

Morfometrijske značajke riječnog raka (*Astacus astacus* (Linnaeus, 1758))

Livaić, Anja Eloise

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:890822>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-25**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno – matematički fakultet
Biološki odsjek

Anja Eloise Livačić

Morfometrijske značajke riječnog raka
(*Astacus astacus* (Linnaeus, 1758))

Diplomski rad

Zagreb, 2019.

Ovaj rad je izađen na Zoologijskom zavodu Prirodoslovno – matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom prof. dr. sc. Ivane Maguire. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno – matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra eksperimentalne biologije.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno – matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

Morfometrijske značajke riječnog raka (*Astacus astacus* (Linnaeus, 1758))

Anja Eloise Livić

Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb, Republika Hrvatska

Riječni rak (*Astacus astacus* L.) je jedna od četiri autohtone vrste slatkovodnih deseteronožnih rakova iz porodice *Astacidae* koja nastanjuje hrvatske rijeke i jezera. Osim domaćih voda, može ga se naći i u velikom dijelu Europe. Slatkovodni rakovi imaju ključnu ulogu u pravilnom funkcioniranju ekosustava i hranidbenih mreža te je stoga važno očuvati populacije diljem Europe koje su u ovom trenutku ugrožene zbog umjetne regulacije vodenih tokova, onečišćenja slatkih voda, unesenih stranih invazivnih vrsta te bolesti poput račje kuge. Poznato je da se organizmi na različite načine prilagođavaju specifičnim okolišnim uvjetima te da neke od tih adaptacija mogu utjecati i na samu morfologiju populacija. Cilj ovog istraživanja je pručiti morfološke karakteristike vrste te usporediti populacije sa različitim lokaliteta u Hrvatskoj. U svrhu ovog istraživanja skupljeno je 230 jedinki te su im izmjereni dijelovi tijela od interesa i potom su dobiveni podaci analizirani u statističkim programima metodama geometrijske morfometrije. Rezultati su pokazali da postoje vidljive razlike u morfometriji s obzirom na filogrupu, slijev i stanište kojoj jedinice pripadaju. Ovo je prvo istraživanje geomorfometrijskih značajki vrste *A. astacus* na području Hrvatske te će rezultati poslužiti u daljnjem istraživanju genetičkih, ekoloških, evolucijskih i taksonomskih obilježja vrste.

(47 stranica, 11 slika, 8 tablica, 57 literaturnih navoda, 1 prilog, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Ključne riječi: *Astacus*, *Astacidae*, geometrijska morfometrija, filogrupe

Voditelj: Dr. sc. Ivana Maguire, prof.

Ocjenitelji:

Dr. sc. Ivana Maguire, prof.

Dr. sc. Biljana Balen, prof.

Dr. sc. Mirta Tkalec, izv. prof.

Rad prihvaćen: 4. travnja 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Graduation Thesis

Morphometric characteristics of noble crayfish (*Astacus astacus* (Linnaeus, 1758))

Anja Eloise Livaić

Roosveltovo trg 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

Noble crayfish (*Astacus astacus* L.) is one of the four native species of freshwater crayfish from family Astacidae inhabiting Croatian freshwater ecosystems. Also, *A. astacus* inhabits big part of the Europe. Freshwater crayfish play a key role in the proper functioning of ecosystems and nutritional networks, and it is therefore important to preserve populations throughout the Europe that are vulnerable due to regulations of water flows, contamination of fresh water, alien invasive species and diseases such as crayfish plague. It is known that organisms adapt to specific environmental conditions in different ways and that some of these adaptations can also affect the population morphology itself. The aim of this thesis is to study morphological characteristics of species and to compare populations from different regions in Croatia. For the purpose of this study, 230 individuals were collected and parts of the body of interest were measured, and then the obtained data were analyzed in statistical programs by methods of geometric morphometry. The results showed that there is a visible difference in morphometry with respect to the filigrup, the basin and the habitat to which the individuals belong. This is the first study of *A. astacus* geometric morphometrics in Croatia and the results will serve in the further studies of genetic, ecological, evolutionary and taxonomic characteristics of the species.

(47 pages, 11 figures, 8 tables, 57 references, 1 appendices, original in: Croatian)

Thesis deposited in the Central Biological Library.

Key words: *Astacus*, Astacidae, geometric morphometry, phylogroups

Supervisor: Dr. Ivana Maguire, prof.

Reviewers:

Dr. Ivana Maguire, prof.

Dr. sc. Biljana Balen, prof.

Dr. sc. Mirta Tkalec, izv. prof.

Thesis accepted: April 4th, 2019.

Zahvale

Najveću zahvalu upućujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Ivani Maguire za svu pristupačnost i pružanje pomoći oko izrade ovog diplomskog rada te stručno vođenje i usmjeravanje.

Također, na velikoj pomoći i stručnim savjetima zahvaljujem i mag. biol. Leoni Lovrenčić.

Nadalje, od srca se zahvaljujem svim kolegama brucosiima koji su mi pomagali u praktičnom dijelu ovog diplomskog rada te dr. sc. Mišelu Jeliću na posudbi skenera.

Za kraj, posebno hvala mom dečku Davoru na svojoj podršci - i tehničkoj i emotivnoj, te bodrenju u ključnim trenucima.

Anja Eloise Livačić

Sadržaj

1. Uvod.....	7
1.1. Potkoljeno rakovi (Crustacea)	7
1.1.1. Morfološke značajke vrste <i>Astacus astacus</i>	10
1.1.2. Biologija vrste <i>Astacus astacus</i>	11
1.1.3. Filogenija vrste <i>Astacus astacus</i>	11
1.1.4. Ugroženost i zaštita vrste.....	13
1.2. Geometrijska morfometrija u znanstvenim istraživanjima	14
1.3. Dosadašnja morfometrijska istraživanja vrste <i>Astacus astacus</i> u Hrvatskoj	16
2. Cilj istraživanja	18
3. Materijali i metode	19
3.1. Područja uzorkovanja rakova unutar RH.....	19
3.2. Lov i uzorkovanje rakova.....	19
3.3. Određivanje vrste i spola rakova	19
3.4. Geometrijsko morfometrijska analiza rakova.....	19
3.4.1. Odabir specifičnih točki mjerenja na glavopršnjaku.....	21
3.4.2. Statistička obrada podataka dobivenih geometrijskom morfometrijom.....	22
4. Rezultati	<u>2425</u>
4.1. Generalizirana prokrustova analiza (GPA)	<u>2425</u>
4.2. Analiza oblika glavopršnjaka rakova	<u>2526</u>
5. Rasprava.....	<u>3537</u>
6. Zaključak.....	<u>3840</u>
7. Literatura.....	<u>3941</u>
8. Prilozi	<u>4649</u>
9. Životopis.....	<u>4751</u>

1. UVOD

1.1. Potkoljeno rakovi (Crustacea)

Crustacea su vrlo stara skupina organizama. Najstariji fosilni nalazi rakova su još iz doba kambrija (Martin i Davis, 2001) iako se u većem broju pojavljuju tek u karbonu. Broj opisanih vrsta rakova procjenjuje se na oko 52 000 (Land, 1996 i Monod i Laubier, 1996 prema Martin i Davis, 2001). Navedena činjenica smješta Crustacea uz kukce, mekušce i kještare u sam vrh po brojnosti vrsta u životinjskom svijetu (Martin i Davis, 2001).

Rakove karakterizira tagmatizacija tjelesnih kolutića kojom je došlo do specijaliziranja njihovog tijela u dvije funkcionalne cjeline: glavopršnjak (cefalopereon ili cefalotoraks) i zadak (pleon). Glavopršnjak je prekriven kožnim naborom ili korom (karapaks) te je kolutićavost prednjeg dijela tijela vidljiva samo prema rasporedu tjelesnih privjesaka. Privjesci su uvijek raspoređeni sljedećim redom: oči, antenula, antena, čeljusti, čeljusne nožice (maksilipediji) i noge hodalice (pereopodiji). Zadak nosi plivaće nožice (pleopodiji) te na zadnjem kolutiću (telzon) uropode koji čine repnu peraju. Većina unutrašnjih organa nalazi se samo u glavopršnjaku. Iznimka su živčana vrpca, leđna arterija i crijevo koji prolaze i kroz zadak. Škrge se nalaze uz bazu tjelesnih privjesaka u prsnom dijelu raka, a točan raspored varira od vrste do vrste (Felgenhauer, 1992).

Unutar potkoljena Crustacea nalazi se razred Malacostraca, a njemu pripada red Decapoda. Prema današnjim saznanjima opisano je više od 640 vrsta slatkovodnih deseteronožnih rakova koji pripadaju podredu Astacidea unutar reda Decapoda (Crandall i Buhay, 2008). Rakovi su poznati kao važna sastavnica biološke raznolikosti u rijekama, jezerima i močvarama s važnom ekološkom ulogom u funkcioniranju vodenih ekosustava (Holdich, 2002; Gherardi, 2011) te važnom ulogom u hranidbenim mrežama (Nyström i sur., 1996; Usio i Townsend 2004; Sint i sur., 2007; Zimmerman, 2012). Podred Astacoida dijeli se na tri porodice; Astacidae (Latreille, 1802), Cambaridae (Hobbs, 1942) i Parastacidae (Huxley, 1879) koje se međusobno razlikuju po morfološkim, biološkim i ekološkim značajkama (Holdich, 2002).

Porodica Astacidae prirodno je rasprostranjena na području Europe i Sjeverne Amerike, a na prostorima Europe je zastupljena s dva autohtona roda; *Astacus* (Fabricius, 1775) i *Austropotamobius* (Skorikov, 1907) (Maguire, 2010). Na području Europe obitava pet autohtonih vrsta rakova iz porodice Astacidae; *Astacus astacus* (Linnaeus, 1758) - riječni ili plemeniti rak, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) - uskoškari, turski ili barski rak, *Astacus pachypus* (Rathke, 1837), *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858) - bjelonogi ili primorski rak i *Austropotamobius torrentium* (Schrank, 1803) - potočni rak ili rak kamenjar. Vrsta *A. astacus* obitava u Europi od Francuske preko središnje Europe do Balkanskog poluotoka, na sjeveru do Skandinavije i zapadnih dijelova Rusije (Slika 1). Vrsta *A. leptodactylus* izvorno potječe iz ponto-kaspijskog bazena odakle se proširila, prirodno i ljudskim utjecajem, u većinu europskih zemalja, vrsta *A. pachypus* obitava oko Kaspijskog jezera te Crnog mora, dok je vrsta *A. torrentium* rasprostranjena na području srednje i jugoistočne Europe te vrsta *A. pallipes* naseljava zapadnu i južnu Europu, uključujući i Britansko otočje (Holdich i Lowery, 1988). Prema dosadašnjim istraživanjima, u Hrvatskoj su zabilježene četiri autohtone vrste iz dva roda; *A. astacus*, *A. leptodactylus*, *A. pallipes* i *A. torrentium* (Maguire i Gottstein-Matočec, 2004). Plemeniti rak autohtona je europska vrsta i smatra se najčešćom autohtonom vrstom u Europi. U Hrvatskoj je plemeniti rak rasprostranjen u vodama savskog i dravskog slijeva, a možemo ga pronaći i u pojedinim rijekama jadranskog slijeva gdje je unesen (Maguire, 2010).



Slika 1. Rasprostranjenost vrste *Astacus astacus* u Europi (preuzeto iz Holdich, 2002)

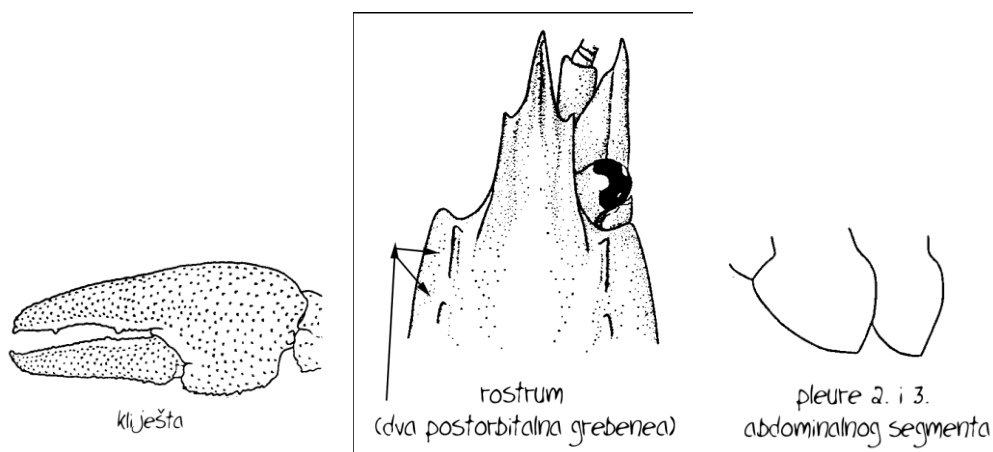
Sistematska pozicija roda *Astacus*:

Koljeno: ARTHROPODA – člankonošci
 Potkoljeno: CRUSTACEA – rakovi
 Razred: MALACOSTRACA – viši rakovi
 Podrazred: EUMALACOSTRACA
 Red: DECAPODA – deseteronošci
 Podred: ASTACOIDA
 Natporodica: ASTACOIDEA
 Porodica: CAMBARIDAE
Porodica: ASTACIDAE
Rod: *ASTACUS*
 Rod: *AUSTROPOTAMOBIVS*
 Natporodica: PARASTACOIDEA
 Porodica: PARASTACIDAE

U natporodicu Astacoidea spada porodica Astacidae (Latreille, 1802) kojoj pripada vrsta *Astacus astacus* (Linnaeus, 1758) na kojoj su rađena geometrijsko morfometrijska istraživanja u ovom diplomskom radu.

1.1.1. Morfološke značajke vrste *Astacus astacus*

Ukupna dužina (ukupna ili totalna dužina - od vrha rostruma do kraja telzona) vrste *Astacus astacus* najčešće ne prelazi 15 cm iako postoje zabilješke i o nešto dužim jedinkama. Boja tijela je s leđne strane najčešće tamnosmeđa, ali varijacije mogu biti od maslinastozelene, ponekad plavkaste ili crvenkaste do crne. Trbušna strana tijela je zeleno-smeđe boje. Karapaks ove vrste je gladak, bez trnova, s malim bradavičastim izbočenjima sa strane (Skurdal i Taugbøl, 2002). Nadalje, karakteristično je da vrh rostruma izražen i dug, rostralna rebra su položena paralelno ili trapezoidno te su glatka, rostralni trnovi su izraženi, a rostralna kresta je trnovita. Postoje dva para postorbitalnih grebena, međutim, drugi par je ponekad manje vidljiv. Hepatički trnovi kod ove vrste ne postoje, a trnovi iza cervikalne brazde su prisutni kao sitna izbočenja. Abdominalne pleure su zaobljenih rubova i bez trnova. Kliješta su velika i široka te granulirane površine. Udubljenje na unutrašnjem rubu nepokretnog prsta kliješta postoji i omeđeno je sa dva zuba, a kod regeneriranih kliješta izostaje (Füreder i Machino, 2002) (Slika 2).



Slika 2. Dijelovi tijela značajni za opis vrste *Astacus astacus* (preuzeto iz Maguire, 2010)

1.1.2. Biologija vrste *Astacus astacus*

Vrste roda *Astacus* imaju vrlo važnu ulogu kao potrošači u mnogim prehranbenim lancima. Vrsta *A. astacus* ili plemeniti rak pripada skupini pokretnog bentosa i sudjeluje u biološkom ciklusu vodene flore i faune kao predator, ali i kao plijen. Na taj način održava kvalitetu vode (Plummer i sur., 1986). Spolnu zrelost ova vrsta dostigne između treće i pete godine života, odnosno kad im dužina tijela dosegne 6 cm do 8,5 cm. Parenje se odvija u rujnu i listopadu. Juvenilni rakovi su dužine od 8,5 mm do 9 mm. Nakon drugog presvlačenja mladi rakovi započinju samostalan život (Rakovi, 2013). Mužjaci se pare svake godine dok ženke imaju razdoblja reproduktivne neaktivnosti. U periodu parenja jedinke su aktivnije pa je, iako su rakovi noćne životinje, zabilježena povećana aktivnost tijekom dana (Skurdal i Taugbøl, 2002). Jaja se razvijaju ovisno o temperaturi tako da će pri povišenim temperaturama inkubacija biti kraća (Maguire, 2010). U dobrim uvjetima nisu teritorijalni, određenu agresivnost pokazuju samo kada je prostor ograničavajući čimbenik. Staništa na kojima ih nalazimo su obalna područja čistih rijeka i jezera ilovastog i šljunkovitog dna gdje iskapaju jednostavna skloništa. Biraju staništa s puno mogućih zaklona među vodenom vegetacijom, kamenjem i sl. (Skurdal i Taugbøl, 2002). Temperaturni optimum za ovu vrstu je u rasponu od 16 °C do 24 °C. Niski udio kisika ne podnose, no za razliku od većine drugih vrsta toleriraju nešto niži udio kalcija. *A. astacus* su iznimno osjetljivi na visok udio nitrita u svome okolišu (Edsman i sur., 2013).

1.1.3. Filogenija vrste *Astacus astacus*

Sadašnji genom svake vrste posljedica je klimatskih, geomorfoloških i hidrografskih varijacija u prošlosti. Za vrijeme posljednjeg ledenog maksimuma slatkovodni rakovi su na Iberijskom, Apeninskom i Balkanskom poluotoku te u regiji Ponto - kaspijskog bazena preživjeli sve ledene cikluse. Smatra se da je plemeniti rak, *Astacus astacus*, vjerojatno preživio posljednju glacijaciju na Balkanskom poluotoku te se od tamo počeo širiti prema sjeveru i zapadu (Schrimpf i sur., 2014). Prve molekularno filogeografske studije plemenitog raka pokazale su da je raznolikost haplotipova temeljnih na analizi podjedinice I citokrom oksidaze u centralnoj Europi jako niska u usporedbi s visokom raznolikošću haplotipova u jugoistočnoj Europi

(Schrimpf i sur., 2014). Zamijećena je nejednaka distribucija haplotipova u centralnoj Europi te se smatra da to indicira na učestale translokacije rakova, ali i post-glacijalnu rekolonizaciju slatkovodnih sustava središnje i sjeverne Europe. Studija bazirana na populacijskoj genetici plemenitog raka koju su proveli Gross i suradnici 2013. godine pokazala je da je genetska raznolikost u slivu Baltičkog mora puno manja u usporedbi sa četiri referentne populacije iz južne Njemačke i Češke Republike (Schrimpf i sur., 2014).

Izumiranja plemenitog raka popraćena s efektom uskog grla na području sjeverne i centralne Europe dovele su do homogenizacije ove vrste na tom području. Suprotno tome, visoka raznolikost mitohondrijske i jezgrene DNA na području jugoistočne Europe ukazuju da je tu vruća točka genetske raznovrsnosti plemenitog raka. Pretpostavlja se da je do razvoja ovako visoke raznolikosti došlo tijekom nekoliko glacijalnih ciklusa kada su žarišta populacija plemenitog raka u jugoistočnoj Europi služila kao odvojeni glacijalni refugiji (Schrimpf i sur., 2014).

Populacije na zapadnom Balkanu imaju specifične haplotipove koji se razlikuju od svih ostalih. Smatra se da su Alpe sprječavale direktno širenje zapadno-balkanskih linija u centralnu Europu (Schrimpf i sur., 2014).

Osim utjecaja klimatskih varijacija, prilikom objašnjenja genetske strukture u obzir treba uzeti i paleohidrologiju i antropogeno uvjetovane translokacije između riječnih slivova. Takve umjetne translokacije mogu povećati lokalnu raznolikost riječnih rakova, ali uništavaju prirodnu genetičku strukturu vrsta, posebno u središnjoj Europi gdje je ovakav umjetan utjecaj puno jači nego u jugoistočnoj Europi. Također, translokacija je smanjila sveukupnu genetičku raznolikost plemenitog raka zato što su lokalni i endemički haplotipovi i aleli izgubljeni uslijed genetičkog drifta (Schrimpf i sur., 2014).

Takav ljudski utjecaj na raspršenje i distribuciju vrsta može jako zakomplicirati rekonstrukciju filogeografske povijesti vrste. Ovo je posebno slučaj s vrstama koje imaju ekonomski značaj i bile su podvrgnute translokaciji na velike udaljenosti zbog trgovine i/ili uzgoja u zatočeništvu. Visoka genetska raznolikost povećava šanse dugoročnog preživljavanja jer vrsti omogućava bolje prilagođavanje na promjene u okolišu u usporedbi sa vrstama manje genetske raznolikosti. U usporedbi s ostalim europskim vrstama slatkovodnih rakova (*Astacus leptodactylus*, *Austropotamobius*

torrentium, *A. pallipes*), plemeniti rakovi imaju izuzetno malu genetsku raznolikost. U Europi još uvijek nedostaje dobra strategija za konzervaciju vrste *A. astacus* (Schrimpf i sur., 2014).

1.1.4. Ugroženost i zaštita vrste

Danas su slatkovodne autohtone vrste rakova iznimno ugrožene umjetnom regulacijom vodenih tokova, velikom količinom otpadnih tvari u vodenim ekosustavima, unesenim stranim vrstama te bolestima poput račje kuge koju su sa sobom donijele invazivne vrste rakova (Maguire, 2010). Sva novija istraživanja na području Europe pokazuju značajan pad u broju i veličini populacija autohtonih slatkovodnih rakova. Prema Maguire i sur. (2011) populacija *A. astacus* u Republici Hrvatskoj pokazuje smanjenje za čak 36% u odnosu na ranije podatke. Antropogeni utjecaj na prirodu je značajan. Unošenje raznih štetnih tvari u okoliš (posredstvom industrije, poljoprivrede, prometa i sl.), građevinske intervencije u okolišu, smanjenje ili fragmentacija staništa i prekomjerni izlov pojedinih vrsta u konzumne svrhe za posljedicu imaju smanjenje populacija mnogih vrsta, a osobito onih uske ekološke niše (Taylor, 2002). *A. astacus* je izrazito cijenjen u gastronomiji te je često i nekontrolirano izlovljavan i ilegalno prodavan te iako je plemeniti rak pod zakonskom zaštitom, još uvijek u nekim dijelovima Hrvatske postoji ilegalan izlov (Maguire i sur., 2011). Račju kugu uzrokuje oomicet *Aphanomyces astaci* (Schikora, 1906) i dok su strane invazivne vrste otporne na bolest, autohtone od nje obolijevaju i u kratkom roku ugibaju (Fevolden i Hessen, 1989; Füreder i sur., 2006; Holdich, 2009; Papavlasopoulou i sur., 2014). Bolest se pojavila nakon što su krajem 19. stoljeća u Europu donesene autohtone vrste rakova koje su bile namijenjene za akvakulturu. Najčešće sjevernoameričke vrste prisutne u Europi su: *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852) iz porodice *Astacidae*, *Faxonius limosus* (Rafinesque, 1817), *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) iz porodice *Cambaridae*, te neke vrste roda *Cherax* koji autohtono pripada australskim staništima (Füreder i Machino, 2002; Maguire i Gottstein-Matočec, 2004). Međutim, kako su strane invazivne vrste izuzetno prilagodljive različitim staništima i imaju visoki fekunditet, osim što je bilo nemoguće držati pod kontrolom rast njihovih populacija i što su agresivnije u kompeticiji za hranu od domaćih vrsta, doprinijele su i širenju patogena. Patogen se brzo proširio po vodotokovima Europe izazivajući masovne pomore i nestanke populacija nativnih vrsta rakova (Maguire, 2010). Invazivne vrste je

zbog brzog rasta i razmnožavanja gotovo nemoguće kontrolirati (Souty-Grosset i sur., 2006).

Danas postoje farme koje se bave uzgojem plemenitih rakova u nekoliko Europskih država, posebno u centralnoj i sjevernoj Europi (Jussila i Mannonen, 2004; Paaver i Hurt, 2009). Uzgaja ih se za ishranu, kao zalihu za privatne ribnjake ili za programe obnove vrste. *A. astacus* zaštićena je na nacionalnoj razini Zakonom o zaštiti prirode (N.N. br. 80/13) te Pravilnikom o strogo zaštićenim vrstama (N.N. br.144/2013). Na globalnoj razini ova je vrsta navedena kao ranjiva na IUCN-ovoj listi ugroženih vrsta (International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources)(Edsman i sur., 2010), a u Europi se nalazi Dodatku III Konvencije o zaštiti europskih divljih vrsta i prirodnih staništa (Bernska konvencija) te Dodatku V Direktive o zaštiti prirodnih staništa i divlje faune i flore. Obzirom na njihovu ugroženost, potrebno je provoditi istraživanja različitih aspekata njihove biologije i ekologije kako bi se izradili adekvatni planovi upravljanja i programi zaštite.

1.2. Geometrijska morfometrija u znanstvenim istraživanjima

Analize oblika tijela imaju važnu ulogu u mnogim biološkim studijama. Različiti biološki procesi poput razvoja tumora, adaptacije na lokalne geografske uvjete, dugotrajne evolucijske promjene, ozljede i slično rezultiraju promjenama u obliku tijela između jedinki iste vrste. Takve promjene mogu predstavljati različite funkcionalne uloge, različite odgovore na iste selektivne pritiske, ali i razlike u procesima rasta i morfogeneze. Dosadašnja istraživanja morfološke varijabilnosti rakova vrste *A. astacus* bila su bazirana isključivo na upotrebi tradicionalne morfometrije. Detaljnom pretragom sekundarnih baza podataka (Web of Science) nije pronađeno niti jedno sveobuhvatno istraživanje većeg broja populacija plemenitog raka te niti jedan rad koji opisuje geometrijsko morfometrijske značajke vrste *A. astacus*. U ovom istraživanju korištene su analize geometrijsko morfometrijskih značajki različitim statističkim metodama kako bi se odredile one značajke koje doprinose diskriminaciji istraživanih populacija plemenitih rakova.

Metode geometrijske morfometrije (GM) omogućavaju analize oblika i veličine morfološke cjeline kombinacijom univarijantnih i multivarijantnih statističkih metoda i metoda direktne grafičke vizualizacije varijabilnosti oblika (Adams i sur., 2004).

Za razliku od tradicionalne morfometrije kod koje se koriste mjere duljina, geometrijska morfometrija analizira položaj jasno definiranih specifičnih točaka mjerenja (eng. landmark i semilandmark), tj. njihove koordinate. Jedno od ograničenja tradicionalne morfometrije je to što ne daje informacije o geometrijskoj strukturi jedinke, dok geometrijska morfometrija pruža kvantifikaciju i vizualizaciju razlika u obliku bilo koje morfološke strukture, bila ona dvodimenzionalna ili trodimenzionalna (Adams i sur., 2013). Uz to, geometrijska morfometrija omogućava veliku statističku osjetljivost koja otkriva male promjene u obliku morfoloških cjelina (Klingenberg, 2002).

“Landmarks” (LM) su anatomske pozicije koje se mogu prepoznati kod svih jedinki koje su predmet istraživanja. U idealnim slučajevima one označavaju homologne anatomske pozicije koje pokrivaju čitavi oblik jedinke te leže unutar iste ravnine. “Semilandmarks” (SML) su točke kojima opisujemo oblik tijela i nalaze se između prethodno postavljenih landmarkova. Udaljenost između svakog SML je jednaka.

U geometrijskoj morfometriji veličinu mjerene morfološke cjeline predstavlja veličina centroida ili geometrijskog centra (engl. centroid size, CS) koja se definira kao mjera disperzije (raspršenja) specifičnih točaka od središta mjenog oblika, a izračunava se kao kvadratni korijen zbroja kvadratnih udaljenosti specifičnih točaka od središta konfiguracije (Bookstein, 1991). Vrijednost veličine centroida direktno zavisi o broju i rasporedu specifičnih točaka, zbog čega je potrebno odrediti veličine centroida izračunate na osnovu identičnog koordinatnog rasporeda specifičnih točaka. U GM, oblik morfološke cjeline definiran je kao sveukupnost geometrijske informacije koja ostaje nakon uklanjanja efekata veličine, položaja i orijentacije (Kendall, 1977; Dryden i Mardia, 1998; Klingenberg i Monteiro, 2005). Najčešće korištena procedura uklanjanja efekata veličine, položaja i orijentacije je generalizirana Prokrustova analiza (engl. general Procrustes analysis – GPA) (Rohlf i Slice, 1990; Dryden i Mardia, 1998, citirano iz Klingenberg, 2013; Rohlf, 1999). Osnovni postupci Prokrustove analize su skaliranje, translacija i rotacija konfiguracija specifičnih točaka čime se zadržavaju samo informacije koje su direktno vezane za razlike u obliku. Koordinate specifičnih točaka, koje se računaju Prokrustovom analizom predstavljaju Prokrustove koordinate.

One nose informacije o obliku određene konfiguracije (analizirane morfološke cjeline) i predstavljaju polazne podatke za daljnje multivarijatne analize varijabilnosti oblika (Dryden i Mardia, 1998, citirano iz Klingenberg, 2013).

Prokrustova udaljenost, kao linearna mjera udaljenosti između točaka, upotrebljava se u GM kao osnovna mjera razlika u obliku (Bookstein, 1991).

Nakon što se dobiju sve ključne mjere koriste se različite metode vizualizacije, a najčešće su TPS (eng. Thin Plate Spline) deformacijske mreže. Ova vizualizacija se zasniva na prikazu ploče koja se deformira ovisno o promjenama u morfologiji jedinke (Zelditch i sur., 2004).

1.3. Dosadašnja morfometrijska istraživanja vrste *Astacus astacus* u Hrvatskoj

Dosadašnja istraživanja vrste *A. astacus* bila su bazirana na tradicionalnoj morfometriji. Tradicionalna morfometrija se zasniva na podacima dobivenim mjerenjem različitih morfoloških cjelina i njihovoj statističkoj obradi. Pri mjerenju tradicionalnom morfometrijom u obzir se ne uzima geometrijska konfiguracija jedinke već samo mjere morfometrijskih varijabli (duljina, širina, visina, itd.) te mjere udaljenosti između jasno definiranih točaka određene morfološke cjeline (Holland, 2009). Pri analizama se koriste univarijantne i multivarijantne statističke metode, kao i kod geometrijske morfometrije.

Prethodnim istraživanjem vrste *Astacus astacus* na području Hrvatske se pokazalo da mužjaci postižu veću totalnu dužinu tijela nego ženke (Segin, 2017). Nadalje, utvrdilo se da nema značajnih razlika između lijeve i desne strane tijela, odnosno da su jedinke bilateralno simetrične. Kod većine mjerenih značajki potvrđeno postoji statistički značajna razlika između spolova i to je uzeto u obzir u istraživanju koje se bazira samo na tradicionalnoj morfometriji. Razlike između jedinki su bile najviše uočljive kod izmjerenih vrijednosti za širinu abdomena (ABW), dužinu kliješta (CLL), širinu kliješta (CLW), visinu kliješta (CLH), dužinu dlana kliješta (CPL) i dužinu pomičnog prsta kliješta (CFL). Rezultati su pokazali da postoje statistički značajne razlike u mjerenim morfometrijskim značajkama između populacija i kod mužjaka i ženki. Morfometrijske značajke koje najbolje odvajaju uspoređivane populacije su

širina kliješta (CLW), dužina telzona (TEL) i totalna dužina (TL) kod mužjaka te širina glave ispred cervikalne brazde (CGW), širina rostruma (ROW), duljina apeksa rostruma (APL), širina apeksa rostruma (APW), širina telzona (TEW), visina karapaksa (CPH), širina cefalotoraksa (CEW), dužina telzona (TEL) i širina glave (HEW) kod ženki (Segin, 2017). Također, pokazano je da su u Hrvatskoj populacije koje su smještene geografski bliže morfometrijski sličnije od onih koje su geografski udaljenije (Segin, 2017).

2. Cilj istraživanja

Plemeniti rakovi (*Astacus astacus*) iz porodice *Astacidae* su jedni od ključnih organizama slatkovodnih ekosustava. Svojim trofičkim aktivnostima te fizičkim promjenama staništa direktno utječu na samo stanište kao i na ostale slatkovodne organizme. Cilj ovog istraživanja bio je po prvi put istražiti geometrijsko morfometrijske značajke plemenitog raka iz slatkovodnih sustava sjeverne Hrvatske s naglaskom na raznolikost oblika glavopršnjaka te utvrditi razlikuju li se geografski udaljene populacije u mjerenim geometrijsko morfometrijskim parametrima. Isto tako cilj je izdvojiti one značajke koje najviše doprinose odvajanju (diskriminaciji) jedinki. S obzirom da su nedavna molekularno-filogenetska istraživanja utvrdila postojanje više odvojenih evolucijskih linija unutar vrste *A. astacus*, cilj ovog rada je bio i utvrditi preklapaju li se eventualno utvrđene razlike u morfometriji rakova, s rezultatima molekularno-filogenetskih istraživanja. Ovo je prvo takvo istraživanje vrste *Astacus astacus* i dobiveni podaci će poslužiti kao baza za daljnja istraživanja ove vrste u Hrvatskoj, ali i na europskoj razini.

3. Materijali i metode

3.1. Područja uzorkovanja rakova unutar RH

Vrste su uzorkovane na ukupno 16 lokaliteta koje pripadaju savskom, dravskom i dunavskom slivu. Područja savskog sliva na kojima su se lovili rakovi su: Ilova (Grubišno polje), Ilova (Veliki Zdenci), Peratovica, Breznica, Glogovica, Kikovac, Bijela, Sloboština, Kutjevačka rijeka, Veličanka, Jaruga i Otuča. Zatim, na području dravskog sliva su bili lokaliteti Totovec, Motičnjak i Bednja, a dunavskog Razbojište.

3.2. Lov i uzorkovanje rakova

Jedinke su lovljene u periodu od početka srpnja do kraja listopada 2018. godine pod vodstvom dr. sc. Ivane Maguire. Uzorkovanje je provedeno posebno konstruiranim vršama za lov rakova (Maguire, 2002) i rukama. Vrše s mamcem (hrenovke) su u vodotoke stavljane kasno poslijepodne te su u potoku ostajale do idućeg jutra, dok se rukama lovilo nakon zalaska sunca. Vrše su provjeravane drugo jutro. Nakon lova, jedinke rakova obrađene su i determinirane do vrste te potom puštene natrag u stanište, dok je dio jedinki stavljan u posebno označene posude te dopremljen u laboratorij za dodatne analize.

3.3. Određivanje vrste i spola rakova

Svi ulovljeni rakovi su pripadali ciljanoj vrsti *Astacus astacus* – plemeniti rak (ključevi za određivanje Astacidae, Füreder i Machino, 2002; Maguire, 2002). Spol plemenitih rakova se određivao po prisutnosti odnosno odsutnosti prvih parova začanih nogu (pleopoda). Ženke imaju reduciran prvi par pleopoda, a mušaci ih imaju preobražene u gonopode – organe za kopulaciju. Isto tako, mušjake možemo prepoznati po tome što im je spolni otvor smješten na petom paru pereopoda, dok je kod ženki spolni otvor u kukovima trećeg para pereopoda.

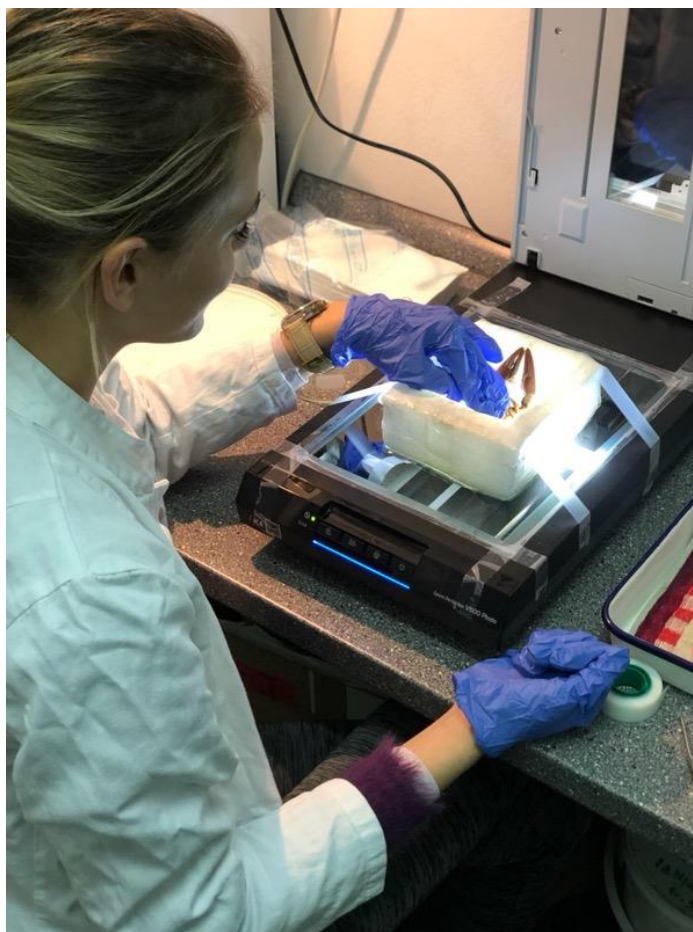
3.4. Geometrijsko morfometrijska analiza rakova

U svrhu analize geometrijskih morfometrijskih značajki, analizirane su jedinke iz odabranih populacija s petnaest lokaliteta koji su prethodno u tekstu navedeni.

Prikupljene jedinke su pripadale u četiri zasebne genetske linije na temelju raznolikosti mitohondrijske i jezgrene DNA te je to uzeto u obzir pri analizama, kao i pripadnost slivu, odnosno tipu staništa (jezero/rijeka). Jedinke su analizirane neovisno o spolu, budući da učinak seksualnog dimorfizma na GM značajke u istraživanju Scalicia i sur. (2010) vrste *A. pallipes* nije utvrđen.

Svaka jedinka je uronjena dorzalno u vodu u posebno konstruirani „bazen“ napravljen od stiropora i prozirne plastične folije. „Bazen“ s uronjenom jedinkom bio je položen i učvršćen ljepljivom trakom na skeneru Epson Perfection V600 Photo, pomoću kojeg su sve jedinke skenirane te su slike pohranjene u najvećoj rezoluciji od 2400 dpi (Slika 3).

GM metode primijenjene su za detaljnu analizu varijabilnosti veličine i oblika glavopršnjaka jedinki s fokusom na oblike apeksa rostruma te sam rostrum. Za analizu geometrijske morfometrije korišten je programski paket TPS (James Rohlf) i MorphoJ (Klingenberg, 2011).



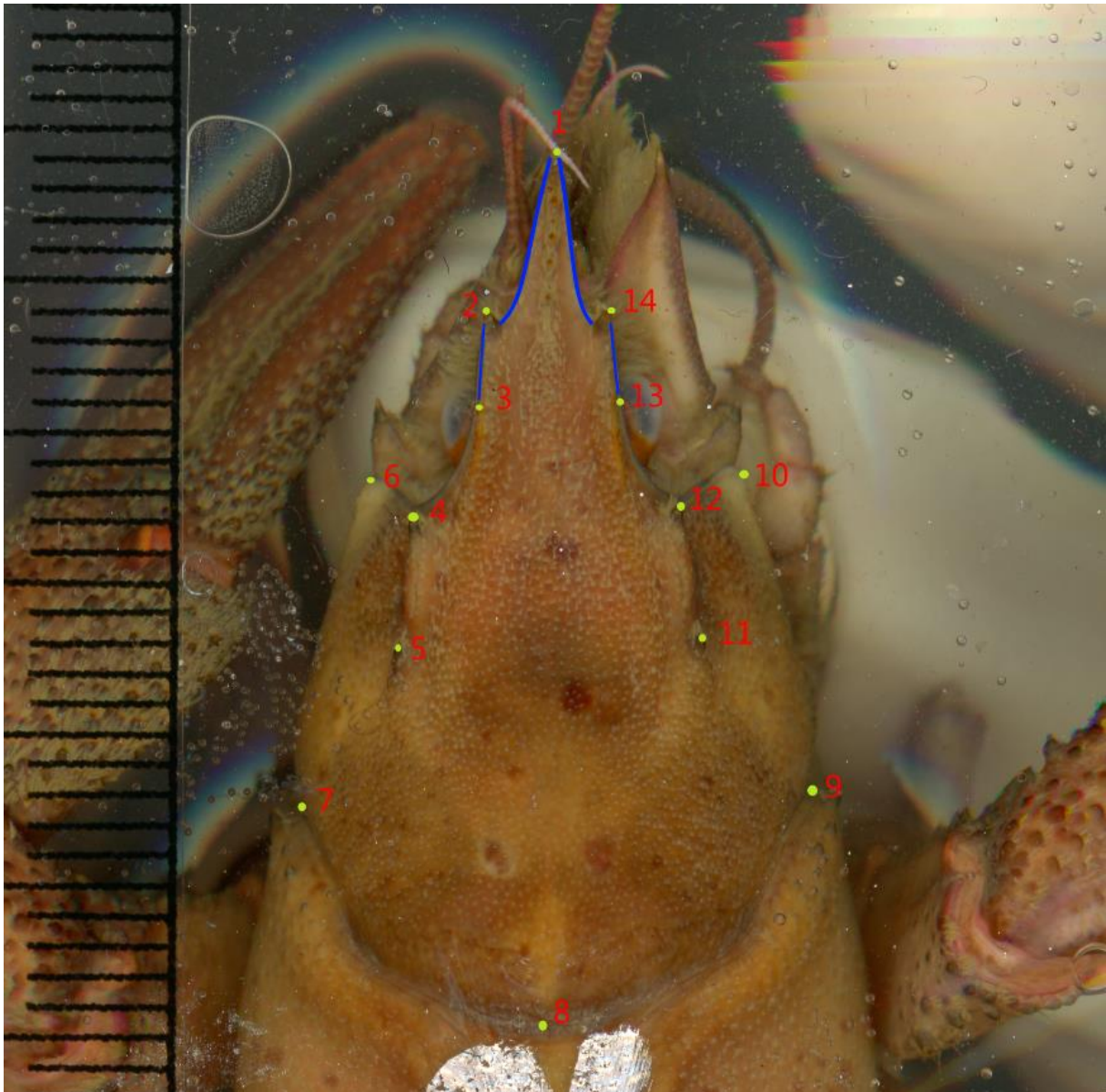
Slika 3. Bazen konstruiran od stiropora s uronjenom jedinkom tijekom skeniranja

3.4.1. Odabir specifičnih točki mjerenja na glavopršnjaku

Na svakom raku su određene ukupno 34 ravnomjerno raspoređene dvodimenzionalne specifične točke mjerenja (engl. landmark, dalje u tekstu LM i semilandmark, dalje u tekstu SLM) pomoću računalnog programa TpsDig 2 (Tablica 1, Slika 4). Postavljanje karakterističnih točaka rađeno je uvijek istim redoslijedom - prvo LM, a potom SML. Također, pazilo se da je udaljenost između SML uvijek jednaka te je njihov broj između dva LM je bio pet.

Tablica 1. Opis karakterističnih točaka LM i SML glavopršnjaka korištenih u geometrijsko morfometrijskim analizama.

Karakteristične točke, LM	Opis karakterističnih točaka, LM
1	Apeks rostruma
2, 14	Vrh rostralnog trna
3, 13	Rostralno rebro na prijelazu prema očnoj šupljini
	Prvi par postorbitalnih trnova
4, 12	Drugi par postorbitalnih trnova
5, 11	Lateralni rub karapaska
6, 10	Lateralni rub cervikalne brazde
7, 9	Posteriorni rub cervikalne brazde
8	
Karakteristične točke, SML	Opis karakterističnih točaka, SML
15 – 24, 25 - 34	Apeks rostruma – vrh rostralnog trna



Slika 4. Prikaz položaja LM (crvena boja) i SML (plava boja) na jedinki *Astacus astacus* za određivanje morfološke varijabilnosti glavopršnjaka (izrađeno u TpsDig2)

3.4.2. Statistička obrada podataka dobivenih geometrijskom morfometrijom

Nakon obilježavanja karakterističnih točaka mjerenja, pristupljeno je statističkoj obradi podataka u statističkom programu MorphoJ (Klingenberg, 2011). Za mjeru veličine uzeta je veličina centroida kao varijabla veličine. Nakon računanja centroidne veličine, jedinke su bile podvrgnute generaliziranoj Prokrustovoj analizi (GPA) kojom se uklanja varijabilnost nastala kao posljedica pozicioniranja, orijentacije i skaliranja

(Rohfl i Slice, 1990). Dobivene Prokrustove koordinate predstavljanju varijable oblika. Varijabilnost u obliku između različito *a priori* grupiranih populacija riječnog raka je analizirana kanoničkom diskriminantnom analizom (engl. canonical variate analysis, CVA). Varijacija opisana kanoničkom analizom je grafički prikazana čime je bilo moguće vizualno utvrditi razdvajanje analiziranih grupa.

Kanonička diskriminantna analiza je provedena s jedinkama *a priori* grupiranim prema njihovoj pripadnosti u filogrupe (Tablica 2), odnosno slijev (Tablica 2) i tip staništa (Tablica 2).

Jedinke su smještene prema pripadnosti u 3 do sada opisane filogrupe *sensu* Schrimpf i sur., (2014) (L1, L2 i L4) te u jednu novu, dosada neopisanu filogrupu G1 (Tablica 2). Kada je CVA provedena s obzirom na slijev, jedinke su grupirane u tri slijeva (dravski, savski i dunavski) (Tablica 2.), a u slučaju staništa grupirane su u dvije skupine (stajaćice i tekućice)(Tablica 2).

Tablica 2. Popis istraživanih lokaliteta s kojih su analizirane jedinke *Astacus astacus* s pripadajućim slijevom, filogrupom, staništem i brojem analiziranih jedinki

LOKALITET	SLIJEV	FILOGRUPA	STANIŠTE	BROJ JEDINKI
Ilova (Grubišno polje)	savski	L4	tekućica	15
Ilova (Veliki Zdenci)	savski	L4	tekućica	1
Peratovica	savski	L4	tekućica	4
Breznica	savski	L4	tekućica	11
Glogovica	savski	L4	tekućica	27
Kikovac	savski	L4	stajaćica	19
Bijela	savski	L4	tekućica	6
Sloboština	savski	L4	stajaćica	19
Kutjevačka rijeka	savski	L4	tekućica	13
Veličanka	savski	L4	tekućica	28
Jaruga	savski	L2	tekućica	2
Otuča	savski	L2	tekućica	2
Totovec	dravski	G1	stajaćica	19
Motičnjak	dravski	L1/4	stajaćica	20
Bednja	dravski	L1	tekućica	26
Razbojište	dunavski	L4	stajaćica	18

Promjene oblika duž izdvojenih kanoničkih osi grafički su prikazane u vidu TPS deformacijskih mreža.

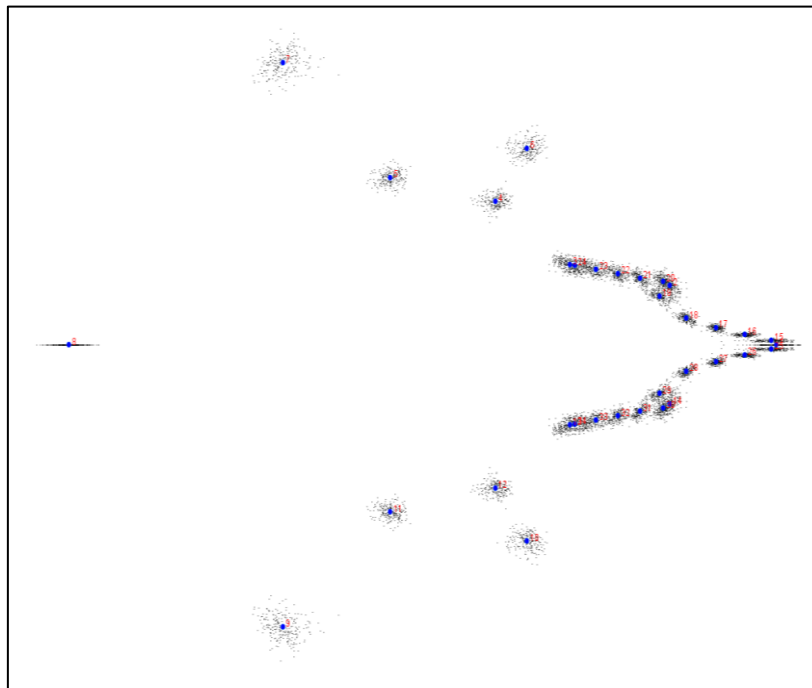
U svim statističkim analizama je korišten nivo značajnosti od 5% ($p < 0,05$).

4. Rezultati

Rezultati geometrijsko morfometrijske analize glavopršnjaka dobiveni su analizom 16 populacija rakova s prethodno navedenih lokaliteta dravskog, savskog i dunavskog slijeva.

4.1. Generalizirana Prokrustova analiza (GPA)

Analizirano je ukupno 230 glavopršnjaka riječnih rakova, od toga 147 jedinki iz savskog slijeva, 18 jedinki iz dunavskog slijeva i 65 jedinki iz dravskog slijeva (Tablica 2). Generaliziranom Prokrustovom analizom dobivene su varijable veličine i oblika glavopršnjaka, tj. za svaku analiziranu jedinku je izračunata veličina centroida (CS) kao varijabla veličine i Prokrustove koordinate kao izdvojene varijable oblika (Prilog 1). Položaj vrijednosti centroida i vrijednosti svih analiziranih jedinki u koordinatnom sustavu prikazan je na slici 5.



Slika 5. Prikaz centroida 34 karakteristične točke glavopršnjaka plemenitih rakova. Veće plave točke predstavljaju poziciju centroida, a manje točke koje se nalaze oko njih predstavljaju pojedinačne vrijednosti točaka za svaku analiziranu jedinku.

4.2. Analiza oblika glavopršnjaka rakova

Kanonička diskriminantna analiza

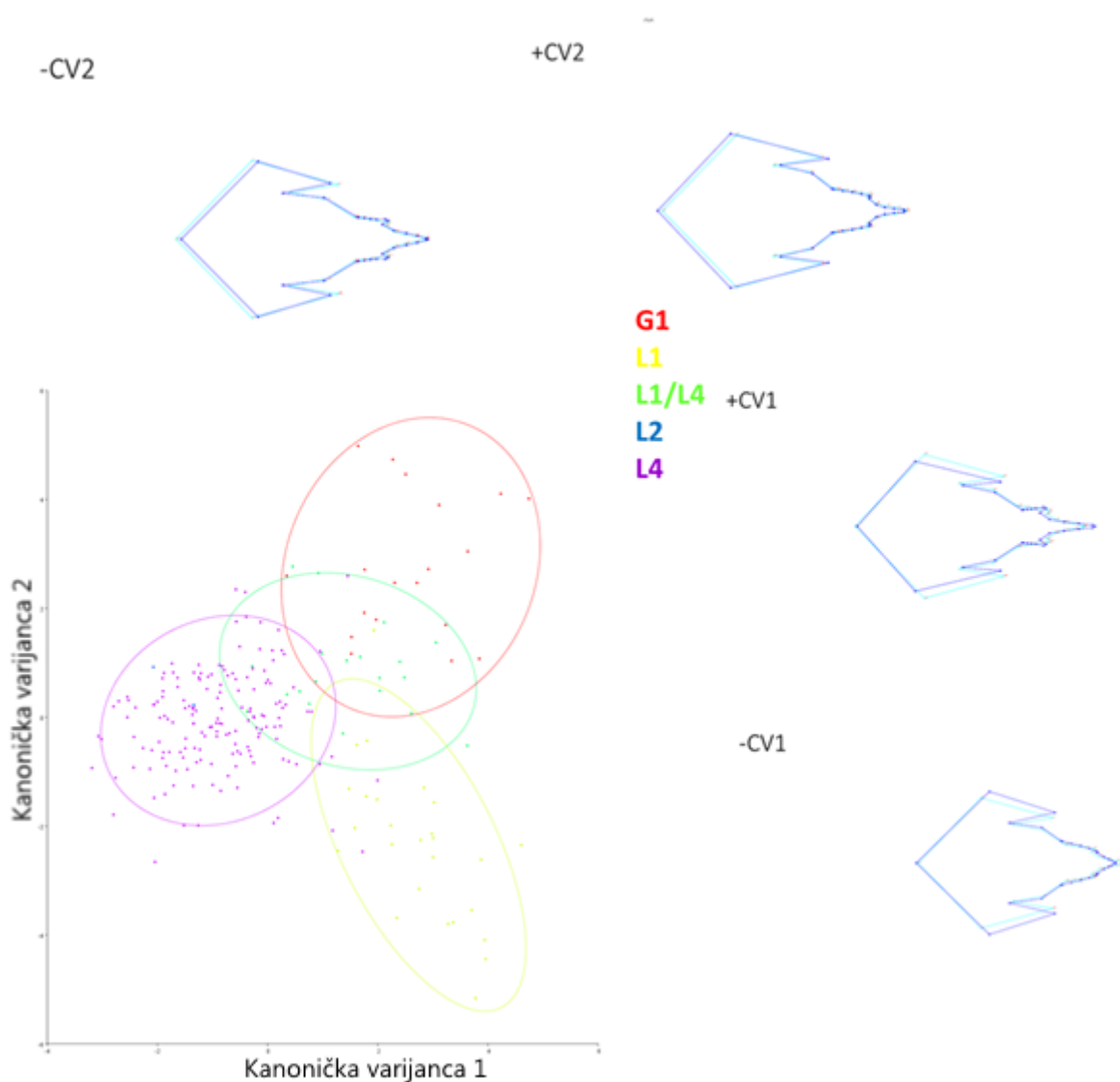
Za analizirane jedinke rakova grupirane prema pripadnosti u filogrupe prve dvije kanoničke diskriminantne funkcije (CV1 i CV2) najvećim dijelom definiraju položaj rakova u morfo prostoru. CV1 objašnjava varijabilnost od 48,52%, a CV2 objašnjava varijabilnost oblika u vrijednosti od 29,28 % (Tablica 3). Prva i druga kanonička funkcija većim dijelom razdvajaju filogrupe G1, L1, L2 i L4 iako kod svih pet filogrupa dolazi do djelomičnog preklapanja (Slika 6). Najviše preklapanja u morfo prostoru pokazuje filogrupa L1/L4, što je i za očekivati s obzirom da je populacija sastavljena od jedinki koje pripadaju u dvije filogrupe (L1 i L4).

Slike 6 i 7 prikazuju promjene oblika glavopršnjaka koje doprinose razdvajanju analiziranih filogrupa duž prve i druge kanoničke osi. Prikazane promjene predstavljaju maksimalne deformacije u pozitivnom i negativnom smjeru koje odgovaraju vrijednostima od +10,0 do -10,0 na prvoj i drugoj kanoničkoj osi. Najuočljivije deformacije koje u najvećoj mjeri doprinose razlikovanju oblika glavopršnjaka jedinki iz različitih filogrupa su prisutne u apikalnom dijelu glavopršnjaka, preciznije u području apeksa, bazi rostruma, širini lateralnog ruba karapaksa te širini lateralnog ruba cervikalne brazde. Gledajući pozitivni dio prve kanoničke osi (CV1) može se primijetiti da u usporedbi s ostalim filogrupama jedinke iz G1 karakterizira nešto duži apeks rostruma (LM 1), uži lateralni rub karapaksa (LM 6, 10) te uži lateralni rub cervikalne brazde (LM 7, 9) (Slika 6). Negativni dio prve kanoničke osi (CV1) dobro opisuje filogrupu L1 koja u usporedbi s ostalima ima kraći apeks rostruma (LM 1), uži lateralni rub karapaksa (LM 6, 10) te uži lateralni rub cervikalne brazde (LM 7, 9) (Slika 6). Pozitivni dio druge kanoničke osi opisuje duži posteriorni rub cervikalne brazde (LM 8) (Slika 6) i time možemo okarakterizirati filogrupe G1 i L1/4, dok negativni dio druge kanoničke osi opisuje kraći posteriorni rub cervikalne brazde (LM 8) (Slika 7) što najviše karakterizira rakove iz filogrupe L1, a obrnuto se može zaključiti za jedinke iz L4.

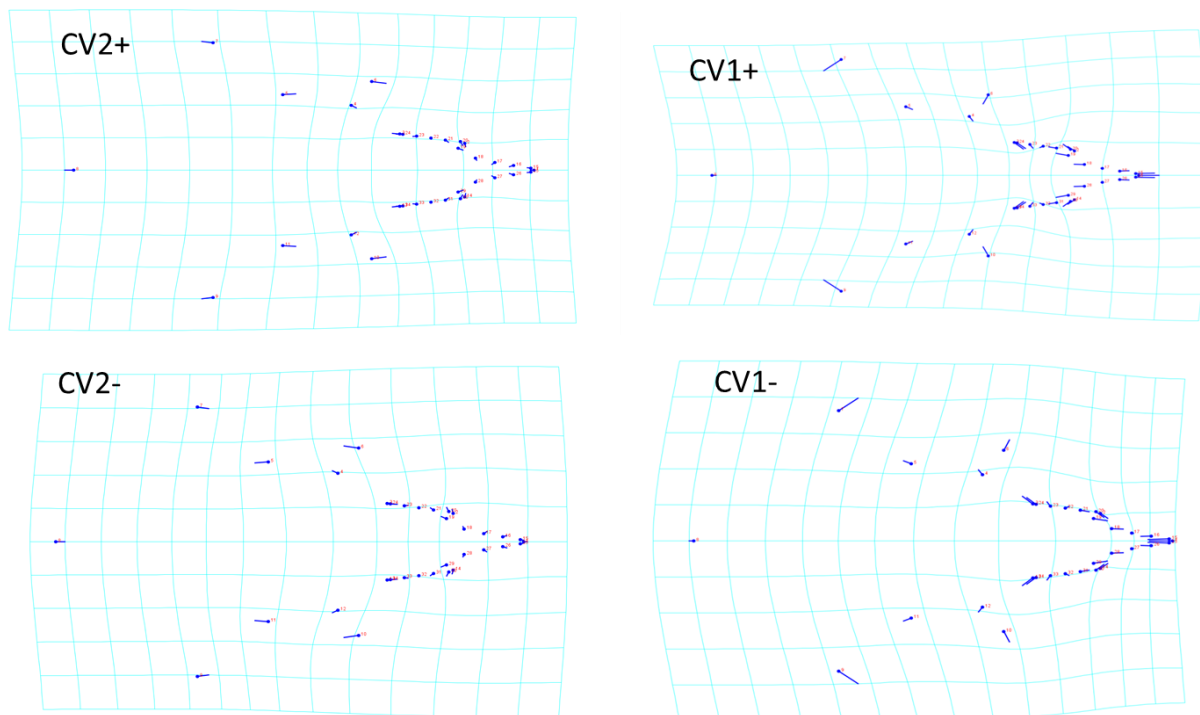
Sveukupno razdvajanje svih filogrupa po prvoj i drugoj funkciji te tendencije promjena glavopršnjaka prikazane su TPS deformacijskim mrežama (Slika 7).

Tablica 3. Svojstvene vrijednosti (engl. *eigenvalues*) i udio objašnjene varijance u diskriminantnoj analizi geometrijske morfometrije za linije (filogrupe).

Diskriminantna funkcija (KDF)	Svojstvene vrijednosti	%varijance	%kumulativno
1.	2,23	48,52	48,52
2.	1,35	29,28	77,80



Slika 6. Kanonički prikaz diskriminantne analize provedene za 34 homologne točke glavopršnjaka rakova analiziranih filogrupa za CV1 i CV2. Svijetlo plava boja označava hipotetsku konsenzus jedinku (prosječnu vrijednost svih oblika iz različitih sljevova), a tamno plava boja označava „najekstremniji“ oblik tj. odstupanja od konsenzus oblika.



Slika 7. Promjene oblika glavopršnjaka različitih filogrupa prikazane TPS deformacijskim mrežama. Promjene (plavi vektori) predstavljaju deformacije mreža koje odgovaraju prvim dvjema osima (CV1 i CV2) u pozitivnim (+) i negativnim (-) smjerovima.

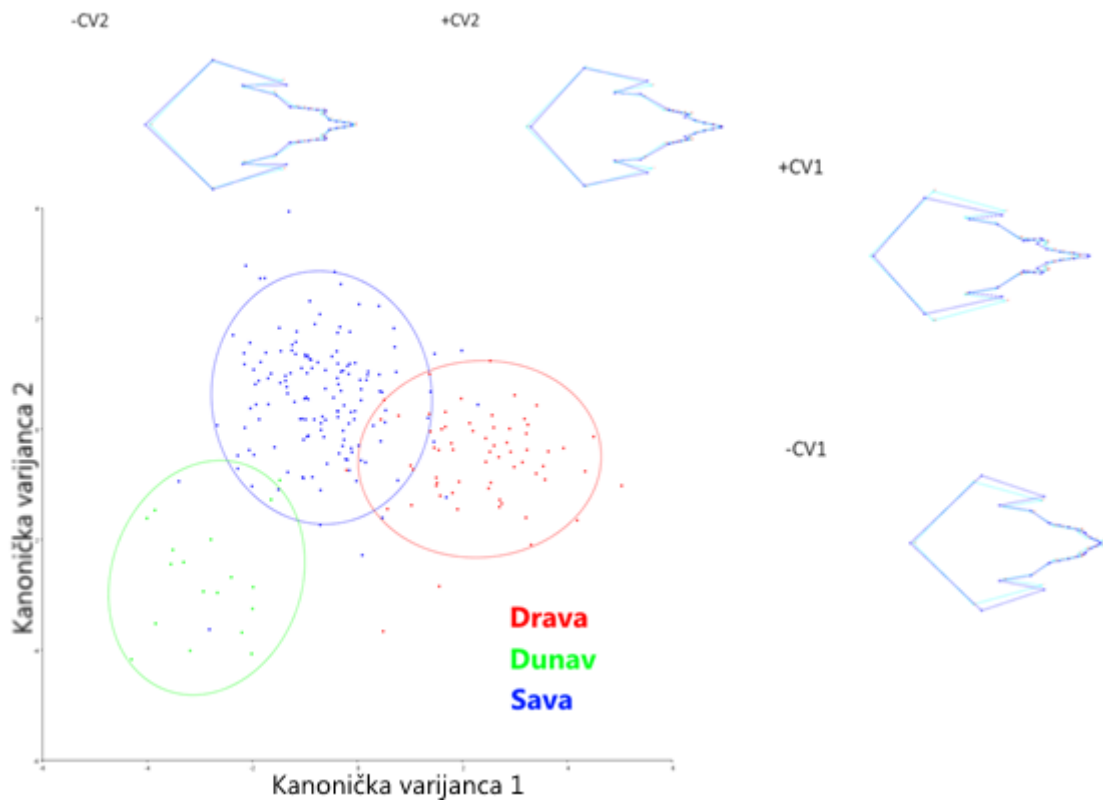
U jedinki grupiranih prema sljevovima, kanonička diskriminantna funkcija CV1, objašnjava varijabilnost od 74,25%, a CV2 objašnjava varijabilnost od 25,77% (Tablica 4, Slika 8).

Sveukupno razdvajanje svih sljevova po prvoj i drugoj funkciji te tendencije promjena glavopršnjaka prikazane su TPS deformacijskim mrežama (Slika 9). Grafički prikaz jedinki s obzirom na sljevove kojima pripadaju (savski, dravski ili dunavski) pokazuje da se u najvećoj mjeri razlikuju jedinke iz dravskog i dunavskog slijeva (Slika 8). Prva kanonička os (CV1) najbolje odvaja dravski od dunavskog slijeva i u svom pozitivnom dijelu opisuje jedinke sa dužim apeksom rostruma (LM 1), rostralnim rebrima (LM 3, 13) postavljenim više prema posteriornom dijelu tijela te užim lateralnim rubom karapaksa (LM 6, 10) i cervikalne brazde (LM 7, 9) (Slike 8 i 9). Ove značajke su najviše izražene kod rakova koji pripadaju dravskom slijevu. S druge strane, negativni dio prve kanoničke osi (CV1) opisuje jedinke sa puno kraćim apeksom rostruma (LM 1), slabije izraženim rostralnim rebrima na prijelazu prema očnoj šupljini

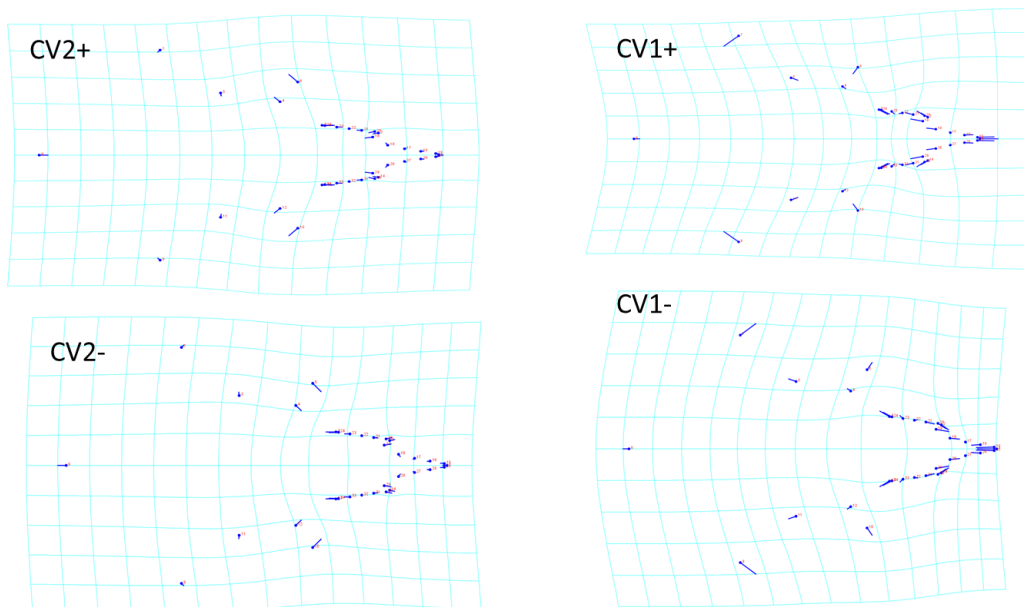
(LM 3, 13) te širim glavopršnjakom kojeg opisuju širi lateralni rub karapaksa (LM 6, 10) i lateralni rub cervikalne brazde (LM 7, 9) (Slika 9). Ovaj opis najbolje karakterizira jedinke koje pripadaju dunavskom slijevu. Pozitivni dio druge kanoničke osi (CV2) opisuje jedinke s kraćim i širim lateralnim rubom karapaksa (LM 6, 10) te posteriornim rubom cervikalne brazde (LM 8) pomaknutim više prema apikalnom dijelu životinje (Slike 8 i 9). Ovakav opis najbolje odvaja jedinke rakova iz savskog slijeva. Negativni dio druge kanoničke osi (CV2) opisuje jedinke kraćeg rostruma sa skraćenim apeksom rostruma (LM 1) i vrhovima rostralnog trna (2, 14) pomaknutim više prema apikalnom dijelu životinje. Glavopršnjak je duži zbog izduženog posteriornog ruba cervikalne brazde (LM 8) (Slika 9). Negativni dio druge kanoničke osi (CV2) najbolje opisuje jedinke iz dunavskog slijeva.

Tablica 4. Svojstvene vrijednosti (engl. *eigenvalues*) i udio objašnjene varijance u diskriminantnoj analizi geometrijske morfometrije za jedinke grupirane prema slijevovima.

Diskriminantna funkcija (KDF)	Svojstvene vrijednosti	%varijance	%kumulativno
1.	2,51	74,25	74,25
2.	0,87	25,77	100,000



Slika 8. Kanonički prikaz diskriminantne analize provedene za 34 homologne točke glavopršnjaka rakova analiziranih sljevova (savski, dravski i dunavski) za CV1 i CV2. Svijetlo plava boja označava hipotetsku konsenzus jedinku (prosječnu vrijednost svih oblika iz različitih sljevova), a tamno plava boja označava „najekstremniji“ oblik tj. odstupanja od konsenzus oblika.



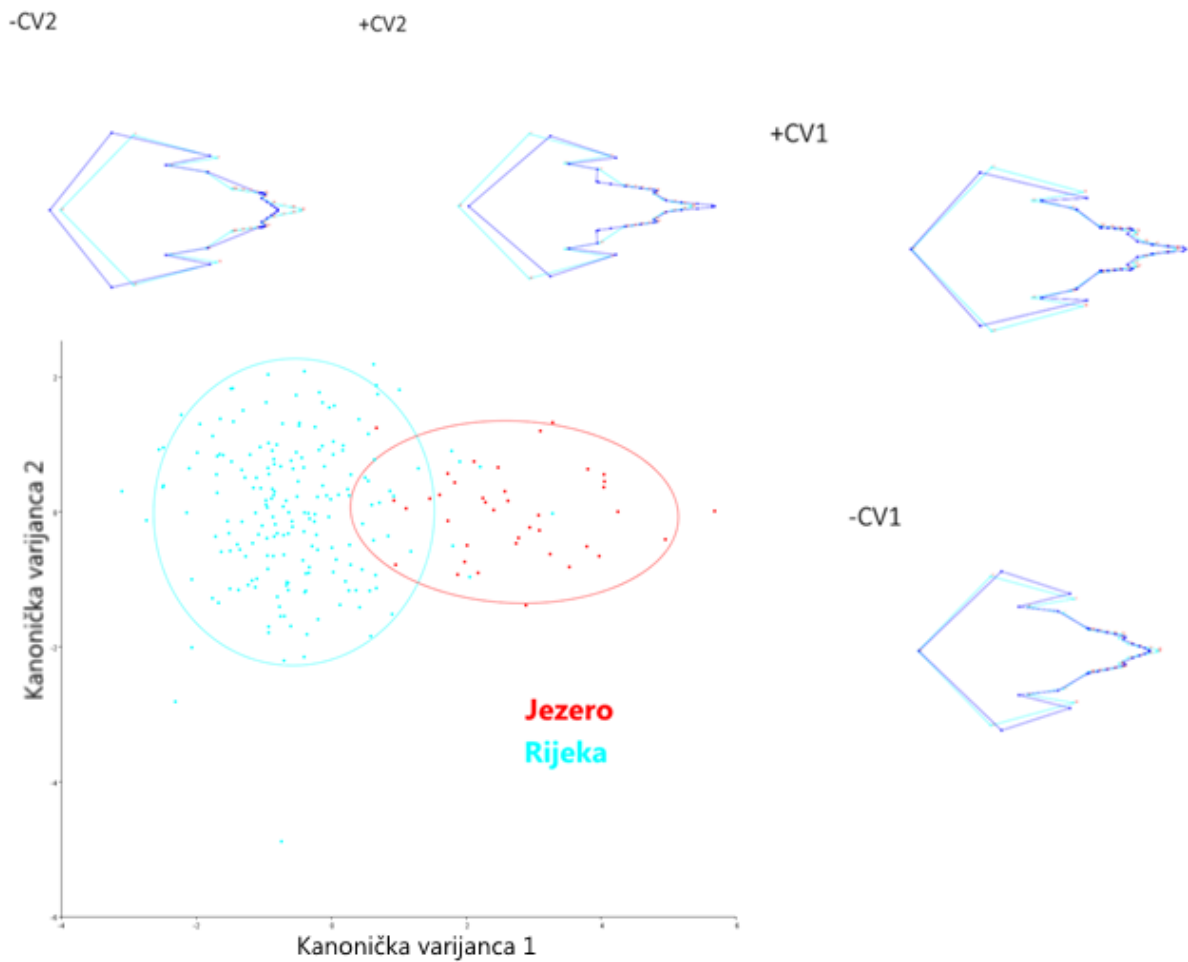
Slika 9. Promjene oblika glavopršnjaka različitih sljevova prikazane TPS deformacijskim mrežama. Promjene (plavi vektori) predstavljaju deformacije mreža koje odgovaraju prvim dvjema osima (CV1 i CV2) u pozitivnim (+) i negativnim (-) smjerovima.

U jedinki grupiranih prema staništu, kanonička diskriminantna funkcija CV1, u potpunosti objašnjava varijabilnost (100%) (Tablica 5) Na slici 10 je vidljivo da se jedinke s različitih staništa jasno razdvajaju, a sveukupno razdvajanje jedinki grupiranih prema staništu prema prvoj i drugoj funkciji te tendencije promjena oblika glavopršnjaka prikazane su TPS deformacijskim mrežama (Slika11).

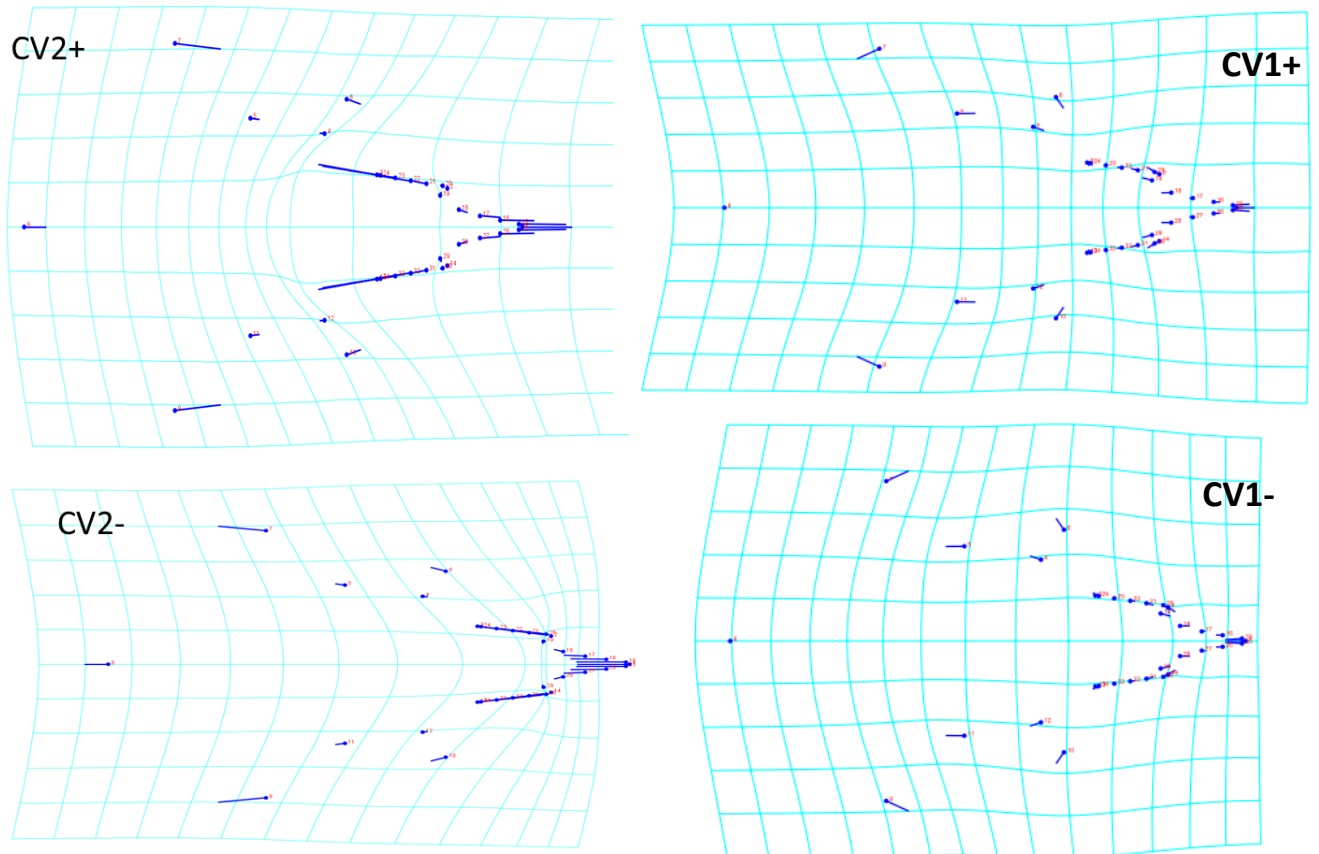
Prva kanonička os (CV1) čiji pozitivni dio opisuje jedinke koje su prikupljene iz jezera i kod kojih je uočen izduženiji rostrum (LM 1) te uži glavopršnjak jer su lateralni rub karapaksa (LM 6, 10) i lateralni rub cervikalne brazde (LM 7, 9) na ovim rakovima bili uže postavljeni (Slika 11). S druge strane, negativni dio prve kanoničke osi (CV1) najvećim dijelom opisuje rakove iz riječnih populacija koje karakterizira kraći i širi rostrum (LM 1, 2, 14), te širi glavopršnjak s lateralnim rubom karapaksa (LM 6, 10) postavljenim šire i više prema posteriornom dijelu tijela, i lateralnim rubom cervikalne brazde (LM 7, 9) postavljenim šire i više prema apikalnom dijelu tijela (Slika 11). Pozitivni dio druge kanoničke osi (CV2) opisuje jedinke izduženijeg apeksa rostruma (LM 1) i kraćeg glavopršnjaka s posteriornim rubom cervikalne brazde (LM 8) koji je pomaknut više prema apikalnom dijelu tijela (Slike 10 i 11). Negativni dio druge kanoničke osi (CV2) prikazuje jedinke puno kraćeg rostruma (LM 1) te izduženijeg glavopršnjaka s lateralnim rubom karapaksa (LM 6, 10), lateralnim rubom cervikalne brazde (LM 7, 9) i posteriornim rubom cervikalne brazde (LM 8) pomaknutim prema posteriornom dijelu tijela (Slika 10).

Tablica 5. Svojevne vrijednosti (engl. *eigenvalues*) i udio objašnjene varijance u diskriminantnoj analizi geometrijske morfometrije za jedinke grupirane prema staništu (tekućice, stajaćice).

Diskriminantna funkcija (KDF)	Svojevne vrijednosti	%varijance	%kumulativno
1.	1,52	100,000	100,000
2.	0,00	0,000	100,000



Slika 10. Kanonički prikaz diskriminantne analize provedene za 34 homologne točke glavopršnjaka rakova analiziranih iz različitih staništa (jezero, rijeka) za CV1 i CV2. Svijetlo plava boja označava hipotetsku konsenzus jedinku (prosječnu vrijednost svih oblika iz različitih sljevova), a tamno plava boja označava „najekstremniji“ oblik tj. odstupanja od konsenzus oblika.



Slika 11. Promjene oblika glavopršnjaka različitih staništa prikazane TPS deformacijskim mrežama. Promjene (plavi vektori) predstavljaju deformacije mreža koje odgovaraju prvim dvjema osima (CV1 i CV2) u pozitivnim (+) i negativnim (-) smjerovima.

Udaljenosti između pojedinačnih filogrupa predstavljene su kao Prokrustove udaljenosti (Tablica 6). Najveća udaljenost u morfo prostoru dobivena je između filogrupa G1 i L2 (0,0467), a najmanja između L2 i L4 (0,0324), ali ova vrijednost nije bila statistički značajna, kao niti vrijednost udaljenosti između L2 i L1/L4. Prokrustove udaljenosti između svih ostalih filogrupa (G1 i L1, G1 i L1/4, G1 i L4, L1 i L1/4, L1 i L2, L1 i L4, L1/4 i L4) su statistički značajne s p – vrijednostima značajno manjim od 0,05 (Tablica 6).

Tablica 6. Prokrustove udaljenosti između analiziranih filogrupa rakova su prikazane iznad dijagonale, a p-vrijednosti permutacijskog testa analiziranih Prokrustovih udaljenosti pet filogrupa ispod dijagonale.

	G1	L1	L1/L4	L2	L4
G1		0,0330	0,0355	0,0467	0,0365
L1	<0.0001		0,0345	0,0455	0,0429
L1/L4	<0.0001	<0.0001		0,0454	0,0393
L2	0,0089	0,0213	0,0648		0,0324
L4	<0.0001	<0.0001	<0,0001	0,5893	

Najveća udaljenost u morfo prostoru između sljevova dobivena je u odnosu dravskog i dunavskog sljeva (0,068), a najmanja udaljenost je dobivena između dravskog i savskog sljeva. Prokrustove udaljenosti između svih sljevova su statistički značajne s p – vrijednostima značajno manjim od 0,05 (Tablica 7).

Tablica 7. Prokrustove udaljenosti između analiziranih sljevova iz kojih su rakovi prikupljeni su prikazane iznad dijagonale, a p-vrijednosti permutacijskog testa analiziranih Prokrustovih udaljenosti između tri sljeva ispod dijagonale.

	SAVA	DRAVA	DUNAV
SAVA		0,031	0,040
DRAVA	<0.0001		0,068
DUNAV	<0.0001	<0.0001	

Prokrustova udaljenost između rakova sakupljenih u rijekama i rakova sakupljenih u jezerima iznosi 0,0294 i ona je statistički značajna s p – vrijednošću značajno manjom od 0,05 (Tablica 8).

Tablica 8. Prokrustove udaljenosti između analiziranih staništa iz kojih su prikupljeni rakovi i pripadajuća p-vrijednosti permutacijskog testa analiziranih Prokrustovih udaljenosti između staništa (rijeka ili jezero).

		jezero
Prokrustova udaljenost	rijeka	0,0294
P-vrijednost	rijeka	<0.0001

5. RASPRAVA

Morfometrija je korisna za kvantifikaciju veličine i oblika organizama te se u kombinaciji s metodama multivarijantne statistike često koristi u istraživanjima intraspecijske i interspecijske varijabilnosti (iz Sint i sur., 2005). Generalno, morfološke razlike između jedinki iste vrste se mogu pojaviti kao posljedica genetičkih razlika (Hidayani i sur., 2018) ili okolišnih faktora (Yampolsky i sur., 2014) i njihove međusobne interakcije (Berger i sur., 2018). Kvantifikacija specifičnih karakteristika jedinke ili grupe jedinki može pokazati stupanj specijacije izazvan biotičkim ili abiotičkim uvjetima (Đuretanović i sur., 2016). Najveći broj dosadašnjih istraživanja slatkovodnih vrsta rakova bio je zasnovan na metodama tradicionalne morfometrije (Ghia i sur., 2006; Bertocchi i sur., 2008, Deniz i sur., 2010; Maguire i Dakić, 2011; Benzer i sur., 2017; Sint i sur., 2006; Maguire i sur., 2017). Koliko je nama poznato, ovo je prvo detaljno geometrijsko morfometrijsko istraživanje vrste *Astacus astacus*. Geometrijska morfometrija ima prednost nad tradicionalnom morfometrijom jer pruža bolju kvantifikaciju i vizualizaciju oblika morfoloških struktura te omogućava veliku statističku osjetljivost koja otkriva male promjene u obliku morfoloških cjelina te se zato sve više koristi u istraživanjima (Adams i sur., 2013). Primjenom metoda geometrijske morfometrije po prvi puta je proučavana varijabilnost veličine i oblika glavopršnjaka (fokus na anteriorni dio rostruma i dorzalnu stranu cephalona) 230 jedinki plemenitih rakova šesnaest populacija: rijeka Ilova (Grubišno polje), Ilova (Veliki Zdenci), Peratovica, Breznica, Glogovica, Kikovac, Bijela, Sloboština, Kutjevačka rijeka, Veličanka, Jaruga, Otuča, Totovec, Motičnjak, Bednja i Razbojište. Prednost istraživanja morfometrije karapaksa je da nema utjecaja gubitka njegovih dijelova ili regeneracije kao što je to slučaj sa tjelesnim privjescima (Đuretanović i sur., 2016). U prethodnim istraživanjima Scalice-a i suradnika (2010, 2012) utvrđeno je da ne postoje statistički značajne razlike između oblika glavopršnjaka mužjaka i ženki bjelonogih rakova, stoga su u ovom istraživanju podaci za mužjake i ženke analizirani zajedno.

S obzirom da su nedavna molekularno-filogenetska istraživanja utvrdila postojanje više odvojenih evolucijskih linija unutar vrste *A. astacus* (Schrimpf i sur., 2014), cilj ovog rada je bio utvrditi preklapaju li se eventualno utvrđene razlike u morfometriji rakova, s rezultatima molekularno-filogenetskih istraživanja. Schrimpf i suradnici su 2014. godine utvrdili veliku raznolikost mitohondrijske i jezgrene DNA na

području jugoistočne Europe te su predložili postojanje 4 odvojene filogrupe - L1- L4, od kojih su u ovom istraživanju bile obuhvaćena 3 (L1, L2 i L4). Isto tako je nedavnim molekularno-filogenetskim istraživanjima na području Hrvatske utvrđena još jedna nova divergentna linija –(G1) koja je uključena u analizu (Maguire, neobjavljeni podaci), kao i populacija (lokalitet Motičnjak) koja je bila sastavljena od jedinki koje pripadaju u dvije filogrupe (L1 i L4). Rezultati su pokazali da se u morfo prostoru jasno odjeljuju filogrupe G1, L1 i L4. Filogrupa L2 je pokazala statistički značajnu udaljenost u morfo prostoru u odnosu na filogrupe G1 i L1, ali ne i L1/L4 i L4. Smatramo da u ovom istraživanju nismo imali dovoljno jedinki koje su pripadale filogrupi L2 (samo dvije jedinke s lokaliteta Jaruga) te da stoga ni dobiveni rezultati nisu pouzdani. Grupa L1/L4 se najmanje izdvaja u morfo prostoru, ali svejedno pokazuje statistički značajne udaljenosti u odnosu na filogrupe G1, L1 i L4.

Prethodnim istraživanjima plemenitih rakova na području Hrvatske temeljenim samo na tradicionalnoj morfometriji pokazalo se da su populacije koje su geografski bliže morfometrijski sličnije od onih koje su geografski udaljenije (Segin, 2017). Ovim istraživanjem se taj rezultat potvrdio te se pokazalo da se jasno razaznaju 3 grupe jedinki prikupljene iz tri različita slijeva - savskog, dravskog i dunavskog. Udaljenost između svih sljevova je statistički značajna, a najveća udaljenost, odnosno najveća razlika u obliku, je utvrđena između jedinki iz Drave i Dunava (0,0677).

Zadnja kanonička analiza koju smo radili je bila na temelju staništa iz kojeg su jedinke prikupljene - tekućice ili stajaćice. Pokazalo se da jedinke prikupljene iz stajaćica imaju izduženiji rostrum te uži glavopršnjak, a suprotno tome - jedinke prikupljene iz tekućica imaju kraći i širi rostrum te širi glavopršnjak. Jedinke s ova dva tipa staništa se statistički značajno razlikuju, a ovaj je rezultat usporediv s rezultatima prethodnih istraživanja na vrsti *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) - jedinoj južnoameričkoj vrsti iz porodice Parastacidae koji nastanjuje i rijeke i jezera (Rudolph i sur., 2016). Kod vrste *S. spinifrons* je slično kao i kod vrste *A. astacus* utvrđeno da jezerske populacije imaju veće tijelo i izduženiji rostrum, a jedinke iz riječnih populacija imaju kratak rostrum i robustno, deblje tijelo. Međutim, ove morfološke diferencijacije nisu pozitivno korelirale s analizama genetičke divergencije jer je utvrđena samo oskudna genetička diferencijacija između jedinki *S. spinifrons* koje su sakupljene iz jezera u odnosu na jedinke iste vrste sakupljene iz rijeka. Autori sugeriraju da ove razlike u morfologiji između jedinki iste vrste, a različitog staništa nastaju zbog

fenotipske plastičnosti i posljedica su prilagodbe na različiti tip staništa i uvjeta n_{ae} njemu. Ovaj fenomen objašnjava varijacije u morfološkim oblicima do kojih dolazi kao posljedica različite ekspresije istog genotipa u različitim okolišnim uvjetima (Rudolph i sur., 2015). Slično tome, Haddaway i suradnici (2012) su uočili da riječne populacije vrste *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858) imaju duža i šira kliješta od jezerskih populacija iste vrste.

U ovom diplomskom radu je u obzir uzeto više varijabli – pripadnost filogrupi, slijev kojem jedinke pripadaju te stanište s kojeg su sakupljene. To nam je omogućilo da dobijemo širu sliku o faktorima koji utječu na promjene u morfologiji te da napravimo veću diskriminaciju između jedinki.

6. ZAKLJUČAK

U ovom radu je po prvi puta provedena analiza geomorfometrijskih značajki plemenitih rakova. Rezultati standardnih geomorfometrijskih analiza 34 homologne točke smještene na glavopršnjaku rakova ukazuju na postojanje značajnih razlika između različitih populacija te se jasno vide razlike u morfometriji s obzirom na filogrupu kojoj jedinke pripadaju, slijevu iz kojeg dolaze te stanište s kojeg su sakupljene. Pokazalo se da diskriminaciji jedinki najviše doprinose oblik, širina i dužina rostruma, položaj lateralnog ruba karapaksa i lateralnog ruba cervikalne brazde te položaj posteriornog ruba cervikalne brazde. Također, ovo istraživanje je potvrdilo da jedinke koje su sakupljene s geografski bližih lokacija imaju veće morfološke sličnosti od onih koje su geografski udaljenije.

Tehnike geometrijske morfometrije su se pokazale korisnima u proučavanju varijabilnosti oblika i veličina plementih rakova. U budućnosti, ovakva istraživanja s uključivanjem još većeg broja jedinki iz pojedinih filogrupa mogu upotpuniti populacijsko – ekološka istraživanja bliskih filogrupa ove vrste.

7. LITERATURA

Adams, D. C., Rohlf, F. J., Slice, D. E. (2004) Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. *Italian Journal of Zoology*, 71:5-16.

Adams, D.C., Rohlf, F.J., Slice, D.E. (2013) A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix, Italian Journal of Mammalogy*, 24: 7–14.

Crandall, K. A., Buhay, J. E. (2008) Global diversity of crayfish (Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae – Decapoda) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595:295-301.

Benzer, S.S., Benzer, R., Gunal, C. (2017) Artificial neural networks approach in morphometric analysis of crayfish (*Astacus leptodactylus*) in Hirfanlı Dam Lake. *Biologia*, 72:527-535. <https://doi.org/10.1515/biolog-2017-0052>

Bernska konvencija (2002) Europska direktiva o zaštiti prirodnih staništa i divlje faune i flore. Online: <<http://conventions.coe.int/treaty/FR/Treaties/Html/104-3.htm>>

Bertocchi, S., Brusconi, S., Gherardi, F., Buccianti, A., Scalici, M. (2008) Morphometrical characterization of *the Austropotamobius pallipes* species complex. *Journal of Natural History*, 42:2063–2077. <https://doi.org/10.1080/00222930802254664>

Bookstein, F.L. (1991) Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. *Cambridge University Press*, Cambridge.

Crandall, K. A., Buhay, J. E. (2008) Global diversity of crayfish (Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae – Decapoda) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 295-301.

Deniz (Bök), T.D., Harlıoğlu, M.M., Deval, M.C. (2010) A study on the morphometric characteristics of *Astacus leptodactylus* inhabiting the Thrace region of Turkey. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 397:05. <https://doi.org/10.1051/kmae/2010021>

Dryden, I.L., Mardia, K.V. (1998) Statistical Shape Analysis. *John Wiley and Sons*, New York.

Đuretanović, S., Jaklič, M., Milošković, A., Radojković, N., Radenković, M., Simić, V., Maguire, I. (2016) Morphometric variations among *Astacus astacus* populations from different regions of the Balkan Peninsula.

Zoomorphology, 136(1), 19-27.

Edsman, L., Füreder, L., Gherardi, F., Souty-Grosset, C. (2010) *Astacus astacus*. U: IUCN 2013. IUCN crvena lista ugroženih vrsta. Verzija 2013.1.

<www.iucnredlist.org>. Online: <<http://www.iucnredlist.org/details/2191/0>>

Europska direktiva o zaštiti prirodnih staništa i divlje faune i flore 2007. Online <<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1992:206:0007:0050:EN:PDF>>

Felgenhauer, B. E. (1992) Internal anatomy of the Decapoda: An overview. U: Harrison, F. W., Humes, A. G. (ur.) *Microscopic anatomy of invertebrates*, volume 10: Decapod *Crustacea*. Wiley-Liss, New York, 44-75.

Fevolden, E., Hessen, D. (1989) Morphological and genetic differences among recently founded populations of noble crayfish (*Astacus astacus*). *Hereditas*, 110:149–158.

Füreder, L., Machino, Y. (2002) A revised determination key of freshwater creayfish in Europe. *Berichte des naturwissenschaftlich-medizinischen vereins in Innsbruck*, 89:169-178.

Füreder, L., Edsman, L., Holdich, D., Kozak, P., Machino, Y., Pockl, M., Renai, B., Reynolds, J., Schulz, R., Schulz, H., Sint, D., Taugbol, T., Trouilhé, M.C. (2006) Indigenous crayfish. Habitat and threats. U: Souty-Grosset, C., Holdich, D., Noël, P.Y., Reynolds, J., Haffner, P. (ur.): *Atlas of crayfish in Europe*. Paris, Musée National d'Histoire Naturelle 25–47.

Gherardi, F. (2011) Towards a sustainable human use of freshwater crayfish (Crustacea, Decapoda, Astacidea). *Knowledge and management of aquatic ecosystems* 401: 02.

Ghia, D., Nardi, P.A., Negri, A., Bernini, A., Bonardi, G., Fea, G., Spairani, M. (2006) Syntopy of *A. pallipes* and *A. italicus*: genetic and morphometrical investigation. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 380–381: 1001–1018. <https://doi.org/10.1051/kmae:2006007>

Haddaway, N.R., Mortimer, R.J.G., Christmas, M., Grahame, J.W., Dunn, A.M. (2012) Morphological diversity and phenotypic plasticity in the threatened British white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 22:220–231. <https://doi.org/10.1002/aqc.2225>

Hidayani, A.A., Trijuno, D.D., Fujaya, Y., Tauhid Umar, M. (2018) The morphology and morphometric characteristics of the male swimming crab (*Portunus pelagicus*) from the East Sahul Shelf, Indonesia. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation Bioflux* 11:1724-1736.

Holdich, D. M., Lowery, R. S. (1988) Freshwater crayfish – biology, management and exploitation. *University Press*, Cambridge.

Holdich, D. (2002) Distribution of crayfish in Europe and some adjoining countries. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 367:611–650.

Holdich, D. M., Reynolds, J. D., Souty-Grosset, C., Sibley, P. J. (2009) A review of the ever increasing threat to European crayfish from non-indigenous crayfish species. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 11: 394-395.

Holland, E. (2009) Limitations of traditional morphometrics in research on the attractiveness of faces. *Psychonomic Bulletin & Review*. 16(3):613-615.

Kendall, D.G. (1977) The diffusion of shape. *Advances in Applied Probability*, 9:428–430.

Klingenberg, C. P. (2002) Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. *Gene*, 287:3-10.

Klingenberg, C.P., Monteiro, L.R. (2005) Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications. *Systematic Biology*, 54:678–688.

Klingenberg, C.P. (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, 11:353–357.

<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x>

Klingenberg, P. C. (2013) Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24 (1):15–24.

Maguire, I. (2010) Slatkovodni rakovi, Priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.

Maguire, I., Erben, R., Klobučar, G.I.V., Lajtner, J. (2002) Year cycle of *Austropotamobius torrentium* (Schrank) in streams on Medvednica mountain (Croatia). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 367:943–957.

<https://doi.org/10.1051/kmae:2002077>

Maguire, I., Gottstein-Matočec, S. (2004) The distribution pattern of freshwater crayfish in Croatia. *Crustaceana*, 77 (1):25-49.

Maguire, I., Jelić, M., Klobučar, G. (2011a) Update on the distribution of freshwater crayfish in Croatia. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 401:31-41. <https://doi.org/10.1051/kmae/2011051>

Maguire, I., Dakić, L. (2011b) Comparative analyses of *Astacus leptodactylus* morphological characteristics from Croatia and Armenia. *Biologia*, 66:491—498. <https://doi.org/10.2478/s11756-011-0045-y>

Maguire, I., Marn, N., Klobučar, G. (2017) Morphological evidence for hidden diversity in the threatened stone crayfish *Austropotamobius torrentium* (Schrank, 1803) (Decapoda: Astacoidea: Astacidae) in Croatia. *Journal of Crustacean Biology*, 37:7–15. <https://doi.org/10.1093/jcbiol/ruw012>

Martin, J. W., Davis, G. E. (2001): An updated classification of the recent *Crustacea*. Natural History Museum of Los Angeles county, *Science series 39*, Los Angeles.

Narodne Novine (2013) Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama. Narodne novine 144/13

Narodne Novine (2013) Zakon o zaštiti prirode. Narodne novine 80/13.

Nyström, P., Brönmark, C., Granéli, W. (1996) Patterns in benthic food webs: a role for omnivorous crayfish? *Freshwater Biology*, 36:631-646.

Papavlasopoulou, I., Perdikaris, C., Vardakas, L., Paschos, I. (2014) Enemy at the gates: introduction potential of non-indigenous freshwater crayfish in Greece via the aquarium trade. *Central European Journal of Biology*, 9(1): 11–18

Rakovi (2013) Online: <<http://rakovi.biol.pmf.unizg.hr/rakovi/index.htm>>

Rohlf, F.J., Slice, D. (1990) Extensions of the Procrustes Method for the Optimal Superimposition of Landmarks. *Systematic Zoology*, 39:40-59.

<https://doi.org/10.2307/2992207>

Rohlf, F.J. (1999) Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification*, 16:197–223.

Rudolph, E., Colihueque, N., Yañez, M. (2016) Morphological and genetic analysis in morphologically divergent river and lake specimens of the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana*, 89: 877–899. <https://doi.org/10.1163/15685403-00003560>

Scalici, M., Macale, D., Gibertini, G. (2010) Allometry in the ontogenesis of *Austropotamobius pallipes* species complex (Decapoda: Astacidae): The use of geometric morphometrics. *Italian Journal of Zoology*, 77:296–302.

<https://doi/10.1080/11250000903039794>

Scalici, M., Bravi, R. (2012) Solving alpha-diversity by morphological markers contributes to arranging the systematic status of a crayfish species complex (Crustacea, Decapoda). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 50:89–98. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2011.00643.x>

Schrimpf, A., Theissing, K., Dahlem, J., Maguire, I., Parvulescu, L., Schulz H. K., Schulz, R. (2014) Phylogeography of noble crayfish (*Astacus astacus*) reveals multiple refugia. *Freshwater biology*, 59 (4),761-776.

Sint, D., Dalla Via, J., Füreder, L. (2005) Morphological variations in *Astacus astacus* L. and *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) populations. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 376-377:637–652.

<https://doi.org/10.1051/kmae:2005021>

Sint, D., Dalla Via, J., Füreder, L. (2006) The genus *Austropotamobius* in the Ausserfern Region (Tyrol, Austria) with an overlap in the distribution of *A. torrentium* and *A. pallipes* populations. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 380-381:1029–1040. <https://doi.org/10.1051/kmae:2006009>

Sint, D., Dalla Via, J., Füreder, L. (2007) Phenotypical characterization of indigenous freshwater crayfish populations. *Journal of Zoology*, 273:210–219.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2007.00318.x>

Skurdal, J., Taugbøl, T. (2002) *Astacus*. U: Holdich, D.M.: Biology of freshwater crayfish. *Blackwell Science*, Oxford, 467-510.

Taylor, C.A. (2002) Taxonomy and conservation of native crayfish stocks. U: Holdich, D.M.: Biology of freshwater crayfish. *Blackwell Science*, Oxford, 236-257.

Usio, N., Townsend, C.R. (2004): Roles of crayfish: consequences of predation and bioturbation for stream invertebrates. *Ecology*, 85(3): 807–822

Yampolsky, L.Y., Schaer, T.M.M., Ebert, D. (2014) Adaptive phenotypic plasticity and local adaptation for temperature tolerance in freshwater zooplankton.

Proceedings of the Royal Society B, 281: 20132744.

<https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2744>

Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., Sheets, H.D., Fink, W.L. (2004) Geometric morphometrics for biologists: a primer. *Elsevier Academic Press*, San Diego

Zimmerman, J.K.M. (2012) Noble crayfish (*Astacus astacus*) in a changing world – implications for management. *Dissertation, University of Sweden*, 39-53

8. Prilozi

Prilog 1. Vrijednosti centorida 34 karakteristične točke glavopršnjaka plemenitih rakova.

Karakteristične točke	Koordinata X	Koordinata Y
1	-0.005951	0.181576
2	-0.048901	0.075768
3	-0.061341	-0.022414
4	-0.105766	-0.095861
5	-0.119015	-0.199413
6	-0.142990	-0.066853
7	-0.196179	-0.312300
8	0.018975	-0.507252
9	0.229992	-0.284715
10	0.153844	-0.055583
11	0.133671	-0.189380
12	0.111173	-0.088026
13	0.059715	-0.016502
14	0.040822	0.079757
15	-0.009172	0.176699
16	-0.012962	0.150674
17	-0.017281	0.122461
18	-0.023859	0.093073
19	-0.039487	0.066662
20	-0.051610	0.068596
21	-0.053239	0.046571
22	-0.056015	0.025257
23	-0.058683	0.003973
24	-0.061172	-0.016715
25	-0.002653	0.176608
26	0.002566	0.151001
27	0.008371	0.123279
28	0.016374	0.094543
29	0.033862	0.069162
30	0.044079	0.074051
31	0.047313	0.051163
32	0.051396	0.029278
33	0.055248	0.007705
34	0.058875	-0.012841

9. Životopis

OSOBNI PODACI

Ime i prezime: Anja Eloise Livaić

E – mail adresa: anja.eloise@gmail.com

OBRAZOVANJE

2016. – 2019. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno – matematički fakultet, Biološki odsjek, diplomski studij eksperimentalne biologije, Modul Fiziologija i imunologija

2013. – 2016. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno – matematički fakultet, Biološki odsjek, preddiplomski sveučilišni studij Eksperimentalne biologije

2009. – 2013. XI (opća) gimnazija, Zagreb

2004. – 2009. Osnovna škola Bartola Kašića

2001. – 2004. Osnovna škola Većeslava Holjevca

VJEŠTINE

Poznavanje jezika: engleski (aktivan), talijanski (razumijevanje), španjolski (razumijevanje)

Digitalna kompetencija: Korištenje Internet preglednika, MS Office (Word, Excel, PowerPoint), izrada web stranica na Wordpress temi, Instagram i Facebook oglašavanje

Studentsko i radno iskustvo: telefonska prodaja (Iskon d.o.o.), rad u laboratoriju za umjeravanje pipeta, uređivanje i izrada web stranica na Wordpress temi, sudjelovanje u organizaciji događaja „Noć biologije“, odrađivanje laboratorijske stručne prakse na Zavodu za Animalnu fiziologiju te na Institutu Ruđer Bošković