

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

На V редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 10.03.2023. године, на основу молбе ментора, проф. др Иване Живић, редовног професора Универзитета у Београду – Биолошки факултет и др Наташе Поповић, вишег научног сарадника, Универзитета у Београду – Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од националног значаја за Републику Србију, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Јелене А. Ђукнић, истраживача сарадника Универзитета у Београду – Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од националног значаја за Републику Србију, под насловом: **„Диверзитет и генетичка варијабилност фамилије Simuliidae (Insecta: Diptera) на подручју Балканског полуострва“**, у саставу:

1. др Катарина Стојановић, доцент, Универзитет у Београду – Биолошки факултет, члан
2. др Владимир Јовановић, Research assistant, Human biology and primate evolution, Department of Biology, Chemistry, Pharmacy, Freie Universität Berlin (Berlin, Germany), члан
3. др Никола Маринковић, научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Институт од националног значаја за Републику Србију, члан

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

### ИЗВЕШТАЈ

#### 1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација **Јелене А. Ђукнић** под називом **„Диверзитет и генетичка варијабилност фамилије Simuliidae (Insecta: Diptera) на подручју Балканског**

**полуострва**“ представља оригинално истраживање и написана је у складу са Упутствима за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду. Пагинирани текст (96 страна) подељен је у седам поглавља: Увод (12 страна), Циљеви (1 страна), Материјал и методе (14 страна), Резултати (32 стране), Дискусија (9 страна), Закључци (1 страна), Литература (8 страна) и Прилози (12 страна). Дисертација садржи 12 табела (од којих се 3 налазе у Прилозима), 48 слика (од којих се 3 налазе у Прилозима) и 137 литературних цитата. Додатно, дисертација садржи и делове који нису обухваћени пагинацијом: насловну страну на српском и енглеском језику, страну са подацима о менторима и члановима комисије, Захвалницу, Сажетак на српском и енглеском језику, Садржај, странице са насловима поглавља (Увод, Циљеви, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Литература, Прилози), Биографију кандидаткиње, Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу.

## 2. АНАЛИЗА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација **Јелене Ђукнић** бави се диверзитетом и генетичком варијабилношћу инсекатске фамилије Simuliidae на подручју Балканског полуострва. Фамилија симулида је скоро космополитски распрострањена и њене врсте се могу наћи у свим типовима текућих вода. Због малих разлика у морфолошким карактерима и велике фенотипске пластичности неких таксона, симулиде су често погрешно идентификоване, што чини и сам опис дистрибуције појединачних врста упитним. Употребом молекуларних метода у таксономским истраживањима симулида показано је да су одређени таксони, који су се некада сматрали једном широко распрострањеном врстом заправо група сестринских врста, што у многоме повећава познати диверзитет симулида. Наведени широко препознати проблеми, као и мозаично познавање дистрибуције и диверзитета симулида на Балканском полуострву подвлаче значај докторске дисертације Јелене Ђукнић у времену глобалних климатских промена и (антропогеног) нарушавања природних екосистема. У оквиру ове дисертације 1) истражена је таксономска структура заједница симулида на 256 локалитета на водотоковима широм Балканског полуострва; 2) анализирани су диверзитет и екологија симулида на нивоу врсте и нивоу групе таксона; и 3) праћени су генетичка варијабилност и филогенетски односи симулида на примеру врста

из подрода *Wilhelmia*, као и две врсте REPTANS групе врста: *Simulium reptans* и *Simulium reptantoides*. За израду филогенетских стабала у оквиру последњег аспекта дисертације коришћене су секвенце изоловане из јединки прикупљених током студије, као и свих до тада доступних секвенци из глобалних генетичких база – GenBank и BOLD. Структура заједнице симулида, диверзитет, дистрибуција и еколошке преференце врста, анализирани су према категоријама надморских висина, типу водотока, хидроекорегиону и сливу коме локалитети на којима су забележене симулиде припадају. За анализе диверзитета коришћени су индекси диверзитета. Еколошке анализе извршене су на два сета података – појединачним таксонима (врстама) и групама таксона (род, подрод и групе врста).

Поглавље „УВОД“ подељено је у седам потпоглавља. У првом потпоглављу под називом „*Опште одлике фамилије Simuliidae*“ кандидаткиња приказује систематски положај симулида у оквиру реда двокрилаца и образлаже њихову свеобухватну распрострањеност. У потпоглављу „*Животни циклус*“ кандидаткиња Јелена Ђукнић наводи да су симулиде холометаболни инсекти који пролазе кроз четири развојна стадијума: јаја, ларве, лутке и адулти. Описује развојне стадијуме, даје опште одлике морфологије ларви и лутака са акцентом на таксономске карактере. У потпоглављу „*Екологија*“ кандидаткиња описује услове средине у којима се симулиде могу наћи. Истиче симулиде као опортунистичке колонизаторе, осетљиве на притисак предатора и конкуренцију, који се могу наћи густо насељени у упражњеним еколошким нишама. Кратко описује адаптације које омогућавају ларвама и луткама да преживе под утицајем стреса изазваним јаким хидродинамичким силама које ствара водена струја. Кандидаткиња истиче разлике у еколошким преференцама симулида и да се услед постојања тих разлика могу користити као индикатори оцене стања акватичног екосистема. Истиче и велики медицински и социо-економски значај симулида, чињеницом да се одрасле женке великог броја врста хране крвљу топлокрвних животиња, укључујући и човека, и да могу да пренесу бројне патогене. Алергијске реакције на увод као и сами патогени доводили су до масовног угинућа животиња у прошлости. У потпоглављу „*Систематика и таксономија*“ указује на прве описе врста, родова и саме фамилије. Приказује основну систематику фамилије симулида у оквиру које се налазе две потфамилије Parasimuliinae и Simuliinae. Даје приказ родова у оквиру сваке потфамилије. Кандидаткиња указује на свакодневне промене у систематици условљене описивањем

нових врста и форми, употребом нових техника идентификације молекуларним и цитогенетичким методама, које су успеле да раздвоје врсте које одликује значајна морфолошка сличност. У потпоглављу *„Дистрибуција“* кандидаткиња кратко описује распостраћење врста и родова симулида у шест зоогеографских региона. У потпоглављу *„Филогенија“* указује на време диверзификације саме фамилије Simuliidae и филогенетске односе са другим фамилијама натфамилије Culicoidea. Поред тога, приказује позиције појединих родова и подродова и њихове односе унутар фамилије Simuliidae. У последњем потпоглављу увода *„Преглед истраживања фамилије симулида на Балкану“* кандидаткиња даје приказ досадашњих студија симулида на Баканском полуострву. Истиче да се више аутора интензивно бавило истраживањем фауне симулида ових простора, и даје приказ њихових најзначајнијих достигнућа. Поред тога, указује на број врста присутних на Балкану према најновијим чек листама и даје списак врста које представљају ендемите Балкана.

У поглављу *„ЦИЉЕВИ“* представљени су главни циљеви дисертације: Утврђивање фаунистичког састава фамилије Simuliidae на подручју Балканског полуострва на основу морфолошких карактера ларви и лутака; Потврда морфолошки идентификованих врста применом молекуларних метода (анализа ДНК секвенци митохондријског COI гена); Утврђивање генетичке варијабилности одабраних врста подрода *Wilhelmia* и REPTANS групе врста; Утврђивање филогенетских односа унутар одабраних врста подрода *Wilhelmia* и REPTANS групе врста; Анализа заједница симулида у различитим типовима станишта (састав и дистрибуција) и еколошких преференција одабраних врста.

Поглавље *„МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ“* подељено је у четири потпоглавља. У потпоглављу *„Опис истраживаних локалитета и карактеристике станишта“* кандидаткиња указује на опште одлике Балканског полуострва: дефинише границе, даје приказ општих карактеристика рељефа, хидролошке мреже и климе на Балкану и истиче Балкан као један од значајних центара биодиверзитета. Кандидаткиња затим наводи да је узорке прикупила са 256 локалитета широм Балкана, које је поделила према надморским висинама у три категорије, према типу водотока, према сливу у који отичу реке на којима се налазе локалитети и према хидрокорегину ком локалитети припадају. Даје и образложење критеријума на основу којих су направљене категорије. Поред тога, даје

приказ дистрибуције локалитета према категоријама надморских висина, типу водотока, сливу и хидроекорегиону коме локалитет препада, у виду мапа. У потпоглављу „**Прикупљање и обрада узорака**“ образложене су и описане методе коришћене за узорковање симулида. Указује се на начин конзервирања материјала на терену и приказује под којим је условима и којим техникама рађена обрада података, идентификација и фотографисање. Дат је и списак литературе неопходне за идентификацију. Кандидаткиња истиче да је потврда идентификованог материјала извршена на Одељењу за зоологију, Природно-математичког факултета Универзитета Коменски у Братислави са колегама др Татијаном Куделовом и др Матушем Куделом. У потпоглављу „**Молекуларне анализе**“ кандидаткиња Јелена Ђукнић истиче да су анализе рађене на два сета података независно: на врстама подрода *Wilhelmia*, као и двема врстама REPTANS групе врста: *Simulium reptans* и *Simulium reptantoides*. Описано је на који начин су јединке припремљене за изолацију ДНК. Истиче да је изолација рађена помоћу кита за изолацију KAPA2G Express Extract Kit. Даје тачан приказ броја јединки по врстама из којих је изолована ДНК, списак локалитета са којих су прикупљене јединке, уз њихове географске одреднице, датуме узорковања, ко је прикупио узорак и приступни број за сваку секвенцу. За потребу филогенетских анализа кандидаткиња је упоредила добијене секвенце са секвенцама из генетичких база података GenBank и BOLD. Сви локалитети са којих постоје секвенце приказани су на два мапама. У наставку потпоглавља, приказан је протокол за амплификацију ДНК и наводи се да је за сређивање секвенци коришћен ABI Sequence Scanner Software. За потребе испитивања диверзитета и распрострањености подрода *Wilhelmia* на Балкану анализирано је укупно 226 секвенци, док је за врсте *S. reptans* и *S. reptantoides* анализирано 90 секвенци и дат је приказ колико је секвенци сваке врсте ушло у анализу. Кандидаткиња образлаже и одабир врста узетих као аутгрупе за реконструкцију стабала. У програму MEGA6 тестиран је модел супституције нуклеотида који највише одговара улазним подацима а затим су у истом програму урађене филогенетске анализе максималне веродостојности и максималне парсимоније на основу 1000 итерација. У програму BEAST кандидаткиња је урадила Бајесове филогенетске анализе на 6.000.000 итерација. Програм MEGA6 коришћен је за израчунавање просечне генетичке удаљености између секвенци унутар сваке кладе и између клада. Кандидаткиња је за врсте подрода *Wilhelmia* Бајесовом статистиком анализирала и време специјације (раздвајања

клада), описала је начин калибрације старости чворова унутар стабла, датирала је важне догађаје гранања у еволуционој историји подрода *Wilhelmia* и упоредила их са одговарајућим палеогеографским мапама како би описала догађаје кладогенезе и специјације. Коришћењем GMIC методе добијена су еволуционо значајна места у филогенетском стаблу. Закључено је да се GMIC вредности молекулске диверзификације односе на кладе, а не на до сада препознате врсте. Кандидаткиња Јелена Ђукнић је за анализу нуклеотидне разноврсности и тестове неутралности за сваку кладу (потенцијалну врсту) користила DnaSP програм. Анализирала је: број коришћених секвенци, број хаплотипова, број места сегрегације, хаплотипску разноврсност са стандардном девијацијом, нуклеотидну разноврсност са стандардном девијацијом, Тацимину D статистику и Фуову Fs статистику. Исти програм користила је да анализира промене у величини популација и да израчуна мреже хаплотипова за врсте подрода *Wilhelmia*, као и за врсте *S. reptans* и *S. reptantoides*. Мреже су затим направљене у програму Network. У потпоглављу „**Статистичке анализе**“ објашњен је разлог коришћења два сета података: појединачни таксони (врсте) и групе таксона (род, подрод и групе врста). Кандидаткиња је све статистичке анализе извршила у програму FLORA. Фреквенцу појављивања врста симулида одредила је према категоријама надморских висина, типу водотока, сливу и хидроекорегиону коме локалитети припадају. За анализу еколошке диференцираности врста и група таксона у односу на надморску висину и тип водотока користила је Гаусову регресију и тиме моделовала одговор врсте на варирање одређеног срединског фактора. Мултиваријатна анализа варијансе (MANOVA) је употребљена да се одреди комбинација врста или група таксона симулида која максимално карактерише различите типове станишта класификованих према: категоријама надморских висина, типу водотока, сливу и хидроекорегиону којима припадају. Кандидаткиња Јелена Ђукнић је биолошки диверзитет анализирала помоћу индекса алфа и бета диверзитета.

Поглавље „**РЕЗУЛТАТИ**“ организовано је у седам потпоглавља. У потпоглављу „**Типолошка анализа испитиваног подручја**“ кандидаткиња анализира локалитете и њихову припадност различитим сливовима и хидроекорегионима, типовима водотока и надморским висинама. Истиче да преко 59% припада Црноморском сливу, док свега 3% припада Јадранском. Највећи број локалитета (180) припада хидроекорегиону Динарског Западног Балкана (EP5), док су из хидроекорегиона 4 (Алпи), 10 (Карпати) и 11 (Мађарска

равница) симулиде прикупљене са свега неколико локалитета. Највећи број локалитета припада малим рекама са крупном подлогом на надморским висинама до 500 m. У потпоглављу „**Фаунистички састав фамилије Simuliidae на испитиваном подручју**“ кандидаткиња истиче да је током истраживања обрадила 40.747 јединки симулида и забележила је укупно 46 таксона из фамилије Simuliidae. Анализом заједница симулида, кандидаткиња је установила да је врста *Simulium ornatum* Meigen, 1818 најзаступљенија врста на Балканском полуострву. Друге бројне и често налажене врсте су *Simulium reptans* (Linnaeus, 1758), *Simulium variegatum* Meigen, 1818, и *Simulium balcanicum* (Enderlein, 1924). Приказан је састав заједине симулида на Балкану и број локалитета на којима су забележене појединачне врсте и групе врста. У потпоглављу „**Генетичке анализе и филогенетски односи врста симулида**“ кандидаткиња Јелена Ђукнић анализира генетичку варијабилност и филогенетске односе подрода *Wilhelmia* и две врсте REPTANS групе врста – *Simulium reptans* и *S. reptantoides*. Добијено филогенетско стабло подрода *Wilhelmia* издвојило је 15 монофилетских клада (потенцијалних врста). Кандидаткиња укратко образлаже именовање клада. У оквиру подрода *Wilhelmia* издвојиле су се две главне високо подржане монофилетске гране. *Equinum* грану чине морфо-врсте *S. equinum* и *S. pseudequinum*, а *lineatum* грану чине морфо-врсте *S. sergenti*, *S. paraequinum*, *S. lineatum*, *S. balcanicum* и *S. turgaicum*. Анализе нуклеотидне разноврсности и тестове неутралности унутар и између клада, докторанткиња даје у табелама 5 и 6. Истиче да је у оквиру подрода *Wilhelmia* препознато укупно 122 хаплотипа, а њихове односе приказала је на слици 22. Анализе временских догађаја показала је на слици 23. Еволуција подрода *Wilhelmia* започела је у касној креди (пре 111–67 милиона година), док се диверзификација клада *S. pseudequinum* догодила током олигоцена (пре 46–21 милиона година), потенцијалним алопатричким специјацијама. Дат је приказ палеогеолошке карте која показује положај копнених маса у време диверзификација клада, као и филогенетско стабло за врсте *S. reptans* и *S. reptantoides*, где су се издвојиле 4 јасно дефинисане монофилетске гране, по две у оквиру сваке од врста. Такође, приказана су и анализе нуклеотидне разноврсности и тестови неутралности унутар и између клада. Истиче постојање 18 хаплотипова врсте *S. reptans*, и 33 хаплотипа врсте *S. reptantoides*. У потпоглављу „**Анализа дистрибуције симулида у различитим типовима станишта**“, кандидаткиња Јелена Ђукнић приказала је дистрибуцију симулида према надморским

висинама, типу водотока, екорегииону и сливу којем припадају истраживани локалитет. Указала је на то које су врсте нађене на ком од типова станишта. Кандидаткиња је истакла да је присуство 50% врста забележено на свим надморским висинама, као и то да су групе врста REPTANS и VARIEGATUM и врсте *S. ornatum*, *S. balcanicum* и *S. erythrocephalum* забележене у свим типовима водотока. Једина врста забележена у свим хидроекорегиионима била је *S. reptans*. У потпоглављу „**Еколошка диференцијација симулида**“, кандидаткиња је анализирила дистрибуције врста и група таксона дуж висинског градијента и типа водотока. Анализа је урађена за врсте и групе таксона са високом учесталосту појављивања током истраживања. Показала је да је већина врста еуривалентна по типу надморске висине и указала на њихове еколошке оптимуме појављивања. У потпоглављу „**Заједница симулида у различитим типовима станишта**“, приказала је резултате мултиваријатне анализе варијансе. Заједнице симулида груписане су према еко-географским карактеристикама локалитета на којима су забележене, типу водотока, сливу коме припадају, надморској висини и хидроекорегииону. Тако подрод EUSIMULIUM, групе врста EQUINUM и REPTANS, и врсте *S. angustitarse*, *S. xanthinum* и *S. lundstromi* карактеришу локалитете на нижим надморским висинама до 500 m. Врста *P. tomosvaryi*, групе врста ALBELLUM и BEZZII карактеришу локалитете преко 800 m, а група врста VARIEGATUM и врсте *S. angustipes*, *S. intermedinum* и *S. auricoma* локалитете од 500 до 800 m. Врсте подрода *Wilhemia*, *S. reptans* и *S. argyreatum* везују се за велике и средње реке које одликује крупан супстрат и брза вода. Мале, брже реке са крупним супстратом карактерише присуство врста *S. erythrocephalum* и *S. ornatum*, и групе врста HIRTIPES и BUKOVSKII, док врсте *S. cryophilum*, *S. brevidens*, и VERNUM и ALBELLUM групе врста карактеришу изворишне регионе. Заједнице симулида које припадају Јонском сливу карактеришу врсте *S. petricolum* и *S. xanthinum*. Остали сливови се према заједницама симулида не разликују значајно. Врста *S. degrangei* карактеристична је за Карпатски регион (EP10), а групе врста HIRTIPES и MERIDIONALE за Алпски регион (EP4). Источни Балкан (EP7) издваја врсту *S. lundstromi*, док Грчки Западни Балкан (EP6) одвајају групе врста ORNATUM, врсте рода *Nevermannia*, *S. argenteostriatum* и *S. petricolum*. Заједнице хидроекорегииона 5 (Динарски Западни Балкан) и 11 (Мађарска равница) не показују диференцијацију у односу на остале. У потпоглављу „**Диверзитет симулида у различитим типовима станишта**“ кандидаткиња је дала приказ алфа и



бета диверзитета унутар заједнице симулида забележених на различитим надморским висинама, у различитим типовима водотока, сливовима и хидроекорегионима на Балканском полуострву. Највећи алфа диверзитет, приказан кроз његове компоненте, карактерише заједнице на надморским висинама од 500 до 800 m. Најмањи алфа диверзитет карактерише заједнице у великим равничарским рекама са финим седиментом. Алфа диверзитет је мање више уједначен код заједница симулида у испитиваним хидроекорегионима и сливовима. Велики бета диверзитет карактерише све заједница симулида.

У поглављу **ДИСКУСИЈА** кандидаткиња приказане резултате интерпретира и пореди са објављеним истраживањима из сродних области, и кроз дискусију се осврће на постављене циљеве дисертације у четири потпоглавља. У потпоглављу „**Генетичка варијабилност врста подрода *Wilhelmia***“ кандидаткиња детаљно образлаже диверзификацију *equinum* и *lineatum* грана. У оквиру *equinum* гране коју чине морфо-врсте *S. equinum* и *S. pseudequinum* издвојило се шест клада. Велике генетичке удаљености између ових клада указују на то да се ради о различитим врстама. У оквиру морфо-врсте *S. equinum* издвојиле су се две кладе: *S. equinum* и *S. equinum 2*. *S. equinum* клада је најмлађа у грани, најраспрострањенија, а уједно и хаплотипски најразноврснија. У оквиру морфо-врсте *S. pseudequinum* издвојиле су се четири кладе: *S. pseudeuinum* W1, *S. pseudequinum* W2, *S. pseudequinum* В и *S. pseudequinum* Е. Време диференцијације клада десило се у периоду пре 46–21 милиона година. У то време, ове популације (кладе) су биле на острвима удаљеним до 1500 km што је могло да омогући алопатричку специјацију између клада. Претпоставка је да би свака клада могла бити ендемична за своју област порекла. *Simulium pseudequinum* В (клада са Балкана), би у том случају, била ендемит Балканског полуострва и могла би одговарати раније описаној врсти *Simulium brnizense*. Генетичка удаљеност између клада западне Европе *S. pseudeuinum* W1 и *S. pseudequinum* W2 била је ниска (2,59%), на основу чега се закључује да је између њих дошло до каснијег раздвајања.

У оквиру *lineatum* гране коју чине морфо-врсте *S. sergenti*, *S. paraequinum*, *S. lineatum*, *S. balcanicum* и *S. turgaicum* издвојиле су се три монофилетске линије. Линију *sergenti* представља једна клада, линија *paraequinum* се састоји од две кладе, док је линија *lineatum* састављена од шест клада. Раздвајање клада *paraequinum* линије догодило се пре

23–11 милиона година. Генетичка варијабилност међу њима је релативно велика (5,10%), иако су узорци са географски блиских локалитета, што би се могло протумачити као постојање два таксона. У оквиру *lineatum* линије, сестринске врсте *S. lineatum*, *S. turgaicum* и *S. balcanicum* биле су присутне са по две кладе. Све кладе унутар *lineatum* линије имале су малу генетичку удаљеност једна од друге (1,78–3,30%).

У потпоглављу „*Генетичка варијабилност врста S. reptans и S. reptantoides*“ кандидаткиња дискутује филогенетске анализе врста *S. reptans* и *S. reptantoides* које су показале присуство две форме (А и Б) код сваке од врста. Варијабилност између ових форми била је недовољна да би се сматрале засебним врстама, али је указивала на високу интраспецијску варијабилност код обе врсте, што може бити повезано са њиховом широком дистрибуцијом. Унутар врсте *Simulium reptans*, ниска варијабилност одликовала је А форму, а њена дистрибуција ограничена је на западну и северну Европу. Присуство *S. reptans* Б форме, забележено је на Балкану и установљено је да Б форма има ширу распрострањеност него што је раније било познато. Обе форме (А и Б) врсте *Simulium reptantoides*, забележене су на Балканском полуострву, које би чак могло представљати место порекла форме А врсте *Simulium reptantoides*.

У потпоглављу „*Дистрибуција симулида на Балкану и њихове еколошке преференције*“ кандидаткиња истиче да су на основу резултата генетичких анализа врста подрода *Wilhemia*, као и двеју врста *S. reptans* и *S. reptantoides* морфолошки идентификоване врсте упитне као валидни таксони, као и да је идентификација тешка а често и непоуздана услед веома мале морфолошке варијабилности. Из тог разлога, дистрибуција, еколошке преференције и биодиверзитет анализирани су на морфолошки идентификованим врстама али и на групама таксона (групама врста, подродовима и родовима) како би се умањиле грешке потенцијално погрешне идентификације. Анализом заједница симулида и еколошких преференција одабраних врста и група врста у различитим типовима станишта установљено је да је већина врста симулида еуривалентна по питању надморске висине, с обзиром да је више од 50% врста присутно на свим надморским висинама. Широко распрострањење по надморским висинама (0–1000 m) испољиле су врсте *S. balcanicum*, *S. equinum*, *S. erythrocephalum*, *S. pseudequinum* и *S. reptantoides* са еколошким оптимумом око 300 m. Врсте *S. ornatum* и *S. reptans* се одликују широм еколошком нишом (0–1200 m надморске висине) са оптимумом око 400 m, а

најширу еколошку валенцу показале су врсте *Simulium variegatum* и *Prosimulium tomosvaryi*. Њихово присуство забележено је на надморским висинама од 0 до 1400 m, са еколошким оптимумом око 600 m. Скоро исте еколошке преференције према надморској висини показују и групе врста. Врста *S. brevidens* је стеновалентна за изворишне регионе на надморској висини преко 800 m, а забележена је само у водотоцима типа 4, док је врста *P. hirtipes* издвојена као карактеристична за мале реке типа 3. Врсте *S. ornatum*, *S. balcanicum*, *S. erythrocephalum* и групе врста REPTANS и VARIEGATUM су забележене у свим типовима водотока и могу се сматрати еуривалентним, с тим да се међу њима види раздвајање према оптимуму који је код једних тип 3 а код других тип 4. Сличне еколошке преференције показују и групе врста. Када идентификацију није могуће извршити до нивоа врсте, групе врста могу се користити као оперативне таксономске јединице у студијама процене еколошког статуса и типологије водених екосистема. Дистрибуција симулида према сливу којем припадају водотоци у којима је забележено њихово присуство, не показују јасну диференцијацију. Широки ареал распрострањења на Балкану установљен је за врсте подрода *Wilhelmia*, групе врста VARIEGATUM, ORNATUM и REPTANS, као и за врсте *Simulium degrangei*, *S. argenteostriatum* и *S. erythrocephalum*, које су се појавиле у свим хидроекорегионима.

У потпоглављу „*Диверзитет симулида на Балканском полуострву*“ кандидаткиња истиче да је највећи диверзитет симулида на Балкану забележен у великим и средњим рекама (Т2), и у мањим водотоцима (Т3) на надморским висинама од 500 до 800 m. Све испитиване групе заједница симулида, карактерише висок бета диверзитет који се огледа у високим вредностима замене врсте и ниским вредностима угњеждености. На Балканском полуострву је присутно шест врста подрода *Wilhelmia* према чек листама, што представља 60% врста забележених у Европи. Баркодирањем врста подрода *Wilhelmia* уочено је присуство седам клада (потенцијалних врста) на проучаваном подручју Балкана. Морфо-врсте *S. equinum*, *S. pseudequinum*, *S. paraequinum*, *S. lineatum* и *S. turgaicum*, биле су представљене по једном кладом (*S. equinum*, *S. pseudequinum* В, *S. paraequinum* 1, *S. lineatum* 2 и *S. turgaicum* 2). Јединке које су на основу морфолошких карактера идентификоване као *S. balcanicum* издвојиле су се у две кладе: *S. balcanicum* и *S. balcanicum/turgaicum* 1. Кладе *S. balcanicum*, *S. pseudequinum* В и *S. equinum* су широко распрострањене на Балкану. Генетичким анализама је установљено и присуство врсте

*Simulium turgaicum* на Балканском полуострву, што указује на то да је западна граница њеног ареала распрострањења шира и укључује Балкан, као и то да се врсте *Simulium balcanicum*, *S. lineatum* и *S. turgaicum* могу наћи у симпатрији, што је потврђено налазима из реке Саве у Словенији. Генетичким анализама утврђено је и присуство само једне форме *S. reptans* (форма Б) на Балкану, док се *S. reptantoides* јавља у обе форме (А и Б). Значај генетичких анализа током ове студије је пре свега у откивању „скривеног“ диверзитета унутар читаве породице Simuliidae на Балканском полуострву.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ** кандидаткиња тумачи дискутоване резултате и у складу са њима дефинише закључке. Из резултата анализе фаунистичког састава фамилије Simuliidae на испитиваном подручју, кандидаткиња изводи закључак да је фауна симулида на истаживаном подручју богата и представљена са 46 такона, а најчешће налажена и најбројнија врста је *Simulium ornatum*, а пратеће су *Simulium reptans*, *Simulium variegatum* и *Simulium balcanicum*.

Из резултата генетичких анализа и филогенетских односа врста симулида кандидаткиња изводи следеће закључке: у оквиру подрода *Wilhelmia* који је представљен са 7 морфолошки идентификованих врста, откривено је присуство 15 монофилетских клада (потенцијалних врста), од чега је 7 присутно на Балканском полуострву. Морфоврста *Simulium pseudequinum* представљена је са четири кладе, потенцијалне врсте. До њиховог раздвајања дошло је потенцијалном алопатричком специјацијом током Олигоцена, те би сваки од њих могао бити ендемичан за своју област порекла. Врста *Simulium pseudequinum* В би била ендемит Балканског полуострва и могла би одговарати раније описаној врсти *Simulium brnizense*. Врста *Simulium turgaicum* је први пут забележена на Балканском полуострву, што указује на то да је западна граница њеног ареала шира и укључује Балкан. Врсте *Simulium balcanicum*, *S. lineatum* и *S. turgaicum* могу се наћи у симпатрији, што је потврђено налазима из реке Саве у Словенији. Филогенетске анализе су показале присуство врста *Simulium reptans* (форма Б) и *S. reptantoides* (форме А и Б), из REPTANS групе врста, на Балканском полуострву, које би могло представљати место порекла форме А врсте *Simulium reptantoides*. *Simulium reptantoides* је шире распрострањена и има већу учесталост појављивања на Балкану од врсте *Simulium reptans*.

Из резултата анализе еколошке диференцијације симулида кандидаткиња изводи закључке да је већина врста симулида еуривалентна по питању надморске висине. Врста *Simulium brevidens* је стеновалентна за изворишне регионе на надморској висини преко 800 m. Врста *Prosimulium hirtipes* је карактеристична за мале реке, које одликује брз ток и крупан супстрат. Широки ареал на Балкану установљен је за врсте подрода *Wilhelmia*, групе врста VARIEGATUM, ORNATUM и REPTANS, као и за врсте *Simulium degrangei*, *S. argenteostriatum* и *S. erythrocephalum*. Сличне еколошке преференције показују појединачне врсте и групе врста, те се у случају када идентификацију није могуће извршити до нивоа врсте, групе врста могу се користити као оперативне таксономске јединице у студијама оцене еколошког статуса и типологије водених екосистема.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи 137 библиографских јединица. Литературни извори су адекватно наведени и цитирани у тексту докторске дисертације. Поглавље **ПРИЛОЗИ** садржи 3 табеле и 3 слике. У табелама су приказани: списак истраживаних локалитета и карактеристике – географска ширина и дужина, надморска висина, категорија надморске висине, тип водотока, хидреоекорегион и слив коме локалитети припадају; Преглед анализираних јединки (секвенци) примерака подрода *Wilhelmia* и врста *S. reptans* и *S. reptantoides* COI маркером, преузетих из база гена GenBank и BOLD система. На сликама су приказане очекиване и добијене вредности „mismatch“ дистрибуције за кладе (потенцијалне врсте) подрода *Wilhelmia*, као и еколошка диференцијација EQUINUM и REPTANS група врста са најчешће забележеним врстама унутар група у односу на а) надморску висину и б) тип водотока.

Истраживања у оквиру ове дисертације урађена су у оквиру два национална пројекта. Резултати приказани у дисертацији објављени су у два рада у часописима од међународног значаја, у категоријама M21 и M22, што потврђује значај и актуелност истраживане теме.

## Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

### Б1. Радови у часописима међународног значаја

- 1) **Đuknić, J.**, Jovanović, M. V., Popović, N., Živić, I., Raković, M., Čerba, D., Paunović, M. (2019). Phylogeography of *Simulium* subgenus *Wilhelmia* (Diptera: Simuliidae) - insights from Balkan Populations. *Journal of Medical Entomology*, 56 (4): 967–978.

<https://doi.org/10.1093/jme/tjz034>

**M21** (IF<sub>2019</sub>: 1.925)

- 2) **Đuknić, J.**, Jovanović, M. V., Čanak Atlagić, J., Andjus, S., Paunović, M., Živić, I., Popović, N., (2020). *Simulium reptans* (Linnaeus, 1758) and *Simulium reptantoides* Carlsson, 1962 from the Balkan Peninsula. *ZooKeys*, 922: 141–155.

<https://doi.org/10.3897/zookeys.922.49306>

**M22** (IF<sub>2020</sub>: 1.442)

### Б2. Конгресна саопштења на скуповима од националног значаја:

1. **Đuknić J.**, Jovanović V., Popović N., Živić I., Čanak Atlagić J., Kračun- Kolarević M., Zorić K., and M., Paunović (2018). Diverzitet familije Simuliidae (Insecta, Diptera) u Srbiji potvrđen molekularnim metodama – preliminarni rezultati. Drugi kongres biologa Srbije. Kladovo, 25-30. Sep-tembar 2018, p.305.

**M64**

## Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација, извршена је провера оригиналности докторске дисертације кандидаткиње **Јелене А. Ђукњић**, у програму iThenticate под називом “**Диверзитет и генетичка варијабилност фамилије Simuliidae (Insecta: Diptera) на подручју Балканског полуострва**” којом је утврђена процена подударности од 11 %.

Највећи проценат подударности (од 2%) односи се навођење латинских назива забележених врста из фамилије Simuliidae као и на називе река, речних сливова и држава на Балканском полуострву. Све остале подударности су мање од 1% и односе се на називе афилијација како кандидат, тако и ментора и чланова Комисије; имена аутора, година и других података у цитираној литератури.

Имајући наведене чињенице у виду, Комисија сматра да су теренска истраживања добро осмишљена и да су резултирала оригиналним резултатима који су кроз дискусију указала на диверзитет и генетичку варијабилност инсеката фамилије Simuliidae на истраживаном подручју, те да је докторска дисертација Јелене А. Ђукнић оригинални научни рад и представља велики допринос расветљавању филогенетских односа у оквиру фамилије Simuliidae и да није преузета из неког другог извора.

### **Мишљење и предлог Комисије**

Докторска дисертација кандидаткиње **Јелене А. Ђукнић** под насловом “**Диверзитет и генетичка варијабилност фамилије Simuliidae (Insecta: Diptera) на подручју Балканског полуострва**”, урађена је у оквиру два национална пројекта. Резултати приказани у дисертацији објављени су у два рада у часописима од међународног значаја, у категоријама M21 и M22, чиме је потврђен значај и актуелност истраживане теме.

Добијени резултати приказани у дисертацији са списком нађених таксона фамилије Simuliidae са истраживаног подручја Балканског полуострва, засновани су како на основу морфолошких карактера ларви и лутака, тако и на основу ДНК секвенци митохондријског COI гена, просторној анализа диверзитета заједница симулида, утврђивању генетичке варијабилности (хаплотипови, популациона структура) одабраних врста, као и на утврђивању филогенетских односа унутар одабраних родова.

Резултати генетичких анализа и филогенетских односа врста симулида указују да је у оквиру подрода *Wilhelmia* откривено присуство 15 монофилетских клада (потенцијалних врста), од чега је 7 присутно на Балканском полуострву, док је морфо-врста *Simulium pseudequinum* представљена са четири кладе. Истакнуто је да би врста *Simulium pseudequinum* В могла бити ендемит Балканског полуострва и да вероватно одговара раније описаној врсти *Simulium brnizense*. Врста *Simulium turgaicum* је први пут забележена на Балканском полуострву, што указује на то да је западна граница њеног ареала шира и укључује Балкан. Такође, филогенетске анализе су показале присуство врста *Simulium reptans* (форма Б) и *S. reptantoides* (форме А и Б), из REPTANS групе врста, на Балканском

полуострву, које би могло представљати место порекла форме А врсте *Simulium reptantoides*.

Имајући у виду наведене чињенице, Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену докторске дисертације кандидаткиње **Јелене А. Ђукнић** под насловом “**Диверзитет и генетичка варијабилност фамилије Simuliidae (Insecta: Diptera) на подручју Балканског полуострва**”, и одобри кандидаткињи јавну одбрану.

У Београду, 10.03.2023. године

#### КОМИСИЈА:

---

др Катарина Стојановић, доцент,  
Универзитет у Београду – Биолошки факултет

---

др Владимир Јовановић, Research assistant,  
Human biology and primate evolution,  
Department of Biology, Chemistry, Pharmacy,  
Freie Universität Berlin (Berlin, Germany)

---

др Никола Маринковић, научни сарадник,  
Универзитет у Београду – Институт за биолошка  
истраживања „Синиша Станковић“ –Институт од  
националног значаја за Републику Србију