода на основу сегментације није подржано филогенетским анализама. Филогенетске анализе представника Eprobdeiformes су показале јасно одвајање таксона идентификованих на основу морфо-анатомским карактера. На основу овога може се закључити да су ови карактери поуздани за разликовање како на нивоу родова, тако и на нивоу врста па и подврста.

У поглављу **Закључци** сумирани су најзначајнији резултати докторске дисертације који су јасно и таксативно наведени. Између осталог, истиче се да је фауна подреда Eprobdeiformes на западном Балкану веома богата, да су поред широко распрострањених таксона присутни и таксони са веома уским ареалом распрострањења, затим да су молекуларне анализе показале ваљаност таксономских карактера за идентификацију, као и да је традиционална подела на три рода у оквиру фамилије Eprobdeidae подржана филогенетским анализама, да сви анализирани родови и врсте представљају засебне филогенетске групе.

У поглављу **Литература**, наведена је 151 библиографска јединица које представљају најважније изворе од значаја за тему докторске дисертације.

### **Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације**

Б1. Радови у часописима међународног значаја

**Marinković N**, Karadžić B, Pešić V, Gligorović B, Grosser C, Paunović M, Nikolić V, Raković M. (2019) Faunistic patterns and diversity components of leech assemblages in karst springs of Montenegro. Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems. (420):26. **M22**



<https://doi.org/10.1051/kmae/2019019>

[https://www.kmae-journal.org/articles/kmae/full\\_html/2019/01/kmae190004/kmae190004.html](https://www.kmae-journal.org/articles/kmae/full_html/2019/01/kmae190004/kmae190004.html)

**Marinković N.**, Karadžić B, Slavevska Stamenković V, Pešić V, Nikolić V, Paunović M, Raković M.(2020) Chorological and Ecological Differentiation of the Commonest Leech Species from the Suborder Erpobdelliformes (Arhynchobdellida, Hirudinea) on the Balkan Peninsula. Water. Feb;12(2):356. **M22**

<https://doi.org/10.3390/w12020356>

<https://www.mdpi.com/2073-4441/12/2/356>

Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја (M64)

**Marinković N.**, Pešić V., Gligorović B., Anđus S., Paunović M., Nikolić V., Raković M. (2018). Uticaj ekoloških faktora na distribuciju pijavica (Hirudinea: Arhynchobdellida i Rhynchobdellida) kraških izvora Crne Gore. U: Živić M., Petković B., urednici. Knjiga sažetaka "Drugi kongres biologa Srbije"; 2018 Septembar 25-30; Kladovo, Srbija. Izdavač: Beograd (Srbija): Srpsko biološko društvo; 2018. p. 114

### **Провера оригиналности докторске дисертације**

Докторска дисертација кандидата Николе С. Маринковића послата је дана 23. 04. 2020. године на софтверску проверу оригиналности. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментор је добио дана 24.04.2020.

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације “Таксономска диференцијација, диверзитет и дистрибуција врста подреда Erpobdelliformes (Hirudinea; Annelida) подручја западног Балкана” кандидата Николе С. Маринковића констатовано је подударање текста од 17 %. Утврђено подударање текста је последица неопходности коришћења конвенцијом утврђене номенклатуре молекуларно-генетичких појмова, затим навода и описа стандардних метода коришћених током аналитичког дела рада на дисертацији и референцирања, затим чињенице да су резултати публиковани у неколико радова чиме је дисертација верификована. Осим тога, подударање је последица и коришћења географских појмова којима су одређена подручја из којих потичу узорци пијавица чији је диверзитет истраживан у овој докторској дисертацији.

Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата Николе С. Маринковића, под насловом ”Таксономска диференцијација,

диверзитет и дистрибуција врста подреда Eprobdeiformes (Hirudinea; Annelida) подручја западног Балкана“, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

### **Мишљење и предлог Комисије**

На основу свега изнетог, Комисија сматра да је докторска дисертација Николе С. Маринковића, под насловом ”Таксономска диференцијација, диверзитет и дистрибуција врста подреда Eprobdeiformes (Hirudinea; Annelida) подручја западног Балкана“, у потпуности урађена и написана у сагласности са предложеним програмом у одобреној пријави. Такође, ова докторска дисертација представља значајан допринос познавању слатководних пијавица не само за наведено подручје, него и у ширем контексту, а колико су ова истраживања значајна и квалитетна говоре и публикације које су директно произашле из ове дисертације. Стога Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета – Универзитет у Београду, да прихвати овај извештај и одобри њену јавну одбрану.

**КОМИСИЈА:**

У Београду, 18.05.2020. године

---

др Маја Раковић, научни сарадник, Универзитет у Београду, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од националног значаја

---

др Вера Николић, ванредни професор, Универзитет у Београду, Биолошки факултет

---

др Владимир Пешић, редовни професор, Универзитет Црне Горе, Природно-математички факултет