

Morfološke značajke, taksonomski položaj i filogenetički dnosni populacija endemskih vrsta roda Scardinius (Cypriniformes, Actinopterygii) u Jadranskom slijevu

Sabolić, Marija

Doctoral thesis / Disertacija

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:217:826670>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-07**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Marija Sabolić

**MORFOLOŠKE ZNAČAJKE,
TAKSONOMSKI POLOŽAJ I
FILOGENETIČKI ODNOSI POPULACIJA
ENDEMSKIH VRSTA RODA
SCARDINIUS (CYPRINIFORMES,
ACTINOPTERYGII) U JADRANSKOM
SLIJEVU**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2021.



University of Zagreb

FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Marija Sabolić

**MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS,
TAXONOMIC STATUS AND
PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF
THE POPULATIONS OF THE ENDEMIC
SCARDINIUS SPECIES
(CYPRINIFORMES, ACTINOPTERYGII)
IN THE ADRIATIC BASIN**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2021

„Ovaj je doktorski rad izrađen na Zoologijskom zavodu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Marka Čalete, u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog doktorskog studija Biologije pri Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu“.

INFORMACIJE O MENTORU

Izv. prof. dr. sc. Čaleta, Marko

Nakon završene I. zagrebačke gimnazije na Biološkom odsjeku PMF-a upisuje studij biologije. Diplomirao je 2000. i stječe zvanje diplomiranog inženjera biologije-ekologije. Poslijediplomski doktorski studij biologije završio je također na Biološkom odsjeku PMF-a, a doktorat znanosti iz znanstvenoga područja prirodnih znanosti, polje biologija, obranio je 2007. godine. Naslov doktorske disertacije glasio je "Ekološke značajke ihtiofaune nizinskog dijela rijeke Save". Od 2000. do 2012. godine zaposlen je u Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka kao mlađi asistent, asistent, viši asistent (poslijedoktorand) i naposljetku kao stručni savjetnik. Kao znanstveni novak sudjelovao je na trima projektima MOZS-a pod voditeljstvom prof. dr. sc. Milorada Mrakovčića. Od 2012. godine zaposlen je na Učiteljskom fakultetu. Predaje kolegije Prirodoslovlje 3 i 4. Osim na matičnom fakultetu nositelj je i izvoditelj nastave izbornog kolegija Mamalogija na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta. U ožujku 2009. godine izabran je u znanstveno zvanje znanstveni suradnik, 2012. u znanstveno zvanje viši znanstveni suradnik, a 2018. godine u zvanje znanstveni savjetnik. U središtu njegova znanstvenog i stručnog interesa je slatkovodna ihtiofauna Hrvatske, ali i dinarskog, krškog područja. Pritom se kao glavne tematske cjeline mogu izdvojiti ekološke značajke riba, raznolikost rijetkih, ugroženih i endemskih vrsta riba te problematika unesenih i invazivnih vrsta riba. Objavio je 4 autorske knjige, 3 poglavlja u knjigama i više od 50 znanstvenih članaka u časopisima s međunarodnom recenzijom. Sudjelovao je na 15-ak inozemnih i domaćih znanstvenih skupova i konferencija s više od 50 izlaganja. Predstojnik je katedre za Prirodoslovlje, geografiju i povijest od 2014. do 2020. godine, a obnašao je i dužnost prodekana za poslovanje i razvoj Učiteljskog fakulteta (2015. – 2018.). Od 2015. godine predstavnik je Učiteljskog fakulteta u Vijeću društveno-humanističkoga područja Sveučilišta u Zagrebu. Dobitnik je posebne dekanove nagrade za ukupnu znanstvenu produktivnost i citiranost u akademskoj godini 2018./2019. Član je više strukovnih društava: Hrvatskog biološkog društva (HBD), Hrvatskog ekološkog društva (HED), Europskog ihtiološkog društva (EIS), Hrvatskog ihtiološkog društva (HID), Hrvatskog društva slatkovodnih ekologa (HUSEK) te međunarodnog udruženja za istraživanje Dunava (IAD).

ZAHVALE

Od srca se zahvaljujem svim djelatnicima Laboratorija za biologiju kralješnjaka i zaštitu prirode Zoologijskog zavoda PMF-a, koji su svojim radom i savjetima doprinijeli ovom doktorskom radu. Mentor, izv. prof. dr. sc. Marku Čaleti, zahvaljujem na podršci, konstruktivnim kritikama i savjetima tijekom izrade ovog rada. Beskrajno hvala doc. dr. sc. Ivani Buj na vremenu, savjetima, razumijevanju, strpljenju, podršci i glasu zdravog razuma kada mi je zatrebao. Doc. dr. sc. Zoranu Marčiću veliko hvala na tehničkoj i stručnoj pomoći u proteklih šest godina.

Kolegama i prijateljima iz Zavoda za zaštitu okoliša i prirode neizmjereno hvala na podršci, razumijevanju i riječima ohrabrenja.

Mojoj obitelji, Ankici, Josipu, Mirjani, baki, Ivi, Antoniu, Niki i Emini hvala na beskrajnoj ljubavi, podršci i vjeri u mene.

Tanji, Ivanu, Ivani, Ivi, Dunji, Mariji i Ramoni, mojim čvrstim osloncima u svakodnevnom životu, hvala vam što ste uvijek tu za mene.

Igoru, hvala, hvala, hvala, na svemu...

Sveučilište u Zagrebu

Doktorski rad

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

**MORFOLOŠKE ZNAČAJKE, TAKSONOMSKI POLOŽAJ I FILOGENETIČKI
ODNOSI POPULACIJA ENDEMSKIH VRSTA RODA *SCARDINIUS*
(CYPRINIFORMES, ACTINOPTERYGII) U JADRANSKOM SLIJEVU**

MARIJA SABOLIĆ

Zoologijski zavod

Ovim istraživanjem obuhvaćene su populacije drlje (*Scardinius dergle*) i peškelja (*Scardinius plotizza*) iz cijelog područja njihove rasprostranjenosti u Hrvatskoj i Bosni i Hercegovini, kao i dostupni podatci iz banke gena za ostale vrste unutar ovog roda na području jadranskog slijeva. Na svim istraživanim jedinkama analizirano je 25 morfometrijskih značajki, provedene su morfometrijske, merističke i fenološke analize te su dobiveni podatci opisani deskriptivnom statistikom i inferencijalnim statističkim metodama. Provedene su i filogenetičke analize istraživanih populacija temeljem genskih biljega za citokrom *b*, beta aktin i BMP te je utvrđena genska raznolikost, kao i molekularna dijagnostika populacija. Posebno je dan osvrt na taksonomski problem populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu. Dobiveni rezultati pokazuju jasno odvajanje pojedinih istraživanih populacija temeljem provedenih morfoloških analiza što je provjereno i filogenetičkim analizama te su doneseni zaključci o međusobnim odnosima i raznolikosti istraživanih populacija.

(230 stranica, 47 slika, 51 tablica, 257 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski jezik)

Ključne riječi: rod *Scardinius*, morfologija, genetika, jadranski slijev, endemske vrste

Mentor: Marko Čaleta, izv. prof. dr. sc.

Ocjenjivači: Ivana Buj, doc. dr. sc., Ana Galov, izv. prof. dr., Sanja Matić Skoko, dr. sc., znanstvena savjetnica u trajnom zvanju

University of Zagreb

Doctoral Thesis

Faculty of Science

Division of Biology

**MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS, TAXONOMIC STATUS AND
PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF THE POPULATIONS OF THE
ENDEMIC *SCARDINIUS* SPECIES (CYPRINIFORMES, ACTINOPTERYGII)
IN THE ADRIATIC BASIN**

MARIJA SABOLIĆ

Division of Zoology

This research included populations of *Scardinius dergle* and *Scardinius plotizza* from their entire distribution area in Croatia and Bosnia and Herzegovina, as well as available data from the gene bank for other species within this genus in the Adriatic basin. In total 25 morphometric characteristics were analysed. Morphometric, meristic and phenological features were explored, and analysed by descriptive statistics and inferential statistical methods. Phylogenetic analyses of the studied populations based on genetic markers for cytochrome *b*, beta actin and BMP were conducted, and genetic diversity was determined, as well as molecular diagnostics for populations. The taxonomic problem related to the population from the Lake Vrana on the Cres Island is also addressed. The obtained results show a distinct separation of some populations based on morphological analyzes, which were verified with phylogenetic analyzes, and final conclusions were made regarding relationships and diversity of the studied populations.

(230 pages, 47 figures, 51 table, 257 references, original in: croatian)

Keywords: genus *Scardinius*, morphology, genetics, Adriatic basin, endemic species

Supervisor: Marko Čaleta, PhD Assoc. Prof.

Reviewers: Ivana Buj, PhD Assistant professor, Ana Galov, PhD Assoc. Prof., Sanja Matić Skoko, PhD Scientific Advisor

SADRŽAJ

1. UVOD.....	4
1.1. Cilj istraživanja.....	5
2. LITERATURNI PREGLED.....	7
2.1. Povijesni pregled taksonomije i sistematike vrsta unutar roda <i>Scardinius</i>	7
2.2. Biologija, ekologija i rasprostranjenost vrsta unutar roda <i>Scardinius</i>	15
2.3. Geološka povijest Sredozemnog mora i širenje primarno slatkovodnih riba.....	26
2.4. Temeljne postavke filogenetičkih analiza	31
2.4.1. Koncept vrste.....	31
2.4.2. Osnovne postavke molekularne filogenetike.....	32
2.4.3. Metode filogenetičke rekonstrukcije	39
2.5. Recentna morfološka i filogenetička istraživanja u sistematici roda <i>Scardinius</i> u jadranskom slijevu.....	47
2.5.1. Recentna morfološka istraživanja.....	47
2.5.2. Recentna filogenetička istraživanja	49
2.6. Raznolikost, uzroci ugroženosti i mehanizmi zaštite slatkovodnih riba u jadranskom slijevu.....	52
2.6.1. Raznolikost slatkovodnih riba u jadranskom slijevu.....	52
2.6.2. Uzroci ugroženosti slatkovodnih vrsta riba	53
2.6.3. Mehanizmi zaštite slatkovodnih vrsta riba	56
3. MATERIJALI I METODE.....	59
3.1. Područje istraživanja.....	59
3.1.1. Vransko jezero na otoku Cresu.....	60
3.1.2. Plitvička jezera	61
3.1.3. Kanal Veliki Ždralovac u Livanjskom polju	62
3.1.4. Vransko jezero kod Biograda na Moru.....	64
3.1.5. Rijeka Guduča	65
3.1.6. Jezero Visovac na rijeci Krki	66
3.1.7. Rijeka Ruda	67
3.1.8. Hutovo blato	69
3.1.9. Jezero Kutina.....	71

3.1.10. Ravno (Popovo) polje – rijeka Trebišnjica.....	72
3.2. Metode uzorkovanja	74
3.3. Popis korištenih kemikalija, reakcijskih smjesa, početnica i laboratorijske opreme	76
3.4. Morfološke analize	78
3.4.1. Morfometrijske analize.....	78
3.4.2. Merističke analize i vanjski izgled	84
3.4.3. Determinističke morfološke značajke istraživanih populacija <i>S. dergle</i>	84
3.5. Filogenetičke analize	85
3.5.1. Izolacija DNA.....	86
3.5.2. Umnažanje fragmenata DNA lančanom reakcijom polimeraze	87
3.5.3. Elektroforeza umnoženih fragmenata DNA u agaroznom gelu	88
3.5.4. Određivanje primarne strukture DNA	89
3.5.5. Računalni programi	89
3.5.6. Priprema sekvenci DNA za filogenetičke analize i setovi podataka	91
3.5.7. Utvrđivanje genskog polimorfizma i genske udaljenosti(engl. p-distance) .	96
3.5.8. Metode filogenetičke rekonstrukcije	97
3.6. Molekularna dijagnostika	99
3.7. Usporedna analiza rezultata morfoloških i filogenetičkih analiza.....	100
4. REZULTATI	103
4.1. Morfometrijske značajke	103
4.1.1. Deskriptivna statistika	103
4.1.2. Normalna distribucija podataka i korelacija sa standardnom duljinom tijela	107
4.1.3 Morfometrijski omjeri	110
4.1.4. Analiza varijance (ANOVA) morfometrijskih omjera i prilagođenih mjera	111
4.1.5. Analiza glavnih komponenata (PCA) morfometrijskih omjera.....	113
4.1.6. Analiza glavnih komponenata (PCA) prilagođenih mjera	115
4.2. Merističke značajke i vanjski izgled.....	117
4.3. Determinističke morfološke značajke istraživanih populacija <i>S. dergle</i>	119
4.4. Genska raznolikost roda <i>Scardinius</i> istraživanog područja.....	120
4.4.1. Genski polimorfizam i genska udaljenost gena za citokrom <i>b</i>	120

4.4.2. Genski polimorfizam jezgrinih gena za beta aktin i BMP.....	126
4.5. Filogenetički odnosi istraživanih populacija roda <i>Scardinius</i>	132
4.5.1. Filogenetička rekonstrukcija gena za citokrom <i>b</i>	133
4.5.2. Filogenetička rekonstrukcija jezgrinih gena za beta aktin i BMP	138
4.6. Molekularna dijagnostika	147
4.7. Usporedna analiza rezultata morfoloških i filogenetičkih analiza.....	148
4.7.1. Evolucija morfoloških značajki	148
4.7.2. Filogenetičko stablo vrsta.....	149
5. RASPRAVA.....	150
5.1. Morfološke značajke.....	150
5.2. Genska raznolikost roda <i>Scardinius</i> istraživanog područja.....	153
5.3. Filogenetički odnosi istraživanih populacija roda <i>Scardinius</i>	155
5.4. Taksonomski status populacije <i>S. dergle</i> iz Vranskog jezera na otoku Cresu ..	161
5.5. Mehanizmi zaštite slatkovodnih riba u jadranskom slijevu.....	162
5.6. Polazne hipoteze	165
6. ZAKLJUČAK.....	167
7. LITERATURA	171
8. PRILOZI.....	197
9. ŽIVOTOPIS	230

1. UVOD

Jadranski slijev predstavlja žarište bioraznolikosti endemskih slatkovodnih vrsta riba, što je posljedica kompleksne geološke povijesti i procesa specijacije koji su se odvijali na ovom području, a koji su definirali današnju rasprostranjenost endemskih vrsta. Od oko 217 endemskih vrsta perimediterranskog područja, jedna trećina se nalazi upravo na području jadranskog slijeva (Bianco 1995b, Bianco i Ketmaier 2015). Većina vrsta unutar roda *Scardinius*, izuzev nominalne vrste *S. erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758), ima usku geografsku rasprostranjenost (Kottelat i Freyhof 2007) te predstavlja regionalne endeme ili stenoendeme.

Rod *Scardinius* (Cypriniformes, Actinopterygii) pripada redu Cypriniformes (šaranke), porodici Leuciscidae te potporodici Leuciscinae, a unutar roda je opisano 10 vrsta: *S. acarnanicus* Economidis, 1991, *S. dergle* Heckel & Kner, 1858, *S. elmaliensis* Bogutskaya, 1997, *S. erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758), *S. graecus* Stephanidis, 1937, *S. hesperidicus* Bonaparte, 1845, *S. knezevici* Bianco & Kottelat, 2005, *S. plotizza* Heckel & Kner, 1858, *S. racovitzai* Müller, 1958 i *S. scardafa* (Bonaparte, 1837). Radi se o toplovodnim vrstama koje nastanjuju nizinska jezera, rijeke i potoke u kojima temperatura ljeti može biti i viša od 25 °C (Bianco 1995a). Počevši od samog reda Cypriniformes, taksonomski položaj i međusobni filogenetički odnosi pojedinih linija su veoma kompleksni i do danas samo djelomično razriješeni (Saitoh i sur. 2006), a isto vrijedi i za porodicu Cyprinidae (Chen i sur. 1984, Howes 1991, Briolay i sur. 1998, Liu i sur. 2002, He i sur. 2008, Chen i Mayden 2009, Mayden i Chen 2010, Wang i sur. 2012) kojoj je potporodica Leuciscinae do nedavno pripadala, dok njen status nije podignut na razinu porodice (Cavender i Coburn 1992, Bufalino i Mayden 2010, Mayden i Chen 2010, Schönhuth i sur. 2018).

Uslijed velike morfološke sličnosti vrsta roda *Scardinius*, kroz povijest je čest slučaj bila pogrešna determinacija vrsta i pogrešno utvrđivanje njihove rasprostranjenosti, što je djelomično razriješeno morfološkim i filogenetičkim istraživanjima (Karaman 1928, Vuković i Ivanišević 1962, Ketmaier i sur. 2003, Ketmaier i sur. 2004, Bianco i Kottelat 2005, Perea i sur. 2010). No, taksonomski položaj i filogenetički odnosi pojedinih populacija, kao i njihova intraspecijska

raznolikost i dalje su nepoznanica. Ova činjenica je iznimno važna, posebice u kontekstu današnjih negativnih ljudskih pritisaka na slatkovodne ekosustave uslijed degradacije i gubitka staništa, unosa stranih i invazivnih stranih vrsta te globalnih klimatskih promjena. Ovi pritisci diljem Europe i svijeta dovode do ubrzanog izumiranja slatkovodnih vrsta riba (Crivelli i Maitland 1995b, Helfman i sur. 2009), a endemske vrste su, zbog uskih područja rasprostranjenosti i obično male sposobnosti prilagodbe na promjene vanjskih čimbenika, najugroženija skupina. Iako je na europskoj i globalnoj razini prepoznata važnost očuvanja slatkovodnih staništa (CBD OEWG 2020, Europska komisija 2020) koja ljudima pružaju mnogobrojne usluge ekosustava, kao što su izvor pitke vode i hrane, održavanje razine podzemnih voda, regulacija klimatskih uvjeta, prijenos organske tvari te mnogi drugi (Feeley i sur. 2017), postoji realna mogućnost da će mnogobrojne endemske vrste riba nestati prije nego znanstvenici otkriju evolucijsku važnost i povijest pojedinih populacija sadržanih u genskom zapisu ovih skupina.

1.1. Cilj istraživanja

Svrha ovog doktorskog rada je doprinijeti znanju o morfološkoj i filogenetičkoj raznolikosti, statusu te međusobnim odnosima populacija *S. dergle* i *S. plotizza* na području jadranskog slijeva, kao i odnosima ovih populacija s ostalim vrstama unutar roda.

Cilj istraživanja je odrediti morfološku raznolikost i razjasniti taksonomski položaj i filogenetičke odnose istraživanih populacija *S. dergle* i *S. plotizza* iz Bosne i Hercegovine i Hrvatske, odnosno s čitavog područja njihove prirodne rasprostranjenosti, kao i razjasniti odnose ovih vrsta s ostalim vrstama roda *Scardinius*: *S. acarnanicus*, *S. erythrophthalmus*, *S. graecus*, *S. hesperidicus*, *S. knezevici* i *S. scardafa*. U svrhu postizanja cilja istraživanja provedene su opsežne morfološke (morfometrijske, merističke i fenološke analize) te filogenetičke analize jezgrinih (beta aktin i koštani morfogenetski protein) i mitohondrijskih (citokrom *b*) genskih biljega, kao i utvrđivanje genske raznolikosti i udaljenosti istraživanih populacija. Također, napravljena je i usporedna analiza svih dobivenih rezultata u svrhu dobivanja potpunije slike filogenetičkih odnosa istraživanih populacija.

U ovom doktorskom radu su po prvi puta napravljene opsežne morfološke i filogenetičke analize populacija *S. dergle* i *S. plotizza* s čitavog područja njihove rasprostranjenosti na teritoriju Bosne i Hercegovine i Hrvatske.

Polazne hipoteze ovog istraživanja su:

1. Morfološke značajke uz filogenetičke analize daju potpuniju sliku intraspecijske raznolikosti slatkovodnih vrsta riba.
2. Filogenetički odnosi istraživanih vrsta roda *Scardinius* odgovaraju obrascu njihove geografske rasprostranjenosti.
3. Populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu nepotpuno razriješenog taksonomskog statusa pripada vrsti *S. dergle*.
4. Geografska izolacija pojedinih populacija slatkovodnih vrsta riba doprinosi njihovoj postupnoj divergenciji.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Povijesni pregled taksonomije i sistematike vrsta unutar roda *Scardinius*

Vrste roda *Scardinius* pripadaju potporodici Leuciscinae, porodici Leuciscidae, redu Cypriniformes (šaranke), nadredu pravih koštunjača (Teleostei), razredu zrakoperki (Actinopterygii), potkoljenu kralješnjaka (Vertebrata) i koljenu svitkovaca (Chordata). Ribe reda Cypriniformes gotovo su potpuno ograničene na slatkovodna staništa, brojnosti veće od 4600 vrsta smještenih u 23 porodice. Porodica Cyprinidae, kojoj je do nedavno pripadala potporodica Leuciscinae, najveća je porodica slatkovodnih vrsta riba unutar ovog reda s opisanih oko 157 rodova i 1700 vrsta (Fricke i sur. 2020), a njena taksonomija veoma je kompleksna i temelj mnogobrojnih znanstvenih istraživanja i rasprava (Chen i sur. 1984, Howes 1991, Briolay i sur. 1998, Liu i sur. 2002, He i sur. 2008, Chen i Mayden 2009, Mayden i Chen 2010, Wang i sur. 2012). Novijim filogenetičkim istraživanjima status potporodice *Leuciscinae* uzdignut je na status porodice (Cavender i Coburn 1992, Bufalino i Mayden 2010, Mayden i Chen 2010, Schönhuth i sur. 2018).

Unutar roda *Scardinius* opisano je 10 vrsta: *S. acarnanicus* Economidis, 1991, *S. dergle* Heckel i Kner, 1858, *S. elmaliensis* Bogutskaya, 1997, *S. erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758), *S. graecus* Stephanidis, 1937, *S. hesperidicus* Bonaparte, 1845, *S. knezevici* Bianco i Kottelat, 2005, *S. plotizza* Heckel i Kner, 1858, *S. racovitzai* Müller, 1958 i *S. scardafa* (Bonaparte, 1837) (Bogutskaya 1997, Kottelat i Freyhof 2007, Roskov i sur. 2019). Nominalna vrsta, crvenperka (*S. erythrophthalmus*), široko je rasprostranjena, dok ostale vrste unutar roda imaju usku geografsku rasprostranjenost.

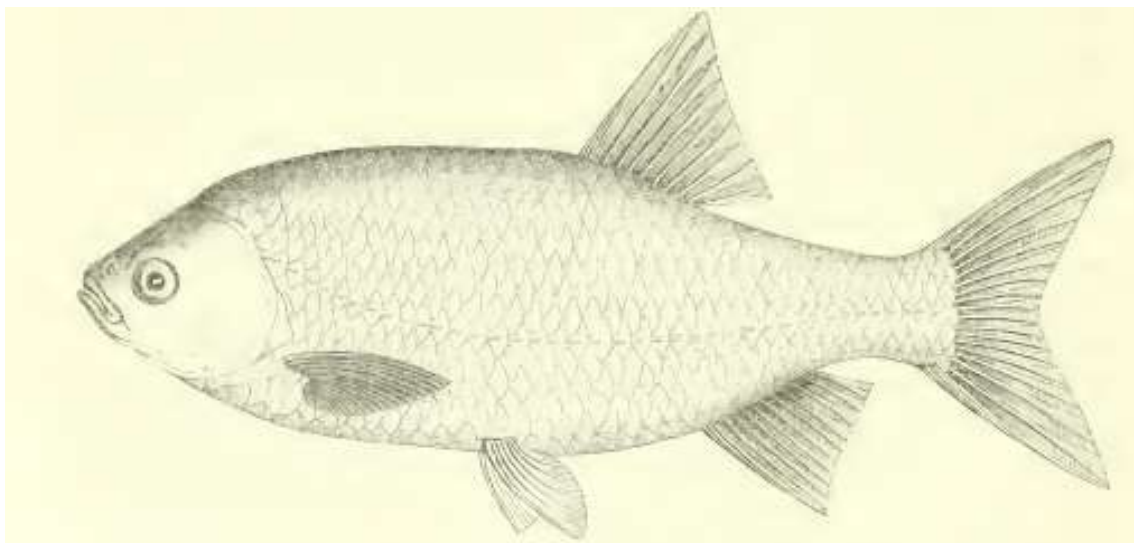
Zbog velike morfološke sličnosti ovih vrsta, kao i nedostatka detaljnih filogenetičkih istraživanja, taksonomski položaj i točna rasprostranjenost vrsta unutar ovog roda dugo je bila predmet znanstvenih rasprava i još uvijek nije u potpunosti razriješena (Karaman 1928, Vuković i Ivanišević 1962, Ketmaier i sur. 2003, Ketmaier i sur. 2004, Bianco i Kottelat 2005, Perea i sur. 2010). Iako Kottelat i Freyhof (2007) navode da je geografsko podrijetlo dobra polazna točka za determinaciju vrsta, kroz

povijest je čest slučaj bila netočna determinacija vrsta unutar ovog roda, upravo zbog velike morfološke sličnosti, koja je kasnije djelomično razjašnjena filogenetičkim istraživanjima. Također, validnost samog roda *Scardinius* je bila upitna. Temeljem morfoloških i merističkih značajki, Wheeler (1976) je zabilježio hibride između vrsta *S. erythrophthalmus* i *Rutilus rutilus* ((Linnaeus 1758). Nadalje, temeljem istraživanja koja je proveo, Howes (1981) je smatrao da se rod *Scardinius* ne razlikuje od roda *Rutilus*, odnosno da pripada rodu *Rutilus*. Svoje mišljenje je, kao i Wheeler (1976), temeljio na prisutnosti hibrida između ova dva roda te je istaknuo da smatra kako u takvim slučajevima nije opravdano svrstavanje u dva roda. S druge strane, Kottelat (1997) navodi da smatra rod *Scardinius* zasebnim rodom.

Povijesni pregled taksonomskog statusa pojedinih vrsta unutar roda *Scardinius* prikazuje kompleksnost i problematiku prisutnu kod utvrđivanja taksonomskog položaja, odnosa između pojedinih vrsta i populacija unutar ovog roda te njihove rasprostranjenosti.

Vrstu *S. acarnanicus* Economidis, 1991, Stephanidis (1939) na uzorcima iz jezera Trichonis i Lyssimachia, iz porječja rijeke Acheleoos (Grčka), navodi kao *S. scardafa plotizza* forma *acarnanicus*. Economidis (1991) navodi vrstu kao *S. acarnanicus*, a Kottelat (1997) smatra ovu vrstu validnom te se ona navodi kao *S. acarnanicus* i u Kottelat i Freyhof (2007).

Drlju *S. dergle* (slika 2.1.) prvi puta su opisali Heckel i Kner (1858) na uzorcima iz rijeke Krke i Zrmanje u Republici Hrvatskoj i uzorcima iz Livna u Bosni i Hercegovini.



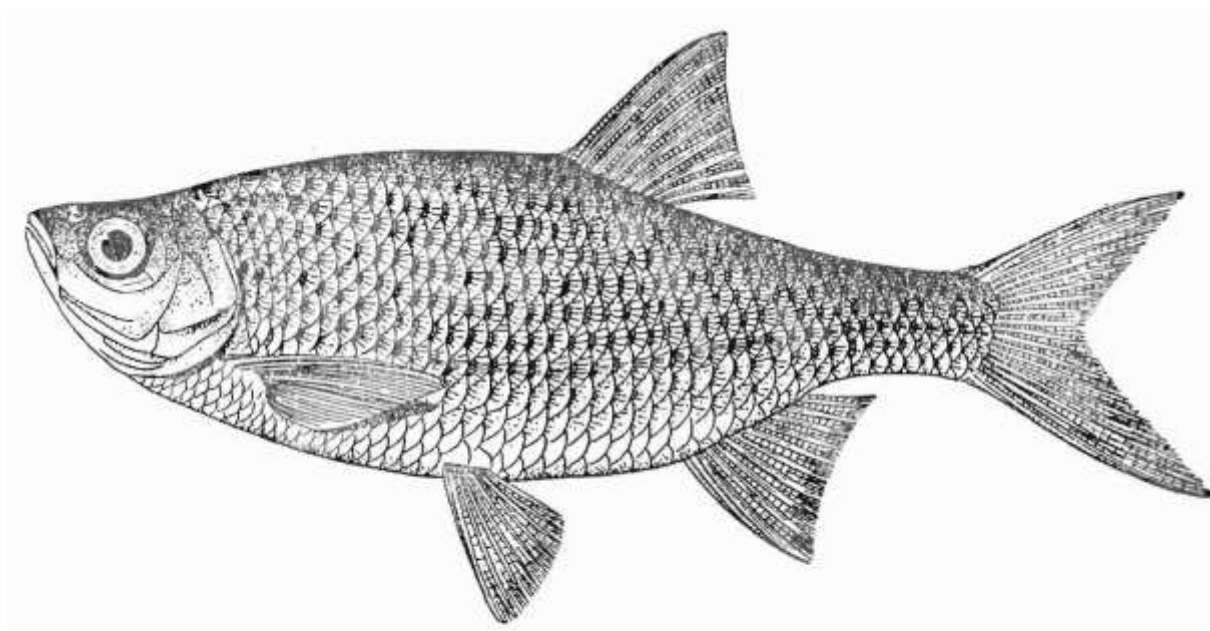
Slika 2.1. Drlja (*Scardinius dergle*) (preuzeto iz Heckel i Kner 1858)

Heckel (1851) navodi drlju kao *S. e. hesperidicus*. Ova se forma po Karamanu (1928) odvaja od dunavske forme većim ustima i tamnom bojom peraja. Autor navodi da, u usporedbi sa *S. ssp. scardafa*, primjerci ove forme iz rijeke Krke imaju relativno manja usta i više tijelo, a u analnoj peraji uvijek 10 - 11 razgranatih šipčica. Forma je rasprostranjena po Karamanu (1928) u rijeci Krki kod Knina i u Vranskom jezeru na otoku Cresu. Ostali sinonimi za ovu vrstu prema Mrakovčić i sur. (2006) su *S. hesperidicus* Bonaparte, 1845, *Rutilus heegeri* Agassiz, 1835, *Leuciscus scardafa* Bonaparte, 1837, *Leuciscus marrochius* Costa, 1838, *S. scardafa* Bonaparte, 1837, *S. platizza* Heckel, 1845 i *S. erythrophthalmus* Linnaeus, 1758. Bianco i Kottelat (2005) navode vrstu, temeljem uzoraka iz Krke, kao *S. cf. erythrophthalmus*. Nadalje, taksonomski položaj populacije drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu i dalje je upitan. Topić Popović i sur. (2001) proveli su istraživanje zdravstvenog statusa populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu te navode da se radi o podvrsti *S. e. hesperidicus*. Šprem i sur. (2010) proveli su istraživanje morfometrijskih značajki jedinke iz Vranskog jezera na otoku Cresu te navode da se radi o vrsti *S. erythrophthalmus*, no u ovom slučaju se vjerojatno radi o pogrešnoj determinaciji. Temeljem provedenih filogenetičkih istraživanja Valić i sur. (2013) smatraju da populacija drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu pripada vrsti *S. hesperidicus*, a Perea i sur. (2010) uzorke iz rijeke Krke također navode kao *S. hesperidicus*.

Vrstu *S. elmaliensis* opisala je Bogutskaya (1997) temeljem uzoraka iz kanala u Karagölu, Turska. Karataş i sur. (2016) proveli su filogenetička istraživanja na dodatnih

pet lokaliteta rasprostranjenosti ove vrste u Turskoj te potvrdili njenu prisutnost u jezerima Gölhisar, Çayboğazi, Osmankalfalar, Yapraklı i Çavdır.

Vrsta *S. erythrophthalmus* (slika 2.2.) kao nominalna vrsta ovog roda ima izrazito kompleksnu taksonomsku povijest. Vrstu je prvi puta opisao Linnaeus 1758. godine kao *Cyprinus Erythrophthalmus*, temeljem opisa iz Linnaeus (1746) i Artedi (1738). Tijekom povijesti, vrsta je opisivana kao *Cyprinus erythrops* (Pallas 1814), *Cyprinus Compressus* (Hollberg 1822), *Cyprinus Scardula* (Nardo 1827), *Cyprinus caeruleus* (Yarrell 1833), *Cyprinus fuscus* (Vallot 1837), *S. hesperidicus* (nomen nudum) (Heckel 1843, Bonaparte 1844 i 1845), *S. platizza* (nomen nudum) (Bonaparte 1846), *S. macrophthalmus* (Heckel 1853), *Leuciscus Apollonitis* (Richardson 1856), *S. macrophthalmus* (Heckel i Kner 1858), *S. dergle* (Heckel i Kner 1858), *S. plotizza* (Heckel i Kner 1858), *S. crocophthalmus* (Walecki 1863), *S. erythrophthalmus* morpha *rutiloides* (Vladykov 1931) i *S. erythrophthalmus* var. *achrus* (Stephanidis 1950).



Slika 2.2. Crvenperka (*Scardinius erythrophthalmus*) (preuzeto iz Vuković i Ivanović 1971).

Seeley (1886) unutar vrste *Leuciscus erythrophthalmus* razlikuje *Leuciscus erythrophthalmus* var. *dergle*, *Leuciscus erythrophthalmus* var. *plotizza*, *Leuciscus erythrophthalmus* var. *scardafa*, *Leuciscus erythrophthalmus* var. *hesperidicus* i *Leuciscus erythrophthalmus* var. *macrophthalmus*. Karaman (1924) opisuje formu *S. e. dojransensis*, za koju navodi da se od *S. erythrophthalmus* razlikuje po znatno većem

obimu usta, što je inače, karakteristično za zapadno-balkanske oblike. Vuković i Ivanović (1971) navode da u tadašnjoj Jugoslaviji dolaze sljedeće podvrste ove vrste: crvenperka *S. e. erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758), peškelj *S. e. scardafa* (Bonaparte, 1832), *S. e. hesperidicus* Heckel, 1851 i *S. e. dojranensis* Karaman, 1924. Za podvrstu *S. e. scardafa* Vladykov i Petit (1930) izdvajaju, u okviru podvrste *S. e. scardafa*, posebnu formu za Ohridsko jezero *S. e. scardafa natio ohridanus*. Vuković i Ivanišević (1962) uspoređujući merističke značajke *S. e. scardafa* iz donje Neretve i Skadarskog jezera dolaze do zaključka da se radi o populacijama koje se morfološki razlikuju. Autori su smatrali da populaciju iz Ohridskog jezera ne treba izdvajati, jer za to nema taksonomskog opravdanja. Grupče i Dimovski (1984) istraživali su razlike u merističkim i morfološkim značajkama *S. e. scardafa* iz jezera Ohrid i Skadar te *S. e. dojranensis* iz jezera Dojran te zaključili da se radi o dvije različite podvrste *S. erythrophthalmus*. Temeljem njihovog istraživanja *S. e. dojranensis* se razlikovala od *S. e. scardafa* po većem broju mekih šipčica u podrepnoj peraji, većem broju ljusaka u bočnoj pruzi te iznad i ispod bočne pruge, po crvenkasto obojenim perajama, po dužoj trbušnoj i podrepnoj peraji, po manjoj preanalnoj (aA) i preventralnoj (aV) udaljenosti u odnosu na dužinu tijela i većem promjeru oka (Oh) u odnosu na duljinu glave. *S. e. dojranensis* je prema Fricke i sur. (2020) također sinonim za *S. erythrophthalmus*.

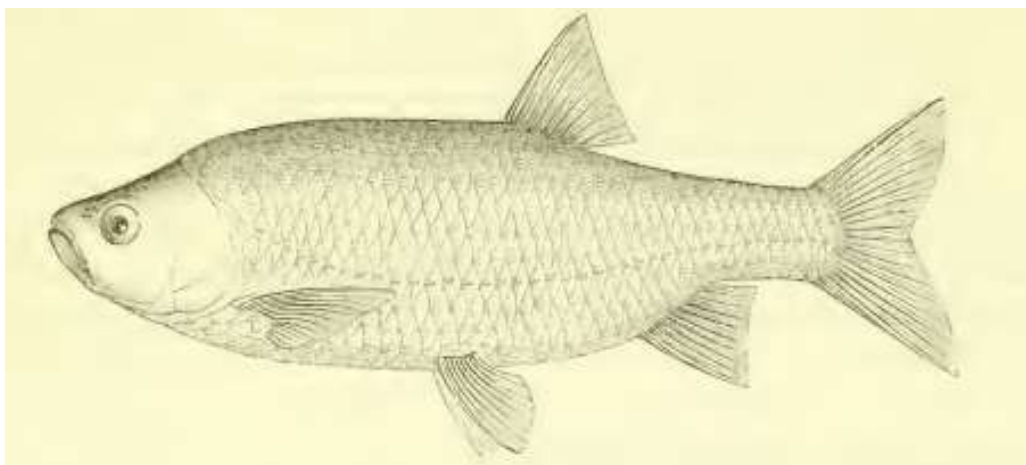
Stephanidis (1937) navodi *S. graecus* kao zasebnu vrstu. Economidis i Bănărescu (1991) navode da *S. graecus* nije blisko srodna sa srednjoeuropskom vrstom *S. erythrophthalmus*, dok su Iliadou i sur. (1996) temeljem morfoloških analiza potvrdili da se *S. graecus* značajno razlikuje od ostalih vrsta ovog roda koje dolaze u Grčkoj (*S. erythrophthalmus* i *S. acarnanicus*).

Vrstu *S. hesperidicus* prvi puta je opisao Bonaparte (1845). Bianco i Kottelat (2005) navode vrstu, odnosno populaciju iz Padano-Venecijanske regije, kao *S. cf. erythrophthalmus*. Kottelat i Freyhof (2009) navode da je sinonim za ovu vrstu *Scardinius rhodophthalmus* Heckel prema Costa (1845). Ostali sinonimi za vrstu su *Leuciscus heegeri* Agassiz, 1835 (nomen nudum), *Leuciscus heegeri* Bonaparte, 1837 (nomen nudum) i *Heegerius typus* Bonaparte, 1845.

Vrstu *S. knezevici*, kao formu *S. e. scardafa* Vladykov i Petit (1930) izdvajaju za Ohridsko jezero, u okviru podvrste *S. e. scardafa*, posebnu formu *S. e. scardafa natio*

ohridanus. Vuković i Ivanišević (1962) su temeljem istraživanja merističkih značajki *S. e. scardafa* (Bonaparte) iz Skadarskog jezera utvrdili da se radi o populaciji koja se morfološki razlikuje od *S. e. scardafa* iz Neretve. Bianco i Kottelat (2005) opisali su *S. knezevici* kao novu vrstu unutar roda, a vrsta je opisana na uzorcima iz jezera Skadar u Crnoj Gori. Vrsta je također prisutna u Ohridskom jezeru. Prema Bianco i Kottelat (2005), *S. knezevici* razlikuje se od *S. cf. erythrophthalmus* iz Neretve i Krke po tome što ima uže tijelo, manje ljustaka u bočnoj pruzi i manje razgranatih šipčica u analnoj (podreпноj) peraji. Od dunavskih populacija *S. erythrophthalmus* i populacija *S. cf. erythrophthalmus* iz Padano-Venecijanske regije, ova vrsta se razlikuje po manjem broju razgranatih šipčica u dorzalnoj (leđnoj) i analnoj (podreпноj) peraji te po manjem broju ljustaka u bočnoj pruzi. Od *S. scardafa* iz Italije razlikuje se po manjem broju škržnih šipčica te manjem broju ljustaka u bočnoj pruzi. Vrsta *S. knezevici* razlikuje se od *S. acarnanicus* i *S. graecus* iz Grčke po manjem broju škržnih šipčica, manjem broju ljustaka u bočnoj pruzi te manjem broju razgranatih šipčica u analnoj (podreпноj) peraji. Simić i sur. (2012) temeljem analize morfometrijskih značajki navode nalaz vrste *S. knezevici* u Vlasinskom jezeru u Republici Srbiji. No, s obzirom na to da vrsta ne pripada dunavskom slijevu, vjerojatno se radi o pogrešnoj determinaciji.

Vrstu *S. plotizza* (slika 2.3.) prvi puta su opisali Heckel i Kner (1858) na uzorcima iz jezera kod Vrgorca i Imotskog u Republici Hrvatskoj te na uzorcima iz Livna u Bosni i Hercegovini.



Slika 2.3. *S. plotizza* (preuzeto iz Heckel i Kner 1858)

Bonaparte (1837) navodi vrstu pod imenom *S. e. scardafa*, a slijede ga i Karaman (1928), Berg (1933), Vuković (1977) i Kosorić i sur. (1983). Podvrsta *S. e. scardafa* (Bonaparte, 1832) se po Karamanu (1928) razlikuje od *S. e. erythrophthalmus* po većim ustima, dužom glavom, širim čelom, jače ispruženim tijelom i svim perajama tamne boje. Vuković i Ivanišević (1962) proveli su istraživanje merističkih značajki peškelja, *S. plotizza*, tadašnjeg taksonomskog statusa *S. e. scardafa* (Bonaparte) iz donje Neretve i Skadarskog jezera te zaključili da se radi o dvije morfološki različite populacije ove podvrste. Statistički značajne razlike su utvrđene u broju branhiospina (škržnih šipčica) i ljusta u bočnoj pruzi. Prema Kosorić (1978) peškelj naseljava Hutovo blato pri čemu ga autor naziva *S. e. scardafa* (Bonaparte), crvenperka, odnosno keljavac. Economidis i Bănărescu (1991) smatraju *S. plotizza* zasebnom vrstom, bez dodatnih obrazloženja, dok Bianco i Kottelat (2005) navode vrstu kao *S. cf. erythrophthalmus*. Ostali sinonimi za ovu vrstu, prema Mrakovčić i sur. (2006), su *S. scardafa* Bonaparte, 1837, *Rutilus heegeri* Agassiz, 1835, *Leuciscus scardafa* Bonaparte, 1837, *Leuciscus scarpata* Bonaparte, 1837, *Leuciscus marrochius* Costa, 1838, *Leuciscus heegeri* Bonaparte, 1839 i *Leuciscus scarpetta* Valenciennes, 1844.

Vrstu *S. racovitzai* Müller (1958) navodi po prvi puta kao zasebnu vrstu. Bănărescu (1964) temeljem morfoloških značajki utvrđuje da je ova vrsta zapravo podvrsta *S. erythrophthalmus*. Također, Mihai-Bardan (1984) navodi da se radi o podvrsti *S. e. racovitzai* Müller, 1958. Kottelat (1997) napominje da, uzimajući u obzir razlike između taksona koje su dali Müller (1958) i Bănărescu (1964) (maksimalna veličina, broj kralježaka, opći izgled) i odsutnost dokaza koji bi ukazali na postojanje formi ili fenotipske plastičnosti, smatra ovu vrstu validnom.

Kroz povijest *S. scardafa* determinirana je kao *Rutilus heegeri* Agassiz, 1835 (nomen nudum), *Leuciscus scardafa* Bonaparte, 1837 (Bonaparte 1832 - 1841) (tipski lokaliteti jezero Nemi, Ronciglione, Bracciano, Fogliano i ostala te mnogi kanali u Italiji), *Leuciscus scarpata* Bonaparte, 1837 (nomen nudum; jezero Trasimeno, Italija) (Bonaparte 1832 - 1841), *Leusicus marrochius* Costa, 1838 (prema Tortonese jezero Fuccino, Italija) (Costa 1830 - 1857), *Leuciscus Heegeri* Bonaparte, 1839 (tipski lokalitet potoci u Istri) (Bonaparte 1832 - 1841), *Heegerius typus* Bonaparte, 1844 (zamjena za ime *Leuciscus Heegeri*) te *Leuciscus scarpetta* Valenciennes (jezero

Trasimeno, Italija) (Cuvier i Valenciennes 1844), sintip u Bertin i Estève (1948). Bianco (1994) navodi *S. scardafa* kao zasebnu vrstu, a Kottelat (1997) smatra vrstu validnom prema Bianco (1990, 1994 i 1995a) te Economidis i Bănărescu (1991). Analiza mitohondrijske DNA fragmenta tkiva jednog sintipa (ANSP 6211 - 6270, kojeg je sakupio Bonaparte između 1820. i 1830. godine) pokazuje da je sekvenca gena za citokrom *b* identična onoj sadašnjih uzoraka iz jezera Scanno (Bianco 2004), pri čemu je potrebno napomenuti da je ova vrsta unesena u jezero Scanno iz jezera Fucino prije nego je ono isušeno. Dakle, radi se o unesenoj populaciji, odnosno populaciji koji nije autohtona.

2.2. Biologija, ekologija i rasprostranjenost vrsta unutar roda *Scardinius*

Rodu *Scardinius* pripadaju ribe male do srednje veličine, koje žive u raznolikim staništima, od jezera do sporo tekućih velikih rijeka, u kojima je prisutna uronjena vodena vegetacija. Nekoliko vrsta karakteriziraju tamno sive peraje u odraslih jedinki. Također, nedorasle jedinke nekih vrsta s tamno sivim perajama imaju narančaste ili crvene peraje koje mijenjaju boju tijekom odrastanja. Kod nedoraslih jedinki dijagnostički oblici glave su jedva vidljivi, što je razlog da se jedino odrasle jedinke veće od 100 mm standardne duljine tijela (SL) mogu identificirati prema determinističkim značajkama (osim *S. racovitzai* koja ne doseže ovu veličinu). Sve vrste su alopatrijske, a geografsko podrijetlo je za većinu vrsta dobra polazna točka za njihovu determinaciju (Kottelat i Freyhof 2007). Unutar roda, opisano je ukupno 10 vrsta: *S. acarnanicus*, *S. dergle*, *S. elmaliensis*, *S. erythrophthalmus*, *S. graecus*, *S. hesperidicus*, *S. knezevici*, *S. plotizza*, *S. racovitzai* i *S. scardafa* (Bogutskaya 1997, Kottelat i Freyhof 2007, Roskov i sur. 2019).

Scardinius acarnanicus

Vrsta *S. acarnanicus* rasprostranjena je u Grčkoj, u donjem toku porječja rijeke Acheloos, uključujući jezera (slika 2.4.). Jedinke žive do sedam godina, a razmnožavaju se prvi put kod veličine 140 - 180 mm u drugoj ili trećoj godini života. Ova vrsta ima višestruki mrijest, a mrijesti se od ožujka do lipnja. Polaže ljepljiva jajašca na vegetaciju, a jajašca se izliježu nakon pet dana. Mlade ličinke i nedorasle jedinke često formiraju velika jata. Nedorasle se jedinke hrane fitoplanktonom, a odrasli makrofitima (Kottelat i Freyhof 2007). Vrsta *S. acarnanicus* razlikuje se od ostalih vrsta roda *Scardinius* prema sljedećim determinističkim značajkama: konkavni dorzalni profil glave, usta usmjerena prema gore, vrh usta iznad razine sredine oka, s bočnog profila oko je blizu dorzalnog dijelu glave, artikulacija donje čeljusti ispred anteriorne margine oka, duljina glave 24 - 30 % SL, obično 10½ razgranatih analnih šipčica, 13 - 16 šipčica u prsnim perajama, 12 - 17 škržnih šipčica, nedorasle jedinke manje od 70 mm SL s tamnom bočnom crtom, 37 - 42+2 - 3 ljusaka u bočnoj pruzi i veličina do 280 mm SL (Kottelat i Freyhof 2007).



Slika 2.4. Rasprostranjenost *Scardinius acarnanicus* (prilagođeno iz Crivelli 2006a)

***Scardinius dergle* – drlja**

Drlja je rasprostranjena u krškim izvorima u Livanjskom polju, Buškom i Mandečkom jezeru pokraj Livna, u Šarenim jezerima kod Knina te u porječju rijeka Krke i Cetine (slika 2.5.). Živi u sporo tekućim vodama, riječnim rukavcima, stajaćicama i jezerima. Limnofilna je vrsta koja nastanjuje riječno korito i okolna poplavna područja s razvijenom podvodnom vegetacijom. Zadržava se u jatima među vodenim biljem. Hrani se planktonom, vodenim biljem, faunom dna, ali i kopnenim kukcima koji slučajno upadnu u vodu. Jedinke spolno sazrijevaju u trećoj i četvrtoj godini života, a mrijeste se u proljeće na plićim mjestima obraslima vodenom vegetacijom. Ženka odlaže jaja na vodeno bilje koje zatim oploduje nekoliko mužjaka. Može se mrijestiti nekoliko puta godišnje. Dobro podnosi niže koncentracije kisika i visoke temperature vode (Mrakovčić i sur. 2006, Kottelat i Freyhof 2007, Čaleta i sur. 2015). Kod ove vrste nedorasle jedinice imaju crveno obojene peraje, dok su kod odraslih jedinki one tamnosive boje (Čaleta i sur. 2015), što je prikazano na slici 2.6.



Slika 2.5. Rasprostranjenost drlje (*Scardinius. dergle*) (prilagođeno iz Freyhof i Kottelat 2008a)



Slika 2.6. Crveno obojene peraje na nedorasloj (lijevo) i tamnosive peraje na odrasloj jedinci drlje (desno) (Foto: Tanja Mihinjač, Perica Mustafić)

Drlja se od ostalih vrsta roda *Scardinius* razlikuje po sljedećim determinističkim značajkama: ravni dorzalni profil glave, usta usmjerena prema naprijed, vrh usta u razini ili malo ispod razine sredine oka, dorzalna strana nema grbicu iza glave, s bočnog profila oko nije blizu dorzalnog dijelu glave, artikulacija donje čeljusti ispod ili ispred anteriorne margine oka, donji profil glave s izraženim kutom na artikulaciju donje čeljusti, duljina glave 28 - 32 % SL, visina tijela 28 - 38 % SL, visina repnog drška 10 - 11 % SL, 10½ razgranatih analnih šipčica, 10 - 13 škržnih šipčica, 40 - 43 ljusaka u bočnoj pruzi, sve peraje tamno sive kod odraslih većih od 60 mm SL te veličina do 150 mm SL.

Scardinius elmaliensis

Vrsta *S. elmaliensis* rasprostranjena je na području kanala u Karagölu te u jezerima Gölhisar, Çayboğazı, Osmankalfalar, Yapraklı i Çavdır u Turskoj (slika 2.7.). Razlikuje se od *S. erythrophthalmus* u manjem broju razgranatih analnih šipčica, 9 - 11 vs 11 - 13 te većem broju škržnih šipčica, 15 - 22 vs 9 - 12 (Bogutskaya 1997, Karataş i sur. 2016).



Slika 2.7. Rasprostranjenost *Scardinius elmaliensis* (prilagođeno iz Freyhof 2014)

***Scardinius erythrophthalmus* – crvenperka**

Crvenperka je rasprostranjena u većini europskih rijeka sjeverno od Pireneja i Alpa te istočno do porječja Urala i Eye te sljevova Aralskog i Bijelog mora. Također je prisutna u crnomorskom slijevu u Europi i sjevernoj Maloj Aziji (slika 2.8.). Prirodno je odsutna na Pirenejskom poluotoku, u vodama jadranskog slijeva, Italiji, Grčkoj južno od porječja rijeke Pinios, Velikoj Britaniji sjeverno od 54 °N te Irskoj i Skandinaviji sjeverno od 62 °N. Unesena je u Španjolsku i na Korziku. Uglavnom nastanjuje nizinske rijeke, zaobalne vode, mrtvice, jezera i ribnjake koji su bogati hranjivim tvarima i vegetacijom. Jedinke žive do 17 godina. Prvi put se mrijesti u trećoj ili četvrtoj godini. Ima višestruki mrijest, a mrijesti na korijenju i povodnom bilju u travnju i svibnju kada temperatura naraste iznad 15 °C. Mužjaci se okupljaju na područjima mrijesta i tjeraju ženke u gustu vegetaciju da polože jajašca. Crvenperka se hrani uglavnom planktonom, kopnenim kukcima i biljnim materijalom. Ima sposobnost

prilagodbe na nepovoljne okolišne uvjete – spori rast i mala veličina kod spolne zrelosti (engl. stunted populations) (Kottelat i Freyhof 2007).

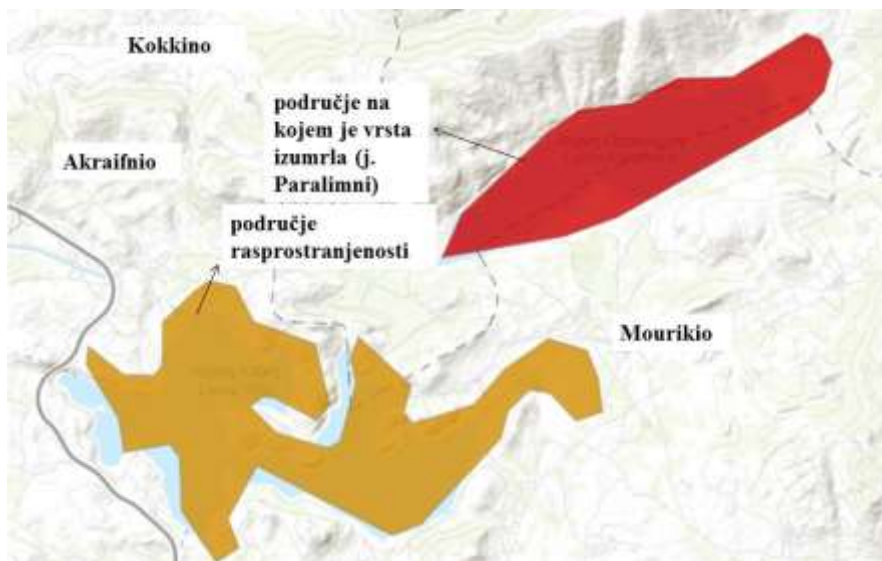


Slika 2.8. Rasprostranjenost crvenperke (*Scardinius erythrophthalmus*) (prilagođeno iz Freyhof i Kottelat 2008b)

Crvenperka se razlikuje od ostalih vrsta roda *Scardinius* po sljedećim determinističkim značajkama: dorzalni profil glave ravan ili blago konveksan, usta prema naprijed s vrhom u razini ili malo iznad razine sredine oka, leđa nemaju grbicu iza glave, s bočnog profila oko nije blizu dorzalnom dijelu glave, artikulacija donje čeljusti ispred anteriorne margine oka, 10½ razgranatih šipčica u analnoj peraji, 39 - 42 ljuske u bočnoj pruzi, 9 - 12 škržnih šipčica, sve peraje crvenkaste, trbušna peraja tamnocrvena, glava i tijelo zbijeni, širina glave 13 - 14 % SL, dužina glave 24 - 28 % SL, visina repnog drška 1,5 - 2,0 puta svoje dužine, 11 - 12 % SL te veličina do 350 mm SL (Kottelat i Freyhof 2007).

Scardinius graecus

Vrsta *S. graecus* rasprostranjena je u Grčkoj u jezeru Yliki te je bila prisutna i u jezeru Paralimni prije njegova ispuštanja (slika 2.9.). Ima višestruki mrijest, a mrijesti se od ožujka do lipnja. Ženke polažu ljepljiva, kuglasta jajašca u vegetaciju, a ličinke se izliježu za četiri dana na temperaturi od 25 °C (Kottelat i Freyhof 2007).



Slika 2.9. Rasprostranjenost *Scardinius graecus* (prilagođeno iz Crivelli 2006b)

Vrsta *S. graecus* se razlikuje od ostalih vrsta roda *Scardinius* po sljedećim determinističkim značajkama: konkavni dorzalni profil glave, razina usta iznad razine sredine oka, artikulacija donje čeljusti ispod ili iza anteriorne margine oka, s bočnog profila oko blizu dorzalnog profilu glave, duljina glave 24 - 35 % SL, dubina tijela 20 - 30 % SL, obično 11½ razgranatih šipčica u analnoj peraji, 14 - 18 šipčica u prsnoj peraji, 17 - 24 škržnih šipčica, 38 - 43+2 - 3 ljusaka u bočnoj pruzi te veličina do 360 mm SL (Kottelat i Freyhof 2007).

Scardinius hesperidicus

Vrsta *S. hesperidicus* prirodno je rasprostranjena u Jadranskom i Tirenskom bazenu u Sloveniji, Italiji i Švicarskoj te je unesena na većem području u Italiji (slika 2.10.). Stanište joj predstavljaju nizinske rijeke s mnogo vegetacije, zaobalne vode, mrtvice, bazenčići i jezera. Jedinke žive do 15 godina. Mrijesti na vegetaciji pod vodom, a postaje spolno zrela u drugoj ili trećoj godini života te ima višestruki mrijest. Mrijesti od ožujka do lipnja, kada temperatura vode naraste iznad 18 °C. Uglavnom se hrani makrofitima i kopnenim kukcima. Tvori lokalne hibridne populacije s unesenom *S. erythrophthalmus* (Kottelat i Freyhof 2007).



Slika 2.10. Rasprostranjenost *Scardinius hesperidicus* (prilagođeno iz Freyhof i Kottelat 2008c)

Vrsta *S. hesperidicus* se razlikuje od ostalih vrsta roda *Scardinius* po sljedećim determinističkim značajkama: ravni ili blago konveksni dorzalni profil glave, usta prema naprijed, vrh usta na ili malo iznad razine sredine oka, leđa nemaju grbicu iza glave, s bočnog profila oko nije blizu dorzalnom profilu glave, artikulacija donje čeljusti ispred anteriorne margine oka, profil glave bez primjetnog kuta na artikulaciju donje čeljusti, duljina glave 24 - 27 % SL, dubina tijela 35 - 39 % SL, visina repnog drška 11 - 12 % SL, 10 - 12½ razgranatih šipčica u analnoj peraji, 36 - 39+2 - 3 ljustaka u bočnoj pruzi, sve peraje su tamnosive kod odraslih većih od 100 mm SL te veličina do 400 mm SL (Kottelat i Freyhof 2007).

***Scardinius plotizza* - peškelj**

Peškelj (slika 2.11.) je rasprostranjen u Bosni i Hercegovini i Hrvatskoj na srednjem i donjem dijelu porječja rijeke Neretve (slika 2.12.). U Hrvatskoj nastanjuje još i jezero Desne i Kutu, Baćinska jezera te rijeku Norin. Hrani se pretežito vodenim biljem, ali i faunom dna. Spolnu zrelost dostiže u trećoj godini života, a mrijesti se na bilju (fitofil). Limnofilna je vrsta koja nastanjuje poplavnu zonu i riječno korito, a zadržava se u jatima. Prvenstveno boravi u plitkim i mirnim tokovima i riječnim rukavcima porječja Neretve. Naseljava sporo tekuće i stajaće vode s podvodnom vegetacijom (Mrakovčić i sur. 2006, Kottelat i Freyhof 2007, Čaleta i sur. 2015).



Slika 2.11. Peškelj (*Scardinius plotizza*) (Foto: Perica Mustafić)



Slika 2.12. Rasprostranjenost peškelja (*Scardinius plotizza*) (prilagođeno iz Freyhof i Kottelat 2008e)

Peškelj se razlikuje od ostalih vrsta roda *Scardinius* po sljedećim determinističkim značajkama: ravni dorzalni profil glave, usta prema naprijed s vrhom

iznad razine sredine oka, dorzalna strana nema grbicu iza glave, s bočnog profila oko nije blizu dorzalnom dijelu glave, duljina glave 29 - 31 % SL, 11 - 14 škržnih šipčica, 37 - 40 ljustaka u bočnoj pruzi, 9½ razgranatih šipčica u analnoj peraji, artikulacija donje čeljusti ispod ili ispred anteriorne margine oka, ventralni profil glave s izraženim kutom na artikulaciju donje čeljusti, sve peraje tamnosive kod odraslih te veličine do 200 mm SL (Kottelat i Freyhof 2007).

Scardinius knezevici

Vrsta *S. knezevici* rasprostranjena je u jezerima Ohrid (Makedonija i Albanija) i Skadar (Crna Gora i Albanija) (slika 2.13.). Živi u dubokim bazenima i kanalima u močvarnim područjima uz obale jezera i poplavnih područja. Razmnožava se u travnju i svibnju (Kottelat i Freyhof 2007). Razlikuje se od ostalih vrsta roda *Scardinius* po sljedećim determinističkim značajkama: 34 - 37+2 - 3 ljustaka u bočnoj pruzi (prema Bianco i Kottelat (2005) 36 - 38 ljustaka u bočnoj pruzi, obično 35 - 39), 9½ razgranatih šipčica u analnoj peraji, leđa imaju grbicu iza glave, sve peraje sivkaste, artikulacija donje čeljusti ispred anteriorne margine oka, s bočnog profila oko nije blizu dorzalnom dijelu glave, 10 - 12 škržnih šipčica te veličine do 260 mm SL (Kottelat i Freyhof 2007).



Slika 2.13. Rasprostranjenost *Scardinius knezevici* (prilagođeno iz Freyhof 2011)

Scardinius racovitzai

S. racovitzai rasprostranjena je u zapadnoj Rumunjskoj na termalnom izvoru Petzea (ili Baile Epiropesti) blizu Oradea na području površine oko 10 000 m² (slika 2.14.). Živi u plitkim termalnim izvorima s muljevitim dnom i gustom vegetacijom (Kottelat i Freyhof 2007).



Slika 2.14. Rasprostranjenost *Scardinius racovitzai* (prilagođeno iz Freyhof i Kottelat 2008d)

Razlikuje se od *S. erythrophthalmus* po kompaktnoj glavi i tijelu, širini glave 15 - 17 SL, duljini glave 28 - 31 % SL (vs. 24 - 28), duljini repnog drška 1,3 - 1,7 puta u njegovoj duljini (vs. 1,5 - 2,0) te veličine jedinki do 85 mm SL (Kottelat i Freyhof 2007).

Scardinius scardafa

Vrsta *S. scardafa* rasprostranjena je u Italiji na području Tirenskog bazena od porječja Magre do porječja Garigliano, na kojem je nekad bila česta vrsta. Unesena je u jezero Scanno u Italiji (koje je jedini lokalitet na kojem je opstala) iz jezera Fucino prije nego je isušeno te je možda prisutna u jezeru Piediluco (Bianco 2013) (slika 2.15.). Također je bila prisutna u jezeru Massaciuccoli u Italiji, ali trenutni status populacije nije poznat. Živi u jezerima, močvarama, u ili u blizini vodene vegetacije, a mrijesti se od travnja do lipnja. Veoma je otporna na niske razine kisika i onečišćenje (Kottelat i Freyhof 2007, Bianco 2004).

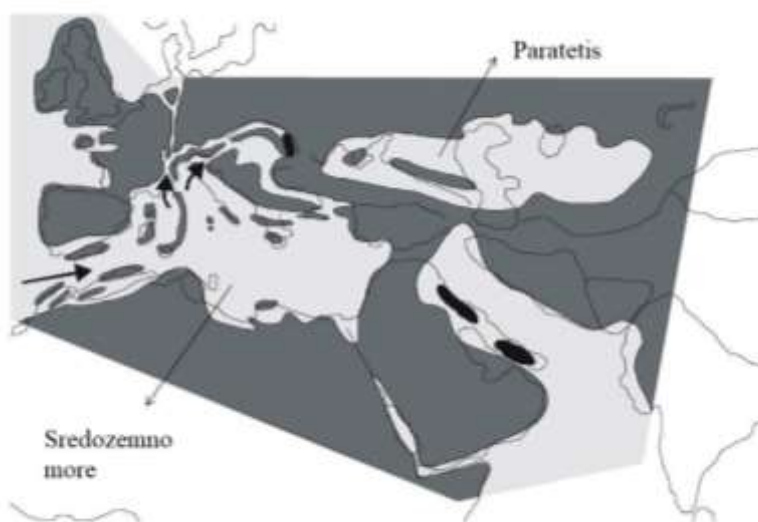


Slika 2.15. Rasprostranjenost *Scardinius scardafa* (prilagođeno iz Crivelli 2006c)

Vrsta *S. scardafa* razlikuje se od ostalih vrsta roda *Scardinius* po sljedećim determinističkim značajkama: 9 - 10½ razgranatih analnih šipčica, 37 - 40 ljustaka u bočnoj pruzi, 12 - 14 škržnih šipčica, visina tijela 31 - 36 % SL, ventralni profil glave bez izraženog ugla kod artikulacije donje čeljusti, sve peraje tamno sive. Veličina jedinki je do 350 mm SL (Kottelat i Freyhof 2007). Tijelo je srebrnkaste boje sa sivkastim perajama, a bazalni dio je crvenkast tijekom sezone mrijesta. Šarenica je briljantno crvena. U jezeru Scanno može doseći 350 mm SL i težinu od 0,6 - 0,7 kg. Ima 9 razgranatih šipčica u podrepnoj peraji, za razliku od 10 - 12 kod crvenperke iz sjeverne Italije i Dunavskog porječja (Bianco 2004).

2.3. Geološka povijest Sredozemnog mora i širenje primarno slatkovodnih riba

Sredozemno more je nastalo iz Tetisa, prostranog ekvatorijalnog oceana koji se pružao uzduž istočne obale Laurazije i Gondvane tijekom mezozoika i ranog kenozoika (Hsü i sur. 1973, Abrantes i sur. 2012). Od eocena (prije 38 milijuna godina) do miocena (prije 23 milijuna godina), Afrička tektonska ploča se polako rotirala i pomicala sjeverno prema Euroazijskoj ploči, uslijed čega je došlo do progresivnog prekida povezanosti Tetisa s Indijskim oceanom te stvaranja Paratetisa i Sredozemnog mora (Rögl 1999, Rögl i Hansen 2009). Tektonsko podizanje orogenskog pojasa Alpa i Karpata, koje je kulminiralo u kasnom eocenu i oligocenu, eliminiralo je većinu Tetisa (Hsü i sur. 1973) i dovelo do stvaranja Paratetisa te njegovog odvajanja od Sredozemnog mora tijekom oligocena, prije 23 - 33 milijuna godina (slika 2.16.). Kolizijom Afrike i Euroazije duž bliskoistočne fronte u srednjem miocenu, zatvorio se izlaz na istok, prema Indo-pacifiku (Hsü i sur. 1973). Europske rijeke su tijekom miocena, kao i danas, bile glavni izvor slatke vode u Sredozemnom moru te je izolacija Paratetisa stvorila velik hidrološki deficit u Sredozemlju, jer je većina slatke vode ovim događajem bila usmjerena u Paratetis (Abrantes i sur. 2012).



Slika 2.16. Odvajanje Paratetisa i Sredozemnog mora tijekom Oligocena (prilagođeno iz Rögl 1999)

Tijekom svoje povijesti, Sredozemno more je presušilo nekoliko puta, zadnji put prije 5,96 - 7,25 milijuna godina tijekom Mesinijske krize saliniteta (Abrantes i sur. 2012). Ovo je utvrđeno bušenjem oceanskog dna koje je otkrilo naslage soli u istočnom Sredozemlju koje su se mogle formirati jedino u slučaju da je cijelo Sredozemno more presušilo. Ova teorija uključuje snižavanje razine Atlantskog oceana ispod razine Gibraltarskog praga. Kada je postalo odvojeno od Atlantika, Sredozemno more je polako isparavalo, dotok slatke vode iz rijeka i oborina nije bio dovoljan da nadoknadi brzinu isparavanja (nadoknađivao je samo oko 10 % gubitaka isparavanjem) te bi u potpunosti presušilo za 15000 godina, snižavajući se 30-35 cm godišnje. Kada je presušilo, rijeka Rhona, Nil i rijeke crnomorskog slijeva (Dunav, Dnjepar, Don) urezale su duboke kanjone oko svojih korita koji su još uvijek vidljivi ispod mora, jer su tekle u tada prazno Sredozemno more (Garcia-Castellanos i sur. 2009). Tada su se biljke i životinje mogle širiti izravno na kopnene površine koje su danas otoci – Cipar, Kreta, Sicilija, Sardinija, Korzika i Balearsko otočje. Ponovno punjenje Sredozemnog mora započelo je početkom pliocena kada se podigla razina Atlantskog oceana te je trebalo oko 1000 godina da se sredozemni bazen ponovno napuni, brzinom 1 cm/dan (Hsü i sur. 1977, Hsü 1987, Stearns i Hoekstra 2005). Prema kraju Mesinijske krize, Sredozemno more je bilo ispunjeno nizom pustinskih i slanih jezera, a istočno Sredozemno more je bilo poplavljeno bočatom vodom, vjerojatno iz Paratetisa. Tada je nastao niz jezera poznatih pod nazivom „Lago Mare“, a u njihovim naslagama pohranjen je lapor ili dolomitni lapor s eurihalinom faunom sastava *Ammonia-Cyprideis* (Hsü i sur. 1973).

Eustatske promjene razine mora rezultirale su promjenama u hidrografskim mrežama, koje su tijekom pleistocenske regresije bile 100-200 m ispod današnje oceanske i sredozemne razine (Brown i Gibson 1983), dok su ledenjaci na kopnu bili debljine oko 3 km (CLIMAP 1976). Sniženje razine mora prije 15000-18000 godina tijekom Würmske glacijalne faze rezultiralo je odvajanjem gornjeg i srednjeg Jadrana s proširenjem porječja rijeke Po do srednje jadranskog jarka, odnosno do porječja Krke u Dalmaciji (CLIMAP 1976, Colantoni i sur. 1984). Proširenje porječja rijeke Po obuhvaćalo je velike rijeke s obje strane Jadranskog mora (Bianco 1990).

Prema hipotezi Bianca (1990, 1995b) proces specijacije, posebice endemskih primarno ili djelomično primarno slatkovodnih riba, vjerojatno se dogodio tijekom

„Lago Mare“ faze Sredozemnog mora (prije 5 milijuna godina), dok je današnja rasprostranjenost ovih vrsta rezultat recentnijih događaja, od pleistocena do danas. Bianco (1995a) je istraživao čimbenike koji utječu na rasprostranjenost autohtonih slatkovodnih vrsta riba u Italiji i ostalim perimediterranskim zemljama, temeljem njihove originalne rasprostranjenosti. Na današnju rasprostranjenost ovih vrsta utjecalo je nekoliko čimbenika, uključujući njihovu ekologiju, paleoekologiju i paleogeografiju područja. Glavni put širenja primarnih riječnih vrsta, prilagođenih na hladne uvjete, vjerojatno je bio riječnim rukavcima koji su se spajali s drugim vodotocima (engl. river capture), dok su se toplovodne riječne i jezerske vrste širile preko ušća rijeka u nizinama. U Italiji, nekoliko riječnih vrsta prilagođenih na hladnije uvjete su vrste koje dolaze i u dunavskom slijevu te se pretpostavlja da su nastanile Italiju tijekom pleistocena. Većina endemskih vrsta uskog područja rasprostranjenosti, od kojih su neke zajedničke s faunom zapadnog Balkana, kao što su vrste roda *Scardinius*, pripadaju kategoriji toplovodnih riječnih i jezerskih vrsta. Neke od ovih vrsta su vjerojatno izolirane tijekom srednjeg miocena (prije 10-15 milijuna godina), dok su ostale nastanile Italiju tijekom Mesinijske „Lago Mare“ faze Sredozemnog mora. Economidis i Bănărescu (1991) navode da ihtiofauna Balkana i Anatolije pripada Euro-sibirskim linijama udaljenog istočnoazijskog podrijetla, koje su kolonizirale Sibir već u eocenu, a Europu u oligocenskom i postoligocenskom razdoblju. Endemi južnog i zapadnog Balkana, ili njihovi direktni preci, nastanjuju ovo područje od miocena ili od ranog pliocena. Tako su primjerice fosilni nalazi *Scardinius* sp. otkriveni u Njemačkoj (pokrajina Ingenried i München) stari oko 9,8 - 12,2 milijuna godina, fosilni nalazi *Scardinius* sp. otkriveni u Austriji (Götzendorf, Steiermark, Schernham bei Haag am Hausruch) 8,9 - 11,45 milijuna godina, a nalazi *S. cf. erythrophthalmus* iz Grčke 4,85 - 5,31 milijuna godina (Böhme i Ilg 2003). Temeljem filogenetičkih istraživanja mitohondrijskih i jezgrinih gena, Perea i sur. (2010) su utvrdili da se odvajanje roda *Scardinius* od stalih linija unutar potporodice Luciscinae odvijalo prije 9,05 - 11 milijuna godina, što je u skladu i s fosilnim nalazima. Nadalje, Perea i sur. (2010) utvrdili su da je diverzifikacija leuciscina bila posljedica intenzivnih događaja koji su uslijedili nakon paleoklimatološke i hidrogeološke povijesti Sredozemlja. Kolonizacija ove linije odvijala se tijekom ranog oligocena, što je bilo puno prije mesinijske krize saliniteta te se ona nastavila tijekom oligocena i miocena. Povećanje vlažnosti tijekom

pliocena potaklo je daljnju kolonizaciju i izolaciju novostvorenih slatkovodnih populacija ove linije, a pleistocenske glacijacije odredile su današnju rasprostranjenost pojedinih vrsta unutar linije. Buj i sur. (2017) navode da je kompleksna geološka povijest južne Europe uključivala stvaranje kontinentalnih mostova, fragmentaciju kopna, zatvaranja morskih koridora i lokalne tektonske aktivnosti koje su uzrokovale višestruke kolonizacijske događaje i omogućavale prijelaze između tadašnjih rijeka i slivova. Istraživanje koje su proveli na rodu *Telestes*, pokazalo je da su se vrste unutar ovog roda odvojile od ostalih leuciscina prije 14,3 milijuna godina, dok se divergencija unutar roda počela odvijati prije 12,5 milijuna godina što odgovara razdoblju u kojem je započela orogeneza Dinarida, a divergencija se nastavila tijekom miocena i pliocena. Autori navode da je većina intraspecijske raznolikosti unutar ovog roda nastala tijekom kasnog pleistocena i holocena.

Ljudske aktivnosti, posebice zadnjih 60 - 80 godina, čine teškim za odrediti prvotno područje rasprostranjenosti vrsta te njihov sastav u porječjima rijeka (Bianco 1995a). Širenje primarno slatkovodnih vrsta ihtiofaune ovog područja moglo se dogoditi jedino slatkovodnim putovima, što je posljedica smanjenja razine mora za vrijeme zadnjeg glacijala te širenja riječnih tokova. Prema Bianco (1990) u Italiji i zapadnom Balkanu postoje zajednički elementi poput populacija roda *Scardinius* s devet razgranatih šipčica u podrepanoj peraji (vs 10 - 12 u ostalim regijama) te se ova distribucija može objasniti jedino sniženjem razine mora više od 160 m. U pravilu, kada se neka svojta nalazi u više riječnih sustava, pretpostavlja se da je nekada, barem privremeno, postojala poveznica između porječja rijeka (CLIMAP 1976). Hipoteza snižavanja razine mora 200 m u ovom razdoblju bolje objašnjava današnju rasprostranjenost jer bi tako više rijeka u različitim regijama bilo povezano. Temeljem rezultata filogenetičkih istraživanja koje su proveli na uzorcima *S. erythrophthalmus*, *S. scardafa*, *S. acarnanicus* i *S. graecus*, Ketmaier i sur. (2004) navode da su kladogenetski događaji unutar roda *Scardinius* vjerojatno posljedica širenja i spajanja porječja rijeka u nizinama, nakon višestrukog snižavanja razine mora tijekom kvartarnih glacijala. Sukladno rezultatima istraživanja, divergencija unutar roda *Scardinius* dogodila se prije 0,5 - 3,6 milijuna godina. Autori navode da je, u uspoređi s rodом *Telestes*, širenje roda *Scardinius* na veće udaljenosti tijekom ovog razdoblja vjerojatno posljedica ekologije vrsta unutar ovog roda, odnosno činjenice da se radi o dugoživućim

vrstama koje tvore guste populacije te proizvode veliki broj jajašaca. Spajanje rijeka tijekom kvartara odvijalo se isključivo u nizinama, stvarajući pogodna staništa za ovaj rod. No, važno je napomenuti da se prvotni geološki događaj koji je omogućio razmjenu ihtiofaune između Europe i Balkana dogodio tijekom miocena, prije otprilike 16 milijuna godina, kada su današnji otoci tvorili jedinstvene kopnene mase stvarajući kontinentalne mostove koji su omogućili razmjenu ihtiofaune između ovih područja (Rögl 1999).

Ketmaier i sur. (2003) proveli su filogenetičke analize 28 enzimskih lokusa na vrstama *S. acarnanicus* i *S. graecus* koje su endemi Grčke, *S. erythrophthalmus* iz Grčke, Slovenije te sjeverne i srednje Italije i *S. scardafa* koja je endem srednje Italije. Temeljem molekularnog sata, autori navode da se odvajanje vrsta *S. acarnanicus* i *S. graecus* dogodilo prije 4,3 milijuna godina, dok se odvajanje grčkih i talijanskih linija dogodilo prije 3,5 milijuna godina, oboje poslije „Lago Mare“ faze Mediterana. Autori također navode da se divergencija *S. scardafa* i *S. erythrophthalmus* dogodila prije 0,5 milijuna godina.

2.4. Temeljne postavke filogenetičkih analiza

2.4.1. Koncept vrste

Povijesno gledano, pojam vrsta koristi se kao baza za opisivanje i katalogizaciju biološke raznolikosti te za opisivanje povijesnih odnosa u hijerarhijskom obliku. Slijedom navedenog, vrsta je osnovni takson u sistematskoj biologiji. Također, vrsta je i osnovni entitet teorije evolucije, no, znanstvenici imaju problem sa spajanjem biološkog i filogenetičkog koncepta vrste. Filogenetički koncept vrste podrazumijeva da je vrsta bazična taksonomska jedinica te je kao takva široko usporediva. Nadalje, ovaj koncept prepoznaje da je, iako mnogo različitih procesa uzrokuje evolucijske promjene, podrijetlo evolucijskih svojti konstantan rezultat evolucijskih promjena. Upravo zbog navedenog, filogenetički koncept vrste predstavlja dobar okvir za sistematsku i evolucijsku biologiju (Cracraft 1989). U evolucijskom konceptu vrsta je entitet sastavljen od organizama koji zadržava svoj identitet različitim od drugih takvih entiteta kroz vrijeme i prostor i koji ima svoj neovisni evolucijski put i povijesne tendencije (Mayden 1996, Wiley i Mayden 2000). Prema Maydenu (2002), jedno od rješenja problema koncepta vrste je shvaćanje koncepta u hijerarhijskom smislu kao primarnog (teoretskog) i sekundarnog (operativnog) koncepta.

Kottelat i Freyhof (2007) navode da u nekim slučajevima može biti teško razaznati jesu li razlike između dvije populacije rezultat fenotipske prilagodbe na određene okolišne uvjete ili evolucijske prilagodbe koja je genetski fiksna. U taksonomskom smislu, populacija se u početku smatrala segmentom vrste čije jedinke se razmnožavaju uglavnom ili isključivo međusobno, a kao posljedica fizičke izolacije. U ovom slučaju teško je razlikovati jesu li dvije grupe jedinki dvije populacije iste vrste ili dvije različite vrste. Opće prihvaćen kriterij je da postoji protok gena između populacija iste vrste, ali ne između različitih vrsta, no postoji mnogo iznimki tako da se svaki slučaj treba razmatrati zasebno. S obzirom na navedeno, opće prihvaćeno pravilo u taksonomiji je da se molekularne značajke trebaju koristiti veoma oprezno i ako se podudaraju s nekim drugim setom značajki, kao što su morfološke i etološke.

Evolucijski značajne jedinice (engl. ESU – evolutionary significant unit) je koncept koji je razvijen u Sjedinjenim Američkim Državama za identifikaciju ugroženih

populacija, a kako bi se za njih uvela zakonska zaštita. Waples (1991) napominje da je kod definiranja ESU potrebno biti veoma oprezan jer izolacija pojedinih populacija ne znači istovremeno da su one evolucijski značajne. Evolucijski značajna jedinica je podjedinica vrste koju definira značajna reproduktivna izolacija od ostalih konspecifičnih jedinica (populacije koje pripadaju istoj vrsti) i ona predstavlja važnu komponentu u evolucijskom nasljeđu vrste. U Europi postoji rasprava o tome jesu li evolucijski značajne jedinice prisvojene od strane molekularne biologije i koriste li se radikalno, što može oslabiti cilj s kojim su one uvedene (Kottelat i Freyhof 2007). Neki autori gledaju na evolucijski značajne jedinice kao zamjenu za razinu vrste. U tom slučaju bi bilo koja mitohondrijska evolucijska jedinica bila evolucijski značajna jedinica, što nikako nije cilj originalnog koncepta. Nadalje, takva definicija ignorira činjenicu da se mitohondrijska DNA često prenosi između vrsta introgresivnom hibridizacijom i ne podudara se s razinom vrste (Kottelat i Freyhof 2007).

Kullander (1999) navodi da filogenetički koncept vrste, koji naglašava prepoznavanje obrasca varijacija, opisuje bolje od bilo kojeg drugog koncepta jedinice koje sistematičari nazivaju vrstama. Kroz povijest se i naše poimanje vrste promijenilo, od katalogiziranja uzoraka do potrage za varijabilnim jedinicama pogodnim za filogenetičke i biogeografske analize. S vremenom je postalo očito da je, ako naizgled jednostavan zadatak opažanja varijacija u prirodi postaje prepreka istraživanju tih varijacija, nešto pogrešno u metodologiji koja se koristi. Autor navodi da vrste kao takve ne moraju nužno biti evolucijske jedinice, već se one razmatraju i na nižoj razini, kao što je razina populacija.

2.4.2. Osnovne postavke molekularne filogenetike

Molekularna filogenetika je grana znanosti koja proučava evolucijske odnose između organizama ili gena, primjenom kombinacije molekularne biologije i statističkih metoda. Ukoliko su fokus istraživanja odnosi između organizama, ova grana se naziva molekularna sistematika. Postoji nekoliko razloga zašto su molekularni podaci, posebice sekvence DNA, prikladnije za evolucijska istraživanja od morfoloških i fizioloških podataka. Prvo, sekvence DNA i proteina općenito evoluiraju pravilnije od morfoloških i fizioloških značajki te upravo zbog toga daju jasniju sliku odnosa organizama. Drugo, molekularni podaci su često prikladniji za kvantitativne analize od morfoloških

podataka, a do danas su razvijene sofisticirane matematičke i statističke metode za analizu sekvenci DNA. Treće, molekularni podaci su obilniji. Usprkos navedenom, ne treba zapostaviti morfološke analize jer različiti pristupi daju komplementarniju sliku evolucijske povijesti. Svrha filogenetičkih istraživanja je rekonstruirati točnu genealogiju između organizama te procijeniti vrijeme njihove divergencije od zadnjeg zajedničkog pretka (Li 1997).

Velik dio povijesti živih organizama koji je postao nejasan zbog evolucije morfoloških značajki može se razjasniti iz DNA sekvenci. Filogenetički odnosi se definiraju kroz posljednjeg zajedničkog pretka; što je zajednički predak recentniji, grupe su srodnije. Molekularni podaci sekvenci u genima su jednostavan oblik značajki; značajke su zapravo položaji u sekvenci, a stanje značajki su nukleotidi na tim položajima, uz pretpostavku da su položaji koji se uspoređuju homologni, odnosno da su proizašli iz istih položaja od zajedničkog pretka (Swofford i sur. 1996, Stearns i Hoekstra 2005).

Teorija molekularnog sata, koju su postavili Zuckerkandl i Pauling (1965), jedan je od najutjecajnijih koncepata u modernoj evolucijskoj biologiji. Ova teorija predlaže da geni i njihovi produkti evoluiraju brzinama koje su grubo konstantne kroz vrijeme i evolucijske linije. Datiranje filogenetičkih linija započinje s procjenom vremena divergencije linija. Mnoge metode u molekularnoj sistematici pretpostavljaju da su od trenutka divergencije mutacije fiksne i da se odvijaju jednakom brzinom. Važan dio ove pretpostavke je normalna brzina zamjene nukleotida. No, mutacije se događaju nezavisno, različiti nukleotidi se fiksiraju u svakoj liniji i kako vrijeme prolazi, razlike u sekvencama se akumuliraju. Kada bi se mutacije odvijale jednakom brzinom, filogenetička stabla bi pokazivala jednaku udaljenost od zajedničkog pretka do vrha svake grane unutar stabla, što je rijetko slučaj (Stearns i Hoekstra 2005). Dakle, jedna od temeljnih rasprava oko teorije molekularnog sata je stupanj heterogenosti brzina između linija, gena i genomskih regija, a takva heterogenost će uvijek osporiti pokušaje da se točno odredi vrijeme divergencije (Arbogast i sur. 2002). Postojali su pokušaji da se utvrde univerzalni molekularni satovi koji bi se mogli primijeniti na široki spektar taksona. Jedan od takvih je bio sat mtDNA (Brown i sur. 1979, 1982) u kojem životinjska mtDNA evoluirala brzinom od ~2 % divergencije sekvence na milijun godina.

No, postalo je jasno da postoji mnogo više varijacije u brzini evolucije mtDNA među taksonomskim grupama (Vawter i Brown 1986), nego što se prvotno mislilo. Istraživanja drugih dijelova genoma, kao što su na primjer jezgrični geni, otkrila su značajnu varijaciju u brzini molekularne evolucije. S obzirom na navedeno, koncept univerzalnog molekularnog sata zamijenio je koncept taksonomski „lokalnih“ satova, koji su korisni unutar granica određenih gena i srodnih svojti, što su pokazala i istraživanja koja su proveli Yoder i Yang (2000). Teorija lokalnih molekularnih satova se temelji na pretpostavci da su razlike u veličini populacije, metabolizmu, generacijskom vremenu i efikasnosti popravka DNA među najvjerojatnijim izvorima heterogenosti brzine evolucije među linijama (Martin i Palumbi 1993, Rand 1994) te bi, iz razloga što su ovi parametri vjerojatno slični kod blisko srodnih vrsta, ove skupine trebale imati slične brzine molekularne evolucije. Drugi koncept, koji se naziva genomskim lokalnim satom, temelji se na ideji da razlike u broju mejotskih replikacija i učinkovitosti popravka DNA u različitim regijama genoma mogu rezultirati primjetno različitim brzinama molekularne evolucije za različite kromosome, porodice gena ili genomske subkompartimente (Hurst i Ellegren 1998, Ellegren 2000). Razlike u brzini molekularne evolucije samo su jedan problem. Drugi je problem što svi molekularni satovi moraju biti kalibrirani koristeći neovisne dokaze, kao što je vrijeme specijacije izvedeno iz fosilnih dokaza ili vrijeme procijenjeno za određene biogeografske događaje. Novi i kompleksniji modeli supstitucije nukleotida danas dominiraju filogenetičkim analizama, a vjerojatnost i Bayesove metode su se pojavili kao važni alati koji omogućuju procjenu vremena divergencije iz molekularnih podataka. Iako se saturacija (višestruke supstitucije na istom položaju) općenito smatra fenomenom koji je utjecao na drevne divergencije, kompleksni modeli supstitucije koji su danas dostupni pokazuju da ona može kompromitirati procjene kada je genetska divergencija između linija relativno mala. Također, recentna istraživanja su pokazala da ancestralni populacijski procesi, za koje se smatra da mogu utjecati na procjene vremena divergencije samo za nedavno odvojene vrste, mogu utjecati i na procjene vremena divergencije čak i za vrste koje su se odvojile prije nekoliko milijuna godina, ovisno o veličini i strukturi ancestralne vrste (Arbogast i sur. 2002).

Jedan od glavnih izazova kod procjene brzine molekularne evolucije i vremena divergencije je dobivanje pouzdanih procjena stvarnog broja supstitucija koje su se

dogodile u svakoj liniji od vremena odvajanja od zajedničkog pretka. Iz razloga što stvarni broj supstitucija uključuje i opaženi broj i broj supstitucija zamaskiranih saturacijom, potreban je odgovarajući model evolucije nukleotida. Česti parametri ovakvih modela uključuju broj supstitucijskih tipova ili klasa, učestalosti za četiri nukleotidne baze i varijaciju u brzini supstitucija između nukleotidnih mjesta. Upravo zbog navedenog, bolje je analizirati više lokusa, odnosno genskih biljega, jer je tada i procjena vremena divergencije točnija (Arbogast i sur. 2002).

Mitohondrijska DNA (mtDNA), koja je haploidna, ima relativno brzu stopu supstitucije. Evoluira dovoljno brzo da bi bila korisna za usporedbe linija koje su divergirale nedavno, ali se također može koristiti za uspostavu odnosa između grupa koje su stare nekoliko milijuna godina. Iza ove točke, mtDNA postaje toliko izmijenjena zbog količine mutacija da dobivene informacije nisu pouzdane (Stearns i Hoekstra 2005). Istovremena analiza mitohondrijskog i nuklearnog genoma može se smatrati komplementarnom zbog sljedećeg: analize mtDNA daju relativno jasnu sliku filogenetičkih odnosa, ali ova genealogija je samo mali dio filogenije organizma. Analize jezgrine DNA daju pristup puno većem dijelu filogenije organizma, ali genealoška slika za pojedine genske biljege može biti nepotpuna (Avice 1991). Primjerice, kod istraživanja koje su proveli Buj i sur. (2019), s obzirom na to da su filogenetičke analize dvaju jezgrinih gena ukazale na nepotpuno razvrstavanje linija (engl. Incomplete lineage sorting) i zadržavanje polimorfizma predaka, filogenetičke analize gena za citokrom *b* su korištene za rekonstrukciju evolucijske povijesti istraživanih vrsta jer daju daleko bolju rezoluciju filogenetičkih odnosa u usporedbi s jezgrinim genima.

Evolucijske promjene u DNA se događaju ili zbog supstitucije nukleotida ili zbog procesa brisanja/umetanja nukleotida. Kada su se dvije sekvence odvojile davno, dolazi do višestrukih i paralelnih promjena (Rodriguez i sur. 1990). Sukladno rezultatima koje su dobili Perea i sur. (2010) jezgrini geni pokazuju puno veću konzistenciju i indeks retencije, dok mitohondrijski geni daju više informativnih mjesta za parsimoniju. Istraživanje koje su proveli Vawter i Brown (1986) pokazalo je da mitohondrijska i jezgrina DNA kod ježinaca evoluiraju približno jednakom brzinom, dok kod kralješnjaka mitohondrijska DNA evoluira pet do deset puta brže od jezgrine

DNA, što također poništava hipotezu jedinstvenog molekularnog sata. Brown i sur. (1982) su istraživanjima mitohondrijske DNA potvrdili da je brzina evolucije mtDNA primata veća 5 do 10 puta od brzine jezgrine DNA. Dokazano je i da je tranzicija daleko veća od transverzije; 92 % razlika između blisko srodnih vrsta su posljedica tranzicije. Brown i sur. (1979) navode da, s obzirom na visoku stopu evolucije, mtDNA može biti veoma korisna molekula za visoko razlučive analize evolucijskog procesa, posebice odnosa između vrsta i populacija koje su relativno nedavno divergirale, unutar 5-10 milijuna godina. Helfman i sur. 2009 također navode da mitohondrijska DNA mutira brže od jezgrine DNA te daje dobru rezoluciju kod analiza populacija i evolucijskih linija na razini roda i vrsta. Istraživanje koje su proveli Zardoya i Meyer (1996) pokazalo je da nisu svi mitohondrijski geni jednako učinkoviti kod razjašnjavanja filogenetičkih odnosa, a najbolju učinkovitost su pokazali geni za citokrom *b* i citokrom oksidazu I (COI). Genetske značajke životinjske mtDNA, kao što su brza stopa evolucije sekvenci, kompaktni genom koji nosi jednoliki skup homolognih gena, nasljeđivanje po majci i manjak rekombinacijskih događaja, daju jedinstvenu sliku diferencijacije populacija i odnosa među vrstama. Rand (1994) ukazuje da su razna istraživanja pokazala da postoji razlika u stopi evolucije sekvenci mtDNA među skupinama, varijabilnost u veličini mitohondrijskog genoma kod nekih grupa te kod Metazoa nasljeđivanje po ocu kod nasljeđivanja mtDNA.

Martin i Palumbi (1993) ukazali su na postojanje varijacije u stopi supstitucije nukleotida kod divergentnih taksonomskih grupa, posebice na vezu između stope supstitucije i veličine tijela, s kojom visoko korelira generacijsko vrijeme i brzina metabolizma. Odnos između brzine metabolizma i supstitucije nukleotida može biti posredovan mutagenim učinkom radikala kisika koji su obilni nusprodukti aerobnog disanja i povećanom stopom sinteze DNA i zamjene nukleotida u organizmima s višom stopom metabolizma. Oba ova faktora povećavaju stopu mutacije smanjenjem generacijskog vremena nukleotida, odnosno smanjenjem prosječne duljine vremena prije koje se nukleotid kopira replikacijom ili popravkom.

Morfološka vs. filogenetička istraživanja

Filogenetička istraživanja imaju veoma važnu ulogu u otkrivanju filogenetičkih odnosa slatkovodnih vrsta riba iz razloga što isključivo oslanjanje na morfološke

značajke često ne rezultira otkrivanjem kriptičnih svojti ili rezultira opisivanjem vrsta koje ne predstavljaju evolucijski neovisne i/ili reproduktivno izolirane taksone (Buj i sur. 2014). Rezultati morfoloških istraživanja ponekad nisu u skladu s filogenetičkim istraživanjima zbog postojanja homoplazije morfoloških značajki (zajedničke osobine koje nisu potekle od zajedničkog pretka), što je pokazalo i istraživanje koje su proveli Zardoya i Doadrio (1999). Također, morfološke značajke imaju nejasnu homologiju (Bogutskaya 1990). Molekularni podaci su korisni jer je povezanost molekularnih značajki s adaptivnom evolucijom manje vjerojatna od povezanosti morfoloških značajki (Briolay i sur. 1998). Usprkos navedenom, morfološki i anatomske podaci su potrebni u taksonomskim istraživanjima jer daju potpuniju sliku evolucijske povijesti, kao što su paleontološki podaci potrebni za rekonstrukciju vremenskog okvira kod evolucijskih istraživanja (Li 1997).

Hibridizacija i nepotpuno razvrstavanje linija (engl. Incomplete lineage sorting)

Introgresijske hibridizacije evolucijski su važne za gensku raznolikost i specijaciju. Od glavnih skupina kralješnjaka, ribe pokazuju veliku sklonost hibridizaciji. Istraživanje koje su proveli Rognon i Guyomard (2003) pokazuje da su, ukoliko je došlo do hibridizacije između različitih vrsta unutar istog roda, analize jezgrine DNA u skladu s morfološkom identifikacijom vrsta, dok to nije slučaj s mitohondrijskom DNA. Dakle, jezgrin genom introgresijske vrste će biti izgubljen nakon nekoliko generacija, dok mitohondrijski genom ostaje prisutan kao jedini znak introgresije. Upravo zbog navedenog, korištenje samo jezgrinih ili mitohondrijskih biljega u filogenetičkim istraživanjima može dovesti do krivih zaključaka vezanih uz taksonomski položaj i filogenetičke odnose vrsta. Istraživanje koje su proveli Buj i sur. (2019) na vrstama roda *Squalius* u jadranskom slijevu pokazalo je da je hibridizacija široko rasprostranjen fenomen unutar ovog roda, koji ima važnu ulogu u recentnom genetičkom sastavu te evolucijskoj povijesti istraživanih vrsta. Istraživanja koja su proveli Choleva i sur. (2014) i Perea i sur. (2016) također su ukazala na važnu ulogu hibridizacije u istraživanju filogenetičkih odnosa slatkovodnih vrsta riba.

U većini slučajeva mitohondrijski genom se prenosi hibridizacijom i fiksira nasljeđivanjem po majci. Kod nekih skupina zabilježena je mtDNA naslijeđena od mužjaka, primjerice kod vinske mušice mtDNA naslijeđena od mužjaka prisutna je 0,1

% po generaciji, a prisutna je i kod nekih mekušaca i riba. Heteroplazmija, prisutnost više od jednog tipa mtDNA kod jedinke (Melton 2004), je posljedica mutacije majčinske linije. Mitohondrijska DNA evoluirala 5-10 puta brže od jezgrine DNA, a razlozi za to su relaksacija funkcionalnog ograničenja (mtDNA ne kodira proteine koji su odgovorni za njenu replikaciju, transkripciju i translaciju) i neefikasan mehanizam popravka. U svakom slučaju, selekcija i mutacija su razlog brze evolucije mtDNA. Povijesna, filogenetička perspektiva intraspecifične evolucije je nedostajala do otkrića da opsežna intraspecifična varijacija nerekombinirajuće mtDNA pruža zapis mutacijskih događaja u povijesti ove molekule, dakle povijesti ženske linije preko koje se prenosi, zbog čega se u 80-tim godinama 20. stoljeća koristila za procjenu matrijarhalne filogenije unutar i između blisko srodnih vrsta. Linije mtDNA zabilježene u bilo kojoj postojećoj populaciji proizlaze iz jednakog ili manjeg broja ženki u prethodnoj generaciji, i tako dalje kroz vrijeme sve do konačne koalescencije (proces određivanja zajedničkog pretka iz različitih postojećih sekvenci iz srodnih vrsta) do jedne ženke koja je zajednički predak (Avice 1991).

S obzirom na to da hibridi moraju biti plodni, obično se radi o hibridizaciji kod blisko srodnih vrsta, iako su moguće i hibridizacije između vrsta koje nisu blisko srodne (Freyhof i sur. 2005). Rezultati istraživanja koje su proveli Scribner i sur. (2001) pokazuju da su hibridizacije najučestalije unutar porodice Cyprinidae, u koju je do nedavno bila svrstana i potporodica Leuciscinae, dok su u ostalim porodicama one rijetke.

Fenomen da različiti genski biljezi daju filogenetička stabla i mreže različite rezolucije i tipologije, zbog različite stope mutacije, koja je uglavnom znatno sporija kod jezgrinih biljega, zove se nepotpuno razvrstavanje linija (engl. Incomplete lineage sorting), a zabilježen je kod mnogih slatkovodnih vrsta riba, primjerice kod rodova *Cobitis* i *Squalius* u jadranskom slijevu (Buj i sur. 2019, Choleva i sur. 2014). Do nepotpunog razvrstavanja linija dolazi kada se vrijeme koalescencije i specijacije različitih gena (primjerice mitohondrijskih i jezgrinih) razlikuje, odnosno kada se različite linije ne odvoje u isto vrijeme kada dođe do specijacije vrsta (Maddison 1997, Perea i sur. 2016).

2.4.3. Metode filogenetičke rekonstrukcije

Najčešće metode za konstrukciju filogenetičkih stabala su metoda susjednog združivanja, metoda najveće parsimonije, metoda najveće vjerodostojnosti i Bayesove metode.

Metoda susjednog združivanja (engl. neighbor-joining method)

Kod metode susjednog združivanja filogenetička stabla se temelje na divergenciji između sekvenci DNA. Načelo metode susjednog združivanja je pronaći parove operativnih taksonomskih jedinica (engl. operational taxonomic unit - OTU) koji minimiziraju ukupnu duljinu grana u svakoj fazi grupiranja OTU-a, počevši sa zvjezdolikim stablom, a finalno stablo ne mora biti ono s najmanjom stopom evolucije (Saitou i Nei 1987). Prednost ove metode je što prikazuje duljine grana koje su proporcionalne divergencijama između sekvenci. Ako je poznata stopa mutacije za sekvence DNA, tada se vrijeme divergencije vrsta može iščitati iz stabala (Saitou i Nei 1987). Metoda susjednog združivanja pretpostavlja da se efekt nejednake stope evolucije između grana može korigirati pomoću udaljenosti izračunate iz matriksa udaljenosti te je stoga ova metoda osjetljiva na točnost procijenjenih udaljenosti. Kada su udaljenosti male, mogu se dobiti točne procjene udaljenosti i ova metoda može biti dobra čak i uz pretpostavku nekonstantnih stopa evolucije, ako su analizirane sekvence duge. No, ako su sekvence kratke, tada su procjene udaljenosti podložne velikim statističkim greškama. Također, ako su udaljenosti velike ili stope evolucije između nukleotidnih mjesta jako variraju, točna procjena udaljenosti je upitna (Li 1997, Bandelt i sur. 1995).

Metoda najveće parsimonije

Parsimonija je osnovni princip u znanosti koji predstavlja odabir najjednostavnijeg znanstvenog objašnjenja koje odgovara dokazima. U filogeniji to podrazumijeva da je najbolja hipoteza ona koja zahtjeva najmanje evolucijskih promjena (University of California Museum of Paleontology 2008). Kod metode najveće parsimonije koristi se stanje značajki (primjerice nukleotid na određenoj poziciji u sekvenci) te se najkraći put koji vodi do toga stanja odabire kao najbolje filogenetičko stablo. Ova metoda traži stablo koje zahtijeva najmanji broj evolucijskih

promjena koje mogu objasniti razlike između proučavanih operativnih taksonomskih jedinica (Li 1997, Stearns i Hoekstra 2005, Helfman i sur. 2009). Metoda najveće parsimonije temelji se na hipotezi da je stablo koje zahtjeva manje supstitucija bolje od onoga koje zahtjeva više supstitucija, odnosno temelji se na odabiru filogenetičkih stabala na način da se minimalizira ukupna duljina stabla, odnosno broj evolucijskih koraka potrebnih da se objasni određeni set podataka. Metoda najveće parsimonije matematički se prikazuje formulom u nastavku, gdje je $L(\tau)$ duljina stabla τ , B broj grana, N broj značajki, k' i k'' dva čvora koja se pojavljuju na svakoj k grani, $x_{k'j}$ i $x_{k''j}$ elementi matrice ulaznih podataka, a $diff(y,z)$ funkcija koja određuje trošak transformacije iz stanja y u stanje z duž bilo koje grane. Koeficijent w_j dodjeljuje težinu svakoj značajki (Swofford i sur. 1996).

$$L(\tau) = \sum_{k=1}^B \sum_{j=1}^N w_j \times diff(x_{k'j}, x_{k''j})$$

Na metodu najveće parsimonije utječe nejednaka stopa evolucije i obrasci supstitucije nukleotida (Li 1997), a korisna je za izradu filogenetičkih stabala blisko srodnih haplotipova (Helfman i sur. 2009). Huelsenbeck i Hillis (1993) istraživali su uspješnost filogenetičkih metoda te utvrdili da metoda parsimonije zahtjeva veći broj varijabilnih značajki (100-500 varijabilnih mjesta) za točnu rekonstrukciju filogenetičkih odnosa.

Kod metode najveće parsimonije, za opisivanje filogenetičkih stabala, odnosno količine homoplazije koriste se sljedeći indeksi:

INDEKS KONZISTENCIJE (CI)

Indeks konzistencije je mjera koja opisuje količinu homoplazije na filogenetičkom stablu, a izražava se kao minimalni broj promjena pojedine značajke u odnosu na dužinu stabla. Vrijednost indeksa konzistencije se kreće od 0 do 1. Ukoliko je $CI=1$, tada homoplazija nije prisutna. Što se vrijednost CI više približava 0, to je veća količina homoplazije na filogenetičkom stablu (Kluge i Farris 1969, Farris 1989).

$$CI = \frac{\text{minimalni broj promjena}}{\text{dužina stabla}} \times 100$$

INDEKS HOMOPLAZIJE (HI)

Indeks homoplazije je mjera za stupanj homoplazije, a izračunava se formulom:

$$HI = 1 - CI$$

RETENCIJSKI INDEKS (RI)

Retencijski indeks je mjera kojom se izražava količina sinapomorfije (značajka zajednička pretku i njegovim potocima) u filogenetičkom stablu, odnosno udio sinapomorfije u značajkama koji se zadržava kao sinapomorfija u filogenetičkom stablu. RI se izračunava formulom u nastavku, gdje G predstavlja najveći broj promjena značajke, S uočeni broj promjena, a M najmanji broj promjena. Ukoliko je RI=1, tada homoplazija nije prisutna, a ukoliko je RI=0, tada značajke pokazuju najveću moguću količinu homoplazije (Farris 1989).

$$RI = \frac{G-S}{G-M} \times 100$$

INDEKS RESKALIRANE KONZISTENCIJE (RC)

Indeks reskalirane konzistencije je mjera koja pokazuje razinu uklapanja pojedine značajke u filogenetičko stablo. Što se ova mjera više približava 0, to se značajka slabije uklapa u filogenetičko stablo (Farris 1989). Indeks reskalirane konzistencije izračunava se formulom:

$$RC = CI \times RI$$

Metoda najveće vjerodostojnosti

Metoda najveće vjerodostojnosti evaluira hipotezu o evolucijskoj povijesti u smislu vjerojatnosti da je predloženi model evolucijskih procesa proizašao iz određenog seta podataka. Ova metoda je korisna jer često daje procjene koje imaju nižu varijancu od ostalih metoda, odnosno od svih filogenetičkih metoda na nju najmanje utječu pogreške u uzorkovanju te kršenje pretpostavki (Swofford i sur. 1996), a često je korištena za procjenu nedavnih divergencija (Arbogast i sur. 2002). Zbog prisutnosti homoplazije u sekvencama, metode koje su bazirane striktno na parsimoniji ne mogu izdvojiti sve informacije dostupne u sekvencama. Upravo zbog toga se često koriste

metode najveće vjerodostojnosti (Stearns i Hoekstra 2005). Kod metode najveće vjerodostojnosti traži se najveća vjerojatnost stanja značajki unutar istraživanih sekvenci za svako stablo te se odabire ono s najvećom vjerojatnosti (Felsenstein 1973, 1981). Dakle, najbolje stablo je ono s najvećom vjerojatnošću opažanja podataka (Stearns i Hoekstra 2005).

Kod metode najveće vjerodostojnosti koristi se model evolucije sekvenci DNA kako bi se odredila vjerojatnost alternativnih filogenetičkih stabala te je stablo s najvećom vjerodostojnosti prihvaćeno. Ova metoda ima prednost nad tradicionalnom metodom parsimonije, koja može dati pogrešne rezultate ako se stopa evolucije razlikuje u različitim linijama (Felsenstein 1981, Beerli 2009). Osnovni model ove metode pretpostavlja jednaki tip nasumičnih promjena u svim granama stabla (Stearns i Hoekstra 2005). Dakle, kao i metoda parsimonije, metoda najveće vjerodostojnosti traži najjednostavnije rješenje, ali dozvoljava ugrađivanje znanja o tome kako se sekvence DNA mijenjaju kroz vrijeme (Helfman i sur. 2009), odnosno ima pretpostavke vezane uz stopu evolucije i obrazac supstitucije nukleotida (Li 1997).

Bayesova metoda

Bayesova metoda je statistička metoda za izvođenje filogenetičkih zaključaka korištenjem varijante Markov chain Monte Carlo analize. Kod Bayesovih analiza, filogenija se temelji na posteriornim vjerojatnostima filogenetičkih stabala (Rannala i Yang 1996, Yang i Rannala 1997, Huelsenbeck i Ronquist 2001, Arbogast i sur. 2002). Posteriorna vjerojatnost i -tog filogenetičkog stabla (τ_i) uvjetovanog poravnavanjem sekvenci DNA (X) računa se korištenjem Bayesovog teorema:

$$f(\tau_i | X) = \frac{f(X|\tau_i)f(\tau_i)}{\sum_{j=1}^{B(s)} f(X|\tau_j)f(\tau_j)}$$

Bayesova metoda prvo uspostavlja osnovna očekivanja (prethodna vjerojatnost), a zatim procjenjuje vjerojatnost opažanja podataka s obzirom na osnovna očekivanja (posteriorna vjerojatnost). Dakle, odabire se filogenetičko stablo koje čini najvjerojatnijima grane i duljine grana u filogenetičkom stablu (Stearns i Hoekstra 2005).

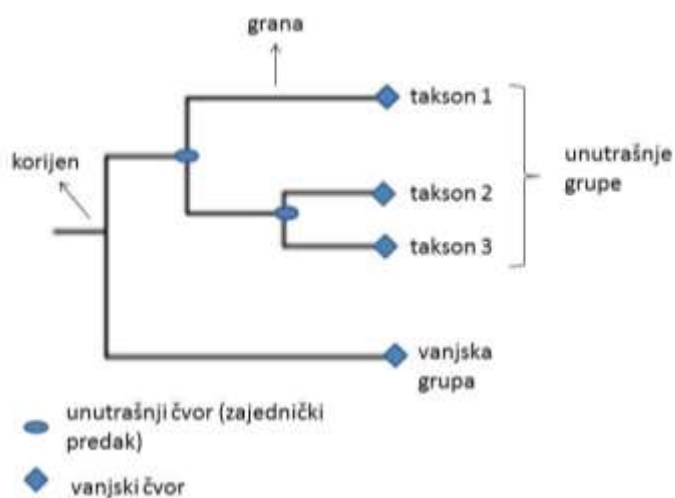
Metoda samopodržanja

Metoda samopodržanja (engl. bootstrap) je kompjuterska tehnika za procjenu statistike ili parametara u slučajevima kada je teško dobiti distribuciju analitički (Efron 1982). U filogenetička istraživanja ovu je metodu uveo Felsenstein (1985), kao način procjene intervala pouzdanosti filogenetičkih hipoteza (Li 1997). U filogenetičkim analizama, metoda samopodržanja ponovno uzorkuje set podataka nekoliko stotina ili tisuća puta, kako bi se odredilo koliko je snažno podacima podržana svaka grana u filogenetičkom stablu. Pri tome, grane koje se razlikuju u jednoj ili dvije mutacije imat će nisku podržanost. Ako su rezultati ove metode $> 90 \%$, grana se može smatrati snažno podržanom (Helfman i sur. 2009).

Filogenetička stabla

U filogenetičkim istraživanjima, evolucijski odnosi između grupa organizama prikazuju se filogenetičkim stablima. Donošenje filogenetičkih zaključaka prilikom izrade filogenetičkih stabala ima za cilj definirati specifični slijed koji vodi do određivanja stabla ili definirati kriterije za usporedbu alternativnih filogenija i odlučivanja koja je bolja. Čiste algoritamske metode uključuju sve oblike analiza klastera u parovima (engl. UPGMA – pair-group cluster analysis) i druge metode računanja udaljenosti, kao što je metoda susjednog združivanja. Drugi set metoda ima dva logička koraka. Prvi korak je definiranje kriterija optimalnosti za evaluaciju stabla, a drugi je korištenje specifičnih algoritama za računanje vrijednosti ciljane funkcije i pronalaženje stabala koja prema ovom kriteriju imaju najbolje vrijednosti. Filogenetički zaključci se temelje na nasljeđivanju značajki od pretka te na evolucijskoj povijesti koja je definirana promjenama u ovim značajkama. Razlike koje su posljedica epigenetičkih (nasljedne promjene fenotipa koje ne uključuju promjene u sekvenci DNA) ili okolišnih faktora ne daju korisne filogenetičke informacije te se moraju izbjegavati. Analize položaja pojedinih nukleotida unutar skupine koja se analizira trebale bi dovesti do jedinstvenog položaja nukleotida kod zajedničkog pretka. Osim za visoko konzervirane sekvence, događaji umetanja/brisanja nukleotida moraju se uzeti u obzir, kako bi se ispunila pretpostavka da su nukleotidi na odgovarajućim pozicijama u različitim sekvencama zapravo homologni (Swofford i sur. 1996).

Filogenetičko stablo je prikaz koji se sastoji od čvorova i grana, a u kojem samo jedna grana povezuje dva susjedna čvora (slika 2.17.). Čvorovi predstavljaju taksonomske jedinice, koje mogu biti vrste, populacije, jedinke ili geni, a grane definiraju odnose između jedinica u smislu podrijetla i predaka. Uzorak grananja stabla naziva se topologija. Duljina grana obično predstavlja broj promjena do kojih je došlo u toj grani. Čvorovi unutar filogenetičkih stabala dijele se na vanjske i unutrašnje. Vanjski čvorovi predstavljaju postojeće taksonomske jedinice koje se analiziraju, a još se nazivaju i operativnim taksonomskim jedinicama (engl. operational taxonomic units - OTU). Unutrašnji čvorovi predstavljaju ancestralne jedinice (linije). Grane filogenetičkih stabala klasificiraju se na vanjske (periferne) i unutarnje. Također, postoje dva načina prikazivanja filogenetičkih stabala. Prvi način je taj da grane nemaju skalu, odnosno njihove duljine nisu proporcionalne broju promjena indiciranim na svakoj grani. Kod grana koje imaju skalu, njihova duljina je proporcionalna broju evolucijskih promjena (Li 1997).



Slika 2.17. Osnovni dijelovi filogenetičkog stabla (prilagođeno iz Stearns i Hoekstra 2005)

Nadalje, filogenetička stabla mogu biti ukorijenjena ili neukorijenjena. Kod ukorijenjenih stabala postoji čvor koji se naziva korijen te iz njega vodi put (grana) prema bilo kojem drugom čvoru u stablu. U ovom slučaju smjer svakog puta odgovara evolucijskom vremenu, a korijen predstavlja zajedničkog pretka svih operativnih taksonomskih jedinica. Neukorijenjeno filogenetičko stablo prikazuje samo odnose između operativnih taksonomskih jedinica, ali ne definira evolucijski put. Ono ne

zahtijeva pretpostavke ili znanje o zajedničkom pretku taksonomskih jedinica. Većina metoda rekonstrukcije filogenetičkih stabala daje neukorijenjena stabla. Da bi se ovakva stabla ukorijenila, obično je potrebna vanjska grupa (engl. outgroup) za koju postoje dodatne informacije, poput paleontoloških dokaza, koji jasno ukazuju na to da se ova grupa odvojila ranije od operativnih taksonomskih jedinica. Slijed događaja specijacije koji je doveo do nastanka bilo koje grupe operativnih taksonomskih jedinica je povijesno jedinstven. Stoga, samo jedno od svih mogućih filogenetičkih stabala koja se mogu rekonstruirati s određenim brojem operativnih taksonomskih jedinica predstavlja stvarnu evolucijsku povijest. Filogenetičko stablo koje se dobije korištenjem određenog seta podataka i primjenom određenih metoda filogenetičke rekonstrukcije naziva se izvedeno stablo. Kod rekonstrukcije filogenetičkih stabala treba imati na umu da divergencija dvaju gena uzorkovanih iz dvije različite vrste može prethoditi divergenciji ovih vrsta, što može dovesti do precjenjivanja duljine grana i predstavljati problem kod istraživanja vrsta koje su nedavno divergirale, upravo zbog komponente polimorfizma gena. Kako bi se izbjegla rekonstrukcija krivih filogenetičkih stabala, potrebno je prilikom rekonstrukcije koristiti više različitih gena. Također, preporuča se koristiti veći broj uzoraka kako bi se izbjegle pogreške do kojih dolazi zbog nasumičnih supstitucija nukleotida (Li 1997).

Filogenetičke mreže

Procjena genealoških odnosa na populacijskoj razini predstavlja niz problema tradicionalnim metodama filogenetičke rekonstrukcije. Ove metode, poput parsimonije i metode najveće vjerodostojnosti, imaju pretpostavke koje nisu ispunjene na populacijskoj razini te zahtijevaju velik broj varijabilnih značajki da bi točno rekonstruirale filogenetičke odnose (Huelsenbeck i Hillis 1993), a na razini populacije obično nema takve varijabilnosti. Kombinacija ovih učinaka primjerice može navesti metode parsimonije na stvaranje velikog broja stabala na populacijskoj razini, bez rezolucije između setova podataka te također može dovesti do potvrde značajnosti dobivenih odnosa (Bandelt i sur. 1995). Dakle, potreban je alternativan pristup koji će dati točne procjene genealogije gena na populacijskoj razini, a koji uzima u obzir evolucijske procese na populacijskoj razini koji nisu adresirani u tradicionalnim metodama (Clement i sur. 2000). Upravo u tu svrhu koriste se filogenetičke mreže, koje

su korisne kod filogenetičkih analiza odnosa kada je prisutna hibridizacija, horizontalni prijenos gena, rekombinacija ili umnožavanje gena (Huson i Bryant 2005).

2.5. Recentna morfološka i filogenetička istraživanja u sistematici roda *Scardinius* u jadranskom slijevu

Zbog velike morfološke sličnosti vrsta unutar roda *Scardinius*, kao i nedostatka detaljnih filogenetičkih istraživanja, taksonomski položaj i točna rasprostranjenost vrsta unutar ovog roda dugo su bili predmet rasprava i još uvijek nisu u potpunosti razjašnjeni (Karaman 1928, Vuković i Ivanišević 1962, Ketmaier i sur. 2003, Ketmaier i sur. 2004, Bianco i Kottelat 2005, Perea i sur. 2010, Tutman i sur. 2016). U nastavku je dan pregled recentnih morfoloških i filogenetičkih istraživanja vrsta unutar ovog roda u jadranskom slijevu. Pregled morfoloških istraživanja odnosi se prvenstveno na drlju, peškelja i crvenperku, s obzirom na to da su za izradu ovog doktorskog rada provedena morfološka istraživanja populacija ovih vrsta, dok pregled recentnih filogenetičkih istraživanja uključuje sve vrste unutar roda na području jadranskog slijeva.

2.5.1. Recentna morfološka istraživanja

Martinović (1995) je istraživala taksonomske osobitosti vrste *S. erythrophthalmus* jadranskog slijeva. U svom diplomskom radu navodi da su istraživane podvrste *S. e. hesperidicus* iz Krke i Vranskog jezera na otoku Cresu, *S. e. erythrophthalmus* iz Save te *S. e. scardafa* s lokaliteta Baćinska jezera, Neretva - Kut i Neretva - Desne. Na jedinkama su izmjerene morfometrijske i utvrđene merističke značajke. Perajna formula utvrđena za uzorke *S. e. hesperidicus* iz rijeke Krke, gdje se prema današnjoj sistematici radi o drlji, je D III 8-9, A III 10, P I 15, V II 8, a jedinke su imale 40-41 ljusku u bočnoj pruzi. Za uzorke ove vrste iz Vranskog jezera na otoku Cresu utvrđena je perajna formula D III 8-9, A III 10, P I 15, V II 8, a jedinke su imale 40 ljusaka u bočnoj pruzi. Kod uzoraka crvenperke utvrđena je perajna formula D III 9, A III 10-11, P I 15, V II 8. Za uzorke *S. e. scardafa* iz Neretve i Baćinskih jezera, gdje se prema današnjoj sistematici radi o peškelju, utvrđena je perajna formula D III 8, A III 9, P I 14-15, V II 8, a jedinke su imale 39-40 ljusaka u bočnoj pruzi. Morfometrijski omjeri populacija dobiveni istraživanjem koje je provela Martinović (1995) uglavnom su ujednačeni te se populacije razlikuju u varijabilnosti pojedinih omjera. Između ostalih, srednje vrijednosti dobivenih omjera standardne duljine tijela (SL) i ukupne duljine tijela (TL) su iznosile za uzorke iz Krke 80,91 %, Vranskog jezera na otoku Cresu 83,21 %, Baćinskih jezera 82,68 % te Neretve 83,03 %. Srednje vrijednosti

omjera duljine glave (c) i SL su iznosile za uzorke iz Krke 24,59 %, Vranskog jezera na otoku Cresu 23,08 %, Baćinskih jezera 25,85 % te Neretve 25,05 %, dok su srednje vrijednosti omjera najveće visine tijela (H) i SL iznosile za uzorke iz Krke 30,69 %, Vranskog jezera na otoku Cresu 33,84 %, Baćinskih jezera 28,91 % te Neretve 28,79 %.

Topić Popović i sur. (2001) proveli su istraživanje zdravstvenog statusa populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu te navode da se radi o podvrsti *S. e. hesperidicus*. Zabilježena je srednja vrijednost SL kod mužjaka od 256 mm, a kod ženke 243 mm. Šprem i sur. (2010) godine su također proveli istraživanje morfometrijskih značajki jedinki iz Vranskog jezera na otoku Cresu te navode da se radi o vrsti *S. erythrophthalmus*, no vjerojatno se radi o pogrešnoj determinaciji vrste. Kod uzorkovane jedinke duljina tijela (TL) je iznosila 617 mm, a standardna duljina tijela (SL) 541 mm.

Valić i sur. (2013) istraživali su populacije drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu i rijeke Krke. Temeljem dobivenih rezultata autori smatraju da uzorci iz Vranskog jezera na otoku Cresu pripadaju vrsti *S. hesperidicus*. Izmjerene srednje vrijednosti TL za uzorke drlje iz rijeke Krke iznose 105, 123, 112, 148, 120, 163, 198 i 128 mm, a srednje vrijednosti SL 86, 98, 89, 120, 100, 127, 168 i 103 mm. Izmjerene srednje vrijednosti TL za uzorke iz Vranskog jezera na otoku Cresu iznose 322, 319, 337 i 325 mm, a srednje vrijednosti SL 262, 264, 274 i 266 mm. Autori također navode da je zabilježena crvena boja svih peraja kod ovih jedinki, što je inače morfološka značajka crvenperke.

Dulčić i sur (2009) istraživali su slatkovodnu faunu Hutovog blata te zabilježili nove dužinsko-masene odnose i maksimalne veličine za šest endemskih vrsta, uključujući peškelja. Najmanja zabilježena je 99 mm, a najveća 390 mm. Ivanković (2016) je proveo istraživanja morfometrijskih i merističkih značajki peškelja iz Deranskog jezera u Bosni i Hercegovini. Ovim istraživanjem utvrđena je perajna formula peškelja D III 8, A III 9, V I 8, P I 13, a broj ljustaka u bočnoj pruzi iznosio je od 38 do 42, sa sporadičnim pojavom broja ljustaka 37 i 43. Najveća ukupna duljina (TL) peškelja iznosila je 404 mm, a najmanja 142 mm, dok je srednja vrijednost omjera SL i TL iznosila 83,40 %.

Salaj (2017) je istraživala rast i kondiciju peškelja u porječju Neretve na uzorcima iz Deranskog jezera. Najveća zabilježena ukupna duljina (TL) iznosila je 404 mm, najmanja 142 mm, a srednja vrijednost TL 228,1 mm. U uzorku od 55 jedinki, najveću zastupljenost su imale jedinke čija je TL bila 220 - 240 mm, a najmanju jedinke čija je TL iznosila 380 - 400 mm.

2.5.2. Recentna filogenetička istraživanja

Rezultati filogenetičkih istraživanja gena za citokrom *b* vrsta unutar rodova *Telestes* i *Scardinius*, dobivenih metodom najveće vjerodostojnosti, koja su proveli Ketmaier i sur. (2004) pokazala su odvajanje vrsta *S. acarnanicus* i *S. graecus* od vrsta *S. erythrophthalmus* i *S. scardafa*. Također, zanimljivo je da dobiveni filogram pokazuje i odvajanje populacija *S. erythrophthalmus* iz Italije od uzoraka ove vrste iz rijeke Krke te Skadarskog jezera.

Freyhof i sur. (2005) istraživali su filogenetičke odnose vrsta unutar rodova *Squalius* i *Scardinius*. Korištena je metoda najveće vjerodostojnosti, a istraživani gen je bio gen za citokrom *b*. Kod jednog uzorka *S. dergle* iz Buškog jezera (BiH) zabilježena je mitohondrijska DNA podrijetlom od vrste *Squalius tenellus*. Vrsta *S. dergle* je dijelila sve dijagnostičke morfološke značajke i sličnosti s rodом *Scardinius*. Autori smatraju da su antropološki utjecaji koji su rezultirali izgradnjom brane 1962. godine vjerojatno bili uzrok hibridizacijskih događaja. Iako je došlo do hibridizacije, unatoč tome što su ove dvije linije daleko srodne (genska udaljenost (engl. p-distance) je iznosila $p = 11,2\%$), autori zaključuju da se introgresijski hibridizacijski događaji mogu smatrati mogućim između leuciscina i ciprinida, odnosno između vrsta koje nisu blisko srodne.

Perea i sur. (2010) istraživali su filogenetičke odnose vrsta unutar potporodice Leuciscinae na perimediterranskom području temeljem analize jezgrinih (RAG1 i S7) i mitohondrijskih biljega (cytb i COXI), a korištene metode filogenetičke rekonstrukcije su Bayesova metoda, metoda najveće vjerodostojnosti i metoda najveće parsimonije. Sukladno rezultatima ovog istraživanja, rod *Scardinius* predstavlja zasebnu liniju unutar potporodice Leuciscinae, a unutar njega dolazi do grupiranja pojedinih vrsta. *S. acarnanicus* se odvaja od svih ostalih istraživanih vrsta unutar roda, dok se unutar te grupe zasebno još izdvaja *S. graecus*. Prema dobivenom filogenetičkom stablu, najbliže

srodne su vrste *S. plotizza*, *S. hesperidicus* i *S. scardafa*, dok se crvenperka odvaja od ovih vrsta. Autori navode da je analiza nezavisnih mitohondrijskih i jezgrinih markera podržala iste linije, ali da bazalni odnosi nisu bili usklađeni, odnosno analiza gena za citokrom *b* je dala najbolju razlučivost odnosa unutar pojedinih linija.

Kako bi odredili taksonomsku pripadnost i filogenetičke odnose populacije roda *Scardinius* iz Vranskog jezera na otoku Cresu, Valić i sur. (2013) proveli su filogenetičke analize sekvenci gena za citokrom *b* korištenjem Bayesove metode. Za usporedbu su korišteni uzorci drlje, *S. dergle*, ulovljeni u rijeci Krki u Hrvatskoj te uzorci iz banke gena. Kod obje uzorkovane populacije pronađen je samo jedan haplotip gena za citokrom *b*, a genska udaljenost između haplotipova je iznosila 0,5 %. Sukladno dobivenim rezultatima, uzorci iz Vranskog jezera na otoku Cresu grupiraju se s uzorcima *S. hesperidicus* (uzorci iz rijeke Adige, Italija), a *S. dergle* iz rijeke Krke se grupira s uzorkom *S. hesperidicus* preuzetim iz banke gena te se radi o uzorku iz rijeke Krke koji je korišten u istraživanjima koje su proveli Perea i sur. (2010). Prema dobivenom filogramu, podržanost unutarnjih grana je dobra, dok je podržanost ovog klastera slaba. Autori navode da se uzorak *S. dergle* iz Buškog jezera potpuno odvaja od ostalih vrsta roda *Scardinius*, no ovdje se radi o uzorku iz banke gena (pristupni kod AY549458) iz istraživanja koje su proveli Freyhof i sur. (2005). Kako autori navode, radi se o uzorku koji ima mtDNA *Squalius tenellus*, odnosno radi se o slučaju hibridizacije između ova dva roda te je ovo razlog što se *S. dergle* ne grupira na filogenetičkom stablu koje su dobili Valić i sur. (2013) s ostalim vrstama roda *Scardinius*. Temeljem dobivenih rezultata Valić i sur. (2013) smatraju da uzorci iz Vranskog jezera na otoku Cresu pripadaju vrsti *S. hesperidicus*. Također, autori navode da se uzorci crvenperke iz Italije grupiraju zajedno i odvajaju od uzoraka crvenperke iz ostalih područja njene rasprostranjenost te predlažu da se kod ovih uzoraka zapravo radi o vrsti *S. hesperidicus*.

Karataş i sur. (2016) proveli su filogenetičke analize gena za citokrom *b* uzoraka *S. elmaliensis* iz Turske te uzoraka ostalih vrsta unutar roda preuzetih iz banke gena, metodom najveće vjerodostojnosti. Na dobivenom filogramu odvajaju se dvije zasebne linije. U prvoj liniji, koja ima slabu podržanost (podržanost grane je 48), grupiraju se *S. acarnanicus*, *S. graecus*, *S. erythrophthalmus* te *S. elmaliensis*, dok se u drugoj liniji,

koja ima dobru podržanost, grupiraju *S. dergle*, *S. hesperidicus*, *S. plotizza* i *S. scardafa*. Unutar druge linije, *S. dergle* i *S. hesperidicus* se grupiraju zajedno.

Ivanković (2016) je proveo istraživanja vrsta svalić (strugač) (*Squalius svallize*), peškelj (*Scardinius plotizza*) i makal (*Squalius microlepis*) s područja donje Neretve, a uzorci su prikupljeni na Deranskom jezeru i rijekama Bregavi i Krupi u Bosni i Hercegovini te rijeci Matici u Republici Hrvatskoj. Filogenetički odnosi istraživanih vrsta temeljem gena za citokrom *b* utvrđeni su metodom susjednog združivanja. Od pet istraživanih sekvenci peškelta utvrđeno je pet različitih haplotipova. Na temelju dobivenog filograma autor navodi da su vrste roda *Squalius*, *Squalius microlepis* i *Squalius svallize*, međusobno srodnije, dok se peškelj odvaja kao udaljenija od njih.

Uz navedene filogenetičke analize vrsta roda *Scardinius*, Geiger i sur. (2014) su proveli višestruke grupne analize barkodova DNA za 3165 uzoraka slatkovodnih riba iz mediteranskih žarišta bioraznolikosti, koje pokrivaju 98 % poznatih vrsta na tom području te temeljem dobivenih rezultata navode da su vrste *S. scardafa*, *S. hesperidicus* i *S. plotizza* blisko srodne vrste koje se razlikuju po morfološkim značajkama. Bianco i sur. (2004) proveli su istraživanje kromosoma osam vrsta unutar rodova *Rutilus* i *Scardinius* te su utvrdili kariologiju za vrste *S. graecus*, *S. erythrophthalmus*, *S. acarnanicus* i *S. scardafa*.

2.6. Raznolikost, uzroci ugroženosti i mehanizmi zaštite slatkovodnih riba u jadranskom slijevu

2.6.1. Raznolikost slatkovodnih riba u jadranskom slijevu

Bianco i Ketmaier (2015) navode da su apeninski i balkanski poluotoci faunistički najreprezentativnija područja istočne Euro-mediteranske regije i predstavljaju žarišta raznolikosti endemskih slatkovodnih riba. Od oko 217 endemskih vrsta zabilježenih u perimediteranskim zemljama, jedna trećina je zabilježena u Italiji, Hrvatskoj, Albaniji i Crnoj Gori. Čaleta i sur. (2015) navode da u jadranskom slijevu, čija je ukupna površina 21.405 km², obitava 80 vrsta riba. U vodotoke jadranskog slijeva uneseno je 10 stranih vrsta, ali i 13 vrsta koje su u prošlosti naseljavale samo vode dunavskog slijeva. Vodotoke ovog područja naseljava veliki broj endemskih vrsta i podvrsta. Endemi hrvatske ihtiofaune velikim su dijelom povezani s osebnim krškim staništima podzemnih voda. U odnosu na rijeke dunavskog slijeva, rijeke jadranskog slijeva su kratke i izolirane (Mrakovčić i sur. 1995). Vrlo često teku kroz duboke kanjone, stvarajući slapove i jezera. Kada prolaze kroz krška polja teku vrlo sporo. Tada su im obale plitke, a dna korita mekana i obrasla bujnom vodenom vegetacijom. Obiluju vodom u jesenjem i proljetnom razdoblju, a ljeti mogu u potpunosti presušiti. Značaj ovih rijeka, osobito na području Dalmacije, očituje se u velikom broju endemskih vrsta riba (Čaleta i sur. 2015).

Kao posebnu ihtiološku subregiju zapadnog Balkana potrebno je izdvojiti Dalmaciju, čije rijeke nastanjuje gotovo 40 endemskih vrsta riba. S velikim brojem endema jadranske rijeke spadaju u ihtiološki najzanimljivije područje hrvatske i europske faune. U njihovoj su endemskoj fauni zastupljene vrste rodova *Salmo*, *Aulopyge*, *Chondrostoma*, *Telestes*, *Phoxinellus*, *Delminichthys*, *Squalius*, *Rutilus*, *Scardinius*, *Cobitis*, *Barbus* i *Knipowitschia*. Endemske vrste riba koje nastanjuju vode jadranskog slijeva od neprocjenjive su vrijednosti i čine značajan dio europske bioraznolikosti. Mnoge vrste, a posebno podvrste, još uvijek nisu taksonomski prepoznate te su predmet istraživanja, kako hrvatskih, tako i svjetskih znanstvenika (Čaleta i sur. 2015).

Istraživanje koje su proveli Glamuzina i sur. (2010) na području Hercegovine, pokazalo je da je najviši stupanj raznolikosti ihtiofaune prisutan u srednjem i donjem dijelu rijeke Neretve s močvarnim područjima Hutovog i Mostarskog blata (područje Hutovog blata nastanjuju 42 slatkovodne vrste riba), a jedna od najčešćih vrsta u cijelom uzorku je *S. plotizza*. Područje koje obuhvaća vodotoke Glamočkog, Livanjskog i Duvanjskog polja s akumulacijom Buško blato, razmjerno je slabo istraženo, a do sada je zabilježeno 15 vrsta slatkovodnih riba, od čega su osam vrsta endemi jadranskog slijeva, između ostalih i *S. dergle*.

2.6.2. Uzroci ugroženosti slatkovodnih vrsta riba

Helfman i sur. (2009) navode da je glavni ishod okolišno destruktivnih ljudskih aktivnosti gubitak biološke raznolikosti i posljedična homogenizacija staništa, genotipova i zajednica riba. Povijesno gledano, stopa izumiranja je bila jedna do dvije vrste godišnje, a danas je ona 10 do 100 puta veća upravo zbog negativnih ljudskih utjecaja na staništa (osim tijekom razdoblja masovnih izumiranja). Ljudski utjecaji uzrokuju gubitak i promjene slatkovodnih stanišnih uvjeta, što se odnosi na uklanjanje nanosa i naplavina, kanaliziranje, izgradnju pregrada i brana, promjene hidrološkog režima, unos stranih invazivnih vrsta, crpljenje vode, onečišćenje, komercijalnu eksploataciju te globalne klimatske promjene (Lévêque i sur. 2008, Helfman i sur. 2009, Bianco i Ketmaier 2015). Reyjol i sur. (2008) navode da je perimediteransko područje jedna od regija koje su najpodložnije utjecaju klimatskih promjena, koji će se vjerojatno očitovati ubrzanom kolonizacijom stranih invazivnih vrsta na ovom području.

Crivelli i Maitland (1995b) navode da su u sjevernom Mediteranu, zbog različitih prijetnji i lošeg upravljanja močvarnim područjima mnoge vrste pod prijetnjom izumiranja, a nekoliko vrsta je izumrlo posljednjih godina. Autori navode da su glavni pritisci vodenim ekosustavima preusmjeravanje vodenih tokova, crpljenje vode, introdukcija stranih vrsta, prenošenje autohtonih vrsta, onečišćenje iz industrija, domaćinstava i poljoprivrede, izgradnja brana i drugih vodnih građevina, regulacija rijeka, različiti štetni načini korištenja zemljišta, nedostatak strateškog upravljanja vodnim područjima te uništavanje staništa. Smith i Darwall (2006) u pregledu statusa i rasprostranjenosti slatkovodnih endemskih vrsta riba u Mediteranu također navode da su glavne prijetnje slatkovodnim ekosustavima eutrofikacija uzrokovana urbanim

sustavima odvodnje i ispiranjem gnojiva s poljoprivrednih površina, crpljenje vode u svrhu dobivanja pitke vode i navodnjavanja, izgradnja brana koje ograničavaju protok sedimenta i hranjivih tvari te utječu na migracije vrsta, prekomjerni ribolov te industrijsko onečišćenje.

Endemske vrste osobito su osjetljive i obično imaju malu sposobnost prilagodbe na promjene vanjskih čimbenika. Uglavnom su rasprostranjene u nekadašnjim glacijalnim refugijima i usko su vezane uz okoliš koji naseljavaju, a nedovoljna istraženost i popularizacija u široj javnosti ne pridonose njihovoj zaštiti u prirodi (Mrakovčić i sur. 2006). Regulacija rijeka, izgradnja hidroelektrana i industrijsko onečišćenje, uz veoma ograničenu rasprostranjenost ovih vrsta, su glavni uzroci ugroženosti endemskih vrsta (Mrakovčić i sur. 1995). Najveći utjecaj na ugroženost slatkovodnih riba u Hrvatskoj imaju degradacije staništa, melioracije i regulacije vodotoka, onečišćenje vodotoka, strane i prenesene vrste, klimatske promjene, ribarstvo i turizam (Mrakovčić i sur. 2006, Čaleta i sur. 2015).

Izgradnjom brana u Bosni i Hercegovini za hidroelektrane (Jablanica, Grabovica i Salakovac) kontinuirani tok Neretve presječen je na nekoliko mjesta na kojima se postepeno formiraju vodene akumulacije (Kosorić i sur. 1983, Glamuzina i sur. 2011). Tako je gotovo cijeli srednji tok izgubio značajke tekućice. Na objektima hidroelektrana nisu izgrađene riblje staze za migracije riba pa se danas može govoriti samo o gornjem i donjem toku Neretve s karakterom tekućice. Navedenim aktivnostima došlo je do značajnih poremećaja u ovom ekosustavu, što se odrazilo ne samo na gustoće populacija, nego i na broj vrsta riba. Kosorić (1978) navodi da je u Hutovom Blatu stanište peškelja bilo pogodnije prije poribljavanja šaranom (1971. i 1972. godine), da bi narednih godina populacije ove vrste pale na gotovo polovicu ranijeg udjela u ukupnoj populaciji riba. Mrakovčić i sur. (2006) navode za peškelja da je, iako dobro podnosi niske količine kisika, kao i visoke temperature vode, ova vrsta veoma osjetljiva na organsko onečišćenje, regulacije rijeka i isušivanje močvarnih staništa.

Kako bi se obnovila i očuvala autohtona ihtiofauna Italije, Bianco (1995b) predlaže prestanak unosa vrsta, a ako se unosi nastave, autor predlaže zdravstvenu kontrolu te kontrolu taksonomskog statusa vrsta, istraživanja rasprostranjenosti čistih autohtonih populacija, reintrodukciju autohtonim vrstama te smanjenje političkog i

ekonomskog pritiska sportskog i komercijalnog ribolova. Također, na primjeru *S. scardafa*, koja je danas prisutna samo u jezeru Scanno u Italiji, a nestala je iz ostalih područja zbog unosa crvenperke i primorske uklije, Bianco (2004) ističe važnost primjene mjera očuvanja koje se odnose na zabranu unosa stranih vrsta. Kao posljedica nekontroliranih unosa stranih vrsta na usko područje prirodne rasprostranjenosti ove vrste, ona je danas kritično ugrožena (Bianco 2013). Problem unosa stranih vrsta za očuvanje *S. knezevici* u jezerima Skadar i Ohrid prepoznali su i Bianco i Kottelat (2005) i Talevski i sur. (2010) te Talevski i sur. (2010) predlažu i promjenu statusa ove vrste iz LC (engl. least concerned - najmanje zabrinjavajuća) u VU (engl. vulnerable - osjetljiva). Nadalje, istraživanje koje su proveli Mušović i sur. (2020) ukazuju na to da se brojnost drlje u Buškom blatu u Bosni i Hercegovini, ali i ostalih endemskih vrsta poput oštrulja i podbile, značajno smanjila u posljednjih nekoliko desetljeća. Autori također kao uzrok smanjenja brojnosti ovih vrsta navode unos stranih vrsta, poput bezribice i babuške, koje su njihovim istraživanjem prvi put zabilježene u Buškom blatu. Čaleta (2017a) navodi da su glavni uzroci ugroženosti drlje u Republici Hrvatskoj onečišćenje vode te kanaliziranje i uređivanje vodotoka.

Za Bosnu i Hercegovinu, odnosno područje Hutovog blata, Tutman i sur. (2012b) navode da je potrebna učinkovita zaštita staništa, poboljšanje upravljanja vodama te primjena mjera za sprječavanje širenja stranih vrsta, kako bi se zaštitila visoka ihtiofaunistička vrijednost ovog područja. Tutman i sur. (2012a, 2016) navode da je za očuvanje peškelja potreban dugoročan monitoring populacija i promjena u hidrološkom režimu vodnih tijela koja ova vrsta nastanjuje. Autori navode da su od posebne važnosti djelotvorna zaštita s poboljšanim mjerama vodnog gospodarenja i sprječavanjem daljnjeg unosa i širenja stranih vrsta te predlažu donošenje IUCN statusa u kategoriji NT za peškelja u Bosni i Hercegovini. Čaleta (2017b) navodi da su glavni uzroci ugroženosti peškelja u Republici Hrvatskoj onečišćenje od poljoprivredne proizvodnje, pretjerano korištenje vode, unošenje stranih vrsta te promjene staništa uzrokovane jakim antropogenim utjecajem.

Kako bi se negativni ljudski utjecaji smanjili i/ili spriječili u budućnosti, Helfman i sur. (2009) predlažu donošenje nacionalne i međunarodne legislative koja promovira održivo korištenje prirodnih dobara, proglašavanje ihtioloških rezervata,

primjenu mjera predostrožnosti kod zaštite vrsta, praćenje njihove učinkovitosti te prilagodbu sukladno rezultatima praćenja, obnovu degradiranih staništa te edukaciju i uključivanje dionika. Oikonomou i sur. (2014) navode da je kritičan korak u utvrđivanju i evaluaciji konzervacijskih prioriteta određivanje ihtioloških biogeografskih regija. Crivelli i Maitland (1995a, 1995b) navode da su mjere upravljanja koje bi mogle doprinijeti smanjenju pritiska na slatkovodne vrste riba procjena potrebne zaštite za pojedine vrste, upravljanje staništima i njihova restauracija, prenošenje i reintrodukcija pojedinih vrsta, uzgoj u zatočeništvu i krioprezervacija te poboljšana legislativa na nacionalnoj i međunarodnoj razini. Rezultati istraživanja koje su proveli Freyhof i sur. (2020) sugeriraju da je čak 63 % svih ugroženih slatkovodnih vrsta riba bliže izumiranju uslijed negativnih utjecaja postojećih hidroelektrana, dok je 55 % svih kritično ugroženih vrsta pod značajnim utjecajem. Autori ističu da najveći utjecaj na slatkovodne vrste riba imaju male hidroelektrane, koje će negativno utjecati na 65 % ugroženih vrsta u Mediteranskom bazenu, ukoliko se u budućnosti izgrade sve one koje su planirane. Zaključno, upravljanje vodnim resursima u mediteranskoj regiji ključna je značajka budućeg razvoja ovog područja, ali i očuvanja slatkovodne ihtiofaune (Smith i Darwall 2006).

2.6.3. Mehanizmi zaštite slatkovodnih vrsta riba

Danas postoje mnogobrojni mehanizmi zaštite slatkovodnih vrsta riba, od međunarodnih sporazuma, konvencija i direktiva do nacionalnih propisa, crvenih popisa ugroženih vrsta te planova upravljanja i akcijskih planova strogo zaštićenim vrstama, kao i planova upravljanja zaštićenim područjima i područjima ekološke mreže. Jedan od temeljnih međunarodnih mehanizama zaštite vrsta je Crveni popis ugroženih vrsta na globalnoj razini Međunarodne unije za očuvanje prirode (engl. IUCN Red List) koji se redovito ažurira, a donosi se za pojedine vrste temeljem pravila i kriterija za procjenu ugroženosti divljih vrsta i staništa. Mnoge zemlje temeljem ovih pravila i kriterija donose i nacionalne crvene popise za ugrožene vrste, a oni sadrže stupanj i osnovne razloge ugroženosti vrsta, kao i mjere koje je potrebno provesti kako bi se pojedina vrsta očuvala (IUCN 2020).

Direktiva o očuvanju prirodnih staništa i divlje faune i flore (Council Directive 92/43/EEC) primjenjuje se u državama članicama Europske unije te zahtijeva od njih

izdvajanje najvažnijih područja, odnosno područja ekološke mreže Natura 2000, za svaku pojedinu vrstu i stanišni tip sukladno priložima ove direktive. Zemlje članice dužne su odgovarajuće prenijeti odredbe direktive u nacionalno zakonodavstvo, a jedna od najvažnijih odredbi u smislu očuvanja ovih područja jest provođenje postupka ocjene prihvatljivosti za ekološku mrežu svih strategija, planova, programa i zahvata koji mogu imati značajan negativan utjecaj na ciljeve očuvanja i cjelovitost područja ekološke mreže.

U Republici Hrvatskoj nacionalni propisi iz kojih proizlaze najvažniji mehanizmi zaštite slatkovodnih vrsta riba su Zakon o zaštiti prirode („Narodne novine“, broj 80/13, 15/18, 14/19, 127/19), Zakon o sprječavanju unošenja i širenja stranih te invazivnih stranih vrsta i upravljanju njima („Narodne novine“, broj 15/18, 14/19), Zakon o prekograničnom prometu i trgovini divljim vrstama („Narodne novine“, broj 94/13, 14/19), Zakon o slatkovodnom ribarstvu („Narodne novine“, broj 63/19), Uredba o ekološkoj mreži i nadležnostima Javnih ustanova za upravljanje područjima ekološke mreže („Narodne novine“, broj 80/19) te Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama („Narodne novine“, broj 144/13, 73/16). Mehanizmi zaštite koji proizlaze iz ovih propisa osiguravaju neposredno i posredno očuvanje slatkovodnih vrsta riba, od provođenja postupaka kojima se osigurava neposredna zaštita njihovih staništa i populacija, kao što je regulacija zabranjenih radnji sa strogo zaštićenim vrstama te izrada Planova upravljanja vrstama s akcijskim planovima očuvanja, do postupaka kojima se posredno osigurava očuvanje slatkovodnih staništa kroz regulaciju unosa i uklanjanja stranih i invazivnih stranih vrsta, uspostavu zaštićenih područja različitih kategorija i razine zaštite, donošenje planova upravljanja i akcijskih planova ostalih skupina strogo zaštićenih vrsta, donošenje planova upravljanja zaštićenim područjima i područjima ekološke mreže te strateško planiranje na državnoj, regionalnoj i lokalnoj razini.

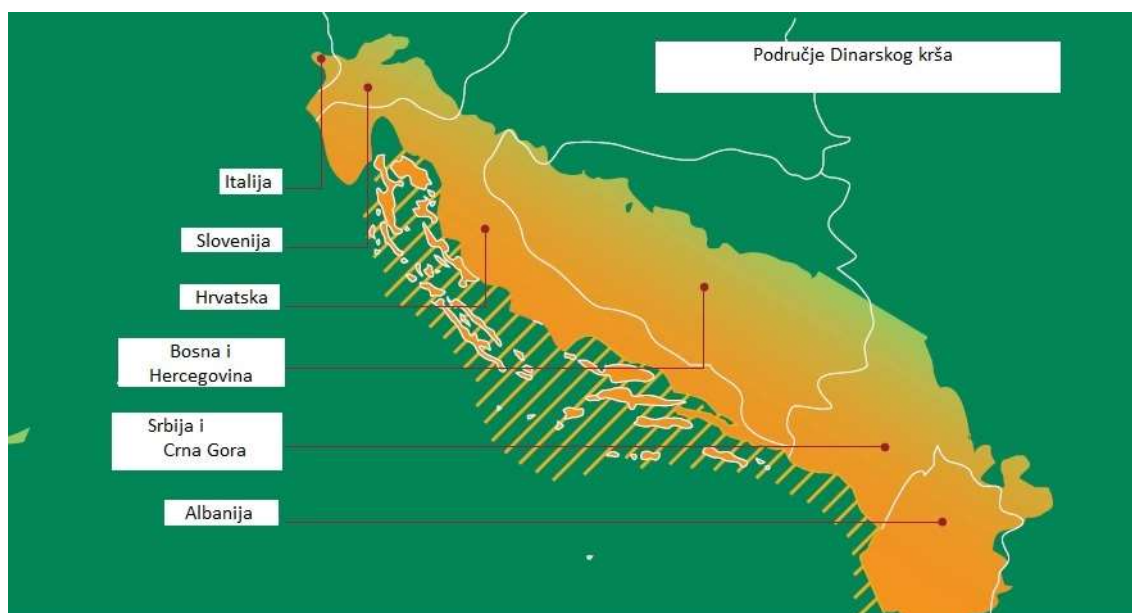
S obzirom na to da su u fokusu ovog doktorskog rada drlja i peškelj kao regionalni endemi jadranskog slijeva, važno je istaknuti da ove vrste nisu strogo zaštićene vrste u Republici Hrvatskoj, niti se nalaze na prilogu II Direktive o očuvanju prirodnih staništa i divlje faune i flore (Council Directive 92/43/EEC), koji navodi životinjske i biljne vrste od interesa za Europsku zajednicu čije očuvanje zahtijeva

određivanje posebnih područja očuvanja, odnosno područja ekološke mreže Natura 2000. Od svih vrsta unutar roda *Scardinius*, na ovom prilogu se nalazi samo vrsta *S. graecus*. Drlja i peškelj, kao jadranski regionalni endemi, rasprostranjeni su samo u Republici Hrvatskoj i u Bosni i Hercegovini, u kojoj se peškelj nalazi na Crvenoj listi divljih vrsta i podvrsta biljaka, životinja i gljiva samo u Federaciji BiH („Službene novine Federacije BiH“, broj 7/14), dok vrste roda *Scardinius* nisu na Crvenoj listi zaštićenih vrsta flore i faune Republike Srpske („Službeni glasnik RS“, broj 124/12). U Republici Hrvatskoj drlja ima status gotovo ugrožene vrste (NT), dok je peškelju status nedovoljno poznate vrste (DD) (Ćaleta i sur. 2015) 2017. godine izmijenjen u status osjetljive vrste (VU) (Ćaleta 2017b). Na crvenom popisu ugroženih vrsta Međunarodne unije za očuvanje prirode peškelj ima status najmanje zabrinjavajuće vrste (LC), a drlja gotovo ugrožene vrste (NT) (IUCN 2020).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Područje istraživanja

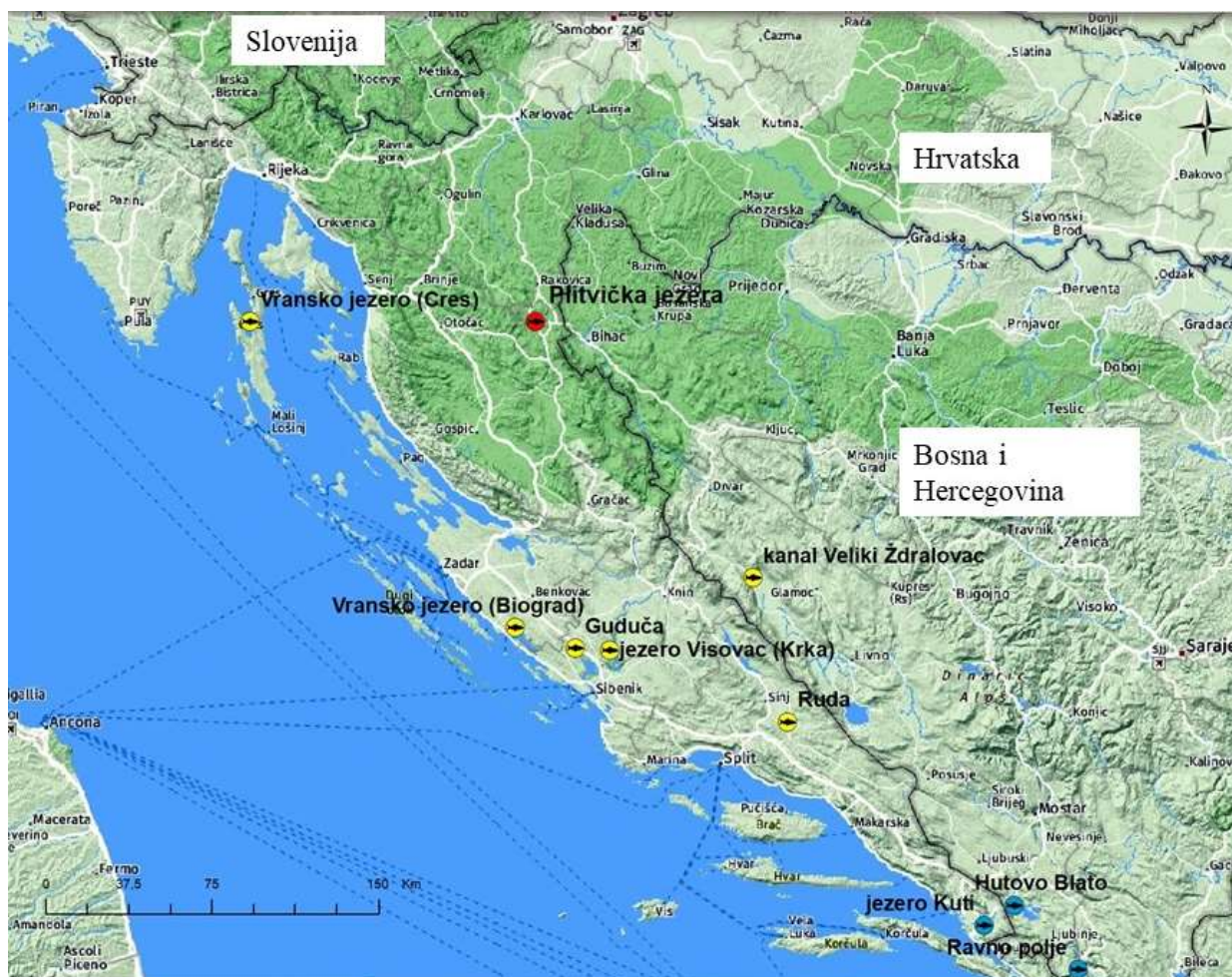
Područje istraživanja nalazi se unutar Dinarskog gorja, odnosno Dinarskog krša (slika 3.1.), koji se pruža od sjeverozapada prema jugoistoku od južnih vapnenačkih Alpa do planinskog lanca Prokletija u graničnom prostoru između Crne Gore i Albanije. Dinarski krš obuhvaća i otoke Jadranske obale, a prostire se i na području Bosne i Hercegovine (Roglić 2004). Proteže se u duljini od 650 km i širini preko 150 km, pokrivajući površinu od oko 60.000 km² (Mihevc i sur. 2010). Krš karakterizira poseban način cirkuliranja voda i razvoj odgovarajućih oblika reljefa. U kršu vode poniru, a cijeli je proces vezan za topive stijene, prvenstveno vapnenac. Poniranjem voda i otapanjem vapnenaca pukotine se produbljuju i šire, a protjecanjem vode razvija se složen sustav podzemnih šupljina, sve do donje granice vapnenaca (Roglić 2004).



Slika 3.1. Područje Dinarskog krša (prilagođeno s <https://wwf.panda.org/>)

U Republici Hrvatskoj uzorci crvenperke (*S. erythrophthalmus*) sakupljeni su na Plitvičkim jezerima, uzorci drlje (*S. dergle*) na lokalitetima Vransko jezero na otoku Cresu, Vransko jezero kod Biograda na Moru, rijeka Guduča, jezero Visovac na rijeci Krki i rijeka Ruda, dok su uzorci peškelja (*S. plotizza*) sakupljeni na jezeru Kuti (slika 3.2.). U Bosni i Hercegovini uzorci drlje (*S. dergle*) sakupljeni su u kanalu Veliki

Ždralovac u Livanjskom polju, a uzorci peškelja (*S. plotizza*) u Hutovom blatu i Ravnom (Popovom) polju – rijeci Trebišnjici (slika 3.2.).



Slika 3.2. Područje istraživanja (crveno je označen lokalitet na kojem je ulovljena *S. erythrophthalmus*, žuto *S. dergle* i plavo *S. plotizza*)

3.1.1. Vransko jezero na otoku Cresu

Vransko jezero na otoku Cresu (slika 3.3.) nalazi se u Sjevernom hrvatskom primorju. Zavala Vranskog jezera na središnjem dijelu otoka Cresa tipičan je primjer udubljenja u trošivoj dolomitnoj podlozi, a nastala je u prepleistocensko doba. Na ovom području različita otpornost kompaktnijih i čistijih vapnenaca prema trošivim vapnencima i dolomitima dolazi snažno do izražaja. Površina jezera nalazi se na oko 16 m iznad razine mora, glavni bazen na 46 m ispod razine mora, a dno zavale Vranskog jezera na 68 m ispod morske razine (Riđanović i sur. 1975). Jezero se snabdijeva vodom iz obilnih padalina akumuliranih u djelomično okršenom podzemlju (Božičević 1992,

Ožanić i Rubinić 1994). Površina jezera iznosi 5,8 km², a najveća dubina je oko 76 m (Šegota i Filipčić 2001).



Slika 3.3. Vransko jezero na otoku Cresu (Foto: Zoran Marčić)

3.1.2. Plitvička jezera

Plitvička jezera (slika 3.4.) nalaze se u Gorskoj regiji Republike Hrvatske, između dugačkog lanca Kapele na sjeverozapadu i strmog grebena Plješivice na jugoistoku, na izvorišnom dijelu rijeke Korane, koji se sastoji od Crne i Bijele rijeke s Ljeskovcem, Rječice i potoka Plitvice, a između kojih se stubičasto redaju brojna jezera izdvojena sedrenim barijerama. Plitvička jezera se nalaze u dolini dolomitskog dijela i u kanjonu usječenom u vapnence. U dolomitskom dijelu su veća Gornja jezera (12 jezera), dok se u kanjonskom dijelu nalaze Donja jezera (4 jezera) (Bognar i sur. 1975, Božičević 1992, Roglić 2004). Jezera se kroz tok Crne i Bijele rijeke prihranjuju podzemnim vodama svojega zaleđa, da bi na kraju duboko urezana u okršene naslage vapnenca ostala na površini zahvaljujući naslagama sedre i sedrenog mulja koji

sprječava poniranje vode kroz postojeće pukotine u vapnencu. Sva jezera se nalaze u dužini od 8 km te zauzimaju ukupno 1,98 km² (Božičević 1992).



Slika 3.4. Plitvička jezera (jezero Kozjak) (Foto: Zoran Marčić)

3.1.3. Kanal Veliki Ždralovac u Livanjskom polju

Livanjsko polje u Bosni i Hercegovini najveće je polje u Dinarskom kršu, površine oko 405 km² (Roglić 1953). Dužina Livanjskog polja je 65 km, a srednja širina 6 kilometara (Cvijić 1900). Izraziti dinarski smjer, oštrina rubova, sastav oboda i položaj slojeva pokazuju da je Livanjsko polje tektonski uvjetovana zavalu u koju su spuštene tercijarne morske i jezerske naslage. Današnji oblik i izgled rezultat su procesa diferencirane erozije i korozije. Prema odvodnim ponorima polje je podijeljeno u tri veća i dva manja porječja, što uvjetuje njegovo daljnje morfološko raščlanjivanje. Krajnji jugoistočni i sjeverozapadni dijelovi, Buško Blato i Ždralovac, su niži i najduže plavljeni (Roglić 1953).

Močvara Ždralovac, jedina preostala od tri močvare na ovom području, značajno je devastirana prenamjenom u poljoprivredno zemljište i izgradnjom melioracijskih kanala, kao što je i kanal Veliki Ždralovac (slika 3.5.) (Nijaz i Ćerić 2014). U prirodnom stanju zabilježeno je presušivanje kanala Veliki Ždralovac u sušnim godinama, u trajanju od 3-4 mjeseca. Zbog zahvata u dijelu močvare (Mali Ždralovac) u kojem je izvršena melioracija i značajno produbljeno korito Ševarove Jaruge (odnosno Ždralovačkog kanala), došlo je do promjene u režimu trajanja sušnih razdoblja i značajne izmjene režima površinskih voda u samoj močvari. Također, zbog intenzivnog iskorištavanja treseta na prostoru Velikog Ždralovca, pojačana je odvodnja izgrađenom mrežom sekundarnih kanala, koji sakupljaju vodu i dovode je do Ždralovačkog kanala (Odluka o donošenju Plana upravljanja vodama za vodno područje Jadranskog mora u Federaciji BiH (2016.-2021.), Službene novine Federacije BiH broj 44/18).



Slika 3.5. Kanal Veliki Ždralovac u Livanjskom polju (Foto: Tanja Mihinjač)

3.1.4. Vransko jezero kod Biograda na Moru

Na području južnog hrvatskog primorja opće siromaštvo nadzemnih, a vrlo veliko bogatstvo i sva složenost cirkulacije voda u podzemlju tipične su pojave za krš i potpuno su u skladu s hidrogeološkim svojstvima prevladavajućih topivih stijena. Litostratigrafsku osnovu čine uglavnom karbonatne (vapnenci i dolomiti) i flišne stijene (pješčenjaci s laporima i glinovitim škriljancima) mezozojske i paleogenske starosti (Crkvenčić i sur. 1974).

Pleistocenskom zahlađenju prethodilo je jako usijecanje tekućica i ispiranje nepropusnih naslaga, kojima su nastala dolinska proširenja, a u vapnencima su usječeni uski kanjoni. Na ovaj način su izmodelirane složene doline rijeka, primjerice rijeke Krke, i njihovih malobrojnih pritoka. Zbog izdizanja zemljišta i povećanjem visinskih razlika, došlo je do ispiranja na nepropusnim naslagama koje su okružene karbonatnim stijenama. Otjecanje voda i odnošenje materijala vršilo se kroz okolni krš, što upućuje na njegovu dubinu i dimenzije podzemnih šupljina, a tim procesom je nastalo i Vransko jezero (Crkvenčić i sur. 1974). Vransko jezero (slika 3.6.) je plitko, boćato jezero koje se opskrbljuje vodom iz nekoliko slatkovodnih izvora, a vezu s morem ima od 1770. godine, kada je u svrhu melioracije Vranskog polja iskopan 850 m dug kanal kod Prosike povezan s morem. Jezero se nalazi na nadmorskoj visini od 0 m.n.m., površine je 30 km², a najveća dubina je oko 4 m. Prije prokopa kanala kod Prosike, razina Vranskog jezera je bila čak 2,1 m.n.m. zbog dotjecanja vode iz sliva jezera. Sada je dotjecanje vode u jezero regulirano izgrađenim kanalima kroz Vransko polje (Božičević 1992).

Šire područje Vranskog jezera i polja izgrađeno je od krednih (rudistnih) i eocenskih (foraminiferskih) vapnenaca, krednih dolomita i eocenskog fliša, uglavnom lapora. Stijene Krede i Paleogena (Eocena) prekrivene su kvartarnim pretežno jezerskim sedimentima na većem dijelu polja i ispod jezera (Mamužić 1971, Mamužić i Nedelc-Devide 1973, Mamužić 1975). Voda dotječe u Vransko jezero površinskim i podzemnim putem (izvori u jezeru), otječe iz jezera okruženim podzemljem i kanalom Prosika, a gubi se i isparavanjem. Vransko jezero najniža je površina Ravnih kotara, a prikuplja površinske vode gotovo njihove polovice. Slivno područje Vranskog jezera površine je 490 km². Hidrografska mreža na Vranskom polju rezultat je melioracijskih

zahvata izvedenih u cilju odvodnje voda prema Vranskom jezeru i moru. Površinski vodotoci porječja su Kotarka, Kličevica, Mirošnica i Škorobić. Najveći pritok Vranskog jezera je periodični vodotok Kotarka, uređen i kanaliziran, od izvora, odnosno zdenca Turanjsko jezero i prikuplja vode područja južno od Donjeg Zemunika i Vranskog polja, jugozapadno od flišne zone uz istočni rub polja te ih uvodi u Vransko jezero. U zadnjih desetak godina, nakon proglašenja Parka prirode Vransko jezero, prepoznat je problem jakog zaslanjivanja jezerske vode tijekom sušnih mjeseci na temelju povišenih klorida u jezerskoj vodi. Zaslanjivanje je dijelom potencirano antropogenim zahvatima te ugrožava ekološku ravnotežu jezera (Ilijanić i sur. 2018).



Slika 3.6. Vransko jezero kod Biograda na Moru (Foto: Zoran Marčić)

3.1.5. Rijeka Guduča

Rijeka Guduča (slika 3.7.), ukupne duljine 7 km, uz rijeke Krčić, Kosovčicu, Orašnicu, Butišnicu i Čikolu s Vrbom, jedna je od šest pritoka rijeke Krke, a utječe u rijeku Krku u Prokljanskom jezeru (Javna ustanova „Nacionalni park Krka“ 2019).

Prokljansko jezero na rijeci Krki rezultat je promjena do kojih je došlo u pleistocenu, odnosno potapanja donjeg toka rijeke Krke. Jezero je veliko 11 km², s najvećom dubinom od 25 m, a na njega utječu plima i oseka (Božičević 1992).



Slika 3.7. Rijeka Guduča (Foto: Zoran Marčić)

3.1.6. Jezero Visovac na rijeci Krki

Rijeka Krka izvire na istočnom rubu Kninskog polja iz pećinskog vrela ispod Topoljskog buka Krčića. Krčićev slap je ljeti uglavnom suh, dok je vrelo Krke nepresušno. Rijeka Krka ima najrazgranatiju riječnu mrežu, a pored glavnog toka najznačajniji su pritoci Butišnica s desne, povremeni tok Krčića te Kosovčica i Čikola s lijeve strane. Rijeka Krka duga je oko 72,5 km. Nakon tri kilometra toka Kninskim poljem, Krka prolazi dugim kanjonom u kojem je korito na nekoliko mjesta pregrađeno sedrenim barijerama (Bilušića buk, Brljan, Manojlovac, Rošnjak, Miljacka, Roški slap i Skradinski buk), sve do ušća u more kod Skradina. Do isteka iz Kninskog polja ima tri pritoke: Orašnicu, Kosovčicu i Butišnicu s Radljevcem s ukupno 38 stalnih i povremenih vrela. Za hidromorfološko obilježje rijeke Krke je izuzetno značajna velika

koncentracija padova na kratkoj udaljenosti, što je optimalno za hidroenergetsko korištenje, zbog čega su na rijeci izgrađene hidroelektrane (MHE Krčić, HE Miljacka, HE Jaruga). Jezero Visovac (slika 3.8.) nalazi se na rijeci Krki između dvije sedrene barijere, Roškog slapa na sjeveru i Skradinskog buka na jugu. Površina jezera je 7,9 km², a najveća dubina 55 m. Vode rijeke Krke ulaze u jezero Visovac preko Roškog slapa visine 25 m, a jezerska voda izlazi preko Skradinskog buka visine 45,7 m (Božičević 1992, Crkvenčić i sur. 1974, HEP Proizvodnja d.o.o. 2019).



Slika 3.8. Jezero Visovac na rijeci Krki (Foto: Zoran Marčić)

3.1.7. Rijeka Ruda

Izvor rijeke Rude nalazi se u selu Ruda u Dalmatinskoj zagori, a sama rijeka smještena je u istočnom dijelu Sinjskog polja. Velika Ruda glavni je izvor rijeke Rude, dok su ostali pritoci Mala Ruda i Ovrlja te Grab (Banović 2014). Rijeka Ruda (slika 3.9.) dio je porječja rijeke Cetine i u njemu ima veliki značaj s obzirom na to da je ovaj izvor jedan od najvećih i najizdašnijih. Za pojavu velikog broja izvora na lijevoj strani

Cetine, kojima pripada izvor Rude, najvažniju ulogu ima kompleks jurskih vapnenaca i dolomita, a koji predstavlja barijeru podzemnim vodama i usmjerava ih prema stalnim krškim izvorima. Stalnosti toka rijeke Cetine pridonose i dotoci s viših horizonata, Livanjskog polja i Buškog blata, a u njih dotječu podzemno i hipsometrijski više stepenice, Glamočko, Duvanjsko i Kupreško polje. Lokalni značaj imaju neogenski glinovito-laporoviti sedimenti koji su također nepropusni i presijecaju put podzemnih voda čime ih dovode do izvora (Tadić 2019). Pored rijeke Rude u mjestu Ruda, smještena je HE Orlovac, visokotlačna derivacijska hidroelektrana snage 237 MW koja koristi vode porječja Livanjskog polja te ih propušta u porječje rijeke Cetine nizvodno od Peruće. HE Orlovac je tehnološki spojena s hidroenergetskim sustavom akumulacijskih bazena i retencije Buško blato u Bosni i Hercegovini. U sklopu tog sustava je i Crpna stanica (CS) Buško Blato, postrojenje koje gospodari vodama sustava Buškog blata, koristeći regulirane vodotoke i dovodne kanalske sustave koji služe za prihvaćanje, izravnanje i transport voda na Livanjskom polju te njihovo energetske korištenje na konstruktivnom padu od oko 380 m između Livanjskog i Sinjskog polja. Vode se iz središnjeg dijela Livanjskog polja i akumulacije Buško blato dovode u kompenzacijski bazen Lipa od kojega se tunelom duljine 12.100 m, promjera 5,5 m dovode do vodne komore HE Orlovac (HEP Proizvodnja d.o.o. 2019).

Sama rijeka Cetina izvire u selu Cetina ispod Dinare, na koti od 382 m. Zbog povoljnih hidroloških značajki, 1912. godine na Cetini je izgrađena HE Kraljevac, a kasnije i HE Peruća, Đale, Split I i II te već spomenuta HE Orlovac. Također su uz hidroelektrane izgrađeni i akumulacijski bazeni Peruća, Đale i Prančevići te su izbušena dva dovodna tunela kroz masiv Mosora (Božičević 1992).



Slika 3.9. Rijeka Ruda (Foto: Zoran Marčić)

3.1.8. Hutovo blato

Močvara Hutovo blato (slika 3.10.), površine oko 7.411 ha, smještena je u donjem toku rijeke Neretve u Bosni i Hercegovini, oko 25 km uzvodno od ušća rijeke Neretve u Jadransko more. Krške ponornice i površinske vode s okolnih područja stvaraju veći broj jezera i jaruga te osiguravaju visoku razinu podzemne vode, koja utječe na pojavu stalnih i povremenih izvora i vrela. Jezera Hutovog blata predstavljaju prave kriptodepresije, jer se dna pojedinih jezera nalaze ispod razine mora. Najveća jezera Hutovog blata su Deransko, Jelim, Drijen, Orah, Škrka i Svitava. Jezera Škrka, Jelim, Drijen i Orah imaju kamenito dno na 2 do 7 m ispod morske razine i na njima se javljaju stalna uzlazna vrela, dok je Svitavsko jezero akumulacija, nastala izgradnjom HE Čapljina 70-ih godina 20. stoljeća. Sva jezera Hutovog Blata međusobno su povezana velikim brojem kanala i jaruga. Glavni vodotok Hutovog blata je rijeka Krupa, koja odvodi vode Gornjeg blata i Svitavskog jezera u rijeku Neretvu (Elektroprojekt d.d. 2013, JP Park prirode Hutovo blato 2020).

Hutovo blato vezano je uz hidrološki režim rijeke Bregave i Trebišnjice. Upravo zbog navedenog, veliki utjecaj na njega imala je izgradnja Hidrosustava (HS) Trebišnjica. Izgradnjom HS Trebišnjica formirano je Bilečko jezero površine 27,6 km² (na gornjem toku Trebišnjice, ostvarenom branom Grančarevo) s još tri manje akumulacije („Gorica“ na Trebišnjici kod Trebinja, „Hutovo“ - gornji kompenzacijski bazen HE Čapljina i „Svitava“ - Donji kompenzacijski bazen HE Čapljina). Time je porječje Trebišnjice obogaćen s oko 40 km² vodenih površina, ali je također zbog preusmjeravanja oko 2 milijarde m³ vode na HE Dubrovnik nizvodno na porječju izgubljena značajna količina vode. Izgradnjom PHE „Čapljina“ povremeni tok Trebišnjice kroz Popovo polje je pretvoren u stalni tok površine 12-19 milijuna m². U ovakvim uvjetima dotoci u Hutovo blato, prije svega u Svitavu, ovise o padalinama u neposrednom porječju i gubitcima u betoniranom koritu rijeke Trebišnjice. S obzirom na to da su poplave u Popovom polju značajno smanjene, dotoci u Svitavu su u vlažnom periodu godine također smanjeni, a u sušnom periodu ovise o radu uzvodnih HE i o održavanju korita i saniranju nedostataka na betonskoj oblozi (Odluka o donošenju Plana upravljanja vodama za vodno područje Jadranskog mora u Federaciji BiH (2016. - 2021.) Službene novine Federacije BiH broj 44/18).



Slika 3.10. Hutovo blato (Foto: Branko Glamuzina)

3.1.9. Jezero Kutu

Rijeka Neretva iz nepropusnih naslaga svoga gornjeg porječja nanosi dosta trošnog materijala, kojim je oko ušća nataložila mladu i složenu deltu. Rijeka Neretva najviše taloži oko korita i tako zatvara rubne močvare, takozvana „blata“. U rijeci Neretvi razlikuju se dvije vrste nanosa. Za vrijeme ledenog doba rijeka je donosila goleme količine šljunka i taložila ga u donjoj dolini. Šljunkoviti talozi su taloženi prema nižoj morskoj razini. Sadašnja delta odgovara izdignutoj razini mora te mlađe naplavine prekrivaju starije šljunkovite. Hidrografsku mrežu rijeke Neretve unutar granica južne Hrvatske određuju odvojeni tokovi velike i male Neretve s izgrađenim sustavom kanala te manja jezera. Hidrološki uvjeti na ušću ovisni su ne samo o riječnom režimu, već i o hidrotehničkim zahvatima uzvodno. Učestale jesenske kiše i nagla otapanja snijega u proljetnim mjesecima odraz su jakih sredozemnih utjecaja i mogu uvjetovati vrlo visoke vodostaje pa čak i poplave. Upravo iz ovog razloga je Donja Neretva dugo bila močvarno područje, prije provedenih opsežnih agrotehničkih radova, kojima se preko

kanalskih sustava odvodi višak vode (Crkvenčić i sur. 1974). Jezero Kuti (slika 3.11.) je malo, plitko, boćato, krško jezero u porječju rijeke Neretve, s njene lijeve strane, koje se uglavnom prihranjuje vodom iz krških izvora, a manjim dijelom iz rijeke Neretve. Jezero je također kanalima povezano s rijekom Mislinom (Jurina Tokić 2013). Izvori se pojavljuju na granici karbonatnih stijena i slojeva niske propusnosti, kao što je primjerice fliš. Samo jezero se nalazi na nadmorskoj visini od 1 m.n.m., površine je 0,03 km², a najveća dubina je oko 6 m (Bukvić-Ternjej i sur. 2001). Tijekom 2020. godine jezero Kuti je proglašeno posebnim ornitološkim rezervatom (Uredba o proglašavanju posebnih rezervata „Modro oko i jezero Desne“, „Ušće Neretve“ i „Kuti“, Narodne novine, broj 94/2020).



Slika 3.11. Jezero Kuti (Foto: Zoran Marčić)

3.1.10. Ravno (Popovo) polje – rijeka Trebišnjica

Ravno (Popovo) polje smješteno je na nadmorskoj visini od 220-240 m, a nalazi se u porječju rijeke Trebišnjice (slika 3.12.), koja izvire na nadmorskoj visini od 398

metara u formi krškog vrela ispod Bileće i teče nizvodno od Trebinja u pravcu pružanja Dinarskog masiva. Površina porječja iznosi 2.250 km². Radi se o složenom sustavu površinskih i podzemnih tokova u Hercegovini, čije je krajnje ishodište Jadransko more, to jest rijeka Ombla kod Dubrovnika. Veliki dio voda Trebišnjice ponire, a izgradnjom hidroenergetskih objekata režim voda je potpuno izmijenjen. Dio se akumulira u akumulacijama u Bileći i Trebinju, dio se tunelom odvodi prema moru gdje se energetski koristi u HE Dubrovnik, dok se dio usmjerava nizvodno i koristi u PHE Čapljina. Upravo je u ovu svrhu izgrađen kanal kroz Ravno (Popovo) polje, koji je značajno promijenio režim podzemnog otjecanja voda. Uređivanjem Ravnog polja korito rijeke Trebišnjice je uvedeno u betonski kanal te je prijašnja dužina toka od 90 km smanjena za 10 km (Božičević 1992).

Površina Ravnog polja iznosi oko 70 km², duljina mu je oko 60 km, a širina varira između 1 i 2 km. U prirodnim uvjetima je na području Ravnog polja zabilježeno preko 500 ponora, estavela i povremenih izvora koji su snabdijevali vodom rijeku Trebišnjicu. Prije regulacije toka, u Ravnom polju dolazilo je do redovitih poplava koje su trajale i preko 250 dana godišnje te dosezale visinu od 40 m (Tumara 2016).

Geološku građu Ravnog polja čine sedimentne tvorevine gornjeg trijasa, jure, krede i paleogena. Sedimentacija se odvijala kontinuirano, s kraćim prekidima tijekom krede, a rezultirala je debelim kompleksom sedimenata izgrađenih od vapnenca i dolomita, čija je sadašnja debljina 4-5 km. Ravno polje je nastalo u zoni uzdužnog rasjeda pravca SZ-JI, a čini usku depresiju koja je u gornjem miocenu raskinuta poprečnim rasjedima. Daljnja evolucija Ravnog polja vezana je uz nastanak Trebišnjice, kršku eroziju i promjene u pleistocenu nastale kao posljedica glacijalnih i interglacijalnih događanja (Čičić 2002).



Slika 3.12. Ravno (Popovo) polje – rijeka Trebišnjica (Foto: Zoran Marčić)

3.2. Metode uzorkovanja

Elektroribolov je najučinkovitija i najmanje štetna metoda lova riba, iako može uzrokovati ozljede prilikom izlaganja riba struji, kao što su ozljede kralježnice i unutarnje krvarenje koji nastaju uslijed snažnih kontrakcija mišića. Elektroribolov se temelji na korištenju električnog polja u vodi, koje mora biti dovoljno jako na određenim udaljenostima od elektroda kako bi se postigao željeni učinak lova. Veličina, oblik i priroda samog polja definirani su distribucijom i obrascem električnog intenziteta, kojeg određuje vršni električni potencijal, vrsta struje i oblik generiranog vala između i oko elektroda, položaj, veličina i oblik elektroda te provodljivost vode, kao i veličina vodenog tijela u kojem se provodi elektroribolov (Snyder 2003).

Elektroribolov je učinkovit samo kada je energija koja se prenese iz vode na ribu dovoljna da uzrokuje elektrošok kod ribe. Učinkovitost samog prijenosa energije ovisi o omjeru električne provodljivosti vode i efektivne provodljivosti ribe. Prijenos energije je potpun kada je provodljivost vode i ribe jednaka, dok su ostali omjeri neučinkoviti (Kolz 1989, Kolz 2006).

S obzirom na to da u rijekama dubljim od 2 m i rijekama s puno suspendiranih tvari u stupcu vode te jezerima elektroribolov nije učinkovita metoda, u ovakvih sustavima kao metoda uzorkovanja preporuča se korištenje različitih tipova mreža, iako su se one pokazale štetnijom metodom lova, s obzirom na učestalost ozljeda i smrtnosti riba (Weather i sur. 2011).

Na lokalitetima jezero Kuti, Plitvička jezera, Hutovo blato, Vransko jezero na otoku Cresu, Vransko jezero kod Biograda na Moru te jezeru Visovac na rijeci Krki uzorci su sakupljeni standardnim ihtiološkim mrežama za stajaćice dužine 30 m i visine 3 m različitih veličina oka. Na lokalitetima Veliki Ždralovac, Ruda, Guduča i Ravno (Popovo) polje uzorci su sakupljeni elektroribolovnim agregatom HansGrassl snage 6,5 kW, koji osigurava istosmjernu struju napona 600 V. Elektroribolov je obavljen iz gumenog čamca duljine 3,6 m, pomoću anode u obliku obruča promjera 30 cm. Katodu je predstavljala čelična sajla smještena ispod stražnjeg dijela čamca. Prilikom elektroribolova, kretalo se u uzvodnom smjeru, osim na mjestima vrlo slabog strujanja, gdje se kretalo i nizvodno. Nakon što su ulovljene, jedinke su usmrćene letalnom dozom anestetika MS-222 (trikain metansulfonat). U svrhu provedbe daljnjih filogenetičkih analiza, sa svake jedinke je uzet dio prsne peraje koji se pohranio u 99 % etilnom alkoholu, dok su u svrhu provedbe daljnjih morfoloških analiza jedinke konzervirane najprije u 36 % formaldehidu, a zatim čuvane u 70 % etilnom alkoholu. Nakon konzerviranja, uzorci su pohranjeni na Biološkom odsjeku PMF-a do daljnje obrade.

U Republici Hrvatskoj uzorci drlje (*S. dergle*) sakupljeni su u Vranskom jezeru na otoku Cresu (CR), jezeru Visovac na rijeci Krki (VI), rijeci Rudi (RU), rijeci Guduči (GU) i Vranskom jezeru kod Biograda na Moru (VR). Iako je do sada taksonomski položaj jedinki iz Vranskog jezera na otoku Cresu bio tema mnogobrojnih rasprava i provedenih istraživanja, s obzirom na rasprostranjenost drlje u geografskom području koje obuhvaća i Vransko jezero na otoku Cresu te na biogeografiju i geološku povijest ovog područja, ovaj rad izrađen je pod hipotezom da jedinke iz Vranskoj jezera na otoku Cresu pripadaju upravo ovoj vrsti, a što se i testiralo i provedenim analizama. U Bosni i Hercegovini uzorci drlje (*S. dergle*) sakupljeni su u kanalu Veliki Ždralovac (VZ) u Livanjskom polju. Uzorci peškelja (*S. plotizza*) sakupljeni su u Republici Hrvatskoj u jezeru Kuti (KU) te u Hutovom blatu (HB) i Ravnom (Popovom) polju

(RA) u Bosni i Hercegovini. Uzorci crvenperke (*Scardinius erythrophthalmus*) sakupljeni su na lokalitetu Plitvička jezera (PL) u Republici Hrvatskoj. Provedenim istraživanjima ukupno je sakupljeno 154 jedinki. Kratice uzoraka, područje istraživanja, datum uzorkovanja, vrste, broj jedinki sakupljenih na pojedinim lokalitetima te boja i oznaka koje se koriste u ovom radu navedeni su u tablici 3.1.

Tablica 3.1. Podatci o sakupljenim uzorcima u Republici Hrvatskoj i Bosni i Hercegovini. ? označava nesigurnost taksonomskog položaja populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu.

Lokalitet	Datum uzorkovanja	Vrsta	Broj jedinki	Kratika	Boja i oznaka
Plitvička jezera (RH)	16.3.2017.	<i>S. erythrophthalmus</i>	15	SCPL1-15	PL
Vransko jezero na otoku Cresu (RH)	22.06.1996. 31.08.2016.	<i>S. dergle</i> (?)	20	SCCR1-20	CR
Veliki Ždralovac u Livanjskom polju (BiH)	12.06.2016.	<i>S. dergle</i>	10	SCVZ1-10	VZ
jezero Visovac na rijeci Krki (RH)	10.10.2006.	<i>S. dergle</i>	22	SCVI1-22	VI
Ruda (rukavac) (RH)	26.11.2014.	<i>S. dergle</i>	9	SCRU1-9	RU
Guduča (RH)	11.03.2015.	<i>S. dergle</i>	20	SCGU1-20	GU
Vransko jezero kod Biograda na Moru (RH)	05.03.2014.	<i>S. dergle</i>	10	SCVR1-10	VR
Ravno (Popovo) polje (BiH)	19.09.2010.	<i>S. plotizza</i>	22	SCRA1-22	RA
Hutovo blato (BiH)	23.01.2009.	<i>S. plotizza</i>	11	SCHB1-11	HB
Kuti (RH)	18.09.2014.	<i>S. plotizza</i>	15	SCKU1-15	KU

3.3. Popis korištenih kemikalija, reakcijskih smjesa, početnica i laboratorijske opreme

Za potrebe rada, korištene su sljedeće kemikalije, reakcijske smjese, početnice i laboratorijska oprema:

Kemikalije

- etilni alkohol, 99 %
- fomaldehid, 4 %
- agaroza
- etidijev bromid

Reakcijske smjese

- DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen) – komplet kemikalija za izolaciju DNA

- HotStarTaq Plus Master Mix Kit (Qiagen) – komplet kemikalija za lančanu reakciju polimerazom (PCR)

Puferske otopine

- TAE (Tris-Acetat-EDTA)
- pufer za liziranje (ATL)
- pufer za pročišćavanje (AL)
- puferi za ispiranje (AW1 i AW2)
- pufer za eluciju DNA (AE)

Početnice

Sve korištene početnice sintetizirane su u servisu Macrogen Europe, Amsterdam, Nizozemska. Korištene početnice navedene su u tablici 3.5.

Za lančanu reakciju polimerazom (PCR) gena za citokrom *b* (1140 bp) korištene su početnice GluF: 5'AACCACCGTTGTATTCAACTACAA3' i ThrR: 5'ACCTCCGATCTTCGGATTACAAGACCG3' (Machordom i Doadrio 2001). Za sekvenciranje ovog gena korištene su početnice CB4-Glu: 5'CCTGAAAYATYGGYGTRGT3' i PHOX-Thr 5'AGGAGGAARTGRAATGCGAA3' (Doadrio i Perea, osobna komunikacija). Za PCR i sekvenciranje gena za beta aktin (888 bp) korištene su početnice BactFor: 5'ATGGATGATGAAATTGCCGC3' i BactRev-5'AGGATCTTCATGAGGTAGTC3' (Robalo i sur. 2007), a za PCR i sekvenciranje gena za BMP (672 bp) početnice bmp4cf2: 5'CATCCCAGAGGAGGAACTCA3' i bmp4r2: 5'SCCYTCSACYACCATYTCCTG3' (Waap i sur. 2011).

Laboratorijska oprema

- pomična mjerka Mitutoyo CD-6 CS s preciznošću 0,01 mm
- lupa Zeiss Stemi 2000-C
- fotoaparati Camedia C-4000 Zoom
- mikrocentrifuga (Mini Spin Plus, Eppendorf)
- miješalica (Vortex Mixer Sat, Stuart)

- vodena kupelj (Shel Lab)
- uređaj za PCR (Mastercycler Personal i Taq Plus Mastercycler nexus GX2, Eppendorf)
- uređaj za vodoravnu elektroforezu u agaroznom gelu (Bio Rad)
- dodatna oprema za elektroforezu u agaroznom gelu (češalj, kalup za izlijevanje gela)
- UV transluminator (Bio Rad).

3.4. Morfološke analize

Morfometrijske i merističke značajke te vanjski izgled tijela ribe koriste se kao determinacijska svojstva kod određivanja vrsta. Merističke značajke su elementi na tijelu ribe koji se serijski ponavljaju i koji se broje, primjerice broj ljusaka u bočnoj pruzi, broj perajnih šipčica, ždrijelnih zubi i slično. Morfometrijske značajke su elementi koji se mogu mjeriti, a podrazumijevaju udaljenosti od jedne do druge točke na tijelu ribe. Vanjski izgled tijela ribe podrazumijeva oblik tijela ribe, specifična obojenja pojedinih dijelova te prisutnost specifičnih oznaka na tijelu ribe (Kottelat i Freyhof 2007).

3.4.1. Morfometrijske analize

Morfološke razlike između populacija riba mogu biti posljedica genetičkih razlika, ali i različitih okolišnih uvjeta. Isto tako, potrebno je uzeti u obzir da razlike u morfološkim značajkama mogu imati genetičku osnovu, koja je nastala diferencijacijom kao prilagodba na okolišne uvjete. Razlike u veličini i obliku riba u različitim populacijama mogu biti posljedica različite temperature vode, stope rasta, prehrane, količine (koncentracije) kisika, saliniteta te ostalih okolišnih čimbenika (Barlow 1961, Wimberger 1992).

U svrhu provedbe morfoloških analiza, na svakoj od 154 sakupljene jedinke izmjereno je 25 morfometrijskih značajki: ukupna duljina tijela (TL), standardna duljina tijela (SL), duljina glave (c), preanalna duljina (Pan), preanalna udaljenost (aA), ventroanalna duljina (Van), preventralna udaljenost (aV), prepektoralna udaljenost (aP), predorzalna udaljenost (aD), duljina repnog drška (lpc), duljina baze leđne peraje (lD), duljina baze podrepne peraje (lA), duljina repne peraje (lC), duljina prsne peraje (lP),

duljina trbušne peraje (IV), najveća visina glave (hco), najveća visina tijela (H), najmanja visina tijela (h), najveća širina glave (laco), najveća širina tijela (lac), širina međuočnog prostora (io), promjer oka (Oh), predočni prostor (prO), zaočni prostor (poO) i duljina srednjeg dijela repne peraje (lsr. rp). Sve mjere su mjerene kao ravna linija od jedne do druge točke na tijelu ribe (Kottelat i Freyhof 2007). Morfometrijske značajke mjerene na svim jedinkama i njihov opis naveden je u tablici 3.2. Mjerenje je obavljeno pomoću pomičnog mjerila, a korišteni stupanj preciznosti u mjerenjima morfometrijskih značajki iznosio je 0,01 mm.

Prilikom usporedbe morfometrijskih značajki različitih populacija potrebno je ukloniti učinak veličine tijela, odnosno standardizirati setove podataka, s obzirom na to da je kod ovakvih setova podataka najveći uzrok varijabilnosti upravo veličina tijela (Elliot i sur. 1995, Lleonart i sur. 2000). Najučinkovitije metode koje se koriste u ovu svrhu su omjeri morfometrijskih značajki i alometrijska pretvorba, koja se pokazala kao najbolja metoda koja uklanja učinak veličine tijela. Korištenje multivarijantnih analiza na setovima podataka koji su standardizirani omjerima, poput analize glavnih komponenta (engl. PCA - principal component analysis), pokazalo je da oni nisu najbolja metoda za dobivanje vjerodostojnih rezultata jer ne uklanjaju u potpunosti učinak veličine tijela (Reist 1985, Lleonart i sur. 2000, Baur i Leuenberger 2011).

Standardizacija izmjerenih morfometrijskih značajki u ovom radu izvršena je pomoću morfometrijskih omjera i alometrijske pretvorbe. Osim standardne i ukupne duljine, ostale morfometrijske značajke prikazuju se kao postotci ili omjeri u odnosu na standardnu duljinu tijela (SL), duljinu glave (c) ili najveću visinu tijela (H) (Kottelat i Freyhof 2007). Prilikom standardizacije morfometrijskih značajki definirano je 25 morfometrijska omjera za daljnje analize, navedenih u tablici 3.3.

Tablica 3.2. Morfometrijske značajke mjerene na svim jedinkama

Oznaka	Latinski naziv	Hrvatski naziv
TL	<i>Longitudo totalis</i>	ukupna duljina tijela
SL	<i>Longitudo corporis</i>	standardna duljina tijela (udaljenost od vrha gubice do početka repne peraje)
c	<i>Longitudo capitis</i>	duljina glave
Pan	<i>Longitudo praeanalisis</i>	preanalna duljina (udaljenost od vrha gubice do početka analnog otvora)
aA	<i>Distantia praeanalisis</i>	preanalna udaljenost (udaljenost od vrha gubice do početka baze podrepne peraje)
Van	<i>Longitudo ventroanalisis</i>	ventroanalna duljina (udaljenost između početka trbušnih peraja i analnog otvora)
aV	<i>Distantia praeventralis</i>	preventralna udaljenost (udaljenost od vrha gubice do početka trbušnih peraja)
aP	<i>Distantia praepectoralis</i>	prepektoralna udaljenost (udaljenost od vrha gubice do početka prsnih peraja)
aD	<i>Distantia praedorsalis</i>	predorzalna udaljenost (udaljenost od vrha gubice do početka baze leđne peraje)
lpc	<i>Longitudo pedunculi</i>	duljina repnog drška (udaljenost od posteriornog ruba baze podrepne peraje do početka repne peraje)
ID	<i>Longitudo basis D</i>	duljina baze leđne peraje
IA	<i>Longitudo basia A</i>	duljina baze podrepne peraje
IC	<i>Longitudo C</i>	duljina repne peraje
IP	<i>Longitudo P</i>	duljina prsne peraje
IV	<i>Longitudo v</i>	duljina trbušne peraje
hco	<i>Altitudo capitis</i>	najveća visina glave (mjerena u razini očiju)
H	<i>Altitudo corporis max.</i>	najveća visina tijela
h	<i>Altitudo corporis min.</i>	najmanja visina tijela, odnosno visina repnog drška
laco	<i>Latitudo capitis</i>	najveća širina glave
lac	<i>Latitudo corporis max.</i>	najveća širina tijela
io	<i>Spatium interorbitale</i>	širina međuočnog prostora
Oh	<i>Diameter oculi</i>	promjer oka
prO	<i>Spatium praeorbitale</i>	predočni prostor (udaljenost od vrha gubice do anteriornog ruba oka)
poO	<i>Spatium postorbitale</i>	zaočni prostor (udaljenost od posteriornog ruba oka do kraja operkuluma)
lsr. rp	/	duljina srednjeg dijela repne peraje

Tablica 3.3. Korišteni morfometrijski omjeri i njihov opis

Oznaka omjera	Opis omjera
c/SL	omjer duljine glave i standardne duljine tijela
Pan/SL	omjer preanalne duljine i standardne duljine tijela
aA/SL	omjer preanalne udaljenosti i standardne duljine tijela
Van/SL	omjer ventroanalne duljine i standardne duljine tijela
aV/SL	omjer preventralne udaljenosti i standardne duljine tijela
aP/SL	omjer prepektoralne udaljenosti i standardne duljine tijela
aD/SL	omjer predorzalne udaljenosti i standardne duljine tijela
lpc/SL	omjer duljine repnog drška i standardne duljine tijela
ID/SL	omjer duljine baze leđne peraje i standardne duljine tijela
IA/SL	omjer duljine baze podrepne peraje i standardne duljine tijela
IC/SL	omjer duljine repne peraje i standardne duljine tijela
IP/SL	omjer duljine prsne peraje i standardne duljine tijela
IV/SL	omjer duljine trbušne peraje i standardne duljine tijela
hco/c	omjer najveće visine glave i duljine glave
h/H	omjer najmanje i najveće visine tijela
laco/c	omjer najveće širine i duljine glave
lac/c	omjer najveće širine tijela i duljine glave
io/c	omjer širine međuočnog prostora i duljine glave
Oh/c	omjer promjera oka i duljine glave
prO/c	omjer predočnog prostora i duljine glave
poO/c	omjer zaočnog prostora i duljine glave
laco/SL	omjer najveće širine glave i standardne duljine tijela
lac/SL	omjer najveće širine tijela i standardne duljine tijela
H/SL	omjer najveće visine i standardne duljine tijela

Standardizacija morfometrijskih značajki alometrijskom pretvorbom izvršena je prema formuli $M_s = M (L_s/L_o)^b$, gdje je M_s standardizirana mjera, M izmjerena mjera, L_s srednja vrijednost standardnih duljina tijela (SL) svih jedinki iz uzorka, L_o standardna duljina tijela jedinke, a b nagib krivulje linearne regresije $\log M$ na $\log SL_o$ svih jedinki iz uzorka (Reist 1985, Elliot i sur. 1995, Turan 2004).

Za statističku obradu morfometrijskih značajki korištena je deskriptivna statistika, gdje su izračunate srednje, minimalne i maksimalne vrijednosti te standardna

devijacija. Za statističku obradu podataka standardiziranih morfometrijskim omjerima i alometrijskom pretvorbom, odnosno usporedbu istraživanih populacija, korištena je analiza varijance (ANOVA) i analiza glavnih komponentata (PCA - engl. principal component analysis).

Normalna distribucija podataka je važna jer većina statističkih testova pretpostavlja da podaci imaju normalnu distribuciju. Njezina važnost proizlazi iz činjenice da za primjenu mnogih statističkih metoda distribucija frekvencije mora biti normalna. Iako je analiza varijance prilično robusna na odstupanja od normalnosti (nije osjetljiva na odstupanja), podaci čija je distribucija frekvencija znatno iskrivljena i čija je varijanca usko povezana sa srednjom vrijednosti, ne može se analizirati bez opasnosti od pogrešaka (Henderson 2003). Za provjeru normalne distribucije podataka korišten je Shapiro-Wilk test koji je temeljen na regresiji, ali nije prikladan za velik broj opservacija (>2000) (Dytham 2010, Hesselberg 2013).

Za statističku provjeru korelacije morfometrijskih podataka sa standardnom duljinom tijela (SL) korištena je korelacijska analiza. Za podatke koji su imali normalnu distribuciju, korišten je Pearsonov koeficijent korelacije r (engl. Pearson product moment correlation coefficient), metoda koja se koristi za pronalaženje koeficijenta korelacije i evaluaciju njegove statističke značajnosti za parametrijske podatke (Hesselberg 2013). Vrijednost r može imati raspon od -1 do 1 (savršeno negativna do savršeno pozitivna korelacija) (Dytham 2010). Za podatke koji nisu imali normalnu distribuciju korišten je neparametrijski Spearmanov koeficijent korelacije r_s (engl. non-parametric Spearman rank correlation coefficient) (Hesselberg 2013). Vrijednost r_s može imati raspon od -1 do 1 (savršeno negativna do savršeno pozitivna korelacija) (Dytham 2010).

Analiza varijance (ANOVA) uključuje raspodjelu, odnosno podjelu ukupne varijabilnosti broja uzoraka u svoje komponente. ANOVA funkcionira dijeljenjem ukupne varijance u varijancu unutar uzorka i varijancu između uzoraka. Uzorci imaju dva izvora varijabilnosti: varijabilnost oko svake srednje vrijednosti unutar uzorka i varijabilnost između uzoraka zbog razlika između srednjih vrijednosti populacije iz kojih se uzorci uzimaju. Ako su uzorci izvučeni iz populacija s normalnom distribucijom, s jednakim srednjim vrijednostima i varijancama, varijanca unutar uzorka

je jednaka varijanci između uzoraka. Ako statistički test pokaže da to nije slučaj, tada su uzorci uzeti iz populacija s različitim srednjim vrijednostima i/ili varijancama. Ako se pretpostavlja da su varijance jednake, tada se zaključuje da je uzrok odstupanja razlika u srednjim vrijednostima. Dakle, nulta hipoteza (H_0) pretpostavlja da su promatrani uzorci iz populacija s normalnom distribucijom i s jednakim srednjim vrijednostima i varijancama. Ako je F-test statistički značajan, tada se odbacuje nulta hipoteza i prihvaća alternativna hipoteza (H_1), odnosno pretpostavlja se da su varijance populacija jednake te su stoga uzorci uzeti iz populacija s različitim srednjim vrijednostima. U slučaju odbacivanja nulte hipoteze, kako bi se utvrdilo koje se populacije međusobno statistički značajno razlikuju u pojedinim značajkama, korišten je Fisherov *post hoc* test (Fowler i sur. 1998, Dytham 2010).

Sljedeće pretpostavke moraju biti ispunjene prije provođenja ANOVE: podaci moraju biti nezavisni, moraju imati normalnu distribuciju te moraju imati jednake varijance. ANOVA ne pretpostavlja da su veličine uzoraka jednake (Fowler i sur. 1998, Dytham 2010, Hesselberg 2013, McDonald 2014). Ova metoda nije osobito osjetljiva na odstupanja od pretpostavki; ako se primjeni na podacima koji nemaju normalnu distribuciju, vjerojatnost za dobivanje p vrijednosti manje od 0,05, ako je nulta hipoteza istinita, još je uvijek blizu 0,05 (McDonald 2014).

Analiza glavnih komponenata (engl. principal component analysis - PCA) je multivarijantna analiza koja se koristi za utvrđivanje relativne važnosti varijabli u objašnjavanju podataka. To se vrši evaluacijom utjecaja linearnih kombinacija varijabli (tzv. glavnih komponenti - engl. principal components - PC) na varijaciju podataka. Cilj analize glavnih komponenata je identifikacija kombinacija varijabli koje objašnjavaju najveću količinu varijacije u multivarijantnom setu podataka. Glavne komponente su organizirane tako da prva glavna komponenta (PC1) objašnjava najveću količinu varijacije, PC2 sljedeću najveću, itd. Temeljna postavka je da mali broj glavnih komponenata objašnjava toliku varijaciju u podacima da se preostale glavne komponente mogu zanemariti, tako da se podaci mogu opisati samo s nekoliko glavnih komponenata umjesto velikog broja varijabli. Promatrajući linearne kombinacije izvornih varijabli u prvoj glavnoj komponenti, može se utvrditi njihov utjecaj na glavnu komponentu i time procijeniti njihova ukupna važnost u objašnjavanju podataka. Ako je

potrebno mnogo glavnih komponenti za objašnjavanje podataka, metoda glavnih komponenti nije pravi statistički test za analizu podataka (Fowler i sur. 1998, Dytham 2010, Hesselberg 2013).

Sve statističke analize rađene su u programima Microsoft Office Excel 2010 i Statistica 13.1.

3.4.2. Merističke analize i vanjski izgled

Merističke značajke podrazumijevaju strukture na tijelu ribe koje se ponavljaju i koje se mogu brojati. Na svim prikupljenim uzorcima izbrojan je broj ljusaka u bočnoj pruzi te broj mekih i tvrdih šipčica u svim perajama: repnoj, prsnoj, trbušnoj, leđnoj i podrepnoj. Šipčice u perajama mogu biti meke i tvrde. Tvrde šipčice su strukture koje se ne granaju i nisu segmentirane, te su općenito tvrde i šiljaste, a mogu biti i oblikovane kao bodlje. Meke šipčice sastoje se od lijevih i desnih dijelova te su segmentirane i razgranate. Zadnje dvije meke šipčice u leđnoj i podrepnoj peraji se nalaze na jednom pterigioforu (kost na koju se vežu šipčice) te se one prilikom brojanja označavaju kao 1½ (Kottelat i Freyhof 2007). Prilikom brojanja mekih i tvrdih perajnih šipčica na uzorcima, broj mekih šipčica naveden je arapskim brojevima, a broj tvrdih šipčica rimskim brojevima.

Kod vanjskog izgleda jedinki zabilježena su sva primijećena specifična obojenja i oznake na tijelu jedinke te oblik tijela, kako bi se utvrdile moguće specifičnosti pojedinih istraživanih populacija.

3.4.3. Determinističke morfološke značajke istraživanih populacija *S. dergle*

S obzirom na problematiku vezanu uz taksonomski položaj istraživane populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu, napravljena je komparativna analiza determinističkih morfoloških značajki svih populacija *S. dergle* dobivenih ovim istraživanjem te determinističkih morfoloških značajki *S. dergle* i *S. hesperidicus* prema Kottelat i Freyhof (2007), kako bi se utvrdilo razlikuje li se populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu od ostalih istraživanih populacija drlje. Naime, populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu se kroz literaturu navodi kao *S. erythrophthalmus hesperidicus* (Karaman 1928, Martinović 1995, Topić Popović i sur. 2001), *S.*

hesperidicus (Valić i sur. 2013) te *S. erythrophthalmus* (Šprem i sur. 2010). Iz analize je isključena *S. erythrophthalmus* s obzirom na to da jadranski slijev nije prirodno područje rasprostranjenosti ove vrste.

Determinističke morfološke značajke koje su uspoređene između navedenih populacija su omjer duljine glave i standardne duljine tijela, omjer najveće visine tijela i standardne duljine tijela, omjer najmanje visine tijela i standardne duljine tijela, broj razgranatih šipčica u analnoj (podreпноj) peraji te broj ljustica u bočnoj pruzi.

3.5. Filogenetičke analize

Broj ulovljenih jedinki crvenperke, drlje i peškelja po pojedinim lokalitetima, uključenih u filogenetičke analize za pojedine genske markere prikazan je u tablici 3.4. Sa svake jedinke je uzet dio prsne peraje koji je konzerviran u 99 % etilnom alkoholu. Nakon konzerviranja, uzorci su pohranjeni na Biološkom odsjeku PMF-a do daljnje obrade. Priprema uzoraka za filogenetičke analize uključivala je izolaciju ukupne genomske DNA iz uzoraka, umnažanje dobivenih fragmenata DNA lančanom reakcijom polimeraze (engl. PCR - polymerase chain reaction) te sekvenciranje. U ovaj rad trebali su biti uključeni i uzorci *S. knezevici* sakupljeni na jezeru Ohrid u Albaniji. No, s obzirom na to da je došlo do pogreške u konzerviranju samih uzoraka, oni nisu bili prikladni za daljnje morfološke i filogenetičke analize te nisu korišteni u ovom radu. Nadalje, iako je u svrhu provedbe filogenetičkih analiza bilo predviđeno korištenje jezgrinog gena za RAG1, s obzirom na tešku izolaciju ovog genskog markera iz uzoraka, odlučeno je da će se od jezgrinih gena izolirati beta aktin i koštani morfogenetski protein (engl. BMP - bone morphogenetic proteins), koji su se također pokazali informativnima u filogenetičkim istraživanjima ihtiofaune.

Tablica 3.4. Broj jedinki crvenperke (*S. erythrophthalmus*), drlje (*S. dergle*) i peškelja (*S. plotizza*) ulovljenih na pojedinom lokalitetu uključenih u filogenetičke analize. Naveden je broj jedinki za koje su dobivene i analizirane potpune sekvence gena za citokrom *b* (*cyt b*) te djelomične sekvence jezgrinih gena beta aktin i BMP

Vrsta	Lokalitet	Broj jedinki		
		<i>cyt b</i>	beta aktin	BMP
<i>S. erythrophthalmus</i>	jezero Štikada*	2	2	2
<i>S. dergle</i>	Vransko jezero Cres	9	3	8
	Vransko jezero Biograd	11	10	8
	Veliki Ždrlovac	3	3	3
	Jezero Visovac	8	/	2
	rijeka Ruda	7	/	5
	rijeka Guduča	9	8	7
<i>S. sp.</i>	jezero Modro oko (Imotski)*	1	/	1
	rijeka Krka (kod manastira)*	1	/	1
<i>S. plotizza</i>	Hutovo blato	4	/	2
	Kuti	9	6	4
	Ravno (Popovo) polje	8	/	7

* uzorci iz jezera Štikada, rijeke Krke (kod manastira) i jezera Modro oko (Imotski) su dodatni uzorci sakupljeni samo za filogenetička istraživanja, u odnosu na ostale za koje su provedena i morfološka istraživanja

3.5.1. Izolacija DNA

Za izolaciju DNA iz sakupljenih uzoraka korišten je DNeasy® Blood & Tissue komplet kemikalija (*Qiagen-Start Protocol*) te je izolacija izvršena prema protokolu proizvođača (*Qiagen Quick-Start Protocol*). Svaki sakupljeni uzorak prsne peraje (oko 25 mg) izrezan je na komadiće i stavljen u Eppendorf epruveticu zapremine 2 ml. Zatim je u epruveticu dodano 180 µl ATL pufera za liziranje stanica te 20 µl proteinaze K. Uzorci su preko noći ostavljeni u vodenoj kupelji na 56 °C, kako bi došlo do potpune lize stanica. Nakon toga, uzorci su promiješani pomoću Vortex miješalice te je u svaku Eppendorf epruveticu dodano 200 µl pufera AL i 200 µl 100 % etanola. Potom je svaki uzorak prebačen u epruveticu s membranom (*DNeasy Mini spin column*), koja je smještena u epruveticu za skupljanje uzoraka zapremnine 2 ml. Uzorci su zatim centrifugirani dva puta na 8000 okretaja u minuti, između čega su isprani s 500 µl pufera AW1 te je zamijenjena epruvetica za skupljanje. Nakon drugog centrifugiranja uzorci su isprani s 500 µl pufera AW2 te zatim treći put centrifugirani na 14000 okretaja u minuti. Ovim postupkom došlo je do vezivanja DNA na membranu epruvetice DNeasy Mini spin column. Zatim je epruvetica s membranom smještena u novu epruveticu za skupljanje te je izvršena elucija DNA s membrane u epruveticu za skupljanje dodatkom 150 µl pufera AE za eluciju te centrifugiranjem na 8000 okretaja u

minuti. Svaka Eppendorf epruvetica, odnosno uzorak, je označen kodnim brojem te pohranjen do daljnjih analiza na -20 °C.

3.5.2. Umnažanje fragmenata DNA lančanom reakcijom polimeraze

Lančana reakcija polimerazom koristi se za umnažanje specifičnih fragmenata DNA *in vitro*, što se postiže korištenjem dviju oligonukleotidnih početnica koje se vežu na različite krajeve fragmenta DNA. Ponavljajući ciklusi koji uključuju denaturaciju dvolančane DNA, sparivanje početnica i produljivanje DNA, rezultiraju dobivanjem eksponencijalnog broja kopija specifičnog fragmenta DNA (Atawodi i sur. 2010).

Lančanom reakcijom polimeraze umnoženi su fragmenti DNA mitohondrijskog gena koji kodira za citokrom *b* te fragmenti DNA jezgrinih gena koji kodiraju za beta aktin i koštani morfogogenetski protein (BMP). Citokrom *b* je protein koji ima važnu ulogu u prijenosu elektrona u mitohondrijskom respiratornom lancu. Beta aktin je jedna od proteina iz skupine aktina koji utječu na pokretljivost stanica, njihovu strukturu i integritet te međustaničnu signalizaciju. BMP je skupina signalnih molekula koja je odgovorna za niz procesa kao što je formiranje i održavanje različitih organa, a najvažniju ulogu imaju u formiranju koštane tvari. Ovi genski markeri su često korišteni u filogenetičkim istraživanjima riba iz razloga što su se pokazali informativnim za razrješavanje divergencija na različitim taksonomskim razinama.

Reakcijska smjesa za PCR za svaki uzorak bila je ukupnog volumena 25 µl, a sastojala se od 12,5 µl mješavine za PCR (Dream Taq), 4 µl DNA, po 1 µl svake početnice (koncentracije 10 pmol/µl) i 6,5 µl vode oslobođene nukleaza. Za PCR ovako pripremljenih uzoraka korišten je PCR uređaj prema reakcijama navedenima u tablici 3.5.

Tablica 3.5. Korištene početnice i PCR uvjeti za istraživane gene

Gen i broj nukleotidnih mjesta	Početnice	PCR uvjeti
citokrom <i>b</i> (1140 bp)	GluF: 5'AACCACCGTTGTATTCAACTACAA3' ThrR: 5'ACCTCCGATCTTCGGATTACAAGACCG3' (Machordom i Doadrio 2001)	Početna denaturacija (94°C / 5 min) PCR ciklus (35 ciklusa): - denaturacija (94°C / 1 min) - sparivanje (50°C / 1,15 min) - produljivanje (72°C / 1,30 min) Završna sinteza (72°C / 10 min)
beta aktin (888 bp)	BactFor: 5'ATGGATGATGAAATTGCCGC3' BactRev: 5'AGGATCTTCATGAGGTAGTC3' (Robalo i sur. 2007)	Početna denaturacija (94°C / 5 min) PCR ciklus (35 ciklusa): - denaturacija (94°C / 30 s) - sparivanje (55°C / 40 s) - produljivanje (72°C / 1,30 min) Završna sinteza (72°C / 10 min)
BMP (672 bp)	bmp4cf2: 5'CATCCCAGAGGAGGAAGTCA3' bmp4r2: 5'SCCYTCSACYACCATYTCCTG3' (Waap i sur. 2011)	Početna denaturacija (94°C / 5 min) PCR ciklus (35 ciklusa): - denaturacija (94°C / 1 min) - sparivanje (62°C / 30 s) - produljivanje (72°C / 1 min) Završna sinteza (72°C / 10 min)

3.5.3. Elektroforeza umnoženih fragmenata DNA u agaroznom gelu

Provjera dobivenih PCR produkata napravljena je elektroforezom na vodoravnom agaroznom gelu. Gel elektroforeza je standardna tehnika koja se koristi za odvajanje, identifikaciju i pročišćavanje nukleinskih kiselina. S obzirom na to da molekule DNA imaju jednaku količinu naboja po masi, ova tehnika ih odvaja temeljem njihove veličine. Sukladno tome, manje molekule putuju brže kroz agarozni gel od onih većih (Magdeldin 2012).

Elektroforeza dobivenih PCR produkata provedena je na 1 % agaroznom gelu, koji je dobiven otapanjem 1 g agaroze u 100 ml TAE pufera. Gel je izliven u kalup u koji su potom umetnuti češljici za stvaranje jažica. Nakon što se gel ohladio te su izvađeni češljici, u jažice je nanošeno po 4 µl DNA, a u zasebnu jažicu kao standard za određivanje veličine DNA fragmenata nanesen je DNA standard O'GeneRuler™ 50 bp DNA ladder 0,1 µg/µl, Fermentas. Gel je nakon nanošenja uzoraka uronjen u TAE puffer te je pokrenuta elektroforeza na naponu 120 V u trajanju od 30 minuta. Nakon

elektroforeze, kako bi se obojala DNA, gel je uronjen u otopinu etidij bromida (10 min). Nakon toga je pomoću UV transluminatora (Bio Rad) vizualizirana DNA u gelu te fotografirana fotoaparatom (Camedia C-4000 Zoom).

3.5.4. Određivanje primarne strukture DNA

Produkti lančane reakcije polimerazom koji su uspješno vizualizirani gel elektroforezom poslani su na određivanje primarne strukture DNA (sekvenciranje) u servis Macrogen Europe (<https://dna.macrogen-europe.com/eng/>; Macrogen Europe B.V., Meibergdreef 31, Amsterdam, Netherlands).

Početnice korištene u PCR reakcijama za beta aktin i BMP te sekvence za sekvenciranje gena za citokrom *b* razrijeđene su u koncentraciji od 10 pmol/μl te su zajedno s PCR produktima koji su uspješno vizualizirani, poslane u Macrogen Europe. PCR produkti koji nisu uspješno vizualizirani gel elektroforezom, nisu korišteni u daljnjim filogenetičkim analizama.

3.5.5. Računalni programi

Priprema i analiza dobivenih sekvenci istraživanih genskih markera izvršena je pomoću računalnih programa navedenih u nastavku.

BioEdit Sequence Alignment Editor 7.2.5. (Hall 1999) je softverski paket za poravnavanje sekvenci i komparativne analize. Korišten je u svrhu provjere sekvenci, odnosno nukleotidnih mjesta te obradu i poravnavanje sekvenci.

DnaSP 6. (Rozas i Rozas 1995, Rozas i Rozas 1997, Rozas i Rozas 1999, Rozas i sur. 2003, Librado i Rozas 2009, Rozas 2009, Rozas i sur. 2017) je programski paket za sveobuhvatnu analizu polimorfizma DNA seta podataka, uključujući i analize temeljene na teoriji koalescencije. Program je korišten za određivanje broja i raznolikosti haplotipova istraživanih setova sekvenci.

MEGA-X (engl. Molecular Evolutionary Genetics Analysis) 10.0.05 (Tamura i sur. 2007) je programski paket koji služi za obradu i poravnavanje DNA sekvenci, procjenu evolucijskih udaljenosti pomoću metode najveće vjerodostojnosti, izradu filogenetskih stabala i testiranje evolucijskih hipoteza. Ovaj program je korišten za izračun genske

udaljenosti jedinki između i unutar pojedinih grupa te pripremu sekvenci u .nex formatu (Maddison i sur. 1997) za filogenetičke analize.

PAUP* (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) 4.0. (Swofford i sur. 1996, Swofford 2002) je programski paket za filogenetičke analize koje se temelje na metodi najveće parsimonije. Program je korišten za izradu filogenetičkih stabala korištenjem metoda najveće parsimonije i najveće vjerodostojnosti.

MrBayes (Bayesian Analysis of Phylogeny) 3.2.7 (Huelsenbeck i Ronquist 2001) je programski paket koji koristi Bayesovu metodu za izvođenje filogenetičkih zaključaka, korištenjem varijante Markov Chain Monte Carlo analize. Program je korišten za izradu filogenetičkih stabala korištenjem Bayesove metode.

TreeView X 0.5.0. (Page 1996) je program za prikaz i ispis filogenetičkih stabala, a korišten je za prikaz stabala dobivenih Bayesovom metodom.

FigTree 1.4.4. (Rambaut 2010) je program za prikaz i ispis filogenetičkih stabala, a korišten je za prikaz stabala dobivenih Bayesovom metodom.

Microsoft PowerPoint 2010 korišten je za pripremu slika filogenetičkih stabala.

Network 10.0 (Polzin i Daneschmand 2003, Fluxus Technology Ltd. 2004-2020) je programski paket za izradu filogenetičkih mreža i stabala korištenjem metode susjednog sparivanja. Program je korišten za izradu filogenetičkih mreža ovom metodom.

SITES (Hey i Wakeley 1997) je program za usporednu analizu sekvenci DNA, a prvenstveno je namijenjen setovima podataka s više usko srodnih sekvenci. Program je korišten za utvrđivanje fiksnih razlika, odnosno dijagnostičkih mjesta i dijeljenih polimorfizama između grupa sekvenci istraživanih populacija.

Mesquite: A modular system for evolutionary analysis 3.61 (Maddison i Maddison 2019) je programski paket za evolucijsku biologiju, koji služi za organizaciju i analize komparativnih podataka o organizmima, a prvenstveno se oslanja na filogenetičke analize. U ovom programu je napravljena usporedna analiza rezultata morfoloških i filogenetičkih analiza provedenih u ovom doktorskom radu.

3.5.6. Priprema sekvenci DNA za filogenetičke analize i setovi podataka

Sve dobivene sekvence DNA vizualno su provjerene te su uspoređene u programu BioEdit Sequence Alignment Editor 7.2.5. (Hall 1999). Sekvence loše kvalitete izbačene su iz daljnjih analiza. Ovim postupkom dobivena su tri seta podataka za filogenetičke analize.

Prvi set podataka uključivao je 72 sekvence citokroma *b* istraživanih jedinki roda *Scardinius* iz jadranskog slijeva, duljine 1140 parova baza (bp). U filogenetičke analize uključena je i 31 sekvenca citokroma *b* vrsta unutar roda *Scardinius* preuzeta iz banke gena (GenBank 2004), također duljine 1140 parova baza (bp). Kao vanjska grupa korištena je sekvenca citokroma *b* vrste *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758. Popis svih sekvenci gena za citokrom *b* korištenih u filogenetičkim istraživanjima prikazan je u tablici 3.6. Kao oznaka dobivenih haplotipova istraživanih jedinki korištena su prva tri slova iz naziva vrste unutar roda *Scardinius*, dok broj uz oznaku haplotipa označava njegov redni broj. Oznake sekvenci preuzetih iz banke gena uključuju prvo slovo naziva roda, puni naziv vrste te redni broj sekvence. Oznake uzoraka iz rijeke Krke kod manastira i jezera Modro oko kod Imotskog uključuju prva dva slova naziva roda i prva dva slova naziva lokaliteta te redni broj 1. Oznaka sekvence vanjske grupe uključuje puni naziv vrste.

Tablica 3.6. Popis sekvenci citokroma *b* korištenih u filogenetičkim analizama
(Popis skraćenica: AL-Albanija, BiH-Bosna i Hercegovina, FR-Francuska, GR-Grčka, IT-Italija, JAP-Japan, RH-Hrvatska, RU-Rusija, SLO-Slovenija; istr.-sekvence dobivene ovim istraživanjem)

Vrsta	Broj sekvenci	Lokalitet	Literatura/istr.	Pristupni kod iz banke gena	Oznaka
<i>S. dergle</i>	9	Vransko jezero (Cres) RH	istr.		DER9-DER13
	3	kanal Veliki Ždralovac BiH	istr.		DER3, DER14
	8	jezero Visovac RH	istr.		DER4, DER7, DER8
	7	rijeka Ruda RH	istr.		DER1-DER4
	9	rijeka Guduča RH	istr.		DER4
	11	Vransko jezero (Biograd) RH	istr.		DER4, DER5
	1	Buško jezero BiH	Freyhof i sur. 2005	AY549458	S dergle 1
	1	Rijeka Krka RH	Valić 2011	JF727575	S dergle 2
	1	Vransko jezero (Cres) RH	Valić 2011	JF727576	S dergle 3

Tablica 3.6. Nastavak tablice

Vrsta	Broj sekvenci	Lokalitet	Literatura/istr.	Pristupni kod iz banke gena	Oznaka
S. sp.	1	rijeka Krka (manastir) RH	istr.		SCKR1
	1	jezero Modro oko kod Imotskog RH	istr.		SCMO1
<i>S. plotizza</i>	8	Ravno polje BiH	istr.		PLO1, PLO2
	4	Hutovo blato BiH	istr.		PLO1
	9	Jezero Kuti RH	istr.		PLO1, PLO3
	1	Hutovo blato BiH	Schönhuth i sur. 2018	MG806699	S plotizza 1
	1	rijeka Krupa BiH	Perea i sur. 2010	HM560176	S plotizza 2
	1	rijeka Krupa BiH	Perea i sur. 2010	HM560175	S plotizza 3
<i>S. acarnanicus</i>	1	jezero Trichonis GR	Schönhuth i sur. 2018	MG806697	S acarnanicus 1
	1	jezero Trichonis GR	Ketmaier i sur. 2004	AY509831	S acarnanicus 2
	1	jezero Trichonis GR	Zardoya i Doadrio 1999	AF090775	S acarnanicus 3
	1	jezero Trichonis GR	Perea i sur. 2010	HM560170	S acarnanicus 4
	1	jezero Trichonis GR	Perea i sur. 2010	HM560169	S acarnanicus 5
<i>S. graecus</i>	1	jezero Yliko GR	Ketmaier i sur. 2004	AY509832	S graecus 1
	1	jezero Yliko GR	Freyhof i sur. 2005	AY549459	S graecus 2
<i>S. hesperidicus</i>	1	rijeka Adige (Po) IT	Perea i sur. 2010	HM560173	S hesperidicus 1
	1	rijeka Adige (Po) IT	Perea i sur. 2010	HM560174	S hesperidicus 2
<i>S. knezevici</i>	1	Skadarsko jezero AL	Schönhuth i sur. 2018	MG806698	S knezevici 1
<i>S. scardafa</i>	1	jezero Scanno IT	Ketmaier i sur. 2004	AY509833	S scardafa 1
<i>S. erythrophthalmus</i>	1	jezero Cerknica SLO	Ketmaier i sur. 2004	AY509848/Se9	S erythrophthalmus 1
	1	jezero Salto IT	Ketmaier i sur. 2004	AY509847/Se8	S erythrophthalmus 2
	1	jezero Vico IT	Ketmaier i sur. 2004	AY509846/Se7	S erythrophthalmus 3
	1	Jezero Monte Doglio IT	Ketmaier i sur. 2004	AY509846/Se6	S erythrophthalmus 4
	1	jezero Massaciuccoli IT	Ketmaier i sur. 2004	AY509844/Se5	S erythrophthalmus 5
	1	jezero Brenta IT	Ketmaier i sur. 2004	AY509843/Se4	S erythrophthalmus 6
	1	jezero Maggiore IT	Ketmaier i sur. 2004	AY509842/Se3	S erythrophthalmus 7
	1	rijeka Po IT	Ketmaier i sur. 2004	AY509841/Se2	S erythrophthalmus 8

Tablica 3.6. Nastavak tablice

Vrsta	Broj sekvenci	Lokalitet	Literatura/istr.	Pristupni kod iz banke gena	Oznaka
<i>S. erythrophthalmus</i>	1	jezero Volvi GR	Ketmaier i sur. 2004	AY509840/Se14	S erythrophthalmus 9
	1	rijeka Dunav RH	Ketmaier i sur. 2004	AY509836/Se10	S erythrophthalmus 10
	1	rijeka Rhone FR	Ketmaier i sur. 2004	AY509835/Se1	S erythrophthalmus 11
	1	rijeka Sinuhkha RU	Perea i sur. 2010	HM560171	S erythrophthalmus 12
	1	IT	Marescalchi i sur. 2008	EU856057	S erythrophthalmus 13
	1	rijeka Rhone FR	Briolay i sur. 1998	Y10444	S erythrophthalmus 14
	2	jezero Štikada RH	istr.		ERI1
VANJSKA GRUPA					
<i>Cyprinus carpio</i>	1	jezero Biwa JAP	Mabuchi i sur. 2005	AB158806	Cyprinus carpio

Drugi set podataka uključivao je 60 sekvenci jezgrinog gena za beta aktin istraživanih jedinki roda *Scardinius* iz jadranskog slijeva, duljine 888 parova baza (bp). Kao vanjska grupa korištena je *Scardinius erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758). Popis svih sekvenci gena za beta aktin korištenih u filogenetičkim istraživanjima prikazan je u tablici 3.7. Kao oznaka istraživanih jedinki korištena su prva dva slova naziva roda *Scardinius* i dva slova koja označavaju lokalitet s kojeg su uzorci prikupljeni, dok broj uz oznaku haplotipa označava njegov redni broj. Naziv vanjske grupe uključuje prvo slovo naziva roda te puno ime vrste.

Tablica 3.7. Popis sekvenci beta aktina korištenih u filogenetičkim analizama
(Popis skraćenica: istr.-sekvence dobivene ovim istraživanjem, RH-Republika Hrvatska, BiH-Bosna i Hercegovina)

Vrsta	Broj sekvenci	Lokalitet	Literatura/istr.	Oznaka
<i>S. dergle</i>	6	Vransko jezero (Cres) RH	istr.	SCCR12,14,16
	6	kanal Veliki Ždralovac BiH	istr.	SCVZ1-3
	16	rijeka Guduča RH	istr.	SCGU1,3,5-10
	20	Vransko jezero (Biograd) RH	istr.	SCVR1-8,10-11
<i>S. plotizza</i>	12	Ravno polje BiH	istr.	SCRA1-3,5-6,8
VANJSKA GRUPA				
<i>S. erythrophthalmus</i>	1	RH	neobjavljeno	S. erythrophthalmus

Treći set podataka uključivao je 100 sekvenci jezgrinog gena za BMP istraživanih jedinki roda *Scardinius* iz jadranskog slijeva, duljine parova baza 672 bp. Kao vanjska grupa korištena je sekvenca vrste *Squalius pyrenaicus* (Linnaeus, 1758) preuzeta iz banke gena (GenBank 2004). Popis svih sekvenci gena za BMP korištenih u filogenetičkim istraživanjima prikazan je u tablici 3.8. Kao oznaka istraživanih jedinki korištena su prva dva slova naziva roda *Scardinius* i dva slova koja označavaju lokalitet s kojeg su uzorci prikupljeni, dok broj uz oznaku haplotipa označava njegov redni broj. Oznaka sekvence preuzete iz banke gena uključuje puni naziv vrste.

Tablica 3.8. Popis sekvenci BMP korištenih u filogenetičkim analizama (Popis skraćena: istr.-sekvence dobivene ovim istraživanjem, RH-Republika Hrvatska, BiH-Bosna i Hercegovina)

Vrsta	Broj sekvenci	Lokalitet	Literatura/istr.	Pristupni kod iz banke gena	Oznaka
<i>S. dergle</i>	16	Vransko jezero (Cres) RH	istr.		SCCR11,12,14,15,16,17,19,20
	6	kanal Veliki Ždrlovac BiH	istr.		SCVZ1-3
	14	rijeka Guduča RH	istr.		SCGU2,3,5,6,7,9,10
	16	Vransko jezero (Biograd) RH	istr.		SCVR1-8
	4	jezero Visovac RH	istr.		SCVI2,5
	10	rijeka Ruda RH	istr.		SCRU1-3,5,6
<i>S. plotizza</i>	14	Ravno polje BiH	istr.		SCRA1-3,5,6,8,9
	8	Jezero Kutu RH	istr.		SCKU2-4,7
	4	Hutovo blato BiH	istr.		SCHB1,3
<i>S. erythrophthalmus</i>	4	jezero Štikada RH	istr.		SCST1-2
<i>S. sp.</i>	2	rijeka Krka (manastir) RH	istr.		SCKR1
	2	jezero Modro oko kod Imotskog RH	istr.		SCMO1
VANJSKA GRUPA					
<i>Squalius pyrenaicus</i>	1		Waap i sur. 2011	JN413285	<i>Squalius pyrenaicus</i>

Za izradu filogenetičkih mreža sekvenci gena za citokrom *b* napravljena su dva zasebna seta podataka. Jedan set podataka sadržavao je sekvence gena za citokrom *b* istraživanih populacija te sekvence gena za citokrom *b* vrsta roda *Scardinius* preuzetih

iz banke gena, a kako bi se utvrdio položaj istraživanih populacija u odnosu na ostale vrste unutar roda. Drugi set podataka sadržavao je samo sekvence gena za citokrom *b* istraživanih populacija, kako bi se dobio bolji uvid u međusobne odnose i položaj istraživanih populacija. Ovi setovi podataka prikazani su u tablici 3.9.

Tablica 3.9. Popis naziva haplotipova, oznaka sekvenci i lokalitet za sekvence korištene u izradi filogenetičkih mreža gena za citokrom *b* (Popis skraćenica: AL-Albanija, BiH-Bosna i Hercegovina, FR-Francuska, GR-Grčka, IT-Italija, RH-Hrvatska, RU-Rusija, SLO-Slovenija)

Naziv haplotipa	Oznake sekvenci	Lokalitet
Set podataka istraživanih sekvenci i sekvenci preuzetih iz banke gena		
PLO1	SCRA1,3,4,6,7,9,10	Ravno (Popovo polje) BiH
	SCHB1,3,4,5	Hutovo blato BiH
	SCKU1,2,4,5,6,7,9,10	Kuti RH
PLO2	SCRA2	Ravno (Popovo polje) BiH
PLO3	SCKU8	Kuti RH
PLO4	S plotizza 1	Hutovo blato BiH
PLO5	S plotizza 3	Krupa, sliv Neretve BiH
DER1	SCVR1,5,7	Vransko jezero Biograd RH
	SCMO1	Modro oko RH
DER2	SCKR1	Krka RH
DER3	SCVI7	Visovac, Krka RH
DER4	SCVI9	Visovac, Krka RH
DER5	SCCR11	Vransko jezero Cres RH
DER6	SCCR12	Vransko jezero Cres RH
DER7	SCCR14,17,19	Vransko jezero Cres RH
DER8	SCCR15	Vransko jezero Cres RH
DER9	S dergle 3	Vransko jezero Cres RH
ERI1	SCST1,2	Štikada RH
ERI2	S erythrophthalmus 9	jezero Volvi GR
ERI3	S erythrophthalmus 12	rijeka Sinuhkha RU
ACAR1	S acarnanicus 1	jezero Trichonis GR
ACAR2	S acarnanicus 2	jezero Trichonis GR
ACAR3	S acarnanicus 3	
ACAR4	S acarnanicus 4	
ACAR5	S acarnanicus 5	
KNE1	S knezevici 1	Skadarsko jezero AL
GR1	S graecus 1	jezero Yliki GR
GR2	S graecus 2	jezero Yliki GR
HESP1	S hesperidicus 2	rijeka Adige, porječje Po IT
HESP2	S hesperidicus 1	rijeka Adige, porječje Po IT

Tablica 3.9. Nastavak tablice

Naziv haplotipa	Oznake sekvenci	Lokalitet
Set podataka istraživanih sekvenci i sekvenci preuzetih iz banke gena		
SCAR1	S scardafa 1	jezero Scanno IT
Set podataka istraživanih sekvenci		
PLO1	SCRA1,3,4,6,7,9,10	Ravno (Popovo polje) BiH
	SCHB1,3,4,5	Hutovo blato BiH
	SCKU1,2,4,5,6,7,9,10	Kuti RH
PLO2	SCRA2	Ravno (Popovo polje) BiH
PLO3	SCKU8	Kuti RH
DER1	SCRU1	rijeka Ruda RH
	SCVR2,3,4,6,8,9,1,11	Vransko jezero, Biograd
	SCGU1,2,3,5,6,7,8,9,10	rijeka Guduča
	SCVI1,2,4,6,8	Visovac, Krka
DER 2	SCVR1,5,7	Vransko jezero Biograd RH
	SCMO1	Modro oko RH
DER3	SCKR1	Krka RH
DER4	SCVI7	Visovac, Krka RH
DER5	SCVI9	Visovac, Krka RH
DER6	SCCR11	Vransko jezero Cres RH
DER7	SCCR12	Vransko jezero Cres RH
DER8	SCCR14,17,19	Vransko jezero Cres RH
DER9	SCCR15	Vransko jezero Cres RH
DER10	SCCR16,18,20	Vransko jezero Cres RH

3.5.7. Utvrđivanje genskog polimorfizma i genske udaljenosti(engl. p-distance)

Za utvrđivanje genskog polimorfizma istraživanih populacija korišten je program DnaSP 6. (Rozas i Rozas 1995, Rozas i Rozas 1997, Rozas i Rozas 1999, Rozas i sur. 2003, Librado i Rozas 2009, Rozas 2009, Rozas i sur. 2017). Za svaku populaciju utvrđeno je nekoliko mjera genskog polimorfizma za sekvence citokroma *b*, beta aktina i BMP:

- h - broj haplotipova
- Hd - raznolikost haplotipova
- π - nukleotidna raznolikost
- k - prosjek nukleotidnih razlika
- S - broj polimorfnih (segregirajućih) mjesta

- η - ukupni broj mutacija

Kod utvrđivanja genskog polimorfizma gena za citokrom *b* za analizu na razini vrste *S. dergle*, iz seta podataka uklonjene su one sekvence istraživanih populacija ove vrste za koje se prilikom sravnjivanja sekvenci utvrdilo da imaju mitohondrijsku DNA vrste *Squalius tenellus*, kako bi se dobio stvaran broj i raznolikost haplotipova za ovu vrstu.

Utvrđivanje genske udaljenosti (engl. p-distance) između pojedinih haplotipova izvršeno je u programu MEGA-X (engl. Molecular Evolutionary Genetics Analysis) 10.0.05 (Tamura i sur. 2007). Genska udaljenost predstavlja udio nukleotidnih mjesta u kojima se dvije sekvence koje se uspoređuju razlikuju, a dobiva se dijeljenjem broja nukleotidnih razlika s ukupnim broj uspoređenih nukleotida (Tamura i sur. 2007). Za potrebe analiza genske udaljenosti, istraživane populacije posložene su u grupe prema dobivenim filogenetičkim stablima.

U analizu genske udaljenosti gena za citokrom *b*, uz sekvence gena za citokrom *b* dobivene ovim istraživanjem, uključene su i sekvence iz banke gena.

3.5.8. Metode filogenetičke rekonstrukcije

U svrhu filogenetičke rekonstrukcije odnosa i utvrđivanja taksonomskog položaja istraživanih populacija korištene su tri metode: metoda najveće parsimonije (engl. maximum parsimony - MP), metoda najveće vjerodostojnosti (engl. maximum likelihood - ML) i Bayesova metoda. Metode najveće parsimonije i najveće vjerodostojnosti provedene su na svim setovima podataka u programu PAUP* (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) 4.0. (Swofford i sur. 1996, Swofford 2002), dok je Bayesova metoda provedena u programu MrBayes (Bayesian Analysis of Phylogeny) 3.2.7 (Huelsenbeck i Ronquist 2001). Za utvrđivanje haplotipova unutar pojedinih setova podataka korišten je program DnaSP.

Kod metode najveće parsimonije korištena je heuristička metoda s 10 ponavljanja te nasumičnim redoslijedom unosa pojedinih taksona. Za algoritam izmjene grana (engl. branch swapping) korišten je algoritam raščlanjivanja i ponovnog povezivanja stabla (engl. TBR - tree bisection and reconnection). Ovaj algoritam

preslaguje početno stablo na način da ga prvo podijeli na dva podstabla, nakon čega se jedno podstablo sistematično povezuje sa svakom granom drugog podstabla. Svaki put kada se podstablo poveže s pojedinom granom, ono se iznova ukorjenjuje te se stvara nova tipologija i započinje pretraga za optimalnim rasporedom predaka. Podržanost pojedinih grananja provjerena je metodom samopodržanja (engl. bootstrap) na 1000 ponavljanja.

Metoda najveće vjerodostojnosti također je provedena korištenjem heurističke metode s 10 ponavljanja te nasumičnim redoslijedom unosa pojedinih taksona. Za algoritam izmjene grana (engl. branch swapping) korišten je algoritam raščlanjivanja i ponovnog povezivanja stabla (engl. TBR- tree bisection and reconnection). Za rekonstrukciju stabla korišteno je stepenasto dodavanje. Ovom metodom se za početno stablo odabiru tri taksona, nakon čega se ostali taksoni dodaju na stablo jedan po jedan. Podržanost pojedinih grananja provjerena je metodom samopodržanja (engl. bootstrap) na 100 ponavljanja.

Svaka analiza provedena Bayesovom metodom sastojala se od dva simultana izvođenja, od kojih je svako uključivalo nezavisnu analizu četiri Markovljeva (MCMC) lanca na 3.000.000 generacija. Svaka analiza je uzorkovana svakih 100 generacija. Za model supstitucije DNA korištena je *gamma* raspodjela stope varijacije nukleotidnih mjesta. Od postavljena četiri lanca, Bayesova metoda koristi jedan „hladni“ lanac i tri „zagrijana“ lanca. Naime, Bayesova metoda koristi tzv. povećavajuću shemu zagrijavanja u kojoj se lanac *i* zagrijava povećavanjem njegove posteriorne vjerojatnosti na $1/(1+i\lambda)$, gdje λ predstavlja koeficijent zagrijavanja. U svakoj generaciji, „hladni“ lanac izmjenjuje stanje sa svakim „zagrijanim“ lancem. Uz izuzeće prvih 25 % generacija, konsenzusno stablo dobiveno je na temelju pravila 50 %-tne većine iz ostalih stabala.

Za sve setove podataka napravljene su filogenetičke mreže u programu Network 10.0 (Polzin i Daneschmand 2003, Fluxus Technology Ltd. 2004-2020), koje daju bolju rezoluciju filogenetičkih odnosa na populacijskoj razini. Filogenetičke mreže u ovom programu izrađene su korištenjem metode združivanja medijana (engl. MJ-median joining) prema Bandelt i sur. 1999.

3.6. Molekularna dijagnostika

Utvrđivanje fiksnih razlika, odnosno dijagnostičkih mjesta i dijeljenih polimorfizama između istraživanih grupa roda *Scardinius* provedeno je u programu SITES (Hey i Wakeley 1997). Fiksne razlike, odnosno dijagnostička mjesta su polimorfna nukleotidna mjesta na kojima se sve sekvence jedne grupe razlikuju od svih sekvenci ostalih istraživanih grupa. Dijeljeni polimorfizam je polimorfno mjesto na kojem dvije grupe sekvenci imaju najmanje dvije iste baze (Hey i Wakeley 1997). Molekularna dijagnostika je provedena za grupe sekvenci gena citokrom *b*, beta aktin i BMP. Popis sekvenci za sve istraživane gene po vrstama i populacijama te određene grupe navedeni su u Tablicama 3.10., 3.11. i 3.12.

Tablica 3.10. Popis sekvenci istraživanih vrsta i populacija te određene grupe za utvrđivanje fiksnih razlika, odnosno dijagnostičkih mjesta i dijeljenih polimorfizama gena za citokrom *b*

Vrsta	Popis sekvenci	Naziv grupe
<i>S. plotizza</i>	SCRA1-4,6,7,9,10; SCHB1,3,4,5; SCKU1,2,4-10	PLO
<i>S. dergle</i>	SCRU1; SCVR1-11; SCGU1-3,5- 10; SCKR1, SCVI1,2,4,6,8,9; SCMO1	DER
	SCCR11,12,14-20	DER_CR
<i>S. graecus</i>	<i>S. graecus</i> 1,2	GRA
<i>S. hesperidicus</i>	<i>S. hesperidicus</i> 1,2	HESP
<i>S. erythrophthalmus</i>	<i>S.</i> <i>erythrophthalmus</i> 1,9,10,11,12,14; SCST1,2	ERI
<i>S. acarnanicus</i>	<i>S. acarnanicus</i> 1,3-5	ACAR

Tablica 3.11. Popis sekvenci istraživanih vrsta i populacija te određene grupe za utvrđivanje fiksnih razlika, odnosno dijagnostičkih mjesta i dijeljenih polimorfizama gena za beta aktin

Vrsta	Popis sekvenci	Naziv grupe
<i>S. plotizza</i>	SCRA1,2,3,5,6,8	PLO
<i>S. dergle</i>	SCGU1,3,5-10; SCVR1-8,10,11; SCVZ1-3	DER
	SCCR12,14,16	DER_CR
<i>S. erythrophthalmus</i>	SCST1,2	ERI

Tablica 3.12. Popis sekvenci istraživanih vrsta i populacija te određene grupe za utvrđivanje fiksnih razlika, odnosno dijagnostičkih mjesta i dijeljenih polimorfizama gena za BMP

Vrsta	Popis sekvenci	Naziv grupe
<i>S. plotizza</i>	SCRA1-3,5,6,8,9; SCHB1,3; SCKU2-4,7	PLO
<i>S. dergle</i>	SCVI2,5; SCGU2,3,5-9; SCRUI- 3,5,6; SCKR1; SCVR1-8; SCVZ1-3; SCMO1	DER
	SCCR11,12,14-17,19,20	DER_CR
<i>S. erythrophthalmus</i>	SCST1,2	ERI

3.7. Usporedna analiza rezultata morfoloških i filogenetičkih analiza

Usporedna analiza rezultata morfoloških i filogenetičkih analiza provedena je u programu Mesquite 3.61 (Maddison i Maddison 2019). U ovom programu napravljena je analiza evolucije morfoloških značajki te filogenetičko stablo vrsta. Za analizu evolucije morfoloških značajki korištene su njihove prilagođene mjere za sve sekvence gena za citokrom *b* istraživanih populacija. Popis korištenih sekvenci po vrstama naveden je u tablici 3.13.

Tablica 3.13. Popis sekvenci gena za citokrom *b* istraživanih vrsta čije su prilagođene mjere korištene u analizi evolucije morfoloških značajki

Vrsta	Popis sekvenci
<i>S. plotizza</i>	SCRA1-4,6-7,9,10; SCHB1,3,4,5; SCKU1,2,4-10
<i>S. dergle</i>	SCRUI; SCVR1-10; SCGU1-3,5-10; SCVI1,2,4,6-9; SCCR11,12,14,15,18-20
<i>S. erythrophthalmus</i>	SCST1

Za filogenetičko stablo vrsta korišteni su svi dobiveni haplotipovi svih istraživanih gena. Naziv haplotipova korištenih za dobivanje filogenetičkog stabla vrsta, pripadnost pojedinoj vrsti te popis sekvenci koje pripadaju pojedinom haplotipu za citokrom *b*, beta aktin i BMP navedeni su u tablicama 3.14., 3.15. i 3.16.

Tablica 3.14. Naziv haplotipova gena za citokrom *b* korištenih za dobivanje filogenetičkog stabla vrsta, pripadnost pojedinoj vrsti te popis sekvenci koje pripadaju pojedinom haplotipu

Naziv haplotipa	Vrsta	Sekvence
DER1	<i>S. dergle</i>	SQRU4 SCRUI5
DER2	<i>S. dergle</i>	SCRUI2
DER3	<i>S. dergle</i>	SCRUI3 SCRUI4 SCRUI6 SCVZ1 SCVZ2
DER4	<i>S. dergle</i>	SCRUI1 SCVR2 SCVR3 SCVR4 SCVR6 SCVR8 SCVR9 SCVR10 SCVR11 SCGU1 SCGU2 SCGU3 SCGU5 SCGU6 SCGU7 SCGU8 SCGU9 SCGU10 SCVI1 SCVI2 SCVI4 SCVI6 SCVI8
DER5	<i>S. dergle</i>	SCVR1 SCVR5 SCVR7 SCMO1
DER6	<i>S. dergle</i>	SCKR1
DER7	<i>S. dergle</i>	SCVI7
DER8	<i>S. dergle</i>	SCVI9
DER9	<i>S. dergle</i>	SCVZ3
PLO1	<i>S. plotizza</i>	SCRA1 SCRA3 SCRA4 SCRA6 SCRA7 SCRA9 SCRA10 SCHB1 SCHB3 SCHB4 SCHB5 SCKU1 SCKU2 SCKU4 SCKU5 SCKU6 SCKU7 SCKU9 SCKU10
PLO2	<i>S. plotizza</i>	SCRA2
PLO3	<i>S. plotizza</i>	SCKU8
CR1	<i>S. dergle</i>	SCCR11
CR2	<i>S. dergle</i>	SCCR12
CR3	<i>S. dergle</i>	SCCR14 SCCR17 SCCR19
CR4	<i>S. dergle</i>	SCCR15
CR5	<i>S. dergle</i>	SCCR16 SCCR18 SCCR20
ERI	<i>S. erythrophthalmus</i>	SCST1 SCST2
Vanjska grupa	<i>Cyprinus carpio</i>	

Tablica 3.15. Naziv haplotipova gena za beta aktin korištenih za dobivanje filogenetičkog stabla vrsta, pripadnost pojedinoj vrsti te popis sekvenci koje pripadaju pojedinom haplotipu.

Naziv haplotipa	Vrsta	Sekvence
HAP1	<i>S. dergle, S. plotizza</i>	SCRA1 SCRA1 SCRA2_1 SCRA3 SCRA3 SCRA5 SCRA5 SCRA6 SCRA6 SCRA8 SCRA8 SCGU1 SCGU1 SCGU3 SCGU3 SCGU5 SCGU5 SCGU6 SCGU6 SCGU7 SCGU7 SCGU8 SCGU8 SCGU9 SCGU9 SCGU10 SCGU10 SCVR1 SCVR1 SCVR2 SCVR2 SCVR3 SCVR3 SCVR4 SCVR4 SCVR5_1 SCVR6 SCVR6 SCVR7 SCVR7 SCVR8 SCVR8 SCVR10 SCVR10 SCVR11 SCVR11 SCCR12 SCCR12 SCCR14 SCCR14 SCCR16 SCCR16 SCVZ1 SCVZ1 SCVZ2 SCVZ2 SCVZ3 SCVZ3
HAP2	<i>S. plotizza</i>	SCRA2_2
HAP3	<i>S. dergle</i>	SCVR5_2
Vanjska grupa	<i>S. erythrophthalmus</i>	

Tablica 3.16. Naziv haplotipova gena za BMP korištenih za dobivanje filogenetičkog stabla vrsta, pripadnost pojedinoj vrsti te popis sekvenci koje pripadaju pojedinom haplotipu

Naziv haplotipa	Vrsta	Sekvence
HAP1	<i>S. plotizza</i> , <i>S. dergle</i> , <i>S. erythrophthalmus</i>	SCVI2_1 SCVI5_1 SCVI5_2 SCRUI_1 SCRUI_2 SCRUI_2 SCRUI_2 SCRUI_3 SCRUI_5 SCRUI_6 SCKU2_1 SCKU2_2 SCKU4_1 SCKU7_1 SCHB1_1 SCHB3_1 SCRA1_1 SCRA1_2 SCRA2_1 SCRA2_2 SCRA3_1 SCRA3_2 SCRA5_1 SCRA5_2 SCRA6_1 SCRA6_2 SCRA8_1 SCRA8_2 SCRA9_1 SCRA9_2 SCGU2_1 SCGU2_2 SCGU3_1 SCGU3_2 SCGU5_1 SCGU5_2 SCGU6_1 SCGU6_2 SCGU7_1 SCGU7_2 SCGU9_1 SCGU9_2 SCGU10_1 SCGU10_2 SCKR1_1 SCCR11_1 SCCR11_2 SCCR12_1 SCCR12_2 SCCR14_1 SCCR14_2 SCCR15_1 SCCR15_2 SCCR16_1 SCCR16_2 SCCR17_1 SCCR17_2 SCCR19_1 SCCR20_1 SCCR20_2 SCVR1_1 SCVR1_2 SCVR2_1 SCVR2_2 SCVR3_1 SCVR3_2 SCVR4_1 SCVR4_2 SCVR5_1 SCVR6_1 SCVR6_2 SCVR7_1 SCVR7_2 SCVR8_1 SCVR8_2 SCST1_1 SCST1_2 SCST2_1 SCST2_2 SCVZ1_1 SCVZ1_2 SCVZ2_1 SCVZ2_2 SCVZ3_1 SCVZ3_2
HAP2	<i>S. dergle</i>	SCVI2_2
HAP3	<i>S. dergle</i> , <i>S. plotizza</i>	SCRUI_2 SCKU3_1
HAP4	<i>S. dergle</i>	SCRUI_2
HAP5	<i>S. dergle</i> , <i>S. plotizza</i>	SCRUI_2 SCKU4_2 SCHB1_2 SCHB3_2
HAP6	<i>S. plotizza</i>	SCKU3_2
HAP7	<i>S. plotizza</i>	SCKU7_2
HAP8	<i>S. dergle</i>	SCKR1_2
HAP9	<i>S. dergle</i>	SCCR19_2
HAP10	<i>S. dergle</i>	SCVR5_2
HAP11	<i>S. dergle</i>	SCMO1_1
HAP12	<i>S. dergle</i>	SCMO1_2
Vanjska grupa	<i>Squalius pyrenaicus</i>	

4. REZULTATI

4.1. Morfometrijske značajke

Morfometrijske značajke izmjerene su na ukupno 154 jedinke. Broj jedinki po pojedinim lokalitetima na kojima su mjerene morfometrijske značajke prikazan je u tablici 3.1. u poglavlju Materijali i metode.

4.1.1. Deskriptivna statistika

U tablicama 4.1., 4.2. i 4.3. prikazane su srednje, najmanje i najveće vrijednosti te standardna devijacija ukupnih i standardnih izmjerenih duljina tijela svih jedinki po lokalitetima uzorkovanja za vrste crvenperka *S. erythrophthalmus*, drlja *S. dergle* i peškelj *S. plotizza*.

Tablica 4.1. Srednje ($\bar{x}$), najmanje (min) i najveće (max) vrijednosti te standardna devijacija (s.d.) ukupnih (TL) i standardnih (SL) duljina tijela svih jedinki crvenperke *S. erythrophthalmus*

Plitvička jezera (PL)				
	$\bar{x}$	min	max	s.d.
TL	156,8	119	236	25,37
SL	129,2	110	194	23,60

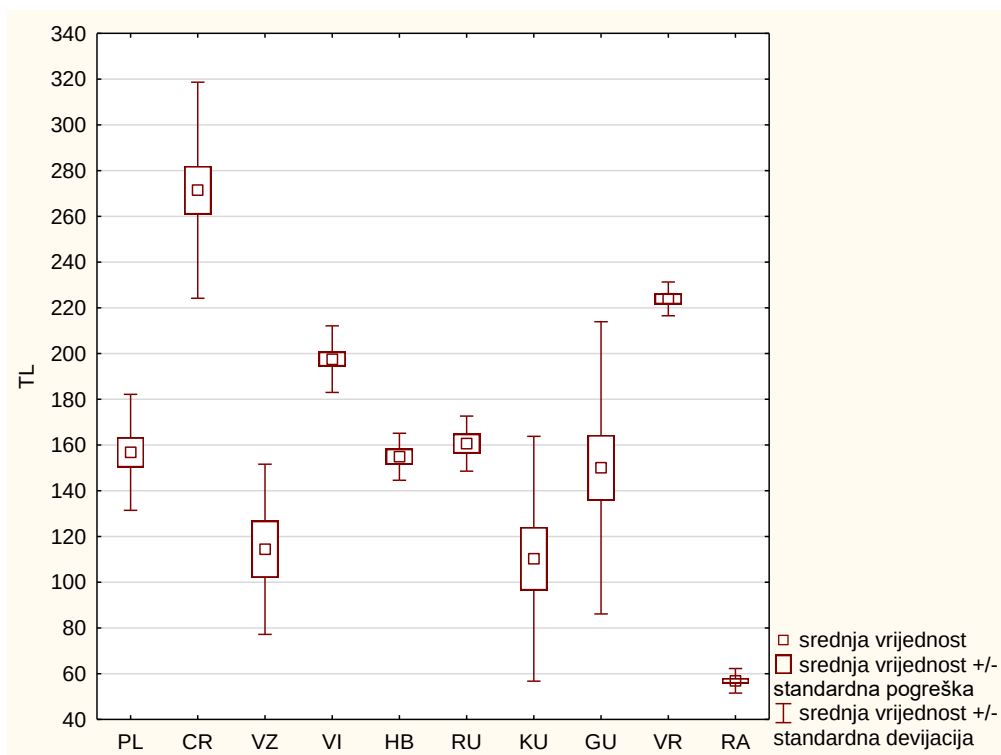
Tablica 4.2. Srednje ($\bar{x}$), najmanje (min) i najveće (max) vrijednosti te standardna devijacija (s.d.) ukupnih (TL) i standardnih (SL) duljina tijela svih jedinki drlje *S. dergle* s pojedinih lokaliteta

Vransko jezero na otoku Cresu (CR)					kanal Veliki Ždrlovac (VZ)				
	$\bar{x}$	min	max	s.d.		$\bar{x}$	min	max	s.d.
TL	271,40	155	329	47,25	TL	114,43	55,56	163	37,21
SL	216,90	120	273,00	39,40	SL	92,95	45,54	132	28,17
jezero Visovac na rijeci Krki (VI)					rijeka Ruda (RU)				
	$\bar{x}$	min	max	s.d.		$\bar{x}$	min	max	s.d.
TL	197,57	177	230	14,57	TL	160,63	145	176	12,05
SL	156,95	146	181	10,19	SL	127,56	112	139	9,19
rijeka Guduča (GU)					Vransko jezero kod Biograda na Moru (VR)				
	$\bar{x}$	min	max	s.d.		$\bar{x}$	min	max	s.d.
TL	150,03	92	269	63,88	TL	223,90	207	231	7,37
SL	124,59	79	226	54,10	SL	180,10	166	190	8,28

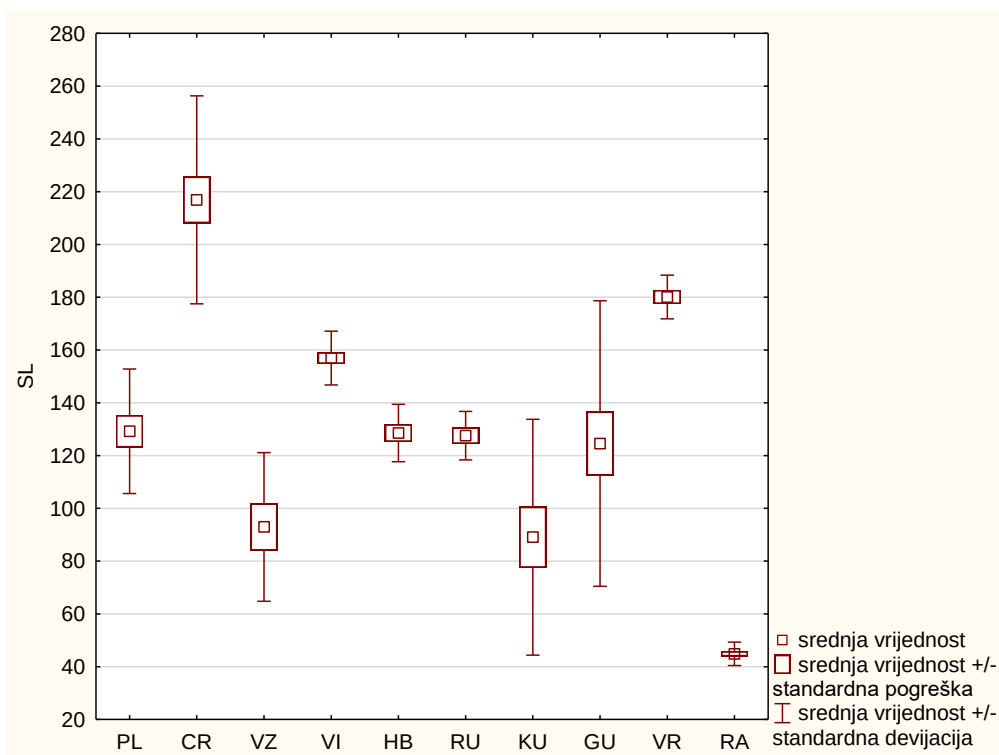
Tablica 4.3. Srednje ($\bar{x}$), najmanje (min) i najveće (max) vrijednosti te standardna devijacija (s.d.) ukupnih (TL) i standardnih (SL) duljina tijela svih jedinki peškeља *S. plotizza* s pojedinih lokaliteta

Hutovo blato (HB)				
	$\bar{x}$	min	max	s.d.
TL	154,89	141	173	10,28
SL	128,55	114	150	10,88
Ravno (Popovo) polje (RA)				
	$\bar{x}$	min	max	s.d.
TL	56,92	48,22	69,47	5,37
SL	44,89	37,81	54,60	4,46
jezero Kutu (KU)				
	$\bar{x}$	min	max	s.d.
TL	110,27	81	261	53,55
SL	89,07	65	216	44,69

Na slici 4.1. prikazan je Box-Whiskers dijagram raspona izmjerenih ukupnih duljina tijela jedinki svih vrsta po pojedinim lokalitetima, srednja vrijednost, srednja vrijednost +/- standardna pogreška te srednja vrijednost +/- standardna devijacija. Na slici 4.2. prikazan je Box-Whiskers dijagram raspona izmjerenih standardnih duljina tijela jedinki svih vrsta po pojedinim lokalitetima, srednja vrijednost, srednja vrijednost +/- standardna pogreška te srednja vrijednost +/- standardna devijacija.



Slika 4.1. Box-Whiskers dijagram izmjerenih ukupnih duljina tijela (TL) jedinki svih vrsta po pojedinim lokalitetima (Popis skraćenica: PL-Plitvička jezera, CR-Vransko jezero na otoku Cresu, VZ-Veliki Ždralovac, VI-jezero Visovac, HB-Hutovo blato, RU-Ruda, KU-jezero Kuti, GU-Guduča, VR-Vransko jezero kod Biograda na Moru, RA-Ravno)



Slika 4.2. Box-Whiskers dijagram izmjerenih standardnih duljina tijela (SL) jedinki svih vrsta po pojedinim lokalitetima (Popis skraćenica: PL-Plitvička jezera, CR-Vransko jezero na otoku Cresu, VZ-Veliki Ždrlovac, VI-jezero Visovac, HB-Hutovo blato, RU-Ruda, KU-jezero Kuti, GU-Guduča, VR-Vransko jezero kod Biograda na Moru, RA-Ravno)

Kod jedinki crvenperke iz Plitvičkih jezera najmanja izmjerena ukupna duljina tijela (TL) iznosila je 119 mm, a najveća 236 mm. Najmanja zabilježena standardna duljina tijela (SL) iznosila je 110 mm, a najveća 194 mm. Što se tiče varijabilnosti ukupne i standardne duljine tijela, ona je nešto veća za izmjerene ukupne duljine tijela jedinki.

Kod jedinki vrste drlja *S. dergle*, najmanja izmjerena ukupna duljina tijela, TL=55,56 mm i najmanja izmjerena standardna duljina tijela SL=45,54 mm, zabilježene su kod uzoraka iz kanala Veliki Ždrlovac u Livanjskom polju. Najveća ukupna duljina TL=329 mm i najveća standardna duljina tijela SL=273 mm zabilježene su kod jedinki iz Vranskog jezera na otoku Cresu. Najmanja varijabilnost ukupne duljine tijela (s.d.=7,37) i standardne duljine tijela (s.d.=8,28) zabilježena je kod jedinki iz Vranskog jezera kod Biograda na Moru, dok je najveća varijabilnost ukupne duljine tijela (s.d.=68,88) i standardne duljine tijela (s.d.=54,10) zabilježena kod jedinki iz rijeke Guduče.

Kod jedinki vrste peškelj *S. plotizza*, najmanja izmjerena ukupna duljina tijela, TL=48,22 mm i najmanja izmjerena standardna duljina tijela SL=37,81 mm, zabilježene su kod uzoraka iz Ravnog (Popovog) polja. Najveća ukupna duljina TL=261 mm i najveća standardna duljina tijela SL=216 mm zabilježene su kod jedinki iz jezera Kut. Najmanja varijabilnost ukupne duljine tijela (s.d.=5,37) i standardne duljine tijela (s.d.=4,46) zabilježena je kod jedinki iz Ravnog (Popovog) polja, dok je najveća varijabilnost ukupne duljine tijela (s.d.=53,55) i standardne duljine tijela (s.d.=44,69) zabilježena kod jedinki iz jezera Kut.

Promatrajući zajedno sve populacije jedinki vrsta crvenperka, drlja i peškelj, može se zaključiti da su najveće ukupne i standardne duljine tijela zabilježene kod drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu, a najmanje kod peškelja Ravnog (Popovog) polja. Veliku varijabilnost u ovim mjerama pokazuju populacije drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu i rijeke Guduče te populacija peškelja iz jezera Kut, dok dosta male varijabilnosti pokazuju populacije drlje iz jezera Visovac na rijeci Krki, rijeke Rude i Vranskog jezera kod Biograda na Moru te populacije peškelja iz Hutovog blata i Ravnog (Popovog) polja.

4.1.2. Normalna distribucija podataka i korelacija sa standardnom duljinom tijela

Rezultati Shapiro-Wilk testa nalaze se u tablici 8.1. u poglavlju Prilozi, a iz njih je vidljivo da otprilike polovica originalnih mjera nema normalnu distribuciju. Za provjeru korelacije originalnih mjera sa standardnom duljinom tijela korišten je Pearsonov koeficijent korelacije (r) za mjere s normalnom distribucijom te Spearmanov koeficijent korelacije (r_s) za mjere koje nisu imale normalnu distribuciju. Rezultati korelacijskih analiza prikazani su u tablicama 4.4. i 4.5. U tablicama su crveno označeni koeficijenti za mjere koje ne pokazuju statistički značajnu korelaciju sa standardnom duljinom.

Tablica 4.4. Pearsonov koeficijent korelacije (r) i Spearmanov koeficijent korelacije (r_s) za originalne mjere populacija s lokaliteta Plitvička jezera (SCPL), Vransko jezero na Cresu (SCCR), Veliki Ždralovac (SCVZ), jezero Visovac (SCVI) i Hutovo blato (SCHB) (crveno su označeni koeficijenti za mjere koje ne pokazuju statistički značajnu korelaciju sa standardnom duljinom) (Popis skraćenica: TL- ukupna duljina tijela, c- duljina glave, Pan- preanalna duljina, aA- preanalna udaljenost, Van- ventroanalna duljina, aV- preventralna udaljenost, aP- prepektoralna udaljenost, aD- predorzalna udaljenost, lpc- duljina repnog drška, lD- duljina baze leđne peraje, lA- duljina baze podrepne peraje, lC- duljina repne peraje, lP- duljina prsne peraje, lV- duljina trbušne peraje, hco- najveća visina glave, H- najveća visina tijela, h- najmanja visina tijela, laco- najveća širina glave, lac- najveća širina tijela, io- širina međuočnog prostora, Oh- promjer oka, prO- predočni prostor, poO- zaočni prostor, lsr. rp- duljina srednjeg dijela repne peraje)

	SCPL	SCCR	SCVZ	SCVI	SCHB	
	r_s	r_s	r	r_s	r	r_s
TL	0,64	0,98	1	0,94	0,99	
c	0,88	0,94	0,99	0,86	0,95	
Pan	0,95	0,94	1	0,87	0,93	
aA	0,96	0,96	1	0,89	0,95	
Van	0,75	0,88	0,99	0,77		0,87
aV	0,92	0,92	1	0,92	0,95	
aP	0,88	0,96	0,99	0,78	0,94	
aD	0,96	0,94	1	0,9	0,98	
lpC	0,36	0,68	0,93	0,75	0,78	
lD	0,7	0,85	0,98	0,76	0,85	0,7
lA	0,83	0,46	0,99	0,75	0,9	
lC	0,7	0,88	1	0,51	0,92	
lP	0,88	0,87	0,99	0,65	0,87	
lV	0,75	0,88	0,98	0,76	0,94	
hco	0,78	0,95	1	0,66	0,89	
H	0,9	0,91	0,99	0,89	0,91	
h	0,8	0,94	1	0,68	0,91	
laco	0,75	0,92	1	0,81	0,95	
lac	0,83	0,91	0,99	0,85	0,92	
io	0,66	0,88	0,98	0,55	0,85	
Oh	0,36	0,86	0,97	0,47	0,78	
prO	0,78	0,72	0,98	0,82	0,84	
poO	0,33	0,94	0,98	0,67	0,81	
lsr. rp	0,65	0,76	0,99	0,76	0,61	

Tablica 4.5. Pearsonov koeficijent korelacije (r) i Spearmanov koeficijent korelacije (r_s) za originalne mjere populacija s lokaliteta Ruda (SCRU), jezero Kutu (SCKU), rijeka Guduča (SCGU), Vransko jezero kod Biograda (SCVR) i Ravno (SCRA) (crveno su označeni koeficijenti za mjere koje ne pokazuju statistički značajnu korelaciju sa standardnom duljinom) (Popis skraćenica: TL- ukupna duljina tijela, c- duljina glave, Pan- preanalna duljina, aA- preanalna udaljenost, Van- ventroanalna duljina, aV- precentralna udaljenost, aP- prepektoralna udaljenost, aD- predorzalna udaljenost, lpc- duljina repnog drška, ID- duljina baze leđne peraje, IA- duljina baze podrepne peraje, IC- duljina repne peraje, IP- duljina prsne peraje, IV- duljina trbušne peraje, hco- najveća visina glave, H- najveća visina tijela, h- najmanja visina tijela, laco- najveća širina glave, lac- najveća širina tijela, io- širina međuočnog prostora, Oh- promjer oka, prO- predočni prostor, poO- zaočni prostor, lsr. rp- duljina srednjeg dijela repne peraje)

	SCRU		SCKU	SCGU	SCVR	SCRA
	r	r_s	r_s	r_s	r	r
TL	0,96		0,98	0,98	0,9	0,99
c	0,91		0,88	0,96	0,31	0,97
Pan	0,96		0,95	1	0,65	0,82
aA	0,93		0,95	0,99	0,73	0,98
Van	0,89		0,96	0,96	0,54	0,68
aV	0,98		0,94	0,99	0,63	0,95
aP	0,95		0,93	0,95	-0,02	0,91
aD	0,93		0,92	0,96	0,8	0,97
lpC	0,35		0,77	0,83	0,64	0,64
ID	0,76		0,95	0,83	0,59	0,92
IA		0,73	0,96	0,81	0,22	0,78
IC		0,72	0,82	0,92	0,19	0,82
IP	0,9		0,85	0,86	0,09	0,97
IV	0,91		0,85	0,92	0,52	0,76
hco	0,88		0,84	0,87	0,28	0,91
H	0,86		0,93	0,96	0,1	0,94
h	0,86		0,85	0,92	0,01	0,93
laco	0,77		0,93	0,84	0,31	0,89
lac	0,77		0,86	0,91	0,25	0,88
io	0,81		0,73	0,92	-0,16	0,71
Oh	0,61		0,72	0,84	0,08	0,86
prO	0,67		0,87	0,98	0,27	0,84
poO	0,85		0,95	0,96	0,63	0,85
lsr. rp	0,87		0,82	0,95	0,58	0,7

Kao što je vidljivo iz rezultata, većina mjera ima statistički značajnu korelaciju sa standardnom duljinom tijela, odnosno mjere su ovisne o standardnoj duljini. Upravo iz navedenog razloga, originalne mjere su standardizirane korištenjem morfometrijskih omjera i alometrijskom pretvorbom. Nakon standardizacije podataka ponovno su provedene korelacijske analize kako bi se vidjelo je li uklonjena korelacija standardiziranih mjera sa standardnom duljinom tijela. Nakon standardizacije podataka alometrijskom pretvorbom, prilagođene mjere više nisu pokazivale značajnu korelaciju sa standardnom duljinom tijela. Koeficijenti korelacije za sve standardizirane morfometrijske značajke za sve uzorkovane populacije prikazani su u tablici 8.2. u poglavlju Prilozi.

4.1.3 Morfometrijski omjeri

U tablici 8.3. u poglavlju Prilozi prikazane su srednje ($\bar{x}$), najmanje (min) i najveće (max) vrijednosti te standardna devijacija (s.d.) morfometrijskih omjera populacija na svim lokalitetima.

Iz dobivene deskriptivne statistike morfometrijskih omjera može se zaključiti da su dobivene srednje vrijednosti uglavnom ujednačene, ne samo između populacija pojedinih vrsta, već i između populacija različitih vrsta roda *Scardinius*. Radi se o srednjim vrijednostima omjera SL/TL, c/SL, Pan/SL, aA/SL, Van/SL, aV/SL, aP/SL, aD/SL, lpc/SL, lD/SL, lA/SL, lC/SL, lP/SL, lV/SL, laco/SL, lac/SL, H/SL, hco/c, laco/c, Oh/c, prO/c, poO/c i h/H. Populacije peškelja sa sva tri uzorkovana lokaliteta, Hutovo blato, Ravno polje i jezero Kuti, pokazuju niže vrijednosti srednje vrijednosti omjera lac/c i io/c u odnosu na sve druge populacije, dok istovremeno populacije drlje iz rijeke Guduče i Vranskog jezera kod Biograda na Moru pokazuju najviše vrijednosti za ove omjere. Jedinke peškelja iz Ravnog polja pokazuju najveću vrijednost srednje vrijednosti omjera h/H. Populacija crvenperke iz Plitvičkih jezera pokazuje najveću varijabilnost za omjere hco/c i poO/c u odnosu na sve druge populacije. Populacija drlje iz rijeke Guduče pokazuje najveću varijabilnost za omjere aA/SL i H/SL, populacija peškelja iz jezera Kuti najveću varijabilnost za omjer aP/SL, a populacija drlje iz jezera Visovac najveću varijabilnost za omjer aD/SL. Zanimljivo je da sve tri uzorkovane populacije peškelja pokazuju najmanje varijabilnosti u odnosu na sve uzorkovane populacije za omjere lD/SL i lA/SL (jedinke iz Hutovog blata i jezera Kuti), lC/SL i

IV/SL (jedinke iz Hutovog blata) i IP/SL (jedinke iz Ravnog polja). Jedinke drlje iz kanala Veliki Ždralovac pokazuju najmanju varijabilnost za omjer laco/SL, dok jedinke iz jezera Visovac pokazuju najveću varijabilnost za omjer h/H.

4.1.4. Analiza varijance (ANOVA) morfometrijskih omjera i prilagođenih mjera

Kako bi se utvrdilo postoje li statistički razlike u pojedinim morfometrijskim značajkama i omjerima između istraživanih populacija, provedena je analiza varijance (ANOVA) podataka standardiziranih morfometrijskim omjerima i alometrijskom pretvorbom. Rezultati analize varijance morfometrijskih omjera prikazani su u tablici 4.6., dok su rezultati analize varijance mjera prilagođenih alometrijskom pretvorbom prikazani u tablici 4.7.

Tablica 4.6. Rezultati analize varijance (ANOVA) morfometrijskih omjera (crveno su označene vrijednosti koje pokazuju statistički značajnu razliku, $p < 0,05$)

Omjeri	F	p
c/SL	48,9654	0,0000
pan/SL	1,9978	0,0441
aA/SL	3,2645	0,0013
Van/SL	16,6014	0,0000
aV/SL	5,9423	0,0000
ap/SL	41,9798	0,0000
aD/SL	3,0385	0,0024
lpc/SL	18,1465	0,0000
lD/SL	22,6068	0,0000
lA/SL	34,3603	0,0000
lC/SL	6,8152	0,0000
lP/SL	6,6174	0,0000
lV/SL	10,3947	0,0000
hco/c	12,4684	0,0000
h/H	12,1659	0,0000
laco/c	5,7422	0,0000
lac/c	32,1786	0,0000
io/c	125,384	0,0000
Oh/c	76,8949	0,0000
prO/c	7,1917	0,0000
poO/c	9,5998	0,0000
laco/SL	11,075	0,0000
lac/SL	22,3017	0,0000
H/SL	46,7823	0,0000

Iz rezultata analize varijance je vidljivo da se sve istraživane populacije značajno razlikuju u morfometrijskim omjerima. Kako bi se utvrdilo koje se populacije međusobno statistički značajno razliku po pojedinim morfometrijskim omjerima, proveden je *post hoc* Fisherov test za svaki pojedini omjer, a rezultati su prikazani u tablici 8.4. u poglavlju Prilozi.

Iz rezultata *post hoc* testa može se zaključiti da se sve promatrane populacije većinom statistički značajno razlikuju u morfometrijskim omjerima c/SL, Van/SL, aP/SL, lpc/SL, lD/SL, lA/SL, lV/SL, hco/c, h/H, lac/c, io/c, Oh/c, laco/SL, lac/SL i H/SL, dok su više ujednačene u omjerima Pan/SL, aA/SL, aV/SL, aD/SL, lC/SL, lP/SL, laco/c, prO/c i poO/c. Statistički značajne razlike u pojedinim morfometrijskim omjerima nisu prisutne samo između populacija različitih vrsta, već i između populacija istih vrsta.

Zanimljivo je da se populacija drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu statistički značajno razlikuje od svih drugih populacija u omjeru lpc/SL, populacija drlje iz rijeke Guduče od svih ostalih populacija u omjeru lC/SL te populacija peškelja iz Ravnog polja od svih ostalih populacija u omjeru poO/c. Populacije peškelja iz istraživanih lokaliteta međusobno se razlikuju u 16 od 24 morfometrijska omjera, dok se sve populacije drlje statistički značajno ne razlikuju jedino u omjeru poO/c.

Iz rezultata analize varijance je vidljivo da se sve istraživane populacije značajno razlikuju u prilagođenim mjerama. Kako bi se utvrdilo koje se populacije međusobno statistički značajno razliku u pojedinim prilagođenim mjerama, proveden je *post hoc* Fisherov test za svaku pojedinu mjeru, a rezultati su prikazani u tablici 8.5. u poglavlju Prilozi.

Iz rezultata *post hoc* testa, vidljivo je da se sve populacije statistički značajno razlikuju u svim prilagođenim mjerama, te se, kao i kod rezultata *post hoc* testa za morfometrijske omjere, značajno razlikuju ne samo populacije različitih vrsta, već i populacije istih vrsta.

Ujednačenost populacija u pojedinim prilagođenim mjerama je mala u odnosu na ujednačenost zabilježenu kod morfometrijskih odnosa. Zanimljivo je da su populacije drlje iz rijeke Rude i crvenperke iz Plitvičkih jezera ujednačene u 17 od 24

prilagođenih mjera (M(TL), M(c), M(Pan), M(aA), M(Van), M(aV), M(aP), M(aD), M(lA), M(lC), M(hco), M(H), M(h), M(laco), M(lac), M(prO) i M(poO)) te da su u velikom broju ovih mjera također ujednačene s populacijama drlje iz rijeke Guduče te peškelja iz Hutovog blata.

Tablica 4.7. Rezultati analize varijance (ANOVA) prilagođenih mjera (crveno su označene vrijednosti koje pokazuju statistički značajnu razliku, $p < 0,05$)

Prilagođena mjera	F	p
M (TL)	1216,62	0,0000
M (c)	1980,89	0,0000
M (pan)	2557,06	0,0000
M (aA)	3030,65	0,0000
M (Van)	748,825	0,0000
M (aV)	2033,33	0,0000
M (aP)	1757,17	0,0000
M (aD)	1057,87	0,0000
M (lpc)	271,231	0,0000
M (ID)	574,311	0,0000
M (IA)	490,803	0,0000
M (IC)	590,452	0,0000
M (IP)	604,079	0,0000
M (IV)	976,047	0,0000
M (hco)	716,723	0,0000
M (H)	1260,07	0,0000
M (h)	196,726	0,0000
M (laco)	815,639	0,0000
M (lac)	870,827	0,0000
M (io)	579,954	0,0000
M (Oh)	489,611	0,0000
M (prO)	472,523	0,0000
M (poO)	898,236	0,0000
M (lsr. rp)	31,949	0,0000

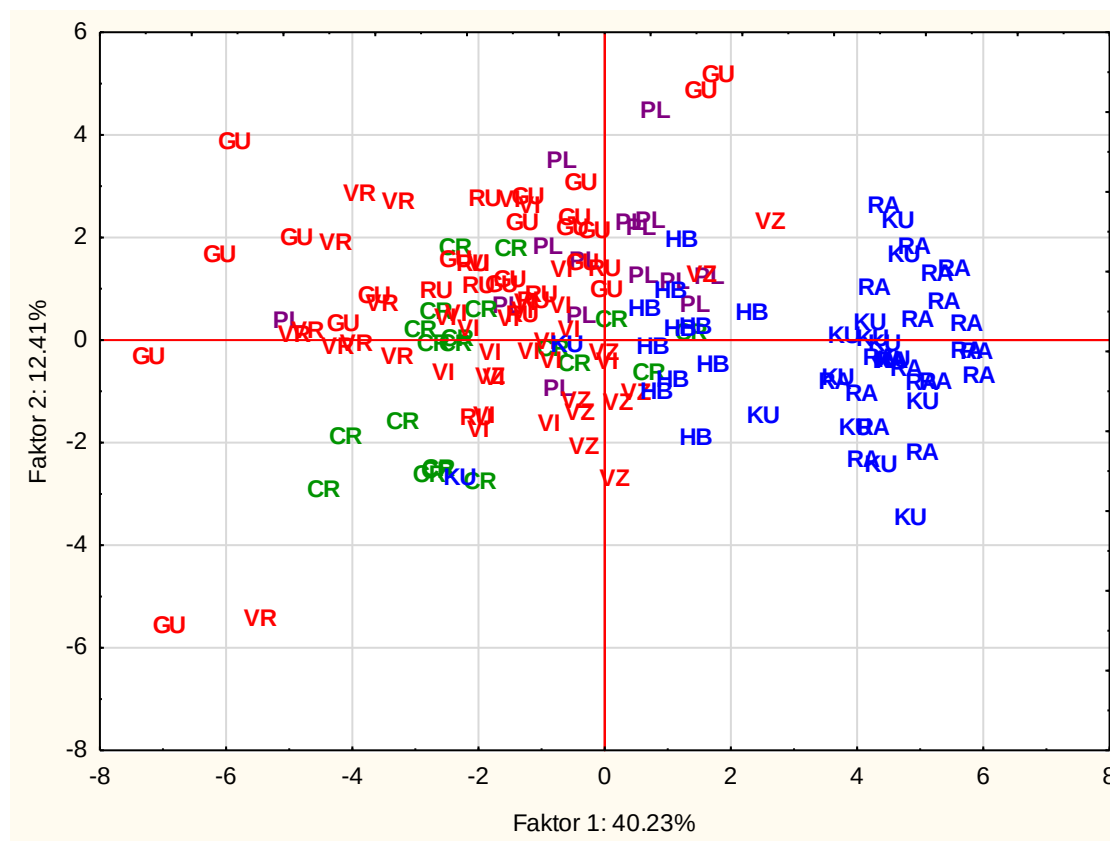
4.1.5. Analiza glavnih komponenata (PCA) morfometrijskih omjera

Analizom glavnih komponenata (PCA) morfometrijskih omjera uspoređene su populacije sa svih istraživanih lokaliteta. U tablici 4.8. navedene su svojstvene vrijednosti te postotak varijabilnosti pojedinih faktora PCA analize za morfometrijske omjere. Doprinos pojedinih morfometrijskih omjera pojedinim faktorima PCA analize, dobiven temeljem korelacijske matrice, naveden je u tablici 8.6. u poglavlju Prilozi. Iz

rezultata je vidljivo da faktor 1 obuhvaća najveći dio varijabilnosti, 40,23 %, a najviše ga određuju morfometrijski omjeri lac/c, H/SL, io/c, lac/SL i aP/SL. Faktor 2 obuhvaća 12,41 % varijabilnosti, a najviše ga određuju morfometrijski omjeri aV/SL, aA/SL, laco/SL, Pan/SL i aD/SL. Na slici 4.3. grafički je prikazan rezultat PCA analize u ravnini faktora 1 i 2. Grafički prikaz PCA analize ukazuje na grupiranje populacija peškelja iz jezera Kuti i Ravnog (Popovog) polja, dok se ostale populacija uglavnom preklapaju bez jasnog grupiranja pojedinih lokaliteta uzorkovanja.

Tablica 4.8. Svojtvene vrijednosti i postotak varijabilnosti pojedinih faktora PCA analize za morfometrijske omjere

faktor	svojtvena vrijednost	% varijabilnosti	zbirna svojtvena vrijednost	ukupan % varijabilnosti
1	9,655885	40,23286	9,65589	40,2329
2	2,979278	12,41366	12,63516	52,6465
3	2,159757	8,99899	14,79492	61,6455
4	1,426398	5,94333	16,22132	67,5888
5	1,175275	4,89698	17,39659	72,4858
6	0,988441	4,1185	18,38503	76,6043
7	0,797252	3,32188	19,18229	79,9262
8	0,669852	2,79105	19,85214	82,7172
9	0,612468	2,55195	20,46461	85,2692
10	0,578817	2,41174	21,04342	87,6809
11	0,507601	2,115	21,55102	89,7959
12	0,479849	1,99937	22,03087	91,7953
13	0,37964	1,58183	22,41051	93,3771
14	0,293457	1,22274	22,70397	94,5999
15	0,274652	1,14438	22,97862	95,7443
16	0,253705	1,0571	23,23233	96,8014
17	0,226298	0,94291	23,45862	97,7443
18	0,181402	0,75584	23,64003	98,5001
19	0,133584	0,5566	23,77361	99,0567
20	0,087147	0,36311	23,86076	99,4198
21	0,076993	0,32081	23,93775	99,7406
22	0,056835	0,23681	23,99459	99,9774
23	0,004479	0,01866	23,99907	99,9961
24	0,000934	0,00389	24	100



Slika 4.3. Grafički prikaz rezultata PCA analize u ravni faktora 1 i 2 za morfometrijske omjere (populacije drlje označene su crvenom bojom (osim populacije s otoka Cresa, koja je označena zelenom bojom), peškelja plavom bojom, a crvenperke ljubičastom bojom)

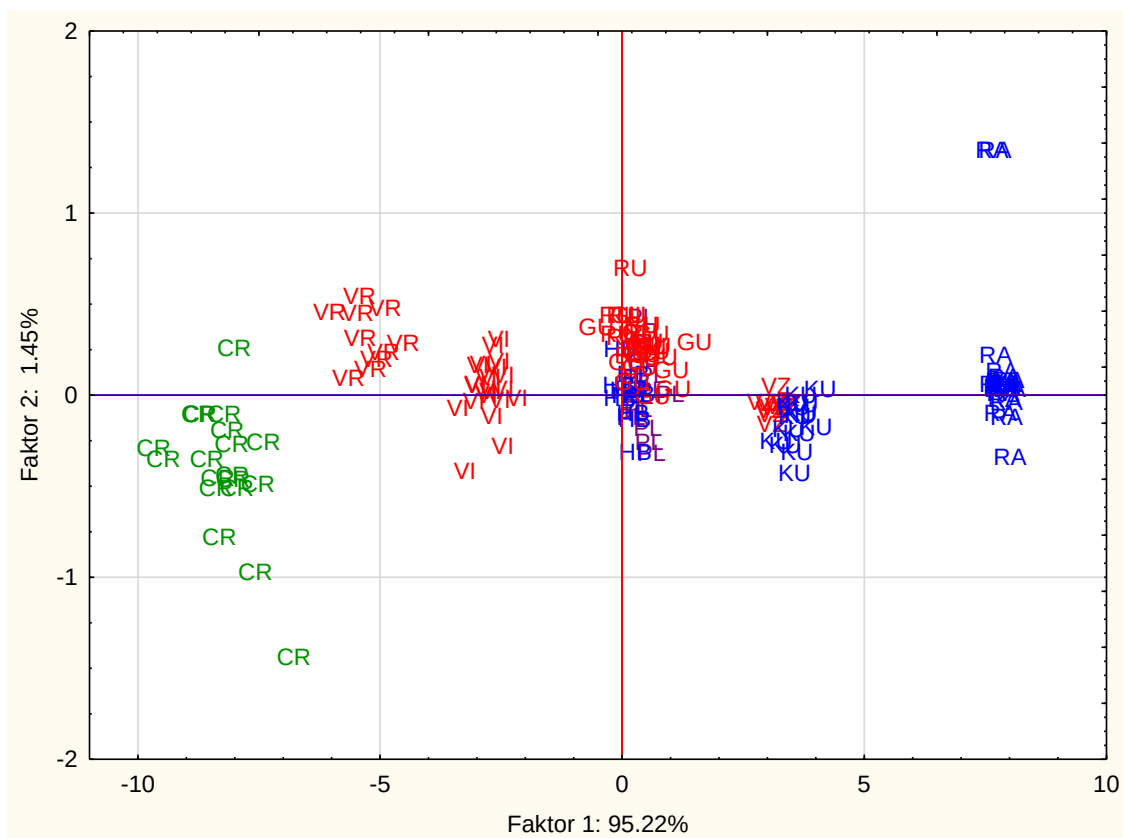
4.1.6. Analiza glavnih komponenata (PCA) prilagođenih mjera

Analizom glavnih komponenata (PCA) prilagođenih mjera uspoređene su populacije sa svih istraživanih lokaliteta. U tablici 4.9. navedene su svojstvene vrijednosti te postotak varijabilnosti pojedinih faktora PCA analize za prilagođene mjere. Doprinos pojedinih mjera pojedinim faktorima PCA analize, dobiven temeljem korelacijske matrice, naveden je u tablici. 8.7. u poglavlju Prilozi. Iz rezultata je vidljivo da faktor 1 obuhvaća najveći dio varijabilnosti, 95,22 %, a najviše ga određuju prilagođene mjere M(Pan), M(aA), M(aV), M(hco) i M(H). Faktor 2 obuhvaća 1,44 % varijabilnosti, a najviše ga određuju prilagođene mjere M(Oh), M(prO), M(c) i M(poO). Na slici 4.4. prikazan je grafički prikaz rezultata PCA analize u ravni faktora 1 i 2. Grafički prikaz PCA analize pokazuje da se od svih istraživanih populacija zasebno izdvajaju populacije drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu, Vranskog jezera kod Biograda na Moru i jezera Visovac na rijeci Krki te populacija peškelja iz Ravnog polja.

Zajedno se grupiraju populacija drlje iz kanala Veliki Ždralovac i peškelja iz jezera Kuti te populacija crvenperke iz Plitvičkih jezera, drlje iz rijeka Guduča i Ruda te peškelja iz Hutovog blata.

Tablica 4.9. Svojstvene vrijednosti i postotak varijabilnosti pojedinih faktora PCA analize za prilagođene mjere

faktor	svojstvena vrijednost	% varijabilnosti	zbirna svojstvena vrijednost	ukupan % varijabilnosti
1	22,85367	95,22363	22,85367	95,2236
2	0,34759	1,4483	23,20126	96,6719
3	0,23924	0,99682	23,4405	97,6687
4	0,11001	0,4584	23,55051	98,1271
5	0,07313	0,30472	23,62365	98,4319
6	0,06827	0,28447	23,69192	98,7163
7	0,05199	0,21663	23,74391	98,933
8	0,04745	0,19771	23,79136	99,1307
9	0,04064	0,16934	23,832	99,3
10	0,02377	0,09903	23,85577	99,399
11	0,02184	0,09098	23,87761	99,49
12	0,02029	0,08455	23,8979	99,5746
13	0,01875	0,07813	23,91665	99,6527
14	0,01549	0,06452	23,93214	99,7172
15	0,01407	0,05864	23,94621	99,7759
16	0,0119	0,04959	23,95811	99,8255
17	0,01128	0,04702	23,9694	99,8725
18	0,00869	0,03622	23,97809	99,9087
19	0,00833	0,03473	23,98642	99,9434
20	0,00528	0,02201	23,99171	99,9655
21	0,00479	0,01994	23,99649	99,9854
22	0,00225	0,00935	23,99874	99,9947
23	0,0008	0,00334	23,99954	99,9981
24	0,00046	0,00192	24	100



Slika 4.4. Grafički prikaz rezultata PCA analize u ravni faktora 1 i 2 za prilagođene mjere (populacije drlje označene su crvenom bojom (osim populacije s otoka Cresa, koja je označena zelenom bojom), peškelja plavom bojom, a crvenperke ljubičastom bojom)

4.2. Merističke značajke i vanjski izgled

Analiza merističkih značajki uključivala je brojanje perajnih šipčica u svim perajama, kao i broja ljustaka u bočnoj pruzi, a rezultati su prikazani u tablici 4.10. Vezano uz vanjski izgled, bilježen je specifični oblik tijela, oznake na tijelu te specifična obojenja pojedinih dijelova tijela svih uzoraka s pojedinih lokaliteta. Sukladno dobivenim rezultatima, znatna varijabilnost kod populacija svih vrsta prisutna je u broju ljustaka u bočnoj pruzi te broju mekih šipčica u repnoj i prsnoj peraji. Kod populacije crvenperke iz Plitvičkih jezera zabilježena je znatna varijabilnost u broju mekih šipčica u analnoj peraji. Glavne determinacijske merističke značajke kod vrsta roda *Scardinius* su broj ljustaka u bočnoj pruzi te broj mekih šipčica u analnoj peraji. Kod crvenperke i peškelja zabilježene vrijednosti odgovaraju determinacijskim vrijednostima za pojedinu vrstu (crvenperka 10-13½, peškelj 9½ mekih šipčica u analnoj peraji), dok je kod populacija drlje iz jezera Visovac na rijeci Krki i iz rijeke

Rude zabilježeno odstupanje kod nekoliko jedinki, gdje je umjesto $10\frac{1}{2}$ mekih šipčica u analnoj peraji zabilježeno $9\frac{1}{2}$.

Tablica 4.10. Broj ljustaka u bočnoj pruzi i broj perajnih šipčica jedinki iz svih istraživanih populacija. Broj mekih šipčica naveden je arapskim brojevima, a broj tvrdih šipčica rimskim brojevima. (Popis skraćenica: A= podrepna peraja, C= repna peraja, V= trbušna peraja, P= repna peraja, D= leđna peraja)

Vrsta i lokalitet	Broj ljustaka u bočnoj pruzi	BROJ ŠIPČICA				
		A	C	V	P	D
crvenperka <i>S. erythrophthalmus</i>						
Plitvička jezera	(40)41(42)	III 10½ (11½) (12½)	18(19)	II (7) 8	I 14 (15)	III 8(9)
drlja <i>S. dergle</i>						
Vransko jezero na otoku Cresu	(39)40-41(42)	III 10½	(18)19(20)(21)	II 7-8	I 14 (15)	III 8(9)
kanal Veliki Ždralovac	40(41)	III 10½	19(20)	II 7-8	I 14-15	III (8)9
jezero Visovac na rijeci Krki	(39)40(41)(42)	III (9½)10½	(18)19(20)	II (7)8	I (13)14(15)(16)	III (7)8(9)
rijeka Ruda	(40)41(42)	III (9½)10½	(18)19	II (7)8	I (13)14(15)	III 8(9)
rijeka Guduča	(39)40-41(42)(43)	III 10½	(17)(18)19(20)	II 7(8)	I (13)14(15)(16)	III 8(9)
Vransko jezero kod Biograda na Moru	40(41)(42)	III 10½	19(20)	II (7)8	I (14)15(16)	III 8(9)
peškelj <i>S. plotizza</i>						
Hutovo blato	(37)38(39)(40)	III 9½	(18)19(21)	II (7)8	I (12)(13)14(15)	III 8
Ravno polje	(37)(38)(39)40	III 9½	18)19(20)	II 7(8)	I 14(15)	III (7)8(9)
jezero Kuti	37(38)(39)(40)	III 9½	(17)(18)19(20)	II 7-8	I (13)(14)15(16)	III 8(9)

Vezano uz vanjski izgled jedinki s pojedinih lokaliteta, veći dio jedinki nije bio reprezentativan za detaljne fenološke analize uslijed negativnog utjecaja konzerviranja na stanje uzoraka. Kod jedinki drlje iz kanala Veliki Ždralovac zabilježene su crne mrljice po tijelu i perajama svih jedinki te sivkasto obojenje svih peraja. Crne mrljice po tijelu jedinki zabilježene su i na jedinkama peškela s lokaliteta Hutovo blato. S lokaliteta Ravno polje prikupljeni su uglavnom manji primjerci peškela. Na svim jedinkama zabilježene su sivkaste peraje te tamnije obojen (crvenkasto-smeđe) dorzalni dio tijela. Sve jedinke s ovog lokaliteta imale su uski, duguljasti oblik tijela.

4.3. Determinističke morfološke značajke istraživanih populacija *S. dergle*

U tablici 4.11. prikazana je usporedba determinističkih morfoloških značajki istraživanih populacija *S. dergle* te determinističkih morfoloških značajki za *S. dergle* i *S. hesperidicus* prema Kottelat i Freyhof (2007).

Tablica 4.11. Usporedba determinističkih morfoloških značajki istraživanih populacija *S. dergle* te determinističkih morfoloških značajki za *S. dergle* i *S. hesperidicus* prema Kottelat i Freyhof (2007) (Popis skraćenica: SL-standardna duljina tijela, RH-republika Hrvatska, BiH-Bosna i Hercegovina)

Morfološka značajka/vrsta	c/SL (duljina glave/SL)	H/SL (najveća visina tijela/SL)	h/SL (najmanja visina tijela/SL)	broj razgranatih šipčica u analnoj (podrepnoj) peraji	broj ljustica u bočnoj pruzi
<i>S. dergle</i> (Vransko jezero otok Cres RH)	25 - 29 %	29 - 41 %	10 - 12 %	10 ^{1/2}	(39)40 - 41(42)
<i>S. dergle</i> (jezero Visovac RH)	25 - 27 %	32 - 36 %	10 - 12 %	(9½)10½	(39)40(41)(42)
<i>S. dergle</i> (rijeka Ruda RH)	24 - 27 %	29 - 35 %	11 - 12 %	(9½)10½	(40)41(42)
<i>S. dergle</i> (rijeka Guduča RH)	23 - 27 %	29 - 43 %	9 - 12 %	10 ^{1/2}	(39)40-41(42)(43)
<i>S. dergle</i> (Vransko jezero Biograd RH)	24 - 28 %	35 - 42 %	12 - 13 %	10 ^{1/2}	40(41)(42)
<i>S. dergle</i> (kanal Veliki Ždralovac BiH)	26 - 29 %	28 - 35 %	10 - 11 %	10 ^{1/2}	40(41)
<i>S. dergle</i> (Kottelat i Freyhof 2007)	28 - 32 %	28 - 38 %	10 - 11 %	10 ^{1/2}	40 - 43
<i>S. hesperidicus</i> (Kottelat i Freyhof 2007)	24 - 27 %	35 - 39 %	11 - 12 %	10 - 12 ^{1/2}	36 - 39+2

Iz tablice 4.11. je vidljivo da sve istraživane populacije *S. dergle* brojem razgranatih šipčica u analnoj (podrepnoj) peraji te brojem ljustica u bočnoj pruzi odgovaraju determinističkim značajkama *S. dergle*. U omjeru c/SL sve istraživane populacije odstupaju od raspona vrijednosti za ovu značajku prema Kottelat i Freyhof (2007), u omjeru H/SL odstupaju populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu, Vranskog jezera kod Biograda te rijeke Guduče, dok u omjeru h/SL odstupaju sve istraživane populacije osim one iz kanala Veliki Ždralovac. Općenito, između

istraživanih populacija prisutna je varijabilnost u svim omjerima te se populacija iz Vranskog jezera na Cresu ne razlikuje znatno od ostalih istraživanih populacija *S. dergle*.

4.4. Genska raznolikost roda *Scardinius* istraživanog područja

U nastavku su dani rezultati analiza genskog polimorfizma i genske udaljenosti za istraživane genske markere, s tim da su genske udaljenosti izračunate samo za gen za citokrom *b*, s obzirom na to da je jedino taj marker omogućio razlikovanje vrsta.

4.4.1. Genski polimorfizam i genska udaljenost gena za citokrom *b*

Od svih sakupljenih uzoraka, zadovoljavajuće kvalitete je bilo ukupno 68 sekvenci gena za citokrom *b* istraživanih populacija drlje i peškelja, za koje je napravljena analiza genskog polimorfizma. U analize genske udaljenosti (engl. *p-distance*), uz sekvence dobivene ovim istraživanjem, uključene su i sekvence iz banke gena.

U tablici 4.12. prikazan je ukupan broj sekvenci i haplotipova po lokalitetima istraživanih populacija drlje i peškelja te ukupan broj haplotipova utvrđen po pojedinoj vrsti. Kod vrste *S. dergle* najveća raznolikost haplotipova utvrđena je kod populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu. Ono što je zanimljivo kod ove populacije je to da su svi utvrđeni haplotipovi nađeni isključivo na ovoj lokaciji, dakle na ovoj lokaciji utvrđeni su isključivo privatni haplotipovi, dok su kod drugih istraživanih populacija ove vrste njihovi haplotipovi utvrđeni i na drugim lokalitetima. Visoku raznolikost haplotipova u odnosu na broj analiziranih sekvenci pokazuju i populacije *S. dergle* iz jezera Visovac i rijeke Rude, dok populacije iz kanala Veliki Ždralovac, rijeke Guduče i Vranskog jezera kod Biograda pokazuju nisku raznolikost haplotipova. Populacije iz jezera Visovac i rijeke Rude imaju po dva privatna haplotipa pronađena isključivo na ovim lokalitetima, populacija iz kanala Veliki Ždralovac jedan privatni haplotip, dok populacije iz rijeke Guduče i Vranskog jezera kod Biograda nemaju niti jedan haplotip pronađen isključivo na tim lokalitetima. Populacije peškelja iz Ravnog polja i jezera Kutu imaju dva utvrđena haplotipa, od kojih je po jedan karakterističan za tu lokaciju, odnosno privatni haplotip, dok populacija iz Hutovog blata ima utvrđen jedan haplotip koji nije karakterističan samo za tu lokaciju.

Kod utvrđivanja genskog polimorfizma gena za citokrom *b* za analizu na razini vrste *S. dergle*, iz seta podataka uklonjene su one sekvence istraživanih populacija ove vrste za koje se prilikom sravnjivanja sekvenci utvrdilo da imaju mitohondrijsku DNA *Squalius tenellus*, kako bi se dobio stvaran broj i raznolikost haplotipova za ovu vrstu, a radi se o uzorcima iz rijeke Rude i kanala Veliki Ždralovac. Na razini vrste, *S. dergle* pokazuje puno veću raznolikost haplotipova s obzirom na broj analiziranih sekvenci u odnosu na *S. plotizza*.

Tablica 4.12. Ukupan broj sekvenci i haplotipova gena za citokrom *b* utvrđenih za pojedine populacije drlje i peškelja te ukupno po vrsti. Dodatno je po lokalitetima naveden i broj haplotipova koji dolazi samo na toj lokaciji, dok su ostali haplotipovi zabilježeni na barem dvije lokacije.

Vrsta	Lokalitet	Broj sekvenci	Ukupan broj haplotipova	Haplotipovi nađeni isključivo na ovom lokalitetu
<i>S. dergle</i>	Vransko jezero (Cres)	9	5	5
	kanal Veliki Ždralovac	3	2	1
	jezero Visovac	8	4	2
	rijeka Ruda	7	4	2
	rijeka Guduča	9	1	0
	Vransko jezero (Biograd)	11	2	0
<i>S. plotizza</i>	Ravno polje	8	2	1
	Hutovo blato	4	1	0
	jezero Kuti	9	2	1
<i>S. dergle</i> (ukupno)		40	11	
<i>S. plotizza</i> (ukupno)		21	3	

U tablici 4.13. prikazan je broj sekvenci vrsta *S. dergle* i *S. plotizza* s pojedinih lokaliteta kod kojih je utvrđen pojedini haplotip. Kod vrste *S. dergle* najveći broj jedinki koje imaju isti haplotip (DER4) je zabilježen na lokalitetima rijeka Guduča (9), Vransko jezero (Biograd) (8) i jezero Visovac (5) te je on ujedno i najzastupljeniji haplotip kod ove vrste. Kod vrste *S. plotizza* najveći broj jedinki koje imaju isti haplotip (PLO1) zabilježen je kod svih istraživanih lokaliteta ove vrste; jezero Kuti (8), Ravno polje (7) i Hutovo blato (4) te je ujedno on i najzastupljeniji haplotip kod ove vrste.

Tablica 4.13. Broj sekvenci vrsta *S. dergle* i *S. plotizza* s pojedinih lokaliteta kod kojih je utvrđen pojedini haplotip (*ovaj haplotip utvrđen je i kod jednog uzorka *S. sp.* s lokacije jezero Modro oko kod Imotskog, koja je uključena u analize genske udaljenosti; ** ovaj haplotip utvrđen je kod jednog uzorka *S. sp.* iz rijeke Krke (kod manastira) koji je uključen u analize genske udaljenosti)

Vrsta	Haplotip	Lokalitet					
		Vransko jezero (Cres)	kanal Veliki Ždralovac	jezero Visovac	rijeka Ruda	rijeka Guduča	Vransko jezero (Biograd)
<i>S. dergle</i>	DER1				2		
	DER2				1		
	DER3		2		3		
	DER4			5	1	9	8
	DER5						3*
	DER6**						
	DER7			1			
	DER8			1			
	DER9	1					
	DER10	1					
	DER11	3					
	DER12	1					
	DER13	3					
	DER14		1				
		Lokalitet					
		Ravno polje	Hutovo blato	jezero Kuti			
<i>S. plotizza</i>	PLO1	7	4	8			
	PLO2	1					
	PLO3			1			

Genski polimorfizam gena za citokrom *b*

Za dobivene sekvence gena za citokrom *b* istraživanih populacija izračunat je broj polimorfni (segregirajućih) mjesta, ukupni broj mutacija, broj haplotipova, raznolikost haplotipova, nukleotidna raznolikost te prosjek nukleotidnih razlika prikazan u tablici 4.14. Prema genu za citokrom *b* ukupno je utvrđeno 14 haplotipova, 11 za vrstu *S. dergle* i 3 za vrstu *S. plotizza*. Na razini vrste, *S. dergle* ima značajno veći broj polimorfni mjesta i mutacija (28), kao i raznolikost haplotipova (0,66), nukleotidnu raznolikost (0,00316) i prosjek nukleotidnih razlika (3,603). Unutar vrste *S.*

dergle najveći broj polimorfni mjesta (146), broj mutacija (147) te nukleotidnih raznolikosti (0,03708) i prosjeka nukleotidnih razlika (42,238) zabilježen je kod populacije iz rijeke Rude, što je posljedica hibridizacije. Kao što je ranije navedeno, najveći broj haplotipova u odnosu na broj analiziranih sekvenci zabilježen je kod populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu te je posljedično kod ove populacije prisutna najveća raznolikost haplotipova (0,833). Kod populacije iz rijeke Guduče utvrđen je samo jedan haplotip te su posljedično i analizirane mjere polimorfizma najniže, odnosno njihova vrijednost je 0. Unutar vrste *S. plotizza*, populacije iz Ravnog polja i jezera Kuti ima ujednačene mjere polimorfizma, dok je kod populacije iz Hutovog blata utvrđen samo jedan haplotip te su posljedično i analizirane mjere polimorfizma najniže, odnosno njihova vrijednost je 0. Populacije *S. plotizza* općenito imaju nisku raznolikost haplotipova.

Tablica 4.14. Mjere polimorfizma gena za citokrom *b* istraživanih populacija (Popis skraćenica: N-broj istraživanih sekvenci, S- broj polimorfni (segregirajućih) mjesta, η - ukupni broj mutacija, h- broj haplotipova, Hd- raznolikost haplotipova, π - nukleotidna raznolikost, k- prosjek nukleotidnih razlika)

Vrsta/lokalitet	N	S	η	h	Hd	π	k
<i>S. dergle</i>							
rijeka Ruda	7	146	147	4	0,81	0,03708	42,238
kanal Veliki Ždralovac	3	8	8	2	0,667	0,00468	5,333
Vransko jezero Biograd	11	2	2	2	0,436	0,00077	0,873
rijeka Guduča	9	0	0	1	0	0	0
jezero Visovac	8	17	17	4	0,643	0,00373	4,25
Vransko jezero Cres	9	9	9	5	0,833	0,002	2,278
<i>S. plotizza</i>							
Ravno polje	8	1	1	2	0,25	0,00022	0,25
jezero Kuti	9	1	1	2	0,222	0,00019	0,222
Hutovo blato	4	0	0	1	0	0	0
<i>S. dergle</i>	40	28	28	11	0,66	0,00316	3,603
<i>S. plotizza</i>	21	2	2	3	0,186	0,00017	0,19

Genska udaljenost prema genu za citokrom *b*

U analizu genske udaljenosti gena za citokrom *b*, uz sekvence gena za citokrom *b* dobivene ovim istraživanjem, uključene su i sekvence iz banke gena. Popis oznaka haplotipova, sekvenci i lokaliteta korištenih u analizi genske udaljenosti gena za citokrom *b* naveden je u tablici 4.15.

Tablica 4.15. Popis oznaka haplotipova, sekvenci i lokaliteta korištenih u analizi genske udaljenosti gena za citokrom *b*

Oznaka	Popis sekvenci	Lokaliteti
DER1	DER4	rijeka Ruda, Vransko jezero Biograd, rijeka Guduča, jezero Visovac
	DER5	Vransko jezero Biograd, Modro oko (Imotski)
	DER6	rijeka Krka kod manastira
	DER7	jezero Visovac
	DER8	jezero Visovac
	S dergle 2	rijeka Krka
DER2	DER9	Vransko jezero Cres
	DER11	Vransko jezero Cres
	DER12	Vransko jezero Cres
	DER13	Vransko jezero Cres
	S dergle 3	Vransko jezero Cres
	S erythrophthalmus 13	Italija
	S hesperidicus 2	rijeka Adige, slijev rijeke Po, Italija
	DER10	Vransko jezero Cres
ERI1	S hesperidicus 1	rijeka Adige, sliv rijeke Po, Italija
	S erythrophthalmus 2	jezero Salto, Italija
	S erythrophthalmus 3	jezero Vico, Italija
	S erythrophthalmus 4	jezero Monte Doglio, Italija
	S erythrophthalmus 5	jezero Massaciuccoli, Italija
	S erythrophthalmus 6	rijeka Brenta, Italija
	S erythrophthalmus 7	jezero Maggiore, Italija
	S erythrophthalmus 8	rijeka Po, Italija
ERI2	ERI 1	jezero Štikada
	S erythrophthalmus 9	jezero Volvi, Grčka
	S erythrophthalmus 11	rijeka Rhone, Francuska
	S erythrophthalmus 14	rijeka Rhone, Francuska
	S erythrophthalmus 12	rijeka Sinuhka, Rusija
	S erythrophthalmus 1	jezero Cerknica, Slovenija
	S erythrophthalmus 10	rijeka Dunav
SCAR	S scardafa 1	jezero Scanno, Italija
PLO	PLO1	Ravno polje, jezero Kuti, Hutovo blato
	PLO2	Ravno polje
	PLO3	jezero Kuti
	S plotizza 2	rijeka Krupa
	S plotizza 1	Hutovo blato
	S plotizza 3	rijeka Krupa
GRA	S acarnanicus 2	jezero Yliki, Grčka
	S graecus 2	jezero Yliki, Grčka
	S graecus 1	jezero Yliki, Grčka

Tablica 4.15. Nastavak tablice

Oznaka	Popis sekvenci	Lokaliteti
ACAR	S acarnanicus 1	jezero Trichonis, Grčka
	S acarnanicus 3	jezero Trichonis, Grčka
	S acarnanicus 4	jezero Trichonis, Grčka
	S acarnanicus 5	jezero Trichonis, Grčka
KNE	S knezevici 1	Skadarsko jezero, Albanija

Srednje vrijednosti genske udaljenosti i rasponi između pojedinih filogenetičkih linija unutar roda *Scardinius* gena za citokrom *b* prikazani su u tablici 4.16. Genska udaljenost između pojedinih linija kreće se između 0,18 i 8,95, s tim da se najmanja genska udaljenost odnosi na udaljenost između filogenetičkih linija iste vrste, odnosno dviju linija *S. dergle*. Najmanja genska udaljenost između vrsta je ona između *S. plotizza* (PLO) i *S. dergle* (DER2) te iznosi 1,15. Najveća genska udaljenost 8,95 zabilježena je između vrsta *S. scardafa* i *S. erythrophthalmus* (ERI2).

Tablica 4.16. Srednje vrijednosti genske udaljenosti i rasponi (u zagradi) gena za citokrom *b* između pojedinih filogenetičkih linija unutar roda *Scardinius*

Oznaka	DER1	PLO	DER2	ERI2	ACAR	KNE	GRA	ERI1
PLO	1,33 (1,14-1,49)							
DER2	0,63 (0,18-0,96)	1,15 (0,96-1,40)						
ERI2	4,15 (2,98-7,02)	3,84 (2,72-6,67)	4,03 (2,98-7,02)					
ACAR	4,99 (4,74-5,35)	4,47 (4,12-4,74)	4,70 (4,30-5,09)	5,65 (4,47-8,42)				
KNE	2,86 (2,68-3,04)	2,83 (2,77-2,95)	2,73 (2,68-2,86)	4,02 (3,04-7,06)	4,92 (4,74-5,00)			
GRA	3,60 (2,89-4,47)	3,20 (2,72-3,86)	3,44 (2,81-4,39)	3,98 (2,72-6,75)	3,87 (3,42-4,47)	3,60 (3,13-4,29)		
ERI1	1,78 (1,67-1,93)	2,41 (2,28-2,54)	1,89 (1,49-2,19)	4,51 (3,68-7,28)	5,73 (5,53-5,96)	3,60 (3,57-3,66)	4,12 (3,68-4,74)	
SCAR	3,77 (3,68-3,86)	3,87 (3,77-3,95)	3,58 (3,51-3,68)	6,17 (5,26-8,95)	7,15 (6,93-7,37)	5,36	5,70 (5,35-6,14)	3,71 (3,68-3,77)

Srednje vrijednosti genske udaljenosti i rasponi unutar pojedinih filogenetičkih linija roda *Scardinius* prema genu za citokrom *b* prikazani su u tablici 4.17. Genska udaljenost unutar pojedinih filogenetičkih linija kreće se između 0,04 i 2,31. Najmanja genska udaljenost je zabilježena unutar vrste *S. erythrophthalmus*, linije ERI1, koja uključuje talijanske populacije ove vrste, odnosno sekvence iz banke gena, dok je najveća genska udaljenost zabilježena unutar iste vrste, linije ERI2, koja uključuje uzorke s geografski znatno udaljenim uzorkovanim populacijama.

Tablica 4.17. Srednje vrijednosti genske udaljenosti i rasponi (u zagradi) gena za citokrom *b* unutar pojedinih filogenetičkih linija unutar roda *Scardinius* (Popis skraćenica: n/c-za ove linije analizirana je samo po jedna sekvenca te posljedično nisu izračunate genske udaljenosti unutar linije)

Oznaka	Genska udaljenost
DER1	0,18 (0,00-0,35)
PLO	0,19 (0,09-0,35)
DER2	0,30 (0,09-0,61)
ERI2	2,31 (0,09-5,70)
ACAR	0,32 (0,18-0,53)
KNE	n/c
GRA	1,23 (0,26-1,84)
ERI1	0,04 (0,00-0,09)
SCAR	n/c

4.4.2. Genski polimorfizam jezgrinih gena za beta aktin i BMP

Genski polimorfizam gena za beta aktin

Od svih sakupljenih uzoraka, zadovoljavajuće kvalitete je bilo ukupno 64 sekvenci gena za beta aktin istraživanih populacija, za koje je napravljena analiza genskog polimorfizma. U tablici 4.18. prikazan je ukupan broj sekvenci i haplotipova po lokalitetima istraživanih populacija te ukupan broj haplotipova utvrđen po pojedinoj vrsti. Kod *S. dergle* dva haplotipa su utvrđena kod populacije iz Vranskog jezera kod Biograda, od toga je jedan zabilježen isključivo na ovoj lokaciji (privatni haplotip), dok je kod ostalih istraživanih populacija ove vrste utvrđen samo jedan haplotip. S obzirom na to da su ukupno za vrstu *S. dergle* utvrđena 2 haplotipa, može se zaključiti da sve istraživane populacije dijele isti haplotip, a jedan je dodatno utvrđen kod populacije iz Vranskog jezera kod Biograda. Kod vrsta *S. plotizza* i *S. erythrophthalmus* prikupljeni uzorci su bili s po jedne lokacije te su kod obje vrste utvrđena po dva haplotipa, a od toga je jedan zabilježen isključivo na tim lokalitetima, dakle radi se o privatnim haplotipovima.

Tablica 4.18. Ukupan broj sekvenci i haplotipova gena za beta aktin po lokalitetima istraživanih populacija drlje, peškelja i crvenperke te ukupno po vrsti. Dodatno je po lokalitetima naveden i broj haplotipova koji dolazi samo na toj lokaciji, dok su ostali haplotipovi zabilježeni na barem dvije lokacije.

Vrsta	Lokalitet	Broj sekvenci	Ukupan broj haplotipova	Haplotipovi nađeni isključivo na ovom lokalitetu
<i>S. dergle</i>	Vransko jezero (Cres)	6	1	0
	kanal Veliki Ždralovac	6	1	0
	rijeka Guduča	16	1	0
	Vransko jezero (Biograd)	20	2	1
<i>S. plotizza</i>	Ravno polje	12	2	1
<i>S. erythrophthalmus</i>	jezero Štikada	4	2	1
<i>S. dergle</i> (ukupno)		48	2	
<i>S. plotizza</i> (ukupno)		12	2	
<i>S. erythrophthalmus</i> (ukupno)		4	2	

U tablici 4.19. prikazana je zastupljenost sekvenci gena za beta aktin pojedinih istraživanih populacija po pojedinim utvrđenim haplotipovima. Najveći broj sekvenci istraživanih populacija ima utvrđeni haplotip HAP1, odnosno radi se o ancestralnom haplotipu. HAP2 zabilježen je kod jedne sekvence *S. plotizza* iz Ravnog polja, HAP3 kod jedne sekvence *S. dergle* iz Vranskog jezera kod Biograda, a HAP4 kod dvije sekvence *S. erythrophthalmus* iz jezera Štikada.

Tablica 4.19. Zastupljenost sekvenci gena za beta aktin pojedinih istraživanih populacija po utvrđenim haplotipovima (HAP1,2,3 i 4)

Vrsta	Lokalitet	HAP1	HAP2	HAP3	HAP4
<i>S. dergle</i>	Vransko jezero (Cres)	6			
	kanal Veliki Ždralovac	6			
	rijeka Guduča	16			
	Vransko jezero (Biograd)	19		1	
<i>S. plotizza</i>	Ravno polje	11	1		
<i>S. erythrophthalmus</i>	jezero Štikada	2			2

Za dobivene sekvence gena za beta aktin istraživanih populacija izračunat je broj polimorfni (segregirajućih) mjesta, ukupni broj mutacija, broj haplotipova, raznolikost

haplotipova, nukleotidna raznolikost te prosjek nukleotidnih razlika prikazan u tablici 4.20. Na razini vrste, *S. erythrophthalmus* ima najveće zabilježene vrijednosti svih mjera polimorfizma. Unutar vrste *S. dergle* najveće zabilježene vrijednosti svih mjera polimorfizma ima populacija iz Vranskog jezera kod Biograda.

Tablica 4.20. Mjere polimorfizma gena za beta aktin istraživanih populacija (Popis skraćenica: N- broj istraživanih sekvenci, S- broj polimorfni (segregirajućih) mjesta, η - ukupni broj mutacija, h- broj haplotipova, Hd- raznolikost haplotipova, π - nukleotidna raznolikost, k- prosjek nukleotidnih razlika)

Vrsta/lokalitet	N	S	η	h	Hd	π	k
<i>S. dergle</i>							
kanal Veliki Ždralovac	6	0	0	1	0	0	0
Vransko jezero Biograd	20	1	1	2	0,1	0,00011	0,1
rijeka Guduča	16	0	0	1	0	0	0
Vransko jezero Cres	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. plotizza</i>							
Ravno polje	12	1	1	2	0,167	0,00019	0,167
<i>S. erythrophthalmus</i>							
jezero Štikada	4	2	2	2	0,667	0,00150	1,333
<i>S. dergle</i>	48	1	1	2	0,042	0,00005	0,042
<i>S. plotizza</i>	12	1	1	2	0,167	0,00019	0,167
<i>S. erythrophthalmus</i>	4	2	2	2	0,667	0,00150	1,333

Genski polimorfizam gena za BMP

Od svih sakupljenih uzoraka, zadovoljavajuće kvalitete je bilo ukupno 100 sekvenci gena za BMP istraživanih populacija, za koje je napravljena analiza genskog polimorfizma. U tablici 4.21. prikazan je ukupan broj sekvenci i haplotipova po lokalitetima istraživanih populacija te ukupan broj haplotipova utvrđen po pojedinoj vrsti. Kod drlje, najveći broj haplotipova (četiri) zabilježen je kod uzoraka iz rijeke Rude. Populacije ove vrste iz kanala Veliki Ždralovac i rijeke Guduče imaju zabilježen po jedan haplotip, dok ostale populacije imaju zabilježena po dva haplotipa. Također, populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu, Vranskog jezera kod Biograda, jezera Visovac i rijeke Rude imaju po jedan privatni haplotip. Kod peškelja, najveći broj haplotipova (pet) zabilježen je kod populacije iz jezera Kut, od čega su dva haplotipa privatna. Kod populacije peškelja iz Hutovog blata zabilježena su dva haplotipa, a kod populacije iz Ravnog polja jedan. Kod uzoraka crvenperke iz jezera Štikada zabilježen

je samo jedan haplotip, kod uzoraka *S. sp.* iz rijeke Krke dva haplotipa (od čega jedan privatni) te kod uzoraka *S. sp.* iz Modrog oka dva haplotipa (oba privatna).

Tablica 4.21. Ukupan broj sekvenci i haplotipova gena za BMP po lokalitetima istraživanih populacija drlje, peškelja, crvenperke i *S. sp.* te ukupno po vrsti. Dodatno je po lokalitetima naveden i broj haplotipova koji dolazi samo na toj lokaciji, dok su ostali haplotipovi zabilježeni na barem dvije lokacije.

Vrsta	Lokalitet	Broj sekvenci	Ukupan broj haplotipova	Haplotipovi nađeni isključivo na ovom lokalitetu
<i>S. dergle</i>	Vransko jezero (Cres) RH	16	2	1
	kanal Veliki Ždralovac BiH	6	1	0
	rijeka Guduča RH	14	1	0
	Vransko jezero (Biograd) RH	16	2	1
	jezero Visovac RH	4	2	1
	rijeka Ruda RH	10	4	1
<i>S. plotizza</i>	Ravno polje BiH	14	1	0
	Jezero Kutu RH	8	5	2
	Hutovo blato BiH	4	2	0
<i>S. erythrophthalmus</i>	jezero Štikada RH	4	1	0
<i>S. sp.</i>	rijeka Krka (manastir) RH	2	2	1
	jezero Modro oko kod Imotskog RH	2	2	2
<i>S. dergle</i> (ukupno)		66	7	
<i>S. plotizza</i> (ukupno)		26	5	
<i>S. erythrophthalmus</i> (ukupno)		4	1	

U tablici 4.22. prikazana je zastupljenost sekvenci gena za BMP pojedinih istraživanih populacija po pojedinim utvrđenim haplotipovima. Kod istraživanih populacija ukupno je utvrđeno 12 haplotipova. Kod svih istraživanih populacija, osim *S. sp.* iz Modrog oka, zabilježen je haplotip HAP1, odnosno radi se o ancestralnom haplotipu zastupljenom s najvećim brojem sekvenci (85). Ostali haplotipovi zastupljeni su s najmanje jednom te najviše četiri sekvence.

Tablica 4.22. Zastupljenost sekvenci gena za BMP pojedinih istraživanih populacija po utvrđenim haplotipovima (HAP1-12)

Vrsta	Lokalitet	HAP1	HAP2	HAP3	HAP4	HAP5	HAP6
<i>S. dergle</i>	Vransko jezero (Cres)	15					
	kanal Veliki Ždralovac	6					
	rijeka Guduča	14					
	Vransko jezero (Biograd)	15					
	rijeka Ruda	7		1	1	1	
	jezero Visovac	3	1				
<i>S. plotizza</i>	Ravno polje	14					
	jezero Kuti	4		1		1	1
	Hutovo Blato	2				2	
<i>S. erythrophthalmus</i>	jezero Štikada	4					
<i>S. sp.</i>	jezero Modro oko						
	rijeka Krka (manastir)	1					
Vrsta	Lokalitet	HAP7	HAP8	HAP9	HAP10	HAP11	HAP12
<i>S. dergle</i>	Vransko jezero (Cres)			1			
	kanal Veliki Ždralovac						
	rijeka Guduča						
	Vransko jezero (Biograd)				1		
	rijeka Ruda						
	jezero Visovac						
<i>S. plotizza</i>	Ravno polje						
	jezero Kuti	1					
	Hutovo Blato						
<i>S. erythrophthalmus</i>	jezero Štikada						
<i>S. sp.</i>	jezero Modro oko					1	1
	rijeka Krka (manastir)		1				

Za dobivene sekvence gena za BMP istraživanih populacija izračunat je broj polimorfnih (segregirajućih) mjesta, ukupni broj mutacija, broj haplotipova, raznolikost haplotipova, nukleotidna raznolikost te prosjek nukleotidnih razlika prikazan u tablici 4.23. Na razini vrste, kod drlje je zabilježen najveći broj haplotipova (sedam), dok je raznolikost haplotipova ipak najveća kod istraživanih populacija peškelja. Najniže mjere polimorfizma zabilježene su kod istraživanih sekvenci crvenperke, s obzirom na to da je kod ove vrste zabilježen samo jedan haplotip. Zanimljivo je da su kod po dvije analizirane sekvence *S. sp.* iz rijeke Krke i Modrog oka utvrđena dva haplotipa za svaku lokaciju te posljedično ove lokacije imaju najveću utvrđenu raznolikost haplotipova. Unutar vrste, najveći broj i raznolikost haplotipova utvrđeni su za drlju kod populacije iz rijeke Rude, a najmanji kod populacija iz rijeke Guduče i kanala Veliki Ždralovac.

Kod peškelja, najveće mjere polimorfizma zabilježene su kod populacije iz jezera Kutu, a najmanje kod populacije iz Ravnog polja.

Tablica 4.23. Mjere polimorfizma gena za BMP istraživanih populacija (Popis skraćenica: N-broj istraživanih sekvenci, S- broj polimorfni (segregirajućih) mjesta, η - ukupni broj mutacija, h- broj haplotipova, Hd- raznolikost haplotipova, π - nukleotidna raznolikost, k- prosjek nukleotidnih razlika; BiH-Bosna i Hercegovina, RH-Republika Hrvatska)

Vrsta/lokalitet	N	S	η	h	Hd	π	k
<i>S. dergle</i>							
Vransko jezero (Cres) RH	16	3	3	2	0,125	0,00056	0,375
kanal Veliki Ždralovac BiH	6	0	0	1	0	0	0
rijeka Guduča RH	14	0	0	1	0	0	0
Vransko jezero (Biograd) RH	16	1	1	2	0,125	0,00019	0,125
jezero Visovac RH	4	3	3	2	0,5	0,00223	1,5
rijeka Ruda RH	10	4	4	4	0,533	0,00182	1,222
<i>S. plotizza</i>							
Ravno polje BiH	14	0	0	1	0	0	0
Jezero Kutu RH	8	7	7	5	0,786	0,00420	2,821
Hutovo blato BiH	4	4	4	2	0,667	0,00397	2,667
<i>S. erythrophthalmus</i>							
jezero Štikada	4	0	0	1	0	0	0
<i>S. sp.</i>							
rijeka Krka (manastir) RH	2	1	1	2	1	0,00149	1
jezero Modro oko kod Imotskog RH	2	3	3	2	1	0,00446	3
<i>S. dergle (ukupno)</i>							
	66	11	11	7	0,175	0,00063	0,421
<i>S. plotizza (ukupno)</i>							
	26	7	7	5	0,406	0,00226	1,517
<i>S. erythrophthalmus (ukupno)</i>							
	4	0	0	1	0	0	0

4.5. Filogenetički odnosi istraživanih populacija roda *Scardinius*

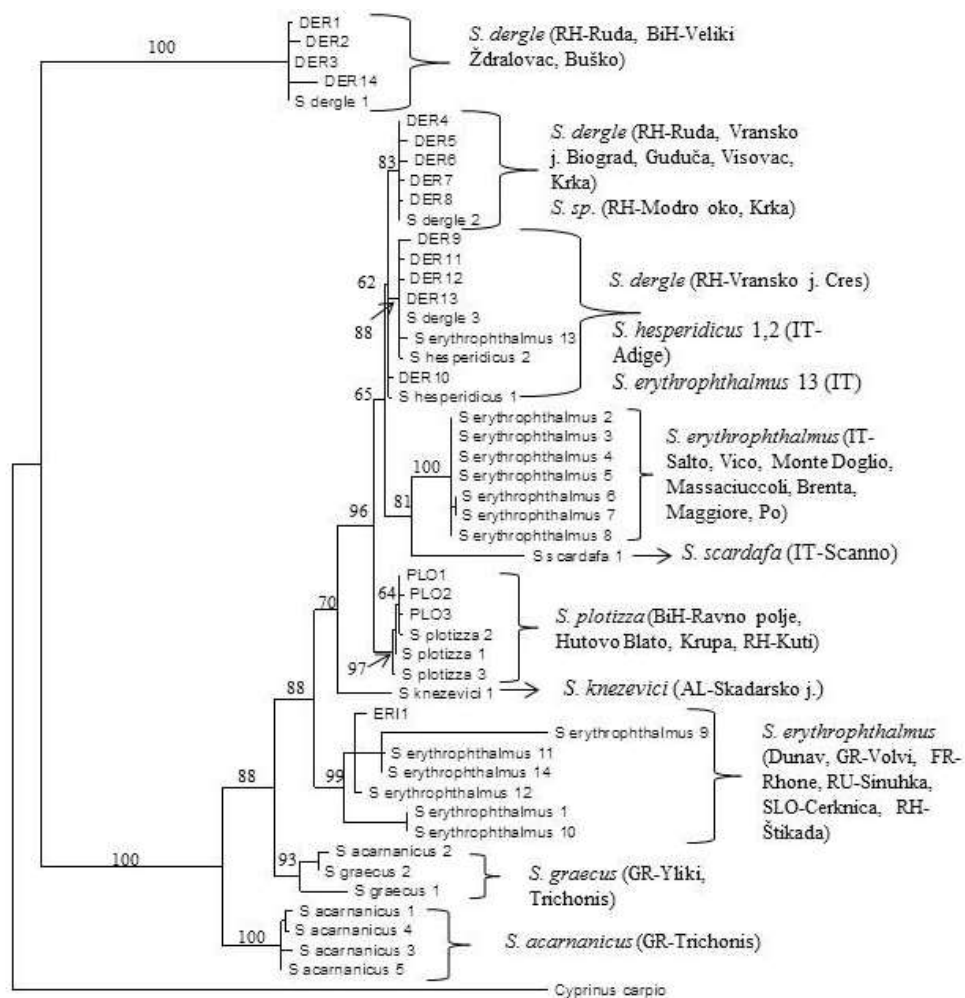
U tablici 4.24. prikazan je broj i udio varijabilnih i parsimonijski informativnih nukleotidnih mjesta, indeksi konzistencije i homoplazije sa i bez neinformativnih značajki, retencijski indeks, indeks reskalirane konzistencije te duljine filogenetičkih stabala istraživanih genskih markera dobivene provedenim filogenetičkim analizama. Iz rezultata je vidljivo da je za istraživanje filogenetičkih odnosa najpogodniji gen za citokrom *b*, jer daje najbolju filogenetičku razlučivost zbog većeg broja parsimonijski informativnih, odnosno značajnih mjesta te omogućuje razlikovanje vrsta. Istraživani geni za citokrom *b* i beta aktin imaju visoki indeks konzistencije te nizak indeks homoplazije. S druge strane gen za BMP ima nešto niži indeks konzistencije te viši indeks homoplazije. Visoku količinu stečenih osobina od predaka sadržanih u retencijskom indeksu pokazuju geni za citokrom *b* i beta aktin, dok je ona nešto niža kod gena za BMP.

Tablica 4.24. Broj i udio varijabilnih i parsimonijski informativnih nukleotidnih mjesta, indeksi konzistencije i homoplazije sa i bez neinformativnih značajki, retencijski indeks, indeks reskalirane konzistencije te duljine filogenetičkih stabala istraživanih genskih markera dobivene provedenim filogenetičkim analizama

	citokrom <i>b</i>	beta aktin	BMP
broj i udio varijabilnih nukleotidnih mjesta	383 (33,60 %)	3 (0,34 %)	22 (3,27 %)
broj i udio parsimonijski informativnih nukleotidnih mjesta	211 (18,51 %)	0 (0 %)	6 (0,89 %)
indeks konzistencije (CI) sa i bez neinformativnih značajki	0,8183; 0,7292	1; 0	0,8; 0,5
indeks homoplazije (HI) sa i bez neinformativnih značajki	0,1817; 0,2708	0; 0	0,2; 0,5
retencijski indeks (RI)	0,9266	0	0,7
indeks reskalirane konzistencije (RC)	0,7583	0	0,56
duljina filogenetičkog stabla (metoda najveće parsimonije)	556	3	30

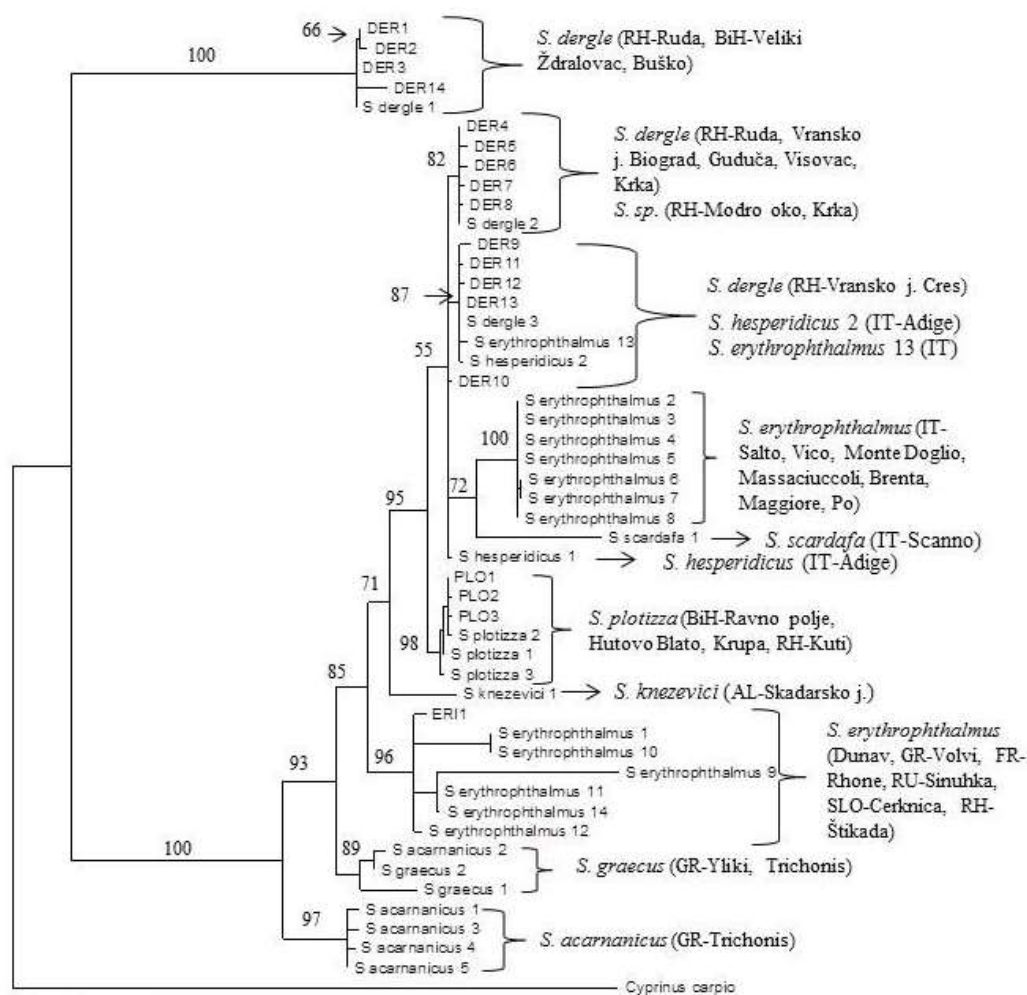
4.5.1. Filogenetička rekonstrukcija gena za citokrom *b*

Filogenetička rekonstrukcija gena za citokrom *b* napravljena je metodama najveće parsimonije, najveće vjerodostojnosti i Bayesovom metodom, a rađena je za 72 sekvence citokroma *b* istraživanih jedinki roda *Scardinius* iz jadranskog slijeva, 31 sekvencu gena citokroma *b* vrsta unutar roda *Scardinius* preuzetih iz banke gena te vanjsku grupu (*Cyprinus carpio*), na 1140 nukleotidnih mjesta, što je ukupna duljina gena za citokrom *b*. Na slici 4.5. prikazano je filogenetičko stablo dobiveno metodom najveće parsimonije. Od ukupno 1140 nukleotidnih mjesta, 757 nukleotidnih mjesta je bilo nevarijabilno, a od 383 varijabilna mjesta, 211 bilo je parsimonijski informativno. Iz filograma dobivenog metodom najveće parsimonije, koji ima dobru podržanost grana, jasno se vidi razdvajanje pojedinih vrsta unutar roda *Scardinius*, kao i razdvajanja unutar vrsta ovisno o geografskom položaju lokaliteta na kojima su jedinke uzorkovane. Tako se primjerice vidi razdvajanje populacija crvenperke iz Italije i populacija ove vrste sa šireg području njene rasprostranjenosti. Također se razdvajaju uzorkovane populacije drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu od ostalih uzorkovanih populacija te jedinke ove vrste za koje je utvrđeno da imaju mitohondrijsku DNA *Squalius tenellus* (DER1-3,14 i S dergle 1). Zanimljivo je i da se uzorci *S. erythrophthalmus* i *S. hesperidicus* iz Italije, preuzeti iz banke gena, grupiraju s istraživanim populacijama *S. dergle* iz Vranskog jezera na otoku Cresu. Također, jedan uzorak *S. acarnanicus* iz jezera Trichonis grupira se s uzorcima *S. graecus* iz jezera Yliki. Uzorci *S. sp.* iz Modrog oka i Krke grupiraju se s uzorcima drlje te se može zaključiti da ovi uzorci pripadaju ovoj vrsti.



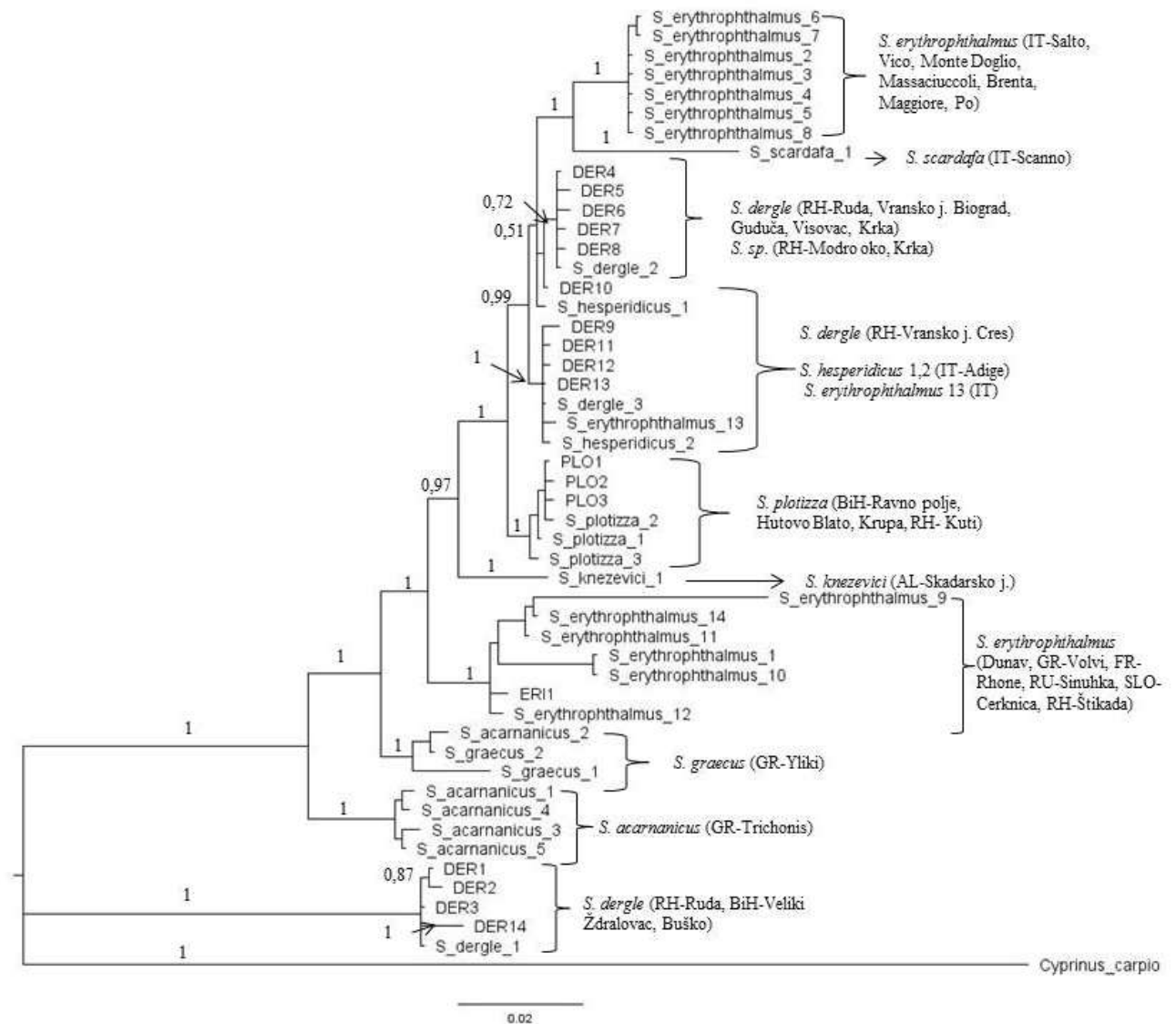
Slika 4.5. Filogram gena za citokrom *b* dobiven metodom najveće parsimonije. Podržanost pojedinih grananja prikazana je na granama stabla (broj replikanata=1000). Uz istraživane haplotipove navedene su vrste te lokaliteti. (Popis skraćenica: AL-Albanija, BiH-Bosna i Hercegovina, FR-Francuska, GR-Grčka, IT-Italija, RH-Hrvatska, RU-Rusija, SLO-Slovenija)

Na slici 4.6. prikazano je filogenetičko stablo dobiveno metodom najveće vjerodostojnosti. Ovom metodom dobiveno je filogenetičko stablo čija vjerojatnost, odnosno logaritmirana $-\ln$ vrijednost, iznosi 4506,001. Ovom analizom dobiveni su isti rezultati kao i metodom najveće parsimonije, uz iznimku što se jedna sekvenca vrste *S. hesperidicus* bolje odvaja od istraživanih sekvenci drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu.



Slika 4.6. Filogram gena za citokrom *b* dobiven metodom najveće vjerodostojnosti. Podržanost pojedinih grananja prikazana je na granama stabla (broj replikanata=100). Uz istraživane haplotipove navedene su vrste te lokaliteti. (Popis skraćenica: AL-Albanija, BiH-Bosna i Hercegovina, FR-Francuska, GR-Grčka, IT-Italija, RH-Hrvatska, RU-Rusija, SLO-Slovenija)

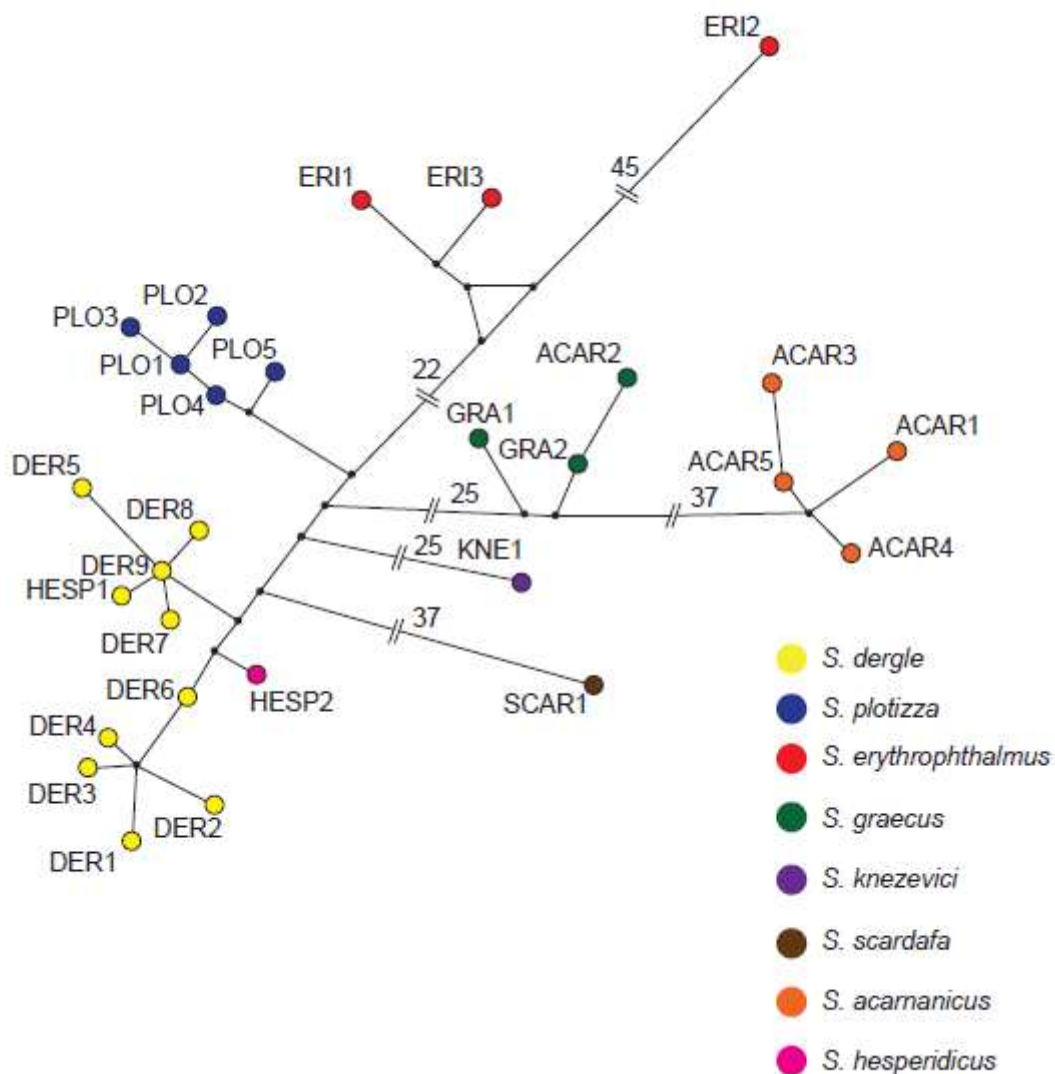
Na slici 4.7. prikazano je filogenetičko stablo dobiveno Bayesovom metodom koje pokazuje iste rezultate kao i prethodne dvije filogenetičke metode.



Slika 4.7. Filogram gena za citokrom *b* dobiven Bayesovom metodom. Posteriorne vrijednosti prikazane su na granama stabla. Uz istraživane haplotipove navedene su vrste te lokaliteti. (Popis skraćenica: AL-Albanija, BiH-Bosna i Hercegovina, FR-Francuska, GR-Grčka, IT-Italija, RH-Hrvatska, RU-Rusija, SLO-Slovenija)

Kako bi se dobio bolji uvid u filogenetičke odnose između istraživanih populacija i ostalih vrsta unutar roda *Scardinius* te filogenetičke odnose na populacijskoj razini, izrađene su dvije filogenetičke mreže sekvenci gena za citokrom *b* metodom susjednog sparivanja (engl. median joining). Prva mreža je uključivala sekvence prikupljene ovim istraživanjem i sekvence iz banke gena, a prikazana je na slici 4.8. U ovoj mreži svaka vrsta unutar roda *Scardinius* označena je posebnom bojom. Na filogenetičkoj mreži se vidi izdvajanje dijela populacije drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu (DER 5-9) od ostalih populacija ove vrste, dok se ostale vrste zasebno

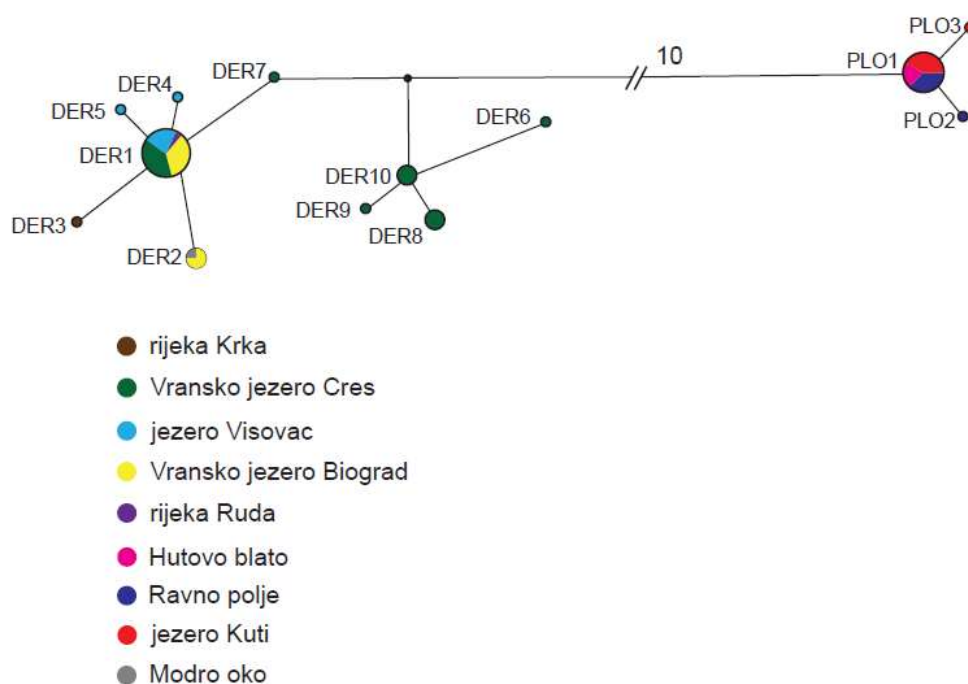
grupiraju. Udaljenost između pojedinih vrsta održava i njihovu geografsku razdvojenost, odnosno drlja i peškelj (zajedno sa *S. hesperidicus*) se grupiraju bliže u odnosu na ostale vrste unutar roda.



Slika 4.8. Filogenetička mreža gena za citokrom *b* istraživanih sekvenci i sekvenci preuzetih iz banke gena. Medijanski vektori označeni su crnim točkicama. Brojevi iznad linija pokazuju broj mutacija između pojedinih haplotipova (označen je broj mutacija >5).

Druga filogenetička mreža, prikazana na slici 4.9., uključivala je samo istraživane sekvence gena za citokrom *b*. U ovoj mreži veličina kružića koji predstavlja haplotipove odražava i broj sekvenci koji pripadaju pojedinom haplotipu, a boje predstavljaju lokacije pojedinih uzoraka. Iz filogenetičke mreže se jasno vidi da su

haplotipovi PLO1 i DER1 ancestralni haplotipovi kojima pripada najveći broj istraživanih sekvenci. Kao i na prošloj slici, vidi se izdvajanje dijela populacije drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu. Također, istraživane populacije peškelja se jasno izdvajaju od istraživanih populacija drlje. Kod drlje je vidljivo i izdvajanje privatnih haplotipova populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu, jezera Visovac te Rude, a kod peškelja izdvajanje privatnih haplotipova populacija iz jezera Kuti i Ravnog polja.



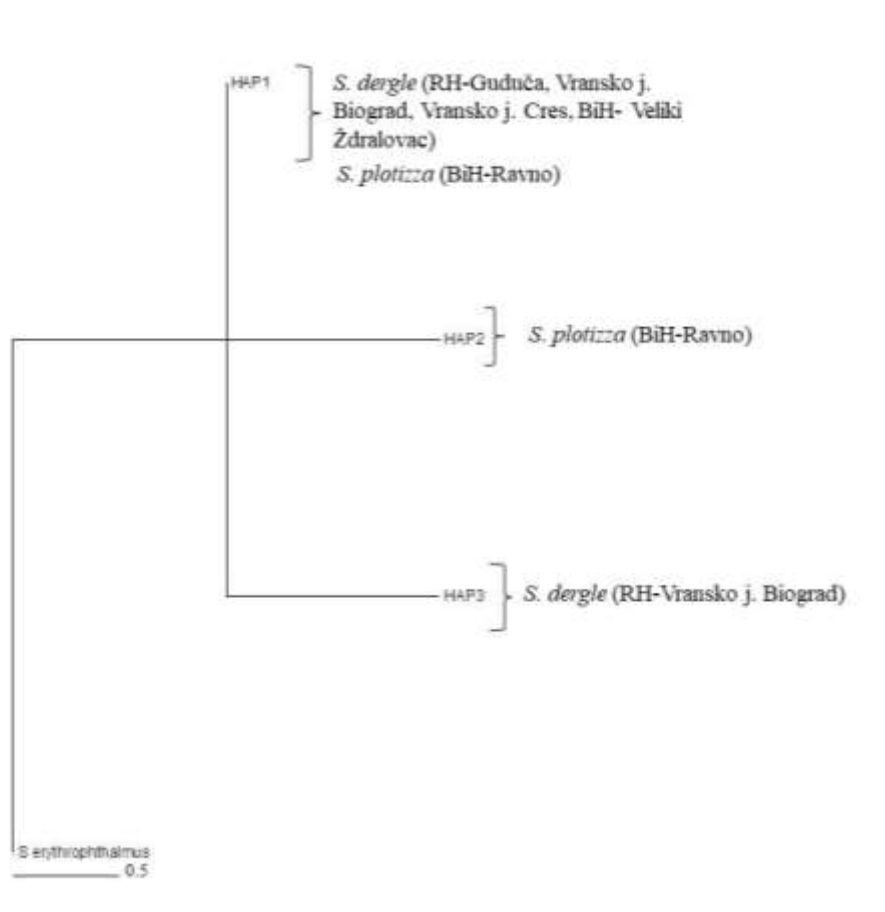
Slika 4.9. Filogenetička mreža gena za citokrom *b* istraživanih sekvenci. Medijanski vektori označeni su crnim točkicama. Brojevi iznad linija pokazuju broj mutacija između pojedinih haplotipova (označen je broj mutacija >5).

4.5.2. Filogenetička rekonstrukcija jezgrinih gena za beta aktin i BMP

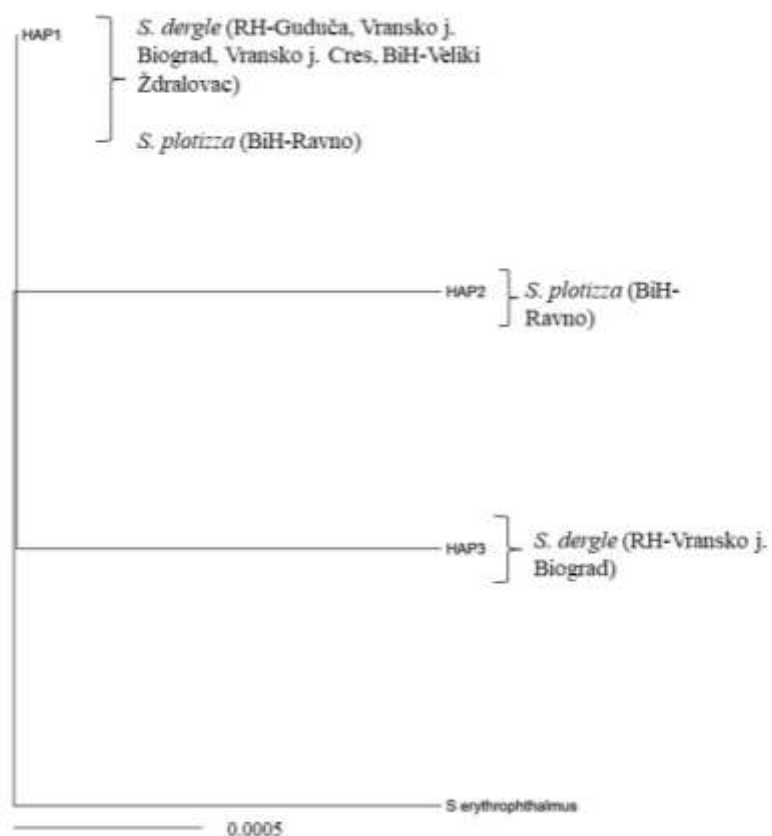
Filogenetička rekonstrukcija gena za beta aktin

Filogenetička rekonstrukcija gena za beta aktin napravljena je metodama najveće parsimonije, najveće vjerodostojnosti i Bayesovom metodom, a rađena je za 64 sekvence istraživanih jedinki roda *Scardinius* iz jadranskog slijeva te vanjsku grupu (*Scardinius erythrophthalmus*), na 888 nukleotidnih mjesta. Na slici 4.10. prikazano je filogenetičko stablo dobiveno metodom najveće parsimonije. Od ukupno 888 nukleotidnih mjesta, 885 nukleotidnih mjesta je bilo nevarijabilno, a od tri varijabilna mjesta, niti jedno nije bilo parsimonijski informativno. S obzirom na to da je broj

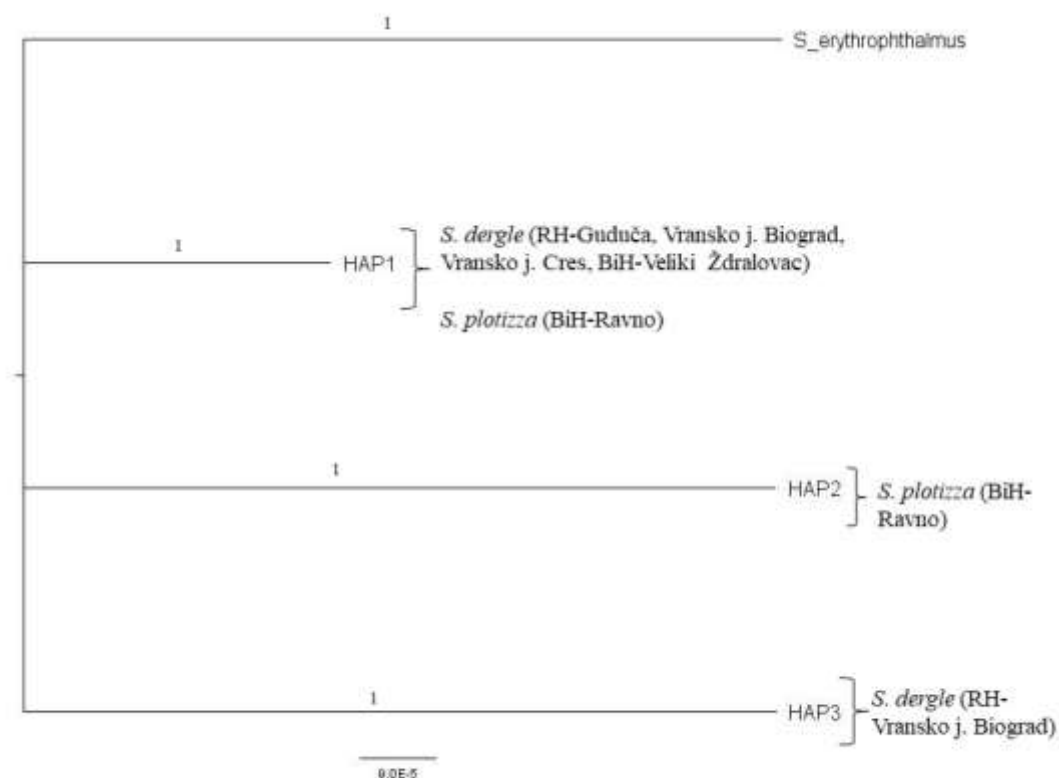
parsimonijski značajnih mjesta 0, dobiveni filogram ukazuje na meku politomiju. Iste rezultate pokazuje i filogrami dobiveni metodom najveće vjerodostojnosti (slika 4.11.) Metodom najveće vjerodostojnosti dobiveno je filogenetičko stablo čija vjerojatnost, odnosno logaritmirana $-\ln$ vrijednost, iznosi 1247,867. Filogram dobiven Bayesovom metodom prikazan je na slici 4.12. Iako su ovom metodom dobivene posteriorne vrijednosti pojedinih grana, analiza gena za beta aktin ne omogućava razlikovanje vrsta.



Slika 4.10. Filogram gena za beta aktin dobiven metodom najveće parsimonije. Uz istraživane haplotipove navedene su vrste te lokaliteti. (Popis skraćenica: BiH-Bosna i Hercegovina, RH-Hrvatska)

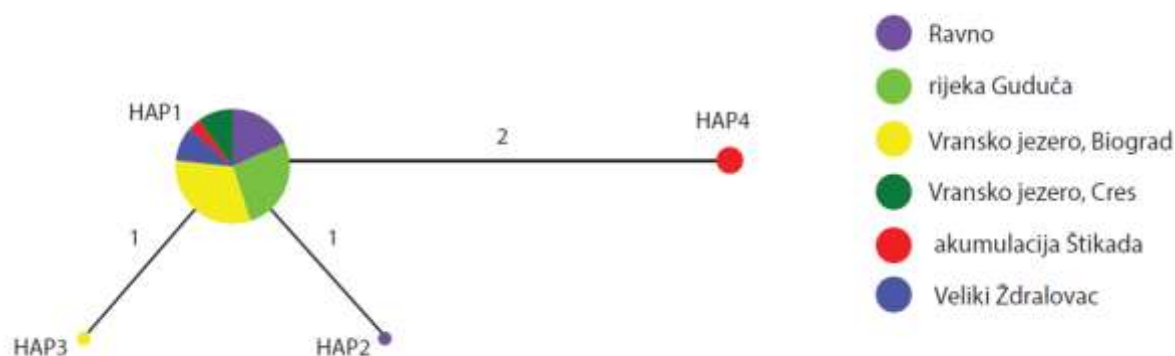


Slika 4.11. Filogram gena za beta aktin dobiven metodom najveće vjerodostojnosti. Uz istraživane haplotipove navedene su vrste te lokaliteti. (Popis skraćenica: BiH-Bosna i Hercegovina, RH-Hrvatska)



Slika 4.12. Filogram gena za beta aktin dobiven Bayesovom metodom. Posteriorne vrijednosti prikazane su na granama stabla. Uz istraživane haplotipove navedene su vrste te lokaliteti. (Popis skraćenica: BiH-Bosna i Hercegovina, RH-Hrvatska)

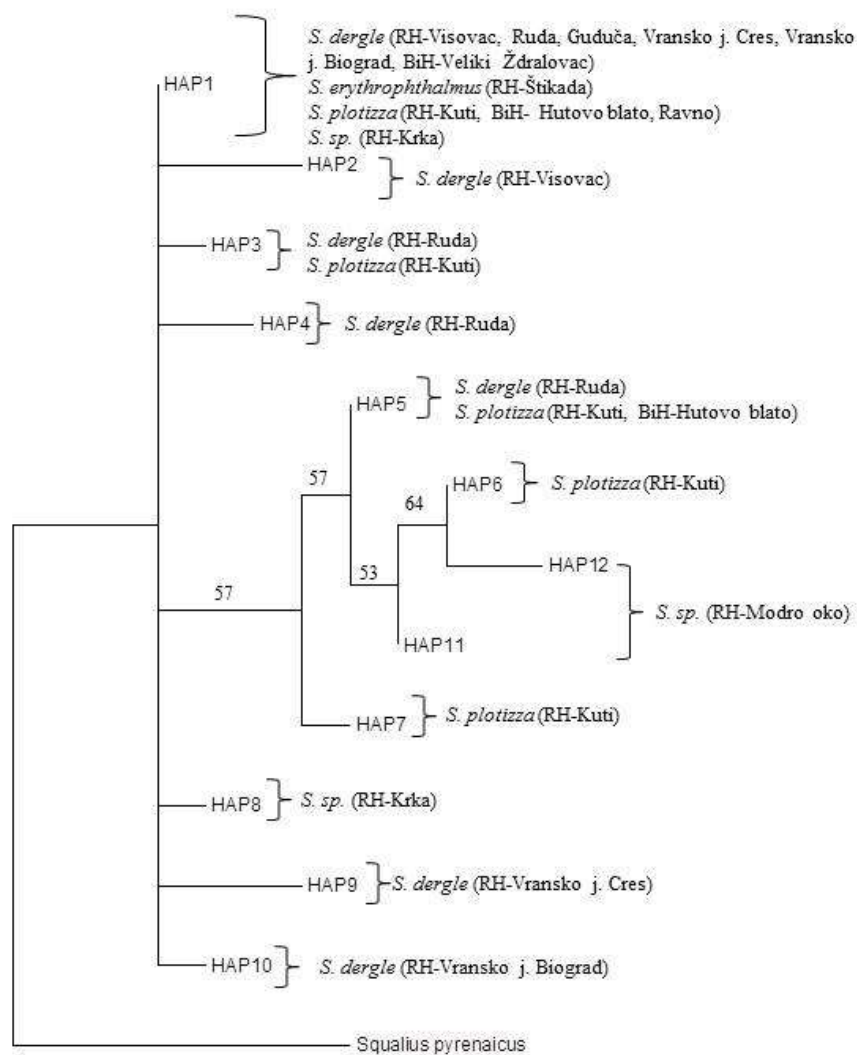
Za izradu filogenetičke mreže gena za beta aktin, prikazanoj na slici 4.13., korištene su sekvence istraživanih populacija roda *Scardinius*. U ovoj mreži veličina kružića koji predstavlja haplotipove odražava i broj sekvenci koji pripadaju pojedinom haplotipu, a boje predstavljaju lokacije pojedinih uzoraka. Najveći broj sekvenci zastupljen je u haplotipu HAP1 (60 sekvenci) te se ovdje radi o ancestralnom haplotipu, odnosno ovaj haplotip zabilježen je kod svih istraživanih populacija drlje, peškelja i crvenperke. Ostali haplotipovi nastali su iz ancestralnog te predstavljaju privatne haplotipove, a oni su zabilježeni kod jedne sekvence peškelja iz Ravnog polja (HAP2), jedne sekvence drlje iz Vranskog jezera kod Biograda (HAP3) te dvije sekvence crvenperke iz jezera Štikada (HAP4). Popis istraživanih sekvenci po pojedinom haplotipu prikazan je u tablici 8.8. u poglavlju 8. Prilozi.



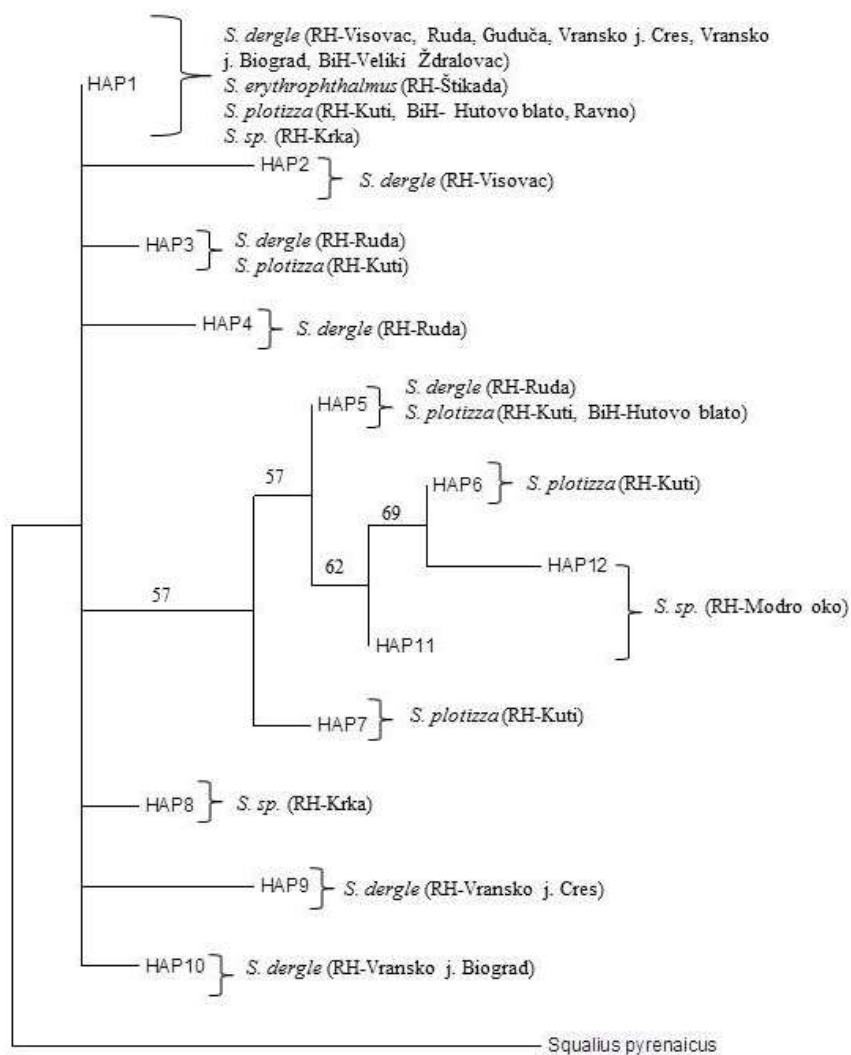
Slika 4.13. Filogenetička mreža gena za beta aktin istraživanih sekvenci. Brojevi iznad linija pokazuju broj mutacija između pojedinih haplotipova (HAP1-4).

Filogenetička rekonstrukcija gena za BMP

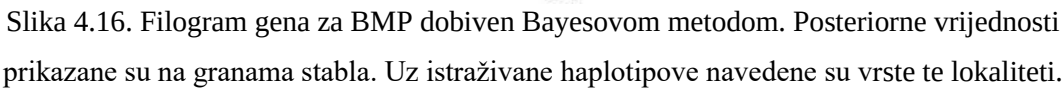
Filogenetička rekonstrukcija gena za BMP napravljena je metodama najveće parsimonije, najveće vjerodostojnosti i Bayesovom metodom, a rađena je za 100 sekvenci istraživanih jedinki roda *Scardinius* iz jadranskog slijeva te vanjsku grupu (*Squalius pyrenaicus*), na 672 nukleotidna mjesta. Na slici 4.14. prikazano je filogenetičko stablo dobiveno metodom najveće parsimonije. Od ukupno 672 nukleotidna mjesta, 650 nukleotidnih mjesta je bilo nevarijabilno, a od 22 varijabilna mjesta, šest je bilo parsimonijski informativno. Metodom najveće parsimonije dobiveno je stablo duljine 30, indeksa konzistencije (CI) 0,8, CI bez neinformativnih značajki 0,5, indeksa homoplazije (HI) 0,2, HI bez neinformativnih značajki 0,5, indeksa retencije (RI) 0,7 te reskaliranog indeksa konzistencije (RC) 0,56. Iz filograma dobivenog metodom najveće parsimonije, vidljivo je da analiza gena za BMP ne omogućuje razlikovanje vrsta. Kod svih istraživanih populacija zabilježen je haplotip HAP1, osim kod jedinki *S. sp.* iz Modrog oka, koje imaju privatne haplotipove. Dio istraživanih jedinki drlje iz rijeke Rude ima zajedničke haplotipove s dijelom istraživanih jedinki peškelja iz jezera Kut i Hutovog blata te se ove populacije i grupiraju bliže na filogramu, zajedno s istraživanim jedinkama iz Modrog oka. Iste rezultate pokazuju i filogrami dobiveni metodom najveće vjerodostojnosti i Bayesovom metodom, prikazani na slikama 4.15. i 4.16. Metodom najveće vjerodostojnosti dobiveno je filogenetičko stablo čija vjerojatnost, odnosno logaritmirana $-\ln$ vrijednost, iznosi 1123,071.



Slika 4.14. Filogram gena za BMP dobiven metodom najveće parsimonije. Podržanost pojedinih grananja prikazana je na granama stabla (broj replikanata=1000). Uz istraživane haplotipove navedene su vrste te lokalitete. (Popis skraćenica: BiH-Bosna i Hercegovina, RH-Hrvatska)

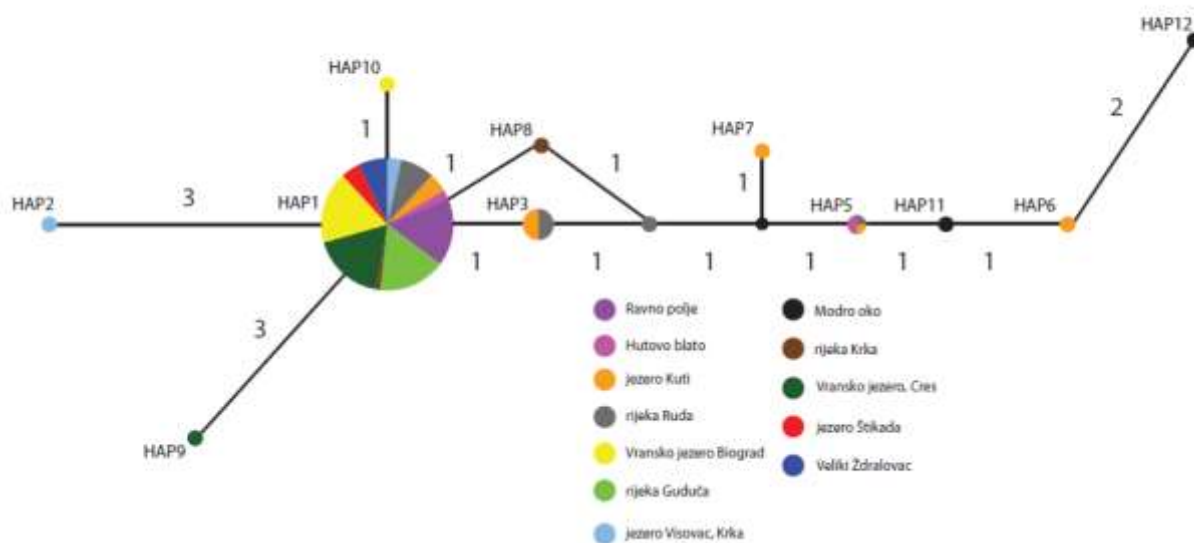


Slika 4.15. Filogram gena za BMP dobiven metodom najveće vjerodostojnosti. Podržanost pojedinih grananja prikazana je na granama stabla (broj replikanata=100). Uz istraživane haplotipove navedene su vrste te lokaliteti. (Popis skraćenica: BiH-Bosna i Hercegovina, RH-Hrvatska)



Za izradu filogenetičke mreže gena za BMP, prikazanoj na slici 4.17., korištene su sekvence istraživanih populacija roda *Scardinius*. U ovoj mreži veličina kružića koji predstavlja haplotipove odražava i broj sekvenci koji pripadaju pojedinom haplotipu, a boje predstavljaju lokacije pojedinih uzoraka. Najveći broj sekvenci zastupljen je u haplotipu HAP1 (85 sekvenci) te se ovdje radi o ancestralnom haplotipu, odnosno ovaj haplotip zabilježen je kod svih istraživanih populacija drlje, peškelja i crvenperke, osim kod uzoraka *S. sp.* iz Modrog oka. Haplotip HAP3 zabilježen je kod jedne sekvence drlje iz rijeke Rude i jedne sekvence peškelja iz jezera Kutu, a haplotip HAP5 također kod jedne sekvence drlje iz rijeke Rude i jedne sekvence peškelja iz jezera Kutu te kod

dvije sekvence peškelja iz Hutovog blata. Ostali haplotipovi predstavljaju privatne haplotipove te su svi zabilježeni samo kod jedne sekvence istraživanih populacija i to kod drlje iz jezera Visovac (HAP2), rijeke Rude (HAP4), Vranskog jezera na otoku Cresu (HAP9), Vranskog jezera kod Biograda (HAP10), peškelja iz jezera Kutu (HAP6 i 7) te kod *S. sp.* iz rijeke Krke (HAP8) i Modrog oka (HAP11 i 12). Popis istraživanih sekvenci po pojedinom haplotipu prikazan je u tablici 8.9. u poglavlju 8. Prilozi.



Slika 4.17. Filogenetička mreža gena za BMP istraživanih sekvenci. Brojevi iznad linija pokazuju broj mutacija između pojedinih haplotipova (HAP1-12). Medijanski vektori označeni su crnim točkicama.

4.6. Molekularna dijagnostika

Broj fiksnih razlika i dijeljenih polimorfizama gena za citokrom *b*, beta aktin i BMP istraživanih vrsta roda *Scardinius* prikazani su u tablici 4.25. Analizom sekvenci gena za beta aktin utvrđeno je da ne postoje fiksne razlike, odnosno dijagnostička mjesta i dijeljeni polimorfizmi za istraživane sekvence, odnosno ove vrijednosti iznosile su nula za sve istraživane populacije. Analiza sekvenci gena za BMP također je pokazala da ne postoje fiksne razlike, odnosno dijagnostička mjesta za istraživane sekvence, no utvrđeno je šest dijeljenih polimorfizama između vrsta *S. plotizza* i *S. dergle* (osim populacije s otoka Cresa) na nukleotidnim mjestima 2, 23, 114, 232, 271 i 356. Analizom gena za citokrom *b* utvrđen je jedan dijeljeni polimorfizam između *S. dergle* s otoka Cresa i *S. graecus* na nukleotidnom mjestu 873, tri dijeljena polimorfizma između *S. dergle* s otoka Cresa i *S. hesperidicus* na nukleotidnim mjestima 333, 552 i 678, tri dijeljena polimorfizma između *S. graecus* i *S. erythrophthalmus* na nukleotidnim mjestima 597, 660 i 1132, jedan dijeljeni polimorfizam između *S. dergle* i *S. acarnanicus* na nukleotidnom mjestu 165 te jedan dijeljeni polimorfizam između *S. erythrophthalmus* i *S. acarnanicus* na nukleotidnom mjestu 852.

Tablica 4.25. Broj fiksnih razlika (podebljani brojevi) i dijeljenih polimorfizama gena za citokrom *b*/beta aktin/BMP istraživanih vrsta roda *Scardinius*. Kod rezultata 0 znači da nisu zabilježene fiksne razlike, odnosno dijeljeni polimorfizmi, dok – znači da nisu niti istraživane sekvence pojedinih populacija. (Popis skraćenica: PLO-*S. plotizza*, DER-*S. dergle* osim populacije s otoka Cresa, DER_CR-*S. dergle* s otoka Cresa, ERI-*S. erythrophthalmus*, GRA-*S. graecus*, HESP-*S. hesperidicus*, ACAR-*S. acarnanicus*)

	PLO	DER	DER_CR	ERI	GRA	HESP	ACAR
PLO		0/0/6	0/0/0	0/0/0	0/-/-	0/-/-	0/-/-
DER	14/0/0		0/0/0	0/0/0	0/-/-	0/-/-	1/-/-
DER_CR	10/0/0	2/0/0		0/0/0	1/-/-	3/-/-	0/-/-
ERI	27/0/0	28/0/0	26/0/0		3/-/-	0/-/-	1/-/-
GRA	28/-/-	31/-/-	29/-/-	21/-/-		0/-/-	0/-/-
HESP	10/-/-	3/-/-	0/-/-	26/-/-	28/-/-		0/-/-
ACAR	48/-/-	53/-/-	48/-/-	46/-/-	34/-/-	49/-/-	

Nadalje, analizom sekvenci gena za citokrom *b* utvrđen je velik broj fiksnih razlika između istraživanih populacija, a utvrđena dijagnostička mjesta za pojedine vrste navedena su u tablici 4.26. Najviše dijagnostičkih mjesta zabilježeno je kod *S.*

acarnanicus, dok je kod ostalih vrsta zabilježen značajno manji broj, a kod *S. dergle* s otoka Cresa i *S. hesperidicus* nije zabilježeno niti jedno dijagnostičko mjesto.

Tablica 4.26. Dijagnostička mjesta gena za citokrom *b* za istraživane vrste roda *Scardinius*

Vrsta/populacija	Dijagnostička mjesta	Nukleotidna baza (nukleotidna baza kod ostalih vrsta)
<i>S. plotizza</i>	330	G(A)
	381, 462	T(C)
	762	A(G)
<i>S. dergle</i> (osim populacije s otoka Cresa)	729, 792	G(A)
<i>S. dergle</i> (populacija s otoka Cresa)	/	
<i>S. graecus</i>	444	T(C)
	717, 723, 1014	C(T)
<i>S. hesperidicus</i>	/	
<i>S. erythrophthalmus</i>	60, 121	C(T)
	102, 705	A(G)
	300, 675	G(A)
	471, 834	T(A/G/C)
<i>S. acarnanicus</i>	27, 159, 594, 681, 747, 1032	A(G/T)
	81, 150, 204, 234, 345, 963, 1017	C(T/G)
	123, 471, 495, 507, 510, 612	G(A/T)
	657, 1003, 1041, 1068, 1083	T(C)

4.7. Usporedna analiza rezultata morfoloških i filogenetičkih analiza

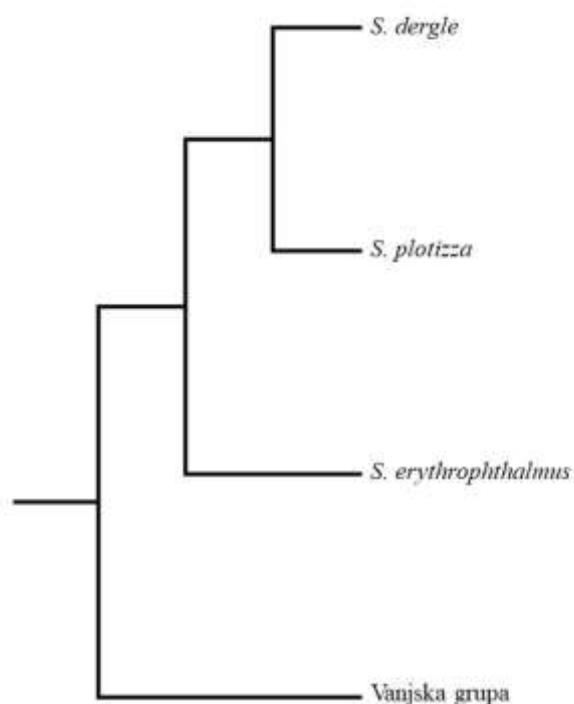
4.7.1. Evolucija morfoloških značajki

Analiza evolucije morfoloških značajki napravljena je za 25 prilagođenih mjera standardiziranih alometrijskom pretvorbom. Filogenetičko stablo SL pokazuje odvajanje svih istraživanih populacija drlje od populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu te također grupiranje svih istraživanih populacija peškelja. Prema duljini srednjeg dijela repne peraje sve istraživane populacije su ujednačene, s tim da se kod populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu izdvaja jedna jedinka. Prema TL također se zasebno izdvajaju drlja (osim populacije s Cresa) i populacija s Cresa te se istraživane populacije peškelja iz Hutovog blata, Ravnog i jezera Kuti također odvajaju. Ovakvi rezultati su dobiveni i za prilagođene mjere za *c*, *pan*, *aA*, *Van*, *aV*, *aP*, *ID*, *IA*, *IC*, *IP*, *IV*, *H*, *laco*, *lac*, *Oh*, *prO*, *poO*, *lpc*, *h* i *io*. Prema filogenetičkom stablu za *lpc* i *io* također se odvajaju istraživane populacije peškelja, dok su istraživane populacije drlje ujednačene, s tim da se od ostalih populacija drlje izdvajaju one iz Vranskog jezera na otoku Cresu i

Vranskog jezera kod Biograda. Prema h također se odvajaju sve istraživane populacije peškelja, dok se kod drlje odvaja populacija iz rijeke Guduče.

4.7.2. Filogenetičko stablo vrsta

Filogenetičko stablo vrsta dobiveno asocijacijama između svih istraživanih genskih biljega metodom heurističkog pretraživanja, dalo je odnose sukladne rezultatima filogenetičkih analiza gena za citokrom *b*, a prikazano je na slici 4.18.



Slika 4.18. Filogenetičko stablo istraživanih vrsta roda *Scardinius* dobiveno metodom heurističkog pretraživanja

Naime, stablo pokazuje odvajanje peškelja, drlje i crvenperke, s tim da također potvrđuje da su peškelj i drlja bliže srodnije vrste.

5. RASPRAVA

5.1. Morfološke značajke

Analizom morfometrijskih značajki utvrđeno je da većina istraživanih populacija drlje ima znatno veće vrijednosti ukupne i standardne duljine tijela u odnosu na istraživane populacije peškelja, s tim da je najveća SL (273 mm) zabilježena kod populacije drlje iz Vranskoj jezera na otoku Cresu, a najmanja kod populacije peškelja s lokaliteta Ravno (37,81 mm), gdje su sve uzorkovane jedinke bile nedorasle. Nadalje, kod populacija drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu, kanala Veliki Ždralovac i Guduče te kod populacija peškelja iz jezera Kut, zabilježen je znatno veći raspon TL i SL vrijednosti u odnosu na ostale istraživane populacije. Iako je ovim istraživanjem najveća SL zabilježena kod populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu (srednja vrijednost SL= 216,90 mm), drugi autori su za ovu populaciju zabilježili i veće vrijednosti; srednja vrijednost SL= 266 mm (Valić i sur. 2013), srednja vrijednost SL= 256 mm (Topić Popović i sur. 2001) i SL= 541 mm (Šprem i sur. 2010). Prisutnost ovako velikih jedinki je posljedica činjenice da se Vransko jezero na otoku Cresu koristi za vodoopskrbu te su sve aktivnosti, uključujući i ribolov, na njemu zabranjene, a važno je napomenuti i da veličina ulovljenih jedinki može biti posljedica korištene metode uzorkovanja. Naime, moguće je da su zbog izostanka ribolovnih aktivnosti prisutne jedinke većih SL, koje se uobičajeno love prilikom ribolova, dok uzorkovanje mrežama većeg oka uglavnom isključuje nedorasle jedinke. Nadalje, Valić i sur. (2013) su zabilježili veće raspone srednjih vrijednosti SL za populaciju drlje iz rijeke Krke (86-168 mm), nego što je zabilježeno ovim istraživanjem (146-181 mm). Kod uzoraka peškelja iz Hutovog blata zabilježen raspon vrijednosti TL je 141-173 mm, što je znatno manji raspon od onog koji su zabilježili Dulčić i sur. (2009) za uzorke peškelja iz Hutovog blata (99-390 mm) te vrijednosti koje su zabilježili Ivanković (2016) i Salaj (2017) za uzorke peškelja iz Deranskog jezera u Bosni i Hercegovini (142-404 mm).

Dobiveni morfometrijski omjeri istraživanih populacija, odnosno njihove srednje vrijednosti pokazuju preklapanja, ne samo između populacija pojedinih vrsta, već i između populacija svih istraživanih vrsta roda *Scardinius*, dok se populacije razlikuju u varijabilnosti pojedinih omjera. Ovakve rezultate za drlju, peškelja i

crvenperku je zabilježila i Martinović (1995). Srednje vrijednosti omjera SL/TL, c/SL i H/SL za populacije iz rijeke Krke ($\bar{x}(\text{SL/TL})= 79,69 \%$, $\bar{x}(\text{c/SL})= 25,97 \%$, $\bar{x}(\text{H/SL})= 33,80 \%$) te Vranskog jezera na otoku Cresu ($\bar{x}(\text{SL/TL})= 79,80 \%$, $\bar{x}(\text{c/SL})= 26,73 \%$, $\bar{x}(\text{H/SL})= 36,42 \%$) dobivene ovim istraživanjem su približne vrijednostima koje je dobila i Martinović (1995) za populacije iz Krke ($\bar{x}(\text{SL/TL})= 80,91 \%$, $\bar{x}(\text{c/SL})= 24,59 \%$, $\bar{x}(\text{H/SL})= 30,69 \%$) i Vranskog jezera na otoku Cresu ($\bar{x}(\text{SL/TL})= 83,21 \%$, $\bar{x}(\text{c/SL})= 23,08 \%$, $\bar{x}(\text{H/SL})= 33,84 \%$). Također, srednje vrijednosti ovih omjera dobivene za populaciju peškelja iz jezera Kutu ($\bar{x}(\text{SL/TL})= 80,44 \%$, $\bar{x}(\text{c/SL})= 30,34 \%$, $\bar{x}(\text{H/SL})= 27,72 \%$) su u skladu s vrijednostima koje je dobila Martinović (1995) za populacije peškelja iz Baćinskih jezera ($\bar{x}(\text{SL/TL})= 82,68 \%$, $\bar{x}(\text{c/SL})= 25,85 \%$, $\bar{x}(\text{H/SL})= 28,91 \%$) i Neretve ($\bar{x}(\text{SL/TL})= 83,03 \%$, $\bar{x}(\text{c/SL})= 25,05 \%$, $\bar{x}(\text{H/SL})= 28,79 \%$) te u skladu sa srednjom vrijednosti SL/TL ($\bar{x}(\text{SL/TL})= 83,40 \%$) koju je zabilježio Ivanković (2016) za populaciju peškelja iz Deranskog jezera.

Analiza varijance morfometrijskih omjera i prilagođenih mjera te *post hoc* Fisherov test ukazuju na to da se sve istraživane populacije statistički značajno razlikuju ($p<0,05$) u većini morfometrijskih omjera, odnosno prilagođenih mjera, s tim da je preklapanje populacija u pojedinim prilagođenim mjerama znatno manje u odnosu na preklapanje populacija kod morfometrijskih omjera, što je vjerojatno posljedica toga da alometrijska pretvorba bolje uklanja efekt veličine tijela, odnosno ovisnost morfometrijskih značajki o veličini tijela. Ujednačenost populacija iz Hutovog blata, rijeke Rude i Guduće te Plitvičkih jezera utvrđena analizom varijance prilagođenih mjera može biti rezultat morfološke prilagodbe ovih populacija na slične stanišne uvjete, s obzirom na to da su ovi lokaliteti okarakterizirani kompleksnim hidrološkim procesima specifičnim za krške rijeke. Također, geografski bliže populacije, kao što su populacije iz kanala Veliki Ždralovac i jezera Kutu, pokazuju više sličnosti od geografski udaljenijih populacija. Geografski najizoliranije populacije ne pokazuju sličnosti s ostalim istraživanim populacijama, kao što je slučaj s populacijom iz Ravnog polja, ili pokazuju mali broj sličnosti s ostalim istraživanim populacijama, kao što je slučaj s populacijama iz Vranskog jezera na otoku Cresu i Vranskog jezera kod Biograda. Iako su analiza varijance i *post hoc* Fisherov test morfometrijskih omjera i prilagođenih mjera ukazali na statistički značajne intra- i interspecijske razlike između istraživanih populacija ($p<0,05$), rezultati analize glavnih komponenata dali su još bolji

uvid u moguće odnose između ovih populacija. Analizom glavnih komponenata morfometrijskih omjera dobiveni su faktor 1 i 2 koji obuhvaćaju relativno mali dio varijabilnosti; faktor 1 obuhvaća 40,23 %, a faktor 2 12,41 % varijabilnosti. S druge strane, analiza glavnih komponenata prilagođenih mjera dala je mnogo bolje rezultate, odnosno faktor 1 obuhvaća najveći dio varijabilnosti (95,22 %), a najviše ga određuju prilagođene mjere M(Pan), M(aA), M(aV), M(hco) i M(H), dok faktor 2 obuhvaća svega 1,44 % varijabilnosti. Temeljem dobivenih rezultata, populacija drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu te populacija peškelja iz Ravnog polja su najudaljenije od ostalih istraživanih populacija, što može ukazivati na postupnu divergenciju ovih populacija ili drugačiji taksonomski status.

Nadalje, ovo istraživanje je potvrdilo da su zabilježene merističke značajke populacija crvenperke, peškelja te većine istraživanih populacija drlje u skladu s njihovim determinističkim vrijednostima, što se prvenstveno odnosi na broj ljustaka u bočnoj pruzi i broj razgranatih šipčica u podreпноj peraji. Odstupanja od determinističkih značajki su zabilježena za populacije drlje iz jezera Visovac te rijeke Rude, gdje je kod nekih jedinki u podreпноj peraji zabilježeno 9½ umjesto 10½ razgranatih šipčica (deterministička vrijednost za drlju prema Kottelat i Freyhof 2007) te kod nekih jedinki ove vrste iz Vranskog jezera na otoku Cresu i rijeke Guduče gdje je zabilježeno 39 ljustaka u bočnoj pruzi, umjesto 40-43 (deterministička vrijednost za drlju prema Kottelat i Freyhof 2007). Ivanković (2016) je također zabilježio odstupanja u broju ljustaka u bočnoj pruzi za jedinke peškelja iz Deranskog jezera u Bosni i Hercegovini, gdje je zabilježeno 37-43 ljustaka, umjesto 37-40, što potvrđuje prisutnost varijabilnosti merističkih značajki u prirodnim populacijama roda *Scardinius*.

Utvrđivanje mogućih odnosa istraživanih populacija roda *Scardinius* temeljem morfoloških analiza svakako je doprinijelo dobivanju komplementarnije slike raznolikosti ovih populacija i dalo moguće indikacije statusa pojedinih populacija, što se posebice odnosi na populaciju iz Vranskog jezera na otoku Cresu. No, važno je napomenuti da pojave kao što su homoplazija morfoloških značajki, odnosno njihova nejasna homologija (Bogutskaya 1990, Zardoya i Doadrio 1999), vjerojatnija povezanost morfoloških značajki s adaptivnom evolucijom u odnosu na molekularne podatke (Briolay i sur. 1998), nemogućnost otkrivanja kriptičnih svojti i opisivanje vrsta

koje ne predstavljaju evolucijski neovisne i/ili reproduktivno izolirane taksonne temeljem morfoloških značajki (Buj i sur. 2014) mogu dovesti do pogrešnih zaključaka te su upravo zbog navedenog u ovom radu provedene i filogenetičke analize istraživanih populacija kojima su provjerene indikacije utemeljene na morfološkim analizama.

5.2. Genska raznolikost roda *Scardinius* istraživanog područja

Analizama genskog polimorfizma svih istraživanih gena utvrđeno je da najveći broj i raznolikost haplotipova, odnosno najveći broj polimorfizama ima gen za citokrom *b*, a najmanji broj polimorfizama zabilježen je kod gena za beta aktin. Ovakvi rezultati posljedica su brže stope mutacije genskog biljega za citokrom *b* u odnosu na jezgrine gene, što dovodi i do bržeg nakupljanja većeg broja polimorfizama. Na razini istraživanih vrsta, kod peškelja veći broj polimorfizama ima gen za BMP, nego što je to zabilježeno za gen za citokrom *b*, a kod drlje je zabilježeno obrnuto. Općenito razmatrajući razinu vrste, drlja ima znatno veću gensku raznolikost od peškelja u odnosu na broj istraživanih sekvenci. Za sve istraživane genske biljege kod obje vrste zabilježeni su ancestralni haplotipovi koji su prisutni u većini populacija te su zastupljeni u najvećem broju uzoraka u odnosu na druge zabilježene haplotipove. Kod analize genskog polimorfizma gena za citokrom *b*, za vrstu *S. dergle* najveća raznolikost haplotipova utvrđena je za populaciju iz Vranskog jezera na otoku Cresu, a svi haplotipovi su privatni, odnosno zabilježeni su samo na ovom lokalitetu, što ukazuje na odvojenost ove populacije od ostalih istraživanih populacije drlje. Visoka raznolikost haplotipova zabilježena je i za populacije iz rijeke Rude i jezera Visovac, dok ostale populacije pokazuju nisku raznolikost haplotipova. Najveći broj polimorfizama i mutacija zabilježen je upravo kod populacije iz rijeke Rude, što je posljedica zabilježene hibridizacije s vrstom *Squalius tenellus*. Kod populacije iz jezera Visovac na rijeci Krki utvrđena su četiri haplotipa, odnosno utvrđena je veća genska raznolikost od rezultata istraživanja koje su proveli Valić i sur. (2013), gdje je kod populacije drlje iz rijeke Krke pronađen samo jedan haplotip gena za citokrom *b*. Zanimljivo je da je za peškelja od pet istraživanih sekvenci iz Deranskog jezera Ivanković (2016) utvrdio pet različitih haplotipova gena za citokrom *b*, dok je ovim istraživanjem utvrđena niska genska raznolikost, odnosno od ukupno 21 analizirane sekvence ove vrste utvrđena su samo tri haplotipa gena za citokrom *b*. Analiza gena za beta aktin pokazala je da sve

istraživane populacije drlje, peškelja i crvenperke dijele jedan zajednički ancestralni haplotip te su dodatno zabilježeni privatni haplotipovi kod populacija iz jezera Štikada, Ravnog polja i Vranskog jezera kod Biograda. Na razini vrsta crvenperka iz jezera Štikada ima najveće zabilježene vrijednosti svih mjera polimorfizma, dok unutar vrste *S. dergle* najveće zabilježene vrijednosti svih mjera polimorfizma ima populacija iz Vranskog jezera kod Biograda. Nadalje, analiza gena za BMP također je pokazala je da sve istraživane populacije drlje, peškelja i crvenperke dijele jedan zajednički ancestralni haplotip te su dodatno zabilježeni privatni haplotipovi kod populacija iz jezera Visovac i rijeke Krke, rijeke Rude, jezera Kut, Vranskog jezera kod Biograda i jezera Modro oko. Ancestralni haplotip nije zabilježen jedino kod populacije *S. sp.* iz jezera Modro oko, što ukazuje na odvojenost ove populacije od ostalih istraživanih populacija. Najveći broj i raznolikost haplotipova kod drlje utvrđeni su kod populacije iz rijeke Rude, a najmanji kod populacija iz rijeke Guduče i kanala Veliki Ždralovac. Kod peškelja, najveća raznolikost haplotipova zabilježena je kod populacije iz jezera Kut, a najmanja kod populacije iz Ravnog polja, odnosno od 14 istraživanih sekvenci, utvrđen je samo jedan haplotip gena za BMP. Zaključno, sve istraživane populacije peškelja te populacija drlje iz rijeke Guduče pokazuju nisku gensku raznolikost, što ukazuje na loše stanje ovih populacija te dovodi u pitanje njihovo očuvanje u budućnosti.

U ovom radu genska udaljenost izračunata je samo za gen za citokrom *b*, s obzirom na to da je jedino taj genski biljeg omogućio razlikovanje vrsta. Kako bi se dobio bolji uvid u međusobne odnose istraživanih populacija roda *Scardinius* s ostalim populacijama i vrstama ovog roda u jadranskom slijevu, u analizu su uključene i sekvence iz banke gena za vrste *S. acarnanicus*, *S. dergle*, *S. erythrophthalmus*, *S. graecus*, *S. hesperidicus*, *S. knezevici*, *S. plotizza* i *S. scardafa*. Dobivena genska udaljenost pojedinih filogenetičkih linija kreće se između 0,18 i 8,95, a najmanja genska udaljenost odnosi na udaljenost između filogenetičkih linija iste vrste, odnosno dviju linija drlje. Između vrsta zabilježena je najmanja genska udaljenost 1,15 i to između drlje (DER2) i peškelja (PLO). S druge strane, najveća genska udaljenost (8,95) zabilježena je između vrsta *S. scardafa* i *S. erythrophthalmus* (ERI2) što ukazuje na to da su ove vrste davno divergirale u odnosu na ostale istraživane vrste, a radi se o geografski znatno udaljenim populacijama s obzirom na to da linija ERI2 sadrži uzorke iz Rusije, Francuske, Grčke i dunavskog slijeva, dok je *S. scardafa* uskog područja

rasprostranjenosti ograničenog na jezero Scanno u Italiji. Genska udaljenost unutar pojedinih filogenetičkih linija kreće se između 0,04 i 2,31. Najmanja genska udaljenost je zabilježena kod crvenperke, odnosno linije ERI1 koja sadrži talijanske populacije ove vrste, a radi se o sekvencama preuzetima iz banke gena, dok je najveća genska udaljenost zabilježena unutar iste vrste, linije ERI2, koja uključuje znatno geografski udaljene populacije što je i razlog njihovoj većoj genskoj udaljenosti, iako se radi o istoj vrsti.

5.3. Filogenetički odnosi istraživanih populacija roda *Scardinius*

Filogenetičke analize različitih genskih biljega provedene u ovom radu dale su različite topologije i razlučivost odnosa istraživanih populacija roda *Scardinius*. Temeljem dobivenih rezultata može se zaključiti da je mitohondrijski gen za citokrom *b* najpogodniji za istraživanje filogenetičkih odnosa jer jedini omogućava razlikovanje vrsta, što je posljedica brže stope mutacije u odnosu na jezgrine biljege (Vawter i Brown, 1986). Ovaj fenomen, tzv. nepotpuno razvrstavanje linija (engl. Incomplete lineage sorting), je već zabilježen u jadranskom slijevu kod rodova *Cobitis* i *Squalius*, a prisutan je i kod mnogih drugih slatkovodnih vrsta riba (Buj i sur. 2019, Choleva i sur. 2014). Također, važna uloga analize mitohondrijskih gena u filogenetičkim istraživanjima je i u detekciji introgresivne hibridizacije između vrsta, čiji se dokaz nalazi u mitohondrijskoj DNA te se ne može zabilježiti analizom morfoloških značajki ili filogenetičkim analizama jezgrinih gena (Rognon i Guyomard 2003). No, prilikom filogenetičkih istraživanja, potrebno je uzeti u obzir osim brzine divergencije i brzinu saturacije DNA, zbog čega je svakako važno analizirati više genskih biljega, uključujući i mitohondrijske i jezgrine biljege (Arbogast i sur. 2002). Dakle, mitohondrijska DNA ima bržu stopu evolucije od jezgrine DNA što je čini prikladnijom za utvrđivanje odnosa linija koje su nedavno divergirale (Stearns i Hoekstra 2005). Ali, upravo iz ovog razloga ona pokriva relativno mali dio filogenije organizma za razliku od jezgrine DNA koja pokriva veći dio filogenije organizama, ali ima manju rezoluciju te može dati nepotpune slike filogenetičkih odnosa (Avice 1991).

U ovom istraživanju analize gena za citokrom *b* su dale bolju filogenetičku razlučivost na razini roda i vrsta zbog većeg broja parsimonijski informativnih, odnosno

značajnih mjesta u odnosu na jezgrine biljege (ovim istraživanjem utvrđeno je 211 parsimonijski značajnih mjesta kod gena za citokrom *b*, dok je za beta aktin utvrđeno 0 takvih mjesta, a za BMP samo 6). Ovakve rezultate su potvrdili i Helfman i sur. (2009), Perea i sur. (2010) i Buj i sur. (2019). Nadalje, sukladno dobivenim rezultatima, gen za citokrom *b* i beta aktin imaju visoki indeks konzistencije (CI) te nizak indeks homoplazije (HI), što ukazuje na dobru podržanost dobivenih filogenetičkih stabala. No, usprkos navedenom, s obzirom na to da je utvrđeni broj parsimonijski informativnih nukleotidnih mjesta za beta aktin 0, može se zaključiti da beta aktin nije dobar genski biljeg za filogenetička istraživanja na razini ispod roda. Također, temeljem dobivenih rezultata može se zaključiti da gen za BMP u odnosu na ostala dva genska biljega ima niži indeks konzistencije te viši indeks homoplazije što ukazuje na slabiju podržanost dobivenih filogenetičkih stabala. Nadalje, gen za citokrom *b* ima visoku količinu stečenih osobina od predaka sadržanih u retencijskom indeksu, dok je ona nešto niža kod gena za BMP, a za beta aktin iznosi 0, s obzirom na to da za ovaj genski biljeg nisu zabilježena parsimonijski značajna mjesta.

Filogenetička stabla gena za citokrom *b* dobivena metodama najveće parsimonije, najveće vjerodostojnosti te Bayesovom metodom pokazuju odvajanje istih filogenetičkih linija, s razlikama u njihovoj podržanosti. Najbolju podržanost svih linija pokazuje filogram dobiven Bayesovom metodom. Na dobivenom filogramu odvajaju se dvije glavne linije. Prva linija sadržava uzorke drlje iz rijeke Rude te kanala Veliki Ždralovac, kao i uzorke drlje iz banke gena s lokaliteta Buško blato, dok druga linija sadržava sve ostale analizirane uzorke. Naime, iako uzorci istraživanih jedinki sadržanih u prvoj liniji morfološki prema dijagnostičkim značajkama odgovaraju drlji, radi se o jedinkama kod kojih je zabilježena mtDNA vrste *Squalius tenellus* te se ovdje radi o hibridizaciji između ove dvije vrste. Vezano uz korištenu sekvencu iz banke gena, radi se o jedinci drlje iz Buškog blata koju su sakupili Freyhof i sur. (2005) u svrhu istraživanja filogenetičkih odnosa vrsta unutar rodova *Squalius* i *Scardinius* te autori također navode da je kod ove jedinke zabilježena mtDNA vrste *Squalius tenellus*, iako su sve dijagnostičke morfološke značajke upućivale na to da se radi o drlji. Rognon i Guyomard (2003) potvrdili su da su, ukoliko je došlo do hibridizacije između različitih vrsta unutar istog roda, analize jezgrine DNA u skladu s morfološkom identifikacijom vrsta, dok to nije slučaj s mitohondrijskom DNA, odnosno jezgrin genom introgresijske

vrste je izgubljen nakon nekoliko generacija, a mitohondrijski genom ostaje prisutan kao jedini znak introgresije.

U drugoj dobivenoj liniji na filogramu gena za citokrom *b* vrsta *S. acarnanicus* je zasebno izdvojena od svih ostalih vrsta unutar roda, dok se ostale vrste grupiraju skupa, s tim da se od njih još izdvaja *S. graecus*. Iako se jedan uzorak *S. acarnanicus* iz jezera Trichonis grupira s uzorcima *S. graecus* iz jezera Yliki, ovdje se vjerojatno radi o krivoj determinaciji vrste. Dobiveni rezultati u skladu su i s rezultatima koje su dobili Ketmaier i sur. (2003), Ketmaier i sur. (2004) i Perea i sur. (2010). Također, unutar ove linije jasno je vidljivo zasebno grupiranje linije *S. erythrophthalmus* koja sadrži uzorke iz Francuske, Rusije te dunavskog slijeva, kao i zasebno grupiranje vrste *S. plotizza*. Zanimljivo je da se uzorci *S. erythrophthalmus* iz Italije preuzeti iz banke gena ne grupiraju s ostalim uzorcima crvenperke, već su na filogramu bliže smješteni populacijama dirlje te se grupiraju s uzorkom *S. scardafa*. Iste rezultate za ove sekvence iz banke gena su dobili Valić i sur. (2013) koji navode da se vjerojatno radi o uzorcima *S. hesperidicus* i Ketmaier i sur. (2004), dok se temeljem ovog istraživanja može zaključiti da se vjerojatno radi o uzorcima *S. scardafa*, s obzirom na to da se talijanski uzorci crvenperke grupiraju s ovom vrstom. Nadalje, prema dobivenom filogramu može se zaključiti da su najbliže srodne *S. dergle*, *S. plotizza*, *S. hesperidicus* i *S. scardafa*, dok se ostale vrste odvajaju od ove grupe, a što je u skladu i s rezultatima koje su dobili Perea i sur. (2010) i Karataş i sur. (2016). Ovakvi rezultati imaju temelje i u geološkoj povijesti jadranskog slijeva, odnosno Mediterana te u samoj ekologiji vrsta roda *Scardinius*. Naime, sukladno rezultatima istraživanja koje su proveli Ketmaier i sur. (2004), divergencija unutar roda *Scardinius* dogodila se prije 0,5 - 3,6 milijuna godina, a širenje vrsta ovog roda na veće udaljenosti omogućeno je njihovom ekologijom; radi se o dugoživućim vrstama koje tvore guste populacije te proizvode veliki broj jajašaca što im je vjerojatno osiguralo uspješnost u širenju i uspostavljanju populacija. Ketmaier i sur. (2003) navode da se odvajanje vrsta *S. acarnanicus* i *S. graecus* dogodilo prije 4,3 milijuna godina, odvajanje grčkih i talijanskih linija prije 3,5 milijuna godina, a *S. scardafa* i *S. erythrophthalmus* tek prije 0,5 milijuna godina. Nakon širenja vrsta ovog roda na područje prvotne rasprostranjenosti te nakon odvajanja pojedinih vrsta unutar roda, došlo je do dodatne razmjene ihtiofaune između Italije i zapadnog Balkana tijekom zadnjeg ledenog doba u pleistocenu (Bianco 1995a), a današnja

rasprostranjenost i odnosi ovih vrsta upravo su posljedica te nedavne povezanosti ovih populacija.

Nadalje, najzanimljiviji dio dobivenog filograma gena za citokrom *b* odnosi se na odvajanje populacije drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu od ostalih istraživanih populacija drlje. Također, populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu grupira se s uzorcima *S. hesperidicus* iz Italije preuzetima iz banke gena, kao i uzorkom crvenperke iz Italije, no ovdje se vjerojatno radi o krivoj determinaciji. Za uzorke *S. sp.* iz Modrog oka i rijeke Krke čiji taksonomski status nije bio jasan, može se zaključiti da se, s obzirom na to da se ovi uzorci grupiraju s uzorcima drlje, radi upravo o toj vrsti.

Kako bi se dobio bolji uvid u filogenetičke odnose istraživanih populacija vrsta roda *Scardinius* temeljem analize gena za citokrom *b*, izrađene su dvije filogenetičke mreže, koje u odnosu na filogenetička stabla imaju mnogo bolju rezoluciju (Clement i sur. 2000, Huson i Bryant 2005). Prva mreža uključivala je istraživane populacije te uzorke iz banke gena. Rezultati dobiveni na ovoj filogenetičkoj mreži u skladu su s rezultatima dobivenim izradom filogenetičkih stabala gena za citokrom *b*, odnosno jasno se vidi odvajanje populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu od ostalih istraživanih populacija drlje, dok se sve ostale vrste grupiraju zasebno. Također, kao i kod filogenetičkih stabala, geografski bliže populacije se grupiraju bliže i na filogenetičkoj mreži, odnosno drlja, peškelj i *S. hesperidicus* se grupiraju bliže u usporedbi s drugim vrstama unutar ovog roda. Druga filogenetička mreža gena za citokrom *b* sadržavala je samo istraživane populacije. Dobiveni rezultati su u skladu i s rezultatima filogenetičkih stabala i analize genske raznolikosti, odnosno prisutno je jasno odvajanje drlje i peškelja te je kod obje istraživane vrste utvrđen po jedan ancestralni haplotip koji je ujedno i najzastupljeniji u istraživanim populacijama, odnosno pripada mu najveći broj uzoraka istraživanih populacija, dok se populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu u potpunosti odvoja od ostalih istraživanih populacija te u potpunosti ima privatne haplotipove. S obzirom na navedeno, možda će se u budućnosti utvrditi da se kod drlje gdje su prisutne ove dvije linije zapravo radi o dvije vrste. Također, izdvajanje privatnih haplotipova osim kod populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu, zabilježeno je i kod populacija drlje iz jezera Visovac i rijeke Rude te populacije peškelja iz jezera Kuti i Ravnog polja. Ovdje je bitno istaknuti važnost

definiranja populacija pojedinih vrsta koje sadržavaju najveću gensku raznolikost, kako bi se mogla napraviti primjerena prioritizacija prilikom definiranja konzervacijskih mjera i dugoročno očuvati intraspecijska raznolikost.

Kao što je ranije navedeno, analiza gena za beta aktin pokazala je da ovaj gen ne sadrži niti jedno parsimonijski informativno, odnosno značajno mjesto te se iz toga razloga ne može smatrati prikladnim za filogenetičke analize na razini ispod roda. Dobiveni filogrami ukazuju na postojanje jednog zajedničkog haplotipa za drlju i peškelja, dok je jedan haplotip specifičan za populaciju drlje iz Vranskog jezera kod Biograda, a drugi za populaciju peškelja iz Ravnog polja. U izradu filogenetičke mreže za beta aktin uključeni su i uzorci crvenperke iz akumulacije Štikada te je dodatno zabilježen i jedan privatni haplotip za ovu populaciju. Općenito je analizom ovog genskog biljega zabilježena mala raznolikost na razini roda. Jedan haplotip je zajednički svim istraživanim populacijama te se radi o ancestralnom haplotipu kojemu pripada najveći broj uzoraka istraživanih populacija.

Filogenetičke analize jezgrinog gena za BMP pokazale su da ovaj gen također ne omogućava prepoznavanje vrsta, odnosno dolazi do nepotpunog razvrstavanja linija, što nije neobično za jezgrine gene i potvrđeno je u istraživanjima slatkovodnih vrsta riba (Buj i sur. 2019). Kod svih istraživanih populacija zabilježen je jedan ancestralni haplotip kojem pripada najveći broj uzoraka, osim kod jedinki drlje iz Modrog oka, koje imaju privatne haplotipove. Također, dio istraživanih jedinki drlje iz rijeke Rude ima zajedničke haplotipove s dijelom istraživanih jedinki peškelja iz jezera Kut i Hutovog blata te se ove populacije i grupiraju bliže na filogramu, zajedno s istraživanim jedinkama iz Modrog oka. Iako je također utvrđena mala raznolikost na razini roda, ona je znatno veća u odnosu na rezultate dobivene analizom jezgrinog gena za beta aktin. Kod analize gena za BMP utvrđeni su privatni haplotipovi kod populacija drlje iz jezera Visovac, rijeke Rude, Vranskog jezera na otoku Cresu, Vranskog jezera kod Biograda, rijeke Krke i Modrog oka te kod populacija peškelja iz jezera Kut. Zaključno, kod filogenetičkih stabala dobivenih analizom sekvenci gena za beta aktin i BMP uočena je pojava privlačenja dugih grana (engl. Long branch attraction), odnosno fenomen kod kojeg dolazi do pogrešnog grupiranja dviju ili više dugih grana kao sestrinskih grupa zbog metodoloških artefakata (Bergsten 2005).

Kako bi se detaljnije razjasnili mogući odnosi pojedinih istraživanih populacija roda *Scardinius*, napravljena je molekularna dijagnostika, odnosno izračunat je broj fiksnih razlika i dijeljenih polimorfizama svih istraživanih gena, a korišteni su i uzorci iz banke gena. Rezultati pokazuju da je gen za beta aktin neinformativan za donošenje zaključaka o međusobnim odnosima istraživanih populacija jer ne postoje fiksne razlike, odnosno dijagnostička mjesta i dijeljeni polimorfizmi za istraživane sekvence, odnosno ove vrijednosti iznosile su nula za sve istraživane populacije. Kod analize sekvenci gena za BMP također nisu utvrđene fiksne razlike, odnosno dijagnostička mjesta za istraživane sekvence, no zabilježeno je šest dijeljenih polimorfizama između peškelja i svih populacija drlje, osim populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu. Ovakvi rezultati upućuju na zaključak da sve istraživane populacije drlje, izuzev one iz Vranskog jezera na otoku Cresu, i populacije peškelja imaju bliskog zajedničkog pretka te da su nedavno divergirale. Također, ovi rezultati upućuju na to da ove populacije nemaju bliskog zajedničkog pretka s populacijom iz Vranskog jezera na otoku Cresu. Ovome također idu u prilog i rezultati analize sekvenci gena za citokrom b, kojima su utvrđena tri dijeljena polimorfizma između *S. dergle* iz Vranskog jezera na otoku Cresu i *S. hesperidicus* iz čega se može zaključiti da je populacija s otoka Cresa srodnija upravo *S. hesperidicus*. Analizom gena za citokrom b utvrđen je i jedan dijeljeni polimorfizam između *S. dergle* s otoka Cresa i *S. graecus*, tri dijeljena polimorfizma između *S. graecus* i *S. erythrophthalmus*, jedan dijeljeni polimorfizam između *S. dergle* i *S. acarnanicus* te jedan dijeljeni polimorfizam između *S. erythrophthalmus* i *S. acarnanicus*, što ukazuje na divergenciju ovih vrsta od zajedničkog pretka. Također je analizom sekvenci gena za citokrom b utvrđen velik broj fiksnih razlika između istraživanih populacija te su utvrđena i dijagnostička mjesta za sve istraživane vrste. Najviše dijagnostičkih mjesta zabilježeno je kod *S. acarnanicus*, što je u skladu i s dobivenim filogramima u kojima se ona odvaja od svih drugih vrsta unutar roda *Scardinius*, dok je kod ostalih vrsta zabilježen značajno manji broj, a kod *S. dergle* s otoka Cresa i *S. hesperidicus* nije zabilježeno niti jedno dijagnostičko mjesto.

Također, sukladno rezultatima evolucije morfoloških značajki, prema većini prilagođenih mjera istraživane populacije drlje su ujednačene, dok se od njih izdvaja populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu te se također jedna od druge izdvajaju i

sve istraživane populacije peškelja što ukazuje na postupnu divergenciju ovih populacija.

5.4. Taksonomski status populacije *S. dergle* iz Vranskog jezera na otoku Cresu

Kao što je radnije navedeno, Valić i sur. (2013) temeljem filogenetičkih analiza gena za citokrom *b* navode da populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu pripada vrsti *S. hesperidicus*. Ovo je validna pretpostavka, koja ima temelje i u geološkoj povijesti jadranskog slijeva te povezanosti rijeka ovog područja (Colantoni i sur. 1984). U ovom istraživanju rezultati analize glavnih komponenata, u kojoj je populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu najudaljenija od ostalih istraživanih populacija, ukazuju na moguću postupnu divergenciju ove populacije ili drugačiji taksonomski status. S druge strane, analiza determinističkih značajki pokazala je da su sve istraživane populacije drlje, uključujući i populaciju iz Vranskog jezera na otoku Cresu, brojem razgranatih šipčica u analnoj (podrepnoj) peraji te brojem ljustica u bočnoj pruzi u skladu s determinističkim značajkama za *S. dergle* prema Kottelat i Freyhof (2007). U omjeru c/SL sve istraživane populacije odstupaju od raspona vrijednosti za ovu determinističku značajku prema Kottelat i Freyhof (2007), u omjeru H/SL odstupaju populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu, Vranskog jezera kod Biograda te rijeke Guduče, dok u omjeru h/SL odstupaju sve istraživane populacije osim one iz kanala Veliki Ždrlovac. Općenito, između istraživanih populacija prisutna je varijabilnost u svim omjerima te se populacija iz Vranskog jezera na Cresu ne razlikuje znatno od ostalih istraživanih populacija *S. dergle*. No, analizom genskog polimorfizma gena za citokrom *b*, najveća raznolikost haplotipova utvrđena je za populaciju iz Vranskog jezera na otoku Cresu, a svi haplotipovi su privatni, odnosno zabilježeni su samo na ovom lokalitetu, što ukazuje na odvojenost ove populacije od ostalih istraživanih populacija te njenu važnost u smislu očuvanja genske raznolikosti unutar roda *Scardinius*. Također, temeljem dobivenih rezultata provedenih filogenetičkih analiza gena za citokrom *b* ne mogu se donijeti jasni taksonomski zaključci vezani uz status populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu. Naime, iako su podaci prikupljeni ovim istraživanjem dobre kvalitete, uzorci s kojima su oni uspoređeni su upitni. Sekvence iz banke gena s kojima su ovi uzorci uspoređeni su dvije sekvence gena za citokrom *b* *S. hesperidicus* (pristupni kodovi u banci gena HM560173 i HM560174) koje su prikupili

Perea i sur. (2010) te navode da se radi o uzorcima iz rijeke Adige, slijev rijeke Po u Italiji. No, molekularnom dijagnostikom utvrđeno je da se radi o uzorcima koji se značajno razlikuju te se, iako se uzorci istraživane populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu grupiraju s ovim uzorcima, ne može donijeti zaključak da ova populacija pripada vrsti *S. hesperidicus*. Tome u prilog idu i rezultati analize genske udaljenosti istraživanih populacija, kojima je utvrđeno da je genska udaljenost između populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu i ostalih istraživanih populacija drlje mala ($p = 0,63$, s rasponom 0,18 - 0,96) te se nikako ne može govoriti o dvije različite vrste. Kod ove populacije očita je prisutnost utjecaja izolacije, koju potvrđuje i zabilježen mali broj sličnosti s ostalim istraživanim populacijama. Iako ovo može biti posljedica morfološke adaptacije, također vjerojatno postoji i genetska podloga koja je razlog tome. Provedenim analizama molekularne dijagnostike, temeljem analize gena za BMP, zabilježeno je šest dijeljenih polimorfizama između peškelja i svih populacija drlje, osim populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu te su analizom sekvenci gena za citokrom *b* utvrđena tri dijeljena polimorfizma između *S. dergle* iz Vranskog jezera na otoku Cresu i *S. hesperidicus*. Također je analizom sekvenci gena za citokrom *b* utvrđen velik broj fiksnih razlika između istraživanih populacija te su utvrđena i dijagnostička mjesta za sve istraživane vrste, no kod *S. dergle* s otoka Cresa i *S. hesperidicus* nije zabilježeno niti jedno dijagnostičko mjesto. Vjerojatno je da se kod populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu radi o mladoj vrsti u nastajanju, koja će se u budućnosti odvojiti od *S. dergle*. Svakako je za utvrđivanje filogenetičkih odnosa ove populacije sa *S. hesperidicus* potrebno prikupiti više sekvenci *S. hesperidicus* kako bi se mogao donijeti utemeljen zaključak o njihovom međusobnom odnosu. Sigurno je da je kroz geološku povijest područja jadranskog slijeva postojala poveznica između rijeke Po i porječja rijeke Krka tijekom pleistocenske regresije te da je vjerojatno došlo do širenja talijanskih vrsta na ovo područje te razmjene genetskog materijala između populacija, što se prvenstveno odnosi upravo na populaciju iz Vranskog jezera na otoku Cresu.

5.5. Mehanizmi zaštite slatkovodnih riba u jadranskom slijevu

Endemske vrste su najosjetljivija skupina slatkovodnih vrsta riba zbog uskog područja rasprostranjenosti te male sposobnosti prilagodbe na promjene u okolišnim

uvjetima. Zaštita ovih vrsta ne može biti učinkovita sve dok se ne utvrde točna područja njihove rasprostranjenosti, ne razjasne taksonomske nedoumice te ne utvrdi raznolikost i važnost pojedinih populacija, kao i konzervacijski prioriteti. No, s obzirom na postojeće pritiske na slatkovodne ekosustave kao što su degradacija staništa, melioracije i regulacije vodotoka, onečišćenje vodotoka, strane i invazivne strane vrste i klimatske promjene (Mrakovčić i sur. 2006, Čaleta i sur. 2015) te osjetljivost ovih vrsta, moguće je da će se pojedine populacije endemskih vrsta jadranskog slijeva izgubiti i prije nego se otkrije njihova važnost u očuvanju bioraznolikosti ovog područja.

Trenutno u Hrvatskoj ne postoje mehanizmi zaštite regionalnih endema jadranskog slijeva, drlje *Scardinius dergle* i peškelja *Scardinius plotizza*. Iako je ovim istraživanjem dobiven uvid u raznolikost i međusobne odnose pojedinih populacija, potrebno je provesti dodatna detaljna populacijska istraživanja kako bi se razjasnile sve taksonomske nedoumice, što se posebice odnosi na populaciju iz Vranskog jezera na otoku Cresu. Temeljem dobivenih rezultata ovog istraživanja, kao i njihove vrijednosti, s obzirom na to da su drlja i peškelj regionalni endemi koji nastanjuju slatkovodna staništa u samo dvije zemlje regije, preporuka je da se kao preventivna mjera obje vrste uvrste u Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama, kako bi se za njih mogli primijeniti mehanizmi zaštite koji proizlaze iz Zakona o zaštiti prirode („Narodne novine“, broj 80/13, 15/18, 14/19, 127/19) u Hrvatskoj te bi istu razinu zaštite ovih vrsta trebalo primijeniti i u Bosni i Hercegovini. Naime, s obzirom na već prepoznate razloge ugroženosti slatkovodne ihtiofaune, a koji se prvenstveno odnose na degradaciju i gubitak staništa te strane i invazivne strane vrste, očuvanje ovih vrsta bi se moglo osigurati kroz mehanizam propisivanja uvjeta zaštite prirode za planove koji se odnose na korištenje prirodnih dobara za koje se provodi postupak ocjene prihvatljivosti za ekološku mrežu, a kroz koji se propisuju i uvjeti zaštite prirode za strogo zaštićene vrste. Ovo se prvenstveno odnosi na ribolovno-gospodarske osnove te program radova održavanja u području zaštite od štetnog djelovanja voda, ali i druge planske dokumente, poput prostornih planova kojima se definira korištenje prostora. Kroz propisivanje uvjeta zaštite prirode za ove dokumente, osiguralo bi se očuvanje staništa ovih vrsta te njihov opstanak u već znatno narušenim slatkovodnim ekosustavima. Također, uvrštavanjem ovih vrsta u Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama, osigurali bi se stroži mehanizmi zaštite njihovih populacija, čime bi se moglo utjecati na

zadržavanje trenutno prepoznatog statusa ugroženosti ovih vrsta ili dugoročno na poboljšanje njihova statusa. Od vrsta iz roda *Scardinius*, na Prilogu II. Životinjske i biljne vrste od interesa zajednice čije očuvanje zahtijeva određivanje posebnih područja očuvanja, Direktive o očuvanju prirodnih staništa i divlje faune i flore (92/43/EEZ), nalazi se samo vrsta *Scardinius graecus*, tako da trenutno ne postoji opcija primjene postupka ocjene prihvatljivosti za ekološku mrežu specifično za ove vrste. No, s obzirom na to da navedene vrste dijele slatkovodna staništa sa strogo zaštićenim vrstama riba te vrstama koje se nalaze na Prilogu II. Direktive o očuvanju prirodnih staništa i divlje faune i flore, njihovo očuvanje se posredno osigurava preko navedenih mehanizama zaštite prirode za te vrste. Nadalje, vezano uz negativne utjecaje invazivnih stranih vrsta, jedan od važnih mehanizama zaštite u Hrvatskoj predstavljaju i postupci procjene ekološkog rizika strane vrste te procjene rizika invazivnosti strane vrste na bioraznolikost, koji se provode temeljem Zakona o sprječavanju unošenja i širenja stranih te invazivnih stranih vrsta i upravljanju njima („Narodne novine“, broj 15/18, 14/19), a imaju iznimno važnu ulogu u smanjenju pritiska stranih i invazivnih stranih vrsta na autohtonu ihtiofaunu. Izazov u očuvanju pogodnih staništa te posljedično populacija drlje i peškelja, kao i ostalih regionalnih endema slatkovodnih vrsta riba, predstavlja činjenica da se legislativa zaštite prirode značajno razlikuje u zemljama regije te bi svakako u budućnosti trebalo uspostaviti prekograničnu suradnju kako bi se uspostavili kompatibilni mehanizmi kojima će se osigurati jednaka zaštita vrsta na cijelom području njihove rasprostranjenosti.

Zaključno, u 2020. godini na europskoj i globalnoj razini prepoznata je važnost poduzimanja hitnih mjera kako bi se zaustavio negativan trend smanjenja bioraznolikosti te u tom smislu očuvanje i restauracija slatkovodnih ekosustava predstavlja jedan od glavnih ciljeva. U Preliminarnom nacrtu globalnog okvira za bioraznolikost nakon 2020 (CBD OEWG 2020) navode se ambiciozni ciljevi očuvanja slatkovodnih ekosustava koji, između ostalog, uključuju sprječavanje gubitka i integriteta slatkovodnih ekosustava te povećanje njihove otpornosti i povezanosti, kao i implementaciju održivog upravljanja i restauracijskih projekata. U Strategiji EU-a za bioraznolikost do 2030 (Europska komisija 2020), navode se također ambiciozni i konkretni ciljevi koji uključuju uspostavljanje riječnog kontinuiteta na 25.000 km europskih rijeka uklanjanjem pregrada, restauraciju poplavnih i močvarnih područja te

ustanovu ekološki prihvatljivih protoka na vodnim tijelima na kojima je prisutno zahvaćanje i akumuliranje vode. Stoga, u narednom desetljeću Republiku Hrvatsku, kao i ostale zemlje članice Europske unije te ostale zemlje potpisnice Konvencije o biološkoj raznolikosti, očekuje veoma ambiciozan pothvat zaustavljanja gubitka bioraznolikosti i očuvanja te restauracije slatkovodnih ekosustava.

5.6. Polazne hipoteze

Polazne hipoteze ovog istraživanja su bile:

1. Morfološke značajke uz filogenetičke analize daju potpuniju sliku intraspecijske raznolikosti slatkovodnih vrsta riba.
2. Filogenetički odnosi istraživanih vrsta roda *Scardinius* odgovaraju obrascu njihove geografske rasprostranjenosti.
3. Populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu nepotpuno razriješenog taksonomskog statusa pripada vrsti *S. dergle*.
4. Geografska izolacija pojedinih populacija slatkovodnih vrsta riba doprinosi njihovoj postupnoj divergenciji.

Vezano uz analizu morfoloških značajki, ovim istraživanjem potvrđena je polazna hipoteza da će ona dati potpuniju sliku intraspecijske raznolikosti, uz provedene filogenetičke analize. To se posebice odnosi na utvrđene ujednačenosti i razlike istraživanih populacija u pojedinim morfometrijskim omjerima i prilagođenim mjerama, kao i na raznolikost zabilježenu u merističkim i determinističkim značajkama pojedinih populacija. Nadalje, ovim istraživanjem je potvrđena i hipoteza da filogenetički odnosi istraživanih vrsta roda *Scardinius* odgovaraju obrascima njihove geografske rasprostranjenosti. Ovo se posebice jasno može vidjeti u rezultatima filogenetičkih analiza gena za citokrom *b* gdje je utvrđeno odvajanje geografski udaljenijih populacija (primjerice *S. acarnanicus* i *S. graecus*) te grupiranje geografski bližih populacija, kao što su primjerice populacije drlje, peškelja i *S. hesperidicus*.

Vezano uz hipotezu da populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu nepotpuno razriješenog taksonomskog statusa pripada vrsti *S. dergle*, temeljem provedenih

istraživanja i dalje se ne može donijeti zaključak o njenom taksonomskom statusu iz razloga što dobiveni rezultati ne daju jednoznačan odgovor te je potrebno provesti dodatna filogenetička istraživanja. No, na temelju dobivenih rezultata istraživanja, posebice vezano uz populaciju iz Vranskog jezera na otoku Cresu, svakako se može zaključiti da je ovo istraživanje potvrdilo polaznu hipotezu da geografska izolacija pojedinih populacija slatkovodnih vrsta riba doprinosi njihovoj postupnoj divergenciji.

6. ZAKLJUČAK

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata, mogu se donijeti zaključci navedeni u nastavku.

- Dobiveni morfometrijski omjeri istraživanih populacija roda *Scardinius*, odnosno njihove srednje vrijednosti su uglavnom ujednačene, ne samo između populacija istih vrsta, već i između populacija svih istraživanih vrsta roda *Scardinius*, dok se populacije razlikuju u varijabilnosti pojedinih omjera. Ovi rezultati u skladu su s rezultatima sličnih istraživanja vrsta roda *Scardinius* navedenima u literaturnom pregledu i raspravi.

- Analiza varijance morfometrijskih omjera i prilagođenih mjera te *post hoc* Fisherov test ukazuju na to da se sve istraživane populacije statistički značajno razlikuju ($p < 0,05$) u većini morfometrijskih omjera, odnosno prilagođenih mjera, s tim da je ujednačenost populacija u pojedinim prilagođenim mjerama znatno manja u odnosu na ujednačenost zabilježenu kod morfometrijskih omjera. Pri tome geografski bliže populacije, kao što su populacije iz kanala Veliki Ždralovac i jezera Kuti, pokazuju više sličnosti od geografski udaljenijih populacija. Geografski najizoliranije populacije ne pokazuju sličnosti s ostalim istraživanim populacijama, kao što je slučaj s populacijom iz Ravnog polja, ili pokazuju mali broj sličnosti s ostalim istraživanim populacijama, kao što je slučaj s populacijama iz Vranskog jezera na otoku Cresu i Vranskog jezera kod Biograda. Također, ujednačenosti pojedinih populacija u pojedinim omjerima i prilagođenim mjerama vjerojatno je posljedica prilagodbe na slične stanišne uvjete.

- Analizom glavnih komponenata prilagođenih mjera utvrđeno je da su populacija drlje iz Vranskog jezera na otoku Cresu te populacija peškelja iz Ravnog polja najudaljenije od ostalih istraživanih populacija, što može ukazivati na postupnu divergenciju ovih populacija ili drugačiji taksonomski status.

- Zabilježene merističke značajke istraživanih populacija crvenperke, peškelja te većine istraživanih populacija drlje u skladu su s njihovim determinističkim vrijednostima (broj ljustaka u bočnoj pruzi i broj razgranatih šipčica u podreпноj peraji). Odstupanja su zabilježena za populacije drlje iz jezera Visovac te rijeke Rude gdje je kod nekih jedinki u podreпноj peraji zabilježeno $9\frac{1}{2}$ umjesto $10\frac{1}{2}$ razgranatih šipčica te kod nekih jedinki

ove vrste iz Vranskog jezera na otoku Cresu i rijeke Guduče gdje je zabilježeno 39 ljušaka u bočnoj pruzi, umjesto 40-43.

- Kod svih istraživanih populacija za sve genske biljege utvrđeni su ancestralni haplotipovi kojima pripada najveći broj uzoraka istraživanih populacija, dok je većina ostalih haplotipova privatna, odnosno dolaze na samo jednom lokalitetu i zastupljeni su malim brojem uzoraka. Najveći broj i raznolikost haplotipova, odnosno najveći broj polimorfizama ima gen za citokrom *b*, a najmanji broj polimorfizama zabilježen je kod gena za beta aktin. Općenito razmatrajući razinu vrste, drlja ima znatno veću gensku raznolikost od peškelja u odnosu na broj istraživanih sekvenci. Sve istraživane populacije peškelja te populacija drlje iz rijeke Guduče pokazuju nisku gensku raznolikost, što ukazuje na loše stanje ovih populacija te dovodi u pitanje njihovo očuvanje u budućnosti.

- Najmanja genska udaljenost (0,18) zabilježena je između dviju linija drlje, dok je najmanja genska udaljenost između vrsta (1,15) zabilježena između drlje i peškelja. Najveća genska udaljenost (8,95) zabilježena je između vrsta *S. scardafa* i *S. erythrophthalmus* (ERI2) što ukazuje na to da su ove vrste davno divergirale u odnosu na ostale istraživane vrste, a radi se o geografski znatno udaljenim populacijama s obzirom na to da linija ERI2 sadrži uzorke iz Rusije, Francuske, Grčke i dunavskog slijeva, dok je *S. scardafa* uskog područja rasprostranjenosti ograničenog na jezero Scanno u Italiji. Genska udaljenost unutar pojedinih filogenetičkih linija kreće se između 0,04 i 2,31. Najmanja genska udaljenost je zabilježena kod crvenperke, odnosno linije ERI1 koja sadrži talijanske populacije ove vrste, dok je najveća genska udaljenost zabilježena unutar iste vrste, linije ERI2, koja uključuje znatno geografski udaljene populacije što je i razlog njihovoj većoj genskoj udaljenosti, iako se radi o istoj vrsti. S obzirom na to da se uzorci crvenperke iz jezera Štikada grupiraju unutar linije ERI2, može se zaključiti da se radi o jedinkama unesenim iz dunavskog slijeva.

- Mitohondrijski gen za citokrom *b* najpogodniji je za istraživanje filogenetičkih odnosa jer jedini omogućava razlikovanje vrsta. Temeljem ovog gena na dobivenim filogramima *S. acarnanicus* je zasebno izdvojena od svih ostalih vrsta unutar roda, dok se ostale vrste grupiraju skupa, s tim da se od njih još izdvaja *S. graecus*. Također se potpuno izdvajaju pojedini uzorci drlje iz rijeke Rude te kanala Veliki Ždralovac, kao i

uzorci drlje iz banke gena s lokaliteta Buško blato za koje je utvrđeno da se radi o jedinkama kod kojih je zabilježena mtDNA vrste *Squalius tenellus*. Nadalje, jasno je vidljivo zasebno grupiranje linije *S. erythrophthalmus* koja sadrži uzorke iz Francuske, Rusije te dunavskog slijeva, kao i zasebno grupiranje vrste *S. plotizza*. Uzorci *S. erythrophthalmus* iz Italije preuzeti iz banke gena ne grupiraju se s ostalim uzrocima crvenperke, već su na filogramu bliže smješteni populacijama drlje te se grupiraju s uzorkom *S. scardafa*. Nadalje, prema dobivenom filogramu i filogenetičkoj mreži gena za citokrom *b* može se zaključiti da su najbliže srodne *S. dergle*, *S. plotizza* i *S. hesperidicus*, dok se ostale vrste odvajaju od ove grupe. Također se jasno odvajaju dvije linije istraživanih populacija drlje. Prvu liniju čine uzorci iz Vranskog jezera na otoku Cresu koji se grupiraju sa *S. hesperidicus*, a drugu sve ostale populacije drlje. Također, sukladno rezultatima evolucije morfoloških značajki prema većini istraživanih značajki populacija iz Vranskog jezera na otoku Cresu odvajaju se od ostalih populacija drlje, dok se istraživane populacije peškelja također odvajaju, što ukazuje na njihovu postupnu divergenciju.

- Rezultati molekularne dijagnostike u skladu su s dobivenim filogramima jer ukazuju na prisutnost dijeljenih polimorfizama između populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu i *S. hesperidicus*. Također, najviše dijagnostičkih mjesta zabilježeno je kod *S. acarnanicus*, što je u skladu i s dobivenim filogramima u kojima se ona odvajaju od svih drugih vrsta unutar roda *Scardinius*, dok je kod ostalih vrsta zabilježen značajno manji broj, a kod *S. dergle* s otoka Cresa i *S. hesperidicus* nije zabilježeno niti jedno dijagnostičko mjesto.

- Temeljem provedenih istraživanja i rezultata i dalje se ne može donijeti zaključak o taksonomskom statusu populacije iz Vranskog jezera na otoku Cresu iz razloga što dobiveni rezultati ne daju jednoznačan odgovor te je potrebno provesti dodatna filogenetička istraživanja.

- Temeljem dobivenih rezultata istraživanja predlaže se razmatranje preventivnog uvrštavanja vrsta drlja i peškelj u Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama, kako bi se osigurali stroži mehanizmi zaštite njihovih populacija, čime bi se moglo utjecati na zadržavanje trenutno prepoznatog statusa ugroženosti ovih vrsta ili dugoročno na poboljšanje njihova statusa. Također, potrebno je uspostaviti prekograničnu suradnju s

Bosnom i Hercegovinom kako bi se uspostavili kompatibilni mehanizmi kojima će se osigurati jednaka zaštita vrsta na cijelom području njihove rasprostranjenosti.

7. LITERATURA

Abrantes F, Voelker A(HL), Sierro FJ, Naughton F, Rodrigues T, Cacho I, Ariztegui D, Brayshaw D, Sicre M-A, Batista L (2012) Paleoclimate Variability in the Mediterranean Region. U: Lionello P (ed.) The Climate of the Mediterranean Region. London, Elsevier, 1-86.

Agassiz L (1835) Description de quelques espèces de cyprins du Lac de Neuchâtel, qui sont encore inconnues aux naturalistes. Mémoires de la Société des sciences naturelles de Neuchâtel 1: 33-48.

Arbogast BS, Edwards SV, Wakeley J (2002) Estimating divergence times from molecular data on population genetic and phylogenetic time scales. Annual Review of Ecology and Systematics [Internet] 33: 707-740.

Artedi P (1738) Ichthyologia sive opera omnia de piscibus, scilicet: Bibliotheca ichthyologica. Philosophia ichthyologica. Genera piscium. Synonymia specierum. Descriptiones specierum. Omnia in hoc genere perfectiora, quam antea ulla posthuma vindicavit, recognovit, coaptavit et edidit Carolus Linnaeus. Wishoff, Lugduni Batavorum.

Atawodi SE, Atawodi JC, Dzikwi AA (2010) Polymerase chain reaction: theory, practice and application: A review. Sahel Medical Journal 13(2): 54-63.

Awise JC (1991) Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. Annual Review of Genetics 25: 45-69.

Bănărescu P (1964) Fauna Republicii Populare Romine. Pisces – Osteichthyes. Academia Republicii Populare Romine, București.

Bandelt HJ, Forster P, Sykes BC, Richards MB (1995) Mitochondrial portraits of human populations using median networks. Genetics 141: 743-753.

Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution 16: 37-48.

Banović M (2014) Određivanje glavne krivulje recesije izvora Rude. Diplomski rad. Sveučilište u Splitu, Fakultet građevinarstva arhitekture i geodezije.

Barlow GW (1961) Causes and significance of morphological variation in fishes. *Systematic Zoology* 10: 105-117.

Baur H, Leuenberger C (2011) Analysis of Ratios in Multivariate Morphometry. *Systematic Biology* 60(6): 813-825.

Berg LS (1933) Les poissons des eaux douces de l'URSS et des pays limitrophes. 3 édition. Revue et augmenté. Institut de Pêches et de Pisciculture, Leningrad.

Bergsten J (2005) A review of long-branch attraction. *Cladistics* 21: 163-193.

Bertin L, Estève R (1948) Catalogue des types de poissons du Muséum national d'Histoire naturelle. 4e partie. Ostariophysaires (Cypriniformes). Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.

Bianco PG (1990) Potential role of the palaeohistory of the Mediterranean and Paratethys basins on the early dispersal of Euro-Mediterranean freshwater fishes. *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 1(2): 167-184.

Bianco PG (1994) L'ittiofauna continentale dell'Appennino umbro-marchigiano, barriera semipermeabile allo scambio di componenti primarie tra gli opposti versanti dell'Italia centrale. *Biogeographia* 17: 427-485.

Bianco PG (1995a) Factors affecting the distribution of freshwater fishes especially in Italy. *Cybium* 19: 241-259.

Bianco PG (1995b) Mediterranean endemic freshwater fishes of Italy. *Biological Conservation* 72: 159-170.

Bianco PG (2004) Threatened fishes of the world: *Scardinius scardafa* (Bonaparte, 1837) (Cyprinidae). *Environmental Biology of Fishes* 71: 246.

Bianco PG, Aprea G, Balletto E, Capriglione T, Fulgione D, Odierna G (2004) The karyology of the cyprinid genera *Scardinius* and *Rutilus* in southern Europe. *Ichthyological Research* 51: 274-278.

Bianco PG, Kottelat M (2005) *Scardinius knezevici*, a new species of rudd from Lake Skadar, Montenegro (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 16(3): 231-238.

Bianco PG (2013) An update on the status of native and exotic freshwater fishes of Italy. *Journal of Applied Ichthyology* 30(1): 62-77.

Bianco PG, Ketmaier V (2015) Nature and status of freshwater and estuarine fisheries in Italy and Western Balkans. U: Craig JF (ed.) *Freshwater Fisheries Ecology*. New Jersey, John Wiley & Sons, Ltd., 283-291.

Beerli P (2009) How to use Migrate or why are markov chain monte carlo programs difficult to use? U: Bertorelle G, Bruford MW, Hauffe HC, Rizolli A, Vernese C (eds.) *Population Genetics for Animal Conservation, Volume 17 of Conservation Biology*. Cambridge, Cambridge University Press, 42-47.

Bognar A, Pavić R, Ridanović J, Rogić V, Šegota T (1975) *Geografija SR Hrvatske*. Knjiga 4, Gorska Hrvatska. Školska knjiga, Zagreb.

Bogutskaya NG (1990) The morphological basis for the classification of cyprinid fishes (Leuciscinae, Cyprinidae). *Communication 2. Voprosy Ikhtiologii* 30(6): 920-933.

Bogutskaya NG (1997) Contribution to the knowledge of leuciscinae fishes of Asia Minor. Part 2. An annotated check-list of leuciscinae fishes (Leuciscinae, Cyprinidae) of Turkey with description of a new species and two new subspecies. *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institut* 94: 161-186.

Bonaparte CL (1832-1841) *Iconografia della fauna italica per le quattro classi degli animali vertebrati. Pesci*. Roma.

Bonaparte CL (1844) Rilievi sul volume XVII dell' „Istoria naturale dei pesci“ di Valenciennes che contiene i Leuciscini. *Atti della Sesta Riunione degli Scienziati Italiani* 1844: 431-438.

Bonaparte CL (1845) *Catalogo metodico dei ciprinidi d'Europa, e rilievi sul volume XVII dell'istoria naturale dei pesci del sig. Valenciennes*. Pirola, Milano.

Bonaparte CL (1846) Catalogo metodico dei pesci Europei. Parte Seconda. Atti della Settima Adunanza degli Scienziati Italiani tenuta in Napoli, Napoli.

Božičević S (1992) Fenomen krš. Školska knjiga, Zagreb.

Böhme M, Ilg A (2003) Fossil Fishes, Amphibians, Reptiles - fosFARbase. <http://www.wahre-staerke.com>. Pristupljeno 5. listopada 2020.

Briolay J, Galtier N, Brito RM, Bouvet Y (1998) Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from *cytochrome b* DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9(1): 100-108.

Brown JH, Gibson AC (1983) Biogeography. Mosby, St Louis, Toronto & London.

Brown WM, George M Jr, Wilson AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76: 1967-1971.

Brown WM, Prager EM, Wang A, Wilson AC (1982) Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution* 18: 225-239.

Bufalino AP, Mayden RL (2010) Phylogenetic relationships of North American phoxinins (Actinopterygii: Cypriniformes: Leuciscidae) as inferred from S7 nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55(1): 143-52.

Buj I, Šanda R, Marčić Z, Čaleta M, Mrakovčić M (2014) Combining morphology and genetics in resolving taxonomy – A systematic revision of spined loaches (Genus *Cobitis*; Cypriniformes, Actinopterygii) in the Adriatic watershed. *PLOS ONE* 9(6): e99833.

Buj I, Marčić Z, Čaleta M, Radek Š, Geiger MF, Freyhof J, Machordom A, Vukić J (2017) Ancient connections among the European rivers and watersheds revealed from the evolutionary history of the genus *Telestes* (Actinopterygii; Cypriniformes). *PLOS ONE* 12(12): e0187366.

Buj I, Marčić Z, Čavlović K, Čaleta M, Tutman P, Zanella D, Duplić A, Raguž L, Ivić L, Horvatić S, Mustafić P (2019) Multilocus phylogenetic analysis helps to

untangle the taxonomic puzzle of chubs (genus *Squalius*: Cypriniformes: Actinopteri) in the Adriatic basin of Croatia and Bosnia and Herzegovina. Zoological Journal of the Linnean Society XX: 1-22.

Bukvić-Ternjej I, Kerovec M, Mihaljević Z, Tavčar V, Mrakovčić M, Mustafić P (2001) Copepod communities in karstic Mediterranean lakes along the eastern Adriatic coast. Hydrobiologia 453/454: 325-333.

Cavender TM, Coburn MM (1992) Phylogenetic relationship of North American Cyprinidae. U: Mayden RL (ed.) Systematics, historical ecology and North American freshwater fishes. California, Stanford University Press, 293-327.

CBD OEWG (2020) Open-ended working group on the post-2020 Global biodiversity framework. Preparation of the post-2020 Global biodiversity framework. CBD/WG2020/REC/2/1.

Chen WJ, Mayden RL (2009) Molecular systematics of the Cyprinoidea (Teleostei: Cypriniformes), the world's largest clade of freshwater fishes: Further evidence from six nuclear genes. Molecular Phylogenetics and Evolution 52: 544-549.

Chen X-L, Yue P-Q, Lin R-D (1984) Major groups within the family Cyprinidae and their phylogenetic relationship. Acta Zoologica Sinica 9: 424-440.

Choleva L, Musilova Z, Kohoutova-Sediva A, Paces J, Rab P, Janko K (2014) Distinguishing between incomplete lineage sorting and genomic introgressions: Complete fixation of allospecific mitochondrial DNA in a sexually reproducing fish (*Cobitis*; Teleostei), despite clonal reproduction of hybrids. PLOS ONE 9(6): e80641.

Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Molecular Ecology 9: 1657-1659.

CLIMAP (1976) The surface of the ice-age earth. Science 191: 1131-1137.

Colantoni P, Fabbri A, Rossi E, Sartori R (1984) Panoramica sulla geologia dei mari italiani. Acqua-Aria 8: 803-820.

Costa OG (1830-1857) Fauna del regno di Napoli, ossia enumerazione di tutti gli animali che abitano le diverse regioni di questo regno e le acque che le bagnano contenente la descrizione de nuovi o poco esattamente conosciuti. Pesci. Parte Prima. Azzolino, Napoli.

Costa A (1845) Adunanza del giorno 20 Settembre. U: Atti della Sesta Riunione degli Scienziati Italiani tenuta in Milano nel Settembre del MDCCCXLIV. Pirola, Milano, 379-385.

Cracraft J (1989) Speciation and its ontology: the empirical consequences of alternative species concepts for understanding patterns and processes of differentiation. U: Otte D, Endler JA (eds.) Speciation and its consequences. Sunderland, Sinauer Associates, 28-59.

Crivelli AJ, Maitland PS (1995a) Introduction. Biological Conservation special issue: Endemic freshwater fishes of the Northern Mediterranean region. Biological Conservation 72: 121-122.

Crivelli AJ, Maitland PS (1995b) Future prospects for the freshwater fish fauna of the north Mediterranean region. Biological Conservation 72: 335-337.

Crivelli AJ (2006a) *Scardinius acarnanicus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2006:e.T61214A12449678.

<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T61214A12449678.en>. Pristupljeno 17. listopada 2020.

Crivelli AJ (2006b) *Scardinius graecus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2006: e.T19947A9113453.

<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T19947A9113453.en>. Pristupljeno 17. listopada 2020.

Crivelli AJ (2006c) *Scardinius scardafa*. The IUCN Red List of Threatened Species 2006: e.T61217A12450171.

<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T61217A12450171.en>. Pristupljeno 17. listopada 2020.

Crkvenčić I, Derado K, Friganović M, Kalodera A, Mirković D, Radica T, Ridanović J, Rogić V, Roglić J, Stražičić N, Šegota T (1974) Geografija SR Hrvatske. Knjiga 6, Južno Hrvatsko Primorje. Školska knjiga, Zagreb.

Crvena lista divljih vrsta i podvrsta biljaka, životinja i gljiva („Službene novine Federacije BiH“, broj 7/14).

Crvena lista zaštićenih vrsta flore i faune Republike Srpske („Službeni glasnik RS“, broj 124/12).

Cuvier G, Valenciennes A (1844) Histoire naturelle des poissons. Tome disseptième. Bertrand, Paris.

Cvijić J (1900) Karsna polja Bosne i Hercegovine. Glas srpske kraljevske akademije, LIX, Beograd.

Čičić S (2002) Geološka građa terena šire okoline Popova polja i pećine Vjetrenica. Naš krš 35: 3-16.

Ćaleta M (2017a) Procjena odabranih vrsta za Crveni popis slatkovodnih riba Hrvatske. *Scardinius dergle*. Izvješće za Hrvatsku agenciju za okoliš i prirodu, Zagreb.

Ćaleta M (2017b) Procjena odabranih vrsta za Crveni popis slatkovodnih riba Hrvatske. *Scardinius plotizza*. Izvješće za Hrvatsku agenciju za okoliš i prirodu, Zagreb.

Ćaleta M, Buj I, Mrakovčić M, Mustafić P, Zanella D, Marčić Z, Duplić A, Mihinjač T, Katavić I (2015) Hrvatske endemske ribe. Zagreb, Agencija za zaštitu okoliša.

Direktiva o očuvanju prirodnih staništa i divlje faune i flore (Council Directive 92/43/EEZ).

Dulčić J, Tutman P, Prusina I, Tomšić S, Dragičević B, Hasković E, Glamuzina B (2009) Length-weight relationships for six endemic freshwater fishes from Hutovo blato wetland (Bosnia and Herzegovina). Journal of Applied Ichthyology 25(4): 499-500.

Dytham C (2010) Choosing and using statistics: A biologist's guide. 3rd edn. Wiley-Blackwell, Oxford.

Economidis PS (1991) Check list of freshwater fishes of Greece (recent status of threats and protection). Hellenic Society for the Protection of Nature, Special publication, Athens.

Economidis PS, Baranescu P (1991) The distribution and origins of freshwater fishes in the Balkan Peninsula, especially in Greece. *International Review of Hydrobiology* 76: 257-283.

Efron B (1982) The jackknife, the bootstrap and other resampling plans. CBMS-NSF Regional Conference Series in Applied Mathematics. Stanford University, Stanford, California.

Elektroprojekt d.d. (2013) Prostorni plan i plan upravljanja za Park prirode Hutovo Blato.

Ellegren H (2000) Microsatellite mutations in the germ line: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics* 16: 551-558.

Elliot NG, Haskard K, Koslow JA (1995) Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of southern Australia. *Journal of Fish Biology* 46: 202-220.

Europska komisija (2020) Komunikacija komisije Europskom parlamentu, Vijeću, Europskom gospodarskom i socijalnom odboru i Odboru regija. COM(2020) 380. Strategija EU-a za bioraznolikost do 2030. Vraćanje prirode u naše živote.

Farris JS (1989) The retention index and the rescaled consistency index. *Cladistics* 5: 417-419.

Feeley HB, Bruen M, Bullock C, Christie M, Kelly F, Remoundou K, Siwicka E, Kelly-Quinn M (2017) ESManage Project: Freshwater ecosystem services - An introduction for stakeholders. Technical report no. 28. Environmental Protection Agency.

Felsenstein J (1973) Maximum likelihood and minimum-steps methods for estimating evolutionary trees from data on discrete characters. *Systematic Biology* 22(3): 240-249.

Felsenstein J (1981) Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution* 17(6): 368-376.

Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39(4): 783-791.

Fluxus Technology Ltd. (2004-2020) NETWORK 10.0. <https://www.fluxus-engineering.com/>. Preuzeto 10. veljače 2020. godine.

Fricke R, Eschmeyer WN, Fong JD (eds) (2020) Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references.
<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>. Preuzeto 18. studenog 2020. godine.

Fowler J, Cohen L, Jarvis P (1998) *Practical Statistics for Field Biology*. 2nd edn. John Wiley & Sons, Chichester.

Freyhof J, Lieckfeldt D, Pitra C, Ludwig A (2005) Molecules and morphology: evidence for introgression of mitochondrial DNA in Dalmatian cyprinids. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37(2): 347-354.

Freyhof J, Kottelat M (2008a) *Scardinius dergle*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T135544A4141766.
<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T135544A4141766.en>. Pristupljeno 17. listopada 2020.

Freyhof J, Kottelat M (2008b) *Scardinius erythrophthalmus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T19946A9112799.
<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T19946A9112799.en>. Pristupljeno 17. listopada 2020.

Freyhof J, Kottelat M (2008c) *Scardinius hesperidicus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T135521A4137013.
<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T135521A4137013.en>. Pristupljeno 17. listopada 2020.

Freyhof J, Kottelat M (2008d) *Scardinius racovitzai*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T19948A9113563.

<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T19948A9113563.en>. Pristupljeno 17. listopada 2020.

Freyhof J, Kottelat M (2008e) *Scardinius plotizza*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T135624A4164478.

<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T135624A4164478.en>. Pristupljeno 17. listopada 2020.

Freyhof J (2011) *Scardinius knezevici*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T195062A8940523.

<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-1.RLTS.T195062A8940523.en>. Pristupljeno 17. listopada 2020.

Freyhof J (2014) *Scardinius elmaliensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2014: e.T60987A19008820.

<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T60987A19008820.en>. Pristupljeno 17. listopada 2020.

Freyhof J, Bergner L, Ford M (2020) Threatened Freshwater Fishes of the Mediterranean Basin Biodiversity Hotspot: Distribution, extinction risk and the impact of hydropower. EuroNatur, Radolfzell, Germany and RiverWatch, Vienna.

Garcia-Castellanos D, Estrada F, Jiménez-Munt I, Gorini C, Fernández M, Vergés J, De Vicente R (2009) Catastrophic flood of the Mediterranean after the Messinian salinity crisis. *Nature* 462: 778-781.

Geiger MF, Herder F, Monaghan MT, Almada V, Barbieri R, Bariche M, Berrebi P, Bohlen J, Casal-Lopez M, Delmastro GB, Denys GPJ, Dettai A, Doadrio I, Kalogianni E, Kärst H, Kottelat M, Kovačić M, Laporte M, Lorenzoni M, Marčić Z, Özuluğ M, Perdices A, Perea S, Persat H, Porcellotti S, Puzzi C, Robalo J, Šanda R, Schneider M, Šlechtová V, Stoumboudi M, Walter S, Freyhof J (2014) Spatial heterogeneity in the Mediterranean Biodiversity Hotspot affects barcoding accuracy of its freshwater fishes. *Molecular Ecology Resources* 14(6): 1210-1221.

GenBank [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information (NCBI); 2004 – [cited 2019 02 09]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>.

Glamuzina B, Bogut I, Ivanković M (2011) Revitalizacija autohtonih i endemskih neretvanskih pastrva. Federalni agromediteranski zavod Mostar, Mostar.

Glamuzina B, Pavličević J, Bogut I, Dulčić J (2010) Bioraznolikost riba Hercegovine. Međunarodni kolokvij. 2010. godina bioraznolikosti. Livno, 13.-15.12.2010.

Grupče R, Dimovski A (1984) Recherches comparatives sur les caractères méristiques et morphométriques de *Scardinius erythrophthalmus scardafa* (Bonaparte) des lacs d'Ohrid et Skadar et *Scardinius erythrophthalmus dojranensis* Karaman du lac de Doiran. Acta Musei Macedonici Scientiarum Naturalium 17: 81-101.

Hall TA (1999) BioEdit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41: 95-98.

He S, Mayden RL, Wang X, Wang W, Tang KL, Chen W-J, Chen Y (2008) Molecular phylogenetics of the family Cyprinidae (Actinopterygii: Cypriniformes) as evidenced by sequence variation in the first intron of S7 ribosomal protein-coding gene: Further evidence from a nuclear gene of the systematic chaos in the family. Molecular Phylogenetics and Evolution 46(3): 818-829.

Heckel JJ (1843) Ichthyologie. U: Russegger J (ed.) Reisen in Europa, Asien und Afrika mit besonderer Rücksicht auf die naturwissenschaftlichen Verhältnisse der betreffenden Länder, unternommen in den Jahren 1835 bis 1841. Erster Band. Reise in Griechenland, Unteregypten, im nördlichen Syrien und südöstlichen Kleinasien. Schweizerbart, Stuttgart 991-1099.

Heckel JJ (1853) Verzeichniss der Fische des Donaugebietes in der ganzen Ausdehnung des Österreichischen Kaiserstaates. Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien 1853 [1852]: 28-33.

Heckel JJ, Kner R (1858) Die Süßwasserfische der Österreichischen Monarchie mit Rücksicht auf der angrenzten Länder. Leipzig, Verlag von Vilhelm Engelmann, 153-161.

Helfman G, Facey DE, Collette BB, Bowen BW (2009) The Diversity of Fishes: Biology, Evolution, and Ecology. 2nd edn. John Wiley & Sons, Chichester.

Henderson PA (2003) Practical methods in ecology. 1st edn. Blackwell Publishing, Malden.

HEP Proizvodnja d.o.o. (2019) Proizvodno područje Jug.
<http://www.hep.hr/proizvodnja/hidroelektrane-1528/pp-he-jug/1719>.

Hesselberg T (2013) Data Analysis in Ecology, University of Oxford CPD Centre in collaboration with TALL. Online course at <http://study.conted.ox.ac.uk/login/index.php>.

Hey J, Wakeley J (1997) A coalescent estimator of the population recombination rate. Genetics 145: 833-846.

Hollberg L (1822) Beskrifning öfver Bohuslänske Fiskarne uigifven af Kongl. Vettenskaps och Vitterhs. Samhället i Göteborg. III Haftet. Göteborgs Kongl. Vettenskaps och Witterhets Samhällets nya Handlingar 5: 1-70.

Howes GJ (1981) Anatomy and phylogeny of the Chinese major carps *Ctenopharyngodon* Steind., 1866 and *Hypophthalmichthys* Blkr., 1860. Bulletin of the Natural History Museum. Zoology series. 41: 1-52.

Howes GJ (1991) Systematics and biogeography: An overview. U: Winfield IJ, Nelson JS (eds.) Cyprinid Fishes. Systematics, Biology and Exploitation. London, Chapman & Hall, 1-33.

Hsü KJ, Ryan WB, Cita MB (1973) Late Miocene dessication of the Mediterranean. Nature 242: 240-244.

Hsü KJ, Montadert L, Bernouilli D, Cita MB, Erickson A, Garrison RE, Kidd RB, Melieres F, Müller C, Wright R (1977) History of the Mediterranean salinity crisis. Nature 267: 399-403.

Hsü KJ (1987) The dessication of the Mediterranean Sea. Endeavour 11(2): 67-72.

Huelsenbeck JP, Hillis DM (1993) Success of phylogenetic methods in the four-taxon case. Systematic Biology 42: 247-264.

Huelsenbeck JP, Ronquist F (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.

Hurst L, Ellegren H (1998) Sex biases in the mutation rate. *Trends in Genetics* 14: 446-452.

Huson DH, Bryant D (2005) Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. *Molecular Biology and Evolution* 23(2): 254-267.

Iliadou K, Sourdis J, Economidis PS, Wheeler A (1996) Morphological differentiation among species of the genus *Scardinius* (Pisces: Cyprinidae) in Greece. *Journal of Natural History* 30(3): 459-473.

Ilijanić N, Miko S, Hasan O, Marković T (2018) Geološka, strukturno-tektonska i hidrogeološka obilježja područja Pakošтана i Vranskog jezera. U: Radić Rossi I, Boetto G (ed.) Pakošтane Veli Škoj, Kasnoantički brodolom u geološko-geografskom i kulturno-povijesnom kontekstu. Zadar, Sveučilište u Zadru, Institut za pomorsku baštinu ARS NAUTICA, 161-177.

IUCN 2020. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-2. <<https://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 29 September 2020.

Ivanković P (2016) Biologija i taksonomija triju vrsta endemskih riba donje Neretve. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.

Javna ustanova „Nacionalni park Krka“ (2019) Rijeka Krka – Zemljopisni položaj. <http://www.npkrka.hr/stranice/zemljopisni-poloaj/86.html>. Pristupljeno 29. rujna 2019.

JP Park prirode Hutovo blato (2020) <http://hutovo-blato.ba/o-parku/>. Pristupljeno 30. prosinca 2019.

Jurina Tokić I (2013) Sedimentološke i geokemijske značajke delte rijeke Neretve. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.

Karaman S (1924) Pisces Macedoniae. Hrvatska štamparija, Split.

Karaman S (1928) Prilog ihtiologiji Jugoslavije 1. Glasnik skopskog naučnog društva, knjiga VI, svezak 2, Skopje.

- Karataş S, İnnal D, Sungur Birecikligil S, Korkmaz EM, Çiçek E (2016)** New localities of *Scardinius elmaliensis* Bogutskaya, 1997 (Teleostei: Cyprinidae) and its phylogenetic relationship based on mtDNA Cytb region sequences. *FishTaxa* 1(3): 127-132.
- Ketmaier V, Bianco PG, Cobolli M, De Matthaeis E (2003)** Genetic differentiation and biogeography in southern European populations of the genus *Scardinius* (Pisces, Cyprinidae) based on allozyme data. *Zoologica Scripta* 32: 13-22.
- Ketmaier V, Bianco PG, Cobolli M, Krivokapic M, Caniglia R, De Matthaeis E (2004)** Molecular phylogeny of two lineages of Leuciscinae cyprinids (*Telestes* and *Scardinius*) from the peri Mediterranean area based on cytochrome b data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32: 1061-1071.
- Kluge AG, Farris JS (1969)** Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Systematic Zoology* 18(1): 1-32.
- Kolz AL (1989)** A power transfer theory for electrofishing. U. S. Wildlife Service Technical Report 22: 1-11.
- Kolz AL (2006)** Electrical conductivity as applied to electrofishing. *Transactions of the American Fisheries Society* 135: 509-518.
- Kosorić Đ (1978)** Sastav populacije riba Hutova blata. *Godišnjak Biološkog instituta Univerziteta u Sarajevu*. 31: 69-81.
- Kosorić Đ, Vuković T, Kapetanović N, Guzina N, Mikavica D (1983)** Sastav naselja riba rijeke Neretve u Bosni i Hercegovini. *Godišnjak Biološkog instituta Univerziteta u Sarajevu* 36: 117-128.
- Kottelat M (1997)** European freshwater fishes. *Biologia (Bratislava)* 52 (Suppl. 5): 1-271.
- Kottelat M, Freyhof J (2007)** Handbook of European freshwater fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany.

- Kottelat M, Freyhof J (2009)** Notes on the taxonomy and nomenclature of some European freshwater fishes. *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 20(1): 75-90.
- Kullander SO (1999)** Fish species – how and why. *Reviews on Fish Biology and Fisheries* 9: 325-352.
- Lévêque C, Oberdorff T, Paugy D, Stiassny MLJ, Tedesco PA (2008)** Global diversity of fish (Pisces) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 545-567.
- Li WH (1997)** Molecular evolution. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Librado P, Rozas J (2009)** DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- Linnaeus C (1746)** Fauna Svecica sistens animalia Sveciae regni: quadrupedia, aves, amphibia, pisces, insecta, vermes. Wishoff, Lugduni Batavorum.
- Liu H, Tzeng CS, Teng HY (2002)** Sequence variation in the mtDNA control region and their implications for the phylogeny of Cypriniformes. *Canadian Journal of Zoology* 81: 1938-1946.
- Lleonart J, Salat J, Torres GJ (2000)** Removing allometric effects of body size in morphological analysis. *Journal of Theoretical Biology* 205: 85-93.
- Mabuchi K, Senou H, Suzuki T, Nishida M (2005)** Discovery of an ancient lineage of *Cyprinus carpio* from Lake Biwa, central Japan, based on mtDNA sequence data, with reference to possible multiple origins of koi. *Journal of Fish Biology* 66: 1516-1528.
- Machordom A, Doadrio I (2001)** Evolutionary history and speciation modes in the cyprinid genus *Barbus*. *Proceedings of the Royal Society of London B* 268: 1297-1306.
- Maddison WP (1997)** Gene trees in species trees. *Systematic Biology* 46(3): 523-536.
- Maddison WP, Maddison DR (2019)** Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.61 <http://www.mesquiteproject.org>. Preuzeto 10. veljače 2020. godine.

Maddison DR, Swofford DL, Maddison WP (1997) NEXUS: an extensible file format for systematic information. *Systematic Biology* 46: 590-621.

Magdeldin S (2012) Gel Electrophoresis – Principles and Basics. InTech, Rijeka.

Mamužić P (1971) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100 000. List Šibenik K33-8. Institut za geološka istraživanja, Zagreb (1962-1965). Savezni geološki zavod, Beograd.

Mamužić P (1975) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100 000. Tumač za list Šibenik K33-8. Institut za geološka istraživanja, Zagreb, 1966. Savezni geološki zavod, Beograd.

Mamužić P, Nedela-Devide D (1973) Osnovna geološka karta SFRJ 1:100 000. Tumač za list Biograd K33-7. Institut za geološka istraživanja, Zagreb, 1963. Savezni geološki zavod, Beograd.

Marescalchi O, Falconi R, Manaresi S, Zaccanti F (2008) Mitochondrial cytochrome b and 16S characterizations in nine Italian freshwater cyprinids (Teleostei, Cyprinidae). Unpublished.

Martin AP, Palumbi SR (1993) Body size, metabolic rate, generation time and the molecular clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90: 4087-4091.

Martinović D (1995) Taksonomske osobitosti vrste *Scardinius erythrophthalmus* L. Jadranskog sliva. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.

Mayden RL (1996) A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. U: Claridge MF, Dawah HA, Wilson MR (eds.) *The units of biodiversity – species in practice*. London, Chapman & Hall, 381-424.

Mayden RL (2002) On biological species, species concepts and individuation in the natural world. *Fish and Fisheries* 3: 171-196.

Mayden RL, Chen W-J (2010) The world's smallest vertebrate species of the genus *Paedocypris*: A new family of freshwater fishes and the sister group of the world's most

diverse clade of freshwater fishes (Teleostei: Cypriniformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57(1): 152-175.

McDonald JH (2014) Handbook of Biological Statistics. 3rd edn. Sparky House Publishing, Baltimore.

Melton T (2004) Mitochondrial DNA heteroplasmy. *Forensic Science Reviews* 16: 1-20.

Mihai-Bardan A (1984) Le catalogue de la collection de poissons de Roumanie gardée au Muséum d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa". *Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"* 25: 445-472.

Mihevc A, Prelovšek M, Zupan Hajna N (2010) Introduction to the Dinaric Karst. Inštitut za raziskovanje krása ZRC SAZU, Postojna.

Mrakovčić M, Brigić A, Buj I, Čaleta M, Mustafić P, Zanella D (2006) Crvena knjiga slatkovodnih riba Hrvatske. Ministarstvo kulture, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.

Mrakovčić M, Mišetić S, Povž M (1995) Status of freshwater fish in Croatian Adriatic river systems. *Biological Conservation* 72: 179-185.

Mušović A, Škrijelj R, Gajević M, Kalamujić Stroil B, Vesnić A, Mitrašinović-Brulić M, Đug S (2020) Long-term trends in the structure and dynamics of the fish communities in Buško blato reservoir. *Croatian Journal of Fisheries* 78: 69-78.

Müller GJ (1958) *Scardinius racovitzai* n. sp. (Pisces, Cyprinidae), eine reliktdäre Rotfeder aus Westrumänien. *Senckenbergiana Biologica* 39: 165-168.

Nardo D (1827) *Prodromus observationum et disquisitionum ichtyologiae Adriaticae*. *Isis (von Oken)* 20(6): 472-489.

Nijaz Z, Čerić A (2014) Utjecaj vještačkog odvodnjavanja na režim podzemnih voda u tresetištu Ždralovac. *Čovjek i krš* 47: 24-35.

Odluka o donošenju Plana upravljanja vodama za vodno područje Jadranskog mora u Federaciji BiH (2016.-2021.) Službene novine Federacije BiH broj 44/18.

Oikonomou A, Leprieur F, Leonardos ID (2014) Biogeography of freshwater fishes of the Balkan Peninsula. *Hydrobiologia* 738: 205-220.

Ožanić R, Rubinić R (1994) Analiza hidrološkog režima Vranskog jezera na otoku Cresu. *Hrvatske vode* 2: 535-543.

Page RDM (1996) TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357-358.

Pallas PS (1814) Zoographia Rosso-Asiatica, sistens omnium animalium in extenso Imperio Rossico et adjacentibus maribus observatorum recensionem, domicilia, mores et descriptiones, anatomen atque icones plurimorum. Vol.3. Animalia monocardia seu frigidi sanguinis imperii rosso-asiatici recensente P.S. Pallas. Supplendis quibusdam ranarum descriptionibus et iconibus imprimis piscium camtschaticorum auxit et locupletavit Guil. Theophil. Tilesius. Academia Scientiarum, Petropolis.

Perea S, Böhme M, Zupančić P, Freyhof J, Šanda R, Özuluğ M, Abdoli A, Doadrio I (2010) Phylogenetic relationships and biogeographical patterns in Circum-Mediterranean subfamily Leuciscinae (Teleostei, Cyprinidae) inferred from both mitochondrial and nuclear data. *BMC Evolutionary Biology* 10(1): 265.

Perea S, Vukić J, Šanda R, Doadrio I (2016) Ancient mitochondrial capture as factor promoting mitonuclear discordance in freshwater fishes: A case study in the genus *Squalius* (Actinopterygii, Cyprinidae) in Greece. *PLOS ONE* 11(12): e0166292.

Polzin T, Daneschmand SV (2003) On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Operations Research Letters* 31: 12-20.

Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama („Narodne novine“, broj 144/13, 73/16).

Rambaut A (2010) FigTree v1.3.1. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh.

Rand DM (1994) Thermal habit, metabolic rate and the evolution of mitochondrial DNA. *Trends in Ecology & Evolution* 9: 125-131.

- Rannala B, Yang Z (1996)** Probability Distribution of Molecular Evolutionary Trees: A New Method of Phylogenetic Inference. *Journal of Molecular Evolution* 43: 304-311.
- Reist JD (1985)** An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size variation in morphometric variation. *Canadian Journal of Zoology* 63: 1429-1439.
- Reyjol Y, Hugueny B, Bianco PG, Pont D (2008)** Congruence between riverine fish species richness and endemism at the biogeographical scale: the role of history. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 18(7): 1311-1314.
- Richardson J (1856)** On some fish from Asia Minor and Palestine. *Proceedings of the Zoological Society of London* 24: 371-377.
- Ridanović J, Rogić V, Roglić J, Šegota T (1975)** *Geografija SR Hrvatske*. Knjiga 5, Sjeverno Hrvatsko Primorje. Školska knjiga, Zagreb.
- Robalo JI, Almada VC, Levy A, Doadrio I (2007)** Re-examination and phylogeny of the genus *Chondrostoma* based on mitochondrial and nuclear data and the definition of 5 new genera. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 362-372.
- Rodriguez F, Oliver JL, Marin A, Medina J (1990)** The general stochastic model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology* 142(4): 485-501.
- Roglić J (1953)** Polja zapadne Bosne. III. Kongres geografa Jugoslavije, Sarajevo, 45-58.
- Roglić J (2004)** Krš i njegovo značenje – sabrana djela. Geografsko društvo Split, Hrvatsko geografsko društvo Zadar, PMF – Zagreb – Geografski odsjek, Split – Zadar – Zagreb.
- Rognon X, Guyomard R (2003)** Large extent of mitochondrial DNA transfer from *Oreochromis aureus* to *O. niloticus* in West Africa. *Molecular Ecology* 12(2): 435-445.
- Roskov Y, Ower G, Orrell T, Nicolson D, Bailly N, Kirk PM, Bourgoin T, DeWalt RE, Decock W, Nieukerken E van, Zarucchi J, Penev L, eds. (2019)** Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 2019 Annual Checklist. Digital resource at

www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-884X.

Rozas J (2009) DNA Sequence Polymorphism Analysis using DnaSP. U: Posada D (ed.) Bioinformatics for DNA Sequence Analysis; Methods in Molecular Biology Series. NJ, Humana Press, 537: 337-350.

Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 34: 3299-3302.

Rozas J, Rozas R (1995) DnaSP, DNA sequence polymorphism: an interactive program for estimating Population Genetics parameters from DNA sequence data. *Computer applications in the biosciences: CABIOS* 11(6): 621-625.

Rozas J, Rozas R (1997) DnaSP version 2.0: a novel software package for extensive molecular population genetics analysis. *Computer applications in the biosciences: CABIOS* 13: 307-311.

Rozas J, Rozas R (1999) DnaSP version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics* 15: 174-175.

Rozas J, Sánchez-DelBarrio JC, Messeguer X and Rozas R (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.

Rögl F (1999) Mediterranean and Paratethys. Facts and hypotheses of an Oligocene to Miocene paleogeography (short overview). *Geologica Carpathica* 50: 339-349.

Rögl F, Hansen H-J (2009) *Thyromata nov. gen.*, a benthic foraminifer from the Late Eocene–Early Oligocene of the Paratethys. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien. Serie A für Mineralogie und Petrographie, Geologie und Paläontologie, Anthropologie und Prähistorie* 111A: 15-32.

Saitoh K, Sado T, Mayden RL, Hanzawa N, Nakamura K, Nishida M, Miya M (2006) Mitogenomic evolution and interrelationships of the Cypriniformes (Actinopterygii: Ostariophysi): The first evidence toward resolution of higher-level

relationships of the world's largest freshwater fish clade based on 59 whole mitogenome sequences. *Journal of Molecular Evolution* 63(6): 826-841.

Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4): 406-425.

Salaj S (2017) Rast i kondicija endemskih vrsta riba porječja Neretve. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.

Scribner KT, Page KS, Bartron ML (2001) Hybridization in freshwater fishes: a review of case studies and cytonuclear methods of biological inference. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10: 293-323.

Schönhuth S, Vukić J, Šanda R, Yang L, Mayden RL (2018) Phylogenetic relationships and classification of the Holarctic family Leuciscidae (Cypriniformes: Cyprinoidei). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 127: 781-799.

Seeley HG (1886) The freshwater fishes of Europe: a history of their genera, species, structure, habits, and distribution. London, Cassell, 133-139.

Simić V, Simić S, Paunović M, Simonović P, Radojković N, Petrović A (2012) *Scardinius knezevici* Bianco & Kottelat, 2005 and *Alburnus scoranza* Bonaparte, 1845: new species of ichthyofauna of Serbia and the Danube basin. *Archives of Biological Sciences* 64(3): 981-990.

Smith KG, Darwall WRT (2006) The Status and Distribution of Freshwater Fish Endemic to the Mediterranean Basin. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge.

Snyder DE (2003) Invited overview: conclusions from a review of electrofishing and its harmful effects on fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 13: 445-453.

Stearns SC, Hoekstra RF (2005) Evolution: an introduction. 2nd edn. Oxford University Press, Oxford.

Stephanidis A (1937) Poissons d'eau douce nouveaux pour l'ichtyofaune de la Grèce (Note ichthyologique). *Acta Instituti et Musei Zoologici Universitatis Atheniensis* 1: 263-268.

Stephanidis A (1939) Poissons d'eau douce de la Grèce occidentale et de l' île Kerkyra [Corfou]. Doctoral thesis, University of Athens.

Stephanidis A (1950) Contribution à l'étude des poissons d'eau douce de la Grèce. Praktika Les Akademias Athenon 1943 [1950]: 200-210.

Swofford DL, Olsen GJ, Waddell PJ, Hillis DM (1996) Phylogenetic Inference. U: Hillis DM, Moritz C, Mable BK (eds.) Molecular Systematics. 2nd edn. Sunderland (MA), Sinauer Associates, 407-514.

Swofford DL (2002) PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), Version 4 [Computer software and manual]. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Šegota T, Filipčić A (2001) Hipotetska starost Vranskog jezera na Cresu. Acta Geographica Croatica. 35: 45-56.

Šprem N, Matulić D, Treer T, Aničić I (2010) A new maximum length and weight for *Scardinius erythrophthalmus*. Journal of Applied Ichthyology 26: 618-619.

Tadić J (2019) Kroskorelacijska analiza hidrograma izvora u golom kršu hrvatske – izvor rijeke Rude. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Rudarsko-geološko-naftni fakultet, Zagreb.

Talevski T, Milosevic D, Talevska A (2010) Anthropogenic Influence and Conservation Status of Autochthonous Fish Fauna from Lake Ohrid. BALWOIS 2010 - Ohrid, Republic of Macedonia - 25, 29 May 2010.

Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution 24: 1596-1599.

Topić Popović N, Hacmanjek M, Teskeredžić E (2001) Health status of rudd (*Scardinius erythrophthalmus hesperidicus* H.) in Lake Vrana on the Island of Cres, Croatia. Journal of Applied Ichthyology 17: 43-45.

Tumara D (2016) 3. Međunarodna ljetna škola „Characterization and Engineering of Karst Aquifers“ (CEKA). *Vijesti Hrvatskoga geološkog društva* 53(1): 30-35.

Turan C (2004) Stock identification of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) using morphometric and meristic characters. *ICES Journal of Marine Science* 61: 774-781.

Tutman P, Čaleta M, Glamuzina B, Dulčić J (2012a) Biološko – ekološke osobitosti, rasprostranjenost i stanje zaštite peškelja, *Scardinius plotizza* (Heckel i Kner, 1858) (Pisces, Cyprinidae) na području močvare Hutovo blato u Bosni i Hercegovini. *Croatian Journal of Fisheries* 70(Supplement 1): S15-S28.

Tutman P, Glamuzina B, Dulčić J, Zovko N (2012b) Ihtiofauna močvare Hutovo blato (Donji tok rijeke Neretve, Bosna i Hercegovina); stanje i ugroženost. *Croatian Journal of Fisheries* 70(4): 169-185.

Tutman P, Hamzić A, Hasković E, Dulčić J, Pavličević J, Glamuzina B (2016) Neretva rudd, *Scardinius plotizza* HECKEL & KNER, 1858 (Cyprinidae), endemic fish species of the Adriatic watershed; biological-ecological and conservation traits. *Annali di Studi istriani e mediterranei* 26(2): 185-191.

University of California Museum of Paleontology (2008) Understanding Evolution. <http://evolution.berkeley.edu/>. Pristupljeno 29. rujna 2019.

Uredba o ekološkoj mreži i nadležnostima Javnih ustanova za upravljanje područjima ekološke mreže (Narodne novine“, broj 80/19).

Uredba o proglašavanju posebnih rezervata „Modro oko i jezero Desne“, „Ušće Neretve“ i „Kuti“ (Narodne novine, broj 94/2020).

Valić D (2011) New morphological and genetic characteristics of *Scardinius dergle*. Unpublished.

Valić D, Vardić Smrzlić I, Kapetanović D, Teskeredžić Z, Pleše B, Teskeredžić E (2013) Identification, phylogenetic relationship and new maximum size of two rudd populations (*Scardinius*, Cyprinidae) from the Adriatic Sea drainage, Croatia. *Biologia (Bratislava)* 68(3): 539-545.

Vallot J-N (1837) Ichthyologie française, ou histoire naturelle des poissons d'eau douce de la France. Frantin, Dijon.

Vawter L, Brown WM (1986) Nuclear and mitochondrial DNA comparisons reveal extreme rate variation in the molecular clock. *Science* 234: 194-96.

Vladykov VD (1931) Poissons de la Russie sous-carpatique (Tchécoslovaquie). *Mémoires de la Société zoologique de France* 29: 217-374.

Vladykov VD, Petit G (1930) Sur quelques poissons d' eau douce d' Albanie. *Bulletin de la Société zoologique de France* 55: 383-409.

Vuković T (1977) Ribe Bosne i Hercegovine. IGKRO „Svjetlost“, OOUR zavod za udžbenike, Sarajevo.

Vuković T, Ivanović B (1971) Slatkovodne ribe Jugoslavije. Zemaljski muzej BiH, Sarajevo.

Vuković T, Ivanišević B (1962) Postojanje dviju morfološki različitih populacija *Scardinius erythrophthalmus scardafa* (Bonaparte) u donjoj Neretvi i Skadarskom jezeru. *Godišnjak Biološkog Instituta Univerziteta u Sarajevu* 15 (1-2): 137-141.

Waap S, Amaral AR, Gomes B, Coelho MM (2011) Multi-locus species tree of the chub genus *Squalius* (Leuciscinae: Cyprinidae) from western Iberia: new insights into its evolutionary history. *Genetica* 139: 1009-1018.

Walecki A (1863) Materyaly do fauny ichtyjologicznej Polski. Biblioteka Warszawska 1863(3): 325-364.

Wang XZ, Gan XN, Li JB, Mayden RL, He SP (2012) Cyprinid phylogeny based on Bayesian and maximum likelihood analyses of partitioned data: implications for Cyprinidae systematics. *Science China Life Sciences* 55: 761-773.

Waples RS (1991) Pacific salmon, *Oncorhynchus spp.*, and the definition of „species" under the Endangered Species Act. *Marine Fisheries Review* 53: 11-22.

Weather CP, Bell JR, Cook PA (2011) Practical Field Ecology: A Project Guide. John Wiley & Sons, Chichester.

Wheeler A (1976) On the populations of roach (*Rutilus rutilus*), rudd (*Scardinius erythrophthalmus*), and their hybrids in Esthwaite Water, with notes on the distinctions between them. *Journal of Fish Biology* 9(5): 391-400.

Wiley EO, Mayden RL (2000) The evolutionary species concept. U: Wheeler QD, Meier R (eds.) *Species concept and phylogenetic theory – a debate*. New York, Columbia University Press, 70-89.

Wimberger PH (1992) Plasticity of fish body shape. The effects of diet, development, family and age in two species of *Geophagus* (Pisces: Cichlidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 45: 197-218.

Yang Z, Rannala B (1997) Bayesian phylogenetic inference using DNA sequences: a Markov chain Monte carlo method. *Molecular Biology and Evolution* 14: 717-724.

Yarrell W (1833) Descriptions of three British species of fresh-water fishes belonging to the genus *Leuciscus* Klein. *Transactions of the Linnean Society of London* 17 [1833-1837]: 5-10.

Yoder AD, Yang Z (2000) Estimation of primate speciation dates using local molecular clocks. *Molecular Biology and Evolution* 17: 1081-1090.

Zakon o sprječavanju unošenja i širenja stranih te invazivnih stranih vrsta i upravljanju njima („Narodne novine“, broj 15/18, 14/19).

Zakon o zaštiti prirode („Narodne novine“, broj 80/13, 14/18, 15/19, 127/19).

Zardoya R, Meyer A (1996) Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. *Molecular Biology and Evolution* 13: 933-942.

Zardoya R, Doadrio I (1999) Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. *Journal of Molecular Evolution* 49(2): 227-237.

Zuckerkandl E, Pauling L (1965) Evolutionary divergence and convergence in proteins. U: Bryson V, Vogel HJ (eds.) *Evolving Genes and Proteins*. New York: Academic Press, 97-165.

8. PRILOZI

Tablica 8.1. Rezultati Shapiro-Wilk testa za izmjerene morfometrijske značajke svih populacija (za mjere koje nisu imale normalnu distribuciju izračunate vjerojatnosti (p) označene su crveno)

mjera /populacija	SCPL	SCCR	SCVZ	SCVI	SCHB
SL	p=,00023	p=,01764	p=,16964	p=,00388	p=,62412
duljina sr, dijela repne peraje	p=,48661	p=,00000	p=,16462	p=,10021	p=,99072
TL	p=,00096	p=,01709	p=,19855	p=,01660	p=,80197
c	p=,00179	p=,01622	p=,12856	p=,00574	p=,44543
pan	p=,00011	p=,02280	p=,13863	p=,03335	p=,14726
aA	p=,00015	p=,02880	p=,14738	p=,02633	p=,11097
Van	p=,00038	p=,05844	p=,19188	p=,07931	p=,02841
aV	p=,00019	p=,03988	p=,15769	p=,00738	p=,76399
aP	p=,00062	p=,00340	p=,27708	p=,00146	p=,62040
aD	p=,00012	p=,01982	p=,11002	p=,00067	p=,52066
lpC	p=,00548	p=,74259	p=,20581	p=,78929	p=,38924
ID	p=,00812	p=,00086	p=,35717	p=,00027	p=,01869
IA	p=,00104	p=,00836	p=,24727	p=,19506	p=,42874
IC	p=,04805	p=,17645	p=,27396	p=,37638	p=,36780
IP	p=,00798	p=,42767	p=,07434	p=,83922	p=,26204
IV	p=,00018	p=,19179	p=,09309	p=,12734	p=,25318
hco	p=,01531	p=,35043	p=,20477	p=,00353	p=,32844
H	p=,00074	p=,07017	p=,12028	p=,06739	p=,67444
h	p=,00013	p=,05169	p=,16581	p=,00000	p=,88983
laco	p=,00060	p=,13523	p=,14246	p=,02137	p=,76564
lac	p=,00022	p=,13395	p=,18740	p=,05561	p=,79387
io	p=,00080	p=,54357	p=,09718	p=,05638	p=,21208
Oh	p=,00695	p=,04446	p=,07371	p=,20122	p=,36339
prO	p=,00893	p=,13696	p=,32125	p=,54600	p=,27592
poO	p=,01242	p=,03015	p=,29210	p=,01295	p=,80103

Tablica 8.1. Nastavak tablice

mjera /populacija	SCRU	SCKU	SCGU	SCVR	SCRA
SL	p=,54410	p=,00001	p=,00019	p=,19945	p=,65677
duljina sr. dijela repne peraje	p=,94567	p=,00006	p=,00190	p=,66546	p=,18188
TL	p=,38317	p=,00001	p=,00096	p=,07265	p=,87375
c	p=,61477	p=,00001	p=,00179	p=,49993	p=,35724
pan	p=,49864	p=,00001	p=,00011	p=,30718	p=,32601
aA	p=,65138	p=,00001	p=,00015	p=,23311	p=,67699
Van	p=,63600	p=,00001	p=,00038	p=,87805	p=,77071
aV	p=,89986	p=,00001	p=,00019	p=,13510	p=,48671
aP	p=,32052	p=,00001	p=,00062	p=,60748	p=,47420
aD	p=,51029	p=,00001	p=,00012	p=,17972	p=,77485
lpC	p=,66745	p=,00001	p=,00548	p=,57340	p=,10957
ID	p=,55736	p=,00001	p=,00812	p=,68359	p=,37835
IA	p=,04988	p=,00001	p=,00104	p=,06393	p=,35459
IC	p=,01804	p=,00001	p=,04805	p=,42840	p=,95892
IP	p=,13996	p=,00001	p=,00798	p=,39172	p=,12187
IV	p=,25705	p=,00001	p=,00018	p=,92108	p=,22887
hco	p=,10765	p=,00001	p=,01531	p=,07547	p=,47703
H	p=,58175	p=,00001	p=,00074	p=,80836	p=,63873
h	p=,50012	p=,00001	p=,00013	p=,71970	p=,83308
laco	p=,61097	p=,00001	p=,00060	p=,79390	p=,19853
lac	p=,87229	p=,00001	p=,00022	p=,82667	p=,22684
io	p=,81500	p=,00001	p=,00080	p=,17704	p=,06390
Oh	p=,64984	p=,00006	p=,00695	p=,99610	p=,71245
prO	p=,27355	p=,00002	p=,00893	p=,93917	p=,47162
poO	p=,52648	p=,00001	p=,01242	p=,16803	p=,21596

Tablica 8.2. Pearsonov (r) i Spermanov (r_s) koeficijent korelacije mjera standardiziranih alometrijskom pretvorbom

	SCPL	SCCR	SCVZ		SCVI	SCHB	
	r_s	r_s	r	r_s	r_s	r	r_s
M (duljina sr. dijela repne peraje)	-0,02	-0,24	-0,06		0	0	
M (TL)	0,14	0,05	-0,11		-0,08	0	
M (c)	0,05	-0,14	-0,04		-0,08	0	
M (pan)	-0,19	-0,06	-0,01		0,07	-0,02	
M (aA)	-0,03	-0,17	-0,03		0,04	-0,02	
M (Van)	-0,03	0,03	0,04		0,04	-0,02	
M (aV)	-0,11	0,01	-0,31		-0,01	-0,01	
M (aP)	0,07	-0,01	-0,03		-0,08	-0,01	
M (aD)	-0,13	0,01	-0,05		-0,39	0,02	
M (lpc)	-0,12	0,12		0,14	0,13	-0,01	
M (ID)	-0,02	-0,32	-0,04		-0,14	0,03	
M (IA)	0,19	-0,27	-0,08		0,09	0	
M (IC)	0,12	0,08	-0,03		-0,14		-0,34
M (IP)	-0,34	0,06	-0,12		-0,11	0	
M (IV)	-0,26	-0,01	-0,1		0,12	0,02	
M (hco)	0,09	-0,01	0,04		-0,09	0	
M (H)	-0,1	0,07	-0,05		0,01	0,01	
M (h)	-0,21	0,02	-0,01		-0,08	-0,03	
M (laco)	-0,14	0,14	-0,05		-0,07	-0,01	
M (lac)	-0,06	0,11	0,05		0,04	-0,01	
M (io)	-0,06	0,17	-0,09		-0,22	0,01	
M (Oh)	-0,1	-0,05	-0,11		0,03	-0,03	
M (prO)	0,11	0,02	-0,01		0,11	-0,02	
M (poO)	-0,08	-0,04	0,03		-0,15	0	

Tablica 8.2. Nastavak tablice

	SCRU		SCKU	SCGU	SCVR		SCRA	
	r	r _s	r _s	r _s	r	r _s	r	r _s
M (duljina sr. dijela repne peraje)		0,25	0,03	0,11	0			-0,28
M (TL)	0,01		-0,24	-0,01	-0,01		0	
M (c)	0		-0,29	-0,27	0		0,01	
M (Pan)		-0,05	-0,21	0,12	-0,01			0,27
M (aA)		0,23	-0,3	0,19	-0,01		-0,01	
M (Van)		-0,05	0,09	0,16	0			-0,01
M (aV)	0		-0,06	0,18	-0,01		0,01	
M (aP)	0,02		-0,21	-0,03	-0,03		0,01	
M (aD)	0		-0,03	-0,09	-0,01		0	
M (lpc)	0		-0,1	-0,16	-0,01			-0,02
M (ID)	0		-0,13	-0,17	0		0	
M (IA)		-0,27	-0,16	-0,25	-0,04		-0,02	
M (IC)	0		-0,02	-0,11	-0,01		-0,02	
M (IP)	0,01		0,22	-0,18	0,01		0,02	
M (IV)	0,01		0,02	-0,03	0		-0,03	
M (hco)	0,02		-0,17	-0,05		-0,22	0	
M (H)	-0,01		-0,07	-0,15	-0,02			-0,04
M (h)	0,01		0,05	-0,1	-0,01		-0,01	
M (laco)	-0,01		-0,3	-0,28	0		0,01	
M (lac)	0,01		-0,16	-0,04	-0,01		0,01	
M (io)	0,01		-0,29	-0,12	-0,31		0,03	
M (Oh)	0,01		0,02	-0,26	0,01		-0,02	
M (prO)	0,02		0,05	0,01	-0,01		0	
M (poO)	-0,02		-0,29	-0,08	0,01		0,01	

Tablica 8.3. Srednje ($\bar{x}$), najmanje i najveće vrijednosti te standardna devijacija morfometrijskih omjera populacija istraživanih vrsta roda *Scardinius* po pojedinim lokalitetima

	PL				CR			
	$\bar{x}$	min.	max.	s.d.	$\bar{x}$	min.	max.	s.d.
SL/TL	78,89%	77,03%	82,88%	0,013	79,80%	77,03%	83,17%	0,01922
c/SL	24,89%	21,01%	26,54%	0,01332	26,73%	25,01%	29,56%	0,01237
Pan/SL	71,74%	68,93%	74,95%	0,01836	74,43%	70,33%	79,85%	0,02751
aA/SL	74,99%	72,55%	78,18%	0,01644	77,28%	72,80%	82,34%	0,02504
Van/SL	22,06%	20,43%	24,57%	0,01351	24,28%	21,64%	28,39%	0,01865
aV/SL	50,92%	48,17%	53,78%	0,01609	50,66%	47,00%	54,20%	0,01915
aP/SL	25,09%	23,67%	26,77%	0,0094	25,69%	23,20%	28,83%	0,01429
aD/SL	59,82%	56,35%	63,03%	0,01816	61,42%	57,51%	66,14%	0,02421
lpc/SL	15,81%	11,65%	19,30%	0,02438	14,61%	12,33%	18,15%	0,01797
ID/SL	11,61%	9,92%	13,83%	0,01073	14,18%	11,55%	16,00%	0,00985
IA/SL	12,99%	11,76%	14,57%	0,00688	13,00%	10,74%	15,21%	0,01177
IC/SL	27,52%	21,60%	32,39%	0,02643	26,52%	22,46%	29,82%	0,01756
IP/SL	19,39%	10,91%	20,94%	0,02441	21,18%	18,66%	24,32%	0,01346
IV/SL	17,38%	15,98%	18,41%	0,00716	17,69%	16,09%	19,20%	0,00997
laco/SL	12,85%	11,48%	16,71%	0,01236	13,93%	12,21%	15,59%	0,00956
lac/SL	15,62%	13,66%	18,78%	0,0145	17,10%	14,51%	19,63%	0,01291
H/SL	32,53%	26,66%	36,71%	0,02439	36,42%	29,72%	41,65%	0,02972
hco/c	62,96%	49,69%	75,71%	0,06226	62,05%	55,70%	74,00%	0,03948
laco/c	51,89%	46,58%	70,30%	0,069	52,27%	42,97%	60,35%	0,0484
lac/c	63,13%	52,90%	89,42%	0,08882	64,13%	52,02%	72,68%	0,05691
io/c	27,55%	24,48%	31,12%	0,01703	30,43%	25,73%	35,80%	0,03444
Oh/c	24,09%	20,54%	26,84%	0,01948	19,23%	17,07%	22,46%	0,01459
prO/c	27,95%	24,20%	30,77%	0,01971	30,17%	27,01%	33,85%	0,0224
poO/c	52,12%	39,03%	68,07%	0,06237	52,90%	47,99%	56,32%	0,0219
h/H	31,35%	27,04%	42,08%	0,03816	31,46%	28,60%	34,75%	0,01808

Tablica 8.3. Nastavak tablice

	VZ				VI			
	$\bar{x}$	min.	max.	s.d.	$\bar{x}$	min.	max.	s.d.
SL/TL	80,77%	78,15%	83,98%	0,0179	79,69%	70,87%	82,49%	0,02439
c/SL	27,63%	26,26%	28,61%	0,00845	25,97%	24,91%	27,16%	0,00611
Pan/SL	72,38%	68,21%	74,77%	0,0213	73,46%	70,08%	76,82%	0,01563
aA/SL	74,52%	70,33%	76,50%	0,02127	75,85%	73,22%	79,47%	0,01589
Van/SL	21,09%	19,11%	23,09%	0,01381	23,42%	21,68%	25,07%	0,00915
aV/SL	52,37%	50,40%	54,43%	0,01333	50,07%	48,41%	53,04%	0,01064
aP/SL	27,19%	25,39%	29,47%	0,01053	25,46%	23,83%	26,93%	0,0074
aD/SL	61,33%	57,28%	63,12%	0,0158	59,00%	38,62%	61,31%	0,04646
lpc/SL	18,21%	13,24%	20,71%	0,02037	19,60%	17,69%	21,24%	0,00962
ID/SL	14,19%	12,82%	16,09%	0,0098	14,52%	13,27%	16,61%	0,00848
IA/SL	13,36%	12,03%	14,56%	0,0079	13,52%	12,10%	15,51%	0,00802
IC/SL	26,82%	24,61%	28,31%	0,01137	27,52%	24,37%	29,97%	0,01506
IP/SL	20,57%	17,83%	22,41%	0,0151	21,52%	19,56%	24,07%	0,00984
IV/SL	16,77%	14,27%	18,91%	0,01547	18,61%	17,61%	21,04%	0,00784
laco/SL	15,13%	14,87%	15,52%	0,00186	13,33%	12,56%	14,02%	0,00386
lac/SL	16,33%	15,26%	17,73%	0,00797	16,36%	15,52%	17,50%	0,00618
H/SL	32,07%	27,81%	34,60%	0,02238	33,80%	31,71%	35,76%	0,01246
hco/c	62,28%	58,86%	66,37%	0,02752	62,22%	58,11%	67,65%	0,02531
laco/c	54,80%	52,58%	56,83%	0,01383	51,35%	48,56%	54,87%	0,01667
lac/c	59,14%	56,96%	67,51%	0,03194	63,03%	58,82%	67,83%	0,02594
io/c	28,33%	22,95%	31,53%	0,02997	31,16%	25,37%	33,61%	0,01997
Oh/c	23,83%	20,97%	26,56%	0,0168	20,98%	18,60%	23,75%	0,01325
prO/c	28,81%	25,38%	30,89%	0,01554	29,06%	25,01%	31,47%	0,01591
poO/c	51,00%	47,93%	55,59%	0,02343	52,38%	49,83%	55,21%	0,01542
h/H	34,21%	32,13%	36,65%	0,01518	34,57%	30,27%	65,05%	0,07021

Tablica 8.3. Nastavak tablice

	HB				RU			
	$\bar{x}$	min.	max.	s.d.	$\bar{x}$	min.	max.	s.d.
SL/TL	81,19%	80,00%	83,13%	0,00981	79,86%	77,24%	82,78%	0,018
c/SL	28,09%	26,81%	29,54%	0,00783	25,36%	24,03%	26,62%	0,00872
Pan/SL	73,61%	69,71%	77,10%	0,02216	70,93%	68,09%	73,67%	0,01564
aA/SL	76,22%	73,07%	79,61%	0,02025	74,38%	71,29%	77,22%	0,02102
Van/SL	21,95%	18,93%	23,95%	0,01662	22,21%	19,54%	23,69%	0,01187
aV/SL	51,66%	48,81%	53,46%	0,0137	50,39%	48,67%	51,85%	0,01142
aP/SL	27,38%	26,03%	28,36%	0,00769	24,70%	24,07%	26,25%	0,00706
aD/SL	59,91%	57,99%	61,44%	0,01079	60,52%	57,87%	62,57%	0,01676
lpc/SL	18,42%	16,79%	20,03%	0,00999	19,87%	17,89%	21,88%	0,01462
ID/SL	12,84%	11,84%	13,66%	0,00583	14,31%	12,20%	15,28%	0,00937
IA/SL	11,00%	10,33%	11,84%	0,00457	13,64%	10,64%	15,31%	0,01286
IC/SL	27,50%	26,54%	29,08%	0,00785	27,27%	25,15%	29,90%	0,0143
IP/SL	20,15%	18,79%	22,09%	0,00907	21,25%	19,54%	22,15%	0,00856
IV/SL	16,91%	15,98%	17,61%	0,00507	18,67%	16,76%	19,99%	0,01089
laco/SL	13,48%	13,03%	14,17%	0,00384	13,00%	12,10%	14,08%	0,00619
lac/SL	15,36%	14,64%	16,52%	0,00524	16,04%	14,59%	17,86%	0,00968
H/SL	30,54%	29,04%	32,28%	0,01158	32,95%	29,39%	34,94%	0,01679
hco/c	59,34%	54,47%	65,81%	0,02904	63,73%	59,89%	66,86%	0,02036
laco/c	48,03%	44,40%	50,00%	0,01611	51,25%	48,95%	53,41%	0,01458
lac/c	54,68%	53,12%	56,16%	0,00892	63,31%	57,62%	71,04%	0,04029
io/c	25,06%	22,26%	28,57%	0,01835	32,01%	29,09%	33,88%	0,01404
Oh/c	20,89%	18,67%	22,80%	0,01304	19,45%	17,60%	20,95%	0,01119
prO/c	28,42%	25,24%	30,83%	0,01733	28,83%	27,45%	31,50%	0,01396
poO/c	52,65%	46,79%	54,62%	0,02171	54,24%	51,22%	58,18%	0,01863
h/H	33,81%	31,10%	35,21%	0,01383	33,61%	32,51%	36,52%	0,01325

Tablica 8.3. Nastavak tablice

	KU				GU			
	$\bar{x}$	min.	max.	s.d.	$\bar{x}$	min.	max.	s.d.
SL/TL	80,44%	77,65%	83,16%	0,01517	82,83%	80,67%	85,90%	0,01412
c/SL	30,34%	27,12%	32,73%	0,01452	25,45%	22,62%	27,39%	0,01463
Pan/SL	72,50%	69,04%	78,64%	0,02363	73,48%	68,75%	85,19%	0,03779
aA/SL	75,72%	73,30%	81,96%	0,0228	75,72%	71,39%	86,62%	0,03683
Van/SL	19,97%	17,95%	23,77%	0,01665	24,24%	21,22%	27,81%	0,01877
aV/SL	52,99%	49,84%	56,22%	0,01687	50,40%	47,28%	57,38%	0,02238
aP/SL	29,31%	24,19%	31,71%	0,0204	24,60%	20,96%	27,14%	0,01553
aD/SL	60,05%	56,97%	62,33%	0,01756	58,20%	52,66%	61,14%	0,0208
lpc/SL	18,38%	16,63%	21,29%	0,01239	18,10%	14,59%	20,65%	0,01587
ID/SL	12,05%	10,97%	13,38%	0,00557	13,80%	10,66%	15,51%	0,01266
IA/SL	11,10%	10,33%	11,75%	0,00392	13,05%	10,15%	15,14%	0,01186
IC/SL	26,90%	23,91%	29,77%	0,01605	24,14%	20,92%	26,68%	0,01767
IP/SL	20,24%	18,10%	21,85%	0,00962	19,05%	16,91%	20,71%	0,01146
IV/SL	16,58%	14,06%	17,68%	0,00913	16,32%	14,18%	17,71%	0,0095
laco/SL	14,63%	13,97%	15,36%	0,00433	13,35%	10,85%	15,97%	0,00985
lac/SL	15,10%	13,42%	19,80%	0,01641	17,92%	14,68%	23,88%	0,0259
H/SL	27,72%	24,79%	35,06%	0,02692	34,20%	28,88%	42,80%	0,03471
hco/c	56,76%	51,45%	63,66%	0,0348	63,03%	50,97%	75,58%	0,04968
laco/c	48,29%	45,30%	53,82%	0,02221	52,66%	41,60%	63,63%	0,05341
lac/c	50,01%	44,15%	69,99%	0,07298	70,96%	56,53%	95,72%	0,1307
io/c	24,35%	19,30%	34,09%	0,03648	36,89%	31,76%	43,14%	0,02757
Oh/c	24,61%	18,10%	27,58%	0,02399	22,15%	17,83%	25,73%	0,02185
prO/c	26,58%	23,64%	29,12%	0,01758	29,47%	27,00%	34,12%	0,0203
poO/c	51,02%	47,32%	54,54%	0,02023	51,70%	47,37%	57,86%	0,02477
h/H	37,50%	32,04%	40,30%	0,02207	31,30%	27,96%	34,91%	0,0191

Tablica 8.3. Nastavak tablice

	VR				RA			
	$\bar{x}$	min.	max.	s.d.	$\bar{x}$	min.	max.	s.d.
SL/TL	80,42%	76,15%	82,25%	0,01788	78,84%	75,82%	81,21%	0,013
c/SL	25,24%	24,04%	27,74%	0,01148	29,60%	27,98%	31,18%	0,00768
Pan/SL	73,91%	71,11%	80,81%	0,02703	72,52%	67,80%	92,92%	0,04753
aA/SL	76,26%	73,02%	82,04%	0,02494	74,23%	70,70%	76,82%	0,01335
Van/SL	24,68%	23,60%	26,91%	0,01049	20,76%	18,23%	27,38%	0,02191
aV/SL	49,22%	47,49%	53,90%	0,01842	51,46%	46,71%	54,12%	0,01621
aP/SL	24,32%	22,71%	27,20%	0,01348	29,42%	26,35%	30,74%	0,0115
aD/SL	59,23%	56,44%	61,37%	0,01663	58,80%	55,05%	60,86%	0,01297
lpc/SL	18,85%	17,66%	19,63%	0,00714	16,37%	14,73%	19,77%	0,01534
ID/SL	14,69%	13,64%	15,75%	0,00688	12,21%	10,20%	13,74%	0,00786
IA/SL	14,67%	13,17%	16,95%	0,01087	10,16%	8,63%	12,18%	0,00927
IC/SL	26,88%	24,34%	30,98%	0,01719	27,99%	23,02%	31,79%	0,01902
IP/SL	21,15%	19,28%	23,82%	0,01251	19,93%	18,38%	21,08%	0,00529
IV/SL	18,71%	17,68%	20,34%	0,00771	17,87%	15,09%	20,48%	0,01455
laco/SL	13,72%	12,84%	15,19%	0,00661	14,38%	12,84%	15,80%	0,00743
lac/SL	18,77%	17,30%	20,73%	0,00981	13,21%	10,91%	15,13%	0,01133
H/SL	37,84%	35,02%	44,56%	0,02692	26,03%	24,62%	28,88%	0,01172
hco/c	68,39%	65,82%	72,90%	0,02159	56,19%	51,44%	60,62%	0,02759
laco/c	54,37%	51,80%	56,76%	0,01416	48,57%	44,09%	52,35%	0,02486
lac/c	74,37%	70,87%	79,69%	0,02491	44,64%	37,47%	52,14%	0,03978
io/c	39,48%	37,94%	40,98%	0,00986	18,09%	15,38%	20,47%	0,01419
Oh/c	19,12%	18,45%	19,73%	0,00426	29,63%	27,43%	32,13%	0,01274
prO/c	29,54%	27,92%	30,71%	0,00813	27,27%	24,71%	30,91%	0,01303
poO/c	53,86%	52,45%	58,32%	0,01747	46,69%	43,38%	51,06%	0,02243
h/H	32,93%	32,01%	34,99%	0,01002	39,13%	36,34%	42,21%	0,01497

Tablica 8.4. Rezultati *post hoc* Fisherovog testa za pojedine morfometrijske omjere za sve istraživane populacije (crveno su označene vrijednosti koje pokazuju statistički značajnu razliku, $p < 0,05$)

Morfometrijski omjer: c/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0041	0,0000	0,4437	0,0000	0,1990	0,4332	0,0000
CR	0,0000		0,0163	0,0457	0,0004	0,0046	0,0000	0,0004	0,0011	0,0000
VZ	0,0000	0,0163		0,0001	0,2941	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0041	0,0457	0,0001		0,0000	0,1480	0,0000	0,0899	0,0854	0,0000
HB	0,0000	0,0004	0,2941	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0033
RU	0,4437	0,0046	0,0000	0,1480	0,0000		0,0000	0,8317	0,9503	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0205
GU	0,1990	0,0004	0,0000	0,0899	0,0000	0,8317	0,0000		0,7496	0,0000
VR	0,4332	0,0011	0,0000	0,0854	0,0000	0,9503	0,0000	0,7496		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0033	0,0000	0,0205	0,0000	0,0000	
Morfometrijski omjer: Pan/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0054	0,5636	0,0955	0,0851	0,4186	0,7689	0,0872	0,0726	0,4288
CR	0,0054		0,0724	0,1983	0,5450	0,0028	0,0150	0,2414	0,5430	0,0248
VZ	0,5636	0,0724		0,4183	0,3032	0,2241	0,7530	0,3872	0,2837	0,9565
VI	0,0955	0,1983	0,4183		0,6816	0,0332	0,1865	0,9307	0,6569	0,3243
HB	0,0851	0,5450	0,3032	0,6816		0,0304	0,1478	0,7370	0,9874	0,2414
RU	0,4186	0,0028	0,2241	0,0332	0,0304		0,3008	0,0305	0,0259	0,1444
KU	0,7689	0,0150	0,7530	0,1865	0,1478	0,3008		0,1701	0,1309	0,6482
GU	0,0872	0,2414	0,3872	0,9307	0,7370	0,0305	0,1701		0,7140	0,2948
VR	0,0726	0,5430	0,2837	0,6569	0,9874	0,0259	0,1309	0,7140		0,2172
RA	0,4288	0,0248	0,9565	0,3243	0,2414	0,1444	0,6482	0,2948	0,2172	
Morfometrijski omjer: aA/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0025	0,6547	0,2959	0,1346	0,3112	0,7333	0,3607	0,1685	0,3099
CR	0,0025		0,0024	0,0266	0,2899	0,0007	0,0087	0,0227	0,2034	0,0000
VZ	0,6547	0,0024		0,1746	0,0829	0,5845	0,4610	0,2135	0,1030	0,7009
VI	0,2959	0,0266	0,1746		0,4836	0,0624	0,5101	0,9048	0,5847	0,0241
HB	0,1346	0,2899	0,0829	0,4836		0,0308	0,2367	0,4336	0,8802	0,0149
RU	0,3112	0,0007	0,5845	0,0624	0,0308		0,2030	0,0792	0,0384	0,7756
KU	0,7333	0,0087	0,4610	0,5101	0,2367	0,2030		0,5906	0,2916	0,1731
GU	0,3607	0,0227	0,2135	0,9048	0,4336	0,0792	0,5906		0,5259	0,0375
VR	0,1685	0,2034	0,1030	0,5847	0,8802	0,0384	0,2916	0,5259		0,0189
RA	0,3099	0,0000	0,7009	0,0241	0,0149	0,7756	0,1731	0,0375	0,0189	

Tablica 8.4. Nastavak tablice

Morfometrijski omjer: Van/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,1909	0,0136	0,8819	0,7650	0,0002	0,0001	0,0001	0,0186
CR	0,0000		0,0000	0,0577	0,0003	0,0035	0,0000	0,8218	0,6760	0,0000
VZ	0,1909	0,0000		0,0006	0,2990	0,1724	0,0384	0,0000	0,0000	0,5391
VI	0,0136	0,0577	0,0006		0,0242	0,1068	0,0000	0,0947	0,0471	0,0000
HB	0,8819	0,0003	0,2990	0,0242		0,6924	0,0015	0,0005	0,0004	0,0654
RU	0,7650	0,0035	0,1724	0,1068	0,6924		0,0008	0,0057	0,0032	0,0330
KU	0,0002	0,0000	0,0384	0,0000	0,0015	0,0008		0,0000	0,0000	0,0594
GU	0,0001	0,8218	0,0000	0,0947	0,0005	0,0057	0,0000		0,5454	0,0000
VR	0,0001	0,6760	0,0000	0,0471	0,0004	0,0032	0,0000	0,5454		0,0000
RA	0,0186	0,0000	0,5391	0,0000	0,0654	0,0330	0,0594	0,0000	0,0000	
Morfometrijski omjer: aV/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,7038	0,0267	0,1069	0,1531	0,2739	0,0023	0,3153	0,0132	0,3394
CR	0,7038		0,0088	0,1899	0,0706	0,4026	0,0004	0,5057	0,0238	0,1507
VZ	0,0267	0,0088		0,0003	0,4734	0,0047	0,6220	0,0017	0,0000	0,1173
VI	0,1069	0,1899	0,0003		0,0044	0,9163	0,0000	0,5273	0,2175	0,0050
HB	0,1531	0,0706	0,4734	0,0044		0,0295	0,2002	0,0198	0,0005	0,4730
RU	0,2739	0,4026	0,0047	0,9163	0,0295		0,0005	0,7269	0,2914	0,0598
KU	0,0023	0,0004	0,6220	0,0000	0,2002	0,0005		0,0000	0,0000	0,0159
GU	0,3153	0,5057	0,0017	0,5273	0,0198	0,7269	0,0000		0,0855	0,0344
VR	0,0132	0,0238	0,0000	0,2175	0,0005	0,2914	0,0000	0,0855		0,0006
RA	0,3394	0,1507	0,1173	0,0050	0,4730	0,0598	0,0159	0,0344	0,0006	
Morfometrijski omjer: aP/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,1990	0,0000	0,3590	0,0000	0,4670	0,0000	0,1918	0,1199	0,0000
CR	0,1990		0,0011	0,6713	0,0001	0,0801	0,0000	0,0064	0,0063	0,0000
VZ	0,0000	0,0011		0,0003	0,6180	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,3590	0,6713	0,0003		0,0000	0,1418	0,0000	0,0171	0,0147	0,0000
HB	0,0000	0,0001	0,6180	0,0000		0,0000	0,0001	0,0000	0,0000	0,0001
RU	0,4670	0,0801	0,0000	0,1418	0,0000		0,0000	0,7878	0,5370	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000		0,0000	0,0000	0,5455
GU	0,1918	0,0064	0,0000	0,0171	0,0000	0,7878	0,0000		0,6351	0,0000
VR	0,1199	0,0063	0,0000	0,0147	0,0000	0,5370	0,0000	0,6351		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000	0,5455	0,0000	0,0000	

Tablica 8.4. Nastavak tablice

Morfometrijski omjer: aD/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0630	0,1592	0,2886	0,9837	0,5998	0,8629	0,0397	0,5625	0,2222
CR	0,0630		0,9008	0,0018	0,1073	0,3592	0,1001	0,0000	0,0252	0,0010
VZ	0,1592	0,9008		0,0177	0,2012	0,4809	0,2147	0,0015	0,0717	0,0120
VI	0,2886	0,0018	0,0177		0,3791	0,1708	0,2208	0,2613	0,7491	0,8688
HB	0,9837	0,1073	0,2012	0,3791		0,6216	0,8648	0,0821	0,6199	0,3114
RU	0,5998	0,3592	0,4809	0,1708	0,6216		0,7037	0,0320	0,3341	0,1357
KU	0,8629	0,1001	0,2147	0,2208	0,8648	0,7037		0,0281	0,4681	0,1670
GU	0,0397	0,0000	0,0015	0,2613	0,0821	0,0320	0,0281		0,2210	0,3292
VR	0,5625	0,0252	0,0717	0,7491	0,6199	0,3341	0,4681	0,2210		0,6496
RA	0,2222	0,0010	0,0120	0,8688	0,3114	0,1357	0,1670	0,3292	0,6496	
Morfometrijski omjer: lpc/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0291	0,0005	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,2933
CR	0,0291		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0005
VZ	0,0005	0,0000		0,0215	0,5259	0,0805	0,8486	0,9166	0,3578	0,0043
VI	0,0000	0,0000	0,0215		0,1181	0,9290	0,0156	0,0027	0,1931	0,0000
HB	0,0000	0,0000	0,5259	0,1181		0,2456	0,6106	0,3991	0,7875	0,0004
RU	0,0000	0,0000	0,0805	0,9290	0,2456		0,0840	0,0373	0,3486	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,8486	0,0156	0,6106	0,0840		0,7249	0,4100	0,0005
GU	0,0000	0,0000	0,9166	0,0027	0,3991	0,0373	0,7249		0,2347	0,0006
VR	0,0000	0,0000	0,3578	0,1931	0,7875	0,3486	0,4100	0,2347		0,0001
RA	0,2933	0,0005	0,0043	0,0000	0,0004	0,0000	0,0005	0,0006	0,0001	
Morfometrijski omjer: ID/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0018	0,0000	0,2731	0,0000	0,0000	0,0576
CR	0,0000		0,8373	0,2357	0,0007	0,6133	0,0000	0,2147	0,1648	0,0000
VZ	0,0000	0,8373		0,2499	0,0061	0,5431	0,0000	0,4288	0,1734	0,0000
VI	0,0000	0,2357	0,2499		0,0000	0,7262	0,0000	0,0148	0,6617	0,0000
HB	0,0018	0,0007	0,0061	0,0000		0,0016	0,0303	0,0154	0,0000	0,0779
RU	0,0000	0,6133	0,5431	0,7262	0,0016		0,0000	0,1575	0,5151	0,0000
KU	0,2731	0,0000	0,0000	0,0000	0,0303	0,0000		0,0000	0,0000	0,4978
GU	0,0000	0,2147	0,4288	0,0148	0,0154	0,1575	0,0000		0,0163	0,0000
VR	0,0000	0,1648	0,1734	0,6617	0,0000	0,5151	0,0000	0,0163		0,0000
RA	0,0576	0,0000	0,0000	0,0000	0,0779	0,0000	0,4978	0,0000	0,0000	

Tablica 8.4. Nastavak tablice

Morfometrijski omjer: IA/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,9789	0,5583	0,1285	0,0000	0,2209	0,0000	0,6050	0,0000	0,0000
CR	0,9789		0,5569	0,1111	0,0000	0,2125	0,0000	0,6013	0,0000	0,0000
VZ	0,5583	0,5569		0,4999	0,0000	0,5324	0,0000	0,8660	0,0009	0,0000
VI	0,1285	0,1111	0,4999		0,0000	0,9163	0,0000	0,2878	0,0010	0,0000
HB	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,9352	0,0000	0,0000	0,0174
RU	0,2209	0,2125	0,5324	0,9163	0,0000		0,0000	0,3868	0,0124	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,9352	0,0000		0,0000	0,0000	0,0045
GU	0,6050	0,6013	0,8660	0,2878	0,0000	0,3868	0,0000		0,0001	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0009	0,0010	0,0000	0,0124	0,0000	0,0001		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0174	0,0000	0,0045	0,0000	0,0000	
Morfometrijski omjer: IC/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0718	0,3488	0,9945	0,9787	0,8543	0,4435	0,0000	0,3789	0,4278
CR	0,0718		0,5702	0,0507	0,1307	0,2220	0,3346	0,0001	0,4967	0,0050
VZ	0,3488	0,5702		0,3244	0,4154	0,5367	0,7958	0,0003	0,9377	0,0963
VI	0,9945	0,0507	0,3244		0,9822	0,8515	0,4132	0,0000	0,3530	0,3801
HB	0,9787	0,1307	0,4154	0,9822		0,8851	0,5219	0,0000	0,4487	0,4842
RU	0,8543	0,2220	0,5367	0,8515	0,8851		0,6643	0,0001	0,5761	0,4206
KU	0,4435	0,3346	0,7958	0,4132	0,5219	0,6643		0,0000	0,8568	0,1088
GU	0,0000	0,0001	0,0003	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000		0,0001	0,0000
VR	0,3789	0,4967	0,9377	0,3530	0,4487	0,5761	0,8568	0,0001		0,1027
RA	0,4278	0,0050	0,0963	0,3801	0,4842	0,4206	0,1088	0,0000	0,1027	
Morfometrijski omjer: IP/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0002	0,0315	0,0000	0,1346	0,0008	0,0756	0,5917	0,0010	0,2098
CR	0,0002		0,2907	0,3572	0,0812	0,6170	0,0556	0,0000	0,9530	0,0038
VZ	0,0315	0,2907		0,0723	0,5511	0,1987	0,5579	0,0073	0,3267	0,2135
VI	0,0000	0,3572	0,0723		0,0129	0,8712	0,0055	0,0000	0,4843	0,0001
HB	0,1346	0,0812	0,5511	0,0129		0,0664	0,9427	0,0446	0,1125	0,5916
RU	0,0008	0,6170	0,1987	0,8712	0,0664		0,0535	0,0001	0,6876	0,0093
KU	0,0756	0,0556	0,5579	0,0055	0,9427	0,0535		0,0170	0,0917	0,4775
GU	0,5917	0,0000	0,0073	0,0000	0,0446	0,0001	0,0170		0,0001	0,0544
VR	0,0010	0,9530	0,3267	0,4843	0,1125	0,6876	0,0917	0,0001		0,0143
RA	0,2098	0,0038	0,2135	0,0001	0,5916	0,0093	0,4775	0,0544	0,0143	

Tablica 8.4. Nastavak tablice

Morfometrijski omjer: IV/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,4846	0,1564	0,0010	0,3367	0,0020	0,0399	0,0036	0,0022	0,1628
CR	0,4846		0,0391	0,0052	0,1113	0,0076	0,0047	0,0002	0,0092	0,4681
VZ	0,1564	0,0391		0,0000	0,6808	0,0001	0,6911	0,2999	0,0001	0,0077
VI	0,0010	0,0052	0,0000		0,0002	0,4971	0,0000	0,0000	0,7300	0,0292
HB	0,3367	0,1113	0,6808	0,0002		0,0004	0,3952	0,1306	0,0004	0,0284
RU	0,0020	0,0076	0,0001	0,4971	0,0004		0,0000	0,0000	0,7393	0,0271
KU	0,0399	0,0047	0,6911	0,0000	0,3952	0,0000		0,4774	0,0000	0,0004
GU	0,0036	0,0002	0,2999	0,0000	0,1306	0,0000	0,4774		0,0000	0,0000
VR	0,0022	0,0092	0,0001	0,7300	0,0004	0,7393	0,0000	0,0000		0,0366
RA	0,1628	0,4681	0,0077	0,0292	0,0284	0,0271	0,0004	0,0000	0,0366	
Morfometrijski omjer: hco/c										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,4937	0,5694	0,6006	0,0202	0,5499	0,0000	0,9729	0,0007	0,0000
CR	0,4937		0,9933	0,8508	0,0645	0,2494	0,0000	0,4445	0,0000	0,0000
VZ	0,5694	0,9933		0,8744	0,1136	0,3088	0,0007	0,5341	0,0004	0,0002
VI	0,6006	0,8508	0,8744		0,0430	0,3025	0,0000	0,5513	0,0001	0,0000
HB	0,0202	0,0645	0,1136	0,0430		0,0132	0,0928	0,0144	0,0000	0,0502
RU	0,5499	0,2494	0,3088	0,3025	0,0132		0,0000	0,5535	0,0212	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0007	0,0000	0,0928	0,0000		0,0000	0,0000	0,8647
GU	0,9729	0,4445	0,5341	0,5513	0,0144	0,5535	0,0000		0,0004	0,0000
VR	0,0007	0,0000	0,0004	0,0001	0,0000	0,0212	0,0000	0,0004		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0002	0,0000	0,0502	0,0000	0,8647	0,0000	0,0000	
Morfometrijski omjer: h/H										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,9557	0,0497	0,0034	0,0924	0,1973	0,0000	0,9136	0,2452	0,0000
CR	0,9557		0,0366	0,0015	0,0719	0,1684	0,0000	0,9551	0,2067	0,0000
VZ	0,0497	0,0366		0,6674	0,7992	0,6321	0,0087	0,0329	0,4367	0,0002
VI	0,0034	0,0015	0,6674		0,4652	0,3452	0,0059	0,0012	0,1700	0,0000
HB	0,0924	0,0719	0,7992	0,4652		0,8096	0,0038	0,0652	0,6050	0,0001
RU	0,1973	0,1684	0,6321	0,3452	0,8096		0,0034	0,1561	0,8133	0,0001
KU	0,0000	0,0000	0,0087	0,0059	0,0038	0,0034		0,0000	0,0004	0,2765
GU	0,9136	0,9551	0,0329	0,0012	0,0652	0,1561	0,0000		0,1905	0,0000
VR	0,2452	0,2067	0,4367	0,1700	0,6050	0,8133	0,0004	0,1905		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0002	0,0000	0,0001	0,0001	0,2765	0,0000	0,0000	

Tablica 8.4. Nastavak tablice

Morfometrijski omjer: laco/c										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,5514	0,0890	0,6613	0,0106	0,8383	0,0045	0,4265	0,1043	0,0087
CR	0,5514		0,2044	0,2646	0,0017	0,4988	0,0004	0,8314	0,2397	0,0006
VZ	0,0890	0,2044		0,0306	0,0002	0,1078	0,0000	0,2714	0,9054	0,0001
VI	0,6613	0,2646	0,0306		0,0193	0,9002	0,0082	0,1828	0,0355	0,0162
HB	0,0106	0,0017	0,0002	0,0193		0,0495	0,9667	0,0009	0,0002	0,6129
RU	0,8383	0,4988	0,1078	0,9002	0,0495		0,0359	0,4053	0,1247	0,0681
KU	0,0045	0,0004	0,0000	0,0082	0,9667	0,0359		0,0002	0,0000	0,5938
GU	0,4265	0,8314	0,2714	0,1828	0,0009	0,4053	0,0002		0,3173	0,0003
VR	0,1043	0,2397	0,9054	0,0355	0,0002	0,1247	0,0000	0,3173		0,0001
RA	0,0087	0,0006	0,0001	0,0162	0,6129	0,0681	0,5938	0,0003	0,0001	
Morfometrijski omjer: lac/c										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,7088	0,1727	0,9947	0,0028	0,7276	0,0000	0,0004	0,0001	0,0000
CR	0,7088		0,0828	0,6786	0,0007	0,9450	0,0000	0,0006	0,0001	0,0000
VZ	0,1727	0,0828		0,1507	0,1374	0,1455	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,9947	0,6786	0,1507		0,0016	0,7110	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000
HB	0,0028	0,0007	0,1374	0,0016		0,0049	0,0328	0,0000	0,0000	0,0002
RU	0,7276	0,9450	0,1455	0,7110	0,0049		0,0000	0,0135	0,0021	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0002	0,0000	0,0328	0,0000		0,0000	0,0000	0,0828
GU	0,0004	0,0006	0,0000	0,0001	0,0000	0,0135	0,0000		0,2669	0,0000
VR	0,0001	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000	0,0021	0,0000	0,2669		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0002	0,0000	0,0828	0,0000	0,0000	
Morfometrijski omjer: io/c										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0001	0,3131	0,0000	0,0015	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
CR	0,0001		0,0221	0,4158	0,0000	0,1123	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,3131	0,0221		0,0032	0,0002	0,0014	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,4158	0,0032		0,0000	0,3062	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0015	0,0000	0,0002	0,0000		0,0000	0,4164	0,0000	0,0000	0,0000
RU	0,0000	0,1123	0,0014	0,3062	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,4164	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0078	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0078		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Tablica 8.4. Nastavak tablice

Morfometrijski omjer: Oh/c										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,7239	0,0000	0,0000	0,0000	0,0921	0,0005	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0002	0,0081	0,6362	0,0000	0,0000	0,9769	0,0000
VZ	0,7239	0,0000		0,0000	0,0001	0,0000	0,0702	0,0078	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0002	0,0000		0,7563	0,0232	0,0000	0,0265	0,0022	0,0000
HB	0,0000	0,0081	0,0001	0,7563		0,0837	0,0000	0,0411	0,0206	0,0000
RU	0,0000	0,6362	0,0000	0,0232	0,0837		0,0000	0,0002	0,6881	0,0000
KU	0,0921	0,0000	0,0702	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0005	0,0000	0,0078	0,0265	0,0411	0,0002	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,9769	0,0000	0,0022	0,0206	0,6881	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Morfometrijski omjer: prO/c										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0002	0,2475	0,0743	0,7937	0,2146	0,0182	0,0074	0,0272	0,2469
CR	0,0002		0,0466	0,0300	0,0038	0,1002	0,0000	0,2656	0,3184	0,0000
VZ	0,2475	0,0466		0,7669	0,4225	0,8725	0,0016	0,2680	0,3605	0,0280
VI	0,0743	0,0300	0,7669		0,2138	0,9320	0,0000	0,2966	0,4313	0,0014
HB	0,7937	0,0038	0,4225	0,2138		0,3627	0,0209	0,0423	0,0836	0,2087
RU	0,2146	0,1002	0,8725	0,9320	0,3627		0,0020	0,4054	0,4907	0,0286
KU	0,0182	0,0000	0,0016	0,0000	0,0209	0,0020		0,0000	0,0000	0,1470
GU	0,0074	0,2656	0,2680	0,2966	0,0423	0,4054	0,0000		0,9420	0,0000
VR	0,0272	0,3184	0,3605	0,4313	0,0836	0,4907	0,0000	0,9420		0,0009
RA	0,2469	0,0000	0,0280	0,0014	0,2087	0,0286	0,1470	0,0000	0,0009	
Morfometrijski omjer: poO/c										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,3504	0,4389	0,7803	0,5635	0,2233	0,1997	0,6619	0,1324	0,0000
CR	0,3504		0,1100	0,4705	0,8445	0,5939	0,0243	0,1455	0,4524	0,0000
VZ	0,4389	0,1100		0,2916	0,2275	0,0805	0,7233	0,6644	0,0416	0,0001
VI	0,7803	0,4705	0,2916		0,7078	0,2881	0,0988	0,4387	0,1753	0,0000
HB	0,5635	0,8445	0,2275	0,7078		0,5319	0,0929	0,3301	0,4172	0,0000
RU	0,2233	0,5939	0,0805	0,2881	0,5319		0,0264	0,1100	0,9064	0,0000
KU	0,1997	0,0243	0,7233	0,0988	0,0929	0,0264		0,3541	0,0090	0,0000
GU	0,6619	0,1455	0,6644	0,4387	0,3301	0,1100	0,3541		0,0509	0,0000
VR	0,1324	0,4524	0,0416	0,1753	0,4172	0,9064	0,0090	0,0509		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Tablica 8.4. Nastavak tablice

Morfometrijski omjer: laco/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0704	0,0391	0,6183	0,0000	0,0512	0,0066	0,0000
CR	0,0000		0,0004	0,0062	0,1288	0,0048	0,0357	0,0129	0,3444	0,1298
VZ	0,0000	0,0004		0,0000	0,0000	0,0000	0,0929	0,0000	0,0001	0,0133
VI	0,0704	0,0062	0,0000		0,5119	0,3755	0,0000	0,8427	0,1869	0,0000
HB	0,0391	0,1288	0,0000	0,5119		0,1993	0,0017	0,6235	0,5907	0,0064
RU	0,6183	0,0048	0,0000	0,3755	0,1993		0,0000	0,3096	0,0707	0,0001
KU	0,0000	0,0357	0,0929	0,0000	0,0017	0,0000		0,0000	0,0078	0,4315
GU	0,0512	0,0129	0,0000	0,8427	0,6235	0,3096	0,0000		0,2548	0,0001
VR	0,0066	0,3444	0,0001	0,1869	0,5907	0,0707	0,0078	0,2548		0,0278
RA	0,0000	0,1298	0,0133	0,0000	0,0064	0,0001	0,4315	0,0001	0,0278	
Morfometrijski omjer: lac/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0035	0,1534	0,1012	0,7941	0,3505	0,0938	0,0000	0,0000	0,0000
CR	0,0035		0,3005	0,1418	0,0057	0,1792	0,0000	0,0286	0,0014	0,0000
VZ	0,1534	0,3005		0,9055	0,1314	0,7267	0,0046	0,0056	0,0003	0,0000
VI	0,1012	0,1418	0,9055		0,0958	0,7678	0,0008	0,0003	0,0000	0,0000
HB	0,7941	0,0057	0,1314	0,0958		0,2866	0,2285	0,0000	0,0000	0,0001
RU	0,3505	0,1792	0,7267	0,7678	0,2866		0,0241	0,0035	0,0002	0,0000
KU	0,0938	0,0000	0,0046	0,0008	0,2285	0,0241		0,0000	0,0000	0,0011
GU	0,0000	0,0286	0,0056	0,0003	0,0000	0,0035	0,0000		0,1570	0,0000
VR	0,0000	0,0014	0,0003	0,0000	0,0000	0,0002	0,0000	0,1570		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000	0,0011	0,0000	0,0000	
Morfometrijski omjer: H/SL										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,7505	0,0908	0,0632	0,3506	0,0000	0,0268	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0010	0,0000	0,0006	0,2206	0,0000
VZ	0,7505	0,0000		0,0769	0,1668	0,2658	0,0000	0,0265	0,0000	0,0000
VI	0,0908	0,0000	0,0769		0,0008	0,7366	0,0000	0,5340	0,0000	0,0000
HB	0,0632	0,0000	0,1668	0,0008		0,0170	0,0002	0,0002	0,0000	0,0000
RU	0,3506	0,0010	0,2658	0,7366	0,0170		0,0000	0,4372	0,0001	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0002	0,0000		0,0000	0,0000	0,1259
GU	0,0268	0,0006	0,0265	0,5340	0,0002	0,4372	0,0000		0,0001	0,0000
VR	0,0000	0,2206	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000	0,0001		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1259	0,0000	0,0000	

Tablica 8.5. Rezultati *post hoc* Fisherovog testa za pojedine prilagođene mjere za sve istraživane populacije (crveno su označene vrijednosti koje pokazuju statistički značajnu razliku, $p < 0,05$)

Prilagođena mjera: M (duljina sr. dijela repne peraje)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0314	0,0167	0,8327	0,2945	0,0046	0,6539	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0452	0,0000
VZ	0,0314	0,0000		0,0000	0,0346	0,0063	0,7204	0,0090	0,0000	0,0025
VI	0,0167	0,0000	0,0000		0,0668	0,4228	0,0000	0,0374	0,0151	0,0000
HB	0,8327	0,0000	0,0346	0,0668		0,4374	0,0075	0,8708	0,0003	0,0000
RU	0,2945	0,0000	0,0063	0,4228	0,4374		0,0010	0,4614	0,0085	0,0000
KU	0,0046	0,0000	0,7204	0,0000	0,0075	0,0010		0,0007	0,0000	0,0023
GU	0,6539	0,0000	0,0090	0,0374	0,8708	0,4614	0,0007		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0452	0,0000	0,0151	0,0003	0,0085	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0025	0,0000	0,0000	0,0000	0,0023	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (TL)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,7673	0,3313	0,0000	0,0052	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,1213	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,7673	0,0000	0,0000	0,0000		0,5249	0,0000	0,0071	0,0000	0,0000
RU	0,3313	0,0000	0,0000	0,0000	0,5249		0,0000	0,0016	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,1213	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0052	0,0000	0,0000	0,0000	0,0071	0,0016	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (c)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,4977	0,0000	0,0858	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0530	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
RU	0,4977	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0417	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0530	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0858	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0417	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Tablica 8.5. Nastavak tablice

Prilagođena mjera: M (Pan)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0881	0,0778	0,0000	0,5277	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0271	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0881	0,0000	0,0000	0,0000		0,0027	0,0000	0,0213	0,0000	0,0000
RU	0,0778	0,0000	0,0000	0,0000	0,0027		0,0000	0,1806	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0271	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,5277	0,0000	0,0000	0,0000	0,0213	0,1806	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (aA)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,2988	0,0743	0,0000	0,0309	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0949	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,2988	0,0000	0,0000	0,0000		0,0134	0,0000	0,0038	0,0000	0,0000
RU	0,0743	0,0000	0,0000	0,0000	0,0134		0,0000	0,8749	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0949	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0309	0,0000	0,0000	0,0000	0,0038	0,8749	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (Van)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,8589	0,7941	0,0000	0,0031	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0309	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,8589	0,0000	0,0000	0,0000		0,9295	0,0000	0,0066	0,0000	0,0000
RU	0,7941	0,0000	0,0000	0,0000	0,9295		0,0000	0,0096	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0309	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0031	0,0000	0,0000	0,0000	0,0066	0,0096	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Tablica 8.5. Nastavak tablice

Prilagođena mjera: M (aV)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,4964	0,0862	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0495	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,4964	0,0000	0,0000	0,0000		0,0341	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000
RU	0,0862	0,0000	0,0000	0,0000	0,0341		0,0000	0,2001	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0495	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,2001	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (aP)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1375	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,3730	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
RU	0,1375	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0112	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,3730	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0112	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (aD)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,7313	0,9636	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0212	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,7313	0,0000	0,0000	0,0000		0,8058	0,0000	0,0041	0,0000	0,0000
RU	0,9636	0,0000	0,0000	0,0000	0,8058		0,0000	0,0037	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0212	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000	0,0041	0,0037	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Tablica 8.5. Nastavak tablice

Prilagođena mjera: M (lpc)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000	0,0027	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,1449	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0040	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,5169	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,1449	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000
HB	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000		0,1403	0,0000	0,1316	0,0000	0,0000
RU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1403		0,0000	0,0025	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,5169	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0027	0,0000	0,0000	0,0000	0,1316	0,0025	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0040	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (ID)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0010	0,0000	0,0079	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0010	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0079	0,0000	0,0000	0,0000		0,0040	0,0000	0,1215	0,0000	0,0000
RU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0040		0,0000	0,0579	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1215	0,0579	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (IA)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3819	0,0000	0,5454	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0006	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0039	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0000	0,0000	0,0039	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
RU	0,3819	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,1694	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,5454	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1694	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0006	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Tablica 8.5. Nastavak tablice

Prilagođena mjera: M (IC)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,8506	0,6524	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,2539	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,8506	0,0000	0,0000	0,0000		0,8013	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
RU	0,6524	0,0000	0,0000	0,0000	0,8013		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,2539	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (IP)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,3624	0,0098	0,0000	0,0435	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,1264	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,3624	0,0000	0,0000	0,0000		0,1083	0,0000	0,0080	0,0000	0,0000
RU	0,0098	0,0000	0,0000	0,0000	0,1083		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,1264	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0435	0,0000	0,0000	0,0000	0,0080	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (IV)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,1444	0,0072	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0584	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,1444	0,0000	0,0000	0,0000		0,0003	0,0000	0,0046	0,0000	0,0000
RU	0,0072	0,0000	0,0000	0,0000	0,0003		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0584	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0046	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Tablica 8.5. Nastavak tablice

Prilagođena mjera: M (hco)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0158	0,3775	0,0000	0,5184	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,2473	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0158	0,0000	0,0000	0,0000		0,2169	0,0000	0,0024	0,0000	0,0000
RU	0,3775	0,0000	0,0000	0,0000	0,2169		0,0000	0,1572	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,2473	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,5184	0,0000	0,0000	0,0000	0,0024	0,1572	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (H)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0032	0,6319	0,0000	0,2056	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0032	0,0000	0,0000	0,0000		0,0038	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
RU	0,6319	0,0000	0,0000	0,0000	0,0038		0,0000	0,6203	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,2056	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,6203	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (h)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0002	0,0000	0,8087	0,1728	0,0000	0,7485	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0004	0,0000
VZ	0,0002	0,0000		0,0000	0,0003	0,0000	0,1979	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,8087	0,0000	0,0003	0,0000		0,2993	0,0000	0,9830	0,0000	0,0000
RU	0,1728	0,0000	0,0000	0,0000	0,2993		0,0000	0,2449	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,1979	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,7485	0,0000	0,0000	0,0000	0,9830	0,2449	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0004	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Tablica 8.5. Nastavak tablice

Prilagođena mjera: M (laco)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0590	0,8225	0,0000	0,6540	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0084	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0590	0,0000	0,0000	0,0000		0,1670	0,0000	0,1117	0,0000	0,0000
RU	0,8225	0,0000	0,0000	0,0000	0,1670		0,0000	0,9061	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0084	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,6540	0,0000	0,0000	0,0000	0,1117	0,9061	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (lac)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,3994	0,4676	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0020	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,3994	0,0000	0,0000	0,0000		0,1733	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
RU	0,4676	0,0000	0,0000	0,0000	0,1733		0,0000	0,0003	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0020	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0003	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (io)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0001	0,0000	0,7403	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,4276	0,0000
VZ	0,0001	0,0000		0,0000	0,0001	0,0000	0,0142	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000
HB	0,7403	0,0000	0,0001	0,0000		0,0004	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
RU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0004		0,0000	0,0004	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0142	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000	0,0004	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,4276	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Tablica 8.5. Nastavak tablice

Prilagođena mjera: M (Oh)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,3594	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,2522	0,0152	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,5526	0,0000
HB	0,3594	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
RU	0,0000	0,0000	0,2522	0,0000	0,0000		0,3104	0,0022	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,0152	0,0000	0,0000	0,3104		0,0107	0,0000	0,0000
GU	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0022	0,0107		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,5526	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (prO)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,2366	0,0000	0,1467	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,3878	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000		0,0178	0,0000	0,0025	0,0000	0,0000
RU	0,2366	0,0000	0,0000	0,0000	0,0178		0,0000	0,9279	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,3878	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,1467	0,0000	0,0000	0,0000	0,0025	0,9279	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Prilagođena mjera: M (poO)										
Populacija	PL	CR	VZ	VI	HB	RU	KU	GU	VR	RA
PL		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1033	0,0000	0,2348	0,0000	0,0000
CR	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
VZ	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,3099	0,0000	0,0000	0,0000
VI	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
HB	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0003	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
RU	0,1033	0,0000	0,0000	0,0000	0,0003		0,0000	0,0095	0,0000	0,0000
KU	0,0000	0,0000	0,3099	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	0,0000
GU	0,2348	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0095	0,0000		0,0000	0,0000
VR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		0,0000
RA	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Tablica 8.6. Doprinos pojedinih morfometrijskih omjera pojedinim faktorima PCA analize, dobiven temeljem korelacijske matrice

omjer/faktor	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
c/SL	0,8161	-0,4073	-0,026	-0,0288	-0,124	0,1132	-0,1848	0,1695
Pan/SL	-0,3269	-0,5901	0,4089	-0,3466	-0,1319	-0,211	-0,0947	-0,093
aA/SL	-0,4022	-0,6541	0,4058	-0,3664	-0,1126	-0,0659	0,1415	-0,0055
Van/SL	-0,7358	-0,0839	0,1821	-0,4019	0,004	-0,2804	-0,0827	-0,0521
aV/SL	0,3092	-0,6692	0,3525	0,028	-0,1591	0,2041	0,2805	-0,0542
aP/SL	0,848	-0,389	0,0086	0,0233	-0,115	0,0553	-0,0644	0,0122
aD/SL	-0,0949	-0,5262	-0,1154	0,1448	0,2652	0,5982	-0,0279	-0,1871
lpc/SL	-0,0902	-0,0165	-0,3997	0,0434	-0,828	0,0425	0,1236	-0,1033
ID/SL	-0,6391	-0,1567	-0,3425	0,0783	-0,1725	0,0088	-0,4467	0,2192
IA/SL	-0,7709	-0,0054	-0,2993	-0,0097	-0,1396	0,0246	0,0066	-0,0417
IC/SL	0,3254	-0,4467	-0,5431	-0,1729	0,2423	-0,0984	0,1933	0,0406
IP/SL	-0,2515	-0,4832	-0,6063	0,0662	0,0596	-0,0011	0,0055	0,1207
IV/SL	-0,2066	-0,3488	-0,6749	-0,1968	0,1936	-0,3425	0,1479	-0,0471
hco/c	-0,7819	-0,0408	-0,1018	0,3135	0,0567	-0,0459	0,186	-0,265
h/H	0,6123	-0,1127	-0,2119	0,0876	-0,2112	-0,1146	-0,2165	-0,4819
laco/c	-0,6428	-0,1752	0,2188	0,5917	0,0934	-0,3083	0,0804	-0,0077
lac/c	-0,936	0,0711	0,1193	0,1099	-0,0151	-0,0095	0,0187	-0,095
io/c	-0,8822	0,1666	-0,0199	0,0345	-0,2012	0,0583	-0,0179	0,0332
Oh/c	0,8071	0,0389	0,0487	0,2061	0,0781	-0,3072	0,0195	-0,2128
prO/c	-0,6318	-0,179	0,0047	-0,0848	0,2562	0,1465	-0,354	-0,3112
poO/c	-0,6393	0,0148	-0,0446	0,0875	-0,0269	0,1851	0,358	0,0371
laco/SL	0,1758	-0,6472	0,1887	0,6043	-0,032	-0,2133	-0,1289	0,193
lac/SL	-0,86	-0,1529	0,1175	0,104	-0,0919	0,0806	-0,0873	-0,0022
H/SL	-0,9217	-0,144	-0,0128	-0,0602	0,0851	0,0149	-0,0536	0,1392

Tablica 8.6. Nastavak tablice

omjer/faktor	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15	F16
c/SL	-0,0865	-0,0608	-0,0007	0,065	0,135	-0,0525	0,0348	-0,118
Pan/SL	-0,0675	-0,0084	0,014	-0,1873	-0,1144	-0,0228	-0,2708	-0,0586
aA/SL	-0,015	-0,0136	0,0497	0,0824	0,0004	0,0332	0,1064	0,0729
Van/SL	0,0317	-0,2283	0,1101	0,0015	0,0963	0,1302	0,0422	-0,069
aV/SL	0,1079	0,284	-0,0787	-0,013	-0,1463	-0,137	0,1427	0,0696
aP/SL	-0,0222	0,0107	-0,0429	-0,037	0,0295	0,0202	0,0184	-0,2115
aD/SL	0,2212	-0,354	0,1532	-0,0987	0,0083	0,0153	-0,0568	0,0165
lpc/SL	0,1689	-0,0453	-0,0901	-0,1109	0,1917	0,1278	-0,0529	0,0861
ID/SL	-0,0377	-0,0115	-0,0977	-0,1887	-0,2008	-0,1862	-0,0472	0,0842
IA/SL	0,1509	-0,0788	-0,1517	0,1469	-0,3353	0,1389	0,1399	-0,2413
IC/SL	0,022	-0,0486	-0,3545	0,2651	-0,0082	0,0158	-0,2148	0,0809
IP/SL	-0,1335	0,3716	0,3261	0,0061	0,0328	0,1576	-0,0368	-0,0773
IV/SL	0,069	-0,1107	0,0592	-0,1777	0,1005	-0,195	0,2066	0,0301
hco/c	0,0367	0,1401	0,1268	-0,0512	-0,0244	-0,0706	-0,1603	-0,0878
h/H	-0,3002	-0,1047	0,1497	0,2507	-0,1347	-0,0515	0,0533	0,1034
laco/c	0,042	-0,0542	-0,032	-0,0379	-0,0519	0,1218	0,0137	0,1172
lac/c	0,0177	0,0461	-0,0255	0,1561	0,1194	-0,1127	-0,0296	-0,0383
io/c	0,0585	0,0145	0,0178	0,0096	0,0165	-0,121	0,041	-0,0293
Oh/c	0,1658	0,0013	-0,1213	-0,1417	0,0386	-0,0993	-0,0101	-0,1888
prO/c	-0,0758	0,2514	-0,3203	-0,138	0,158	0,1427	0,1101	0,0352
poO/c	-0,5652	-0,1885	-0,146	-0,1722	0,0034	-0,0077	0,0285	-0,0776
laco/SL	-0,0439	-0,1408	-0,044	0,0417	0,0723	0,0727	0,0538	0,0077
lac/SL	-0,0224	0,0153	-0,0427	0,2732	0,2195	-0,1841	-0,0307	-0,1068
H/SL	0,1017	-0,0292	0,0482	0,1208	-0,0108	-0,0018	0,0138	0,0384

Tablica 8.6. Nastavak tablice

omjer/faktor	F17	F18	F19	F20	F21	F22	F23	F24
c/SL	0,0411	-0,0858	0,0792	-0,0577	-0,0261	0,0546	0,0395	-0,0084
Pan/SL	-0,2027	-0,0619	0,0453	0,0162	0,019	0,0127	0	-0,0001
aA/SL	0,0847	0,0733	0,0126	-0,0734	-0,1388	-0,0979	-0,0007	0
Van/SL	0,2071	0,0051	-0,1231	0,0494	0,0532	0,0858	0,0012	0,0001
aV/SL	0,0408	-0,0145	-0,0704	0,0239	0,0739	0,0781	0,001	0,0001
aP/SL	0,1025	0,0747	0,0357	0,1321	0,0873	-0,1255	-0,0035	0,0001
aD/SL	-0,0357	0,007	-0,0556	0,0021	-0,0172	-0,0054	0,0005	0,0001
lpc/SL	-0,0177	0,0287	0,0086	-0,028	0,018	0,0031	-0,0004	0,0001
ID/SL	0,131	0,1159	-0,0626	-0,0104	-0,0223	-0,0036	0,0013	0
IA/SL	-0,0824	0,0141	0,0449	-0,0085	-0,0338	0,0281	0,0013	-0,0001
IC/SL	0,0715	-0,0506	-0,0471	0,0242	-0,0075	-0,0045	0,0018	0,0002
IP/SL	-0,0568	0,0047	-0,1176	-0,0169	-0,0141	-0,0011	0	0,0001
IV/SL	-0,0965	0,0071	0,0872	0,0403	0,0083	0,0052	-0,0007	-0,0003
hco/c	0,2475	-0,0151	0,1624	-0,0181	-0,0264	0,0253	-0,0004	0,0001
h/H	-0,0029	-0,0315	-0,0194	-0,009	0,0304	-0,0119	-0,0001	-0,0001
laco/c	-0,0422	0,0315	-0,0337	0,0559	0,0151	-0,035	0,0212	-0,0156
lac/c	-0,0849	0,1168	-0,0442	0,0368	0,0072	-0,0156	0,0362	0,0167
io/c	0,0268	-0,3266	-0,0826	0,0705	-0,0446	-0,0662	0,0005	0
Oh/c	0,0028	-0,0051	-0,1614	-0,1401	-0,014	-0,0291	-0,0013	-0,0003
prO/c	0,0024	-0,0421	0,0338	-0,006	-0,0021	-0,0002	-0,0006	-0,0001
poO/c	0,0062	0,0019	-0,0428	-0,0396	0,0241	-0,0016	-0,0003	0,0001
laco/SL	-0,0031	-0,0727	0,0458	-0,0059	-0,0221	0,0395	-0,0198	0,0139
lac/SL	-0,0832	0,0945	-0,0204	0,0119	-0,0102	0,0292	-0,0273	-0,0122
H/SL	0,0116	-0,0578	0,0525	-0,1516	0,1815	-0,0641	-0,0004	0,0003

Tablica 8.7. Doprinos pojedinih prilagođenih mjera pojedinim faktorima PCA analize, dobiven temeljem korelacijske matrice

mjera/faktor	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
M (duljina sr. dijela repne peraje)	-0,8200	0,5648	0,0889	0,0069	-0,0041	0,0035	0,0104	-0,0095
M (TL)	-0,9912	-0,0275	0,0218	0,0179	0,0078	0,0260	-0,0310	0,0189
M (c)	-0,9904	-0,0476	0,0951	0,0262	-0,0110	-0,0009	0,0345	-0,0372
M (Pan)	-0,9962	-0,0107	0,0357	-0,0112	-0,0171	-0,0150	-0,0481	-0,0095
M (aA)	-0,9961	-0,0141	0,0414	-0,0063	-0,0177	-0,0076	-0,0498	-0,0014
M (Van)	-0,9874	0,0220	-0,0026	-0,0541	-0,0173	-0,0226	-0,1029	-0,0055
M (aV)	-0,9937	-0,0202	0,0567	0,0107	-0,0204	-0,0188	-0,0319	-0,0115
M (aP)	-0,9901	-0,0335	0,0928	0,0564	-0,0067	-0,0109	-0,0098	-0,0333
M (aD)	-0,9854	-0,0206	0,0069	0,0324	0,0618	-0,0980	0,0234	-0,0392
M (Ipc)	-0,9246	0,0362	-0,3090	0,1956	-0,0775	0,0305	-0,0037	-0,0403
M (ID)	-0,9768	0,0073	-0,1099	-0,0067	0,0745	-0,1047	0,0824	0,0072
M (IA)	-0,9704	0,0089	-0,1592	-0,0076	0,1114	-0,0785	-0,0669	0,0307
M (IC)	-0,9838	-0,0178	0,0430	0,0611	0,0569	0,0582	0,0065	0,0893
M (IP)	-0,9868	-0,0163	0,0142	0,0280	0,0047	0,0604	0,0723	0,0761
M (IV)	-0,9894	-0,0146	-0,0244	0,0231	0,0136	0,0445	0,0055	0,0962
M (hco)	-0,9921	-0,0321	0,0230	-0,0263	-0,0311	0,0339	0,0432	0,0113
M (H)	-0,9921	0,0030	-0,0127	-0,0857	0,0206	-0,0144	-0,0214	0,0348
M (h)	-0,9678	-0,0169	-0,0669	-0,0639	0,1223	0,1611	-0,0116	-0,1062
M (Iaco)	-0,9898	-0,0378	0,0527	-0,0237	-0,0311	-0,0100	0,0160	0,0091
M (Iac)	-0,9837	-0,0317	-0,0528	-0,1139	-0,0633	0,0290	-0,0267	0,0192
M (io)	-0,9645	0,0093	-0,1554	-0,1417	-0,1230	-0,0183	0,0418	-0,0087
M (Oh)	-0,9626	-0,0955	0,1584	0,1028	-0,0468	-0,0191	-0,0549	-0,0156
M (prO)	-0,9817	-0,0761	0,0790	-0,0340	0,0238	-0,0264	0,0703	-0,0549
M (poO)	-0,9876	-0,0426	0,0723	0,0254	-0,0339	0,0007	0,0546	-0,0263

Tablica 8.7. Nastavak tablice

mjera/faktor	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15	F16
M (duljina sr. dijela repne peraje)	0,0127	-0,0088	0,0005	0,0000	-0,0012	0,0041	0,0070	0,0000
M (TL)	-0,0212	0,0516	0,0276	0,0446	-0,0247	-0,0306	0,0562	-0,0017
M (c)	-0,0229	-0,0153	-0,0256	0,0024	0,0123	-0,0039	-0,0005	-0,0030
M (Pan)	-0,0341	0,0173	0,0036	-0,0172	-0,0041	-0,0119	0,0020	0,0022
M (aA)	-0,0339	0,0165	0,0075	-0,0103	0,0021	-0,0116	-0,0055	0,0025
M (Van)	-0,0537	0,0151	-0,0385	-0,0360	-0,0086	0,0028	-0,0278	-0,0071
M (aV)	-0,0210	0,0213	0,0395	-0,0006	0,0025	-0,0242	-0,0018	0,0028
M (aP)	-0,0346	0,0076	-0,0050	0,0124	0,0220	-0,0180	0,0110	-0,0061
M (aD)	0,0094	-0,0015	0,0845	0,0159	-0,0053	0,0253	-0,0473	0,0200
M (lpc)	-0,0232	0,0018	-0,0035	-0,0015	-0,0133	0,0243	-0,0039	-0,0067
M (ID)	0,0258	0,0535	-0,0592	-0,0050	-0,0371	-0,0145	0,0208	0,0250
M (IA)	0,0229	-0,0495	0,0001	0,0059	0,0661	-0,0062	0,0282	-0,0216
M (IC)	-0,0198	-0,0608	-0,0043	0,0581	-0,0482	-0,0117	-0,0154	-0,0134
M (IP)	0,0093	0,0350	0,0232	-0,0570	0,0470	0,0155	0,0117	-0,0321
M (IV)	-0,0058	-0,0123	-0,0055	-0,0492	-0,0107	-0,0210	-0,0312	0,0360
M (hco)	0,0151	0,0246	0,0398	0,0117	0,0209	0,0130	0,0110	0,0210
M (H)	0,0119	0,0156	-0,0054	-0,0037	-0,0189	0,0344	-0,0229	0,0008
M (h)	0,0423	0,0090	-0,0056	-0,0041	-0,0011	-0,0104	-0,0120	0,0042
M (laco)	0,0339	0,0436	-0,0390	0,0536	0,0115	0,0289	-0,0366	-0,0528
M (lac)	-0,0041	-0,0256	-0,0038	0,0233	-0,0016	0,0662	0,0392	0,0363
M (io)	0,0447	-0,0338	0,0225	0,0031	-0,0098	-0,0601	-0,0118	-0,0192
M (Oh)	0,1432	-0,0242	-0,0125	-0,0282	-0,0205	0,0034	0,0160	0,0050
M (prO)	-0,0604	-0,0544	0,0047	-0,0451	-0,0413	0,0222	0,0291	-0,0337
M (poO)	-0,0292	-0,0306	-0,0465	0,0259	0,0605	-0,0149	-0,0140	0,0406

Tablica 8.7. Nastavak tablice

mjera/faktor	F17	F18	F19	F20	F21	F22	F23	F24
M (duljina sr. dijela repne peraje)	-0,0018	0,0037	-0,0023	-0,0010	0,0009	-0,0005	-0,0001	-0,0001
M (TL)	-0,0530	0,0187	0,0040	0,0040	-0,0130	-0,0046	-0,0009	0,0003
M (c)	0,0137	-0,0108	0,0225	-0,0225	-0,0212	-0,0328	-0,0024	0,0033
M (Pan)	0,0212	0,0027	-0,0044	0,0113	0,0072	-0,0043	0,0232	0,0056
M (aA)	0,0260	0,0060	0,0012	0,0084	0,0052	-0,0085	-0,0011	-0,0182
M (Van)	-0,0405	-0,0376	0,0107	0,0041	0,0125	0,0013	-0,0068	0,0031
M (aV)	0,0526	0,0201	-0,0107	0,0160	0,0074	0,0021	-0,0140	0,0085
M (aP)	0,0142	-0,0103	0,0120	-0,0422	-0,0063	0,0285	0,0017	-0,0012
M (aD)	-0,0241	0,0032	0,0234	-0,0027	0,0066	-0,0010	0,0017	-0,0003
M (lpc)	0,0024	0,0008	-0,0067	0,0031	-0,0060	0,0000	-0,0002	0,0000
M (ID)	0,0168	-0,0100	0,0071	0,0020	0,0107	0,0016	-0,0010	-0,0004
M (IA)	0,0000	0,0019	-0,0149	-0,0030	-0,0007	-0,0044	-0,0003	0,0003
M (IC)	0,0162	-0,0261	0,0109	0,0112	0,0078	0,0025	0,0007	0,0001
M (IP)	-0,0011	-0,0060	0,0362	0,0138	0,0029	0,0035	0,0001	0,0003
M (IV)	-0,0156	0,0353	-0,0214	-0,0284	0,0040	-0,0029	-0,0004	0,0008
M (hco)	-0,0019	-0,0537	-0,0527	-0,0065	0,0047	-0,0044	-0,0001	-0,0005
M (H)	0,0133	0,0005	-0,0082	0,0099	-0,0544	0,0091	0,0004	-0,0001
M (h)	0,0035	0,0038	0,0035	0,0009	0,0043	0,0014	0,0000	-0,0001
M (laco)	-0,0062	0,0271	-0,0192	-0,0084	0,0163	-0,0027	0,0007	0,0002
M (lac)	0,0120	0,0136	0,0247	-0,0092	0,0157	0,0011	-0,0010	0,0009
M (io)	-0,0047	-0,0039	0,0124	-0,0028	-0,0025	0,0022	0,0009	-0,0006
M (Oh)	-0,0069	-0,0035	0,0008	0,0062	0,0000	0,0017	-0,0002	-0,0004
M (prO)	-0,0137	0,0137	-0,0259	0,0044	0,0032	0,0038	-0,0012	-0,0010
M (poO)	-0,0233	0,0114	-0,0031	0,0315	-0,0051	0,0074	0,0002	-0,0003

Tablica 8.8. Popis istraživanih sekvenci po pojedinim haplotipovima korištenim u izradi filogenetičke mreže gena za beta aktin (Popis skraćenica: BiH-Bosna i Hercegovina, RH-Hrvatska)

Haplotip	Sekvence	Lokalitet
HAP1	SCRA1_1,SCRA1_2,SCRA2_1,SCRA3_1,SCRA3_2,SCRA5_1,SCRA5_2,SCRA6_1,SCRA6_2,SCRA8_1, SCRA8_2	Ravno polje BiH
	SCGU1_1,SCGU1_2,SCGU3_1,SCGU3_2,SCGU5_1,SCGU5_2,SCGU6_1,SCGU6_2,SCGU7_1,SCGU7_2,SCGU8_1,SCGU8_2,SCGU9_1,SCGU9_2,SCGU10_1,SCGU10_2	Guduča RH
	SCVR1_1,SCVR1_2,SCVR2_1,SCVR2_2,SCVR3_1,SCVR3_2,SCVR4_1,SCVR4_2,SCVR5_1,SCVR6_1,SCVR6_2,SCVR7_1,SCVR7_2,SCVR8_1,SCVR8_2,SCVR10_1,SCVR10_2,SCVR11_1,SCVR11_2	Vransko jezero Biograd RH
	SCCR12_1,SCCR12_2,SCCR14_1,SCCR14_2,SCCR16_1,SCCR16_2	Vransko jezero Cres RH
	SCST1_1,SCST2_1	Štikada RH
	SCVZ1_1,SCVZ1_2,SCVZ2_1,SCVZ2_2,SCVZ3_1,SCVZ3_2	Veliki Ždralovac BiH
HAP2	SCRA2_2	Ravno polje BiH
HAP3	SCVR5_2	Vransko jezero Biograd RH
HAP4	SCST1_2,SCST2_2	Štikada RH

Tablica 8.9. Popis istraživanih sekvenci po pojedinim haplotipovima korištenim u izradi filogenetičke mreže gena za BMP (Popis skraćenica: BiH-Bosna i Hercegovina, RH-Hrvatska)

Haplotip	Sekvence	Lokalitet
HAP1	SCVI2_1,SCVI5_1,SCVI5_2	jezero Visovac RH
	SCRU1_1,SCRU1_2,SCRU2_1,SCRU2_2,SCRU3_1,SCRU5_1,SCRU6_1	Ruda RH
	SCKU2_1,SCKU2_2,SCKU4_1,SCKU7_1	jezero Kuti RH
	SCHB1_1,SCHB3_1	Hutovo blato BiH
	SCRA1_1,SCRA1_2,SCRA2_1,SCRA2_2,SCRA3_1,SCRA3_2,SCRA5_1,SCRA5_2,SCRA6_1,SCRA6_2,SCRA8_1,SCRA8_2,SCRA9_1,SCRA9_2	Ravno polje BiH
	SCGU2_1 SCGU2_2 SCGU3_1 SCGU3_2 SCGU5_1 SCGU5_2 SCGU6_1 SCGU6_2 SCGU7_1 SCGU7_2 SCGU9_1 SCGU9_2 SCGU10_1 SCGU10_2	rijeka Guduča RH
	SCKR1_1	rijeka Krka RH
	SCCR11_1,SCCR11_2,SCCR12_1,SCCR12_2,SCCR14_1,SCCR14_2,SCCR15_1,SCCR15_2,SCCR16_1,SCCR16_2,SCCR17_1,SCCR17_2,SCCR19_1,SCCR20_1,SCCR20_2	Vransko jezero Cres RH
	SCVR1_1,SCVR1_2,SCVR2_1,SCVR2_2,SCVR3_1,SCVR3_2,SCVR4_1,SCVR4_2,SCVR5_1,SCVR6_1,SCVR6_2,SCVR7_1,SCVR7_2,SCVR8_1,SCVR8_2	Vransko jezero Biograd RH
	SCST1_1,SCST1_2,SCST2_1,SCST2_2	jezero Štikada RH
	SCVZ1_1,SCVZ1_2,SCVZ2_1,SCVZ2_2,SCVZ3_1,SCVZ3_2	Veliki Ždralovac BiH

Tablica 8.9. Nastavak tablice

Haplotip	Sekvence	Lokalitet
HAP2	SCVI2_2	jezero Visovac RH
HAP3	SCRU3_2	rijeka Ruda RH
	SCKU3_1	jezero Kuti RH
HAP4	SCRU5_2	rijeka Ruda RH
HAP5	SCRU6_2	rijeka Ruda RH
	SCKU4_2	jezero Kuti RH
	SCHB1_2,SCHB3_2	Hutovo blato BiH
HAP6	SCKU3_2	jezero Kuti RH
HAP7	SCKU7_2	jezero Kuti RH
HAP8	SCKR1_2	rijeka Krka RH
HAP9	SCCR19_2	Vransko jezero Cres RH
HAP10	SCVR5_2	Vransko jezero Biograd RH
HAP11	SCMO1_1	Modro oko RH
HAP12	SCMO1_2	Modro oko RH

9. ŽIVOTOPIS

Marija Sabolić rođena je 19. srpnja 1986. godine u Bjelovaru. Srednju glazbenu školu „Vatroslav Lisinski“ u Bjelovaru, glavni predmet klavir, završila je 2004. godine s odličnim uspjehom, a Opću Gimnaziju Bjelovar 2005. godine, također s odličnim uspjehom. Iste godine upisala je Preddiplomski studij Biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, koji je završila 2008. godine te nastavila obrazovanje na Diplomskom studiju Biologije, smjer Ekologija i zaštita prirode, na kojem je 2011. godine stekla zvanje Magistre ekologije i zaštite prirode. 2010. godine dobila je pohvalnicu Fakultetskog vijeća za izuzetan uspjeh na studiju. Doktorski studij Biologije na PMF-u upisala je 2014. godine, a tijekom 2016. i 2017. godine bila je na stručnom usavršavanju na Sveučilištu u Oxfordu.

Tijekom 2012. i 2013. godine bila je na stručnom usavršavanju u Odsjeku za zaštitu okoliša, Upravnom odjelu za graditeljstvo i komunalnu infrastrukturu u Bjelovarsko – bilogorskoj županiji, nakon kojeg je 2013. godine položila i državni stručni ispit iz područja zaštite okoliša. Godine 2013. zaposlila se u tadašnjem Državnom zavodu za zaštitu prirode kao stručna suradnica. Tijekom 2017. i 2018. godine radila je kao savjetnica u Odsjeku za ocjenu prihvatljivosti zahvata za prirodu u Hrvatskoj agenciji za okoliš i prirodu, a tijekom 2018. i 2019. kao voditeljica Odjela za ocjenu prihvatljivosti zahvata za prirodu. Krajem 2019. godine postala je voditeljica Službe za ekološku mrežu i održivost korištenja prirodnih dobara u Zavodu za zaštitu okoliša i prirode pri Ministarstvu gospodarstva i održivog razvoja.

Tijekom 2016. i 2017. godine bila je članica Upravnog vijeća parka prirode Kopački rit, a od 2018. do danas je članica Upravnog vijeća u nacionalnom parku Paklenica. Od 2014. godine do danas sudjeluje u pripremi i provedbi projekata iz djelokruga rada Zavoda za zaštitu okoliša i prirode te je objavila osam stručnih i znanstvenih priopćenja na domaćim i međunarodnim kongresima. Također, objavila je dva znanstvena članka u časopisima s međunarodnom recenzijom.