

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На I редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 11.10.2019. године, на основу молбе ментора, др Марине Стаменковић - Радак, редовног професора Биолошког факултета Универзитета у Београду и др Весне Миланков, редовне професорице Департмана за биологију и екологију, Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације **Марка Р. Ђуракића**, асистента Департмана за биологију и екологију, Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду под насловом: „**Популациона анализа морфолошке варијабилности и компаративна генска генеалогичка шумање (Testudo hermanni boettgeri)**“, у саставу:

- др Марина Стаменковић - Радак, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду,
- др Весна Миланков, редовна професорица Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду,
- др Јасмина Лудошки, ванредна професорица Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду
- др Ана Ивановић, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду

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

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација **Марка Р. Ђуракић** под насловом: „**Популациона анализа морфолошке варијабилности и компаративна генска генеалогичка шумање (Testudo hermanni boettgeri)**“ је урађена у Лабораторији за еволуциону биологију Департмана за биологију и екологију Природно-математичког факултета, Универзитет у Новом Саду, а у оквиру пројекта „Динамика генофонда, генетичка и фенотипска варијабилност популација у зависности од променљивости средине“ (руководилац академик Марко Анђелковић). Дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику, Страну са подацима о менторима и члановима комисије, Захвалницу, Стране са подацима о докторској дисертацији на српском и енглеском језику (Резиме, Кључне речи, Научна област, Ужа научна област и УДК број), Садржај, Текст рада по поглављима, Биографију аутора и попуњене и потписане изјаве (Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада, Изјава о коришћењу).

Докторска дисертација је написана на 117 страна и садржи 16 табела (2 у поглављу Материјал и методе и 14 у поглављу Резултати), 28 слика (5 у поглављу Увод, 4 у поглављу Материјал и методе и 19 у поглављу Резултати) и 277 библиографске јединице. Пагинирани текст подељен је у 7 поглавља: **Увод** (17 страна), **Циљеви истраживања** (1 страна), **Материјал и методе** (18 страна), **Резултати** (35 страна), **Дискусија** (21 страна), **Закључци** (2 стране), **Литература** (23 стране), **Прилог** (7 страна).

Јединке *Testudo hermanni boettgeri* коришћене у овом раду су из природних популација, а пошто је врста заштићена узорковање јединки је рађено на основу дозвола за узорковање добијених од стране релевантних институција у државама које законски прописују ову обавезу у моменту вршења теренског истраживања (Република Црна Гора: 02-УПИ-625/1; Република Хрватска: 517-07-1-1-1-12-2; Република Грчка: ВЕА20-П1А; Република Србија: 119-01-5/17/2014-09).

Анализа докторске дисертације

Предмет докторске дисертације је анализа молекуларне и морфолошке варијабилности популација шумске корњаче са Балканског полуострва. Варијабилност јединки *Testudo hermanni boettgeri* пореклом са 36 локалитета утврђена је помоћу два молекуларна маркера митохондријалног генома (*12S rRNA* и *cytb*) и анализом облика оклопа (карапакса и пластрона) применом геометријске морфометрије. Генска генеалогичка, филогеографска структура и предеона генетика базиране на молекуларним подацима су биле основа за класификацију популација *T. h. boettgeri* у три генетичке/еволуционе линије. Варијабилност облика карапакса и пластрона разматрана је у односу на три еволуционе линије *T. h. boettgeri* укључујући и варијабилност између полова.

Кандидат је поглавље **Увод** поделио на три целине обављајући основност истраживања и примењених метода и анализа. У првом делу кандидат је указао на значај проучавања интраспецијске варијабилности и интерспецијске дивергенције, истичући хијерархијску структурираност варијабилности на унутариндивидуалну, међуиндивидуалну, интраспецијску и интерспецијску. У оквиру овог потпоглавља је кандидат указао на проблем детектовања и разликовања интраспецијске и интерспецијске варијабилности због разлика између теоријског дефинисања (концептуализације) врсте у биологији у односу на оперативност њеног детектовања. Наглашена је значајност формалне препознатљивости интра- и интерспецијске варијабилности у процени биолошког диверзитета, конзервационим програмима и управљању природних ресурса. У оквиру другог потпоглавља кандидат је прегледом најзначајнијих истраживања указао на таксономску позицију врсте *Testudo hermanni* са нагласком на валидност молекуларних маркера и морфолошких карактера коришћених током ревизија саме врсте и рода *Testudo*. Евалуацијом досадашњих истраживања указано је да таксономске нејасноће и претпоставке о постојању криптичног диверзитета имају апликативне последице, посебно оне које се односе на конзервационе програме заштите *T. hermanni*. У трећем потпоглављу је кандидат разматрао молекуларну и морфолошку варијабилност врсте *Testudo hermanni* са аспекта примене различитих метода у квантификавању варијабилности молекуларних

маркера и морфолошких карактера. Представљајући најважније резултате истраживања генетичке варијабилности и диференцијације популација шумске корњаче кандидат је указао на одсуство консензуса и потребе за додатним анализама. Приказани су најзначајнији налази популационо морфолошких студија шумске корњаче. Наглашене су предности геометријске у односу на традиционалну (линеарну) морфометрију, посебно у контексту идентификације недавно дивергираних популација које испољавају низак степен морфолошких разлика. Кандидат је указао на значај заједничке употребе геометријске морфометрије и генетичких података у детекцији интраспецијске варијабилности са потенцијалним таксономским и конзервационим импликацијама код *T. hermanni boettgeri* и *T. marginata*.

У оквиру поглавља **Циљеви истраживања** јасно су дефинисани општи и специфични циљеви студије. Анализа молекуларне и фенотипске варијабилности источне подврсте *Testudo hermanni boettgeri* хијерархијски је структурирала генеалогiju врсте *T. hermanni*, и мултилокусну анализу просторне варијабилности *T. h. boettgeri*. На основу генетичких анализа варијабилности *12S rRNK* и *cytb mtDNK*, дефинисане су групе (генетички кластери) који су коришћени у статистичкој анализи облика карапакса и пластрона применом геометријске морфометрије. Морфолошка анализа је урађена између дефинисаних генетичких кластера као и унутар кластера како би се детектовале евентуалне разлике у полном диморфизму, односно, евентуална за пол специфична дивергенција између генетичких кластера. Сходно томе, анализиран је 1) интензитет и образац полног диморфизма *T. h. boettgeri* 2) морфолошка дивергенција генетичких кластера на основу варијабилности облика пластрона и карапакса. Коначно, тестирана је усаглашеност генетичких и молекуларних анализа у детектовању интраспецијске дивергенције популација *T. h. boettgeri* као и њихова оперативност у таксономским и конзервационим студијама и стратегијама.

У оквиру поглавља **Материјал и методе** кандидат је дао детаљан преглед локалитета јединки и популација коришћених у молекуларним и геометријско-морфометријским анализама, као и податке (секвенце *cytb mtDNK* и *12S rRNK*) преузете из Банке гена. У оквиру потпоглавља Методе молекуларне анализе, кандидат је детаљно навео протоколе за ДНК екстракцију, амплификацију и методе коришћене у статистичкој обради података ДНК варијабилности. У оквиру потпоглавља Методе фенотипских анализа, кандидат је детаљно представио методе фотографисања, дигитализовања одабраних тачака на пластрону и карапаксу и методе статистичке обрада података морфолошке варијабилности.

Варијабилност и диверзитет *T. h. boettgeri* анализирани су на узорку који обухвата 36 локалитета на Балканском полуострву. Анализе молекуларне варијабилности *12S rRNK* и цитохрома *b* митохондијских гена, као и анализе облика карапакса и пластрона су у поглављу **Резултати** изнете на прегледан и систематичан начин у виду два потпоглавља. Молекуларна варијабилност *T. h. boettgeri* је структурирана на више делова који се односе на генеалогiju *12S rRNK* врсте *T. hermanni*, генеалогiju *cytb mtDNK T. h. boettgeri* и мултилокусну анализу просторне варијабилности *T. h. boettgeri*. У анализи варијабилности *T. hermanni* на основу расположивих и *de novo* секвенци *12S rRNK*, кандидат је користио више метода у конструкцији мреже хаплотипова, просторне дистрибуције варијабилности

и филогенији са нагласком на евалуацију доступних података. Дефинишући три генетичка кластера *T. h. boettgeri* на Балканском полуострву, кандидат је квантификовао степен генетичке диференцијације, као и време њихове дивергенције. На основу анализе просторне дистрибуције генетичке варијабилности *12S rRNA* указано је и на подручја могућих хибридних зона између дефинисаних дивергентних еволуционих линија. Методама просторне генетике и филогенетске реконструкције засноване на Бајесовој методи утврђена су два *cytb mtDNA* кластера у оквиру *T. h. boettgeri*, као и степен генетичке диференцијације и време њихове дивергенције. У последњем делу анализе молекуларне варијабилности, мултилокусном анализом просторне варијабилности *T. h. boettgeri* дефинисана су три генетичка кластера која су у сагласности са подацима *12S rRNA* маркера. У другом делу студије, кандидат је анализирао варијабилност облика карапакса и пластрона *T. h. boettgeri* помоћу геометријске морфометрије. Резултати овог дела су структурирани на тестирање ефекта грешке фотографисања, ефекта алометрије, пола, генетичких кластера и њихове међусобне интеракције у односу на укупну варијабилност карапакса и пластрона *T. h. boettgeri*. Показано је да ефекат алометрије, пола и генетичких кластера статистички значајно утичу на структурирање варијабилности облика пластрона и карапакса *T. h. boettgeri*. Анализом полног диморфизма облика карапакса и пластрона кандидат је указао на одсуство конзистентности полног диморфизма облика оклопа између три генетичке групе *T. h. boettgeri*. Независном анализом женки и мужјака утврђене су статистички значајне разлике у облику пластрона и карапакса између три генетичка кластера/линије. Кандидат је анализирао и упоредио фенотипску варијансу (мера каналисаности развића) између три генетичка кластера за сваки пол посебно. Утврђено је да се фенотипска варијанса три генетичка кластера разликује код мужјака али не и код женки шумске корњаче, што уз претходне резултате обрасца полног диморфизма указује на присуство за пол специфичне дивергенције облика оклопа код шумске корњаче. Коначно, кандидат је указао на разлике између карапакса и пластрона у детекцији полова и генетичких кластера *T. h. boettgeri*.

У поглављу **Дискусија** кандидат је добијене резултате критички разматрао у светлу савремених литературних података. У оквиру првог потпоглавља Молекуларна варијабилност и генеалогичка структура гена *12S rRNA* и *cytb mtDNA* кандидат је анализирао сопствене податке и публиковане податке о молекуларној варијабилности шумске корњаче пруживши детаљан увид у молекуларну еволуцију и информативну вредност коришћених маркера. Кандидат је нагласио да утврђене значајне разлике у времену дивергенције *Testudo* таксона указују на важност у пажљивом избору молекуларних маркера у контексту реконструкције еволуционе историје и таксономске позиције групе. Резултати су дискутовани у светлу разјашњавања несугласица досадашњих генетичких студија на *T. h. boettgeri*. Наиме, ова теза је указала на присуство три алопатричке филогеографске групе шумске корњаче на Балканском полуострву: Запад, Исток и Пелопонез.

Обрасци варијабилности облика карапакса и пластрона *T. h. boettgeri* су разматрани у другом потпоглављу Дискусије. Подаци у студији који су указали да је облик карапакса и пластрона изразито полно диморфан, као и да је ефекат полног диморфизма вишеструко већи у структурирању варијабилности облика карапакса и пластрона у односу на ефекат генетичких кластера су дискутовани у контексту доступних знања о адаптивном значају

и специфичностима развића ових морфолошких структура. У овом делу је кандидат указао да је однос величине и облика (статичке алометријске трајекторије) како код карапакса, тако и пластрона специфичан за сваки пол, тј. да су алометријске трајекторије различите између мужјака и женки, што није указано претходним студијама. Кандидат је дискутовао и разлику у степену и обрасцима полног диморфизма између група дефинисаним генетичким кластерима указујући да је дивергенција облика специфична за пол, што није указано претходним студијама. У оквиру трећег дела који се односи на варијабилност дивергентних линија *T. h. boettgeri*, дискутована је диференцијација у облику карапакса и пластрона између генетичких кластера Запад, Исток и Пелопонез. Такође, разлика у дистрибуцији фенотипске варијансе дискутована је са аспекта каналисаности развића и модела деловања природне селекције на мужјаке и женке. Коначно, кандидат указује на значај геометријске морфометрије у детектовању генетичких/таксономских ентитета код корњача и сагласност морфолошких и генетичких података изнетих у докторској тези.

У трећем потпоглављу је на основу Бајесове филогенетске реконструкције и анализе која експлицитно узима у обзир просторну дистрибуцију варијабилности *12S rRNA* гена (сагласно са мултилокусном анализом *12S rRNA* + *cytb mtDNA*) дискутована филогеографска структура *T. h. boettgeri*, на популације које географски кореспондирају са три еволуционе линије (Запад, Исток и Пелопонез). Кандидат је утврђену филогеографску структуру разматрао у контексту еволуционих процеса и биogeографске историје Балканског полуострва.

У четвртом потпоглављу је кандидат дискутовао таксономске импликације утврђене просторне дистрибуције молекуларне и фенотипске варијабилности. Кандидат је разматрао питање повезаности између филогеографије и обрасца алопатричке специјације, тј. импликације регистрованих филогеографских линија у таксономској подели *T. hermanni* указујући на потребу таксономске ревизије анализираних таксона.

У петом потпоглављу кандидат свеобухватно образлаже конзервациони значај *T. hermanni*, врсте која је глобално категорисана као готово угрожена врста (*Near Threatened*), са нагласком да је због непотпуних података предложена њена рекатегоризација. Кандидат наглашава да резултати студије имају конзервационе импликације јер је детекцијом дивергентних еволуционих линија сугерисано на криптични генетички и таксономски диверзитет чиме су обезбеђени додатни подаци за реевалуацију конзервационог статуса врсте *T. hermanni*. Такође, ДНК подаци из студије значајно ће допринети формирању ДНК базе података угрожених гмизаваца Медитеранског подручја, који је препознат као центар диверзитета. Коначно, кандидат наглашава да би стратегија заштите врсте *T. hermanni* требала да буде фокусирана на регионе са ендемизмом (Пелопонез) и великим интраспецијским диверзитетом (Грчка), као и на регионе хибридних зона у контактним областима дивергентних линија *T. h. boettgeri*.

Кандидат је у поглављу **Закључци** сумирао најважније резултате и у складу са запажањима датим у оквиру Дискусије изнео следеће закључке:

1. Методама предеоне генетике и филогенетским анализама *12S* rRNA гена утврђено је да су популације *T. h. boettgeri* на Балканском полуострву структуриране у три алопатричке линије: 1) “*T. h. boettgeri* Zapad” која обухвата популације дуж обале Хрватске, Босне и Херцеговине, Црне Горе и Албаније, као и из Епира и северног дела Македоније у Грчкој; 2) “*T. h. boettgeri* Peloponez” која обухвата популације са Пелопонеза у Грчкој; 3) “*T. h. boettgeri* Istok” која обухвата популације континенталног дела Балкана;
2. Генетичким анализама гена *cytb* mtDNA је таксон *T. h. boettgeri* структуриран на два генетичка кластера: 1) “*T. h. boettgeri* Zapad” који обухвата популације дуж обале Хрватске, Босне и Херцеговине, Црне Горе и Албаније, као и из Епира и северног дела Македоније у Грчкој; 2) “*T. h. boettgeri* Peloponez” + “*T. h. boettgeri* Istok” који обухвата популације са Пелопонеза у Грчкој и популације континенталног дела Балкана;
3. Мултилокусном анализом (*12S* rRNA + *cytb* mtDNA) је потврђена структурираност *T. h. boettgeri* у три еволуционе линије (генетичка кластера);
4. Молекуларна еволуција и информативна вредност секвенци два митохондијска гена није иста и *12S* rRNA показује већу информативност у контексту детектовања генетичке варијабилности, као и конзистентније време дивергенције у односу на палеонтолошке податке;
5. Постоји изражени полни диморфизам у облику карапакса и пластрона као и у алометријским променама облика;
6. Три генетичке линије могу се дијагностификовати на основу облика оклопа, а интензитет и смер полног диморфизма облика није конзистентан између њих указујући на дивергенцију специфичну за пол;
7. Дивергенција генетичких линија огледа се у различитим, за пол специфичним обрасцима диспаритета, разликама у алометријским променама облика (које су хомогене код женки а хетерогене код мужјака) као и у разликама у каналсаности развића мужјака и женки;
8. Показано је да су облик карапакса и пластрона информативни у детекцији ране дивергенције на супспецијском нивоу указујући на потенцијал геометријске морфометрије у популационим и таксономским студијама корњача;
9. Имајући у виду 1) алопатричку дистрибуцију три дивергентне линије која осликава еволуционе процесе и биогеографску историју Балканског полуострва, 2) могућност морфолошке дијагностификација генетичких линија, 3) образац дивергенције који је типичан за некомплетно линијско сортирање у оквиру номиналне *T. hermanni boettgeri*, показани су концептуални и оперативни аргументи да се три линије могу третирати као засебне подврсте, међутим за таксономску ревизију неопходне су додатне студије;
10. Конзервациони планови и заштита шумске корњаче на Балкану требали би да буду базирани на препознатљивости генетичког и морфолошког диверзитета а не на тренутној таксономији.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Djurakic, M.,** Milankov, V. (2019) Geometric morphometric assessment of genetically divergent populations of *Testudo hermanni boettgeri* (Reptilia: Testudines). Archives of Biological Sciences. doi.org/10.2298/ABS190604043D M23
2. **Djurakic, M.,** Milankov, V. (2019) The utility of plastron shape for uncovering cryptic diversity in Hermann's tortoise. Journal of Zoology. <https://doi.org/10.1111/jzo.12736> M21

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

М34

1. **Djurakic M.** (2016) Tea with Godot – The emergence of the phylomorphogeography as a conceptually valid method for the subspecies inference. The International Bioscience Conference and the 6th International PSU – UNS Bioscience Conference (IBSC 2016). Novi Sad, Serbia. Book of Abstracts: 52-53.
2. **Djurakic M.,** Herrel A. (2016) Physical media influence the rate and pattern of turtle carapace shape evolution. The 11th International Congress of Vertebrate Morphology (ICVM 11). Bethesda, Maryland, USA. Program & Abstracts: 78.
3. Milankov V., Francuski Lj., **Djurakic M.,** Ludoški J. (2015) (In)congruent pattern in variation of molecular markers: Conservation implication. III Simpozijum biologa i ekologa Republike Srpske. Banja Luka, Bosnia and Herzegovina. Book of abstracts: 18.
4. **Djurakic M.,** Milankov V. (2015) Assessing the early stage of divergence: a case study of Hermann's tortoises in the Balkans. III Simpozijum biologa i ekologa Republike Srpske. Banja Luka, Bosnia and Herzegovina. Book of abstracts: 56.
5. **Djurakic M.,** Milankov V. (2015) When morphology meets genes: divergence between western and eastern subclades of Hermann's tortoise in the Balkans. 108th Annual Meeting of the German Zoological Society. Graz, Austria. Book of abstracts: 108.
6. **Djurakic M.,** Milankov V. (2014) Molecular diversity of Hermann's tortoise (*Testudo hermanni boettgeri* Bour, 1987) in the Balkan Peninsula. V Congress of the Serbian Genetic Society. Belgrade, Serbia. Book of abstracts: 182.
7. **Djurakic M.,** Herrel A., Jović V. (2014) Grasping flexibility: evolutionary modularity and developmental origin of carapace integration in Chelonians. 5th Meeting of the European Society for Evolutionary Developmental Biology (EED). Vienna, Austria. Book of abstracts: 221.
8. **Djurakic M.,** Herrel A., Fabre AC., Cornette R. (2013) How accurate do 2D geometric morphometric quantify shell shape in chelonians? 17th SEH European Congress of Herpetology. Veszprem, Hungary. Book of abstracts: 214.
9. **Djurakic M.,** Ludoški J. (2012) Morphological integration of shell shape in Hermann's tortoise. 2nd Symposium of Population and Evolutionary Genetics. Belgrade, Serbia. Book of Abstracts: 22.

БЗ. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја
М64

1. **Djurakic M.**, Herrel A. (2015) Room to maneuver: physical environment constraints the pattern and rate of carapace shape evolution in Chelonians. 12th Croatian Biological Congress. Sveti Martin na Muri, Croatia. Book of abstracts: 57-58.

Провера оригиналности докторске дисертације

Коришћењем програма iThenticate извршена је провера оригиналности докторске дисертације Марка Р. Ђуракић. Извештај је показао индекс подударност од 3%. Увидом у Извештај утврђена су подударња са 33 примарна извора. Подударње са свим изворима је било мање од 1%. Подударње се највећим делом односило на стандардно присутне делове докторских дисертација (назив врста, држава, навођење цитата, уобичајених скраћеница, стручних термина, општих фраза, институција, библиографских података о коришћеној литератури). Увидом у Извештај потврђена је оригиналност резултата докторске дисертације кандидата **Марка Р Ђуракића**, под насловом "**Популациона анализа морфолошке варијабилности и компаративна генска генеалогја шумске корњаче (*Testudo hermanni boettgeri*)**".

Мишљење и предлог Комисије

На основу увида у докторску дисертацију **Марка Р Ђуракића** која је прошла формалну проверу оригиналности и чији смо приказ представиле у извештају, као и приложене библиографије и непосредног увида у рад кандидата, сматрамо да докторска дисертација под насловом: „**Популациона анализа морфолошке варијабилности и компаративна генска генеалогја шумске корњаче (*Testudo hermanni boettgeri*)**“ представља оригиналан научни рад. У овој докторској дисертацији коришћене су савремене молекуларне методе и методе генетичке анализе података у проучавању молекуларне варијабилности, као и савремене методе (2Д геометријска морфометрија) у анализи морфолошке варијабилности. Истраживања су обављена по свим критеријумима добре научно-истраживачке праксе. Резултати су детаљно, систематично представљени и критички дискутовани, а научно засновани закључци су сажето изведени. Ова докторска дисертација представља оригиналан допринос у разумевању молекуларне и фенотипске варијабилности *Testudo hermanni boettgeri*. Резултати рада имају шири научни допринос у разумевању биолошког диверзитета Медитеранског подручја. Осим фундаменталног аспекта, резултати презентовани у дисертацији имају практичну примену у таксономији и систематици, конзервацији и еволуционој морфологији.

Марко Р. Ђуракић је радом на докторској дисертацији исказао изразит аналитички потенцијал, оригиналност у сагледавању, дефинисању и решавању отворених питања, добро познавање теоријске основе и изузетну способност интеграције научних резултата из различитих научних дисциплина. Због тога, допринос научног опуса кандидата се не огледа само у презентованим научним подацима, већ и у постављању чврсте основе будућим научним истраживањима.

На основу свега изнетог, Комисија са задовољством констатује да су испунили сви услови предвиђени Правилником о докторским студијама на Биолошком факултету Универзитета у Београду предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри јавну одбрану докторске дисертације Марка Р. Ђуракића у складу са важећим прописима.

КОМИСИЈА:

У Београду, 12.10.2019. године

др Марина Стаменковић - Радак, редовни професор
Универзитет у Београду - Биолошки факултет



др Весна Миланков, редовна професорица
Универзитет у Новом Саду - Природно-математички факултет



др Јасмина Лудошки, ванредна професорица
Универзитет у Новом Саду - Природно-математички факултет

др Ана Ивановић, редовни професор
Универзитет у Београду - Биолошки факултет