

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ**

**ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ ЉИЉАНЕ ШАШИЋ
ЗОРИЋ**

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију</p> <p>15.03.2018. Наставно-научно веће Природно-математичког факултета, Универзитет у Новом Саду</p>
<p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>др Анте Вујић, редовни професор, Заштита животне средине, 07.06.2006., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду - Председник</p> <p>др Михајла Ђан, ванредни професор, Генетика, 17.07.2013., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду - Ментор</p> <p>др Gunilla Ståhls-Mäkelä, доцент, Систематика и таксономија Diptera, 03.06.2008., Природњачки музеј, Универзитет у Хелсинкију, Финска – Ментор</p> <p>др Невена Величковић, доцент, Генетика, 01.03.2015., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду - Члан</p> <p>др Наташа Кочиш Тубић, научни сарадник, Генетика, 30.09.2015., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду - Члан</p> <p>др Зорица Недељковић, научни сарадник, Зоологија, 26.09.2012., Институт БиоСенс, Универзитет у Новом Саду - Члан</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Љиљана Зоран Шашић Зорић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 30. октобар 1988. Вуковар, Р. Хрватска</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив</p> <p>Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, Мастер</p>

академске студије биологије, модул Молекуларна биологија, Мастер биолог

4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија

2012. година, доктор наука – биолошке науке

5. Назив факултета, назив мастер тезе, научна област и датум одбране:

Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду
„Диверзитет COI региона митохондријалне ДНК у роду *Chrysotoxum* Meigen, 1803 (Diptera, Syrphidae)”
Биологија (Генетика), 13.09.2012.

6. Научна област из које је стечено академско звање мастер: **Биологија**

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Молекуларни диверзитет *Merodon aureus* групе (Diptera: Syrphidae)

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графика и сл.

Докторска дисертација „Молекуларни диверзитет *Merodon aureus* групе (Diptera: Syrphidae)” кандидаткиње Љиљане Шашић Зорић обухвата детаљну анализу молекуларног диверзитета *Merodon aureus* групе. Анализа је укључивала укупно 42 врсте, односно 11 комплекса врста. Молекуларни диверзитет је описан применом анализа секвенци COI региона мтДНК и 28S рРНК као и додатним нуклеарним вангенским маркерима (ISSR). Молекуларни диверзитет је описан кроз различите параметре, и сагледан у светлу таксономских апликација унутар групе. Дисертација је написана на 220 страна и подељена у 11 поглавља (Увод - 2 стране, Преглед литературе – 15 страна, Циљеви – 1 страна, Радне хипотезе – 1 страна, Материјал и методе – 15 страна, Резултати – 80 страна, Дискусија – 20 страна, Закључак – 2 стране, Литература – 15 страна, Прилози – 46 страна, Extended abstract – 23 стране). Дисертација садржи 47 табела, 65 слика, 5 прилога, 158 литературних навода и проширени абстракт на енглеском језику. На почетку дисертације налази се Посвета, Захвалница, Садржај, Листа табела и Листа илустрација. На крају је дата кратка Биографија кандидаткиње и Кључна документацијска информација на српском и енглеском језику.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У поглављу УВОД наглашен је значај сагледавања свеукупног постојећег

биодиверзитета врста на Земљи. Наглашен је значај инсекатских врста у природи са посебним акцентом на врсте које су опрашивачи биљака, а међу којима су и осолике муве. Указано је на проблем великог броја криптичних врста код инсеката. Указано је на допринос примене молекуларних маркера у сагледавању диверзитета криптичних врста. Образложена је потреба за дубљом анализом *Merodon aureus* групе применом молекуларних маркера. Комисија сматра да је поглавље Увод концизно и да по садржају адекватно уводи у проблематику докторске дисертације.

Поглавље ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ садржи 5 потпоглавља. На почетку је дат детаљан и систематизован преглед постојећих сазнања о диверзитету врста *Merodon aureus* групе. Образложен је концепт интегративног приступа у таксономији, са посебним освртом на осолике муве. Дат је кратак преглед најчешће анализираних молекуларних маркера у молекуларној таксономији и филогенији осоликних мува. Затим су приказани основни принципи на којима се заснива таксономија криптичних врста, са посебним освртом на осолике муве. У последњем потпоглављу кратко су образложене основне одлике биодиверзитета Медитеранске регије, као доминантне области распрострањења врста *M. aureus* групе. Комисија оцењује да је поглавље Преглед литературе систематично и свеобухватно приказано.

У наредном поглављу кандидаткиња поставља следеће ЦИЉЕВЕ ИСТРАЖИВАЊА:

1. Израчунавање параметара молекуларног диверзитета унутар и између врста *Merodon aureus* групе;
2. Предлагање граница врста између таксона у оквиру *Merodon aureus* групе врста на основу дивергенције секвенци цитохром ц оксидазе I (COI) и 28S рРНК гена; С обзиром на присуство криптичних таксона, очекује се да *M. aureus* група обухвата већи број различитих врста сирфида. Како су криптичне врсте у оквиру групе практично неодвојиве на основу морфологије, утврђивање молекуларне дивергенције у интеграцији са подацима других релевантних дисциплина би могло да помогне у решавању таксономије групе.
3. Предлагање вероватног филогеографског сценарија *Merodon aureus* групе врста и објашњење специјације таксона унутар *M. aureus* групе; Претпоставља се да су драматичне климатске промене током Плеистоцена имале утицај на процес диверзификације унутар *M. aureus* групе. Смене периода глацијација и интерглацијација могли су условити раздавајање популација и прекид протока гена уз брзу диверзификацију криптичних таксона.
4. Формирање базе секвенци COI и 28S рРНК гена таксона *Merodon aureus* групе врста; Очекује се да ће формирање базе секвенци за врсте *M. aureus* групе допринети општем увиду у варијабилност секвенци COI и 28S рРНК гена између криптичних врста рода *Merodon*.

Кандидаткиња је јасно дефинисала циљеве докторске дисертације.

На основу прегледа литературе, кандидаткиња поставља следеће РАДНЕ

ХИПОТЕЗЕ:

1. Варијабилност секвенци COI гена указује на диверзификацију *Merodon aureus* групе на већи број криптичних врста.
2. Варијабилност секвенци 28S рРНК гена може бити значајна као допуна уз дивергенцију секвенци COI гена у таксономији неких од таксона *Merodon aureus* групе.
3. COI хаплотипови су јединствени за хипотетичке врсте *Merodon aureus* групе.
4. Географске баријере и прекид протока гена су условили брзу молекуларну диверзификацију *Merodon aureus* групе.
5. Процес специјације врста у оквиру *Merodon aureus* групе одвијао се под утицајем драстичних климатских промена у прошлости.

Радне хипотезе су постављене у складу са досадашњим ставовима и постављеним циљевима.

Поглавље МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ садржи два потпоглавља, у оквиру којих су наведени подаци о сакупљеном материјалу и образложен начин обраде и анализе истог. Дати су подаци о броју сакупљених узорака, локалитетима сакупљања, легатори и период у ком су узорци сакупљени. У делу везаном за методологију дат је детаљан приказа примењених протокола изолације ДНК из инсекатског материјала, амплификације анализираних генских региона, визуелизације продуката амплификације и припреме за секвенционирање. У делу који је посвећен статистичким методама обраде резултата детаљно су образложене примењене методе статистичке обраде, наведени су разлози због којих су одабрани примењени тестови и програмски пакети, дати су детаљи анализа и образложен је начин дефинисања појединих параметара у програмским пакетима. Комисија сматра да је поглавље Материјал и методе детаљно, свеобухватно и да обезбеђује све неопходне податке.

У шестом поглављу приказани су РЕЗУЛТАТИ истраживања. Поглавље је подељено у 9 потпоглавља. У првом делу су резултати приказани структурирано по подгрупама/комплексима, након чега је дат сумиран приказ резултата за целу *Merodon aureus* групу. У последњем потпоглављу приказани су резултати скрининга врста *M. aureus* групе на *Wolbachia* инфекцију. За сваку подгрупу/комплекс приказани су резултати анализе секвенци митохондријалног COI гена и нуклеарног 28S рРНК гена, а за *luteomaculatus* комплекс приказани су и резултати анализе ISSR маркера. Показано је да су секвенце COI гена варијабилније у односу на секвенце нуклеарног 28S рРНК у свим анализираним подгрупама/комплексима. Показано је да ISSR маркери доприносе делимитацији врста *luteomaculatus* комплекса. Додатно, резултати скрининга указују на високу заступљеност *Wolbachia* инфекције у *Merodon aureus* групи. Поред текстуалног приказа, Резултати су приказани табеларно и графички, уз двојезичне називе табела и слика, те Комисија сматра да су резултати истраживања систематично изложени, јасно приказани и адекватно сумирани.

У делу ДИСКУСИЈА приказана је критичка анализа и интерпретација добијених

експерименталних резултата. Поглавље је подељено на три подпоглаваља. У првом подпоглављу дискутован је молекуларни диверзитет *Merodon aureus* групе утврђен анализом секвенци митохондријалног COI гена и нуклеарног 28S рРНК гена, а за *luteomaculatus* комплекс и ISSR анализом. Добијени резултати тумачени су у светлу примењених метода. Указано је на значајну варијабилност секвенци COI гена по подгрупама/комплексима врста и показано да је највећи део те варијабилности заправо варијабилност између врста. Потврђено је да су секвенце 28S рРНК гена конзервативније у односу на секвенце COI гена. Истакнут је потенцијал ISSR маркера у анализи молекуларног диверзитета групе и објашњене предности и недостаци њихове примене. Након тога, у другом подпоглављу дискутовани су резултати тестирања јединки *M. aureus* групе на *Wolbachia* инфекцију. Објашњен је утицај који ова бактерија може имати на еволуцију митохондријалне ДНК. Показано је да све инфициране врсте из групе садрже *Wolbachia* супергрупу А. Указано је на инфекцију различитим сојевима супергрупе А и дискутован утицај инфекције на генеалогичку COI гена у *M. aureus* групи. У трећем подпоглављу је дискутована примена уоченог молекуларног диверзитета у решавању таксономског статуса комплекса врста *M. aureus* групе, дато је тумачење специјације и дискутован могућ филогеографски сценарио појединачних комплекса врста.

У оквиру поглавља ЗАКЉУЧАК, на основу добијених резултата наведени су закључци који су правилно изведени и јасно и разумљиво формулисани у складу са постављеним циљевима и хипотезама докторске дисертације.

Наредно поглавље, Литература, садржи списак литературних навода цитираних у дисертацији, укупно 158. Сви литературни наводи су уско везани за проблематику истраживања.

Дисертација садржи 5 прилога у поглављу ПРИЛОЗИ: Прилог 1 – садржи табелу са списком узорака, Прилог 2 – садржи *Neighbor-joining* стабла за подгрупе/комплексе врста, Прилог 3 – чине мапе дистрибуције врста по локалитетима узорковања, Прилог 4 – садржи табелу дистрибуције COI хаплотипова по државама и табелу 28S генотипова, Прилог 5 – садржи листу секвенци 16S рРНК гена *Wolbachia* А и В супергрупа присутних у инсекатским домаћинима.

На крају дисертацији налази се поглавље EXTENDED ABSTRACT писано на енглеском језику. Ово поглавље је проширени сажетак садржаја дисертације и садржи основне информације из свих основних поглаваља, од Увода до Закључка. У овом делу дат је преглед резултата и сажета дискусија истих са наглашеним основним закључцима, уз адекватно позивање на Табеле и Слике у раду.

VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Резултати истраживања докторске дисертације објављени су у следећим научним радовима:

а) M21a, Рад у међународном часопису изузетних вредности

1. Snežana Radenković, Ljiljana Šašić Zorić, Mihajla Djan, Dragana Obreht Vidaković, Jelena Ačanski, Gunilla Ståhls, Nevena Veličković, Zlata Markov, Theodora Petanidou, Nataša Kočiš Tubić, Ante Vujić (2017) Cryptic speciation in the *Merodon luteomaculatus* complex (Diptera: Syrphidae) from the eastern Mediterranean. J Zool Syst Evol Res. doi:10.1111/ jzs.12193 **M21a, IF: 2.444 (2016)**

б) M21, Рад у врхунском међународном часопису

2. Ljiljana Šašić, Jelena Ačanski, Ante Vujić, Gunilla Ståhls, Snežana Radenković, Dubravka Milić, Dragana Obreht Vidaković, Mihajla Đan (2016) Molecular and morphological inference of three cryptic species within the *Merodon aureus* species group (Diptera: Syrphidae). PLoS ONE 11(8): e0160001. doi:10.1371/journal.pone.0160001 **M21, IF: 2.806 (2016)**

в) M34, Саопштење са међународног скупа штампано у изводу

3. Ljiljana Šašić, Dragana Obreht, Mihajla Đan, Ante Vujić (2014) Examination of genetic differentiation in Greek populations of *Merodon luteomaculatus* (Diptera, Syrphidae) using two fragments of COI gene. 5th Congress of the Serbian Genetic Society, Belgrade (Kladovo), Serbia, Abstract book V-09 P. **M34**
4. Nevena Veličković, Mihajla Đan, Dragana Obreht Vidaković, Gunilla Ståhls, Ljiljana Šašić, Snežana Radenković, Jelena Ačanski, Ante Vujić (2015) Genetic species concept within genus *Merodon* (Diptera, Syrphidae). 8th International Symposium on Syrphidae, Monschau, Germany, Programme and Abstracts p 67. **M34**
5. Ljiljana Šašić, Dragana Obreht, Mihajla Đan, Jelena Ačanski, Marija Miličić, Ante Vujić (2015) How to use the DNA barcoding in the discovery of cryptic species - *Merodon aureus* group. III Симпозијум биолога и еколога Републике Српске (СБЕРС), Бања Лука, Република Српска (БиХ), Зборник Сажетака р 21-22. **M34**
6. Gunilla Ståhls, Ljiljana Šašić Zorić, Mihajla Đan (2017) First records for the bacterial endosymbiont *Wolbachia* in phytophagous hoverflies (Diptera, Syrphidae: *Merodon*). 9th International Symposium on Syrphidae, Curitiba, Brazil, Program and Abstracts p 78-79. **M34**

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу резултата истраживања, кандидаткиња изводи следеће закључке:

- Молекуларни диверзитет врста *Merodon aureus* групе проучаван је анализом варијабилности COI гена и 28S рРНК гена. Формирана је база секвенци COI и 28S рРНК гена.

- Резултати су представљени конструкцијом филогенетских стабала, МЈ мреже хаплотипова/генотипова и израчунавањем параметара генетичког диверзитета (N - број секвенци, S - број полиморфних позиција, h - број хаплотипова, Hd - диверзитет хаплотипова, K - просечан број разлика, Pi - диверзитет нуклеотида).
- Резултати су указали на присуство криптичних комплекса врста унутар *Merodon aureus* групе: *M. aureus* комплекс, *M. unicolor* комплекс, *M. caeruleus* комплекс, *M. atratus* комплекс, *M. cinereus* комплекс, *M. luteomaculatus* комплекс, *bessarabicus* комплекс, *sapphous* комплекс, *M. ambiguus* комплекс, *chalybeus* комплекс, *M. dobrogensis* комплекс.
- Специјација унутар комплекса може се објаснити у светлу геолошке историје анализираниог региона, драстичних климатских промена током Плеистоцена и фрагментацијом хабитата по острвском типу.
- Потврђен је висок молекуларни диверзитет *Merodon aureus* групе за анализирани митохондријални маркер, COI ген.
- COI ген има потенцијал у молекуларној таксономији групе
- Филогенетски односи између врста нису јасно разрешени на основу анализе COI гена, нити у комбинованој анализи са секвенцама 28S рРНК гена. Секвенце 28S рРНК гена су се у већини случајева показале као конзервативне за утврђивање дивергенције између врста, али могу бити значајне у дефинисању комплекса или подгрупа.
- ISSR се показао као потенцијално значајан маркер за таксономију групе.
- Показано је присуство ендосимбионтске бактерије из рода *Wolbachia* код свих анализираних врста изузев *M. balkanicus* што је могло да утиче на еволуцију мтДНК и допринесе стварању „нелогичних“ веза на фиогенетским стаблима.
- Врсте код којих је потврђена *Wolbachia* инфекција заражене су *Wolbachia* супергрупе А.
- С обзиром да већина комплекса обухвата блиско сродне врсте са кратком независном еволуцијом, процеси попут интрогресије и непотпуног раздвајања генских линија су додатно могли да маскирају стварну слику еволутивних односа између врста.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Резултати приказани у дисертацију су јасни и свеобухватни. С обзиром на комплексност резултата структуриран приказ је значајно олакшао праћење. Велики број илустрација и табела додатно олакшава сагледавање суштине резултата. Тумачење резултата је јасно приказано и логички повезано са постојећом литературом. Кроз детаљну дискусију резултата изведени су закључци који дају директне одговоре на постављене циљеве докторске дисертације. Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачење резултата истраживања.

Напомена: докторска дисертација је у библиотеци ПМФ-а прошла проверу плагијарности применом софтвера iThenticate, који је показао да "similarity index" износи 6% (према упутству произвођача све вредности испод 15% представљају оригиналан рад).

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Комисија оцењује да је докторска дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Дисертација садржи све битне елементе: јасно дефинисану тему и значај истраживања, преглед постојећих истраживања и научне заснованости истраживања, јасно дефинисане циљеве и постављене радне хипотезе, приказ материјала и методологије рада, систематичан приказ резултата и адекватну дискусију у светлу постојећих истраживања. Закључци су правилно изведени на основу добијених резултата и приказан је списак коришћене литературе.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Резултати докторске дисертације представљају значајан допринос сагледавању молекуларног диверзитета и разјашњењу таксономског статуса већег броја криптичних врста осоликних мува *Merodon aureus* груп које другим приступима не би могле бити јасно дефинисане. Резултати јасно указују на информативност одабраних молекуларних маркера (COI, 28S, ISSR) у анализи молекуларног диверзитета осоликних мува. Додатно, добијени резултати указују на могуће потешкоће и ограничености у примени изабраних молекуларних маркера. Дисертација је резултат оригиналних истраживања кандидаткиње и наглашава важност примене молекуларних метода у истраживањима биодиверзитета инсекатских врста. Истраживање представља оригинално и до сада најшире истраживање молекуларног диверзитета испитиване групе.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Комисија сматра да докторска дисертација нема недостатака који би утицали на тачност резултата истраживања и изведене закључке.

Комисија оцењује да је дисертација написана у складу са постављеним циљевима, да су одабране адекватне методе, да су резултати јасни и исцрпни, а дискусија у складу са добијеним резултатима.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

Комисија предлаже да се докторска дисертација „Молекуларни диверзитет *Merodon aureus* групе (Diptera: Syrphidae)” кандидаткиње Љиљане Шашић Зорић прихвати, а кандидату одобри одбрана.

Нови Сад, 16.04.2018.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

др Анте Вујић, редовни професор, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду

др Михајла Ђан, ванредни професор, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду

др Gunilla Ståhls-Mäkelä, доцент, Природњачки музеј у Хелсинкију, Универзитет у Хелсинкију, Финска

др Невена Величковић, доцент, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду

др Наташа Кочиш Тубић, научни-сарадник, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду

др Зорица Недељковић, научни-сарадник, Институт БиоСенс, Универзитет у Новом Саду

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.