

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Nada M. Ćosić

VIJABILNOST POPULACIJA TEKUNICE
***Spermophilus citellus* (L., 1766) NA PODRUČJU**
SRBIJE

doktorska disertacija

Beograd, 2015

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Nada M. Ćosić

**VIABILITY OF EUROPEAN GROUND SQUIRREL
Spermophilus citellus (L., 1766) POPULATIONS IN
SERBIA**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015

MENTOR:

Dr Duško Ćirović, docent,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE ZA PREGLED, OCENU I ODBRANU:

Dr Duško Ćirović, docent,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr Ivan Jarić, viši naučni saradnik,
Institut za multidisciplinarna istraživanja Univerziteta u Beogradu
i istraživač,
Leibniz-Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries, Berlin

Dr Mihajla Đan, vanredni profesor,
Prirodno-matematički fakultet - Departman za biologiju i ekologiju Univerziteta u Novom
Sadu

Dr Dragan Kataranovski, redovni profesor,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu
i naučni savetnik,
Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković" Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane:

Ova doktorska disertacija je urađena na Katedri za ekologiju i geografiju životinja Biloškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na Department of Zoology, Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice i Department of Population Biology, Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno.

Veliku zahvalnost dugujem pre svega svom mentoru dr Dušku Ćiroviću na ideji za ovu doktorsku disertaciju, ukazanom poverenju i izuzetnom zalaganju, kako prilikom terenskih istraživanja tako i kasnije prilikom izrade teze.

Veliku zahvalnost dugujem kolegi dr Ivanu Jariću na vremenu koje je utrošio kako bi mi pomogao da savladam analizu vijabilnosti i rad u programu Vortex, kao i na idejama i bezrezervnoj podršci i pomoci koju mi je pružio tokom pisanja.

Dr Mihajli Đan i dr Draganu Kataranovskom želim da se zahvalim na izdvojenom vremenu za pregled teze, kao i korisnim savetima i sugestijama.

Veliku zahvalnost dugujem dr Štěpánki Říčanovoj i dr Josefu Bryji koji su me upoznali sa metodama u molekularnoj genetici i pomogli u analizi i tumačenju dobijenih rezultata.

Zahvaljujem se mojim dragim koleginicama, dr Jeleni Jović koja mi je održala kratak kurs i upoznala me sa osnovama molekularnih istraživanja i dr Tanji Vukov koja mi je pomogla u radu sa programima za obradu podataka.

Zahvaljuem se koleginići Aleksandri Penezić na velikoj pomoći koju mi je pružala na terenu svih ovih godina.

Zahvaljujem se Maji Vasiljević, Biljani Marinović, Dušanu Vasilljeviću, Marku Novoselu i Goranu Kneževiću sa Biološkog fakulteta u Beogradu, kao i Drašku Grujiću, Milovanu Iliću, Olji Toljagić, Milici Mišković, Tijani Nikolić, Dimitriju Radišiću, Maji Arok i Milošu Mirću sa Departmana za biologiju i ekologiju PMF-a u Novom Sadu na pomoći u realizaciji nekih od terena, kao i na divnom društvu.

Zahvaljujem se svim svojim šeficama, kao i svim kolegama i koleginicama sa Odeljenja za fiziologiju biljaka Instituta za biološka istraživanja "Siniša Stanković" na kolegijalnosti i podršci koju su mi pružili.

Posebnu zahvalnost dugujem mojim roditeljima jer su uvek bili tu i spremni da pomognu kad god je trebalo.

Vijabilnost populacija tekunice *Spermophilus citellus* (L., 1766) na području Srbije

REZIME

Evropska tekunica (*Spermophilus citellus*, L. 1766) je endemična vrsta za područje Centralne i Jugoistočne Evrope. Recentni areal je karpatskim masivom podeljen na dva dela. Severni deo se karakteriše uniformnim stepskim staništima koja se javljaju na malim nadmorskim visinama, dok se južni deo areala nalazi na Balkanu, gde su prisutni različiti tipovi staništa sa različitim ekološkim uslovima i na različitim nadmorskim visinama. Najveći broj populacija na području Srbije nalazi se u njenom severnom delu, tj. Vojvodini, dok je svega nekoliko malih i izolovanih planinskih populacija prisutno u istočnom i jugoistočnom delu zemlje

Tekunice naseljavaju isključivo stepska staništa, livade i pašnjake koji su obrasli niskom travom. Međutim, usled intenzivnog pretvaranja stepskih predela u poljoprivredno zemljište tokom proteklih nekoliko decenija, nestala su široka prostranstva na kojima je tekunica bila kontinuirano rasprostranjena. Danas vrsta opstaje samo na jako izolovanim stepsko-livadskim fragmentima koji su sačuvani unutar dominantnog poljoprivrednog matriksa.

S obzirom da broj populacija konstantno opada na celom arealu i da je budući opstanak vrste doveden u opasnost, tekunica je od 2008. godine na IUCN Crvenoj listi ugroženih vrsta svrstana u kategoriji ranjiva (VU). Zakonski status tekunice u Evropi regulišu EU Direktiva o staništima (Aneks II i IV) i Konvencija o očuvanju evropske divlje flore i faune i prirodnih staništa, poznatija kao Bernska konvencija (Aneks II). Unutar mreže Natura 2000 do sada je u režim zaštite uključeno 414 staništa koja naseljava tekunica. Na nacionalnom nivou tekunica je zaštićena zakonom kao strogo zaštićena vrsta.

U cilju analize genetičkog diverziteta i strukture populacija tekunice na teritoriji Srbije, u periodu 2007-2009. godine, prikupljeno je ukupno 180 uzoraka tkiva sa 11 lokaliteta (Krušedol, Neradin, Mala Remeta, Sremska Mitrovica, Banatska Palanka, Šušara, Mokrin, Lok i Tomislavci sa teritorije Vojvodine i po jedan lokalitet sa Vlasine i Stare planine). Procena gustine i brojnosti populacija tekunice vršena je u periodu 2004-2014. godine na lokalitetima Krušedol i Neradin koji su smešteni na obodu fruškogorskog

masiva, kao i lokalitetu Banatska Palanka koji se nalazi na obodu Deliblatske peščare. Na kraju je urađena procena minimalne vijabilne veličine populacije (MVP) uz pomoć programa Vortex.

Rezultati dobijeni ovim istraživanjima nedvosmisleno ukazuju da je genetički diverzitet populacija tekunice sa teritorije Vojvodine značajno viši u odnosu na one sa periferije areala, kao i da je sličan genetičkom diverzitetu panonskih populacija iz okruženja koje zauzimaju centralni položaj u okviru severne filogeografske grupe. Sa druge strane, analize pokazuju da je genetički diverzitet planinskih populacija sa Vlasine i Stare planine znatno niži u odnosu na populacije iz Vojvodine. Sve ispitivane populacije tekunica iz Srbije su pokazale visok stepen genetičke diferencijacije, što ukazuje na međusobnu izolovanost i odsustvo protoka gena između populacija.

Klaster analize su pokazale da je jedanaest ispitivanih populacija iz Srbije najoptimalnije grupisati u četiri klastera. U prva tri klastera su raspoređene populacije iz Vojvodine, dok su udaljene planinske populacije sa Vlasine i Stare planine izdvojene u četvrti klaster. Raspored vojvođanskih populacija po klasterima ukazuje da Dunav, za razliku od Tise, predstavlja značajnu barijeru za protok gena između posmatranih populacija.

Gustina i brojnost posmatranih populacija tekunice su jako varirale tokom posmatranog perioda od jedanaest godina i to kako na istom lokalitetu, tako i između lokaliteta. Tokom posmatranog perioda pozitivan rast populacije registrovan je samo na lokalitetu Neradin, dok su na lokalitetima Krušedol i Banatska Planka zabeležene velike fluktuacije, kao i pad u brojnostima i gustinama ispitivanih populacija.

Analiza MVP je pokazala da je za opstanak izolovane populacije tekunica, uz očuvanje 90 % genetičkog diverziteta i izbegavanje štetnog efekta inbridinga, neophodno obezbediti prisustvo bar 300 jedinki, posmatrano za period od 50 godina. Međutim, sa povećanjem demografske i sredinske varijabilnosti, veličina MVP se drastično povećava. Ovo ukazuje na potrebu uspostavljanja što optimalnijih uslova na postojećim staništima tekunice, čime bi se smanjile velike fluktuacije u brojnosti izazvane nepovoljnim faktorima i povećala verovatnoća opstanka populacija.

Gubitak pogodnih staništa, kao i stvaranje barijera koje onemogućavaju migraciju jedinki i protok gena između populacija, trenutno predstavljaju najznačajnije faktore koji direktno i indirektno utiču na opstanak populacija tekunice.

Dobijeni rezultati predstavljaju dobru konzervacionu osnovu i daju smernice za aktivan pristup zaštiti i očuvanju tekunice u Srbiji, izradu akcionog i plana upravljanja

populacijama tekunice u Srbiji, kao i osnovu za dalja fundamentalno-ekološka i konzervaciona istraživanja ove krajnje ugrožene vrste kod nas. Buduće očuvanje tekunice na našim prostorima nema samo nacionalni značaj. Naime, među populacijama od najvećeg konzervacionog značaja za očuvanje evropske tekunice su upravo populacije sa područja Bugarske i Srbije, tj. sa prostora koji je u više navrata u prošlosti služio kao refugijum iz kog se vrsta tokom povoljnih klimatskih uslova širila ka Centralnoj Evropi. Samim time imamo veliku obavezu očuvanja vijabilnih populacija tekunice uz minimalni gubitak postojećeg genetičkog diverziteta.

Ključne reči: tekunica, vijabilnost, genetički diverzitet, genetička struktura, mikrosateliti, gustina, brojnost, MVP, verovatnoća izumiranja, faktori ugrožavanja

Naučna oblast: Ekologija

Uža naučna oblast: Ekologija sisara

UDK: 575.17:591.526]:599.322.2(497.11)(043.3)

Viability of the European ground squirrel *Spermophilus citellus* (L., 1766) populations in Serbia

Abstract

The European ground squirrel (*Spermophilus citellus*, L. 1766) is endemic species to the Central and Southeastern Europe. Its recent range is divided in two main parts by the Carpathian Mountains. The northern part of the range is characterized by uniform steppe habitats at low altitudes, while the southern part is situated on the Balkan Peninsula, where different types of habitats, with different environmental conditions and at different altitudes are present. The majority of Serbian populations is located in the northern part of the country, i.e. in Vojvodina, while only a few small and isolated mountain populations are present in the east and southeastern part of the country.

The European ground squirrel inhabits steppes, meadows and pastures covered with short grass. These once widely distributed habitats, which were commonly inhabited by European ground squirrels, had disappeared due to their intensive transformation into agricultural land during the past few decades. Today, species survives only in very isolated steppe-meadow fragments which are preserved within the dominant agricultural matrix.

Given that a number of populations is continually declining throughout the range and that the future survival of the species is put in danger, the European ground squirrel has been protected since 2008 under the IUCN Red List of threatened species as a vulnerable species (VU). Its status in Europe is governed by the EU Habitats and Species Directive (Annexes II and IV) and the Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats, known as the Bern Convention (Annex II). Also, 414 of its habitats are under protection regime within the Natura 2000 network. At the national level, European ground squirrel is protected by law as a strictly protected species.

In order to analyze the genetic diversity and the structure of the European ground squirrel in Serbia, a total of 180 tissue samples from 11 localities (Krušedol, Neradin, Mala Remeta, Sremska Mitrovica, Banatska Palanka, Šušara, Mokrin, Lok and Tomislavci from area of Vojvodina, one locality from Vlasina and one from Stara Planina Mountain were collected during the 2007-2009. Density and abundance of the European ground squirrel populations were estimated during the period 2004-2014 on the localities

Krušedol and Neradin, which are located on the periphery of Fruška Gora Mountain, as well as on the locality Banatska Palanka, which is located on the periphery of the Deliblato Sands. Finally, the minimum viable population size (MVP) was estimated using the Vortex software.

The results gained in this study clearly indicated that the genetic diversity of populations from Vojvodina is significantly higher than those from the periphery of the species range, and similar to the genetic diversity of surrounding Pannonian populations which are occupying a central position within the Northern phylogenetic group. On the other hand, the results showed that the genetic diversity of mountain populations from Vlasina and Stara Planina Mountain is significantly lower compared to the populations from Vojvodina. All analyzed populations from Serbia showed high level of genetic differentiation, indicating the presence of isolation and the absence of gene flow between existing populations.

According to the cluster analysis, eleven studied populations from Serbia are optimally grouped into four clusters. Populations from Vojvodina made first three clusters, while two far mountainous populations from Vlasina and Stara Planina made the fourth cluster. Arrangement of populations from Vojvodina by clusters indicates that the Danube River, but not the Tisza River, represents a significant barrier to gene flow among populations.

Observed populations showed high fluctuations in density and abundance during the eleven studied years, both within and between localities. During this period, positive population growth was observed only in the locality Neradin, while large fluctuations were recorded on the localities Krušedol and Banatska Planka, followed by dramatic decline in density and abundance.

According to the MVP analysis, for the survival of isolated populations of European ground squirrel, preservation of 90% of genetic diversity and avoidance of the harmful effects of inbreeding, it is necessary to ensure the presence of at least 300 individuals over 50 years. However, if we take into account different levels of demographic and environmental stochasticity, MVP would be considerably larger. This pointed out the need to establish more optimal habitat conditions and thus minimize large fluctuations in the abundance caused by extremely adverse factors and increase the likelihood of population survival.

The loss of suitable habitats, as well as the formation of barriers that prevent the migration and gene flow between populations, currently represent the most important

factors that directly and indirectly affect the survival of populations of the European ground squirrel.

The results from this study represent a good conservation basis and provide guidance for an active approach to the protection and preservation of the European ground squirrel in Serbia, development of the Action and Management Plans, as well as a basis for the future fundamental ecological and conservation research of this endangered species. Future conservation of the European ground squirrel in Serbia has not only the national relevance. Namely, populations from Serbia and Bulgaria are of key importance for the future preservation of the whole species, as these areas served as refugia from which the species spread to the Central Europe during favorable climatic conditions in the past. Therefore, we have a great obligation to preserve viable populations of the European ground squirrel with a minimum loss of the existing genetic diversity.

Key words: European ground squirrel, viability, genetic diversity, genetic structure, microsatellites, density, abundance, MVP, probabilities of extinction, threatening factors

Scientific area: Ecology

Specific scientific area: Mammal ecology

UDC: 575.17:591.526]:599.322.2(497.11)(043.3)

SADRŽAJ

UVOD	1
Poreklo i taksonomija.....	2
Rasprostranjenje.....	5
Bionomija.....	8
Stanište.....	9
Reprodukcija.....	11
Hibernacija.....	13
Ishrana.....	15
Skloništa.....	16
Uloga u ekosistemu.....	19
Globalni i nacionalni status ugroženosti.....	20
CILJEVI RADA	22
MATERIJAL I METODE	23
Utvrđivanje genetičkog diverziteta i strukture populacija pomoću mikrosatelitskih lokusa.....	23
<i>Metodologija prikupljanja uzoraka</i>	23
<i>Izolacija DNK i analiza mikrosatelitskih lokusa</i>	24
<i>Standardne analize genetičke varijabilnosti i test uskog grla (bottleneck test)</i>	27
<i>Genetička struktura i klaster analize</i>	27
Populaciona dinamika.....	30
Analiza minimalne vijabilne veličine populacije (MVP).....	32
<i>Osnovni scenario i ulazni parametri</i>	32
<i>Dodatni scenariji</i>	35
<i>Analiza senzitivnosti</i>	36
REZULTATI	39
Genetički diverzitet i struktura populacija tekunice u Srbiji.....	39
Populaciona dinamika.....	53
Minimalna vijabilna veličina populacije - osnovni scenario, dopunski scenariji i analiza senzitivnosti.....	56

DISKUSIJA	65
Genetički diverzitet i struktura populacija tekunice u Srbiji.....	65
Populaciona dinamika	72
Minimalna vijabilna veličina populacije.....	75
Faktori ugrožavanja populacija tekunica na teritoriji Srbije.....	80
Konzervacioni značaj dobijenih rezultata	83
ZAKLJUČCI	87
LITERATURA	90
PRILOG 1.....	106

Uvod

U savremeno doba čovek predstavlja glavni faktor ugrožavanja organskih vrsta, kao i biodiverziteta u celini. Svojim aktivnostima čovek ne samo da dovodi do smanjivanja brojnosti populacija i veličine areala vrsta, već i do potpunog nestanka lokalnih populacija i čitavih vrsta. Nestajanje vrsta predstavlja prirodni fenomen. Tokom procesa evolucije vrste su nastajale i nestajale. Međutim, usled intenzivnog direktnog i indirektnog antropogenog delovanja, brzina nestajanja živog sveta danas je između 1000 i 10000 puta brža nego što to podrazumevaju prirodni evolutivni procesi (FRANKHAM ET AL. 2004). Mada se zaštita biodiverziteta većinom fokusira na problem nestajanja vrsta, ključna komponenta biodiverziteta su u stvari populacije čiji gubitak je još veći nego gubitak pojedinačnih vrsta (PIMM & JENKINS 2010). Iako se ne zna sa sigurnošću koliki broj populacija godišnje nestane usled ljudskog delovanja, prema nekim procenama smatra se da su u pitanju milioni populacija, što je za oko 1000 puta više od broja vrsta koje nestanu u istom vremenskom periodu (HUGHES ET AL. 1997).

Negativno antropogeno dejstvo se može manifestovati višestruko direktno - izlovljavanjem ili preteranom eksploatacijom, ili indirektno - zagađivanjem, unošenjem invazivnih vrsta ili uništavanjem prirodnih staništa. Gubitak staništa je danas jedan od glavnih faktora koji ugrožavaju opstanak većine organskih vrsta (BENNETT & SAUNDERS 2010; PIMM & RAVEN 2010). Direktnim uništavanjem (npr. čista seča šuma) ili transformacijom u druge tipove staništa (npr. pretvaranje prirodnih staništa u poljoprivredno zemljište ili u urbana područja), prirodna staništa se nepovratno gube. Usled potpunog ili delimičnog gubitka povoljnog staništa dolazi i do isčezavanja vrsta koje su vezane za to stanište. Čak i ukoliko vrsta uspe da preživi tako dramatične transformacije staništa, verovatnoća njenog dugoročnog opstanka u takvim izmenjenim uslovima se značajno smanjuje.

Jedan od najočiglednijih primera kako gubitak staništa dovodi do ugrožavanja opstanka vrste je sudbina evropske tekunice (*Spermophilus citellus* L. 1766). Tekunica je nekada bila široko rasprostranjena vrsta na prostorima centralne i jugoistočne Evrope. Brojnost njenih populacija se mogla izraziti milionskim ciframa (JANÁK ET AL 2013). Međutim, preoravanje i pretvaranje stepskih prostranstava u poljoprivredno zemljište dovelo je do drastičnog smanjenja veličine areala ove vrste. Time su nestala široka prostranstva na kojima je tekunica bila kontinuirano rasprostranjena. Danas vrsta opstaje

samo na jako izolovanim stepsko-livadskim fragmentima koji su sačuvani unutar dominantnog poljoprivrednog matriksa. Između ovako fragmentisanih i izolovanih populacija onemogućen je protok gena, što bi u skorijoj budućnosti moglo dovesti do njihove funkcionalno-reproduktivne izolovanosti i značajno umanjiti verovatnoću dugoročnog opstanka lokalnih populacija, ali i vrste u celini (RUŽIĆ 1979; KOSHEV 2008; MATĚJŮ ET AL 2008; ČIROVIĆ & ČOSIĆ 2011; ŘIČANOVÁ ET AL. 2011; JANÁK ET AL 2013).

Pored fragmentiranosti staništa i izolovanosti, preostale populacije tekunica su u recentno doba dodatno ugrožene i transformacijom preostalih povoljnih staništa. Naime, usled prelaska na intenzivnu stočarsku proizvodnju smanjio se broj krupne i sitne stoke koja pase, odnosno održava stepsko-livadske ekosisteme u izvornom obliku. Usled smanjenja ispaše na ovim staništima, prirodna sukcesija dovodi do obrastanja otvorenih staništa prvo žbunastom, a kasnije drvenastom vegetacijom. Time se nepovratno gubi stanište povoljno za život stepskih faunističkih i florističkih elemenata.

Navedeni negativni faktori značajno ugrožavaju današnje populacije tekunice, dovodeći u opasnost i opstanak cele vrste. Posledice delovanja ovih antropogeno uslovljenih faktora su jasno vidljive. Brojnost i rasprostranjenje tekunice su danas, u odnosu na istorijsko doba, drastično smanjeni (JANÁK ET AL 2013). U obodnim delovima svog areala tekunica je isčezla u potpunosti, ili pak njene populacije polako nestaju. Tako Nemačka i Hrvatska tekunicu u svojim faunističkim spiskovima spominju samo kao isčezlu vrstu (FEILER 1988; ANTOLOVIĆ ET AL. 1995), dok je u Češkoj prisutna na jako malom broju lokaliteta (CEPÁKOVÁ & HULOVÁ 2002; MATĚJŮ ET AL 2008). U Poljskoj, u kojoj je tekunica takođe bila isčezla, intenzivno se radi na programu reintrodukcije i ponovnom uspostavljanju vijabilnih populacija tekunice (KONCZAK ET AL. 2014).

Poreklo i taksonomija

Rod *Spermophilus* pripada familiji Sciuridae, subfamiliji Xerinae i tribusu Marmotini. Do skoro je bilo opšte prihvaćeno da rod *Spermophilus* ima holarktičko rasprostranjenje i da obuhvata 6 podrodova (*Callospermophilus*, *Ictidomys*, *Otospermophilus*, *Poliocitellus*, *Spermophilus* i *Xerospermophilus*) i 41 vrstu. Svih 6 navedenih podrodova je prisutno u Severnoj Americi, dok je u Evroaziji prisutan samo podrod *Spermophilus* (THORINGTON & HOFFMANN 2005). Međutim, na osnovu najnovijih istraživanja, zasnovanih na analizi morfoloških karaktera i molekularnim markerima,

HELGEN ET AL. (2009) sugerišu da bi sve navedene podrodove trebalo posmatrati kao zasebne rodove koji pripadaju istoj monofiletskoj kladi. Prema ovoj klasifikaciji, sve vrste svrstane u rod *Spermophilus* prisutne su isključivo u regionu Palearktika.

Evropsku tekunicu, kao vrstu, u zvaničnu nomenklaturu uvodi Carl Linnaeus, ali pod imenom *Mus citellus* (LINNAEUS 1766). Nešto kasnije OKEN (1816) uvodi naziv *Citellus citellus* koji je bio u upotrebi sve do polovine prošlog veka. Međutim, kako ovaj naziv ne zadovoljava pravila Međunarodnog kodeksa zoološke nomenklature, od 1956. godine je u zvaničnoj upotrebi isključivo naziv *Spermophilus citellus* (HARRISON ET AL. 2003).

S. citellus je sestrinska vrsta sa *S. taurensis* (GÜNDÜZ ET AL. 2007; KRYŠTUFEK & VOHRALIK 2012). Takođe, utvrđeno je da hibridizuje sa *S. suslicus*, a zona hibridizacije se javlja u Ukrajini, na veoma ograničenom području gde se teritorije ove dve vrste preklapaju (KRYŠTUFEK & VOHRALIK 2012).

Unutar areala vrste do sada je opisano ukupno devet podvrsta. Subspecijska diferencijacija je izvršena na osnovu tradicionalnih morfoloških i morfometrijskih karaktera: razlika u boji dlake, veličini tela, veličini i obliku lobanje i viličnih kostiju (RUŽIĆ 1978; PETROV 1992; KRYŠTUFEK 1999). Podvrsta *Spermophilus citellus citellus* (LINNAEUS 1766) se javlja u Austriji, Mađarskoj, Češkoj i Slovačkoj, a kao tipski lokalitet za ovu podvrstu navodi se Vagram, Donja Austrija (RUŽIĆ 1978). *Spermophilus citellus gradojevici* (MARTINO & MARTINO 1929) je prisutna u jugoistočnoj Makedoniji, severnoj Grčkoj duž doline Vardara i u jugozapadnoj Bugarskoj, a kao tipski lokalitet se navodi Đevđelija (RUŽIĆ 1978; KRYŠTUFEK 1993). U pokrajini Muntenija u Rumuniji opisana je podvrsta *Spermophilus citellus istricus* (CALINESCU 1934; RUŽIĆ 1978). *Spermophilus citellus karamani* (MARTINO & MARTINO 1940) je nađena samo na visokoplaninskim pašnjacima na planinama Karadžica i Jakupica u Makedoniji, a kao tipski lokalitet navodi se planina Karadžica, odnosno pašnjaci na gebenu iznad Patiške Reke (RUŽIĆ 1978; KRYŠTUFEK 1993). *Spermophilus citellus laskarevi* (MARTINO & MARTINO 1940) je podvrsta karakteristična za Srbiju i Vojvodinu, sa tipskim lokalitetom Dolovo u jugoistočnom Banatu (RUŽIĆ 1978). PEŠEV (1955) klasifikuje populacije tekunica sa planine Rila u Bugarskoj kao posebnu podvrstu *Spermophilus citellus martinoidi*, a dve godine kasnije MARKOV (1957) opisuje i *Spermophilus citellus balcanicus*, još jednu podvrstu karakterističnu za bugarski planinski region (KRYŠTUFEK & VOHRALIK 2012). U istočnom delu Trakije (evropski deo Turske) opisana je *Spermophilus citellus thracicus*

(MURSALOĞLU 1964), a kao tipski lokalitet se navodi provincija Kiklareli (RUŽIĆ 1978). *Spermophilus citellus macedonicus* (FRAGUEDAKIS-TSOLIS & ONDRIAS 1985) je opisana za područje Pandokomi u Grčkoj Makedoniji (KRYŠTUFEK & VOHRALIK 2012). Međutim, od navedenih 9 podvrsta danas su zvanično prihvaćene samo četiri i to: *S. c. citellus*, *S. c. gradojevici*, *S. c. isticus* i *S. c. martinoi*. *S. c. karamani* i *S. c. macedonicus* se smatraju sinonimima za *S. c. gradojevici*, *S. c. laskarevi* sinonimom za *S. c. isticus*, a *S. c. balcanicus* i *S. c. thracius* sinonimima za *S. c. martinoi* (THORINGTON & HOFFMANN 2005; HELGEN ET AL. 2009).

Najnovije analize genetičkog diverziteta populacija tekunica, urađene na osnovu različitih molekularnih markera, takođe ne podržavaju postojanje ovako velikog broja opisanih podvrsta. KRYŠTUFEK ET AL. (2009) su ukazali na postojanje svega tri različite filogenetske linije koje su označili kao južna (populacije iz Grčke, Makedonije i evropskog dela Turske), severna (sve ostale populacije) i Jakupica kao posebna linija koju čine visokoplaninske populacije iz centralne Makedonije. Navedeni autori sugerišu da bi, prilikom planiranja budućih planova i mera zaštite, ove tri filogenetske linije trebalo posmatrati kao zasebne konzervacione jedinice. KRYŠTUFEK & VOHRALIK (2012) su ove tri filogeografski zasebne linije kasnije klasifikovali kao posebne podvrste i to: *S. c. citellus* (severna linija), *S. c. gradojevici* (južna linija) i *S. c. karamani* (Jakupica).

Filogenetska studija koju su uradili ŘIČANOVÁ ET AL. (2013) na znatno većem uzorku, ukazuje na jasno razdvajanje vrste na dve glavne geografske grupe koje su takođe označene kao “severna” i “južna”, kao i na postojanje jake substrukuiranosti unutar obe grupe. “Južnoj” grupi, u okviru koje se izdvaja pet zasebnih filogenetskih linija ili podgrupa, pripadaju populacije iz evropskog dela Turske, Bugarske, Grčke, južne Makedonije i Rumunije, dok “severnu grupu” čine sve ostale populacije, ali se i ovde uočava jasna podela na dve podgrupe: jednu čine visokoplaninske populacije sa Jakupice (Makedonija), a drugu ostatak populacija iz ove severne klade.

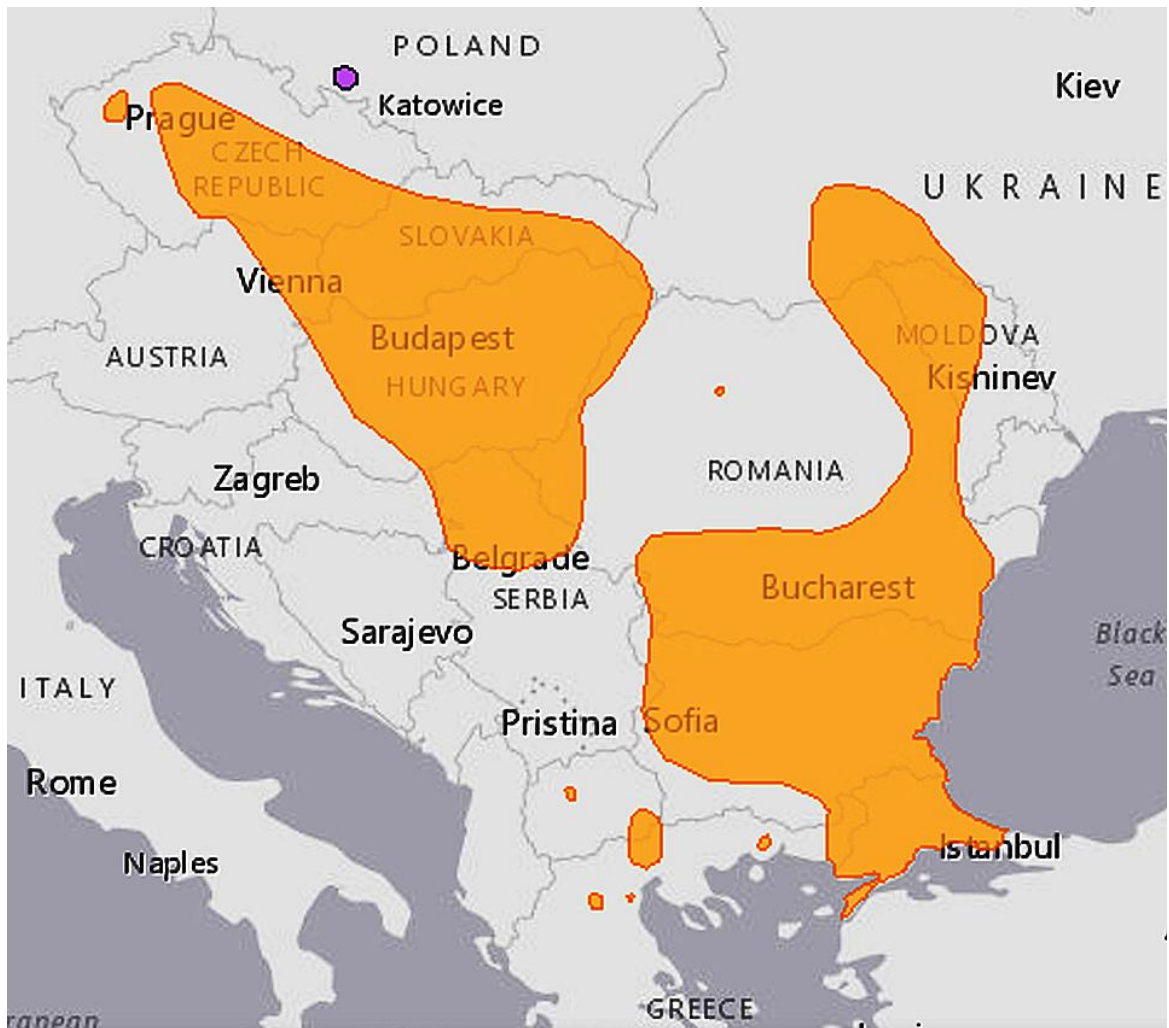
“Južna” filogenetska linija se odlikuje većim diverzitetom haplotipova i nešto većom starošću (0.8-1.1 miliona godina) u odnosu na “severnu”, čija je starost procenjena na 0.70-0.94 miliona godina. Na osnovu filogenetskih i biogeografskih analiza može se pretpostaviti da evropska tekunica, tj. njena filogenetski starija “južna” grupa populacija, potiče iz jugoistočne Bugarske i da se odatle prvo proširila na evropski deo Turske, a tek kasnije i na ostatak Evrope (ŘIČANOVÁ ET AL. 2013). To potvrđuju i paleontološki nalazi sa ovog područja. Naime, najstariji paleontološki nalaz vrste datira iz perioda 0.89-1.32

miliona godina, a potiče iz pećine Yarimburgaz koja se nalazi u evropskom delu Turske (SANTEL & VON KOENIGSWALD 1998; FORTELIUS 2011). U prošlosti su tekunice naseljavale i prostor zapadne i centralne Evrope. U ovom delu potvrđeno je prisustvo tekunice za vreme Ginc glacijacije, odnosno pre oko 750 hiljada godina (KURTÉN 2007). Isti autor navodi da je areal tekunice u tom periodu bio znatno veći i da se pružao sve do Engleske (do Kenta i Samerseta).

Rasprostranjenje

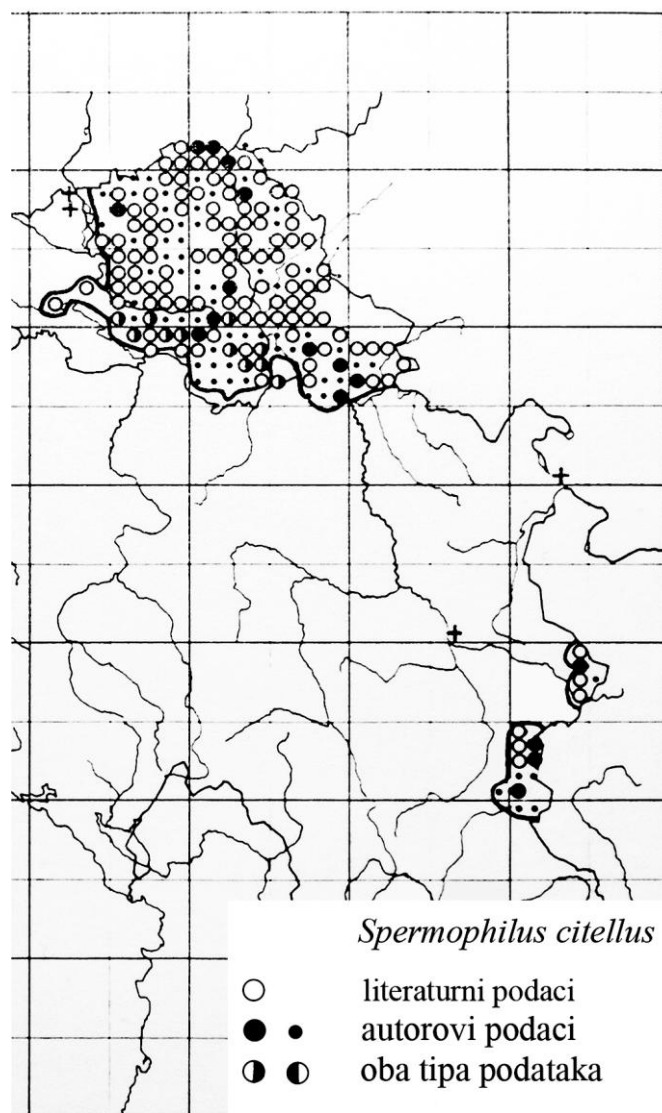
Evropska tekunica je endemična za područje Centralne i Jugoistočne Evrope, gde se javlja od 0 pa do 2500 m n.v. Recentni areal je karpatskim masivom podeljen na dva dela. Severni deo se karakteriše uniformnim stepskim staništima koja se javljaju na malim nadmorskim visinama, dok se južni deo areala nalazi na Balkanu, gde su prisutni različiti tipovi staništa sa različitim ekološkim uslovima i na različitim nadmorskim visinama (KOSHEV & KOČEVA 2007). Severni deo areala se prostire kroz Češku Republiku, Austriju, Mađarsku, Slovačku, zapadni deo Rumunije i severni deo Srbije (Vojvodina), dok južni deo obuhvata jugoistočni deo Srbije, Makedoniju, severni deo Grčke, evropski deo Turske Bugarsku, južnu Rumuniju, Moldaviju i Ukrajinu. (KRYŠTUFEK 1999; COROIU ET AL. 2008) (Slika 1).

Istorijski posmatrano, areal tekunice je, u ne tako davnoj prošlosti, obuhvatao i delove Nemačke, Poljske (u kojoj je u međuvremenu pokrenut projekat reintrodukcije) i Hrvatske. U Poljskoj i Nemačkoj tekunica je nestala krajem 70-ih ili početkom 80-ih godina XX veka (MĘCZIŃSKI 1985; FEILER 1988), dok je sa teritorije Hrvatske najverovatnije nestala tokom 90-ih (ANTOLOVIĆ ET AL. 2006).



Slika 1. Areal evropske tekunice (IUCN 2008). Trenutni areal je označen narandžastom, a reintrodukavane populacije ljubičastom bojom

Na teritorije Srbije, areal tekunice obuhvata njen severni deo (Vojvodinu) i planinske pašnjake istoku i jugoistoku Srbije (Slika 2). U Vojvodini je još uvek široko rasprostranjena i naseljava relativno veliki broj lokaliteta sa očuvanom livadsko-stepskom vegetacijom, ali su ovi lokaliteti u većini slučajeva međusobno jako izolovani (ĆIROVIĆ & ĆOSIĆ 2011). Na istoku i jugoistoku Srbije tekunica je istorijski naseljavala izolovane pašnjačke površine na Staroj planini, Vidliču, Vlasini, Besnoj kobili i Dukatu (RUŽIĆ 1950, 1979; PETROV 1992). Na većem broju ovih lokaliteta tekunica je iščezla (ĆIROVIĆ & ĆOSIĆ 2011). Početkom 20-og veka tekunica je bila pronađena u okolini Niša, a 1977. godine i u Timočkoj krajini, ali je u međuvremenu iščezla i sa ovih lokaliteta (RUŽIĆ 1950, 1979; PETROV 1992).



Slika 2. Rasprostranjenje evropske tekunice u Srbiji (PETROV 1992)

Početak dvadesetog veka, sa ubrzanim razvojem poljoprivredne proizvodnje i širenjem poljoprivrednih površina, došlo je do značajnog smanjivanja površina pod stepskom vegetacijom, što je za posledicu imalo smanjivanje, fragmentaciju, pa čak i nestanak staništa na kojim su tekunice bile prisutne. Takođe, tekunica je do 70-tih godina prošlog veka smatrana značajnom poljoprivrednom štetočinom, te su se preduzimale različite mere suzbijanja („tamanjenja“, kako se to tada nazivalo). Sve to je dovelo do rapidnog pada u broju, kao i veličini preostalih populacija tekunice na području Vojvodine (RUŽIĆ, 1979; PETROV 1992). Zamiranje stočarstva tokom devedesetih godina prošlog veka samo je dodatno doprinelo daljem gubitku povoljnog staništa za tekunice i dovelo u pitanje njihov opstanak, pre svega jako izolovanih planinskih populacija na jugoistoku zemlje (ĆIROVIĆ & ĆOSIĆ 2011).

Bionomija

Tekunica ima vitko, cilindrično i snažno građeno telo, male ušne školjke i kratke ekstremitete. Prednji deo glave je širok i ravan. Oči su krupne i bočno postavljene što životinji omogućava bolju preglednost, a samim tim i bolju zaštitu od predatora. Ekstremiteti su pentadaktilni, sa kandžama na vrhovima prstiju. Prednji i zadnji ekstremiteti su približno iste dužine, ali su zadnji jače razvijeni. Prednji ekstremiteti im služe za pridržavanje hrane i kopanje kanala. Rep je kratak i kitnjast i podseća na rep veverice. Dlaka je kratka i prava, na leđima žutosive boje, na stomaku žute, dok su podbradak i grlo beli (Slika 3). Tekunica menja dlaku jednom u toku godine, između juna i avgusta (RUŽIĆ 1950). Ženke imaju pet pari bradavica (jedan par u predelu grudi, dva para u predelu abdomena i dva para u predelu prepona). Bakulum se sastoji od bazalnog dela koji se širi ka osnovi i završnog dela koji ima oblik nazubljene lopatice. Veličina i oblik bakuluma kod mužjaka varira u zavisnosti od geografskog regiona (KRYŠTUFEK & VOHRALIK 2012).



Slika 3. Evropska tekunica (*Spermophilus citellus*)

Zubna formula je: I1/1, C0/0, P1-2/1, M3/3=20-22. Sekutići su dobro razvijeni i pored sitnjenja hrane imaju značajnu ulogu i pri kopanju podzemnih kanala. Stepennostrošenosti premolara i molara je bitna karakteristika koja može da posluži za određivanje starosti (RUŽIĆ 1966).

Dužina tela se kreće od 19 do 22 cm, a dužina repa od 5.5 do 7.5 cm (MACDONALD & BARRETT 1993). Prema MILLESI ET AL. (1999A) težina tela se kreće od 150 do preko 400 g, a prema MATĚJŮ (2008) od 145 do 520 g. Masa tela tekunice varira sezonski. Najmanja je u proleće, neposredno nakon buđenja iz zimskog sna, a najveća pred kraj sezone, tj. neposredno pred hibernaciju. Vrednosti telesnih dimenzija jako variraju i u zavisnosti od uzrasta, starosti i pola, a takođe i od uslova na staništu. Najveće dimenzije, kao i težinu tela, dostižu u drugoj i trećoj godini života. Takođe, postoji jasno izražen polni dimorfizam, pri čemu su ženke sitnije od mužjaka (RUŽIĆ 1978; BALÁŽ ET AL. 2006).

Stanište

Tekunica je tipični predstavnik otvorenih, stepskih staništa (RUŽIĆ 1950; PETROV 1992; KRYŠTUFEK 1999), ali danas naseljava različite tipove, kako prirodnih tako i veštačkih travnih staništa sa jasnom preferencijom ka staništima obraslim niskom travom (JANÁK ET AL. 2013). Današnja staništa tekunice čine pašnjaci, livade, travnjaci, igrališta, golf tereni, nasipi pored reka, kao i travnati aerodromi (MATĚJŮ ET AL 2010; JANÁK ET AL. 2013). U nekim delovima svog areala naseljavaju vinograde i voćnjake, a mogu se naći i u baštama (HOFFMAN ET AL. 2008). U prošlosti su često bile prisutne i duž širokih kolskih puteva, na nasipima duž železničkih pruga, međama između njiva, pa čak i na njivama na kojim su gajene višegodišnje kulture kao što su detelina i lucerka (RUŽIĆ 1950, 1978; PETROV 1992).

Više je različitih faktora, kao i kombinacija faktora, koji mogu ograničiti distribuciju tekunice, ali njihov uticaj nije ujednačen već zavisi od datih sredinskih uslova na određenom delu areala (KOSHEV & KOČEVA 2007).

Tekunica može naseljavati sve tipove zemljišta u kojim je moguće iskopati sklonište. Neophodne karakteristike koje zemljište ipak mora da zadovolji da bi tekunica dugoročno mogla i da opstane na njemu jesu nizak nivo podzemnih voda i ocedito zemljište. (MATĚJŮ ET AL. 2010; JANDERKOVÁ ET AL. 2011). Zbog toga, pri izgradnji

jazbina tekunice preferiraju više delove terena, kao i delove terena pod nagibom (KATONA ET AL. 2002; MATĚJŮ ET AL. 2010). Izuzetno, ukoliko je za dato područje karakteristična pojava snažnih vetrova, tekunice će favorizovati niže delove terena (KATONA ET AL. 2002).



Slika 4. Stanište tekunice – Mali pesak (Banatska Palanka)

S obzirom da je hibernator, tekunica je posebno osetljiva na uslove koji vladaju tokom zimskog perioda, tj. na dužinu trajanja hladnog perioda, kao i na prosečne zimske temperature vazduha (SHERMAN & MORTON 1984). Primera radi, KOSHEV & KOČEVA (2007) navode da se na optimalnim staništima u Bugarskoj prosečna zimska temperatura vazduha kreće u rasponu od -1 do -3 °C, i da je samo na jednom od ispitivanih lokaliteta zabeležena prosečna januarska temperatura od -6 °C. Isti autori navode i da tekunice izbegavaju područja sa ekstremno niskim zimskim temperaturama. Pored prosečne zimske temperature vazduha, kao značajane klimatske faktore koji utiču na distribuciju tekunice, treba pomenuti i prosečne letnje temperature vazduha, količinu padavina, mada vrednosti ovih parametara dosta variraju u zavisnosti od dela areala u kom su istraživanja sprovedena (KOSHEV & KOČEVA 2007; MATĚJŮ ET AL. 2010; JANÁK ET AL. 2013).

Dok KATONA ET AL. (2002) navode da je vegetacija, tačnije sastav biljnih vrsta, jedan od faktora koji uslovljava preferenciju ka određenom staništu, MATĚJŮ ET AL. (2010) i GEDEON ET AL. (2011) sugerišu da je prisustvo niskog travnatog pokrivača mnogo bitnije za opstanak tekunice nego sam tip vegetacije ili prisustvo određenih biljnih vrsta na datom staništu. GEDEON ET AL. (2011) istovremeno naglašavaju i da prisustvo ekstremno niskog vegetacijskog pokrivača, na lokalitetima na kojim se planira reintrodukcija tekunice, može negativno uticati na preživljavanje jedinki. Prema

HOFFMANN ET AL. (2008) vegetacija visine od oko 20 cm obezbeđuje dobru pokrovnost i hranidbenu bazu, a istovremeno ne umanjuje dobru preglednost terena koja je tekunici neophodna kako bi na vreme uočila potencijalnu opasnost.

Reprodukcija

Tekunica je tipičan hibernator. Period buđenja tekunica iz hibernacije, kao i dužina hibernacije zavise od geografske širine i nadmorske visine područja u kom se populacija nalazi. Posmatano tokom dužeg niza godina, variranja postoje čak i unutar iste populacije, a uslovljena su klimatskim prilikama na datom području (RUŽIĆ 1950). Prema MILLESI ET AL. (1999A), MATĚJŮ (2008), MILLESI & HOFFMANN (2008), u Austriji i Češkoj period buđenja tekunica traje od početka marta pa do kraja aprila, a u Vojvodini traje u proseku od kraja februara do kraja marta (RUŽIĆ 1950). U planinskom području ovaj period je pomeren i počinje kasnije, obično početkom aprila i traje oko 15 dana (RUŽIĆ 1950). Prema GRULICH (1960) buđenje iz hibernacije počinje kada temperatura u gnezdećoj komori dostigne temperaturu 6-8 °C. NIKOL'SKII (2006) navodi da buđenje počinje kada temperatura zemljišta dostigne 3 °C, a RUŽIĆ (1950) kada prosečna srednja dnevna temperatura vazduha dostigne 4.5 °C.

MILLES ET AL. (1999a) navode da se prvo bude adultni mužjaci, a nešto kasnije adultne ženke i jednogodišnje jedinke, dok RUŽIĆ (1950) navodi da se prvo bude adultni mužjaci, zatim jednogodišnji mužjaci, a tek 20-ak dana kasnije počinje buđenje prvo adultnih, a zatim i mladih jednogodišnjih ženki. Period buđenja mužjaka traje relativno dugo (oko 25 dana), dok je ovaj period kod ženki znatno kraći i traje oko 10 dana RUŽIĆ (1950).

Kao i za većinu hibernatora, i za tekunice je karakteristično da se pare jednom u toku godine. Parenje započinje pre nego što se završi buđenje cele populacije (RUŽIĆ 1950; MILLES ET AL. 1999B). Dužina ovog perioda je varijabilna i zavisi od dela areala i klimatskih uslova na staništu, pa tako u Srbiji i Turskoj period parenja u proseku traje 20 do 25 dana (RUŽIĆ 1950; 1978; ÖZKURT ET AL. 2005), dok u Austriji traje u proseku 28 dana (MILLES ET AL. 1999B). Za razliku od nekih predstavnika roda *Spermophilus*, kod kojih je prisutna poliandrija (SHERMAN 1989; SCHWAGMEYER 1990; LACEY ET AL. 1997), kod evropske tekunice je prisutna poliginija, pri čemu stariji i jači mužjaci oplode više od jedne ženke, dok mladi, jednogodišnji mužjaci često i ne učestvuju u razmnožavanju

(RUŽIĆ1950, MILLESI ET AL. 1998). Za vreme parenja mužjaci postaju agresivni i često dolazi do međusobnih borbi oko ženke. Do kopulacije dolazi u jazbini. Mužjak posle parenja provodi još par dana sa ženkom koju je oplodio, da bi zatim krenuo u potragu za novom ženkom (RUŽIĆ1950).

Bremenitost kod tekunice traje 24-30 dana (RUŽIĆ1950; MILLESI ET AL. 1998). U ravničarskim, povoljnijim uslovima, broj embriona je manji i kreće se od 3 do 7, dok je u nepovoljnijim planinskim uslovima broj embriona nešto veći i kreće se od 3 do 8. Zapažena je pojava abortivnih i embriona koji se resorbuju (kod 35.3 % ženki prisutna su 1-2 ovakva embriona), ali su oni registrovani samo kod jedinki koje žive u povoljnijim klimatskim uslovima, kao što je slučaj sa tekunicama u Vojvodini (RUŽIĆ 1950).

Rađanje mladunaca počinje početkom treće dekade april i završava se krajem druge dekade maja (RUŽIĆ 1950; MILLESI ET AL. 1998). Tek rođeni mladunci su slepi i bez dlake. Počinju da obrastaju dlakom posle 15-17 dana (ÖZKURT ET AL. 2005). Dužina tela je oko 5 cm, a težina 4.7-6.6 g (RUŽIĆ 1978). Očne kapke otvaraju između 22 i 25 dana starosti (ÖZKURT ET AL. 2005). Nakon 17-21 dana od rođenja mladunaca ženka ih napušta i prelazi u drugu jazbinu (obično je u pitanju rupa za beg koju dodatno produbi), ali nastavlja da hrani mladunce (GRULICH 1960; RUŽIĆ 1978). Mladunci prvi put napuštaju jazbinu sa 25-30 dana života i počinju samostalno da se hrane vegetacijom. U tom periodu ženke i dalje nastavljaju da ih doje (RUŽIĆ 1950). Prema različitim autorima period dojenja traje do šest nedelja (RUŽIĆ 1950), između 45 i 61 dana (HUBER ET AL. 2001), odnosno dva meseca (ÖZKURT ET AL. 2005). Međutim, jasno je uočeno da se period laktacije produžava sa povećanjem veličine okota (HUBER ET AL. 2001).

Sa oko devet nedelja starosti mladunci počinju da se raseljavaju iz porodijskih jazbina i da prave nove, ili pak naseljavaju već postojeće, napuštene jazbine (HOFFMANN ET AL. 2004). Raseljavanje se vrši u krugu od oko 200 do 500 m od porodijske jazbine (MATĚJŮ ET AL. 2010). Posle tri meseca od rođenja, premda još nisu dostigli dimenzije odraslih, mladunci se teško mogu razlikovati od prošlogodišnjih jedinki (RUŽIĆ 1950).

Kao i kod većine vrsta roda *Spermophilus* (KENAGY ET AL. 1990; TROMBULAK 1991; RISCH ET AL. 1995; RIEGER 1996) i kod evropske tekunice broj mladunaca po okotu jako varira. U vreme kada mladi počinju da napuštaju jazbinu (25-30 dana starosti) veličina okota je procenjena na 2 do 4 (RUŽIĆ 1950), 3-8 (PETROV 1992), 2-6 (MILLES ET AL. 1999B), 3-10 (HUBER ET AL. 2001), 2-5 (ASCHAUER ET AL. 2006) i 4-7 (STRAUSS ET AL. 2007). Postoji pravilnost u promeni veličine okota, tj. broj mladunaca je veći u

ranijem okotu, dok je u kasnijem manji (HUBER ET AL. 1999; MILLESI ET AL. 1999B). Takođe, postoji veza između veličine okota i gustine populacije. Broj jedinki u okotu je veći pri manjoj gustini populacije (HOFFMANN ET AL. 2003A).

Hibernacija

Mužjaci tokom parenja potroše sve zalihe masnih naslaga koje su im bile preostale nakon hibenacije (RUŽIĆ 1950), tako da odmah nakon završetka perioda parenja počinju sa stvaranjem novih. Ženke i juvenilne jedinke započinju sa pripremanjem za hibernaciju tek nakon što ženke prestanu da doje mlade (MATĚJŮ ET AL. 2010). Početak perioda hibernacije varira u zavisnosti od dela areala u kom se populacija nalazi (JANÁK ET AL. 2013). Određena pravilnost u padanju u zimski san postoji i unutar same populacije, ali ni ona najčešće nije ujednačena na celom arealu. U Vojvodini, adultni mužjaci su ti koji, počev od druge polovine avgusta, prvi počinju da padaju u hibernaciju, dok padanje u zimski san kod adultnih ženki počinje nešto kasnije i traje do polovine septembra. Kod juvenilnih jedinki, period padanja u zimski san traje tokom oktobra (RUŽIĆ 1950). U Mađarskoj su takođe adultni mužjaci ti koji početkom avgusta prvi počinju da padaju u zimski san, dok period padanja u zimski san kod adultnih ženki i juvenilnih jedinki traje do kraja oktobra (VÁCZI 2005). U Češkoj i Austriji u hibernaciju prvo padaju adultne ženke koje nisu imale okot, i to već krajem jula, a tokom avgusta i ostale adultne ženke. Adultni mužjaci padaju u zimski san tokom septembra i početkom oktobra, dok juvenilne jedinke padaju u hibernaciju poslednje (MILLESI ET AL. 1999A; MATĚJŮ 2008).

Padanju u zimski san prethodi smanjenje bazalnog metabolizma. Ovo smanjenje bazalnog metabolizma se javlja sezonski, traje u toku cele jeseni i zime i ne zavisi od temperature sredine u kojoj životinja živi, već je rezultat endogenih cikličnih promena, najverovatnije kontrolisanih endokrinim sistemom (POPOVIĆ 1979; ŽIVADINOVIĆ ET AL. 2005). Hibernacija kod tekunice predstavlja adaptaciju na nepovoljne uslove (nedostatak vegetacije i kratko trajanje dana) koji su prisutni tokom zimskog perioda (MATĚJŮ ET AL. 2010). Životinje u hibernaciji imaju temperaturu blisku ambijetalnoj temperaturi, što za posledicu ima značajnu redukciju potrošnje energije. Kod tekunice, na početku perioda hibernacije telesna temperatura pada na 19.8 do 22 °C, a u najdubljem snu, u januaru mesecu, se spušta na 3.1- 4.5 °C. Neposredno pred buđenje ona iznosi 6.2-8.1 °C (RUŽIĆ 1978). Slično drugim hibernirajućim životinjama i tekunice ne ostaju sve vreme u fazi

torpora, već se faze torpora naizmenično smenjuju sa kratkim fazama buđenja. Faze torpora su duže sredinom perioda, dok su u ranom i kasnom periodu hibernacije kraće. (STRIJKSTRA 1999; NÉMETH 2010). Energetska potrošnja za vreme hibernacije je najvećim delom određena upravo ovim epizodama buđenja. Od ukupne energije koja se utroši za vreme hibernacije, 86 % ode na faze buđenja (STRIJKSTRA 1999). Tekunica za vreme hibernacije, u proseku, izgubi oko 28 % od ukupne telesne težine (ÖZKURT ET AL. 2005).

Povećana temperatura tokom dužeg vremenskog perioda može da prekine hibernaciju, a kada se vremenski uslovi pogoršaju tekunice mogu ponovo da padnu u san. Kao što je već napomenuto, buđenje je energetski jako zahtevno i ukoliko su ovakvi događaji učestali u periodu hibernacije, mogu imati negativan efekat na preživljavanje životinja (MATĚJŮ ET AL. 2010).

Dužina trajanja perioda hibernacije je jako varijabilna i verovano je u korelaciji sa dužinom zimskog perioda, kao i klimatskim prilikama u posmatranom delu areala. U Srbiji, period hibernacije kod adultnih jedinki tekunice u proseku traje 7-7.5 meseci, dok je kod juvenilnih jedinki on nešto kraći i traje 5-5.5 meseci (RUŽIĆ 1950). U Austiji i Češkoj period hibernacije tekunice traje u proseku između 6 i 8 meseci (MILLES ET AL. 1999A; MATĚJŮ ET AL. 2010). MILLES ET AL. (1999a) navode da adultne ženke hiberniraju najduže, zatim slede adultni mužjaci, pa jednogodišnji mužjaci i na kraju juvenilne jedinke.

Primarna uloga hibernacije jeste da se, smanjivanjem metaboličke aktivnosti organizma na minimum, maksimalno redukuje potrošnja energije (GEISER 2004). Količina utrošene energije tokom hibernacije određuje telesnu težinu jedinke u trenutku buđenja iz hibernacije, a ona velikim delom utiče na dalju sudbinu jedinke. Tačnije, stopa preživljavanja tokom hibernacije (MURIE & BOAG 1984), vreme polnog sazrevanja i reproduktivni uspeh kod oba pola su u direktnoj vezi sa težinom tela (MILLES ET AL. 1998; MILLES ET AL. 1999A; STRIJKSTRA ET AL. 2006). Takođe, pri kraju perioda hibernacije, a u toku kratkih faza buđenja, završava se i sazrevanje muških gonada (BARNES ET AL. 1988). Tekunice postaju reproduktivno aktivne u prvoj godini života, posle perioda hibernacije (ÖZKURT ET AL. 2005), ali dok su sve ženke reproduktivno sposobne u prvoj, reprodukcija kod mužjaka često može da bude odložena do druge godine života, na račun većeg energetskog ulaganja u rast (RUŽIĆ 1950; MILLES ET AL. 1998, 1999B). Hibernacija utiče i na dužinu života, pa je tako životni vek životinja koje

hiberniraju duži u poređenju sa nehibernirajućim životinjama slične veličine (SPEAKMAN 2005).

Ishrana

Preko 80 % hrane koju tekunica konzumira čine biljke. Kao hrana mogu da joj posluže različiti delovi biljaka: zeleni delovi (izdanci i listovi), cvetovi, seme, plodovi, kao i podzemni delovi (krtole i lukovice) (RUŽIĆ 1950; MATĚJŮ ET AL. 2010). Tekunica se ne hrani svim biljnim vrstama prisutnim na staništu. Broj vrsta, kao i njihova procentualna zastupljenost u ishrani sezonski su uslovljeni (RUŽIĆ 1950).

RUŽIĆ (1950) je analizirala ishranu tekunica na više lokaliteta u Deliblatskoj peščari i zabeležila da su tekunice u toku aktivnog perioda koristile u ishrani ukupno 31 biljnu vrstu, od kojih je samo 8 vrsta bilo prisutno u ishrani u toku cele godine. Vrste prisutne u ishrani tokom cele godine su bile one koje imaju zelene nadzemne delove ili sočne podzemne delove tokom celog perioda: *Poa bulbosa*, *Euphorbia gerardii*, *Achillea millefolium*, *Medicago minima*, *Medicago lupulina*, *Polygonum aviculare* i *Taraxacum officinale*. Analizirajući ostatke hrane, kao i direktnim posmatranjem, HERZIG-STRASCHIL (1976) je zabeležio oko 70 biljnih vrsta kojim su se tekunice hranile u toku sezone. KOÓSZ ET AL. (2006) su vršili istraživanja pred kraj aktivnog perioda i konstatovali da su tekunice, od ukupno 62-78 biljnih vrsta (broj je varirao na različitim staništima), u ishrani koristile svega 16-18 vrsta.

Takođe, postoji određena pravilnost u odabiru vrsta koje se koriste u ishrani. Iako su monokotile osnovni graditelji biljnih zajednica na tipičnim staništima tekunice, u ishrani jasno dominiraju dikotile. Istraživanje koje su sproveli KOÓSZ ET AL. (2006) je pokazalo da su leguminozne vrste neophodne u ishrani tekunice, kao i da čine čak 30 % od ukupne količine hrane koju tekunica unese u svoj organizam. Učešće zeljastih delova monokotila takođe nije zanemarljivo i kreće se od 10 do 32 %. Značajan udeo u ishrani (6-22 %) čini i semenje različitih biljaka (RUŽIĆ 1950; KOÓSZ ET AL. 2006).

Pored biljaka koje su prisutne na staništu i koje predstavljaju osnovni izvor hrane, tekunice se, ukoliko su im dostupne, hrane i kulturnim biljkama i žitaricama. Pored lucerke, kojom se hrane u toku cele sezone, i to njenim zelenim delovima, hrane se i pšenicom, raži, ječmom, ovsom (zelenim delovima i zrnavljem), suncokretom (kotiledonima), semenom kukuruza i korenom šećerne repe (RUŽIĆ 1950). MATĚJŮ ET AL.

(2011) su zabeležili da se mogu hraniti i krompirom i kajsijama koje su pale sa grana, a RUŽIĆ (1950) da se hrane i semenom belog (*Morus alba*) i crnog duda (*Morus nigra*). Što se tiče aromatičnih i otrovnih biljaka, uočeno je da ih tekunice izbegavaju (KOÓSZ ET AL. 2006).

Tekunica u toku dana provede oko polovine do 2/3 vremena hraneći se (MATĚJŮ ET AL. 2010), pri čemu u proseku pojede oko 80 g hrane (RUŽIĆ 1950). Hranu ne nosi u jazbinu, već je jede na površini, ali u neposrednoj blizini ulaza. Pri jelu se obično uspravi na zadnje noge, a hranu pridržava prednjim nogama. Nije uočeno skupljanje hrane kao rezerve za zimu (RUŽIĆ 1950, 1978; ÖZKURT ET AL. 2005).

Gnezdo tekunica je najčešće sačinjeno od različitih vrsta iz familije Poaceae, pri čemu su *Poa bulbosa* i *Festuca valesiaca* najčešće beležene vrste (RUŽIĆ 1950). U sastavu gnezda su obično nalaženi najgrublji drvenasti (nejestivi) delovi trava, a samo malim delom i delovi biljaka koji mogu da posluže kao hrana. Pretpostavlja se da se za vreme loših vremenskih prilika, kada ne izlaze iz svojih jazbina, tekunice hrane upravo ovim jestivim delovima biljaka od kojih je izgrađeno gnezdo (RUŽIĆ 1950). GEDEON ET AL. (2010) navode da tekunice u Mađarskoj prave gnezdo gotovo isključivo od listova *Festuca pseudovina* koja može da im posluži i kao hrana na kraju perioda hibernacije, pre nego što počnu da izlaze iz jazbina.

Pored biljaka, kao hrana mogu da posluže i različiti insekti, ali je njihov udeo u ishrani tekunice znatno manji i iznosi 13,4 % (RUŽIĆ 1950). U želucima je najčešće nalažen *Gryllus campestris* (Orthoptera), a pored njega i različiti predstavnici iz familija Curculionidae i Carabidae (Coleoptera) (RUŽIĆ 1950). Nasuprot RUŽIĆ (1950), HERZIG-STRASCHIL (1976) pak navodi da insekti mogu činiti značajan udeo u ishrani tekunica, pri čemu su dominantni predstavnici reda Coleoptera, gusenice Lepidoptera, zatim Orthoptera i predstavnici familije Formicidae. Izuzetno se mogu naći i neki sitni kičmenjaci kao što su gušteri. Meso i kosti sitnih sisara i ptica, kao i jaja, nisu pronađeni (RUŽIĆ 1950).

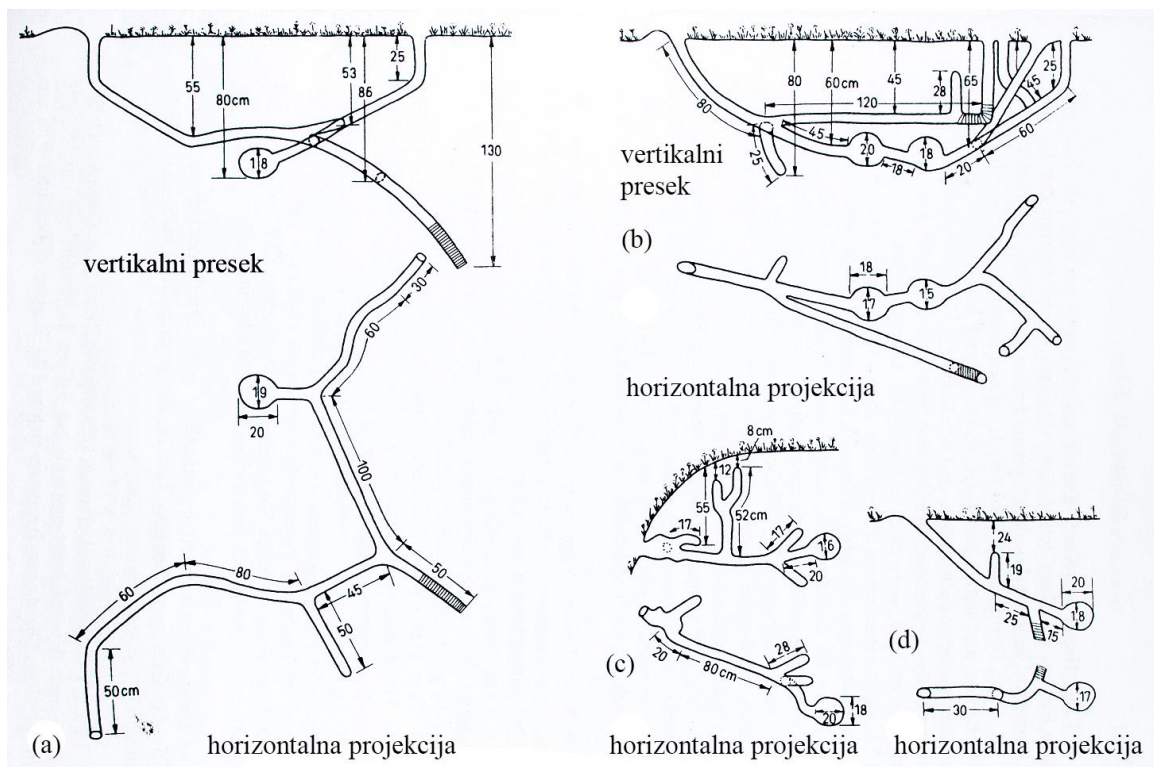
Skloništa

Možemo razlikovati dva glavna tipa skloništa: stalna skloništa ili jazbine, sa gnezdrom u kojem koti i odgaja mlade, i privremena skloništa (RUŽIĆ 1950; ÖZKURT ET AL. 2005). Stalna skloništa obično nastaju postepenim produblivanjem privremenih

skloništa. Dubina do koje ove jazbine mogu da idu varira u zavisnosti od zemljišta i klime. Tako RUŽIĆ (1950) navodi da ona može biti i do 2 m na peskovitom zemljištu, dok na plitkom i skeletnom ne prelazi 80 cm. MATĚJŮ ET AL. (2010) pak navode da je maksimalna dubina do koje tekunice kopaju jazbine 1 m, ali da uglavnom ne prelazi 70 cm. Ulazni otvor je širok 5-7 cm i od njega polazi glavni hodnik koji može da dostigne dužinu do 4.5 m i koji se na svom kraju završava komorom sa gnezdnom. Od glavnog hodnika mogu da se odvajaju drugi sporedni hodnici koji takođe mogu da imaju svoje izlazne otvore. Pre nego što padne u san, tekunica sa unutrašnje strane zatrpava zemljom sve izlazne otvore i na taj način stvara nove ili produžava već postojeće sporedne hodnike. Ukoliko takva jazbina veći broj godina služi tekunici za prezimljavanje, utoliko ona ima komplikovaniju građu, veću dužinu i veći broj sporednih hodnika, kao i veći broj ulaznih otvora (RUŽIĆ 1950). Kod ovakvih stalnih skloništa ukupna dužina svih kanala može da dostigne i do 10 m (MATĚJŮ ET AL. 2010).

U jazbini, po pravilu, postoji samo jedna gnezdeća komora koja se nalazi u njenom najdubljem delu. Komora je manje-više loptastog oblika i obložena je suvim biljnim materijalom. Prečnik komore je oko 20 cm. Postoji jedan ulaz u komoru, a izuzetak mogu biti stare jazbine kod kojih mogu postojati i dva ulaza. U jazbinama sa gnezdnom se nalazi i nužnik, koji je smešten u nekom od sporednih kanala. Izmet se povremeno izbacuje na površinu zemlje, ili se hodnik sa izmetom jednostavno zatrpa (RUŽIĆ 1950).

Pored stalnih, na staništima na kojim živi tekunica pravi i veliki broj privremenih skloništa koja joj služe u slučaju opasnosti. RUŽIĆ (1950) razlikuje tri tipa privremenih skloništa. Prvi tip privremenih skloništa su nedovršene jazbine sa gnezdnom u kojima još nema komore. Izgrađene su od jednog hodnika koji koso ulazi u zemlju, a ispred ulaznog otvora se često nalazi humka sveže iskopane zemlje. Ovakva skloništa mogu više godina da služe kao privremena, sve dok neka tekunica ne iskopa komoru sa gnezdnom i prezimi u njoj. Drugi tip su napuštene jazbine sa gnezdnom, koje su složene građe, a nastaju zatrpavanjem pojedinih kanala i komora. Hodnici kod ovakvih skloništa se spuštaju veoma strmo i na relativno veliku dubinu. Treći tip su sasvim jednostavna sezonska skloništa bez gnezda, koja tekunica pravi u blizini ili na samim poljima, a u vreme kada se hrani nekom biljnom kulturom. Kod ovakvih skloništa obično postoji jedan hodnik koji se koso spušta u dubinu do oko 50 cm i koji može ići znatno horizontalno u dužinu. Ovakva skloništa mogu imati jedan ili dva ulazna otvora.



Slika 5. Primer jazbina sa gnezdом: (a) višegodišnja jazbina (b) vrlo stara jazbina, (c) višegodišnja jazbina, (d) jednogodišnja jazbina postala od dela stare napuštene jazbina (RUŽIĆ 1978).

Iako kod tekunica postoji kolonijalna organizacija, one ipak nisu socijalne životinje. Svaka jedinka ima sopstvenu jazbinu, koju isključivo ona koristi (MILLES ET AL. 1999B). Izuzetak su privremena skloništa koja služe za beg i koja koristi veći broj jedinki. Veliki broj privremenih skloništa, a naročito veliki broj ulaznih otvora (procenjeno je da na jednu tekunicu dolazi 5-20 rupa), omogućava tekunici da se uspešno zaštiti od predatora, naročito ptica grabljivica. Jedino kod juvenilnih jedinki se dešava da u slučaju opasnosti pobegnu u isto sklonište, te da se u jednom skloništu istovremeno zatekne veći broj jedinki (RUŽIĆ 1950). Nije primećeno da u slučaju opasnosti koriste jazbine drugih sitnih sisara koje su prisutne na staništu (ÖZKURT ET AL. 2005).

Interesantan podatak je da tekunice na kraju dnevne aktivnosti, ali i prilikom napuštanja gnezdeće jazbine, blokiraju ulazni kanal zemljom. Čep se obično formira na udaljenosti od oko 57 cm od ulaza, a debljina sloja zemlje iznosi 30-40 cm. Pretpostavlja se da se tekunice na ovaj način štite od predatora koji su manje efikasni ukoliko je kanal zapušen, a pravljenje čepa na ovoj dubini opet omogućava tekunici da u slučaju opasnosti može brzo da se skloni ispod površine zemlje (HUT & SCHARFF 1998).

Uloga u ekosistemu

Evropska tekunica ima veoma značajnu ulogu u funkcionisanju i održanju stepskih travnatih ekosistema i njihovih zajednica (JANÁK ET AL. 2013). Opstanak čitavog niza životinjskih vrsta zavisi od prisustva i brojnosti njenih populacija u okviru ovih ekosistema.

Tekunica predstavlja osnovni plen za mnoge grabljivice, pre svega za orla krstaša (*Aquila heliaca*) i stepskog sokola (*Falco cherrug*), vrste koje su globalno ugrožene. Pored njih, predstavlja plen i za neke druge vrste grabljivica kao što su orao kliktaš (*Aquila pomarina*), mrka lunja (*Milvus migrans*), mišar (*Buteo buteo*), jastreb (*Accipiter gentilis*) i dr. (PEŠEV 1955; MATĚJŮ ET AL. 2010; JANÁK ET AL. 2013). Ukoliko su im populacije jako brojne, sive vrane (*Corvus cornix*) (PEŠEV 1955), svrake (*Pica pica*) i vrane (*Corvus corone*) se mogu ponašati kao predatori i uticati na brojnost populacija tekunica (MILLES ET AL. 1999A).

Pored ptica, značajni predatori mogu biti i neke vrste karnivora kao što su lasica (*Mustela nivalis*), mrki tvor (*Mustela putorius*), stepski tvor (*Mustela eversmanii*), kuna belica (*Martes foina*), lisica (*Vulpes vulpes*) i jazavac (*Meles meles*) (PEŠEV 1955; RUŽIĆ 1978). Osim njih, značajni predatori tekunice mogu biti i psi i mačke (MILLES ET AL. 1999A).

Neke retke vrste koprofilnih tvrdokrilaca kao npr. *Onthophagus vitulus* i *Aphodius citellorum* su se specijalizovale da se hrane izmetom tekunice. Napuštene jazbine tekunice mogu koristiti neke druge zaštićene vrste kao što su zelena krastača (*Bufo viridis*) ili smukulja (*Coronella austriaca*) (JANÁK ET AL. 2013), kao i poljska voluharica (*Microtus arvalis*) (lična opservacija). Tekunica može predstavljati značajnog primarnog konzumenta koji može ograničavati širenje nekih biljnih vrsta, uključujući tu i invazivne vrste (JANÁK ET AL. 2013).

Pozemni kanali koje tekunice iskopavaju, kao i materijal koji tom prilikom izbacuju na površinu zemlje, utiču na zapreminu zemljišta, infiltraciju vode, pH zemljišta, sadržaj organskih materija i nutrijenata, a time i na sastav biljnih zajednica na datom staništu (REICHMAN & SMITH 1990). Specifični uslovi koji vladaju u podzemnim jazbinama i gnezdima, kao i stalno prisustvo domaćina, pomažu razvoju i opstanku bogate faune ekto- i endoparazita, a pogodni su i za razvoj velikog broja mikroorganizama (REICHMAN & SMITH 1990).

Najčešće nalaženi ektoparaziti kod tekunica su buve (Siphonaptera) i to: *Ctenophthalmus orientalis*, *Citellophilus martinoi*, *Citellophilus simplex*, *Neopsylla sctosa* (PEŠEV 1955; MATĚJŮ ET AL. 2010). Krpelji i grinje (Acari) su takođe česti, a do sada zabeležene vrste su: *Argas bureschi*, *Ixodes laguri*, *I. ricinus*, *I. redikorzevi*, *Hyalomma sulcata*, *Rhipicephalus rossicus* (PEŠEV 1955; BERON 1974; MIHALCA ET AL. 2012), *Cheladonta ikaoensis*, *Hirstionyssus criceti*, *Mycetoglyphus sp.*, *Pachylaella sp.* (BERON 1974). *Ixodes laguri* je krpelj koji naseljava podzemne jazbine i skoro isključivo parazitira na predstavnicima roda *Spermophilus* (MIHALCA ET AL. 2012). Na tekunicama u Vojvodini su do sada zabeležene 2 vrste krpelja: *Ixodes redikorzevi* i *Haemaphysalis concinna* (RADULOVIĆ ET AL. in press).

GOLEMASKY & KOSHEV (2007, 2009) su kod bugarskih tekunica registrovali sledeće vrste endoparazita iz reda Eucoccidiorida: *Eimeria citelli*, *E. callospermophilli*, *E. cynomysis* i *Klossia sp.*, dok su KVIČEROVÁ & HYPŠA (2013) kod čeških tekunica registrovali prisustvo samo *E. callospermophilli*. GOLEMASKY & KOSHEV (2009) navode da je od ukupnog broja ispitanih tekunica čak 88.5 % bilo inficirano nekom od gore navedenih vrsta. STEFANOV ET AL. (2001) su kod tekunica pronašli 2 vrste pantljičare (Cestoda): *Hymenolepis megaloon* i *Ctenotaenia marmotae*, kao i 2 vrste valjkastih crva (Nematoda): *Streptopharagus kutassi* i *Trichostrongylus colubriformis*.

Globalni i nacionalni status ugroženosti

S obzirom da broj populacija konstantno opada na celom arealu vrste, tekunica se na IUCN-ovoj Crvenoj listi ugroženih vrsta od 2008. godine nalazi u kategoriji ranjiva (VU) (COROIU ET AL. 2008). Zakonski status tekunice u Evropi regulišu EU Direktiva o staništima (Aneks II i IV) i Konvencija o očuvanju evropske divlje flore i faune i prirodnih staništa (poznatija kao Bernska konvencija), gde je svrstana u Aneks II konvencije. Unutar mreže Natura 2000 je do sada u režim zaštite uključeno 414 staništa koja naseljava tekunica (EUROPEAN ENVIRONMENTAL AGENCY 2014).

Na nacionalnom nivou tekunica je zaštićena zakonom kao strogo zaštićena vrsta ("Službeni glasnik RS", 5/10) i nalazi se na preliminarnom spisku za Crvenu listu kičmenjaka Srbije gde je svrstana u kategoriju niskog rizika od nestajanja (LC) (SAVIĆ ET AL. 1995; VASIĆ ET AL. 1995). Treba napomenuti da je ova lista sastavljena pre skoro 20

godina i da bi, ukoliko bi se pitanje izrade Crvene knjige kičmenjaka Srbije ponovo pokrenulo, ovaj status tekunice zahtevao reviziju.

Ciljevi rada

Ciljevi ove disertacije su:

- Utvrđivanje genetičkog diverziteta populacija tekunice na teritoriji Srbije
- Utvrđivanje stepena genetičke diferencijacije između ispitivanih populacija
- Određivanje brojnosti i gustine populacija
- Praćenje populacione dinamike
- Određivanje minimalne vijabilne veličine populacije (MVP), kao i parametara životne istorije koji imaju najveći uticaj na MVP
- Utvrđivanje glavnih faktora ugrožavanja i predlaganje mera kojim bi se uticaj ovih faktora minimalizovao

Materijal i metode

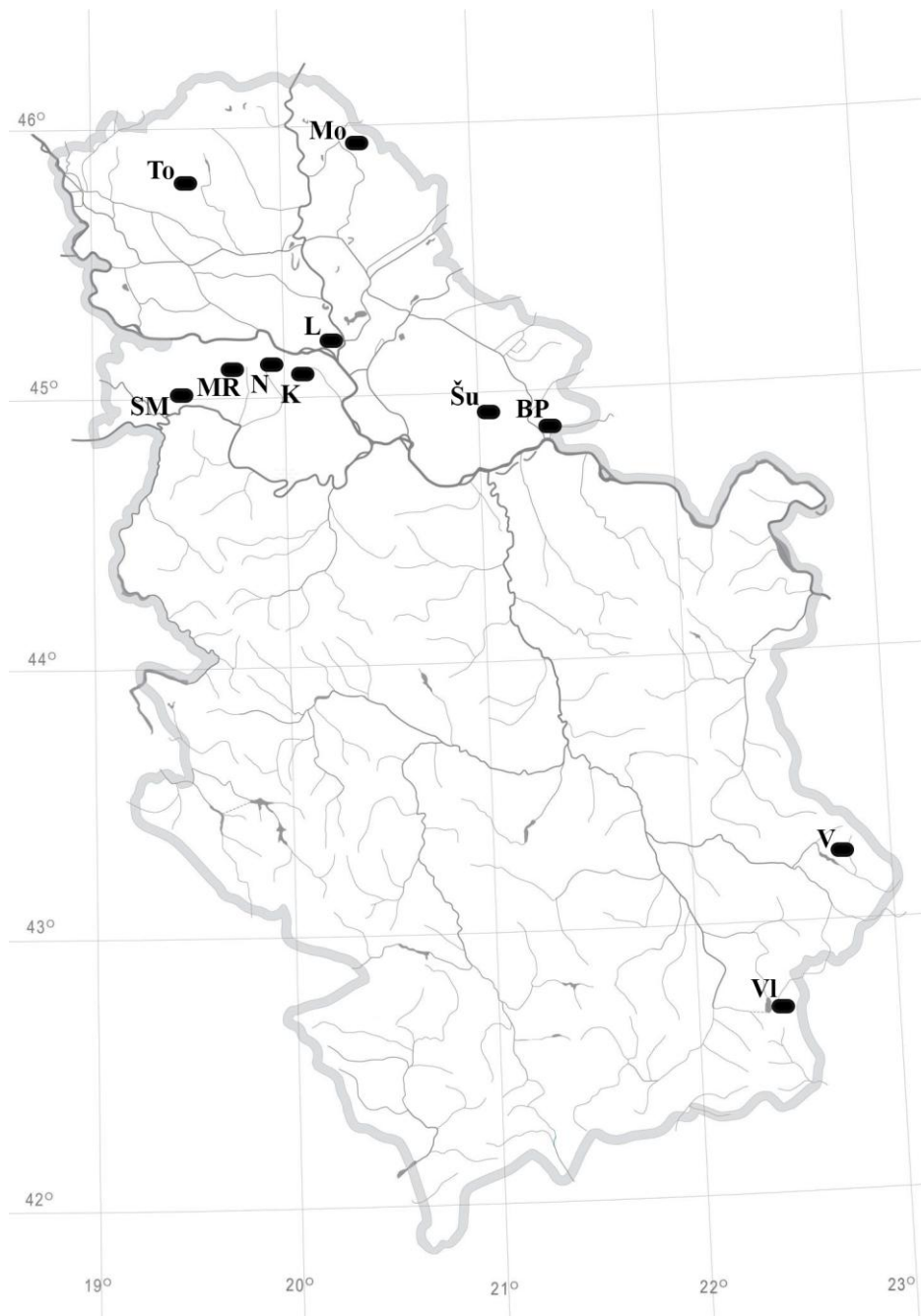
Utvrđivanje genetičkog diverziteta i strukture populacija pomoću mikrosatelitskih lokusa

Metodologija prikupljanja uzoraka

U cilju analize genetičkog diverziteta i strukture populacija tekunice na teritoriji Srbije prikupljeno je 180 uzoraka tkiva sa 11 lokaliteta. U Vojvodini su uzorci prikupljeni sa 9 lokaliteta i to: 20 uzoraka sa lokaliteta Krušedol (K), 21 uzorak sa lokaliteta Neradin (N), 15 sa lokaliteta Mala Remeta (MR), 17 sa lokaliteta Sremska Mitrovica (SM); 27 sa lokaliteta Banatska Palanka (BP), 24 sa lokaliteta Šušara (Šu), 6 sa lokaliteta Mokrin (Mo), 21 sa lokaliteta Lok (L) i 6 sa lokaliteta Tomislavci (To) (Slika 7). Pored toga, 10 uzoraka je prikupljeno sa Vlasine (VI) i 13 sa Stare planine – lokalitet Vrtibog (V). Uzorci za genetičke analize su prikupljeni tokom 2007-2009. godine. Životinje su hvatane nalivanjem i pomoću živolovki. Nakon hvatanja, svakoj životinji odsečen je mali deo vrha uveta koji je do finalnih analiza uskladišten u ependorf tubama sa 96 % etil-alkoholom.



Slika 6. Hvatanje tekunica pomoću živolovki; Vlasinsko jezero 2009.



Slika 7. Prikaz lokaliteta sa kojih su prikupljeni uzorci. Lokaliteti sa područja Srema: Krušedol (K), Neradin (N), Mala Remeta (MR), Sremska Mitrovica (SM); lokaliteti sa područja Banata: Banatska Palanka (BP), Šušara (Šu), Mokrin (Mo); lokaliteti sa područja Bačke: Lok (L), Tomislavci (To), jedan lokalitet sa Stare planine: Vrtibog (V); i jedan sa Vlasine (VI).

Izolacija DNK i analiza mikrosatelitskih lokusa

U cilju utvrđivanja genetičkog diverziteta, varijabilnosti i strukture populacija tekunice na teritoriji Srbije, korišćeno je 11 mikrosatelitskih lokusa (Tabela 1).

DNK je izolovana pomoću JETQuick Tissue DNA Spin Kit-a (Genomed GmGH) prema uputstvu proizvođača. Genotipizacija je urađena za 11 mikrosatelitskih lokusa koji su prvobitno otkriveni kod drugih predstavnika iz familije veverica i to kod: *Marmota marmota* - lokusi MS41, MS56 (HANSLIK & KRUCKENHAUSER 2000), *Spermophilus suslicus* – lokusi SSU1, SSU5, SSU7, SSU8, SSU13, SSU15, SSU16 (GONDEK ET AL. 2006) i *Spermophilus bruneus bruneus* – lokusi IGS1 i IGS110b (MAY ET AL. 1997) (Tabela 1).

Mikrosatelitski lokusi su amplifikovani u tri seta koristeći QIAGEN Multiplex PCR kit. Set A su činili lokusi SSU1, SSU5, SSU15, SSU16 i MS56, set B lokusi MS41, IGS1 i IGS110b, a set C lokusi SSU7, SSU8 i SSU13. Finalni volumen PCR smeše iznosio je 10 µl i sastojao se od 1µl DNK, 5µl QIAGEN Multiplex PCR Master Mix-a, dok je količina prajmera i vode (RNase-free water) varirala u zavisnosti od seta. PCR amplifikacija se sastojala od sledećih koraka: inicijalna aktivacija na 95 °C u trajanju od 15 min, zatim 35 ciklusa koji su uključivali denaturaciju na 94 °C u trajanju od 30 s, vezivanje prajmera na 52-54 °C (za set A 53 °C, za set B 52 °C, za set C 54 °C) u trajanju od 90 s, i elongaciju na 72°C u trajanju od 60 s. Nakon 35 ciklusa primenjena je finalna elongacija na 72 °C u trajanju od 10 min.

Nakon toga, 1µl svakog PCR produkta je pomešan sa 12 µl dejonizovanog formamida i 0.3µl GeneSize – 500 LIZ (za set A i C), odnosno GeneSize – 500 ROX (za set B) standarda za dužinu (Applied Biosystems) i analiziran na kapilarnom sekvenatoru ABI PRISM™ 310 Genetic Analyser (Applied Biosystems). Za očitavanje dužine amplifikovanih fragmenata korišćen je softver GeneMapper v.3.7 (Applied Biosystems).

Nulti aleli predstavljaju alele koji se nisu amplifikovali tokom PCR reakcije. Iako mogu biti uobičajena pojava (LEHMANN ET AL. 1996; VAN TREUREN 1998), nultim alelima se često pridaje mala pažnja pri analizi podataka. Međutim, oni mogu uzrokovati pojavu tzv. “lažnih” homozigotnih lokusa, a ova povećana homozigotnost može dovesti do odstupanja od Hardi-Vajnbergove ravnoteže (HWE). Takođe, nulti aleli mogu značajno uticati na vrednost inbriding koeficijenta (F_{IS}), kao i na vrednosti indeksa fiksacije F_{ST} i R_{ST} (ALLENDORF & LUIKART 2007; PEMBERTON ET AL. 1995). Za izračunavanje učestalosti nultih alela na svakom lokusu i u svakoj populaciji korišćen je program FreeNA (CHAPUIS & ESTOUP 2007), dok je za određivanje statistički značajnih vrednosti nultih alela korišćen MICRO-CHECKER 2.2.3 (VAN OOSTERHOUT ET AL. 2004).

Tabela 1. Spisak mikrosatelitskih lokusa

Lokus	Ponovak	Prajmer	Opseg (bp)	Oznaka	Izvor
SSU1	(AC)10	F:AGGTGGGTGTGAGAACTTGC R:AACTCAGGCTGGTGTGTGA	206-224	FAM	GONDEK ET AL. (2006)
SSU5	(AG)12	F:CAACATAGTGAGACCCCATC R:AAGTCATCCCTGCCCTAAT	133-147	NED	GONDEK ET AL. (2006)
SSU7	(GA)13	F:TTTGAGGACCAGGACATCGT R:GCCACTACACCTCTCCTTGC	167-179	VIC	GONDEK ET AL. (2006)
SSU8	(AC)17	F:AGTCGTGTCCAGCTTGTGTG R:AAATTGGGATGATAAGCAGAGG	213-231	NED	GONDEK ET AL. (2006)
SSU13	(CA)11	F:GCATTTGAGAAGGTCTGGTGAG R:CTGAGGGAAAGCGAGGAGAG	181-195	PET	GONDEK ET AL. (2006)
SSU15	(TC)3G(TC) 3G(CT)10	F:CTAAGCACCATACAAAGATG R:TCCCTTCCACCCATTGAC	200-220	VIC	GONDEK ET AL. (2006)
SSU16	(GAT)14	F:AACCCTTTCTGTTTCCCTTCA R:TGGGGTTAGCAAATGATGGT	218-236	PET	GONDEK ET AL. (2006)
IGS1	(CA)20	F:ATAACAGCACCTGCTCCAC R:AATCCATCCTCTACCTGTAATGC	86-100	TET	MAY ET AL. (1997)
IGS110b	(TGC)9	F:CCATGGAAGCATGTCTGGTG R:TGCTTCCTGATTTCAAAGTTGC	137-146	FAM	MAY ET AL. (1997)
MS41	(GT)11	F:GGTGTATATGGGAATAGGGGG R:GCCTTCAAATCAAAGCAGGTTG	193-203	HEX	HANSLIK & KRUCKENHAUSER (2000)
MS56	(CA)14	F:CAGACTCCCACCAGTGACC R:CCTGATCTATGTAGGTTCCAT	111-117	FAM	HANSLIK & KRUCKENHAUSER (2000)

Standardne analize genetičke varijabilnosti i test uskog grla (bottleneck test)

Testiranje disekvilibrija genotipske vezanosti je urađeno za svaki par lokusa i svaku populaciju uz pomoć metode Markovljevog lanca i primenom standardnih parametara datih u programu GENEPOP v. 1.2 (RAYMOND & ROUSSET 1995). Dobijene p vrednosti su dodatno korigovane uz pomoć programa Q-VALUE v.1.0 (STOREY & TIBSHIRANI 2003).

Učestalost alela, prosečan broj alela (N_A), uočena (H_o) i očekivana (H_e) heterozigotnost su izračunati u programu GENETIX v.4.05 (BELKHIR ET AL. 1995-2004). Bogatstvo alela (AR), koje predstavlja prosečan broj alela koji je nezavisan od veličine uzorka i čija vrednost stoga može da se poredi među populacijama sa različitim brojem uzoraka, je izračunato pomoću programa FSTAT v. 2.9.3.2 (GOUDET 2002). Za izračunavanje inbriding koeficijenta (F_{IS}), koji je istovremeno poslužio i kao mera odstupanja od Hardi-Vajnbergove ravnoteže (HWE), korišćen je GENETIX. U ovom programu je, pomoću 10000 permutacija, testirana i značajnost odstupanja vrednosti F_{IS} od nule.

Kako bi se utvrdilo da li je u skorijoj prošlosti došlo do značajnog smanjivanja efektivne veličine ispitivanih populacija i prolaska populacija kroz usko grlo, korišćen je program BOTTLENECK v. 1.2.02 (CORNUET & LUIKART 1996). Program koristi tri modela mutacije: model beskonačnog broja alela - IAM (infinite allele model), model postupnih mutacija - SMM (stepwise mutation model) i dvofazni model - TPM (two phase mutation model). Za analizu podataka korišćen je dvofazni mutacioni model (TPM) sa 90 % mutacija koje su pratile postepeni mutacioni model (SMM) i varijansom TPM modela od 30 %. Značajnost je procenjena na osnovu Wilcoxon sign-rank testa (LUIKART & CORNUET 1998).

Genetička struktura i klaster analize

Za kvantifikovanje stepena međupopulacione diferencijacije upotrebljen je indeks fiksacije (F_{ST}) čija je vrednost izračunata u programu ARLEQUIN v. 3.5.1.2 (EXCOFFIER & LISCHER 2010). Uz pomoć metode Markovljevog lanca i 10000 permutacija, u istom programu je urađeno i testiranje značajnosti odstupanja vrednosti F_{ST} indeksa od nule. Kao što je već napomenuto, nulti aleli mogu značajno uticati na vrednosti F_{ST} indeksa, tj. mogu dovesti do toga da dobijene vrednosti F_{ST} indeksa budu više nego što jesu u

realnosti. Uz pomoć programa FreeNA (CHAPUIS & ESTOUP 2007), koji efikasno uočava i ispravlja pozitivna ostupanja u vednosti F_{ST} indeksa uzrokovana prisustvom nultih alela, izračunate su korigovane vrednosti F_{ST} indeksa koje su označene kao F_{STENA} .

U cilju utvrđivanja razlika u genetičkom diverzitetu i strukturi između populacija iz Vojvodine (K, N, MR, SM, BP, Šu, L, Mo, To), koje uslovno možemo označiti “kontinuiranim” i dve udaljene fragmentisane planinske populacije sa jugoistoka zemlje (V i VL), poređene su vrednosti bogatsva alela (AR), uočene (H_o) i očekivane heterozigotnosti (H_e), koeficijenta inbridinga (F_{IS}), indeksa fiksacije (F_{ST}) i Pamilov (1985) korigovani koeficijent srodnosti ($Relc$). Za ove analize korišćena je opcija poređenja među grupama u programu FSTAT. Za testiranje hipoteze da su vrednosti AR , H_o , H_e više, a F_{ST} i $Relat$ niže u ravničarskim nego u planinskim populacijama, korišćen je jednostrani test. Za F_{IS} je korišćen dvostrani test pošto na ovu vrednost, pored ukrštanja u srodstvu, može uticati i kriptična strukturiranost unutar populacija.

Prostorna distribucija genetičke strukturiranosti analizirana je pomoću tri programa koji koriste Markovljev lanac - Monte Karlo (MCMC) metod za grupisanje individua i populacija u klastere. Prvo je korišćen program STRUCTURE v. 2.3.4 (PRITCHARD ET AL. 2000) koji pomoću MCMC metode raspoređuje individue u određeni broj klastera (K), a bez prethodne informacije o geografskom rasporedu ispitivanih individua. Za analizu podataka u ovom slučaju korišćen je mešoviti model (admixture model) koji pretpostavlja da individue mogu imati mešano poreklo, tj. da deo genoma svake jedinice može biti nasleđen od predaka koji su poreklom iz različitih klastera i model nezavisnih učestalosti alela (independent allele frequencies model) (PRITCHARD ET AL. 2010). Urađeno je po 10 nezavisnih analiza za svaku vrednost K koja se kretala od 1 do 11, pri čemu je period testiranja bio podešen na 100000, a MCMC na 500000 iteracija. Prema preporuci EVANNO ET AL. (2005) dobijene srednje vrednosti naknadnih verovatnoća (posterior probabilities) za svaku vrednost K su korišćene za izračunavanje vrednosti ΔK . Najviša dobijena vrednost ΔK predstavlja najverovatniji broj klastera.

U programu BAPS v. 5.4 (CORANDER ET AL. 2008) je korišćen model prostornog mešanja (spatial mixture model). Kako bi se dobio najadekvatniji broj klastera (K), podešeno je da K varira između 1 i 11. Zatim je, na osnovu Nei genetičkih distanci između dobijenih klastera, konstruisano filogenetsko stablo metodom pridruživanja suseda (Neighbour joining - NJ). Ono je poslužilo kao ilustracija koliko su klasteri slični i kako su povezani među sobom. Na osnovu broja glavnih grupa klastera utvrđena je fiksna

vrednost K , a zatim ponovljena analiza za K – fiksni model (analize su urađene za vrednosti $K=3$ i $K=4$).

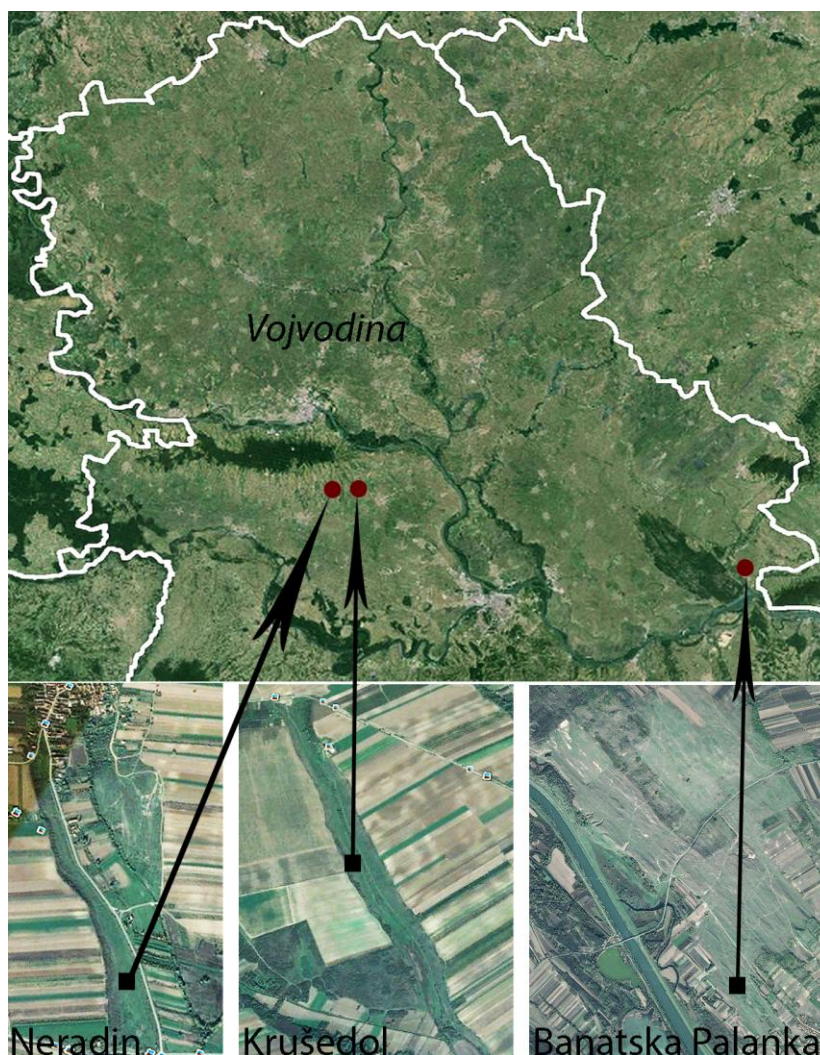
U programu GENELAND v. 4.0.5 (GUILLOT ET AL. 2005B) prvo je podešeno da broj mogućih klastera (K) varira između 1 i 11. Broj MCMC iteracija je podešen na 500000, maksimalna stopa Puasonovog procesa (Poisson process) na 100, a maksimalni broj tačaka u Puason–Voronoi dijagramu (Poisson-Voronoi tessellation) na 300. Nepouzdanost geografskih koordinata je podešena na 50 m. Korišćena je Dirihleova raspodela (Dirichlet model) učestalosti alela jer se pokazala boljom od Falush raspodele (GUILLOT ET AL. 2005A). S obzirom da program nudi i tu mogućnost, pri određivanju broja klastera u obzir su uzete i učestalosti nultih alela. Analiza sa navedenim parametrima je ponovljena 10 puta, a zatim je izabrana najbolja vrednost K . Nakon toga, urađeno je 100 novih analiza sa fiksnom vrednošću K , pri čemu su svi parametri ostali nepromenjeni. Izračunata je srednja vrednost logaritma naknadne verovatnoće za svaku od 100 urađenih analiza i izabrano je 10 najviših vrednosti.

U cilju testiranja uticaja reka kao potencijalnih barijera na genetičku stukturu populacija tekunice, dodatno su urađeni parcijalni Mantel test i analiza molekularne varijanse (AMOVA) samo za populacije iz Vojvodine. Pored utvrđivanja prisustva korelacija između genetičke i geografske distance (isolation by distance - IBD), dodatno je analizirano i da li, i u kojoj meri, barijere (u ovom slučaju reke) mogu objasniti postojeću genetičku diferencijaciju među populacijama u Vojvodini. U tom cilju je urađen parcijalni Mantel test u programu IBDWS v. 3.23 (JENSEN ET AL. 2005). Kao osnovne, konstruisane su dve matrice, matrica genetičkih distanci, čije vrednosti su dobijene po obrascu $F_{ST}ENA/(1-F_{ST}ENA)$ i matrica geografskih distanci, čije vrednosti su predstavljene kao logaritamska vrednost Euklidske distance (distanca koje je izmerena kao najkraća prava linija između dve populacije). Dodatno je konstruisana još jedna matrica reka u kojoj su parovi populacija koji se nalaze sa iste strane reke označeni nulom (kodirano sa 0), a parovi populacija koji su razdvojeni rekom sa 1. Program prvo određuje da li postoji pozitivna korelacija između geografske i genetičke distance, pa ukoliko ovakva korelacija postoji uvodi i treću kontrolnu matricu.

Kako bi se testirao uticaj reka na raspored genetičkog variranja populacija iz Vojvodine, urađena je i analiza molekularne varijanse (AMOVA) u programu ARLEQUIN. U tom cilju sve populacije su svrstane u tri grupe, u zavisnosti od njihovog položaja u odnosu na Dunav i Tisu.

Populaciona dinamika

Procenjivanje gustine i brojnosti populacija tekunice vršeno je u periodu 2004-2014. godina na tri lokaliteta u Vojvodini. Lokaliteti Krušedol (45.107620° N 19.965119° E; 158 m n.v.) i Neradin (45.105738° N, 19.906244° E; 173 m n.v.) su smešteni na obodu fruškogorskog masiva, dok se lokalitet Banatska Palanka (44.850580° N, 21.317858° E; 70 m n.v.) nalazi na obodu Deliblatske peščare (Slika 8).



Slika 8. Mapa ispitivanih lokaliteta

Određivanje gustine populacije je vršeno jednom godišnje, tokom jula. Na svakom od lokaliteta postavljena je eksperimentalna površina dimenzija 50x50 m, koja je dodatno izdeljena na kvadrate veličine 10x10 m i sa koje su izlovljavanje životinje u periodu od 14 h pa do sumraka. Izlovljavanje jedinki je vršeno tako što je u jazbine u kojima su uočene tekunice nalivana voda, a tekunice potom hvatane pri pokušaju napuštanja jazbine. Sve uhvaćene jedinke su smeštane u kaveze koji su se nalazili u neposrednoj blizini površine.

Pri hvatanju, za svaku jedinku je beležena lokacija (kvadrat 10x10 m) na kojoj je uhvaćena. Osim toga, evidentirano je i vreme kada je uhvaćena, pol i starost jedinke (da li je jedinka bila adultna ili juvenilna). Po završetku, sve uhvaćene tekunice su iz kaveza vraćane nazad na površinu.

Na osnovu broja uhvaćenih jedinki na eksperimentalnoj površini izračunavana je gustina populacije. Gustina populacije predstavlja brojnost jedinki po jedinici površine (broj jedinki/ha). S obzirom da je veličina eksperimentalne površine iznosila 0.25 ha, broj uhvaćenih jedinki je množen sa 4 da bi se dobila gustina po 1 ha. Uz pomoć programa Statistica v. 10 za svaku populaciju su izračunate i srednja vrednost, medijana i standardna devijacija za dobijene vrednosti brojnosti i gustina tokom posmatranog perioda od 11 godina.



Slika 9. Uhvaćene tekunice neposredno pred povratak na eksperimentalnu površinu

Da bi ukupna veličina populacija bila određena, premerena je ukupna veličina (površina) sva tri staništa. Za tu namenu na terenu je korišćen Garminov GPS uređaj (Oregon 450). Uz pomoć GPS uređaja, premerena su sva tri staništa na kojima se nalaze eksperimentalne površine, a zatim uz pomoć programa Ozi Explorer v. 3.95.4b izračunata je njihova ukupna površina. Površina staništa na lokalitetu Neradin iznosi 18 ha, površina staništa na lokalitetu Krušedol iznosi 21 ha, a na lokalitetu Banatske Palanke 190 ha. Dobijena površina staništa je poslužila kao osnova za izračunavanje ukupne brojnosti, tako što je gustina preračunata na ukupnu površinu staništa.

Analiza minimalne vijabilne veličine populacije (MVP)

Za procenu minimalne vijabilne veličine populacije (MVP) korišćen je program Vortex v. 10.0.0.3 (LACY & POLLAK 2014), koji je i najčešće korišćen program za analize vijabilnosti populacija u praksi. Vortex simulira populacionu dinamiku kroz seriju diskretnih događaja (rađanje, umiranje, migracije, katastrofe i sl.) koji se ponavljaju u okviru određenog niza godina. Simulacije su bazirane na jedinkama, pri čemu program prati svaku životinju u populaciji, beležeći njeno poreklo, pol, starost, reprodukciju, kao i dejstvo determinističkih i stohastičkih događaja na njenu, kao i sudbinu cele populacije. Program je prvobitno bio prilagođen za simuliranje populacija sisara i ptica, ali je vremenom usavršavan tako da se danas koristi i za druge taksonomske grupe (LACY & POLLAK 2014).

Za uspešnu simulaciju neophodno je poznavanje nekih osnovnih demografskih parametara, kao i parametara životne istorije kao što su: početna veličina i uzrasna struktura populacije, prva i poslednja godina reprodukcije, odnos polova, prosečan i maksimalni broj mladunaca po okotu, broj jedinki koje svake godine učestvuju u reprodukciji, stope smrtnosti po uzrasnim kategorijama i kapacitet sredine. Za neke od parametara program nudi i mogućnost uključivanja varijabilnosti u spoljašnjem okruženju (LACY 2000).

Jedna od bitnih prednosti Vortex-a u odnosu na druge slične programske pakete je to što uzima u obzir i genetičke karakteristike populacije, odnosno program omogućava da se kroz simulacije prati i genetički diverzitet (broj alela, očekivana i uočena heterozigotnost), kao i uticaj koji inbriding ima na jedinke u populaciji.

Osnovni scenario i ulazni parametri

Prilikom procenjivanja verovatnoće opstanka neke populacije ili vrste, kao i određivanja minimalne vijabilne veličine populacije (MVP), obično se za procenu uzima vremenski period od najmanje 10 godina ili tri generacije, tj. onaj period koji je duži (IUCN 2012). Međutim, REED ET AL. (2003) ističu da kratkoročne studije mogu potceniti stvarnu demografsku varijabilnost populacija, a samim tim i stvarnu opasnost od izumiranja, pa predlažu da se prilikom procene MVP u obzir uzme duži vremenski period. U skladu sa navedenim, za određivanje MVP je izabran vremenski period od 50 godina. Kao prag pseudo-istrebljenja, odnosno donja kritična brojnost ispod koje populacija više

nije sposobna da opstane, određen je ukupan broj (N) od deset jedinki. S obzirom da su ispitivane populacije tekunice fragmetisane i da protok gena u najvećem broju slučajeva nije moguć, simulacijama je praćena sudbina pojedinačne populacije kojoj je u različitim scenarijima menjana početna veličina populacije. Posebno je ispitano i dejstvo inbridinga na MVP tekunica, s obzirom da su male izolovane populacije dodatno osetljive i na ovaj negativni efekat. Iz tog razloga, osnovni scenario je uključio dva seta simulacija: 1) simulacije u kojim je dejstvo inbridinga bilo izostavljeno i 2) simulacije u kojim je razmatran i efekat inbridinga. Broj letalnih ekvivalenata je postavljen na 3.14, a procenat recesivnih letalnih alela na 50, što predstavljaju standardne vrednosti preporučene od strane LACY & POLLAK (2014).

S obzirom da su sve ženke reproduktivno sposobne već u prvoj godini života (odmah nakon buđenja iz hibernacije), vreme prve reprodukcije ženki je podešeno na prvu godinu. Veći broj autora navodi da jednogodišnji mužjaci najčešće ne učestvuju u razmnožavanju u prvoj godini života (RUŽIĆ 1950; KENAGY ET AL. 1989; MILLESI ET AL. 1998, 1999B; HOFFMANN ET AL. 2003A), pa su u simulacijama svi jednogodišnji mužjaci tekunice posmatrani kao reproduktivno neaktivni. Maksimalni životni vek je podešen na 6 godina (HOFFMANN ET AL. 2003A). S obzirom da su tekunice reproduktivno aktivne do kraja života, poslednja godina reprodukcije odgovara maksimalnoj dužini života, koja za ženke iznosi 6 godina, a za mužjake 4 godine (HOFFMANN ET AL. 2003A). S obzirom da se tekunice razmnožavaju samo u proleće, broj okota je podešen na jedan po godini. Kao maksimalni zabeleženi broj mladunaca po okotu je utvrđena vrednost od 10 jedinki (HUBER ET AL. 2001; HOFFMANN ET AL. 2003A). Prema RUŽIĆ (1950, 1978) i MILLESI ET AL. (1999A) odnos polova među juvenilnim jedinkama je uravnotežen, tako da je ova vrednost podešena na 1:1, odnosno 50 %. Mada HOFFMANN ET AL. (2003A) navode da postoji zavisnost od gustine, tj. da se broj mladunaca u okotu povećava sa smanjenjem gustine, oni takođe navode da povećanje broja mladunaca po okotu ne utiče na stope rasta jer se smrtnost u populaciji povećava. S obzirom na napred navedeno, kao i na odsustvo konkretnih podataka o broju reproduktivnih parova pri malim gustinama, ova opcija nije korišćena u simulacijama.

Prema RUŽIĆ (1950) i MILLESI ET AL. (1999B) skoro sve ženke (preko 90 %) učestvuju u parenju, tako da je ova vrednost postavljena na 95 %. Pošto ova vrednost može varirati tokom godina, vrednost standardne devijacije (varijabilnost uslovljena faktorima spoljašnje sredine) je podešena na 2.5 %. Procenat mužjaka koji učestvuju u

parenju je postavljen na 78 % (MILLES ET AL. 1998). S obzirom da broj mladunaca može biti jako varijabilan: 2-4 (RUŽIĆ 1950), 3-8 (PETROV 1992), 2-6 (MILLES ET AL. 1999B), 3-10 (HUBER ET AL. 2001), 2-5 (ASCHAUER ET AL. 2006) i 4-7 (STRAUSS ET AL. 2007), prosečan broj mladunaca po okotu je podešen na 5.5 (što predstavlja srednju vrednost između prosečnog broja mladunaca po okotu dobijenog za populacije tekunice u Srbiji i prosečnog broja za populacije iz okruženja), dok je vrednost standardne devijacije za ovaj parameter podešena na 2, kako bi se omogućilo variranje veličine okota u okviru opsega prijavljenih od strane različitih autora.

Podaci o stopama smrtnosti po uzrasnim kategorijama postoje za populacije iz Austrije (MILLES ET AL. 1999B, HOFFMANN ET AL. 2003A) i iz Češke (MATĚJŮ 2008), ali ne i za populacije iz Srbije. Iako su stope smrtnosti, posmatrano po godinama, bile slične kod austrijskih i čeških populacija, one su kod čeških populacija imale drugačiji obrazac, a MATĚJŮ (2008) ističe da ove stope mogu značajno varirati u zavisnosti od staništa, dostupne hrane, pritiska od strane predatora i sl. Pošto je namera autora bila da se MVP proceni prevashodno za populacije tekunica u Srbiji, određivanje stopa smrtnosti nije bilo zasnovano isključivo na literaturnim izvorima, već su korišćeni i postojeći podaci o gustinama za dve istraživane populacije iz Vojvodine koje su imale manje izražene fluktuacije u gustinama, kako bi se izračunala deterministička stopa rasta (r). Stopa rasta je izračunata prema formuli $r = \ln(N_1/N_0)$, gde N_0 predstavlja broj jedinki u prethodnoj godini, a N_1 broj jedinki u tekućoj godini (LACY & POLLAK 2014). S obzirom na velike oscilacije u brojnosti posmatranih populacija tokom perioda od 9 godina, prosečne stope rasta su izračunate za svaku od populacija, a zatim je na osnovu tih vrednosti izračunata srednja vrednost stope rasta, koja je iznosila $r=0.172$. S obzirom na obimnost dostupnih podataka u studiji koju su uradili MILLES ET AL. (1999A), vrednosti stopa smrtnosti iz ove studije su prilagođene tako da se dobije stopa rasta koja je izračunata za populacije tekunica u Srbiji. Uslovi u spoljašnjem okruženju mogu značajno uticati na stope mortaliteta (Matějů 2008), tako da je variranje u stopama mortaliteta uzrokovano sredinskim faktorima takođe uključeno u osnovni scenario. U nedostatku literaturnih podataka, vrednost standardne devijacije, tj. odstupanja od predviđenih stopa smrtnosti, je podešena na 5 % za sve uzrasne kategorije. Ulazni parametri za osnovni scenario, kao i stope smrtnosti po uzrasnim kategorijama, date su u Tabeli 2.

Inicijalna veličina populacije sa kojom su započete simulacije iznosila je 50 jedinki, a zatim su simulacije ponavljane sa sve većom početnom veličinom populacije (za po 50

jedinki) sve dok nije određena MVP. S obzirom da je cilj bio ne samo da se odredi MVP, već i veličina staništa koja bi bila dovoljna da podrži datu MVP, kapacitet sredine (K) je u svim simulacijama bio jednak inicijalnoj veličini populacije. U osnovnom scenariju, vrednost za varijabilnost sredine koja utiče na K je bila podešena na nulu.

Populacija koja opstaje tokom određenog vremenskog perioda ne mora obavezno i da bude vijabilna, jer je moguće da je preživela promene koje joj ne omogućavaju da opstane van posmatranog vremenskog okvira (ALLENDORF & RYMAN 2002), pa je stoga često korisnije pratiti verovatnoću pseudo-istrebljenja umesto verovatnoće pravog istrebljenja. Pseudo-istrebljenje predstavlja donji prag u veličini populacije ispod koje populacija doživljava promene u demografskoj i genetičkoj strukturi koje joj ne omogućavaju da se oporavi i koje značajno povećavaju verovatnoću da populacija izumre (BEISSINGER & WESTPHAL 1998; AKÇAKAYA 2000). Na osnovu navedenog, pseudo-istrebljenje je odabrano kao osnovni parameter koji će se pratiti pri određivanju MVP. Posmatrana populacija je smatrana vijabilnom ukoliko je verovatnoća da dođe do pseudo-istrebljenja bila manja od 1 % (0.01). Pored pseudo-istrebljenja, kao bitan pokazatelj vijabilnosti populacije uzeta je i vrednost za očekivanu heterozigotnost. Na osnovu postojećih podataka o genetičkom diverzitetu populacija tekunice u Srbiji (ĆOSIĆ ET AL. 2013), odlučeno je da se uvedu dva kriterijuma za ovu vrednost, tj. da populacija tokom posmatranog perioda ne sme da izgubi više od 20 %, odnosno više od 10 % od početne genetičke varijabilnosti, pa je praćen uticaj ove vrednosti na veličinu MVP.

Dodatni scenariji

S obzirom da uslovi u spoljašnjem okruženju variraju od godine do godine i da mogu značajno odstupati od uslova koje predviđa osnovni scenario, pored osnovnog razvijene su i dve grupe dodatnih scenarija. U okviru prve grupe scenarija ispitan je efekat smanjenja reproduktivnog potencijala ženki i povećanje stope smtnosti na MVP. Promene za svaki od ova dva parametra su uvođene nezavisno. Efekat smanjenja reproduktivnog potencijala kod ženki je testiran tako što je prosečna vrednost broja mladunaca po okotu smanjivana za 0.5 i pri tome praćena promena rezultujuće MVP, odnosno da li je i za koliko neophodno povećati populaciju da bi se dati gubitak kompenzovao. Uticaj promena u stopi mortaliteta je ispitan prvo za sve uzrasne kategorije istovremeno, zatim samo kod juvenilnih i na kraju samo kod adultnih jedinki. Stope smrtnosti su povećavane

za po 5 %, dok su vrednosti standardne devijacije ostale iste kao i u osnovnom scenariju. U drugoj grupi scenarija, parametri životne istorije su ostali nepromenjeni u odnosu na osnovni scenario, dok je menjana varijabilnost sredine, odnosno povećavana vrednost standardne devijacije parametara. Ova vrednost je menjana za sledeće ulazne parametre: prosečan broj mladunaca po okotu, stope mortaliteta i to istovremeno za sve starosne grupe, a zatim posebno za juvenilne i adultne jedinke, i na kraju za kapacitet sredine (K).

Analiza senzitivnosti

Važan deo svake analize vijabilnosti jeste i analiza senzitivnosti (MILLER & LACY 2005). Ova analiza ukazuje koji parametri u modelu imaju najveći uticaj na populacionu dinamiku, a time i na demografske ili parametre životne istorije koje je neophodno pratiti i na koje treba obratiti posebnu pažnju prilikom planiranja i sprovođenja konzervacionih mera.

U svim simulacijama u okviru analize senzitivnosti, broj jedinki u populaciji (N) i kapacitet sredine (K) su bili podešeni na 500. Svi parametri su imali neizmenjene vrednosti u odnosu na osnovni scenario, osim parametra čija je senzitivnost u datoj simulaciji ispitivana. Za svaki od parametara su izvršene po dve simulacije, pri čemu je vrednost ispitivanog parametra prvo povećavana, a zatim smanjivana za istu vrednost. Analiza senzitivnosti je urađena za sledeće parametre: maksimalni životni vek (± 1), maksimalni broj mladunaca po okotu (± 1), prosečan broj mladunaca po okotu (± 10 %), odnos polova pri rođenju (± 10 %), procenat ženki koje učestvuju u razmnožavanju (± 10 %), procent mužjaka koji učestvuju u razmnožavanju (± 10 %), stope smrtnosti kod adultnih jedinki (± 10 %), stope smrtnosti kod juvenilnih jedinki (± 10 %) i stope smrtnosti za sve uzrasne klase istovremeno (± 10 %). Izlazni parametri čije su vrednosti praćene bili su stohastički rast populacije (λ) i očekivana heterozigotnost (H) (Tabela 2).

Tabela 2. Ulazni parametri za osnovni scenario i analizu senzitivnosti

Osnovni scenario		Analiza senzitivnosti
Osnovna podešavanja		
Broj iteracija	1000	
Vremenski period praćenja populacije (u godinama)	50	
Kako je definisano pseudo-istrebljenje	N < 10	
Broj populacija koje se prate	1	
Opis vrste		
Da li je inbriding depresija uključena u analizu?	ne/da	
Vrednost letalnog ekvivalenta za ispitivanu populaciju	3.14 (standard)	
Procenat letalnog ekvivalenta uzrokovan recesivnim alelima	50 (standard)	
Reproduktivni sistem i reproduktivne stope		
Način razmnožavanja	poliginija	
Godina prve reprodukcije (ženke)	1	
Godina prve reprodukcije (mužjaci)	2	
Maksimalna reproduktivna starost (ženke)	6	±1
Maksimalna reproduktivna starost (mužjaci)	4	
Maksimalni životni vek	6	±1
Maksimalan broj okota po godini	1	
Maksimalni broj mladunaca po okotu	10	±1
Odnos polova pri rođenju (%)	50 %	±10 %
Procenat adultnih ženki koje učestvuju u razmnožavanju svake godine (%)	95 % (SD=2.5 %)	±10 %
Prosečan broj mladunaca po okotu	5.5 (SD=2)	±10 %
Procenat adultnih mužjaka koji učestvuju u razmnožavanju svake godine (%)	78 %	±10 %

Stope smrtnosti		
Smrtnost ženki u %		
Smrtnost do prve godine života	75 % (SD=5 %)	±10 %
Prosečna smrtnost posle prve godine života	46 % (SD=5 %)	±10 %
Smrtnost mužjaka u %		
Smrtnost do prve godine života	78 % (SD=5 %)	±10 %
Smrtnost od prve do druge godine života	55 % (SD=5 %)	±10 %
Prosečna smrtnost posle druge godine života	55 % (SD=5 %)	±10 %
Uzrasna struktura populacije	stabilna uzrasna struktura	
Inicijalna veličina populacije (N_0)	50-500	500
Kapacitet sredine (K)	$K = N_0$ (SD=0)	500

Rezultati

Genetički diverzitet i struktura populacija tekunice u Srbiji

U cilju utvrđivanja genetičkog diverziteta i strukture populacija tekunice na teritoriji Srbije, izvršena je analiza varijabilosti 11 mikrosatelitskih lokusa. Nulti aleli su registrovani, ali s obzirom da nije uočena konzistentnost u njihovom pojavljivanju u lokusima i na nivou populacija, nijedan od lokusa nije isključen iz daljih analiza (Tabela 3). Među ispitivanim parovima lokusa nije registrovan statistički značajan disekvilibrijum genotipske vezanosti (Tabela 4).

U okviru 11 mikrosatelitskih lokusa detektovano je ukupno 122 različita alela, sa prosečnom vrednošću od 11.1 alel po lokusu. Broj alela po lokusu se kretao od 2 (SSU7) do 19 (IGS1), dok se ukupan broj alela po populaciji kretao od 30 na lokalitetu Mokrin do 51 na lokalitetu Banatska Palanka. Najniži prosečni broj alela po populaciji (NA) registrovan je na lokalitetu Mokrin i iznosio je 2.73, dok je najviši zabeležen na lokalitetu Banatska Palanka, a iznosio je 4.54. Vrednosti bogatstva alela (AR) su bile nešto niže u odnosu na NA i kretale su se od 2.73 na lokalitetima Mokrin i Vlasina do 3.45 na lokalitetu Tomislavci. Analizirani lokusi su bili polimorfni u svim populacijama, sa izuzetkom lokusa SSU7 koji je bio monomorfan u 7 od ukupno 11 populacija. Od 122 alela, 39 (31,96 %) su bili jedinstveni aleli, tj. aleli karakteristični samo za datu populaciju (Tabela 5; Prilog I).

Najviša vrednost očekivane heterozigotnosti (He) je zabeležena na lokalitetu Sremska Mitrovica (0.576), dok je najniža vrednost zabeležena na lokalitetu Mokrin (0.403). Vrednosti uočene heterozigotnosti (Ho) su se kretale od 0.333 na lokalitetu Mokrin do 0.583 na lokalitetu Šušara (Tabela 5). Koeficijent inbridinga (F_{IS}) se kretao od -0.134 na lokalitetu Šušara do 0.322 na lokalitetu Vlasina. Odstupanje od Hardy-Vajnbergove ravnoteže (HWE) je zabeleženo u 6 od ukupno 11 populacija (Tabela 5). Od tih šest populacija, u pet je registrovano prisustvo nultih alela (Tabela 3) koji bi potencijalno mogli uzrokovati deficit heterozigotnosti i dovesti do prividnog odstupanja od HWE. Kod populacije SM uzrok odstupanja od HWE bi mogao biti i Valundov efekat. Naime, u pitanju je populacija koja se nalazi duž auto-puta i to sa obe njegove strane. Komunikacija među jedinkama sa suprotnih strana auto-puta postoji, ali u znatno manjoj meri nego među jedinkama sa iste strane, tako da je verovatno došlo do pojave substrukuiranosti unutar populacije. Rezultati Wilcoxon signed-rank testa su pokazali

odsustvo značajnog odstupanja od mutacija-drift ravnoteže (Tabela 5), tačnije - nije registrovano značajno smanjivanje efektivne veličine ispitivanih populacija u skorijoj prošlosti.

Tabela 3. Učestalosti multih alela

	K	N	MR	SM	BP	Šu	L	Mo	To	VI	V
SSU1	0.131	0	0	0.055	0.083	0	0.082	0	0	0.016	0.024
SSU5	0	0	0.148	0.057	0	0	0.031	0.078	0	0	0.047
SSU7	0	0	0	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0	0.001	0.001
SSU8	0	0	0	0.033	0	0.055	0	0.157	0.072	0.276	0.055
SSU13	0.134	0	0.048	0.059	0	0	0.064	0.194	0	0.204	0.314
SSU15	0	0	0	0	0	0	0.091	0.02	0	0.239	0.301
SSU16	0	0.083	0.044	0.018	0	0	0	0	0	0	0.007
IGS1	0.077	0.101	0	0.279	0.064	0	0.023	0	0	0.283	0.182
IGS11	0.105	0.233	0.121	0.193	0	0	0.137	0.096	0.096	0.172	0
M1	0	0.141	0.089	0.068	0.261	0	0.058	0.251	0.071	0	0.123
M4	0.007	0.282	0.032	0.187	0.06	0.028	0.104	0	0	0.056	0

* boldovane vrednosti predstavljaju statistički značajno visoke učestalosti multih alela

Tabela 4. Disekvilibrijum genotipske vezanosti između svih parova lokusa, predstavljen kao p vrednost (Fišerov metod). Boldovane vrednosti predstavljaju vrednosti p pre korekcije; q - korigovana vrednost p dobijena u programu Q value

B.p.	Lokus 1	Lokus 2	p vrednost	q vrednost
1	SSU1	SSU5	0.159104	0.95119
2	SSU1	SSU7	0.659155	0.95119
3	SSU5	SSU7	0.410415	0.95119
4	SSU1	SSU8	0.026345	0.84117
5	SSU5	SSU8	0.185906	0.95119
6	SSU7	SSU8	0.903621	0.96464
7	SSU1	SSU13	0.601247	0.95119
8	SSU5	SSU13	0.655561	0.95119
9	SSU7	SSU13	0.984731	0.98403
10	SSU8	SSU13	0.325385	0.95119
11	SSU1	SSU15	0.804552	0.95356
12	SSU5	SSU15	0.805661	0.95356
13	SSU7	SSU15	0.247165	0.95119
14	SSU8	SSU15	0.146837	0.95119
15	SSU13	SSU15	0.875210	0.96464
16	SSU1	SSU16	0.677376	0.95119
17	SSU5	SSU16	0.661191	0.95119
18	SSU7	SSU16	0.685386	0.95119
19	SSU8	SSU16	0.077593	0.84117
20	SSU13	SSU16	0.700472	0.95119
21	SSU15	SSU16	0.799797	0.95356
22	SSU1	IGS1	0.740520	0.95119
23	SSU5	IGS1	0.328829	0.95119
24	SSU7	IGS1	0.507567	0.95119
25	SSU8	IGS1	0.435120	0.95119
26	SSU13	IGS1	0.982814	0.98403
27	SSU15	IGS1	0.203348	0.95119
28	SSU16	IGS1	0.701266	0.95119
29	SSU1	IGS11	0.350816	0.95119

B.p.	Lokus 1	Lokus 2	p vrednost	q vrednost
30	SSU5	IGS11	0.893967	0.96464
31	SSU7	IGS11	0.994073	0.98403
32	SSU8	IGS11	0.087533	0.84117
33	SSU13	IGS11	0.303250	0.95119
34	SSU15	IGS11	0.197588	0.95119
35	SSU16	IGS11	0.455845	0.95119
36	IGS1	IGS11	0.751246	0.95119
37	SSU1	MS41	0.669682	0.95119
38	SSU5	MS41	0.399584	0.95119
39	SSU7	MS41	0.659798	0.95119
40	SSU8	MS41	0.973353	0.98403
41	SSU13	MS41	0.868741	0.96464
42	SSU15	MS41	0.290663	0.95119
43	SSU16	MS41	0.582757	0.95119
44	IGS1	MS41	0.888630	0.96464
45	IGS11	MS41	0.603594	0.95119
46	SSU1	MS56	0.716926	0.95119
47	SSU5	MS56	0.529329	0.95119
48	SSU7	MS56	0.429829	0.95119
49	SSU8	MS56	0.673686	0.95119
50	SSU13	MS56	0.686546	0.95119
51	SSU15	MS56	0.460446	0.95119
52	SSU16	MS56	0.241843	0.95119
53	IGS1	MS56	0.092701	0.84117
54	IGS11	MS56	0.036596	0.84117
55	MS41	MS56	0.069592	0.84117

Tabela 5. Genetički diverzitet 11 populacija evropske tekunice na osnovu 11 mikrosatelitskih lokusa

Region	Lokalitet	<i>N</i>	<i>He</i>	<i>Ho</i>	<i>NA</i>	<i>AR</i>	<i>F_{IS}</i>	Wilcoxon test
Srem	K (Krušedol)	20	0.512	0.500	4.45	3.27	0.050 ^{NS}	0.278
	N (Neradin)	21	0.505	0.442	4.18	3.02	0.149*	0.638
	MR (Mala Remeta)	15	0.503	0.479	3.91	3.09	0.083 ^{NS}	0.123
	SM (Sremska Mitrovica)	17	0.576	0.428	4.36	3.37	0.286*	0.922
Banat	BP (Banatska Palanka)	27	0.485	0.462	4.54	3.03	0.066 ^{NS}	0.492
	Šu (Šušara)	24	0.505	0.583	3.73	2.94	-0.134 ^{NS}	1.000
	Mo (Mokrin)	6	0.403	0.333	2.73	2.73	0.259*	0.557
Bačka	L (Lok)	21	0.531	0.467	4.27	3.21	0.145*	0.922
	To (Tomislavci)	6	0.533	0.561	3.45	3.45	0.039 ^{NS}	0.898
Vlasina	VI (Vlasina)	10	0.464	0.336	3.00	2.73	0.322*	0.492
Stara planina	V (Vrtibog)	13	0.470	0.378	3.36	2.91	0.234*	0.922

(*N*) - veličina uzorka, (*He*) - očekivana heterozigotnost, (*Ho*) - uočena heterozigotnost, (*NA*) - broj alela po lokusu, (*AR*) - bogatstvo alela, (*F_{IS}*) - inbriding koeficijent, Wilcoxon test - test za detekciju uskog grla kod populacija, *statistički značajne vrednosti nakon Bonferroni korekcije za $p < 0.05$, NS – vrednosti koje nisu bile statistički značajne

Značajna odstupanja vrednosti indeksa fiksacije od nule ($P < 0.001$) su zabeležena među svim ispitivanim parovima populacija. Step en populacione diferencijacije je bio umeren do veoma jak, sa vrednostima F_{ST} koje su se kretale od 0.071 kod para populacija Mala Remeta–Sremska Mitrovica do 0.427 kod para Mokrin-Vrtibog (Tabela 6). Prosečna vrednost F_{ST} je bila visoka i iznosila je 0.274. Korigovane vrednosti indeksa fiksacije (F_{STENA}) su bile nešto niže i kretale su se od 0.071 kod para populacija Mala Remeta–Sremska Mitrovica do 0.391 kod para Mokrin-Vrtibog (Tabela 7), sa prosečnom vrednošću koja je takođe bila nešto niža i iznosila je 0.251. Kao što je i očekivano, planinske populacije sa juga zemlje su pokazale veoma visok step en populacione diferencijacije u svim ispitivanim slučajevima, osim kod para populacija Vlasina-Vrtibog gde je ova vrednost bila visoka (Tabela 6; 7). Ono što je bilo manje očekivano jeste da su i populacije sa severa Vojvodine (Mokrin i Tomislavci) pokazale veoma visok step en populacione diferencijacije kod svih posmatranih parova, osim u slučaju Mala Remeta-Tomislavci i Sremska Mitrovica-Tomislavci gde su te vrednosti bile visoke (Tabela 6; 7).

Tabela 6. Genetička diferencijacija između populacija dobijena na osnovu vrednosti indeksa fiksacije (F_{ST}).

	K	N	MR	SM	BP	ŠU	L	Mo	To	Vl	V
K	-	0.127	0.128	0.126	0.249	0.160	0.164	0.357	0.307	0.372	0.394
N	***		0.097	0.085	0.240	0.177	0.192	0.342	0.310	0.387	0.414
MR	***	***		0.071	0.273	0.174	0.214	0.349	0.252	0.364	0.383
SM	***	***	***		0.207	0.160	0.171	0.284	0.228	0.317	0.321
BP	***	***	***	***		0.111	0.187	0.327	0.367	0.365	0.406
ŠU	***	***	***	***	***		0.124	0.276	0.313	0.356	0.371
L	***	***	***	***	***	***		0.277	0.294	0.342	0.392
Mo	***	***	***	***	***	***	***		0.270	0.407	0.427
To	***	***	***	***	***	***	***	***		0.370	0.400
Vl	***	***	***	***	***	***	***	***	***		0.291
V	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	

*** - veoma visoka statistička značajnost ($p < 0.001$).

Tabela 7. Genetička diferencijacija između populacija dobijena na osnovu korigovane vrednosti indeksa fiksacije ($F_{ST}ENA$).

	K	N	MR	SM	BP	ŠU	L	Mo	To	VI	V
K	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
N	0.129		***	***	***	***	***	***	***	***	***
MR	0.125	0.101		***	***	***	***	***	***	***	***
SM	0.116	0.085	0.071		***	***	***	***	***	***	***
BP	0.237	0.227	0.262	0.193		***	***	***	***	***	***
ŠU	0.157	0.170	0.170	0.149	0.111		***	***	***	***	***
L	0.157	0.178	0.204	0.151	0.173	0.121		***	***	***	***
Mo	0.343	0.330	0.332	0.259	0.321	0.269	0.260		***	***	***
To	0.305	0.311	0.246	0.228	0.358	0.313	0.287	0.252		***	***
VI	0.344	0.362	0.335	0.275	0.335	0.333	0.313	0.378	0.345		***
V	0.363	0.389	0.352	0.283	0.380	0.350	0.361	0.391	0.375	0.230	

*** - veoma visoka statistička značajnost ($p < 0.001$).

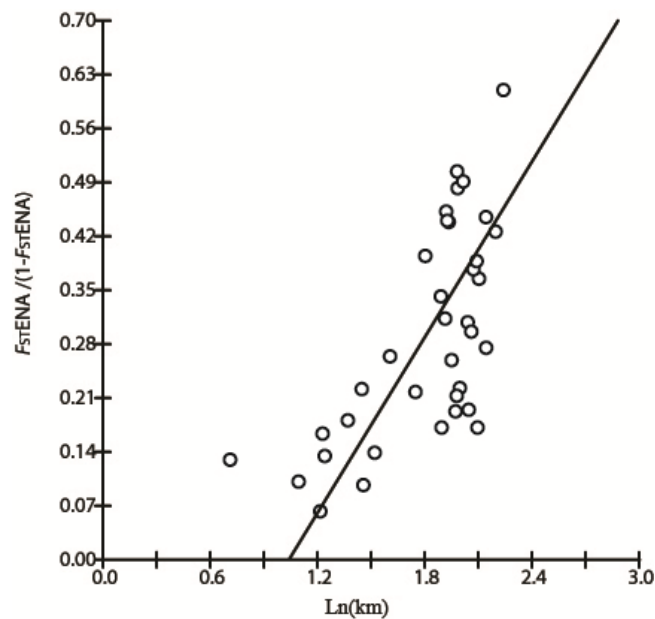
Upoređivanjem genetičkog diverziteta između populacija iz Vojvodine i planinskih populacija sa jugoistoka zemlje, kod populacija iz Vojvodine su uočene značajno više vrednosti za AR i H_o u odnosu na planinske populacije. S druge strane, nisu uočene značajne razlike u vrednostima za He , F_{IS} , F_{ST} i $Relc$ između ove dve grupe populacija (Tabela 8).

Tabela 8. Poređenje srednjih vrednosti bogatstva alela (AR), uočene (H_o) i očekivane (He) heterozigotnosti, koeficijenta inbridinga (F_{IS}), indeksa fiksacije (F_{ST}) i koeficijenta srodnosti ($Relc$) između populacija iz Vojvodine i planinskih populacija sa jugoistoka Srbije

	Vojvodina	Jugoistočna Srbija	P vrednosti
AR	3.125	2.820	0.0351^a
H_o	0.480	0.359	0.0352^a
He	0.527	0.494	0.109 ^a
F_{IS}	0.089	0.273	0.167 ^b
F_{ST}	0.195	0.278	0.602 ^a
$Relc$	-0.169	-0.752	0.076

Boldovane su statistički značajne vrednosti za $p < 0.05$, a) jednostrani test, b) dvostrani test

Mantel test je ukazao na postojanje značajne pozitivne korelacije između geografske i genetičke distance kod populacija iz Vojvodine (Slika 10). Takođe, značajna pozitivna korelacija između geografske i genetičke distance dobijena je i nakon uvođenja matrice reka kao kontrolne matrice ($r=0.579$, $p=0.003$).



Slika 10. Pozitivna korelacija između genetičke ($F_{ST}ENA/(1-F_{ST}ENA)$) i geografske distance ($Ln(km)$) ($r=0.651$, $p=0.001$) kod populacija iz Vojvodine

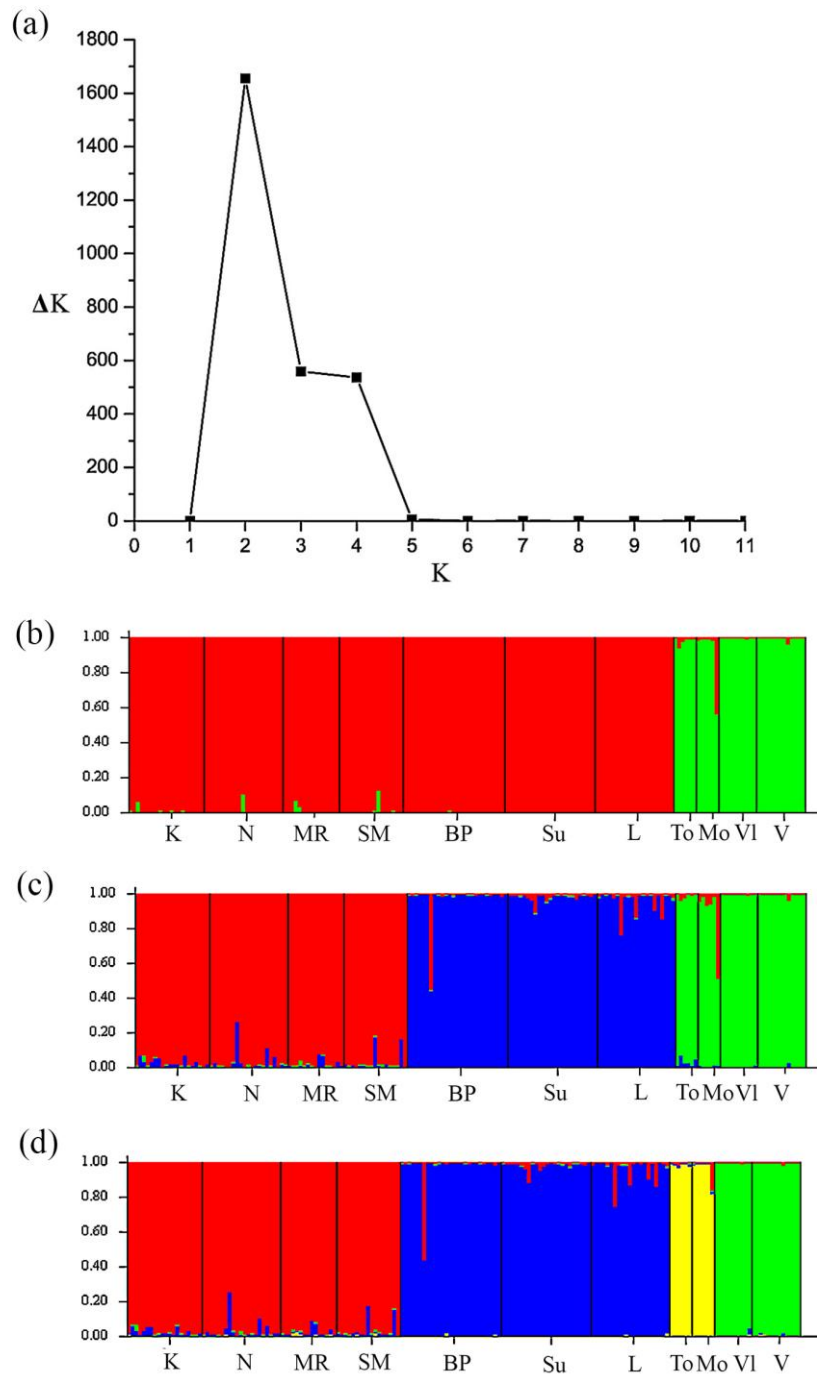
AMOVA je pokazala da postoji statistički značajno variranje između regiona (Srem, Banat, Bačka), koje objašnjava 5.6 % od ukupne genetičke varijabilnosti (Tabela 9). U najvećoj meri genetička varijabilnost je bila uzrokovana razlikama između regiona koji su razdvojeni Dunavom (Srem sa jedne i Banat i Bačka sa druge strane) (6.1 %, $p < 0.001$), dok među regionima koji su razdvojeni Tisom (Banat i Bačka) nije registrovano značajno genetičko variranje (-2.26 %, $p < 0.482$) (Tabela 9).

Tabla 9. Analiza molekularne varijanse bazirana na 11 mikosatelitskih lokusa

Grupe	% variranja između grupa	F_{IS}	F_{SC}	F_{CT}
Srem / Banat / Bačka	5.6	0.073	0.158	0.056
Srem / Banat i Bačka	6.1	0.073	0.163	0.061
Banat / Bačka	-2.3	0.0244	0.224	-0.023

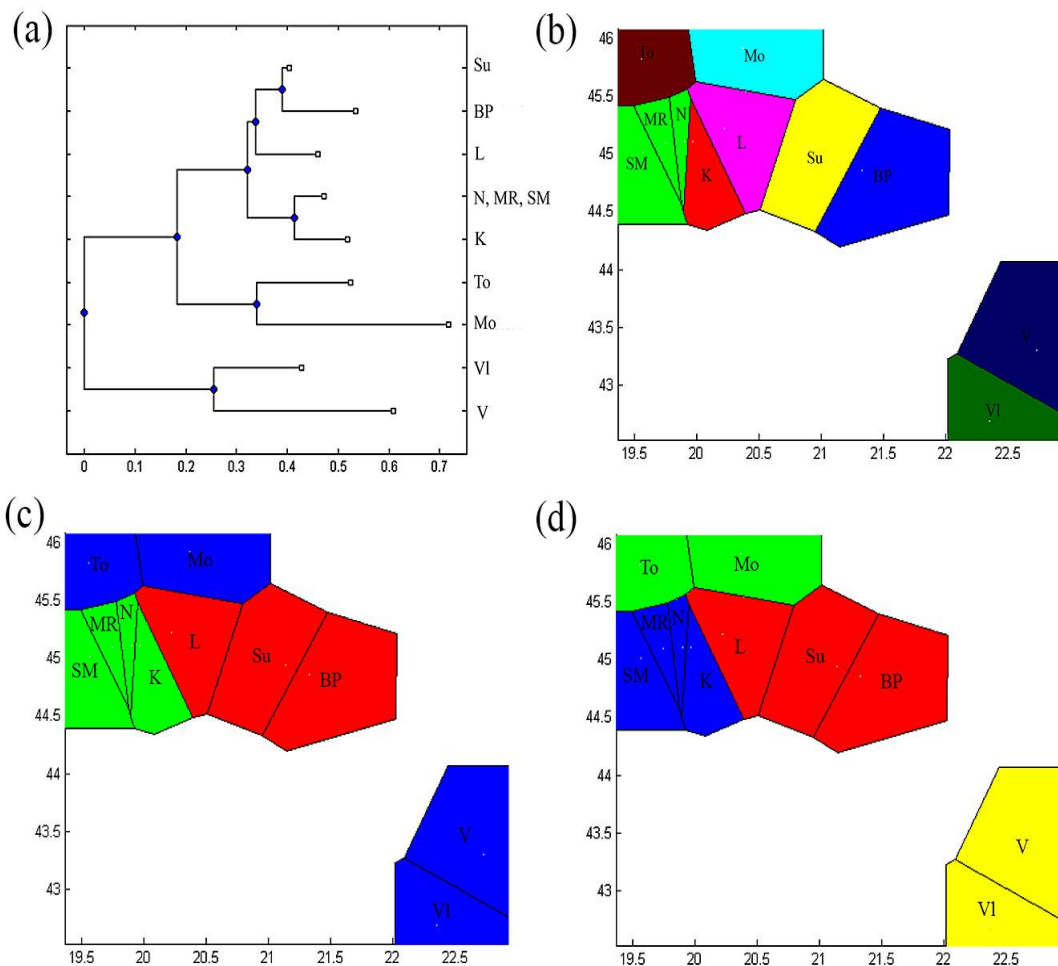
F_{IS} – variranje između individua unutar populacije, F_{SC} - variranje između populacija unutar grupe, F_{CT} – variranje između grupa. Boldovane vrednosti su statistički značajne na nivou $p < 0.05$

Prostorna distribucija genetičke struktuiranosti ispitivanih populacija testirana je uz pomoć programa STRUCTURE, BAPS i GENELAND. Program STRUCTURE je, na osnovu izračunatih vrednosti za ΔK , izdvojio da je najoptimalniji broj klastera dva ($K=2$). Pored visoke vrednosti za $K=2$, vrednost ΔK je bila visoka i za $K=3$ i $K=4$ (Slika 11a). U slučaju 2 klastera, populacije Krušedol, Neradin, Sremska Mitrovica i Mala Remeta iz Srema, zatim populacije Banatska Palanka i Šušara iz Banata i Lok iz Bačke su činile jedan klaster. Grupisanje u drugi klaster je bilo neočekivano jer su se dve populacije sa severa Vojvodine, Mokrin iz Banata i Tomislavci iz Bačke, grupisale zajedno sa planinskim populacijama Vrtibog i Vlasina (Slika 11b). Ukoliko su populacije grupisane u 3 klastera, populacije iz Srema su se izdvajale u zaseban klaster, dok su populacije Banatska Palanka i Šušara iz Banata i Lok iz Bačke činile drugi klaster. Populacije Mokrin i Tomislavci su se i u ovom slučaju grupisale zajedno sa populacijama Vrtibog i Vlasina u treći klaster (Slika 11c). U slučaju 4 klastera, populacije iz Srema su činile prvi klaster, dok su populacije Banatska Palanka, Šušara i Lok činile drugi klaster, kao što je to bio slučaj u prethodnom grupisanju u 3 klastera. Dve populacije sa severa Vojvodine, Mokrin iz Banata i Tomislavci iz Bačke, su se ovog puta odvojile u zaseban treći klaster, dok su planinske populacije Vlasina i Vrtibog činile četvrti klaster (Slika 11d).



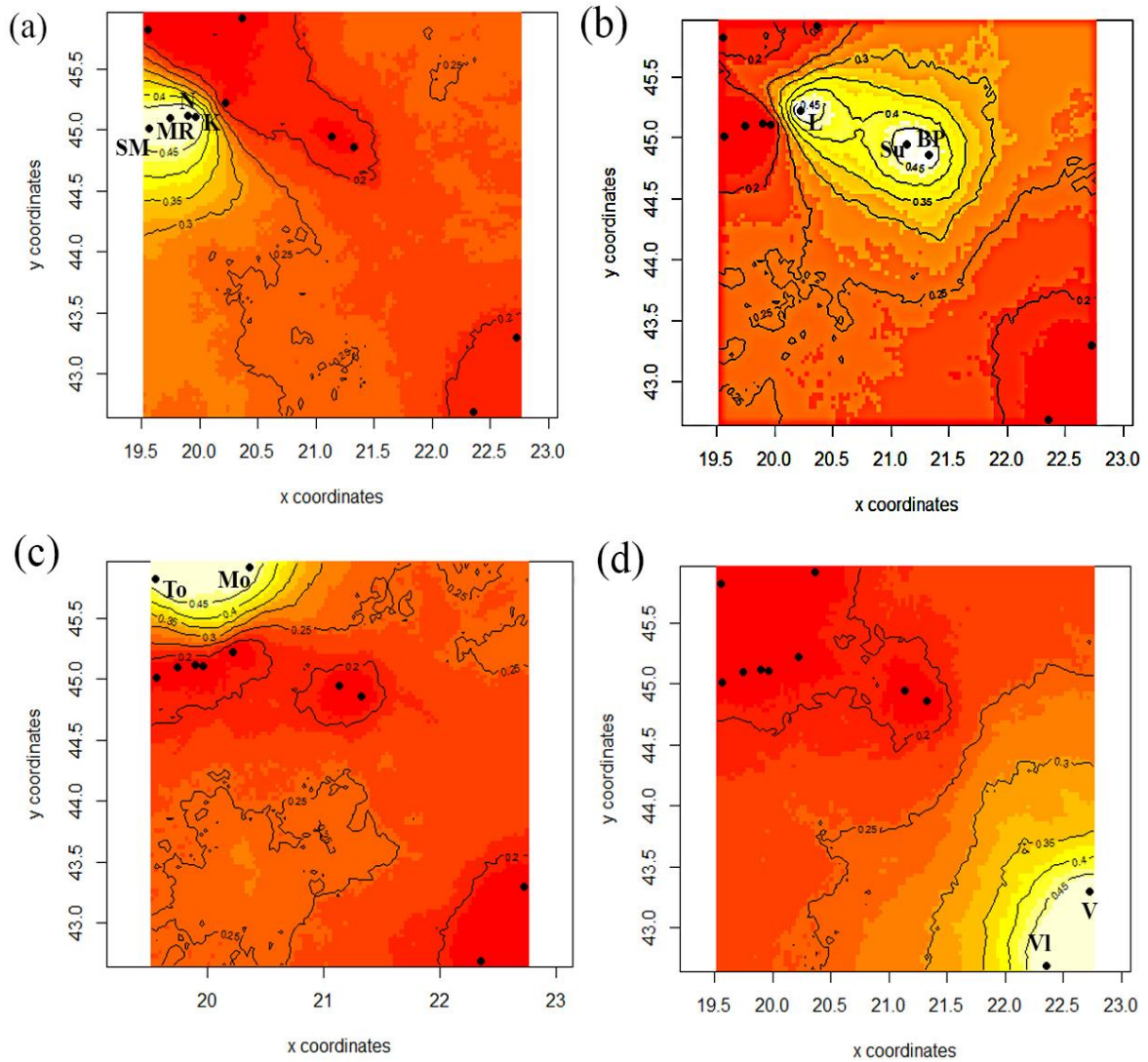
Slika 11. Bajesovo grupisanje u klastera dobijeno u programu STRUCTURE. (a) Najverovatnija vrednost za K na osnovu vrednosti ΔK kako predlažu EVANNO ET AL. (2005); (b) raspored populacija u slučaju dva klastera; (c) raspored populacija u slučaju tri klastera; (d) raspored populacija u slučaju četiri klastera. Svaki klaster je predstavljen drugom bojom.

U programu BAPS su dobijeni slični rezultati. Prvo je K podešeno da varira između 1 i 11, a programu je prepušteno da sam izabere koji je najoptimalniji broj klastera. Dobijeno je da je najveća verovatnoća da se ispitivane populacije grupišu u 9 klastera, tj. da svaka populacija predstavlja zaseban klaster, osim populacija Neradin, Mala Remeta i Sremska Mitrovica koje su bile grupisane u jedan zajednički klaster (Slika 12b). Na osnovu filogenetskog stabla, koje je konstruisano pomoću matrice Nei genetičkih distanci između ovih devet klastera, uočeno je da se oni mogu dodatno grupisati u tri ili četiri veće grupe (12a). Zatim je urađena nova analiza, ali sada sa fiksnom vrednošću $K=3$ i $K=4$, pri čemu je dobijeno da se ispitivane populacije grupišu u klastere na isti način kao što je to bio slučaj u programu STRUCTURE (Slika 12c; d).



Slika 12. Bajesovo grupisanje u klastere dobijeno u program BAPs. (a) Filogenetsko stablo Nei genetičkih distanci, dobijeno nakon početne analize sa promenljivom vrednošću broja klastera (K); (b) početno grupisanje populacija u 9 klastera; (c) grupisanje populacija pri fiksnoj vrednosti $K=3$; (d) grupisanje populacija pri fiksnoj vrednosti $K=4$. Populacije koje se grupišu u isti klaster su predstavljene istom bojom.

Kada je u programu GENELAND podešeno da vrednost K varira između 1 i 11, dobijeno je da je najveća verovatnoća da je $K=4$. Nakon ponovljenih analiza sa fiksnom vrednošću za K , ponovo je dobijen sličan rezultat, tj. populacije su se na isti način grupisale u 4 klastera kao i u prethodnim slučajevima (Slika 13).

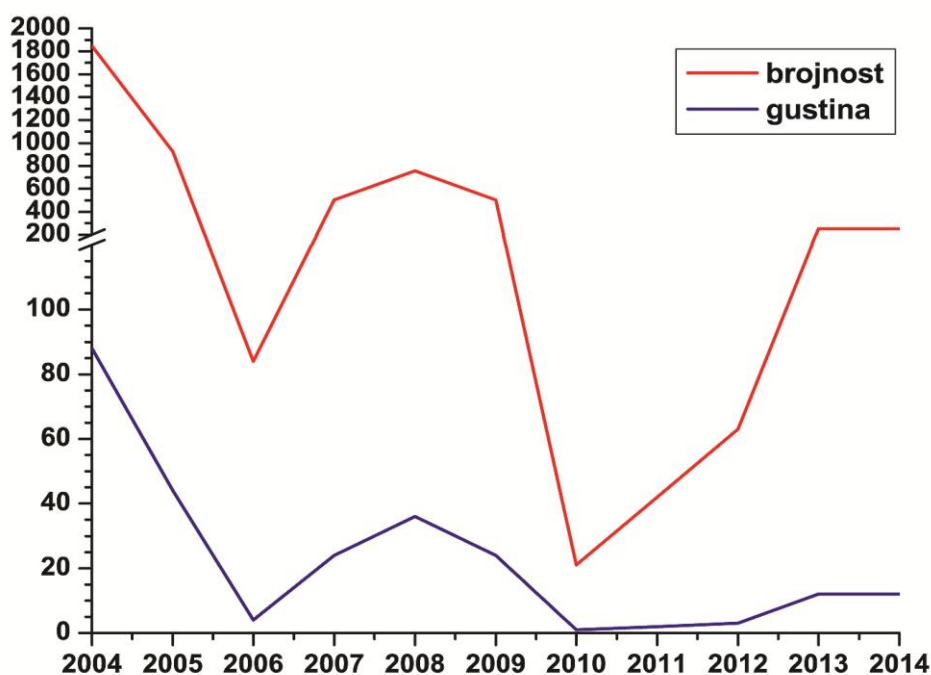


Slika 13. Grupisanje u 4 klastera prema GENELAND. (a) prvi klaster čine populacije iz Srema (K, N, MR, SM); (b) drugi klaster čine dve populacije iz Banata (BP i Šu) i jedna populacija iz Bačke (L); (c) treći klaster čine jedna populacija sa severa Bačke (To) i jedna populacija sa severa Banata (Mo); četvrti klaster čine planinske populacija Vlasina i Vrtibog (VI, V).

Populaciona dinamika

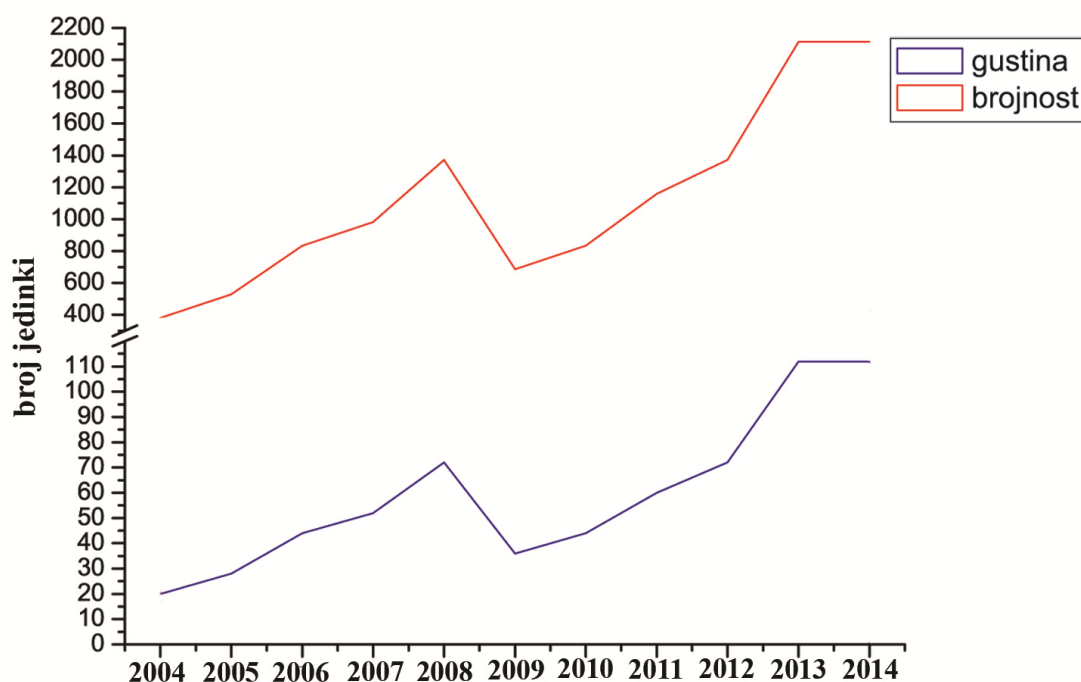
Procenjivanje gustine i brojnosti populacija tekunice vršeno je u periodu 2004 - 2014. na tri lokaliteta: Krušedol, Neradin i Banatska Palanka. Gustina i brojnost populacija tekunice su praćene u cilju dobijanja informacija o populacionoj dinamici.

Na lokalitetu Krušedol primećene su velike fluktuacije u gustini i brojnosti populacije tokom 11 posmatranih godina. Nakon 2004. godine, kada je zabeleženo 88 jedinki/ha, gustina populacije je počela da opada i u 2006. godini iznosila je svega 4 jedinke/ha. Nakon kratkog oporavka, brojnost je opet počela da opada, pa tako u periodu 2010 – 2012. na eksperimentalnoj površini nije zabeležena nijedna jedinka. Mada su tekunice bile prisutne na ostatku pašnjaka, ukupna brojnost je drastično opala. Prosečna gustina populacije na lokalitetu Krušedol u posmatranom periodu iznosila je 22.7 ± 26 jedinki/ha (medijana: 12, opseg: 0-88 jedinki/ha). Od 1868 jedinki, koliko je procenjeno da je populacija brojala u 2004. godini, brojnost je u 2010. godini pala na svega 21 jedinku. Tokom 2013. i 2014. godine, populacija se delimično oporavila, a broj jedinki je porastao na 250 (Slika 14). Prosečna brojnost populacije na lokalitetu Krušedol u posmatranom periodu iznosila je 477.3 ± 546.2 jedinki/ha (medijana: 252, opseg: 21-1848 jedinki).



Slika 14. Populaciona dinamika na lokalitetu Krušedol za period 2004-2014. godine

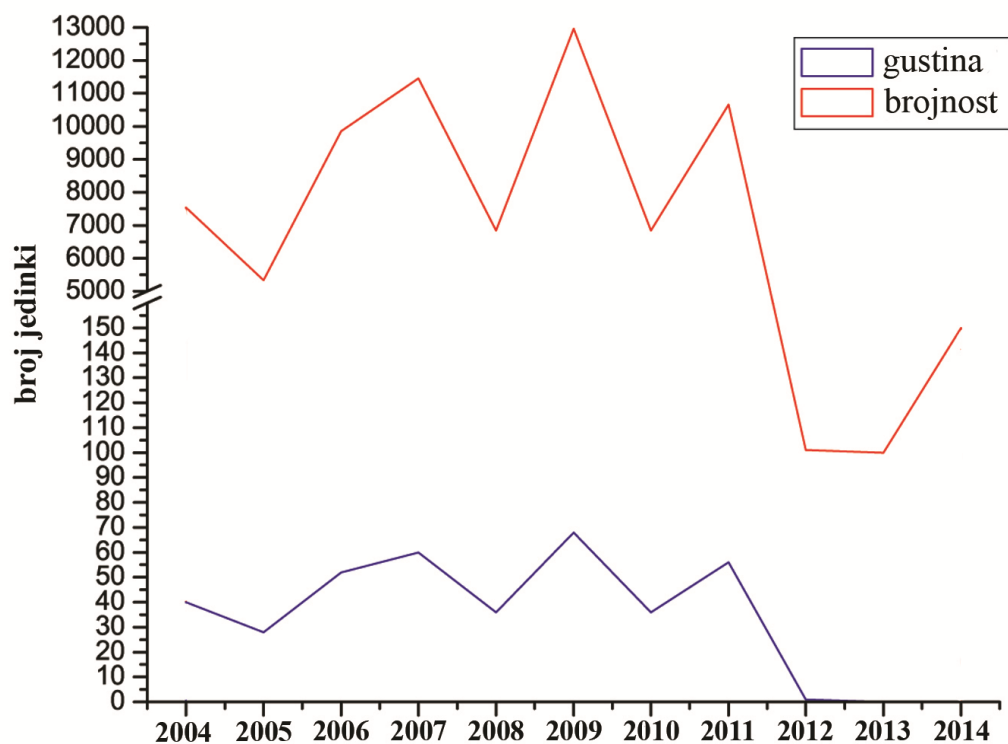
Za razliku od Krušedola, populacija na lokalitetu Neradin je, osim 2009. godine, kada je zabeležen pad brojnosti, svih ostalih godina imala pozitivan populacioni rast. Gustina populacije se kretala od 20 jedinki/ha u 2004. do 112 jedinki/ha koliko je zabeleženo 2013. i 2014. godine, dok se ukupan broj jedinki u populaciji kretao od 360 u 2004. do 2016 u 2013. i 2014. godini (Slika15). Prosečna gustina populacije na lokalitetu Neradin iznosila je 59.3 ± 30.8 jedinki/ha (medijana: 52, opseg: 20-112), dok je prosečna brojnost bila 1066.9 ± 553.8 jedinki/ha (medijana: 936, opseg 360-2016 jedinki).



Slika 15. Populaciona dinamika na lokalitetu Neradin za period 2004-2014. godine

Kod populacije na lokalitetu Banatska Palanka, u periodu 2004 - 2011. zabeležene su umerene fluktuacije. Gustina populacije se kretala od 28 jedinki/ha koliko je zabeleženo 2005. do 68 jedinki/ha u 2009. godini. Broj jedinki na staništu se u ovom periodu kretao od 5320 u 2005. do 12920 u 2009. godini, čineći ovu populaciju jednom od najvećih u Srbiji. Iz za sada neobjašnjivih razloga brojnost je dramatično opala u 2012. godini, kad je zabeležena gustina od svega 1 jedinka/ha. Nakon toga, na eksperimentalnoj površini nije uhvaćena nijedna jedinka., pa je zato u periodu nakon 2012. godine vršena samo procena brojnosti populacije. Prema poslednjoj proceni, na ovom lokalitetu, čija

površina iznosi 190 ha, prisutno je svega oko 150 jedinki (Slika 16). Prosečna gustina populacije na lokalitetu Banatska Palanka za posmatrani period iznosila je 34.2 ± 24.8 jedinki/ha (medijana: 38, opseg: 0-68 jedinki/ha). Prosečna brojnost na istom lokalitetu je iznosila 6525.9 ± 4678.9 (medijana: 6840, opseg: 95-12920 jedinki).



Slika 16. Populaciona dinamika na lokalitetu Banatska Palanka za period 2004-2014. godina.

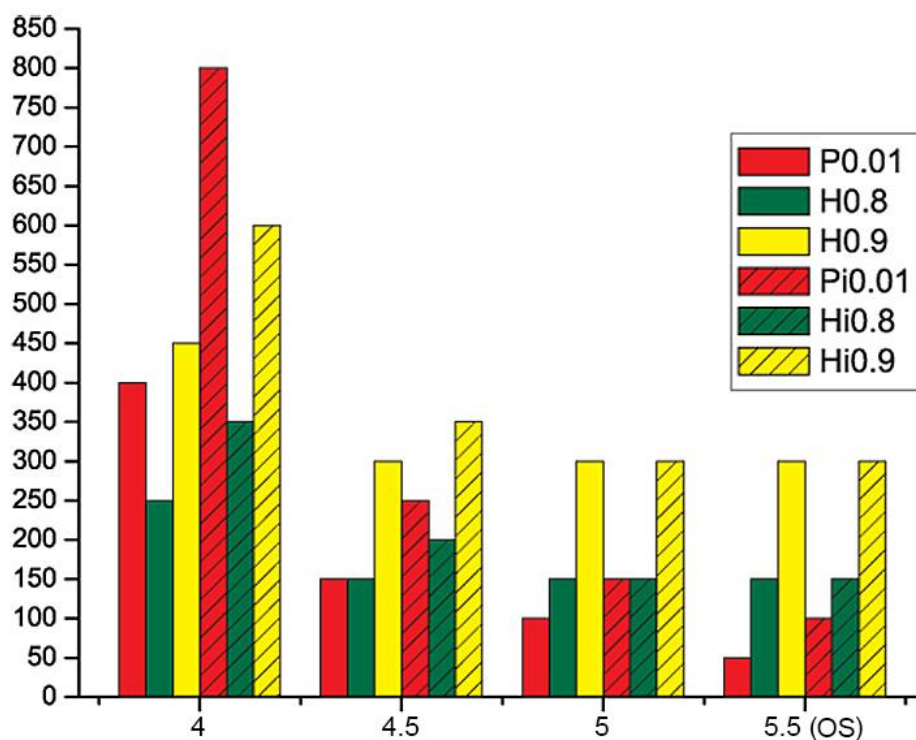
Minimalna vijabilna veličina populacije - osnovni scenario, dopunski scenariji i analiza senzitivnosti

U cilju utvrđivanja minimalnog broja jedinki koji je neophodan da bi neka izolovana populacija tekunica uopšte bila u mogućnosti da se održi i ostane vijabilna tokom dužeg vremenskog perioda, urađena je analiza vijabilnosti.

Osnovni scenario je pokazao da je MVP od 300 jedinki dovoljna da obezbedi opstanak izolovane populacije tekunica u periodu od 50 godina. Ključni parametar u određivanju MVP bila je vrednost očekivane heterozigotnosti i to kako za simulacije koje su uključivale inbriding, tako i za simulacije u kojima je inbriding izostavljen. Ukoliko je kao pokazatelj vijabilnosti uzeta u obzir samo vrednost pseudo-istrebljenja, broj jedinki, neophodan za postizanje MVP, je bio znatno manji i iznosio je svega 50 jedinki u slučaju kada inbriding nije uzet u obzir, odnosno 100 jedinki kada je inbriding uključen u simulacije.

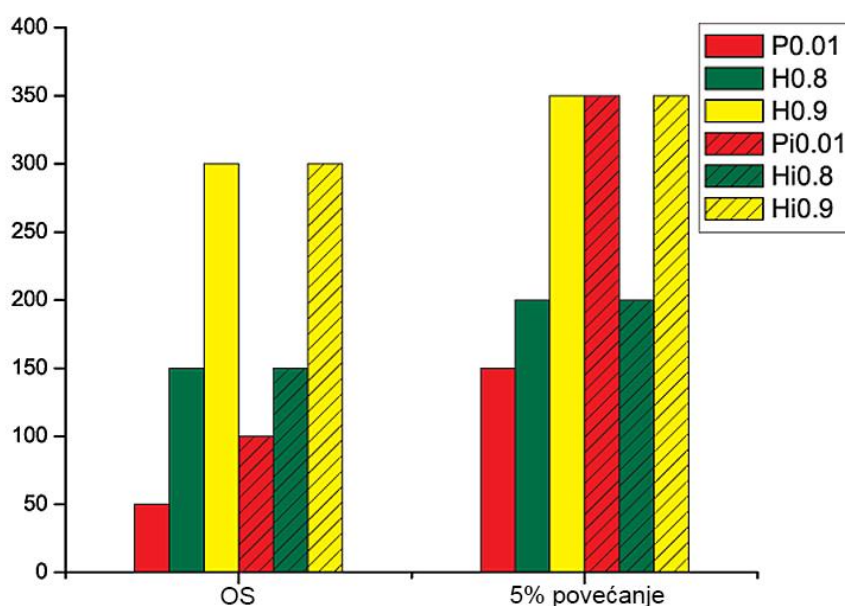
Populacioni monitoring, koji se već 10 godina u kontinuitetu sprovodi na tri lokaliteta u Vojvodini, pokazao je da postoje velike fluktuacije u brojnosti populacija tokom posmatranih godina. Kako su ove fluktuacije verovatno posledica variranja različitih sredinskih uslova (odsustvo ispaše na staništu, podizanje nivoa podzemnih voda, sušne godine i godine sa jakim i dugim zimama i sl.) i kako se javljaju sa različitim intezitetom od godine do godine, uvedena su i dva dodatna scenarija kako bi se ispitalo kakav i koliki uticaj ova variranja imaju na MVP. U okviru prve grupe scenarija ispitan je potencijalni efekat direktnog smanjivanja reproduktivne sposobnosti kod ženki i povećanja mortaliteta u populaciji na MVP. U okviru druge grupe scenarija ispitan je efekat povećanja varijabilnosti u okruženju za gore navedene parametre, a dodatno je uvedena i varijabilnost za kapacitet sredine.

Kada je reproduktivna sposobnost u pitanju, u simulacijama nisu zabeležene veće promene u vrednosti MVP sve dok prosečni broj mladunaca po okotu ne padne na 4 (Slika 17). Sa smanjenjem prosečnog broja mladunaca po okotu na 4 naglo se povećava verovatnoća pseudo-istrebljenja, kao i uticaj koji inbriding ima na takvu populaciju, tako da je za održavanje MVP u ovim uslovima neophodna brojnost od 800 jedinki. Ukoliko se prosečni broj mladunaca po okotu smanji na 3.5, populacioni rast postaje negativan, tako da populacija više nije vijabilna, tj. osuđena je na iščeznuće.

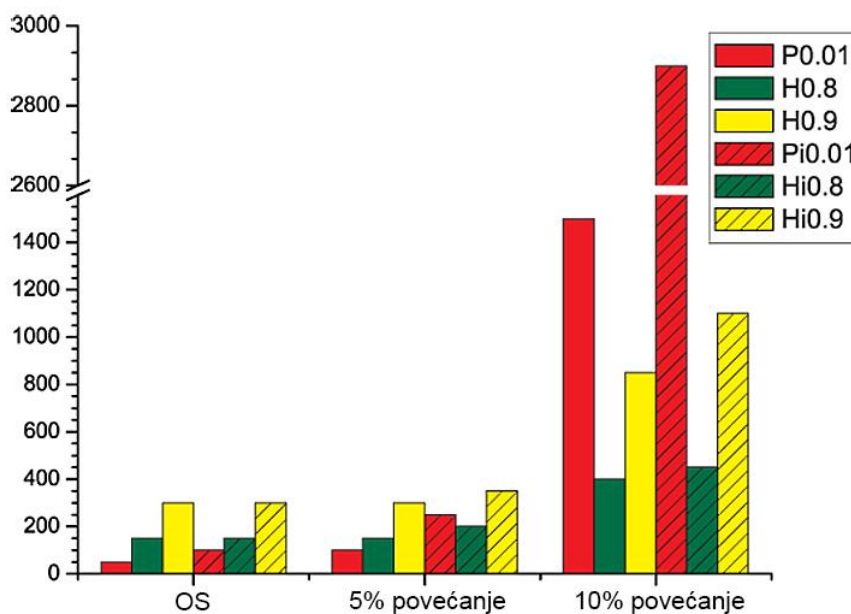


Slika 17. Promena u veličini MVP sa smanjenjem veličine okota. OS – vrednost MVP za osnovni scenario sa prosečnim brojem mladunaca po okotu od 5.5; P – verovatnoća pseudo-istrebljenja; H – očekivana heterozigotnost; Pi – verovatnoća pseudo-istrebljenja kada je inbriding uključen u simulacije; Hi - očekivana heterozigotnost kada je inbriding uključen u simulacije.

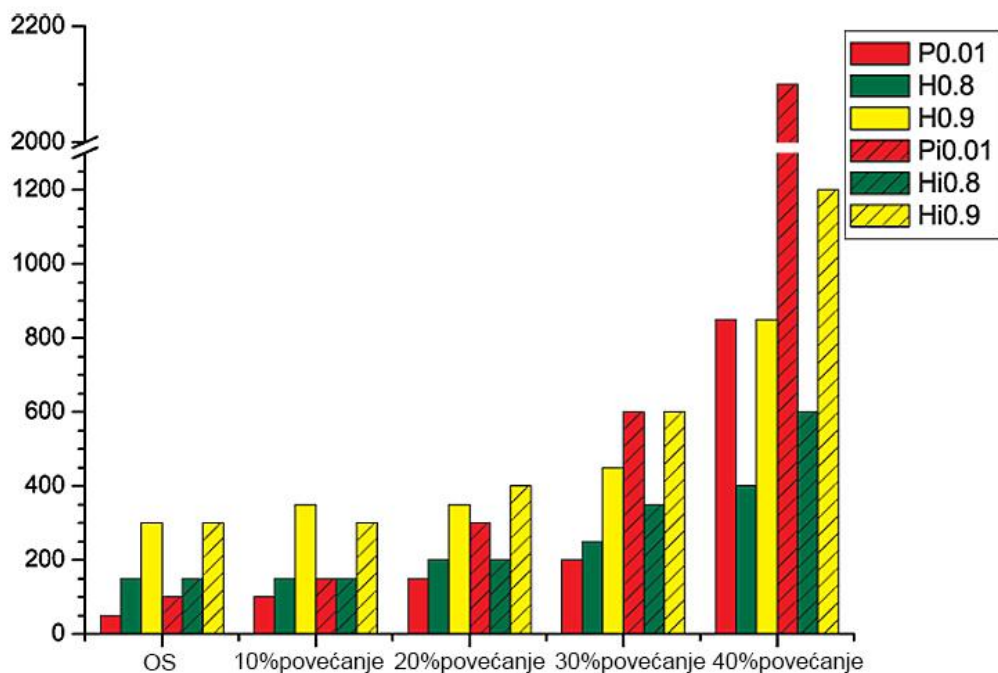
Istovremeno povećanje stopa smrtnosti za 5 % kod svih uzrasnih kategorija nije značajnije uticalo na vrednost MVP (Slika 18). Nasuprot tome, povećanje koje je bilo veće od 5 % je za posledicu imalo pojavu negativnog populacionog rasta i nemogućnost uspostavljanja MVP. Scenario u kome su povećane stope smrtnosti samo kod juvenilnih jedinki pokazao je da pri povećanju od 5 % ne dolazi do bitnijih promena u broju jedinki potrebnih da se obezbedi MVP, ali i da se taj broj značajno povećava kad su stope smrtnosti povećane za 10 %. U ovom slučaju, da bi verovatnoća pseudo-istrebljenja bila manja od 1 %, neophodno je da populacija broji 2900 jedinki (Slika 19). Svako dalje povećanje stope smrtnosti opet vodi do negativnog populacionog rasta i neminovnog iščezavanja. Scenario u kome su povećavane stope smrtnosti samo kod adultnih jedinki je pokazao da je MVP manje osetljiva na ove promene. Do značajnog povećanja broja jedinki neophodnih da osiguraju vijabilnost populacije je došlo tek kada su stope smrtnosti povećane za 40%. U ovom slučaju MVP je iznosila 2100 jedinki (Slika 20).



Slika 18. Promena u veličini MVP sa povećanjem smrtnosti svih uzrasnih kategorija u populaciji. OS – vrednost MVP za osnovni scenario; P – verovatnoća pseudo-istrebljenja; H – očekivana heterozigotnost; Pi – verovatnoća pseudo-istrebljenja kada je inbriding uključen u simulacije; Hi – očekivana heterozigotnost kada je inbriding uključen u simulacije.

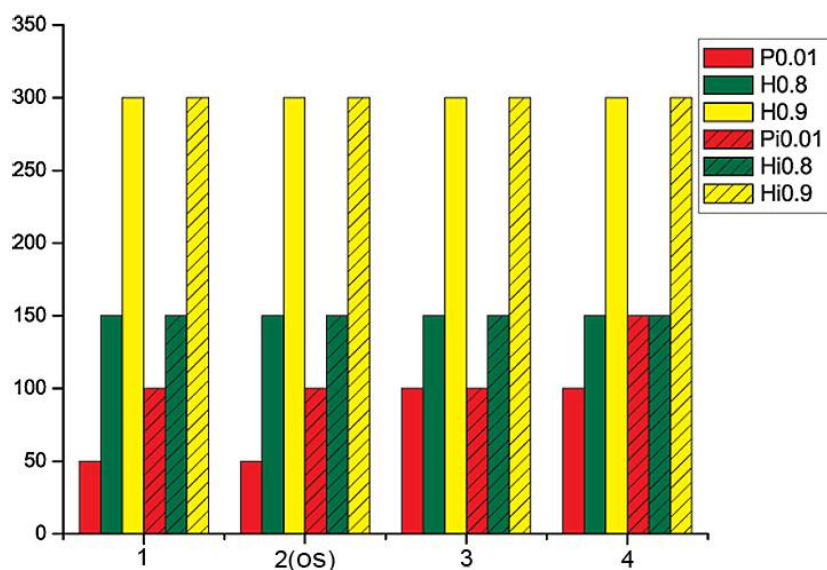


Slika 19. Promena u veličini MVP sa povećanjem smrtnosti kod juvenilnih jedinki. OS – vrednost MVP za osnovni scenario; P – verovatnoća pseudo-istrebljenja; H – očekivana heterozigotnost; Pi – verovatnoća pseudo-istrebljenja kada je inbriding uključen u simulacije; Hi – očekivana heterozigotnost kada je inbriding uključen u simulacije.

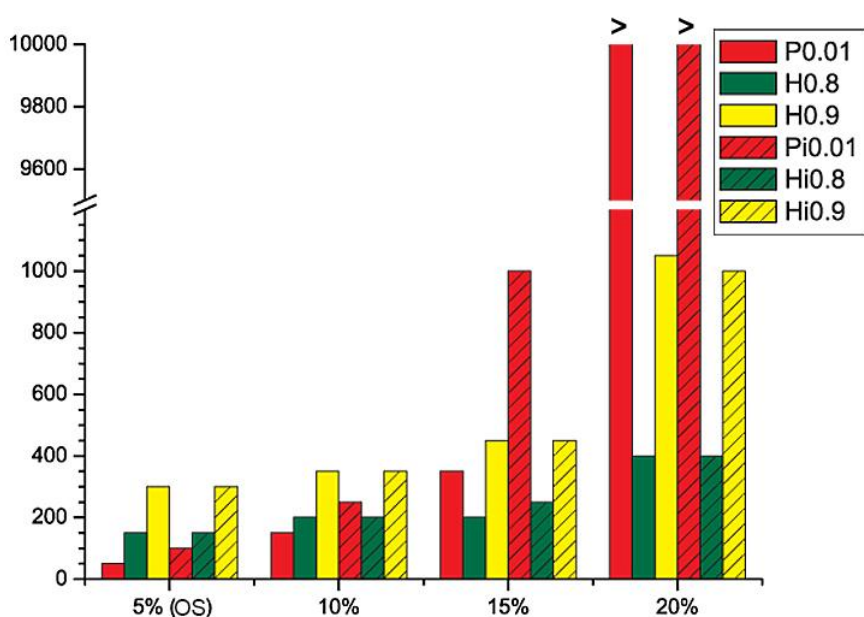


Slika 20. Promena u veličini MVP sa povećanjem smrtnosti kod adultnih jedinki. OS – vrednost MVP za osnovni scenario; P – verovatnoća pseudo-istrebljenja; H – očekivana heterozigotnost; Pi – verovatnoća pseudo-istrebljenja kada je inbriding uključen u simulacije; Hi - očekivana heterozigotnost kada je inbriding uključen u simulacije.

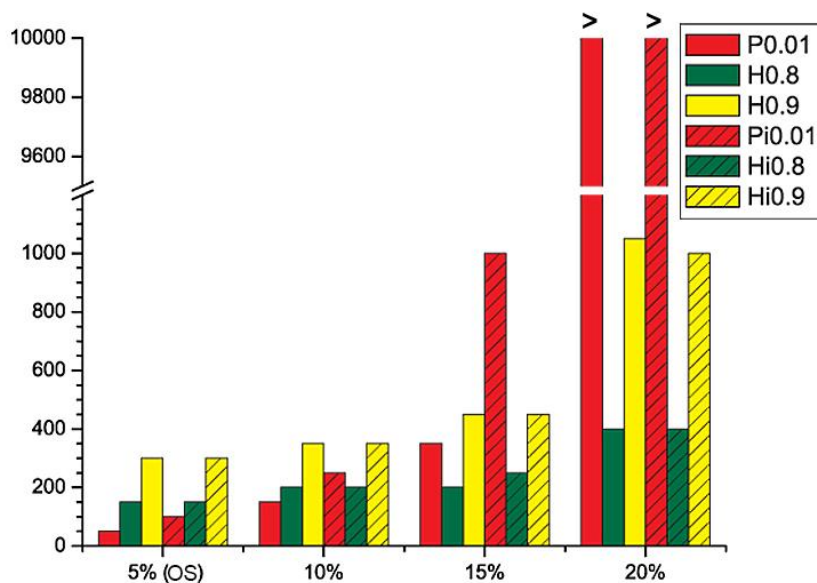
Povećanje varijabilnosti u veličini okota nije uticalo na veličinu MVP (Slika 21). Populacija je uspevala da amortizuje povećavanje varijabilnosti u stopama smrtnosti do određenog stepena, nakon čega se verovatnoća pseudo-isčezavanja naglo povećavala. Tako se, pri povećanju standardne devijacije u stopama smrtnosti za 15% kod svih uzrasnih kategorija istovremeno, MVP povećala na 1000, a pri povećanju od 20 % na preko 10000 jedinki (Slika 22). Sličan rezultat je zabeležen i u slučaju kada je povećavana standardna devijacija samo za juvenilne jedinke (Slika 23). Kod adultnih jedinki, povećanje varijabilnosti u okruženju gotovo da nije imalo uticaja na MVP sve dok standardna devijacija nije povećana na 40 %, pri čemu je MVP naglo porasla na preko 10000 jedinki (Slika 24). Oscilacije u kapacitetu staništa koje su se kretale do 20 % nisu imale većeg uticaja na MVP. Međutim, kada su ove oscilacije povećane na 30 %, bilo je potrebno obezbediti stanište koje može da podrži populaciju od preko 10000 jedinki kako bi se verovatnoća pseudo-istrebljenja svela na minimum (Slika 25).



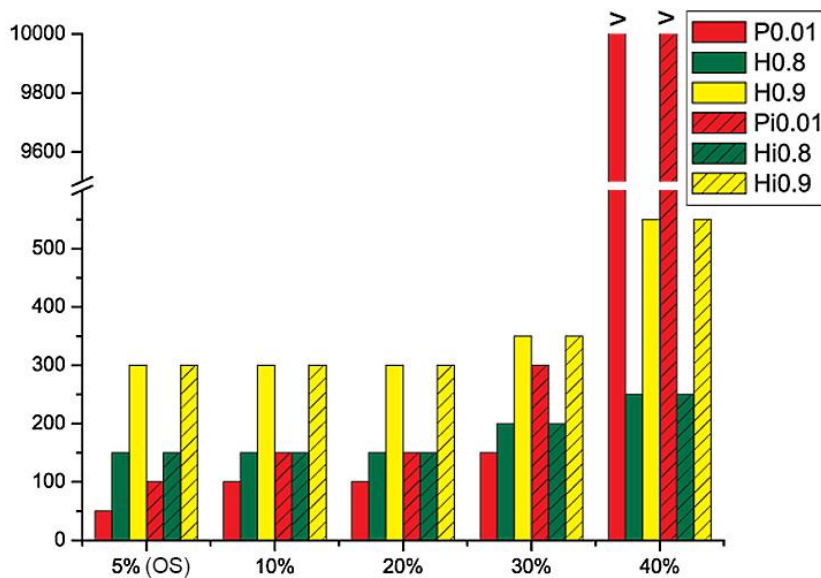
Slika 21. Promena u veličini MVP sa povećanjem standardne devijacije (SD) za veličinu okota. OS – vrednost MVP za osnovni scenario sa SD=2; P – verovatnoća pseudo-istrebljenja; H – očekivana heterozigotnost; Pi – verovatnoća pseudo-istrebljenja kada je inbriding uključen u simulacije; Hi - očekivana heterozigotnost kada je inbriding uključen u simulacije.



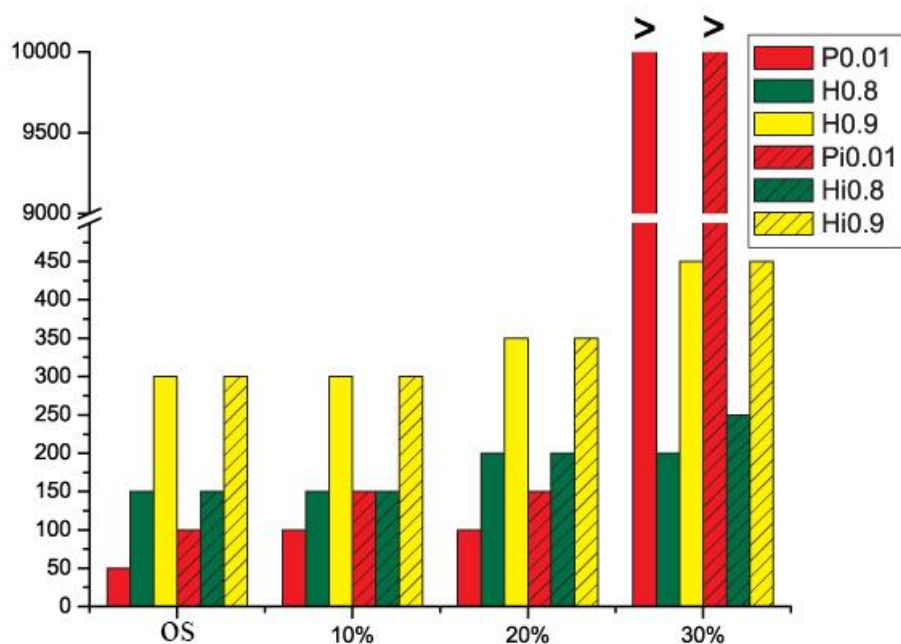
Slika 22. Promena u veličini MVP sa povećanjem standardne devijacije (SD) za stope smrtnosti kod svih uzrasnih kategorija u populaciji. OS – vrednost MVP za osnovni scenario sa vrednošću SD=5%; P – verovatnoća pseudo-istrebljenja; H – očekivana heterozigotnost; Pi – verovatnoća pseudo-istrebljenja kada je inbriding uključen u simulacije; Hi - očekivana heterozigotnost kada je inbriding uključen u simulacije.



Slika 23. Promena u veličini MVP sa povećanjem standardne devijacije (SD) za stope smrtnosti kod juvenilnih jedinki. OS – vrednost MVP za osnovni scenario sa vrednošću SD=5%; P – verovatnoća pseudo-istrebljenja; H – očekivana heterozigotnost; Pi – verovatnoća pseudo-istrebljenja kada je inbriding uključen u simulacije; Hi - očekivana heterozigotnost kada je inbriding uključen u simulacije.



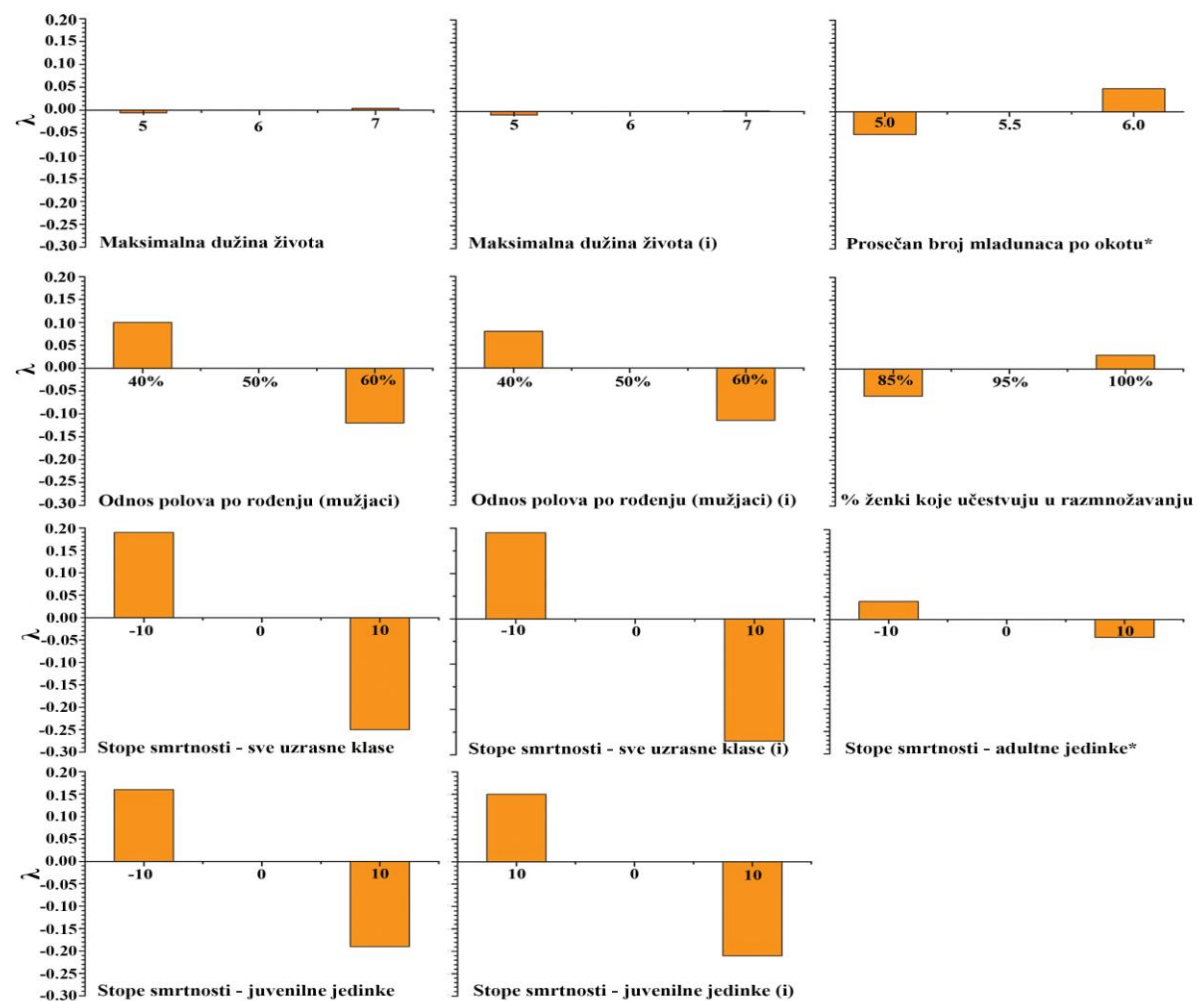
Slika 24. Promena u veličini MVP sa povećanjem standardne devijacije (SD) za stope smrtnosti kod adultnih jedinki. OS – vrednost MVP za osnovni scenario sa vrednošću SD=5%; P – verovatnoća pseudo-istrebljenja; H – očekivana heterozigotnost; Pi – verovatnoća pseudo-istrebljenja kada je inbriding uključen u simulacije; Hi - očekivana heterozigotnost kada je inbriding uključen u simulacije.



Slika 25. Promena u veličini MVP sa povećanjem standardne devijacije (SD) za kapacitet staništa. OS – vrednost MVP za osnovni scenario; P – verovatnoća pseudo-istrebljenja; H – očekivana heterozigotnost; Pi – verovatnoća pseudo-istrebljenja kada je inbriding uključen u simulacije; Hi - očekivana heterozigotnost kada je inbriding uključen u simulacije.

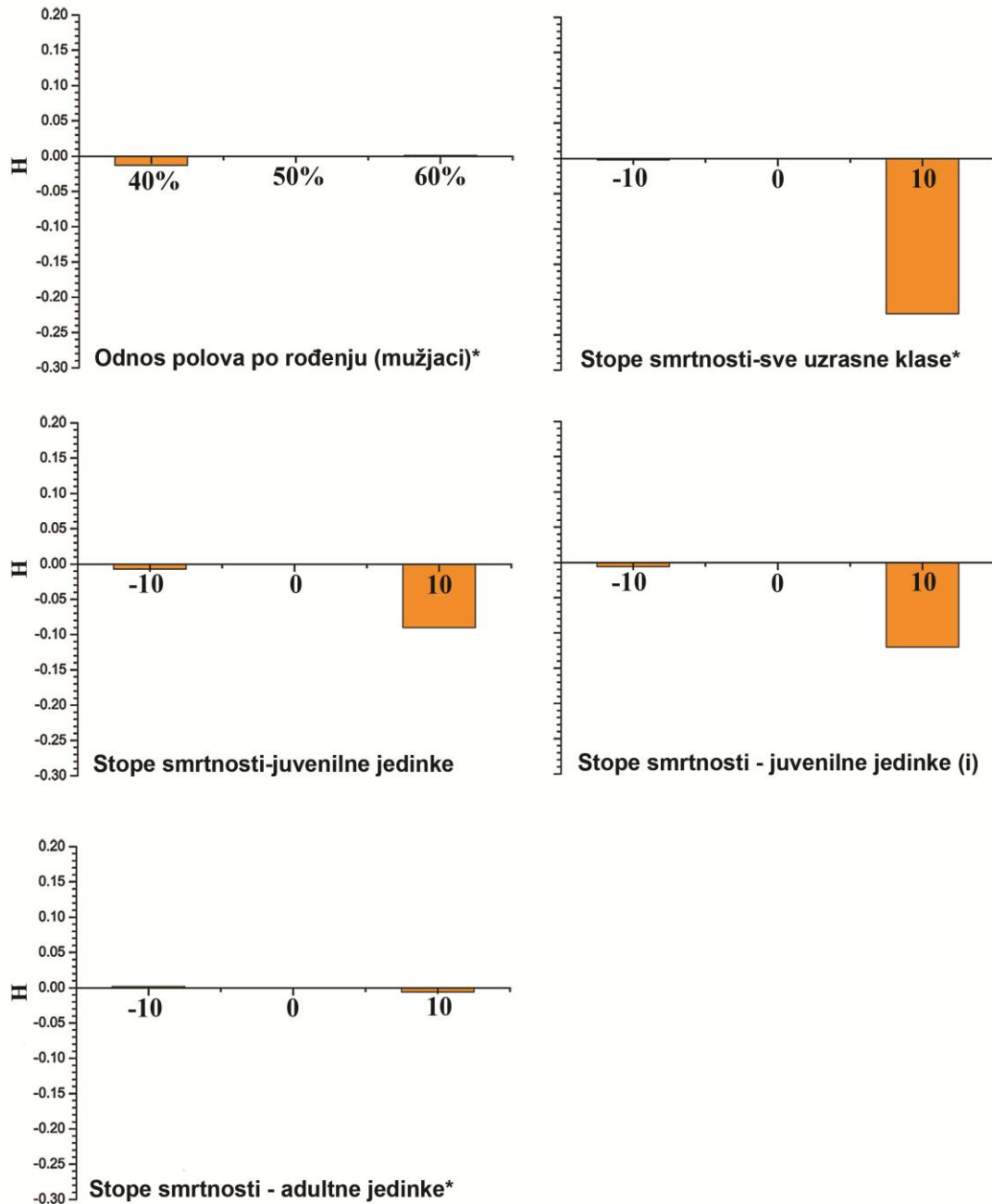
Dok je u osnovnom scenariju genetički diverzitet bio taj koji je određivao veličinu MVP, u izmenjenim uslovima i sa povećavanjem sredinske varijabilnosti verovatnoća pseudo-istrebljenja postaje glavni faktor koji utiče na veličinu vijabilne populacije. Na verovatnoću pseudo-istrebljenja je značajno uticalo i uključivanje inbridinga u simulacije, što je za posledicu imalo povećanje MVP za čak 84 %. Očekivana heterozigotnost je u ovom slučaju uticala sa svega 4.5 % na povećanje MVP.

Analiza senzitivnosti je pokazala da na veličinu populacije tekunica najveći uticaj imaju promene u stopama smrtnosti za sve uzrasne kategorije istovremeno, promene u stopama smrtnosti za juvenilne jedinke i odnos polova. Procenat ženki koje učestvuju u razmnožavanju, prosečan broj mladunaca po okotu i smrtnost kod adultnih jedinki imaju umereni značaj, dok maksimalna dužina života ima minimalni uticaj (Slika 26). Ostali analizirani parametri životne istorije nisu imali uticaj na stopu rasta populacije.



Slika 26. Efekat povećanja i smanjenja svakog pojedinačnog parametra životne istorije na vrednost stohastičkog populacionog rasta (λ); (i) vrednosti koje su dobijene kada je inbriding uključen u simulacije.

Parametri životne istorije koji su imali najveći uticaj na vrednost očekivane heterozigotnosti su stopa smrtnosti, posmatrana za sve uzrasne kategorije istovremeno, i smrtnost juvenilnih jedinki, dok su smrtnost kod adultnih jedinki i odnos polova imali minimalni uticaj (Slika 27). Promene ostalih parametara nisu značajnije dovele do promena vrednosti očekivane heterozigotnosti.



Slika 27. Efekat povećanja i smanjenja svakog pojedinačnog parametra životne istorije na vrednost očekivane heterozigotnosti (H); (i) vrednosti koje su dobijene kada je inbriding uključen u simulacije.

Diskusija

Genetički diverzitet i struktura populacija tekunice u Srbiji

Kao što je već napomenuto u uvodu, areal tekunice je karpatskim masivom podeljen na dva dela. S obzirom da se zona razdvajanja jednim delom pruža preko Srbije, areal tekunice u Srbiji je disjunktan. Populacije iz Vojvodine pripadaju severnom delu areala, dok populacije sa jugoistoka zemlje pripadaju južnom delu areala (Slika 1). Iako danas geografski razdvojene, filogeografske studije su pokazale da sve populacije iz Srbije pripadaju severnoj filogenetskoj liniji (KRYŠTUFEK ET AL. 2009; ŘÍČANOVÁ ET AL. 2013), a da populacije koje danas naseljavaju Panonski basen i centralnu Evropu vode poreklo od tekunica sa juga Srbije i iz Bugarske (ŘÍČANOVÁ ET AL. 2013). Na osnovu centralno-periferne hipoteze (eng. *hypothesis of central-marginal decrease of genetic diversity*) koja predviđa smanjivanje genetičkog diverziteta prema marginama areala (ECKERT ET AL. 2008), može se očekivati da će genetički diverzitet populacija iz Srbije biti veći od istog kod populacija koje se nalaze na pravoj granici areala, kao što su one u Češkoj. Međutim, i pored toga što se nalazi u centralnom delu areala i što od njih vode poreklo populacije sa severa, usled današnjeg marginalnog položaja se ipak očekuje nešto niži genetički diverzitet nego kod populacija koje danas zauzimaju centralnu poziciju u severnom delu areala tekunice, kao što su populacije u Mađarskoj (Slika 1).

Za razliku od vojvođanskih populacija, kod kojih su problemi fragmentacije staništa i izolovanosti populacija relativno novijeg datuma (od pre 50-60 godina), izolovanost planinskih populacija zbog njihovog specifičnog položaja (visokoplaninske livade i pašnjaci iznad gornje šumske granice) traje znatno duže, verovatno hiljadama godina. Mada su metapopulacije bile izolovane na planinskim pašnjacima, zahvaljujući stočarstvu koje je u ovim planinskim predelima bilo razvijeno sve do početka 90-ih godina prošlog veka, uspevale su da se održe na relativno velikom području koje su visokoplaninski pašnjaci zauzimali. Sa prestankom stočarenja nestaje i povoljno stanište, a mali preostali fragmenti nekadašnjih populacija postaju dodatno međusobno izolovani i u mnogo većoj opasnosti od nestajanja u poređenju sa vojvođanskim populacijama. S obzirom na prostornu udaljenost i specifičnost planinskih populacija, vojvođanske populacije su u dosadašnjoj literaturi opisivane kao kontinuirane i posmatrane kao zasebna grupa u odnosu na fragmentisane planinske populacije sa jugoistoka zemlje (RUŽIĆ 1950; PETROV 1990).

Dobijeni rezultati analize genetičkog diverziteta i genetičke diferencijacije su u skladu sa gore nevedenim pretpostavkama. Genetički diverzitet populacija iz Vojvodine, koje su uslovno označene kao “kontinuirane“, je bio statistički značajno viši u odnosu na fragmentisane populacije iz Češke (RĪČANOVÁ ET AL. 2011). Kada su populacije iz Vojvodine upoređene sa populacijama iz centralnog i severnog dela Panonske nizije, tj. iz Slovačke i Mađarske (RĪČANOVÁ ET AL. 2011), razlike nisu bile statistički značajne. Statistički značajna razlika nije dobijena ni kada su vrednosti za vojvođanske populacije upoređene sa vrednostima koje su SLIMEN ET AL. (2012) dobili takođe za mađarske populacije. Kada je upoređen genetički diverzitet populacija iz Srbije sa populacijama iz Bugarske (RĪČANOVÁ ET AL. 2013), pokazalo se da je on statistički značajno niži kod vojvođanskih populacija. S obzirom da je predačka populacija dve savremene filogeografske linije (“južne” i “severne”) poreklom sa teritorije Bugarske, kao i da su upravo bugarske populacije pokazale najviši genetički diverzitet unutar vrste, dobijeni rezultati su bili očekivani.

Populacije iz Vojvodine su pokazale statistički značajno više vrednosti AR i H_o u odnosu na planinske, dok za ostale parametre nisu registrovane značajne razlike (Tabela 8). Situacija je drugačija ako se dobijeni rezultati planinskih populacija iz Srbije (Stara planina i Vlasina) uporede sa dve planinske populacije iz okruženja, jednom iz Makedonije i jednom iz Bugarske. U odnosu na bugarsku populaciju tekunica (Belmeken: $AR=3.219$, $He=0.538$) (RĪČANOVÁ ET AL. 2013), srpske populacije (Vlasina: $AR=2.73$, $He=0.464$ i Vrtibog: $AR=2.91$, $He=0.470$) su pokazale niže vrednosti za oba parametra, dok su u poređenju sa populacijom iz Makedonije (Solunska Glava: $AR=1.568$, $He=0.175$) (RĪČANOVÁ ET AL. 2013) bile više. Planinske populacije tekunice iz Srbije i populacija iz Makedonije su imale visoke F_{IS} vrednosti, dok je kod populacije iz Bugarske ova vrednost bila zanemarljiva. U poređenju sa fragmentisanim populacijama iz Češke, planinske populacije iz Srbije su pokazale nešto viši genetički diverzitet, ali razlika nije bila statistički značajna.

Tokom prolaska populacije kroz usko grlo retki aleli nestaju veoma brzo, dok se heterozigotnost smanjuje postepeno, pa se kod ovakvih populacija očekuje da imaju povećanu vrednost očekivane heterozigotnosti (MARUYAMA & FUERST 1985; CORNUET & LUIKART 1996). I pored toga što su populacije tekunica tokom 60-ih i 70-ih godina prošlog veka pretrpele dramatičan pad brojnosti, pri čemu su mnoge i nestale (RUŽIĆ 1950), povećane vrednosti očekivane heterozigotnosti nisu registrovane. Program

BOTTLENECK je sposoban da detektuje prolazak populacije kroz usko grlo samo ukoliko se to dogodilo u bliskoj prošlosti i ukoliko pad brojnosti nije bio dramatično veliki (WILLIAMSON-NATESAN 2005). Takođe, neke studije su pokazale da su dovoljne samo tri generacije da se povećanje heterozigotnosti, kao i odstupanje učestalosti alela od ravnotežnog stanja, ponovo vrata u normalu. Takođe je utvrđeno da je i minimalna imigracija jedinki u takvu populaciju dovoljna da se za kratko vreme oporavi njen genetički diverzitet (BUSCH ET AL. 2007; KELLER ET AL. 2001).

Prosečna vrednost indeksa fiksacije kod populacija tekunice iz Vojvodine ($F_{ST}=0.195$) je bila niža, kako u odnosu na “kontinuirane” populacije iz Srednje Evrope (Slovačka i Mađarska; $F_{ST}=0.249$) (RİČANOVÁ ET AL. 2011), tako i u odnosu na izolovane populacije sa krajnjeg zapada areala ($F_{ST}=0.229$) (RİČANOVÁ ET AL. 2011), što ukazuje na manji stepen izolovanosti srpskih populacija. Ipak, sve vrednosti F_{ST} indeksa su pokazale značajan stepen diferencijacije između populacija, kako na lokalnom, tako i na regionalnom nivou. Umeren stepen diferencijacije je registrovan među parovima populacija iz Srema (Krušedol, Neradin, Mala Remeta, Sremska Mitrovica), kao i parovima Šušara-Banatska Palanka, Šušara-Lok, Šušara-Sremska Mitrovica, što ukazuje na moguće postojanje protoka gena među ovim populacijama, ili pak na to da se protok gena među ovim populacijama održavao do relativno skoro (što je daleko verovatniji scenario). Kod ostalih parova stepen diferencijacije je bio snažan do veoma snažan. Kod planinskih populacija tekunice je čak i prosečna vrednost F_{ST} koeficijenta pokazala veoma snažan stepen diferencijacije ($F_{ST}=0.278$). Ovo je ujedno i najviša srednja vrednost indeksa fiksacije u poređenju sa napred navedenim vrednostima za populacije iz Vojvodine i Srednje Evrope, ukazujući na potencijalno daleko duži vremenski period izolacije kojem su ove populacije izložene.

Sva tri korišćena programa za analizu genetičke struktuiranosti populacija su pokazala da je 11 ispitivanih populacija tekunice iz Srbije najoptimalnije grupisati u četiri klastera (Slike 11; 12; 13). Populacije iz Vojvodine su se grupisale u tri klastera, na isti način kao što je prikazano od strane ĆOSIĆ ET AL (2013), dok su četvrti klaster činile udaljene planinske populacije Vlasina i Vrtibog.

Vojvodinu čine tri regiona, Srem, Banat i Bačka, koja su međusobno razdvojena Dunavom i Tisom. S obzirom da ovako velike reke predstavljaju potencijalno ozbiljnu barijeru za protok gena između populacija tekunica, posebna pažnja je posvećena grupisanju u klastere populacija iz Vojvodine.

Populacije tekunice iz Srema (Krušedol, Neradin, Mala Remeta i Sremska Mitrovica) čine jedan klaster koji je Dunavom razdvojen od ostalih populacija, što je i bilo je za očekivati. Međutim, raspored populacija u ostala dva klastera bio je manje očekivan. Jedna populacija iz Bačke (Lok), koja je geografski bliža populacijama iz Srema, ali od kojih je razdvaja Dunav, se našla u istom klasteru sa udaljenijim populacijama iz Banata (Banatska Palanka i Šušara) od kojih je deli Tisa. Značaj Tise kao barijere se isključuje i postojanjem trećeg “severnog” klastera koji čine jedna populacija iz Bačke (Tomislavci) i jedna populacija iz Banata (Mokrin). Na osnovu analiza koje su prvobitno bile urađene samo za populacije tekunice iz Vojvodine, pretpostavljeno je da je izdvajanje ove dve populacije u poseban klaster verovatno posledica odsustva protoka gena između populacija sa severa i populacija sa juga Vojvodine, kao i dejstva genetičkog drifta (ĆOSIĆ ET AL. 2013). Međutim, nove analize koje su uključile i dve planinske populacije, ukazuju da je uticaj fragmentacije i izolovanosti na struktuiranost vojvođanskih populacija verovatno od sekundarnog značaja. Naime, STRUCTURE i BAPs su ukazali na mogućnost postojanja dva, odnosno tri klastera (Slika 11b, c; 12c), pri čemu se u tom slučaju populacije Mokrin i Tomislavci grupišu u isti klaster sa planinskim populacijama sa juga, odnosno sa Vlasinom i Vrtibogom. Nema podataka o bilo kakvom pokušaju reintrodukcije ovih planinskih populacija na teritoriju Vojvodine, tako da se ta mogućnost može gotovo sa sigurnošću isključiti kao potencijalno objašnjenje. RIČANOVA ET AL. (2011) navode da su jug Srbije i Bugarska u prošlosti predstavljale refugijum iz kog su tekunice u nekoliko navrata širile svoj areal ka srednjoj i centralnoj Evropi, što potencijalno može biti objašnjenje ovakve struktuiranosti populacija u Vojvodini. Odnosno, postoji mogućnost da analizirane populacije nisu u prošlosti naselile teritoriju Vojvodine u isto vreme. S obzirom da su u ove analize bile uključene samo dve populacije iz severnog dela Vojvodine i da je u pitanju mali broj uzoraka (svega 6 jedinki po populaciji), neophodno bi bilo uraditi dodatne analize na većem uzorku, kao i sa većim brojem populacija iz ovog dela Vojvodine, kako bi se izveli neki pouzdaniji zaključci.

Kada su reke u pitanju, nameće se pitanje kako to da je Dunav značajna barijera za protok gena, dok Tisa nije? Tok Tise je uži (100-200 m) od toka Dunava (400-1200 m), ali i dalje dovoljno širok da može da predstavlja bitnu prepreku disperziji. Vrlo je verovatno da je tekunica sposobna da prepliva kratka rastojanja (verovatno ne više od par desetina metara), ali nije za očekivati od vrste sa slabim disperzivnim mogućnostima da prepliva olako reku kao što je Tisa. Prelazak reke za vreme jakih zima, kada se dešava da

se površina vode zaledi, se takođe može isključiti kao mogućnost, s obzirom da je tekunica hibernator (STRIJSKTRA & DAAN 1997). Pasivna disperzija na plutajućim stablima i granama se ne može sasvim isključiti, ali s obzirom da tekunica preferira isključivo otvorena staništa sa niskom travnom vegetacijom i bez drveća, to je verovatno veoma redak događaj.

Odsustvo genetičke struktuiranosti između populacija tekunica koje su razdvojene Tisom bi takođe moglo biti posledica ljudskog delovanja. Naime, u prošlosti je izgrađeno nekoliko mostova preko Tise koje su tekunice mogle da koriste kako bi prešle na suprotnu stranu, a jedan od njih je u blizini lokaliteta Lok. S obzirom da su tekunice pre samo 60 godina bile široko rasprostanjene i prisutne na gotovo svakoj livadi i pašnjaku (RUŽIĆ 1950), vrlo je verovatno da su uspevale da se održe i duž nasipa pored reke, te da su im neki od mostova bili lako dostupni i da su pomoću njih prelazile na drugu stranu reke. Nema istorijskih podataka koji bi ukazivali na to da se dešavalo da Tisa presuši tokom sušnih godina, ali to ne isključuje mogućnost da je tokom takvih godina reka bila daleko uža nego danas, da je vodostaj značajno opadao i da su se na sredini toka pojavljivala ostrvca i sprudovi koji su značajno mogli olakšati prelazak reke. Tisa je u prošlosti često menjala svoj tok, plaveći okolno zemljište, sve dok tokom druge polovine 19-og i početkom 20-og veka njen tok nije regulisan. Rečno korito je pretrpelo značajne izmene, a rečni tok je na teritoriji Srbije skraćen za 75 km. Ovo skraćivanje rečnog toka je podrazumevalo odvajanje meandara od rečnog korita, pri čemu su veliki delovi suvog kopna završavali na suprotnim obalama reke (KNEŽEV 2006). Ovo je takođe moglo da omogući premeštanje tekunica, ili čak delova njihovih populacija, sa jedne strane reke na drugu.

Utvrđene odnose između populacija podržava i parcijalni Mantel test. Naime, ovom analizom nisu registrovane statistički značajne korelacije između genetičke strukture populacija tekunice i položaja reka, tačnije reke nisu prepoznate kao barijere. AMOVA takođe nije uspela da registruje postojanje nekog značajnog genetičkog variranja između regiona koji se nalaze na suprotnim obalama Tise (Bačka-Banat), dok je malo, ali statistički značajno variranje registrovano između populacija tekunice koje se nalaze na suprotnim obalama Dunava, odnosno između populacija iz Srema sa jedne strane i populacija iz Banata i Bačke sa druge strane. Rezultati dobijeni u programu STRUCTURE, odnosno mogućnost postojanja samo dva klastera, pri čemu su populacije iz Srema grupisane u isti klaster sa populacijama Lok, Šušara i Banatska Palanka,

sugerišu da Dunav predstavlja barijeru, koja nije uvek u prošlosti bila u potpunosti nepremostiva. Slične studije, rađene na dve američke vrste tekunica (*Urocitellus brunneus* i *Xerospermophilus mohavensis*), pokazale su da reke imaju uticaj, doduše veoma mali, na genetičku diferencijaciju populacija (GARNER ET AL. 2005; BELL & MATOCQ 2011). LADA ET AL. (2008) su, proučavajući jednu vrstu sitnih karnivornih sisara koja nastanjuje rečne šume, utvrdili da reka Mari ne predstavlja barijeru, već da su uklanjanje vegetacije i osnivanje novih gradova najvećim delom odgovorni za smanjenje i redukciju u protoku gena između populacija. Slično, čini se da su fragmentacija i gubitak pogodnog staništa glavni faktori koji utiču na visok stepen struktuiranosti populacija tekunica u Vojvodini. Prema RUŽIĆ (1950) široki poljski putevi, koji su se u prošlosti pružali duž obradivih površina, bili su pogodno stanište za tekunicu, a u isto vreme su obezbeđivali i neophodnu povezanost i protok gena između različitih staništa. Time je omogućeno postojanje jedne velike metapopulacije, ne samo na području Vojvodine, već i na području cele Panonske nizije. Tokom poslednjih 50 godina, ovi putevi su sve više zamenjivani uskim kolskim putevima, nepovoljnim za opstanak tekunica, ili su takvi putevi asfaltirani. Takođe, populacije koje su preostale na uskim travnatim delovima pored njiva su u prošlosti vrlo često trovane, jer su tekunice smatrane štetočinama (RUŽIĆ 1979). Svi navedeni faktori su doprineli da tekunica u ovom periodu išezne sa velikog broja lokaliteta. Danas su delovi povoljnog staništa raspoređeni između poljoprivrednih i urbanih površina koje pokrivaju gotovo 80 % prostora Vojvodine, a veze između populacija su trajno prekinute.

KENNIS ET AL. (2011) su pokazali da velike reke igraju značajnu ulogu u distribuciji nekih afričkih mišolikih glodara, ali da uticaj koji će reka imati zavisi od biologije same vrste (npr. kod vrsta koje su dobri plivači i nastanjuju vlažna staništa reka ne predstavlja barijeru). Značaj reka kao barijera se navodi u više drugih studija koje su rađene na sisarima (LUGON-MOULIN & HAUSSER 2002; TRIZIO ET AL. 2005; BRYJA ET AL. 2010). Tu su i brojni radovi koji ukazuju na značaj različitih prirodnih i antropogeno nastalih barijera na genetičku strukturu populacija. Primera radi, SELONEN & HANSKI (2004) su uočili da leteće veverice (*Pteromys volans*), koje spadaju u prilično mobilne sitne sisare, izbegavaju da prelaze otvorena staništa šira od 100 m, te da fragmentacija staništa kod ove vrste može dovesti do značajne genetičke diferencijacije između geografski veoma bliskih populacija.

Genetičke analize koje su prethodno rađene na području Vojvodine pokazale su da Dunav i Tisa imaju uticaj na genetičku strukturu populacija zečeva (*Lepus europaeus*), ali

da je protok gena verovatno samo delimično onemogućen, a ne i trajno zaustavljen (DJAN ET AL. 2006). Nasuprot navedenom, KIRSCHNING ET AL. (2007) su, analizirajući populacije lisica (*Vulpes vulpes*) u Vojvodini, registrovali nizak stepen genetičke diferencijacije među ispitivanim populacijama, koji nije bio u korelaciji sa rekama kao potencijalnim migracionim barijerama. Ovde svakako treba napomenuti da je areal kretanja lisica daleko veći u poređenju sa arealom kretanja tekunica.

Populaciona dinamika

Na osnovu rezultata jedanaestogodišnjeg monitoringa, moglo bi se zaključiti da su današnje populacije tekunica neznatno povećale svoju gustinu u odnosu na one iz perioda od 1947. do 1949. godine. Prema RUŽIĆ (1979), populacije tekunica na području Vojvodine su u periodu od 1947. do 1949. godine još uvek bile brojne, a gustina se kretala od 26.5 do 41.7 jedinki/ha, odnosno prosečno 28.6 jedinki/ha. U navedenom periodu, prosečna gustina populacije u obodnim delovima fruškogorskog masiva je iznosila 32.6 jedinki/ha, dok je u Deliblatskoj peščari iznosila 20.21 jedinku/ha (RUŽIĆ 1979). U periodu od 1965. do 1968. godine gustina populacije je pala na 1-5 jedinki/ha, odnosno prosečno 2.73 jedinke/ha. Slične vrednosti su registrovane i 2007. godine, kada je prosečna gustina populacije iznosila 2.63 jedinke/ha. Za period od 1977. do 2004. godine nema raspoloživih podataka o gustini i brojnosti populacija tekunice na području Vojvodine.

Iako se današnje populacije naizgled karakterišu nešto višim gustinama, ne treba ispustiti iz vida da je preostalo jako malo očuvanih, pogodnih štaništa, da takva staništa obično zauzimaju male površine i da su fragmentisana, te da visoke gustine populacija ne moraju obavezno da ukazuju na dobro stanje i očuvanost populacije. Velike zabeležene fluktuacije u brojnosti populacija tekunice upravo na to i ukazuju. Velike fluktuacije mogu da dovedu do smanjenja efektivne veličine populacije, koja opet može značajno da utiče na genetički diverzitet (GEDEON 2011). S obzirom da su populacije međusobno izolovane i da nema protoka gena koji je ključan za oporavak malih populacija podložnih dejstvu genetičkog drifta i inbridinga, rizik od nestajanja čak i velikih populacija je značajno povećan (FRANKHAM ET AL. 2002; SAMBATTI ET AL. 2008). Analiza genetičkog diverziteta koja je urađena za 11 populacija iz Srbije je potvrdila napred navedeno. Analize su pokazale da je genetički diverzitet u znatnom obimu očuvan, ali je u čak sedam populacija registrovana značajno povećana vrednost inbriding koeficijenta i odsustvo Hardi-Vajnbergove ravnoteže.

Publikovani podaci o višegodišnjem monitoringu i populacionoj dinamici tekunica iz drugih delova areala su prilično oskudni. Rezultati monitoringa populacija tekunice u Mađarskoj su takođe pokazali da postoje fluktuacije u gustini, kako tokom godina, tako i između kolonija, ali da te fluktuacije nisu bile dramatične (GEDEON 2011). Nasuprot njima, HOFFMANN ET AL. (2003A) su tokom sedmogodišnjeg monitoringa jedne populacije

u blizini Beča zabeležili dramatičan pad brojnosti, pri čemu je gustina populacije sa 61 jedinke/ha, koliko je zabeleženo 1993. godine, pala na svega 6.3 jedinke/ha u 1998. godini.

U okviru areala navode se različite gustine. Tako, BALTAG ET AL. (2014) navode da se gustia rumunskih populacija tekunice kreće od 0-107 jedinki/ha, a prosečna gustina iznosi 15.41 jedinka/ha. Nasuprot očekivanjima, kod bugarskih populacija su zabeležene veoma male gustine, gde je od 69 lokaliteta na kojim je registrovano prisustvo tekunica gustina na čak 44 iznosila svega 2 jedinke/ha, na 21 lokalitetu se kretala od 2 do 15 jedinki/ha, a na samo četiri lokaliteta su zabeležene gustine koje su se kretale od 15-100 jedinki/ha (KOSHEV 2008). Prosečna gustina kod čeških populacija iznosila je 15.1 jedinki/ha, sa vrednostima koje su se kretale od 2.1-58.7 jedinki/ha (MATĚJŮ ET AL. 2008). Mnogo bolja situacija je zabeležena u Mađarskoj, gde je prosečna gustina populacija tekunice iznosila 60 jedinki/ha, a najveća zabeležena gustina do sada je iznosila 114.2 jedinki/ha (GEDEON 2011), što se načelno podudara sa rezultima sa područja Vojvodine.

Velike fluktuacije u veličini populacija koje su zabeležene na terenu su u najvećem broju slučajeva posledica oscilacija u kvalitetu staništa, kao i količini dostupne hrane. Veći broj autora takođe navodi da su količina i kvalitet dostupne hrane glavni faktori koji utiču na gustinu populacije (GEDEON 2011; HOFFMANN ET AL. 2003B, 2008; MATĚJŮ ET AL. 2008). Pored toga, sve učestalije pojave obilnih padavina koje dovode do plavljenja staništa i podizanja nivoa podzemnih voda, kao i jakih i dugotrajnih suša, takođe negativno utiču na brojnost populacija i povećavaju rizik od nestajanja (BALTAG ET AL. 2014; KOSHEV 2008). Zbog toga je neophodno, tamo gde je to moguće, minimizirati dejstvo faktora koji dovode do velikih fluktuacija u brojnosti, koje dalje mogu dovesti do drastičnog pada u veličini populacije i potencijalno uzrokovati njeno nestajanje.

Neradin može da posluži kao primer dobre prakse, kao i primer kako se uz malo uloženog napora mogu očuvati postojeće populacije tekunica na teritoriji Srbije. Najniža brojnost na ovom lokalitetu je bila zabeležena prve godine monitoringa, da bi nakon toga populacija počela polako da raste. Zatečena niska brojnost 2004. godine je najverovatnije bila posledica konstantnog narušavanja staništa ilegalnim skidanjem travnog pokrivača sa delova pašnjaka, što je pre svega uticalo na količinu i kvalitet dostupne hrane za tekunice. Travnati pokrivač je uklanjan tokom perioda od nekoliko godina, uključujući i 2004. godinu. Zahvaljujući reakciji Pokrajinskog zavoda za zaštitu prirode Srbije i Nacionalnog parka Fruška gora, kao i volje lokalnog stanovništva da se uključi i pomogne zaštititi ovog

pašnjaka, nakon 2004. godine je prekinuto sa ovim ilegalnim aktivnostima. U nekoliko navrata, u periodu od 2010. do 2013. godine, Naučno istraživačko društvo studenata biologije "Josif Pančić" iz Novog Sada je organizovalo uklanjanje stabala glova i divlje ruže, koja su počela da se šire usled nedovoljno intenzivne ispaše, a u međuvremenu je povećan i broj grla stoke koja se napasa na ovom pašnjaku. Zavaljujući navedenim merama zaštite i upravljanja, populacija sa Neradina je jedina koja je imala pozitivan populacioni rast u istraživanom periodu.

Minimalna vijabilna veličina populacije

Veličina populacije je glavni činilac koji utiče na verovatnoću iščezavanja (REED ET AL. 2003), pa se kao logično postavlja pitanje koliko treba da bude velika populacija da bi dugoročno opstala, kao i koji su to ključni faktori koje treba uzeti u obzir prilikom određivanja minimalne vijabilne veličine populacije. LANDE (1988) smatra da u malim i izolovanim populacijama sredinska i demografska varijabilnost imaju mnogo veći uticaj na opstanak populacije nego efekti koje u takvim uslovima imaju inbriding i gubitak genetičkog diverziteta, te da je veličina populacije glavni faktor od koga zavisi opstanak populacije. Sa druge strane, neki autori ukazuju na značaj efektivne veličine populacije (FRANKHAM, 1995; FRANKHAM ET AL. 2014). Činjenica je da ugrožene populacije najčešće imaju veoma mali odnos N_e/N , te stoga čak i naizgled velike populacije mogu biti osetljive na štetne efekte inbridinga. MILLS & SMOUSE (1994) ističu da inbriding depresija ne mora biti primarni uzrok nestajanja populacije, ali da njen uticaj ipak može biti presudan.

U teoriji, i u praksi je pokazano da smanjenje genetičke varijabilnosti ograničava mogućnost odgovora jedinke na selektivne pritiske, koji predstavljaju posledicu fragmentacije i nastalih promena u okruženju, kao i na uobičajenu varijabilnost koja je prisutna u okruženju. S obzirom da se genetičko stanje populacije direktno odražava na njenu demografsku strukturu, proučavanje neutralne genetičke varijabilnosti fragmentisanih populacija može značajno doprineti boljem praćenju takvih populacija (SAMBATTI ET AL. 2008). U skladu sa navedenim, pri određivanju MVP tekunica su uzeti u obzir i efekat inbridinga i očuvanost genetičkog diverziteta ispitivane hipotetičke populacije.

U slučaju evropske tekunice, osnovni scenario je pokazao da je 300 jedinki dovoljno da se obezbedi vijabilnost i istovremeno očuva genetički diverzitet izolovane populacije kada su uslovi u spoljašnjem okruženju optimalni. GEDEON (2011) navodi da je za uspešnu reintrodukciju evropske tekunice potrebno translocirati oko 200 jedinki. Međutim, da bi kolonija uspeła da se i trajno održi, neophodno je da veličina populacije iznosi između 200 i 500 jedinki (GEDEON, 2011). Ako se uzme u obzir da je prosečna gustina populacija u Mađarskoj 60 jedinki/ha, to bi značilo da je neophodno da veličina staništa iznosi najmanje 5 ha. Navedeni rezultati su dobijeni na osnovu dugogodišnjih terenskih istraživanja, kao i većeg broja uspešno sprovedenih translokacija i

reintrodukcija evropske tekunice na teritoriji Mađarske, ali se očigledno dosta dobro poklapaju sa rezultatima dobijenim analizom vijabilnosti u Vortex-u.

Iako postoji dosta studija koje su se bavile određivanjem minimalne vijabilne veličine populacije kod sisara, one su uglavnom rađene za krupnije vrste, dok su podaci za glodare dosta oskudni. TRAILL ET AL. (2007) u svojoj studiji navode podatke za 3 predstavnika iz porodice veverica (Sciuridae): dve vrste mrmota i jednu vrstu veverice. Kod žutogrudog mrmota (*Marmota flaviventris*) MVP je procenjena na 13277 jedinki, dok su kod alpskog mrmota (*Marmota marmota*) i lisičije veverice (*Sciurus niger*) vrednosti MVP bile znatno niže i iznosile 84, odnosno 285 jedinki, što je znatno bliže vrednostima dobijenim za evropsku tekunicu. Kada su tekunice u pitanju, pronađena je svega jedna studija koja se nije direktno bavila određivanjem MVP, već je ispitivala verovatnoću opstanka male planinske populacije zlatne tekunice (*Callospermophilus lateralis*) (HOSTETLER ET AL. 2012). HOSTETLER ET AL. (2012) su pratili jednu populaciju zlatne tekunice tokom perioda od 18 godina i zabeležili velike fluktuacije u brojnosti, pri čemu je najniža zabeležena brojnost iznosila svega 24, a najviša 150 jedinki. Analiza vijabilnosti je pokazala da je verovatnoća nestanka posmatrane populacije u narednih 50 godina bliska vrednosti 1, odnosno da će populacija iščeznuti ukoliko ne bude postojao protok gena. Ključni faktori koji su sveli na minimum verovatnoću nestanka ovako male populacije bili su gustina populacije i imigracija. Ono što je zanimljivo je da su analize pokazale da je i veoma mali protok gena (u proseku 1.7 adultnih ženki po godini) bio dovoljan da obezbedi opstanak čak i ovako male populacije, ukazujući time na značaj protoka gena, kao i postojanja metapopulacione strukture za opstanak malih i fragmentisanih populacija. Na osnovu dobijenih rezultata moglo bi se pretpostaviti da je za uspostavljanje minimalne vijabilne populacije, u slučaju zlatne tekunice, dovoljan i manji broj jedinki nego što je to slučaj sa evropskom tekunicom. Međutim, treba napomenuti da u okviru navedene studije (HOSTETLER ET AL. 2012) nije razmatran efekat inbridinga, a kao gornji prag verovatnoće pseudo-istrebljanja uzeta je vrednost od 5 % (za evropsku tekunicu je kao prag uzeta verovatnoća od 1 %), što je svakako uticalo na to da populacija sa ovako malom brojnošću može da opstane uz postojanje minimalnog protoka gena.

Dok je u osnovnom scenariju genetički diverzitet bio taj koji je određivao veličinu MVP, u izmenjenim uslovima i sa povećavanjem sredinske varijabilnosti verovatnoća pseudo-istrebljanja postaje glavni faktor koji utiče na veličinu vijabilne populacije.

Studija koju su uradili HOSTETLER ET AL. 2012) takođe ukazuje na značajno povećanu verovatnoću pseudo-istrebljenja u slučaju kada su sredinska i demografska varijabilnost uključene u simulacije. Verovatnoća pseudo-istrebljenja se značajno povećavala, a samim time i veličina MVP, kada je u simulacije uključen inbriding. Pri uključivanju inbridinga u simulacije, MVP posmatrana u odnosu na verovatnoću pseudo-istrebljenja se u proseku povećala za 84 %, dok je MVP posmatrana u odnosu na očekivanu heterozigotnost uticala sa svega 4.5 % na povećanje MVP.

Pošto uslovi u spoljašnjem okruženju variraju od godine do godine i mogu značajno odstupati od uslova koje predviđa osnovni scenario, uticaj koji sredinski faktori imaju na preživljavanje populacije je testiran dvojako: direktno - smanjivanjem reproduktivnog potencijala ženki i povećanjem stopa smtnosti, i indirektno – povećavanjem standardne devijacije za pomenute parametre životne istorije. S obzirom da je nemoguće uspostaviti vijabilnu populaciju ukoliko je populacioni rast negativan, vrednosti veličine okota i stopa smrtnosti su menjane tako da populacija uspeva da održi stalni pozitivan rast. Analize su pokazale da do najvećeg pritiska na populaciju dovodi povećanje stopa smrtnosti kod juvenilnih jedinki, pri čemu povećanje od samo 10 % povećava veličinu MVP gotovo deset puta, odnosno sa 300 na čak 2900 jedinki. Ukoliko se varijabilnost u okruženju poveća sa 5 % (osnovni scenario) na 20 %, za MVP bi bilo neophodno više od 10000 jedinki. Kada je kapacitet staništa u pitanju, rezultati su pokazali da oscilacije u kapacitetu staništa ne bi smele da budu veće od 20 % jer se u suprotnom verovatnoća pseudo-istrebljenja drastično povećava, pa bi bila potrebna veličina populacije od preko 10000 jedinki kako bi se verovatnoća njenog nestanka svela na prihvatljiv minimum. Takođe, kada su u simulacije uključeni efekti sredinske i demografske varjabilnosti, kao i efekti katastrofa, MVP za veliki broj različitih taksona iznosio je više od hiljadu ili čak nekoliko hiljada jedinki (REED ET AL. 2003; BROOK ET AL. 2006; TRAILL ET AL. 2007; 2010)

S obzirom da je brojnost postojećih populacija u Srbiji znatno niža od brojnosti koja bi bila neophodna za obezbeđivanje MVP u slučaju pojave velikih fluktuacija sredinskih parametara, buduće mere zaštite bi morale da budu usmerene na revitalizaciju i stvaranje što optimalnijih uslova za opstanak tekunica, proširivanje postojećih staništa tamo gde za to postoje uslovi i, što je najvažnije, kontinuirano održavanje staništa. Na taj način bi se negativan uticaj gubitka staništa na veličinu populacije sveo na najmanju moguću meru. Pored navedenog, moralo bi da se radi i na uspostavljanju koridora između staništa, kako

bi se omogućio adekvatan protok gena. Tamo gde to nije moguće, trebalo bi razmotriti mogućnost povremenih translokacija životinja.

Analiza senzitivnosti je pokazala da na stohastički rast populacije, a samim time i na MVP evropske tekunice, najveći uticaj imaju promene u stopama smrtnosti za sve uzrasne kategorije istovremeno, promene u stopama smrtnosti za juvenilne jedinke i odnos polova. Ovo su parametri koji istovremeno imaju i najveći uticaj na očuvanje genetičkog diverziteta populacije. Procenat ženki koje učestvuju u razmnožavanju, prosečan broj mladunaca po okotu i smrtnost kod adultnih jedinki imaju umereni značaj, dok maksimalna dužina života ima minimalni uticaj na populacioni rast. U slučaju zlatne tekunice, utvrđeno je da je stohastička stopa rasta najosetljivija pre svega na stope preživljavanja adultnih jedinki, pa zatim na preživljavanje juvenilnih jedinki, veličinu okota i verovatnoću reprodukcije (HOSTETLER ET AL. 2012). Kako bi se sprovele adekvatne mere upravljanja i zaštite, a populacije tekunica uspešno sačuvale, neophodno je sprovesti kontinuirani monitoring što većeg broja populacija, pri čemu bi se posebna pažnja posvetila praćenju dinamike populacije, kao i određivanju demografskih parametara za koje se pokazalo da imaju najveći uticaj na populacioni rast.

S obzirom na činjenicu da su fluktuacije u veličini populacije u najvećem stepenu uzrokovane uslovima na staništu koji mogu značajno varirati, kako tokom godina tako i od staništa do staništa, neophodna je obazrivost prilikom određivanja veličine staništa koja je dovoljna da podrži MVP. Maksimalno zabeležene gustine populacija na Fruškoj gori (88 i 112 jedinki/ha) su bile znatno više u odnosu na maksimalno zabeleženu gustinu zabeleženu u Deliblatskoj peščari (68 jedinki/ha), što može biti pokazatelj da kvalitet staništa može značajno uticati na gustinu populacije. U idealnim uslovima, najefikasnije bi bilo uraditi procenu za svaki pojedinačni slučaj, tj. za svako stanište i populaciju ponaosob. Međutim, kako uslovi za tako nešto obično ne postoje, a i neophodan je duži niz godina kako bi se došlo do adekvatnih podataka o populacionoj dinamici, jedno od rešenja bi mogla da bude kategorizacija staništa, gde bi se ista grupisala prema svom kvalitetu. Glavni parametri na osnovu kojih bi se vršila procena kvaliteta staništa bili bi: opasnost od promene nivoa podzemnih voda, nagib terena, kvalitativni i kvantitativni sastav vegetacije. Za svaku od kategorija staništa bi se onda procenile optimalne vrednosti gustina populacije i na osnovu toga određivala veličina staništa koja je neophodna da podrži MVP. Takođe, u obzir treba uzeti i činjenicu da svako pojedinačno stanište nije uniformnog sastava, tj. da će neki delovi staništa biti povoljniji, a neki manje povoljni pa

će samim time populaciji biti neophodno veće stanište. Ono što svakako ne treba zaboraviti, a može imati veliki uticaj na staništa male veličine, jeste i efekat ivice.

Na osnovu dobijenih vrednosti za gustine populacija na lokalitetima Krušedol i Neradin, preračunata je prosečna gustina koja je iznosila 40 jedinki/ha. Kada je vrednost za MVP (300 jedinki) podeljena sa srednjom vrednošću za gustinu, dobijeno je da staništa na lesnim padinama Fruške gore ne bi smela da budu manja od 7.5 ha. Za lokalitet Banatska Palanka je utvrđeno da je prosečna gustina populacije 36.1 jedinki/ha, što znači da je na području Delibatske peščare neophodno da stanište bude minimalne veličine od bar 8.3 ha.

Sa povećanjem varijabilnosti u okruženju, bilo bi neophodno značajno više jedinki kako bi se smanjila verovatnoća nestanka usled velikih oscilacija ($MVP=2900$). Ovakvi rezultati ukazuju na to da je neophodno raditi na poboljšanju kvaliteta i veličine staništa, čime bi se efekti koje povećana varijabilnost u okruženju ima na populaciju smanjili, a istovremeno bi se kapacitet staništa povećao. Da bi se stvorili optimalni uslovi na staništu, neophodno je prethodno utvrditi koji su to faktori ugrožavanja i na osnovu njih odrediti prioritetne mere koje je neophodno preduzeti u budućnosti kako bi se postojeće populacije tekunica sačuvale.

Faktori ugrožavanja populacija tekunica na teritoriji Srbije

Gubitak i fragmentacija staništa (pretvaranje u obradive površine ili korišćenje zemljišta u druge namene, izgradnja putne infrastrukture i sl.) predstavljaju osnovne negativne faktore koji su doveli do dramatičnog pada brojnosti populacija tekunica širom njenog areala (HOFFMANN ET AL. 2003B; AMBROS 2008; HULOVÁ & SEDLÁČEK 2008; KOSHEV 2008; MATĚJŮ ET AL. 2010; JANÁK ET AL. 2013; BALTAG ET AL. 2014), tako i u Srbiji (RUŽIĆ 1979; ĆIROVIĆ & ĆOSIĆ, 2011). Preostale populacije su postale izolovane, a protok gena u najvećem broju slučajeva onemogućen. U takvim uslovima populacije su daleko podložnije slučajnim događajima u okruženju koji mogu dovesti do njihovog nestanka. Pored toga, velikom delu preostalih staništa pretila opasnost od sukcesije usled nedovoljne ili pak totalnog odsustva ispaše koja je neophodna kako bi se planinski i stepski pašnjaci održali i kako bi se obezbedili adekvatni uslovi za opstanak stepskih vrsta, uključujući i tekunicu.

Obilne padavine i poplave, kao i promene u nivou podzemnih voda su značajni negativni faktori koji mogu uticati na populacije tekunica. Kao jedan od glavnih faktora nestanka populacija tekunica u Bugarskoj i Rumuniji navode se upravo poplave (KOSHEV 2008; BALTAG ET AL. 2014). JANÁK ET AL. (2013) navode da ekstremni događaji, kao što je velika količina kiše u kratkom vremenskom periodu, mogu dovesti do smrti velikog broja životinja, pa čak i uništiti cele populacije. Naši podaci sa terena to i potvrđuju. Primera radi, na lokalitetu Lok je prilikom prikupljanja uzoraka 2007. godine registrovana velika gustina populacije, da bi već 2008. godine, usled obilnih prolećnih padavina, populacija gotovo iščezla sa pašnjaka (preostalo je svega par jedinki), a 2010. godine životinje nisu uopšte ni registrovane. U međuvremenu se populacija oporavila zahvaljujući populaciji koja se očuvala na obližnjem bregu, odakle su životinje uspele da rekolonizuju pašnjak, tako da su tekunice tokom poslednjih posmatranja ponovo bile prisutne na jednom delu pašnjaka, ali ne u tako velikoj gustini kao što je zabeleženo 2007. godine. Obilne padavine, koje su zabeležene tokom maja 2014. godine, dramatično su se odrazile na brojnost nekoliko velikih populacija sa područja Deliblatske peščare i neposredne okoline.

Kao jedan od faktora ugrožavanja na nekim delovima areala navodi se i trovanje tekunica (JANÁK ET AL. 2013; SCHMELZER & HERZIG-STRASCHIL 2014). Anketiranjem lokalnog stanovništva došlo se do saznanja da se tekunice truju i na području Vojvodine,

jer navodno “prave štetu” na okolnim poljoprivrednim kulturama i to pre svega u prolećnom periodu (najčešće se kao primer navode mladice kukuruza i suncokreta koje rado jedu). Pored toga, poljoprivredno zemljište koje najčešće okružuje staništa sa tekunicama se u najvećem broju slučajeva tretira različitim pesticidima, često na način koji nije u saglasnosti sa propisima, što opet može dovesti do direktnog ili indirektnog trovanja tekunica. Sve češći slučajevi upotrebe nedozvoljenih preparata, primena pesticida na način koji nije bezbedan, kao i slučajevi uginuća životinja, pre svega sisara i ptica, samo potvrđuju gore navedene pretpostavke.

S obzirom na relativno visoke brojnosti predatorskih vrsta, pre svega lisica i jazavaca, čija se brojnost značajno povećala uvođenjem peroralne vakcinacije, verovatno da postoji i povećan predatorski pritisak na populacije tekunica. Takođe ne treba zanemariti ni uticaj brojnih vrsta ptica grabljivica. Pored prirodnih neprijatelja, naročito u Vojvodini, veliki problem predstavljaju ovčarski psi kojih obično ima 4-5 po stadu, pri čemu na većim pašnjacima može da bude i po nekoliko stada ovaca ili krda krava. Pored ovčarskih pasa, u blizini naselja čest problem mogu da predstavljaju psi i mačke lualice. Domaći psi i mačke, ali i vrane, predstavljaju veliki problem za populacije tekunica i u nekim drugim delovima areala (MILLES ET AL. 1999A). Kada je brojnost populacije tekunice velika i populacija stabilna, predatorski pritisak nema veliki uticaj, ali, ukoliko je na nekom staništu prisutna mala gustina i brojnost populacije, svaki dodatni pritisak na takvu ranjivu populaciju može imati fatalan ishod.

Iako uticaj klimatskih promena još uvek nema snažnu naučnu potporu, jer nisu sprovedena opsežna naučna istraživanja (JANÁK ET AL. 2013), evidentno je da sve učestalije pojave obilnih padavina, sušnih leta, dugih i jakih, ali i blagih zima doprinose sve većoj varijabilnosti u okruženju i samim time većem pritisku na populacije, koje u takvim uslovima sve teže mogu da održe stabilnu populacionu dinamiku. Pored već pomenutog problema obilnih poplava, čija se učestalost usled klimatskih promena povećala, veliku opasnost za tekunice u zimskom prirodu može predstavljati i povećana količina padavina u kombinaciji sa umerenim zimskim temperaturama, što može uticati na podizanje nivoa podzemnih voda i do davljenja tekunica koje su u hibernaciji (JANÁK ET AL. 2013). NÉMETH (2010) navodi da više zimske temperature mogu imati negativan uticaj na preživljavanje tekunica, jer pri višim temperaturama faze buđenja mogu postati učestalije. S obzirom da je buđenje energetski veoma zahtevan proces i da se u ovim

fazama troši dosta energije, povećava se opasnost da životinja usled prevlikog gubitka energije ne uspe da preživi period hibernacije.

Invazivne (*Ailantus altissima*, *Asclepias syriaca*) i korovske vrste (*Sambucus edulus*) koje se javljaju na narušenim staništima su takođe sve prisutniji problem, koji je već registrovan na nekim od staništa u Vojvodini. Invazivne vrste menjaju strukturu staništa, ubrzavaju sukcesiju, nejestive su ili otrovne i time značajno doprinose ubrzanom narušavanju kvaliteta staništa.

Još jedan od faktora ugrožavanja koji svakako treba pomenuti, a koji je registrovan za područje Deliblatske peščare, kao i za planinska područja na istoku i jugoistoku Srbije, jesu namerno i slučajno izazvani požari. Potencijalna opasnost za populacije tekunica mogu predstavljati i različiti paraziti i bolesti koje oni izazivaju (MATĚJŮ ET AL. 2010; JANÁK ET AL. 2013), ali trenutno nema podataka na osnovu kojih bi se moglo proceniti koliko i u kom stepenu ovaj faktor utiče na ugroženost populacija tekunice u Srbiji.

Konzervacioni značaj dobijenih rezultata

Rezultati dobijeni u ovim istraživanjima nedvosmisleno ukazuju da je genetički diverzitet populacija sa teritorije Vojvodine značajno viši u odnosu na one sa periferije areala, ali da je sličan genetičkom diverzitetu panonskih populacija iz okruženja koje zauzimaju centralni položaj u okviru severne filogeografske grupe (RİČANOVÁ ET AL. 2011; SLIMEN ET AL. 2012). Međutim, kod svih analiziranih populacija iz Vojvodine registrovan je značajan stepen genetičke diferencijacije, što ukazuje na njihovu međusobnu izolovanost i odsustvo protoka gena. Gubitak pogodnih staništa i stvaranje barijera koje onemogućavaju migraciju jedinki i protok gena između populacija trenutno predstavljaju najznačajnije faktore koji utiču na opstanak populacija tekunica (MATĚJŮ ET AL. 2010). Usled snažnog dejstva genetičkog drifta i inbridinga, kod fragmentisanih populacija dolazi do veoma brzog gubitka genetičke varijabilnosti neutralnih i adaptivnih lokusa (HULOVÁ & SEDLÁČEK 2008; RİČANOVÁ ET AL. 2011). Da bi se neutralizovali nevedeni efekti neophodno je uspostavljanje koridora između populacija na teritoriji Vojvodine (gde god za to postoje mogućnosti), što bi omogućilo protok gena i očuvalo postojeći genetički diverzitet. U tom smislu, kod malih jako izolovanih populacija neophodno bi bilo povremeno translociranje odedenog broja jedinki koje bi bile uzete iz najbližih (dovoljno velikih) populacija koje karakteriše stabilna populaciona dinamika.

Analize pokazuju da je genetički diverzitet planinskih populacija sa Stare planine i Vlasine znatno niži u odnosu na populacije iz Vojvodine. Takođe, kod ovih populacija je registrovan i viši stepen genetičke diferencijacije u odnosu na populacije iz Vojvodine. Ove činjenice ukazuju na prioritarnost i urgentnost preduzimanja odgovarajućih mera za očuvanje ovih populacija od sve izvesnijeg nestanka. Činjenica da je veći deo populacija (sada već istorijskih) sa Vasinne i Stare planine u poslednjih nekoliko dekada nestao sa ovih područja, samo potvrđuje potrebu hitnog spovođenja odgovarajućih mera zaštite i očuvanja. Jedna od neophodnih mera bi bilo “osvežavanje” planinskih populacija tekunice dodavanjem jedinki iz susednih vijabilnih populacija. Ta mera je neophodna jer usled velikih distanci ne postoji mogućnost uspostavljanja koridora između ovih i susednih planinskih populacija. Ukoliko se daljim (detaljnijim) analizama utvrdi da u Srbiji ne postoji dovoljno “snažna” planinska populacija koja bi mogla poslužiti kao izvor jedinki za translokacije, životinje za ovu namenu će se morati obezbediti iz susednih bugarskih populacija.

Efekti i primena adekvatnih mera zaštite neke vrste direktno zavise od poznavanja “zdravlja” populacija koje želimo dugoročno da očuvamo. U tom smislu poznavanje genetičkog diverziteta je jedna od najvažnijih informacija. Ona treba da nam da odgovor na pitanje da li je translokacija jedina neophodna mera koju treba primeniti u cilju očuvanja i opstanka izolovanih lokalnih populacija. Takođe, analizom genetičke strukture se može utvrditi u kom stepenu je došlo do diferencijacije između populacija i napraviti odgovarajući izbor populacija iz kojih će se uzeti jedinke za translokaciju. U suprotnom, postoji realna opasnost da dođe do autbriding depresije koja može dovesti i do nestanka populacije koju smo želeli da zaštitimo. Nažalost, takvih negativnih primera je bilo u savremenoj konzervacionoj praksi (ALLENDORF & LUIKART 2007).

Sve je manje povoljnih staništa na kojim bi populacije tekunica mogle da opstanu dugoročno, a njihove površine se konstantno smanjuju, što predstavlja glavni faktor ugrožavanja. Trend smanjivanja povoljnih staništa je posebno bio izražen u drugoj polovini XX veka. Permanentnim antropogenim pritiskom ova staništa su transformisana u poljoprivredne ili urbane prostore (staništa). Dodatno, usled promena u načinu gajenja stoke (prelazak ekstenzivne na intenzivnu proizvodnju) dolazi i do prirodnih sukcesivnih promena (usled nedovoljne ispaše) koje su išle u pravcu obrastanja ovih staništa, prvo žbunastom, a kasnije i dvenastom vegetacijom. Sve ove navedene promene su za rezultati imale smanjivanje povoljnih staništa i sve veću, i veću međusobnu izolovanost populacija tako da metapopulaciona struktura koja je u prošlosti postojala, danas gotovo ne postoji. Gubitnom metapopulacione strukture, male, lokalne, izolovane populacije tekunica su postale veoma osetljive na sve sredinske promene. Izolovanost je za rezultat imala narušavanje populacione stabilnosti koje se ogleda u jako izraženim fluktuacijskim promenama brojnosti i gustina ovih izolovanih populacija (CSONGR 2011; ĆIROVIĆ & ĆOSIĆ 2011). Jedan od rizika velikih fluktuacija se ogleda u tome što one mogu dovesti do dramatičnog pada brojnosti populacije, koji dalje može dovesti do smanjenja genetičkog diverziteta (usled efekta uskog grla – bottleneck effect) i vijabilnosti, i time u značajnom meri ubrzati njen nestanak. Suštinski, fluktuacije mogu uzrokovati nestanak populacije ukoliko njena brojnost padne ispod određene kritične vrednosti. Tu činjenicu potvrđuju i rezultati jedanaestogodišnjeg monitoring tri populacije sa teritorije Vojvodine. Kod dve, od tri posmatrane populacije, (Krušedol i Banatska Palanka) uočene su velike fluktuacije, ali i dramatičan pad brojnosti tokom poslednjih nekoliko godina. Identifikacija glavnih faktora, koji dovode do velikih promena brojnosti populacije i minimiziranje njihovih

efekata predstavlja jedan od glavnih ciljeva daljeg monitoringa. Takođe praćenje demografskih promena unutar populacija predstavlja jedan od budućih konzervacionih izazova.

Kao najprioritetnija mera koju treba preduzeti u cilju stabilizacije snažno fluktuirajućih brojnosti jeste revitalizacija staništa, koja za cilj treba da ima očuvanje trenutne veličine, a kasnije i povećavanje površina pod staništima povoljnim za život i opstanak tekunice. Intenzivniji razvoj stočarstva kako u Vojvodini tako i na jugoistoku Srbije predstavlja najbolji konzervacioni alat u revitalizaciji ovih staništa. Da bi se to postiglo, neophodno je pokretanje odgovarajućih podsticajnih programa kojim bi se stimulisalo lokalno stanovništvo za očuvanje i dalji razvoj stočarstva. To bi u suštini trebalo da predstavlja jedinstveni program koji bi sa jedne strane imao konzervaciono-ekološki cilj (opstanak tekunice kao ugrožene vrste), a sa druge ekonomski razvoj lokalne zajednice kroz podizanje nivoa stočarske proizvodnje. Tako koncipiranim povratkom (ili opstankom) stočarenja bi se zaustavila dalja sukcesija livadskih staništa i otvorila mogućnost za revitalizaciju već obraslih obodnih površina.

Jedan od značajnih parametara u planiranju programa zaštite populacija neke ugrožene vrste je utvrđivanje minimalne vijabilne veličine populacije (MVP), kao i minimalne veličine staništa neophodne da podrži populaciju koja je sposobna da opstane i očuva svoj genetički diverzitet tokom dužeg vremenskog perioda. Analiza vijabilnosti koja je prikazana u ovoj doktorskoj disertaciji predstavlja prvu studiju ovog tipa koja je urađena na evropskoj tekunici do sada. Dobijeni rezultati jasno ukazuju da su u stabilnom okruženju genetički diverzitet i inbriding glavni faktori koji utiču na veličinu MVP tekunice. Međutim ukoliko dođe do velikih oscilacija u vrednostima sredinskih parametara, verovatnoća iščezavanja populacije postaje glavni faktor koji doprinosi značajnom povećanju veličine MVP. S obzirom da je brojnost postojećih populacija u Srbiji znatno niža od brojnosti koja bi bila neophodna za obezbeđivanje MVP, hitna revitalizacija postojećih staništa u cilju povećavanja njihovih površina i kvaliteta je najbolja mera za minimizaciju rizika nestanka usled sredinskih promena koje dovode do pada brojnosti tokom fluktuacijskih promena. Ista mera bi dala pozitivne efekte u očuvanju genetičkog diverziteta i eliminaciji rizika od inbridinga.

Očuvanje tekunice na našim prostorima nema samo nacionalni značaj. Naime, među populacijama od najvećeg konzervacionog značaja za očuvanje evropske tekunice su upravo populacije sa područja Bugarske i Srbije, tj. sa prostora koji je u više navrata u

prošlosti služio kao refugijum iz kog se vrsta tokom povoljnih klimatskih uslova širila ka Srednjoj i Centralnoj Evropi (RĀCANOVÁ ET AL. 2013). Samim time, imamo veliku obavezu očuvanja vijabilnih populacija tekunice uz minimalni gubitak postojećeg genetičkog diverziteta.

Zaključci

- Genetički diverzitet populacija iz Vojvodine je značajno viši u odnosu na populacije iz Češke koje se nalaze na periferiji areala, ali i značajno niži u odnosu na populacije iz Bugarske kod kojih je zabeležen najviši genetički diverzitet u okviru areala tekunice.

- Nema velikih razlika u genetičkom diverzitetu između populacija iz Vojvodine i populacija iz Mađarske koje zauzimaju centralno mesto u severnom delu areala i kod kojih bi se, na osnovu centralno-periferne hipoteze o smanjenju genetičkog diverziteta (eng. *hypothesis of central-marginal decrease of genetic diversity*), očekivalo da imaju veći genetički diverzitet.

- Genetički diverzitet populacija tekunice iz Vojvodine je značajno viši u odnosu na genetički diverzitet planinskih populacija sa istoka i jugoistoka Srbije, što najverovatnije predstavlja posledicu znatno dužeg trajanja izolovanosti planinskih populacija u odnosu na populacije iz Vojvodine čija je izolovanost novijeg datuma i predstavlja posledicu antropogeno izazvane fragmentacije staništa.

- Značajno smanjenje efektivne veličine populacija usled prolaska kroz usko grlo nije registrovano ni kod jedne od ispitivanih populacija.

- Sve vrednosti F_{ST} indeksa su pokazale značajan stepen međupopulacione diferenciranosti kako na lokalnom, tako i na regionalnom nivou, što jasno ukazuje da je protok gena među današnjim fragmentisanim populacijama sveden na minimum ili, što je verovatnije, da je potpuno onemogućen.

- Ispitivane populacije iz Srbije se po srodnosti najadekvatnije grupišu u četiri klastera. Populacije iz Srema su jasno odvojene i čine jedan klaster, drugi klaster čine populacije Šušara i Banatska Palanka sa juga Banata i Lok koja se nalazi na jugu Bačke. Treći klaster čine populacija Mokrin, koja se nalazi na severu Banata, i Tomislavci, koji se nalaze na severu Bačke, dok četvrti klaster čine dve planinske populacije sa jugoistoka Srbije.

- Klaster analiza, kao i analiza molekularne varijanse (AMOVA), su potvrdile da Dunav predstavlja značajnu barijeru za protok gena, dok je uticaj Tise kao barijere bio zanemarljiv.

- Veoma stari haplotipovi koji su pronađeni kod populacija iz Srbije i Bugarske, ukazuju da su ove teritorije u prošlosti, tokom nepovoljnih vremenskih perioda

(najverovatnije za vreme perioda interglacijacija), predstavljale refugijum za populacije tekunice iz kojeg su one, kada su klimatski uslovi postajali povoljniji, širile svoj areal ka Srednjoj i Centralnoj Evropi. Stoga, zaštita i očuvanje populacija tekunice u Srbiji ima ne samo veliki konzervacioni značaj za očuvanje vrste i stepskih ekosistema na teritoriji Srbije, već i globalni značaj za očuvanje vrste u celini.

- Prosečna gustina populacije na lokalitetu Krušedol u posmatranom periodu iznosila je 22.7 ± 26.0 jedinki/ha (medijana: 12, opseg: 0-88 jedinki/ha), dok je prosečna brojnost populacije na ovom lokalitetu u posmatranom periodu iznosila 477.3 ± 546.2 jedinki/ha (medijana: 252, opseg: 21-1848 jedinki).

- Prosečna gustina populacije na lokalitetu Neradin iznosila je 59.3 ± 30.8 jedinki/ha (medijana: 52, opseg: 20-112), dok je prosečna brojnost bila 1066.9 ± 553.8 jedinki/ha (medijana: 936, opseg 360-2016 jedinki).

- Prosečna gustina populacije na lokalitetu Banatska Palanka u posmatranom periodu iznosila je 34.2 ± 24.8 jedinki/ha (medijana: 38, opseg: 0-68 jedinki/ha). Prosečna brojnost na istom lokalitetu je iznosila 6525.9 ± 4678.9 (medijana: 6840, opseg: 95-12920 jedinki).

- Gustina i brojnost posmatranih populacija tekunice su jako varirale tokom posmatranog perioda od 11 godina i to kako na istom lokalitetu, tako i između lokaliteta, a kretale su se od 0 do 112 jedinki/ha, sa prosečnom vrednošću od 38.7 jedinki/ha.

- Tokom posmatranog perioda, stabilna populaciona dinamika i pozitivan rast populacije registrovan je samo na lokalitetu Neradin, dok su na lokalitetima Krušedol i Banatska Palanka zabeležene velike fluktuacije u gustini, a samim time i brojnosti populacija. Na oba lokaliteta tekunice su iščezle sa eksperimentalne površine, a ukupna brojnost populacija je poslednjih godina dramatično opala.

- Analiza MVP je pokazala da je za opstanak izolovane populacije tekunica, uz očuvanje 90 % genetičkog diverziteta i izbegavanje štetnog efekta inbridinga, neophodno obezbediti prisustvo bar 300 jedinki, posmatrano za period od 50 godina.

- Sa povećanjem varijabilnosti u okruženju veličina MVP se drastično povećava. Ovo ukazuje na potrebu uspostavljanja što optimalnijih uslova na postojećim staništima tekunice, čime bi se smanjile velike fluktuacije u brojnosti izazvane nepovoljnim faktorima i povećala verovatnoća opstanka populacija.

- Promene u stopama smrtnosti za sve uzrasne kategorije istovremeno, promene u stopama smrtnosti za juvenilne jedinke i odnos polova po rođenju su demografski

parametri koji imaju najveći uticaj na populacioni rast i očuvanje genetičkog diverziteta, te je njihovo praćenje neophodno kako bi se predvideo budući populacioni trend populacije koja se štiti. Procenat ženki koje učestvuju u razmnožavanju, prosečan broj mladunaca po okotu i smrtnost adultnih jedinki imaju umereni značaj za rast populacije, dok je uticaj ovih parametara na genetički diverzitet zanemarljiv.

- Najznačajniji registrovani faktori ugrožavanja populacija tekunice na teritoriji Srbije su: fragmentacija i gubitak staništa, zarastanje i sukcesija nekadašnjih staništa usled odsustva ili nedovoljno intenzivne ispaše, obilne padavine, trovanje, povećan predatorski pritisak u malim populacijama i klimatske promene.

- Dobijeni rezultati predstavljaju dobru konzervacionu osnovu i daju smernice za aktivan pristup zaštiti i očuvanju tekunice u Srbiji, izradu akcionog i plana upravljanja populacijama tekunice u Srbiji,, kao i osnovu za dalja fundamentalno-ekološka i konzervaciono-biološka istraživanja ove krajnje ugrožene vrste.

Literatura

- Akçakaya HR (2000) Population viability analyses with demographically and spatially structured models. *Ecological Bulletin*, 48, 23–38.
- Allendorf FW, Ryman N (2002) The role of genetics in population viability analysis. U: Population Viability Analysis (eds. Beissinger B, McCullough DR), pp. 50-85. The University of Chicago Press, Chicago & London
- Allendorf FW, Luikart G (2007) Conservation and the Genetics of Populations. Blackwell Publishing, Oxford.
- Ambros M (2008) Current knowledge on the distribution of the European ground squirrel (*Spermophilus citellus*) in Slovakia in 1996-2008. *Lynx*, 39, 219-233. (na slovačkom sa sažetkom na engleskom)
- Antolović J, Frković A, Grubešić M, Holcer D, Vuković M, Flajšman E, Grgurev M, Hamidović D, Pavlinić I, Tvrtković N (2006) Crvena knjiga sisavaca Hrvatske. Ministarstvo kulture, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb
- Aschauer A, Hoffmann IE, Millesi E (2006) Endocrine profiles and reproductive output in European ground squirrels after unilateral ovariectomy. *Animal Reproduction Science*, 92, 392–400.
- Baláž I, Zalubilová L, Ambros M (2006) Structure of Ground squirrel (*Spermophilus citellus*) population at M. R. Štefánik airport in Bratislava. 1st European Ground Squirrel Meeting, Felstárkány, Hungary. Book of Abstracts, 17.
- Baltag ŞE, Zaharia G, Fasolă L, Ion C (2014) European ground squirrel (Mammalia, Rodentia) population from Eastern Romania: density, distribution and threats. *European Scientific Journal*, 94-101
- Barnes BM, Kretzmann M, Zucker I, Licht P (1988) Plasma androgen and gonadotropin levels during hibernation and testicular maturation in golden-mantled ground squirrels. *Biology of Reproduction*, 35, 1289-1297.

- Beissinger SR, Westphal MI (1998) On the use of demographic models of population viability in endangered species management. *The Journal of Wildlife Management*, 62, 821-841.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F (1996–2004) GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Montpellier: Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171, Université de Montpellier II, Montpellier
- Bell KC, Matocq MD (2011) Regional genetic subdivision in the Mohave ground squirrel: evidence of historic isolation and ongoing connectivity in a Mojave Desert endemic. *Animal Conservation*, 14, 371-381.
- Bennett AF, Saunders DA (2010) Habitat fragmentation and landscape change. In: Conservation Biology for All (eds. Sodhi NS, Ehrlich PR), pp 88-106. Oxford University Press, New York
- Beron P (1974) Catalogue des Acariens parasites et commensaux des mammifères en Bulgarie. Bulletin de L'Institut de Zoologie et Musée, Académie Bulgare des Science, 39, 163-194 (na francuskom sa sažetkom na bugarsom).
- Brook BW, Traill LW, Bradshaw CLA (2006) Minimum viable population sizes and global extinction risk are unrelated. *Ecology Letters*, 9, 375–382.
- Bryja J, Granjon L, Dobigny G, Patzenhauerová H, Konečný A, Duplantier JM, Gauthier P, Colyn M, Durnez L, Lalis A, Nicolas V (2010) Plio-Pleistocene history of West African Sudanian savanna and the phylogeography of the *Praomys daltoni* complex (Rodentia): the environment/geography/genetic interplay. *Molecular Ecology*, 19, 4783-4799.
- Busch JD, Waser PM, DeWoody JA (2007) Recent demographic bottlenecks are not accompanied by a genetic signature in banner-tailed kangaroo rats (*Dipodomys spectabilis*). *Molecular Ecology*, 16, 2450–2462.
- Cepáková E, Hulová Š (2002) Current distribution of the European souslik (*Spermophilus citellus*) in the Czech Republic. *Lynx*, 33, 89–103.

- Chapuis MP, Estoup A (2007) Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, 24, 621-631
- Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and Power Analysis of Two Tests for Detecting Recent Population Bottlenecks From Allele Frequency Data. *Genetics*, 144, 2001-2014.
- Coroiu C, Kryštufek B, Vohralík V, Zagorodnyuk I (2008) *Spermophilus citellus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. Dostupno na www.iucnredlist.org.
- Corander J, Marttinen P, Sirén J, Tang J (2008) Enhanced Bayesian modelling in BAPS software for learning genetic structures of populations. *BMC Bioinformatics*, 9, 539
- Ćirović D, Ćosić N (2011) Vijabilnost populacija tekunice (*Spermophilus citellus* L. 1766) na području Srbije – projektni izveštaj, pp 47. Ministarstvo zaštite životne sredine i prostornog planiranja, Republika Serbia
- Ćosić N, Řičanová S, Bryja J, Penezić A, Ćirović D (2013) Do rivers and human-induced habitat fragmentation affect genetic diversity and population structure of the European ground squirrel at the edge of its Pannonian range? *Conservation Genetics*, 14, 345-354
- Djan M, Obreht D, Vapa Lj (2006) Polymorphism of mtDNA regions in brown hare (*Lepus europaeus*) from Vojvodina (Serbia and Montenegro). *European Journal of Wildlife Research*, 52, 288–291.
- Eckert CG, Samis KE, Loughheed SC (2008) Genetic variation across species' geographic ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology*, 17, 1170-1188.
- European Environmental Agency (2014) European souslik - *Spermophilus citellus* (Linnaeus, 1766). Dostupno na <http://eunis.eea.europa.eu/species/1563>
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567.

- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611–2620.
- Feiler A (1988) Über das ehemalige Zieselvorkommen in der DDR (Rodentia, Sciuridae, *Spermophilus citellus* L. 1766). *Rudolfstädter Naturhistorischen Schriften*, 1, 115–118. (na nemačkom)
- Fortelius M (2011) Neogene of the Old World Database of Fossil Mammals (NOW). University of Helsinki, Helsinki. Distupno na <http://www.helsinki.fi/science/now/>.
- Frankham R (1995) Effective population size/adult population size ratios in wildlife: A review. *Genetics Research*, 66, 95–107.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2002) Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press, Cambridge.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2004) A primer of conservation genetics. Cambridge University Press, New York
- Frankham R, Bradshaw CJA, Brook BW (2014) Genetics in conservation management: Revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. *Biological Conservation*, 170, 56–63.
- Garner A, Rachlow JL, Waits LP (2005) Genetic diversity and population divergence in fragmented habitats: conservation of Idaho ground squirrel. *Conservation Genetics*, 6, 759–774.
- Geiser F (2004) Metabolic rate and body temperature reduction during hibernation and daily torpor. *Annual Review of Physiology*, 66, 239–274.
- Gedeon C (2011) Environmental factors and intrinsic processes affecting habitat use of European ground squirrels (*Spermophilus citellus*): putting science into conservation practice. PhD thesis, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary
- Gedeon CI, Markó G, Németh I, Nyitrai V, Altbäcker V (2010) Nest material selection affects nest insulation quality for the European ground squirrel (*Spermophilus citellus*). *Journal of Mammalogy*: 91, 636–641.

- Gedeon CI, Boross G, Németh A, Altbäcker V (2011) Release site manipulation to favour European ground squirrel *Spermophilus citellus* translocations: translocation and habitat manipulation. *Wildlife Biology*, 17, 97-104.
- Golemansky V, Koshev Y (2009) Systematic and ecological survey on coccidians (Apicomplexa: Eucoccidida) in European ground squirrel (*Spermophilus citellus* L.) (Rodentia: Sciuridae) from Bulgaria. – *Acta Zoologica Bulgarica*, 61, 141-148
- Gondek A, Verduijn M, Wolff K (2006) Polymorphic microsatellite markers for endangered spotted suslik, *Spermophilus suslikus*. *Molecular Ecology*, 6, 359-361.
- Goudet J (2002) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. v 2.9.3.2, Institut d'Ecologie, Laboratoire de Zoologie, Lausanne, Switzerland. Dostupno na <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Grulich I (1960) European ground squirrel *Citellus citellus* L. in Czechoslovakia (Sysel obecný *Citellus citellus* L. v ČSSR). *Práce Brněnské Základny Československé Akademie Věd*, 32, 473-563 (na češkom, sa sažetkom na engleskom).
- Guillot G, Estoup A, Mortier F, Cosson J (2005a) A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*, 170, 1261-1280
- Guillot G, Mortier F, Estoup A (2005b) GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes*, 5, 712-715
- Gündüz İ, Jaarola M, Tez C, Yenyurt C, Polly PD, Searle JB (2007) Multigenic and morphometric differentiation of ground squirrels (*Spermophilus*, Sciuridae, Rodentia) in Turkey, with description of a new species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43, 916–935.
- Hanslik S, Kruckenhauser L (2000) Microsatellite loci for two European sciurid species (*Marmota marmota*, *Spermophilus citellus*). *Molecular Ecology*, 9, 2163- 2165.
- Harrison RG, Bogdanowicz SM, Hoffmann RS, Yensen E, Sherman PW (2003) Phylogeny and evolutionary history of the ground squirrels (Rodentia: Marmotinae). *Journal of Mammalian Evolution*, 10, 249-275.

- Helgen KM, Cole RF, Helgen LE, Wilson DE (2009) Generic Revision in the Holarctic Ground Squirrel Genus *Spermophilus*. *Journal of Mammalogy*, 90, 270–305.
- Herzig-Straschil B (1976) Nahrung und Nahrungserwerb des Ziesels. *Acta Theriologica*, 21, 131–139. (na nemačkom, sa sažetkom na engleskom).
- Hoffmann IE, Millesi E, Huber S, Everts LG, Dittami JP (2003a) Population dynamics of European ground squirrels (*Spermophilus citellus*) in a suburban area. *Journal of Mammalogy*, 84, 619-626.
- Hoffmann IE, Millesi E, Pieta K, Dittami JP (2003b) Anthropogenic effects on the population ecology of European ground squirrels (*Spermophilus citellus*) at the periphery of their geographic range. *Mammalian Biology*, 68, 205-2013.
- Hoffmann IE, Muck E, Millesi E (2004) Why males incur a greater predation risk than females in juvenile European sousliks (*Spermophilus citellus*). *Lutra*, 47, 85–94.
- Hoffmann IE, Turrini T, Brenner M (2008) Do European ground squirrels (*Spermophilus citellus*) in Austria adjust their life history to anthropogenic influence? *Lynx*, 39, 241-250.
- Hostetler JA, Kneip E, Van Vuren DH, Oli MK (2012) Stochastic population dynamics of a montane ground-dwelling squirrel. *PloS one*, 7, e34379.
- Huber S, Millesi E, Walzi M, Dittami J, Arnold W (1999) Reproductive effort and costs of reproduction in female European ground squirrels. *Oecologia*, 121, 19-24.
- Huber S, Hoffmann IE, Millesi E, Dittami JP, Arnold W (2001) Explaining the seasonal decline in litter size in European ground squirrels. *Ecography*, 24, 205-211.
- Hughes JB, Daily GC, Ehrlich PR (1997) The loss of population diversity and why it matters. In: *Nature and human society: the quest for a sustainable world* (eds. Raven PH), pp. 71–83. National Academy Press, Washington.
- Hulová Š, Sedláček F (2008) Population genetic structure of the European ground squirrel in the Czech Republic. *Conservation Genetics*, 9, 615-625.
- Hut RA, Scharff A (1998) Endoscopic observations on tunnel blocking behaviour in the European ground squirrel. *Mammalian Biology*, 63, 377-380.

- IUCN (2008) *Spermophilus citellus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3
- IUCN (2012) IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. Second edition. Gland, Switzerland and Cambridge.
- Janák M, Marhoul P, Matějů J (2013) Action Plan for the Conservation of the European Ground Squirrel *Spermophilus citellus* in the European Union. European Commission.
- Janderková J, Matějů J, Schnitzerová P, Petruš J, Sedláček J, Uhlíková J (2011) Soil characteristics at *Spermophilus citellus* localities in the Czech Republic (Rodentia, Sciuridae). *Lynx*, 42, 99-111.
- Jensen JL, Bohonak AJ, Kelley ST (2005) Isolation by distance, web service. *BMC Genetics*, 6, 13. Dostupno na <http://ibdws.sdsu.edu/>.
- Katona K, Váczi O, Altbäcker V (2002) Topographic distribution and daily activity of the European ground squirrel population in Bugacpuszta, Hungary. *Acta Teriologica*, 47, 45-54.
- Keller FL, Jeffery JK, Arcese P, Beaumont AM, Hochachka MW, Smith NMJ, Bruford WM (2001) Immigration and the ephemerality of a natural population bottleneck: evidence from molecular markers. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 268, 1387–1394.
- Kirschning J, Zachos EF, Cirovic D, Radovic TI, Hmwe SS, Hartl BG (2007) Population Genetic Analysis of Serbian Red Foxes (*Vulpes vulpes*) by Means of Mitochondrial Control Region Sequences. *Biochemical Genetics*, 45, 409-420.
- Kenagy GJ, Sharbaugh SM, Nagy KA (1989) Annual cycle of energy and time expenditure in a golden mantled ground squirrel population. *Oecologia* 78, 269-282.
- Kenagy GJ, Masman D, Sharbaugh SM, Nagy KA (1990) Energy expenditure during lactation in relation to litter size in free-living golden-mantled ground squirrels. *Journal of Animal Ecology*, 59, 73-88.

- Kennis J, Nicolas V, Hulselmans J, Katuala PGB, Wendelen W, Verheyen E, Dudu AM, Leirs H (2011) The impact of the Congo River and its tributaries on the rodent genus *Praomys*: speciation origin or range expansion limit? *Zoological Journal of the Linnean Society*, 163, 983-1002.
- Knežev M (2006) Ekološko istraživanje “Tisa 2005”. Tiski cvet, Novi Sad.
- Kończak J, Kepel A, Wojtaszyn G (2014) Ten years of European ground squirrel reintroduction in Poland. 5th European Ground Squirrel Meeting, Rust, Austria. Book of Abstracts, 19.
- Koósz B, Faragó S, Altbäcker V (2006) What kind of grassland does the European Ground Squirrel (*Spermophilus citellus*) require for feeding. 1st European Ground Squirrel Meeting, Felstárkány, Hungary. Book of Abstracts, 31.
- Koshev Y (2008) Distribution and status of the European ground squirrel (*Spermophilus citellus*) in Bulgaria. *Lynx*, 39, 251-261.
- Koshev Y, Kocheva M (2007) Environmental factors and distribution of European ground squirrel (*Spermophilus citellus*) in Bulgaria. *Ecology. & Safety. International Scientific Publications*, 1, 276-287.
- Kvičerová J, Hypša V (2013) Host-parasite incongruences in rodent *Eimeria* suggest significant role of adaptation rather than cophylogeny in maintenance of host specificity. *PLoS One*, doi: 10.1371/journal.pone.0063601.
- Kryštufek B (1993) European Souseliks (*Spermophilus citellus*, Rodentia, Mammalia) of Macedonia. *Scoplia*, 30, 1-39.
- Kryštufek B (1999) *Spermophilus citellus* (Linnaeus, 1766). U: The Atlas of European Mammals, (eds. Mitchell-Jones AJ, Amori G, Bogdanowicz W, Kryštufek B, Reijnders PJH, Spitzenberger F, Stubbe M, Thissen JBM, Vohralík V, Zima J), pp. 190-191. Academic Press, London.
- Kryštufek B, Bryja J, Bužan EV (2009) Mitochondrial phylogeography of the European ground squirrel, *Spermophilus citellus*, yields evidence on refugia for steppic taxa in the southern Balkans. *Heredity*, 103, 129–135.

- Kryštufek B, Vohralik V (2012) Taxonomic revision of the Palearctic rodents (Rodentia). Sciuridae: Xerinae 1 (*Eutamias* and *Spermophilus*). *Lynx*, 43, 17–111.
- Kurtén B (2007) Pleistocene Mammals of Europe. AldineTransaction, A Division of Transaction Publishers, New Brunswick and London.
- Lacey EA, Wieczorek JR, Tucker P (1997) Male mating behaviour and patterns of sperm precedence in Arctic ground squirrels. *Animal Behaviour*, 53, 767-779.
- Lacy RC (2000) Structure of the Vortex simulation model for population viability analysis. *Ecological Bulletins*, 48, 191-203.
- Lacy RC, Pollak JP (2014) VORTEX: A stochastic simulation of the extinction process. Version 10.0. Chicago Zoological Society, Brookfield, Illinois
- Lada H, Nally RM, Taylor AC (2008) Distinguishing past from present gene flow along and across a river: the case of the carnivorous marsupial (*Antechinus flavipes*) on southern Australian floodplains. *Conservation Genetics*, 9, 569-580.
- Lande R (1988) Genetics and demography in biological conservation. *Science* 241, 1455–1460.
- Lehmann T, Hawley WA, Collins FH (1996) An evaluation of evolutionary constraints on microsatellite loci using null alleles. *Genetics*, 144, 1155-1163.
- Lugon-Moulin N, Hausser J (2002) Phylogeographical structure, postglacial recolonization and barriers to gene flow in the distinctive Valais chromosome race of the common shrew (*Sorex araneus*). *Molecular Ecology*, 11, 785–794.
- Luikart G., Cornuet J.M. (1998) Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology*, 12: 228-237
- Maruyama T, Fuerst PA (1985) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck. *Genetics*, 111, 675-689.

- Matějů J (2008) Ecology and space use in a relict population of the European Ground Squirrel (*Spermophilus citellus*) at the north-western edge of its distribution range. *Lynx*, 39, 263-276.
- Matějů J, Nová P, Uhlíková J, Hulová Š, Cepáková E (2008) Distribution of the European Ground Squirrel (*Spermophilus citellus*) in the Czech Republic in 2002-2008. *Lynx* 39, 277-294.
- Matějů J, Hulová Š, Nová P, Cepáková E, Marhoul P, Uhlíková J (2010) Action plan for the European Ground Squirrel (*Spermophilus citellus*) in the Czech Republic. Charles University and Agency for Nature and Landscape Protection of the Czech Republic, Prague.
- Matějů J, Šášek J, Vojta J, Poláková S (2011) Vegetation of *Spermophilus citellus* localities in the Czech Republic (Rodentia, Sciuridae). *Lynx*, 42, 133-143.
- May B, Gavin A, Sherman W, Korves M (1997) Characterization of microsatellite loci in the Northern Idaho ground squirrel *Spermophilus brunneus brunneus*. *Molecular Ecology*, 6, 399-400.
- Macdonald D, Barrett P (1993) Mammals, Britain and Europe, Collins.
- Męczyński S. (1985) Czy susel moregowany, *Spermophilus citellus* Linnaeus, 1766, występuje jeszcze w Polsce? *Przegląd Zoologiczny*, 29, 521–526.
- Mihalca AD, Dumitrache MO, Magdaş C, Gherman M, Domşa C, Mircean V, Ghira IV, Pocora V, Ionescu DT, Sikó Barabási S, Cozma V, Sándor AD (2012) Synopsis of the hard ticks (Acari: Ixodidae) of Romania with update on host associations and geographical distribution. *Experimental and Applied Acarology*, 58, 183-206.
- Miller PS, Lacy RS (2005) VORTEX: A stochastic simulation of the extinction process. Version 9.50 user's manual. Conservation Breeding Specialist Group (SSC/IUCN), Apple Valley, MN, USA.
- Millesi E, Huber S, Dittami JP, Hoffmann IE, Daan S (1998) Parameters of mating effort and successes in male European ground squirrels, *Spermophilus citellus*. *Ethology*, 104, 298-313.

- Millesi E, Strijkstra AM, Hoffmann IE, Dittami JP, Daan, S (1999a) Sex and age differences in mass, morphology, and annual cycle in European ground squirrels, *Spermophilus citellus*. *Journal of Mammalogy*, 80, 218-231.
- Millesi E, Huber S, Everts LG, Dittami JP (1999b) Reproductive decisions in female European ground squirrels: factors affecting reproductive output and maternal investment. *Ethology*, 105, 163-175.
- Millesi E, Hoffmann IE (2008) Body mass and timing of the active season in European Ground Squirrels (*Spermophilus citellus*) at high and low population density. *Lynx*, 39, 305-315.
- Mills LS, Smouse PE (1994) Demographic consequences of inbreeding in remnant populations. *American Naturalist*, 144, 412-431.
- Murie JO, Boag DA (1984) The relationship of body weight to overwinter survival in Columbian ground squirrels. *Journal of Mammalogy*, 65, 688-690.
- Németh I (2010) Factors Affecting the Hibernation in European Ground Squirrel *Spermophilus citellus*. Physiological, Behavioral and Ecological Aspects. PhD thesis, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary
- Nikol'skii AA (2006) Temperature conditions of the hibernation of the European suslik (*Spermophilus citellus* L.) in the North-Eastern range. 1st European Ground Squirrel Meeting, Felsőtárkány, Hungary. Book of Abstracts, 40.
- Özkurt Ş, Yiğit N, Çolak E, Sözen M, Gharkheloo MM (2005). Observations on the Ecology, Reproduction and Behavior of *Spermophilus Bennett*, 1835 (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 29, 91-99.
- Pemberton JM, Bancroft DR, Barrerr JA (1995) Nonamplifying alleles at microsatellite loci - A caution for parentage and population studies. *Molecular Ecology*, 4, 249-252.
- Pešev C (1955) Sistematični i biološki izsledvanija varchu *Citellus citellus* L. v Bălgarija. *Izvestija na Zoologičeskija Institut*, 4-5, 277-325 (na bugarskom).

- Petrov MB (1992) Mammals of Yugoslavia, Insectivores and Rodents. Natural History Museum of Belgrade, Belgrade.
- Pimm SL, Raven P (2000) Biodiversity: Extinction by numbers. *Nature*, 403, 843–845
- Pimm SL, Jenkins CN (2010) Extinctions and the practice of preventing them. In: Conservation Biology for all (eds. Sodhi NS, Ehrlich PR), pp 181-198. Oxford University Press, New York
- Popović V (1979) Termogeneza budnih tekunica u toku zime. *Glas srpske akademije nauka*, 4, 215-223.
- Pravilnik o proglašenju i zaštiti strogo zaštićenih i zaštićenih divljih vrsta biljaka, životinja i gljiva. “Službeni glasnik RS”, br. 05/10.
- Pritchard JK, Wen W, Falush D (2010) Documentation for Structure Software, Version 2.3. Dostupno na: <http://pritchardlab.stanford.edu/structure.html>
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945–959.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86, 248–249. Dostupno na <http://genepop.curtin.edu.au/>.
- Reed DH, O’Grady JJ, Brook BW, Ballou JD, Frankham R (2003) Estimates of minimum viable population sizes for vertebrates and factors influencing those estimates. *Biological Conservation*, 113, 23-34.
- Reichman OJ, Smith SC (1990) Burrows and burrowing behavior by mammals. In: Current Mammalogy (Eds. H.H. Genoways). Plenum Press, New York and London.
- Říčanová Š, Bryja J, Cosson JF, Gedeon C, Choleva L, Ambros M, Sedláček F (2011) Depleted genetic variation of the European ground squirrel in Central Europe in both microsatellites and the major histocompatibility complex gene: implications for conservation. *Conservation Genetics*, 12, 1115-1129.

- Řičanová S, Koshev J, Řičan O, Čosić N, Čirović D, Bryja J, Sedláček F (2013) Multilocus phylogeography of the European ground squirrel: cryptic interglacial refugia of continental climate in Europe. *Molecular Ecology*, 22, 4256–4269.
- Rieger JF (1996) Body size, litter size, timing of reproduction, and juvenile survival in the Uinta ground squirrel, *Spermophilus armatus*. *Oecologia*, 107, 463-468.
- Risch TS, Dobson FS, Murie JO (1995) Is mean litter size the most productive? A test in Columbian ground squirrels. *Ecology*, 76, 1643-1654.
- Ružić A (1950) Prilog poznavanju ekologije tekunice *Citellus citellus* L. *Zbornik radova Instituta za ekologiju i biogeografiju, SAN*, 1, 97-140.
- Ružić A (1966) Određivanje uzrasnih kategorija u populaciji tekunice *Citellus citellus* L. *Arhiv bioloških nauka*, 18, 65-70.
- Ružić A (1978) Der order das Europäische Ziesel (*Citellus citellus*). U: Handbuch der Säugetiere Europas (eds. Niethammer J, Krapp F), pp. 122-144. Akademische Verlagsges, Wiesbaden.
- Ružić A (1979) Smanjenje brojnosti populacija tekunice (*Citellus citellus* L.) u Jugoslaviji u periodu od 1947. do 1977. godine. *Ekologija*, 14, 185-194.
- Sambatti JBM, Stahl E, Harrison S (2008) Metapopulation structure and the conservation consequences of population fragmentation. In: Conservation biology: evolution in action (eds. Carroll SP, Fox CW), pp 50-67. Oxford University Press, New York
- Santel W, von Koenigswald W (1998) Preliminary report on the middle Pleistocene small mammal fauna from Yarimburgaz Cave in Turkish Thrace. *Eiszeitalter und Gegenwart*, 48, 162–169.
- Savić IR, Paunović M, Milenković M, Stamenković S (1995) Diverzitet faune sisara (Mammalia) Jugoslavije, sa pregledom vrsta od međunarodnog značaja. U: Biodiverzitet Jugoslavije sa pregledom vrsta od međunarodnog značaja (eds. Stevanović V, Vasić V), pp. 517-554. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu; Ecolibri, Beograd.

- Schmelzer E, Herzig-Straschil B (2014) Conservation programme for the European ground squirrel (*Spermophilus citellus*) in Burgenland. 5th European Ground Squirrel Meeting, Rust, Austria. Book of Abstracts, 23.
- Schwagmeyer PL (1990) Ground squirrel reproductive behavior and mating competition: a comparative perspective. In: Contemporary issues in comparative psychology (eds. Dewsbury DA), pp. 176-196. Sinauer Associates, Sunderland.
- Selonen V, Hanski IK (2004) Young flying squirrel (*Pteromys volans*) dispersing in fragmented forests. *Behavioral Ecology*, 15, 564–571.
- Selonen V, Hanski IK (2004) Young flying squirrels (*Pteromys volans*) dispersing in fragmented forests. *Behavioral Ecology*, 15, 564–571.
- Sherman PW, Morton ML (1984) Demography of Belding's Ground Squirrels. *Ecology*, 65, 1617-1628.
- Sherman PW (1989) Mate guarding as paternity insurance in Idaho ground squirrels. *Nature* 338, 418-420.
- Slimen HB, Gedeon CI, Hoffmann IE, Suchentrunk F (2012) Dwindling genetic diversity in European ground squirrels? *Mammalian Biology*, 77, 13-21.
- Speakman JR (2005) Body size, energy metabolism and lifespan. *Journal of Experimental Biology*, 208, 1717-1730.
- Stefanov V, Georgiev B, Genov T, Chipev N (2001) New data on the species composition and distribution of heminth parasites of *Spermophilus citellus* L. (Rodentia, Sciuridae) in Bulgaria. In: Program and abstracts of Sixth National Conference of Parasitology, Sofia, Bulgaria, Sofia-Moskva Pensoft Publishers.
- Storey JD, Tibshirani R (2003) Statistical significance for genomewide experiments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 9440–9445.
- Strauss A, Hoffmann IE, Millesi E (2007) Effects of nutritional factors on juvenile development in male European ground squirrel (*Spermophilus citellus*). *Mammalian Biology*, 72, 354-363.

- Strijkstra AM, Daan S (1997) Sleep during arousal episodes as a function of prior torpor duration in hibernating European ground squirrel. *Journal of Sleep Research*, 6, 36-43.
- Strijkstra AM (1999) Periodic euthermy during hibernation in the European ground squirrel: causes and consequences. PhD thesis, University of Groningen, Groningen, Netherlands.
- Strijkstra AM, Hut RA, Everts LG, Millesi E (2006) Hibernation body mass loss: effects on hibernation behaviour and reproductive decisions. 1st European Ground Squirrel Meeting, Felstárkány, Hungary. Book of Abstracts, 51.
- Thorington RW.Jr, Hoffmann RS (2005) Family Sciuridae. U Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference (eds. Wilson DE, Reeder DM), pp. 754-818. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Traill LW, Bradshaw CJA, Brook BW (2007) Minimum viable population size: A meta-analysis of 30 years of published estimates. *Biological Conservation*, 139, 159-166.
- Traill LW, Brook BW, Frankham RR, Bradshaw CJA (2010) Pragmatic population viability targets in a rapidly changing world. *Biological Conservation*, 143, 28-34
- Trizio I, Crestanello B, Galbusera P, Wauters LA, Tosi G, Matthysen E, Hauffe HC (2005) Geographical distance and physical barriers shape the genetic structure of Eurasian red squirrels (*Sciurus vulgaris*) in the Italian Alps. *Molecular Ecology*, 14, 469-481.
- Trombulak SC (1991) Maternal influences on juvenile growth rates in Belding's ground squirrels (*Spermophilus beldingi*). *Canadian Journal of Zoology*, 69, 2140-2145.
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4, 535-538. Dostupno na <http://www.microchecker.hull.ac.uk/>
- Van Treuren R (1998) Estimating null allele frequencies at a microsatellite locus in the oystercatcher (*Haematopus ostralegus*). *Molecular Ecology*, 7, 1413-1417.

- Váczí O (2005) The effects of abiotic environmental factors on spatio-temporal activity pattern of the European ground squirrel (*Spermophilus citellus*). PhD thesis, Eötvös Loránd University, Budapest
- Vasić V, Džukić G, Janković D, Simonov N, Petrov B, Savić I (1991) Preliminarna spisak vrsta za Crvenu listu kičmenjaka Srbije. *Zaštita prirode*, 43-44, 121-132.
- Živadinović D, Marjanović M, Anđus RK (2005) Some components of hibernation rhythms. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1048, 60-68.
- Williamson-Natesan EG (2005) Comparison of methods for detecting bottlenecks from microsatellite loci. *Conservation Genetics*, 6, 551–562.

Prilog 1. Učestalosti alela za 11 mikosatelitskih lokusa po populacijama

Populacija		K	N	MR	SM	BP	Šu	L	Mo	To	VI	V	
Lokus	Aleli												
SSU1	209	-	-	-	-	0.019	-	0.024	-	-	-	-	
	210	-	-	-	-	-	-	-	-	0.083	-	-	
	211	0.525	0.810	0.733	0.412	0.389	0.875	0.476	0.833	0.667	-	-	
	213	-	0.071	0.067	0.088	-	-	-	-	-	-	-	
	214	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.409	
	215	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.083	-	
	216	-	-	-	-	-	-	-	0.083	0.167	-	0.227	
	217	0.100	0.095	0.133	0.118	0.593	0.125	0.238	-	-	-	-	
	218	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.300	
	219	0.325	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	220	-	-	-	-	-	-	-	-	0.083	-	0.700	0.273
	221	-	0.024	0.067	0.382	-	-	-	-	-	-	-	
222	0.025	-	-	-	-	-	-	0.262	-	-	-	0.091	
SSU5	134	-	-	-	-	-	0.021	-	-	-	-	-	
	138	-	-	-	-	-	0.021	-	-	-	-	-	
	144	0.175	0.095	0.433	0.265	0.444	0.417	0.167	0.083	0.167	0.500	0.192	
	146	0.300	-	0.067	0.294	-	-	0.024	0.333	0.250	0.450	0.577	
	148	-	-	-	-	-	-	-	0.417	0.583	-	-	
	149	0.400	0.381	0.100	0.147	0.556	0.542	0.810	-	-	-	-	
	151	0.125	0.524	0.400	0.294	-	-	-	0.167	-	0.050	0.231	
SSU7	164	0.775	0.690	0.933	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.750	1.000	1.000	
	166	0.225	0.310	0.067	-	-	-	-	-	0.250	-	-	

SSU8	218	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.200	-
	220	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.400	-
	222	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.077
	223	-	-	-	-	-	-	-	-	0.167	-	-
	224	-	-	-	-	-	-	-	-	0.167	-	-
	225	-	-	-	-	-	-	-	0.167	-	-	0.077
	226	-	-	-	-	0.389	0.125	-	-	-	-	-
	227	-	-	0.033	-	-	-	-	0.250	0.333	-	-
	228	0.725	0.524	0.567	0.412	0.204	0.667	0.381	-	-	-	0.038
	229	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.400	0.538
	231	-	-	0.200	-	-	-	-	0.333	0.250	-	0.115
	232	0.075	0.476	0.067	0.324	0.222	0.104	0.286	-	-	-	-
	233	-	-	0.067	-	0.037	-	-	0.250	0.083	-	-
	234	0.200	-	0.067	0.265	0.148	0.104	0.333	-	-	-	0.038
	235	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.115
SSU13	179	-	-	-	-	-	-	-	0.167	-	-	-
	180	0.825	0.929	0.633	0.618	0.870	0.646	0.857	0.750	0.417	0.900	0.038
	181	-	0.024	-	-	0.130	0.167	-	-	-	0.100	-
	183	0.175	0.024	0.233	0.265	-	0.188	0.143	0.083	0.583	-	0.077
	184	-	-	0.133	-	-	-	-	-	-	-	-
	185	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.077
	186	-	-	-	0.059	-	-	-	-	-	-	-
	188	-	0.024	-	0.059	-	-	-	-	-	-	0.654
189	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.154	0.011	
SSU15	188	-	-	--	-	-	-	-	-	-	0.150	-
	190	0.350	0.286	0.233	0.206	0.020	0.417	0.238	0.083	-	0.350	0.654
	191	0.250	0.190	0.600	0.235	0.260	0.292	0.405	-	0.083	0.400	0.192
	192	-	-	-	-	-	-	-	0.583	0.833	0.100	0.154
	193	0.300	0.524	0.167	0.559	0.540	0.229	0.310	0.333	0.083	-	-

SSU16	194	0.100	-	-	-	0.180	0.063	0.048	-	-	-	-
	193	-	-	-	-	-	-	-	0.750	-	-	-
	194	0.750	0.190	0.333	0.471	0.315	0.458	0.167	-	-	-	0.269
	195	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	210	-	-	-	-	0.019	-	-	-	--	-	-
	218	0.025	-	-	-	-	-	--	-	0.250	0.500	-
	219	0.025	-	-	-	-	0.042	0.595	-	-	-	-
	221	-	-	-	-	-	-	-	-	0.083	0.500	0.731
	222	-	-	-	-	-	-	0.143	-	-	-	--
	224	-	-	-	-	-	-	-	0.250	-	-	-
	225	0.025	0.048	0.033	-	0.667	0.375	0.024	-	-	-	-
	227	0.025	-	-	-	-	-	-	-	0.667	-	-
	228	0.125	0.762	0.633	0.529	-	0.125	0.071	-	-	-	-
IGS1	82	-	0.048	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	85	-	0.024	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	86	-	-	-	-	0.019	-	-	-	-	-	-
	87	0.175	0.238	0.633	0.559	0.056	0.042	0.024	-	0.833	-	-
	88	-	0.071	-	0.088	0.037	-	0.024	-	-	-	-
	89	0.075	0.024	0.067	-	0.074	0.125	0.167	0.250	-	-	-
	90	0.025	0.024	-	0.029	-	-	0.024	-	-	0.100	-
	91	-	-	-	-	0.111	0.417	0.238	-	-	-	-
	92	-	-	-	-	0.019	-	0.048	-	-	-	-
	93	-	0.048	-	0.029	-	-	-	-	-	0.650	-
	94	-	-	-	-	-	-	-	0.750	-	-	-
	95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.250	-
	96	-	-	-	-	-	-	0.048	-	-	-	-
	99	-	-	-	-	-	-	0.024	-	-	-	-
	100	-	0.024	-	0.059	-	-	-	-	-	-	0.077
101	-	-	-	-	0.056	-	0.048	-	0.083	-	-	

	102	0.675	0.500	0.300	0.206	0.630	0.417	0.357	-	0.083	-	-
	103	0.050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.923
	105	-	-	-	0.029	-	-	-	-	-	-	-
IGS11	130	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.850	0.654
	136	-	-	0.067	-	-	-	-	-	-	-	0.308
	137	-	-	0.067	0.029	-	-	-	-	-	-	-
	138	-	-	-	-	0.167	0.083	-	-	-	-	-
	139	-	-	-	-	0.019	-	-	0.167	0.083	-	-
	140	0.150	0.143	0.100	0.088	0.667	0.583	0.375	0.583	0.167	0.100	-
	141	0.050	-	-	-	0.019	0.021	-	-	-	-	-
	143	0.075	0.071	-	0.029	-	-	-	-	-	-	-
	145	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.050	0.038
	146	-	-	-	0.029	0.093	0.229	0.050	-	-	-	-
	148	0.050	0.048	0.033	-	-	-	0.050	-	-	-	-
	149	0.050	0.262	0.100	0.324	0.019	0.021	0.200	0.083	0.583	-	-
	150	0.625	0.476	0.633	0.500	0.019	0.063	0.325	-	0.167	-	-
		152	-	-	-	-	-	-	-	0.167	-	-
M1	164										0.150	0.154
	187	-	-	-	0.059	-	-	-	-	-	-	-
	188	-	0.048	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	194	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.500	0.038
	197	-	-	-	-	-	-	-	-	0.250	0.050	0.154
	198	0.125	0.286	0.233	0.471	0.685	0.604	0.286	0.833	0.083	0.300	0.654
	199	0.025	-	-	0.029	0.074	-	-	-	0.167	-	-
	200	-	-	-	-	0.056	-	-	-	-	-	-
	201	0.850	0.619	0.700	0.353	0.037	0.333	0.405	0.167	0.333	-	-
	202	-	0.048	0.033	0.059	0.037	0.042	0.119	-	0.167	-	-
	203	-	-	0.033	-	0.056	0.021	0.190	-	-	-	-
	205	-	-	-	0.029	0.056	-	-	-	-	-	-

M4	99	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.300	0.417
	101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.100	-
	107	-	0.024	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	110	0.025	0.071	-	0.088	-	-	-	-	0.167		
	111	0.375	0.095	0.033	0.088	0.019	0.021	0.075	-	-	0.050	-
	112	0.100	-	-	0.088	0.037	0.292	0.675	0.917	0.333		
	113	0.125	-	-	0.029	0.019	-	-	-	-	-	-
	114	0.025	0.024	0.433	0.029	0.019	0.083	-	-	0.333	0.100	0.208
	115	0.050	0.167	-	0.176	0.130	-	-	-	-	-	-
	116	0.175	0.476	0.433	0.441	0.463	0.438	0.025	0.083	0.000	0.050	0.375
	117	0.125	0.143	0.067	0.059	0.148	0.042	0.025	-	-	-	-
	118	-	-	0.033	-	0.167	0.125	0.175	-	0.167	0.400	-
120	-	-	-	-	-	-	0.025	-	-	-	-	

BIOGRAFIJA AUTORA

Nada M. Čosić rođena je 05.07.1979. godine u Loznici, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, studijska grupa Ekologija i zaštita životne sredine, upisala je školske 1998/99. Diplomirala je 2007. godine sa diplomskim radom pod nazivom: “Brojnost, gustina i prostorni raspored populacija evropske tekunice (*Spermophilus citellus*, L. 1766) na području Fruške gore”. Iste godine upisuje doktorske akademske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, modul Ekologija životinja sa biogeografijom u okviru studijskog programa Ekologija, biogeografija i zaštita biodiverziteta. Februara 2014. godine izabrana je u zvanje istraživač saradnik na Institutu za biološka istraživanja “Siniša Stanković”.

Dobitnik je ConGen granta (br. 2159) koji dodeljuje Evropska naučna fondacija. 2008. godine je radi stručnog usavršavanja provela dva meseca na Biološkom fakultetu u Češkim Budejovicama i Odeljenju za populacionu biologiju Instituta za biologiju kičmenjaka Češke akademije nauka u Brnu.

Do sada je učestvovala u realizaciji 6 nacionalnih i 2 međunarodna projekta. Koautor je 10 publikacija, od toga jednog poglavlja u monografiji od međunarodnog značaja i 5 publikacija objavljenih u uglednim međunarodnim časopisima. Koautor je i 9 kongresnih saopštenja prezentovanih na naučnim skupovima u zemlji i inostranstvu.

Član je American Society of Mammalogists i Society for Conservation Biology.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а: Нада М. Ћосић

број уписа: ДБ070005

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Вијабилност популација текунице *Spermophilus citellus* (L., 1766) на подручју Србије

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, _____ 13.05.2015. _____

Nađa Hoče

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Нада М. Ћосић

Број уписа ДБ070005

Студијски програм Екологија, биогеографија и заштита биодиверзитета

Наслов рада: **Вијабилност популација текунице *Spermophilus citellus* (L., 1766) на подручју Србије**

Ментор др Душко Ћировић

Потписани Нада М. Ћосић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, _____ 13.05.2015. _____



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Вијабилност популација текунице *Spermophilus citellus* (L., 1766) на подручју Србије

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучила.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, _____ 13.05.2015. _____



1. Ауторство - Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.