

# Utjecaj ekološkog i integriranog suzbijanja nametnika u agroekosustavima sjeverne Dalmacije na bioraznolikost mrava (Insecta: Hymenoptera: Formicidae)

---

Primorac, Josip

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:036012>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno – matematički fakultet  
Biološki odsjek

Josip Primorac

Utjecaj ekološkog i integriranog suzbijanja nametnika u  
agroekosustavima sjeverne Dalmacije na bioraznolikost mrava  
(Insecta: Hymenoptera: Formicidae)

Diplomski rad

Zagreb, 2021.

Ovaj rad, izrađen u Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka, Prirodoslovno – matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Damjana Franjevića i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Lucije Šerić Jelaska, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno – matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra eksperimentalne biologije.

## Zahvala:

*Veliku zahvalnost, dugujem svom mentoru izv. prof. dr. sc. Damjanu Franjeviću i neposrednoj voditeljici dr. sc. Luciji Šerić Jelaska, koji su pristali biti mentori ovog diplomskog rada, izrađenog u sklopu projekta MEDITERATRI (HRZZ UIP 05 – 2017 – 1046). Hvala Vam na izdvojenom vremenu i strpljenju tijekom izrade ovog rada.*

*Zahvaljujem se kolegicama Lari Ivanković Tatalović i Barbari Anđelić za pomoć u laboratorijskom radu.*

*Također, želim se zahvaliti svojim prijateljima i kolegama koji su upotpunili ovo razdoblje mog života i bez kojih ovaj tijek mog studiranja ne bi bio isti.*

*I na kraju, najveću zaslugu pripisujem svojim roditeljima, koji su uvijek bili tu, uz mene, bez obzira na situaciju i bez kojih ovo ne bi bilo moguće.*

*Velika hvala svima!*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno – matematički fakultet  
Biološki odsjek

Diplomski rad

Utjecaj ekološkog i integriranog suzbijanja nametnika u  
agroekosustavima sjeverne Dalmacije na bioraznolikost mrava

(Insecta: Hymenoptera: Formicidae)

Josip Primorac

Rooseveltove trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Faunistička istraživanja mrava u Mediteranu, posebice u poljoprivrednim sustavima, kod nas su vrlo rijetka. Budući da je mediteransko područje bogato vrstama, a način gospodarenja u poljoprivredi može dodatno utjecati na raznolikost vrsta, istražena je fauna mrava u maslinicima i vinogradima na području Zadarske županije. Uspoređeni su indeksi raznolikosti između područja s različitim načinima upravljanja; u maslinicima i vinogradima s integriranom i ekološkom zaštitom bilja u kojima se koriste različite skupine pesticida, te prirodnom staništu bez gospodarenja, gdje nije bilo uporabe pesticida. Mravi su uzorkovani tijekom vegetacijske sezone u 2018. godini koristeći metodu stresanja, Tullgrenove lijevke i lovne zamke. Vrste su određene morfološki i metodom barkodiranja DNA te je utvrđeno 14 vrsta mrava. Pronađene vrste *Aphaenogaster picena* i *Aphaenogaster balcanica* su endemske, te su rijetki nalazi za Hrvatsku. Sve sekvence mravljih vrsta koje su određene u ovom istraživanju bile su prisutne u bazi podataka Nacionalnog centra za biotehnoške informacije (NCBI). Metode lova su utjecale na sastav i brojnost vrsta. Prema prikupljenim podacima, maslinici s integriranom zaštitom bilja u usporedbi s ekološkim maslinicima, imali su manju raznolikost. Stoga bi se utjecaj različitih načina gospodarenja u maslinicima na bioraznolikost mrava mogao detaljnije istražiti proučavanjem zajednica mrava na većem broju ploha.

Rad sadrži: 105 stranice, 53 slike, 10 tablica, 90 literaturnih navoda. Jezik izvornika: hrvatski.

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: Zadarska županija, mravi, biološka raznolikost, maslinici, vinogradi, morfološka analiza, barkodiranje DNA

Voditelj: izv. prof. dr. sc. Damjan Franjević

Neposredni voditelj: dr. sc. Lucija Šerić Jelaska

Ocjenitelji:

Izv. prof. dr. sc. Damjan Franjević

Prof. dr. sc. Sven Jelaska

Doc. dr. sc. Duje Lisičić

Rad prihvaćen: 29. 04. 2021.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Master Thesis

Impact of ecologically based and integrated pest managements in  
agroecosystems of northern Dalmatia on ant biodiversity

(Insecta: Hymenoptera: Formicidae)

Josip Primorac

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Faunal research on ants in the Mediterranean area of our country, especially in agricultural systems, is very rare. Since the Mediterranean area has high species richness, and the way of management in agriculture can further affect the diversity of species, the ant fauna in olive groves and vineyards in the Zadar County was investigated. Diversity indices were compared between areas with different management modes; in olive and vineyard crops with integrated and ecologically based plant managements in which different groups of pesticides are used, and in natural habitat without management, where there was no use of pesticides. Ants were sampled during the 2018 growing season by using beating branch method, Tullgren funnels, and pitfall traps. Species were identified morphologically and by DNA barcoding, compiling the final list of 14 ant species. The found species of *Aphaenogaster picena* and *Aphaenogaster balcanica* are endemic, and are rare finds for Croatia. All sequences of determined ant species were present at the National Biotechnology Information Center (NCBI) database. Sampling methods influenced the composition and abundance of species. According to the collected data, olive groves with integrated plant management, compared to organic olive groves, had less diversity. Therefore, the impact of different management practices in olive groves on ant biodiversity could be investigated in more detail by studying ant communities on a larger number of plots.

Thesis contains: 105 pages, 53 figures, 10 tables, 90 references. Original in: Croatian.

Thesis deposited in the Central biological library

Key words: Zadarska County, ants, biodiversity, olive groves, vineyards, morphological analysis, DNA barcoding

Supervisor: Assoc. Prof. Damjan Franjević

Assistant Supervisor: Dr. Lucija Šerić Jelaska

Reviewers:

Assoc. Prof. Damjan Franjević

Prof. Sven Jelaska

Asst. Prof. Duje Lisičić

Thesis accepted: 29. 04. 2021.

# Sadržaj

1. Uvod.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1. 1. Osnovne značajke razreda kukaca (Insecta).....	1
1. 1. 1. Opnokrilci (Hymenoptera).....	2
1. 1. 2. Mravi (Formicidae) .....	3
1. 2. Kukci u poljoprivrednim staništima .....	9
1. 2. 1. Utjecaj poljoprivrede na raznolikost kukaca.....	10
1. 2. 2. Kukci u biološkoj kontroli .....	11
1. 3. Pregled istraživanja mrava u mediteranskim poljoprivrednim kulturama .....	12
1. 4. DNA barkodiranje.....	13
1. 5. Filogenija kukaca.....	14
1. 5. 1. Potporodice i rodovi mrava na području Hrvatske.....	15
1. 5. 2. Molekularna filogenetika.....	17
1. 5. 3. Filogenetskog stablo.....	19
2. Ciljevi istraživanja .....	21
3. Materijali i metode .....	22
3. 1. Materijal .....	22
3. 1. 1. Uzorci mrava.....	22
3. 1. 2. Kemikalije korištene u molekularno filogenetičkim analizama .....	24
3. 1. 3. Protokol za izolaciju DNA.....	24
3. 1. 4. Oligonukleotidne početnice .....	24
3. 2. Metode .....	25
3. 2. 1. Morfološko određivanje vrsta mrava.....	25
3. 2. 2. Određivanje vrsta mrava DNA barkodiranjem .....	26
3. 2. 3. Analize podataka .....	35
4. Rezultati.....	36
4. 1. Rezultati provjere izolacije DNA .....	36
4. 2. Popis vrsta .....	37
4. 3. Usporedba morfološke i molekularno filogenetičke analize vrsta .....	38
4. 4. Raznolikost mrava po plohama .....	41

4. 4. 1. Raznolikost mrava uzorkovana metodom stresanja .....	41
4. 4. 2. Raznolikost mrava uzorkovana pomoću Tullgrenovih lijevaka.....	45
4. 4. 3. Raznolikost mrava uzorkovanih lovnim zamkama .....	47
4. 5. Filogenetičke analize sekvenci .....	51
4. 6. Raznolikost haplogrupa po vrstama.....	58
4. 7. Raznolikost haplogrupa po plohama.....	68
5. Rasprava .....	81
6. Zaključak .....	95
7. Literatura .....	96
7. 1. Internetski izvori.....	104
8. Životopis.....	105



## **Popis kratica**

MI – maslinik s integriranom zaštitom bilja

ME – maslinik s ekološkom zaštitom bilja

VI – vinograd s integriranom zaštitom bilja

VE – vinograd s ekološkom zaštitom bilja

K – kontrolna ploha

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

RNA – ribonukleinska kiselina

rRNA – ribosomska RNA

mtDNA – mitohondrijska DNA

PCR – lančana reakcija polimeraze

BLAST - (engl. Basic Local Alignment Search Tool) je osnovni alat za pretraživanje lokalnog poravnanja

NCBI – (engl. National Center for Biotechnology Information) Nacionalni centar za biotehnoške informacije

BOLD – (engl. The Barcode of Life Data System) je sustav podataka za barkodiranje života

BIC – (engl. Bayesian information criterion) je kriterij prema kojem se bira najbolji supstitucijski model

$H'$  – Shannonov indeks raznolikosti

dNTP – deoksiribonukleozid trifosfat

# 1. Uvod

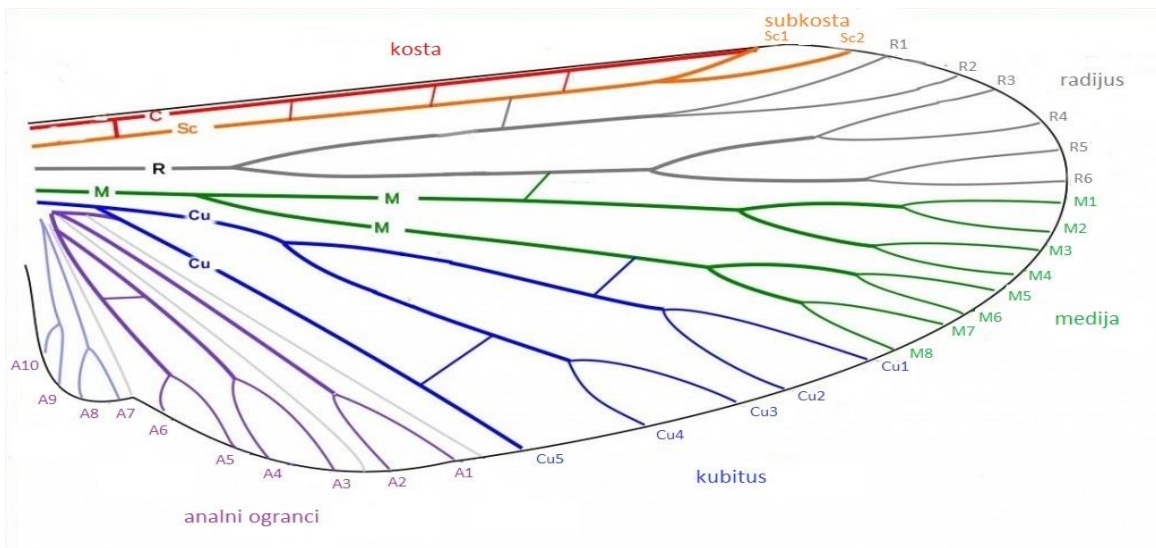
## 1. 1. Osnovne značajke razreda kukaca (Insecta)

Kukci (Insecta) su razred beskralješnjaka koji zajedno s razredom unutarustih kukaca (Entognatha) pripadaju potkoljenu šesteronožaca (Hexapoda) (Durbešić i sur. 2018). Vrstama su najbrojnije životinje unutar koljena člankonožaca (Arthropoda). Procjene su različite, te prelaze brojku od pet milijuna. Međutim, dosad je opisano tek nešto više od milijun vrsta kukaca (New 2009).

Tijelo građeno od glave, prsa i zatka, tri para člankovitih nogu, složene oči i jedan par ticala su odlike kukaca koje ih odvajaju od ostatka životinjskog carstva. Dužina tijela kukaca obično varira između 0,5 cm i 3 cm. Najvećim oblicima pripadaju neke vrste ravnokrilaca i paličnjaka koji dostižu dužinu od 30 cm (Habdija i sur. 2011). Naseljavaju gotovo sve ekosustave, od tropskih kišnih šuma do arktičkih bara. Ovisno o posjedovanju krila dijelimo ih u krilate kukce (Pterygota) i beskrlne kukce (Apterygota). Položaj glave u odnosu na tijelo može biti prognatni, ortognatni ili hipognatni. Kukci, poput nekih skupina kornjaša (Coleoptera) te mrava (Formicidae) imaju prognatni položaj glave, odnosno čelo je okrenuto prema gore, a usta prema naprijed. Ortognatna glava je karakteristična za skupinu ravnokrilaca (Orthoptera) gdje su usta okrenuta prema dolje, a čelo prema naprijed. Hipognatna orijentacija glave odnosi se na usta pomaknuta prema nazad, uz trbušnu stranu što je karakteristično za skupine žohara (Blattodea) i polukrilaca (Hemiptera). Kukci se hrane raznovrsnim tkivom organskog podrijetla što uključuje biljne i životinjske materijale, te uginule ostatke. Njihovi usni organi dijele se na organe za grizenje, usne organe za lizanje i sisanje, te bodenje (Durbešić i sur. 2018; Habdija i sur. 2011).

### 1. 1. 1. Opnokrilci (Hymenoptera)

Red opnokrilaca (Hymenoptera) dijeli se na dva podreda, širokozačane opnokrilce (Symphyta) i utegnutozačane opnokrilce (Apocrita). Svi kukci koji pripadaju redu opnokrilaca imaju dva para opnastih krila, pri čemu je stražnji par krila manji od prednjeg para (Richards i Davies 1977). Nalaze se na drugom i trećem prsnom kolutiću (Comstock i Needham 1899). Krila nisu tjelesni privjesci poput nogu, već nastaju od postranih kožnih udvostručenja leđnih pločica, tj. paranota koje pokriva kutikula. Na osnovici krila se proširuju cijevi tjelesne šupljine, hemocela, kroz koje prolaze uzdušnice, živci i hemolimfa. Uzdušnice zajedno s hemocelnim cijevima izgrađuju krilne žile ili rebra. Prednja krilna uzdušnica, *trachea alaris anterior*, grana se na 4 glavna rebra: kosta (C), subkosta (Sc), radijus (R) i medija (M), a iz stražnje krilne uzdušnice, *trachea alaris posterior*, izlaze kubitus (Cu) i analni ogranci (A) (Slika 1). Rad krila uvjetuju letni mišići (Durbešić i sur. 2018). Usni aparat prilagođen je za grizenje, lizanje i sisanje. Opnokrilci imaju potpunu preobrazbu. Ličinke su beznoge s dobro razvijenom glavom. Kukuljice obično izgrađuju čahuru (Comstock i Needham 1899).



**Slika 1.** Rebra na krilima (kosta (C), subkosta (Sc), radijus (R), medija (M), kubitus (Cu), analni ogranci (A))

Izvor: ([https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/41/Venation\\_of\\_insect\\_wing.svg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/41/Venation_of_insect_wing.svg))

### 1. 1. 2. Mravi (Formicidae)

Mravi (Formicidae) su porodica koja pripada razredu kukaca (Insecta). Zajedno s pčelama i osama ubrajaju se u red opnokrilaca (Hymenoptera) i podred utegnutozačanih kukaca (Apocrita). Znanost koja proučava mrave naziva se mirmekologija, grana entomologije čiji je cilj razumijevanje evolucije i socijalne organizacije mravi, kao i njihove morfološke građe. Prema popisu mrava u katalogu „Bolton World Catalog“ engleskog mirmekologa Barry Boltona, do danas su opisane i klasificirane: 22 potporodice, 482 roda i 16 318 različitih izumrlih i recentnih vrsta mravi, dok neki znanstvenici njihovu brojnost procjenjuju i na oko 22 000 vrsta (stanje 26. listopada 2020. prema <https://www.antweb.org>).

#### ***Morfološke, biološke i ekološke značajke mrava***

Morfologija organizama općenito je uvjetovana procesima evolucije i prilagodbama na uvjete okoliša. Među kojima su značajne i različite biotičke interakcije, kao što su primjerice, kompeticijski odnosi uvjetovani borbom za teritorij, ishranom i razmnožavanjem. Na taj način dužina tijela, čeljusti i tjelesnih privjesaka mrava značajno se razlikuju među vrstama. Različiti uvjeti okoliša i načini ishrane mrava utječu na njihovu morfologiju. Prema tome, vrste koje pripadaju istom rodu, često imaju sličnu morfologiju i način ishrane, te je tako moguće lakše pratiti ekologiju i morfološku raznolikost mrava (Powell i Franks 2006).

Tijelo mrava sastoji se iz tri dijela - tagme: glava (*caput*), prsa (*thorax*) i zadak (*abdomen*), pokrivenih egzoskeletom, odnosno čvrstom višeslojnom hitinskom kutikulom. Svaku tagmu čini više kolutića koji su međusobno srasli. Egzoskelet kolutića unutar tagmi nije jednodijelan, već je izgrađen od četiri hitinske pločice: dvije postrane (*pleurae*), jedne leđne (*tergit*) i jedne trbušne (*sternit*) hitinske pločice, koje su međusobno povezane tankom elastičnom hitinskom kutikulom - artikularnom membranom. Na površini hitinske kutikule nalaze se brojne dlačice, koje imaju različite zadaće. Primjerice, istraživanja na vrsti *Cataglyphis bombycina* (Roger, 1859) u Sahari pokazala su da dlačice povećavaju odbijanje zraka Sunčeve svjetlosti za 10 puta više nego kod jedinki iste vrste bez dlačica (Willot i sur. 2016).

Glava (*caput*) je kod mrava položena horizontalno, u prognatnom položaju, u odnosu na tijelo. Položaj glave je prognatni, što znači da je čelo okrenuto prema gore, a usta prema naprijed (Slika 2). Izgrađena je od akrona i šest kolutića (Durbešić i sur. 2018). Akron je kožni nabor, koji se ne može smatrati kolutićem jer ne posjeduje tjelesnu šupljinu. Na glavi se nalazi jedan par ticala koji predstavljaju osjetila i nose kemijske receptore, tri jednostavna oka – *ocelli* i par složenih očiju, te usni organi (gornja usna, parne gornje i donje čeljusti i donja usna). Za osjet svjetlosnih podražaja mravi se služe jednostavnim očima (*ocelli*), fotoreceptorima koji detektiraju količinu svjetlosti u prostoru i složenim očima, sastavljenim od nekoliko tisuća okašaca (*ommatidia*) (Fent i Wehner 1985). Jednostavne oči su zapravo tri zasebna jednobojna oka, poredana u oblik trokuta, pri čemu se prednje (anteriorna) oko nalazi na stražnjem dijelu čela, dok su preostala dva oka (*ocelli*) smještena na tjemenu. Funkcionalnost složenih očiju je rezultat dioptrijskog aparata, vidnih i pigmentnih stanica. U dijelove glave također se ubrajaju tjeme (*vertex*), čelo (*frons*), zatiljak (*occiput*), glavin štitić (*clypeus*) i obrazi (*genae*) (Wheeler 1910).



**Slika 2.** Lice mrava pod elektronskim mikroskopom

Izvor: (<https://www.nationalgeographic.co.uk/science-innovation/2019/02/hidden-world-microscopic-life-revealed-extraordinary-pictures>)

Prsa (*thorax*) se nastavlja na glavu. Sastoje se od tri kolutića: prednjeg (*prothorax*), srednjeg (*mesothorax*) i stražnjeg (*metathorax*) na koji se nastavlja prvi začani kolutić (Slika 3). Srednji i stražnji prsni kolutići nose krila (Gullan i Cranston 2014). Krila posjeduju rasplodne jedinice mužjaka i ženki u vrijeme svadbenog leta, dok su kod radilica izostavljena (Durbešić i sur. 2018; Habdija i sur. 2011). Na svakom od kolutića nalazi se po jedan par člankovitih nogu. Noge čini šest članaka: kuk (*coxa*), nožni prstenak (*trochanter*), bedro (*femur*), gnjat (*tibia*), stopalo (*tarsus*) i predstopalo (*praeetarsus*). Predstopala nose pandžice (*ungues*) i prijanjaljku (*arolium*) (Habdija i sur. 2011). Na trbušnoj strani tijela, pored stražnjeg prsnog kolutića nalazi

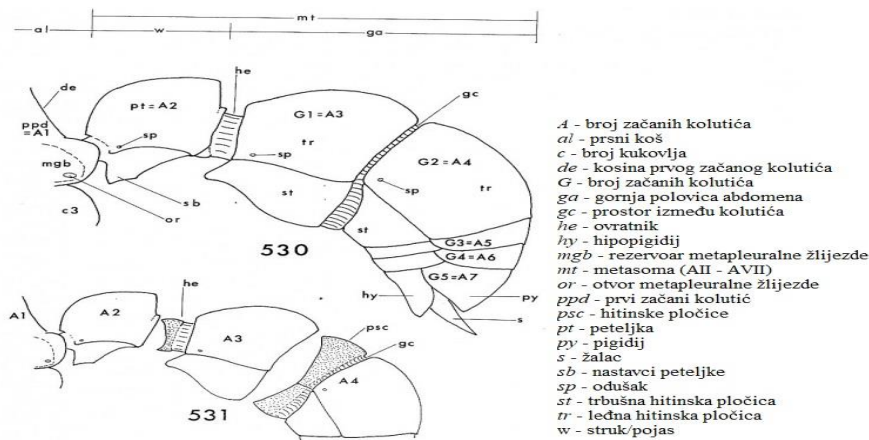
se široki otvor prvog začanog kolutića (*propodeum*). Prvi začani kolutić nema trbušnu hitinsku pločicu i izravno je spojen na prsa. Iako pripada skupini začanih kolutića, pripojen je prsima, odnosno drugoj tagmi. Prvi začani kolutić veže se s peteljkom (*petiole*). Peteljka predstavlja drugi začani kolutić (Fisher i Bolton 2016).



**Slika 3.** Prsni kolutići i prvi začani kolutić označeni bojama (prvi prsni kolutić – plava, drugi prsni kolutić – žuta, treći prsni kolutić – crvena, prvi začani kolutić – zelena boja)

Izvor: (<https://myrmecos.files.wordpress.com/2008/09/worker11.jpg>)

Zadak (*abdomen*) (Slika 4) čini stražnji dio tijela kukaca u kojemu je smještena većina unutrašnjih organa. Sastoji se od 10 do 11 kolutića, odnosno sedam vidljivih kolutića kod ženki i osam kolutića kod mužjaka, te dva do tri kolutića bez hitinskih pločica koja formiraju vršni dio zatka. Osmi i deveti kolutići su zapravo uronjeni u unutrašnjost zatka i čine obrambeni mehanizam u vidu žalca ili otvora kroz koje mravi izbacuju mravlju kiselinu ( $\text{CH}_2\text{O}_2$ ). Također, oko osmog kolutića nalazi se spolni otvor s tjelesnim privjescima koji su preobraženi u organe za parenje. Deseti i/ili jedanaesti kolutić su jako reducirani, te predstavljaju vršni luk egzoskeleta. Zadnji začani kolutić nosi osjetilne privjeske (*cerci*) (Fisher i Bolton 2016; Habdija i sur. 2011).



**Slika 4.** Dijelovi zatka

Izvor:

([https://www.antwiki.org/wiki/images/0/0c/Morphology%2C\\_gaster%2C\\_Bolton\\_1994.jpg](https://www.antwiki.org/wiki/images/0/0c/Morphology%2C_gaster%2C_Bolton_1994.jpg))

Mravi su ekološki vrlo značajna skupina organizama. S obzirom na njihovu veliku brojnost, procjenjuje se da čine između 15 do 20% ukupne biomase kopnenih životinja (Schultz 2000). Naselili su skoro sva kopnena područja na našoj planeti, osim Antarktika i nekih izoliranih otoka. Prilagođeni su životu u velikom broju kopnenih ekosustava kopna, uključujući šume, polja, pustinje i gradove diljem svijeta. Mnoge vrste kopaju podzemna gnijezda i na taj način prozračuju tlo, dopuštajući vodi i kisiku dopiranje do korijena biljaka. Poznato je oko 200 vrsta gljivica s kojima mravi žive u simbiozi, gdje obje skupine imaju određenu korist (Adams i sur. 2000). Mravi su predatori. Šumske vrste poput *Formica rufa* Linnaeus, 1761 reguliraju ekosustav tako što se, na godišnjoj razini, hrane milijunima kukaca, a sami čine važan dio prehrane ptica i manjih sisavaca.

### ***Sastav i funkcioniranje zadruga mrava***

Mravi su zadružni kukci koji žive u visoko organiziranim zajednicama. Takve zajednice nazivamo kolonije. Na taj način preživljavaju, rastu i razmnožavaju se, pa se često navodi kako se ponašaju kao jedan organizam, odnosno „superorganizam”. Najmanje kolonije mrava čine kraljica i svega nekoliko radilica, dok veće mogu imati veliki broj kraljica te milijune radilica. Love u grupama i grade nastambe na različite načine uz pomoć raznovrsnog materijala. Mnoge

vrste kopaju podzemna gnijezda i grade humke od čestica tla, dok druge žive u gnijezdima načinjenim povezivanjem lišća. Pojedine zajednice nastanjuju prostore ispod stijena i većih kamenja, koja im pružaju zaštitu od nepovoljnih vanjskih uvjeta, poput niskih ili visokih temperatura zraka (Habdija i sur. 2011; Wheeler 1910).

Za mrave je karakterističan proces potpune preobrazbe koji uključuje stadij jaja, ličinkin stadij, kukuljicu te odrasli oblik (Wheeler 1910).

Njihove zajednice sačinjavaju mužjaci, reproduktivne matice, kraljice i spolno zakržljale ženke, radilice. Sve se jedinke, ovisno o vrsti i podjeli rada unutar kolonije morfološki razlikuju. Mogu se podijeliti na manje radilice koje vode brigu o leglu, nešto veće koje kopaju tunele, te traže i deponiraju ostatke hrane. Najveće radilice, odnosno vojnici s velikim čeljustima, brane koloniju, odlaze u pohode za osvajanje teritorija i pomažu pri svladavanju plijena. Love u skupinama, što im omogućava savladavanje većeg plijena od kukaca, poput manjih ptica i sisavaca. Takav oblik podjele rada u mravljnoj koloniji naziva se socijalnim polimorfizmom. Različite modifikacije jedinki u zadruzi čine kaste s čvrsto određenom ulogom u zajednici. Kada jedinke u zajednici uspostave najvišu razina društvene organizacije s hijerarhijskim poretom kažemo da su eusocijalne (Habdija i sur. 2011).

U većini rodova mužjaci su vrlo slični, dok su kraljice i radilice raznolike. Osjetilni, spolni organi i krila mužjaka su razvijeni, dok su im čeljusti slabije razvijene. Glava je proporcionalno manja i kraća nego u ženki iste vrste (Moser i sur. 2004).

Kraljica je ženka i izdvaja se većim obujmom tijela i jače razvijenim unutarnjim organima. Na glavi ima jake čeljusti, velike složene oči i jednostavne oči. Prsni dio joj je također razvijen s proporcionalno kraćim krilima i nogama. U zatku se nalaze vrlo dobro razvijeni reproduktivni organi (Wheeler 1910). Kraljica se razvija iz oplodjenog jajašca. Kako bi se razvila u kraljicu, ličinka se hrani posebnom hranom koju proizvode radilice pomoću svojih žlijezda. Kraljica započinje koloniju i stvara buduću naraštaj mrava. Dok neke kraljice polažu svega nekoliko tisuća jajašaca godišnje, kraljice roda *Dorylus* Fabricius 1793, u prosjeku polože preko tri milijuna jaja mjesečno. Neke kraljice, poput onih vrste *Lasius niger* (Linnaeus, 1758) u zatočeništvu mogu doživjeti gotovo 29 godina (Kutter i Stumper 1969).



Svaka kolonija, ovisno o vrsti, može imati jednu ili više reproduktivnih ženki. Kod vrste *Cataglyphis cursor* Fonscolombe, 1846 obično postoji samo jedna kraljica, dok primjerice vrsta *Solenopsis invicta* Buren, 1972 može imati i više kraljica u jednoj koloniji (Resasco i sur. 2014).

### ***Taksonomija i evolucija mrava***

Mravi su se, kao skupina opnokrilaca, razvili prije 140 do 110 milijuna godina, u razdoblju krede, od pretka nalik današnjim osama, u vrijeme kada su se na Zemlji razvijale kritosjemenjače (Schultz 2000). Wilson je zajedno sa svojim kolegama 1966. godine utvrdio fosilne ostatke roda *Sphecomyrma*. Primjerak zarobljen u jantaru koji datira unatrag 92 milijuna godina, ima značajke pronađene u osa, ali ne i u današnjih mrava (Wilson i sur. 1967). Tijekom razdoblja paleocena, i ranog eocena, prije 65 do 50 milijuna godina uz naglo širenje cvjetnica započinju značajne adaptivne radijacije određenih skupina unutar porodice mrava (Hölldobler i Wilson 2009).

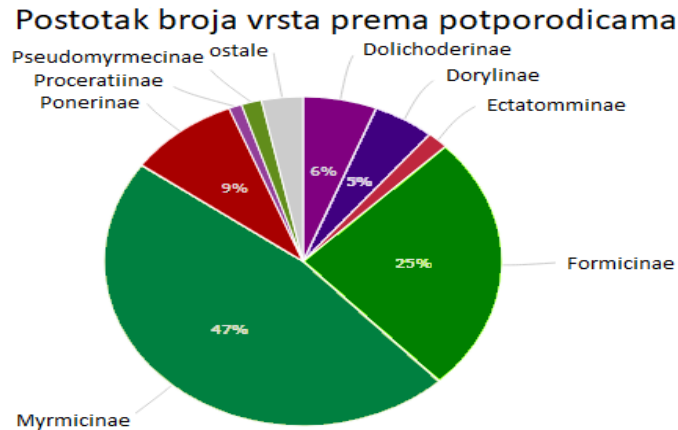
Sistematika:

Carstvo: Animalia; Koljeno: Arthropoda; Potkoljeno: Hexapoda; Razred: Insecta

Red: Hymenoptera; Podred: Apocrita; Infrared: Aculeata; Nadporodica: Vespoidea

Porodica: Formicidae Latreille, 1809

Danas se porodica mrava dijeli na 22 potporodice, od čega je pet izumrlih (Armaniinae, Brownimeciinae, Formiciinae, Haidomyrmecinae i Sphecomyrminae), te 17 recentnih potporodica (Agroecomymecinae, Amblyoponinae, Aneuretinae, Apomyrminae, Dolichoderinae, Dorylinae, Ectatomminae, Formicinae, Heteroponerinae, Leptanillinae, Martialinae, Myrmeciinae, Myrmicinae, Paraponerinae, Ponerinae, Proceratiinae i Pseudomyrmecinae). Vrstama najbrojnije potporodice su Myrmicinae i Formicinae kojima pripadaju dvije trećine od svih poznatih vrsta mrava (Slika 5), (stanje 26. listopada 2020. prema <https://www.antweb.org>).



**Slika 5.** Grafički prikaz udjela vrsta mrava prema potporodicama (stanje 26. listopada 2020. prema <https://www.antweb.org>)

## 1. 2. Kukci u poljoprivrednim staništima

Prije 10 000 godina, na području Egipta i Mezopotamije nastaju prve poljoprivredne kulture. Razni nametnici, mekušci, pauzi i kukci, prilagođavaju se životu u takvim staništima. Poljoprivredne površine danas zauzimaju oko 37,5% od cjelokupne zemljišne površine na Zemlji. Prema procjeni Organizacije za hranu i poljoprivredu (engl. Food and agriculture organisation, FAO) Ujedinjenih naroda (UN), otprilike 1, 6 milijardi hektara Zemljine površine koristi se za uzgoj biljaka. Smatra se, kako brojnost kukaca uvelike nadmašuje ljudsku populaciju, i to u odnosu od 1,5 milijardi naprema 1 (Follet i sur. 2020). Približno polovica svih vrsta kukaca na Zemlji su biljojedi. Obično se hrane biljkama iz jedne ili nekoliko srodnih porodica (Jankielsohn 2018). Kukci koji se hrane biljnom hranom, ne čine nužno veliku štetu na biljkama. Povećana interakcija između biljaka i kukaca, te ostalih beskrležnjaka dovela je do stvaranja niza različitih međuodnosa. Brojne skupine beskrležnjaka su grabežljivci ili parazitiraju na biljkama, dok druge skupine ulaze u mutualističke odnose, pri kojima obje karike imaju određenu korist. Zbog sličnih odnosa između biljaka i kukaca, kao članova ekološke zajednice, može doći do razvoja različitih metaboličkih i fizioloških promjena kod biljaka. Takve promjene mogu biti korisne za kukce i druge beskrležnjake koji doprinose rastu i razvoju biljaka, a negativne za parazitske vrste. Mnoge biljke su razvile fiziološku i kemijsku zaštitu od kukca (Giron i sur. 2018). Međutim, križanjem biljaka i stvaranjem čovjeku korisnih sorti, zbog

većeg prinosa i kvalitete uzgoja, umanjila se njihova otpornost, te time postaju osjetljivije na štetna djelovanja kukaca, te ostalih beskralješnjaka (Follet i sur. 2020).

### **1. 2. 1. Utjecaj poljoprivrede na raznolikost kukaca**

Način gospodarenja poljoprivredom utječe na prirodu, bioraznolikost organizama u poljoprivrednim staništima, kvalitetu staništa i ekosustava. Uzgajanje poljoprivrednih kultura može imati pozitivne i negativne utjecaje na bioraznolikost. Uporaba sintetskih kemijskih gnojiva i pesticida (insekticida, fungicida, herbicida), te križanja željenih biljnih sorti, rezultiralo je visokim prinosima u poljoprivredi i smanjenjem bioraznolikosti. Većom proizvodnjom ovakvih biljnih sorti, smanjuje se uzgoj domaćih sorti, što dovodi do gubitka određenog genetskog materijala unutar ekosustava. Primjenom pesticida smanjuje se brojnost i raznolikost kukaca. Krčenje šuma i isušivanje močvara za potrebe poljoprivredne proizvodnje, samo su neki od primjera kako se uništavaju prirodna staništa i ekosustavi mnogih biljnih i životinjskih vrsta, a posebno kukaca (Znaor i Karoglan Todorović 2016).

Herbivorni kukci uništavaju oko 18% svjetske poljoprivredne proizvodnje, ali samo 0, 5% kukaca, od ukupno poznatih vrsta, smatra se nametnicima. Unatoč tome, kukci su vrlo važni za održavanje poljoprivrednih kultura. Poznato je da više od 72% svjetskih poljoprivrednih usjeva ovisi o njihovom oprašivanju. Oprašivače čine tisuće vrsta pčela, bumbara, kornjaša i leptira, a njihov opstanak i raznolikost ovisi o načinu upravljanja poljoprivrednim površinama. Kornjaši su i grabežljivci, koji se hrane brojnim nametnicima u poljoprivrednim kulturama, uključujući lisne uši, puževe i druge biljojedne kukce. Stoga, osim s ljudskog stajališta, kukci zapravo nisu nametnici u ekološkom, niti u evolucijskom i bilo kojem drugom smislu (Jankielsohn 2018). Pri suzbijanju nametnika potrebno je primjenjivati odgovarajuće pesticide na točno određene skupine štetnih beskralješnjaka i što manje količine kemijskih tvari, te na taj način smanjiti negativne utjecaje na raznolikost kukaca (Jankielsohn 2018; McLaughlin i Mineau 1995).

### 1. 2. 2. Kukci u biološkoj kontroli

Pojam biološke kontrole podrazumijeva nekemijsku metodu suzbijanja nametnika primjenom živih, korisnih organizama, najčešće kukaca i produkata njihovog metabolizma. Kukci doprinose smanjenju populacija nametnika, te njihov utjecaj dovode ispod ekonomskog praga štetnosti. Biološka kontrola je sigurna, jednostavna i ekološki prihvatljiva metoda u agroekološkim sustavima. Prilikom primjene ove metode, ne dolazi do štetnog djelovanja na zdravlje proizvođača niti potrošača (Ravlić i Baličević 2014).

Postoje tri različite vrste bioloških kontrola koje se koriste u agroekosustavima. Klasična biološka kontrola podrazumijeva unošenje specifičnog, prirodnog neprijatelja nametnika u novo stanište, gdje se potom očekuje uspostavljanje kontrole nad populacijom nametnika. Konzervacijska biološka kontrola uključuje povremeno unošenje kukaca, kao prirodnih neprijatelja nametnika u stanište, kako bi se ponovno uspostavila ravnoteža prethodno narušena uporabom drugih metoda. Za razliku od konzervacijske, augmentativnom biološkom kontrolom u stanište, unosi se veliki broj, točno određenih skupina kukaca, kako bi se uspostavila brza kontrola nametnika. Primjenom biološke kontrole populacije nametnika mogu se smanjiti, ali nužno i ne moraju. Teško je pretpostaviti ishode uporabe biološke kontrole, zbog čega se takva metoda često naziva velikim ekološkim eksperimentom (Ravlić i Baličević 2014; Unruh. 1993).

Korisni kukci u agroekosustavima uključuju oprašivače i grabežljivce. Oprašivači prenose pelud s jednog cvijeta na drugi te tako oprašuju biljke i omogućavaju njihovo razmnožavanje, dok grabežljivci poput božje ovčice, muha pršilica, bogomoljki i trčaka, hvataju nametnike i njima se hrane. Božje ovčice kontroliraju populacije lisnih uši u uzgoju voća i povrća. U kombinaciji s parazitskim osicama, koriste se kao jedna od mjera biološke zaštite vinove loze i maslina od polukrilaca, poput vrste *Planococcus citri* Risso, 1813 (Kereši i sur. 2017).

### **1. 3. Pregled istraživanja mrava u mediteranskim poljoprivrednim kulturama**

Mravi kontinentalnog dijela Europe i Mediterana, općenito su slabo istraženi. To je razlog zbog čega određivanje vrsta ponekad može biti teško, pa čak i neuspješno (Borowiec 2014). Široki, dnevni i sezonski temperaturni rasponi u području Mediterana, jedan su od glavnih čimbenika koji utječu na raznolikost mrava. Takvi rasponi u temperaturi, stvaraju se zbog ograničene raznolikosti vegetacije i strukture staništa. Dnevni raspon temperature može biti dovoljno širok da se ispune potrebe svih vrsta, onih koje su prilagođene toplijim, ali i hladnijim uvjetima (Ceradá i sur. 1998; Heatwole i Muir 1989).

Pronađen je vrlo mali broj literaturnih zapisa o istraživanju mrava u mediteranskim poljoprivrednim kulturama.

U Hrvatskoj, mravi nisu dovoljno istraženi (Ješovnik i sur. 2019). Većina vrsta zabilježena je na području Istre i Dalmacije (Bračko 2006). Jedino istraživanje mrava u poljoprivrednim staništima Hrvatske, obavljeno je u Zagrebu (Ješovnik i sur. 2019) u jednogodišnjim (krumpir, soja, kukuruz) i višegodišnjim usjevima (dva voćnjaka jabuka i vinograd), te u nepoljoprivrednom staništu (livada), koje je predstavljalo kontrolnu plohu. Odabrani su usjevi s različitim stupnjem gnojide i uporabe pesticida. Tijekom istraživanja nije utvrđena statistički značajna razlika u bogatstvu i raznolikosti mrava između usjeva i kontrolnih ploha. Međutim, istraživanjem se pokazalo da plohe s visokim stupnjem uporabe gnojiva i pesticida, ipak imaju manje bogatstvo i raznolikost vrsta mrava (Ješovnik i sur. 2019).

Svega nekoliko radova izravno je povezano s istraživanjem mrava u mediteranskim poljoprivrednim kulturama. Radi boljih rezultata, za istraživanje utjecaja različitih postupaka gospodarenja vinogradima na zajednice mrava u Italiji, Masoni i sur. (2017), odabrali su vinograde sa sličnim načinom obrade tla. Rezultati istraživanja su pokazali da korištenje pesticida u talijanskim vinogradima, negativno utječe na biološku raznolikost mrava.

Prekomjerna uporaba agrokemijskih tvari i sintetičkih pesticida dovodi do smanjenja biološke raznolikosti u mediteranskim poljoprivrednim kulturama. Istraživanjem utjecaja obrade tla pomoću oranja, u maslinicima Španjolske, na taksonomsku i funkcionalnu raznolikost mrava, pokazano je da oranje tla u maslinicima ima veliki negativni učinak na bogatstvo i raznolikost zajednica mrava (Hevia i sur. 2019).

#### 1. 4. DNA barkodiranje

DNA barkodiranje je metoda identifikacije vrsta pomoću kratkog dijela DNA iz određenog gena. Pretpostavka DNA barkodiranja je da se, u usporedbi s referentnom bibliotekom takvih DNA sekvenci, pojedinačna sekvenca može koristiti za jedinstvenu identifikaciju organizma i vrsta. Ti se "barkodovi" ponekad koriste u nastojanju da se identificiraju nepoznate vrste, dijelovi organizma ili jednostavno katalogizira što je moguće više svojti. DNA barkodiranjem se rade i usporedbe s tradicionalnom taksonomijom u nastojanju da se točnije odrede pojedine vrste.

Metoda DNA barkodiranja se koristi kako bi se nadopunio popis vrsta određenih skupina organizama za koje nije jednostavno utvrditi vrstu pomoću morfoloških analiza. U nekim je slučajevima, metodama uzorkovanja mrava moguće sakupiti samo mužjaka određene vrste, dok je za razlikovanje vrsta potrebna ženka. Neke endemske vrste mrava nisu opisane u ključevima za određivanje vrsta, te ih je jedino moguće odrediti koristeći se morfološkim usporedbama s muzejskim primjercima, čiji se muzeji često nalaze izvan Hrvatske. Također, ponekad se sestrinske vrste mrava teško određuju samo prema izvanjskoj morfologiji. S obzirom na navedene primjere, te nemogućnosti sakupljanja baš svih traženih jedinki mrava prilikom njihovog uzorkovanja na terenskom istraživanju, DNA barkodiranje predstavlja jedan od načina za savladavanje takvih prepreka kako bi se naposljetku dobile informacije o vrsti mrava.

Za istraživanje životinjskih vrsta koristi se 5' kraj mitohondrijskog gena za podjedinicu I citokrom c oksidaze (*COI*) dužine oko 648 parova baza. DNA barkodiranje koristi jednu gensku regiju zbog čega ne daje cjelovite, nego približno točne rezultate. Barkodiranjem se u 97% slučajeva određuje materijal do razine vrste (Hebert i Gregory 2005).

Mnogi taksonomi izražavaju nelagodu zbog sve češće uporabe DNA barkodiranja jer smatraju kako bi klasična, Linneova taksonomija mogla pasti u zaborav. Međutim, postoji jasna razlika između opisivanja i razgraničavanja vrsta. DNA barkodiranje nastoji pomoći u razgraničavanju vrsta. Cilj je odrediti genetički različite skupine, čije sekvence pokazuju jasno odstupanje od razine vrste. Uporaba samog DNA barkodiranja za opisivanje novih vrsta, nikada nije dovoljna (Hebert i Gregory 2005). Nastoji se izgraditi suradnja između molekularnih i morfoloških taksonoma, te na taj način očuvati Linneova načela prema kojima se vrste imenuju i svrstavaju u određene sistematske kategorije (Hebert i Barrett 2005; Hebert i Gregory 2005).

Početak 20. stoljeća, pokrenuta je međunarodna inicijativa pod nazivom „Barkod života“ čiji je cilj opisati sve vrste živih organizama na Zemlji. Prikupljene informacije će biti pohranjene na jednom mjestu i dostupne svima, što bi naposljetku moglo pridonijeti boljem poznavanju i upravljanju ekosustavima (Costa i Antunes 2012).

### **1. 5. Filogenija kukaca**

Filogenija je znanstvena disciplina koja se bavi istraživanjem razvoja pojedinih skupina organizama. Pri tome se koristi analizama srodstvenih odnosa na temelju morfoloških, anatomskih, fizioloških, ekoloških, etoloških, te genetičkih obilježja, što dovodi do rekonstrukcije filogenetičkih stabala (Habdija i sur. 2011). Pojam „filogenija“, prvi je upotrijebio njemački zoolog, Ernst Haeckel u svom djelu „*Generelle Morphologie der Organismen*“, 1866. godine (Dayrat 2003). Kroz naredno razdoblje, biolozi su napravili veliki napredak u razumijevanju srodstvenih odnosa među organizmima. Današnji pogled na filogenetsko stablo životinjskog svijeta, rezultat je desetljeća rada i istraživanja filogenije na anatomskim, razvojnim, te molekularnim karakteristikama životinja (Dunn i sur. 2014).

### 1. 5. 1. Potporodice i rodovi mrava na području Hrvatske

Na području Hrvatske do sada je zabilježeno 160 vrsta mrava, iz 6 potporodica i 39 rodova. Slovenski entomolog, Gregor Bračko je za Hrvatsku naveo 140 vrsta mrava u 36 rodova, Ješovnik i sur. (2011) je opisala tri vrste mrava, te jedan novi rod za područje Hrvatske. U radovima Borowiec i Salata (2012) i Borowiec (2014) navedene su mnoge nove vrste za hrvatsku mirmekofaunu, poput: *Aphaenogaster illyrica* Bračko, Lapeva – Gjonova, Salata, Borowiec i Polak, 2019, *Aphaenogaster picena* Baroni Urbani, 1971, *Bothriomyrmex communista* Santschi, 1919, *Camponotus heidrunvogtae* Seifert, 2019, *Camponotus honaziensis* Karaman i Aktac, 2013, *Formica clara* Forel 1886, *Myrmica constricta* Karavaiev, 1934, *Myrmica hellenica* Finzi, 1926, *Nylanderia vividula* (Nylander, 1846), *Pheidole balcanica* Seifert, 2016, *Stigmatomma denticulatum* Roger, 1859, *Temnothorax brackoi* Salata i Borowiec, 2019, *Temnothorax corticalis* (Schenck, 1852), *Temnothorax morea* Csösz, Salata i Borowiec, 2018, *Temnothorax strymonensis* Csösz, Salata i Borowiec, 2018, *Tetramorium breviscapus* Wagner, Arthofer, Seifert, Muster, Steiner i Schlick – Steiner, 2017 i *Tetramorium kephalosi* Salata i Borowiec, 2017.

Klasifikacija sistematskih kategorija, potporodica i rodova, te brojnost vrsta preuzeti su prema Borowiec (2014) i Bračko (2006) (Tablica 1).

Prema Konvenciji o biološkoj raznolikosti (članak 2.) pojam biološke raznolikosti označava raznolikost organizama iz svih izvora, uključujući kopnene, morske i ostale vodene ekosustave i ekološke komplekse. Čine je raznolikost unutar vrsta (genetička raznolikost), među vrstama (raznolikost vrsta) i raznolikost ekosustava (ekološka raznolikost). Biološka raznolikost izražava se pomoću alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) i gama ( $\gamma$ ) raznolikosti. Alfa raznolikost označava raznolikost vrsta unutar zajednice, odnosno mjesta uzorkovanja. Pri tome, bogatstvo vrsta predstavlja broj vrsta u određenoj zajednici. Beta raznolikost mjeri raznolikost između različitih zajednica, dok se gama raznolikost izražava kao broj različitih vrsta unutar neke veće regije (Sepkoski 1988). U ovom radu obradit će se alfa raznolikost, odnosno raznolikost vrsta mrava unutar zajednica, te beta raznolikost, tj. raznolikost vrsta mrava između različitih zajednica.



**Tablica 1.** Popis potporodica, rodova i vrsta mrava unutar porodice Formicidae Latreille, 1809 prisutnih u Hrvatskoj.

Potporodica	Rod	Brojnost vrsta unutar roda
Amblyoponinae Forel, 1893	<i>Amblyopone</i> Erichson, 1842	1
	<i>Stigmatomma</i> Roger, 1859	1
Ponerinae Lepeletier de Saint – Fargeau, 1835	<i>Cryptopone</i> Emery, 1893	1
	<i>Hypoponera</i> Santschi, 1938	1
	<i>Ponera</i> Latreille, 1804	2
Proceratiinae Emery, 1895	<i>Proceratium</i> Roger, 1863	2
Myrmicinae Lepeletier de Saint – Fargeau, 1834	<i>Aphaenogaster</i> Mayr, 1853	9
	<i>Chalepoxenus</i> Menozzi, 1923	2
	<i>Crematogaster</i> Lund, 1831	4
	<i>Formicoxenus</i> Mayr, 1855	1
	<i>Leptothorax</i> Mayr, 1855	3
	<i>Manica</i> Jurine, 1807	1
	<i>Messor</i> Forel, 1890	3
	<i>Monomorium</i> Mayr, 1855	2
	<i>Myrmecina</i> Curtis, 1829	1
	<i>Myrmica</i> Latreille, 1804	15
	<i>Myrmoxenus</i> Ruzsky 1902	4
	<i>Pheidole</i> Westwood, 1839	2
	<i>Pyramica</i> Roger, 1862	2
	<i>Solenopsis</i> Westwood, 1840	2
	<i>Stenammina</i> Westwood, 1839	2
	<i>Strongylognathus</i> Mayr, 1853	1
	<i>Temnothorax</i> Mayr, 1861	23
	<i>Tetramorium</i> Mayr, 1855	10
Dolichoderinae Forel, 1878	<i>Bothriomyrmex</i> Emery, 1869	3
	<i>Dolichoderus</i> Lund, 1831	1
	<i>Liometopum</i> Mayr, 1861	1
	<i>Tapinoma</i> Foerster, 1850	3
Formicinae Latreille, 1809	<i>Camponotus</i> Mayr, 1861	11

## Nastavak Tablice 1.

	<i>Cataglyphis</i> Foerster, 1850	2
	<i>Formica</i> Linnaeus, 1758	15
	<i>Lasius</i> Fabricius, 1804	19
	<i>Lepisiota</i> Santschi, 1926	2
	<i>Nylanderia</i> Emery, 1906	1
	<i>Paratrechina</i> Motschuolsky, 1863	1
	<i>Plagiolepis</i> Mayr, 1861	3
	<i>Polyergus</i> Latreille, 1804	1
	<i>Prenolepis</i> Mayr, 1861	1
	<i>Proformica</i> Ruzsky, 1902	1

### 1. 5. 2. Molekularna filogenetika

Molekularna filogenetika je grana filogenije koja analizira genetičke, nasljedne molekularne razlike, pretežno u sekvencama DNA, kako bi dobila informacije o evolucijskim odnosima organizma. Iz ovih analiza moguće je utvrditi procese kojima je postignuta raznolikost među vrstama. Rezultat molekularno filogenetičke analize izražen je u filogenetskom stablu. Molekularna filogenetika jedan je od aspekata molekularne sistematike, širi pojam koji također uključuje upotrebu molekularnih podataka u taksonomiji i biogeografiji.

Glavni cilj molekularne filogenetike je prikazati slijed evolucijskih događaja i predstaviti ih na filogenetskom stablu (Dowell 2008). Biolozi i genetičari koriste filogenetska stabla kako bi prikazali evolucijske odnose između vrsta ili gena (Zainon i Calder 2006). Prilikom istraživanja molekularne filogenetike, znanstvenici se koriste kombinacijom molekularnih i statističkih metoda (Dowell 2008). U ovom rad, uz pomoć molekularne filogenetike analizirat će se genetičke razlike u sekvencama DNA mrava, kako bi se dobile informacije o evolucijskim odnosima istraživanih svojti mrava.

Molekularna evolucija, a samim time i evolucija, je proces promjene u sastavu staničnih molekula kao što su DNA, RNA i proteini. Područje molekularne evolucije koristi principe evolucijske biologije i populacijske genetike kako bi objasnila obrasce tih promjena. Svaka od navedenih molekula, tijekom određenog vremenskog razdoblja, može poprimiti jednu ili više

promjena, odnosno varijacija. Primjerice, jedna od promjena može utjecati na reproduktivnu sposobnost populacije, te dovesti do promjene stope rodosti i smrtnosti (Xiong 2006). Promjene na molekularnoj razini, uzrokovane su mutacijama, koje predstavljaju promjene u slijedu nukleotida unutar molekule DNA. Mutacije u genu nastaju u slučaju dodavanja, uklanjanja ili zamjene jednog nukleotida drugim, što utječe na strukturu proteina i biološku funkciju organizma (Cooper i Hausman 2004; Xiong 2006).

Važno je istaknuti kako se filogenetičkim analizama gena, opisuje samo evolucija tog određenog gena. Svaki pojedini gen, može se razvijati manjom, ili pak većom brzinom od ostatka gena u genomu organizma, te imati vlastiti evolucijski put zahvaljujući horizontalnom prijenosu gena. Na taj način, evolucije gena i vrste ne moraju biti povezane. Prilikom opažanja filogenetskog stabla gena, mogu se primijetiti točke grananja unutarnjih čvorova koje označavaju duplikaciju gena, dok kod filogenetskog stabla vrsta, te točke predstavljaju trenutak nastanka novih vrsta. Takva dva događaja mogu se međusobno podudarati, ali i ne moraju. Za konačnu filogeniju vrste, potrebno je izraditi stabla s nekoliko generacija, što bi dalo valjanu procjenu razvoja vrste (Kocijan 2016; Xiong 2006). Blisko srodni organizmi imaju genetički materijal koji potječe od zajedničkog pretka. Njihovi geni i proteini su sličniji, nego li kod organizama s kojima su u daljem srodstvu (Habdija i sur. 2011). U molekularno filogenetičkim istraživanjima, za blisko srodne vrste koriste se nukleotidne sekvence, dok za srodstveno udaljenije vrste, koriste se proteinske sekvence ili ribosomska RNA (rRNA) (Habdija i sur. 2011; Xiong 2006).

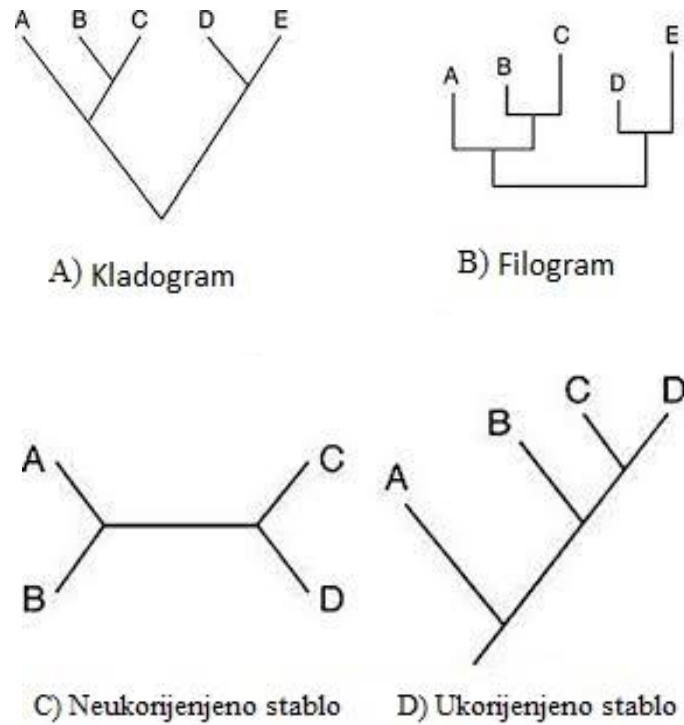
### 1. 5. 3. Filogenetsko stablo

Filogenija je vrlo važna za druge znanstvene discipline u okviru biologije. Filogenetska stabla daju podatke o srodnosti između proučavanih skupina. Razvojna složenost organizama, što uključuje tipove stanica, tkiva i organa, ne može se objasniti bez upotrebe filogenetskog stabla. Znanstvenici se koriste stablima kako bi uspjeli odrediti točno vrijeme nastanka glave razvojne linije života, te opisati cjelokupnu povijest života na Zemlji. Pravilno izrađeno, filogenetsko stablo omogućava organiziranje podataka o životinjama, te određivanje njihove raznolikosti, temeljem zajedničke evolucijske prošlosti (Dunn i sur. 2014).

Srodstveni odnosi između vrsta ili gena na filogenetskom stablu, prikazuju se u grafičkom obliku (Dowell 2008). Svako stablo sastoji se od unutarnjih, te vanjskih grana (engl. branch) i čvorova (engl. node). Vanjske grane predstavljaju vrste ili sekvence, koje nazivamo operacijskim taksonomskim jedinicama. Točka spajanja dviju grana, naziva se čvor. Svaki čvor označava zajedničkog pretka postojećih svojti ili taksona. Na stablu se nalazi, takozvani korijenski čvor, koji predstavlja zajedničkog pretka svim taksonima na stablu. Svojte ili taksoni koji potječu od jednog zajedničkog pretka nazivaju se monofiletskom skupinom (Xiong 2006). Organizmi koji pripadaju takvoj skupini, dijele određeni set morfoloških i genetičkih svojstava. Kada skupina taksona dijeli više od jednog zajedničkog pretka, naziva se polifiletskom skupinom (Habdija i sur. 2011). Uzorak grananja na filogenetskom stablu predstavlja izgled samog stabla (Xiong 2006). Filogenetsko stablo može biti ukorijenjeno ili neukorijenjeno (Slika 16 C i D). Neukorijenjeno stablo ne daje informacije o zajedničkom pretku, već samo pokazuje odnose između zadanih taksona. Stablo je potrebno ukorijeniti kako bi se mogao odrediti smjer evolucijskog puta. U ukorijenjenom stablu, taksoni imaju zajedničkog pretka, odnosno korijenski čvor, iz kojeg se može odrediti evolucijski put prema svakom drugom čvoru (Kocijan 2016; Xiong 2006). Filogenetsko stablo se može ukorijeniti pomoću vanjske grupe. To je takson, koji je srodstveno udaljeniji od ostatka svojti na stablu (Hall 2013).

Izgled grana na filogenetskom stablu određuje odnos između određenih svojti, dok stablo može biti prikazano u obliku filograma ili kladograma (Slika 6 A i B). Duljina grana na filogramu predstavlja evolucijsku udaljenost. Prednost ovakvog stabla je što pokazuje evolucijski odnos i informacije o evolucijskoj udaljenosti na granama. Srodstveni odnosi među svojtima na

kladogramu su jasno izraženi no grane na stablu nisu proporcionalne broju evolucijskih promjena, stoga nemaju posebnog filogenetičkog značaja (Xiong 2006).



**Slika 6.** A) Kladograma. B) Filograma. C) Neukorijenjeno stablo. D) Ukorijenjeno stablo.  
(preuzeto i prilagođeno iz: Xiong 2006)

## 2. Ciljevi istraživanja

Istraživanjem sastava i brojnosti populacija mrava sjeverne Dalmacije, te utjecaja ekološkog i integriranog suzbijanja nametnika u agroekosustavima na njihovu bioraznolikost, cilj rada je utvrditi:

- broj vrsta
- broj jedinki pojedinih vrsta
- broj haplogrupa
- alfa biološku raznolikost koja predstavlja raznolikost vrsta unutar ekološke zajednice, odnosno bogatstvo vrsta unutar standardnog mjesta uzorkovanja
- beta biološku raznolikost, odnosno raznolikost između različitih zajednica, što predstavlja procjenu raznolikosti šireg područja ili regije

### **3. Materijali i metode**

#### **3. 1. Materijal**

##### **3. 1. 1. Uzorci mrava**

Pregled materijala, te određivanje vrsta mrava i njihove brojnosti za analize raznolikosti i molekularno filogenetičke analize proveo sam na uzorcima mrava prikupljenih u sklopu projekta „Mediterratri“ (HRZZ UIP-05-2017-1046) (Jelaska i sur. 2019). Mravi su bili izdvojeni iz uzoraka, te pohranjeni u posudicama sa 96% - tnim etanolom i komadićem paus papira s podacima o lokaciji, datumu i metodi uzorkovanja za sve jedinke mrava. Materijal koji se koristio u molekularno filogenetičkim analizama bio je pohranjen u posudicama s 96% - tnim etanolom i čuvan u hladnjaku na 4 °C.

Mravi su uzorkovani u razdoblju od svibnja do listopada 2018. godine na području Zadarske županije u sjevernoj Dalmaciji. Terensko istraživanje je provedeno u vinogradima i maslinicima, s integriranom i ekološkom zaštitom bilja u kojima se koriste razne skupine pesticida, te u prirodnom staništu bez gospodarenja, u kome nema uporabe pesticida. Pod pojmom vinograda i maslinika s ekološkom zaštitom bilja, smatraju se oni usjevi koji su tretirani samo organskim gnojivom, drobljenim mineralnim stijenama i nesintetičkim pesticidima, dok se prilikom uzgoja vinograda i maslinika s integriranom zaštitom bilja, koriste razne agrokemijske tvari poput anorganskih gnojiva i sintetičkih pesticida (Kojić 2019).

Unutar projekta, sveukupno je sakupljeno 10 462 jedinki mrava s pet različitih ploha. Od toga u jednom masliniku s integriranom zaštitom bilja (MI) 691 jedinka, u jednom masliniku s ekološkom zaštitom bilja (ME) 1 884 jedinke, na plohi jednog vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) 6 106 jedinki i jednom vinogradu s ekološkom zaštitom bilja (VE) 556 jedinki, te 1 225 jedinki na kontrolnoj plohi (K) koja predstavlja prirodno stanište, bez gospodarenja, gdje nije bilo uporabe pesticida, odnosno stanište koje je obraslo makijom i garigom. Za uzorkovanje mrava, korištene su metode stresanja, izdvajanja pomoću Tullgrenovih lijevka, lovnih zamki i ručnog sakupljanja.

Metoda stresanja pomaže kod uzorkovanja faune s krošnje i lisnatih dijelova drvenastih biljaka. Stresanje uključuje udaranje u grane i lišće drvenastih biljaka štapom na kojem je natakuta spužva kako bi biljka ostala neoštećena (Durbešić i sur. 2018). Mravi upadaju u podmetnuti tuljac, te se prenose u već pripremljene posude s etanolom.

Lovne zamke čine plastične posude koje su ukopane u tlo do ruba otvora kroz koji kukci i drugi člankonošci koji se aktivno kreću po površini tla upadaju u posudicu. U posudicu može biti dodan konzervans (ocat, alkohol, koncentrirana otopina soli, ili dr.), a po potrebi mogu biti prazne i služiti kao živolovke (Durbešić i sur. 2018).

Za izdvajanje kukaca iz tla i listinca metodom po Tullgrenu, koristi se aparat načinjen od metalnog lijevka, posude za sakupljanje sa etanolom, te mrežice. Lijevak se umetne u posudu za sakupljanje. Uski kraj lijevka okrene se prema dnu posude. U unutrašnjosti lijevka, postavi se mrežica s rupicama dovoljne širine, kako bi kroz njih kukci mogli upasti u posudu. Tada se na mrežicu lijevka nanese uzorak tla i/ili listinca. Iznad lijevka postavi se jači izvor svjetlosti koji osvjetljava i zagrijava tlo. Kako bi izbjegli svjetlost i toplinu, kukci se kreću što dublje kroz podlogu, te u konačnici upadaju u posudu za sakupljanje (Haneda i Marfuah 2014, Durbešić i sur. 2018).

Uzorci sakupljeni pomoću Tullgrenovih lijevaka i stresanjem pohranjeni su u 96% - tni etanol (ili apsolutni etanol) za naknadnu izolaciju DNA iz tkiva prikupljenih jedinki, te analize lančane reakcije polimerazom (PCR) za potrebe sekvenciranja.



### 3. 1. 2. Kemikalije korištene u molekularno filogenetičkim analizama

- 10% - tni Chelex 100 polimer (Sigma Aldrich)
- proteinaza K (Sigma Aldrich) (c = 20 mg/mL, c = 600 units/mL)
- Emerald polimeraza iz termofilne bakterije *Thermus aquaticus* (EmeraldAMP® MAX PCR Master Mix) (2x Premix)
- agarozna za molekularnu biologiju, niska EEO (elektroendoosmoza) za elektroforezu (Sigma Aldrich)
- pufer 100 mL (1x TAE) (Tris – acetate – EDTA)
- Egzonukleaza 1 (eksodezoksiribonukleaza) (enzim)
- Antartik fosfataza (alkalna fosfataza) (enzim)

### 3. 1. 3. Protokol za izolaciju DNA

- Protokol za Chelex izolaciju prema Casquet i sur. (2012)

### 3. 1. 4. Oligonukleotidne početnice

- Početnica F (LCO1490: 5' – GGTC AACAAATCATAAAGATATTGG - 3') prema Folmer i sur. (1994)
- Početnica R (HC02198: 5' – TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA - 3') prema Folmer i sur. (1994)

## 3. 2. Metode

### 3. 2. 1. Morfološko određivanje vrsta mrava

Morfologija svake vrste je jedinstvena, zbog čega je potrebno odabrati odgovarajuću literaturu za proučavanje. Određivanje mrava prema morfološkim značajkama obavio sam u razdoblju od prosinca 2019. do srpnja 2020. godine, u prostorijama Biološkog odsjeka, Prirodoslovno – matematičkog fakulteta u Zagrebu. Uzorke mrava pregledao sam pod laboratorijskom lupom marke Pro Lux i Zeiss, koristeći različita povećanja (10x, 40x, 100x). Za određivanje vrsta mrava koristio sam dva ključa, Seifert (2018) i Lebas i sur. (2019), te internetsku stranicu „AntWeb“ (<https://www.antweb.org>). AntWeb predstavlja vodeću bazu podataka o mravima na svijetu. Prikuplja veliku količinu fotografija, uzoraka i informacija o svim poznatim vrstama mrava. Mrave sam morfološki razlikovao na temelju izgleda njihove glave, prsa, zatka te ticala. Unatoč sličnoj građi, mravi se razlikuju po njihovom cjelokupnom izgledu. Prije svega sam odredio kojoj potporodici određeni uzorak mrava pripada. Zanimalo me, ima li mrav na svom tijelu jedan kolutić (*petiole*) ili dva (*petiole* i *postpetiole*) kolutića koja međusobno spajaju prsa i zadak. Mravi s jednim takvim kolutićem pripadaju potporodici Myrmicinae, dok mravi koji posjeduju dva kolutića koji spajaju prsa i zadak mrava, pripadaju potporodicama Dolichoderinae ili Formicinae. Nadalje, ove dvije navedene potporodice mrava, razlikuju se po tome što pripadnici potporodice Dolichoderinae s leđne strane tijela, posjeduju četiri vidljiva začana kolutića, dok vrste koje pripadaju potporodici Formicinae, posjeduju njih pet. Nakon što sam odredio kojoj potporodici mrava pripada određeni uzorak, koristeći se spomenutom laboratorijskom lupom i ključevima za određivanje vrsta, prema tjelesnim udubinama i izbočinama na glavi, brojem članaka od kojih su sastavljena ticala, nazubljenosti donje čeljusti, izgleda prsa, posjedovanju žalca ili otvora kroz koji mravi izbacuju mravlju kiselinu, odredio sam kojem rodu, odnosno vrsti mrava pripada dati uzorak. Nakon obrade uzoraka, mravima sam dodijelio latinske nazive rodova ili vrsta. Izdvojio sam po jednu jedinku od svakog roda ili vrste, te takve jedinke predstavljaju sve moguće morfotipove mrava unutar ovog istraživanja. Dio uzoraka mrava sam fotografirao pomoću laboratorijske lupe, ZEISS Stemi 305 Compact Stereo Microscope (povećanja: 4x, 8x i 40x) i kamere ZEISS AxioCam, priključenih na računalo, na kojem sam prethodno instalirao program za digitalno, mikroskopsko fotografiranje Zeiss Zen 2.6 (blue edition). Zbog bolje rezolucije fotografija,

koristio sam više različitih povećanja (0,8x, 1x, 2x, 3x, 4x), koja se ovisno o potrebi, vrlo jednostavno prilagode i u programu. Također, tri fotografije sam preuzeo iz baze „The Barcode of Life Data System (BOLD)“ projekta MEDITERATRI (HRZZ UIP 05 – 2017 – 1046), a dvije sam fotografije preuzeo s interneta, te ih uvrstio u ovaj rad.

### **3. 2. 2. Određivanje vrsta mrava DNA barkodiranjem**

Prije genetičkog određivanja vrsta, odabrao sam odgovarajuće jedinke za postupak. Izdvojene jedinke predstavljaju sve moguće morfotipove mrava unutar istraživanja koji su utvrđeni prema morfološkim razlikama po kojima su se odvajale mogući rodovi, odnosno vrste. Na taj način se obuhvatila ukupna raznolikost uzorkovanih vrsta. Genetičko određivanje vrsta mrava obavljeno je u srpnju 2020. godine, u laboratorijima Biološkog odsjeka, Prirodoslovno – matematičkog fakulteta u Zagrebu, te redom uključuje: izolaciju DNA iz tkiva, lančanu reakciju polimerazom (PCR), elektroforezu na gelu, pročišćavanje uzoraka dobivenih PCR - om i sekvenciranje DNA, te računalne analize nukleotidnih sekvenci uz pretragu sekvenci DNA u NCBI bazi podataka.

#### ***Izolacija ukupne genomske DNA***

Ovisno o veličini uzorka, pažljivo je uklonjena jedna noga ili pak, odvojena cijela jedinka koristeći se steriliziranim pincetama. Uzorci su kraće vrijeme položeni na čistu, aluminijsku foliju ili filter papir, kako bi višak etanola iz uzorka ishlapio. Pincete koje su korištene tijekom izolacije, sterilizirao sam prije uzimanja sljedećeg uzorka ispiranjem u otopini klora, te žarenjem vrhova pinceta na plameniku. Nakon toga, pincete su bile spremne za rukovanje novim uzorkom. Navedene korake sam ponavljao dok nisam ispunio preostale mikro epruvete s uzorcima nogu. Kemikalije korištene za izolaciju DNA mrava su: 10% - tni Chelex plimer 100 i proteinaza K. Izmjerenu 10% - tnu otopinu Chelex polimera 100 stavio sam u posudu, te dodao vodu. Posudu sam postavio na magnetsku miješalicu, te se sadržaj posude miješao pomoću magneta kako bi se dobila homogena smjesa. U svaku mikro epruvetu s uzorkom dodano je 10 µL proteinaze K, pritom pazeći da noge ili cijela jedinka budu sasvim utopljene u proteinazu. Potom je dodano 150 µL 10% - tne otopine Chelexa 100 u svaku od mikro epruveta. Svaki od uzoraka, pohranjen

je u zasebnoj mikro epruveti. Uzorci su se inkubirali preko noći u vodenoj kupelji na 56 °C u koju sam prethodno dodao destiliranu vodu. Izoliranu DNA, pohranio sam u hladnjak na – 20 °C (Casquet i sur. 2012).

### ***Lančana reakcija polimerazom (PCR)***

Postupak koji slijedi nakon izolacije DNA, pri kojem se kratki dio molekule DNA umnožava u veliki broj jednakih kopija, naziva se lančana reakcija polimerazom ili PCR.

Svaku mikro epruvetu s uzorkom DNA sam izmiješao u uređaju Vortex V – 1 plus (BioSan) na 10 sekundi. Isto sam učinio s komponentama reagensa za lančanu reakciju polimerazom. Pripravljeni reagens za lančanu reakciju polimerazom sastoji se od: Emerald polimeraze, početnice F, početnice R i deionizirane vode. Nakon centrifugiranja u 9 µL otopine reagensa za lančanu reakciju polimerazom svake od mikro epruveta, uneseno je po 1 µL uzorka DNA. Mikro epruvete su ponovno centrifugirane, zbog čega se njihov sadržaj povukao na samo dno. Onda su se takve mikro epruvete s uzorcima postavile u uređaj za lančanu reakciju polimerazom (Bio – Rad MyCycler). Principi za svaki PCR su isti. Postoje tri glavne faze:

1. Denaturacija DNA (94 °C) – dvolančana DNA se zagrijava kako bi se razdvojila na dva lanca
2. Prianjanje početnica (47 °C) – temperatura se snizi kako bi se DNA početnice mogle vezati na jednolančane lance DNA
3. Elongacija DNA (72 °C) – DNA polimeraza (Emerald) produžava lanac DNA dodajući nukleotide na 3' kraj početnica.

Navedene faze, ponavljale su se 40 puta, a u svakom ponavljanju broj kopija DNA se udvostručio (Tablica 2). Cijela PCR reakcija trajala je otprilike 2 sata (Casquet i sur. 2012). Nakon dovršetka postupka, koristi se metoda elektroforeze.

**Tablica 2.** Faze lančane reakcije polimerazom (PCR) i uvjeti potrebni za njihovu obradu.

Ciklus protokola:	COI_Formicidae		
Korak	Temperatura	Vrijeme	
Denaturacija DNA	94 °C	30 s	
Prianjanje početnica	47 °C	30 s	40 ciklusa
Elongacija DNA	72 °C	1 min	

### *Elektroforetsko razdvajanje fragmenata DNA*

Elektroforetsko razdvajanje fragmenata DNA koristi se za provjeru broja i veličine umnoženih fragmenata DNA. Električki nabijene čestice putuju kroz otopinu zbog djelovanja električnog polja kojeg stvaraju elektrode. Pozitivne čestice putuju prema negativnoj elektrodi (katodi), dok negativne čestice putuju prema pozitivnoj elektrodi (anodi). Molekula DNA je negativnog naboja, stoga putuje prema pozitivno nabijenoj elektrodi (Piljac 2006).

Za početak postupka, koristeći se vagom izmjerio sam 1 g agaroze. Agarozu sam promiješao zajedno sa 100 mL pufera (1x TAE) u Erlenmeyerovoj tikvici. Takvu smjesu sam zagrijavao u mikrovalnoj pećnici dok smjesa nije postala u potpunosti bistra. Nakon toga sam je izlio u ploču za elektroforezu. Unutar ploče, postavljen je plastični češalj, kojim su se u gelu oblikovale pravilne jažice ravnog dna. Smjesa je ostavljena na 30 minuta, pri sobnoj temperaturi kako bi se ohladila. Ohlađena smjesa postala je želatinozni gel, a u jažice su dodani produkti dobiveni PCR reakcijom nakon čega je gel s pločom i nanesenim uzorcima postavljen u uređaj za elektroforezu. Odvajanje fragmenata umnožene DNA u uređaju za elektroforezu, trajalo je 13 minuta pri naponu od 120 V, nakon čega je gel postavljen u kutiju s nosačem za bojanje etidij bromidom ( $C_{21}H_{20}BrN_3$ ) na 20 minuta. Nakon toga sam gel fotografirao koristeći računalo povezano s uređajem Bio – Rad UV Transilluminarom 2 000. Gel se upotpunio odgovarajućim oznakama iznad jažica, koje su se pomoću računala naknadno unijele na fotografiju. U konačnici, elektroforezom na agaroznom gelu dobila se fotografija na kojoj su vidljive jažice s uzorcima.

### ***Pročišćavanje i sekvenciranje***

Pročišćavanje je obavljeno na uzorcima čija se DNA umnožila tijekom lančane reakcije polimerazom. Nakon toga, pripremljena je otopina za pročišćavanje Antarctic Phosphatase Exonuclease (ExoAp MM). Otopina je sadržavala dva enzima, antarktik fosfatazu i egz nukleazu 1, te deioniziranu vodu. Enzimi uklanjaju preostale dNTP – ove (deoksiribonukleozid trifosfat) i dimere početnica. Uzorci su se spremili za pročišćavanje u uređaj za lančanu reakciju polimerazom (Bio – Rad MyCycler). Postoje tri faze rada:

1. Inkubacija (37 °C) – enzimi uklanjaju dNTP – ove i dimere početnica kako bi ostala samo DNA
2. Inaktivacija zagrijavanjem (80 °C) – zaustavlja se reakcija restrikcijskih enzima
3. Ligacija DNA (4 °C) – enzimi vežu dva lanca DNA, tvoreći veze između fosfatne skupine jednog lanca i deoksiriboze drugog lanca.

Sve navedene faze, zajedno su prošle kroz jedan ciklus u trajanju od sat i pol vremena (Tablica 3), (preuzeto iz protokola prema uputama proizvođača, New England Biolabs Exonuclease 1 i Antarctic Phosphatase). Dobiveni su čisti uzorci DNA, koji su preneseni u mikro epruvete prethodno pripremljenog kalupa (kalup s 96 mikro epruveta). Svi uzorci su označeni odgovarajućim barkod šiframa na čepovima mikro epruveta te je takav materijal poslan na sekvenciranje u Macrogen Europe B. V. u Nizozemskoj.

**Tablica 3.** Faze pročišćavanja DNA mrava i uvjeti potrebni za njihovu obradu.

Ciklus protokola:	COI_Formicidae		
Korak	Temperatura	Vrijeme	
Inkubacija	37 °C	60 min	
Inaktivacija zagrijavanjem	80 °C	20 min	1 ciklus
Ligacija DNA	4 °C	5 min	

### ***Pregled NCBI baze podataka***

U molekularno filogenetičke analize uključio sam sekvence mrava iz NCBI baze podataka koje pripadaju istim rodovima kao i vrste mrava za koje sam u eksperimentalnom dijelu ovog rada odredio sekvence. Vanjsku grupu predstavlja obična osa, *Vespula vulgaris* (Linnaeus, 1758), koja pripada istom redu opnokrilaca kao i mravi. Pregled pristupnih brojeva nukleotidnih sljedova, te nazivi vrsta preuzetih iz NCBI baze podataka prikazani su u tablici 4.

**Tablica 4.** Popis sekvenca mrava preuzetih iz NCBI baze podataka.

<b>Redni broj</b>	<b>Pristupni broj</b>	<b>Ime vrste</b>
1.	MK759402	<i>Crematogaster carinata</i>
2.	JN283133	<i>Crematogaster maina</i>
3.	MF925922	<i>Crematogaster nigropilosa</i>
4.	HQ925456	<i>Crematogaster sewelli</i>
5.	MN609484	<i>Crematogaster teranishii</i>
6.	HM418771	<i>Crematogaster tricolor</i>
7.	FJ824416	<i>Crematogaster scutellaris</i>
8.	MT606315	<i>Crematogaster sordidula</i>
9.	KU985553	<i>Camponotus atriceps</i>
10.	MG344320	<i>Camponotus vicinus</i>
11.	HQ925230	<i>Camponotus grandidieri</i>
12.	HQ928767	<i>Camponotus planatus</i>
13.	JN270393	<i>Camponotus itegellus</i>
14.	HM434289	<i>Camponotus dofouri</i>
15.	MG840350	<i>Camponotus fallax</i>
16.	HQ550533	<i>Camponotus herculeanus</i>
17.	KX954289	<i>Camponotus lateralis</i>
18.	LT977363	<i>Camponotus ligniperda</i>
19.	LT977372	<i>Camponotus vagus</i>
20.	KX665034	<i>Formica candida</i>
21.	KX665134	<i>Formica sinae</i>
22.	KX665094	<i>Formica japonica</i>
23.	GU013598	<i>Formica obscuripes</i>
24.	MK091897	<i>Formica subaenescens</i>
25.	MG342502	<i>Formica dakotensis</i>

**Nastavak Tablice 4.**

26.	KR422242	<i>Formica aserva</i>
27.	JF863561	<i>Formica lasioides</i>
28.	HQ550541	<i>Formica glacialis</i>
29.	MG757151	<i>Formica cinerea</i>
30.	KX665044	<i>Formica cunicularia</i>
31.	JF863562	<i>Formica fusca</i>
32.	LT977407	<i>Formica lemani</i>
33.	KR420871	<i>Formica rufa</i>
34.	KX665115	<i>Formica sanguinea</i>
35.	KR416501	<i>Lasius umbratus</i>
36.	MG344542	<i>Lasius claviger</i>
37.	MK091888	<i>Lasius neoniger</i>
38.	HM395023	<i>Lasius alienus</i>
39.	MH138389	<i>Lasius emarginatus</i>
40.	MG342532	<i>Lasius flavus</i>
41.	HQ925794	<i>Messor piceus</i>
42.	JN283629	<i>Messor capensis</i>
43.	JN283584	<i>Messor denticornis</i>
44.	KX698077	<i>Messor barbarus</i>
45.	EU441242	<i>Messor concolor</i>
46.	KX954285	<i>Messor maroccanus</i>
47.	DQ353349	<i>Messor julianus</i>
48.	KX954283	<i>Messor bouvieri</i>
49.	MF926342	<i>Messor capitatus</i>
50.	MH138398	<i>Messor structor</i>
51.	JN283787	<i>Pheidole browni</i>
52.	JN282815	<i>Pheidole simonsi</i>
53.	MK758821	<i>Pheidole psilogaster</i>
54.	JF863538	<i>Pheidole dossena</i>
55.	MK759591	<i>Pheidole susannae</i>
56.	JN282883	<i>Pheidole fallax</i>
57.	MK759453	<i>Pheidole pugnax</i>
58.	HQ567756	<i>Pheidole megacephala</i>
59.	MT606370	<i>Plagiolepis pygmaea</i>
60.	MT606381	<i>Solenopsis fugax</i>



**Nastavak Tablice 4.**

61.	KU985546	<i>Solenopsis geminata</i>
62.	HQ928779	<i>Solenopsis invicta</i>
63.	JN283454	<i>Solenopsis mameti</i>
64.	MG343839	<i>Solenopsis molesta</i>
65.	MF926001	<i>Solenopsis richteri</i>
66.	KY426659	<i>Tapinoma magnum</i>
67.	KY426517	<i>Tapinoma ibericum</i>
68.	MK758468	<i>Tapinoma melanocephalum</i>
69.	KY426461	<i>Tapinoma erraticum</i>
70.	MG339328	<i>Temnothorax longispinosus</i>
71.	HQ928630	<i>Temnothorax rugatulus</i>
72.	KU845467	<i>Temnothorax crasecundus</i>
73.	KU845415	<i>Temnothorax parvulus</i>
74.	KU845450	<i>Temnothorax laconicus</i>
75.	KU845443	<i>Temnothorax subtilis</i>
76.	KU845440	<i>Temnothorax helena</i>
77.	KU845458	<i>Temnothorax nylanderi</i>
78.	KU845430	<i>Temnothorax lucidus</i>
79.	KR902125	<i>Temnothorax nevadensis</i>
80.	KU845466	<i>Temnothorax crassispinus</i>
81.	JN283571	<i>Tetramorium cognatum</i>
82.	JN283586	<i>Tetramorium sericeiventre</i>
83.	JN283413	<i>Tetramorium andrei</i>
84.	MK759111	<i>Tetramorium bicarinatum</i>
85.	JN283425	<i>Tetramorium ibycterum</i>
86.	JF862673	<i>Tetramorium lanuginosum</i>
87.	MT606419	<i>Tetramorium semilaeve</i>
88.	KT885054	<i>Tetramorium caespitum</i>
89.	JN286906	<i>Vespula vulgaris</i>

## ***Računalne analize nukleotidnih sekvenci***

Sve nukleotidne sekvence koje su dobivene eksperimentalnom obradom, provjerio sam pomoću osnovnog alata za pretraživanje lokalnog poravnanja, Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). To je javno dostupan internetski program za pretragu sličnosti među sekvencama (Johnson i sur. 2008). BLAST je izravno povezan s bazom podataka, National Center for Biotechnology Information (NCBI), koja sadrži niz biomedicinskih i genomski važnih informacija. Sekvence dobivene eksperimentalnom obradom, te sekvence preuzete iz NCBI baze podataka višestruko su sravnjene pomoću programa ClustalW. Sekvence mrava koje sam preuzeo iz NCBI baze podataka, odabrao sam prema jednom kriteriju. Trebale su pripadati istim rodovima, kojima pripadaju i vrste mrava čije sam sekvence dobio u eksperimentalnom dijelu ovog rada. Za pregledavanje i uređivanje nukleotidnih sljedova, te molekularno filogenetičke analize, koristio sam program Molecular Evolutionary Genetics Analysis X (MEGA X) (Kumar i sur. 2018).

Nakon sravnjivanja sekvenci, u odsječku „Models > Find Best DNA (ML)” unutar programa MEGA X, odabrao sam traženje najboljeg supstitucijskog modela. Onaj model s najnižom vrijednošću kriterija, Bayesian information criterion (BIC), u radu Kumar i sur. (2018) opisan je kao najbolji model. Pomoću programa MEGA X, proveo sam filogenetičke analize koja se temelje na sekvencama *COI* gena (citokrom c oksidaza podjedinice I) koristeći se metodama najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) i najveće štedljivosti (*Maximum Parsimony*) sa supstitucijskim modelom TN93 + G + I (Tamura – Nei). Oznaka „G“ predstavlja stopu promjena nukleotida po različitim stupcima u poravnanju jer postoji mogućnost da se u nekom stupcu nisu dogodile nikakve promjene. Oznakom „I“, označava se pretpostavka da su neki dijelovi poravnanja evolucijski nepromjenjivi (Tamura i sur. 2011).

Metoda najveće vjerojatnosti zasniva se na traženju stabla, kojem se pod određenim modelom evolucije povećava vjerojatnost iz datih podatka. Model predstavlja set parametara koji opisuju evolucijske promjene. Za podatke sam koristio eksperimentalno dobivene nukleotidne sekvence mrava te sekvence preuzete iz NCBI baze podataka. Algoritam najveće vjerojatnost mjeri vjerojatnost pojave svih nukleotidnih baza u unutarnjem čvoru i rekonstruira strukturu (topologiju) stabla iz tih vjerojatnosti. U najvećem broju slučajeva, algoritmom se dobije jedno stablo koje je najvjerojatnije. Nijedna metoda ne daje točno stablo, nego ono najbolje moguće na

temelju unesenih podataka. Zbog toga je potrebno koristiti barem dvije metode za bilo kakve molekularno filogenetičke analize, kako bi se provjerila valjanost dobivenih rezultata (Rajević 2014, Xiong 2006).

Metoda najveće štedljivosti djeluje prema principu Okamove oštrice i odabire stablo za čiju topologiju je potreban najmanji broj evolucijskih koraka (Ćosić 2014; Steel i Penny 2000). Algoritam započinje proračune na temelju prvog, definiranog stabla određene topologije. Nakon toga, stablo se rekonstruira uporabom najmanjeg mogućeg broja promjena koje su potrebne kako bi se objasnili svi čvorovi na stablu. Stablo dobiveno metodom najveće štedljivosti je uvijek najkraće stablo, koje nužno ne pokazuje stvarne evolucijske promjene.

Bootstrap je statistička metoda poduzorkovanja. Broj poduzorkovanja u svim analizama je bio 100. Ovom metodom, stvaraju se stabla, te se uspoređuju prema njihovoj topologiji. Svaki put kada algoritam napravi novo stablo, traži koliko se istih grananja na stablu podudara. Što se više puta dobije isto grananje na stablu, ono ima veći bootstrap. Vrijednosti bootstrap analize su prikazane brojem kao postotak poduzorkovanja koji je rezultirao istom topologijom grana.

Za raznolikost haplogrupa mrava po vrstama i ploham, korištena su dva programa. Pomoću programa MEGA X u opciji „Highlight“, određena su varijabilna mjesta između sekvenci, koja predstavljaju njihove međusobne razlike. One sekvence koje imaju zajedničke mutacije pripadaju istoj haplogrupi. Nakon pretraživanja varijabilnih mjesta, u odsječku „Models > Find Best DNA (ML)“ unutar programa MEGA X, odabrano je traženje najboljeg supstitucijskog modela pomoću kojeg se dobila matrica udaljenosti. Matrica udaljenosti predstavlja genetičku udaljenost između određenih haplogrupa. Svaku haplogrupu čine jedna ili pak više sekvenci koje su međusobno identične cijelom duljinom dužine sekvenci. Nakon toga, metodom najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) koja se temelji na genu za *COI*, rekonstruirana su nekorijenjena filogenetska stabla (Kumar i sur. 2018). Koristeći se programom PopART, dobivene su filogenetske mreže sa haplogrupama za plohe K, ME, MI i VI. Na svakoj filogenetskoj mreži nalaze se točke koje predstavljaju haplogrupe i brojevi koji predstavljaju broj mutacija. Promjer točaka je proporcionalan broju sekvenci unutar svake haplogrupe (Leigh i Bryant 2015).

### 3. 2. 3. Analize podataka

Kvantitativni elementi strukture raznolikosti mrava unutar ovog istraživanja, izraženi su Shannonovim indeksom ( $H'$ ) te pomoću beta raznolikosti (Marjanović i sur. 2006). Shannonov indeks mjeri raznolikost vrsta u prirodnim zajednicama, odnosno bogatstvo i učestalost vrsta prisutnih u nekoj zajednici (Tramer 1969). Shannonov indeks raznolikosti ( $H'$ ) mrava na istraživanim plohama, izračunao sam pomoću programa Microsoft Excel 2016, prema formuli prikazanoj na slici 7. Oznaka „ $k$ “ predstavlja broj vrsta u zajednici, dok oznaka „ $p_i$ “ označava udio pojedine vrste u ukupnom broju zabilježenih vrsta (Tramer 1969). Također, i beta raznolikost sam izračunao koristeći se programom Microsoft Excel 2016 i formulom  $\beta = (S_i + S_j - 2V_{ij}) / (S_i + S_j - V_{ij}) * 100$ . Oznake „ $S_i$ “ i „ $S_j$ “ predstavljaju broj vrsta u određenom staništu, odnosno u ovom slučaju, plohi, dok oznaka „ $V_{ij}$ “ označava broj vrsta koje se javljaju u obje plohe. Beta raznolikost izražava se kao postotak vrsta prisutnih samo u jednoj od dvije plohe koje se istražuju (Moreno i Halffter 2001).

$$H = - \sum_{i=1}^k p_i \log p_i$$

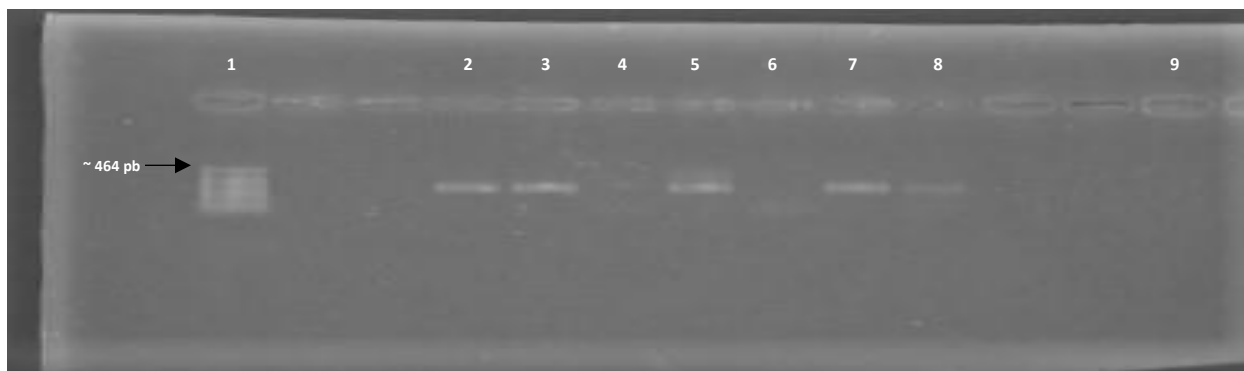
**Slika 7.** Formula za Shannonov indeks raznolikosti

Izvor: (<https://pbs.twimg.com/media/DsflDVKU4AA11HO?format=jpg&name=small>)

## 4. Rezultati

### 4. 1. Rezultati provjere izolacije DNA

Elektroforezom na agaroznom gelu dobila se fotografija (Slika 8) na kojoj je provjerena uspješnost izolacije DNA. Prilikom reakcije korištena je negativna kontrola koja nije sadržavala DNA kalup, nego komponente reagensa za lančanu reakciju polimerazom, te je služila kao kontrola potencijalne kontaminacije nekim drugim kemikalijama. Ljestvica služi za očitavanje i usporedbu duljine fragmenata istraživanih uzoraka.



**Slika 8.** Agarozni gel nakon elektroforeze izolirane genomske DNA iz jedinki mrava (1 – ljestvica, 2 – DNA vrste *Crematogaster sordidula* uzorkovana na kontrolnoj plohi, 3 – DNA vrste *Plagiolepis pygmaea* uzorkovana na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja, 4 – PCR nije uspio, DNA je uzorkovana na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja, 5 – DNA vrste *Formica cunicularia* uzorkovana na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja, 6 – PCR nije uspio, DNA je uzorkovana na kontrolnoj plohi, 7 – DNA vrste *Camponotus lateralis* uzorkovana na kontrolnoj plohi, 8 – DNA vrste *Tetramorium semilaeve* uzorkovana na plohi maslinika s ekološkom zaštitom bilja, 9 – negativna kontrola).

## 4. 2. Popis vrsta

Određivanjem vrsta iz uzoraka sakupljenih pomoću sve tri metode lova, utvrđeno je 14 vrsta mrava unutar 11 rodova i 3 potporodice. Klasifikacija sistematskih kategorija te valjana imena vrsta, rodova i potporodica preuzeta su prema Borowiec (2014).

Porodica: FORMICIDAE Latreille, 1809

Potporodica: DOLICHODERINAE Forel, 1878

Rod: *Tapinoma* Förster, 1850

*Tapinoma erraticum* (Latreille, 1798)

Potporodica: FORMICINAE Latreille, 1809

Rod: *Camponotus* Mayr, 1861

*Camponotus lateralis* (Olivier, 1792)

*Camponotus piceus* (Leach, 1825)

Rod: *Formica* Linnaeus, 1758

*Formica cunicularia* Latreille, 1798

Rod: *Lasius* Fabricius, 1804

*Lasius paralienus* Seifert, 1992

Rod: *Plagiolepis* Mayr, 1861

*Plagiolepis pygmaea* (Latreille, 1798)

Potporodica: MYRMICINAE Lepeletier de Saint – Fargeau, 1835

Rod: *Aphaenogaster* Mayr, 1853

*Aphaenogaster balcanica* (Emery, 1898)

*Aphaenogaster picena* Baron Urbani, 1971

Rod: *Crematogaster* Lund, 1831

*Crematogaster scutellaris* (Olivier, 1792)

*Crematogaster sordidula* (Nylander, 1849)

Rod: *Messor* Forel, 1890

*Messor wasmanni* Krausse, 1910

Rod: *Pheidole* Westwood, 1839

*Pheidole pallidula* (Nylander, 1849)

Rod: *Solenopsis* Westwood, 1840

*Solenopsis fugax* (Latreille, 1798)

Rod: *Tetramorium* Mayr, 18553

*Tetramorium semilaeve* André, 1883

#### **4. 3. Usporedba morfološke i molekularno filogenetičke analize vrsta**

Morfološkim analizama, do razine roda ili vrste određeno je 98 jedinki koje su uzorkovane metodom stresanja, 55 jedinki izdvajanjem pomoću Tullgrenovih lijevaka i 2 683 jedinke uzorkovane metodom lovnih posuda. Za potrebe određivanja vrsta metodom DNA barkodiranja, odabrani su svi mogući morfotipovi mrava unutar istraživanja, što ne uključuje jedinke uzorkovane metodom lovnih posuda s koncentriranom otopinom soli koja nije pogodna za prikupljanje jedinki iz kojih se treba izdvojiti DNA. Zamke su se praznile svaka dva do tri tjedna i u tom vremenu je DNA jedinki podložna degradaciji. Takvim odabirom, 44 jedinke, odnosno 36 jedinki sakupljenih metodom stresanja, te osam jedinki metodom izdvajanje pomoću Tullgrenovih lijevaka, odabrano je i pripremljeno za sekvenciranje u sklopu projekta MEDITRATRI (HRZZ UIP 05 – 2017 – 1046). U filogenetičke analize je bilo uključeno još devet sekvenci pohranjenih u bazi „The Barcode of Life Data System (BOLD)“ projekta MEDITERATRI, čije jedinke su označene u tablici 5 kao Morfo 1 - 9. Dobivene sekvence (Tablica 5) uspoređene su s podacima iz NCBI baze podataka.

**Tablica 5.** Popis mrava prema morfološkoj identifikaciji, prije sekvenciranja, te identifikaciji metodom DNA barkodiranja. Svakoј jedinki pridružena je barkod šifra s projekta MEDITERATRI, s oznakom plohe na kojoj je uzorkovana.

Redni broj	Ploha	Metoda uzorkovanja	Morfološka identifikacija	Barkod šifra	Identifikacija metodom DNA barkodiranja
1.	K	Stresanje	Morfo 1 (MEDB046-21)*	K-B-AN9	<i>Crematogaster scutellaris</i>
2.	K	Stresanje	<i>Crematogaster scutellaris</i>	K-B-AN18	<i>Crematogaster scutellaris</i>
3.	K	Stresanje	<i>Crematogaster scutellaris</i>	K-B-AN19	<i>Crematogaster scutellaris</i>
4.	K	Stresanje	<i>Camponotus</i> sp. 1	K-B-AN21	<i>Camponotus piceus</i>
5.	K	Stresanje	<i>Camponotus</i> sp. 1	K-B-AN22	<i>Camponotus piceus</i>
6.	K	Stresanje	<i>Camponotus</i> sp. 1	K-B-AN24	<i>Camponotus piceus</i>
7.	K	Stresanje	<i>Camponotus</i> sp. 1	K-B-AN25	<i>Camponotus piceus</i>
8.	K	Stresanje	<i>Camponotus</i> sp. 1	K-B-AN26	<i>Camponotus piceus</i>
9.	K	Stresanje	<i>Camponotus</i> sp. 1	K-B-AN28	<i>Camponotus piceus</i>
10.	K	Stresanje	<i>Camponotus lateralis</i>	K-B-AN29	<i>Camponotus lateralis</i>
11.	K	Stresanje	<i>Camponotus</i> sp. 1	K-B-AN30	<i>Camponotus piceus</i>
12.	K	Stresanje	<i>Camponotus</i> sp. 1	K-B-AN31	<i>Camponotus piceus</i>
13.	K	Stresanje	neodređena jedinka	K-B-AN32	<i>Crematogaster sordidula</i>
14.	K	Stresanje	<i>Camponotus piceus</i>	K-B-AN33	<i>Camponotus piceus</i>
15.	K	Stresanje	<i>Crematogaster sordidula</i>	K-B-AN35	<i>Crematogaster sordidula</i>
16.	VI	Stresanje	<i>Lasius alienus</i>	VI-B-AN12	<i>Lasius paralienus</i>
17.	VI	Stresanje	<i>Lasius alienus</i>	VI-B-AN13	<i>Lasius paralienus</i>
18.	VI	Stresanje	<i>Formica</i> sp. 1	VI-B-AN17	<i>Formica cunicularia</i>
19.	VI	Stresanje	<i>Formica</i> sp. 1	VI-B-AN18	<i>Formica cunicularia</i>
20.	VI	Stresanje	<i>Formica cunicularia</i>	VI-B-AN23	<i>Formica cunicularia</i>
21.	VI	Stresanje	<i>Formica</i> sp. 1	VI-B-AN24	<i>Formica cunicularia</i>
22.	VI	Stresanje	<i>Formica cunicularia</i>	VI-B-AN25	<i>Formica cunicularia</i>
23.	VI	Stresanje	<i>Plagiolepis pygmaea</i>	VI-B-AN26	<i>Plagiolepis pygmaea</i>
24.	VI	Stresanje	<i>Plagiolepis pygmaea</i>	VI-B-AN27	<i>Plagiolepis pygmaea</i>
25.	VI	Stresanje	<i>Plagiolepis pygmaea</i>	VI-B-AN29	<i>Plagiolepis pygmaea</i>
26.	MI	Stresanje	<i>Formica</i> sp. 1	MI-B-AN4	<i>Formica cunicularia</i>
27.	MI	Stresanje	<i>Formica</i> sp. 1	MI-B-AN5	<i>Formica cunicularia</i>
28.	MI	Stresanje	<i>Camponotus</i> sp. 1	MI-B-AN6	<i>Camponotus piceus</i>
29.	MI	Stresanje	<i>Formica cinerea</i>	MI-B-AN7	<i>Lasius paralienus</i>
30.	MI	Stresanje	<i>Formica lemani</i>	MI-B-AN8	<i>Formica cunicularia</i>
31.	MI	Stresanje	<i>Camponotus</i> sp. 1	MI-B-AN9	<i>Camponotus piceus</i>
32.	ME	Stresanje	Morfo 2*	ME-B-AN4	<i>Camponotus piceus</i>
33.	ME	Stresanje	Morfo 3 (MEDB065-21)*	ME-B-AN6	<i>Crematogaster scutellaris</i>
34.	ME	Stresanje	Morfo 4 (MEDB066-21)*	ME-B-AN7	<i>Aphaenogaster balcanica</i>



### Nastavak Tablice 5.

35.	ME	Stresanje	<i>Cardiocondyla dalmatica</i>	ME-B-AN11	<i>Pheidole pallidula</i>
36.	ME	Stresanje	<i>Pheidole megacephala</i>	ME-B-AN12	<i>Pheidole pallidula</i>
37.	ME	Stresanje	<i>Tapinoma</i> sp. 1	ME-B-AN13	<i>Tapinoma erraticum</i>
38.	ME	Stresanje	<i>Messor</i> sp. 1	ME-B-AN14	<i>Crematogaster scutellaris</i>
39.	ME	Stresanje	<i>Formica</i> sp. 2	ME-B-AN15	<i>Aphaenogaster picena</i>
40.	ME	Stresanje	<i>Temnothorax crassispinus</i>	ME-B-AN19	<i>Tetramorium semilaeve</i>
41.	VI	Tullgren	<i>Solenopsis fugax</i>	VI-B-AN20	<i>Solenopsis fugax</i>
42.	VI	Tullgren	<i>Lasius</i> sp. 1	VI-B-AN28	<i>Lasius paralienus</i>
43.	ME	Tullgren	<i>Tetramorium</i> sp. 1	ME-B-AN8	<i>Tetramorium semilaeve</i>
44.	ME	Tullgren	<i>Tetramorium</i> sp. 1	ME-B-AN9	<i>Tetramorium semilaeve</i>
45.	ME	Tullgren	<i>Tetramorium moravicum</i>	ME-B-AN16	<i>Tetramorium semilaeve</i>
46.	ME	Tullgren	<i>Tetramorium</i> sp. 2	ME-B-AN17	<i>Tetramorium semilaeve</i>
47.	ME	Tullgren	<i>Tetramorium</i> sp. 2	ME-B-AN20	<i>Tetramorium semilaeve</i>
48.	ME	Tullgren	<i>Tetramorium moravicum</i>	ME-B-AN21	<i>Tetramorium semilaeve</i>
49.	K	Rukom	Morfo 5 (MEDB042-21)*	K-B-AN1	<i>Messor wasmanni</i>
50.	K	Rukom	Morfo 6 (MEDB043-21)*	K-B-AN2	<i>Messor wasmanni</i>
51.	K	Rukom	Morfo 7 (MEDB045-21)*	K-B-AN4	<i>Messor wasmanni</i>
52.	VI	Rukom	Morfo 8 (MEDB051-21)*	VI-B-AN6	<i>Lasius paralienus</i>
53.	VI	Rukom	Morfo 9 (MEDB053-21)*	VI-B-AN7	<i>Lasius paralienus</i>

\* sekvence iz projekta MEDITERATRI (HRZZ UIP 05 – 2017 – 1046) koje su preuzete iz BOLD baze (šifra iz BOLD baze je navedena u zagradama pored oznake jedinke) i korištene za filogenetičke analize

#### 4. 4. Raznolikost mrava po plohama

Struktura raznolikosti mrava unutar zajednica, uzorkovanih metodama stresanja, izdvajanja pomoću Tullgrenovih lijevka i lovnim zamkama, izražena je Shannonovim indeksom raznolikosti ( $H'$ ) te pomoću beta raznolikosti (Marjanović i sur. 2006; Tramer 1969).

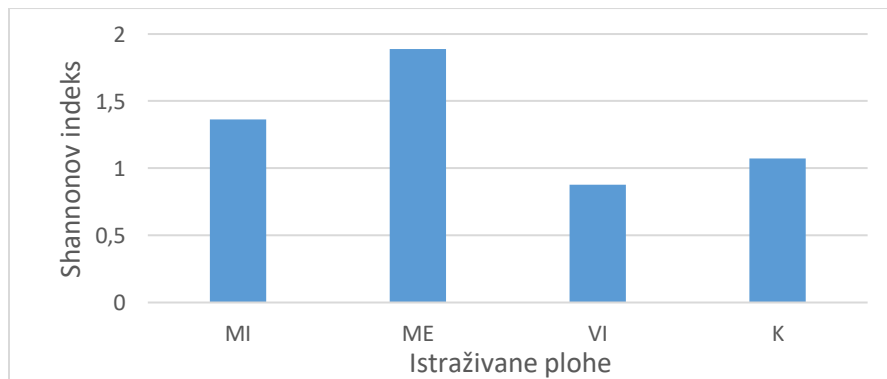
##### 4. 4. 1. Raznolikost mrava uzorkovana metodom stresanja

Metodom stresanja prikupljeno je 98 jedinki mrava. Brojnost i učestalost vrsta po plohama prikazana je u tablici 6. Kako na plohi vinograda s ekološkom zaštitom bilja (VE) nije uzorkovana niti jedna jedinka mrava, ploha VE je izostavljena iz analiza raznolikosti mrava uzorkovanih metodom stresanja. U nastavku istraživanja, za metodu stresanja prikazana je raznolikost vrsta mrava unutar, te između ostale četiri plohe (MI, ME, VI, K).

**Tablica 6.** Prikaz brojnosti vrsta mrava po plohama koje su prikupljene metodom stresanja (MI – maslinik s integriranom zaštitom bilja, ME – maslinik s ekološkom zaštitom bilja, VI – vinograd s integriranom zaštitom bilja, VE – vinograd s ekološkom zaštitom bilja, K – kontrolna ploha, koja predstavlja prirodno stanište, bez gospodarenja, gdje nije bilo uporabe pesticida, stanište koje je obraslo makijom i garigom).

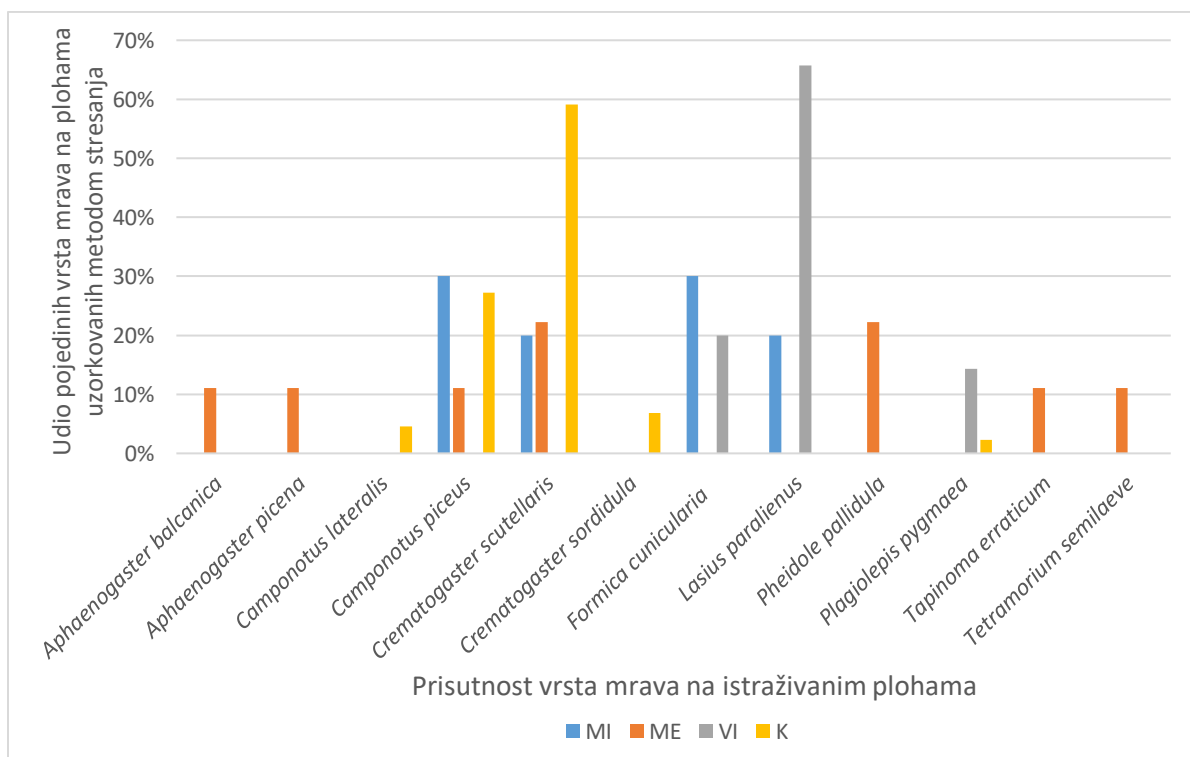
Vrsta	Ploha MI	Ploha ME	Ploha VI	Ploha VE	Ploha K	Ukupno
<i>Aphaenogaster balcanica</i>	0	1	0	0	0	1
<i>Aphaenogaster picena</i>	0	1	0	0	0	1
<i>Camponotus lateralis</i>	0	0	0	0	2	2
<i>Camponotus piceus</i>	3	1	0	0	12	16
<i>Crematogaster scutellaris</i>	2	2	0	0	26	30
<i>Crematogaster sordidula</i>	0	0	0	0	3	3
<i>Formica cunicularia</i>	3	0	7	0	0	10
<i>Lasius paralienus</i>	2	0	23	0	0	25
<i>Pheidole pallidula</i>	0	2	0	0	0	2
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	0	0	5	0	1	6
<i>Tapinoma erraticum</i>	0	1	0	0	0	1
<i>Tetramorium semilaeve</i>	0	1	0	0	0	1
<b>Ukupno jedinki po plohama</b>	10	9	35	0	44	98
<b>Alfa (<math>\alpha</math>) raznolikost</b>	4	7	3	0	5	X

Raznolikosti vrsta mrava unutar određenih zajednica uzorkovanih metodom stresa, prikazana je na slici 9. Raznolikost je izražena Shannonovim indeksom. Najveća raznolikost vrsta je zabilježena na plohi maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME), te iznosi  $H' = 1,889159$ . Na toj plohi uzorkovano je devet jedinki unutar sedam vrsta. Za razliku od maslinika s ekološkom zaštitom bilja, na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) uzorkovane su samo tri vrste, zbog čega ima najmanju raznolikost koja iznosi  $H' = 0,875779$ . Unatoč malom broju vrsta, učestalost pojedine vrste unutar plohe, poprilično je različita. Deset jedinki unutar četiri vrste, uzorkovane su na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI), i to vrste: *Camponotus piceus* (3 jedinke), *Crematogaster scutellaris* (2 jedinke), *Formica cunicularia* (3 jedinke) i *Lasius paralienus* (2 jedinke). Na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) uzorkovane su vrste: *Formica cunicularia* (7 jedinki), *Lasius paralienus* (23 jedinke), te *Plagiolepis pygmaea* (5 jedinki). Shannonov indeks raznolikosti za plohu MI iznosi  $H' = 1,366159$ . Najveći broj jedinki uzorkovan je kontrolnoj plohi (K), pri čemu raznolikost plohe iznosi  $H' = 1,074837$ . Sakupljene su 44 jedinke unutar 5 različitih vrsta: *Camponotus lateralis* (2 jedinke), *Camponotus piceus* (12 jedinki), *Crematogaster scutellaris* (26 jedinki), *Crematogaster sordidula* (3 jedinke) i *Plagiolepis pygmaea* (1 jedinka). Vrijednosti Shannonovog indeksa na plohama VI i K je manja, unatoč velikom broju uzorkovanih jedinki zbog velike brojnosti i dominantnosti nekoliko vrsta kao što su *Lasius paralienus* na plohi VI i *Crematogaster scutellaris* na plohi K.



**Slika 9.** Raznolikosti vrsta mrava na različitim plohama uzorkovanih metodom stresa, izražena Shannonovim indeksom (MI – maslinik s integriranom zaštitom bilja, ME – maslinik s ekološkom zaštitom bilja, VI – vinograd s integriranom zaštitom bilja, K – kontrolna ploha, koja predstavlja prirodno stanište, bez gospodarenja, gdje nije bilo uporabe pesticida, stanište koje je obraslo makijom i garigom)

Udio pojedinih vrsta unutar zajednica, koje su prikupljene metodom stresanja prikazani su na slici 10. Od ukupnog broja vrsta uzorkovanih na svim plohama, prema učestalosti pojavljivanja vrste na pojedinoj plohi, najdominantnija vrsta među uzorkovanim vrstama je *Lasius paralienus* na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI). Njen udio unutar zajednice iznosi 66%. Vrsta *Crematogaster scutellaris* je dominantna na kontrolnoj plohi (K) (59%). Slijede je *Camponotus piceus* (30%) i *Formica cunicularia* (30%) na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI), te *Crematogaster scutellaris* (22%) i *Pheidole pallidula* (22%) na plohi maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME).



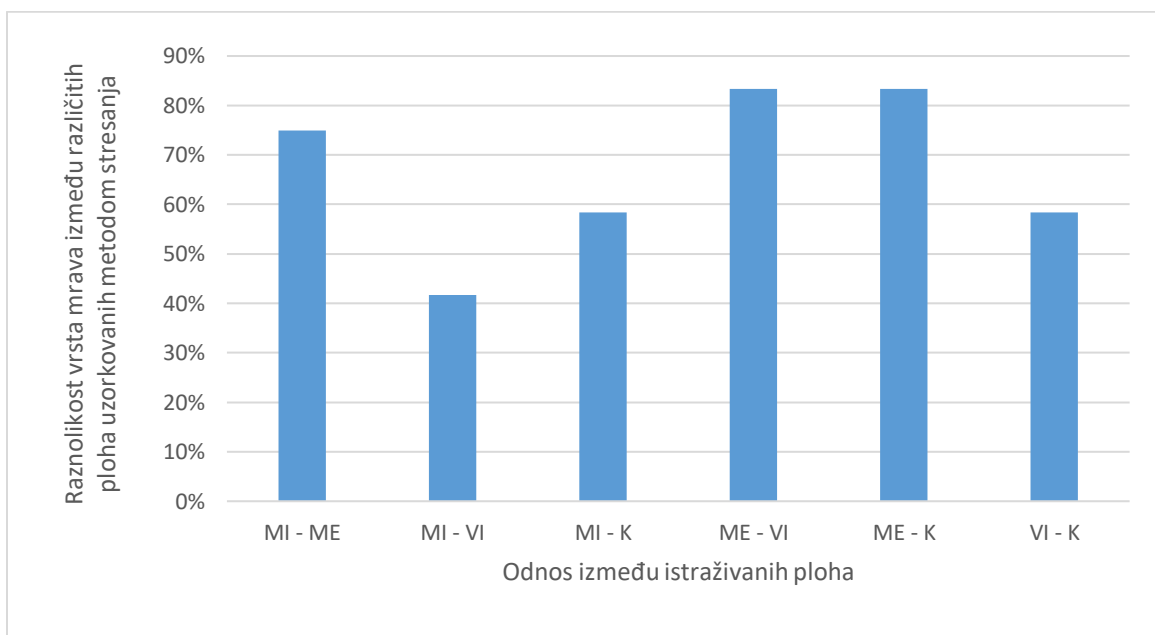
**Slika 10.** Udio pojedinih vrsta mrava na plohama prikupljenih metodom stresanja (MI – maslinik s integriranom zaštitom bilja, ME – maslinik s ekološkom zaštitom bilja, VI – vinograd s integriranom zaštitom bilja, K – kontrolna ploha, koja predstavlja prirodno stanište, bez gospodarenja, gdje nije bilo uporabe pesticida, stanište koje je obraslo makijom i garigom)

Na slici 11 prikazana je raznolikost vrsta između različitih ploha. Jedinke su uzorkovane metodom stresanja. Raznolikost između zajednica, odnosno ploha maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) je izrazito visoka (83%).

Budući da je sličnost vrsta između ploha mala, vjerojatnost uzorkovanja pojedine vrste je manja. Sličan rezultat nalazi se između ploha maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i kontrolne plohe (K). Raznolikost između ploha maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) vrlo je naglašena (75%), no i dalje nešto manja u odnosu na raznolikost između ploha maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI), te ploha maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i kontrolne plohe (K).

Na plohama maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i kontrolne plohe (K), te vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) i kontrolne plohe (K) 58% vrsta mrava se razlikuje između istraživanih ploha.

Najmanja raznolikost (42%) zabilježena je između ploha maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) (Tablica 7). Na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) uzorkovane su četiri vrste, dok su tri vrste mrava uzorkovane na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) od čega su dvije vrste, *Formica cunicularia* i *Lasius paralienus* zabilježene na obje plohe.



**Slika 11.** Raznolikosti vrsta mrava između različitih ploha uzorkovanih metodom stresanja (MI – maslinik s integriranom zaštitom bilja, ME – maslinik s ekološkom zaštitom bilja, VI – vinograd s integriranom zaštitom bilja, K – kontrolna ploha, koja predstavlja prirodno stanište, bez gospodarenja, gdje nije bilo uporabe pesticida, stanište koje je obraslo makijom i garigom)

#### 4. 4. 2. Raznolikost mrava uzorkovana pomoću Tullgrenovih lijevaka

Izdvajanjem mrava iz uzoraka tla, pomoću aparata načinjenog od metalnog lijevka, posude za sakupljanje sa etanolom i mrežice, prikupljeno je 55 jedinki mrava. Brojnost i učestalost mrava po plohama prikazana je u tablici 7.

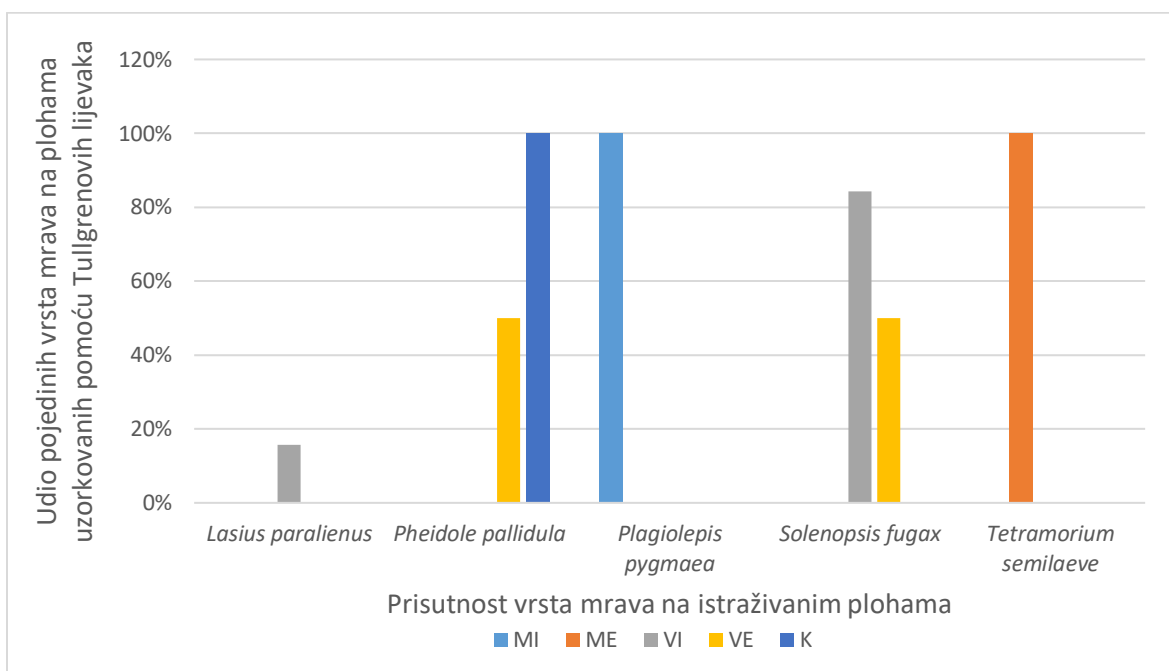
**Tablica 7.** Prikaz brojnosti vrsta mrava po plohama koje su prikupljene iz uzoraka tla korištenjem Tullgrenovih lijevaka (MI – maslinik s integriranom zaštitom bilja, ME – maslinik s ekološkom zaštitom bilja, VI – vinograd s integriranom zaštitom bilja, VE – vinograd s ekološkom zaštitom bilja, K – kontrolna ploha, koja predstavlja prirodno stanište, bez gospodarenja, gdje nije bilo uporabe pesticida, stanište koje je obraslo makijom i garigom).

Vrsta	Ploha MI	Ploha ME	Ploha VI	Ploha VE	Ploha K	Ukupno
<i>Lasius paralienus</i>	0	0	3	0	0	3
<i>Pheidole pallidula</i>	0	0	0	1	9	10
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	1	0	0	0	0	1
<i>Solenopsis fugax</i>	0	0	16	1	0	17
<i>Tetramorium semilaeve</i>	0	24	0	0	0	24
<b>Ukupno jedinki po plohama</b>	1	24	19	2	9	55
<b>Alfa (<math>\alpha</math>) raznolikost</b>	1	1	2	2	1	X

Najveća raznolikost vrsta, koje su prikupljene iz uzoraka tla korištenjem Tullgrenovih lijevaka zabilježena je na plohi vinograda s ekološkom zaštitom bilja (VE), te iznosi  $H' = 0,693147$ . Na toj plohi uzorkovane su svega dvije jedinke unutar dvije vrste. Na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI), uzorkovano je 19 jedinki, također unutar dvije vrste, prema čemu je raznolikost vrsta izražena kao  $H' = 0,436162$ .

Udio pojedinih vrsta na plohama prikupljenih iz uzoraka tla korištenjem Tullgrenovih lijevaka prikazan je na slici 12. Od ukupnog broja vrsta uzorkovanih na svim plohama, prema učestalosti pojavljivanja vrste na pojedinoj plohi, jednako dominantne vrste su *Plagiolepis pygmaea* (1 jedinka) na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI), *Tetramorium semilaeve* (24 jedinke) na plohi maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i *Pheidole pallidula* (9 jedinki) na kontrolnoj plohi (K). Potom slijede, *Solenopsis fugax* (16 jedinki) na plohi

vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI), te *Pheidole pallidula* (1 jedinka) i *Solenopsis fugax* (1 jedinka) na plohi vinograda s ekološkom zaštitom bilja (VE).



**Slika 12.** Udio pojedinih vrsta mrava na plohama prikupljenih iz uzoraka tla korištenjem Tullgrenovih lijevaka (MI – maslinik s integriranom zaštitom bilja, ME – maslinik s ekološkom zaštitom bilja, VI – vinograd s integriranom zaštitom bilja, VE – vinograd s ekološkom zaštitom bilja, K – kontrolna ploha, koja predstavlja prirodno stanište, bez gospodarenja, gdje nije bilo uporabe pesticida, stanište koje je obraslo makijom i garigom)

Raznolikost vrsta prikupljenih korištenjem Tullgrenovih lijevaka između ploha: maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI), maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i vinograda s ekološkom zaštitom bilja (VE), maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI), maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i vinograda s ekološkom zaštitom bilja (VE), vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) i vinograda s ekološkom zaštitom bilja (VE), te vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) i kontrolne plohe (K) iznosi 60%, te nešto je viša nego li raznolikost među ostalim plohama.

Između ploha maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME), maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i kontrolne plohe (K), maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i kontrolne plohe (K), te vinograda s ekološkom

zaštitom bilja (VE) i kontrolne plohe (K) raznolikost je manja i iznosi 40%. Stoga, vjerojatnost uzorkovanja pojedine vrste, i sličnost vrsta između određenih ploha je veća.

#### 4. 4. 3. Raznolikost mrava uzorkovanih lovnim zamkama

Brojnost mrava po plohama maslinika s integriranom zaštitom bilja i maslinika s ekološkom zaštitom bilja, uzorkovanih metodom lovnih zamki prikazana je u tablici 8.

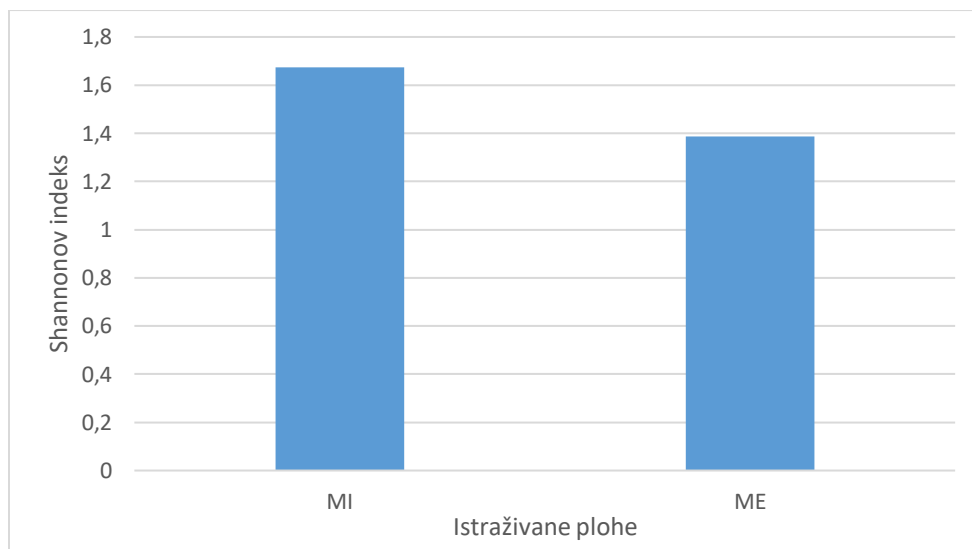
**Tablica 8.** Prikaz brojnosti vrsta mrava po plohama koje su uzorkovane metodom lovnih zamki (MI – maslinik s integriranom zaštitom bilja, ME – maslinik s ekološkom zaštitom bilja).

Vrsta	Ploha MI	Ploha ME	Ukupno
<i>Aphaenogaster</i> sp.	1	368	369
<i>Camponotus</i> sp.	55	0	55
<i>Crematogaster sordidula</i>	1	77	78
<i>Lasius</i> sp.	165	15	180
<i>Messor wasmanni</i>	228	13	241
<i>Pheidole pallidula</i>	0	682	682
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	111	1	112
<i>Solenopsis fugax</i>	52	0	52
<i>Tapinoma</i> sp.	1	90	91
<i>Tetramorium</i> sp.	81	742	823
<b>Ukupno jedinki na plohama</b>	695	1 988	2 683
<b>Alfa (<math>\alpha</math>) raznolikost</b>	9	8	X

Raznolikost vrsta na plohama maslinika s integriranom zaštitom bilja i maslinika s ekološkom zaštitom bilja, uzorkovanih metodom lovnih posuda prikazana je na slici 13. Raznolikost je izražena Shannonovim indeksom ( $H'$ ). Najveća raznolikost mrava prikupljenih metodom lovnih posuda nalazi se na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i iznosi  $H' = 1,673483$  (Tablica 15). Na toj plohi uzorkovano je 695 jedinki unutar devet svojih vrsta mrava, uključujući: *Aphaenogaster* sp. (1 jedinka), *Camponotus* sp. (55 jedinki), *Crematogaster sordidula* (1 jedinka), *Lasius* sp. (165 jedinki), *Messor wasmanni* (228 jedinki), *Plagiolepis*

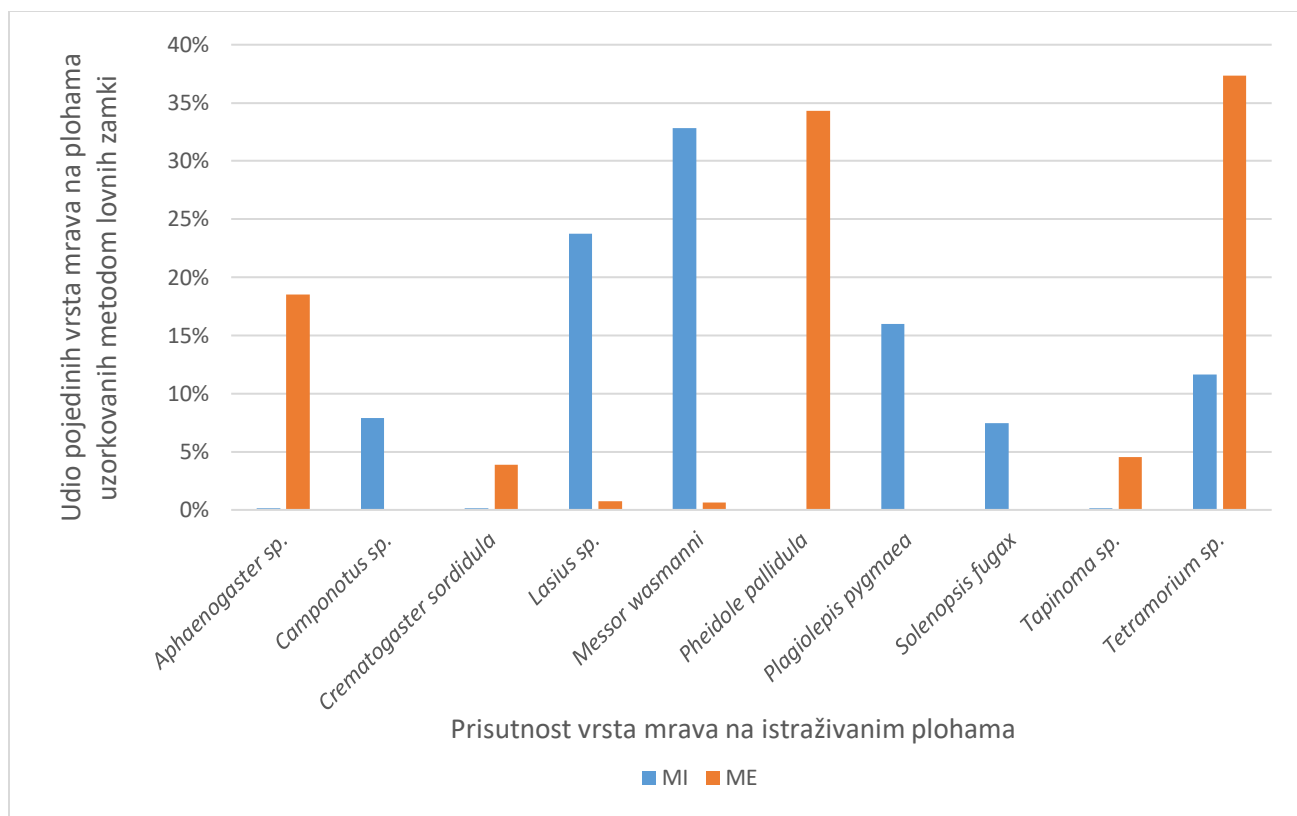


*pygmaea* (111 jedinki), *Solenopsis fugax* (52 jedinke), *Tapinoma* sp. (1 jedinka) i *Tetramorium* sp. (81 jedinka). Raznolikost vrsta na plohi maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) iznosi  $H' = 1,386734051$ . Uzorkovano je 1 988 jedinki unutar osam svojti mrava, i to *Aphaenogaster* sp. (368 jedinki), *Crematogaster sordidula* (77 jedinki), *Lasius* sp. (15 jedinki), *Messor wasmanni* (13 jedinki), *Pheidole pallidula* (682 jedinke), *Plagiolepis pygmaea* (1 jedinka), *Tapinoma* sp. (90 jedinki) i *Tetramorium* sp. (742 jedinke). Unatoč većem broju jedinki prisutnih na plohi, maslinik s ekološkom zaštitom bilja (ME) ima nešto manji Shannonov indeks raznolikosti. Raznolikost na plohi ME je manja, zato što se u njoj nalazi visoki stupanj dominacije određene vrste ili svojte. U ovom slučaju *Tetramorium* sp. i vrste *Pheidole pallidula*.



**Slika 13.** Raznolikost vrsta mrava na plohama uzorkovanih metodom lovni zamki, izražena Shannonovim indeksom (MI – maslinik s integriranom zaštitom bilja, ME – maslinik s ekološkom zaštitom bilja)

Udio pojedinih vrsta na plohama, uzorkovanih metodom lovni zamki, prikazan je na slici 14. Od ukupnog broja uzorkovanih mrava, prema učestalosti pojavljivanja na pojedinoj plohi, najdominantnija svojta je *Tetramorium* sp. Najveći broj jedinki te svojte, uzorkovan je na plohi maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME), te potom je slijedi vrsta *Pheidole pallidula*. *Messor wasmanni* je dominantna vrsta na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI).



**Slika 14.** Udio pojedinih vrsta mravana plohamu prikupljenih metodom lovnih zamki (MI – maslinik s integriranom zaštitom bilja, ME – maslinik s ekološkom zaštitom bilja)

Od ukupno 14 vrsta mrava unutar 11 rodova utvrđenih unutar ovog istraživanja, metodom stresa uzorkovano je 12 vrsta unutar devet rodova. Metodom prosijavanja uzorkovano je pet vrsta unutar pet rodova. Sedam svojiti, te pet vrsta unutar pet rodova uzorkovano je metodom lovnih zamki (Tablica 9).

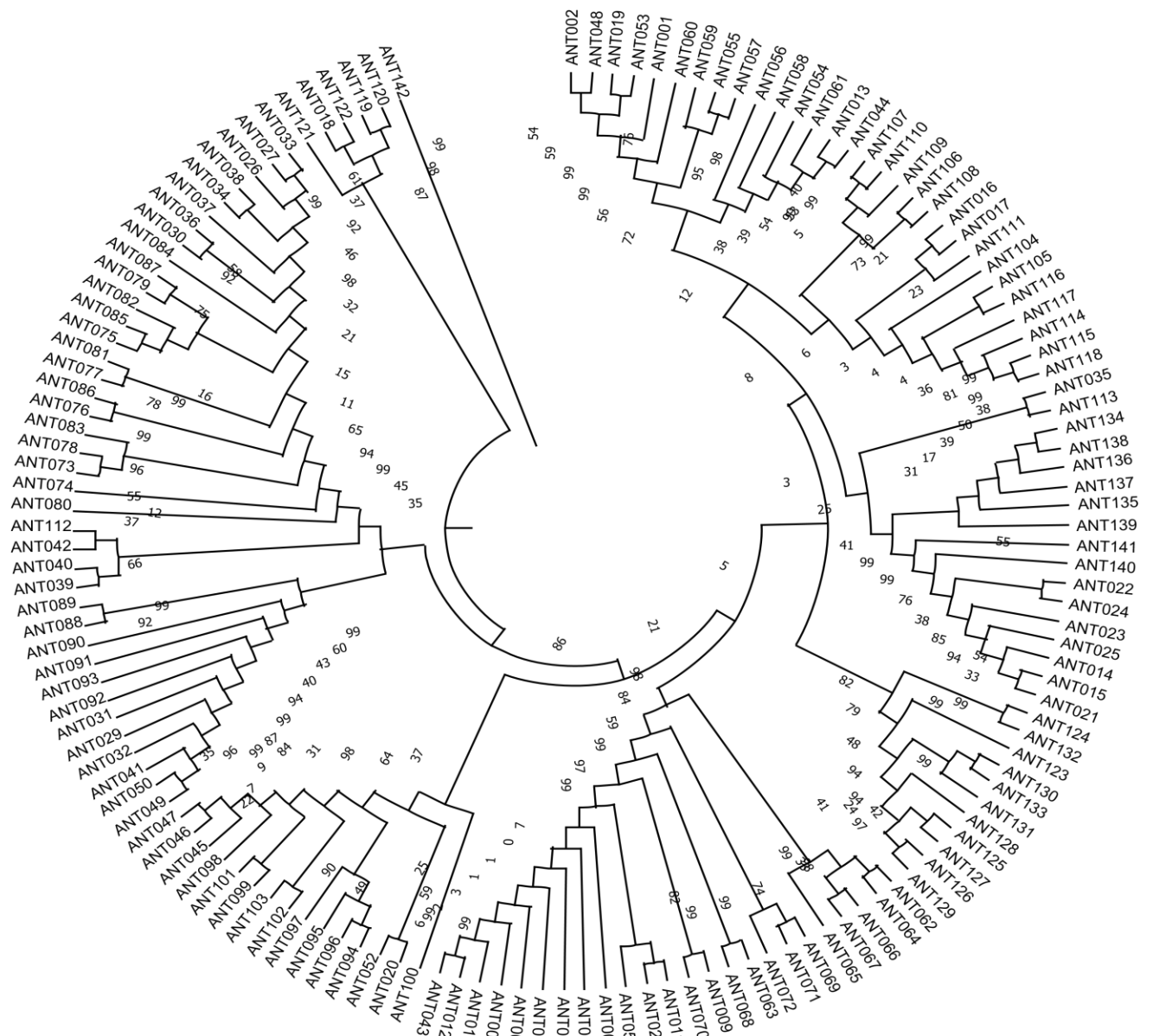
**Tablica 9.** Popis vrsta mrava po metodama uzorkovanja.

Vrsta	Metode uzorkovanja mrava		
	Stresanje	Tullgrenovi lijevci	Lovne zamke
<i>Aphaenogaster balcanica</i>	da	ne	
<i>Aphaenogaster picena</i>	da	ne	
<i>Aphenogaster</i> sp.			da
<i>Camponotus lateralis</i>	da	ne	
<i>Camponotus piceus</i>	da	ne	
<i>Camponotus</i> sp.			da
<i>Crematogaster scutellaris</i>	da	ne	ne
<i>Crematogaster sordidula</i>	da	ne	da
<i>Formica cunicularia</i>	da	ne	ne
<i>Lasius paralienus</i>	da	da	
<i>Lasius</i> sp.			da
<i>Messor wasmanni</i>	ne	ne	da
<i>Pheidole pallidula</i>	da	da	da
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	da	da	da
<i>Solenopsis fugax</i>	ne	da	da
<i>Tapinoma erraticum</i>	da	ne	
<i>Tapinoma</i> sp.			da
<i>Tetramorium semilaeve</i>	da	da	
<i>Tetramorium</i> sp.			da

#### 4. 5. Filogenetičke analize sekvenci

Za izradu filogenetskih stabala, koja se temelje na sekvencama *COI* gena (citokrom c oksidaza podjedinice I), korišteni su eksperimentalno dobivene sekvence i sekvence preuzete iz NCBI baze podataka kako bi se prikazali evolucijski odnosi između istraživanih svojti mrava. Filogenija je zasnovana na sličnostima i razlikama njihovih genetskih osobina. Sve svojte mrava na stablu se povezuju kako bi se odrazilo njihovo porijeklo od zajedničkog pretka. U filogenetičke analize je uključena i sekvenca vrste *Vespula vulgaris* (Linnaeus, 1758) koja je korištena za ukorjenjivanje stabala. Filogenetska stabla rekonstruirana su pomoću metode najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) i metode najveće štedljivosti (*Maximum Parsimony*). U filogenetičkim analizama, korištene su 142 nukleotidne sekvence. Tijekom obrade podataka, dopušteno je manje od 10% pogrešaka u poravnanju, što omogućuje opcija djelomičnog brisanja (engl. partial deletion option). U konačnom skupu podataka, svaka sekvenca imala je 464 para baza.

Filogenetska stabla izrađena pomoću metoda najveće vjerojatnosti (Slika 15) i najveće štedljivosti (Slika 16), svojom sličnom topologijom prikazuju jednake srodstvene odnose između istraživanih svojti. Radi lakše obrade podataka i preglednosti stabala, svakoj sekvenci dodijeljena je pripadajuća šifra (Tablica 10).



**Slika 15.** Ukorijenjeno filogenetsko stablo mrava izrađeno pomoću metode najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) temeljeno na genu za *COI*. Filogenetsko stablo je ukorijenjeno pomoću vanjske grupe koju predstavlja obična osa, *Vespula vulgaris* (ANT142). Na stablu je brojevno prikazan postotak poduzorkovanja koji je rezultirao istom topologijom grana.



**Slika 16.** Ukorijenjeno filogenetsko stablo mrava izrađeno pomoću metode najveće štedljivosti (*Maximum Parsimony*) temeljeno na genu za *COI*. Filogenetsko stablo je ukorijenjeno pomoću vanjske grupe koju predstavlja obična osa, *Vespula vulgaris* (ANT142). Na stablu je brojevno prikazan postotak poduzorkovanja koji je rezultirao istom topologijom grana.

**Tablica 10.** Popis eksperimentalno dobivenih sekvenci mrava unutar ovog istraživanja, te sekvenci preuzetih iz projekta „Mediterratri“ i NCBI baze podataka, uz čije nazive vrsta, se nalaze njima pripadajuće šifre.

<b>Redni broj</b>	<b>Barkod šifra projekta Mediteratri /Pristupni broj iz NCBI</b>	<b>Ime vrste</b>	<b>Šifra za sekvencu</b>
1.	K-B-AN18	<i>Crematogaster scutellaris</i>	ANT001
2.	K-B-AN19	<i>Crematogaster scutellaris</i>	ANT002
3.	K-B-AN21	<i>Camponotus piceus</i>	ANT003
4.	K-B-AN22	<i>Camponotus piceus</i>	ANT004
5.	K-B-AN24	<i>Camponotus piceus</i>	ANT005
6.	K-B-AN25	<i>Camponotus piceus</i>	ANT006
7.	K-B-AN26	<i>Camponotus piceus</i>	ANT007
8.	K-B-AN28	<i>Camponotus piceus</i>	ANT008
9.	K-B-AN29	<i>Camponotus lateralis</i>	ANT009
10.	K-B-AN30	<i>Camponotus piceus</i>	ANT010
11.	K-B-AN31	<i>Camponotus piceus</i>	ANT011
12.	K-B-AN33	<i>Camponotus piceus</i>	ANT012
13.	K-B-AN35	<i>Crematogaster sordidula</i>	ANT013
14.	ME-B-AN8	<i>Tetramorium semilaeve</i>	ANT014
15.	ME-B-AN9	<i>Tetramorium semilaeve</i>	ANT015
16.	ME-B-AN11	<i>Pheidole pallidula</i>	ANT016
17.	ME-B-AN12	<i>Pheidole pallidula</i>	ANT017
18.	ME-B-AN13	<i>Tapinoma erraticum</i>	ANT018
19.	ME-B-AN14	<i>Crematogaster scutellaris</i>	ANT019
20.	ME-B-AN15	<i>Aphaenogaster picena</i>	ANT020
21.	ME-B-AN16	<i>Tetramorium semilaeve</i>	ANT021
22.	ME-B-AN17	<i>Tetramorium semilaeve</i>	ANT022
23.	ME-B-AN19	<i>Tetramorium semilaeve</i>	ANT023
24.	ME-B-AN20	<i>Tetramorium semilaeve</i>	ANT024
25.	ME-B-AN21	<i>Tetramorium semilaeve</i>	ANT025
26.	MI-B-AN4	<i>Formica cunicularia</i>	ANT026
27.	MI-B-AN5	<i>Formica cunicularia</i>	ANT027
28.	MI-B-AN6	<i>Camponotus piceus</i>	ANT028
29.	MI-B-AN7	<i>Lasius paralienus</i>	ANT029
30.	MI-B-AN8	<i>Formica cunicularia</i>	ANT030
31.	VI-B-AN12	<i>Lasius paralienus</i>	ANT031
32.	VI-B-AN13	<i>Lasius paralienus</i>	ANT032
33.	VI-B-AN17	<i>Formica cunicularia</i>	ANT033
34.	VI-B-AN18	<i>Formica cunicularia</i>	ANT034

**Nastavak Tablice 10.**

35.	VI-B-AN20	<i>Solenopsis fugax</i>	ANT035
36.	VI-B-AN23	<i>Formica cunicularia</i>	ANT036
37.	VI-B-AN24	<i>Formica cunicularia</i>	ANT037
38.	VI-B-AN25	<i>Formica cunicularia</i>	ANT038
39.	VI-B-AN26	<i>Plagiolepis pygmaea</i>	ANT039
40.	VI-B-AN27	<i>Plagiolepis pygmaea</i>	ANT040
41.	VI-B-AN28	<i>Lasius paralienus</i>	ANT041
42.	VI-B-AN29	<i>Plagiolepis pygmaea</i>	ANT042
43.	MI-B-AN9	<i>Camponotus piceus</i>	ANT043
44.	K-B-AN32	<i>Crematogaster sordidula</i>	ANT044
45.	Morfo 5 (MEDB042-21)*	<i>Messor wasmanni</i>	ANT045
46.	Morfo 6 (MEDB043-21)*	<i>Messor wasmanni</i>	ANT046
47.	Morfo 7 (MEDB045-21)*	<i>Messor wasmanni</i>	ANT047
48.	Morfo 1 (MEDB046-21)*	<i>Crematogaster scutellaris</i>	ANT048
49.	Morfo 8 (MEDB051-21)*	<i>Lasius paralienus</i>	ANT049
50.	Morfo 9 (MEDB053-21)*	<i>Lasius paralienus</i>	ANT050
51.	Morfo 2*	<i>Camponotus piceus</i>	ANT051
52.	Morfo 4 (MEDB066-21)*	<i>Aphaenogaster balcanica</i>	ANT052
53.	Morfo 3 (MEDB065-21)*	<i>Crematogaster scutellaris</i>	ANT053
54.	MK759402	<i>Crematogaster carinata</i>	ANT054
55.	JN283133	<i>Crematogaster maina</i>	ANT055
56.	MF925922	<i>Crematogaster nigropilosa</i>	ANT056
57.	HQ925456	<i>Crematogaster sewelli</i>	ANT057
58.	MN609484	<i>Crematogaster teranishii</i>	ANT058
59.	HM418771	<i>Crematogaster tricolor</i>	ANT059
60.	FJ824416	<i>Crematogaster scutellaris</i>	ANT060
61.	MT606315	<i>Crematogaster sordidula</i>	ANT061
62.	KU985553	<i>Camponotus atriceps</i>	ANT062
63.	MG344320	<i>Camponotus vicinus</i>	ANT063
64.	HQ925230	<i>Camponotus grandidieri</i>	ANT064
65.	HQ928767	<i>Camponotus planatus</i>	ANT065
66.	JN270393	<i>Camponotus itegellus</i>	ANT066
67.	HM434289	<i>Camponotus dofourii</i>	ANT067
68.	MG840350	<i>Camponotus fallax</i>	ANT0068
69.	HQ550533	<i>Camponotus herculeanus</i>	ANT069
70.	KX954289	<i>Camponotus lateralis</i>	ANT070
71.	LT977363	<i>Camponotus ligniperda</i>	ANT071
72.	LT977372	<i>Camponotus vagus</i>	ANT072
73.	KX665034	<i>Formica candida</i>	ANT073



**Nastavak Tablice 10.**

74.	KX665134	<i>Formica sinae</i>	ANT074
75.	KX665094	<i>Formica japonica</i>	ANT075
76.	GU013598	<i>Formica obsuripes</i>	ANT076
77.	MK091897	<i>Formica subaenescens</i>	ANT077
78.	MG342502	<i>Formica dakotensis</i>	ANT078
79.	KR422242	<i>Formica aserva</i>	ANT079
80.	JF863561	<i>Formica lasioides</i>	ANT080
81.	HQ550541	<i>Formica glacialis</i>	ANT081
82.	MG757151	<i>Formica cinerea</i>	ANT082
83.	KX665044	<i>Formica cunicularia</i>	ANT083
84.	JF863562	<i>Formica fusca</i>	ANT084
85.	LT977407	<i>Formica lemani</i>	ANT085
86.	KR420871	<i>Formica rufa</i>	ANT086
87.	KX665115	<i>Formica sanguinea</i>	ANT087
88.	KR416501	<i>Lasius umbratus</i>	ANT088
89.	MG344542	<i>Lasius claviger</i>	ANT089
90.	MK091888	<i>Lasius neoniger</i>	ANT090
91.	HM395023	<i>Lasius alienus</i>	ANT091
92.	MH138389	<i>Lasius emarginatus</i>	ANT092
93.	MG342532	<i>Lasius flavus</i>	ANT093
94.	HQ925794	<i>Messor piceus</i>	ANT094
95.	JN283629	<i>Messor capensis</i>	ANT095
96.	JN283584	<i>Messor denticornis</i>	ANT096
97.	KX698077	<i>Messor barbarus</i>	ANT097
98.	EU441242	<i>Messor concolor</i>	ANT098
99.	KX954285	<i>Messor maroccanus</i>	ANT099
100.	DQ353349	<i>Messor julianus</i>	ANT100
101.	KX954283	<i>Messor bouvieri</i>	ANT101
102.	MF926342	<i>Messor capitatus</i>	ANT102
103.	MH138398	<i>Messor structor</i>	ANT103
104.	JN283787	<i>Pheidole browni</i>	ANT104
105.	JN282815	<i>Pheidole simonsi</i>	ANT105
106.	MK758821	<i>Pheidole psilogaster</i>	ANT106
107.	JF863538	<i>Pheidole dossena</i>	ANT107
108.	MK759591	<i>Pheidole susannae</i>	ANT108
109.	JN282883	<i>Pheidole fallax</i>	ANT109
110.	MK759453	<i>Pheidole pugnax</i>	ANT110
111.	HQ567756	<i>Pheidole megacephala</i>	ANT111
112.	MT606370	<i>Plagiolepis pygmaea</i>	ANT112

**Nastavak Tablice 10.**

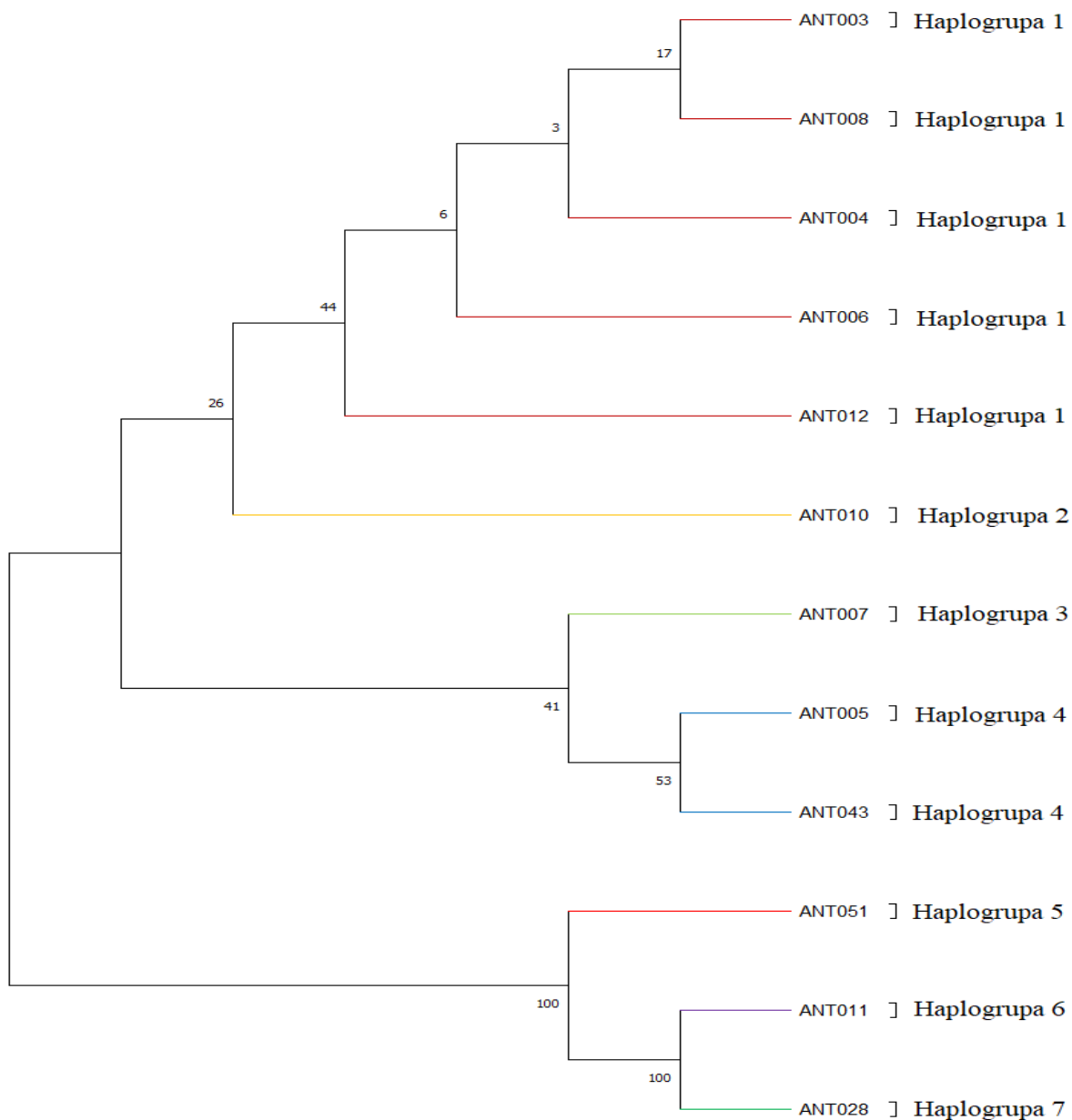
113.	MT606381	<i>Solenopsis fugax</i>	ANT113
114.	KU985546	<i>Solenopsis geminata</i>	ANT114
115.	HQ928779	<i>Solenopsis invicta</i>	ANT115
116.	JN283454	<i>Solenopsis mameti</i>	ANT116
117.	MG343839	<i>Solenopsis molesta</i>	ANT117
118.	MF926001	<i>Solenopsis richteri</i>	ANT118
119.	KY426659	<i>Tapinoma magnum</i>	ANT119
120.	KY426517	<i>Tapinoma ibericum</i>	ANT120
121.	MK758468	<i>Tapinoma melanocephalum</i>	ANT121
122.	KY426461	<i>Tapinoma erraticum</i>	ANT122
123.	MG339328	<i>Temnothorax longispinosus</i>	ANT123
124.	HQ928630	<i>Temnothorax rugatulus</i>	ANT124
125.	KU845467	<i>Temnothorax crasecundus</i>	ANT125
126.	KU845415	<i>Temnothorax parvulus</i>	ANT126
127.	KU845450	<i>Temnothorax laconicus</i>	ANT127
128.	KU845443	<i>Temnothorax subtilis</i>	ANT128
129.	KU845440	<i>Temnothorax helenae</i>	ANT129
130.	KU845458	<i>Temnothorax nylanderi</i>	ANT130
131.	KU845430	<i>Temnothorax lucidus</i>	ANT131
132.	KR902125	<i>Temnothorax nevadensis</i>	ANT132
133.	KU845466	<i>Temnothorax crassispinus</i>	ANT133
134.	JN283571	<i>Tetramorium cognatum</i>	ANT134
135.	JN283586	<i>Tetramorium sericeiventre</i>	ANT135
136.	JN283413	<i>Tetramorium andrei</i>	ANT136
137.	MK759111	<i>Tetramorium bicarinatum</i>	ANT137
138.	JN283425	<i>Tetramorium ibycterum</i>	ANT138
139.	JF862673	<i>Tetramorium lanuginosum</i>	ANT139
140.	MT606419	<i>Tetramorium semilaeve</i>	ANT140
141.	KT885054	<i>Tetramorium caespitum</i>	ANT141
142.	JN286906	<i>Vespula vulgaris</i>	ANT142

\* sekvence iz projekta MEDITERATRI (HRZZ UIP 05 – 2017 – 1046) koje su preuzete iz BOLD baze (šifra iz BOLD baze je navedena u zagradama pored oznake jedinke) i korištene za filogenetičke analize

#### **4. 6. Raznolikost haplogrupa po vrstama**

Analize su provedene na 53 sekvence mrava, među kojima je utvrđena 41 haplogrupa. Utvrđena je po jedna haplogrupa za vrste *Aphaenogaster balcanica* (sekvenca ANT052), *Aphaenogaster picena* (ANT020), *Camponotus lateralis* (ANT009), *Solenopsis fugax* (ANT035) i *Tapinoma erraticum* (ANT018). Ostalim vrstama mrava pripadaju dvije ili više sekvenci pomoću kojih su se odradile neke od prethodno navedenih analiza.

Kroz duljinu svih eksperimentalno dobivenih sekvenci za vrstu *Camponotus piceus*, varijabilno je 68 od 657 mjesta. Unutar ove vrste prisutno je sedam haplogrupa koje su prikazane na slici 17.



**Slika 17.** Kako bi se istražili srodstveni odnosi među haplogrupama, korišteno je neukorijenjeno stablo. Neukorijenjeno filogenetsko stablo dobiveno je metodom najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) temeljeno na genu za *COI*. Brojevi pored grananja prikazuju postotak poduzorkovanja. Grane sekvenci različitih haplogrupa su obojene različitim bojama (haplogrupa 1 – tamno crvena, haplogrupa 2 – žuta, haplogrupa 3 – zelena, haplogrupa 4 – tamno plava, haplogrupa 5 – crvena, haplogrupa 6 – ljubičasta, haplogrupa 7 – tamno zelena boja). Haplogrupe ovog istraživanja označene su s „Haplogrupa“ i brojem.

Genetička udaljenost između haplogrupa prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Prva haplogrupa Haplogrupa od haplogrupe 2 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 3 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 4 se razlikuje 0,3%, od haplogrupe 5 se razlikuje 9,5%, od haplogrupe 6 se razlikuje 7,1%, dok od haplogrupe 7 se razlikuje 6,9%. Haplogrupa 2 od haplogrupe 3 se razlikuje 0,3%, od haplogrupe 4 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 5 se razlikuje 9,5%, od haplogrupe 6 se razlikuje 6,9%, te od haplogrupe 7 se razlikuje 7,1%. Haplogrupa 3 od haplogrupe 4 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 5 se razlikuje 9,5%, od haplogrupe 6 se razlikuje 7,3%, te od haplogrupe 7 se razlikuje 7,1%. Haplogrupa 4 od haplogrupe 5 se razlikuje 9,5%, od haplogrupe 6 se razlikuje 7,1% i haplogrupe 7 se razlikuje 7,3%. Haplogrupa 5 od haplogrupe 6 se razlikuje 6,3%, a od haplogrupe 7 se razlikuje 6,6%. Haplogrupa 6 od haplogrupe 7 se razlikuje 0,5% (Slika 18).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. ANT003												
2. ANT008	0.000											
3. ANT004	0.000	0.000										
4. ANT006	0.000	0.000	0.000									
5. ANT010	0.002	0.002	0.002	0.002								
6. ANT005	0.003	0.003	0.003	0.003	0.002							
7. ANT012	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.003						
8. ANT007	0.002	0.002	0.002	0.002	0.003	0.002	0.002					
9. ANT043	0.003	0.003	0.003	0.003	0.002	0.000	0.003	0.002				
10. ANT011	0.071	0.071	0.071	0.071	0.069	0.071	0.071	0.073	0.071			
11. ANT028	0.069	0.069	0.069	0.069	0.071	0.073	0.069	0.071	0.073	0.005		
12. ANT051	0.095	0.095	0.095	0.095	0.095	0.095	0.095	0.095	0.095	0.063	0.066	

**Slika 18.** Genetička udaljenost između haplogrupa koje su uzorkovane za vrstu *Camponotus piceus* je prikazana pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupi 1 pripadaju sekvence ANT003, ANT008, ANT004, ANT006 i ANT012. Haplogrupi 2 pripada sekvenca ANT010. Haplogrupi 3 pripada sekvenca ANT007. Haplogrupi 4 pripadaju sekvence ANT005 i ANT043. Haplogrupi 5 pripada sekvenca ANT051. Haplogrupi 6 pripada sekvenca ANT011. Haplogrupi 7 pripada sekvenca ANT028.

Kroz duljinu svih eksperimentalno dobivenih sekvenci za vrstu *Crematogaster scutellaris*, varijabilno je 4 od 622 mjesta. Unutar ove vrste prisutno je pet haplogrupa koje su prikazane na slici 19.



**Slika 19.** Kako bi se istražili srodstveni odnosi među haplogrupama, korišteno je neukorijenjeno stablo. Neukorijenjeno filogenetsko stablo dobiveno je metodom najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) temeljeno na genu za *COI*. Brojevi pored grananja prikazuju postotak poduzorkovanja. Grane sekvenci različitih haplogrupa su obojene različitim bojama (haplogrupa 1 – tamno crvena, haplogrupa 2 – žuta, haplogrupa 3 – zelena, haplogrupa 4 – svijetlo plava, haplogrupa 5 – crvena boja). Haplogrupe ovog istraživanja označene su s „Haplogrupa“ i brojem.

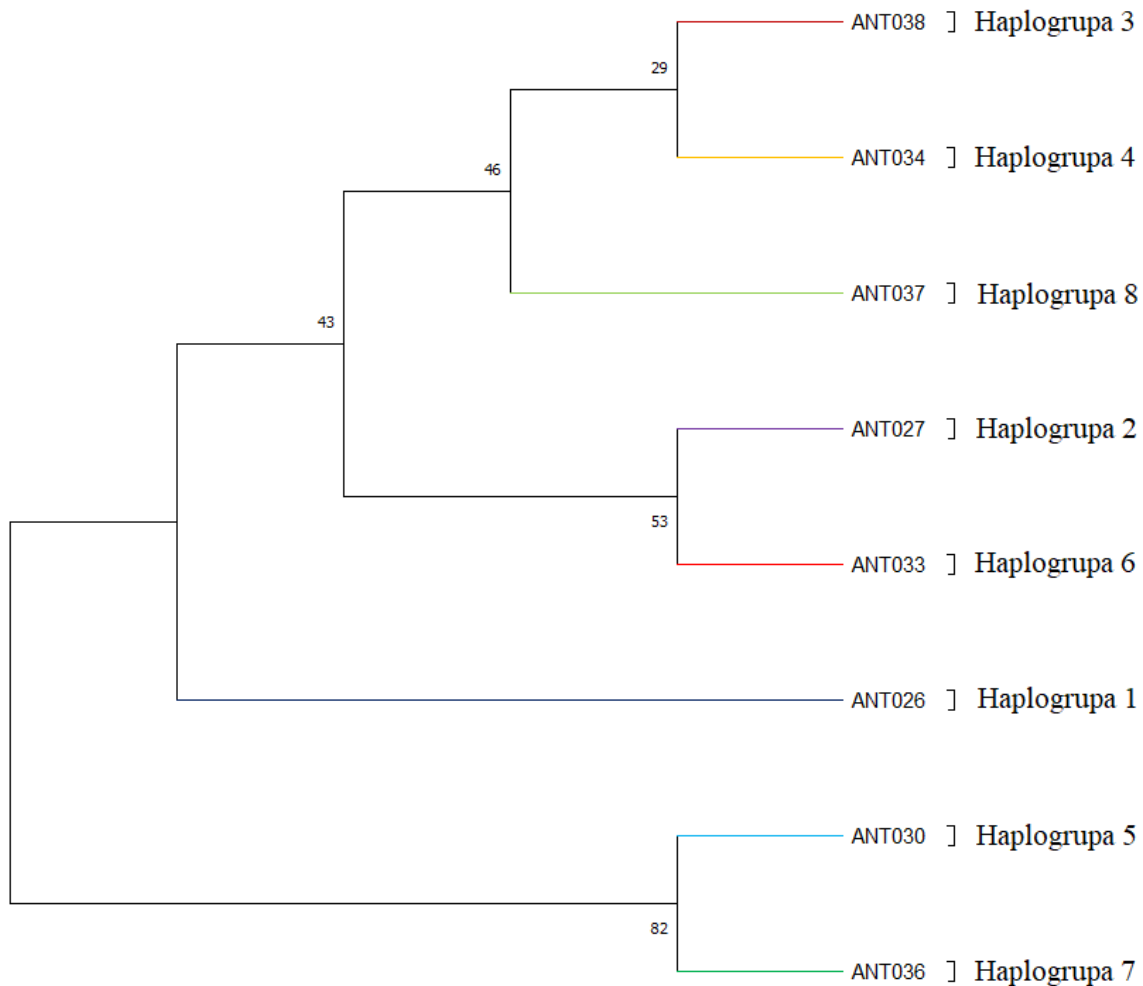
Genetička udaljenost između haplogrupa prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupa 1 od haplogrupe 2 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 3 se razlikuje 0,4%, od haplogrupe 4 se razlikuje 0,4%, te od haplogrupe 5 se razlikuje 0,2%. Haplogrupa 2 od haplogrupe 3 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 4 se razlikuje 0,7%, od haplogrupe 5 se razlikuje 0,4%. Haplogrupa 3 od haplogrupe 4 se razlikuje 0,4%, od haplogrupe 5 se razlikuje 0,2%. Haplogrupa 4 od haplogrupe 5 se razlikuje 0,2% (Slika 20).

	1	2	3	4	5
1. ANT001					
2. ANT002	0.002				
3. ANT019	0.004	0.002			
4. ANT048	0.004	0.002	0.004		
5. ANT053	0.007	0.004	0.002	0.002	

**Slika 20.** Genetička udaljenost između haplogrupa koje su uzorkovane za vrstu *Crematogaster scutellaris* je prikazana pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupi 1 pripada sekvenca ANT048. Haplogrupi 2 pripada sekvenca ANT053. Haplogrupi 3 pripada sekvenca ANT019. Haplogrupi 4 pripada sekvenca ANT001. Haplogrupi 5 pripada sekvenca ANT002.

Kroz duljinu svih eksperimentalno dobivenih sekvenci za vrstu *Crematogaster sordidula* nema varijabilnih mjesta. Unutar ove vrste prisutna je jedna haplogrupa (sekvence ANT013 i ANT044). Za daljnje filogenetičke analize potrebne su tri sekvence.

Cijelom duljinom eksperimentalno dobivenih sekvenci za vrstu *Formica cunicularia*, varijabilno je 26 od 649 mjesta. Unutar ove vrste prisutno je osam haplogrupa koje su prikazane na slici 21.



**Slika 21.** . Kako bi se istražili srodstveni odnosi među haplogrupama, korišteno je neukorijenjeno stablo. Neukorijenjeno filogenetsko stablo dobiveno je metodom najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) temeljeno na genu za *COI*. Brojevi pored grananja prikazuju postotak poduzorkovanja. Grane sekvenci različitih haplogrupa su obojene različitim bojama (haplogrupa 1 – tamno plava, haplogrupa 2 – ljubičasta, haplogrupa 3 – tamno crvena, haplogrupa 4 – žuta, haplogrupa 5 – svijetlo plava, haplogrupa 6 – crvena, haplogrupa 7 – zelena, haplogrupa 8 – siva boja). Haplogrupe ovog istraživanja označene su s „Haplogrupa“ i brojem.

Genetička udaljenost između haplogrupa prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) + G modelom. Haplogrupa 1 od haplogrupe 2 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 3 se razlikuje 0,5%, od haplogrupe 4 se razlikuje 0,8%, od haplogrupe 5 se

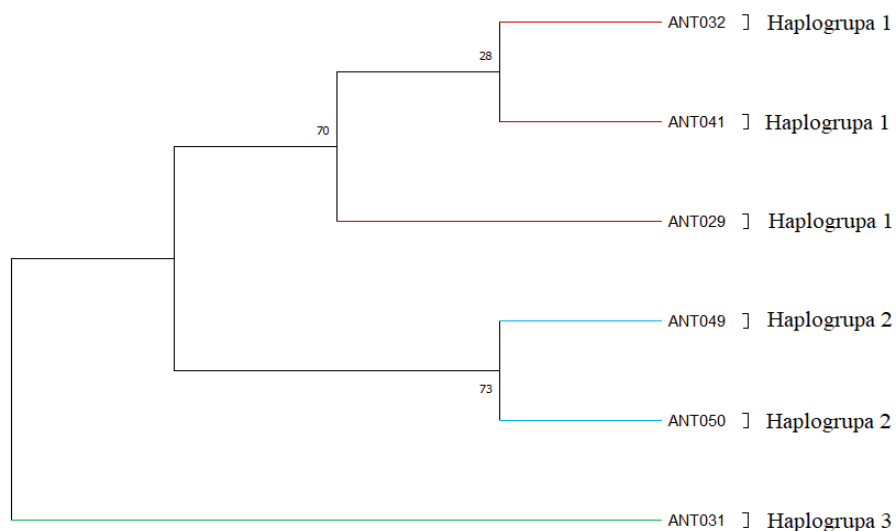


razlikuje 1%, od haplogrupe 6 se razlikuje 0,3%, od haplogrupe 7 se razlikuje 2%, te od haplogrupe 8 se razlikuje 1,3%. Haplogrupa 2 od haplogrupe 3 se razlikuje 0,3%, od haplogrupe 4 se razlikuje 0,7%, od haplogrupe 5 se razlikuje 1,2%, od haplogrupe 6 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 7 se razlikuje 2,2%, dok od haplogrupe 8 se razlikuje 1,2%. Haplogrupa 3 od haplogrupe 4 se razlikuje 0,7%, od haplogrupe 5 se razlikuje 1,5% od haplogrupe 6 se razlikuje 0,5%, od haplogrupe 7 se razlikuje 2,2%, te od haplogrupe 8 se razlikuje 1,2%. Haplogrupa 4 od haplogrupe 5 se razlikuje 1,8%, od haplogrupe 6 se razlikuje 0,8%, od haplogrupe 7 se razlikuje 2,5%, te od haplogrupe 8 se razlikuje 1,5%. Haplogrupa 5 od haplogrupe 6 se razlikuje 1,3%, od haplogrupe 7 se razlikuje 1,7%, te od haplogrupe 8 se razlikuje 1,7%. Haplogrupa 6 od haplogrupe 7 se razlikuje 2,4%, dok od haplogrupe 8 se razlikuje 1,3%. Haplogrupa 7 od haplogrupe 8 se razlikuje 3,1% (Slika 22).

	1	2	3	4	5	6	7	8
1. ANT026								
2. ANT027	0.002							
3. ANT038	0.005	0.003						
4. ANT034	0.008	0.007	0.007					
5. ANT030	0.010	0.012	0.015	0.018				
6. ANT033	0.003	0.002	0.005	0.008	0.013			
7. ANT036	0.020	0.022	0.022	0.025	0.017	0.024		
8. ANT037	0.013	0.012	0.012	0.015	0.017	0.013	0.031	

**Slika 22.** Genetička udaljenost između haplogrupa koje su uzorkovane za vrstu *Formica cunicularia* je prikazana pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) + G modelom. Haplogrupi 1 pripada sekvenca ANT026. Haplogrupi 2 pripada sekvenca ANT027. Haplogrupi 3 pripada sekvenca ANT038. Haplogrupi 4 pripada sekvenca ANT034. Haplogrupi 5 pripada sekvenca ANT030. Haplogrupi 6 pripada sekvenca ANT033. Haplogrupi 7 pripada sekvenca ANT036. Haplogrupi 8 pripada sekvenca ANT037

Kroz duljinu svih eksperimentalno dobivenih sekvenci za vrstu *Lasius paralienus*, varijabilno je 9 od 627 mjesta. Unutar ove vrste prisutne su tri haplogrupe koje su prikazane na slici 23.



**Slika 23.** . Kako bi se istražili srodstveni odnosi među haplogrupama, korišteno je neukorijenjeno stablo. Neukorijenjeno filogenetsko stablo dobiveno je metodom najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) temeljeno na genu za *COI*. Brojevi pored grananja prikazuju postotak poduzorkovanja. Grane sekvenci različitih haplogrupa su obojene različitim bojama (haplogrupa 1 – crvena, haplogrupa 2 – plava, haplogrupa 3 – zelena boja). Haplogrupe ovog istraživanja označene su s „Haplogrupa“ i brojem.

Genetička udaljenost između haplogrupa prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupa 1 od haplogrupe 2 se razlikuje 0,2%, a od haplogrupe 3 se razlikuje 1,1%. Haplogrupa 2 od haplogrupe 3 se razlikuje 1,1% (Slika 24).

	1	2	3	4	5	6
1. ANT029						
2. ANT032	0.000					
3. ANT041	0.000	0.000				
4. ANT031	0.011	0.011	0.011			
5. ANT049	0.002	0.002	0.002	0.011		
6. ANT050	0.002	0.002	0.002	0.011	0.000	

**Slika 24.** Genetička udaljenost između haplogrupa koje su uzorkovane za vrstu *Lasius paralienus* je prikazana pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) + G modelom. Haplogrupi 1 pripadaju sekvence ANT032, ANT041 i ANT029. Haplogrupi 2 pripadaju sekvence ANT049 i ANT050. Haplogrupi 3 pripada sekvenca ANT031.

Sekvence vrste *Messor wasmanni* nemaju varijabilnih mjesta. Unutar ove vrste prisutna je jedna haplogrupa koju čine tri sekvence (ANT045, ANT046 i ANT047). Kroz duljinu svih sekvenci vrste *Pheidole pallidula*, varijabilno je 3 od 620 mjesta. Unutar ove vrste prisutne su dvije haplogrupe. Jednoj haplogrupi pripada sekvenca ANT016, a drugoj pripada sekvenca ANT017.

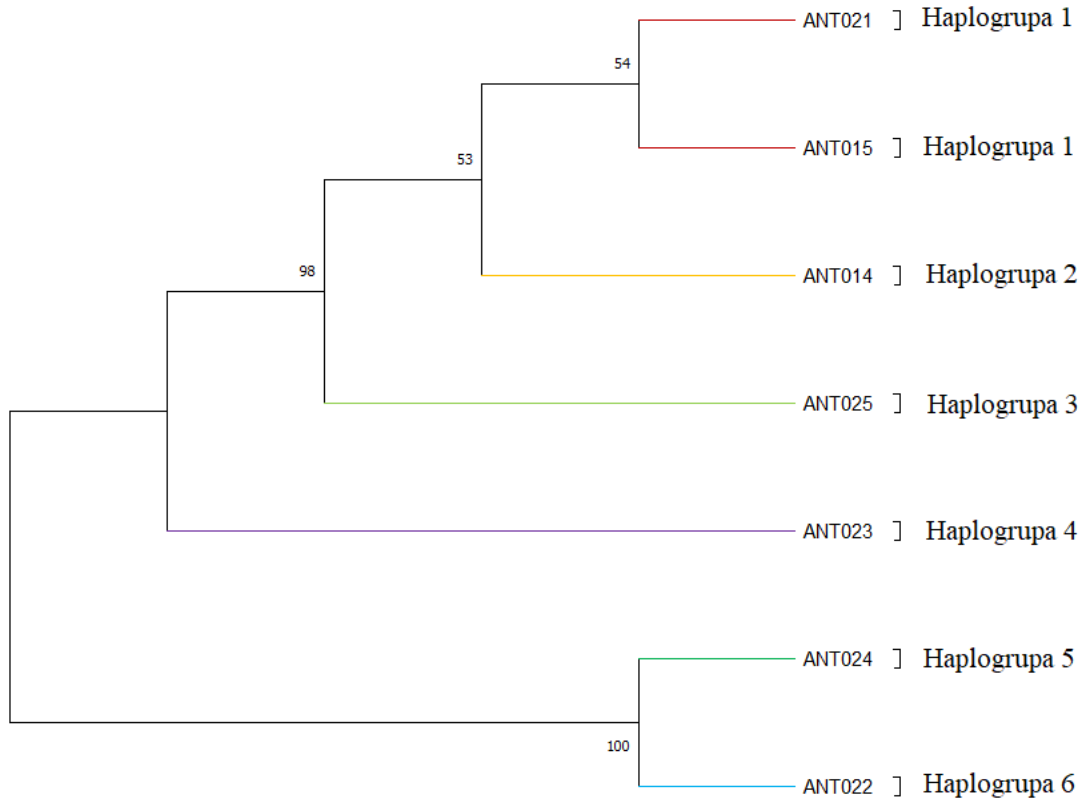
Kroz duljinu svih eksperimentalno dobivenih sekvenci za vrstu *Plagiolepis pygmaea*, varijabilno je 5 od 627 mjesta. Unutar ove vrste prisutne su tri haplogrupe.

Genetička udaljenost između haplogrupa prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupa 1 od haplogrupe 2 se razlikuje 0,2%, dok od haplogrupe 3 se razlikuje 0,8%. Haplogrupa 2 od haplogrupe 3 se razlikuje 0,7% (Slika 25).

	1	2	3
1. ANT039			
2. ANT040	0.002		
3. ANT042	0.008	0.007	

**Slika 25.** Genetička udaljenost između haplogrupa koje su uzorkovane za vrstu *Plagiolepis pygmaea* je prikazana pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupi 1 pripada sekvenca ANT039. Haplogrupi 2 pripada sekvenca ANT040. Haplogrupi 3 pripada sekvenca ANT042

Kroz duljinu svih eksperimentalno dobivenih sekvenci za vrstu *Tetramorium semilaeve*, varijabilno je 43 od 632 mjesta. Unutar ove vrste prisutno je šest haplogrupa koje su prikazane na slici 26.



**Slika 26.** . Kako bi se istražili srodstveni odnosi među haplogrupama, korišteno je neukorijenjeno stablo. Neukorijenjeno filogenetsko stablo dobiveno je metodom najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) temeljeno na genu za *COI*. Brojevi pored grananja prikazuju postotak poduzorkovanja. Grane sekvenci različitih haplogrupa su obojene različitim bojama (haplogrupa 1 – crvena, haplogrupa 2 – žuta, haplogrupa 3 – zelena, haplogrupa 4 – ljubičasta, haplogrupa 5 – tamno zelena, haplogrupa 6 – plava boja). Haplogrupe ovog istraživanja označene su s „Haplogrupa“ i brojem.

Genetička udaljenost između haplogrupa prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – 3 parameter (TN92) modelom. Haplogrupa 1 od haplogrupe 2 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 3 se razlikuje 0,7%, od haplogrupe 4 se razlikuje 1,3%, od haplogrupe 5 se razlikuje 2,3%, te od haplogrupe 6 se razlikuje 4,2%. Haplogrupa 2 od haplogrupe 3 se razlikuje 0,9%, od haplogrupe 4 se razlikuje 1,4%, od haplogrupe 5 se razlikuje 2,2%, dok od haplogrupe 6 se razlikuje 4,4%. Haplogrupa 3 od haplogrupe 4 se razlikuje 2%, od haplogrupe 5 se razlikuje

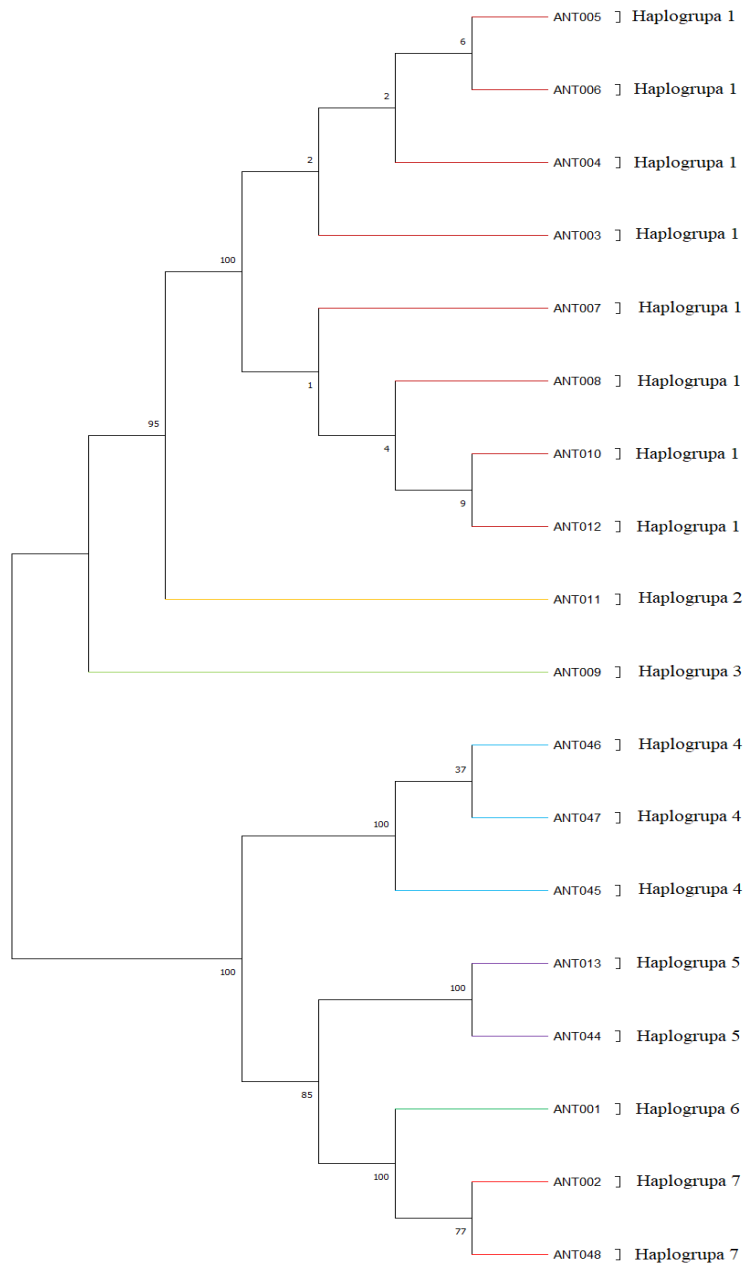
2,7%, od haplogrupe 6 se razlikuje 4,6%. Haplogrupa 4 od haplogrupe 5 se razlikuje 1,4%, dok od haplogrupe 6 se razlikuje 3,2%. Haplogrupa 5 od haplogrupe 6 se razlikuje 2,1% (Slika 27).

	1	2	3	4	5	6	7
1. ANT014							
2. ANT025	0.009						
3. ANT021	0.002	0.007					
4. ANT015	0.002	0.007	0.000				
5. ANT024	0.022	0.027	0.023	0.023			
6. ANT023	0.014	0.020	0.013	0.013	0.014		
7. ANT022	0.044	0.046	0.042	0.042	0.021	0.032	

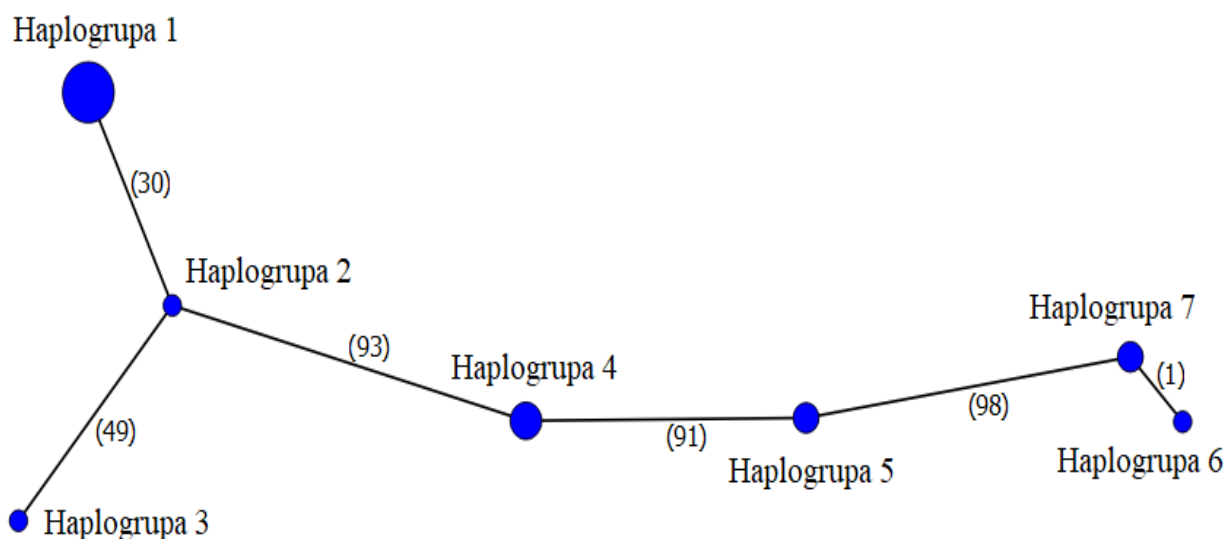
**Slika 27.** Genetička udaljenost između haplogrupa koje su uzorkovane za vrstu *Plagiolepis pygmaea* je prikazana pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – 3 parameter (TN92) modelom. Haplogrupi 1 pripadaju sekvence ANT021 i ANT015. Haplogrupi 2 pripada sekvenca ANT014. Haplogrupi 3 pripada sekvenca ANT025. Haplogrupi 4 pripada sekvenca ANT023. Haplogrupi 5 pripada sekvenca ANT024. Haplogrupi 6 pripada sekvenca ANT022.

#### 4. 7. Raznolikost haplogrupa po ploham

Cijelom duljinom dužine svih eksperimentalno dobivenih sekvenci sa plohe K, varijabilno je 177 od 464 mjesta. Na navedenoj plohi je prisutno sedam haplogrupa koje su prikazane na slikama 28 i 29.



**Slika 28.** . Kako bi se istražili srodstveni odnosi među haplogrupama, korišteno je neukorijenjeno stablo. Neukorijenjeno filogenetsko stablo dobiveno je metodom najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) temeljeno na genu za *COI*. Brojevi pored grananja prikazuju postotak poduzorkovanja. Grane sekvenci različitih haplogrupa su obojene različitim bojama (haplogrupa 1 – tamno crvena, haplogrupa 2 – žuta, haplogrupa 3 – zelena, haplogrupa 4 – plava, haplogrupa 5 – ljubičasta, haplogrupa 6 – tamno zelena, haplogrupa 7 – crvena boja). Haplogrupe ovog istraživanja označene su s „Haplogrupa“ i brojem.



**Slika 29.** Filogenetska mreža dobivena pomoću programa PopART (Leigh i Bryant 2015). Brojevi predstavljaju broj mutacija. Haplogrupe su označene plavim točkama. Promjer točaka je proporcionalan broju sekvenci svake haplogrupe.

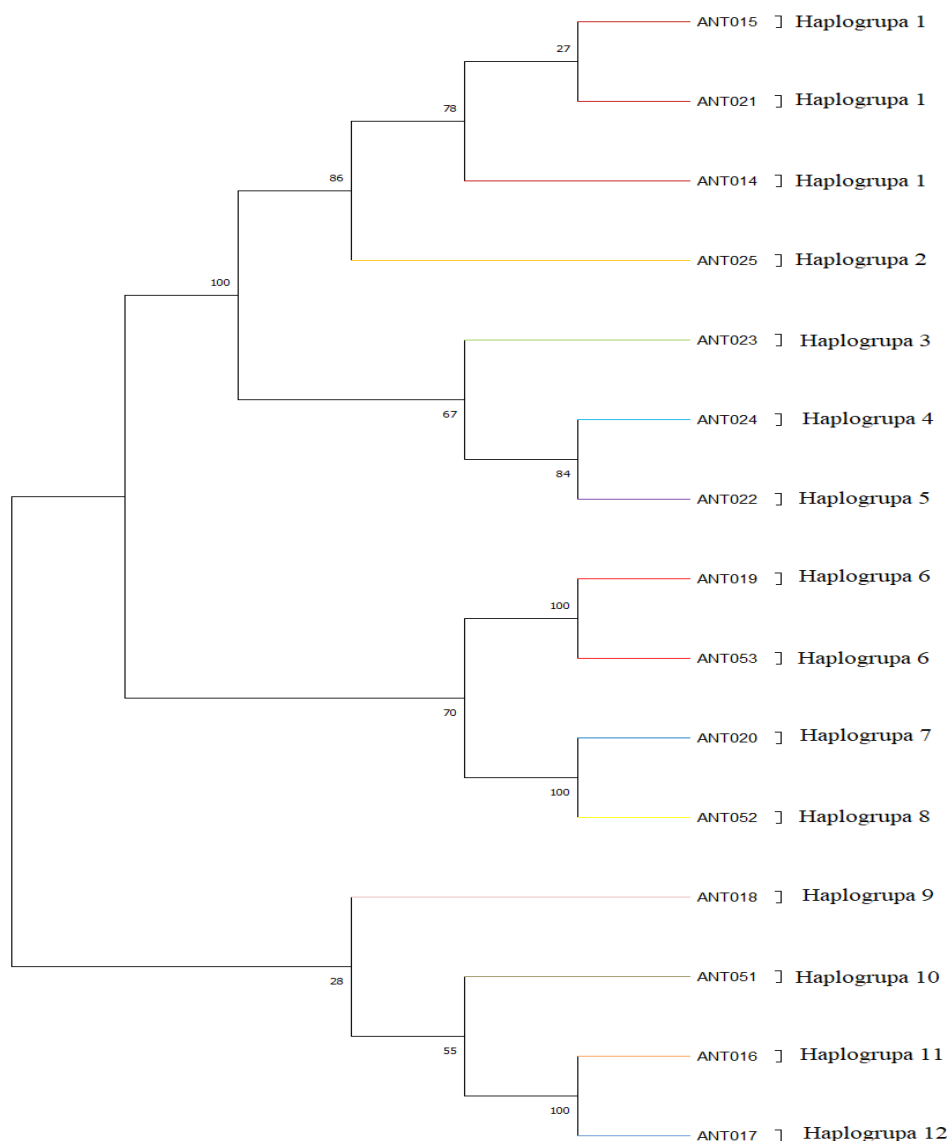
Genetička udaljenost između haplogrupa prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupa 1 od haplogrupe 2 se razlikuje 7,1%, od haplogrupe 3 se razlikuje 12,8%, od haplogrupe 4 se razlikuje 24,4%, od haplogrupe 5 se razlikuje 30,3%, od haplogrupe 6 se razlikuje 33,4%, te od haplogrupe 7 se razlikuje 32,9%. Haplogrupa 2 od haplogrupe 3 se razlikuje 12,3% od haplogrupe 4 se razlikuje 24,3% ,od haplogrupe 5 se razlikuje 30,3%, od haplogrupe 6 se razlikuje 33,5%, dok od haplogrupe 7 se razlikuje 33,1%. Haplogrupa 3 od haplogrupe 4 se razlikuje 28,3%, od haplogrupe 5 se razlikuje 34,5%, od haplogrupe 6 se razlikuje 30%, te od haplogrupe 7 se razlikuje 30,4%. Haplogrupa 4 od haplogrupe 5 se razlikuje 23,9%, od haplogrupe 6 se razlikuje 29,4%, od haplogrupe 7 se razlikuje 29%. Haplogrupa 5 od haplogrupe 6 se razlikuje 25,9%, od haplogrupe 7 se razlikuje 25,5%. Haplogrupa 6 od haplogrupe 7 se razlikuje 0,2% (Slika 30).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1. ANT001																		
2. ANT002	0.002																	
3. ANT048	0.002	0.000																
4. ANT003	0.334	0.329	0.329															
5. ANT004	0.334	0.329	0.329	0.000														
6. ANT005	0.334	0.329	0.329	0.000	0.000													
7. ANT006	0.334	0.329	0.329	0.000	0.000	0.000												
8. ANT007	0.334	0.329	0.329	0.000	0.000	0.000	0.000											
9. ANT008	0.334	0.329	0.329	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000										
10. ANT010	0.334	0.329	0.329	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000									
11. ANT012	0.334	0.329	0.329	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000								
12. ANT011	0.335	0.331	0.331	0.071	0.071	0.071	0.071	0.071	0.071	0.071	0.071							
13. ANT009	0.300	0.304	0.304	0.128	0.128	0.128	0.128	0.128	0.128	0.128	0.128	0.123						
14. ANT013	0.259	0.255	0.255	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.318	0.345					
15. ANT044	0.259	0.255	0.255	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.318	0.345	0.000				
16. ANT045	0.294	0.290	0.290	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.243	0.283	0.239	0.239			
17. ANT046	0.294	0.290	0.290	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.243	0.283	0.239	0.239	0.000		
18. ANT047	0.294	0.290	0.290	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.244	0.243	0.283	0.239	0.239	0.000	0.000	

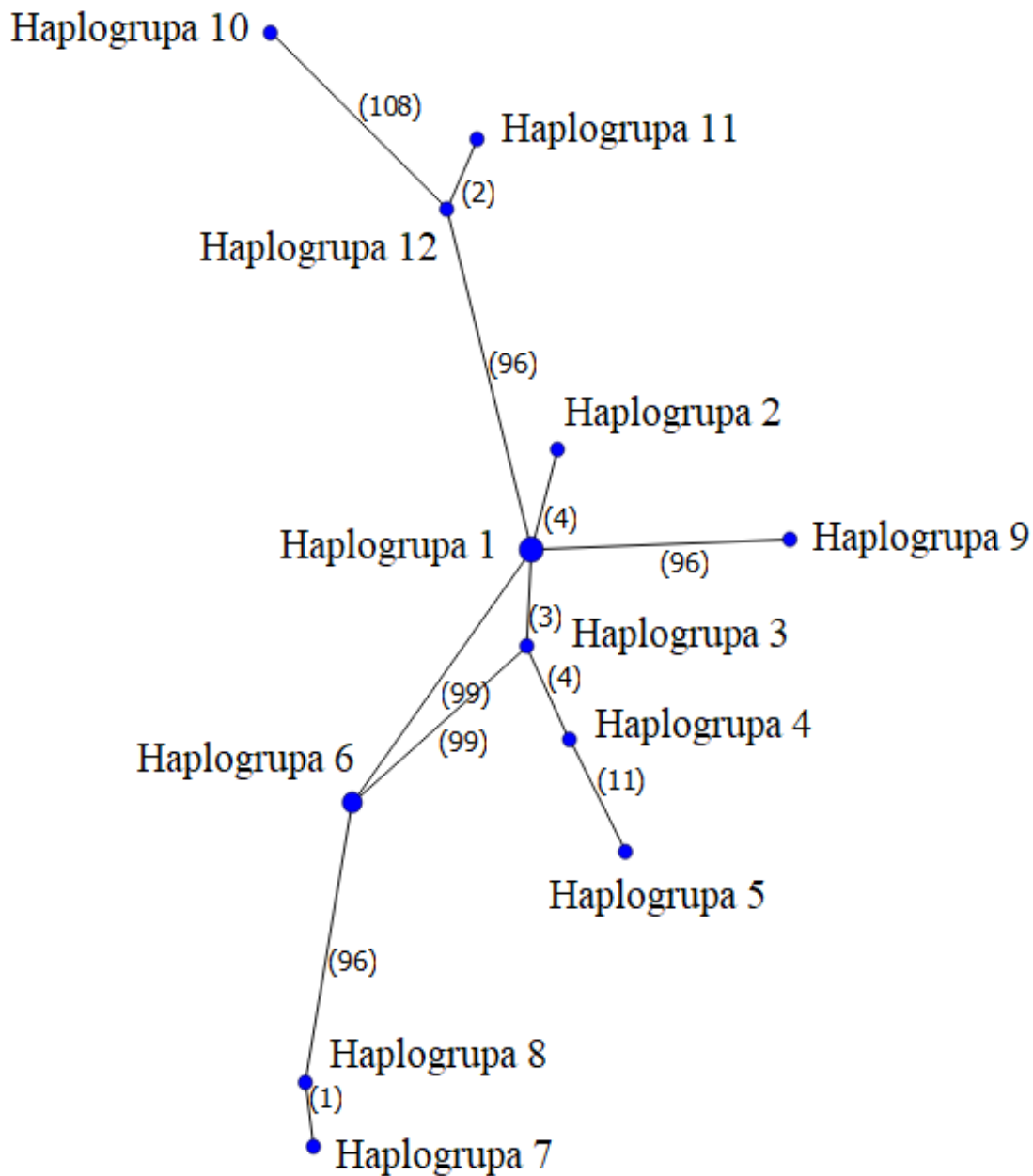
**Slika 30.** Genetička udaljenost između haplogrupa koje su uzorkovane na plohi K, prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupi 1 pripadaju sekvence ANT005, ANT006, ANT004, ANT003, ANT007, ANT008, ANT010 i ANT012. Haplogrupi 2 pripada sekvenca ANT011. Haplogrupi 3 pripada sekvenca ANT009. Haplogrupi 4 pripadaju sekvence ANT045, ANT046 i ANT047. Haplogrupi 5 pripadaju sekvence ANT013 i ANT044. Haplogrupi 6 pripada sekvenca ANT001. Haplogrupi 7 pripadaju sekvence ANT002 i ANT048.

Cijelom duljinom dužine svih eksperimentalno dobivenih sekvenci sa plohe ME, varijabilno je 218 od 464 mjesta. Na navedenoj plohi je prisutno 12 haplogrupa koje su prikazane na slikama 31 i 32.





**Slika 31.** . Kako bi se istražili srodstveni odnosi među haplogrupama, korišteno je neukorijenjeno stablo. Neukorijenjeno filogenetsko stablo dobiveno je metodom najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) temeljeno na genu za *COI*. Brojevi pored grananja prikazuju postotak poduzorkovanja. Grane sekvenci različitih haplogrupa su obojene različitim bojama (haplogrupa 1 – tamno crvena, haplogrupa 2 – tamno žuta, haplogrupa 3 – zelena, haplogrupa 4 – svijetlo plava, haplogrupa 5 – ljubičasta, haplogrupa 6 – crvena, haplogrupa 7 – tamno plava, haplogrupa 8 – žuta, haplogrupa 9 – ružičasta, haplogrupa 10 – smeđa, haplogrupa 11 – narančasta, haplogrupa 12 – plava boja). Haplogrupe ovog istraživanja označene su s „Haplogrupa“ i brojem.



**Slika 32.** Filogenetska mreža dobivena pomoću programa PopART (Leigh i Bryant 2015). Brojevi predstavljaju broj mutacija. Haplogrupe su označene plavim točkama. Promjer točaka je proporcionalan broju sekvenci svake haplogrupe.

Genetička udaljenost između haplogrupa prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupa 1 od haplogrupe 2 se razlikuje 0,9%, od haplogrupe 3 se razlikuje 0,7%, od haplogrupe 4 se razlikuje 1,5%, od haplogrupe 5 se razlikuje

3,6%, od haplogrupe 6 se razlikuje 26,2%, od haplogrupe 7 se razlikuje 26,6%, od haplogrupe 8 se razlikuje 26,3%, od haplogrupe 9 se razlikuje 25%, od haplogrupe 10 se razlikuje 30,7%, od haplogrupe 11 se razlikuje 26%, dok od haplogrupe 12 se razlikuje 25,3%. Haplogrupa 2 od haplogrupe 3 se razlikuje 1,5%, od haplogrupe 4 se razlikuje 2%, od haplogrupe 5 se razlikuje 4%, od haplogrupe 6 se razlikuje 27,3%, od haplogrupe 7 se razlikuje 27,8%, od haplogrupe 8 se razlikuje 27,4%, od haplogrupe 9 se razlikuje 26,2%, od haplogrupe 10 se razlikuje 31,6%, od haplogrupe 11 se razlikuje 27,2%, dok od haplogrupe 12 se razlikuje 26,5%. Haplogrupa 3 od haplogrupe 4 se razlikuje 0,9%, od haplogrupe 5 se razlikuje 2,9%, od haplogrupe 6 se razlikuje 26,2%, od haplogrupe 7 se razlikuje 27,2%, od haplogrupe 8 se razlikuje 26,9%, od haplogrupe 9 se razlikuje 25,6%, od haplogrupe 10 se razlikuje 31%, od haplogrupe 11 se razlikuje 26,6%, a od haplogrupe 12 se razlikuje 25,9%. Haplogrupa 4 od haplogrupe 5 se razlikuje 2,4%, od haplogrupe 6 se razlikuje 27,1%, od haplogrupe 7 se razlikuje 27,8%, od haplogrupe 8 se razlikuje 27,5%, od haplogrupe 9 se razlikuje 26,3%, od haplogrupe 10 se razlikuje 31,4%, od haplogrupe 11 se razlikuje 27,2%, dok od haplogrupe 12 se razlikuje 16,5%. Haplogrupa 5 od haplogrupe 6 se razlikuje 27,7%, od haplogrupe 7 se razlikuje 29,4%, od haplogrupe 8 se razlikuje 29,1%, od haplogrupe 9 se razlikuje 27,5%, od haplogrupe 10 se razlikuje 33,8%, od haplogrupe 11 se razlikuje 29,8%, a od haplogrupe 12 se razlikuje 29,1%. Haplogrupa 6 od haplogrupe 7 se razlikuje 25,3%, od haplogrupe 8 se razlikuje 25%, od haplogrupe 9 se razlikuje 31,7%, od haplogrupe 10 se razlikuje 37,1%, od haplogrupe 11 se razlikuje 28%, dok od haplogrupe 12 se razlikuje 28,1%. Haplogrupa 7 od haplogrupe 8 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 9 se razlikuje 29,9%, od haplogrupe 10 se razlikuje 31,6%, od haplogrupe 11 se razlikuje 31,1%, a od haplogrupe 12 se razlikuje 30,4%. Haplogrupa 8 od haplogrupe 9 se razlikuje 29,6%, od haplogrupe 10 se razlikuje 31,3%, od haplogrupe 11 se razlikuje 30,7%, te od haplogrupe 12 se razlikuje 30,1%. Haplogrupa 9 od haplogrupe 10 se razlikuje 31,3%, od haplogrupe 11 se razlikuje 29,1%, a od haplogrupe 12 se razlikuje 28,4%. Haplogrupa 10 od haplogrupe 11 se razlikuje 29,5%, te od haplogrupe 12 se razlikuje 28,8%. Haplogrupa 11 od haplogrupe 12 se razlikuje 0,4% (Slika 33).

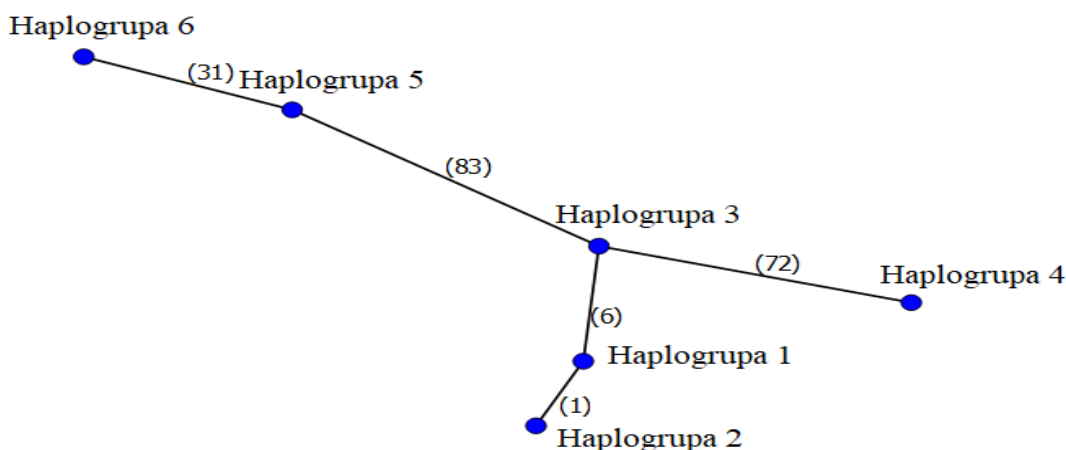
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. ANT014															
2. ANT015	0.000														
3. ANT021	0.000	0.000													
4. ANT023	0.007	0.007	0.007												
5. ANT024	0.015	0.015	0.015	0.009											
6. ANT025	0.009	0.009	0.009	0.015	0.020										
7. ANT022	0.036	0.036	0.036	0.029	0.024	0.040									
8. ANT016	0.260	0.260	0.260	0.266	0.272	0.272	0.298								
9. ANT017	0.253	0.253	0.253	0.259	0.265	0.265	0.291	0.004							
10. ANT019	0.262	0.262	0.262	0.262	0.271	0.273	0.277	0.280	0.281						
11. ANT053	0.262	0.262	0.262	0.262	0.271	0.273	0.277	0.280	0.281	0.000					
12. ANT020	0.266	0.266	0.266	0.272	0.278	0.278	0.294	0.311	0.304	0.253	0.253				
13. ANT052	0.263	0.263	0.263	0.269	0.275	0.274	0.291	0.307	0.301	0.250	0.250	0.002			
14. ANT018	0.250	0.250	0.250	0.256	0.263	0.262	0.275	0.291	0.284	0.317	0.317	0.299	0.296		
15. ANT051	0.307	0.307	0.307	0.310	0.314	0.316	0.338	0.295	0.288	0.371	0.371	0.316	0.313	0.313	

**Slika 33.** Genetička udaljenost između haplogrupa koje su uzorkovane na plohi ME, prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupi 1 pripadaju sekvence ANT014, ANT015 i ANT021. Haplogrupi 2 pripada sekvenca ANT025. Haplogrupi 3 pripada sekvenca ANT023. Haplogrupi 4 pripada sekvenca ANT024. Haplogrupi 5 pripada sekvenca ANT022. Haplogrupi 6 pripadaju sekvence ANT019 i ANT053. Haplogrupi 7 pripada sekvenca ANT020. Haplogrupi 8 pripada sekvenca ANT052. Haplogrupi 9 pripada sekvenca ANT018. Haplogrupi 10 pripada sekvenca ANT051. Haplogrupi 11 pripada sekvenca ANT016. Haplogrupi 12 pripada sekvenca ANT017.

Cijelom duljinom dužine svih eksperimentalno dobivenih sekvenci sa plohe MI, varijabilno je 126 od 464 mjesta. Na navedenoj plohi je prisutno šest haplogrupa koje su prikazane na slikama 34 i 35.



**Slika 34.** . Kako bi se istražili srodstveni odnosi među haplogrupama, korišteno je neukorijenjeno stablo. Neukorijenjeno filogenetsko stablo dobiveno je metodom najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) temeljeno na genu za *COI*. Brojevi pored grananja prikazuju postotak poduzorkovanja. Grane sekvenci različitih haplogrupa su obojene različitim bojama (haplogrupa 1 – tamno crvena, haplogrupa 2 – tamno žuta, haplogrupa 3 – zelena, haplogrupa 4 – svijetlo plava, haplogrupa 5 – ljubičasta, haplogrupa 6 – crvena boja). Haplogrupe ovog istraživanja označene su s „Haplogrupa“ i brojem.



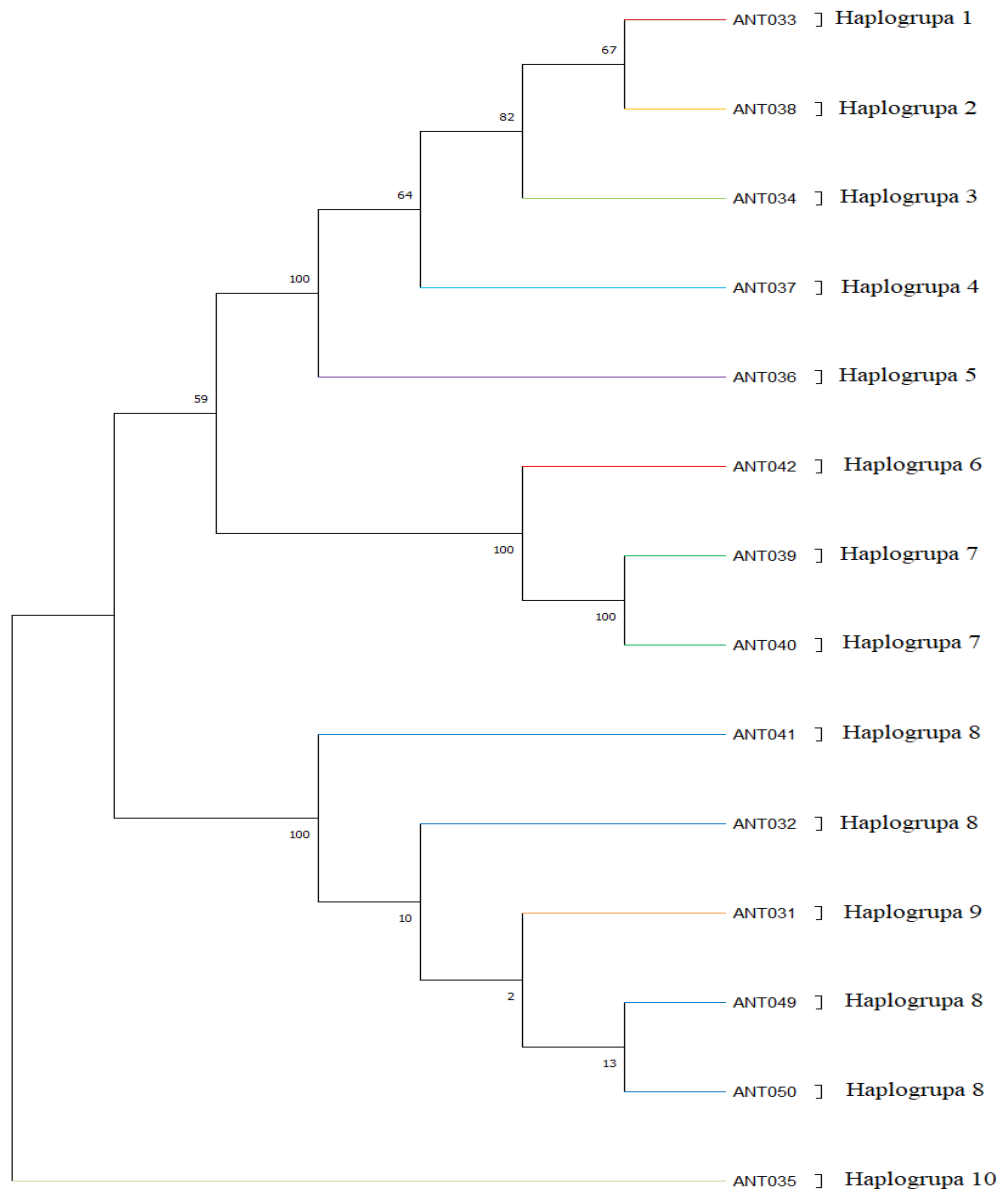
**Slika 35.** Filogenetska mreža dobivena pomoću programa PopART (Leigh i Bryant 2015). Brojevi predstavljaju broj mutacija. Haplogrupe su označene plavim točkama. Promjer točaka je proporcionalan broju sekvenci svake haplogrupe.

Genetička udaljenost između haplogrupa prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupa 1 od haplogrupe 2 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 3 se razlikuje 1,3%, od haplogrupe 4 se razlikuje 18,6%, od haplogrupe 5 se razlikuje 21,5%, te od haplogrupe 6 se razlikuje 23,1%. Haplogrupa 2 od haplogrupe 3 se razlikuje 1,5%, od haplogrupe 4 se razlikuje 19%, od haplogrupe 5 se razlikuje 21,5%, dok od haplogrupe 6 se razlikuje 23,1%. Haplogrupa 3 od haplogrupe 4 se razlikuje 18%, od haplogrupe 5 se razlikuje 21,2%, a od haplogrupe 6 se razlikuje 22,8%. Haplogrupa 4 od haplogrupe 5 se razlikuje 23,6%, a od haplogrupe 6 se razlikuje 24,2%. Haplogrupa 5 od haplogrupe 5 se razlikuje 7,2% (Slika 36).

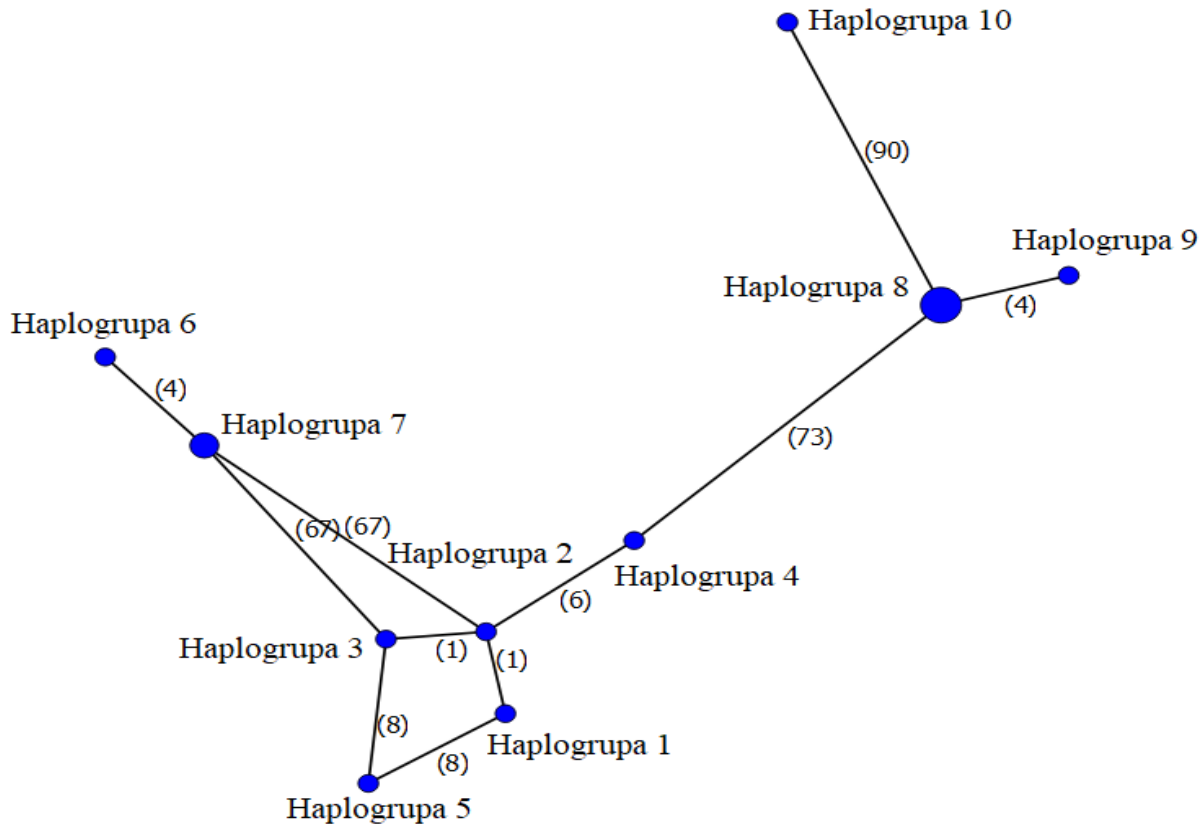
	1	2	3	4	5	6
1. ANT026						
2. ANT027	0.002					
3. ANT030	0.013	0.015				
4. ANT029	0.186	0.190	0.180			
5. ANT028	0.215	0.215	0.212	0.236		
6. ANT043	0.231	0.231	0.228	0.242	0.072	

**Slika 36.** Genetička udaljenost između haplogrupa koje su uzorkovane na plohi MI, prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) modelom. Haplogrupi 1 pripada sekvenca ANT026. Haplogrupi 2 pripada sekvenca ANT027. Haplogrupi 3 pripada sekvenca ANT030. Haplogrupi 4 pripada sekvenca ANT029. Haplogrupi 5 pripada sekvenca ANT028. Haplogrupi 6 pripada sekvenca ANT043.

Cijelom duljinom dužine svih eksperimentalno dobivenih sekvenci sa plohe VI, varijabilno je 143 od 464 mjesta. Na navedenoj plohi je prisutno 10 haplogrupa koje su prikazane na slikama 37 i 38.



**Slika 37.** . Kako bi se istražili srodstveni odnosi među haplogrupama, korišteno je neukorijenjeno stablo. Neukorijenjeno filogenetsko stablo dobiveno je metodom najveće vjerojatnosti (*Maximum Likelihood*) temeljeno na genu za *COI*. Brojevi pored grananja prikazuju postotak poduzorkovanja. Grane sekvenci različitih haplogrupa su obojene različitim bojama (haplogrupa 1 – tamno crvena, haplogrupa 2 – tamno žuta, haplogrupa 3 – zelena, haplogrupa 4 – svijetlo plava, haplogrupa 5 – ljubičasta, haplogrupa 6 – crvena, haplogrupa 7 – tamno zelena, haplogrupa 8 – tamno plava, haplogrupa 9 – narančasta, haplogrupa 10 – siva boja). Haplogrupe ovog istraživanja označene su s „Haplogrupa“ i brojem.



**Slika 38.** Filogenetska mreža dobivena pomoću programa PopART (Leigh i Bryant 2015). Brojevi predstavljaju broj mutacija. Haplogrupe su označene plavim točkama. Promjer točaka je proporcionalan broju sekvenci svake haplogrupe.

Genetička udaljenost između haplogrupa prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) + I modelom. Haplogrupa 1 od haplogrupe 2 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 3 se razlikuje 0,4%, od haplogrupe 4 se razlikuje 1,5%, od haplogrupe 5 se razlikuje 1,8%, od haplogrupe 6 se razlikuje 17,3%, od haplogrupe 7 se razlikuje 16,7%, od haplogrupe 8 se razlikuje 18,7%, od haplogrupe 9 se razlikuje 19,9%, te od haplogrupe 10 se razlikuje 23,6%. Haplogrupa 2 od haplogrupe 3 se razlikuje 0,2%, od haplogrupe 4 se razlikuje 1,3%, od haplogrupe 5 se razlikuje 2%, od haplogrupe 6 se razlikuje 17%, od haplogrupe 7 se razlikuje 16,4%, od haplogrupe 8 se razlikuje 18,4%, od haplogrupe 9 se razlikuje 19,7%, dok od haplogrupe 10 se razlikuje 23,9%. Haplogrupa 3 od haplogrupe 4 se razlikuje 1,5%, od haplogrupe 5 se razlikuje 1,8%, od haplogrupe 6 se razlikuje 17%, od haplogrupe 7 se razlikuje 16,4%, od haplogrupe 8 se razlikuje 18,4%, od haplogrupe 9 se razlikuje 19,6%, dok od haplogrupe 10 se razlikuje 23,8%. Haplogrupa 4 od haplogrupe 5 se razlikuje 2,9%, od



haplogrupe 6 se razlikuje 17,4%, od haplogrupe 7 se razlikuje 16,8%, od haplogrupe 8 se razlikuje 18,1%, od haplogrupe 9 se razlikuje 19,3%, dok od haplogrupe 10 se razlikuje 23,5%. Haplogrupa 5 od haplogrupe 6 se razlikuje 17,2%, od haplogrupe 7 se razlikuje 16,7%, od haplogrupe 7 se razlikuje 16,7%, od haplogrupe 8 se razlikuje 18,4%, od haplogrupe 9 se razlikuje 19,6%, te od haplogrupe 10 se razlikuje 23,2%. Haplogrupa 6 od haplogrupe 7 se razlikuje 0,9%, od haplogrupe 8 se razlikuje 19,4%, od haplogrupe 9 se razlikuje 20,7%, te od haplogrupe 10 se razlikuje 24,3%. Haplogrupa 7 od haplogrupe 8 se razlikuje 19,1%, od haplogrupe 9 se razlikuje 20,4%, te od haplogrupe 10 se razlikuje 24%. Haplogrupa 8 od haplogrupe 9 se razlikuje 0,9%, a od haplogrupe 10 se razlikuje 23,1%. Haplogrupa 9 od haplogrupe 10 se razlikuje 24,4% (Slika 39).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. ANT031														
2. ANT032	0.009													
3. ANT041	0.009	0.000												
4. ANT049	0.009	0.000	0.000											
5. ANT050	0.009	0.000	0.000	0.000										
6. ANT033	0.199	0.187	0.187	0.187	0.187									
7. ANT038	0.197	0.184	0.184	0.184	0.184	0.002								
8. ANT034	0.196	0.184	0.184	0.184	0.184	0.004	0.002							
9. ANT037	0.193	0.181	0.181	0.181	0.181	0.015	0.013	0.015						
10. ANT036	0.196	0.184	0.184	0.184	0.184	0.018	0.020	0.018	0.029					
11. ANT039	0.204	0.191	0.191	0.191	0.191	0.167	0.164	0.164	0.168	0.167				
12. ANT040	0.204	0.191	0.191	0.191	0.191	0.167	0.164	0.164	0.168	0.167	0.000			
13. ANT042	0.207	0.194	0.194	0.194	0.194	0.173	0.170	0.170	0.174	0.172	0.009	0.009		
14. ANT035	0.244	0.231	0.231	0.231	0.231	0.236	0.239	0.238	0.235	0.232	0.240	0.240	0.243	

**Slika 39.** Genetička udaljenost između haplogrupa koje su uzorkovane na plohi VI, prikazana je pomoću matrice udaljenosti koristeći se Tamura – Nei (TN93) + I modelom. Haplogrupi 1 pripada sekvenca ANT033. Haplogrupi 2 pripada sekvenca ANT038. Haplogrupi 3 pripada sekvenca ANT034. Haplogrupi 4 pripada sekvenca ANT037. Haplogrupi 5 pripada sekvenca ANT036. Haplogrupi 6 pripada sekvenca ANT042. Haplogrupi 7 pripadaju sekvence ANT039 i ANT040. Haplogrupi 8 pripadaju sekvence ANT041, ANT032, ANT049 i ANT050. Haplogrupi 9 pripada sekvenca ANT031. Haplogrupi 10 pripada sekvenca ANT035.

## 5. Rasprava

U ovom istraživanju zabilježeno je 14 vrsta mrava na području Zadra i sjeverne Dalmacije. Ovo je prvo istraživanje mrava u mediteranskim poljoprivrednim kulturama Hrvatske, te općenito drugo istraživanje mrava u poljoprivredi, u Hrvatskoj (Ješovnik i sur. 2019).

Od ukupnog broja vrsta zabilježenih unutar ovog istraživanja, prevladavaju vrste koje naseljavaju otvorena, suha i topla staništa, te rubove šuma (*Tapinoma erraticum*, *Camponotus piceus*, *Formica cunicularia*, *Lasius paralienus*, *Plagiolepis pygmaea*, *Aphaenogaster balcanica*, *Aphaenogaster picena*, *Crematogaster sordidula*, *Messor wasmanni*, *Pheidole pallidula*, *Solenopsis fugax*, *Tetramorium semilaeve*). Vrste koje su morfološki određene, te označene kao *Crematogaster scutellaris*, *Crematogaster sordidula*, *Plagiolepis pygmaea* i *Solenopsis fugax*, potvrđene su pomoću molekularnih analiza. Morfološki određene jedinke koje pripadaju rodu *Camponotus*, molekularnim analizama određene su kao *Camponotus piceus* i *Camponotus lateralis*. Prema morfološkom određivanju, devet jedinki uvršteno je u rod *Camponotus*, sa oznakom *Camponotus* sp. 1. Molekularne analize utvrdile da je riječ o vrsti *Camponotus piceus*. Pet jedinki, morfološki su određeni kao *Formica* sp. 1, a molekularne analize su utvrdile da je to zapravo vrsta *Formica cunicularia*. Jedinica označena kao *Formica* sp. 2 pripadala je vrsti *Aphaenogaster picena*. Vrsta *Pheidole pallidula*, prilikom morfoloških analiza, zbog oštećenosti jedinki zamijenjena je za *Cardiocondyla dalmatica* te za invazivnu vrstu *Pheidole megacephala*. Sve jedinke označene kao *Lasius* sp. 1. i *Formica cinerea* molekularno su određene i pripadaju vrsti *Lasius paralienus*. Morfološki određene jedinke *Temnothorax crassispinus*, *Tetramorium* sp. 1 i *Tetramorium* sp. 2 metodom DNA barkodiranja određene su kao *Tetramorium semilaeve*, dok *Tapinoma* sp. 1 pripada vrsti *Tapinoma erraticum*. Za razliku od ostalih vrsta, *Messor wasmanni* i *Aphaenogaster balcanica* nisu morfološki pregledane već su njihove sekvence izravno uključene u filogenetičke analize. Jedna jedinica morfološki nije bila određena no metodom DNA barkodiranja dobivena je vrsta *Crematogaster sordidula*. Nalazi vrsta *A. balcanica* i *A. picena* za Hrvatsku su vrlo rijetki. Sve vrste mrava unutar ovog istraživanja, predstavljene su radilicama, osim vrste *A. picena* za koju je pronađen krilati mužjak, što ukazuje da se uzorkovanje mrava na terenu vršilo u razdoblju rojenja te vrste.

Vrsta *Tapinoma erraticum* (Latreille, 1798) naseljava prirodna i poluprirodna staništa Europe, od Mediterana do južne Skandinavije, te dio azijskog kontinenta, od Irana do Kazakstana. Prvenstveno se pojavljuje na otvorenim staništima, poput livada i proplanaka. Grade gnijezda ispod kamena i oblikuju humke na površini tla, koristeći se biljnim ostacima, te česticama tla. Veličina radilica iznosi između 2 do 3, 5 cm (Slika 40). Tijelo im je u potpunosti crne boje (Lebas i sur. 2019). Vrsta *T. erraticum* pronađena je u okolici Zadra (Mayr 1855).



**Slika 40.** Radilica *Tapinoma erraticum* (Latreille, 1798)

(preuzeto iz baze „The Barcode of Life Data System (BOLD)“ projekta MEDITERATRI (HRZZ UIP 05 – 2017 – 1046)

*Camponotus lateralis* (Olivier, 1792) je vrsta rasprostranjena u području Mediterana i Kavkaza. Naseljava šumovita predjela koja pružaju dovoljno hlada i zaštitu od pregrijavanja kolonije. Šume hrasta crnike, *Quercus ilex* tipična su staništa ove vrste. Grade gnijezda ispod kamena i u šupljim granama drveća. Radilice se međusobno razlikuju po veličini od 3, 3 cm, pa sve do 7 cm. Mogu se prepoznati po crvenom obojenju na glavi i prsima, te crnom zatku (Slika 41) (Lebas i sur. 2019). Postoje literaturni zapisi o nalazima ove vrste u području sjeverne Dalmacije i okolice Zadra (Müller 1923).



**Slika 41.** Radilica *Camponotus lateralis* (Olivier, 1792)

(preuzeto iz baze „The Barcode of Life Data System (BOLD)“ projekta MEDITERATRI (HRZZ UIP 05 – 2017 – 1046)

Rasprostranjenost vrste *Camponotus piceus* (Leach, 1825) proteže se od Mediterana do Kavkaza, pa sve do središnjeg dijela Rusije. Topla, otvorena staništa, proplanci, livade i vapnenački brežuljci, dom su za ovu vrstu mrava. Grade gnijezda ispod kamena ili kopaju tunele u tlu. Radilice su veličinom jednake radilicama vrste *C. lateralis* (Slika 42) (Lebas i sur. 2019). *C. piceus* izbjegava sukobe s drugim vrstama mrava (Seifert 2007). Zapisi navedene vrste za okolicu Zadra nalaze se u radu Müller (1923).



**Slika 42.** Radilica *Camponotus piceus* (Leach, 1825)

Vrsta *Formica cunicularia* Latreille, 1798 (Slika 43) je rasprostranjena po cijelom europskom kontinentu, osim u Finskoj. Također se rasprostire Azijom, od Turske i Irana, pa sve do zapadnog dijela Sibira (Seifert i Schultz 2009). Naseljava otvorena, dobro osunčana staništa, poput livada, vapnenačkih i travnatih brežuljaka, morskih obala i pjeskovitog tla, te planinska predjela do 2 400 m nadmorske visine (Lebas i sur. 2019; Seifert i Schultz 2009). Grade gnijezda u tlu i ispod kamena, s malim humcima na površini, načinjenih od čestica tla (Lebas i sur. 2019). Pronađena je na nekoliko lokaliteta u sjevernoj Dalmaciji (Bračko 2006).



**Slika 43.** Radilica *Formica cunicularia* Latreille, 1798

Vrsta *Lasius paralienus* Seifert, 1992 je rasprostranjena u Europi, od Španjolske na zapadu i Ukrajine na istoku, te od južnih dijelova Švedske, sve do Italije i Grčke (Bernadou i sur. 2010). Najvjerojatnije, središte širenja te vrste prema ostalim dijelovima Europe, nalazi se na balkanskom poluotoku (Seifert 1992). *L. paralienus* nastanjuje topla i suha staništa, pašnjake i stepe (Seifert i Galkowski 2016). Grade gnijezda u tlu ili ispod kamena, bez vidljivih humaka iznad površine. Budući da je vrsta nedavno opisana, ne postoji dovoljno podataka o njejoj biologiji (Slika 44). Vrsta je pronađena u literaturnim zapisima za sjevernu Dalmaciju na otoku Pagu (Bračko 2006).



**Slika 44.** Radilica *Lasius paralienus* Seifert, 1992

Vrsta *Plagilepis pygmaea* (Latreille, 1798) (Slika 45) rasprostranjena je južnim dijelovima Europe i Bliskog istoka (Lebas i sur. 2019; Pashaei i sur. 2018; Sharaf i sur. 2011). Naseljava sušna područja s niskim raslinjem u kojima gradi gnijezda ispod kamena i šljunka. Prema istraživanju, *P. pygmaea* je domaćinska vrsta za dvije parazitske vrste, i to, *P. xene* Stärcke, 1936 i *P. grassei* Le Masne, 1956 (Trontti i sur. 2006). Literaturni zapisi ove vrste za okolicu Zadra i sjevernu Dalmaciju nalaze se u radovima Bračko (2006), Mayr (1855) i Müller (1923).



**Slika 45.** Radilica *Plagiolepis pygmaea* (Latreille, 1798)

Rasprostranjenost vrste *Aphaenogaster balcanica* (Emery, 1898) svedena je na svega nekoliko država: Italija, Slovenija, Hrvatska, Bosna i Hercegovina, Albanija, Grčka, Turska i Malta (stanje 29. studenog 2020. prema <https://www.antweb.org>). Nastanjuje otvorena, osunčana staništa, polja s niskim raslinjem i gradska područja. Najčešće gradi gnijezda ispod kamena, te kopaju tunele i komorice u tlu. Podaci o biologiji vrste su oskudni. *A. balcanica* pripada vrstama iz skupine *Aphaenogaster testaceopilosa*. Radilice su sjajno smeđe ili crne boje, te dosežu veličinu od 5 do 7 cm (Slika 46). Vrsta *A. balcanica* se spominje u radovima Mayr (1855) i Müller (1923) za područje sjeverne Dalmacije.



**Slika 46.** Radilica *Aphaenogaster balcanica* (Emery, 1898)

Izvor: ([https://www.antwiki.org/wiki/images/5/59/Aphaenogaster\\_balcanica\\_casent0179599\\_p\\_1\\_high.jpg](https://www.antwiki.org/wiki/images/5/59/Aphaenogaster_balcanica_casent0179599_p_1_high.jpg))

Vrsta *Aphaenogaster picena* Baron Urbani, 1971 je rasprostranjena u Italiji, Sloveniji, Hrvatskoj i Albaniji (Boer 2013). Postoji vrlo malo literaturnih zapisa o vrsti (Slika 47). Poput svih članova skupine *Aphaenogaster testaceopilosa*, nastanjuje otvorena polja s niskim raslinjem. Gradi gnijezda u tlu i ispod kamena. Jedini uzorak radilice *A. picena* za Hrvatsku, prikupljen je u Pakoštanima. Čuva se u muzeju „California Academy of Science“ u San Francisco, Kalifornija (stanje 30. studenog 2020. prema <https://www.antweb.org>).



**Slika 47.** Mužjak *Aphaenogaster picena* Baron Urbani, 1971

(preuzeto iz baze „The Barcode of Life Data System (BOLD)“ projekta MEDITERATRI (HRZZ UIP 05 – 2017 – 1046)

Vrsta *Crematogaster scutellaris* (Olivier, 1792) pretežito nastanjuje tople šume južnog dijela Europe i sjevera Afrike (Collingwood 1979). Pronađena je u različitim tipovima staništa, koja se gotovo uvijek nalaze u blizini šume ili u staništima s nekoliko izoliranih stabala. Grade gnijezda u drveću. Glava i leđna strana prsnog dijela tijela su crvene boje, dok je ostatak tijela crne boje. Zadak radilica je u obliku srca i posjeduje žalac (Slika 48). U slučaju opasnosti zadak mogu podići iznad tijela, te upotrijebiti žalac na protivniku. Vrlo je agresivna vrsta (Lebas i sur. 2019). Ova vrsta je pronajđena u šumama oko Zadra i sjeverne Dalmacije (Mayr 1855).



**Slika 48.** Radilica *Crematogaster scutellaris* (Olivier, 1792)

Vrsta *Crematogaster sordidula* (Nylander, 1849) živi u osunčanim područjima južne Europe i Mediterana (Lebas i sur. 2019). Većina uzoraka, prikupljena je na otvorenim, travnatim i kamenitim staništima, te na rubovima šuma (Karaman 2011; Lebas i sur. 2019). Grade gnijezda u tlu, do dubine od 50 cm. Prepoznatljivi su po svijetlo smeđoj boji tijela, te zatkom u obliku srca (Slika 49). Vrsta *C. sordidula* nije agresivna (Lebas i sur. 2019). Pronađena je u širem području grada Zadra (Mayr 1855).



**Slika 49.** Radilica *Crematogaster sordidula* (Nylander, 1849)



Vrsta *Messor wasmanni* Krausse, 1910 je rasprostranjena na području Italije, Korzike, Balkanskog poluotoka i Turske (Bračko i sur. 2014). Naseljava otvorena, suha staništa, prvenstveno pašnjake. Grade gnijezda duboko u tlu. Lako su uočljiva (Slika 50). Do ulaza u gnijezdo vodi mreža stazica, koje stvaraju radilice prilikom potrage za sjemenkama i drugim biljnim materijalom (Traxler 2016). Karakteristično je to što radilice uklanjaju sav biljni materijal oko ulaza u njihovo gnijezdo (Lebas i sur. 2019). Zabilježena je na području Zadra i sjeverne Dalmacije (Müller 1923).



**Slika 50.** Radilica *Messor wasmanni* Krausse, 1910

Izvor:

([https://www.antwiki.org/wiki/images/2/21/Messor\\_wasmanni\\_casent0106293\\_p\\_1\\_high.jpg](https://www.antwiki.org/wiki/images/2/21/Messor_wasmanni_casent0106293_p_1_high.jpg))

*Pheidole pallidula* (Nylander, 1849) (Slika 51) je česta i dominantna vrsta duž Mediterana, koja naseljava različita staništa. Prvenstveno, toplija staništa poput kamenitih polja, vinograda, makije i šuma, te je moguće pronaći na zelenim, gradskim površinama i pločnicima. Grade gnijezda izravno u tlu, ispod kamena bilo koje veličine (Lebas i sur. 2019). Podaci o pronalasku ove vrste na lokalitetima u sjevernoj Dalmaciji, nalaze se u radovima Bračko (2006), Mayr (1855) i Müller (1923).



**Slika 51.** Radilica *Pheidole pallidula* (Nylander, 1849)



Vrsta *Solenopsis fugax* (Latreille, 1798) (Slika 52) je rasprostranjena diljem cijele Europe, sjeverozapadne Afrike, Male Azije i srednje Azije (Rigato i Toni 2011). Naseljava topla i suha staništa (Peral i sur. 2017). Gradi gnijezda ispod kamena ili izravno u tlu. Zbog njihove posebne prilagodbe, radilice ove vrste rijetko se mogu vidjeti na površini tla (Lebas i sur. 2019). *S. fugax* buši tunele do drugih mravinjaka, te na taj način ulazi i otima njihovo leglo, koje im služi kao hrana. Prilikom napada, koriste se otrovnim kemijskim spojem, neugodnog mirisa, pirolidinom (C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>N) kako bi odbili protivnike (Ruano i sur. 2005; Sozanski i sur. 2020). U literaturnim zapisima za sjevernu Dalmaciju i Zadarsku županiju, ova vrsta spominje se na nekoliko lokaliteta (Mayr 1855).



**Slika 52.** Radilica *Solenopsis fugax* (Latreille, 1798)

*Tetramorium semilaeve* André, 1883 (Slika 53) je vrlo agresivna mediteranska vrsta (Retana 1992). Naseljava topla staništa, suhe pašnjake i rubove šuma uz obalu mora. Gradi gnijezda ispod kamena ili izravno u tlu (Lebas i sur. 2019; Sanetra i Güsten 2001). Literaturni zapisi o pronalasku vrste *T. semilaeve* u sjevernoj Dalmaciji, nalaze se u Müller (1923).



**Slika 53.** Radilica *Tetramorium semilaeve* André, 1883

Tijekom istraživanja poljoprivrednih staništa u Zagrebu, Ješovnik i sur. (2019) pronašli su 12 vrsta mrava, od kojih su četiri (*Formica cunicularia*, *Tetramorium semilaeve*, *Solenopsis fugax*, *Tapinoma erraticum*) također uzorkovane unutar ovog rada. Za razliku od većine vrsta zabilježenih unutar ovog istraživanja, vrsta *Camponotus lateralis* je prilagođena šumskim staništima, dok *Crematogaster scutellaris* nastanjuje različite tipove staništa koja se nalaze u blizini šume ili u staništima sa svega nekoliko izoliranih stabala (Lebas i sur. 2019). Sigurno je najzanimljiviji, tek drugi pronalazak vrste *Aphaenogaster picena* za Hrvatsku. Dosad je uzorkovana na samo jednom lokalitetu u cijeloj Hrvatskoj, u Pakoštanima, nedaleko od Zadra. Taj uzorak radilice *A. picena* čuva se u muzeju „California Academy of Science“ u San Franciscu, Kalifornija (stanje 10. siječnja 2021 prema <https://www.antweb.org>). Vrsta je rasprostranjena u Albaniji, Sloveniji, Italiji i Hrvatskoj (Boer 2013). Zbog rijetkog pronalaska vrste *Aphaenogaster picena* na području Hrvatske, te nedostatka općih informacija o biologiji same vrste, potrebno je dodatno istražiti plohe s kojih je uzorkovan ovaj materijal kako bi se sakupili novi podaci o biologiji i ekologiji vrste te staništu na kojem dolazi.

U ovom istraživanju sam naveo faunu mrava uzorkovanu na pet ploha, i to: masliniku s ekološkom zaštitom bilja (ME), masliniku s integriranom zaštitom bilja (MI), vinogradu s ekološkom zaštitom bilja (VE), vinogradu s integriranom zaštitom bilja (VI) i kontrolnoj plohi (K). Alfa raznolikost je najviša na plohi MI (9 vrsta) i plohi ME (8 vrsta), gdje su mravi uzorkovani metodom lovnih zamki, te na plohi ME (7 vrsta), gdje su mravi uzorkovani metodom stresanja. Razlog velike alfa raznolikosti u maslinicima u odnosu na vinograde je vjerojatno veća sličnost između maslinika i kontrolne plohe, nego vinograda i kontrolne plohe. Na plohama maslinika nalaze se stabla s krošnjama, što je dosta sličnije staništu s garigom i makijom na plohi K.

Rezultati istraživanja utjecaja različitih postupaka gospodarenja vinogradima na zajednice mrava u Italiji, pokazali su kako vinogradi s ekološkom zaštitom bilja i vinogradi s integriranom zaštitom bilja sadržavaju sličnu raznolikost vrsta, ali njihova učestalost pojavljivanja na određenoj plohi se razlikovala. Vinogradi s ekološkom zaštitom bilja imali su puno veću brojnost jedinki i vrsta mrava nego vinogradi s integriranom zaštitom bilja. Čini se kako je uporaba pesticida imala veliki utjecaj na bioraznolikost mrava u vinogradima. Oni vinogradi, u kojima se nisu koristili pesticidi, imali su veću raznolikost vrsta po plohama, te veću

raznolikost vrsta među plohama, od vinograda u kojima su korišteni pesticidi (Masoni i sur. 2017). Istraživanje utjecaja ekološke i integrirane zaštite bilja na suzbijanje nametnika u agroekosustavima sjeverne Dalmacije na bioraznolikost mrava, pokazalo je da maslinik s ekološkom zaštitom bilja ima puno veću brojnost i raznolikost vrsta od maslinika s integriranom zaštitom bilja u kojem su korišteni sintetički pesticidi, što se slaže sa istraživanjem raznolikosti mrava u vinogradima kojeg su sproveli Masoni i sur. (2017).

Uzorkovanjem mrava pomoću metode stresanja, ostvarena je velika raznolikost vrsta između ploha maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI), koja iznosi 83%. Svaka od vrsta koje su sakupljene na jednoj od ovih ploha, nije sakupljena i na drugoj. To je razlog zbog čega je porasla raznolikost vrsta između ploha ME i VI. Sličan rezultat je vidljiv između ploha maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i kontrolne plohe (K). S tim da su dvije vrste, *Crematogaster scutellaris* i *Camponotus piceus* uzorkovane na obje navedene plohe. Ploha K je prirodno stanište bez gospodarenja u kojem nema uporabe pesticida. Na toj plohi zastupljena je vegetacija s nižim drvećem i grmovima.

Raznolikost vrsta između ploha maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) je visoka (75%), no i dalje nešto manja u odnosu na raznolikost vrsta između prethodno opisanih ploha. Razlog toga su vrlo mala uzorkovanja na plohi maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME), po jedna jedinka za šest vrsta, te po dvije jedinke za dvije vrste. Na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) su uzorkovane četiri vrste. Dvije vrste, *Crematogaster scutellaris* i *Camponotus piceus* su uzorkovane na obje plohe, kao što se to dogodilo između ploha ME i K. Iste vrste su uzorkovane i na plohama maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i kontrolne plohe (K). Raznolikost vrsta između ploha MI i K, te vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) i kontrolne plohe (K) iznosi 58%.

Na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) uzorkovane su četiri vrste, dok su tri vrste mrava uzorkovane na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI). Raznolikost između te dvije zajednice iznosi 42%. Vrste *Formica cunicularia* i *Lasius paralienus* uzorkovane su unutar obje plohe. U pravilu, što je manja raznolikost između zajednica, to je veća vjerojatnost uzorkovanja pojedine vrste, te tako sličnost vrsta među plohama je veća.

U ovom istraživanju, na plohi vinograda s ekološkom zaštitom bilja (VE) metodom stresanja nije uzorkovana niti jedna vrsta, zbog čega je ploha VE izostavljena iz analiza raznolikosti.

Korištenjem Tullgrenovih lijevaka uzorkovana je po jedna vrsta mrava na plohama maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI), maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i kontrolne plohe (K), te po dvije vrste na plohama vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) i vinograda s ekološkom zaštitom bilja (VE). Shannonov indeks raznolikosti u određenoj zajednici je manji, kada se u njoj nalazi visoki stupanj dominacije pojedine vrste. Suprotno tome,  $H'$  je veći kada se povećava broj vrsta unutar određene zajednice. To je razlog zašto raznolikost vrsta unutar plohe vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) je manja nego raznolikost vrsta unutar vinograda s ekološkom zaštitom bilja (VE). Raznolikost na plohama maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI), maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) i kontrolne plohe (K) je jednaka nuli ( $H' = 0$ ), što znači da nema raznolikosti jer na tim plohama postoji samo jedno stanje (vrsta).

Velika raznolikost mrava između ploha maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME) uzorkovanih metodom stresanja, te vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI) i vinograda s ekološkom zaštitom bilja (VE) uzorkovanih korištenjem Tullgrenovih lijevaka, djeluje iznenađujuće. Razlog toga je vjerojatno manja količina uzorkovanog materijala.

Vrste *Crematogaster scutellaris* i *Formica cunicularia* uzorkovane su jedino metodom stresanja. *C. scutellaris* je vrsta koja se može pronaći na različitim staništima ukoliko se u blizini nalaze stabla, najčešće u blizini šuma (Lebas i sur. 2019). Prisutna je u staništima s visokom vegetacijom. Očekivano, najveći broj jedinki vrste *C. scutellaris* uzorkovan je na kontrolnoj plohi (K). Ploha K je prirodno stanište, obraslo makijom i garigom, dok su ostale vrste očigledno bolje prilagođene antropogenim staništima. Vrsta *F. cunicularia* uzorkovana je metodom stresanja na plohama maslinika s integriranom zaštitom bilja (MI) i vinograda s integriranom zaštitom bilja (VI), što upućuje kako je i ova vrsta dobro prilagođena na antropogena staništa. Među dominantne vrste na navedenoj kontrolnoj plohi, ubraja se vrsta *Camponotus piceus*, koja je također uzorkovana na plohi MI. Vjerojatno je riječ o prilagodbi vrste na staništa s vapnenačkim površinama. Na plohi K, metodom stresanja uzorkovane su dvije vrste, *Camponotus lateralis* i *Crematogaster sordidula*, koje nisu uzorkovane na poljoprivrednim

staništima. *C. sordidula* je prilagođena različitim tipovima staništa, te naseljava staništa uz rubove šuma (Karaman 2011; Lebas i sur. 2019). Vrsta *Camponotus lateralis* je karakteristična za šumska predjela, no pronađena je i na stablima maslina u Turskoj (Kiran i Aktaç 1996; Lebas i sur. 2019). U vinogradima je uzorkovano puno manje vrsta. Niti jedna vrsta nije pronađena na plohi VE, dok su tri vrste pronađene na plohi VI. Na toj plohi, dominantna vrsta je *Lasius paralienus*. Također je uzorkovana na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja. Nastanjuje topla i suha staništa, a gnijezda gradi u tlu ili ispod kamena (Seifert 1992; Seifert i Galkowski 2016). Vrsta *L. paralienus* je prikupljena iz uzoraka tla korištenjem Tullgrenovih lijevaka na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja, što potvrđuje prilagodbu ove vrste na antropogena staništa.

Jedina vrsta koja je uzorkovana pomoću Tullgrenovih lijevaka, a nije metodom stresanja je *Solenopsis fugax*. Korištenjem Tullgrenovih lijevaka uzorkovano je 16 jedinki ove vrste na plohi vinograda s integriranom zaštitom bilja i jedna jedinka na plohi vinograda s ekološkom zaštitom bilja, te 52 jedinke na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja koje su uzorkovane metodom lovnih posuda. Prisutnost *S. fugax* na ovim ploham označava dobru prilagodbu vrste na mediteranske poljoprivredne ekosustave vinograda i maslina, gdje se koriste pesticidi u integriranoj poljoprivredi.

Metodom lovnih zamki uzorkovana je vrsta *Messor wasmanni*. Nije pronađena na ploham gdje su mravi uzorkovani metodama stresanja i Tullgrenovih lijevaka. To je dominantna vrsta na plohi MI (228 jedinki), te u malom broju prisutna je na plohi ME (13 jedinki). Dominantna vrsta na plohi ME je *Pheidole pallidula* i svojta *Aphaenogaster* sp. Vrsta *P. pallidula* uzorkovana je na plohi maslinika s ekološkom zaštitom bilja (682 jedinke), ali nije na plohi maslinika s integriranom zaštitom bilja. Veliki broj jedinki, njih 368 svojte *Aphaenogaster* sp. uzorkovano je na plohi ME, te samo jedna jedinka na plohi MI. Obje karike su dobro prilagođene životu u antropogenim staništima. *P. pallidula* je vrsta koju se često može pronaći u vinogradima, staništima obrasla makijom i šumama (Lebas i sur. 2019). Sve vrste roda *Aphaenogaster* nastanjuju polja s niskim raslinjem i gradska područja (Lebas i sur. 2019). Maslinik s ekološkom zaštitom bilja se nalazi pod utjecajem čovjeka i pesticida u manjoj mjeri nego li maslinik s integriranom zaštitom bilja, što je možda razlog zbog čega su ove dvije

skupine mrava učestalije na plohi ME. Isto vrijedi za najdominantniju skupinu na plohi maslinika s ekološkom zaštitom bilja uzorkovanu metodom lovnih posuda, *Tetramorium* sp.

Rezultati istraživanja pokazuju da metodom stresanja uzorkovane su sličnije vrste između maslinika i kontrolne plohe, nego između vinograda i kontrolne plohe. Na plohama MI i ME nalaze se stabla maslina s krošnjama, što je sličnije staništu na kontrolnoj plohi. Ploha K je prirodno stanište bez gospodarenja, gdje se nalaze degradacijski stadiji šuma, garig i makija.

Vinogradi imaju specifično stanište, stoga je zabilježeno manje vrsta. U takvom staništu dominira fauna mrava koja se više drži tla i ne naseljava lisnati dio vinove loze. Vrste poput *Crematogaster scutellaris* i *Camponotus lateralis*, čije su prilagodbe usko vezane za krošnje stabala, nisu bile zastupljene u vinogradima.

Istraživanje je odrađeno u sklopu projekta „Mediterrani” čiji je glavni cilj uzorkovanje i potom barkodiranje beskralješnjaka koji su potencijalni plijen u ishrani predatorskih člankonožaca, te je između ostalog izdvojena i fauna mrava na području Zadarske županije i sjeverne Dalmacije. Korišteno je više standardiziranih metoda kako bi se uzorkovala što veća raznolikost faune beskralješnjaka. Ne postoji jedna najbolja metoda za uzorkovanje faune mrava. Potrebno je koristiti različite metode, a time i veći napor kako bi se prikupilo što više jedinki i dobio potpun popis raznolikosti mrava na nekom području. Međutim, za brzu procjenu faune mrava unutar nekog područja, najbolje je koristiti nekoliko standardiziranih metoda lova i manje napora na uzorkovanje, što bi omogućilo usporedbu različitih tipova staništa, te postavilo osnovu za dugoročna istraživanja (Agosti i Alonso 2000).

Molekularno filogenetičkim analizama izrađena su dva filogenetska stabla mrava. Za rekonstrukciju stabla pomoću metoda najveće vjerojatnosti i najveće štedljivosti, korištene su 142 sekvence. Sekvenca obične ose, *Vespula vulgaris* (Linnaeus, 1758) korištena je za ukorjenjivanje stabala. Stabla su pokazala sličnu topologiju i jednake srodstvene odnose između istraživanih svojti mrava. Evolucijska udaljenost i srodstveni odnosi mrava na stablima su izraženi duljinom grana. Što je grana dulja to je više vremena prošlo od odvajanja od zajedničkog pretka. Međusobno srodnije vrste su one vrste čija udaljenost grana je manja, a srodstveno udaljenije su vrste čija udaljenost grana je veća. Primjerice, za vrste *Crematogaster scutellaris* i *Crematogaster sordidula*, kao i za sve svojte unutar ovog istraživanja, njihove eksperimentalno dobivene sekvence, te sekvence preuzete iz NCBI baze podataka, jasno

prikazuju blisku srodnost između istraživanih svojiti na filogenetskim stablima (Slike 15 i 16). Sekvence ANT002, ANT048, ANT019, ANT053 i ANT001 koje su dobivene eksperimentalnom obradom unutar ovog istraživanja, te sekvenca ANT060 preuzeta iz NCBI baze podataka, pripadaju vrsti *Crematogaster scutellaris*. Udaljenost grana ovih sekvenci na filogenetskom stablu ukazuje na njihovu blisku srodnost, te da potječu od jednog zajedničkog pretka. Sekvence ANT059 (*Crematogaster tricolor*), ANT055 (*Crematogaster maina*) i ANT057 (*Crematogaster maina*) čine drugu skupinu blisko srodnu prethodno navedenoj skupini s kojom potječu od jednog zajedničkog pretka. Eksperimentalno dobivene sekvence ANT013, ANT044 i sekvenca ANT061 preuzeta iz NCBI baze podataka predstavljaju vrstu *Crematogaster sordidula*, koja zajedno sa sekvencama ANT056 (*Crematogaster nigropilosa*), ANT058 (*Crematogaster teranishii*) i ANT054 (*Crematogaster carinata*) čine jednu srodnu skupinu na filogenetskim stablima. Na taj isti način, sve sekvence na filogenetskim stablima koje pripadaju vrstama roda *Crematogaster* čine jednu srodnu skupinu. Ostale sekvence mrava koje pripadaju rodovima *Pheidole*, *Solenopsis*, *Tetramorium*, *Temnothorax*, *Messor* i *Aphaenogaster*, te zajedno s rodom *Crematogaster*, na stablima, sukladno sistematici ubrajaju se u potporodicu Myrmicinae i tako čine jednu veliku monofiletsku skupinu. Na isti se način mogu tumačiti evolucijski i srodstveni odnosi ostalih sekvenci mrava na filogenetskim stablima unutar potporodica Formicinae i Dolichoderinae.

U ovom istraživanju, unutar 53 sekvence i 14 različitih vrsta mrava, utvrđena je 41 haplogrupa. Uočena je velika razlika u broju haplogrupa između vrsta. Primjerice, utvrđena je po jedna haplogrupa za sedam različitih vrsta mrava: *Aphaenogaster balcanica*, *Aphaenogaster picena*, *Camponotus lateralis*, *Solenopsis fugax*, *Tapinoma erraticum*, *Crematogaster sordidula* i *Messor wasmanni*, dok je najveći broj haplogrupa (osam) utvrđen za vrstu *Formica cunicularia*. Različiti broj haplogrupa je vjerojatno nastao zbog nasumičnog sakupljanja jedinki prilikom terenskog istraživanja, te odvajanja određenih jedinki prema morfotipovima u laboratoriju, u svrhu priprema za filogenetičke analize. Vrste kod kojih je pronađeno više haplogrupa ukazuju na nakupljanje velikog broja mutacija unutar jedinki iste svojite.

## 6. Zaključak

U skladu s postavljenim ciljevima istraživanja, na temelju dobivenih rezultata, utvrđeno je sljedeće:

- Među sakupljenim jedinkama utvrđeno je 14 različitih vrsta mrava, te 41 haplogrupa.
- Najveća brojnost mrava (2 021 jedinka) utvrđena je za pluhu maslinika s ekološkom zaštitom bilja (ME), ukazujući na maslinike kao pogodno stanište za raznovrsnu faunu mrava u odnosu na ostale plohe.
- U masliniku s ekološkom zaštitom bilja zabilježena je veća raznolikost vrsta nego u masliniku s integriranom zaštitom bilja, stoga bi se mogući utjecaj različitih načina gospodarenja na bioraznolikost mrava u maslinicima mogao detaljnije istražiti usporedbom zajednica mrava na većem broju ploha.
- Metodom stresanja zabilježena je veća sličnost vrsta između maslinika i kontrolne plohe, nego između vinograda i kontrolne plohe, što se može objasniti sličnijom strukturom prisutne vegetacije na tim plohama s obzirom da je na kontrolnoj plohi zastupljena vegetacija s nižim drvećem i grmovima.
- Vrste *Crematogaster scutellaris* i *Camponotus lateralis* prilagođene su staništima u kojima se nalaze stabla s krošnjama, zbog čega su očekivano pronađene u maslinicima, ali nisu u vinogradima.
- Metode lova su utjecale na sastav i brojnost vrsta na plohamu. Metoda stresanja se pokazala prikladnijom za uzorkovanje faune koja nastanjuje drvenaste i grmolike biljke s većom krošnjom, ali nije bila učinkovita za uzorkovanje faune mrava u trsovima vinograda.
- Zbog brze procjene faune mrava nekog područja, najbolje je koristiti nekoliko standardiziranih metoda lova i manje napora na uzorkovanje, kako bi se dobila usporedba različitih tipova staništa i tako postavila osnova za dugoročna istraživanja.



## 7. Literatura

- Adams R. M., Mueller U. G., Holloway A. K., Green A. M., Narozniak J. (2000): Garden sharing and garden stealing in fungus – growing ants. *Naturwissenschaften*, 87 (11), 491 – 493.
- Agosti D., Alonso L. E. (2000): The ALL protocol. *Ants: standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. Smithsonian Institution Press, Washington DC, 204 – 206 str.
- Bernadou A., Galkowski C., Le Goff A., Fourcassie V., Espadaler X. (2010): First record of *Lasius paralienus* Seifert 1992 (Hymenoptera: Formicidae) from France and Andorra. *Myrmecological News*, 13, 111 – 113.
- Boer P. (2013): Revision of the European ants of the *Aphaenogaster testaceopilosa* – group (Hymenoptera: Formicidae). *Tijdschrift voor entomologie*, 156 (1), 57 – 93.
- Borowiec L. (2014): Catalogue of ants of Europe, the Mediterranean Basin and adjacent regions (Hymenoptera: Formicidae). *Genus*, 25(1/2), 1-340.
- Borowiec L., Salata S. (2012): Ants of Greece – checklist, comments and new faunistic data (Hymenoptera: Formicidae). *Genus*, 23 (4), 461 – 563.
- Bračko G. (2006): Review of the ant fauna (Hymenoptera: Formicidae) of Croatia. *Acta entomologica slovenica*, 14, 2.
- Bračko G., Wagner H. C., Schulz A., Gioahin E., Matičić J., Tratnik A. (2014): New investigation and a revised checklist of the ants (Hymenoptera: Formicidae) of the Republic of Macedonia. *North – Western Journal of Zoology*, 10 (1).
- Casquet J., Thebaud C., Gillespie R. G. (2012): Chelex without boiling, a rapid and easy technique to obtain stable amplifiable DNA from small amounts of ethanol – stored spider. *Molecular Ecology Resources*, 12 (1), 136 – 141.
- Ceradá X., Retana J., Cros S. (1998): Critical thermal limits in Mediterranean ant species: trade – off between mortality risk and foraging performance. *Functional Ecology*, 12 (1), 45 – 55.
- Collingwood C. A. (1979): *The Formicidae (Hymenoptera) of Fennoscandia and Denmark*. Scandinavian Science Press.

- Comstock J. H., Needham J. G. (1899): The wings of insects. *The American Naturalist*, 33 (395), 845 – 860.
- Cooper G. M., Hausman R. E. (2004): *The cell: Molecular approach*. Medicinska naklada. 89 – 101 str.
- Costa F. O., Antunes P. M. (2012): The contribution of the Barcode of Life initiative of the discovery and monitoring of Biodiversity. In *Natural resources, sustainability and humanity*. Springer, Dordrecht, 37 – 68 str.
- Ćosić J. (2014): DNA barkodiranje kao metoda u taksonomskoj identifikaciji biljnih i životinjskih vrsta. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu. Prirodoslovno – matematički fakultet. Biološki odsjek.
- Dayrat B. (2003): The roots of phylogeny: how did Haeckel build his trees? *Systematic Biology*, 52 (4), 515 – 527.
- Dolezal A., Brent C. (2009): General dissection of female ant reproductive system and brain. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2009 (7), 5244.
- Dowell K. (2008): *Molecular Phylogenetics: An introduction to computational methods and tools for analyzing evolutionary relationships*. *Molecular Phylogenetics* 1 – 19.
- Dunn C. W., Giribet G., Edgecombe G. D., Hejnol A. (2014): Animal phylogeny and its evolutionary implications. *Annual review of ecology, evolution and systematics*, 45, 371 – 395.
- Durbešić P., Stanić Koštroman S., Šerić Jelaska L., Bruvo Mađarić B. (2018): *Entomologija – znanost o kukcima*. Sveučilišni udžbenik, Sveučilište u Mostaru, BiH, str. 276.
- Fent K., Wehner R. (1985): Ocelli: a celestial compass in the desert ant *cataglyphis*. *Science*, 228 (4696): 192 – 4.
- Fisher B. L., Bolton B. (2016): *Ants of Africa and Madagascar: A Guide to the Genera*. University of California Press, 512 str.
- Follet P. A., Bruin J., Desneux N. (2020): Insects in agroecosystems – an introduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 168 (1), 3 – 6.

- Folmer O., Black M., Hoeh, W., Lutz R., Vrijenhoek R. (1994): DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294 – 299.
- Giron D., Dubreuil G., Bennett A., Dedeine F., Dicke M., Dyer L. A., Erb M., Harris M. O., Huguet E., Kaloshian I., Lopez Vaamonde C., Palmer T. M., Petanidou T., Poulsen M., Sallé A., Simon J. C., Terblanche J. S., Thiéry D., Whiteman N. K., Woods H. A., Pincebourde S., Kawakita A. (2018): Promises and challenges in insect – plant interactions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 166 (5), 319 – 343.
- Gullan P. J., Cranston P. S. (2014): *The Insects: An Outline of Entomology*. John Wiley & Sons, 624 str.
- Habdija I., Primc Habdija B., Radanović I., Špoljar M., Matoničkin Kepčija R., Vujčić Karlo S., Miliša M., Ostojić A., Sertić Perić M. (2011): *Protista – Protozoa – Metazoa – Invertebrata*. ALFA d.d., Zagreb, 584 str.
- Hall B. G. (2013): Building phylogenetic trees from molecular data with MEGA. *Molecular biology and evolution*, 30 (5), 1229 – 1235.
- Haneda N. F., Marfuah N. T. (2014): Diversity of soil arthropods in Teak Forest Plantation Forests at Cepu, Blora, Central Java. *Jurnal Manajemen Hutan Tropika*, 19 (3), 169 – 177.
- Heatwole H., Muir R. (1989): Seasonal and daily activity of ants in the pre – Saharan steppe of Tunisia. *Journal of Arid Environments* 16, 49 – 67.
- Hebert P. D., Barrett R. D. (2005): Reply to the comment by L. Prendini on „Identifying spiders through DNA barcodes”. *Canadian Journal of Zoology*, 83 (3), 505 – 506.
- Hebert P. D., Gregory T. R. (2005): The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic biology* 54 (5), 852 – 859.
- Hevia V., Ortega J., Azcárate F. M., López C. A., González J. A. (2019): Exploring the effect of soil management intensity on taxonomic and functional diversity of ants in Mediterranean olive groves. *Agricultural and Forest Entomology*, 21 (1), 109 – 118.

- Hölldobler B., Wilson E. O. (2009): The superorganism: the beauty, elegance and strangeness of insect societies. WW Norton and Company.
- Jankielsohn A. (2018): The importance of insects in agricultural ecosystems. *Advances in Entomology*, 6 (2), 62 – 73.
- Ješovnik A., Blažević I., Lemić D., Pajač Živković I. (2019): Ant fauna of annual and perennial crops. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17 (6), 12708 – 12722.
- Ješovnik A., Bujan J., Bračko G. (2011): One genus and three species of ants (Hymenoptera: Formicidae) new for Croatia. *Entomologia Croatica*, 15 (1 – 4), 113 – 0.
- Johnson M., Zaretskaya I., Raytselis Y., Merezhuk Y., McGinnis S., Madden T. L. (2008): NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic acids research*, 36 (suppl\_2), W5 – W9.
- Karaman M. G. (2011): New data of the genus *Crematogaster* Lund, 1931 (Hymenoptera: Formicidae) in Crna Gora (Montenegro), Part II: Description of male of *Crematogaster auberti savinae* Zimmermann 1934. *Turkiye entomoloji dergisi – Turkish journal of entomology*, 35 (1), 3 – 18.
- Kereši T., Sekulić R., Popović A. (2017): Bolesti i štetočine u hortikulturu (dio – štetočine u hortikulturi). Sveučilište u Novom Sadu. Poljoprivredni fakultet. Novi sad.
- Kiran K., Aktaç N. (1996): The vertical distribution of the ant fauna (Hymenoptera: Formicidae) of the Samanlı Mountains, Turkey. *Forest*, 25, 10.
- Knežević Teofilović N. (2017): Imunostimulatorni i imunomodulatorni učinak derivata fenantridina. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu. Prirodoslovno – matematički fakultet. Kemijski odsjek.
- Kocijan K. (2016): Molekularno – filogenetička i filogeografska analiza vrsta *Ancylus fluviatilis* OF Müller, 1774 (Gastropoda: Planorbidae) u Hrvatskoj. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu. Prirodoslovno – matematički fakultet. Biološki odsjek.
- Kojić N. (2019): Stanje ekološkog vinogradarstva u Republici Hrvatskoj. *Glasnik Zaštite Bilja*, 42, (5), 5 – 12.

- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. (2018): MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35 (6), 1547 – 1549.
- Kutter H., Stumper R. (1969): Hermann Appel, ein leidgedelter entomologe (1892 – 1966). *Proceedings of the Sixth International Congress of the International Union for The Study of Social Insects, Bern*, 275 – 279 str.
- Lebas C., Galkowski C., Blatrix R., Wegnet P. (2019): *Ants of Britain and Europe*. Bloomsbury Publishing PLC, United Kingdom.
- Leigh J. W., Bryant, D. (2015): PopART: full – feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6 (9), 1110 – 1116.
- Marjanović H., Dubravac T., Indir K., Ivanković M. (2006): Kvantitativni pokazatelji strukture izabranih sastojina zajednice hrast lužnjaka s običnim grabom (*Carpino betuli* – *Quercetum roboris* Anić 1959 ex Rauš 1969). *Radovi*, 41 (1/2), 107 – 113.
- Masoni A., Frizzi F., Brühl C., Zocchi N., Palchetti E., Chelazzi G., Santini G. (2017): Management matters: A comparison of ant assemblages in organic and conventional vineyards. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 246, 175 – 183.
- Mayr G. (1855): *Formicina austriaca*. Beschreibung der bisher im österreichischen Kaiserstaate aufgefundenen Ameisen, nebst Hinzufügung jener in Deutschland, in der Schweiz und in Italien vorkommenden Arten. *Verhandlungen der Zoologisch - Botanischen Vereins in Wien*, 5: 273 - 478.
- McLaughlin A., Mineau P. (1995): The impact of agricultural practice on biodiversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 55 (3), 201 – 212.
- Moreno C. E., Halfpeter G. (2001): Spatial and temporal analysis of  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  diversities of bats in a fragmented landscape. *Biodiversity and Conservation*, 10 (3), 367 - 382.
- Moser J. C., Reeve J. D., Bento J. M. S., Della Lucia T. M., Cameron R. S., Heck N. M. (2004): Eye size and behaviour of day – and night – flying leafcutting ant alates. *Journal of Zoology*, 264 (1), 69 – 75.

- Müller G. (1923): Le formiche della Venezia Giulia e della Dalmazia. Bollettino della Società Adriatica di Scienze Naturali in Trieste, 28, 11 – 180.
- New T. (2009): Insect Species Conservation (Ecology, Biodiversity and Conservation). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511626876.
- Pashaei Rad S., Taylor B., Torabi R., Aram E., Abolfathi G., Afshari R., Borjali F., Ghatei M., Hediary F., Jazini F., Mahmoudi Z., Safariyan F., Seiri M., Heudary Kiah V. (2018): Further records of ants (Hymenoptera: Formicidae) from Iran. Zoology in the Middle East, 64 (2), 145 – 159.
- Peral G. T., Bálint M., Babik H., Tăușan I., Maák I. E., Pálfi Z., Ślipiński P., Csekes Z., Czeshowski W. (2016): Differential impact of two dominant *Formica* ant species (Hymenoptera: Formicidae) on subordinates in temperate Europe. Journal of Hymenoptera Research, 50, 97 – 116.
- Peral G. T., Rutkowski T., Wojtaszyn G., Espadaler X. (2017): *Myrmicinosporidium durum* in Poland: a new location for this fungal ant endoparasite and update world distribution. Acta Parasitologica, 62 (4), 875 – 879.
- Piljac I. (2006): Elektroforeza. Media Print, Zagreb.
- Powell S., Franks N. R. (2006): Ecology and the evolution of worker morphological diversity: a comparative analysis with *Eciton* army ants. Functional Ecology, 20 (6), 1105 – 1114.
- Rajević N. (2014): Identifikacija endosimbiotskih odnosa hidre i alge primjenom metoda molekularne filogenije. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu. Prirodoslovno – matematički fakultet. Biološki odsjek.
- Ravlić M., Baličević R. (2014): Biološka kontrola korova biljnim patogenima. Poljoprivreda, 20 (1), 34 – 40.
- Resasco J., Haddad N. M., Orrock J. L., Shoemaker D., Brudvig L. A., Damschen E. I., Tewksbury J. J., Levey D. J. (2014): Landscape corridors can increase invasion by an exotic species and reduce diversity of native species. Ecology, 95 (8), 2033 – 2039.

- Retana J., Cerdá X., Espadaler X. (1992): Coexistence of two sympatric ant species, *Pheidole pallidula* and *Tetramorium semilaeve* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomologia generalis*, 17 (1), 029 – 040.
- Richards O. W., Davies R. G. (1977): Hymenoptera. In Imms' General Textbook of Entomology, Springer, Dordrecht, 1175 – 1279 str.
- Rigato F., Toni I. (2011): Short notes 21. Hymenoptera, Formicidae. Research in the Framework of the ICP Forests network. *Conservazione Habitat Invertebrati*, 5, 873 – 882.
- Ruano F., Hefetz A., Lenoir A., Francke W., Tinaut A. (2005): Dufour's gland secretion as a repellent used during usurpation by the slave – maker ant *Rossomyrmex minucae*. *Journal of Insect Physiology*, 51 (10), 1158 – 1164.
- Sanetra M., Güsten R. (2001): The socially parasitic ant genus *Strongylognathus* Mayr in North Africa (Insecta: Hymenoptera: Formicidae). *Zootaxa*, 20 (1), 1 – 20.
- Schultz T. R. (2000): In search of ant ancestors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97 (26), 14028 – 14029.
- Seifert B. (1992): A taxonomic revision of the Palearctic members of the ant subgenus *Lasius* s. str. (Hymenoptera: Formicidae). *Abhandlungen und Berichte des Naturkundemuseums Görlitz* 66 (5): 1 – 67.
- Seifert B. (2018): The ants of Central and North Europe. Lutra Verlags und Vertriebsgesellschaft. Tauer, Germany.
- Seifert B., Galkowski C. (2016): The Westpalaeartic *Lasius paralienus* complex (Hymenoptera: Formicidae) contains three species. *Zootaxa*, 4132 (1), 44 – 58.
- Seifert B., Schultz R. (2009): A taxonomic revision of the *Formica rufibarbis* Fabricius, 1793 group (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 12, 255 – 272.
- Sepkoski Jr. J. J. (1988): Alpha, beta or gamma: where does all the diversity go? *Paleobiology*, 221 – 234.

- Sharaf M. R., Aldawood A. S., Taylor B. (2011): The formicine ant genus *Plagiolepis* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) in the Arabian Peninsula, with description of two new species. *Transactions of the American Entomological Society*, 137 (1 i 2), 203 – 215.
- Sozanski K., Prado L. P. D., Mularo A. J., Sadowski V. A., Jones T. H., Adams R. M. (2020): Venom Function of a New Species of *Megalomyrmex* Forel, 1885 (Hymenoptera: Formicidae). *Toxins*, 12 (11), 679.
- Steel M., Penny D. (2000): Parsimony, likelihood and the role of models in molecular phylogenetics. *Molecular biology and evolution*, 17 (6), 839 – 850.
- Šerić Jelaska L., Anđelić B., Jelić M., Kos T. (2019): MEDITERATRI project – assessing the trophic ecology of predatory arthropods in Mediterranean agriculture via DNA metabarcoding diet analyses. *ARPHA Conference Abstracts* (Vol. 2, p. e38865). Pensoft Publishers.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. (2011): MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*, 28 (10), 2731 – 2739.
- Tramer E. J. (1969): Bird species diversity: components of Shannon's formula. *Ecology*, 50 (5), 927 – 929.
- Traxler T. (2016): Native food spectrum, size – matching and foraging efficiency of the Mediterranean harvester ant *Messor wasmanni* (Hymenoptera: Formicidae). *Ecologica Montenegrina*, 7, 451 – 463.
- Trontti K., Aron S., Sundström L. (2006): The genetic population structure of the ant *Plagiolepis xene* – implications for genetic vulnerability of obligate social parasites. *Conservation Genetics*, 7 (2), 241 – 250.
- Unruh T. R. (1993): Biological control. *Orchard Pest Management Online*, Washington State University.
- Wheeler W. M. (1910.): *Ants; their structure, development and behavior*. The Columbia University Press, 663 str.



- Willot Q., Simonis P., Vigneron J. P., Aron S. (2016): Total Internal Reflection Accounts for the Bright Color of the Saharan Silver Ant. PLoS ONE 11 (4): e0152325.
- Wilson E. O., Carpenter F. M., Brown W. L. (1967): The first Mesozoic ants. Science, 157 (3792), 1038 – 1040.
- Xiong J. (2006): Essential bioinformatics. Cambridge University Press.
- Zainon W. N. W., Calder P. (2006): Visualising phylogenetic trees. Proceedings of the seventh Australasian User interface conference – Volume 50, 145 – 152 str.
- Znaor D., Karoglan Todorović S. (2016): Poljoprivreda koja štiti prirodu: zaštita prirode kroz mjere Programa ruralnog razvoja RH 2014. – 2020. Ministarstvo zaštite okoliša i prirode Republike Hrvatske i konzorcij u sastavu: Avalon Foundation, Nizozemska; ÖKL, Austrija i Ecologica, Hrvatska.

### **7. 1. Internetski izvori**

- AntWeb. Version 8.42. California Academy of Science, online at <https://www.antweb.org>. (pristupljeno 26. listopada 2020.)
- <https://www.antweb.org/page.do?name=world> (pristupljeno 26. listopada 2020.)
- [http://www.antwiki.org/wiki/Morphological\\_Terms](http://www.antwiki.org/wiki/Morphological_Terms) (pristupljeno 26. listopada 2020.)
- <https://en.wikipedia.org/wiki/Ant> (pristupljeno 26. listopada 2020.)

## 8. Životopis

Rođen sam 26. rujna 1996. godine u Mostaru, Bosna i Hercegovina. Nakon završene opće gimnazije fra Slavka Barbarića u Čitluku upisujem preddiplomski sveučilišni studij Biologije 2015. godine na Fakultetu prirodoslovno - matematičkih i odgojnih znanosti Sveučilišta u Mostaru. Nakon završetka preddiplomskog studija upisujem diplomski sveučilišni studij Eksperimentalne biologije, modul Zoologija na Prirodoslovno- matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Dobitnik sam Dekanove nagrade za izvannastavne aktivnosti 2017/2018. godine. Tijekom studija u Mostaru bio sam glavni i odgovorni urednik studentskog lista „Eureka“ 2017/2018. godine, a tijekom studija u Zagrebu član Udruge studenata biologije - BIUS, te voditelj sekcije za mrave – BIUS za 2019. godinu. Uz osnove rada na računalu, aktivno poznajem engleski jezik, te pasivno njemački jezik.