

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На V редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 13.03.2020. године, на основу молбе ментора, проф. др Предрага Симоновића, редовног професора и научног саветника Универзитета у Београду – Биолошки факултет, и Институт за биолошка истраживања ”Синиша Станковић”, Институт од националног значаја за Републику Србију, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Дубравке В. Шкраба Јурлина под насловом: **„Реконструкција еволуционе историје комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta* западног Балкана: диференцијација и диверзитет“** у саставу:

1. др Марина Пириа, редовити професор, Свеучилиште у Загребу – Агрономски факултет
2. др Вера Николић, ванредни професор, Универзитет у Београду - Биолошки факултет
3. др Марија Савић Веселиновић, доцент, Универзитет у Београду - Биолошки факултет
4. др Јелена Карановић, научни сарадник, Универзитет у Београду - Биолошки факултет
5. др Ана Марић, доцент, Универзитет у Београду - Биолошки факултет

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 Дубравке В. Шкраба Јурлина под насловом: **„Реконструкција еволуционе историје комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta* западног Балкана: диференцијација и диверзитет“** написана је на 106 страница и садржи 31 слику (13 у поглављу Увод, 2 у поглављу Материјал и методе и 16 у поглављу Резултати) и 18 табела (1 у поглављу Увод, 2 у поглављу Материјал и методе и 15 у поглављу Резултати). Текст докторске дисертације је подељен на осам поглавља: 1. Увод (28 страна), 2. Циљеви истраживања (1 страна), 3. Материјал и методе (6 страна), 4. Резултати (22 стране), 5.

Дискусија (13 страна), 6. Закључци (2 стране), 7. Литература (21 страна). Поглавље литература садржи 418 библиографских јединица. Поред наведеног, дисертација садржи насловну страну на српском и енглеском језику, податке о менторима и члановима комисије, Сажетак на српском и енглеском језику, Захвалницу, Садржај, Биографију, Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу.

Анализа докторске дисертације

Поглавље **Увод** садржи три основна потпоглавља, тако да у првом потпоглављу под називом **Карактеристике породице Salmonidae** кандидаткиња износи литературне податке о пореклу и распрострањењу, затим класификацији као и општим одликама салмонида. Такође, у овом потпоглављу се разматра и еволуција и генетика салмонида, затим филогенија породице Salmonidae. У оквиру поменутог потпоглавља, такође су изнета најновија сазнања везана за распрострањеност и порекло салмонидних врста на Балканском полуострву, а посебно су значајни подаци везани за утицај глацијација на дистрибуцију врста ове породице. Кандидаткиња овде даље разматра и таксономски статус комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta*, као и опште одлике и област распрострањености овог комплекса. Осим таксономије комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta*, овде се дају основни подаци везани за досадашња сазнања која се тичу генетике комплекса врста *Salmo cf. trutta*, а на крају се износе и најрелевантнији подаци који се односе на филогенију и филогеографију комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta*. Наредно потпоглавље, под називом **Молекуларни маркери**, обухвата концизну анализу молекуларних маркера који се уобичајено користе, па се износи закључак да би најбоље било анализирати што више локуса како би резултати били поузданији, јер сваки од наведених маркера поседује предности и мане, а употребом само једног од њих анализира се мали део генома, па је могућност да се уоче разлике смањена или није репрезентативна. За комплекс врсте *S. trutta* у банци гена (енг. GenBank database) највише је података проистеклих из анализе контролног региона митохондријалне ДНК (CRmtDNK). У овом раду, као молекуларно-генетички маркери коришћени су CR mtDNK, LDH-C* locus и микросателити, па ће они стога бити детаљније разматрани. Што се тиче разлога за анализу митохондријалне ДНК, кандидаткиња истиче да упркос унипаренталном

наслеђивању, mtDNK је већ дужи низ година генетички маркер од велике важности у истраживањима *S. trutta* комплекса, с обзиром на велики број података доступан из претходних истраживања. CRmtDNK се убраја у најчешће коришћене молекуларне маркере код поточне пастрмке. Његовом употребом откривени су полиморфизми повезани са mtDNK хаплогрупама, тј. линијама, као и са хаплотиповима у оквиру сваке од хаплогрупа. Кандитаткиња наводи, да је једна од употребних вредности микросателита као молекуларних маркера и та што се прајмери дизајнирани за једну врсту могу користити и за сродне таксоне. У овом потпоглављу је објашњен и одабир LDH*С локуса. Наиме, ген који кодира специфичан ензим ока LDH-С*, такође представља важан дијагностички маркер који се нарочито добро показао за решавање проблема постгласијалне колонизације популација. Генерални закључак је да се алел LDH*С 100 налази махом у реликтним популацијама и изолованим локалитетима, најчешће уколико постоје непремостиве препреке као што су велики водопади. Последње потпоглавље **Анализирана подручја** даје детаљан приказ локалитета узорковања. У овом потпоглављу се наводе најважније карактеристике вода западне Босне и Херцеговине, пре свега подручја НП Уна у оквиру којег су реке Уна, Унац и Крка, а на северозападном подручју Босне и Херцеговине локалитети узорковања су били на реци Крушници код Босанске Крупе и Светињи код Доброг Села, на самој граници са Републиком Хрватском. Локалитети у Црној Гори су из водотокова који припадају јадранском сливу и то су реке Морача, Сјеверница, Мала Ријека, Мртвица, Ножица, Горња и Доња Зета.

У оквиру поглавља **Циљеви истраживања** укратко су представљени главни циљеви докторске дисертације, а то су, пре свега, утврђивање генетичке структуре до сада неистражених популација комплекса поточне пастрмке, дефинисање потенцијалних хибридизационих процеса који делују на умањење оригиналног диверзитета, као и упоређивање добијених резултата са подацима из других река Балкана, а пре свега упоређивање добијене реконструкције еволуционе историје са постојећим подацима о геоморфолошким збивањима на Балкану.

Поглавље **Материјал и методе** односи се на молекуларно генетичке методе. У потпоглављу под насловом **Екстракција ДНК** детаљно је објашњен процес екстракције ДНК из дела аналног пераја, као и изолације и то на два начина, техником исољавања и техником помоћу кита Quick-gDNA™ MiniPrep. Када је реч о амплификацији ланчаном

реакцијом полимеразе, наводи се да је ланчана реакција полимеразе коришћена за умножавање контролног региона митохондријалне ДНК, дела једарног гена за LDH-C* и за осам микросателитских локуса. У оквиру овог потпоглавља наведени су микросателитски локуси коришћени у анализи, као и програми за софтверску анализу добијених података.

Резултати ове докторске дисертације су приказани јасно, уз прегледне табеле и илустрације, и детаљно су објашњени. Поглавље **Резултати** је подељено у три потпоглавља. У првом, под називом **Анализа контролног региона mtDNK**, је табеларно, а и на друге начине илустровано да је из свих анализираних узорака идентификовано 7 хаплотипова регистрованих у банци гена (енг. GenBank) и неколико потенцијално нових хаплотипова који припадају DA групи хаплотипова. Анализирана је њихова процентуална заступљеност по сливовима и табеларно је представљена позиција нуклеотида по хаплотиповима. Такође, у оквиру овог потпоглавља приказана су филогенетска стабла хаплотипова на територији НП Уна и Црне Горе, а и на територији западног Балкана, а дат је и табеларни приказ резултата анализе молекуларне варијансе (AMOVA) за полиморфна места. У потпоглављу **Анализа LDH-C* локуса** кандидаткиња износи резултате који се тичу хибридизације, а и удела атлантских хаплотипова у узорцима дунавског и јадранског слива. Сви резултати су изнети бројчано, али су приложене и фотографије гелова са резултатима рестрикционих анализа. Даље, у последњем потпоглављу, насловљеном **Анализа микросателитских локуса**, табеларно је представљена просечна хетерозиготност микросателитских локуса у испитиваним популацијама, као и алелска учесталост по локусима за сваку популацију. У резултатима је приказана и анализа молекуларне варијансе (AMOVA) преко матрица дистанци, која је показала да у укупној генетичкој варијабилности највећи проценат носе појединачне индивидуе (71.01%), док варијабилност између популација износи 22.49%. Интрапопулациона генетичка варијабилност износи 6.51% и указује на то да постоје разлике између јединки у оквиру субпопулација у односу на тоталну популацију коју представљају све јединке у рекама анализираних региона, док су јединке појединачних токова посматране као субпопулације. Такође, у овом потпоглављу представљено је и тестирање HWE у популацијама и пропорције рандомизације (1000) које су показале мање F_{IS} вредности од уочених на анализираним микросателитским локусима, као и F_{IS} вредности за сваку популацију и све

анализиране полиморфне микросателитске локусе. Nei дистанце израчунате су са 1000 пермутација за јединке по сваком пару популација. Највеће вредности Nei дистанци уочене су између Мртвице, са једне стране, и Горње Зете, Мртвице и Крке са друге стране. Вредности F_{ST} показују генетичку удаљеност парова субпопулација и израчунате вредности протока гена указују на сличну ситуацију. Осим приказа ових резултата, у истом потпоглављу, графички су представљени резултати анализа добијени коришћењем DAS дистанци у програму POPULATIONS па је констатовано да је груписање популација јасно одвојило са једне стране Доњу Зету, Сјеверницу и Мртвицу, чији су представници већим делом носиоци хаплотипова јадранске линије, при чему су Доња Зета и Сјеверница сестринске групе, и популације чији су представници носиоци претежно дунавских хаплотипова – Уна Лоскун и Крка као сестринске групе, Уна код Мартин Брода, Горња Зета, затим Крушница и Светиња, и нешто удаљенија Ножица са друге стране. Даље, у програму BOTTLENECK за сваку популацију приказана је процена да ли је скоро прошла кроз смањења бројности, односно кроз “генетички уска грла”. Изузетак је била популација из Уне код Мартин Брода чији је узорак био превише мали, те анализа није могла бити урађена. Табеларно су приказани резултати Wilcoxon теста у циљу утврђивања генетичког уског грла (енг. bottleneck) у појединачним популацијама према три модела мутација – IAM, TPM i SMM.

У поглављу **Дискусија** кандидаткиња је добијене резултате критички разматрала и упоређивала са досадашњим истраживањима. Тако је истакнуто да би конзервација диференцираних генетичких ресурса требало да буде основа развоја одговарајућих програма управљања за експлоатисане и угрожене врсте, а упркос томе, губици природних генетичких ресурса се драматично повећавају широм света због хибридизације и интрогресије услед намерног премештања домаћих стокова и модификација станишта од стране људи. Осим тога, у дискусији се наводи и да је доступност дијагностичких генетичких маркера који омогућују разликовање између алохтоних и нативних популација поточне пастрмке, обезбедила мониторинг генетичког утицаја пуштања риба у реке која обухватају и алохтоне стокове. Међу дијагностичким карактерима, LDH-C* локус био је најутицајнији јер је *100 алел био фиксиран међу нативним иберијским популацијама пре порибљавања, а *90 алел је био фиксиран у централноевропским стоковима пореклом из рибњака. Дискутовани су разлози широке географске дистрибуције дунавских

хаплотипова с обзиром да су широко заступљени, док је главна DA линија најпре описана у рекама које се уливају у Дунавски басен. Накнадним истраживањима DA хаплотипови констатовани су у рекама које се уливају у Црно море, па и ван дунавског слива, као и у рекама које се уливају у Каспијско и Аралско море. Поред тога, DA хаплотипови пронађени су и у реци Адиће и у горњој Неретви, које се уливају у Јадранско море, који су се тамо затекли вероватно услед секундарно успостављених веза путем речних корита између дунавских притока и ових река током плеистоцена, а такође ни антропогено деловање не може бити у потпуности изузето када су Адиће и горња Неретва у питању. Што се тиче атлантске линије у горњем делу Дунава, она представља ограниченији и изведени генски пул у овом региону. Доминантни механизам интродукције био је ослобађање гајених јединки из рибњака, али се у извесној мери природна колонизација могла десити у релативно скорој прошлости (касни до постплеистоцен). Континуирано порибљавање алохтоним линијама поточне пастрмке ће угрозити генетички интегритет природних популација у овом региону. Такође, у овом поглављу се наводи и да диверзитет аутохтоних поточних пастрмки *Salmo* spp. обухвата велику варијабилност номиналних таксона у Србији, Црној Гори и Босни и Херцеговини. Детектовано је међу резидентним патрмкама присуство атлантске поточне пастрмке атлантске (AT) линије које су интродуковане у популације дунавске пастрмке *S. labrax* и јадранске *S. farioides* које припадају јадранској (AD) и дунавској (DA) mtDNK линији. У оквиру јадранског слива Црне Горе, наведене су реке у којима су поред јадранских и дунавских откривени и атлантски хаплотипови – Мртваца и Горња Зета.

У поглављу **Дискусија** кандидаткиња истиче да је током последња два века управљање фондом поточне пастрмке имало за циљ подршку популацијама које су биле угрожене срединским променама и прекомерним риболовом. Заједно са деградацијом станишта и риболовном праксом, порибљавање је имало неповољне утицаје на дивље популације. Генетичке промене популација узроковане ефектом оснивача и следственом доместификацијом водиле су до смањеног степена преживљавања и способности размножавања у дивљини као последица новонасталих генерација проистеклих из узгоја. Упркос наведеном, поједине индивидуе из узгоја обично преживе и успешно се размножавају у дивљини. Накнадно порибљавање има непредвидив ефекат на дивље популације. За разлику од појединих случајева, када је био пријављен мали ефекат или га

уопште није било, обимна укрштања између дивљих и узгајаних пастрмки било је документовано у многим дивљим популацијама. Таква укрштања често узрокују умањење адаптивне вредности и губитак локалне адаптације на различите срединске услове. Обим негативних последица тешко је предвидети и не може бити видљив док не доведе до изразитог пада бројности популације. Стога, генетичка варијабилност између и у оквиру популација и тренутне стопе интрогресије треба да буду испитани у посебним популацијама како би се развиле даље стратегије за узгајање и конзервацију поточне пастрмке.

У поглављу **Закључци** сумирани су најзначајнији резултати докторске дисертације који су јасно и таксативно наведени. Између осталог, истиче се да дистрибуција појединих хаплотипова чији је статус одређен алохтоним и искљученост подударња са догађајима геолошке историје и дистрибуцијом хаплотипова који се сматрају аутохтоним, говоре о великој вероватноћи њихове интродукције из подручја развијене аквакултуре у скорој или давнијој историјској прошлости и околностима кроз које је западни Балкан пролазио. Такође се наводи да анализа богатог оригиналног диверзитета у оквиру свих хаплогрупа указује на динамичну еволуциону историју поточне пастрмке на територији западног Балкана, са вишеструким колонизацијама и редукцијама првобитних ареала распрострањености појединих хаплотипова који кореспондирају са орогеним догађајима неогенско-плеистоценског раздобља геолошке историје овог подручја. Један од важних закључака је и тај да су доприноси истраживања уз употребу неутралних генетичких маркера разноврсни и укључују идентификацију изворних популација и криптичних инвазија, тестирање модела опадања бројности популација и генетичких уских грла, разликовање појединачних и вишеструких инвазија, процењивање протока гена и распрострањања међу инвазивним популацијама, одређивање нивоа пloidије и репродуктивне стратегије и идентификовање хибридизације и интрогресије између аутохтоне и алохтоних популација. Осим тога, закључак је и да алохтоне врсте риба могу променити структуру заједнице кроз интерспецијску конкуренцију и хибридизацију са аутохтоном фауном риба. Штавише, алохтоне врсте риба могу имати значајне негативне ефекте на ниже трофичке заједнице.

У поглављу **Литература**, наведена је 421 библиографска јединица које представљају најважније изворе који су од значаја за тему докторске дисертације.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја М23

1. **Škraba, D.**, Bećiraj, A., Šarić, I., Ićanović, I., Džaferović, A., Piria, M., Dekić, R., Tošić, A., Nikolić, V., Simonović, P. (2017). Haplotype Diversity of Brown Trout (*Salmo trutta* L.) Populations from Una River Drainage Area in Bosnia and Herzegovina: Implications for Conservation and Fishery Management. *Acta zoologica bulgarica*, 69 (1), 25-30.
https://www.researchgate.net/publication/305682319_Haplotype_Diversity_of_Brown_Trout_Salmo_trutta_L_Populations_from_Una_River_Drainage_Area_in_Bosnia_and_Herzegovina_Implications_for_Conservation_and_Fishery_Management
2. **Škraba Jurlina, D.**, Marić, A., Karanović, J., Nikolić, V., Brkušanin, M., Kanjuh, T., Mrdak, D., Simonović, P. (2018). Effect of the introgression of Atlantic brown trout, *Salmo trutta*, into Adriatic trout, *Salmo farioides* in a stream at the drainage area of the Adriatic Sea basin of Montenegro. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 48 (4), 363–372.
http://www.aiep.pl/volumes/2010/9_4/txt/txt_04.php

Провера оригиналности докторске дисертације

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 **„Реконструкција еволуционе историје комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta* западног Балкана: диференцијација и диверзитет“**, аутора Дубравке В. Шкраба Јурлина, констатовано је подударање текста од 32%. Овај проценат подударања последица је неопходности коришћења конвенцијом утврђене номенклатуре молекуларно-генетичких појмова, неопходности употребе навода и описа стандардних метода коришћених током аналитичког дела рада на дисертацији и референцирања, употребе устаљених појмова који карактеришу појмове геолошке историје, еволуционе историје, животне историје и индивидуалног постембрионалног развића поточне пастрмке од значаја за тему дисертације, као и коришћења географских појмова којима су одређена подручја из којих потичу узорци поточне пастрмке чији је диверзитет и карактер истраживан у овој докторској дисертацији.

Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације Дубравке В. Шкраба Јурлина под насловом **„Реконструкција еволуционе историје комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta* западног Балкана:**

диференцијација и диверзитет“, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије

На основу свега изнетог, Комисија сматра да је докторска дисертација кандидаткиње Дубравке В. Шкраба Јурлина под насловом „**Реконструкција еволуционе историје комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta* западног Балкана: диференцијација и диверзитет**“ у потпуности урађена и написана у сагласности са предложеним програмом у одобреној пријави. Такође, ова докторска дисертација представља значајан допринос познавању еволуционе историје комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta* западног Балкана 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, 20.03.2020. године

др Марина Пириа, редовити професор, Свеучилиште у Загребу – Агрономски факултет

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

др Марија Савић Веселиновић, доцент, Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Јелена Карановић, научни сарадник, Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Ана Марић, доцент, Универзитет у Београду - Биолошки факултет