

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

На V редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 13.03.2020. године, на основу молбе ментора, др Јелке Црнобрња-Исаиловић, редовног професора Природно-математичког факултета Универзитета у Нишу и научног саветника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ - Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду и др Предрага Симоновића, редовног професора Биолошког факултета Универзитета у Београду и научног саветника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ - Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Марије Д. Илић, истраживача-сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ - Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду под насловом: **„Морфолошка диференцијација ларвених стадијума одабраних врста жаба родова *Rana* и *Bufo* на подручју Србије“**, у саставу:

1. др Вида Јојић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ - Институт од националног значаја за Републику Србију, члан;
2. др Горана Стаменковић, научни саветник, Универзитет у Београду, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ - Институт од националног значаја за Републику Србију, члан;
3. др Ана Ивановић, редовни професор, Универзитет у Београду, Биолошки факултет, члан.

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

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација Марије Д. Илић, под насловом „Морфолошка диференцијација ларвених стадијума одабраних врста жаба родова *Rana* и *Bufo* на подручју Србије“ написана је према Упутствима за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду. Пагинирани текст (87 страна) је подељен у 8 основних поглавља: **1. Увод** (13 страна), **2. Циљеви** студије (2 стране), **3. Материјал и методе** (20 страна), **4. Резултати** (16 страна), **5. Дискусија** (6 страна), **6. Закључци** (2 стране), **7. Литература** (19 страна), **8. Прилози** (9 страна). Дисертација садржи 322 литературна цитата, 27 слика и 15 табела (4 табеле дате у поглављу 8. Прилози). Такође, необухваћено пагинацијом, дисертација садржи насловну страну на српском и енглеском језику, страну са подацима о ментору и члановима Комисије, Захвалницу, Сажетак на српском и енглеском језику, Садржај, Биографију, као и Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу.

Анализа докторске дисертације

У својој докторској дисертацији кандидаткиња **Марија Д. Илић** је приказала резултате таксономске генетичке идентификације и варијабилности *R. dalmatina*, *R. graeca*, *R. temporaria* и *B. bufo*, као и резултате морфометријских анализа пуноглаваца *R. dalmatina*, *R. temporaria* и *B. bufo* из популација са територије Србије. Поред аспеката генетичке и морфолошке варијабилности, анализирана је и разматрана ефикасност примене различитих методолошких приступа у студијама морфолошке варијабилности пуноглаваца.

Поглавље **Увод** докторске дисертације се састоји од укупно пет потпоглавља у којима се на разумљив и прегледан начин представља предмет истраживања студије. У првом потпоглављу **“Теоријске поставке”** наводе се карактеристике ларви безрепих водоземаца (пуноглаваца), карактеристике њихове животне историје, њихова морфологија, као и фазе развића (од јајета до јувенилне јединке). Такође, говори се о утицају физичких и биолошких фактора на просторни и временски распоред пуноглаваца у микростаништима, као и о деловању ових фактора на развиће различитих животних стратегија код пуноглаваца. У потпоглављу **“Историјски**

преглед истраживања пуноглаваца у свету и у Србији” дат је хронолошки преглед истраживања пуноглаваца од Геснеровог приказа јувенилног облика жабе у 16. веку до савремених морфолошких и таксономских студија. На крају овог потпоглавља наведено је истраживање пуноглаваца у Србији. У потпоглављу **“Морфолошка варијабилност и фенотипска пластичност ларвених ступњева безрепих водоземаца”** објашњава се утицај различитих еколошких фактора на морфолошку варијабилност пуноглаваца. Сталне промене у спољашњој средини, пре свега променљивост и ефемерност самих водених станишта, узроковале су развој фенотипске пластичности пуноглаваца, која им омогућава опстанак у новонасталим условима. У последњем делу овог потпоглавља описана је фенотипска пластичност и њена улога у настанку еволутивних новина. У следећем потпоглављу **“Традиционална и геометријска морфометрија у анализи морфолошке варијабилности ларвених ступњева безрепих водоземаца”** дате су дефиниције традиционалне и геометријске морфометрије, као и преглед литературе у којима су ове методе коришћене за анализе морфолошке варијабилности пуноглаваца. У последњем потпоглављу **“Таксономска идентификација анализом спољашњих морфолошких карактеристика пуноглаваца”** кандидаткиња наводи важност таксономске идентификације пуноглаваца на различитим узрасним ступњевима, а дат је и преглед радова у којима су пуноглавци на различитим развојним ступњевима коришћени у таксономији. Услед све већег броја фактора угрожавања водоземаца, идентификовање пуноглаваца постаје све неопходније. Отежана идентификација на овом ступњу развића посебно је изражена у зонама симпатрије и синтопије више врста, што је случај у југоисточној Европи, укључујући и Србију.

У оквиру поглавља **Циљеви студије**, представљени су главни циљеви докторске дисертације: утврђивање оних особина спољашње морфологије ларвених стадијума синтопних врста мрких жаба (*R. dalmatina*, *R. graeca*, *R. temporaria*) и обичне крастаче (*B. bufo*) на територији Србије које описују величину и облик тела, а на основу којих се може одредити њихова таксономска припадност; утврђивање ефикасности примене анализа облика тела пуноглаваца у таксономској идентификацији анализираних врста жаба; развој процедура за поуздану, брзу и економичну таксономску идентификацију ларви анализираних врста жаба. Додатно, дефинисани су и следећи специфични циљеви: таксономска генетичка идентификација *R. dalmatina*, *R. graeca*, *R. temporaria*, *B. bufo* из популација са територије Србије; поређење метода традиционалне и геометријске морфометрије у морфолошкој диференцијацији раних ларвених

стадијума код синтопних популација *R. dalmatina*, *R. graeca*, *R. temporaria*, *B. bufo*; поређење филогенетских и фенетичких односа анализираних врста.

Поглавље **Материјал и методе** је организовано у шест потпоглавља. У потпоглављу **“Објекат истраживања”** приказано је распрострањење анализираних врста у свету и у Србији. Дат је опис анализираних врста од стадијума јајета до адултне јединке, са посебним освртом на стадијум ларве (пуноглавца). У оквиру потпоглавља **“Процедуре узорковања”** графички су приказани локалитети са којих су сакупљани узорци за анализе и табеларно је приказана динамика узорковања током 2013 – 2017. године. Описане су методе узорковања на терену и допремања узорака до лабораторије. У потпоглављу **“Процедуре гајења пуноглаваца у лабораторијским условима”** описан је начин гајења пуноглаваца у лабораторијским условима. У потпоглављу **“Процедуре таксономске генетичке идентификације”**, дат је опис метода: екстракција ДНК из ткива, амплификација испитиваног фрагмента *16S rRNA* гена, као и одређивање нуклеотидних секвенци добијених ампликона. На крају је описан поступак филогенетске анализе и израчунавање генетичких дистанци на основу добијених секвенци. У потпоглављу **“Процедуре морфолошке диференцијације пуноглаваца применом традиционалне морфометрије”** описане су методе традиционалне морфометрије које су примењене у анализи пуноглаваца сакупљених са три локалитета у Србији. Кандидаткиња је навела услове и протоколе фотографисања, начин мерења линеарних карактера, као и примењене статистичке анализе. У последњем потпоглављу **“Упоредна (геометријска vs. традиционална) морфометријска анализа варијабилности пуноглаваца”** описани су услови фотографисања и мерење линеарних карактера, као и детаљан опис положаја специфичних тачака коришћених за анализе облика тела пуноглаваца. У овом потпоглављу дат је и опис статистичких метода које су коришћене за анализе морфолошке варијабилности лабораторијски гајених пуноглаваца применом метода традиционалне и геометријске морфометрије.

Поглавље **Резултати** се састоји од две целине. У потпоглављу **“Таксономска генетичка идентификација и генетичка варијабилност”** представљена је идентификација анализираних врста. Кандидаткиња је приказала резултате филогенетске анализе, где је финалан сет поравнатих секвенци садржао 104 секвенце (71 секвенцу добијену у овој студији и 22 преузете секвенце из *GenBank* базе) на основу којих је конструисано филогенетско стабло. Добијено стабло се делило на две главне субкладе (врсте рода *Rana* и *B. bufo*). Потом су од секвенци добијених од

лабораторијски гајених пуноглаваца рачунате интер- и интраспецијске генетичке дистанце као и њихове стандардне девијације. У оквиру потпоглавља **“Морфолошка диференцијација пуноглаваца”** представљени су резултати анализа морфолошке варијабилности пуноглаваца сакупљених са три локалитета у Србији применом метода традиционалне морфометије, као и резултати упоредне (геометријске vs. традиционалне) морфометријске анализе варијабилности лабораторијски гајених пуноглаваца. Утврђено је да су ширина и дужина главе најинформативнији карактери за таксономско разликовање пуноглаваца мрких жаба и обичне крастаче, док је дужина репа најбитнија карактеристика за разликовање пуноглаваца две врсте мрких жаба. У анализи лабораторијски гајених пуноглаваца, резултати добијени применом геометријске морфометрије су показали да не постоји разлика у величини пуноглаваца анализираних врста, док је утврђена разлика у облику. За разлику од пуноглаваца *R. dalmatina* и *R. temporaria*, пуноглавци *B. bufo* су генерално робустнији и одликују се већим телима са постериорно постављеним дорзалним перајима, а репови су им краћи, са перајима ширим у постериорном делу и ширим врховима репова. Код врсте *B. bufo* тело и реп имају приближно исту дужину, док је код обе врсте рода *Rana* реп готово два пута дужи од главе. Разлике између врста у оквиру рода *Rana* су се тичале облика и дужине репа и величине главе, односно *R. temporaria* пуноглавци, у поређењу са *R. dalmatina*, имају дуже репове са зашиљенијим врхом и мањом главом на којој је дорзална инсерција репног пераја постављена ниже. Интерспецијске разлике у облику пуноглаваца квантификоване су Махаланобисовим дистанцама, при чему је најмања разлика у облику утврђена између *R. dalmatina* и *R. temporaria*, а највећа између *B. bufo* и *R. temporaria*. Резултати добијени применом традиционалне морфометрије су били слични. Није утврђена разлика у укупној величини/дужини пуноглаваца. Најдискриминативнији карактери међу врстама су били они који су се тичали дужине репа и дужине главе, док су пречник ока и линеарне мере које су у вези са ширином репног мишића допринеле раздвајању врста рода *Rana*. Интерспецијске разлике квантификоване су квадратним Махаланобисовим дистанцама и најмања интерспецијска разлика утврђена је између пуноглаваца *R. dalmatina* и *R. temporaria*, а највећа вредност је добијена између пуноглаваца *B. bufo* и *R. temporaria*.

Поглавље **Дискусија** је подељено на четири потпоглавља, у којима су добијени резултати разматрани и поређени са досадашњим истраживањима из области. У потпоглављу **“Таксономска генетичка идентификација и генетичка варијабилност мрких жаба (*Rana* sp.) и обичне крастаче (*B. bufo*) на подручју Србије”** истакнута је

неопходност генетичке таксономске идентификације како би се правилно проценио ниво морфолошке диференцијације и коректне таксономске идентификације на основу спољашњих морфолошких карактеристика пуноглаваца врста мрких жаба (род *Rana*) и обичне крастаче (*B. bufo*) на територији Србије. Добијени резултати филогенетске анализе узорака три врсте рода *Rana* (*R. dalmatina*, *R. graeca*, *R. temporaria*) у складу са претходним филогенетским истраживањима ове три врсте. У потпоглављу **“Преглед спољашњих морфолошких карактера раних ларвених стадијума мрких жаба (род *Rana*) и *B. bufo* са територије Србије који највише доприносе њиховој таксономској идентификацији”** наглашено је да је код пуноглаваца анализираних врста *R. dalmatina*, *R. temporaria* и *B. bufo*, сакупљених из природе на раним развојним ступњевима и анализираних методама традиционалне морфометрије, релативна величина главе карактер за разликовање родова *Rana* и *Bufo*, док је релативна дужина репа карактер за разликовање две врсте мрких жаба. Применом метода геометријске и традиционалне морфометрије код пуноглаваца гајених у лабораторији, добијено је подударње у резултатима. Пуноглавци две врсте рода *Rana* су генерално ситнији у односу на пуноглавце *B. bufo*, имају мања тела и репове оквирно два пута дуже од тела. Поређењем две врсте мрких жаба утврђено је да *R. dalmatina* пуноглавци имају краћи реп и веће тело. Ипак, суптилне разлике у облику дисталног дела репа било је могуће детектовати само применом геометријске морфометрије. Пуноглавци врсте рода *Rana* у односу на пуноглавце *B. bufo* имају уже постериорне делове репних пераја и уже врхове репова, док су код пуноглаваца *R. dalmatina* врхови репова више заобљени у односу на пуноглавце *R. temporaria*. У потпоглављу **“Ефикасност примене метода традиционалне и геометријске морфометрије у морфолошкој диференцијацији раних ларвених стадијума код синтопних популација мрких жаба (род *Rana*) и *B. bufo* на територији Србије”** истакнуто је да су применом дискриминантне функцијске анализе установљени готово идентични и високи проценти коректне класификације (100% за геометријску и 99,2% за традиционалну морфометрију). Поређењем ових резултата са резултатима добијеним у другим студијама, уочено је да услед разлика у методама може доћи до неслагања резултата. Међутим, директним поређењем студија које користе методе традиционалне и геометријске морфометрије (укључујући оне које се баве морфолошком варијабилношћу пуноглаваца) је могуће уочити подударност резултата уколико се линеарних мера одговара шема специфичних тачака, тј. када се користи адекватан број и распоред линеарних мера могуће је уочити подударност резултата. У завршном

потпоглављу **“Варијабилност облика пуноглаваца: утицај филогенетских ограничења и срединских фактора”** кандидаткиња је дискутовала важност познавања морфологије пуноглаваца на раним ступњевима развића и примене тих знања у тачној таксономској идентификацији. Описане морфологије анализираних пуноглаваца су се разматрале у односу на утицај доминантних спољашњих фактора (тип станишта и присуство предатора). Добијени резултати су поређени са претходним студијама. На крају, кандидаткиња наглашава важност комбиновања више методолошких приступа како би истраживања била свеобухватна, а решавање таксономских недоумица адекватније.

Поглавље **Закључци** садржи сумиране најзначајније резултате добијене након урађених филогенетских и морфометријских анализа. Применом *16S rRNA* маркера извршена је таксономска идентификација врста анализираних узорака, а израчунате су и интра- и интерспецијске генетичке дистанце. Традиционална морфометријска анализа пуноглаваца врста *R. dalmatina*, *R. temporaria* и *B. bufo*, сакупљених из природе на раним развојним ступњевима (23. до 25. ступња), утврдила је да релативна величина главе представља карактер за разликовање родова *Rana* и *Bufo*, док је релативна дужина репа карактер за разликовање две врсте мрких жаба. Анализа лабораторијски одгајених пуноглаваца три врсте на раним ступњевима развића (25. до 29. ступња), применом метода геометријске и традиционалне морфометрије, показала је да оба приступа дају веома сличне резултате када су у питању квантификација и опис варијабилности величине и облика. Међутим, суптилне разлике у облику дисталног дела репа било је могуће детектовати само применом геометријске морфометрије. Дискриминациона моћ два морфометријска приступа у разликовању пуноглаваца анализираних врста жаба је готово идентична и изузетно висока. Поређењем морфолошких и генетичких интерспецијских дистанци утврђено је да се варијабилност облика пуноглаваца *R. dalmatina*, *R. temporaria* и *B. bufo* поклапа са добијеним генетичким односима између ових врста.

У поглављу **Литература** наведене су 322 библиографске јединице. Наведене публикације су из области истраживања и представљају изворе које је кандидаткиња користила при изради докторске дисертације.

У поглављу **Прилози** налазе се четири табеларна приказа: У Табели 1 приказани су физичко-хемијски параметри забележени на местима сакупљања клупка јаја успешно одгајених пуноглаваца; у Табели 2 дати су измерени физичко-хемијски параметри у акваријумима; у Табели 3 налази се листа секвенци гена *16S rRNA* код

анализираних узорака (дати су идентификациони бројеви из *GenBank* базе података, као и радни називи изолата) и локалитета са географским координатама у Србији; у Табели 4 су дате вредности анализираних варијабли (сирове линеарне мере) у милиметрима.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

- 1. Илић, М.,** Jojić, V., Stamenković, G., Marković, V., Simić, V., Paunović, M., Crnobrnja-Isailović, J. (2019): Geometric vs. traditional morphometric methods for exploring morphological variation of tadpoles at early developmental stages. *Amphibia-Reptilia*, 40(4):499-509. DOI: <http://dx.doi.org/10.1163/15685381-00001193> **(M22)**
- 2. Илић, М.,** Stamenković, G., Nikolić, V., Marković V., Marinković N., Paunović M., J. Crnobrnja-Isailović (2016): Identification of syntopic anuran species in early tadpole stages: Correspondence between morphometric and genetic data. *Applied ecology and environmental research*, 14(2): 381-397. DOI: http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1402_381397 **(M23)**

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

- 1. Илић, М.,** Stamenković, G., Nikolić, V., Marković, V., Marinković, N., Paunović, M., Crnobrnja-Isailović, J. (2015): Identification of syntopic anuran species at early tadpole stages: could morphometric analysis resemble molecular genetics? XVIII European Congress of Herpetology, 7-12 September, Wroclaw, Poland. Programme&Abstracts p. 50. **(M34)**

Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата **Марије Илић Б3029/2012** послата је дана **21.02.2020.** на софтверску проверу оригиналности. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментор је добио дана **21.02.2020.**

Утврђено подударање текста износи **7%**. Увидом у Извештај утврђена су подударања са 66 примарних извора. Подударање са три извора било је 1%, а са преосталих 63 мање од 1% и односило се на навођења података о менторима и члану комисије (научних звања и афилијација), назива тематских целина, стручних израза и цитата, имена врста, скраћеница и општих фраза, као и библиографских података из литературе и претходно публикованих резултата истраживања кандидаткиње проистеклих из докторске дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

Када се претходно изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата **Марије Илић**, под насловом **„Морфолошка диференцијација ларвених стадијума одабраних врста жаба родова *Rana* и *Bufo* на подручју Србије“**, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидата **Марије Д. Илић**, под насловом **„Морфолошка диференцијација ларвених стадијума одабраних врста жаба родова *Rana* и *Bufo* на подручју Србије“** представља комплексан научни рад и прво истраживање које се бави морфолошком варијабилношћу пуноглаваца врста *R. dalmatina*, *R. temporaria* и *B. Bufo* у Србији. Добијени резултати несумњиво доприносе постојећим таксономским описима анализираних врста, што ће олакшати њихову идентификацију и допринети унапређењу конзервације ових врста.

Током периода израде дисертације, Марија Д. Илић је показала самосталност у реализацији свих корака теренских и лабораторијских активности. Постигла је и висок степен самосталности у обради добијених података, као и у њиховом тумачењу. Узевши све наведено у обзир, Комисија предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Биолошког факултета да прихвати позитивну оцену докторске дисертације **Марије Д. Илић** под називом **„Морфолошка диференцијација ларвених стадијума одабраних врста жаба родова *Rana* и *Bufo* на подручју Србије“** и да кандидату омогући јавну одбрану рада.

КОМИСИЈА:

У Београду, 16.03.2020. године

др Вида Јојић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“
Институт од националног значаја за Републику Србију

др Горана Стаменковић, научни саветник
Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“
Институт од националног значаја за Републику Србију

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