

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU BIOLOŠKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na X redovnoj sednici Nastavno-naučnog veća Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, održanoj 05. septembra 2016. godine mentor, dr Predrag Simonović, obavestio je Nastavno-naučno veće o urađenoj doktorskoj disertaciji Ane Tošić, istraživača-saradnika na Katedri za morfologiju, sistemaiku i filogeniju životinja, pod naslovom „FILOGEOGRAFSKI STATUS I GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJA POTOČNE PASTRMKE (*SALMO CF. TRUTTA*) ĐERDAPA I TIMOČKE KRAJINE“ i određena je Komisija za pregled i ocenu doktorske disertacije u sastavu: dr Dušanka Savić-Pavićević, vanredni profesor Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, dr Tea Tomljanović, docent Sveučilišta u Zagrebu, Agronomskog fakulteta i dr Danila Mrdaka, docenta Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta Crne Gore.

Komisija je pregledala urađenu doktorsku disertaciju kandidata i Veću podnosi sledeći

IZVEŠTAJ

Podaci o doktorskoj disertaciji

Doktorska disertacija kandidata Ane Tošić „FILOGEOGRAFSKI STATUS I GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJA POTOČNE PASTRMKE (*SALMO CF. TRUTTA*) ĐERDAPA I TIMOČKE KRAJINE“ napisana je na 118 strana. Sastoji se iz poglavlja: Uvod (sa Ciljevima rada - 43 strane), Materijal i metode (15 strana), Rezultati (Analiza mitohondrijske DNK, Analiza *LDH* lokusa, Analiza mikrosatelitskih lokusa, – 20 strana), Diskusija (8 strana), Zaključci (2 strane), Literatura (27 strana) i Prilozi (3 strane). Disertacija sadrži 24 slike i 14 tabela. Poglavlje Literatura sadrži 248 referenci na koje se kandidat odgovarajuće poziva u tekstu doktorske disertacije.

Prikaz doktorske disertacije

Doktorska disertacija Ane Tošić „FILOGEOGRAFSKI STATUS I GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJA POTOČNE PASTRMKE (*SALMO CF. TRUTTA*) ĐERDAPA I TIMOČKE KRAJINE“ imala je za **ciljeve**: (1) određivanje autohtonih i alohtonih mitohondrijskih haplotipova potočne pastrmke prisutnih u slivovima Dunava u području Đerdapa i Crnog Timoka; (2) utvrđivanje genetičkih razlika između populacija Dunavskog i Timočkog sliva; (3) utvrđivanje uravnoteženosti populacija i dominantnih evolucionih mehanizama koji u njima deluju i (4) predlaganje mera za zaštitu i očuvanje autohtonih populacija potočne pastrmke u slivovima Istočne Srbije.

(1) Analize kontrolnog regiona (CR) mitohondrijske DNK (mtDNK), kao molekularnog markera, pokazale su da kod potočnih pastrmki u svim rekama u slivu Crnog Timoka i skoro svim rekama zaleđa južne obale Dunava u području Đerdapa i u njegovoj najbližoj okolini, dominira haplotip dunavske (Da) linije Da23c. Ovaj haplotip Tošić *et al.* (2014) opisali su kao nov za potočnu pastrmku kao kompleks vrsta na osnovu uzorka pritoka Crnog Timoka: Radovanjske reke, Mirovštice i Lukovskog vrela (GenBank Accession Number KC630984), a tokom rada na disertaciji, ovaj haplotip Tošić *et al.* (2016) detektovali su i u najvećem broju pritoka Dunava u Đerdapskoj klisuri (Kožička reka, Mala Boljetinska reka, Zlatica) i neposredno nizvodno od nje (Zamna i Vratna). Samo u izvorišnom delu potoka Reka u njegovom desnom, zapadnom kraku uzvodno od vodopada Bledarija na Deli Jovanu, nađena je populacija potočne pastrmke dunavskog haplotipa Da1 široko rasprostranjenog u području Balkanskog poluostrva. Uz nesumnjivo autohton status potočnih pastrmki haplotipa Da23c, Tošić *et al.* (2016) zaključili su da je velika verovatnoća da je za (geno-)fond potočnih pastrmki ovog područja i Da1 haplotip autohton, pošto je kao pleziomorfni u odnosu na široko rasprostranjeni Da23c ostao kao izolot u čistoj sastojini iznad vodopada visokog desetaka metara i neprolaznog za potočne pastrmke iz nizvodnih delova Reke. U prilog ovakvom gledanju ide i

raniji rezultat Marić *et al.* (2006) iz levog, istočnog kraka izvorišnog dela Reke, gde su u simpatriji bile nađene potočne pastrmke haplotipova Da1 i Da23b (smatra se da je ovaj drugi tada pogrešno identifikovan, što treba dodatno potvrditi). Osim ova dva autohtona haplotipa, u Brnjici i Porečkoj reci u donjem toku, u samom Dunavu, kao i u Vratni u gornjem toku, nađene su i potočne pastrmke atlanskog At1 haplotipa, koje su u Vratni bile simpatričke sa potočnim pastrmkama haplotipa Da23c. Na osnovu njihove zastupljenosti u tim populacijama i na osnovu poznatih podataka o originalnom rasprostranjenju potočnih pastrmki At1 haplotipa, Tošić *et al.* (2016) zaključili su da one nisu ovde autohtone. Analiza jedarnog gena *LDH* nesumnjivo je ukazala da je dolazilo do ukrštanja između ove dve linije u Vratni, kao i da su se introdukovane atlanske jedinke već introgresirale u populaciju autohtone, crnorečke pastrmke. U Radovanjskoj reci i Mirovšćici, pritokama gornjeg toka Crnog Timoka, pored potočnih pastrmki Da23c haplotipa nađene su i potočne pastrmke Da2 haplotipa za koje je pretpostavljen alohoni status na osnovu podataka o: a) distribuciji haplotipova kod potočnih pastrmki na zapadnom Balkanu i u Srbiji, b) uvođenju potočnih pastrmki ovog haplotipa u akvakulturu i domestifikaciji u Austrougarskoj krajem XVIII i početkom XIX veka i c) poribljavanjima voda slivnog područja Crnog Timoka do 2003. godine. Prema rezultatima filogeografske analize i strukture CR mtDNK dunavskih haplotipova, haplotip Da23c okarakterisan je kao autapomorfna u odnosu na ostale apomorfne haplotipove Da2-grupe haplotipova (Da2, Da22, Da23a, Da23b, Da24), na osnovu čega se i rukovodilo kod karakterisanja dunavskih haplotipova u pogledu autohtonosti za područje istraživanja (Tošić *et al.* 2016).

(2) Analiza sekvence haplotipova CR pokazala je da se Da23c kao nov haplotip razlikuje od ostalih dunavskih haplotipova na četiri polimorfna mesta (pozicije 146, 234, 235 i 544) gde su detektovane substitucije (tranzicija A→G ili G→A, pozicije 146, 234, 235; i transverzija G→T, pozicija 544). U odnosu na Da1 razlikuje se postojanjem samo jedne tranzicije G→A na mestu 146. Od Da23a, Da23b, Da2, Da22 i Da24 haplotipova, Da23c razlikuje se po tri, dve, dve, dve i šest nukleotidnih zamena sa distancama 0.5% , 0.4%, 0.4%, 0.5% i 1.1%, respektivno (Tošić *et al.* 2014).

(3) Analiza osam mikrosatelitskih lokusa na uzorcima iz 11 populacija potočnih pastrmki (Kožica, Mala Boljetinska reka, Zlatica, Zamna, Vratna, Reka, Radovanska reka, Mirovšćica i Lukovsko vrelo) pokazala je visok stepen međupopulacione genetičke varijabilnosti i vrlo uniformnu unutarpopulacionu genetičku strukturu svake od populacija. Takođe, populacije potočnih pastrmki prema genetičkoj strukturi uvrđenoj na osnovu učestalosti alela analiziranih mikrosatelitskih lokusapokazale su jasnu geografsku determinaciju. Utvrđeno je da se može razdvojiti u pet osnovnih grupa populacija, od kojih jedna obuhvata populacije potočnih pastrmki u đerdapskim rekama Mala Boljetinska i Zlatici, druga populaciju u reci Kožici, treća u rekama Zamna i Vratna, četvrta u reci Rečkoj, a petagrupa obuhvata populacije potočnih pastrmki u izvorišnom delu sliva Crnog Timoka (Radovanska reka, Mirovšćica i Lukovsko vrelo). Prema korespondentnoj analizi prema faktorima 1 i 2 naročito se izdvajala Rečka reka, koja se pored Da1 mitohondrijskog haplotipa od ostalih reka razlikuje i po jedinstvenim mikrosatelitskim alelima. U analiziranim populacijama nije detektovano postojanje efekta uskog grla ("bottleneck"), iako je u rekama Mala Boljetinska, Vratna i Rečka otkriveno odstupanje od L-oblika distribucije učestalosti alela, što ukazuje na potencijalni efekat uskog grla ("bottleneck").

(4) Otkriće novog mitohondrijskog haplotipa Da23c, prvo u izvorišnim delovima Crnog Timoka, a onda i u rekama zaleđa Đerdapske klisure koje se u njoj ili neposredno nizvodno ulivaju u Dunav, omogućilo je doktorandu da sagleda sliku o strukturi populacija potočne pastrmke u području Istočne Srbije i da na osnovu toga razmotri i opredeli mere očuvanja ili restauracije autohtonog karaktera tih populacija. U konzervacionom pogledu, može se reći da su srazmerno malobrojne populacije potočne pastrmke malih reka Đerdapske klisure koje se ulivaju u Dunav pod većim pritiskom, potpuno drugačijim od karaktera pritiska kome su izložene

populacije slivnog područja Crnog Timoka. Jedan vid pritiska na pojedine populacije potočnih pastrmki je nepovoljni vodni režim. U godinama uzimanja uzoraka, u letnjem, sušnom, malovodnom periodu, opstanak potočnih pastrmki u mnogim rekama područja Đerdapske klisure i područja neposredno nizvodno od nje moguć je samo u virovima između kojih je u pojedinim rekama (Zlatica, Zamna) čak potpuno nestaje nadzemni tok i voda teče ispod površine korita tih reka. Drugi vid pritiska je primarno antropogeni. Utvrđeno je da su potočne pastrmke pojedinih reka (Brnjica, Porečka reka, Vratna) alohtone, atlantske. Za razliku od prve dve reke, za koje nema podataka o poribljavanju, za Vratnu se zna da je bila poribljavana pre 2000. godine, te se pretpostavlja da je direktno poribljavanje moguć vektor unosa atlantske potočne pastrmke u ove vode. Međutim, nalaz atlantskih pastrmki u samom Dunavu, kao i u Brnjičkoj i Porečkoj reci samo u određenom periodu godine (kasno-letnji i rano-jesenji), te raniji nalaz potočnih pastrmki u području Velikog Gradišta malo uzvodno od Đerdapske klisure (Marić *et al.* 2011), upućuju na indirektni antropogeni uticaj koji je omogućio njihovo duže prisustvo i moguću aklimatizaciju u području Đerdapa. Eventualna naturalizacija atlantskih pastrmki u području sublakustričnih, đerdapskom akumulacijom potopljenih izvora i uspostavljanje migratornog, potamodromnog ponašanja u vreme reprodukcije može potencijalno predstavljati ugrožavajući faktor za autohtone dunavske pastrmke haplotipa Da23c u pritokama Dunava u Đerdapu. Mere u vidu manjih hidrotehničkih zahvata koji bi onemogućili prolaz atlantskim potočnim pastrmkama iz Dunava daleko uzvodno u rekama gde bi autohtone potočne pastrmke mogle biti potencijalno ugrožene trebalo bi da smanje rizik od introgresije gena atlantskih potočnih pastrmki u genofond? autohtonih, dunavskih. U izvorišnom delu slivnog područja Crnog Timoka, ribolovna atraktivnost populacija potočnih pastrmki sa za sada umerenim ribolovnim pritiskom predstavlja potencijalno, ali u ovom trenutku ne i realno ugrožavajući faktor. Mere ribolovnog upravljanja fondom potočnih pastrmki izvorišnog dela sliva Crnog Timoka propisuju bezuslovni i samo na pojedinim ribolovnim vodama uslovni “uhvati-i-pusti” režim ribolova, trenutno uravnotežen sa ribolovnim pritiskom. One takođe isključuju poribljavanje, jer trenutno nije moguće sa sigurnošću obezbediti materijal koji bi bio približne strukture onoj koja je potrebna za ove ribolovne vode. Da bi se obezbedilo očuvanje autohtonog karaktera ovog pastrmskog fonda, bilo bi neophodno primeniti niz mera koje bi omogućile praćenje strukture populacija koji čine ovaj deo genofonda potočne pastrmke u istočnoj Srbiji i delovanje u zavisnosti od pokazatelja koji se pri tome dobiju, prema postulatima datim u Simonović *et al.* (2015): 1) praćenje genetičkog stanja ovih populacija; 2) razmatranje mogućnosti formiranja matičnih jata, radi poribljavanja odgovarajućim genetičkim materijalom i kako bi se osnažio genofond, kao i 3) uvođenje genetičkih analiza (genotipizacije) za potočne pastrmke koje se koriste za poribljavanje.

Radovi iz doktorske disertacije:

B1. Radovi u časopisima međunarodnog značaja (M23)

- (1) Marić, S, Nikolić, V. Tošić, A. & P. Simonović (2012). Record of the brown trout *Salmo trutta* L., 1758 in the main riverbed of the Serbian part of the Danube River. *J. Appl. Ichthyology* 28: 135-137, doi: 10.1111/j.1439-0426.2011.01881.x
- (2) Tošić, A., Škraba, D., Nikolić, V., Mrdak, D. & P. Simonović, (2014). New Mitochondrial DNA Haplotype of Brown Trout *Salmo trutta* L. from Crni Timok Drainage Area in Serbia. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14: 37-42, doi: 10.4194/1303-2712-v14_1_05
- (3) Simonović, P., Vidović, Z., Tošić, A., Škraba, D., Čanak-Atlagić, J. & V. Nikolić (2015). Risks to stocks of native trout of the genus *Salmo* (Actinopterygii: Salmoniformes: Salmonidae) of Serbia and management for their recovery. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 45 (2): 161-173, doi: 10.3750/AIP2015.45.2.06

- (4) Tošić, A., D. Škraba, V. Nikolić, J. Čanak Atlagić, D. Mrdak & P. Simonović (2016). Haplotype diversity of brown trout in the broader Iron Gate area. *Turkish Journal of Zoology* 40: (in press), doi: 10.3906/zoo-1510-54 (<https://journals.tubitak.gov.tr/zoology/inpress.htm>).

Mišljenje i predlog komisije

Na osnovu svega iznetog, Komisija smatra da doktorska disertacija Ane Tošić „FILOGEOGRAFSKI STATUS I GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJA POTOČNE PASTRMKE (*SALMO CF. TRUTTA*) ĐERDAPA I TIMOČKE KRAJINE“ predstavlja originalni doprinos istraživanjima diverziteta i filogeografskog statusa pastrmskih vrsta (Salmonidae: Salmoninae: *Salmo* spp.) sa područja najistočnijeg dela zapadnog Balkana kao specifičnog i za evolucionu istoriju bitnog dela fonda potočnih pastrmki.

U izradi disertacije kandidat je pokazao zavidan stepen poznavanja naučne osnove problematike, dobro postavio hipoteze i ciljeve, primenio adekvatne savremene metode istraživanja i obrade dobijenih rezultata, koje je kritički diskutovao uz iscrpne podatke iz literature.

Sa aspekta primene, rezultati ove disertacije upotpunjavaju znanje o diverzitetu potočnih pastrmki i o statusu populacija u području istraživanja, što je od velikog značaja za primenu konzervacionih mera predloženih u okviru doktorske disertacije, posebno kada je u pitanju ribolovna atraktivnost i ribarstveni značaj crnorečkog-timočkog fonda potočnih pastrmki u Srbiji i njegovov održivo ribarstveno korišćenje.

Objavlivanjem radova u kojima je iznela deo svojih rezultata iz istraživanja koja su u okviru prijavljene doktorske disertacije u međunarodnim naučnim časopisima kategorije M23, od kojih je na dva rada prvi autor, Ana Tošić stekla je formalne uslove da brani doktorsku disertaciju.

Na osnovu svega navedenog, Komisija predlaže Nastavno-naučnom Veću Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati izveštaj i odobri javnu odbranu doktorske disertacije Ane Tošić „FILOGEOGRAFSKI STATUS I GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJA POTOČNE PASTRMKE (*SALMO CF. TRUTTA*) ĐERDAPA I TIMOČKE KRAJINE“.

Ukoliko Nastavno-naučno veće prihvati izveštaj, u Komisiju za odbranu doktorske disertacije predlažu se dr Dušanka Savić-Pavićević, vanredni profesor Univerziteta u Beogradu-Biološkog fakulteta, dr Tea Tomljanović, docent Sveučilišta u Zagrebu-Agronomskog fakulteta i dr Danilo Mrdak, docent Univerziteta Crne Gore-Prirodno-matematičkog fakulteta.

Beograd, 27.09.2016. godine

Komisija:

Dušanka Savić-Pavićević, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu-Biološki fakultet

dr Tea Tomljanović, docent
Sveučilište u Zagrebu-Agronomski fakultet

dr Danilo Mrdak, docent
Univerzitet Crne Gore-Prirodno-matematički fakultet