

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Dubravka V. Škraba Jurlina

**REKONSTRUKCIJA EVOLUCIONE ISTORIJE
KOMPLEKSA POTOČNE PASTRMKE
Salmo cf. trutta ZAPADNOG BALKANA:
DIFERENCIJACIJA I DIVERZITET**

doktorska disertacija

Beograd, 2020

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Dubravka V. Škraba Jurlina

**RECONSTRUCTION OF THE
EVOLUTIONARY HISTORY OF THE BROWN
TROUT COMPLEX *Salmo cf. trutta* OF THE
WESTERN BALKANS: DIFFERENTIATION
AND DIVERSITY**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2020

MENTORI:

dr Predrag Simonović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

dr Danilo Mrdak, vanredni profesor

Univerzitet Crne Gore, Prirodno-matematički fakultet

ČLANOVI KOMISIJE ZA PREGLED, OCENU I ODBRANU:

dr Marina Piria, redovni profesor

Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet

dr Vera Nikolić, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

dr Marija Savić Veselinović, docent

Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

dr Ana Marić, docent

Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

dr Jelena Karanović, naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

Datum odbrane: _____

ZAHVALNICA

Posebno se zahvaljujem mentorima, prof. dr Predragu Simonoviću i prof. dr Danilu Mrdaku na pruženoj prilici za saradnju u naučno-istraživačkom radu, za neizmernu pomoć tokom terenskog rada, kao i za podsticaj, posvećenost i korisne komentare i sugestije pri izradi naučnih radova i doktorske disertacije.

Ogromnu zahvalnost dugujem prof. dr Veri Nikolić i doc. dr Ani Marić za pruženu pomoć tokom terenskog rada, kao i rada u Centru za genotipizaciju ribolovnih resursa, korisne smernice i korekcije vezane za izradu ove doktorske disertacije, kao i za podršku tokom svih ovih godina rada na Biološkom fakultetu.

Sastavni deo tima tokom terenskih istraživanja bila je i prof. dr Marina Piria, kojoj se toplo zahvaljujem za pomoć i izdvojeno vreme, kao i korisne sugestije koje je dala prilikom čitanja teze.

Profesorki dr Dušanki Savić-Pavićević i njenom timu, dr Jeleni Karanović, dr Milošu Brkušaninu, dr Jovanu Pešoviću i Neveni Kotarac, bez kojih analiza rezultata ne bi bila moguća, od srca se zahvaljujem na izdvojenom vremenu i posvećenosti.

Veliku pomoć u programskoj analizi rezultata pružila je doc. dr Marija Savić Veselinović, kao i korisne komentare i smernice tokom izrade doktorske disertacije, za šta joj dugujem neizmernu zahvalnost.

Posebnu zahvalnost dugujem dr Jeleni Karanović za izdvojeno vreme, strpljenje i data uputstva prilikom laboratorijske analize uzoraka, kao i za izuzetno korisne savete i komentare koje je uputila prilikom čitanja teze.

Veliku zahvalnost dugujem doc. dr Tamari Karan-Žnidaršič za podršku, razumevanje i izlaženje u susret pri izvođenju nastave tokom perioda izrade doktorske teze.

Tokom terenskih istraživanja, veliku pomoć pružili su Vukoica Despotović, Željko Mirković i Đura Mirković, kojima se zahvaljujem na uloženom trudu i izdvojenom vremenu.

Zorici Božić se od srca zahvaljujem na posvećenosti i vremenu koje je izdvojila za sređivanje i tehničku obradu ove doktorske disertacije.

Svojim dragim kolegama, Zoranu i Milošu, hvala za razumevanje i podršku koju su mi pružili tokom zajedničkog rada.

Na kraju, neizmerna podrška mojih prijatelja i porodice bila je od izuzetne važnosti od početka rada na ovoj doktorskoj tezi. Od srca se zahvaljujem svojim roditeljima, Olgi i Vladi, za pruženu ljubav, strpljenje i brigu tokom svih ovih godina. Suprugu Srđanu hvala za tehničku podršku pri izradi naučnih radova, kao i za razumevanje i pruženu ljubav.

Rekonstrukcija evolucione istorije kompleksa potočne pastrmke *Salmo cf. trutta* zapadnog Balkana: diferencijacija i diverzitet

Sažetak

Filogenija i sistematika u drugoj polovini 20. veka sve više se zasnivaju na molekularnim metodama kojima se nastoje rešiti kompleksni odnosi između rodova i vrsta u okviru porodice Salmonidae. U ovom radu, kao molekularno-genetički markeri korišćeni su kontrolni region mitohondrijalne DNK (CR mtDNK), mikrosateliti i jedarni *LDH-C** gen, važan dijagnostički marker koji se dobro pokazao u rešavanju problema postglacijalne kolonizacije populacija *S. trutta*. Krajem 20. veka definisane su jasne filogeografske linije pastrmki – atlantska (AT), dunavska (DA), mediteranska (ME), jadranska (AD) i *marmoratus* linija (MA). Zapadni deo Balkana čini jadransko-mediteranska oblast sa najvećim fenotipskim diverzitetom među pastrmskim populacijama, dok veliki deo unutrašnje teritorije pripada crnomorskom slivu. U ovoj disertaciji analizirane su potočne pastrmke iz reka crnomorskog sliva u Bosni i Hercegovini, i reka jadranskog sliva u Crnoj Gori, sa ciljem utvrđivanja genetičke strukture i raznovrsnosti populacija kompleksa *S. cf. trutta* na području zapadnog Balkana, uzimajući u obzir potencijalne hibridizacione procese. U rekama crnomorskog sliva detektovana su dva haplotipa DA (Da2, Da22), i jedan AT linije (At1). U jadranskom slivu ustanovljeno je šest haplotipova iz tri linije: AD (ADcs11, Ad+Prz), DA (Da1, Da2) i AT (A17, At1). U gotovo svim rezidentnim populacijama primećeno je ukrštanje između autohtonih i introdukovanih jedinki. Invazivni efekti stranih haplotipova potočne pastrmke (At1, A17, Da2) u analiziranim rekama otkriveni su u proceni rizika od strane autora navedenih u ovoj disertaciji. Nužno je ustanoviti politiku upravljanja pastrmskim ribolovom i mere konzervacije kako bi se redukovao rizik koji neadekvatno poribljavanje predstavlja po autohtoni fond potočne pastrmke.

Ključne reči: potočna pastrmka, kontrolni region, mikrosateliti, zapadni Balkan, diverzitet, diferencijacija, konzervacija

Naučna oblast: Biologija

Uža naučna oblast: Morfologija, sistematika i filogenija

Reconstruction of the evolutionary history of the brown trout complex *Salmo cf. trutta* of the western Balkans: differentiation and diversity

Abstract

Phylogeny and systematics in the second half of the 20th century are mostly based on molecular methods that seek to resolve complex relationships between genera and species within the Salmonidae family. In this research, the following molecular genetic markers were used: mitochondrial DNA (CR mtDNA) control region, microsatellites and nuclear *LDH-C* * gene, an important diagnostic marker that has proven particularly well for addressing postglacial colonization of *S. trutta* populations. At the end of the 20th century clear phylogeographic lineages of brown trout were defined – Atlantic (AT), Danubian (DA), Mediterranean (ME), Adriatic (AD), and marmoratus (MA). Western part of Balkan is made up of the Adriatic-Mediterranean area, which represents the area of greatest phenotypic diversity among trout populations, while a large part of its inland territory belongs to the Black Sea basin. In this dissertation, brown trout from the rivers of the Black Sea basin in Bosnia and Herzegovina, and the rivers of the Adriatic basin in Montenegro were analyzed, with the aim of determining the genetic structure and diversity of populations of the complex of brown trout *S. cf. trutta* in the Western Balkans, taking into account potential hybridization processes. In rivers of the Black Sea basin, three haplotypes were detected, two of which belong to the DA lineage (Da2 and Da22), and one haplotype belongs to the AT lineage (At1). Six haplotypes from three lineages were detected in the Adriatic basin: AD (ADcs11, Ad + Prz), DA (Da1, Da2) and AT (A17, At1). In almost all resident populations, crossing between autochthonous and introduced individuals was observed. The invasive effects of foreign haplotypes of brown trout (At1, A17, Da2) in analyzed trout rivers were discovered in a risk assessment by the authors cited in this dissertation. There is a great need to establish a trout fisheries management policy and conservation measures to reduce the possible risk that inadequate stocking may pose to an indigenous trout stock.

Key words: brown trout, control region, microsatellites, western Balkans, diversity, differentiation, conservation

Scientific field: Biology

Scientific subfield: Morphology, systematics and phylogeny

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Karakteristike porodice Salmonidae	1
1.1.1. Poreklo i rasprostranjenje	1
1.1.2. Klasifikacija i opšte odlike salmonida	1
1.1.3. Evolucija i genetika salmonida	2
1.1.4. Filogenija porodice Salmonidae.....	3
1.1.5. Rasprostranjenost i poreklo salmonidnih vrsta na Balkanskom poluostrvu	5
1.1.6. Uticaj glacijacija na distribuciju vrsta porodice Salmonidae	9
1.1.7. Kompleks potočne pastrmke <i>Salmo cf. trutta</i>	11
1.1.7.1. Opšte odlike i oblast rasprostranjenosti	11
1.1.7.2. Taksonomija kompleksa potočne pastrmke <i>Salmo cf. trutta</i>	12
1.1.7.3. Genetika kompleksa vrsta <i>Salmo cf. trutta</i>	13
1.1.7.4. Filogenija i filogeografija kompleksa potočne pastrmke <i>Salmo cf. trutta</i>	15
1.2. Molekularni markeri	18
1.2.1. Mitohondrijalna DNK	18
1.2.2. Mikrosateliti.....	20
1.2.3. <i>LDH*C</i> lokus.....	21
1.3. Analizirana područja.....	21
1.3.1. Područje Nacionalnog parka Una	22
1.3.2. Područje Crne Gore	25
1.3.2.1. Opšte odlike	25
1.3.2.2. Hidrološke osobine	26
2. CILJEVI RADA	29
3. MATERIJAL I METODE.....	30
3.1. Molekularno-genetičke analize	32
3.1.1. Ekstrakcija DNK	32
3.1.1.2. Tehnika izolacije DNK iseljavanjem.....	32
3.1.1.3. Quick-gDNA™ MiniPrep.....	33
3.1.1.4. Amplifikacija	33

4. REZULTATI	36
4.1. Analiza kontrolnog regiona mtDNK	36
4.2. Analiza <i>LDH-C*</i> lokusa	43
4.3. Analiza mikrosatelitskih lokusa	45
5. DISKUSIJA.....	58
6. ZAKLJUČAK.....	71
7. LITERATURA	73

1. UVOD

1.1. KARAKTERISTIKE PORODICE SALMONIDAE

1.1.1. POREKLO I RASPROSTRANJENJE

Na osnovu paleontoloških nalaza je utvrđeno da postojanje salmonidnih vrsta datira još iz eocenske epohe, početka tercijara, dok je krajem tercijara i početkom kvartara njihova rasprostranjenost bila značajna (Mitrović i Pavlović, 1980). Do danas nisu usaglašeni stavovi o poreklu salmonida – pojedini autori smatraju da potiču iz marinskih staništa (Schmidt, 1947), dok drugi smatraju da su poreklom iz slatkovodnih staništa (Neave, 1958; Vladykov, 1963).

Salmonidae naseljavaju severne delove Atlantskog okeana i Pacifika, delove Severnog ledenog mora, reke i mora Evrope, Severne Amerike, Severne Afrike i zapadne Azije, tako da imaju cirkumpolarno rasprostranjenje (Lagler, 1977). Pored severne Zemljine hemisfere, prisutne su i na južnoj, gde su introdukovane u vode Afrike, Australije, Novog Zelanda i Južne Amerike, pre svega zbog njihovog komercijalnog značaja (Wheeler, 1992).

1.1.2. KLASIFIKACIJA I OPŠTE ODLIKE SALMONIDA

Classis Osteichthyes

Subclassis Actinopterygii

Infraclassis Teleostei

Superordo Protacanthopterygii

Ordo Salmoniformes

Familia Salmonidae

Red Salmoniformes (Slika 1) obuhvata anadromne grupe, koje veći deo životnog ciklusa provode u morima, kao i potamodromne grupe, koje svoj život provode isključivo u slatkim vodama (na primer, rodovi *Hucho*, *Salmothymus*, *Salvethymus*). Kod salmonidnih riba iza dorzalnog peraja postoji dobro razvijeno adipozno-masno peraje. Anadromne predstavnike odlikuje primarna metamorfoza koja se dešava tokom nizvodnih migracija. Sekundarna metamorfoza, naročito kod mužjaka, odvija se tokom uzvodnih migracija pred period mresta, kada nastaju izraženije morfološke promene poput izmena u glavenom skeletu i zamene trofičkih zuba reproduktivnim (nupcijalnim). Navedene promene mogu biti trajne, kao kod pacifičkih lososa (*Oncorhynchus* spp.), ili prolazne, kao kod pripadnika roda *Salmo* i nekih drugih rodova, gde se morfološke karakteristike nastale sekundarnom metamorfozom tokom nizvodnih migracija posle reprodukcije delimično gube, odnosno dolazi do "regresivne metamorfoze". Ciklus morfoloških promena i njihovog nestanka u sledećem periodu mresta se ponavlja (Saunders i Schom, 1985). Salmonidne vrste svrstavaju se u mesoždere - predatore, hrane se akvatičnim insektima, račićima i manjom ribom (McDowell, 1998).

Ordo **Salmoniformes**

Familia **Salmonidae**

Subfamilia Coregoninae

Coregonus

Prosopium

Stenodus

Subfamilia Thymallinae

Thymallus

Subfamilia Salmoninae

Brachymystax

† *Eosalmo*

Hucho

Oncorhynchus

Parahucho

Salmo

Salvelinus

Salvethymus

Slika 1. Klasifikacija unutar porodice Salmonidae reda Salmoniformes (Nelson, 1994)

Salmonidae imaju niz predačkih odlika Teleostei, sa trbušnim perajima smeštenim više unazad (predanalni položaj), i adipoznim perajem, koje je jedna od osnovnih, zajedničkih osobina vrsta iz ove familije, na leđnom delu repne drške. Odlikuje ih vitko telo, vretenastog oblika, prekriveno sitnim krljuštima koje nisu zastupljene jedino na glavi, kao i račvastim repnim perajem, dok u ustima na viličnim kostima poseduju jedan red oštih zuba (McDowell, 1998). Na bokovima poseduju tačke crvene i crne boje (ili isključivo jedne boje), kao i pruge i šare, čiji broj i raspored zavisi od toga o kojoj se vrsti radi (McDowell, 1998). Veličina tela varira i kreće se u rasponu od oko 13 cm dužine kod adulta najsitnijih vrsta, do čak dva metra kod najkrupnijih vrsta (Rainer i Pauly, 2008).

Danas se smatra da porodicu Salmonidae čine tri grupe koje se taksonomski definišu kao podfamilije – Coregoninae (ozimice), Thymallinae (lipljeni) i Salmoninae (lososi, pastrmke), i generalno, sve tri grupe prihvaćene su, pre svega u svrhu pronalaza i izdvajanja grupa izvedenih, sinapomorfni osobina koje bi ukazale na monofiletsko poreklo (McPhail i Strouder, 1997). Međutim, pojedini autori (Simonović, 2001; Kottelat i Freyhof, 2007) smatraju da u porodici Salmonidae ne postoji podela na potporodice, te ovde svrstavaju samo pastrmke, losose, mladice, lenok i zlatovčice, bez lipljena i ozimica, dok tradicionalna klasifikacija (Starley i Smith, 1993; Crisp, 2000; Klemetsen i sar., 2003) u okviru ove porodice prepoznaje tri navedene potporodice, prisutne i u okviru univerzalnog taksonomskog informacionog sistema - ITIS (eng. Integrated Taxonomic Information System, 2003).

1.1.3. EVOLUCIJA I GENETIKA SALMONIDA

Salmonidae se prvi put pojavljuju u vidu fosilnog nalaza koji datira iz srednjeg eocena sa vrstom *Eosalmo driftwoodensis*, koja je opisana u fosilnim nalazima iz pokrajine Drftvud Krik (eng. Driftwood Creek), centralnog dela Britanske Kolumbije u Kanadi. *E. driftwoodensis* je trenutno najstarija potvrđena vrsta koja poseduje zajedničke karakteristike sa potporodicama Salmoninae i Thymallinae, pa se stoga smatra drevnom vrstom koja odslikava važan stadijum u evoluciji salmonida (McPhail i Strouder, 1997). U nalazima fosila vrsta porodice Salmonidae dolazi do prekida nakon pronalaska vrste *Eosalmo driftwoodensis* sve do pre sedam miliona godina (kasni miocen) kada su pronađeni fosili nalik pastrmkama u Ajdahu (SAD) u jezeru Klarkija (eng. Clarkia Lake beds), čije je uzano i duboko korito još od miocena ostalo tektonski stabilno, sa hladnom

vodom, u anoksičnim uslovima sa brzom sedimentacijom, pa je oduvek predstavljalo idealne uslove za proces fosilizacije (Smiley, 2006; Anonymous, 2006; Rember, 2007). Za nekoliko od ovih fosilnih nalaza ispostavilo se da su vrste koje pripadaju rodu *Oncorhynchus*, a njihovo prisustvo u dalekoj unutrašnjosti kopna dovelo je do zaključka da ne samo da je ovaj rod bio prisutan u pacifičkim slivovima pre početka pliocena (pre pet do šest miliona godina), već da su *Oncorhynchus clarkii* i *Oncorhynchus mykiss*, i ostale vrste koje se danas smatraju pacifičkim lososima, divergirale pre početka pliocena, i da se tada desilo odvajanje između rodova *Salmo* (Atlantski lososi) i *Oncorhynchus*, mada pojedini naučnici smatraju da se odvajanje moglo desiti i na početku miocena, tj. pre 20 miliona godina (McPhail i Strouder, 1997; Montgomery, 2000).

Na osnovu najnovijih istraživanja došlo se do zaključka da su Salmonidae divergirale od ostalih Teleostei tokom kasne krede, pre 88 miliona godina, kao i da je taj događaj obeležen duplikacijom čitavog genoma kod predačke salmonidne vrste, koja je tom prilikom od diploidne postala tetraploidna (Allendorf i Thorgaard, 1984; Macqueen i Johnston, 2014). U evolucionoj istoriji salmonida ovo je četvrta duplikacija ovog tipa, s tim što se prve dve duplikacije odnose na sve Vertebrata sa koštanim skeletom, dok se treća specifično odnosi na Teleostei (Macqueen i Johnston, 2014). S obzirom da su istraživanja pokazala da je genom vrsta porodice Salmonidae bio pod uticajem prirodne selekcije ne bi li se vratio u diploidno stanje, sve recentne vrste ove porodice predstavljaju dokaz o delimičnoj tetraploidiji, što je podržano rezultatima istraživanja rađenim na dužičastoj pastrmki *Oncorhynchus mykiss* čiji je genom i dalje delimično tetraploidan. Otprilike polovina dupliciranih gena koji kodiraju proteine bila je u procesu selekcije izgubljena, dok, na primer, sve mikro RNK (miRNK) sekvence postoje u duplikatima. Smatra se da se ovakav obrazac delimične tetraploidije odražava i na ostale recentne Salmonidae (Berthelot i sar., 2014; Zhivotovsky, 2015). Genom prve fosilne vrste porodice Salmonidae koja pokazuje osobine povezane sa onim kod recentnih vrsta, *E. driftwoodensis*, ne može biti sekvenciran, pa stoga nema dokaza da je tetraploidnost postojala kod ove vrste u srednjem eocenu. *E. driftwoodensis* je znatno mlađa od pretpostavljenog vremena tokom kojeg se desila divergencija porodice Salmonidae od ostalih Teleostei, što bi značilo da Salmonidae imaju „nevidljivu” evolucionu liniju od blizu 33 miliona godina. Usled nemogućnosti izolacije DNK iz fosilnih uzoraka, kao i nedostatka ranijih prelaznih fosilnih oblika, utvrđivanje tačnog vremenskog perioda kada je došlo do događaja duplikacije genoma salmonida predstavlja izuzetno široku kategorizaciju vremena koja se kreće u rasponu od 25 do 100 miliona godina starosti (Berthelot i sar., 2014). Novi napredak u analizama kalibrisanog relaksiranog molekularnog sata (Drummond i sar., 2006) – modela koji predstavlja sredinu između hipoteze „striktnog” molekularnog sata i modela većeg broja stopa (eng. *Many-rates Model*) (Felsenstein, 2001) i omogućen je MCMC (eng. *Markov Chain Monte Carlo*) tehnikama, obezbedio je temeljniji uvid u genom salmonida i omogućio preciznije utvrđivanje vremena u kome se dogodila duplikacija čitavog genoma grupe, pa je tako po poslednjim proračunima utvrđeno vreme pomenutog događaja na period pre 88 miliona godina (Macqueen i Johnston, 2014). Navedeno je doprinelo većem broju rasprava o radijaciji vrsta u okviru porodice Salmonidae jer, istorijski gledano, upravo događaj duplikacije genoma smatrao se uzrokom varijabilnosti vrsta te porodice. Rezultati analiza dobijeni uz pomoć molekularnog sata otkrili su da se specijacija ove grupe uglavnom dešavala tokom perioda naglih klimatskih promena, u vezi sa poslednjim ledenim dobima, sa naročito visokim stopama specijacije kod salmonida koje se odlikuju anadromnim načinom života (Macqueen i Johnston, 2014).

1.1.4. FILOGENIJA PORODICE SALMONIDAE

Filogenetski odnosi unutar porodice Salmonidae u prošlosti su najpre bili zasnovani na analizama morfoloških karaktera. Još 1963. godine Vladykov je pokušavao da reši prethodno postavljeni taksonomski problem koji je podrazumevao razdvojenost pacifičkih pastrmki i lososa, pa je stoga uveo rod *Parasalmo* za pacifičke pastrmke. Na taj način nije uspeo da reši filogenetski problem po kome se pacifičke pastrmke svrstavaju bliže rodu *Oncorhynchus*, a ne rodu *Salmo* kako

je do tada važno (Starley i Smith, 1993). Oni su na osnovu morfoloških analiza potvrdili bliskost pacifičkih pastrmki i lososa (*Oncorhynchus*) sa atlantskim lososima i pastrmkama (*Salmo*), dok su rodovi *Hucho* i *Salvelinus* svrstani u njima sestrinsku grupu, a *Brachymystax* predstavlja najudaljeniji recentni rod. Međutim, generalno je poznato da visok nivo fenotipske plastičnosti koji karakteriše potočnu pastrmku, kao i većinu vrsta porodice Salmonidae, ograničava upotrebljivost morfoloških karaktera u rešavanju fiogenetskih veza (Behnke, 1972).

Filogenija i sistematika u drugoj polovini 20. veka sve više se zasnivaju na molekularnim metodama kojima se nastoje rešiti kompleksni odnosi između rodova i vrsta u okviru porodice Salmonidae. Ferguson i Fleming (1983) i Cross (1989) prvi vrše temeljnija istraživanja uz upotrebu alozima i potvrđuju srodnost između atlantskog lososa *Salmo salar* i potočne pastrmke *Salmo trutta*, kao i njihovu udaljenost od ostalih rodova te porodice. Berg i Ferris (1984) i Gyllensten i Wilson (1987) analizom mitohondrijalne DNK (mtDNK) potvrđuju prethodno navedene zaključke. Sanfordovi (1990, 2000) izveštaji o osteološkim sinapomorfijama, studija koju su izveli Oakley i Phillips (1999) o intronima gena za hormon rasta, kao i pomenuta istraživanja Snoja i sar. (2002) o kontrolnom regionu mtDNK (eng. *Control Region* - CR), citohromu b i *LDH-C** genima, svrstavaju zapadnobalkanski endemični rod *Salmothymus*, uključujući i rod *Acantholingua*, na intermedijarnu poziciju (Snoj i sar., 2002), između atlantskog lososa *Salmo salar* L. i pet drugih molekularnih linija roda *Salmo*, implicirajući na taj način sinonimiju *Salmothymus* u rodu *Salmo*, jer je genetička distanca između rodova *Salmothymus*, *Acantholingua* i *Salmo* mala. Među vrstama porodice Salmonidae, pastrmka Ohridskog jezera *Salmo letnica* (Karaman, 1924) predstavlja element Jadranske slatkovodne faune, s obzirom da je jasno pozicionirana u Jadranski klaster *S. trutta* mtDNK filogenije (*S. trutta*, Bernatchez, 2001 i Apostolidis i sar, 1997; *S. letnica*, Sell i Spirikovski, 2004). Istraživanje koje su sproveli Sell i Spirikovski (2004) dodatno dokazuje da postoje dve reproduktivno izolovane jedinice u okviru ovog taksona. Nasuprot ovoj, po svojoj prilici, modernoj liniji, *Salmo ohridanus* predstavlja liniju koja se znatno razlikuje, tj. divergirala je od *S. trutta*. *S. ohridanus*, lokalno poznata i kao belvica (bela riba), imala je raznoliku taksonomsku istoriju. Bila je smeštena u isti rod (*Salmothymus*) (Berg, 1910) kao i jadranska endemična mekousna pastrmka (*S. obtusirostris*), kasnije smeštena u monotipski rod kao *Acantholingua ohridana* (Hadžišće, 1961), a nedavno reklasifikovana od strane Phillips i sar. (2000) kao *Salmo ohridana* (ispravno *S. ohridanus*, na taj način kompletirajući „krug“ kao što pretpostavlja originalno ime koje je dao Steindachner), i sada se smatra sestrinskom vrstom sa mekousnom pastrmkom *Salmo obtusirostris* (Snoj i sar., 2002).

Oakley i Phillips (1999) otkrivaju nov položaj roda *Brachymystax*, u okviru grane roda *Hucho*. Rod *Salvethymus* je retko bio predmet istraživanja baziranih na molekularnim metodama. Međutim, Phillips i Oakley (1997) i Brunner i sar. (2001) na osnovu rezultata svojih molekularno-genetičkih istraživanja, svrstavaju ovaj monotipski rod u rod *Salvelinus*, kao ishodišnu vrstu za *S. alpinus* (Brunner i sar. 2001).

Prema katalogu ihtioloških taksona (eng. *Catalog of Fishes - CAS*, <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>) broj trenutno dostupnih vrsta u okviru familije Salmonidae iznosi 769, od toga validnih 228, i 14 detektovanih u periodu od 2009. do 2018. godine. Prema istom izvoru, broj dostupnih vrsta u okviru potporodice Salmoninae iznosi 415, od toga validnih 124, i 13 vrsta detektovanih u periodu od 10 godina.

Prema Norden (1961), Behnke (1968), Kendall i Behnke (1984) i Nelson (2006) ukupan broj vrsta u okviru Salmoninae kreće se od oko 20, pa do 100 i više, svrstanih u sedam rodova (ITIS, <http://www.itis.gov>, 2018), posledično i broj vrsta u okviru roda *Salmo* varira u zavisnosti od koncepta vrste koja se primenjuje.

U radovima Hađišće (1960), Vukotić i Ivanović (1971), Teskeredžić i sar. (1993) i Kottelat (1997) o Balkanskom poluostrvu, popisana je ukupno 21 nominalna vrsta porodice Salmonidae: *Acantholingua ohridana* (Steindachner, 1892); *Hucho hucho* (Linnaeus, 1758); *Salmo aphelios* Kottelat, 1997; *Salmo balcanicus* (Karaman, 1927); *Salmo dentex* Heckel, 1851; *Salmo farioides* Karaman, 1938; *Salmo labrax* Pallas, 1814; *Salmo letnica* (Karaman, 1924); *Salmo lumi* Poljakov, Filipi & Basho, 1958; *Salmo macedonicus* (Karaman, 1924); *Salmo marmoratus* Cuvier, 1829; *Salmo montenigrinus* Karaman, 1933; *Salmo pelagonicus* Karaman, 1938; *Salmo peristericus* Karaman, 1938; *Salmo taleri* (Karaman, 1932); *Salmo trutta* Linnaeus, 1758; *Salmo visovacensis* Taler, 1950; *Salmo zetenzis* (Hadzisce, 1960); *Salmo zrmanjensis* Karaman, 1937; *Salmothymus obtusirostris* (Heckel, 1852); i *Thymallus thymallus* (Linnaeus, 1758).

Prema Apostolidis i sar. (1996, 1997) i Bernatchez (2001), rod *Salmo* na Balkanskom poluostrvu predstavljen je samo jednom vrstom, *S. trutta*, pa je lista salmonidnih vrsta Balkana redukovana na pet vrsta svrstanih u pet rodova i dve familije (Tabela 1).

Tabela 1. Popis salmonidnih vrsta Balkanskog poluostrva prema Apostolidis i sar. (1996, 1997) i Bernatchez (2001)

1. <i>Acantholingua ohridana</i> (Steindachner, 1892)
2. <i>Hucho hucho</i> (Linnaeus, 1758)
3. <i>Salmo trutta</i> (Linnaeus, 1758)
4. <i>Salmothymus obtusirostris</i> (Heckel, 1852)
5. <i>Thymallus thymallus</i> (Linnaeus, 1758)

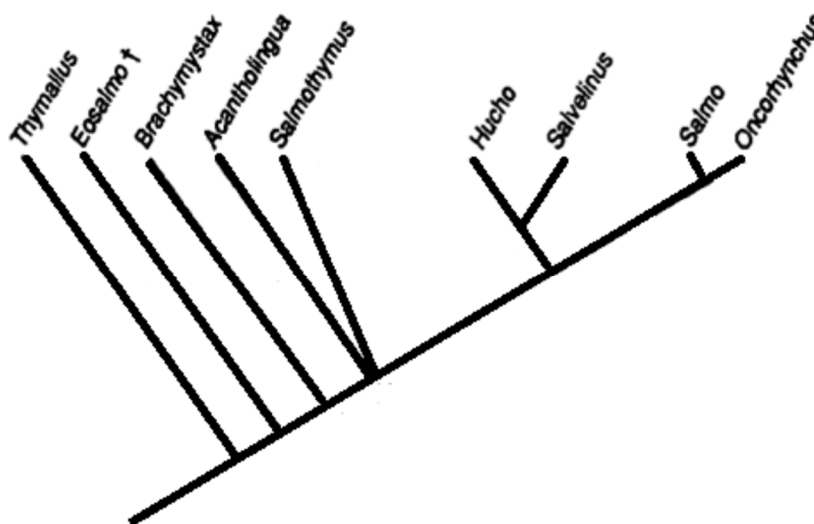
1.1.5. RASPROSTRANJENOST I POREKLO SALMONIDNIH VRSTA NA BALKANSKOM POLUOSTRVU

Slatkovodni ekosistemi Balkanskog poluostrva deo su pet morskih slivova. Uprkos maloj površini koju zauzima (4.7% površine Evrope), Balkansko poluostrvo poznato je kao region u kome su salmonidne vrste najbrojnije. Njegov zapadni deo čini jadransko-mediteranska oblast koja poseduje najviši nivo endemizma rodova i vrsta (Behnke, 1973) tako da, uprkos maloj površini koju zauzima, ono predstavlja oblast najvećeg fenotipskog diverziteta među pastrmskim populacijama (Bernatchez, 2001).

Prema kladogramu odnosa salmonidnih rodova (Stearley i Smith, 1993) (Slika 2), najranije razvijena recentna salmonidna vrsta Balkanskog poluostrva je lipljan *Thymallus thymallus*. Drugo grananje čine belvica *Acantholingua ohridana* (preimenovana u *Salmo ohridanus* Steindachner, 1892), i mekousna pastrmka *Salmo obtusirostris*. Oni su potekli od zajedničkog pretka koji se pojavio ubrzo nakon što je nastao predak sibirskog salmonidne vrste lenok *Brachymystax lenok*. Stoga su ove tri vrste filogenetski bliske što je takođe zaključio i Berg (1948) (prema Hađišće, 1961). Izvedenija od ove grupe vrsta je mladica *Hucho hucho*, dok je najizvedenija, na istoj filogenetskoj udaljenosti od mladice, kao što je ona od prethodna dva roda, *Salmo trutta*, koja je prisutna u slatkovodnim ekosistemima Balkanskog poluostrva u četiri od ukupno pet linija koje je opisao Bernatchez (2001): dunavska (DA), jadranska (AD), mediteranska (ME) i *marmoratus* (MA).

Balkan je oblast najbogatija salmonidnim vrstama koje su filogenetski udaljene, a dve od njih su i endemične, *Salmo ohridanus* Steindachner, 1892, i *Salmo obtusirostris*. Navedene činjenice vode ka pretpostavci da su neke od njih bile prisutne u ovoj oblasti tokom dužeg vremenskog perioda, nakon što su njihovi preci emigrirali iz udaljenih krajeva, a zatim evoluirali u drugim ekološkim uslovima na Balkanu u nove taksone (Georgiev, 2003). S obzirom da su njihove

filogenetske veze razjašnjene, kao i njihova tačna pozicija u sistematici, ostaje pitanje njihovog porekla, ili preciznije rečeno, puteva imigracije njihovih predaka u slatkovodne ekosisteme Balkanskog poluostrva. Shvatanje zoogeografa (Karaman, 1924; Ladiges, 1967; Karaman, 1971) vezano za neke od njih je, sa tačke gledišta opšteprihvaćenog stanovišta da su sve vrste porodice Salmonidae mediteranskog basena ušle kroz Gibraltar, pomalo zbunjujuće. Postoje neke teze koje pokušavaju da reše problem porekla salmonidnih riba Balkanskog poluostrva, ali obično pristupaju problemu odvojeno, za jednu (Berrebi i sar., 2000), dve, ili najviše tri vrste (Taler, 1953; Karaman, 1957). Neki radovi daju odgovor na pomenuto pitanje na nivou roda (Banarescu, 1973). Najtemeljniji rad relevantan za ovu temu jeste onaj napisan od strane Economidis i Banarescu (1991) koji spominje neke od salmonidnih riba Balkana kao komponente ihtioloških podela slatkovodnih basena Balkanskog poluostrva koje pripadaju okolnim morskim slivovima. Istraživanje koje je sproveo Taler (1953) najbliže je rešavanju ovog problema: „Nema sumnje da su mekousna pastrmka *Salmothymus obtusirostris*, zatim ohridska belvica *Salmothymus ohridanus*, neretvanska glavatica, *Salmo marmoratus*, i neke druge salmonide iz oblasti zapadnog Balkana, došle drugim putevima, kao što je bilo rečeno, za razliku od salmonida iz severnih oblasti.”



Slika 2. Kladogram odnosa salmonidnih rodova prema Stearley i Smith (1993)

Oblasti rasprostranjenja salmonidnih vrsta na Balkanskom poluostrvu, među kojima su predstavnici četiri linije *S. trutta*, rekonstruisane su na bazi istraživanja i podataka Karaman (1924, 1936, 1957), Taler (1936, 1944, 1950, 1953), Poljakov i sar. (1958), Orešarov i Niškov (1959), Janković (1960), Aganović (1967), Vuković i Ivanović (1971), Sabiončello i sar. (1973), Karapetkova i sar. (1993), Teskeredžić i sar. (1993), Karapetkova (1994), Rakaj i Filloko (1995), Apostolidis i sar. (1996), Kottelat (1997), i Bernatchez (2001).

Najuže rasprostranjenje primećeno je za vrstu *Salmo ohridanus* (*Acantholingua ohridana*), čiji je areal ograničen na Ohridsko jezero. Areal vrste *S. obtusirostris* ograničen je samo na Jadranski sliv, pri čemu je najseverniji deo reka Krka, a najjužniji Bojana/Drim sistem, ušće Morače i Zete i tok reke Bojane (Taler, 1953). Georgiev (2003) smatra da diskontinuirani areal ove vrste među rekama Krka, Vrljika, Neretva i Jadro, i odsustvo u reci Cetini, zaslužuju da budu razmatrani odvojeno. Diskontinuirani areal ukazuje na to da je vrsta stara sa geološke tačke gledišta. Cetina je najduža reka u Dalmaciji, velike brzine toka koja se završava vodopadom Gubavac visine 56 m, malo pre ušća u Jadransko more, između tokova reka Krke, Neretve i Jadra. Krka i Neretva odlikuju se gotovo istim sastavom ihtiofaune, pri čemu je većina vrsta endemična, sa izuzetkom *S. trutta*. Pretpostavlja se da su uzrok odsustva *S. obtusirostris* ekološki razlozi, poput nepovoljne brzine toka vode. Georgiev (2003) ne isključuje mogućnost da ihtiofauna Cetine potiče iz izvora susedne reke

Krke, a ne iz ušća kao što je obično slučaj. Prema Cvijiću (1989) deo koji odvaja vodotokove Krke i Cetine je veoma nizak, i sve današnje periodično plavljene dalmatinske karstne depresije kuda pomenute reke prolaze, nekada su predstavljale velike povezane limnetičke sisteme. Trenutno nezavistan rečni sistem reke Zrmanje, u susedstvu Krke na severozapadu, nekada je bio integralni deo njenog rečnog sistema jer je Zrmanja bila pritoka reke Krke. Postoji mogućnost da su i Zrmanja i Krka nekada bile gornji delovi bivšeg jedinstvenog toka reke Cetine (Georgiev, 2003).

Rasprostranjenje lipljana *T. thymallus*, takođe je ograničeno na zapadni deo Balkanskog poluostrva. Lipljan naseljava velike planinske pritoke Dunava (Crnomorski sliv), dok je samo jedna populacija prisutna u reci Soči (Jadranski sliv), koja se po merističkim i morfometrijskim karakteristikama najviše razlikuje od onih prisutnih u Dunavskom slivu (Janković, 1960), što potvrđuje davno prisustvo i odvajanje populacija dva vodotoka. Georgiev (2003) smatra da odsustvo *T. thymallus* u odgovarajućim staništima istočnog Balkana (reka Iskar koja je najstarija reka Balkanskog poluostrva, potiče od najvišeg vrha na Balkanu – Musala, 2925 m nadmorske visine (Orešarov i Niškov, 1959) nije posledica tektonskih, već ekoloških razloga, a prisustvo *T. thymallus* u pritokama sa leve strane donjeg dela Dunava na Balkanskom poluostrvu (Banarescu, 1964) samo potvrđuje ovu tezu.

Rasprostranjenje mladice *H. hucho* na Balkanu, ukoliko se izuzme glavni deo toka Dunava (Banarescu, 1964; Michailowa, 1967; Karapetkova, 1994), uopšteno odgovara distribuciji koju ima lipljan. Distribucija mladice je proširena tokom zime kada pojedine jedinke silaze u nizvodne delove dunavskih pritoka u Julijskim Alpima i Dinaridima (Sava Bohinjka, Sava Dolinka, Una, Kupa, Vrbas, Bosna, Drina, Ibar (Vuković i Ivanović, 1971)), pa i u sam Dunav.

Najveću teritoriju na Balkanu zauzima kompleks vrsta *S. trutta*, koja se prostire preko gotovo čitavog poluostrva, gde god ekološki uslovi to dozvoljavaju. Filogeografske linije koje su skoro jednako zastupljene su: jadranska linija (AD), koja pokriva severozapadne i jugozapadne oblasti regiona, brojna lotička i pojedina limnetička staništa u kontinentalnoj oblasti Jadranskog i Jonskog basena, dok su južne populacije na Peloponezu diskontinuirane, i dunavska linija (DA), koja je proširena na severne, istočne i centralne delove Balkanskog poluostrva (Crnomorski sliv i najveći deo sliva Egejskog mora) (Georgiev, 2003). Rezultati istraživanja sprovedenih od strane Apostolidis i sar. (1997) koja se tiču genetičkih karakteristika kontroverzni su sa tačke gledišta geografskog rasprostranjenja rečnih tokova i odgovarajućih morskih basena jer oni ističu mogućnost da izučavane populacije nisu autohtone, već poreklom od donetih jedinki – jaja ili mladi, tj. introdukovanih i aklimatizovanih uzoraka. Najjužu distribuciju ima linija *marmoratus* (MA) i zanimljivo je da ona delimično odgovara distribuciji *S. obtusirostris*: zajedno naseljavaju reku Neretvu, blizu dunavske i jadranske linije *S. trutta* u rečnom sistemu Bojana-Drim (Bernatchez, 2001). Najveći rečni sistemi koji pripadaju jadranskoj obali Balkanskog poluostrva, sa najdužim tokom i najbogatiji vodom, su reke Drim i Neretva. Između reke Soče i Neretve nalaze se dva rečna staništa – reka Krka i Cetina, koja naseljavaju pripadnici jadranske linije pastrmki. Krka se razlikuje od ostalih rečnih staništa u okviru jadranskog basena zbog svojih dugih dubokih delova, gde vladaju mirni uslovi za život, koji su ispresecani sedrenim kaskadama i vodopadima (Basioli, 1958). Zbog navedenog jasno je da ekološki uslovi reke Cetine i Krke ne odgovaraju ekološkim potrebama i adaptacijama *S. trutta* MA linije.

Pojedini naučnici bavili su se distribucijom vrsta porodice Salmonidae na Balkanu kao i mestima gde su najviši delovi vodotokova u Dinaridima mogli promeniti svoj tok. Bianco (1990) je analizirao osnove za distribuciju evromediteranskih slatkovodnih riba u periodu pliocen-pleistocen. On navodi da su ledeni bregovi u vidu pregrada mogli uzrokovati inverziju rečnih tokova, pri tom posebno navodeći Dinaride, kao i rod *Salmo*. Georgiev (2003) smatra da za današnju distribuciju vrsta pastrmki na Balkanu prethodno navedeno mišljenje može biti prihvaćeno sa dozom rezerve, jer su Dinaridi oko 1000 m niži od Pirineja, i oko 2000 m niži od Alpa, te stoga efekat glacijacija na

njih ne bi trebalo da je bio toliko izražen, što potvrđuju sadašnje geomorfološke i hidrološke osobine Dinarskih planina i tamošnjih voda. Ukoliko se zanemare mala izolovana glacijalna jezera na Dinaridima, postoji samo jedno limnetičko stanište pogodno za salmonide – Plavsko jezero (Drecun, 1956; Janković, 1963; Vuković i Ivanović, 1971), koje je znatno manje od glacijalnih jezera na Alpima. Takođe, granica „večnog” snega na Dinaridima ima diskontinuiran karakter, i na njima nikada nisu bili formirani toliko veliki glečeri poput onih na Alpima i Pirinejima koji i danas postoje. Stanković (1957) smatra da planinski lanci Dinarida i Helenida predstavljaju nepremostivu barijeru za faunu zapadnog Balkana, sa akcentom na migracije riba. Georgiev (2003) smatra da i ovo razmatranje treba uzeti sa dozom rezerve i sumnje, jer bi gore navedeno moglo važiti na primer, za ciprinide, koje su adaptirane na mirne i tople nizijske vode, dok je način života salmonida prilično drugačiji. *S. trutta* se odlikuje plastičnošću u pogledu ekoloških osobina, tako da može opstati u najmanjim planinskim potocima. Prisustvo *S. trutta* u reci Eufkrat, basenu Indijskog okeana, je indikativno, jer je tok Eufrata sada odvojen od basena Crnog mora planinskim lancima koji su u proseku 1000 m viši od Dinarida što ukazuje na to da su pojedine populacije *S. trutta*, koje naseljavaju potoke koji su nekada pripadali basenu Crnog mora, mogle postati sastavni deo ihtiofaune Jadranskog basena, ili obratno, kao posledica seizmičkih, tj. tektonskih aktivnosti.

Prema Herak (1985), postoje dve faze u tektonskoj integraciji između Jadranskih i Dinaridnih struktura, jedna u paleogenu, druga u neogenu. Obe faze uzrokovale su subdukciju, odnosno podvlačenje jedne tektonske ploče ispod druge, linijom Tolmin – Budva dužine od 600 km. Posledice koje su ove faze ostavile jesu diferencirane visine reljefa, regresije, inklinacije (nagibanje), dislokacije, te je posledično došlo do raspada pojedinih strukturnih jedinica, što u sadašnjosti otežava definisanje nastalih kontakata na površini, kao i lokalna odstupanja od kanjona u regionu. Ukoliko bi se utvrdilo da ove nepravilnosti postoje u geografiji Dinarida koji predstavljaju liniju koja dovodi do podele između Crnog i Jadranskog mora, može se prihvatiti da ovo važi i za distribuciju ihtiofaune takođe, tj. da je navedeni uticaj uzrokovao nepravilnosti u rasprostranjenju dunavske i jadranske linije *S. trutta*. Najniža tačka između crnomorskog i jadranskog basena na Dinaridima je na njihovom severozapadnom delu – depresija reka Gacke i Like i reka Korana, prolaz Babin potok na 828 m nadmorske visine. Korana izvire iz čuvenih sedrenih Plitvičkih jezera, negde oko 300 m niže od Babinog potoka i svakako treba imati u vidu činjenicu da, za razliku od Like i Gacke koje spadaju u reke ponornice, populacije *S. trutta* Plitvičkih jezera nisu autohtone (Bogdanović, 1961).

Populacije kompleksa *S. trutta* od velike su koristi za objašnjenje i razumevanje geološke istorije Balkana, i nisu jedine koje pokazuju nelogičnosti u svojoj distribuciji kontradiktornoj opšte poznatim principima genetike i zoogeografije u biologiji (Georgiev, 2003).

Na primer, Salmonidae koje naseljavaju reku Plivu, levu pritoku Vrbasa, u centralnom delu Bosne i Hercegovine (Crnomorski sliv) su pored *S. trutta* i *T. thymallus*, koje naseljavaju reku Vrbas, i *Hucho hucho* koja se u ovoj reci ne očekuje, iako i ova vrsta naseljavaja reku Vrbas (Ćurčić, 1938; Aganović, 1967). Sedreni vodopad, kojim se Pliva završava ulivajući se u Vrbas, prema Matoničkin i Pavletić (1960) izuzetno je star, a predstavlja prirodnu barijeru za uzvodne migracije u Plivu, što dovodi do zaključka da je lipljan starija salmonidna vrsta koja je naselila reku Plivu mnogo pre nego što je mladica ušla u današnji vodotok Dunava. Sa druge strane, reke Krivaja i Spreča, pritoke reke Bosne koja se uliva u Savu kod Šamca, odlikuju se prisustvom mladice, ali ne i lipljana (Janković, 1960), dok obe navedene vrste naseljavaju reku Bosnu, iako Krivaja ne poseduje prirodne barijere koje bi sprečile migracije riba (Ćurčić 1936; Janković 1960).

1.1.6. UTICAJ GLACIJACIJA NA DISTRIBUCIJU VRSTA PORODICE SALMONIDAE

Razdoblja tokom geološke istorije za vreme kojih je dolazilo do naglog zahlađenja, stvaranja leda na kontinentima (inlandajsa) i formiranja glečera dogodile su se tokom Zemljine prošlosti nekoliko puta. Smatra se da su prva tri ledena doba nastupila u prekambrijumu, tj. pre 940 do 615 miliona godina, potom je usledilo ledeno doba u devonu pre oko 400 miliona godina, te u gornjem karbonu i permu, pre otprilike 295 miliona godina. Pod novijim ledenim dobom smatra se ono koje se dogodilo tokom pleistocena.

Poslednje ledeno doba nastupilo je u kvartaru, pre oko 2 miliona godina, a svoj vrhunac doživelo je u pleistocenu koji se deli na glacijale i interglacijale. Periodi kada se led na kontinentima širio ka jugu, a snežna granica spuštala znatno ispod nivoa na kome se nalazi danas, nazivaju se glacijali. U kvartaru ih je bilo pet – donau, ginc, mindel, ris i virn. Glacijali se odlikuju različitim intenzitetom i trajanjem, što važi i za interglacijale, periode u kojima je temperatura rasla i led se povlačio u više, severne predele. Posledica stvaranja velikih količina leda na skoro svim kontinentima jeste opadanje nivoa svetskog mora za otprilike 180 m, zbog čega su brojna današnja ostrva ulazila u sastav kopna, a na prostorima morskih prolaza nastale su prevlake koje su ostvarile bitan uticaj na rasprostranjenost vrsta, pre svega životinjskih.

Činjenicu da su visoke planine Balkanskog poluostrva za vreme pleistocena bile prekrivene ledenim pokrivačem, poput onoga koji u sadašnjosti prekriva Alpe, izneo je krajem 19. veka Jovan Cvijić, suprotstavivši se do tada opšteprihvaćenom mišljenju da na Balkanu nema morfoloških tragova pleistocenske (diluvijalne) glacijacije, tj. da na balkanskim planinama ne postoje oblici glacijalnog reljefa poput cirkova i ledničkih dolina (valova). Kao deo svojih dugogodišnjih terenskih istraživanja i otkrivanja fosilnog glacijalnog reljefa visokih planina Balkanskog poluostrva, proučavao je i tragove starih glečera na planinama zapadnog Balkana, jer su u tom pogledu ostale neispitane najviše planine dinarskog sistema, Bosne i Hercegovine i Crne Gore, koje su po mnogim geomorfološkim osobinama bile podobne za razvoj diluvijalnih glečera. Tokom svog putovanja, Cvijić je već na početku pronašao tragove starih glečera na planinama Bosne, Hercegovine i Crne Gore: Treskavici, Čvršnici, Prenju, Volujku sa Magličem i na Durmitoru, a uporedo je ispitivao morfološke i tektonske osobine Dinarida.

U sastavu planina jugoistočne Bosne, Hercegovine i Crne Gore učestvovali su i eocenski slojevi kao najmlađi, a posle njihovog formiranja nije ceo pomenuti teren bio pod morem. U mlađem tercijeru bili su prisutni samo slatkovodni baseni, a tercijerni sedimenti su relativno dobro očuvani. Iz navedenog sledi da su se rečni sistemi u ovim oblastima morali razviti odmah posle eocena. U diluvijalnoj glacijaciji Dinaridi su svojim najvišim delovima zalazili u snežnu liniju i posedovali male glečere. Oni su se kretali kroz preglacijalna karstna ulegnuća, da bi na kraju bili zaustavljeni njihovom donjom pregradom. Nijedan glečer dinarskog sistema nije silazio u rečne doline.

U crnogorskim i bosansko-hercegovačkim planinama postojali su samo mali glečeri koji su, pored toga što je fenomen glečera bio ograničen na relativno kratku periodu, imali neznatan uticaj na postanak oblika. Za razliku od pomenutog fenomena glečera, karstni procesi, kojima su Dinaridi od neogena do danas konstantno izloženi, od mnogo većeg značaja su za formiranje oblika, pri čemu je proces olakšan time što je većina visoravni sačinjena od krečnjaka, te je pogodnija za oblikovanje (skarščavanje). Kako su stari glečeri učestvovali u stvaranju oblika i menjali postojeće, pri nastanku pojedinih oblika dolazilo je do kombinovanog uticaja karstnih procesa i delovanja glečera.

Cvijić smatra da je sliv Gornje Morače bio pod znatnom glacijacijom primetivši da oko tog sliva postoji više cirkova – na Maganiku, veliki cirkovi Žijova, Štita i Stošca, veliki cirk Kotao na

desnoj strani Morače na čijem dnu se nalaze morene, manji cirkovi na levoj strani Morače na visini od 1900 m, od kojih je najveći Đedova polja, dok su ranije opisani glečeri i cirkovi koji su tekli prema gornjem slivu Male Rijeke.

Duž doline reke Morače, od Moračkog manastira do ušća u Skadarsko jezero, Cvijić je nailazio na šljunkovite mase koje su se učvrstile u vidu konglomerata. Malo ih je zatekao u klisuri Morače na potezu od manastira do Međuriječja, gde se reka Mrtvica uliva u Moraču, a najmanje u kanjonskom krečnjačkom delu koji se naziva Platije, između Međuriječja i sela Radunovića. Kod Moračkog manastira primetio je prostranu preglacijalnu dolinu reke Morače, koju presecaju i njene pritoke, usečenu u krečnjak i listaste škriljce, u koju je urezana uža dolina, izuzetno strmih strana, ispunjena konglomerisanim šljunkom do određene visine, organizovanim u dve terase iznad rečnog korita. Na ušću Mrtvice u Moraču takođe je primetio preglacijalnu stenovitu terasu visine od oko 90 m iznad reke, u koju je urezana glacijalna dolina sa tri šljunkovite terase. Najveću količinu staloženog konglomerisanog šljunka primetio je kod Bioča, na ušću Male Rijeke u Moraču, koji se prostire i naviše uz dolinu Male Rijeke, a primećen je takođe i sa obe strane reke Cijevne, pritoke Morače. Neposredna veza između morena gornjeg sliva Morače i njenih šljunkovitih konglomerisanih terasa nije utvrđena, međutim, s obzirom da je prisustvo morena utvrđeno i u izvorišnom delu Morače i pošto se u njenoj dolini nalazi isti šljunak, sa istim brojem terasa, kao i u Limu i Tari, Cvijić smatra da se konglomerat Morače može sa velikom verovatnoćom smatrati fluvioglacijalnim (Cvijić, 1894).

Struktura populacija fauna riba umerenog klimatskog regiona bila je promenjena tokom kvarternih glacijacija. Stoga, obrasci rasprostranjenja različitih refugijalnih populacija i njihovih naknadnih mešanja nadređeni su ponekada starijim obrascima genetičke diferencijacije usled hijerarhije reka (Perdices i sar., 2003; Volckaert i sar., 2002).

Klasične biogeografske studije smatraju da je istočno-zapadna orijentacija glavnih evropskih planinskih lanaca, od Kavkaza do Alpa i Pirineja, rezultirala izolacijom južnih poluostrva koja su predstavljala refugijume tokom glacijalnih perioda (Hewitt, 2000). Ova izolacija se reflektuje u distribuciji nekoliko slatkovodnih vrsta riba, kao što je slučaj sa familijom Cyprinidae, gde su mediteranski taksoni diferencirani od severnoevropskih (Gilles i sar., 1998; Zardoya i Doadrio, 1998). Na populacionom nivou, evoluciona istorija riba u južnoevropskim regionima uključuje periode izolacije koji favorizuju *in situ* diverzifikaciju, ali takođe i mogućnosti za migraciju (Zardoya i Doadrio, 1998; Tsigenopoulos i Berrebi, 2000; Perdices i sar., 2003). Rasprostranjenje vrsta ograničenih na slatke vode, izgleda je rezultat menjanja tokova reka tokom glacijalnih perioda, bilo ušćima u nizijama kao odgovor na opadanje nivoa mora, ili skretanjem toka reka u korita drugih reka u planinskim regionima (Durand i sar., 1999; Tsigenopoulos i Berrebi, 2000). Kod vrsta porodice Salmonidae, anadromne ribe trebalo bi da povećaju protok gena između rečnih basena (Ryman, 1983). Međutim, značajne genetičke razlike uočene među populacijama potočne pastrmke *S. trutta* L. na bazi divergencije sekvenci na dva segmenta kontrolnog regiona mtDNK, izdvojile su pet glavnih linija (Bernatchez i sar., 1992). Studije u kojima se koristio veći broj baznih parova (1250 bp) (Giuffra i sar., 1994), ili su se kombinovani podaci sekvenciranja kontrolnog regiona i RFLP analiza mitohondrijalnih gena obezbedila su dodatnu potvrdu za validnost pomenutih linija (Apostolidis i sar., 1997; Bernatchez, 2001; Machordom i sar., 2000; Suarez i sar., 2001). Filogeografija ovih pet pastrmskih linija bila je revidirana od strane Bernatchez (2001), koji je zaključio da one umnogome ostaju alopatričke, uprkos velikom disperzionom potencijalu vrste - AT linija je kolonizovala Atlantski basen, od Maroka do Belog mora, dok je DA dominirala u rekama pontokaspijskog basena; MA linija bila je u južnoj Evropi ograničena na nekoliko reka u Italiji, Hrvatskoj i Sloveniji koje su se očigledno ulile u basen Jadranskog mora tokom najdužih glacijalnih perioda; AD linija dominira u istočnim mediteranskim pritokama i veći diverzitet je prisutan u populacijama na Balkanu, sugerišući na to da je AD linija poreklom od balkansko-anatolijskog glacijalnog refugijuma; veća brojnost pripadnika ME linije u rekama koje se slivaju u zapadno

Mediterransko more sugerisala je da ona možda potiče iz ovog regiona, iz izolovanih reka južne Francuske koje su služile kao glacijalni refugijumi za druge ribe.

1.1.7. KOMPLEKS POTOČNE PASTRMKE *SALMO CF. TRUTTA*

1.1.7.1. Opšte odlike i oblast rasprostranjenosti

Potočna pastrmka *Salmo trutta* L. 1758, je salmonidna vrsta autohtona za Evroaziju i Severnu Afriku. Njen prirodni areal prostire se od severne Norveške i severozapadnog dela Rusije na jug, do planina Atlas severne Afrike. Od zapada ka istoku, prostire se od Islanda do pritoka Aralskog mora (MacCrimmon i Marshall, 1968; Behnke, 1986; Elliott, 1994; Berra, 2001). Potočna pastrmka obuhvata brojne, jasno izražene geografske forme (Blanc i sar., 1971), odnosno, njen prirodni diverzitet odlikuje se kompleksnim obrascima fenotipski posebnih geografskih formi i značajnom varijabilnošću životne istorije (Bernatchez i sar., 1992; Elliott 1994; Kottelat i Freyhof, 2007; Sanz, 2017). Navedene činjenice dovele su do zabuna u taksonomiji i sistematici potočne pastrmke koje su doprinele otežanom razumevanju evolucione istorije ove vrste.

Potočna pastrmka je reofilna vrsta vretenastog oblika tela, na kome se sa dorzalne i lateralnih strana, kao i na operkulumima, nalaze crne i crvene pege, dok su kod juvenilnih jedinki prisutne i poprečne pruge (Slika 3). Variranje boje tela u zavisnosti od tipa staništa u morfologiji se smatra adaptivnim jer povećava adaptivnu vrednost (eng. *fitness*) jedinki u novim uslovima sredine (Kinnison i Hendry, 2004). Iza leđnog peraja nalazi se adipozno-masno peraje koje je zajednička karakteristika čitave grupe, za koje se pretpostavlja da ima funkciju u smanjenju turbulencije vode (Simonović, 2010). Kostii gornje i donje vilice su nazubljene, a u prednjem delu gornje vilice nalazi se 2-6 nizova zuba, dok je u zadnjem delu prisutan samo jedan niz (Simonović, 2001), što, pored broja branhiospina, predstavlja važan taksonomski karakter za identifikaciju pastrmskih vrsta.

Potočna pastrmka pretežno naseljava područje umereno-kontinentalne klime, ali i borealnu zonu. Živi u bistrim, hladnim vodama, bogatim kiseonikom, poput gornjih tokova reka velike brzine ili visokoplaninskih jezera, dok migratorne jedinke u jednom delu životnog ciklusa naseljavaju i more. Mresti se isključivo u slatkoj vodi, a period mresta traje od oktobra do februara. U tom periodu mužjacima se lobanja izdužuje i pojavljuje im se kukast izraštaj na donjoj vilici, a ženke se prepoznaju po nabubrelom stomaku punom ikre i crvenom polnom otvoru. Mreste se u parovima na šljunkovitom terenu gde ženka kopa trlo (eng. *redd*) u koje polaže od 500 do 30 000 jaja (Simonović, 2001) koje nakon oplođenja zatrpava šljunkom (Kottelat i Freyhof, 2007). Nakon izvaljivanja embriona iz jaja nastaju prelarve (eng. *alevin*), koje se kreću u šljunkovitoj podlozi oko mesec dana, nakon čega proplivaju (eng. *parr*) i počnu da se hrane planktonskim i bentosnim račićima (Simonović, 2001). Jedinke od godinu dana dostižu veličinu od oko 10 cm, a one od dve godine do 25 cm (Jevtić, 1989). Životni vek potočne pastrmke iznosi otprilike 20 godina, a polnu zrelost dostižu nakon 2-3 godine (Sømme, 1941). Adulti su oportunisti po pitanju ishrane i uglavnom se hrane organizmima koji pripadaju makrozoobentosu i insektima sa površine vode, pretežno iz grupa Trichoptera, Plecoptera, Ephemeroptera, Simuliidae (Jonsson i Gravem, 1985; Steingrimsson i Gislason, 2002), ali i manjim ribama i njihovom ikrom (Simonović, 2001).

Bogatstvo fenotipske varijabilnosti uočene kod potočne pastrmke dovelo je do taksonomskog prepoznavanja brojnih geografskih i ekoloških formi koje su se često nalazile u literaturi uz zbujujuću i nekonzistentnu nomenklaturu. Bila je uobičajena praksa da se osnovne ekološke forme *S. trutta* prepoznaju kao anadromne, jezerske i rečne, tj. *trutta*, *lacustris* i *fario*. U zavisnosti od tumačenja autora, navedeni nazivi su bili tretirani kao vrsta, podvrsta ili morfa. Međutim, ipak je široko prihvaćeno mišljenje da je vrednost morfoloških kriterijuma, klasično korišćenih u proceni filogenetskih odnosa kod salmonida, kao što su meristički karakteri ili obojenost, osporavana usled njihove fenotipske plastičnosti (Allendorf, Ryman i Utter, 1987). Prema morfološkom i ponašajnom

fenotipu prepoznata su tri osnovna oblika: morski - *Salmo trutta* morpha *trutta* (marinus), jezerski - *Salmo trutta* morpha *lacustris* i rečni - *Salmo trutta* morpha *fario*. Jedino je morska pastrmka anadromna i provodi deo života u morima zbog ishrane, ali se mresti kao i druge dve forme u rekama. Takođe, jezerski oblik provodi jedan deo života u jezerima, tako da se jedino rečni oblik smatra rezidentnim - monodromnim. Važno je napomenuti da jedinke koje pripadaju različitim formama uglavnom nisu reproduktivno izolovane tako da više oblika može postojati i u okviru jedne populacije koja se označava kao parcijalno migratorna.



Slika 3. Potočna pastrmka (Foto: Škraba Jurlina)

1.1.7.2. Taksonomija kompleksa potočne pastrmke *Salmo cf. trutta*

Od vremena kada je Artedi (1738) opisao potočnu pastrmku *Salmo trutta* L., 1758, status vrste često je bio osporavan, i do sada je ostao nerešen. Veliki stepen varijabilnosti i izražene plastičnosti kompleksa potočne pastrmke razvijan je tokom duge evolucione istorije koja traje još od srednjeg miocena, a može se pratiti sve do fosilnih ostataka *S. immigratus* (Kramberger, 1891) starih do 13 miliona godina, pronađenih u okolini mesta Samobor u Hrvatskoj (Anđelković, 1989). Bernatchez (2001) je, na osnovu strukture kontrolnog regiona mtDNK, zaključio da je skorašnja specijacija potočne pastrmke počela pre 0.5 do 2 miliona godina, kao i da je prošla diferencijaciju tokom glacijacija u pleistocenu koje su trajale oko 700 hiljada godina.

Istraživanja biološke varijabilnosti tokom proteklog veka dovela su, pored pomenute vrste *S. trutta*, kao i vrste *S. salar* L. 1758, do opisivanja nekoliko dodatnih *Salmo* L. 1758 vrsta, koje su neretko imale veoma ograničeno geografsko rasprostranjenje (Berrebi i sar. 2013; Clavero i sar. 2017; Ninua i sar. 2018). Broj vrsta *Salmo* u zavisnosti od izvora varira od oko 25 (Kottelat i Freyhof, 2007; IUCN 2016) do gotovo 50 vrsta (Froese i Pauly, 2018), a među njima je nekoliko opisano tokom protekle decenije (Turan i sar., 2009; Delling, 2010; Turan i sar., 2011, 2012, 2014), poput onih opisanih u Maroku – *S. akairos* Delling i Doadrio, 2005 i *S. viridis* Doadrio, Perea i Yahyaoui, 2015. Navedene reference predstavljaju mali deo dostupne literature jer je istraživanje u ovoj oblasti i danas vrlo intenzivno, pa stoga postoje podaci proistekli iz istraživanja na bazi molekularnih metoda koji ukazuju na činjenicu da pojedine vrste nisu dobre, gde je Sanz (2017) pružila detaljan uvid u listu pomenutih vrsta, kao i prateće reference. Pored opisanih dobrih vrsta poput, na primer, *S. obtusirostris* (Heckel 1851) (Snoj i sar., 2002) ili *S. salar* L., 1758, diverzitet pastrmki podveden je pod kompleks vrsta *S. trutta* (Sanz, 2017), koja se odlikuje zbunjujućim kladogramima, na taj način sputavajući razumevanje evolucione istorije vrste i sprečavajući razvoj odgovarajućih strategija za očuvanje i zaštitu diverziteta pastrmki (Bernatchez i sar., 1992; Antunes

i sar., 2001; Fumagalli i sar., 2002; Snoj i sar. 2010; Crête-Lafrenière i sar., 2012; Gratton i sar., 2013; Ninua i sar., 2018).

Evolucionarna istorija ovog taksona, stoga i taksonomija, bila je oblikovana kroz nekoliko geoloških događaja kao što su glacijacije, planinska orogeneza, povlačenja mora, promene u rečnim slivovima i slično (Karaman, 1924, 1927, 1932, 1933, 1938). Taksonomski status pastrmke koja ima prilično uniformne ekološke karakteristike duž Balkanskog poluostrva je i dalje nerazjašnjen. Karaman (1927) je tvrdio da je izolacija populacija pastrmki koja potiče od tercijara posledica nastanka venca Dinarida, planinskog masiva u južnoj Evropi, koji se proteže zapadnim delom Balkanskog poluostrva kroz Sloveniju, Hrvatsku, Bosnu i Hercegovinu, Srbiju, Crnu Goru i Albaniju, dok je postpleistocenska izolacija pastrmki u okviru slivova posledica refugijalnog karaktera Balkanskog poluostrva tokom, i nakon ledenih doba u kvartaru. Nominalni pastrmski taksoni zapadnog Balkana su: pastrmka Crnomorskog sliva *S. cf. trutta* L., 1758; pastrmka zapadnog Balkana *S. taleri* (Karaman, 1933) u slivu reke Save basena zapadnog Dunava, ali sa *locus typicus* u gornjoj Zeti; pastrmski taksoni Egejskog sliva *S. macedonicus* (Karaman, 1924) i *S. pelagonicus* Karaman, 1938; pastrmski taksoni Jadranskog sliva *S. farioides*, Karaman, 1938, iz reke Neretve, zubatak i strun *S. dentex* (Heckel, 1851) iz Neretve i Morače, respektivno, glavatica *S. marmoratus* Cuvier, 1829, iz slivova reka Adiđe, Po, Soče, donje Zete, Morače, Neretve i Drima; *S. peristericus* Karaman, 1938, iz jezera Prespa; pastrmski taksoni kopnenih voda *S. letnica* (Karaman, 1924), *S. lumi* Poljakov, Filipi i Basho, 1958, *S. aphelios* Kottelat, 1997, i *S. balcanicus* (Karaman, 1927) koji se nalaze u simpatriji u različitim delovima basena Ohridskog jezera (Simonović i sar., 2007).

1.1.7.3. Genetika kompleksa vrsta *Salmo cf. trutta*

Upotreba genetičkih markera dovela je do novih saznanja vezanih za filogeniju, evoluciju, ekologiju, populacionu strukturu, menadžment i konzervaciju populacija i vrste (Avice, 2004). Sveobuhvatnim analizama genetičkog diverziteta populacija potočne pastrmke (*S. trutta* L.) uz upotrebu jedarnih i mitohondrijalnih (mtDNK) markera (npr. Garcia-Marin, Utter i Pla, 1999; Antunes i sar., 2002; Bernatchez, 2001; Cortey, Pla i Garcia-Marin, 2004) ustanovljeno je da je *S. trutta* genetički i geografski visoko struktuirana vrsta.

Više od 50 različitih Lineovih vrsta opisano je tokom protekla dva veka na bazi varijabilnosti vrste trenutno prepoznate kao *S. trutta* (Behnke, 1986). Nekoliko istraživanja pokazalo postojanje genetičkih razlika pri nasleđivanju određenih morfoloških i merističkih karaktera u sredinski kontrolisanim uslovima (Chevassus, Blanc i Bergot, 1979; Blanc, Poisson i Vibert, 1983; Krieg, 1984; Skaala i Jorstad, 1987, 1988). Međutim, generalno je poznato da izuzetni nivo fenotipske plastičnosti koji karakteriše potočnu pastrmku i većinu drugih salmonidnih vrsta ograničava upotrebljivost morfoloških karaktera u rešavanju filogenetskih veza (Behnke, 1972).

Tokom osamdesetih godina, nastojanje da se bolje shvati genetička diferencijacija potočne pastrmke postignuto je kroz analize varijabilnosti alozima putem elektroforeze (Ferguson, 1989; Guyomard, 1989). Ova istraživanja opisala su genetički diverzitet pastrmskih populacija u određenim geografskim oblastima (Taggart, Ferguson i Mason, 1981; Guyomard i Krieg, 1983; Krieg i Guyomard, 1985; Ryman, 1983; Crozier i Ferguson, 1986; Karakousis i Triantaphylidis, 1988; Osinov, 1990a) i dovela do postavljanja novih pitanja – pre svega da li različite ekološke varijante pronađene u različitim slivovima imaju monofiletsko poreklo (Guyomard i sar., 1984; Osinov, 1984; Skaala i Naevdal, 1989; Hindar i sar., 1991), kao i da li različitost geografskih formi i/ili odvojenost simpatrijskih formi bazirana na fenotipskim razlikama ima filogenetsku osnovu (Ryman, Allendorf i Stahl, 1979; Krieg i Guyomard, 1985; Hamilton i sar. 1989; Guyomard, 1989; Karakousis i Triantaphylidis, 1990; Osinov, 1990; Osinov, 1990b; Ferguson i Taggart, 1991).

Analize alozimske varijabilnosti pokazale su da potočna pastrmka predstavlja jednu od visoko strukturiranih životinjskih vrsta sa više od 50% ukupnog genetičkog diverziteta distribuiranog među populacijama u pojedinim oblastima (npr. Krieg i Guyomard, 1985). Ova istraživanja naročito su bila korisna pri donošenju zaključaka o tome da su ekološke varijante polifiletske po poreklu, pri čemu bi različiti preci u različitim slivovima nezavisno dali jezerske, rečne i anadromne forme (Bernatchez i sar., 1992). Prema ovim autorima, geografska distribucija mtDNK diverziteta podudara se sa obrascima genetičke diferencijacije detektovane u ranijim studijama alozimske varijabilnosti. Najpre, mtDNK filogenetski diskontinuitet između Atlantskog i Mediteranskog sliva paralelan je obrascima ustanovljenim od strane Krieg i Guyomard (1985) i Guyomard (1989) koji su demonstrirali dihotomu diferencijaciju između navedenih basena kod francuskih populacija potočne pastrmke. Međutim, velika odstupanja između mtDNK i analiza proteinske varijabilnosti bila su primećena kod genetičkog variranja na intra- i interpopulacionim nivoima. Većina populacija obuhvaćenih istraživanjem pokazala je nizak nivo intrapopulacionog diverziteta. To se naročito odnosi na populacije Atlantskog basena u kojima nije primećena varijabilnost sekvenci mtDNK. Nasuprot tome, ove populacije su pokazale visoke nivoe proteinske varijabilnosti (Gyllensten, 1985; Ferguson, 1989). Oštre razlike u frekvencijama alela, čak i u okviru malih geografskih područja, karakterisale su mnoge od ovih populacija, dok je monomorfnost ustanovljena u mtDNK sekvencama. Nedostatak podudarnosti između obrazaca varijabilnosti mitohondrijalnih i jedarnih gena teorijski je verovatna usled različitih načina nasleđivanja i evolucije, kao i činjenice da je često konstatovana (npr. Ward i sar., 1989; Ferguson i sar., 1991).

Pored toga, problemi koji podrazumevaju razlike u laboratorijskim tehnikama i nedoslednosti u nomenklaturi alozima izazvale su sumnju u opravdanost takvog pristupa (Ferguson, 1989). Pri tome, procene genetičke divergencije dobijene iz podataka o alozimima bile su bazirane na varijacijama frekvencije alela, stoga se iz njih nisu mogle detektovati filogenetske veze među samim alelima. Dobijanje takvih informacija zahteva istraživanje genetičke varijabilnosti na nivou DNK molekula, i upućuje na filogeografiju (Avice i sar., 1987). Ovakav pristup bio je široko primenjivan na istraživanja varijabilnosti mtDNK korišćenjem reakcija restrikcije polimorfizama dužine fragmenata (eng. *Restriction Fragment Length Polymorphism* - RFLP) kod velikog broja životinja (Billington i Hebert, 1991). Istraživanja Bernatchez i sar. (1992) potvrđuju ovo stanovište i dovode u pitanje opravdanost različitih taksonomskih identifikacija i kategorizacija baziranih isključivo na morfološkim kriterijumima. Na primer, čitav opseg mtDNK filogenetskog diskontinuiteta opisanog u istraživanju Bernatchez i sar. (1992) uočen je među rečnim pastrmskim populacijama, prikupljenim u različitim slivovima, koji predstavlja jednu morfu - *fario* na bazi morfoloških sličnosti, dok nijedna od morfološki različitih populacija uzetih u obzir u tom istraživanju nije prešla nivo divergencije u okviru morfe *fario*. Na bazi visoke morfološke određenosti, glavatica *S. marmoratus* je bila deo hipoteze u kojoj predstavlja najranije grananje u kompleksu *S. trutta* (na pr. Behnke, 1968), dok sadašnji rezultati u potpunosti podržavaju evolucionu posebnost *S. marmoratus*, ukazujući na njenu davnu monofiletičku divergenciju. Rezultati ovog istraživanja takođe su ukazali na mnogo skoriju divergenciju drugih, morfološki diferenciranih populacija, tj. *S. letnica*, *S. carpio* i *S. macrostigma*. Sve navedeno naglašava važnost uzimanja u obzir analiza genetičkih i morfoloških karaktera, kako bi se bolje razumeli različiti evolucionarni uticaji, kao i njihova uloga u obrascima oblikovanja evolucije organizama.

Uvođenje postupka lančane reakcije polimeraze (eng. *Polymerase Chain Reaction* – PCR) (Saiki i sar., 1985) omogućilo je dobijanje informacija o sekvencama specifičnih delova genoma u populacionim istraživanjima velikih razmera (Meyer i sar., 1990; Carr i Marshall, 1991; McVeigh, Bartlett i Davidson, 1991; Patton i Smith, 1992).

Brzi napredak u razvoju novih tehnika za analiziranje molekularnih i biohemijskih osobina omogućio je definisanje jasnih i prepoznatljivih filetičkih linija pastrmki – atlantske (AT), dunavske (DA), mediteranske (ME), jadranske (AD) i *marmoratus* linije (MA) (Bernatchez i sar., 1992;

Bernatchez, 2001). Suárez i sar. (2001) su sekvenciranjem čitavog kontrolnog regiona mtDNK populacija potočne pastrmke Iberijskog poluostrva i severne Afrike opisali još jednu, endemičnu grupu ograničenu na Duero bazen Iberijskog poluostrva (DU, Duero). Bardakci i sar. (2006) opisali su i sedmu, Tigris liniju (TI) iz severoistočne Anatolije, za populacije iz sliva Tigrisa. Međutim, navedena linija kasnije je opisana kao zasebna vrsta *S. tigridis* (Turan i sar., 2011). Ubrzo nakon toga, nastale su i hipoteze o njihovoj evolucionoj istoriji. Međutim, taksonomija pojedinih predstavnika ovih linija i dalje je ostala nerešena (Kottelat, 1997) u smislu neusaglašenosti molekularnih i morfoloških podataka, gde se pojedini autori (Kottelat, 1997) ne slažu oko baziranja taksonomskih podela isključivo na biohemijskim ili molekularnim podacima, bez uzimanja u obzir rezultata proisteklih iz morfoloških i zoogeografskih istraživanja. Kao pristalica takvog mišljenja, Delling (2002) je, na primer, tvrdio da „molekularni markeri široko primenjivani u biologiji pastrmki imaju potencijal da falsifikuju prepoznatljivu vrstu” zbog nedostatka rezultata odgovarajućih molekularnih i biohemijskih analiza u sistematici. Takođe je dobro poznata i razlika koja postoji između stabala gena i stabala vrsta, kao i između nDNK i mtDNK stabala (Maddison, 1997; Hudson i Coyne, 2002; Brito i Edwards, 2009), a naročito je problematična kod blisko srodnih vrsta ili onih sa velikim populacijama (Heled i Drummond, 2010), što je često uočavano u rodu *Salmo*. Sa razvojem novih tehnika postalo je lakše prikupljati podatke na osnovu više jedarnih genskih lokusa i većeg broja jedinki po vrsti (Carstens i Knowles, 2007; Heled i Drummond, 2010; Drummond i sar., 2012).

Kao što je pomenuto, u genetičkom smislu, predstavnici roda *Salmo*, sa izuzetkom *Salmo salar*, uglavnom se smatraju pripadnicima kompleksa *Salmo trutta*, koji obuhvata pet mitohondrijalnih linija koji su nazive dobili po basenima u kojima su pronađeni (Machordom, 2000). Odvojena *marmoratus* linija odgovara vrsti glavatica, *Salmo marmoratus*, za koju sa taksonomske tačke gledišta postoji neusaglašenost, s obzirom da je neki smatraju posebnom vrstom (npr. Berrebi i sar., 2000; Fumagalli i sar., 2002; Splendiani i sar., 2006), ili delom kompleksa *Salmo trutta* (Bernatchez, 2001; Meraner i sar., 2007). Pored *Salmo salar* i kompleksa *Salmo trutta*, postoje dva fenotipski jasno izražena člana roda *Salmo* – ohridska belvica *Salmo ohridanus* i mekousna pastrmka *Salmo obtusirostris*, pri čemu su obe nejasno klasifikovane uprkos razlikama u morfologiji, pa je njihova pozicija u okviru Salmonidae bila preraspoređena više puta (Snoj i sar., 2002). Na bazi molekularnih podataka ove dve vrste smeštene su u rod *Salmo* (Phillips i sar., 2002; Sušnik i sar. 2006; Snoj i sar., 2008). Dok se za *S. ohridanus* ispostavilo da je nesporno sestrinska vrsta u odnosu na kompleks *S. trutta*, tačna pozicija *S. obtusirostris* tek treba da bude rešena – u zavisnosti od upotrebljenih molekularnih markera i primenjenog modela evolucije, *S. obtusirostris* se pripisuje ili kompleksu *S. trutta*, ili kao sestrinska vrsta *S. ohridanus* (Snoj i sar., 2002; Razpet i sar., 2007). Iako je još nekoliko vrsta opisano na Balkanu (Kottelat, 2007), položaj u sistematici većine njih i dalje je neodređen (Delling, 2010). Stoga su istraživanja koja su sprovedili Pustovrh i sar. (2014), pored *S. salar*, bila usmerena samo na one taksone za koje je odvajanje prethodno opisano na molekularnom nivou, odnosno, *S. marmoratus*, *S. obtusirostris*, *S. ohridanus*, dok su za ostale taksone koristili oznaku *Salmo trutta* kompleks.

1.1.7.4. Filogenija i filogeografija kompleksa potočne pastrmke *Salmo cf. trutta*

Za razliku od prethodnih studija o genetičkoj varijabilnosti *S. trutta* koncentrisanoj na specifične geografske regione, Bernatchez i sar. (1992) objavili su prvu procenu filogenetskih veza između veoma udaljenih populacija. Kao što je prethodno navedeno, istraživanje koje su sprovedi dovelo je do otkrića pet visoko diferenciranih mtDNK filogenetskih grupa. Na bazi procene divergencije sekvenci, smatra se da su grupe morale divergirati od zajedničkog pretka mnogo pre poslednje glacijacije koja je dostigla vrhunac pre oko 18000 godina. Aplikacija 2% divergencije sekvenci na milion godina molekularnog sata (Brown i sar., 1979) bi pretpostavila da su divergirale u redu veličine od pre 450 – 700 hiljada godina. Međutim, ova procena mora se smatrati minimalnom, jer ukoliko se stopa evolucije ektotermnih vertebrata razlikuje od one kod

endotermnih vertebrata, verovatno je niža od 2% (Kocher i sar., 1989). Usled odsustva ili prisustva kratkih internodusa na molekularnim stablima, može se doći do zaključka da se izolacija svih navedenih grupa desila u sličnim geološkim periodima. Visoki stepen geografskog diskontinuiteta između pet mtDNK grupa (haplogrupa) konzistentan je sa drevnom alopatričkom divergencijom u okviru odvojenih slivova praćenih ograničenim prirodnim intermiksijom tokom proteklih nekoliko stotina hiljada godina (Bernatchez i sar., 1992).

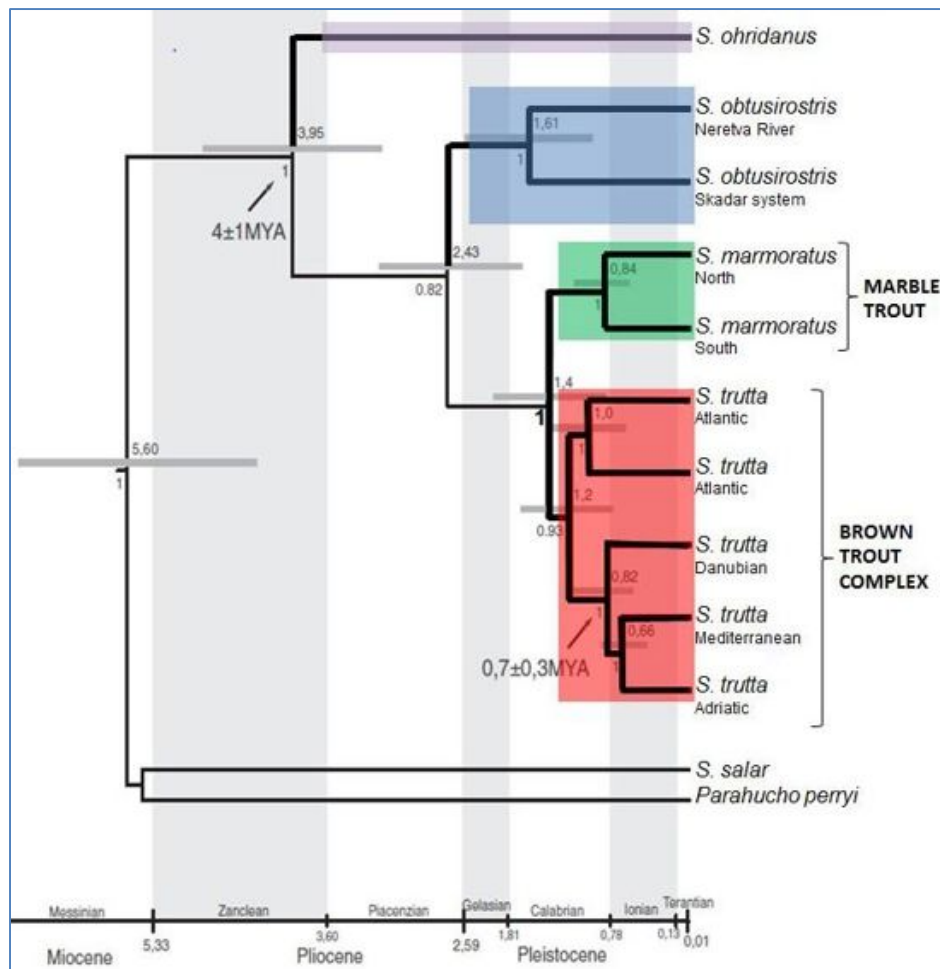
Bernatchez (2001) je procenio starost DA linije potočne pastrmke na period od pre 150 – 300 hiljada godina i zaključio da je pomenuta linija najstarija uzevši u obzir i činjenicu da je zastupljena u jugoistočnoj Evropi i susednim oblastima koje su najmanje bile pod uticajem glacijacija. Izveo je i zaključak da su sve ostale linije potočne pastrmke – AT, AD, ME, Duero (DU), Tigris (TI) i MA izvedene iz DA linije tokom perioda glacijacija. Potočne pastrmke svih navedenih linija odlikuju se izuzetnom varijabilnošću u spoljašnjoj morfologiji i boji, genetičkoj strukturi, kariotipovima i odlikama životne istorije (Apostolidis i sar., 1996a; Dorofeeva, 1998; Osinov i Lebedev, 2000; Sanford, 2000; Suarez i sar., 2001; Simonović i sar., 2007).

Pored jadranskog basena koji se odlikuje značajnim endemizmom pastrmskih taksona (Karaman, 1924, 1927, 1932, 1933, 1938), veliki deo unutrašnje teritorije zapadnog Balkana pripada Crnomorskom slivu. Skorašnja istraživanja na osnovu mtDNK pokazala su izuzetnu varijabilnost potočne pastrmke crnomorskog sliva zapadnog Balkana, na taj način podržavajući mišljenje koje je dao Bernatchez (2001) o daleko većem mtDNK diverzitetu i posedovanju privatnih mtDNK genotipova u okviru zapadnog Balkana u odnosu na iste kod AT linije. Bernatchez i sar. (1992) najpre su prijavili dva CR haplotipa DA linije potočne pastrmke, Da1 i Da2, za koje je naknadno utvrđeno da su široko rasprostranjeni u gornjim tokovima Dunava u Nemačkoj i Austriji (Weiss i sar., 2001). Nakon toga, pronađeno je još nekoliko CR haplotipova u istoj oblasti (Weiss i sar., 2001; Duftner i sar., 2003; Barić i sar., 2010), u susednoj južnoj oblasti Tirol (Meraner i sar., 2007), kao i na većoj udaljenosti od dunavskog basena, u Jermenskom jezeru Sevan, pastrmka *S. ischchan* (Osinov, 2009), i u tokovima basena Kaspijskog mora u Iranu (Hashemzadeh Segherloo i sar., 2012). Međutim, navedena varijabilnost do sada nije bila procenjena u odnosu na trenutni taksonomski status potočne pastrmke. U okviru čitavog basena Dunava, jedini do sada prihvaćeni nominalni pastrmski takson je crnomorska pastrmka *S. labrax*, Pallas (1814). Berg (1962) i Banarescu (1964) smatrali su da ova vrsta ima sve tri forme životne istorije – rezidentnu, jezersku i anadromnu, međutim, Balon (1968) je osporio validnost ovog taksona, kao i njegovu pojavu u čitavom basenu Dunava, dok je Behnke (1986) izneo hipotezu da je *S. labrax* najstarija vrsta potočne pastrmke proistekla direktno od primitivnog pretka svih populacija potočne pastrmke. Bernatchez i Osinov (1995) i Osinov i Bernatchez (1996) ne opravdavaju taksonomsku određenost potočne pastrmke crnomorskog sliva u poređenju sa potočnom pastrmkom basena Aralskog i Kaspijskog mora. Još nekoliko provizornih pastrmskih taksona poput *Trutta likana* (Karaman, 1932) i *S. taleri* (Karaman, 1932) opisani su u tokovima zapadnog Balkana koji su u odnosu na basen Dunava periferni, poput Ličke Jasenice (Lika, Hrvatska), ili susedni poput gornjeg toka reke Zete u jadranskom slivu Crne Gore. Laikre i sar. (1999) smatraju verovatnim da je suštinski deo postojeće genetičke varijabilnosti u okviru ove glavne evolucione linije ostao neotkriven usled rezultata istraživanja baziranim na izuzetno malom broju populacija. Istraživanja u okviru uzoraka koji potiču iz basena Dunava u zapadnom Balkanu, doprinela su novim saznanjima o diverzitetu CR mtDNK haplotipova potočne pastrmke. Obrazac rasprostranjenja nedavno otkrivenih haplotipova dunavske linije (Tošić i sar., 2014; Škraba i sar., 2017), i onih poznatih od ranije u rečnim sistemima zapadnog Balkana u okviru crnomorskog sliva (Snoj, 2004; Marić i sar., 2006), kao i van njega (Jadan i sar., 2007), prikazao je njihov status, karakter, kao i evolucionu istoriju potočne pastrmke uopšte u novom svetlu. Kako bi razrešili filogeografske i taksonomske nekonzistentnosti u rodu *Salmo*, naročito kod pastrmki zapadnog Balkana, i kako bi se izbegla pogrešna tumačenja usled mogućih razlika između stabala gena i vrsta, Pustovrh i sar. (2014) su, analizirajući 22 jedarna regiona, primenili novi sistem molekularno-genetičkih markera koji se

zasniva na većem broju nezavisnih i neutralnih nDNK lokusa od prethodno korišćenih, i koji su dizajnirani za razlikovanje čistokrvnih linija pastrmki od njihovih hibrida (Pustovrh i sar., 2012) (Slika 4).

Simonović i sar. (2017) dali su pregled raznovrsnosti i filogeografske osobenosti s ciljem da se one sagledaju, da se odgonetnu odnosi između određenih pastrmskih populacija i da se da uvid u njihovu evoluciju uz upotrebu kontrolnog regiona mtDNK kao molekularnog markera. Navedeno je veoma važno zbog očuvanja autohtone potočne pastrmke, s obzirom da postoji opasnost od poribljavanja jedinkama iz ribnjačkih populacija, što je već nanelo štetu populacijama od velikog konzervacionog značaja.

Prema Lobón-Cerviá, J. i Sanz, N. (2018) filogenetske analize potvrdile su taksonomske pozicije *S. ohridanus* i *S. obtusirostris* kao predačkih vrsta koje su dosta divergirale u odnosu na kompleks vrsta *S. trutta*. U kompleksu vrsta potočne pastrmke, haplotipovi su se grupisali u tri „glavne“ linije (Meditransku, Dunavsku i Atlantsku), i devet „manjih“ linija - Jadransku (AD), Mediteransku (ME) i Marmoratus (MA) u okviru Mediteranske „glavne“ linije; Dunavska crnomorska (DA-BS) i istočno Dunavska (DA-ES) linija u okviru „glavne“ Dunavske linije; i Atlantska (AT) i Duero (DU) linije u okviru „glavne“ Atlantske linije. Dodatno, dve populacije koje su se pokazale kao „outline“ grupe (Tigris - Turska i Dades - Severna Afrika) pokazale su haplotipove koji su veoma divergentni i smatrani su nezavisnim od ostatka linija, formirajući Tigris (TI) i Dades linije. Tigris linija je jasno bila izdvojena u Dunavsku „glavnu“ liniju, ali filogenetska pozicija Dades linije nije bila u potpunosti definisana. Dalje podele u okviru linija primećene su uglavnom u AT, DA-BS i AD linijama.



Slika 4. Molekularna filogenija *Salmo* zapadnog Balkana urađena na osnovu više jedarnih lokusa prema Pustovrh i sar. (2014)

Filogenetske linije potočne pastrmke su geografski distribuirane, međutim, kod velikog broja njih dolazi do preklapanja areala u južnoj Evropi, uglavnom na Balkanskom, Iberijskom i Anatolijskom poluostrvu. Uprkos činjenici da su antropogeno delovanje i klimatske promene smanjili prirodnu distribuciju većine linija potočne pastrmke, druge linije su proširile svoju distribuciju putem poribljavanja alohtonim linijama, kao i translokacijama (Bernatchez, 2001). Najpoznatiji primer je AT linija čiji areal obuhvata reke basena Atlantskog okeana, a najverovatnije je autohtona i za gornje pritoke Dunava. AT linija je umnogome proširila svoju oblast rasprostranjenosti putem poribljavanja uzgajanom ribom poreklom iz severne Evrope, na taj način objašnjavajući današnje filogeografske obrasce (García-Marín i sar., 1999; Marzano i sar., 2003; Jug i sar., 2005; Simonović i sar., 2007; Meraner i sar., 2007; Kohout i sar., 2012; Gratton i sar., 2013).

1.2. MOLEKULARNI MARKERI

Različiti genetički markeri korišćeni su u analizi populacija potočne pastrmke još od vremena kada je Ferguson (1989) izvršio detaljne genetičke analize pomenutih populacija. Lokusi mtDNK koji se najčešće koriste su kontrolni region (eng. *control region* - CR) i gen za citohrom b (*Cytb*), a od jedarnih gen koji kodira za laktat-dehidrogenazu (LDH-C*), geni za hormone rasta GH1 i GH2, gen za transferin, unutrašnji graničnik 1 i 2 (eng. *internal transcribed spacer 1 and 2*, ITS1, ITS2) i mikrosateliti. Pored razmatranja taksonomskih problema, ovi markeri često se koriste i u filogeografskim (Bernatchez, 2001; Cortey i sar., 2004), populaciono-genetičkim (Zhang i Hewitt, 2003), konzervacionim analizama (Apostolidis i sar., 2008; Vera i sar., 2010b; Kohout i sar., 2012, 2013), kao i u proceni obima lokalnih adaptacija (Meier i sar., 2011, Fraser i sar., 2011) i efektivne veličine populacije (Serbezov i sar., 2012). Na osnovu dosadašnjih istraživanja, naučnici su došli do zaključka da bi najbolje bilo analizirati što više lokusa kako bi rezultati bili pouzdaniji, jer svaki od navedenih markera poseduje prednosti i mane, a upotrebom samo jednog od njih analizira se mali deo genoma, pa je mogućnost da se uoče razlike smanjena ili nije reprezentativna (Elliott, 1994). Za kompleks vrste *S. trutta* u banci gena (eng. *GenBank database*) najviše je podataka proisteklih iz analize CRmtDNK (Benson i sar., 2009).

U ovom radu, kao molekularno-genetički markeri korišćeni su kontrolni region mitohondrijalne DNK (CR mtDNK), *LDH-C** lokus i mikrosateliti, pa će oni stoga biti detaljnije razmatrani.

1.2.1. MITOHONDRIJALNA DNK

Kod svih višćelijskih i većine jednoćelijskih organizama mtDNK je cirkularni molekul, u formi dvostrukog heliksa, koji je kao genetički marker u širokoj upotrebi za filogenetske studije, analize populaciono-genetičkih struktura i proces specijacije (Nielsen i sar., 1998; Wang i sar., 2007; Vera i sar., 2010; Schenekar i sar., 2014). Polimorfizmi dužine mtDNK su prijavljivani ranije kod raznih vrsta riba iz grupe Teleostei, uključujući i Salmonide (Nielsen i sar., 1998; Sell i Spirkovsky, 2004; Wang i sar., 2011). Dužina kompletne mtDNK većine vrsta porodice Salmonidae iznosi 16670 bp, što je čini za 100 bp dužom od humane mtDNK (Berg i Ferris, 1984).

Mitohondrijalna DNK se gotovo isključivo maternalno nasleđuje (Lee i sar., 1995), dok se smatra da proces rekombinacije izostaje, odnosno da je izuzetno redak, što sprečava redistribuciju mutacija kod potomaka. Akumulacija takvih mutacija na istom molekulu onda dozvoljava da mtDNK bude korišćena kao efikasni marker za identifikaciju različitih evolucionih tragova (Guyomard, 1993). Osim toga, viša stopa mutacija nekodirajućeg CR mtDNK u poređenju sa kodirajućim regionima jedarne DNK, usled neefikasnih mehanizama reparacije, češće vodi do varijabilnog broja tandemskih ponovaka, duplikacija ili rearanžmana gena (Wang i sar., 2007; Jamandre i sar., 2014). Studije varijabilnosti sisarske DNK pokazale su da su najvarijabilniji delovi

mitohondrijalnog genoma smešteni u pomenutom nekodirajućem kontrolnom regionu, tzv. D-petlji (eng. *D-loop*) (Vigilant i sar., 1989), a dosta podataka potvrđuje da prethodno navedena činjenica važi i za niže vertebrate, naročito za ribe.

CR je hipervarijabilan, brzo evoluirajući, nekodirajući segment mitohondrijalnog genoma (Zhaoxia i sar., 2010; Shi i sar., 2013). Kod vrsta porodice Salmonidae, CR je lociran između tRNK-*Pro* i tRNK-*Phe* gena i smatra se da reguliše replikaciju i transkripciju mtDNK lanaca (Hurst i sar., 1999; Zhaoxia i sar., 2010; Wang i sar., 2011).

Markeri mtDNK markeri od velikog su značaja za filogenetske rekonstrukcije iz svežih i muzejskih uzoraka jer tokom vremena dolazi do degradacije nukleinskih kiselina jedra, dok su mitohondrijalni genomi dostupni u daleko većem broju kopija po ćeliji u poređenju sa jedarnom DNK (Höss, 2000; Wandeler i sar., 2003), i zato što je mtDNK pouzdana za barkodiranje kod kičmenjaka (Allio i sar., 2017). Uprkos uniparentalnom nasleđivanju, mtDNK je već duži niz godina genetički marker od velike važnosti u istraživanjima *S. trutta* kompleksa, s obzirom na veliki broj podataka dostupan iz prethodnih istraživanja (Bernatchez i sar., 1992; Snój i sar., 2002; Verspoor i sar., 2002; Sušnik i sar., 2006; Crête-Lafrenière i sar., 2012), kao i usled dobro podržane hipoteze o filogenetskim vezama zasnovane na mtDNK istraživanjima (Bernatchez, 2001; Cortey i sar., 2004; Vera i sar., 2010; Snój i sar., 2011; Sanz, 2017). CRmtDNK se ubraja u najčešće korišćene molekularne markere kod potočne pastrmke. Njegovom upotrebom otkriveni su polimorfizmi povezani sa mtDNK haplogrupama, tj. linijama, kao i sa haplotipovima u okviru svake od haplogrupa.

Izučavanje principa i procesa koji upravljaju geografskom distribucijom geneoloških linija, filogeografija, često se fokusirala na mitohondrijalni genom (Awise, 1998). Ipak, maternalni predački putevi registrovani od strane ovog molekula predstavljaju samo mali deo ukupnog istorijskog razvoja organizma koji se polno razmnožava (Awise i Wollenberg, 1997). Međutim, dešava se da pojedinačni organizmi imaju više mtDNK haplotipova. Ova pojava poznata je pod nazivom *heteroplazmija* i opisana je u vrlo retkim slučajevima. Iako često povezivana sa bolestima u prošlosti (Grzybowski, 2000), za heteroplazmiju se trenutno zna da se pojavljuje i kod zdravih individua. Dva tipa heteroplazmije su poznata na osnovu tipa promene u sekvenci: češće opisivana *heteroplazmija mesta* (engl. *site heteroplasmy*) (Brown i sar., 1992; Nesbø i sar., 1998) i *heteroplazmija dužine* (engl. *length heteroplasmy*) (Vollmer i sar., 2011).

Mitohondrijalni genom izgleda evoluirao brže od pojedinačnih kopija nuklearnog genoma za faktor deset (Brown i sar., 1979). Deo mtDNK koji najbrže evoluirao je CR, verovatno zbog manjeg selektivnog pritiska (Brown i sar., 1979; McMillan i Palumbi, 1997; White i Martin, 2009). U okviru kontrolnog regiona kičmenjačkih mitohondrijalnih genoma, tandemske ponovke (eng. *tandem repeats* - TRs) locirani na krajevima CR (3' i 5') evoluiraju najbrže, sa velikim varijacijama u veličini motiva i broju kopija što rezultira insercijama i delecijama - *indela* (eng. *indels*) u ovim regionima (Mundy i sar., 1996; Ray i Densmore, 2003; Mjelle i sar., 2008; Okada i sar., 2010). Do danas, nekoliko hipoteza je postavljeno o nastanku indela mtDNK tandemske ponovke (mtTRs). Dve vezane teorije koje objašnjavaju mehanizam putem kojeg indeli motiva nastaju u jedarnim genomima primenjeni su na slične događaje u mtDNK. Prema jednoj teoriji, rekombinacija, koja je redak događaj u mtDNK (Lunt i Hyman, 1997; Hoarau i sar., 2002; Piganeau, 2004; Mjelle i sar., 2008; Sammler i sar., 2011), odgovorna je za njihov nastanak. U ovom slučaju, dvolančani raskid i ponovno spajanje DNK vodilo je do nastanka ili gubitka mtTRs motiva. Prema alternativnoj hipotezi, proces pogrešnog sparivanja skliznutog lanca (engl. *slipped-strand mispairing*, SSM) ili klizanje DNK (Levinson i Gutman, 1987) ne odnosi se samo na mikrosatelitske indele (Torres-Cruz i van der Woude, 2003; Ellegren, 2000; Mayer i sar., 2010), već i na insercije i delecije u mtTRs (Dieringer i Schlotterer, 2003; Leclercq i sar., 2010; Okada i sar., 2010). U svojoj najjednostavnijoj formi, SSM model uključuje lokalnu denaturaciju i premeštanje lanaca DNK dupleksa, praćenog

pogrešnim sparivanjem komplementarnih baza na mestu postojećih sličnih sekvenci ili kratkih TRs. Kada je praćeno replikacijom ili reparacijom, pogrešno sparivanje bi moglo dovesti do indela jedne ili nekoliko jednostavnih ponovaka (Shi, 2013).

Iako je prevalenca TRs u odnosu na veliko geografsko strukturiranje vrste i dalje diskutabilna, Wetjen i sar. (2016) smatraju da će oni, iako raritet koji se pojavljuje kod pojedinih jedinki, ili u izolovanim populacijama, kao što je u slučaju potočne pastrmke, biti od značaja za identifikaciju lokalnih populacija i za izučavanje njihovih evolucionih procesa.

1.2.2. MIKROSATELITI

Postojanje repetitivnih sekvenci DNK kod eukariota dokazano je u eksperimentima sa reasocijacijom DNK još u drugoj polovini dvadesetog veka (Britten i Kohne, 1968). Repetitivna DNK obično se klasifikuje u dve kategorije: satelitska DNK koje se sastoji od velikog broja tandemski ponovljenih sekvenci, i rasuta ponavljajuća DNK. Mini- i mikrosateliti spadaju u prvu kategoriju. Pod minisatelitima se podrazumevaju sekvence koje se sastoje od tandemskih ponovljenih sekvenci od motiva dužine 9 do 200 baznih parova, imaju ukupnu dužinu od 0.1 do 7 kb (kilobaza) (Jeffreys i sar., 1985) i često su locirani blizu centromera i telomera. Mikrosateliti se sastoje od tandemski ponovljenih motiva od jednog do pet baznih parova, sa ukupnom dužinom obično manjom od 0.2 kb (Rassman i sar., 1991), a njihov raspored duž hromozoma je više nasumičan u odnosu na raspored minisatelita (Hearne i sar., 1992), dok su u regionu centromera i telomera hromozoma slabo zastupljeni (Wong i sar., 1990; Wintero i sar., 1992). Oba tipa tandemski ponovljenih sekvenci pronađeni su u svim tipovima eukariotskih genoma do sada (Jarman i Wells, 1989; Epplen i sar., 1991).

Kao i mikrosatelitski lokusi, minisatelitski aleli variraju u broju tandemski ponovljenih elemenata, stoga je dat opšti naziv za oba tipa – „lokusi sa varijabilnim brojem tandemskih ponovaka“ (eng. *Variable Number of Tandem Repeat Loci*, VNTRs) (Bruford i Wayne, 1993). Prvi radovi o izolaciji i karakterizaciji varijabilnosti alela mikrosatelita nakon korišćenja PCR tehnike objavljeni su 1989. godine (Litt i sar., 1989; Weber i sar., 1989; Tautz, 1989). Od tada, mikrosatelitski lokusi su u širokoj upotrebi, dokazano je da su izuzetno polimorfni (Amos i sar., 1993), a njihova brojnost i sveprisutna distribucija ih je učinila vrednim genetičkim markerima - za povezivanje mapiranih genoma raznovrsnih organizama (Weissenbach i sar., 1992.; Dietrich i sar., 1992; Zhang i sar., 1992); u forenzičkim slučajevima (Hagelberg i sar., 1991; Jeffreys i sar., 1992), kao i u analizi muzejskih primeraka (Ellegren, 1991). Takođe, mikrosateliti su uspešno primenjivani za utvrđivanje srodstva kod čoveka i drugih vrsta (Hagelberg i sar., 1991; Jeffreys i sar., 1992; Morin i sar., 1993; Amos i sar., 1993). Jedna od upotrebnih vrednosti mikrosatelita kao molekularnih markera je ta što se prajmeri dizajnirani za jednu vrstu mogu koristiti i za srodne taksone (Moore i sar., 1991; Schlötterer i sar., 1991).

Mikrosateliti su, kao i tandemski ponovci, skloni proklizavanju tokom replikacije DNK. Smatra se da kombinacija SSM procesa sa tačkastim mutacijama doprinosi evoluciji kompleksnijih ponavljajućih jedinica.

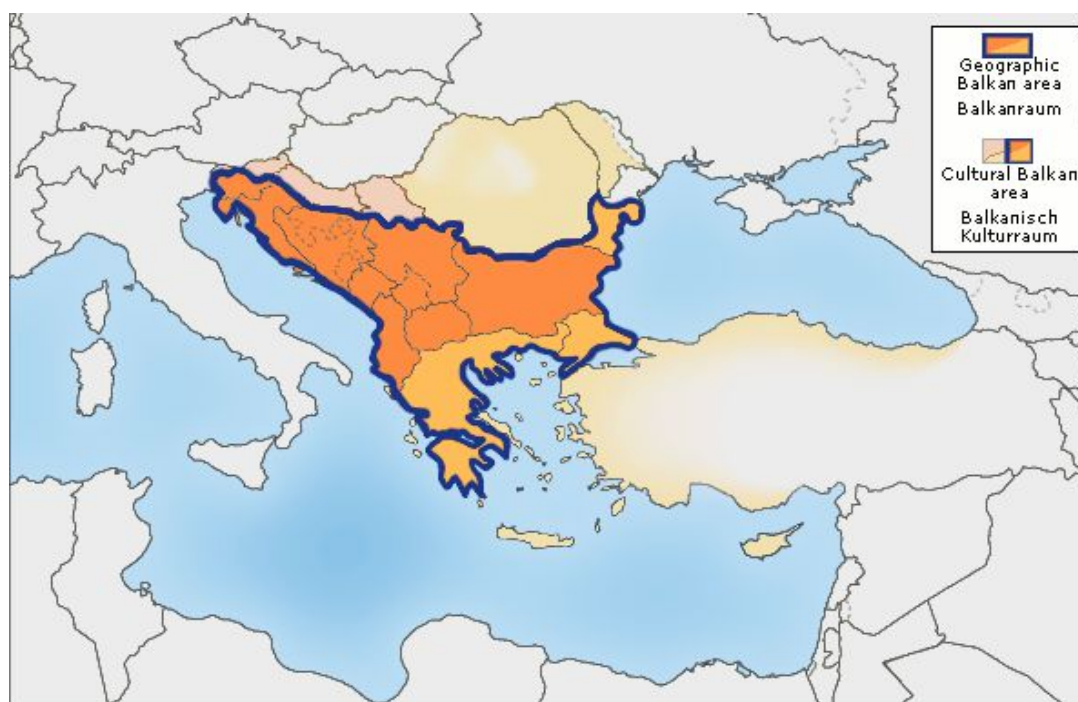
Pogrešno sparivanje skliznutog lanca (SSM) kao mutacioni proces jedan je od više postojećih objašnjenja za poreklo i evoluciju ponavljajućih DNK sekvenci (Levinson i Gutman, 1987).

1.2.3. LDH*C LOKUS

Gen koji kodira specifičan enzim oka LDH-C*, takođe predstavlja važan dijagnostički marker koji se naročito dobro pokazao za rešavanje problema postglacijalne kolonizacije populacija. Kod potodne pastrmke ima dva kodinantna alela: *LDH-C*100*, koji se smatra predačkim, i *LDH-C*90*, jedinstven za liniju potodne pastrmke, koji se pojavljuje sa daleko većom učestalošću od *LDH-C*100* (Ferguson i Fleming, 1983). Na osnovu istraživanja koja su sprovedli Hamilton i sar. (1989) došlo se do zaključka da su populacije koje nose alel *LDH-C*90* vezane za severozapadni deo Evrope, jer je 80% ispitivanih populacija nosilo fiksiran pomenuti alel, ili je on bio daleko učestaliji, a mesta gde je on fiksiran (delovi Baltika, Britanije i Irske) najverovatnije predstavljaju mesto nastanka ovog alela. Populacije u kojima je alel *LDH-C*100* fiksiran česte su u Crnom i Kaspijskom moru (Osinov, 1984), Grčkoj, Korzici, Francuskoj (koja gravitira ka Mediteranu), Škotskoj, Islandu, Irskoj i severnom delu Španije (Elliott, 1994). Takođe, postoje i populacije kod kojih je učestalost ovog alela jako visoka i one se nalaze u jugozapadnoj Bretanji u Francuskoj, visokoplaninskim delovima Švedske, Norveškoj, Škotskoj i Velsu. Generalni zaključak je da se ovaj alel nalazi mahom u reliktnim populacijama i izolovanim lokalitetima, najčešće ukoliko postoje nepremostive prepreke kao što su veliki vodopadi (Ferguson, 1989; Hamilton i sar., 1989; Marshall i sar., 1992).

1.3. ANALIZIRANA PODRUČJA

Balkansko poluostrvo je oblast koja zauzima istočni i jugoistočni deo Evrope (Slika 5), a smatra se da je naziv dobilo po Balkanskim planinama koje se prostiru od granice između Srbije i Bugarske do Crnog mora. Reč Balkan vodi poreklo od bugarske reči „balkan“ što znači planina (Kostov i sar., 1994), dok na turskom jeziku ista reč ima drugačije značenje - „venac šumovitih planina“ („Balkan“). Encarta World English Dictionary, 2011). Balkansko poluostrvo okruženo je sa ukupno šest morskih basena – Crnim morem na istoku, Sredozemnim i Jonskim na jugu, Mramornim i Egejskim na jugoistoku i Jadranskim morem na jugozapadu. U geografske granice Balkana spadaju reke Dunav, Sava i Kupa na severu, Sredozemno more na jugu, Jadransko i Jonsko more na zapadu, i Egejsko, Mramorno i Crno more na istoku i jugoistoku. Sa severa prema jugu i jugoistoku preko poluostrva se prostiru visoki planinski sistemi – Karpatski, Balkanski, Dinarsko-Šarsko-Pindski i Rodopski. Na planini Rili nalazi se najviša tačka Balkana, vrh Musala, čija visina iznosi 2925 m. Između planina nalaze se ravnice koje čine 29 % ukupne površine poluostrva, koje se međusobno spajaju klisurama, uglavnom na južnim i zapadnim delovima poluostrva. Među njima se po svojoj veličini ističe Panonska nizija u slivu Save, Dunava, Drave, Morave i Tise, koja je ujedno i najniža oblast u panonskom basenu između Alpa, Karpata, Rodopa i Dinarida. Nastala je oticanjem Panonskog mora, odnosno sistema oligohalinih i slatkovodnih jezera, na zapad, dolinom Save, ka Istri i Kvarneru. Đerdapska klisura stara je svega oko deset hiljada godina i njenim otvaranjem Dunav se probio na jugozapadnu stranu Karpata na koju je prešao sa severne strane, kuda je do tada tekao. Oticanje sistema jezera bilo je dosta ranije, po svoj prilici krajem neogena, pred nastupanje pleistocena i ledenih doba. Ovaj pravac oticanja potvrđuje i distribucija moruna *Huso huso* i ponto-kaspijskih glavočiča *Knipowitchia* spp. u severnom Jadranu (Hsu, 1978).



Slika 5. Balkansko poluostrvo oivičeno geografskim granicama (izvor: Wikipedia)

Podunavlje kao velika oblast, koja predstavlja vezu između istočne i zapadne Evrope, crnomorskog i mediteranskog regiona, kao i severnih delova Evrope sa centralnom oblašću Balkana putem velikog broja pritoka, od velikog je biološkog značaja.

Zapadni Balkan je područje Balkanskog poluostrva definisano sa geografskog i geopolitičkog aspekta, a obuhvata zemlje bivše Jugoslavije (Hrvatsku, Bosnu i Hercegovinu, Srbiju, Crnu Goru, Makedoniju, Sloveniju) i Albaniju.

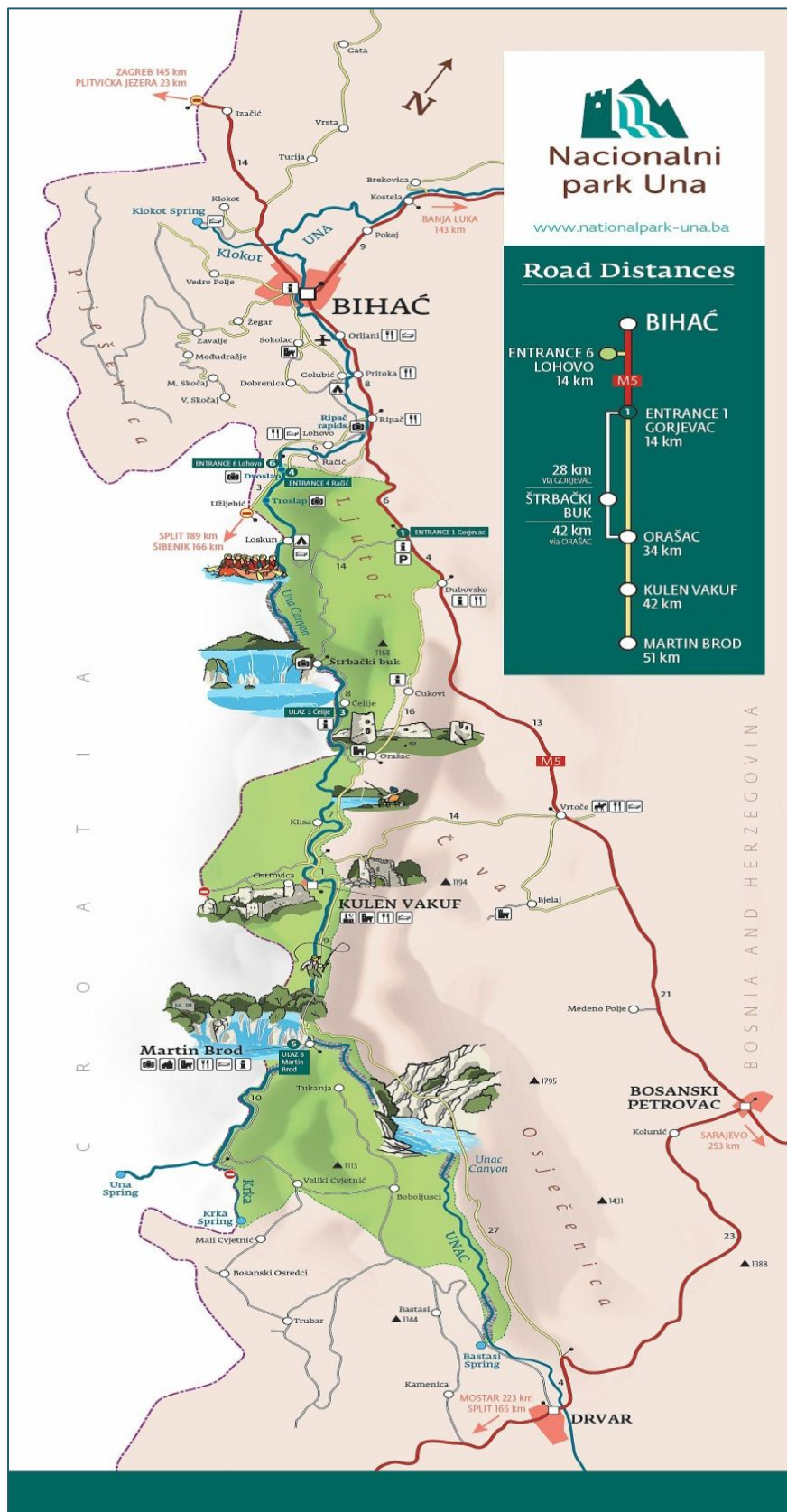
1.3.1. PODRUČJE NACIONALNOG PARKA UNA

Područje Nacionalnog parka (NP) Una nalazi se u zapadnom delu Bosne i Hercegovine, na području grada Bihaća i pripada Unsko-koranskoj zaravni (Slika 6). Obuhvata doline reka Una i Unac, kao i orografske padine planina Plješevice, Grmeča i Osječenice. Prostire se dolinom gornjeg toka reke Une, obuhvatajući kanjon reke Unac, desne pritoke Une, sve do rečice Krke na zapadu.

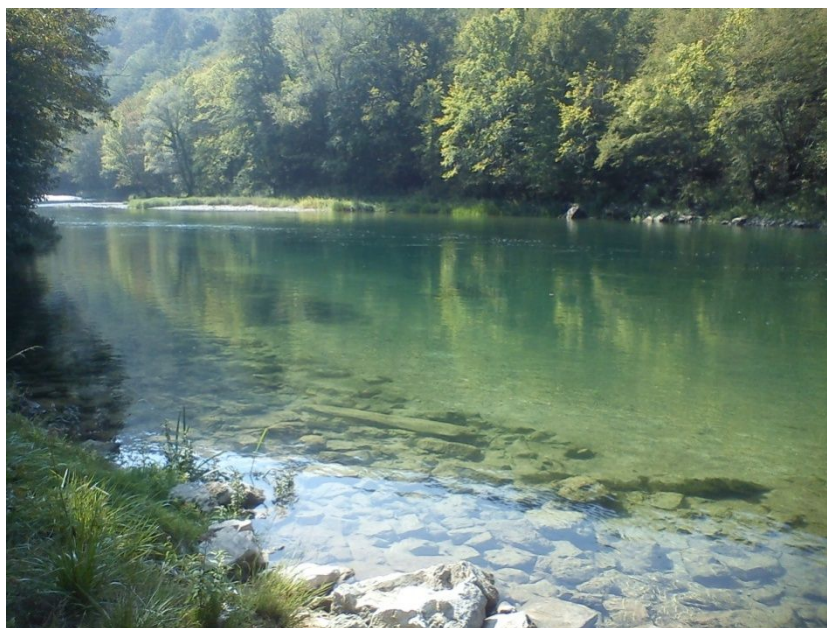
Ovo područje predstavlja jedinstvenu prirodnu celinu u ovom delu Evrope, vredne geomorfološke i biološke raznolikosti. Rezultati Studije izvodljivosti za zaštitu Nacionalnog parka Una iz 2005. godine pružili su osnovu i dokazali potrebu za zaštitu područja kroz kategoriju zaštite na nivou nacionalnog parka, što je prihvaćeno od strane lokalne zajednice i organa vlasti u BiH. Donošenjem Zakona o Nacionalnom parku Una 2008. godine štiti se prostor ukupne veličine 19800 ha koji je administrativno pod teritorijom grada Bihaća, a jedan manji deo prostire se na području opštine Drvar. Od ukupne površine NP-a, u režimu stroge i umerene zaštite je ukupno 13500 ha, a u režimu usmerenog razvoja oko 6300 ha.

Reka Una, po kojoj je Nacionalni park dobio ime, izvire u selu Donja Suvaja ispod planine Stražbenice u Hrvatskoj, i predstavlja tipično krško vrelo, uzlaznog tipa, modro-zelene boje (Slika 7). U gornjem toku, od izvora do Bihaća ukupan pad iznosi skoro 3 m/km. U ovom delu Una ima obeležja prave planinske reke i njeni sedreni slapovi, bukovi i vodopadi, kao što su: veliki vodopad u Martin Brodu, Štrbački buk, Troslap, Dvoslap i Ripački slap, predstavljaju impozantne prirodne tvorevine. Niz Martinbrodski vodopad i Štrbački buk voda se obrušava preko nekoliko manjih i

većih slapova i vodopada, gradeći jedinstvene sedrene tvorevine svojstvene ovoj reci. Živi svet Une od velikog je značaja s obzirom doprinosi stvaranju sedrenih tvorevina. Mahovine su građom pogodne za zadržavanje nataloženog kalcita, čineći tako neizostavnu kariku u procesu stvaranja i rasta sedrenih tvorevina.



Slika 6. Mapa Nacionalnog parka Una (<http://nationalpark-una.ba/bs/>)



Slika 7. Reka Una kod Martin Broda (Foto: Škraba Jurlina)



Slika 8. Reka Krka (Foto Škraba Jurlina)

Reka Unac izvire kao Mlinski potok, ispod planine Šator na 876 m nadmorske visine. Svojim tokom kroz Nacionalni park Una do Martin Broda, Unac teče najužom klisurom, pri čemu njena dubina dostiže i do 350 m. Ukupna dužina toka je oko 66 km, te ima visinsku razliku od oko 450 m. Unac je prva velika pritoka Une koja je svojom izuzetnom čistoćom i hladnoćom dodatno rashlađuje. Unac se svojim tokom puni vodom iz desetak raznih pritoka i vrela. Dešava se da leti u jednom delu presuši, zbog smanjenog dotoka vode iz okolnih šumskih potoka, ostavljajući iza sebe mala jezera prepuna ribe. Taj deo puta Unac teče kao ponornica, izvirući zadnji put iz Crnog vrela, oko 3 km pre ušća u Unu.

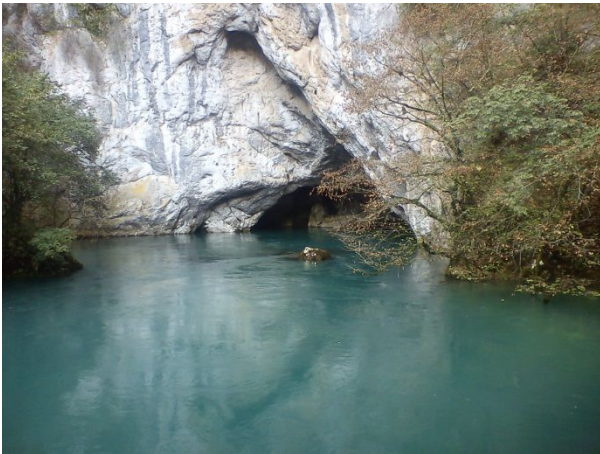
Tok reke Krke dužine je oko 5 km i predstavlja graničnu reku sa Hrvatskom, a celim svojim tokom protiče kroz Nacionalni park (Slika 8). Izvire ispod zaravni na kojoj se prostire selo Mali Cvjetnić, a sam prilaz do izvora reke Krke izuzetno je zahtevan, pa silazak u korito ove rečice pruža nesevakidašnje užitke u istinskoj lepoti netaknute prirode.

Delovi reka Une i Unca čine jedan od najvećih mušičarskih revira u Evropi.

Reka Krušnica izvire u planini Grmeč, u severozapadnom delu Bosne i Hercegovine, iznad grada Bosanska Krupa, dok se u reku Unu uliva 7 km nizvodno (Slika 9). Vodotok reke ima širinu od 15 do 30 m i dubinu 5 do 7 m, a temperatura vode iznosi oko 10 °C.

U jesenjim i prolećnim mesecima Krušnica se izliva iz svoga korita. Kapacitet izvora je vrlo karakterističan zbog njegove velike zapremine, pa minimalno isticanje iznosi 1,5 m³/s, a maksimalno 80 m³/s. Izvor odlikuje velika dubina – ronionci su uspeli da dopru do dubine od 127 m, gde su konstatovali prisustvo velikih dvorana, i nisu mogli ići dalje jer nisu posedovali opremu za veće dubine, a smatraju da je dubina izvora oko 300 m.

Najnovija speleo-ronilačka ekspedicija potvrdila da se radi o retkom i ekološki očuvanom izvoru, sa bogatom speleološkom faunom i velikom količinom pitke vode (Slika 10) (<https://bs.wikipedia.org/wiki/Krušnica>). Fauna reke odlikuje se bogatstvom, pre svega usled činjenice da većim delom svog toka ne prolazi kroz naseljeno mesto. Bogata je salmonidnim vrstama riba, a najzastupljeniji je lipljan, zatim potočna pastrmka, mladica i mnogo “bele ribe” iz porodice Cyprinidae. Ono što je najzanimljivije a tiče se živog sveta u reci Krušnici, jeste da u njoj živi čovečija ribica *Proteus anguinus* (Amphibia, Proteidae) (<http://www.bistrobih.ba/nova/2011/06/30/cuda-rijeka-krusnice-2/>).



Slika 9. Izvor reke Krušnice
(Foto: Škraba Jurlina)



Slika 10. Reka Krušnica (Foto: Škraba Jurlina)

Izvor reke Svetinje nalazi se na uzvišenju iznad proplanka u Dobrom Selu, na samoj granici sa Hrvatskom. Reka izvire iz stene i spušta se niz liticu visine oko 15 m. Izletišta Svetinja, nazvano prema istoimenom izvoru vode, poznato je po tome što obiluje izvorima pitke vode.

1.3.2. PODRUČJE CRNE GORE

1.3.2.1. Opšte odlike

Područje Crne Gore pripada Dinarskom karstu, izraženoj celini specifičnih hidroloških i morfoloških odlika. Termin karst odnosi se na terene izgrađene od krečnjaka i dolomita, a naziv je dobio po reči „kras”, germanskog porekla, koja predstavlja ime oblasti na jugozapadu Slovenije u sistemu Dinarskih planina. Karstna područja podrazumevaju čitav niz specifičnih geoloških, geomorfoloških i hidroloških osobina, i u Crnoj Gori zauzimaju više od 70% teritorije.

Kao posledica geografskog položaja, nadmorske visine, blizine mora, prostornog rasporeda i položaja reka, jezera i planina, Crnu Goru odlikuju složeni klimatski uslovi koji se razlikuju od mediteranske klime na jugu i u centralnim oblastima, u Bjelopavličkoj i Zetskoj ravnici, preko umereno kontinentalne i kontinentalne klime u jugozapadnim karstnim delovima i rečnim dolinama, do alpske, odnosno planinske klime koja karakteriše planinske visine iznad granice pojavljivanja šuma u središnjem i severnom delu zemlje.

1.3.2.2. Hidrološke osobine

Crna Gora spada u jednu od najbogatijih zemalja vodom, ne samo na Balkanu, već i na evropskom kontinentu. Sve kopnene vode koje joj pripadaju formiraju se na njenoj teritoriji zahvaljujući heterogenim uslovima u pogledu reljefa, geologije i klime, koji omogućuju formiranje podzemnih i površinskih tokova, pri čemu razučeni reljef naročito ima uticaja na nastanak padavina i njihovu preraspodelu, tj. pravac slivanja. U Crnoj Gori, pored velikog broja reka, postoji i 30 prirodnih jezera, od kojih je Skadarsko najveće sa površinom od otprilike 350 do 500 km² u zavisnosti od vodostaja. Lednička jezera, koja su prisutna na visokim planinama kao posledica glacijacije, zapreminski nisu toliko značajna.

Hidrografski slivovi prisutni u Crnoj gori su crnomorski i jadranski. Najznačajnije reke jadranskog sliva su Morača sa pritokama (Zeta, Mala Rijeka i Cijevna), Rijeka Crnojevića, Oraovštica, Biševina, Grahovska reka, Nudolska reka i Bojana, koja je ujedno i otoka Skadarskog jezera, dok su reke značajne za crnomorski sliv Piva, Tara, Komarnica, Lim, Ibar i Čehotina (Marković, 1990).

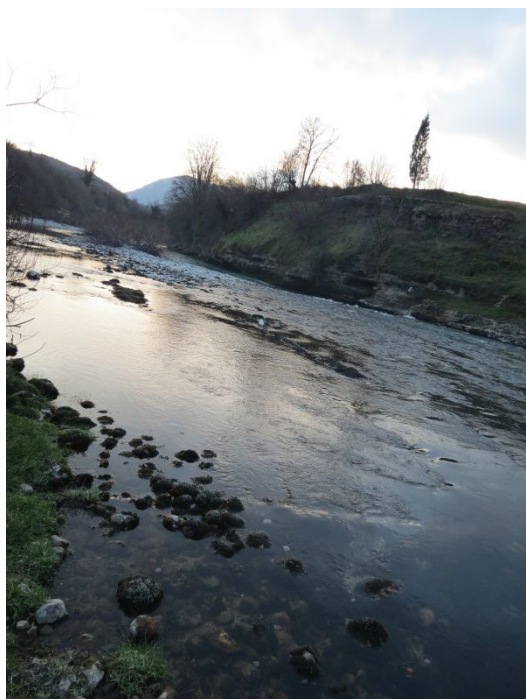
Za ovaj rad korišćeni su uzorci iz reka koje pripadaju jadranskom slivu, pa će o njima biti nešto više rečeno.

Reka Morača, dužine 113 km, nastaje ispod planine Rzač na severu Crne Gore, spajanjem Rizačkog i Javorskog potoka koji počinju od vododelnice prema Tari, a uliva se u Skadarsko jezero. Morača je brza planinska reka u svom severnom delu, niz obronke Rzača, širine oko 100 m, i uglavnom plitka. Iza Ljevišta sliva se u dolinu koja razdvaja Moračke planine od Sinjajevine. Nastavlja podnožjem Babinog zuba, najvišeg vrha Sinjajevine, a zatim, u blizini Crkvina, ulazi u svoj duboki kanjon Platije, jedan od najfascinantijskih predela Crne Gore. Morača je poznata po uskoj i strmoj rečnoj dolini sve do ulaza u Zetsku ravnicu, ograđenoj visokim planinama i planinskim grebenima, pa su stoga njene pritoke kratkog toka i velikog pada. Sama Morača ima pad oko 2100 m od izvora do Podgorice, što predstavlja izuzetno nagli pad na kratkom rastojanju od 70 km. Nakon spajanja sa svojom najvećom pritokom Zetom, severno od Podgorice, Morača ulazi u Zetsku dolinu, gde postaje prava ravnicaška reka, kroz koju teče sve dok se ne ulije u Skadarsko jezero. Pored brojnih manjih potoka koji Moraču snabdevaju vodom, pogotovo u kišnom periodu, od značaja su njene leve pritoke: Javorski potok, Slatina, Moštanica, Sjevernica, Kruševački potok, Mala rijeka, Ribnica i Cijevna, kao i desne: Ratnja rijeka, Požnja, Topli potok, Vrela, Ibrištica, Mrtvica, Zeta, Mareza i Sitnica (Filipović, 1975; Mihailović, 1984; Radojičić, 2005)

Reka Sjevernica, leva pritoka Morače, izvire ispod Ostrevice (1768 m) i njeni izvori su na nadmorskoj visini 1400 – 1500 m. U svom izvorišnom delu, sa desne strane prima pritoku Bratožicu, a sa leve Trebešicu.

Mala Rijeka, takođe leva pritoka Morače, izvire na krečnjačkoj zaravni Brskut, na kojoj se nalazi granica između sedimenata fliša iz gornje krede, i masivnih, stratifikovanih krečnjaka i dolomita iz jure i krede (Slika 11). Nastaje spajanjem povremenih vodotokova Brskut i Nožica kod mesta Dubaja, na nadmorskoj visini od 630 m (Slika 12). Proticaj na Maloj Rijeci, izmeren neposredno pre njenog ušća u Moraču je promenljiv, i iznosi od 0 do 60 m³/s, jer u toku letnjih

meseci donji tok reke uglavnom presuši. Kanjon Male Rijeka dubok je od 600 do 900 m, a karakteriše se prisustvom brojnih pećina i jama (Kasalica, 1983; Mihailović, 1984; Radojičić, 2005)



Slika 11. Mala Rijeka
(Foto: Škraba Jurlina)



Slika 12. Reka Nožica
(Foto: Škraba Jurlina)

Kanjon reke Mrtvice nalazi se na 35 km od Kolašina, a počinje u selu Velje Duboko (Slika 13). Jedna od pretpostavki o poreklu njenog imena jeste i činjenica da je Mrtvica ponornica, koja od Velja Dubokog sve do vrela Bijele Nerine često ponire i nanovo se pojavljuje, pa povremeno deluje kao da je “mrtva”. Nastaje od više potoka na prostoru uvale, tj. nekadašnjeg ledničkog cirka u pleistocenu, iz istoimenog sela Velje Duboko, na nadmorskoj visini od 1014 m. Mrtvica se uliva u Moraču, kao njena desna pritoka, na nadmorskoj visini od otprilike 180 m, na području mesta Međuriječje. Mrtvica je tipična planinska reka koja obiluje slapovima, bistra je, brza i izuzetno hladna, sa temperaturom od četiri stepena usled čega se smatra jednom od najhladnijih reka na Balkanskom poluostrvu. Njeni najviši izvori nalaze se severno od sela Velje Duboko, ispod planine Stožer (Vojnovac 2072 m) i katuna Utilice, na nadmorskoj visini 1250 – 1650 m. U istočnom obodu uvale Velje Duboko, Mrtvica prima desnu pritoku, čija su izvorišta na nadmorskoj visini od 1000 do 1100 m, ispod ogranaka Maganika, i njegovih vrhova Rogođed (2017 m) i Žuta greda (2104 m). Najveću količinu vode dobija od izdašnih vrela Jama i Bijelih Nerina. Kanjon Mrtvice dugačak je oko 9 km, dok njegova visina na pojedinim mestima dostiže do 1100 m. Smatra se jednim od najlepših kanjona u Dinaridima, a završava se kod mesta gde se u Mrtvicu uliva potok Dubočnjak (223 m), koji protiče kroz uvalu, a ujedno i naselje, Mrtvo Duboko (Mihailović, 1984; Radojičić, 2005).



Slika 13. Deo kanjona reke Mrtvice kod mesta Velje Duboko
(Foto: Škraba Jurlina)

Reka Zeta, kao desna pritoka Morače, nastaje u severozapadnom delu Nikšićkog polja. Izvire kao potok Surduk, koji se u Nikšićkom polju, nakon ulivanja dve manje pritoke – Rastovca (Brezovice) i Sušice, pretvara u Zetu, u koju se uliva nakon toga Moštanica. Pri niskom vodostaju gubi vodu u više ponora kod Zavrha, odakle teče prema istoku meandrirajući kroz ravničarsko područje Mokre njive i Bjelopavličku ravnicu. Kada je vodostaj visok, propada na ivici polja u ponor Slivlje, odakle teče podzemno pravolinijski oko 5 km, da bi ponovo izbila iz pećine na južnoj padini Planinice na vrelu Perućice i Glave Zete, na visini od 100 m, i otprilike 550 m niže od ponora Slivlja. Od jakih pomenutih vrela u ovoj oblasti, nastaje vodotok Donje Zete, odnosno, Zeta se do Slivlja naziva Gornja Zeta, a od vrela Perućica Donja Zeta. Ukupna dužina reke Zete, s podzemnim tokom, iznosi oko 89 km, a površina sliva je 1547 km². Ispod nekadašnjeg grada Duklje, kod Podgorice, uliva se u Moraču kao njena glavna pritoka (Marković, 1990).

2. CILJEVI RADA

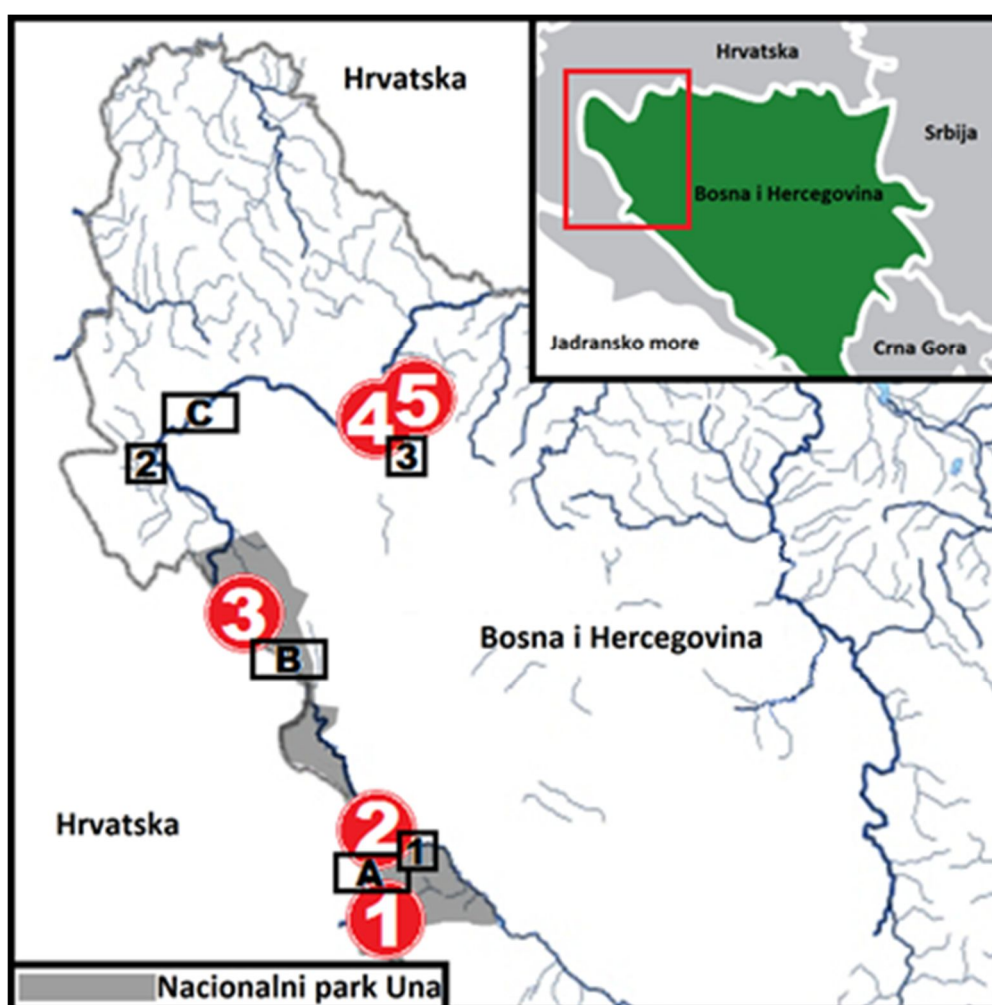
Naučni ciljevi istraživanja obuhvaćenih ovom doktorskom disertacijom su sledeći:

- 1) Utvrditi genetičku strukturu do sada neistraženih populacija kompleksa potočne pastrmke *S. cf. trutta* na području zapadnog Balkana uz pomoć molekularnih metoda – analizom kontrolnog regiona mitohondrijalne DNK (CR mtDNK, D-loop) i jedarne DNK (dela jedarnog gena za LDH-C* i osam mikrosatelitskih lokusa).
- 2) Utvrditi raznovrsnost (uključujući i alohtone elemente) kompleksa *S. cf. trutta* reka zapadnog Balkana i njene karakteristike, pre svega potencijalne hibridizacione procese koji deluju na umanjevanje originalnog diverziteta.
- 3) Uporediti dobijene rezultate sa podacima za kompleks *S. cf. trutta* iz drugih reka Balkana i uporediti dobijenu rekonstrukciju evolucione istorije sa postojećim podacima o geomorfološkim zbivanjima na Balkanu.

3. MATERIJAL I METODE

Za izradu ove doktorske disertacije korišćen je materijal uzorkovan u periodu od 2012. do 2016. godine u rekama Dunavskog sliva iz Nacionalnog parka Una (Bosna i Hercegovina) i na nekoliko lokaliteta u rekama Jadranskog sliva u Crnoj Gori.

Uzorkovanje potočne pastrmke u gornjim i srednjim delovima toka reke Une, koja je pritoka Save, i njenim pritokama izvršeno je na pet lokaliteta: Krka, Una kod Martin Broda, Una kod Loskuna (gornji tok), Krušnica i Svetinja (pritoke Une, srednji tok) (Slika 14).



Slika 14. Mapa sa mestima uzorkovanja u Nacionalnom parku Una - krugovi označavaju mesta uzorkovanja u slivu reke Une: 1 - Reka Krka, 2 – Reka Una kod Martin Broda, 3 – Reka Una kod Loskuna, 4 – Reka Krušnica, 5 – Reka Svetinja. Kvadrati označavaju ribnjake (1 – Martin Brod, 2 – Klokot, 3 – Krušnica). Pravougaonici označavaju vodopade (A – vodopad kod Martin Broda, B – Štrbački buk, C – vodopad Kostela).

Potočne pastrmke u Crnoj Gori uzorkovane su iz reka koje pripadaju Jadranskom slivu: Zeta, Nožica, Mrtvica i Sjevernica (Slika 15).



Slika 15. Mapa sa mestima uzorkovanja u Crnoj Gori: 1 - Reka Mrtvica, 2 - Reka Sjevernica, 3 – Reka Nožica, 4 – Gornja Zeta, 5 – Donja Zeta

Na svim navedenim lokalitetima ukupno je prikupljeno 160 uzoraka analnih peraja riba, koji su korišćeni u rekonstrukciji evolucione istorije u okviru rada na projektu OI173025 “Evolucija u heterogenim sredinama: mehanizmi adaptacija, biomonitoring i konzervacija biodiverziteta” Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Terenski rad obuhvatio je uzorkovanje riba pomoću elektroagregata IG200/1 (*AquaTech*, AU), ulazne struje 12 V, izlazne struje 500 V, maksimalne jačine 15A DC i frekvencije 65 Hz. Nakon prikupljanja tkiva isečaka analnih peraja potočnih pastrmki za DNK analize odložena su u obeležene tubice od 2 ml sa 96% etanolom, a ribe su vraćene žive u vodu iz koje su uzorkovane. Uzorci DNK su skladišteni na 4 °C, a zatim korišćeni za molekularne analize (alternativno su odlagane na -20 °C na duži vremenski period).

Tabela 2. Distribucija uzorkovanih jedinki po lokalitetima i analiziranim genetičkim markerima

Lokalitet	mtDNK	Mikrosatelitski lokus	RFLP <i>LDH-C*</i>
Svetinja	9	10	10
Krušnica	9	11	11
Krka	28	28	-
Una	18	20	-
Mrtvica	12	12	12
Sjevernica	12	12	-
Nožica	18	18	-
Gornja Zeta	30	32	32
Donja Zeta	17	17	-
Ukupno	153	160	65

3.1. MOLEKULARNO-GENETIČKE ANALIZE

Ekstrakcija i amplifikacija DNK materijala rađeni su u Centru za genotipizaciju ribolovnih resursa na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Umnoženi PCR fragmenti mtDNK sekvencirani su u MACROGEN[®] Europe, dok je analiza dužine fragmenata mikrosatelitskih lokusa izvršena u Centru za humanu molekularnu genetiku Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Amplifikacija i restrikcione analize jedarne DNK takođe su rađene u Centru za genotipizaciju ribolovnih resursa na Biološkom fakultetu u Beogradu.

3.1.1. EKSTRAKCIJA DNK

Deo analnog peraja veličine oko 4 mm² ispran je od alkohola destilovanom vodom i osušen na papiru, a zatim prenet u tubu od 1.5 ml koja je prethodno obeležena. DNK iz uzoraka analnog peraja izolovana je na dva načina: tehnikom isoljavanja (Miller i sar., 1988) i pomoću kita za ekstrakciju Quick-gDNA[™] MiniPrep (*Zymo research Corporation, SAD*), prema uputstvima proizvođača. Početni koraci izolacije isti su za obe tehnike. U tubu od 1.5 ml dodato je 200 µl ekstrakcionog TEN pufera², 7 µl 10% AccuGene[®] SDS3 (*Lonza, CH*) i 5 µl proteinaze K (*Applied Biosystems[®], SAD*), uz mešanje obrtanjem. Praćenjem instrukcija priloženog uputstva za optimalne uslove delovanja enzima proteinaze K, tubice sa uzorkom i dodatim reagensima stavljene su na inkubaciju, 1h na 65°C i centrifugirane na 500 rpm.

3.1.1.2. Tehnika izolacije DNK isoljavanjem

Nakon inkubacije u svaku tubicu dodato je 10 µl 5M NaCl, a zatim su centrifugirane 15 min na 2000 g (*BOECO, DE*). Iz svake tubice supernatant je prebačen u novu isto obeleženu tubicu, a talog je odbačen. Ovaj postupak ponovljen je još dva puta i nakon poslednjeg centrifugiranja i presipanja supernatanta u svaku tubicu, dodato je 1 ml 96% etanola. Mešanjem sadržaja u tubicama putem obrtanja praćena je promena boje rastvora i prisustvo belih niti DNK u tubicama. Tubice su zatim kratko centrifugirane na najvećoj brzini u trajanju od 15 s. Posle centrifugiranja supernatant je odliven, talog zadržan, i u svaku tubicu dodato je po 1 ml 75% etanola uz mešanje obrtanjem ili blagim vorteksiranjem. Sadržaj tubica se ponovo centrifugirao na najvećoj brzini u trajanju od 15 s, zatim je supernatant pažljivo izvučen pipetom, a u talogu je ostala izolovana DNK. Talog je osušen na vazduhu dok sav alkohol nije ispario i dodato je 30 µl AccuGene[®] molekularne vode (*Lonza, CH*). Uzorci su ostavljani u frižideru na 4° C jedan dan kako bi se rastvorila DNK, a zatim su korišćeni za molekularne analize ili su čuvani u zamrzivaču na -20 °C. Jedan deo uzoraka DNK

izolovane metodom izoliranja prečišćen je kroz Zymo-Spin™ kolonice iz Quick-gDNA™ MiniPrep kita (Zymo research Corporation, SAD), a zatim uspešno korišćen za amplifikaciju.

3.1.1.3. Quick-gDNA™ MiniPrep

Izolacija DNK pomoću kita Quick-gDNA™ MiniPrep radi se prema uputstvima proizvođača (Zymo research Corporation, SAD) za materijal prethodno digeriran razgrađen pomoću proteinaze K (Applied Biosystems®, SAD). Izolovana DNK rastvorena je u 60 µl odgovarajućeg pufera (DNA Elution Buffer) i čuvana na -20 °C. Nakon izolacije DNK proverena je uspešnost ekstrakcije na 0.8% agaroznom gelu.

3.1.1.4. Amplifikacija

Amplifikacija lančanom reakcijom polimeraze: lančana reakcija polimeraze (eng. *Polymerase Chain Reaction*, PCR) korišćena je za umnožavanje kontrolnog regiona mitohondrijalne DNK, dela jedarnog gena za LDH-C* i za osam mikrosatelitskih lokusa.

Deo CR mtDNK (D-petlja), dužine oko 1080 bp, umnožavan je pomoću nizvodnih prajmera 28RIBa (5'- CACCCTTA ACTCCCAAAGCTAAG -3') (Snoj i sar., 2000) i novo-dizajniranog prajmera Trutta_mt_F (5'- TGAATGAACCTGCCCTAGTAGC -3'; Brkušanin, 2018), kao i uzvodnog prajmera HN20 (5'-GTGTTATGCTTTAGTTAAGC-3'; Bernatchez i Danzmann, 1993). Uspešnost amplifikacije proverena je na 1.5% agaroznom gelu. Umnoženi fragmenti poslani su na sekvenciranje, a dobijene sekvence analizirane su u odgovarajućim programima ClustalX2 (Larkin i sar., 2007) i Mega 7.0 (Kumar i sar., 2016).

Mikrosatelitski lokusi koji su korišćeni u analizi su: SsoSL438 (Slettan, i sar., 1995), Ssa85 (O'Reilly i sar., 1996), Str73INRA (Estoup i sar., 1993), SSsp2216 (Paterson i sar., 2004), Ssa410Uos (Cairney i sar., 2000), SsaD190, SsaD71 (King i sar., 2005) i OMM1064 (Rexroad i sar., 2002), dok su prajmeri za njihovo umnožavanje preuzeti iz radova navedenih autora. Očekivane dužine PCR produkata preuzete su iz Lerceteau-Kohler i Weiss (2006). Amplifikacija fragmenata ovih lokusa rađena je u četiri dupleks reakcije (u svakoj bila kombinovana po dva lokusa čije se dužine PCR produkta ne preklapaju), kao i u nekoliko monopleks reakcija po potrebi (Tabela 3), dok su se dužine dobijenih fragmenata očitavale nakon fragment analize na kapilarnoj elektroforezi.

Dobijeni rezultati su softverski analizirani pomoću GeneMapper® ID v3.2.1 (Applied Biosystems, SAD) i odgovarajućih programa: Micro-checker 2.2.3 (van Oosterhout i sar., 2004.) za utvrđivanje prisustva nultih alela ili grešaka u određivanju genotipova i kucanju; GENETIX 4.05 (Belkhir i sar., 1996-2004) pomoću koga je utvrđena očekivana, objektivna i detektovana heterozigotnost, prosečan broj alela po lokusu, učestalost alela, indeksi fiksacije, kao i korespondentna faktorijalna analiza (FCA); Fstat 2.9.3.2 (Goudet, 2002) pomoću koga su dobijene vrednosti genskog diverziteta po lokusima i bogatstvo alela (eng. *allelic richness*), prosečan broj alela po lokusima u populacijama, vrednosti Wright-ove F statistike, kao i informacija o tome da li su populacije u Hardi-Vajnbergovoj ravnoteži (eng. *Hardy-Weinberg equilibrium*, HWE); POPULATIONS 1.2.31 (Langella, 2002) u kome su alelske distance (eng. *shared allele distances*, DAS, Chakraborty i Jin, 1993) korišćene za procenu genetičke udaljenosti između jedinki i između populacija u programu; Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier i Lischer, 2010) koji je upotrebljen računanje genetičkog diverziteta između populacija kao i analizu molekularne varijanse (AMOVA), BOTTLENECK 1.2.02 (Cornuet i Luikart, 1996; Piry i sar., 1999), koji u svom paketu ima tri testa: *Sign test*, *Standardized differences test* i *Wilcoxon test (Sign-rank test)* za računanje i poređenje ravnotežne očekivane (H_{eq}) i uočene heterozigotnosti (H_e) u populacijama, kao i tri modela mutacija: IAM, TPM i SMM. Ukoliko se neki mikrosatelitski lokus uvek menja dodavanjem samo

jednog ponovka, govorimo o stupnjevitom modelu mutacija (eng. *stepwise mutation model*, SMM) (Kimura i Ohta, 1978; Bell i Jurka, 1997). Pojedini mikrosateliti evoluiraju prema dvofaznom modelu mutacija (engl. *twophasemutational model*, TPM) gde dolazi do dodavanja ili uklanjanja samo jednog ponovka, i gde postoji verovatnoća mutacionih događaja sa većim promenama u broju ponovaka (Di Rienzo i sar., 1994) ili prema modelu beskonačnog broja alela (engl. *infinite-allele model*, IAM) po kome svaka mutacija stvara novi alel (Kimura i Crow, 1964). Od velike je važnosti odabir odgovarajućeg modela mutacija kada se procenjuju distance između populacija, jer se pretpostavke navedenih modela razlikuju, pa prema stupnjevitom modelu mutacija dužine mikrosatelita daju direktnu informaciju o srodničkim odnosima između alela, za razliku od onih kod kojih se broj ponovaka nepredvidivo menja (TPM). Što je duže vreme divergencije populacija, verovatnoća da aleli predstavljaju homoplazije se povećava (Stojković i Tucić, 2012).

Program STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard i sar., 2000) korišćen je za analizu struktuiranosti populacija sa pretpostavljenim brojem grupa $K = 10$, dok je period testiranja bio podešen na 100 000 do 500 000, što je ponovljeno 7 puta za svaku grupu K , a program Structure Harvester (Earl i vonHoldt, 2012) je upotrebljen za procenu najverovatnije K vrednosti prema Evanno i sar. (2005),

Tabela 3. Analizirani mikrosatelitski lokusi, njihova struktura, očekivana dužina PCR produkata i prajmeri korišćeni za njihovu amplifikaciju uz odgovarajuće fluorescentne obeleživače (FAM ili NED)

Lokus	Ponavljajući motiv	Boja	Sekvenca prajmera	Reference	Očekivana dužina produkta
Prva dupleks reakcija					
Str73INRA	(GT) _x TTATCT(GT) ₃	FAM	5'-CCTGGAGATCCTCCAGCAGGA-3' 5'-CTATTCTGCTTGTAAGTACCTA-3'	Estoup i sar., 1993	138-144 bp
Ssa410Uos	(GACA) _x	FAM	5'-GGAAAATAATCAATGCTGCTGGTT-3' 5'-CTACAATCTGGACTATCTTCTCA-3'	Cairney i sar., 2000	173-310 bp
Druga dupleks reakcija					
SsaD190	(TAGA) _x	FAM	5'-GGCATTGGAGGTAAGGACAC-3' 5'-CCAGACCACTGAACTTCTCATC-3'	King i sar., 2005	115-157 bp
SsaD71	(TAGA) _x	FAM	5'-AACGTGAAACATAAATCGATGG-3' 5'-TTAAGAATGGGTTGCCTATGAG-3'	King i sar., 2005	183-239 bp
Treća dupleks reakcija					
Ssa85	(GT) ₁₄	FAM	5'-AGGTGGGTCTCCAAGCTAC-3' 5'-ACCCGCTCCTCACTTAATC-3'	O'Reilly i sar., 1996	101-113 bp
SSsp2216	(GTTA) ₂₅	NED	5'GGCCCAGACAGATAAACAACACC-3' 5'-GCCAACAGCAGCATCTACACCAG-3'	Paterson i sar., 2004	133-215 bp
Četvrta dupleks reakcija					
OMM1064	(GATA) ₁₉	NED	5'AGAATGCTACTGGTGGCTGTATTGA-3' 5'-TCTGAAAGACAGGTGGATGGTTCC-3'	Rexroad i sar., 2002	163-286 bp
SsoSL438	(AC) _x AT(AC) ₆	NED	5'-GACAACACACAACCAAGGCAC-3' 5'-TTATGCTAGGTCTTTATGCATTGT-3'	Slettan, 1995	89-109 bp

Za amplifikaciju *LDH-C** regiona dužine 440 bp korišćeni su nizvodni prajmer Ldhxon3F (5'-GGCAGCCTCTTCCTCAAACGCCCAA-3'), i uzvodni prajmer Ldhxon4R (5'-CAACCTGCTCTCTCCCTCCTGCTGACGAA-3') (McMeel i sar., 2001). Uspešnost amplifikacije proverena je elektroforezom na 2% agaroznom gelu. Nakon toga, dobijeni PCR produkti korišćeni su u restrikcionoj analizi (eng. *restriction fragment length polymorphism*, RFLP), kojom se utvrđuje polimorfizam dužine restrikcionih fragmenata, uz upotrebu restrikcionog enzima *BselI* (*Thermo Fisher Scientific*, SAD) koji seče sekvencu DNK na mestu CCCNNNNN/NNGGG. U slučaju prisustva alela *LDH-C**90, enzim prepoznaje spomenutu sekvencu i nakon digestije nastaju dva

fragmenta dužine 360 i 80 bp, dok u slučaju alela *LDH-C*100* postoji supstitucija G u A pa enzim ne prepoznaje sekvencu i nesečeni fragment je dužine 440 bp. Kod homozigota vidi se samo jedna traka dužine 440 ili 360 bp, a kod heterozigota uočavaju se tri trake, pri čemu se prve dve, od 440 i 360 bp, jasno razlikuju.

4. REZULTATI

4.1. ANALIZA KONTROLNOG REGIONA MTDNK

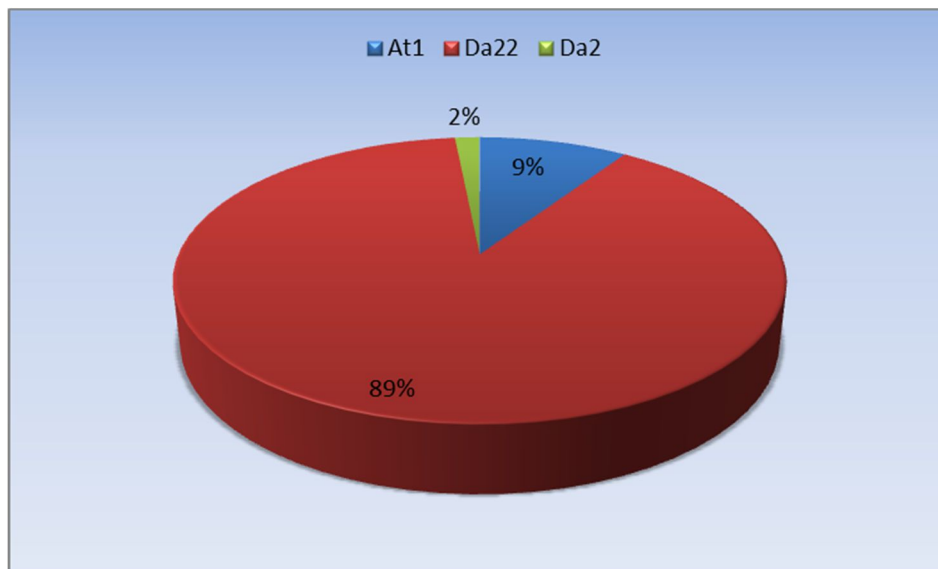
Analiza rezultata sekvenciranja kontrolnog regiona (CR) mtDNK urađena je na ukupno 158 uzoraka riba, od kojih je 67 iz reka crnomorskog (dunavskog) sliva iz Nacionalnog parka Una, dok je 91 uzorak iz jadranskog sliva u Crnoj Gori. Sekvenciranje je omogućilo uvid u nukleotidni raspored analiziranih sekvenci u dužini od 369 bp do 1004 bp, počevši od 5' kraja lanca CR regiona, do takozvanog „poli T“ bloka koji se nalazi otprilike na polovini njegove ukupne dužine, odnosno i iza „poli T“ bloka u zavisnosti od kvaliteta sekvenci.

Sumarno je iz svih analiziranih uzoraka identifikovano 7 haplotipova registrovanih u banci gena (eng. GenBank) i nekoliko potencijalno novih haplotipova koji pripadaju DA grupi haplotipova (Tabela 4).

Tabela 4. Detektovani haplotipovi u rekama crnomorskog i jadranskog sliva na području Nacionalnog parka Una i u Crnoj Gori

Reke	Haplotipovi							
	Da1	Da2	Da22	ADcs11	Ad+Prz	At1	A17	DA haplogrupa
Svetinja	-	1	5	-	-	3	-	1
Krušnica	-	-	6	-	-	3	-	2
Krka	-	-	28	-	-	-	-	-
Una Martin Brod	-	-	4	-	-	-	-	-
Una Loskun	-	-	16	-	-	-	-	-
Mrtvica	-	-	-	9	-	-	3	-
Sjevernica	3	-	-	6	3	-	-	-
Nožica	18	-	-	-	-	-	-	-
Gornja Zeta	27	1	-	-	-	2	-	2
Donja Zeta	-	-	-	11	6	-	-	-

U okviru uzoraka iz reka crnomorskog (Slika 16) sliva detektovana su tri haplotipa, od koji dva pripadaju DA liniji (Da2 i Da22), dok jedan haplotip pripada AT liniji (At1).

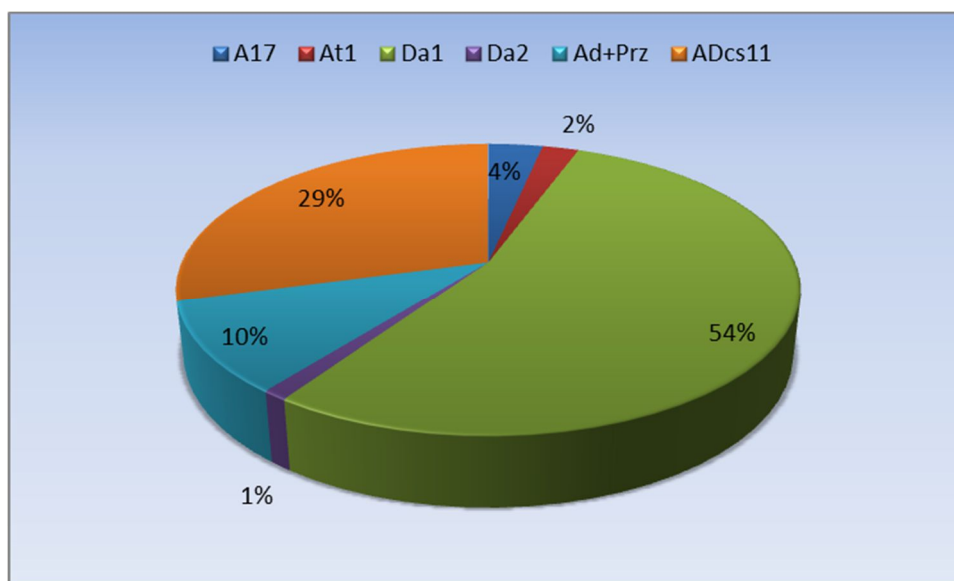


Slika 16. Procentualna zastupljenost haplotipova u crnomorskom slivu

Procentualno najzastupljeniji haplotip u crnomorskom slivu je Da22 koji je prisutan kod 89% jedinki na ispitivanim lokalitetima pomenutog sliva, dok je haplotip Da2, takođe autohton za ovaj sliv kao i prethodno navedeni, bio prisutan kod svega 2% jedinki. Haplotip At1, koji je alohton za područje crnomorskog sliva, bio je zastupljen sa 9%.

U okviru uzoraka iz jadranskog sliva iz Crne Gore (Slika 17) detektovano je šest haplotipova, od kojih dva pripadaju AD liniji (ADcs11 i Ad+Prz), dva pripadaju DA liniji (Da1 i Da2) i dva pripadaju AT liniji (A17 i At1).

Detektovani haplotipovi potiče pastrmke dunavskog sliva zapadnog Balkana uz pridružene haplotipove jadranskog i atlantskog sliva koji se pominju u ovoj studiji dati su u Tabeli 5.



Slika 17. Procentualna zastupljenost haplotipova u jadranskom slivu

U jadranskom slivu, iako neočekivan, procentualno najzastupljeniji haplotip u uzorcima je Da1 sa 54%, za njim sledi ADcs11 sa 29%, zatim Ad+Prz sa 10%, oba autohtona za ovaj sliv,

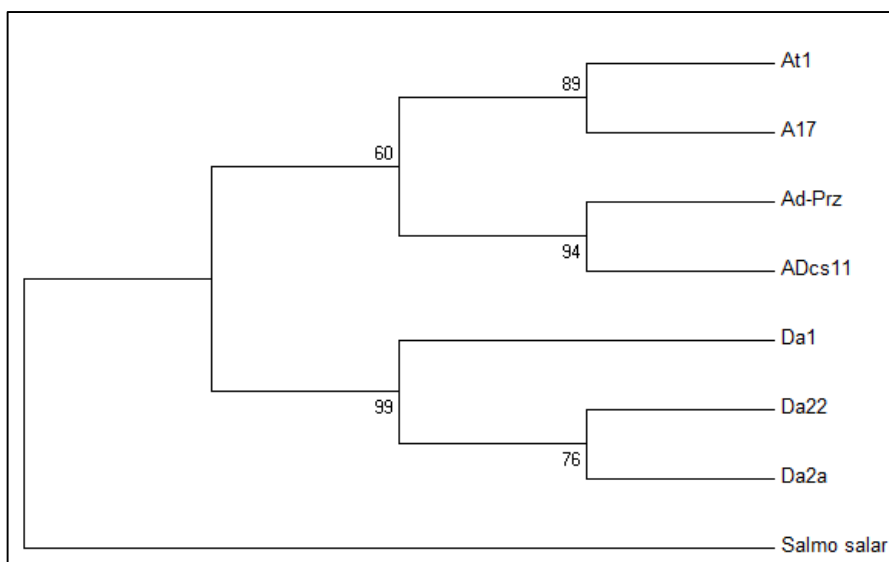
novozabeleženi alohtoni A17 haplotip na ovim prostorima sa 4%, zatim At1 sa 2% i Da2 sa 1% učešća na ispitivanim lokalitetima ovog sliva.

Iz analize procentualne zastupljenosti haplotipova izuzeto je nekoliko jedinki – dve iz reke Krušnice koja pripada crnomorskom slivu i dve jedinke iz gornjeg toka Zete (Nikšićko polje), koja pripada jadranskom slivu. Jedinke iz Krušnice (Kš1 i Kš9), za koje postoji pretpostavka da su nosioci novog mtDNK haplotipa usled tranzicije (C→T) na polimorfnom mestu 225, isključene su iz dalje analize mtDNK jer njihove sekvence nisu bile jasno čitljive sve do poli T bloka, dok su za analizu mikrosatelitskih lokusa uzete u obzir. Nakon poređenja mtDNK sekvenci jedinki Gz21 i Gz26 iz gornjeg toka Zete sa mtDNK sekvencama haplotipova DA haplogrupe, takođe je nastala pretpostavka da su nosioci novog haplotipa, i to iz grupe Da23 haplotipova, usled prisustva tranzicije (A→G) na polimorfnom mestu 233, ali je zbog kvaliteta sekvenci neophodno ponoviti sekvenciranje pre eventualnog pohranjivanja u banku gena. Ova četiri uzorka uzeta su u razmatranje prilikom konstruisanja potencijalnog filogenetskog stabla (Slika 21), dok su njihovi mikrosatelitski lokusi posebno analizirani.

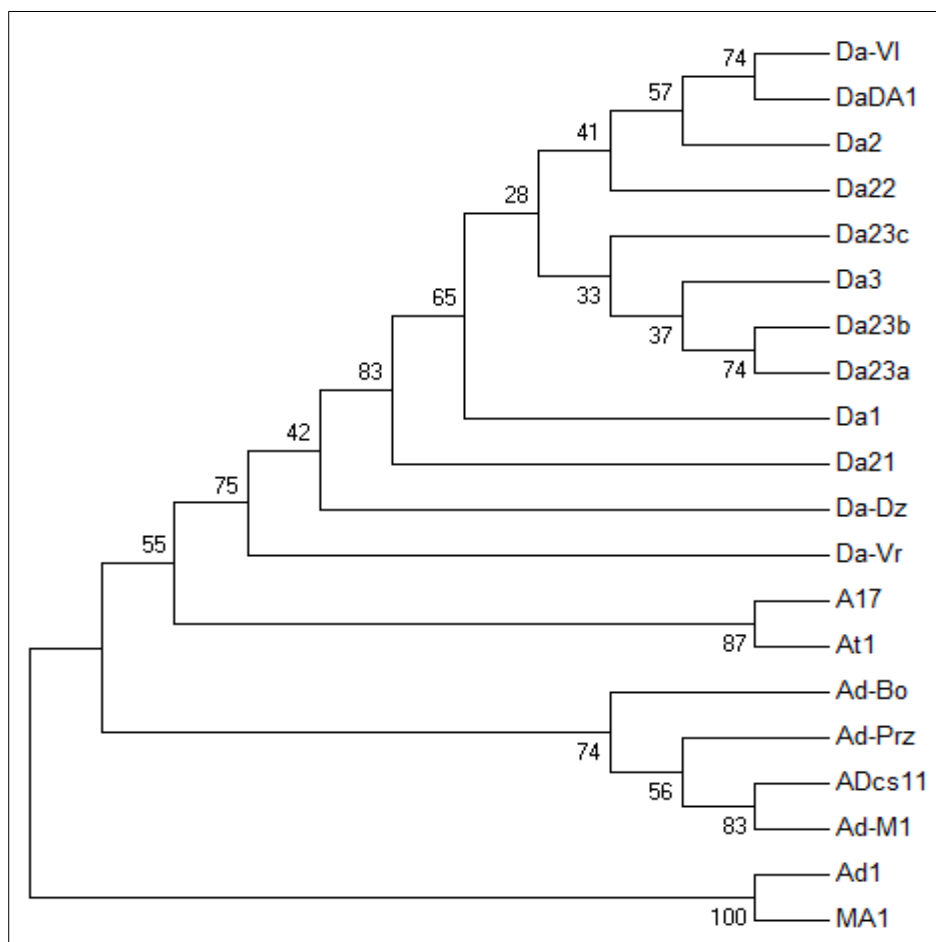
Tabela 5. Polimorfna mesta na 5' kraju CRmtDNK kao molekularnog markera za sekvence haplotipova potočne pastrmke dunavskog sliva zapadnog Balkana uz pridružene haplotipove jadranskog i atlantskog sliva koji se pominju u ovoj studiji. Zvezdica (*) na poziciji 113 označava inserciju nukleotida (A) u CRmtDNK MA1 haplotipa *marmoratus* linije i nije ubrojana u ukupan broj polimorfnih mesta, dok su one pozicije koje karakteriše vezano nasleđivanje (eng. *linkage disequilibrium*) podebljane.

Haplotip	Pozicija nukleotida																
	2	26	62	113*	146	228	234	235	236	262	389	390	403	530	542	543	548
At1	T	T	C	–	G	T	G	A	T	G	C	T	T	T	G	G	C
A17	T	T	C	–	G	T	G	A	T	G	C	T	T	C	G	G	C
Ad1	.	C	.	–	C	T	C	C
MA1	.	C	.	A	A	T	C	C	C	.	.	.
Ad+Prz	T	C	C	–	G	T	G	A	T	T	T	C	C	T	G	G	C
ADcs11	T	C	C	–	G	T	G	A	T	C	T	C	C	T	G	G	C
AD*Bož	T	T	C	–	G	T	G	A	T	C	T	C	C	T	G	C	C
Da*Vr	C	A	.	–	.	G	.	.	G	.	T	C
Da*Dž	C	A	T	–	G	.	T	C	.	.	.	C	.
Das6	C	G	.	–	G	.	T	C	.	C	A	C	T
Da1	C	A	.	–	G	.	T	C	.	C	A	C	T
Da3	C	A	.	–	.	.	A	.	G	.	T	C	.	C	A	C	T
Da22	C	A	.	–	.	.	.	T	G	.	T	C	.	C	A	C	T
Da*V1	C	A	.	–	.	.	.	G	G	.	T	.	.	C	A	C	T
DaDA1	C	A	.	–	.	.	.	G	G	.	T	.	.	C	A	C	T
Da2	C	A	.	–	.	.	.	G	G	.	T	C	.	C	A	C	T
Da23c	C	A	.	–	A	.	.	.	G	.	T	C	.	C	A	C	T

Na slici 18 je predstavljeno filogenetsko stablo na osnovu dobijenih haplotipova gde se vidi grupisanje haplotipova koji pripadaju AT, AD i DA linijama.



Slika 18. Filogenetsko stablo haplotipova pronadenih na lokalitetima Nacionalnog parka Una i Crne Gore. Stablo je urađeno na osnovu sekvenci 5'- kraja CR mtDNK metodom „Neighbor-Joining“ (N-J) u programu MEGA 7.0.21. Brojevi uz čvorišta su procentualne vrednosti grananja u 1000 ponavljanja. Kao „outgroup“ uključena je vrsta *Salmo salar*

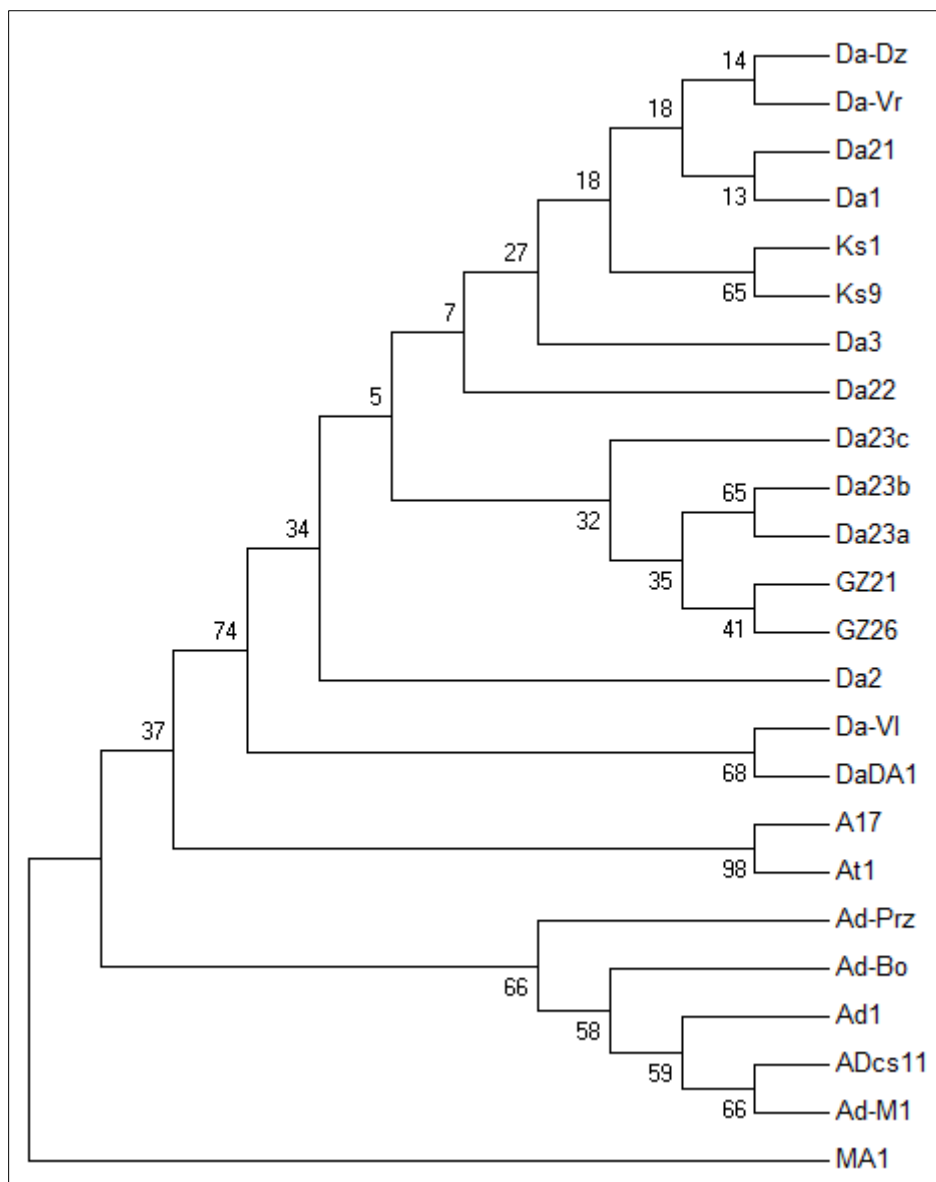


Slika 19. Filogenetsko stablo dostupnih sekvenci haplotipova pronadenih na teritoriji zapadnog Balkana. Stablo je urađeno na osnovu sekvenci 5'- kraja CR mtDNK metodom „Neighbor-Joining“ (N-J) u programu MEGA 7.0.21. Brojevi uz čvorišta su procentualne vrednosti grananja u 1000 ponavljanja.

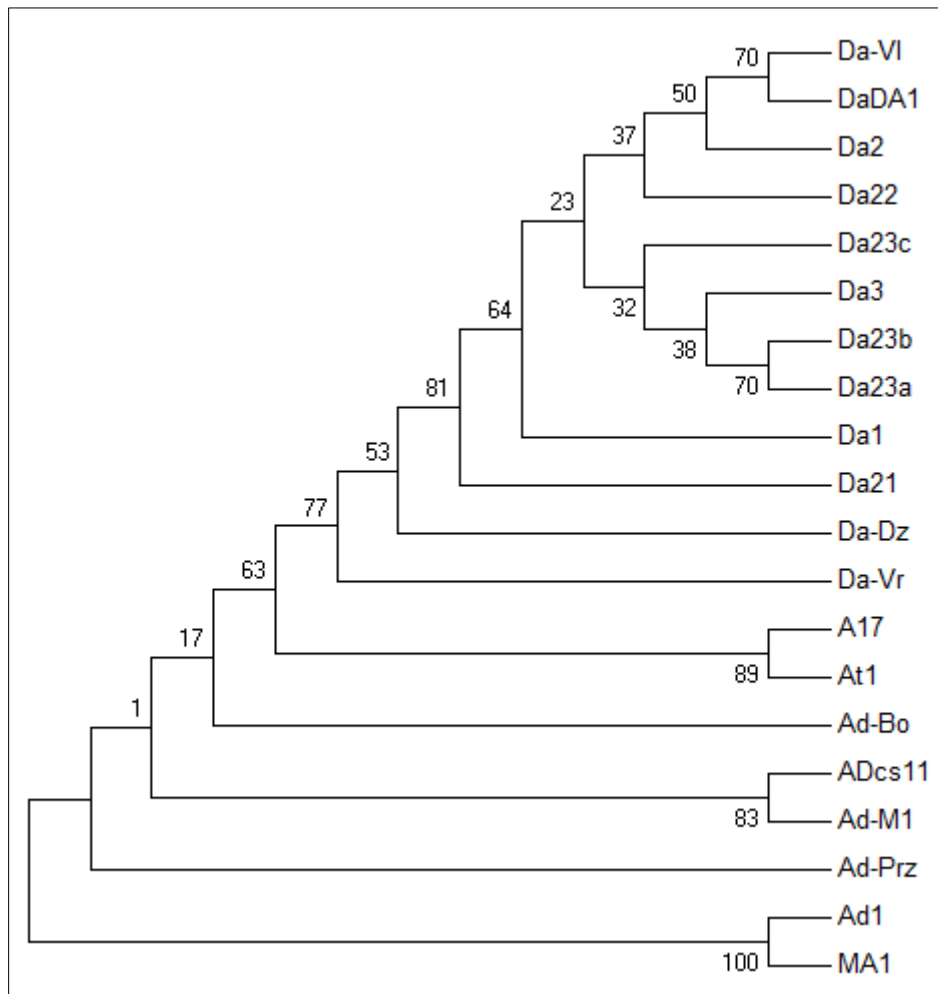
Tabela 6. Rezultati Tajima testa neutralnosti (Tajima's Neutrality test) između parova 20 sekvenci urađenog u programu MEGA 7.0.21 (m - broj sekvenci; n – ukupan broj položaja; S – broj segregirajućih položaja; $ps = S/n$, $\Theta = ps/a1$, π – diverzitet nukleotida; D – statistika Tajima testa)

M	S	Ps	Θ	π	D
20	97	0.185115	0.052178	0.041513	-0.839216

Na slici 20 predstavljeno je filogenetsko stablo haplotipova pronađenih na teritoriji zapadnog Balkana uzorke za koje postoji pretpostavka da su nosioci novih haplotipova (Kš1, Kš2, GZ21 i GZ26), a koji su se na osnovu filogenetske analize svrstali u grupu Da22, odnosno Da23 haplotipova.



Slika 20. Filogenetsko stablo dostupnih sekvenci haplotipova pronađenih na teritoriji zapadnog Balkana uz uzorke iz Krušnice (Kš1 i Kš2) i Gornje Zete (GZ21 i GZ26). Stablo je urađeno na osnovu sekvenci 5'- kraja CR mtDNK metodom „Minimum Evolution” (ME) u programu MEGA 7.0.21. Brojevi uz čvorišta su procentualne vrednosti grananja u 1000 ponavljanja.



Slika 21. Filogenetsko stablo dostupnih sekvenci haplotipova pronadenih na teritoriji zapadnog Balkana. Stablo je urađeno na osnovu sekvenci 5'- kraja CR mtDNK metodom „Maximum Likelihood“ (ML) baziranom na Tamura-Nei modelu u programu MEGA 7.0.21. Brojevi uz čvorišta su procentualne vrednosti grananja u 1000 ponavljanja.

Najveći procenat varijabilnosti je, na osnovu rezultata analize molekularne varijanse (AMOVA) za svih 10 reka, detektovan između populacija (70.51%), sa odgovarajućom vrednošću indeksa fiksacije F_{ST} od 0.70514 ($P < 0.01$) (Tabela 7).

Tabela 7. Analiza molekularne varijanse (AMOVA) preko učestalosti haplotipova u okviru i između populacija. Stepeni slobode (d.f.), suma kvadrata (SS) i procenat varijabilnosti, verovatnoća (P).

Izvor varijabilnosti	d. f.	SS	Varijabilnost komponenti	Procenat varijabilnosti	P
Između populacija	9	258.939.	1.85904 Va	70.51	< 0.01
Između jedinki u okviru populacija	145	112.719	0.77737 Vb	29.49	
Ukupno	154	371.658	2.63642		
Indeks fiksacije F_{st}	0.70514				

Na osnovu učestalosti haplotipova analizirane su razlike između 10 pojedinačnih proučavanih populacija (Tabela 8). Na osnovu izračunatih vrednosti F statistike, pokazale su se značajne razlike

između reke Nožice, s jedne strane i reka Krke, Une kod Martin Broda i Une kod Loskuna, (1.00, $P < 0.01$) sa druge strane.

Od ukupno 14 polimorfni mesta (Tabela 9), iste F_{ST} vrednosti pokazala su mesta 2, 235, 541, 542 i 547 gde je $F_{ST} = 0.75774$, kao i polimorfna mesta 388 i 389 gde je $F_{ST} = 0.17408$. Ostala polimorfna mesta pokazala su različite F_{ST} vrednosti. Sve F_{ST} vrednosti bile su statistički značajne ($P < 0.001$).

Tabela 8. Vrednosti parnih F_{ST} zasnovanih na učestalosti haplotipova - dijagonalno levo, i P vrednosti – dijagonalno desno na osnovu analize molekularne varijanse (AMOVA). Broj permutacija iznosi 110. Znakom (*) označene su vrednosti $P < 0.01$; znakom (**) označene su vrednosti $P < 0.05$ dijagonalno desno. (Sv – Svetinja; Kš – Krušnica; Kr – Krka; Umb – Una Martin Brod; Ul – Una Loskun; Mr – Mrtvica; S – Sjevnica; Nž – Nožica; Gz – Gornja Zeta; Dz – Donja Zeta).

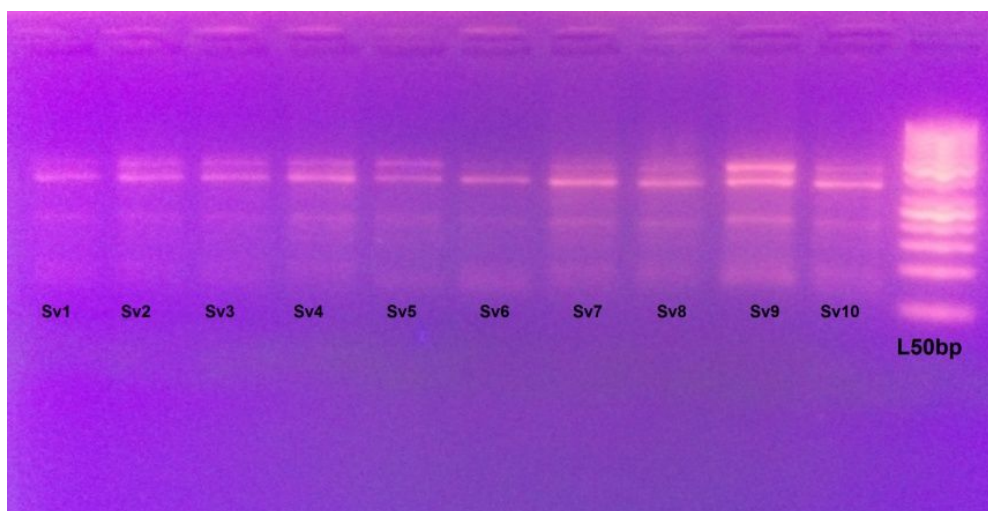
	Sv	Kš	Kr	Umb	Ul	Mr	S	Nž	Gz	Dz
Sv		1	*	0.5	**	*	*	*	0.01	*
Kš	- 0.122			0.5	**	*	*	*	*	*
Kr	0.477	0.473		1	1	*	*	*	*	*
Umb	0.115	0.111	0		1	*	*	*	*	*
Ul	0.359	0.356	0	0		*	*	*	*	*
Mr	0.547	0.554	0.916	0.797	0.883		0.081	*	*	0.027
S	0.366	0.375	0.813	0.592	0.746	0.086		*	*	0.01
Nž	0.431	0.450	1	1	1	0.878	0.726		0.584	*
Gz	0.291	0.309	0.608	0.434	0.545	0.811	0.668	0.009		*
Dz	0.696	0.702	0.949	0.892	0.932	0.165	0.116	0.929	0.866	

Tabela 9. Rezultati analize molekularne varijanse (AMOVA) za polimorfna mesta.

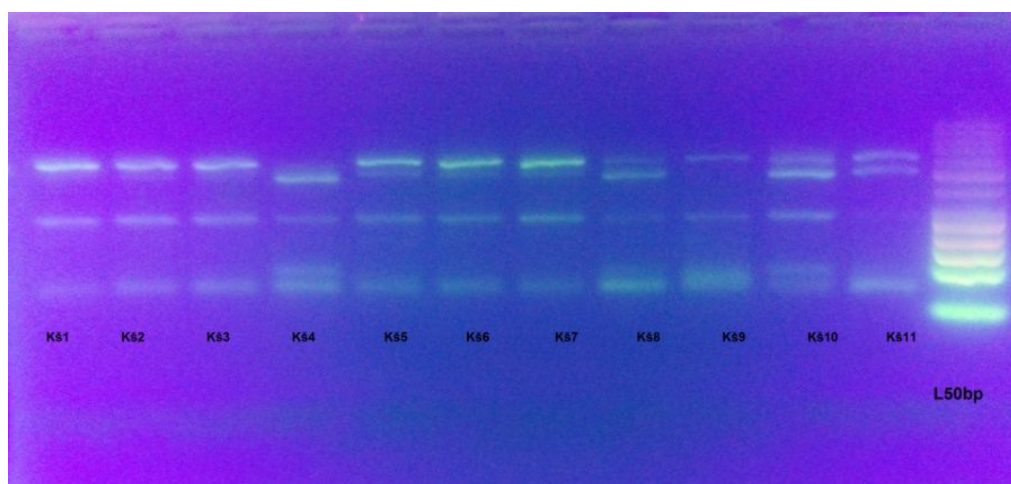
Lokus	Između populacija				U okviru populacija				Indeksi fiksacije	
	SSD	d.f.	Va	% var.	SSD	d.f.	Vb	% var.	Fst	P
2	24.231	9	0.175	75.774	8.116	145	0.055	24.226	0.757	0
26	24.465	9	0.175	71.087	10.366	145	0.071	28.912	0.710	0
80	12.506	9	0.088	58.312	9.132	145	0.062	41.687	0.583	0
125	2.345	9	0.014	25.525	6.132	145	0.042	74.474	0.255	0
234	32.232	9	0.235	86.069	5.522	145	0.038	13.930	0.860	0
235	24.231	9	0.175	75.774	8.116	145	0.055	24.226	0.757	0
261	18.724	9	0.133	66.225	9.882	145	0.068	33.774	0.662	0
388	2.102	9	0.011	17.407	8.116	145	0.055	82.592	0.174	0
389	2.102	9	0.012	17.407	8.116	145	0.055	82.592	0.174	0
402	22.596	9	0.164	84.142	4.500	145	0.031	15.857	0.841	0
529	20.704	9	0.148	67.431	10.366	145	0.071	32.568	0.674	0
541	24.231	9	0.175	75.774	8.116	145	0.055	24.226	0.757	0
542	24.231	9	0.175	75.774	8.116	145	0.055	24.226	0.757	0
547	24.231	9	0.175	75.774	8.116	145	0.055	24.226	0.757	0

4.2. ANALIZA *LDH-C** LOKUSA

U okviru dunavskog sliva Nacionalnog parka Una, dve su reke u kojima su pored dunavskih haplotipova otkriveni i atlantski – Svetinja i Krušnica. Utvrđivanje potencijalne hibridizacije kod uzorkovane 21 jedinke sprovedeno je restrikcijom analizom gena *LDH-C**. Od ukupnog broja uzoraka, šest je nosilo atlantski mitohondrijalni haplotip - Sv1, Sv6, Sv9 iz reke Svetinje, i Kš4, Kš8 i Kš10 iz reke Krušnice, dok su ostali uzorci bili dunavskog haplotipa. Kod atlantske haplogrupe daleko je prisutniji sporiji alel *LDH-C*90*, dok je kod dunavske prisutniji *LDH-C*100*. Ukoliko nije došlo do hibridizacije, ovih šest uzoraka bi trebalo da budu homozigoti za kraći alel *LDH-C*90* ili heterozigoti. Ustanovljeno je da su dva uzorka homozigoti za kraći alel (Sv6 i Kš4), prisustvo heterozigota utvrđeno je za preostale uzorke koji nose atlantski haplotip (Sv1, Sv9, Kš8, Kš10), dok su među dunavskim haplotipovima dominirali heterozigoti (Kš5, Kš6, Kš7, Kš11. Sv2, Sv3 Sv4, Sv5, Sv7, Sv8 i Sv10), a homozigota za duži alel *LDH-C*100* bilo je četiri (Kš1, Kš2, Kš3 i Kš9) (Slike 23, 24).



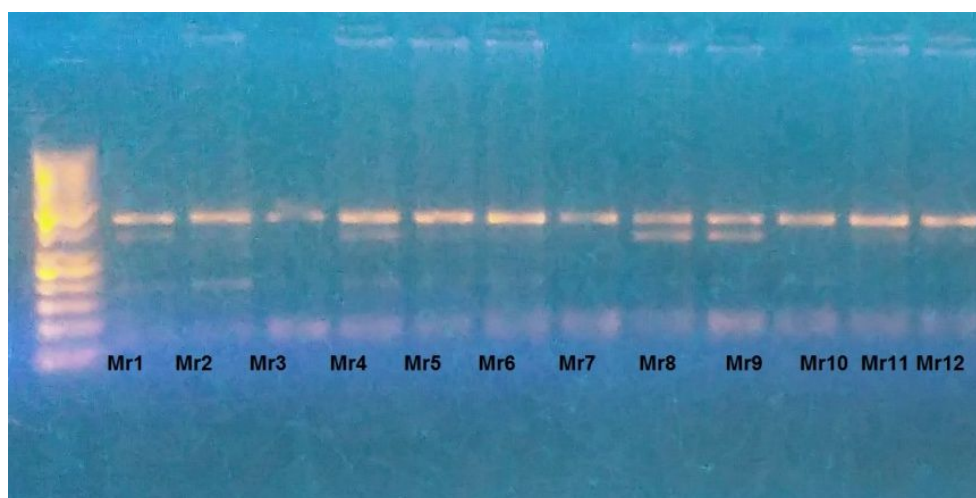
Slika 23. Rezultat restrikcione analize uzoraka iz Svetinje (Foto: Škraba Jurlina)



Slika 24. Rezultat restrikcione analize uzoraka iz Krušnice (Foto: Škraba Jurlina)

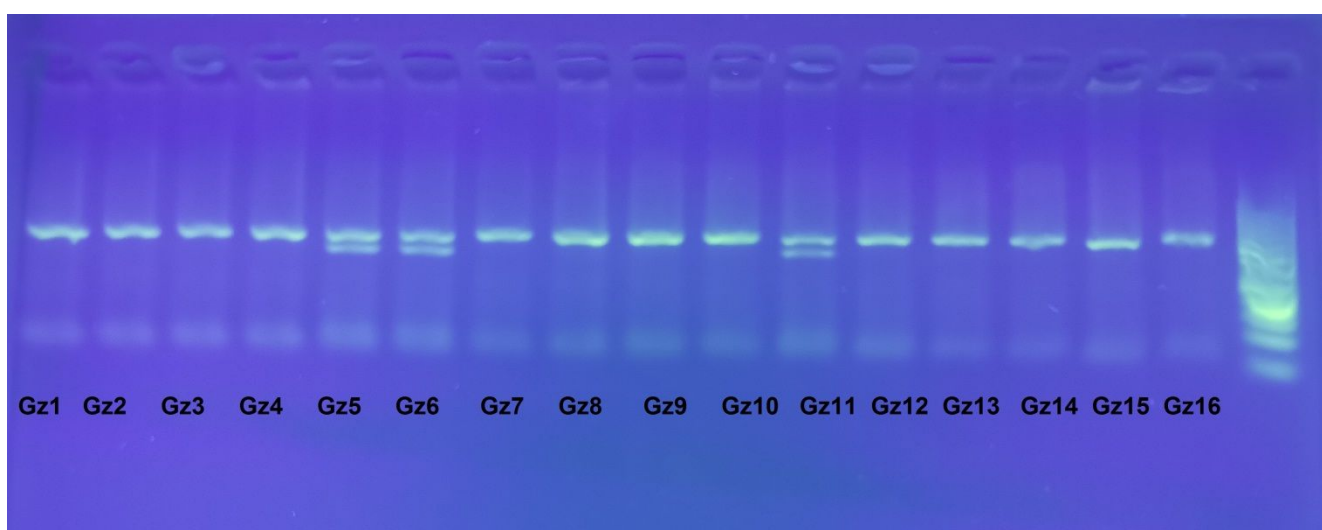
U okviru jadranskog sliva Crne Gore, dve su reke u kojima su pored jadranskih i dunavskih otkriveni i atlantski haplotipovi – Mrtvica i Gornja Zeta, pa je utvrđivanje potencijalne hibridizacije između jedinki jadranske i atlantske linije restrikcijom analizom gena *LDH-C** sprovedeno na jedinkama iz gornjeg toka reke Mrtvice, kao i između dunavske i atlantske linije na 32 jedinke iz Gornje Zete. Od dvanaest uzoraka iz Mrtvice, tri je nosilo atlantski mitohondrijalni haplotip – Mr1,

Mr4 i Mr7, dok su ostali uzorci bili jadranskog haplotipa. Dve od ukupnog broja jedinki (Mr1 i Mr4), koje nose A17 haplotip, su heterozigoti, kao i dve jedinke jadranskog haplotipa ADcs11 nasleđenog od ženki koje su najverovatnije hibridizovale sa mužjacima koji nose A17 haplotip. Preostali uzorci koji pripadaju ili jadranskoj liniji (Mr2, Mr3, Mr5, Mr6, Mr10, Mr11 i Mr12), ili atlantskoj (Mr7), bili su homozigoti za duži alel (*LDH-C*100/100*) (Slika 25).

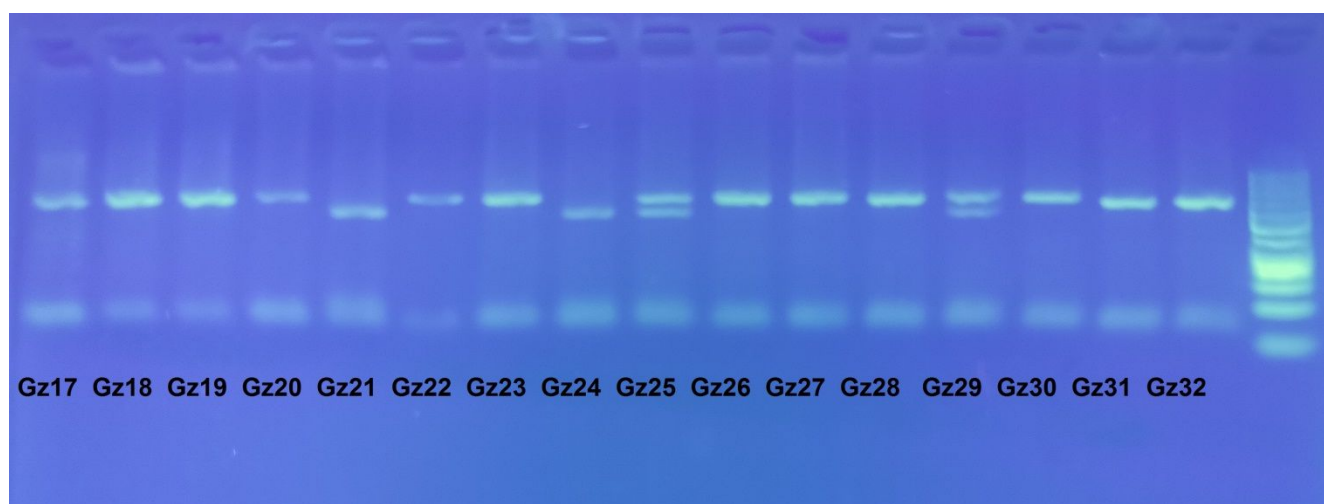


Slika 25. Rezultat restrikcione analize uzoraka iz Mrtvice (Foto: Škraba Jurlina)

Od ukupno 32 jedinke iz Gornje Zete (Slike 26 i 27), kod pripadnika dunavske linije jedna jedinka je nosilac Da2 haplotipa (Gz24), dok većina jedinki nosi Da1 haplotip (sa izuzetkom dva pomenuta uzorka – Gz21 i Gz26, za koje se pretpostavlja da su iz grupe Da23 haplotipova). Jedinke Gz5 i Gz30 pripadaju atlantskoj liniji i nosioci su At1 haplotipa. Kao što je ranije navedeno, kod atlantske haplogrupe prisutniji je sporiji alel *LDH-C*90*, dok je kod dunavske prisutniji *LDH-C*100*. Ukoliko nije došlo do hibridizacije, uzorci Gz5 i Gz30 trebalo bi da budu homozigoti za sporiji alel *LDH-C*90* ili heterozigoti. Međutim, za razliku od uzorka Gz5 koji je heterozigot, uzorak Gz30 je homozigot za brži alel (*LDH-C*100/100*), pa se može konstatovati da je do hibridizacije ipak došlo. Kod preostalih uzoraka pripadnika dunavske haplogrupe konstatovani su heterozigoti (*LDH-C*100/90*), ili homozigoti za brži (*LDH-C*100/100*) ili sporiji alel (*LDH-C*90/90*) (Slike 26 i 27).



Slika 26. Rezultat restrikcione analize prvih 16 uzoraka iz Gornje Zete uz Ladder od 50 bp (Foto: Škraba Jurlina)



Slika 27. Rezultat restrikcione analize preostalih 16 uzoraka iz Gornje Zete uz Ladder od 50 bp (Foto: Škraba Jurlina)

4.3. ANALIZA MIKROSATELITSKIH LOKUSA

Upotrebom programa Micro-checker v. 2.2.3 (van Oosterhout i sar. 2004) nekonzistentni aleli detektovani u populacijama prepravljani su, a nultih alela je bilo u populaciji iz donjeg toka Zete, i to na lokusu SsoSL438 17, a na lokusima SsaD190 i SsaD71 po jedan kod iste jedinke Dz12. Pronađeno je ukupno 46 privatnih alela, od kojih su na lokusima SsaD190 i SsoSL438 detektovana po četiri, na lokusu SsaD71 14, na lokusu Str73INRA dva, pet privatnih alela na lokusu Ssa410UoS, na lokusu Ssa85 tri, na SSsp2216 dva, i 12 privatnih alela na lokusu OMM1064. Najveća očekivana heterozigotnost (H_{exp}) je dobijena za jedinke reke Svetinje (0.76), kao i najveća objektivna heterozigotnost ($H_{n.b.}$) (0.84), dok je najveća detektovana heterozigotnost (H_{obs}) za jedinke reke Une kod Martin Broda (0.77) (Tabela 10).

Tabela 10. Prosečna heterozigotnost mikrosatelitskih lokusa u ispitivanim populacijama (Sv – Svetinja; Kš – Krušnica; Kr – Krka; Umb – Una Martin Brod; Ul – Una Loskun; Mr – Mrtvica; S – Sjevernica; Nž – Nožica; Gz – Gornja Zeta; Dz – Donja Zeta). H_{exp} – očekivana heterozigotnost; $H_{n.b.}$ – objektivna heterozigotnost; H_{obs} – detektovana heterozigotnost; SD – standardna devijacija; P – verovatnoća; \bar{A}_n – prosečan broj alela po lokusima

	Sv	Kš	Kr	Umb	Ul	Mr	S	Nž	Gz	Dz
H_{exp}	0.76	0.74	0.63	0.58	0.65	0.49	0.51	0.57	0.54	0.66
SD	0.13	0.20	0.32	0.26	0.23	0.16	0.31	0.10	0.25	0.32
$H_{n.b.}$	0.84	0.81	0.65	0.71	0.75	0.51	0.53	0.66	0.55	0.62
SD	0.15	0.21	0.32	0.32	0.24	0.23	0.33	0.12	0.25	0.26
H_{obs}	0.73	0.64	0.63	0.77	0.72	0.52	0.45	0.51	0.46	0.64
SD	0.24	0.31	0.34	0.42	0.38	0.22	0.30	0.24	0.22	0.36
P(0.95)	1.0	1.0	0.95	0.95	1.0	1.0	0.95	1.0	1.0	1.0
P(0.99)	1.0	1.0	0.95	0.95	1.0	1.0	0.95	1.0	1.0	1.0
\bar{A}_n	7.45	7.45	8.50	4.00	7.75	4.12	5.00	4.45	8.50	5.61

Najveći broj alela koji je registrovan je 22, i to za lokus OMM1064 u reci Krki. Na lokusu SsaD71 u Donjoj Zeti je uočeno najveće alelsko bogatstvo (13). Najveći genetički diverzitet (1) konstatovan je u populacijama reke Svetinje na lokusu SsaD71, Krušnice na lokusu SsaD190, Une

kod Loskuna na lokusu Ssa410Uos i kod Martin Broda na lokusu SSsp2216, i Krke i Une kod Martin Broda na lokusu OMM1064, dok u populacijama gde je prisutan jedan alel na lokusima Str73INRA u Krki i Sjevnici, Ssa85 u Uni kod Martin Broda i SsoSL438 u Sjevnici, nije bilo genetičkog diverziteta (Tabela 11).

Tabela 11. Alelske učestalosti po lokusima za svaku populaciju (Sv – Svetinja; Kš – Krušnica; Kr – Krka; Umb – Una Martin Brod; Ul - Una Loskun; Mr – Mrtvica; S – Sjevnica; Nž – Nožica; Gz – Gornja Zeta; Dz – Donja Zeta). H_{exp} - očekivana heterozigotnost, $H_{n.b.}$ - objektivna heterozigotnost, H_{obs} - detektovana heterozigotnost, SD - standardna devijacija, P – verovatnoća, F_{IS} - indeks fiksacije, A - broj alela po lokusu, A_r - alelsko bogatstvo. Znakom (*) obeleženi su privatni aleli.

Lokus	Populacija									
	Sv	Kš	Kr	Umb	Ul	Mr	S	Nž	Gz	Dz
SsaD190										
(N)	10	11	28	4	16	12	12	18	32	16
107*	0	0.091	0	0	0	0	0	0	0	0
111*	0	0	0	0	0.063	0	0	0	0	0
115	0	0.136	0	0	0.031	0	0	0	0	0
119	0.500	0.182	0.554	0.625	0.438	0.042	0.083	0.556	0.688	0
123	0.150	0.136	0.125	0.125	0.219	0	0	0.444	0	0
127	0	0	0.018	0	0	0	0	0	0.016	0
131	0	0.182	0	0	0.031	0	0	0	0.219	0
135	0.050	0.091	0	0	0	0	0.292	0	0	0.031
139	0.100	0	0.018	0	0	0.042	0.042	0	0	0
143	0.100	0.182	0.250	0.125	0.219	0.167	0	0	0.078	0
147*	0	0	0.036	0.125	0	0	0	0	0	0
151	0.100	0	0	0	0	0.083	0	0	0	0
159*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.031
163	0	0	0	0	0	0.667	0.250	0	0	0.344
167	0	0	0	0	0	0	0.167	0	0	0.406
171	0	0	0	0	0	0	0.167	0	0	0.188
$H_{exp.}$	0.695	0.847	0.613	0.562	0.707	0.517	0.788	0.493	0.473	0.679
$H_{n.b.}$	0.731	0.887	0.624	0.643	0.729	0.539	0.822	0.507	0.481	0.701
$H_{obs.}$	0.800	1	0.642	0.750	0.875	0.583	0.5	0.555	0.562	0.687
A	6	7	6	4	6	5	6	2	4	5
A_r	4.165	5.329	3.152	4.000	3.734	5.000	6.000	2.000	3.288	4.875
F_{is} (W&C)	-0.099	-0.134	-0.030	-0.200	-0.207	-0.085	0.403	-0.097	-0.174	0.021

SsaD71										
167	0	0	0	0	0	0.083	0	0	0	0
183	0.150	0.091	0	0	0	0	0	0	0.016	0
191	0.250	0.091	0.071	0.125	0.156	0.167	0	0.056	0.063	0
195	0.150	0.045	0.196	0	0.094	0.083	0.083	0	0	0.133
199	0.050	0.091	0.232	0.250	0.031	0.417	0	0	0.156	0.033
203	0.050	0.318	0.357	0.500	0.500	0	0	0	0.672	0
207	0	0.136	0	0	0.125	0	0	0	0.031	0
211	0.200	0.136	0.036	0.125	0.031	0	0	0.083	0	0

4. Rezultati

215	0	0.091	0	0	0	0	0	0.028	0.016	0
219	0.100	0	0.107	0	0.063	0	0.083	0.167	0.031	0
223	0	0	0	0	0	0	0.208	0	0	0
227*	0	0	0	0	0	0	0.083	0	0	0
231	0.050	0	0	0	0	0	0	0	0	0.100
235	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.233
239	0	0	0	0	0	0	0.083	0.083	0	0
243*	0	0	0	0	0	0	0	0.583	0	0
251*	0	0	0	0	0	0	0	0	0.016	0
271*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.033
311*	0	0	0	0	0	0	0.042	0	0	0
319*	0	0	0	0	0	0	0.083	0	0	0
443*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
447	0	0	0	0	0	0	0.083	0	0	0
451	0	0	0	0	0	0.167	0.042	0	0	0
459*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.033
463*	0	0	0	0	0	0	0.125	0	0	0.033
467	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.133
471	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.100
475*	0	0	0	0	0	0	0.042	0	0	0.033
491*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.067
492*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.033
495*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.033
499*	0	0	0	0	0	0	0.042	0	0	0

H _{exp.}	0.835	0.826	0.762	0.656	0.695	0.753	0.892	0.614	0.517	0.877
H _{n.b.}	0.878	0.865	0.776	0.750	0.717	0.786	0.931	0.632	0.525	0.908
H _{obs.}	1	0.727	0.678	0.750	0.812	0.166	0.667	0.388	0.312	0.867
A	8	8	6	4	7	7	12	6	8	13
Ar	5.313	5.295	4.085	4.000	4.028	7.000	12.000	5.500	5.202	13.000
F _{is} (W&C)	-0.146	0.167	0.128	0	-0.137	0.795	0.293	0.391	0.410	0.047

Str73INRA

138	0.700	0.773	1.000	0.625	0.844	0.000	0.833	0.444	0.922	0.529
140	0	0	0	0.250	0.063	0.750	0.167	0.556	0.016	0.441
142	0.250	0.182	0	0	0.031	0.042	0	0	0.031	0
144	0.050	0.045	0	0	0.063	0.208	0	0	0	0
150	0	0	0	0.125	0	0	0	0	0	0.029
160*	0	0	0	0	0	0	0	0	0.016	0
162*	0	0	0	0	0	0	0	0	0.016	0

H _{exp.}	0.445	0.367	0	0.531	0.279	0.392	0.277	0.493	0.148	0.524
H _{n.b.}	0.468	0.385	0	0.607	0.288	0.409	0.289	0.507	0.151	0.540
H _{obs.}	0.4	0.181	0	0.250	0.187	0.5	0	0.444	0.156	0.588
A	3	3	1	3	4	3	2	2	5	3
Ar	2.349	2.227	1.000	3.000	2.137	3.000	2.000	2.000	2.738	2.882
F _{is} (W&C)	0.153	0.540	-	0.625	0.357	-0.234	1	0.128	-0.037	-0.092

Ssa410Uos

176*	0	0	0	0	0	0	0	0.167	0.125	0
180	0	0	0	0	0	0	0	0	0.531	0
184	0	0.091	0	0	0	0	0	0	0	0
196	0.050	0	0	0	0	0	0	0	0	0.029

Rekonstrukcija evolucione istorije kompleksa potočne pastrmke *Salmo cf. trutta*

200*	0	0	0	0	0	0.042	0	0	0	0
204	0.050	0	0	0	0	0	0	0	0	0
208*	0.050	0	0	0	0	0	0	0	0	0
220	0.050	0.045	0	0	0	0	0	0	0.063	0
224	0	0	0.018	0	0	0	0.083	0	0.047	0
228	0.250	0	0	0	0	0.292	0	0	0	0
232	0.200	0	0.036	0	0	0	0	0	0.031	0
236	0.050	0.045	0.143	0	0.031	0.042	0.208	0	0.047	0
240	0	0	0.071	0	0.031	0	0	0	0.016	0
244	0	0	0.107	0.125	0.094	0	0	0	0.031	0
248	0.100	0.182	0.161	0	0.031	0	0	0.472	0.078	0.265
252	0	0.136	0.054	0	0.125	0	0.042	0	0.016	0
256	0.050	0.136	0.161	0.125	0.250	0	0.042	0.083	0	0
260	0.100	0.136	0	0.625	0	0	0.042	0.000	0.016	0.059
264	0	0	0.089	0	0.125	0	0	0	0	0.088
268	0.050	0.045	0.036	0	0.031	0	0	0.056	0	0.088
272	0	0.045	0.036	0	0.031	0	0	0	0	0.029
276	0	0	0.018	0	0.031	0	0.083	0	0	0.029
280	0	0.045	0.036	0	0.031	0.083	0.125	0	0	0.059
284	0	0	0.036	0.125	0.125	0.542	0	0	0	0.206
288	0	0	0	0	0	0	0.333	0	0	0
296	0	0	0	0	0.063	0	0	0	0	0.147
300*	0	0	0	0	0	0	0.042	0	0	0
304	0	0.045	0	0	0	0	0	0.028	0	0
308	0	0.045	0	0	0	0	0	0.056	0	0
320*	0	0	0	0	0	0	0	0.139	0	0
H _{exp.}	0.860	0.888	0.893	0.562	0.871	0.611	0.809	0.716	0.685	0.840
H _{n.b.}	0.905	0.93	0.909	0.642	0.899	0.637	0.844	0.736	0.695	0.866
H _{obs.}	0.8	0.818	0.892	0.75	1	0.75	0.667	0.833	0.718	0.882
A	11	12	14	4	13	5	9	7	11	10
Ar	5.952	6.306	5.935	4.0	5.829	5.0	9.0	6.424	7.629	9.624
F _{is} (W&C)	0.122	0.126	0.019	-0.20	-0.116	-0.186	0.218	-0.136	-0.033	-0.019
Ssa85										
103*	0	0	0	0	0.031	0	0	0	0	0
107	0.100	0	0	0	0	0.792	0.708	0.056	0.109	0.676
109	0.100	0	0	0	0	0	0.292	0	0	0.324
111	0.350	0.636	0.786	1	0.813	0.208	0	0.639	0.844	0
113	0.350	0.364	0.214	0	0.156	0	0	0.278	0.016	0
117*	0	0	0	0	0	0	0	0.028	0.031	0
129*	0.100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H _{exp.}	0.725	0.462	0.336	0	0.314	0.329	0.413	0.511	0.275	0.437
H _{n.b.}	0.763	0.484	0.342	0	0.324	0.344	0.431	0.525	0.279	0.451
H _{obs.}	0.3	0.181	0.214	0	0.25	0.416	0.083	0.222	0.25	0.529
A	5	2	2	1	3	2	2	4	4	2
Ar	3.937	1.991	1.875	1.000	2.039	2.000	2.000	3.562	2.958	2.000
F _{is} (W&C)	0.620	0.636	0.379	-	0.236	-0.222	0.814	0.584	0.106	-0.18
SSsp2216										
137	0.050	0.045	0	0	0	0	0	0	0	0
141	0.100	0.273	0.018	0	0.031	0.083	0	0	0	0
145	0.150	0.136	0	0	0	0	0	0	0	0
149	0.200	0.045	0	0	0	0	0	0	0	0

4. Rezultati

153	0.050	0	0	0	0	0.042	0	0.083	0.016	0
157	0	0	0	0	0	0.250	0	0	0.016	0
161	0	0.045	0	0	0	0	0.042	0	0	0
165	0	0	0	0	0	0	0	0	0.016	0
169	0	0	0	0	0	0.583	0.833	0.028	0.016	0.912
173	0	0	0	0	0	0	0	0.250	0.047	0.059
177	0.150	0	0.089	0	0	0	0	0	0.016	0
181	0.100	0.182	0.054	0	0	0	0	0	0.063	0
185	0	0	0	0	0	0.042	0.083	0	0	0.029
189*	0	0.045	0	0	0.031	0	0	0	0	0
193	0.100	0.045	0.036	0.125	0.063	0	0	0.028	0.141	0
197	0.050	0	0.089	0	0.063	0	0	0.444	0.438	0
201	0	0	0.161	0.250	0.188	0	0	0.139	0.063	0
205	0	0.045	0.357	0.375	0.313	0	0.042	0.028	0.078	0
209	0.050	0	0.161	0.125	0.281	0	0	0	0.078	0
213	0	0.136	0.036	0	0.031	0	0	0	0.016	0
217*	0	0	0	0.125	0	0	0	0	0	0

H _{exp.}	0.875	0.843	0.799	0.75	0.777	0.586	0.295	0.711	0.765	0.164
H _{n.b.}	0.921	0.883	0.813	0.857	0.802	0.612	0.308	0.731	0.777	0.169
H _{obs.}	0.8	0.545	0.786	1	0.812	0.833	0.333	0.833	0.75	0.176
A	10	10	9	5	8	5	4	7	13	3
Ar	6.070	5.532	4.693	5.000	4.412	5.000	4.000	5.967	8.543	2.872
F _{is} (W&C)	0.138	0.394	0.035	-0.20	-0.013	-0.384	-0.086	-0.143	0.036	-0.043

SsoSL438

097*	0	0	0.000	0	0	0	0	0.333	0.016	NA
099*	0	0	0.000	0	0	0	0	0	0.031	NA
101	0.350	0.182	0.018	0	0	0.083	0	0	0.078	NA
103	0.250	0.091	0.054	0.250	0.031	0.208	0	0	0.047	NA
105	0	0	0.000	0	0	0	0	0	0.063	NA
107	0.100	0.318	0.393	0.375	0.469	0	0	0.667	0.672	NA
109	0.200	0.182	0.054	0.125	0.063	0.708	1	0	0	NA
111*	0	0	0.018	0	0.000	0	0	0	0	NA
113	0	0	0.268	0	0.188	0	0	0	0.047	NA
115	0.100	0.227	0.107	0.125	0.156	0	0	0	0.047	NA
117*	0	0	0.089	0.125	0.094	0	0	0	0	NA

H _{exp.}	0.755	0.772	0.748	0.75	0.707	0.448	0	0.444	0.531	-
H _{n.b.}	0.795	0.809	0.761	0.857	0.729	0.467	0	0.457	0.539	-
H _{obs.}	0.9	0.727	0.785	1	0.625	0.583	0	0.222	0.406	0
A	5	5	8	5	6	3	1	2	8	NA
Ar	4.142	4.236	4.132	5.000	3.924	3.000	1.000	2.000	6.047	-
F _{is} (W&C)	-0.141	0.106	-0.032	-0.200	0.148	-0.262	-	0.521	0.250	-

OMM1064

175*	0.100	0	0.018	0	0	0	0	0	0	0
179	0.100	0.045	0	0	0	0	0	0	0.125	0
183*	0	0	0	0	0	0	0	0.611	0.047	0
187	0	0	0	0	0	0	0	0	0.047	0
191	0	0.045	0	0	0	0	0	0.028	0	0
195*	0.150	0	0.179	0.125	0.063	0	0	0	0	0
199	0.300	0.227	0.089	0.250	0.250	0.833	0.167	0	0.016	0.412
203	0	0	0.018	0	0	0	0.042	0	0	0.235
207	0	0	0.036	0	0	0	0.542	0	0	0.353
211	0	0	0	0	0	0	0.250	0	0.016	0

215*	0	0	0	0	0	0.042	0	0	0	0
219*	0	0.045	0	0	0	0	0	0	0	0
223	0.050	0	0	0	0	0	0	0	0.094	0
231	0.050	0.091	0	0	0	0	0	0	0	0
235	0	0	0	0	0	0	0	0	0.125	0
239	0.050	0	0.036	0	0.031	0	0	0	0	0
243	0	0	0	0	0	0	0	0	0.141	0
247	0	0	0.018	0	0.063	0	0	0.167	0	0
251	0.050	0	0.143	0	0.031	0	0	0.056	0.078	0
255	0	0.045	0.036	0.125	0.031	0.125	0	0.139	0.156	0
259	0	0.045	0.036	0	0.063	0	0	0	0.016	0
263	0.050	0.045	0.054	0.125	0.063	0	0	0	0	0
267	0	0.182	0.018	0	0.156	0	0	0	0	0
271*	0	0	0.054	0	0.031	0	0	0	0	0
275*	0	0	0.018	0	0	0	0	0	0	0
279	0	0.091	0.018	0	0.063	0	0	0	0.047	0
283	0.050	0.000	0.071	0	0	0	0	0	0.031	0
287	0.050	0.091	0.054	0.125	0	0	0	0	0.047	0
291*	0	0.045	0.018	0.250	0.063	0	0	0	0	0
295*	0	0	0.018	0	0	0	0	0	0	0
299*	0	0	0.036	0	0.031	0	0	0	0	0
303	0	0	0.018	0	0	0	0	0	0.016	0
307*	0	0	0.018	0	0.031	0	0	0	0	0
315*	0	0	0	0	0.031	0	0	0	0	0
H _{exp.}	0.85	0.876	0.916	0.813	0.882	0.288	0.615	0.576	0.898	0.651
H _{n.b.}	0.894	0.918	0.933	0.928	0.911	0.3	0.641	0.592	0.913	0.670
H _{obs.}	0.8	0.909	1	1	0.813	0.333	0.667	0.611	0.5	0.765
A	11	12	22	6	15	3	4	5	15	3
Ar	5.888	6.151	6.467	6.000	6.130	3.000	4.000	4.559	10.977	3.000
F _{is} (W&C)	0.111	0.01	-0.073	-0.091	0.112	-0.114	-0.041	-0.033	0.456	-0.146

Analiza molekularne varijanse (AMOVA), prema Weir i Cockerham, pokazala je da u ukupnoj genetičkoj varijabilnosti najveći procenat nose pojedinačne individue (71.01%), dok varijabilnost između populacija iznosi 22.49% (Tabela 12). Intrapopulaciona genetička varijabilnost iznosi 6.51% i ukazuje na to da postoje razlike između jedinki u okviru subpopulacija u odnosu na totalnu populaciju koju predstavljaju sve jedinke u rekama analiziranog regiona, dok su jedinke pojedinačnih tokova posmatrane kao subpopulacije.

Tabela 12. Analiza molekularne varijanse (AMOVA) preko matrica distanci prema Weir i Cockerham, 1984. Stepen slobode (d.f.); suma kvadrata (SS); verovatnoća (P).

Izvor varijabilnosti	d.f.	SS	Varijabilnost komponenti	Procenat varijabilnosti	Indeksi fiksacije	P
Između populacija	9	197.059	0.62837	22.49	F _{ST} :0.22485	
Između jedinki u okviru populacija	150	352.206	0.18183	6.51	F _{IS} :0.08394	< 0.01
U okviru jedinki	160	317.500	1.98438	71.01	F _{IT} : 0.28992	< 0.01
Ukupno	319	866.766	2.79458			

Tabela 13. FIS vrednosti specifične za svaku populaciju (1023 permutacije)

Populacija	F _{IS} vrednost	P (Rand Fis >= Obs Fis)
Svetinja	0.12500	0.018573
Krušnica	0.19260	0.000000
Krka	0.04296	0.137830
Una Martin Brod	-0.01887	0.695992
Una Loskun	-0.01695	0.689150
Mrtvica	0.01356	0.463343
Sjevernica	0.32633	0.000000
Nožica	0.08356	0.142717
Gornja Zeta	0.15191	0.000978
Donja Zeta	-0.08524	0.905181

Tabela 14. Testiranje HWE u populacijama. Proporcije randomizacije (1000) koje su pokazale manje F_{IS} vrednosti od uočenih na analiziranim mikrosatelitskim lokusima (Sv – Svetinja; Kš – Krušnica; Kr – Krka; Umb – Una Martin Brod; Ul – Una Loskun; Mr – Mrtvica; S – Sjevernica; Nž – Nožica; Gz – Gornja Zeta; Dz – Donja Zeta).

Lokus	Sv	Kš	Kr	Umb	Ul	Mr	S	Nž	Gz	Dz
SsaD190	-0.099	-0.134	-0.030	-0.200	-0.207	-0.085	0.403	-0.097	-0.174	0.021
SsaD71	-0.146	0.167	0.128	0.000	-0.137	0.795	0.293	0.391	0.410	0.047
Str73INRA	0.153	0.540	NA	0.625	0.357	-0.234	1.000	0.128	-0.037	-0.092
Ssa410Uos	0.122	0.126	0.019	-0.200	-0.116	-0.186	0.218	-0.136	-0.033	-0.019
Ssa85	0.620	0.636	0.379	NA	0.236	-0.222	0.814	0.584	0.106	-0.180
SSsp2216	0.138	0.394	0.035	-0.200	-0.013	-0.384	-0.086	-0.143	0.036	-0.043
SsoSL438	-0.141	0.106	-0.032	-0.200	0.148	-0.262	NA	0.521	0.250	NA
OMM1064	0.111	0.010	-0.073	-0.091	0.112	-0.114	-0.041	-0.033	0.456	-0.146
Ukupno	0.092	0.181	0.032	-0.048	0.005	-0.018	0.326	0.127	0.164	-0.045

Tabela 15. F_{IS} vrednosti za svaku populaciju i sve analizirane polimorfne mikrosatelitske lokuse (Sv – Svetinja; Kš – Krušnica; Kr – Krka; Umb – Una Martin Brod; Ul – Una Loskun; Mr – Mrtvica; S – Sjevernica; Nž – Nožica; Gz – Gornja Zeta; Dz – Donja Zeta).

SsaD190	-0.054	-0.099	-0.134	-0.029	-0.200	-0.207	-0.084	0.403	-0.097	-0.174	0.021
SsaD71	0.209	-0.147	0.167	0.127	0.000	-0.137	0.795	0.293	0.391	0.409	0.047
Str73INRA	0.178	0.153	0.540	NA	0.625	0.357	-0.234	1.000	0.128	-0.037	-0.092
Ssa410Uos	-0.009	0.122	0.126	0.019	-0.200	-0.116	-0.165	0.217	-0.136	-0.033	-0.019
Ssa85	0.342	0.619	0.636	0.379	NA	0.235	-0.222	0.813	0.584	0.106	-0.180
SSsp2216	0.009	0.138	0.394	0.035	-0.200	-0.012	-0.383	-0.086	-0.144	0.036	-0.043
OMM1064	0.091	0.111	0.009	-0.073	-0.091	0.111	-0.113	-0.041	-0.033	0.456	-0.146

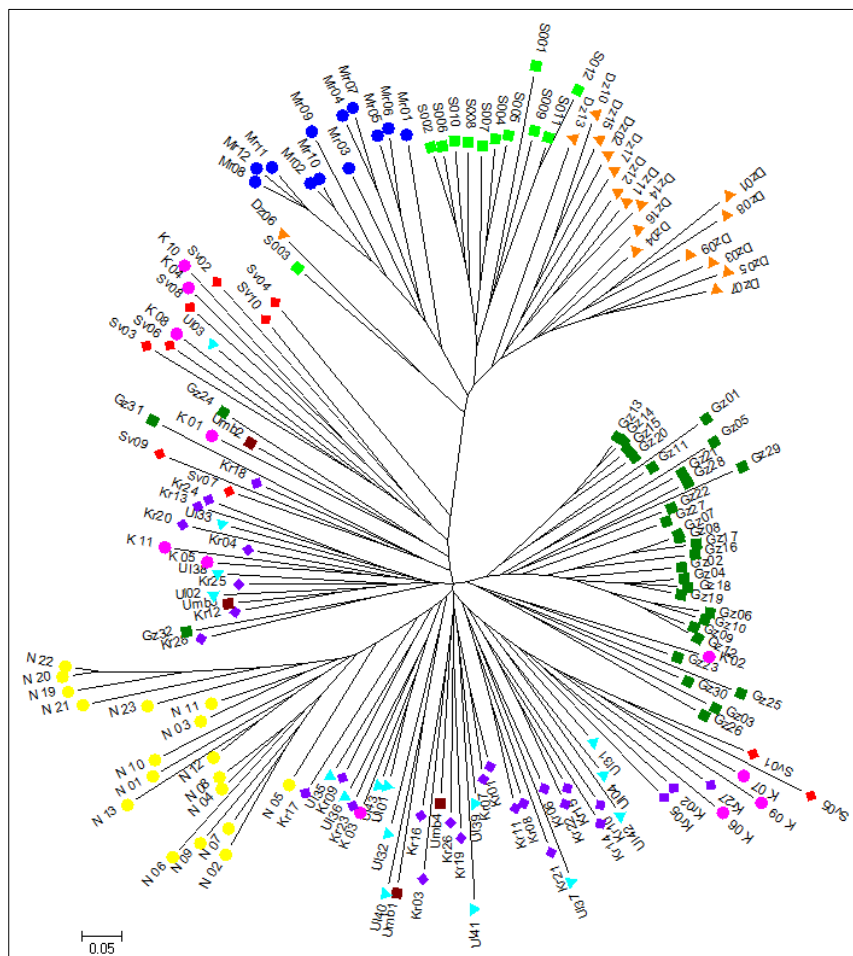
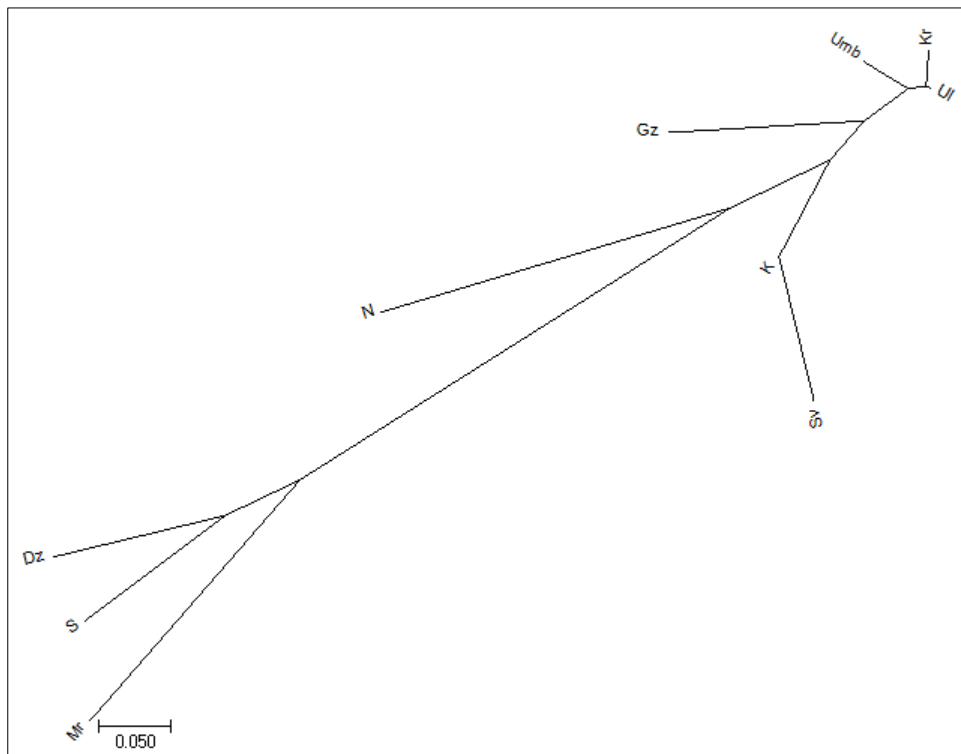
Nei distance izračunate su sa 1000 permutacija za jedinke po svakom paru populacija (Tabela 16). Najveće vrednosti Nei distanci uočene su između Mrtvice, sa jedne strane, i Gornje Zete, Mrtvice i Krke sa druge strane - 2.140 i 1.906 respektivno, kao i između Sjevernice i Nožice – 1.815, dok su najmanje vrednosti između Une kod Loskuna sa jedne strane i Krke, Une kod Martin Broda, i Krušnice sa druge – 0.065, 0.180, 0.196, respektivno, kao i između Krke i Gornje Zete – 0.196. F_{ST} vrednosti dobijene za parove subpopulacija ukazuju na sličnu situaciju (Tabela 16), dok je procenjeni protok gena prema formuli $N_m \approx 1 - F_{ST} / 4F_{ST}$ najveći između populacija sa najmanjim distancama i obrnuto.

Tabela 16. Stvarne vrednosti Nei distanci (1972) sa 1000 permutacija (Sv – Svetinja; Kš – Krušnica; Kr – Krka; Umb – Una Martin Brod; Ul – Una Loskun; Mr – Mrtvica; S – Sjevernica; Nž – Nožica; Gz – Gornja Zeta; Dz – Donja Zeta).

Nei distance	Sv	Kš	Kr	Umb	Ul	Mr	S	Nž	Gz	Dz
Sv		0.271	0.345	0.502	0.423	1.194	0.987	0.787	0.528	1.270
Kš			0.229	0.345	0.196	1.538	1.113	0.687	0.339	1.441
Kr				0.208	0.065	1.906	1.166	0.548	0.196	1.440
Umb					0.180	1.310	1.479	0.637	0.296	1.608
Ul						1.612	1.286	0.558	0.208	1.456
Mr							0.582	1.731	2.140	0.473
S								1.815	1.392	0.350
Nž									0.508	1.511
Gz										1.654
Dz										

Tabela 17. F_{ST} vrednosti (dijagonalno desno) koje pokazuju genetičku udaljenost parova subpopulacija i izračunate vrednosti protoka gena – N_m (dijagonalno levo) (Sv - Svetinja, Kš - Krušnica, Kr - Krka, Umb - Una Martin Brod, Ul - Una Loskun, Mr - Mrtvica, S - Sjevernica, Nž - Nožica, Gz - Gornja Zeta, Dz - Donja Zeta).

F_{ST}/N_m	Sv	Kš	Kr	Umb	Ul	Mr	S	Nž	Gz	Dz
Sv		0.022	0.091	0.082	0.093	0.272	0.235	0.196	0.179	0.228
Kš	11.113		0.061	0.043	0.036	0.303	0.254	0.185	0.133	0.251
Kr	2.497	3.848		0.041	0.009	0.369	0.309	0.198	0.099	0.310
Umb	2.798	5.563	5.847		0.018	0.352	0.339	0.200	0.109	0.320
Ul	2.438	6.694	27.527	13.638		0.347	0.311	0.189	0.098	0.294
Mr	0.669	0.575	0.427	0.460	0.470		0.269	0.396	0.434	0.186
S	0.813	0.734	0.559	0.487	0.553	0.679		0.388	0.383	0.075
Nž	1.025	1.010	1.012	1.000	1.072	0.381	0.394		0.226	0.323
Gz	1.146	1.629	2.275	2.043	2.301	0.326	0.403	0.856		0.367
Dz	0.846	0.746	0.556	0.531	0.600	1.094	3.083	0.524	0.431	

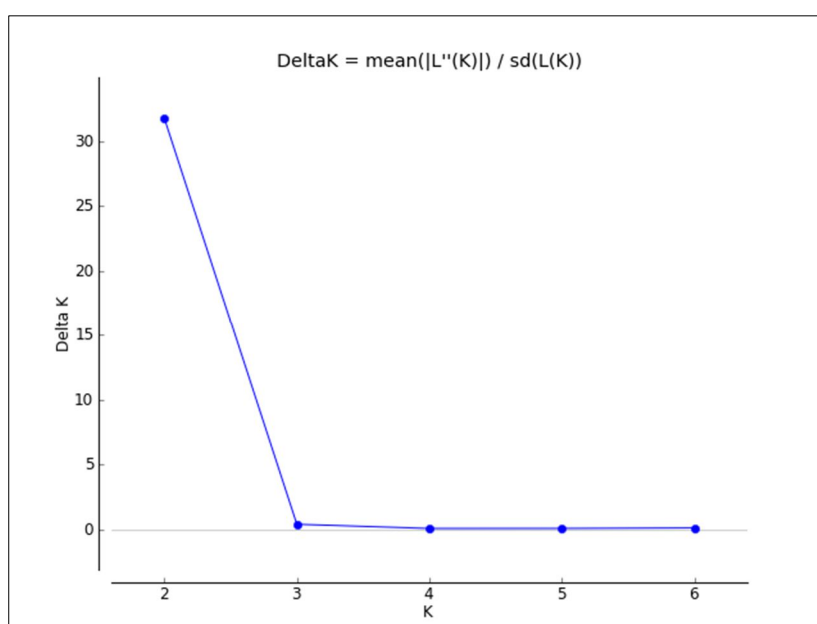


Slika 28. Grupisanje populacija (gore) i jedinki (dole) preko D_{AS} distanci (Sv – Svetinja; K – Krušnica; Kr – Krka; Ul – Una Loskun; Umb – Una Martin Brod; Mr – Mrtvica; S - Sjevernica; N – Nožica; Gz – Gornja Zeta; Dz – Donja Zeta).

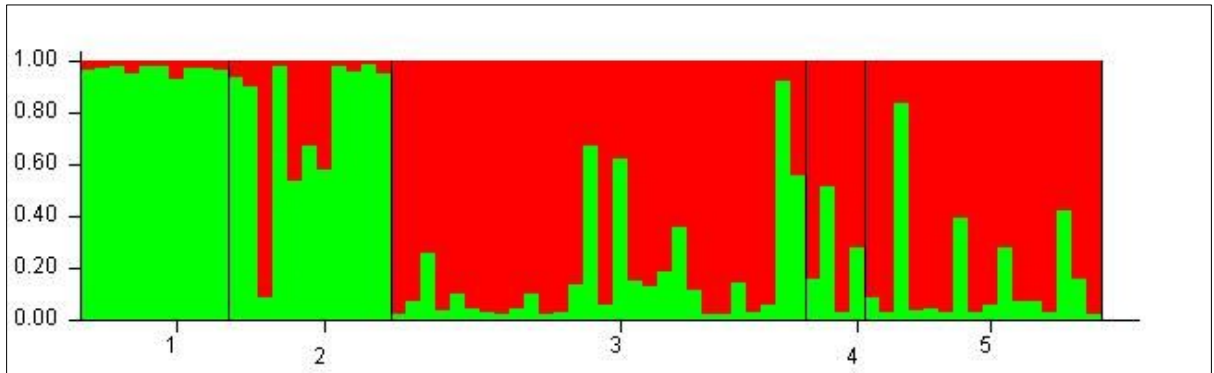
Korišćenjem D_{AS} distanci u programu POPULATIONS (Slika 28) konstatovano je da je grupisanje populacija jasno odvojilo sa jedne strane Donju Zetu, Sjevernica i Mrtvicu, čiji su predstavnici većim delom nosioci haplotipova jadranske linije, pri čemu su Donja Zeta i Sjevernica sestrinske grupe, i populacije čiji su predstavnici nosioci pretežno dunavskih haplotipova – Una Loskun i Krka kao sestrinske grupe, Una kod Martin Broda, Gornja Zeta, zatim Krušnica i Svetinja, i nešto udaljenija Nožica sa druge strane.

Upotrebom programa STRUCTURE prvo su pojedinačno analizirane populacije reka dunavskog i jadranskog sliva, a kasnije sve uzorkovane populacije zajedno. Pri prvom struktuiranju izdvojene su dve grupe: populacije iz sliva reke Une (Slika 29) i populacije reka Crne Gore (Slika 30). Preko vrednosti ΔK pri primeni metoda Evanno i sar. (2005) utvrđeno je da ΔK dostiže maksimalnu vrednost kada je $K = 2$, odnosno pretpostavljajući dva klastera (Slika 29, 30 i 31).

Na slici 29 može se uočiti sličnija genetička struktura pastrmki reka Svetinje i Krušnice s jedne strane, i Krke, Une kod Martin Broda i Une kod Loskuna s druge strane.

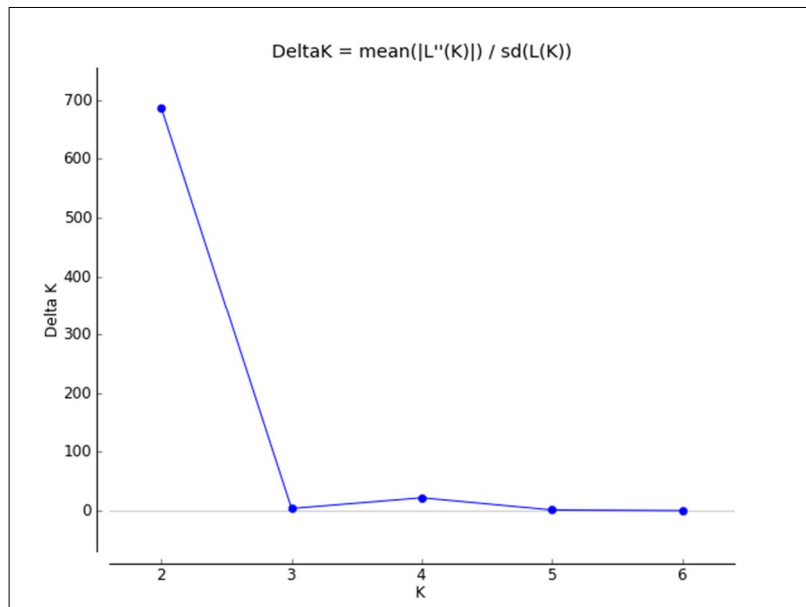


K	Reps	Mean LnP(K)	SD LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	7	-2116.014286	0.845436	—	—	—
2	7	-2052.357143	6.615350	63.657143	210.100000	31.759468
3	7	-2198.800000	212.369725	-146.442857	86.571429	0.407645
4	7	-2258.671429	185.442351	-59.871429	16.271429	0.087744
5	7	-2302.271429	148.916640	-43.600000	13.828571	0.092861
6	7	-2332.042857	52.020985	-29.771429	6.814286	0.130991
7	7	-2355.000000	37.794576	-22.957143	—	—

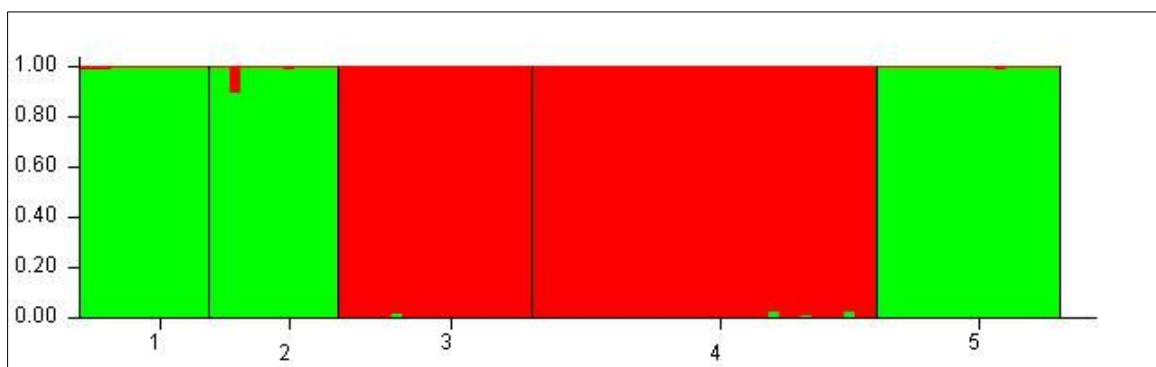


Slika 29. Vrednost ΔK za subpopulacije crnomorskog sliva (gore) i prikaz struktuiranosti subpopulacije (dole) (1 – Svetinja; 2 – Krušnica; 3 – Krka; 4 – Una Martin Brod; 5 – Una Loskun)

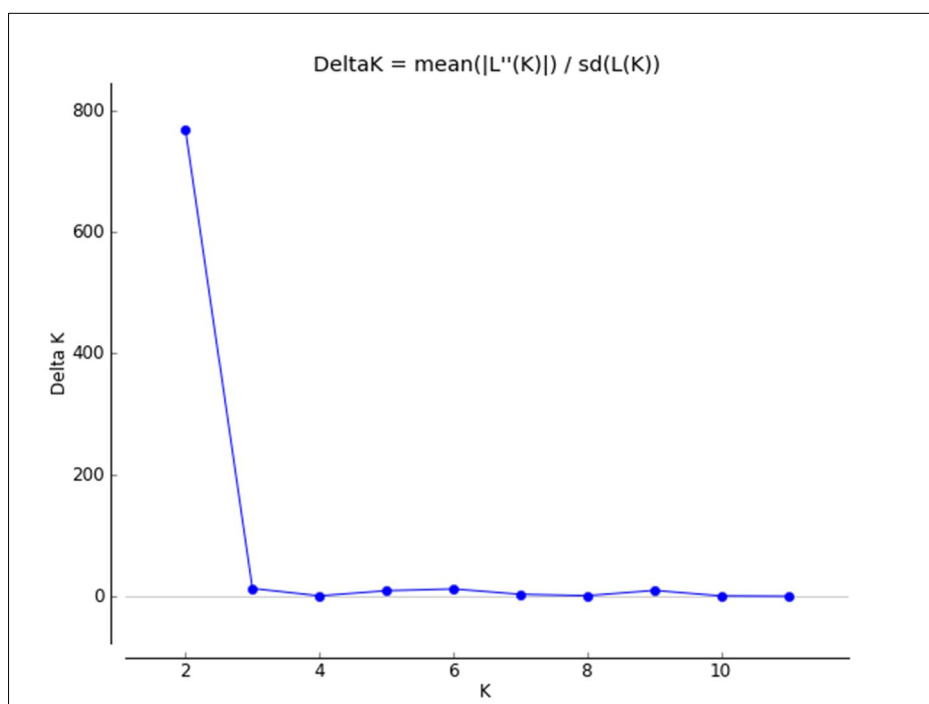
Sličnost populacija Nožice i Gornje Zete je evidentna (Slika 30) u odnosu na populacije Mrtvice, Sjevnice i Donje Zete. Slični rezultati dobijeni su i upotrebom DAS distanci u programu POPULATONS (Slika 28). Isto je prikazano i na slici 31 gde su sve analizirane populacije prikazane zajedno.



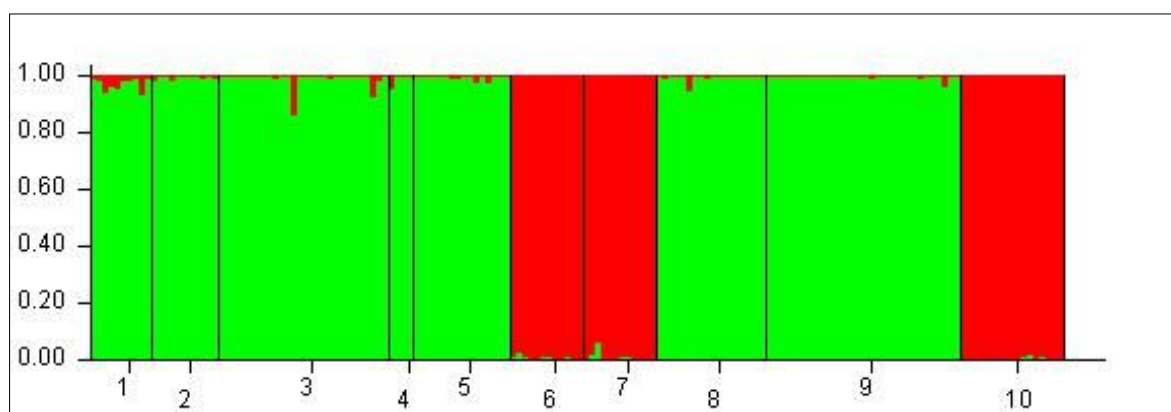
K	Reps	Mean LnP(K)	SD LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	7	-2862.100000	0.707107	—	—	—
2	7	-2257.142857	0.602376	604.957143	413.357143	686.210894
3	7	-2065.542857	23.841620	191.600000	92.114286	3.863592
4	7	-1966.057143	45.826697	99.485714	1010.400000	22.048283
5	7	-2876.971429	831.530245	-910.914286	1171.685714	1.409072
6	7	-2616.200000	1143.799426	260.771429	306.957143	0.268366
7	7	-2048.471429	208.052002	567.728571	—	—



Slika 30. Vrednost ΔK za subpopulacije jadranskog sliva (gore) i prikaz struktuiranosti subpopulacije (dole) (1 – Mrtvica; 2 – Sjevernica; 3 – Nožica; 4 – Gornja Zeta; 5 – Donja Zeta)



K	Reps	Mean LnP(K)	SD LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	7	-5462.785714	0.474091	—	—	—
2	7	-4726.071429	0.558911	736.714286	429.157143	767.845906
3	7	-4418.514286	11.407809	307.557143	145.914286	12.790738
4	7	-4256.871429	30.947359	161.642857	21.957143	0.709500
5	7	-4117.185714	12.129225	139.685714	110.414286	9.103161
6	7	-4087.914286	6.542280	29.271429	78.571429	12.009793
7	7	-4137.214286	61.015747	-49.300000	195.000000	3.195896
8	7	-4381.514286	339.711419	-244.300000	331.214286	0.974987
9	7	-4294.600000	65.068554	86.914286	622.900000	9.572981
10	7	-4830.585714	548.942724	-535.985714	336.571429	0.613127
11	7	-5030.000000	712.305910	-199.414286	28.128571	0.039489
12	7	-5201.285714	963.752197	-171.285714	—	—



Slika 31. Vrednost ΔK za subpopulacije crnomorskog i jadranskog sliva (gore) i prikaz struktuiranosti subpopulacija (dole) (1 – Svetinja; 2 – Krušnica; 3 – Krka; 4 – Una Martin Brod; 5 – Una Loskun; 6 – Mrtvica; 7 - Sjevernica; 8 – Nožica; 9 – Gornja Zeta; 10 – Donja Zeta)

U programu BOTTLENECK za svaku populaciju urađena je procena da li je skoro prošla kroz smanjenja brojnosti, odnosno kroz “genetički uska grla”. Izuzetak je bila populacija iz Une kod Martin Broda čiji je uzorak bio previše mali, te analiza nije mogla biti urađena.

Tabela 18. Rezultati Wilcoxonovog testa u cilju utvrđivanja genetičkog uskog grla (eng. *bottleneck*) u pojedinačnim populacijama prema tri modela mutacija – IAM, TPM i SMM. Podebljane su vrednosti za značajnošću manjom od 0.05; D - deficit heterozigotnosti E - višak heterozigotnosti.

Populacija	IAM	TPM	SMM
Svetinja	0.125 E	0.578 E	0.808 E
Krušnica	0.009 E	0.125 E	0.230 E
Krka	0.004 E	0.531 E	0.961 E
Una Martin Brod	0.656 E	0.852 E	0.039 D
Una Loskun	0.578 E	0.002 D	0.002 D
Mrtvica	0.775 E	0.010 D	0.004 D
Sjevernica	0.148 E	0.406 E	0.656 E
Nožica	0.027 E	0.371 E	0.844 E
Gornja Zeta	0.025 D	0.006 D	0.004 D
Donja Zeta	0.055 E	0.234 E	0.637 E

Efekat uskog grla detektovan je prema IAM modelu u Krušnici, Krki i Nožici ($P < 0.05$). Deficit heterozigotnosti je prema TPM modelu detektovan je u Uni kod Loskuna, Mrtvici i Gornjoj Zeti, dok je prema SMM modelu detektovan u Uni kod Martin Broda i Loskuna, Mrtvici i Gornjoj Zeti. Test promene modaliteta (eng. *mode shift test*) pokazao je odstupanje od L-oblika distribucije alelskih učestalosti u jednoj populaciji - Uni kod Martin broda, gde je ustanovljen i značajan deficit heterozigotnosti (Tabela 18).

5. DISKUSIJA

Identifikacija i održavanje genetičkog diverziteta u okviru, kao i među populacijama, u glavnom je fokusu konzervacije biodiverziteta (Frankham i sar., 2002). Očuvanje genetičkog diverziteta osigurava potencijal vrsti da odgovori na određene sredinske promene, kao i da evoluira pod njihovim uticajem (Araguas i sar., 2009). Konzervacija diferenciranih genetičkih resursa trebalo bi da bude osnova razvoja odgovarajućih programa upravljanja za eksploatacane i ugrožene vrste (Hurt i Hedrick, 2004). Uprkos tome, gubici prirodnih genetičkih resursa se dramatično povećavaju širom sveta zbog hibridizacije i introgresije usled namernog premeštanja domaćih stokova i modifikacija staništa od strane ljudi (Allendorf i sar., 2001).

Iberijsko, Apeninsko i Balkansko poluostrvo smatraju se rezervoarima diverziteta *S. trutta* kompleksa i srodnih vrsta roda *Salmo* (Suarez i sar., 2001; Snoj i sar., 2002; Sušnik i sar., 2007). Mnoge populacije na ovim teritorijama nastale su kao posledica delovanja kompleksnih evolucionih mehanizama, uključujući pojave sekundarnog kontakta između predačkih linija, kao i lokalne adaptacije populacija (Sanz i sar., 2002; Snoj i sar., 2008; Vera i sar., 2010a). Vrste kompleksa *S. trutta* važne su za komercijalnu akvakulturu i rekreativni ribolov u zemljama ovog regiona. Intenzivni ribolov, fragmentacija staništa i hemijsko i biološko zagađenje doveli su do pada brojnosti i istrebljenja lokalnih mediteranskih populacija pastrmki (Barić i sar., 2010). Decenijama je poribljavanje ribnjačkim linijama korišćeno kao protivteža padu brojnosti pastrmskih populacija. Međutim, na primer kod južnoevropskih populacija potočne pastrmke navedeni postupak doveo je do introgresije i hibridizacije sa uzgajanim stokovima poreklom iz centralne Evrope (Garcia-Marin i sar., 1999b; Berrebi i sar., 2000; Aparicio i sar., 2005; Jug i sar., 2005; Meldgaard i sar., 2007).

Praćenje genetičke varijabilnosti potočne pastrmke, *Salmo trutta* L., ekstenzivno je primenjivano u svrhu procene introgresije ribnjačkih linija u divlje populacije (Hansen i Loeschcke, 1994; Arias i sar., 1995; Largiader i Scholl, 1995; Garcia-Marin i sar., 1999a). Genetički markeri koji su otkrili jasno određene geografske haplogrupe, takođe su bili korišćeni za izvođenje zaključaka o prisustvu glacijalnih refugijuma i postglacijalnog protoka gena (Bernatchez i sar., 1992; Garcia-Marin i sar., 1999b; Weiss i sar., 2000), iako mtDNK kao genetički marker može samo indirektno da posluži kao indikator introgresije.

Dostupnost dijagnostičkih genetičkih markera koji omogućuju razlikovanje između alohtonih i nativnih populacija potočne pastrmke, obezbedila je monitoring genetičkog uticaja puštanja riba u reke koja obuhvataju i alohtone stokove. Među dijagnostičkim karakterima, *LDH-C** lokus bio je najuticajniji jer je *100 alel bio fiksiran među nativnim iberijskim populacijama pre poribljavanja, a *90 alel je bio fiksiran u centralnoevropskim stokovima poreklom iz ribnjaka (Garcia-Marin i sar., 1991; Martinez i sar., 1993; Arias i sar., 1995).

Na nivou mitohondrijalnog genoma, haplotipovi mediteranske (ME) i jadranske (AD) linije potočne pastrmke predstavljaju autohtone zapadnomediteranske populacije, dok se haplotipovi koji pripadaju atlantskoj (AT) liniji poistovećuju sa ribnjačkim ribama (Cortey i sar., 2004). AT haplotipovi uočeni kod jedinki iz ribnjaka jasno su se razlikovali od AT haplotipova detektovanih kod iberijskih atlantskih autohtonih populacija (Cortey i Garcia-Marin, 2002; Cortey i sar., 2009; Vera i sar., 2010a). Istraživanja bazirana na *LDH-C** i mtDNK varijabilnosti pokazala su redukovani doprinosi oslobađanja iz ribnjaka u atlantske reke Iberijskog (Pirinejskog) poluostrva (Arias i sar., 1995; Bouza i sar., 2001; Almodovar i sar., 2006), ali značajan doprinos mediteranskim rekama (Sanz i sar., 2000, 2002; Almodovar i sar., 2006).

AD linija potočne pastrmke rasprostranjena je duž južne Evroazije, od Turske do istočnog Iberijskog poluostrva u rekama koje se ulivaju u Mediteranski basen. Visoko je strukturirana linija sa kompleksnim i mrežastim obrascima genskog diverziteta, kao i sa brojnim slučajevima endemizma (Bernatchez, 2001; Cortey i sar., 2004; Bardakci i sar., 2006; Gratton i sar., 2014). Mrežasti areal bio je omogućen sredinskim i klimatskim promenama tokom perioda glacijacija u pleistocenu koje su modifikovale hidrografske veze u maloj razmeri i izolovale populacije potočne pastrmke u gornje tokove reka tokom toplijih, interglacijalnih perioda (Bianco, 1990; Giuffra i sar., 1994; Macklin i sar., 1995; Berrebi i sar., 2000; Sanz i sar., 2002; Bardakci i sar., 2006; Gratton i sar., 2014). Sekundarni kontakt između linija uobičajenih za pleistocen (Bănărescu, 2004), mogao bi objasniti prisustvo AD linije u južnim pozicioniranim rekama Iberijskog poluostrva koje pripadaju Atlantskom basenu, a verovatno i u Dunavskom basenu (Sanz i sar., 2006; Kohout i sar., 2013). Postglacijalno, kao i skorašnje otopljanje u oblasti reka mediteranskog basena ograničilo je populacije potočne pastrmke na male oblasti u rekama i povećalo je izolaciju i pojavu genetičkog drifta na taj način proizvevši genetičku jedinstvenost u okviru AD linije (Sanz i sar., 2002; Cortey i sar., 2004), događaj koji je takođe opisan kod drugih kontinentalnih vrsta riba u južnoj Evropi (Durand i sar., 1999; Volckaert i sar., 2002; Seifertová i sar., 2012; DeFaveri i sar., 2012; Sanz i sar., 2015). *S. dentex*, *S. macedonicus*, *S. cenerinus*, *S. peristericus*, *S. platycephalus*, *S. letnica*, *S. macrostigma*, *S. pelagonicus*, *S. cetti*, *S. fibreni*, *S. carpio* su neki od morfološki identifikovanih taksona u Mediteransko-Jadranskoj oblasti. Međutim, klasifikacija ovih taksona na nivo vrste slabo je opravdana i podržana molekularnim podacima pa je za sve napred navedene taksone objavljeno da pripadaju potočnoj pastrmki AD linije (Sušnik i sar., 2004; 2006; Barkakci i sar., 2006; Lo Brutto i sar., 2010; Berrebi i sar., 2013; Querci i sar., 2013; Kohout i sar., 2013; Gratton i sar., 2013; 2014; Zaccara i sar., 2015).

Procenjeno je da se glavna ekspanzija jadranske linije dogodila u periodu od pre 150 do 200 hiljada godina, pre poslednjeg ciklusa glacijacije (Cortey i sar., 2004; Sušnik i sar., 2007b). Pored toga, veliki diverzitet potočne pastrmke u čitavom Jadranskom slivu objašnjen je uspešnim događajima kolonizacije. Nezavisno od glavne ekspanzije, drevni talasi kolonizacije bi verovatno mogli objasniti pojavu jadranske potočne pastrmke u Ohridskom jezeru (Sušnik i sar., 2007b; Pustovrh i sar., 2014). Razpet i sar. (2007) doveli su u vezu nedostatak intermedijarnih haplotipova iz reke Neretve (AdN) sa reliktnim pojedinačnim dolascima pripadnika ove linije u basen Neretve tokom inicijalnog perioda formiranja AD linije. Isti talas kolonizacije podrazumevao bi divergentni AD-C1 haplotip u reci Zeti (Sušnik i sar., 2007b) i Ad+Prz haplotip iz Tripušnice i basena reke Drim (Marić i sar., 2006; Snoj i sar., 2009) koji su blisko povezani sa AD+N haplotipom (Marić i sar., 2006; Razpet i sar., 2007). Isto tako, AD haplotipovi pronađeni u Albaniji nisu blisko povezani sa ostalim haplotipovima AD linije, pretpostavljajući na taj način nezavisnu kolonizaciju ove oblasti (Snoj i sar., 2009).

Populaciona struktura slatkovodnih vrsta riba često rezultira iz izolacije ribljih populacija između tokova, kao što je prikazano u podacima Ward i sar. (1994), koji su pokazali veći prosečni stepen genetičke diferencijacije među lokalitetima kod slatkovodnih vrsta nego kod marinskih. Međutim, struktura populacija fauna riba umerenog klimatskog regiona bila je promenjena tokom kvartarnih glacijacija. Stoga, radijalni obrasci različitih refugijalnih populacija i naknadnih mešavina ponekada su nadređeni starijim obrascima genetičke diferencijacije usled hijerarhije reka (Perdices i sar., 2003; Volckaert i sar., 2002). Klasične biogeografske studije ukazuju da je istočnozapadna orijentacija glavnih evropskih planinskih lanaca, od Kavkaza do Alpa i Pirineja, rezultirala izolacijom južnih poluostrva koja su predstavljala refugijume tokom glacijalnih perioda (Hewitt, 2000). Ova izolacija se reflektuje u distribuciji nekoliko slatkovodnih vrsta riba, kao što je slučaj sa familijom Cyprinidae gde su mediteranski taksoni diferencirani od srednje-evropskih (Gilles i sar., 1998; Zardoya i Doadrio, 1998). Na populacionom nivou, evolucionarna istorija vrsta riba u južnoevropskim regionima uključuje periode izolacije koji favorizuju *in situ* diverzifikaciju, ali takođe i mogućnosti za migraciju (Zardoya i Doadrio, 1998; Tsigenopoulos i Berrebi, 2000;

Perdices i sar., 2003). Rasprostranjenje vrsta ograničenih na slatkovodne uslove izgleda da je rezultat smanjenja tokova reka tokom glacialnih perioda, bilo rečnim ušćima u nizijama kao odgovor na opadanje nivoa mora, ili skretanjem toka reka u korita drugih reka u planinskim regionima (Durand i sar., 1999; Tsigenopoulos i Berrebi, 2000). Kod salmonida, anadromne ribe bi trebalo da povećaju protok gena između rečnih basena (Ryman, 1983). Međutim, značajne genetičke razlike uočene su među populacijama kompleksa potočne pastrmke, *Salmo trutta* L.

Dunavski haplotipovi imaju široku geografsku distribuciju s obzirom da su zastupljeni od centralnog dela Evrope ka istoku do Avganistanskih reka koje se ulivaju u Aralsko more i gore ka severnim rekama Rusije koje se ulivaju u Kaspijsko more, dok je glavna DA linija najpre opisana u rekama koje se ulivaju u Dunavski basen (Bernatchez i sar., 1992). Naknadnim istrativanjima DA haplotipovi konstatovani su u rekama koje se ulivaju u Crno more, pa i van dunavskog sliva (Kohout i sar., 2013), kao i rekama koje se ulivaju u Kaspijsko i Aralsko more (Griffiths i sar., 2009; Hashemzadeh i sar., 2012). Pored navedenog, DA haplotipovi su povremeno nalaženi u gornjoj Visli, koja se uliva u Atlantski okean, verovatno kao posledica sekundarnog kontakta nakon perioda glacijacija, između gornjih pritoka Visle i dunavskih pritoka (Kohout i sar., 2012). Izmeštanje tokova severno pozicioniranih reka iz velikih ledničkih jezera koja su se izlivala ka jugu bilo je uobičajeno tokom kvartarnih glacijacija koja su obuhvatila severnu Rusiju (Mangerud i sar., 2004). Pored toga, Dunavski haplotipovi pronađeni su i u reci Adiđe i u gornjoj Neretvi, koje se ulivaju u Jadransko more, koji su se tamo zatekli verovatno usled sekundarno uspostavljenih veza putem rečnih korita između Dunavskih pritoka i ovih reka tokom pleistocena (Meraner i sar., 2007; Razpet i sar., 2007). Takođe, ni antropogeno delovanje tj. introdukcija potočne pastrmke DA linije ne može biti u potpunosti izopštena kada su Adiđe i gornja Neretva u pitanju (Meraner i sar., 2007; Simonović, pers. comm.).

Dunavskoj kladi u gornjem toku Dunava nedostaje geografska struktura velikih razmera u pravcu sever-jug. U slivu reke Kamp u severnoj Austriji, koja je leva pritoka Dunava, Weiss i sar. (2001) prijavili su prisustvo retkih haplotipova dunavske linije – Da3, Da9 i Da23.

Paleohidrološki dokaz opisuje vezu između Kamp-Dunav-Morava regiona i sistema jezera koja su povezala Bečku kotlinu, sedimentnu tvorevinu između istočnih Alpa i Karpatskih planina, Mađarske nizije i regiona Crnog, Kaspijskog i Aralskog mora u srednjem do kasnom pliocenu (Fink, 1996). Takav sistem bi omogućio prostor za kolonizaciju, ili zaštitu (održavao predački pul dunavskih haplotipova koji je sada vikarno raspoređen). Na drugim mestima severno od Dunava, jedna populacija (Waldaist) sadrži privatni haplotip (Da24) i, osim Da22, koji pokazuje visoke frekvencije u dve bliske populacije u gornjoj Austriji (južno od Dunava), dunavski haplotipovi koji se češće pojavljuju su široko distribuirani i ne pokazuju precizan geografski obrazac rasprostranjenja.

Za razliku od dunavske grupe potočne pastrmke koja se karakteriše većim diverzitetom, pripadnici atlantske linije u gornjem delu Dunava predstavljaju ograničeniji i izvedeni genski pul u ovom regionu. Dominantni mehanizam introdukcije bio je oslobađanje gajenih jedinki iz ribnjaka, ali se u izvesnoj meri prirodna kolonizacija mogla desiti u relativno skoroj prošlosti (kasni do post-pleistocen). Pored toga, značajna filogeografska struktura dunavske linije i dalje je prisutna u gornjem delu Dunava, a pojedine izolovane populacije (Blühnbach, Lohnbach, Gossenkollersee i Anrasersee) su dominantne ili fiksirane za haplotipove dunavske linije. Kontinuirano poribljavanje alohtonim linijama potočne pastrmke će ugroziti genetički integritet prirodnih populacija u ovom regionu (Weiss i sar., 2001). Izgleda da je značajno veća učestalost haplotipova atlantske linije u područjima koja nisu bila zahvaćena glacijacijom, kao i na severnim padinama Alpa, u suprotnosti sa čistom introdukcijom antropogenog porekla, kako je malo razloga da se pretpostavi veća upotreba ili preživljavanje odgajanih riba na severu. Uzgajanje pastrmki u Austriji je sveprisutno, a eksperimentalni podaci ne ukazuju na višu stopu preživljavanja odgajanih riba u sistemima koji su

hidrološki i termalno varijabilniji na severu (Weiss i Kummer, 1998; Weiss i Schmutz, 1999a). Prema prisustvu populacija potočne pastrmke atlantske linije koja je prirodno kolonizovala gornji sliv Dunava, mogao bi se očekivati određeni diverzitet haplotipova koji reflektuje heterogena porekla, i/ili mutacije tokom njihovog boravka. Prisustvo dva retka haplotipa Atlantske klade, At10 i At11, u severnim populacijama podudara se sa ovim očekivanjem, iako prisustvo navedenih haplotipova u neko doba u prošlosti u ribnjacima, ili njihova prirodna pojava negde drugde u gornjem toku Dunava, gde je uzorkovanje moglo biti neadekvatno, ne može biti isključena. Takođe, prisustvo retkog atlantskog haplotipa A17 primećeno je i u reci Mrtvici u Crnoj Gori koja pripada jadranskom slivu, što je najverovatnije posledica introdukcije. Razmatrajući diverzitet haplotipova Atlantske linije u okviru istočnog Atlantika (Weiss i sar., 2000), pretpostavljaju se da je ova klada nastala tamo, odvajanjem od zajedničkog pretka nakon izolacije Mediterana i da se proširila na sever rano u pleistocenu ili kasno u pliocenu. Sledeći navedeno, čak iako je potočna pastrmka Atlantske linije stigla prirodno u gornji tok Dunava, jedna od mogućnosti bila bi da se naseljavanje dogodi putem kolonizacione rute pravca sever-jug.

Diverzitet autohtonih potočnih pastrmki *Salmo spp.* obuhvata veliku varijabilnost nominalnih taksona u Srbiji, Crnoj Gori i Bosni i Hercegovini. Detektovano je među rezidentnim pastrmkama prisustvo atlantske potočne pastrmke atlantske mtDNK linije (AT) koje su introdukovane u populacije dunavske pastrmke *S. labrax* i jadranske *S. farioides* koje pripadaju jadranskoj (AD) i dunavskoj (DA) mtDNK liniji. U okviru jadranskog sliva Crne Gore, napred su pomenute reke u kojima su pored jadranskih i dunavskih otkriveni i atlantski haplotipovi – Mrtvica i Gornja Zeta. U gornjem toku reke Mrtvice prvi put je detektovan alohtoni haplotip A17, dok je u Gornjoj Zeti konstatovano prisustvo At1 haplotipa. U gotovo svim populacijama koje su rezidentne primećeno je ukrštanje između autohtonih i introdukovanih jedinki usled prisustva heterozigota za deo ispitivanog jedarnog gena *LDH-C**, kao i određenih mikrosatelitskih lokusa. Izuzetak je populacija iz reke Mrtvice u Crnoj Gori gde su se i rezidentne i migratorne jedinke AD linije mrestile u donjem toku reke, gde je ustanovljeno prisustvo jedinki AD haplotipova - ADcs11, Ad+Prz i AD-M1 (Mrdak, 2011) a nijedan mikrosatelitski alel AT linije jedinki introdukovanih u gornji tok reke nije detektovan (Škraba Jurlina i sar., 2018).

U gornjem toku reke Mrtvice gde su prisutne alohtone jedinke AT haplogrupe koje su pomešane sa jedinkama jadranske pastrmke, uočena heterozigotnost $H_{obs} = 0.16667$ bila je značajno niža u poređenju sa očekivanom $H_{exp} = 0.72826$ za lokus SsaD71 na taj način pokazujući odstupanje od Hardy-Weinberg-ove ravnoteže ($p < 0.001$), sa slabo izraženom diferencijacijom u okviru populacije $F_{IS} = 0.779$. Kod potočnih pastrmki AT haplogrupe detektovani su privatni aleli specifični za ovu haplogrupu na dva mikrosatelitska lokusa u heterozigotnom stanju - kod uzoraka Mr4 i Mr7 za lokus SsaD190 (151), i kod uzorka Mr1 za lokus Ssa410UoS (200), dok je jedan od privatnih alela primećen kod jedne jedinke AD haplogrupe (Mr9) za lokus OMM1064 (215), takođe u heterozigotnom stanju. Detektovani privatni aleli za AT haplogrupu nisu primećeni ni u jednoj jedinki iz populacije donjeg toka Mrtvice koja pripada AD haplogrupi (Mrdak, 2011). Migratorne pastrmke AD linije u kombinaciji sa rezidentnim jedinkama iste linije donjeg toka reke suzbijaju introgresiju gena prisutnih u gornjem toku koji potiču od introdukovanih jedinki AT linije.

Ukrštanje između jedinki AD i AT linije primećeno je, međutim, u gornjem toku Mrtvice koji je izolovaniji u odnosu na donji tok na osnovu analize *LDH-C** lokusa i mikrosatelitskih alela (Škraba Jurlina i sar., 2018).

U reci Sjevernici, levoj pritoki Morače, od ukupno 12 uzoraka detektovana su tri uzorka koji su nosioci haplotipa DA linije (Da1), dok su preostali bili nosioci haplotipova AD linije (ADcs11 i Ad+Prz).

Plastičnost životne istorije potočne pastrmke čini je veoma otpornom i omogućuje joj veliku sposobnost adaptacije na nagle promene koje mogu nastupiti u njihovom staništu, kao i na dugotrajne otežane uslove, poput nedostatka prirodnih resursa, pri čemu dugotrajni štetni uticaji dovode do održavanja genetičke varijabilnosti lokalnih populacija (Ferguson i sar., 2019). Kod pripadnika porodice Salmonidae se obično javlja instinkt za migracije, pri čemu se kod mnogih populacije dele na rezidentne, koje uglavnom čine mužjaci koji obitavaju u potocima, i migrirajuće, jezerske ili morske, koje uglavnom čine jedinke ženskog pola (Fleming i Gross, 1991; Ferguson, 2006a) koje se mešaju (Hansen, 2002). Nasuprot morfološkim, ekološkim ili demografskim razlikama (Klemetsen i sar., 2003) između rezidentnih i migratornih jedinki, među njima nisu pronađene genetičke razlike (Hindar i sar., 1991; Hansen, 2002; Charles i sar., 2005) što ukazuje na njihovo pripadanje istoj populaciji.

Migratorno ponašanje autohtonih pastrmki na Balkanu ograničeno je na svega nekoliko populacija istočnog dela, tj. na *Salmo labrax* populacije koje migriraju zbog mresta u male pritoke Crnog mora u Bugarskoj (Kohout i sar., 2013), kao i na nekoliko populacija zapadnog Balkana u Crnoj Gori koje pripadaju jezerskoj formi iz Skadarskog jezera jadranske pastrmke *S. farioides* (Karaman, 1938), koja se naziva i „strun“ (Mrdak i sar., 2006), i populacije glavatice, *S. marmoratus* ili „zubatak“ koji je nominalno opisan kao *S. dentex* Heckel i Kner, 1958. Važno je napomenuti da su migratorne pastrmke AT linije prisutne i u području Dunava u Đerdapskoj klisuri. Primećeno je da migriraju u kasno leto i ranu jesen iz akumulacije Đerdap i u niže delove pritoka, pri čemu se neki od tih potoka u svom gornjem toku odlikuju prisustvom autohtonih pastrmki DA linije, koje i dalje nisu u kontaktu sa jedinkama koje obitavaju u akumulaciji. Ukoliko bi do pomenutog kontakta došlo, posledice po jedinstvene autohtone populacije bile bi nesagledive u konzervacionom smislu, zbog jakog invazivnog karaktera koji su pokazale pastrmke AT linije (Simonović i sar., 2015).

Na području Nacionalnog parka Una, Škraba i sar. (2017) detektovali su tri CR mtDNK haplotipa od kojih su dva pripadnici dunavske linije (Da2 i Da22), dok jedan haplotip pripada atlantskoj liniji (At1). U gornjem delu toka 28 uzoraka iz Krke, četiri iz gornjeg toka Une kod Martin Broda i četiri iz donjeg toka Une kod Loskuna pronađen je haplotip Da22. U donjem toku sliva Une u reci Svetinji koja je njena pritoka, jedna potočna pastrmka je imala Da22 haplotip, jedna Da2, i dve jedinke At1 haplotip, dok je u Krušnici pronađena jedna jedinka At1 haplotipa i dve koje su nosioci Da22 haplotipa. Uzimajući u obzir rasprostranjenost i učestalost pojavljivanja, Da22 haplotip je najverovatnije autohton u slivu reke Une, kao što je i u rekama Lohnbach i Daglesbach u Austriji (Duftner i sar., 2003). Ovo otkriće Da22 kao nativnog CR mtDNK haplotipa je prvo vezano za Balkan, kao i za oblast južno od Alpa. Neprohodne prirodne prepreke koje Štrbac, Martin Brod i vodopadi Kostelski Buk predstavljaju za širenje potočne pastrmke uzvodno, favorizuju sprečavanje prohodnosti za druge haplotipove koji su prisutni u pritokama nizvodnog toka reke Une. Pojava At1 haplotipa u donjem delu sliva reke Une ukazuje na to da je ovaj haplotip introdukovan. Pomenuti haplotip je do sada detektovan širom zapadnog Balkana (Marić i sar., 2006; Jadanić, 2007; Mrdak, 2011; Simonović i sar., 2015). Njegova domestifikacija za uzgoj u mrestilištima ima dugu istoriju, ali takođe i vidljive štetne efekte snažne introgresije u divlje populacije potočne pastrmke koje su poribljavane At1 haplotipom. Simonović i sar. (2014, 2015) otkrili su veoma snažan invazioni potencijal u pastrmskim rekama u toj oblasti što predstavlja jasno upozorenje o uticaju koji pomenuti haplotip ima na divlje populacije potočne pastrmke. Pojava Da2 haplotipa u pastrmskim rekama koje se ulivaju u Unu u njenom srednjem toku takođe implicira njegovu introdukciju u divlje populacije potočne pastrmke poribljavanjem. Ovaj haplotip je prvo bio prijavljen od strane Bernatchez i sar. (1992), dok su njegovo prisustvo Marić i sar. (2006) detektovali na nekoliko lokaliteta u rekama dunavskog sliva u Srbiji, zajedno sa Da1 haplotipom, kao i sa Da23c (Tošić i sar., 2014) haplotipom ekskluzivnim za sliv Crnog Timoka u istočnoj Srbiji (crnomorski sliv), u tokovima za koje se zna da su bili poribljavani. Mrdak (2011) je konstatovao njegovo prisustvo kod 18% jedinki potočne pastrmke iz reke Tare u Crnoj Gori, zajedno sa potočnom pastrmkom Da1 i

At1 haplotipa. Mrdak (2011) je takođe prijavio i prisustvo Da2 haplotipa koje je detektovano samo kod potočne pastrmke iz Vrijeke u Fatničkom karstnom polju u Hercegovini. Jadan i sar. (2007) prijavili su prisustvo potočne pastrmke Da2 haplotipa kao jedinog u reci Gackoj, u Ličkom karstnom polju u zapadnoj Hrvatskoj gde se pojavio zajedno sa poribljenom potočnom pastrmkom atlantske linije. Neuporedivo niža učestalost pojave potočne pastrmke Da2 haplotipa u poređenju sa onima koje su nosioci Da1 haplotipa u vodotokovima u Srbiji, ukazuje na to da su jedinke potočne pastrmke Da2 haplotipa bile introdukovane u pomenute oblasti poribljavanjem, kako su i konstatovali Simonović i sar. (2015). Međutim, Jadan i sar. (2007) smatraju potočnu pastrmku Da2 haplotipa domorodačkom.

U oblasti istraživanja u okviru Nacionalnog parka Una postoje mrestilišta i pastrmski ribnjaci – po jedan na gornjem delu Une kod Martin Broda, na Klokotu i na Krušnici u srednjem delu toka Une. Pomenuta mrestilišta uglavnom se bave mrestom i uzgojem dužičaste pastrmke *Oncorhynchus mykiss*, ali i potočne pastrmke i lipljena u svrhu poribljavanja. Uzimajući u obzir da je najveći ribnjak u Martin Brodu u oblasti još uvek divljih populacija potočne pastrmke, neophodne su krajnje mere predostrožnosti kako bi se izbegla introdukcija potočne pastrmke bilo kog alohtonog haplotipa u tu oblast. Dodatno, čini se da su potočne pastrmke Da22 haplotipa već bile domestifikovane u mrestilištima i uzgajane u svrhu poribljavanja. Marić i sar. (2006) prijavili su prisustvo potočne pastrmke Da22 haplotipa u Rosomačkoj reci, dok su Simonović i sar. (2015) isti haplotip pronašli u Jermi (sliv Južne Morave), pri čemu su obe reke sigurno bile pod uticajem poribljavanja od 2008. godine, a verovatno i pre. U završnom, master radu Kanjuh (2017) takođe je nađena potočna pastrmka Da22 haplotipa u Visočici, na Staroj planini. Koliko je poznato do sada, nijedan od vodotokova zapadnog Balkana sem Une ne karakteriše se pomenutim haplotipom kao autohtonim. Preliminarni nalazi pokazuju introgresiju dve strane linije potočne pastrmke u populaciju reke Svetinje, kao i potočne pastrmke atlantske linije u reku Krušnicu, što potvrđuje veliki invazioni potencijal ovih haplotipova, i rizik koji predstavljaju po divlje populacije potočne pastrmke, kao što su zaključili Simonović i sar. (2015).

Simonović i sar. (2017) detektovali su 15 haplotipova Dunavske (DA) linije, kao i tri haplotipa Jadranske (AD), Atlantske (AT) i *marmoratus* linije (MA) na području zapadnog Balkana. Veliki diverzitet haplotipova ove oblasti, osim onih iz DA haplogrupe koji se smatraju autohtonim za ovu oblast, čine i alohtoni haplotipovi. Vrednost prosečnog diverziteta haplotipova (H_{mean}) ukazuje na veliku proporciju tokova koji sadrže više od jednog haplotipa, tj. u ovom slučaju do četiri u pojedinim rekama (Simonović i sar., 2017). Kohout i sar. (2013) konstatovali su prisustvo jedinki dva haplotipa Dunavske (DA) linije u reci Džepska u južnoj Srbiji (DaDa*Dž i DaDA1), i iako su oba haplotipa potočne pastrmke smatrali autohtonim, pronalazak Da1 i Da2 haplotipova uz njih, uporedivši sa jedinim drevnim haplotipom, Da*Dž, koji su detektovali Marić i sar. (2006), dovodi u pitanje autohtoni karakter ove višestruke simpatrije. Rekonstrukcija filogenije pokazala je centralnu poziciju haplotipova Da*Vr i Da*Dž između ostalih haplotipova DA linije, kao i AT i južnoevropskih AD i MA linija (Marić i sar., 2006; Simonović i sar., 2017). Preostali Da haplotipovi svrstani su u jednu, izvedeniju kladu metodama distanci i Neighbour-Joining. Tajima relativna stopa (eng. *Tajima's Relative Rate*) i test maksimalne verovatnoće (eng. *Maximum Likelihood*) pokazali su ravnomernu stopu evolucije kroz filogenetsko stablo (Simonović i sar., 2017). Relativno velika srednja distanca između haplotipova DA linije u poređenju sa onim između haplotipa van DA linije potiče od velike distance, tj. visokog stepena diferencijacije između predačkih i izvedenih haplotipova. Takođe, značaj procena diferencijacije na bazi nukleotidnih sekvenci saglasan sa rezultatima F-statistike ukazuje na veću divergenciju između Da haplotipova, koja se definiše kao drevna i predačka, u odnosu na izvedene Da haplotipove. Mogla bi se postaviti hipoteza u vezi navedenog, tj. da je pomenuto posledica duge i delotvorne izolacije predačkog haplotipa od izvedenih. Nasuprot njima, izvedeni haplotipovi pokazali su niži nivo divergencije koji odgovara njihovom skorijem poreklu. Pregled distribucije haplotipova u basenu Dunava zapadnog Balkana ukazuje na to da je Da1 najšire rasprostranjen haplotip, te da se može smatrati predačkim u

ovoj oblasti. Međutim, centralna pozicija Da*Vr, Da*Dž i Da-s6 haplotipova u filogenetskom stablu, njihova izrazita diverzifikacija od ostalih Da haplotipova, i njihova bliska i lokalizovana distribucija u tokovima severne padine poluostrva između basena Egejskog i Crnog mora, dovode u pitanje navedeno, ukazujući na njihov predački karakter. Potočne pastrmke Da*Vr haplotipa u bliskoj su vezi sa makedonskom pastrmkom *Salmo macedonicus* (Karaman, 1924) jadranske (AD) linije, kao što je takođe zaključeno iz pronalaska Ad*Bož haplotipa iz reke Božice, na južnim padinama istog poluostrvskog razvođa, koji je proglašen drevnim-predačkim u jadranskoj (AD) liniji (Marić i sar., 2006). Poluostrvska vododelnica na Vlasinskoj visiji na 1220 m visine leži na najzapadnijem kraju starog Rodopskog masiva. Duga izolacija ove oblasti i drevni karakter Da*Vr i Da*Dž haplotipova podržani su prirodnim odsustvom Da1 haplotipa u rečnim tokovima te oblasti. Štaviše, drevni karakter potočne pastrmke Vlasinske oblasti potvrđen je i rezultatima istraživanja Simonović i sar. (2007) o njenoj morfologiji. Kada se napravi poređenje diverziteta haplotipova kod CR haplotipova potočne pastrmke DA linije zapadnog Balkana sa onim koje su objavili Kohout i sar. (2013) za istočni Balkan, može se zaključiti da su ove dve oblasti veoma slične (12 DA haplotipova na zapadnom Balkanu naspram njih 14 na istočnom, sa sledećim zajedničkim haplotipovima za obe oblasti – Da1, Da2, DaDA1 i Da*Dž). Struktura ove dve grupe haplotipova je različita, ukazujući na kompleksnost i visok stepen nezavisnosti u evolucionoj istoriji populacija potočne pastrmke crnomorskog sliva.

Potočne pastrmke Da-s6, odnosno Da21 haplotipa, pronađene su u Studenačkoj reci, a Da22 haplotipa u izolovanom potoku Rosomača u sistemu Južne Morave, i u gornjem delu toka reke Une. Sekvenca Da-s6 haplotipa ista je kao i kod sevanske pastrmke *Salmo ischchan* iz Jermenije. Vrlo je verovatno i lako moguće da haplotipovi Da-s6 i Da22 imaju vikarnu distribuciju u okviru oblasti rasprostranjenja potočne pastrmke. Može se hipotetisati da nedavna pojava Da-s6 haplotipa na periferiji zapadnog Balkana i istočno, na primer u oblastima Kavkaza, i Da22 haplotipa u zapadnom Balkanu i zapadnije, na primer u Austriji, može ukazati na različite periode i oblasti kada i gde su diverzifikovali, kao i na prilike da se šire pre redukcije njihovog skorašnjeg areala koja je usledila. S obzirom da je veza između zapadnog, Panonskog i istočnog, Dakijsko-kaspijskog basena nestala tokom kasnog miocena i ranog pliocena (Anđelković, 1970; Almaca, 1990), može se pretpostaviti da su Da-s6 i Da22 približno diverzifikovali pre i nakon tog perioda, respektivno. Ovaj hipotetički scenario smešten u period od pre 6 do 5 miliona godina, ne podudara se sa datiranjem uz upotrebu molekularnog sata, po kome je procenjeno vreme diferencijacije u dunavskoj liniji na period pre najviše 2 miliona godina (Bernatchez i sar., 2001). Osnovna pozicija Da1 haplotipa u topologiji klade izvedenih dunavskih haplotipova i široka distribucija potočne pastrmke koja ga ima u basenu Dunava zapadnog Balkana, podržava njegovu urođenost, kao i njegov predački karakter u poređenju sa drugim izvedenim haplotipovima DA linije. To je podržano jedinstvenošću Da1 haplotipa kod jedinki potočne pastrmke iz kompletno izolovanih (stoga i neizlaganih introgresiji) gornjih delova tokova reka, kao što je Lička Jesenica dunavskog basena u Hrvatskoj, i u gornjim delovima toka rečnog sistema gornje Zete i Nožice, smeštene u jadranskom basenu u Crnoj Gori. Tako je u Gornjoj Zeti, pored pomenutog alohtonog haplotipa AT linije, prilikom ovog istraživanja uočeno prisustvo većeg broja jedinki koje su nocioci Da1 haplotipa, svega jedna jedinka koja je nosilac Da2 haplotipa i dve jedinke za koje se prema urađenim filogenetskim stablima pretpostavlja da pripadaju grupi Da23 haplotipova. Jedno od mogućih objašnjenja za prisustvo Da23 haplotipova u ovoj oblasti jeste da je ovo ostatak stare faune s obzirom da je Nikšićko polje najveće kraško polje u Dinaridima pa se može pretpostaviti da je nekada bilo jezero, te bi ova dunavska linija bila ostatak iz perioda kad je ova oblast bila deo nekog sistema jezera kao osataka Paratetisa. Gornji deo toka gornje Zete blizu je gornjeg toka reke Komarnice (gornji tok Pive) na suprotnoj, dunavskoj strani poluostrvske vododelnice. Gornja Zeta skuplja vodotokove u izdignutom Nikšićkom karstnom polju na strani sliva Jadranskog mora. Ponire i pojavljuje se posle podzemnog toka od oko 5 km nekoliko stotina metara ispod, u dolini donjeg toka Zete, tekući ka Skadarskom jezeru i Jadranskom moru. Shodno tome, bio je očekivan pronalazak jedinki nosilaca AD haplotipova (ADcs11 i Ad+Prz) u donjem toku reke Zete. Slično, izvor reke Nožice blizu je gornjem toku reke Tare, pritoke Drine.

Nožica takođe ponire i pojavljuje se kao Mala Rijeka, pritoka reke Morače. Tokom ovog istraživanja, zaključeno je da su svih 18 uzorkovanih jedinki iz reke Nožice nocioci Da1 haplotipa. Iako su Jug i sar. (2005) doveli u pitanje efikasnost izolacije prirodnih, autohtonih populacija u gornjim delovima tokova privremeno izolovanih reka, intaktnost potočne pastrmke Da1 haplotipa u trajno izolovanim rekama Lička Jesenica i Nožica, kao i u toku gornje Zete, čini ih autohtonim. Potočna pastrmka Da2 haplotipa široko je rasprostranjena u rekama dunavskog basena zapadnog Balkana, kao i van njega, na primer u Gackoj u Lici (Hrvatska) i u Vrijeci u Hercegovini. Ne postoji reka u Dunavskom basenu ovog regiona gde je Da2 haplotip jedinstven, privatni haplotip. Ekskluzivnost Da2 haplotipa poznata je jedino kod potočne pastrmke iz reke Vrijeke u basenu Jadranskog mora, koja je prirodno izolovana od pastrmke uopšte. Jadan i sar. (2007) smatraju potočnu pastrmku Da2 haplotipa autohtonom za reku Gacku i druge vodotokove u Hrvatskoj. Štefanac i Bunjevčević (1982) su, nasuprot njima, prijavili dva „ekotipa” potočne pastrmke tamo, izuzetno slična opisu potočne pastrmke DA (vitkije telo, duže vilice, sedam do devet svetlih crvenih tačaka duž lateralne linije, bez tamnih tačaka na škržnim poklopcima) i AT (robusnije telo, zaobljenija glava, crvene tačke nepravilno raspoređene po bokovima, sa crnim u obliku slova „x” između njih) linija. Jelić i sar. (2016) smatraju da postoji mogućnost da potočna pastrmka nije uopšte autohtona za reku Gacku u Ličkom polju, usled geografske izolacije. Prirodni areal potočne pastrmke Da2 haplotipa je u vodotokovima koji se spajaju sa južnim nemačkim (Bernatchez, 2001) i austrijskim gornjim delom Dunava (Weiss i sar., 2001). Veliki deo regiona zapadnog Balkana (Slovenija, Hrvatska, mali periferni delovi Crne Gore i Bosna i Hercegovina) bio je sastavni deo Austrougarske kroz čitav 19. i na početku 20. veka. Kohout i sar. (2012) naveli su da su tokom 19. veka obimna poribljavanja bila pokrenuta tokom vladavine Austrougarske u centralnoj Evropi, uz dati primer prenosa ikre iz Salzburga (gornji deo basena Dunava) u ribnjak Nedošin (basen Severnog mora). Postoji još svedočenja od strane Gridellija (1936) o poribljavanju slovenačkih vodotokova, na primer, reke Soče i njene pritoke Idrijice, sa mlađi potočne pastrmke koja potiče iz ribnjaka na izvoru (vrelu) reke Bosne u blizini Sarajeva, u periodu između 1906. i 1912. godine. Iz detaljnog opisa dve varijante potočne pastrmke, čini se da su pripadnici DA („svetlo maslinaste boje, sa gupama crvenih tačaka u jednoj liniji duž čitave dužine tela“) i AT linija („tamno maslinaste boje,..., prisustvo crvenih i crnih tačaka“) tada bili poribljavani. Razpet i sar. (2007) potvrdili su navedeno restrikcijom analizama (RFLP) na uzorku obe varijante potočne pastrmke iz reke Idrijice, koja je ostala do sada izolovana od uticaja drugih pastrmskih vrsta koje naseljavaju reku Soču, kao što je, na primer, *Salmo marmoratus*. Ovo podržava hipotezu o ribnjačkom poreklu potočne pastrmke Da2 haplotipa u toj oblasti, kao i širom zapadnog Balkana. Materijal za poribljavanje vodotokova u Crnoj Gori takođe je uvezen iz ribnjaka u Bosni i Hercegovini, što objašnjava pronalazak potočne pastrmke Da2 haplotipa zajedno sa onima koje pripadaju Da1 haplotipu u Komarnici i Tari. Alohtoni status potočne pastrmke Da2 haplotipa u reci Vrijeci (južna Hercegovina) i Gackoj, koje pripadaju jadranskom slivu, takođe se uklapa u taj scenario. Potočne pastrmke AT linije pojavile su se i u uzorcima iz gornjeg toka reke Save, u reci Dravi, Uni, Tari, Komarnici i Gackoj, na širem području Đerdapske klisure (Marić i sar., 2012; Tošić i sar., 2016) i u rekama Gradac i Jerma (Simonović i sar., 2015). Sve navedene potočne pastrmke pripadaju At1 haplotipu. Na osnovu svih prethodnih analiza, može se zaključiti da su najrazličitiji slivovi Zapadne Morave, Kupe i Une, sa potočnom pastrmkom jednog haplotipa Da1, ili sa upadljivom dominacijom Da2 haplotipa gornjeg toka reke Une. Potočna pastrmka susednih slivova u oblasti Đerdapa i Timoka, slede za njima, usled velikog udela Da2 haplotipa u tamošnjim rekama. Međutim, pojava drugih haplotipova DA i AT linije (na primer Da1, Da2, At1) u ovim slivovima, umanjila je njihovu diferencijaciju u poređenju sa čistim, autohtonim populacijama potočne pastrmke. Ostali slivovi pokazali su manju diferencijaciju među pastrmskim populacijama, proporcionalnu broju haplotipova, kao i učestalosti njihove pojave u njima. Niska stopa migracija od manje od jedne jedinke godišnje između slivova, u saglasnosti je sa obrascem rasprostranjenosti populacija potočne pastrmke u slivovima, pogotovo na mestima gde je očuvana izvornost populacija (Simonović i sar., 2017).

Pojava tri haplotipa jadranske linije (AD) kod native *Salmo farioides* u reci Mrtvici sugerise njihovu dinamičnu i složenu evolucionu istoriju. S obzirom na izolaciju *Salmo spp.* u gornjem toku Mrtvice od jedinki u donjem delu reke, ADcs11 haplotip se čini predačkim za haplotip AD-M1 koji je zastupljen samo u donjem toku, što je u skladu sa nalazima Mrdak i sar. (2006). Prema Sušnik i sar. (2007), Ad+Prz je sestrinska klada roda koji obuhvata haplotipove Adcs11 i AD-M1, oba unutar AD haplogrupe. Pojava AD+Prz haplotipa samo u donjem toku Mrtvice podrazumeva da je introgresiran tamo nakon izolacije gornje Mrtvice kada se transverzija na novom polimorfnom nukleotidnom mestu 256 unutar haplotipa ADcs11 već dogodila i izvela AD-M1 haplotip.

Nalaz *Salmo trutta* alohtone AT haplogrupe u Mrtvici bio je neočekivan, posebno haplotipa A17. Njihova pojava u visokim tokovima Jadranskog basena u Crnoj Gori je najverovatnije posledica poribljavanja. Veliki broj autohtonih *Salmo* taksona opisano je unutar jadranskog i mediteranskog područja, za koja su karakterističan visok stepen endemizma salmonidnih vrsta (Behnke, 1973), kao i velika fenotipska raznovrsnost populacija pastrmki (Bernatchez, 2001). Apostolidis i sar. (2011) zaključili su da nije jasno da li su ovi taksoni fenotipske varijante ili različite vrste. Pored *Salmo marmoratus* Cuvier, 1829, i *Salmo zetensis* (Hadzisce, 1960), koji se jasno razlikuju, za Moraču su prijavljene još tri vrste Salmonida – za rečni sistem: jadranska pastrmka *Salmo farioides*, *Salmo montenigrinus* Karaman, 1933, i "strun" *Salmo dentex* (Heckel, 1851.) (Drecun, 1962; Ivanović, 1973; Šorić, 1990; Marić, 1995). Na osnovu CRmtDNK i analize egzona 13 gena za transferin, kao i informacija dobijenih terenskim istraživanjima i zapažanjima, Mrdak i sar. (2006) i Snoj i sar. (2010) zaključili su da je u Crnoj Gori, *Salmo cf. dentex* ekomorf jadranske pastrmke *S. farioides* sa Skadarskog jezera, koje migriraju uzvodno do mesta za mreščenje u gornjem delu reke Morače. Prema Marić i Milošević (2011), samo jadranska pastrmka (*S. farioides*), javlja se u sistemu reke Morače. Trenutno prijavljeni haplotip A17 predstavlja prvi nalaz ovog haplotipa na Balkanu i u basenu Jadranskog mora, te ukazuje na jedinstven događaj poribljavanja Mrtvice sa *Salmo trutta*. Nedavno prijavljena pojava haplotipa At1 kod potočne pastrmke u mnogim potocima atraktivnim za ribolov širom zapadnog Balkana (Snoj, 2004, Marić i sar., 2006, 2012; Jadan i sar., 2007; Simonović i sar., 2015; Mrdak, neobjavljena publikacija), kao i poreklo potočne pastrmke (Marić i sar., 2010), nameće pitanje o periodu domestifikacije i poribljavanja *S. trutta* pomenutog, neuobičajenog haplotipa A17, daleko od svog prirodnog areala (Kohout et al., 2012). Rezultati ovog istraživanja nameću pitanje zašto pastrmka haplotipa A17 ne bi mogla migrirati nizvodno s obzirom da nisu detektovane u donjem delu Mrtvice, kao ni u rečnom sistemu Morače (Sušnik i sar., 2007). Postoji nekoliko pretpostavki koje bi mogle poslužiti kao potencijalni odgovori – da postoji jači ribolovni pritisak u tom donjem, pristupačnijem delu reke pa se jedinke love ili da pastrmke sa A17 haplotipom nestaju usled jačeg selekcionog pritiska tokom mresta jer mrestilišta dele sa *Salmo farioides* pa ne uspevaju da prežive i da se reprodukuju, ili da je broj jedinki koje su nosioci haplotipa A17 u gornjem delu Mrtvice isuviše mali kako bi se ostvario uspešan protok gena u genski pul *Salmo farioides* u donjem delu Mrtvice. Introgresija *Salmo trutta* u genski fond *Salmo farioides* je otkrivena samo u gornjem delu Mrtvice, gde one žive u simpatriji.

Nedostatak introgresije, tj. uspešnog nastanjivanja *Salmo trutta* AT haplogrupe u donjoj Mrtvici, uprkos njihovoj introgresiji u genski fond autohtone *Salmo farioides* u gornjem toku Mrtvice, moglo bi biti posledica razlike u strukturi populacija, tj. postojanja dva oblika životne istorije jedinki. Dodatno, pored rezidentnih predstavnika, postoje i *S. farioides* u donjem delu Mrtvice koje se slobodno kreću do Morače i koje bi se mogle sresti sa mnogim srodnim vrstama na uobičajenim mrestilištima, pri čemu taj deo reke posećuje i *S. cf. dentex*, jezerska forma *S. farioides*, koji migriraju tokom sezone mresta daleko uzvodno Moračom od Skadarskog jezera. Mrdak (2011) je uzorkovao u Morači 11 jedinki *Salmo cf. dentex*, koje su imale sličnu alelsku strukturu kao jedinke rezidentne *S. farioides*, što ukazuje na visok stepen ukrštanja između rečnih i jezerskih formi. Ova konstatacija podržana je činjenicom da postoji Hardy-Wainberg-ova ravnoteža na šest od sedam mikrosatelitskih lokusa kod *S. farioides* iz donjeg dela Mrtvice, što ukazuje na panmiksiju. Međutim, za sada postoji dobar ishod za status originalnog diverziteta *S. farioides* u

donjem delu Mrtvice i u Morači, s obzirom da opstaje uprkos introdukciji alohtone *Salmo trutta* (Škraba i sar., 2018).

Analiza jedarnog genoma (gen *LDH-C** i mikrosatelitski lokusi), za razliku od analize mitondrijalnog genoma, govori i o paternalnom poreklu jedinki. Kada se uzme u obzir Đerdap i Timočka krajina, gde jedino u Vratni postoji mešavina atlanskih i dunavskih potočnih pastrmki, analiza jedarnog gena *LDH-C** obuhvatila je samo jedinke iz ove reke (Tošić, 2016). Iako je analiza mtDNK otkrila tri jedinke od sedam sa atlanskim haplotipom, analizom gena *LDH-C** otkrivena je samo jedna heterozigotna jedinka. Jedan od alela koji je posedovala karakterističan je za populacije atlanskog regiona (*LDH-C*90*). Jedinke koje su nosile mtDNK atlanskog haplotipa vode poreklo po maternalnoj liniji od atlanske potočne pastrmke. Postojanje dve jedinke koje nose mitohondrijski atlanski haplotip, a na jedarnoj DNK LDH alele isključivo vezane za dunavsku liniju, ukazuje na dunavsko paternalno poreklo ovih jedinki. To nesumnjivo ukazuje da je dolazilo do ukrštanja između ove dve linije u Vratni, kao i da su se introdukovane atlanske jedinke već introgresirale u populaciju autohtone, crnorečke pastrmke.

U okviru NP Una, u subpopulacijama iz reka Svetinje i Krušnice, genetička diferencijacija kod jedinki potočne pastrmke bila je niža što se vidi iz indeksa fiksacije $F_{is} = 0.1250$ ($p < 0.02$) i $F_{is} = 0.1926$ ($p < 0.001$), respektivno, u poređenju sa F_{is} vrednostima od -0.01695 i 0.04296 ($p > 0.1$) kod jedinki subpopulacija iz gornjeg toka Une (Krka, Una Martin Brod i Una Loskun) gde alohtone jedinke nisu prisutne. Nekoliko privatnih alela pronađeno je kod jedinki koje pripadaju AT haplogrupi. Kod uzoraka iz reke Svetinje uočeni privatni aleli pretežno su bili u heterozigotnom stanju (Sv2, Sv3, Sv4, Sv7 i Sv10) za lokuse Ssa410UoS i OMM1064, dok su kod jednog uzorka (Sv2) bili u homozigotnom stanju za lokus Ssa85. Kod jedinki iz reke Krušnice (Kš5, Kš6 i Kš11) svi privatni aleli bili su u heterozigotnom stanju.

Introdukcija potočne pastrmke alohtonih haplogrupa i haplotipova u areal potočne pastrmke DA haplogrupe na zapadnom Balkanu traje poprilično dugo, tj. od sredine 19. veka, od vremena kada su Slovenija, Hrvatska i Bosna i Hercegovina bile pod vladavinom Austro-ugarskog carstva (Razpet i sar., 2007; Simonović i sar., 2017a), te su krajem 19. veka potočne pastrmke At1 i Da2 haplotipa prenošene u reke Hrvatske, Slovenije i Bosne i Hercegovine, dok su reke Crne Gore bile poribljene sredinom 20. veka, a reke Srbije krajem 20. i početkom 21. veka (Simonović i sar., 2017a). Svako introdukovanje predstavlja rizik po gubitak originalne genetičke strukture u lokalnoj recipijentnoj populaciji potočne pastrmke (Templeton, 1986; Laikre i Ryman, 1996; Laikre i sar., 1999; Hansen, 2002; Ferguson, 2006a). Međutim, teško je detektovati posledice efekata introdukcije jedinki gajenih u ribnjacima sa haplotipovima DA haplogrupe koristeći isključivo haploidne genetičke markere, što je naročito problematično uzimajući u obzir da je u malom broju ribnjaka u oblasti zapadnog Balkana izvršena genotipizacija jedinki potočne pastrmke. Efekte introdukcije jedinki AT haplogrupe u areale potočne pastrmke DA ili AD haplogrupe pouzdanije je ustanoviti uz pomoć analize dela jedarnog gena, tj. njegovog alela *LDH-C*90*, koje one prenose na svoje potomke ukrštajući se sa jedinkama AD ili DA linije, gde se nakon analize i mikrosatelitskih alela i detekcije privatnih alela specifičnih za jedinke introdukovane linije, dobija uvid u novonastale promene u genetičkoj strukturi potočne pastrmke recipijentne populacije.

Nakon uvida u rezultate nedavnih istraživanja o prirodnom arealu potočne pastrmke zapadnog Balkana (Marić i sar., 2006; Simonović i sar., 2017a), kao i nakon uvida u posledice koje introdukcija alohtonih linija potočne pastrmke i srodnih vrsta može ostaviti po njih (Simonović i sar., 2013, 2015), može se doći do zaključka da trenutno stanje pastrmskih populacija ovog regiona pokazuje prisustvo dugotrajne i stalne introdukcije. Poribljavanje je najčešći vid aktivnosti kod upravljanja ribolovnim resursima, što je rezultiralo pojavom novih, stranih haplotipova pogotovo u rekama koje su ribolovno atraktivne, kao što Krušnica u Bosni i Hercegovini (Škraba Jurlina i sar., 2018) ili reka Gradac u Srbiji (Simonović i sar., 2014). Međutim, poribljavanje je prisutno isto tako

i u ribolovno neatraktivnim rekama koje se odlikuju prisustvom potočne pastrmke drevnog-predačkog karaktera, kao što su na primer Svetinja u Bosni i Hercegovini (Škraba i sar., 2017), Džepska u jugoistočnoj Srbiji (Kohout i sar., 2013) ili Vratna u istočnoj Srbiji (Tošić i sar., 2016).

Kada je u pitanju poribljavanje Mrtvice, teško je poverovati da je tom prilikom poribljen samo gornji tok reke pastrmkom AT haplogrupe, dok u donjem toku jedinke ove haplogrupe nisu pronađene. Ukoliko se pođe od pretpostavke da je bilo poribljavanja, onda se introdukovane jedinke nisu razmnožavale, te su stoga nestale iz donjeg toka reke koja je dostupna migratornoj, jezerskoj formi jadranske pastrmke ("strun"), bez obzira na to što su ostale i mrestile se u gornjem toku reke, gde su samo alohtone potočne rezidentne jadranske pastrmke bile te koje su se ukrštale dajući hibride, ali sa redukovanom heterozigotnošću. Takođe, niska vrednost protoka gena između ove dve populacije ukazuje na nemogućnost jedinki iz gornjeg toka Mrtvice da migriraju nizvodno i ukrštaju se sa autohtonim jadranskim pastrmkama (Škraba Jurlina i sar., 2018), iako ne postoje fizičke ili reproduktivne barijere za nizvodne migracije. Kod potočne pastrmke dva haplotipa DA haplogrupe, Da22 u pritokama srednjeg toka reke Une u Bosni i Hercegovini i Da23c u Vratni u istočnoj Srbiji, svi diploidni genetički markeri pokazali su da postoji ukrštanje sa poribljenim potočnim pastrmkama AT haplogrupe, kao i njihov opstanak poput onih jedinki iz gornjeg toka Mrtvice. Štaviše, čini se da je potočna pastrmka usko rasprostranjenog haplotipa Da23c u nekoliko đerdapskih reka, ugrožena pojavom jezerske forme potočne pastrmke AT haplogrupe (Marić i sar., 2012), koja je detektovana u najnižem delu toka tih reka u kasno leto i ranu jesen (Tošić i sar., 2016). Srebrna boja tela i brojne tačkice na leđima i perajima ukazuju na to da su podlegle procesu smoltifikacije prilikom spuštanja nizvodno u akumulaciju. Ukoliko bi nakon sticanja polne zrelosti već počele da se vraćaju u najbliža prirodna plodišta, postojao bi veliki rizik od ukrštanja sa autohtonom pastrmkom DA haplogrupe i introgresije u genofondove njihovih populacija u rekama gde ne postoji fizička prepreka za uzvodne migracije, pa bi na taj način vremenom mogle dati hibridne potomke koji bi počeli da menjaju svoju životnu istoriju i daju i jezerske forme, kao i jedinke koje obitavaju u rezervoarima, što bi imalo jak uticaj na originalni fond potočne pastrmke autohtone DA haplogrupe. Kao dodatak merama zaštite navedenim u Simonović i sar. (2015) koje su primenljive kod već ugroženih autohtonih populacija, razmatranje konstrukcije fizičkih barijera poput nepremostivih kaskada, deluje kao opravdana preventivna opcija za očuvanje dragocenih pastrmskih fondova u konzervacionom smislu, od migratornih jedinki AT haplogrupe koje se kreću uzvodno, bilo iz jezera ili akumulacija. Ta osobina podržava procenu potočne pastrmke AT haplogrupe kao visoko rizične u FISK evaluaciji koju su Simonović i sar. (2015) sprovedli za alohtone pastrmske vrste i linije u rekama Srbije kao recipijentnim staništima. Sa druge strane, kod autohtonih linija instinkt za migracije i plastičnost životne istorije pomažu im da prevaziđu manjak resursa na prirodnim mrestilištima njihovog staništa (Gross i sar., 1988) i da održe originalnu genetičku strukturu lokalno adaptiranih populacija. Sadašnje saznanje o populacijama potočne pastrmke zapadnog Balkana ukazuje na to da te osobine, delujući kao opšti stabilizujući populacioni mehanizam, takođe mogu da pomognu u borbi sa jedinkama drugih populacija koje mogu doći prirodnim putem, ili usled antropogenog delovanja u njihova prirodna staništa.

Tokom poslednja dva veka, upravljanje fondom potočne pastrmke imalo je za cilj podršku populacijama, koje su bile ugrožene sredinskim promenama i prekomernim ribolovom. Obimno poribljavanje je prvobitno bilo inicirano kao korisna praksa. Međutim, zajedno sa degradacijom staništa i ribolovnom praksom, poribljavanje je imalo nepovoljne uticaje na divlje populacije (Laikre, 1999). Uzgajane potočne pastrmke oslobođene u divljini razlikuju se od divljih potočnih pastrmki u mnogim aspektima, uključujući genetičke, bihevioralne i druge fenotipske karakteristike (Ferguson, 2007). Genetičke promene populacija uzrokovane efektom osnivača i sledstvenom domestifikacijom vodile su do smanjenog stepena preživljavanja i sposobnosti razmnožavanja u divljini kao posledica novonastalih generacija proisteklih iz uzgoja. Uprkos navedenom, pojedine individue iz uzgoja obično prežive i uspešno se razmnožavaju u divljini. Naknadno poribljavanje ima nepredvidiv efekat na divlje populacije. Za razliku od pojedinih slučajeva kada je bio prijavljen

mali efekat ili ga uopšte nije bilo (Arias i sar., 1995; Poteaux i sar., 1998; Weiss i Schmutz, 1999), obimno ukrštanje između divljih i uzgajanih pastrmki bilo je dokumentovano u mnogim divljim populacijama (Largiader i Scholl, 1996; Weiss i sar., 2001; Cagigas i sar., 2006; Hansen i Mensberg, 2009). Takvo ukrštanje često uzrokuje umanjenje adaptivne vrednosti i gubitak lokalne adaptacije na različite sredinske uslove. Obim negativnih posledica teško je predvideti i ne može biti vidljiv dok ne dovede do izrazitog pada brojnosti populacije. Stoga, genetička varijabilnost između i u okviru populacija i trenutne stope introgresije, treba da budu ispitani u posebnim populacijama kako bi se razvile dalje strategije za uzgajanje i konzervaciju potočne pastrmke. Pastrmke AT linije rasprostranjene su prirodno u atlantskom basenu severno od severne Afrike, i pokazuju svoju najveću genetičku varijabilnost na Iberijskom poluostrvu (Cortey i sar., 2009). Većina domestifikovanih sojeva potočne pastrmke proistekla je iz ove linije. Širenje atlantske linije posredstvom čoveka dogodilo se takođe izvan njene prirodne oblasti distribucije, gde je introgresirala u mnoge lokalne populacije potočne pastrmke (Largiader i Scholl, 1996; Poteaux i sar., 1998; Weiss i sar., 2001; Sanz i sar., 2006; Meraneret i sar., 2007; Razpet i sar., 2007). Pored pripadnika DA linije koja je široko rasprostranjena u Crnomorskom, Kaspijskom i basenu Aralskog mora, gornji deo basena reke Dunav je takođe stanište pripadnika AT linije. U Austriji 44% svih individua pripada AT liniji (Weiss i sar., 2001). Međutim, AT linija je poprilično retka u dunavskom basenu u Srbiji (Marić i sar., 2006). Genetičko mešanje AT i DA grupa potočne pastrmke potvrđeno je upotrebom i analizom tri tipa genetičkih markera od strane Kohout i sar. (2012), pri čemu je ustanovljen obiman doprinos potočne pastrmke atlantskog basena genetičkoj strukturi populacija dunavskog basena. Međutim, određeni nivo diferencijacije između populacija je i dalje bio primetan. Štaviše, neke od populacija poseduju jedinstvene alele i/ili haplotipove, na taj način održavajući značajnu genetičku diverzifikaciju. Tokom poslednja dva veka, prenošenje jedinki pod uticajem antropogenih faktora rezultirali su protokom gena između znatno udaljenih populacija, čak i između različitih rečnih basena. Trenutno, uzgajane linije centralne Evrope sadrže pulove gena različitog porekla. Uzimajući u obzir da se poribljavanje uzgajanim ribama dešava u ovom regionu, veliki diverzitet haplotipova i ukrštanje AT i DA linija u mnogim populacijama nije iznenađujuće. Široka distribucija AT mtDNK linije u Dunavskom basenu je prethodno prijavljena u Austriji (Weiss i sar., 2001). Populacije u češkim i slovačkim delovima Dunavskog basena imale su veće frekvence AT linije u odnosu na austrijske. To može biti rezultat davne introgresije, ali je verovatnije posledica transfera posredovanim čovekom iz stokova koji još uvek nisu analizirani. Pleistocenski kontakt između atlantskih populacija i populacije gornjeg Dunava registrovan je kod gregeča *Perca fluviatilis* L. (Nesbo i sar., 1999) i evropskog lipljana *Thymallus thymallus* L. (Gum i sar., 2005) i takođe je predložen za potočnu pastrmku (Bernatchez, 2001; Weiss i sar., 2001). Međutim, populacije potočne pastrmke gornjeg dela Dunava su dalje bile pogođene nedavnim uplivom gena iz Atlantskog basena u Nemačkoj, gde poribljavanje ima veoma dugu tradiciju i gde su pronađene introdukovane populacije (Riffel i sar., 1995). Iako su atlantski haplotipovi dominirali u svakoj od analiziranih populacija, velika proporcija dunavske mtDNK filogenetske grupe je pronađena u basenu reke Visla. To korespondira sa hipotezom o postglacijalnom kontaktu i kolonizaciji gornjih pritoka basena reke Visla iz basena Dunava (Konopinski i sar., 2007). Poribljavanje uzgajanom potočnom pastrmkom vršeno je da bi se kompenzovao pad brojnosti populacija kao rezultat eksploatacije ili sredinskih promena. Međutim, poribljavanje ima različite efekte na divlje populacije. Ribnjačka populacija italijanskog porekla pokazala je redukovanu genetičku varijabilnost i druge pokazatelje domestifikacije, kao što je enormno brzi rast, spremnost da prihvate granulisanu hranu i nisku stopu preživljavanja mlađi u novoj sredini (Pokorný i sar., 2000). Dodatno, uzimajući u obzir njihov kasni mrest - decembar i januar (Pokorný i sar., 2000), koji može uzrokovati iskopavanje ikre rano razmnoženih riba (Ferguson, 2007), poribljavanje ovim pastrmkama bi trebalo da bude izbegnuto. Preostale ribnjačke populacije, pogotovo one iz basena Dunava, bile su veoma varijabilne, što bi moglo biti objašnjeno višestrukim poreklom ovih populacija. U svakom slučaju, mogući negativni efekti na divlje populacije, kao što su prekoračenje kapaciteta nosivosti, ukrštanje genetički udaljenih populacija koje za posledicu imaju smanjenje adaptivne vrednosti i širenje bolesti i parazita trebalo bi da budu sprečeni. S obzirom da je genetička

struktura potočne pastrmke snažno pogođena, poribljavanja bi trebalo da budu kao mera ribarstvenog upravljanja ponovo preispitana. Podržano uzgajanje čini se odgovarajućom strategijom za upravljanje fondom potočne pastrmke jer bi pomoglo povećanju gustine populacije pastrmki bez rizika od ukrštanja sa alohtonim jedinkama (Ryman i Laikre, 1991; Ferguson, 2007). Sa druge strane, potencijalni rizik ukrštanja i gubitka genetičke varijabilnosti ne sme biti potcenjen (Ryman i Laikre, 1991; Hansen i sar., 2000). Uzroci pada brojnosti populacije trebalo bi da budu ispitani u pojedinačnim slučajevima. Ono što je važno jeste da dugoročna stabilizacija gustine populacija pastrmki često nije moguća bez strategija unapređenja životne sredine (npr. restauracijom staništa, uklanjanjem migracionih barijera, unapređenjem hidrološkog režima), koje su generalno efikasnije od poribljavanja (Cowx, 1994; Fjellheim i sar., 2003; Oosterhout i sar., 2005; Ferguson, 2007). Prestanak uvođenja alohtonih vrsta riba i poribljavanje domestifikovanom potočnom pastrmkom je esencijalno za efikasno upravljanje ribolovom i zaštitu u otvorenim vodama.

6. ZAKLJUČAK

Diverzitet autohtonih potočnih pastrmki *Salmo spp.* obuhvata veliku varijabilnost nominalnih taksona na teritoriji zapadnog Balkana. Međutim, on podrazumeva i prisustvo sve većeg broja invazivnih, alohtonih populacija potočne pastrmke.

Analiza bogatog originalnog diverziteta u okviru svih linija (haplogrupa) ukazuje na dinamičnu evolucionu istoriju potočne pastrmke *Salmo cf. trutta* na teritoriji zapadnog Balkana, sa višestrukim kolonizacijama i redukcijama prvobitnih areala rasprostranjenosti pojedinih haplotipova koji korespondiraju sa orogenim događajima neogensko-pleistocenskog razdoblja geološke istorije ovog područja. Podrška ovom zaključku su postojanje potočnih pastrmki dunavske haplogrupe u izolovanim visinskim vodotocima Jadranskog sliva iznad ponora, kao i pojedinih haplotipova dunavske haplogrupe u izolovanim vodotocima iznad i izvan kontinuiranog areala rasprostranjenja. Korelacija ovih svojstava distribucije sa geološkim događajima i konkordancija sa filogenetskim odnosima ustanovljenim za te haplotipove je veoma dobra.

Distribucija pojedinih haplotipova čiji je status određen alohtonim u različitim delovima zapadnog Balkana i isključenost podudaranja sa događajima geološke istorije i distribucijom haplotipova koji se smatraju autohtonim govore o velikoj verovatnoći njihove introdukcije iz područja razvijene akvakulture u skorijoj ili davnijoj istorijskoj prošlosti i okolnostima kroz koje je zapadni Balkan prolazio.

Alohtone vrste riba mogu promeniti strukturu zajednice kroz interspecijsku kompeticiju i hibridizaciju sa autohtonom faunom riba. Štaviše, alohtone vrste riba mogu imati značajne negativne efekte na niže trofičke zajednice (fauna bentosa, fitoplankton i zooplankton). Namerno otpuštanje alohtonih riba za komercijalne ili rekreativne svrhe uobičajen je slučaj, a procedure upravljanja su u mnogim zemljama manje stroge za riblje vrste u odnosu na druge.

Hibridizacija kao proces ukrštanja individua iz različitih populacija može dovesti do introgresije kada hibridi F1 generacije postanu plodni i ukrste se sa jednom ili obe roditeljske populacije. Obimna hibridizacija i introgresija među populacijama riba koje se dešavaju kao rezultat antropogenih introdukcija često su beležene, kao na primer kod salmonidnih vrsta *Salmo trutta* i *Salmo marmoratus* gde je introgresija prisutna u oba smera. Introgresija ne mora nužno voditi do mešanja genoma velikih razmera ukoliko je ukrštanje sa roditeljskim taksonima retko i ukoliko prve generacije hibrida imaju nizak fitnes. Pojedinačni aleli, međutim, koji predstavljaju prednost u novoj sredini i genetička pozadina će se introdukovati lako pod takvim uslovima.

Istraživanja genetičke strukture autohtonih i alohtonih populacija obezbeđuju bazu za razumevanje evolucije tokom procesa ustanovljavanja. Doprinosi istraživanja uz upotrebu neutralnih genetičkih markera raznovrsni su i mnogobrojni i uključuju identifikaciju izvornih populacija i kriptičnih invazija, testiranje modela opadanja brojnosti populacija i genetičkih uskih grla, razlikovanje pojedinačnih i višestrukih invazija, procenjivanje protoka gena i rasprostiranja među invazivnim populacijama, određivanje nivoa ploidije i reproduktivne strategije i identifikovanje hibridizacije i introgresije između autohtone i alohtonih populacija. Populaciono-genetička istraživanja procesa invazija su posebno izazovna usled njihove kompleksnosti i relativno male starosti mnogih invazivnih populacija.

Invazivni efekti nekoliko stranih linija potočne pastrmke (At1, A17, Da2) u pastrmske reke Srbije, Bosne i Hercegovine i Crne Gore otkriveni su u proceni rizika od strane autora navedenih u ovoj disertaciji. Stoga je neophodno pratiti genetičko stanje populacija, formirati matična jata radi poribljavanja odgovarajućim genetičkim materijalom i održavanja genofonda, kao i uvesti genetičke analize za potočne pastrmke koje se koriste za poribljavanje.

S obzirom da ne postoje pravne prepreke ribnjačkom poribljavanju potočnom pastrmkom, rastući uticaj rekreativnog ribolova na divlje potočne pastrmke neadekvatno kontrolisanim poribljavanjem povećava rizik introdukcije alohtonih linija potočne pastrmke koje će ugroziti originalni diverzitet. Stoga, postoji velika potreba da se ustanovi politika upravljanja pastrmskim ribolovom kako bi se redukovao mogući rizik koji poribljavanje može predstavljati (Simonović i sar., 2015). Implementacija uslovnog ili totalnog režima „uhvati-i-pusti“ (eng. *catch-and-release*, C&R) ribolova, podržala bi samoodrživost potočne pastrmke i isključila potrebu za poribljavanjem. Dodatno, podrška samoodrživosti pastrmskog fonda bi održavala troškove upravljača na razumnom nivou, pogotovo kada prihodi od ribolova ne mogu pokriti troškove poribljavanja. Regulacioni (beuslovni ili uslovni, parcijalni ili totalni) C&R režim ribolova je korišćen kao obavezna pravna zaštitna mera koja bi trebalo da očuva održivost ribolova, i najčešće je korišćena da umanjí ribolovni pritisak na osetljive ribolovne resurse.

7. LITERATURA

- Aganović, M. (1967). Uzrasna struktura populacija riba Velikog i Malog Plivskog jezera. *Ribarstvo*, **22**, (1), 1-6.
- Allendorf F. W., Thorgaard, G. H. (1984). Tetraploidy and the evolution of salmonid fishes. *Evolutionary genetics of fishes* (ed. Turner BJ), pp. 1–53. New York, NY: Plenum Press.
- Allendorf F.W., Ryman N., Utter F. (1987). Genetic and fishery management: past, present, and future. In: Ryman, N., Utter, F. (eds) *Population Genetics and Fishery Management*, 144-160. University of Washington Press, Seattle.
- Allendorf, F. W., Leary R. F., Spruell P. & J. K. Wenburg (2001). The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 613–622.
- Allio, R., Donega, S., Galtier, N., Nabholz, B. (2017). Large variation in the ratio of mitochondrial to nuclear mutation rate across animals: implications for genetic diversity and the use of mitochondrial DNA as a molecular marker. *Molecular Biology and Evolution*, **34**, 2762-2772.
- Almaca, C. (1990). Neogene circum-Mediterranean paleogeography and Euro-Mediterranean *Barbus* biogeography. *Arquivos do Museu Bocage*, Nov. Série, **1**, 585–611.
- Almodovar, A., Nicola, G. G., Elvira B., Garcia-Marin, J. L. (2006). Introgression variability among Iberian brown trout evolutionary significant units: the influence of local management and environmental features. *Freshwater Biology*, **51**, 1175–1187.
- Amos, W., Twiss, S. D., Pomeroy, P. P., Anderson, S. S. (1993). Male mating success and paternity in the grey seal, *Halichoerus grypus*, a study using DNA fingerprinting. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, **252**, 199–207.
- Anđelković, S. J. (1970). Tertiary fishes of Serbia. *Geološki Anali Balkanskog Poluostrva*, **35**, 281–366.
- Anđelković, S. J. (1989). Tertiary fish of Yugoslavia-stratigraphic-paleontological-paleoecological study, *Paleontologia Jugoslavica*, **38**, 1–121.
- Anonymous (2006). Digging Up Ancient Treasures in Clarkia. New West, August Publications.
- Antunes, A., Faria, R., Weiss, S. & Alexandrino, P. (2001). Complex evolutionary history in the brown trout: insights on the recognition of conservation units. *Conservation Genetics*, **2**, 337-347.
- Antunes, A., Templeton, A. R., Guyomard, R., Alexandrino, P. (2002). The role of nuclear genes in intraspecific evolutionary inference: genealogy of the transferrin gene in the brown trout. *Molecular Biology and Evolution*, **19**, 1272–1287.
- Aparicio, E., Garcia-Berthou, E., Araguas, R. M., Martinez, P., Garcia-Marin, J. L. (2005). Body pigmentation pattern to assess introgression by hatchery stocks in native *Salmo trutta* from Mediterranean streams. *Journal of Fish Biology*, **67**, 931–949.
- Apostolidis, A., Karakousis, Y., Triantaphyllidis, C. (1996a). Genetic differentiation and phylogenetic relationships among Greek *Salmo trutta* L. (brown trout) populations as revealed by RFLP analysis of PCR amplified mitochondrial DNA segments. *Heredity*, **77**, 608–618.
- Apostolidis, A., Karakousis, Y., Triantaphyllidis, C. (1996b). Genetic divergence and phylogenetic relationships among *Salmo trutta* L. (brown trout) populations from Greece and other European countries. *Heredity*, **76**, 551–560.
- Apostolidis, A. P., Triantaphyllidis, C., Kouvatsi, A. & Economidis, P. S. (1997). Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeography among *Salmo trutta* L. (Greek brown trout) populations. *Molecular Ecology*, **6**, 531–542.

- Apostolidis, A. P., Loukovitis, D., Tsigenopoulos, C. S. (2008). Genetic characterization of brown trout (*Salmo trutta*) populations from the Southern Balkans using mtDNA sequencing and RFLP analysis. *Hydrobiologia*, **600**, 169–176.
- Apostolidis, A. P., Stoumboudi, M. Th., Kalogianni E., Cote G., Bernatchez L. (2011). Genetic divergence among native trout *Salmo trutta* populations from southern Balkans based on mitochondrial DNA and microsatellite variation. *Journal of Fish Biology*, **79**, 1950-1960. DOI:10.1111/j.1095-8649.2011.03136.x
- Araguas, R. M., Sanz, N., Fernandez, R., Utter, F. M., Pla, C., Garcia-Marin, J. L. (2009). Role of genetic refuges in the restoration of native gene pools of brown trout. *Conservation Biology*, **23**, 871–878.
- Arias, J., Sánchez, L., Martínez, P. (1995). Low stocking incidence in brown trout populations from northwestern Spain monitored by LDH-5* diagnostic marker. *Journal of Fish Biology*, **47**, 170–176.
- Artedi, P. (1738). *Ichthyologia, Sive Opera Omnia de Piscibus. 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* (Pars I–V, Complete), Leiden: Conradum Wishoff.
- Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Reeb, C. A., Saunders, N. C. (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 489-522.
- Avise, J. C., Wollenberg, K. (1997). Phylogenetics and the origin of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **94**, 7748–7755.
- Avise, J. C. (1998). The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology*, **7**, 371–379.
- Avise, J. C. (2004). *Molecular markers, natural history, and evolution*. 2nd edition. Sunderland, Massachusetts Sinauer Associates.
- Balon, E. (1968). Notes on the origin and evolution of trouts and salmon with special reference to the Danubian trouts, *Vestn. Českosl. Zemedskogo Muz.*, **32**, pp. 1–21.
- Bănărescu, P. (1964). Fauna Republici Populare Romine. Pisces. Osteichthyes. *Academia Republicii Populare Romine, Bucuresti*. p. 959.
- Bănărescu, P. (1964). *Pisces - Osteichthyes (Pesti Ganoizi si Osis)*, Bucuresti: *Academia Republicii Populare Romine*.
- Bănărescu, P. (1973). Origin and affinities of freshwater fish fauna of Europe. *Ichthyologia*, **5**, (1), 1-8.
- Bănărescu, P. (2004). Distribution Pattern of the Aquatic Fauna of the Balkan Peninsula. In: Griffiths, H.I., Kryštufek, B. (Eds.) *Balkan Biodiversity, Pattern and Process in the European Hotspot*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Boston-London, 203–217.
- Bardakci, F., Degerli, N., Ozdemir, O., Basibuyuk, H.H. (2006). Phylogeography of the Turkish brown trout *Salmo trutta* L.: mitochondrial DNA PCR RFLP variation. *Journal of Fish Biology*, **68**, 36–55.
- Baric, S., Riedl, A., Meraner, A., Medgyesy, N., Lackner, R., Pelster, B., Dalla Via, J. (2010). Alpine headwater streams as reservoirs of remnant populations of the Danubian clade brown trout, *Freshwater Biology*, **55**, no. 4, 866–880. doi 10.1111/j.1365-2427.2009.02318.x
- Basioli, J. (1958). Ribarstvo rijeke Krke. *Ribarstvo*, **13**, (5), 105-107.
- Behnke, R. J. (1968). A new subgenus and species of trout, *Salmo (Platysalmo) platycephalus* from south central Turkey, with comments on the classification of the subfamily Salmonidae. *Mitteilungen Hamburgisches Zoologisches Museum und Institut*, **66**, 1-15.
- Behnke, R. J. (1972). The systematics of salmonid fishes of recently glaciated lakes. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, **29**, 639-671.
- Behnke, R. J. (1973). Systematic problems of the Salmonidae fishes endemic to the Adriatic-Mediterranean province and the potential for developing new information from new techniques. *European Congress of Ichthyology*. Paper Abstract, Sarajevo, 19-21.

- Behnke, R. J. (1986). Brown trout. *Trout*, **27**, 42-47.
- Belkhir, L.C., Raufaste, N. and Bonhomme, F. (1996-2004) GENETIX 4.05 Logiciel Sous Windows TM Pour la Génétique des Populations. In: Laboratoire Génome P, Interactions, CNRS UMR 5171, editor, Université de Montpellier II, Montpellier.
- Bell, G. I., Jurka, J. (1997). The length distribution of perfect dimer repetitive DNA is consistent with its evolution by an unbiased single-step mutation process. *Journal of molecular evolution*, **44** (4), 414-421.
- Benson, D.A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J. & Sayers E.W. (2009). GenBank. *Nucleic Acids Resources*, **37** (Database issue), D26-31.
- Berg, L. S. (1910). Ibidem **15**, 2–3 (citat nach Berg 1932: Übersicht der Verbreitung der Süßwasserfische Europas). *Zoogeographica*, **1**, 107–208.
- Berg, L. S. (1948). Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries. Zoological Institute Academy Nauk Moscow USSR 1(27), volume 1. In Russian, English translation, 1962: Office of Technical Services, Department of Commerce, Washington, DC.
- Berg, L. S. (1962). Freshwater Fishes of the U.S.S.R. and Adjacent Countries, Jerusalem: Israel. *Program for Scientific Translations*, **1**, 4th ed.
- Berg, W. J., Ferris, S. D. (1984). Restriction endonuclease analysis of salmonid mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **41** (7), 1041-1047.
- Bernatchez, L., Guyomard, R., Bonhomme, F. (1992). DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. *Molecular Ecology*, **1**, 161–173.
- Bernatchez, L., Danzmann, R. G. (1993). Congruence in control - region sequence and restriction – site variation in mitochondrial DNA of brook charr (*Salvelinus fontinalis* Mitchell). *Molecular Biology and Evolution*, **10**, 1002-1014.
- Bernatchez, L., Osinov, A. G. (1995). Genetic diversity of trout (genus *Salmo*) from its most eastern native range based on mitochondrial DNA and nuclear gene variation. *Molecular Ecology*, **4**, 285–297. DOI: 10.1111/j.1365-294X.1995.tb00222.x
- Bernatchez, L. (2001). The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogenetic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution*, **55** (2): 351-379.
- Berra, T. (2001). Freshwater Fish Distribution, 1st Edition. Academic Press. pp. 602.
- Berrebi, P., Povž, M., Jesenšek, D., Cattaneo-Berrebi, G., Crivelli, A. J. (2000). The genetic diversity of native, stocked and hybrid populations of marble trout in the Soca river, Slovenia. *Heredity*, **85**, 277-287.
- Berrebi, P., Poteaux, C., Fissier, M., Cattaneo-Berrebi, G. (2000). Stocking impact and allozyme diversity in brown trout from Mediterranean southern France. *Journal of Fish Biology*, **56**, 949–960.
- Berrebi, P., Tougard, C., Dubois, S., Shao, Z., Koutseri, I., Petkovski, S., Crivelli, A. J. (2013). Genetic diversity and conservation of the Prespa trout in the Balkans. *International Journal of Molecular Sciences*, **14**, 23454-23470.
- Berthelot, C., Brunet, F. et al. (2014). The rainbow trout genome provides novel insights into evolution after whole-genome duplication in vertebrates. *Nature Communications*, **5** (3657), 1-10.
- Bianco, P. G. (1990). Potential role of the paleohistory of the Mediterranean and Paratethys basins on the early dispersal of Euro-Mediterranean freshwater fishes. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **1**, 167-184.
- Billington, N., Hebert, P. D. N. (1991). Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **48**, 80-94.
- Blanc J. M., Benarescu P., Gaudet J. L., Hureau J. C. (1971). European Inland Water Fish, Multilingual Catalogue. Fish News Books, London.
- Blanc, J. M., Poisson, H., Vibert, R. (1983). Variabilité génétique de la ponctuation noire sur la truitelle fario (*Salmo trutta* L.). *Annales de Génétique et Sélection Animale*, **14**, 225-236.

- Bogdanović, I. (1961). Prvi ozbiljni koraci u poribljavanju Plitvičkih Jezera. *Ribarstvo*, **16**, (2), 44-48.
- Bouza, C., Castro, J., Sanchez L., Martinez, P. (2001). Allozymic evidence of parapatric differentiation of brown trout (*Salmo trutta* L.) within an Atlantic river basin of the Iberian Peninsula. *Molecular Ecology*, **10**, 1455–1469.
- Brito, P., Edwards, S. V. (2009). Multilocus phylogeography and phylogenetics using sequence-based markers. *Genetica*, **135**, 439–455.
- Britten, R. J., Khone, D. (1968). Repeated sequences in DNA. *Science*, **161**, 529-540.
- Brown, J. R., Beckenbach, A. T., Smith, M. J. (1992). Mitochondrial DNA Length Variation and Heteroplasmy in Populations of White Sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Genetics*, **132**, 221-225.
- Brown, W. M., George, M. Jr., Wilson, A. C. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **76**, 1967-1971.
- Bruford, M. W., Wayne, R. K. (1993). Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Opinion in Genetics & Development*, **3** (6), 939-43.
- Brunner, P. C., Douglas, M. R., Osinov A., Wilson, C. C., Bernatchez, L. (2001). Holarctic phylogeography of Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Evolution*, **55**, 573-586.
- Cagigas, M. E., Vázquez, E., Blanco, G. & Sánchez J. A. (2006). Genetic effects of introduced hatchery stocks on indigenous brown trout (*Salmo trutta* L.) populations in Spain. *Ecology of Freshwater Fish*, **8**, 141–150.
- Cairney, M., Taggart, J. B., Hoyheim, B. (2000). Characterization of microsatellite and minisatellite loci in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and cross-species amplification in other salmonids. *Molecular Ecology*, **9**, 2155–2234.
- Carr, S. M., Marshall, H. D. (1991). Detection of intraspecific DNA sequence variation in the mitochondrial cytochrome b gene of Atlantic cod (*Gadus morhua*) by the polymerase chain reaction. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **48**, 48-52.
- Carstens, B. C., Knowles, L. L. (2007). Estimating species phylogeny from gene-tree probabilities despite incomplete lineage sorting: an example from *Melanoplus grasshoppers*. *Systematic Biology*, **56**, 400–411.
- Charles, K., Guyomard, R., Hoyheim, B., Ombredane, D., Baglinière, J. L. (2005). Lack of genetic differentiation between anadromous and resident sympatric brown trout (*Salmo trutta*) in a Normandy population. *Aquatic Living Resources*, **18**, 65–69.
- Chevassus, B., Blanc, J. M., Bergot, P. (1979). Détenninisme génétique du nombre de caeca pyloriques chez la truite fario (*Salmo trutta* L.). *Annales de génétique et de sélection animal*, **11**, 79-92.
- Clavero, M., Calzada, J., Esquivias, J., Veríssimo, A., Hermoso, V., Qninba, A. & Delibes, M. (2017). Nowhere to swim to: climate change and conservation of the relict Dades trout *Salmo multipunctata* in the high Atlas Mountains, Morocco. *Oryx*. DOI:10.1017/S0030605316001551.
- Crête-Lafrenière, A., Weir, L. K. & Bernatchez, L. (2012). Framing the Salmonidae family phylogenetic portrait: a more complete picture from increased taxon sampling. *PLoS ONE*, **7**, e46662.
- Cornuet, J. M., Luikart, G. (1996). Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, **144** (4), 2001-2014.
- Cortey, M., Garcia-Marin, J. L. (2002). Evidence for phylogeographically informative sequence variation in the mitochondrial control region of Atlantic brown trout. *Journal of Fish Biology*, **60**, 1058–1063.
- Cortey, M., Pla, C., García-Marín, J. L. (2004). Historical biogeography of Mediterranean trout. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **33**, 831-844.
- Cortey, M., Vera, M., Pla, C., Garcia-Marin, J. L. (2009). Northern and southern expansions of Atlantic brown trout (*Salmo trutta*) populations during the Pleistocene. *Biological Journal of the Linnean Society*, **97**, 904–917.

- Cowx, I. G. (1994). Stocking strategies. *Fisheries Management and Ecology*, **1**, 15–30.
- Crisp, D. T., (2000). Trout and Salmon: Ecology, Conservation and Rehabilitation, Blackwell Science. Oxford. Pp. 212.
- Cross, T. F. (1989). Genetics and the management of the Atlantic salmon. Atlantic Salmon Trust, Pitlochry.
- Crozier, W. W., Ferguson, A. (1986). Electrophoretic examination of the population structure of brown trout, *Salmo trutta* L., from the Lough Neagh catchment, Northern Ireland. *Journal of Fish Biology*, **28** (4), 459-477.
- Ćurčić, V. (1938). Neretva i njene pastrve (Salmonidae). *Sep. Pres., Sarajevo*. Pp. 89.
- Cvijić, J. (1989). Morfološki tipovi karstnih terena. in: Geografija karsta. Collect. Works. SANU, Beograd, **7**, 225-270. (Serbian).
- Cvijić, J. (1994). Glacijacija na balkanskim planinama. Sabrana dela. Prvo izdanje, 1994.
- DeFaveri, J., Zanella, L. N., Zanella, D., Mrakovčić, M., Merila, J. (2012). Phylogeography of isolated freshwater three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* populations in the Adriatic Sea basin. *Journal of Fish Biology*, **80**, 61–85.
- Delling, B. (2002). Morphological distinction of the marble trout, *Salmo marmoratus*, in comparison to marbled *Salmo trutta* from River Otra, Norway. *Cybium*, **26**, 283–300.
- Delling, B. & Doadrio, I. (2005). Systematics of the trouts endemic to Moroccan lakes, with description of a new species (Teleostei: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **16**, 49-64.
- Delling, B. (2010). Diversity of western and southern Balkan trouts, with the description of a new species from the Louros River, Greece (Teleostei: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **21**, 331-344.
- Dieringer, D., Schlotterer, C. (2003). Two distinct modes of microsatellite mutation processes: evidence from the complete genomic sequences of nine species. *Genome Research*, **13** (10), 2242–2251.
- Dietrich, W., Katz, H., Lincoln, S. E., Shin, H. S., Friedman, J., Dracopoli, N. C., Lander, E. S. (1992). A genetic map of the mouse suitable for typing intraspecific crosses. *Genetics*, **131** (2), 423-447.
- Di Rienzo, A., Peterson, A. C., Garza, J. C., Valdes, A. M., Slatkin, M., Freimer, N. B. (1994). Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **91**(8), 3166-3170.
- Doadrio, I., Perea, S. & Yahyaoui, A. (2015). Two new species of Atlantic trout (Actinopterygii, Salmonidae) from Morocco. *Graellsia*, **71**, e031.
- Dorofeeva, E. A. (1998). Systematics and distribution history of European salmonid fishes of the genus *Salmo*. *Journal of Ichthyology*, **38**, 437–447.
- Drecun, Đ. (1956). Pastrmka »Blatnjača« iz Plavskog Jezera. *Naša Poljoprivreda*, **2** (1), 63-70.
- Drecun, Đ. (1962). Rasprostranjenje i popis slatkovodnih riba Crne Gore. [Spread and Register of Freshwater Fishes in Montenegro]. *Hydrobiologa Montenegrina*, **2** (1), 1-8.
- Drummond, A. J., Ho, S. Y. W., Phillips, M. J. and Rambaut A. (2006). "Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence". *PLoS Biology*, **4** (5), e88. DOI:10.1371/journal.pbio.0040088
- Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D., Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, **29**, 1969–1973.
- Duftner, N., Weiss, S., Medgyesy, N., Sturmbauer, C. (2003). Enhanced phylogeographic information about Austrian brown trout populations derived from complete mitochondrial control region sequences. *Journal of Fish Biology*, **62**, 427-435.
- Durand, J. D., Persat, H., Bouvert, Y. (1999). Phylogeography and postglacial dispersion of the chub (*Leuciscus cephalus*) in Europe. *Molecular Ecology*, **8**, 989–998.
- Earl, D. A., vonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, **4** (2), 359-361.

- Economidis, P. S., Banarescu, P. (1991). The distribution and origins of freshwater fishes in the Balkan Peninsula, especially in Greece. *International review of hydrobiology*, **76**, (2), 257-283.
- Ellegren, H. (1991). DNA typing of museum birds. *Nature*, **354**, 113.
- Ellegren, H. (2000). Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics*, **16** (12), 551–558.
- Elliott, J. M. (1994). *Quantitative Ecology and the Brown Trout*. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press, Oxford.
- Epplen, J. T., Ammer, I. F., Epplen, C., Kammerbauer, C., Mitreiter, R., Roewer, L., Schwaiger, W., Steimle, V., Zischler, H., Albert, E., Andreas, A., Beyermann, B., Meyer, W., Beutkamp, J., Estoup, A., Presa, P., Krieg, F., Vaiman, D., Guyomard, R. (1993). (CT)_n and (GT)_n microsatellite: a new class of genetic markers for *Salmo trutta* L. (brown trout). *Heredity*, **71**, 488-496.
- Excoffier, L., Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, **10** (3), 564-567.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, **14** (8), 2611-2620.
- Felsenstein, J. (2001). "Taking variation of evolutionary rates between sites into account in inferring phylogenies". *Journal of Molecular Evolution*, **53** (4–5): 447-455. doi:10.1007/s002390010234
- Ferguson, A., Fleming, C. C. (1983). Evolutionary and taxonomic significance of protein variation in the brown trout (*Salmo trutta* L.) and other salmonid fishes. In *Protein polymorphism: adaptive and taxonomic significance* (Vol. 24, pp. 84-99). Academic Press London.
- Ferguson, A. (1989). Genetic differences among brown trout, *Salmo trutta*, stocks and their importance for the conservation and management of the species. *Freshwater biology*, **21** (1), 35-46.
- Ferguson, A., Taggart, J. B. (1991). Genetic differentiation among the sympatric brown trout (*Salmo trutta*) populations of Lough Melvin, Ireland. *Biological Journal of the Linnean Society*, **43**, 221-237.
- Ferguson, M. M., Danzmann, R. G., Hutchings, J. A. (1991). Incongruent estimates of population differentiation among brook charr, *Salvelinus fontinalis*, from Cape Race, Newfoundland, Canada, based upon allozyme and mitochondrial DNA variation. *Journal of Fish Biology*, **39** (suppl. A), 79-85.
- Ferguson, A. (2006a). Genetics of sea trout, with particular reference to Britain and Ireland. In Harris, H. & N. Miller (eds), *Sea Trout. Biology, Conservation and Management*. Blackwell Publishing, Oxford: 57–182.
- Ferguson, A. (2007). Genetic impacts of stocking on indigenous brown trout populations. *Environment Agency Science Report SC040071/SR*. Pp. 93. ISBN 978-1-84432-79g-0.
- Ferguson, A., Reed, T. E., Cross, T. F., McGinnity, P., Prodöhl, P. A. (2019). Anadromy, potamodromy and residency in brown trout *Salmo trutta*: the role of genes and the environment. *Journal of Fish Biology*, 49: in press. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfb.14005>
- Filipović, S. (1975). Stanje vodotoka Zete i Morače na osnovu hemijskih ispitivanja. *Glasnik Republičkog zavoda za zaštitu prirode i prirodnjačkog muzeja u Titogradu*, **8**, Titograd.
- Fink, J. (1966). *Die Paläogeographie der Donau*, Teil III, *Limnologie der Donau*. Pp. 1–50. Lieferung 2, Schweizerbar'scher Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- Fjellheim, A., Barlaup, B., T., Gabrielsen, S. E. & Raddum, G. G. (2003). Restoring fish habitat as an alternative to stocking in a river with strongly reduced flow. *Ecohydrology and Hydrobiology*, **3**, 17–26.
- Fleming, I. A. & Gross, M. R. (1990). Latitudinal clines: a trade-off between egg number and size in Pacific salmon. *Ecology*, **71** (1): 1-11.
- Frankham, R., Ballou, J. D. & Briscoe, D. A. (2002). *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press, Cambridge.

- Fraser, D. J., Weir, L. K., Bernatchez, L., Hansen, M. M., Taylor, E. B. (2011). Extent and scale of local adaptation in salmonid fishes: review and meta-analysis. *Heredity*, **106** (3), 404-420.
- Froese, R., and Pauly, D. (Eds) (2008). "Salmonidae" in FishBase. December 2008 version.
- Froese, R. and Pauly, D. (Eds) (2018). FishBase: World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org
- Fumagalli, L., Snoj, A., Jesensek, D., Balloux, F., Jug, T., Duron, O., Brossier, F., Crivelli, A. J. & Berrebi, P. (2002). Extreme genetic differentiation among the remnant populations of marble trout (*Salmo marmoratus*) in Slovenia. *Molecular Ecology*, **11**, 2711-2716.
- Garcia-Marin, J. L., Jorde, P. E., Ryman, N., Utter, F., Pla, C. (1991). Management implications of genetic differentiation between native and hatchery populations of brown trout (*Salmo trutta* L.) in Spain. *Aquaculture*, **95**, 235-249.
- Garcia-Marin, J. L., Utter, F. M., Pla, C. (1999). Postglacial colonization of brown trout in Europe based on distribution of allozyme variants. *Heredity*, **82**, 46-56.
- Garcia-Marin, J. L., Sanz, N., Pla, C. (1999b). Erosion of the native genetic resources of brown trout in Spain. *Ecology of Freshwater Fish*, **8**, 151-158.
- Georgiev, S. B. (2003). On the origin of the Balkan Peninsula salmonids. *Ribarstvo*, **61**, (4), 147-174.
- Gilles, A., Lecointre, G., Faure, E., Chappaz, R., Brun, G. (1998). Mitochondrial phylogeny of the European cyprinids: implications for their systematics, reticulate evolution and colonization time. *Molecular Phylogenetic Evolution*, **10**, 132-143.
- Giuffra, E., Bernatchez, L., Guyomard, R. (1994). Mitochondrial control region and protein coding sequence variation among phenotypic forms of brown trout *Salmo trutta* from northern Italy. *Molecular Ecology*, **3**, 161-171.
- Goudet, J. (2002). FSTAT version 2.9.3.2, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Institute of Ecology, Lausanne, Switzerland. Website <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> [accessed 20 August 2012].
- Gratton, P., Allegrucci, G., Gandolfi, A. & Sbordoni, V. (2013). Genetic differentiation and hybridization in two naturally occurring sympatric trout *Salmo* spp. forms from a small karstic lake. *Journal of Fish Biology*, **82**, 637-657.
- Gratton, P., Allegrucci, G., Sbordoni, V., Gandolfi, A. (2014). The evolutionary jigsaw puzzle of the surviving trout (*Salmo trutta* L. complex) diversity in the Italian region. A multilocus Bayesian approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **79**, 292-304.
- Gridelli, E. (1936). I pesci d'acqua dolce della Venezia Giulia. *Bollettino Della Società Adriatica Di Scienze Naturali In Trieste*. **35**, 7-140.
- Griffiths, A. M., Bright, D., Stevens, J. R. (2009). Complete mitochondrial control region sequences indicate a distinct variety of brown trout *Salmo trutta* in the Aral Sea. *Journal of Fish Biology*, **74**, 1136-1142.
- Gross, M. R., Coleman, R. M. & McDowall, R. M. (1988). Aquatic productivity and the evolution of diadromous fish migration. *Science* (Washington), **239** (4845), 1291-1293.
- Grzybowski, T. (2000). Extremely high levels of human mitochondrial DNA heteroplasmy in single hair roots. *Electrophoresis*, **21**, 548-553.
- Gum, B., Gross, R. & Kuehn, R. (2005). Mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of European grayling (*Thymallus thymallus*): evidence for secondary contact zones in central Europe. *Journal Fish Biology*, **69** (Suppl. C), 115-135.
- Guyomard, R., Krieg, F. (1983). Electrophoretic variations in six populations of brown trout (*Salmo trutta* L.). *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, **24**, 403-413.
- Guyomard, R., Grevisse, G., Oury, F. X., Davaine, P. (1984). Evolution de la variabilité génétique inter et intrapopulations de populations issues de mêmes pools géniques. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **41**, 1024-1029.
- Guyomard, R. (1989). Diversité génétique de la b truite commune. *Bulletin Francais de la Pêche et de la Pisciculture*, **314**, 118-135.

- Guyomard, R. (1993). Methods to Describe Fish Stocks. IN: Cloud, J.G., Thorgaard, G.H. (1993). Genetic Conservation of Salmonid Fishes. NATO ASI Series A: Sciences Vol. 248. Springer Science+Buisness Media New York. p. 311.
- Gyllensten, U. (1985). The genetic structure of fish: differences in the intraspecific distribution of biochemical genetic variation between marine, anadromous, and freshwater species. *Journal of Fish Biology*, **26**, 691-699.
- Gyllensten, U., Wilson, A. C. (1987). Mitochondrial DNA of salmonids. *Population Genetics and Fisheries Management*. University of Washington Press, Seattle, 301-307.
- Hadžišće, S. (1960). Zur Kenntnis der Gattung *Salmothymus* Berg. *Zavod za Ribarstvo na NR Makedonija-Skopje*, **3**, 39–50.
- Hadžišće, S. (1961). Zur Kenntnis des *Salmothymus ohridanus* (Steindachner) (Pisces, Salmonidae). Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte *Limnologie Verhandlungen*, **14**, 785–791.
- Hagelberg, E., Gray, I. C., Jeffreys A. J. (1991). Identification of the skeletal remains of a murder victim by DNA analysis. *Nature*, **352** (6334), 427-9.
- Hamilton, K. E., Ferguson, A., Taggart, J. B., Tomasson, T., Walker, A., Fahy, E. (1989). Post-glacial colonization of brown trout, *Salmo trutta* L.: *Ldh-5* as a phylogeographic marker locus. *Journal of Fish Biology*, **35** (5), 651-664.
- Hansen, M. M., Loeschcke, V. (1994). Effects of releasing hatcheryreared brown trout to wild populations. In: *Conservation Genetics* (eds Loeschcke, V., Tomiuk, J., Jain, S. K.). pp. 273–289. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Hansen, M. M., Nielsen, E. E., Ruzzante, D. E., Bouza, C. & Mensberg, K.-L. D. (2000). Genetic monitoring of supportive breeding in brown trout (*Salmo trutta* L.), using microsatellite DNA markers. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **57**, 2130–2139.
- Hansen, M. M. (2002). Estimating the long-term effects of stocking domesticated trout into wild brown trout (*Salmo trutta*) populations: an approach using microsatellite DNA analysis of historical and contemporary samples. *Molecular Ecology*, **11**, 1003–1015.
- Hansen, M. M. & Mensberg, K.-L. D. (2009). Admixture analysis of stocked brown trout populations using mapped microsatellite DNA markers: indigenous trout persist in introgressed populations. *Biology Letters*, **5**, 656–659.
- Hashemzadeh Segherloo, I., Farahmand, H., Abdoli, A., Bernatchez, L., Primmer, C. R., Swatdipong, A., Karami, M., Khalili, B. (2012). Phylogenetic status of brown trout *Salmo trutta* populations in five rivers from the southern Caspian Sea and two inland lake basins, Iran: a morphogenetic approach, *Journal of Fish Biology*, **81**, 1479–1500. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2012.03428.x
- Hearne, C. M., Ghosh, S., Todd, J. A. (1992). Microsatellite for linkage analysis of genetic traits. *T.1.G.*, **8**, 288-294.
- Heckel, J. J. (1851). Bericht einer ichthyologischen Reise. II. Beiträge zu den Gattungen “*Salmo*, *Fario*, *Salar*, *Coregonus*, *Chondrostoma*” und “*Telestes*”. *Sitzungsberrichte der Akademie der Wissenschaften*, Wien, 347–390.
- Heled, J., Drummond, A. J. (2010). Bayesian inference of species trees from multilocus data. *Molecular Biology and Evolution*, **27**, 570–580.
- Herak, M. (1985). On the relation of Adriatic and Dinaric structures. *Dissert., ASAS*, Ljubljana, **26**, 401-414.
- Hewitt, G. M. (2000). The genetic legacy of Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907–913.
- Hindar, K., Jonsson, B., Ryman, N., Ståhl, G. (1991). Genetic relationships among landlocked, resident, and anadromous brown trout, *Salmo trutta* L. *Heredity*, **66** (1), 83-91.
- Hoarau, G., Holla, S., Lescasse, R., Stam, W. T., Olsen, J. L. (2002). Heteroplasmy and evidence for recombination in the mitochondrial control region of the flatfish *Platichthys flesus*. *Molecular Biology and Evolution*, **19** (12), 2261–2264.
- Höss, M. (2000). Neanderthal population genetics. *Nature*, **404**, 452-454.
- Hsu, K. J. (1978). When the Black Sea drained. *Scientific American*, **238**, 53–63.

- <http://nationalpark-una.ba/bs/>
<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>
<http://www.bistrobih.ba/nova/2011/06/30/cuda-rijeke-krusnice>
<http://nationalpark-una.ba/bs>
<https://bs.wikipedia.org/wiki/Krušnica>
https://sr.wikipedia.org/wiki/Balkansko_poluostrvo
<https://www.itis.gov>
https://www.webcitation.org/5kwPqi7mD?url=http://encarta.msn.com/dictionary_/balkan.html
- Hudson, R. R., Coyne, J.A. (2002). Mathematical consequences of the genealogical species concept. *Evolution*, **56**, 1557–1565.
- Hurst, C. D., Bartlett, S. E., Davidson, W. S., Bruce, I. J. (1999). The complete mitochondrial DNA sequence of the Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Gene*, **239** (2), 237-242. DOI: 10.1016/S0378-1119(99)00425-4.
- Hurt, C. & Hedrick, P. (2004). Conservation genetics in aquatic species: general approaches and case studies in fishes and springsnails of arid lands. *Aquatic Sciences*, **66**, 402–413.
- Integrated Taxonomic Information System, 2003 ITIS. (2016). <http://www.itis.gov>.
- Ivanović, B. (1973). Ichthyofauna of Skadar Lake. Pp. 146. Institut za biološka i medicinska istraživanja, Titograd.
- Jadan, M., Čož-Rakovac, R., Tupić Popović, N., Strunjak-Perović, I. (2007). Presence of unexpected phylogenetic lineages of brown trout *Salmo trutta* L. in Gacka River, Croatia. *Aquaculture Research*, **38**, 1682-1685. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01832.x
- Jamandre, B. W., Durand, J. D., Tzeng, W. N. (2014). High Sequence Variations in Mitochondrial DNA Control Region among Worldwide Populations of Flathead Mullet *Mugil cephalus*. *International Journal of Zoology*, 9 pages. DOI: 10.1155/2014/564105.
- Janković, D. (1960). Sistematika i ekologija lipljena (*Thymallus thymallus* L.) u Jugoslaviji. *Biol. Inst. Spec. Iss.*, **7**, 1-145. (Serbian, English Summary).
- Janković, D. (1963). Pastrmka iz Plavskog jezera. *Archives of Biological Sciences*, **15**, (1-2), 25-34.
- Jarman, A. P., Wells, R. A. (1989). Hypervariable minisatellites: recombinators or innocent bystanders. *Trends in Genetics*, **5**, 11, 367-371. DOI: 10.1016/0168-9525(89)90171-6
- Jeffreys, A. J., Wilson, V., Thein, S. L. (1985). Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature (Lond.)*, **314**, 67-73.
- Jeffreys, A. J., Allen, M., Hagelberg, E., Sonnberg, A. (1992). Identification of the skeletal remains of Josef Mengele by DNA analysis. *Forensic Science International*, **56**, 65–76.
- Jelić, D., Špelić, I., Žutinić, P. (2016). Introduced species community over-dominates endemic ichthyofauna of high Lika Plateau (Central Croatia) over a 100 year period. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, **62** (2), 191–216. DOI: 10.17109/AZH.62.2.191.2016
- Jevtić, J. (1989). Ribarstvo. Praktikum. Naučna knjiga, Beograd.
- Jonsson, B., Gravem, F. R. (1985). Use of space and food by resident and migrant brown trout, *Salmo trutta*. *Environmental Biology of Fishes*, **14** (4), 281-293.
- Jug, T., Berrebi, P., Snoj, A. (2005). Distribution of non-native trout in Slovenia and their introgression with native trout populations as observed through microsatellite DNA analysis. *Biological Conservation*, **123**, 381–388. DOI: 10.1016/j.biocon.2004.11.022
- Kanjuh, T. (2017). Status autohtonosti fonda potočne pastrmke u Republici Srbiji i konzervaciono-ribarstvene implikacije. Master rad, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Karakousis, Y., Triantaphyllidis, C. D. (1988). Genetic relationship among three Greek brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, **35**, 279-285.
- Karakousis, Y., Triantaphyllidis, C. D. (1990). Genetic structure and differentiation among Greek brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Heredity*, **64**, 297-304.
- Karaman, S. (1924). Pisces Macedoniae. Derzeit am institut Z. Erforschung und Beksampfung D. Malaria, Trogir (Dalmatien) Split.

- Karaman, S. (1927). Salmonidi Balkana [Salmonids of Balkans]. *Glasnik Naučnog Društva Skopje*, **2**, 253–268.
- Karaman, S. (1932). Novi prilozi poznavanju naših salmonida [New contributions to the knowledge on our salmonids]. *Ribarski list*, Sarajevo **7**, 1–3.
- Karaman, S. (1933). Prilozi ihtiologiji Crne Gore. *Ribarski list*, **8**, 104–106.
- Karaman, S. (1936). Prilog poznavanju slatkovodnih riba Jugoslavije. *Bull. Skop. Sci. Soc.*, **17**, 55–64. (Serbian, German Summary).
- Karaman, S. (1937). Beitrag zur Kenntnis der Süßwasserfische Jugoslaviens. *Glasnik Skopskog naučnog društva*, **18**, 131–139.
- Karaman, S. (1938). Prilog poznavanju slatkovodnih riba Jugoslavije. *Glasnik skopskog naučnog društva – Odeljenje prirodnih nauka*, **18**, 131–139.
- Karaman, S. (1957). Pastrmke reke Radike. *Fol. Balc., Inst. Pisc. Maced.*, **1**, (10), 57–70. (Serbian, English Summary).
- Karaman, M. (1971): Zoogeografski odnosi između Prespanskog Jezera i Ohridskog Jezera. *Izdaniya, Inst. Pisc. SRM*, **4**, (5). (Croatian, German Summary).
- Karapetkova, M., Živkov, M., Aleksandrova-Kolemanova, K. (1993). National Strategy for Protection of Biological Difference. *Sofia*, 515–546.
- Karapetkova, M. (1994). Vertebrate Animals. in: Limnology of the Bulgarian Danubian Confluents. Institute of Zoology BAS, Sofia, 175–186.
- Kasalica, S. (1983). Kontinentalna ekskurzija, Zbornik XI kongresa geografa SFRJ održanog i SR Crnoj Gori od 28.IX do 2.X 1981, Titograd.
- Kendall, A. W., Behnke, R. J. (1984). Salmonidae: development and relationships. *Ontogeny and systematics of fishes*, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Special Publication, **1**, 142–149.
- Kimura, M., Crow, J. F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, **49** (4), 725–738.
- Kimura, M., Ohta, T. (1978). Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **75** (6), 2868–2872.
- King, T. L., Eackles, M. S., Letcher, B. H. (2005). Microsatellite DNA markers for the study of Atlantic salmon (*Salmo salar*) kinship, population structure and mixed-fishery analyses. *Molecular Ecology Notes*, **5** (1), 130–132.
- Kinnison, M. T., Hendry, A. P. (2004). From macro-to microevolution: tempo and mode in salmonid evolution. *Evolution illuminated: salmon and their relatives*. Oxford University Press, New York, 208–231.
- Klemetsen, A., Amundsen, P. A., Dempson, J. B., Jonsson, B., Jonsson, N., O'Connell, M. F., Mortensen, E. (2003). Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): a review of aspects of their life histories. *Ecology of freshwater fish*, **12** (1), 1–59.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A. et al. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, **86**, 6196–6200.
- Kohout, J., Jašková, I., Papoušek, I., Šedivá, A., Šlechta, V. (2012). Effects of stocking on the genetic structure of brown trout, *Salmo trutta*, in Central Europe inferred from mitochondrial and nuclear DNA markers. *Fisheries Management and Ecology*, **19** (3), 252–263.
- Kohout, J., Šedivá, A., Apostolou, A., Stefanov, T., Marić, S., Gaffaroğlu, M., Šlechta, V. (2013). Genetic diversity and phylogenetic origin of brown trout *Salmo trutta* populations in eastern Balkans. *Biologia*, **68** (6), 1229–1237.
- Konopinski, M. K., Amirovicz, A. & Kukuła, K. (2007). Probable direction of the postglacial colonization of rivers on northern slopes of the Carpathian Ridge by *Barbus carpathicus* (Teleostei: Cyprinidae) evidenced by cline of genetic variation. *Journal of Fish Biology*, **70** (Suppl. C), 406–415.

- Костов, Н., Андрейчин, Л., Илчев, Ст., Попов, Д., Георгиев, Л. (1994). *Български тълковен речник (допълнен и преработен от Д. Попов)*. С.: Наука и изкуство.
- Kottelat, M. (1997). European freshwater fishes: an heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR), with an introduction for non-systematists and comments on nomenclature and conservation. *Biologia*, **5**, 1–271.
- Kottelat, M., Freyhof, J. (2007). Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat.
- Krieg, F. (1984). Recherche d'une différenciation génétique entre populations de *Salmo trutta*. Thèse de 3^e cycle, Université de Paris-sud, Orsay.
- Krieg, F., Guyomard, R. (1985). Population genetics of French brown trout (*Salmo trutta* L): large geographical differentiation of wild populations and high similarity of domesticated stocks. *Génétique sélection évolution*, **17** (2), 225-242.
- Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, **33**, 1870-1874.
- Ladiges, W. (1967): Pisces. in: Limnofauna Europea. *Gustav Fisher Verlag. Stuttgart*, 429-439.
- Lagler, K. F. (1977). Freshwater fishery biology. Dubuque, WM. C. Brown Company Publishers, pp. 19-35.
- Langella, O. (2002). POPULATIONS 1.2. 28. Population genetic software (individuals or populations distances, phylogenetic trees). *CNRS, France*.
- Laikre, L., Ryman, N. (1996). Effects on intraspecific biodiversity from harvesting and enhancing natural populations. *Ambio*, **25** (8), 504–509.
- Laikre, L., Antunes, A., Apostolidis, A., Berrebi, P., Duguid, A., Ferguson, A., Garcia-Marin, H. L., Guyomard, R., Hansen, M. M., Hindar, K., Koljonen, M. L., Largiader, C., Martinez, P., Nielsen, E. E., Palm, S., Ruzzant, D., Ryman, N., Tryantaphyllidis, C. (1999). Conservation genetic management of brown trout (*Salmo trutta*) in Europe. Report by the Concerted action on identification, management and exploitation of genetic resources in the brown trout (*Salmo trutta*), “Troutconcert”, EU Fair CT97-3882.
- Largiadér, C. R., Scholl, A. (1995). Effects of stocking on the genetic diversity of brown trout populations of Adriatic and Danubian drainages in Switzerland. *Journal of Fish Biology*, **47** (Suppl. A), 209–225.
- Largiadèr C.R. & Scholl A. (1996). Genetic introgression between native and introduced brown trout (*Salmo trutta* L.) populations in The Rhône River Basin. *Molecular Ecology*, **5**, 417–426.
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., ... Thompson, J. D. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, **23** (21), 2947-2948.
- Leclercq, S., Rivals, E., Jarne, P. (2010). DNA slippage occurs at microsatellite loci without minimal threshold length in humans: a comparative genomic approach. *Genome Biology and Evolution*, **2**, 325–335.
- Lee, W. J., Conroy, J., Howell, W. H., Kocher, T. D. (1995). Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. *Journal of Molecular Evolution*, **41**, 54-66. DOI: 10.1007/BF00174041.
- Lerceteau-Köhler, E., Weiss, S. (2006). Development of a multiplex PCR microsatellite assay in brown trout *Salmo trutta*, and its potential application for the genus. *Aquaculture*, **258** (1), 641-645.
- Levinson, G., Gutman, G. A. (1987). Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Molecular Biology and Evolution*, **4** (3), 203–221.
- Litt, M., Luty, J. A. (1989). A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*, **44**, 397–401.
- Lobón-Cerviá, J., Sanz, N. (2018). Brown Trout: Biology, Ecology and Management. First edition. Published by John Wiley & Sons Ltd.

- Lo Brutto, S., Hristovski, N., Arculeo, M. (2010). Genetic divergence between morphological forms of brown trout *Salmo trutta* L. in the Balkan region of Macedonia. *Journal of Fish Biology*, **76**, 1220–1227.
- Lunt, D. H., Hyman, B. C. (1997). Animal mitochondrial DNA recombination. *Nature*, **387** (6630), 247.
- MacCrimmon, H. R., Marshall, T. L. (1968). World distribution of brown trout, *Salmo trutta*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **25** (12), 2527–2548.
- Machordom, A., Suárez, J., Almodóvar, A., Bautista, J. M. (2000). Genetic differentiation and phylogenetic relationships among Spanish brown trout (*Salmo trutta*) populations. *Molecular Ecology*, **9**, 1324–1338.
- Macklin, M. G., Lewin, J., Woodward, J. C. (1995). Quaternary fluvial systems in the Mediterranean basin. In: Lewin, J., Macklin, M. G., Woodward, J. C. (Eds.) *Mediterranean Quaternary River Environments*. Balkema, Rotterdam, pp. 1–25.
- Macqueen, D. J., Johnston, I. A. (2014). A well-constrained estimate for the timing of the salmonid whole genome duplication reveals major decoupling from species diversification. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, **281** (1778).
- Maddison, W. P. (1997). Gene trees in species trees. *Systematic Biology*, **46**, 523–536.
- Mangerud, J., Jakobsson, M., Alexanderson, H., Astakhov, V., Clarke, G. K. C., Henriksen, M., Hjort, C., Krinner, G., Lunkka, J. P., Moller, P., Murray, A., Nikolskaya, O., Saarnisto, M., Svendsen, J. I. (2004). Ice-dammed lakes and rerouting of the drainage of northern Eurasia during the last glaciation. *Quaternary Science Reviews*, **23**, 1313–1332.
- Marić, D. (1995). Endemic fish species of Montenegro. *Biological Conservation*, **72** (2), 187–194. DOI: 10.1016/0006-3207(94)00081-Z
- Marić, D., Milošević, D. (2011). Katalog slatkovodnih riba (Osteichthyes) Crne Gore. [Catalogue of the Freshwater Fishes (Osteichthyes) of Montenegro]. Crnogorska akademija nauka i umjetnosti. Katalozi 5, Knjiga 4. Podgorica, pp. 114.
- Marić, S., Sušnik, S., Simonović, P., Snoj, A. (2006). Phylogeographic study of brown trout from Serbia, based on mitochondrial DNA control region analysis. *Genetics Selection Evolution*, **38** (4), 411–430.
- Marić, S., Simonović, P., Razpet, A. (2010). Genetic characterization of broodstock brown trout from Bled fish-farm, Slovenia. *Periodicum Biologorum*, **112**, 145–148.
- Marić, S., Nikolić, V., Tošić, A., Simonović, P. (2012). Record of the brown trout *Salmo trutta* L., 1758 in the main riverbed of the Serbian part of the Danube River. *Journal of Applied Ichthyology*, **28**, 135–137. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2011.01881.x
- Marković, J. Đ. (1990). Enciklopedijski geografski leksikon Jugoslavije. Sarajevo: Svjetlost. ISBN 978-86-01-02651-3.
- Marshall, G. T., Beaumont, A. R., Wyatt, R. (1992). Genetics of brown trout (*Salmo trutta* L.) stocks above and below impassable falls in the Conwy river system, North Wales. *Aquatic Living Resources*, **5** (1), 9–13.
- Martinez, P., Arias, J., Castro, J., Sanchez, L. (1993). Differential stocking incidence in brown trout (*Salmo trutta*) populations from Northwestern Spain. *Aquaculture*, **114**, 203–216.
- Marzano, F. N., Corradi, N., Papa, R., Tagliavini, J. & Gandolfi, G. (2003). Molecular evidence for introgression and loss of genetic variability in *Salmo (trutta) macrostigma* as a result of massive restocking of Apennine populations (Northern and Central Italy). *Environmental Biology of Fishes*, **68**, 349–356.
- Matonićkin, I., Pavletić, Z. (1960). Učešće jednostaničnih životinja i biljnih grupa u stvaranju životnih zajednica na travertinskim i erozivnim slapovima u Bosni i Hercegovini. *Annals of Institute of Biology*, University of Sarajevo, **13**, (1-2), 41–62.
- Mayer, C., Leese, F., Tollrian, R. (2010). Genome-wide analysis of tandem repeats in *Daphnia pulex* - a comparative approach. *BMC Genomics*, **11** (227), 1–228.
- McDowell, R. M. (1998). Paxton, J.R. & Eschmeyer, W.N., eds. *Encyclopedia of Fishes*. San Diego: Academic Press. pp. 114–116. ISBN 0-12-547665-5.

- McMeel, O. M., Hoey, E. M., Ferguson, A. (2001). Partial nucleotide sequences, and routine typing by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, of the brown trout (*Salmo trutta*) lactate dehydrogenase, *LDH-C1*90* and **100* alleles. *Molecular Ecology*, **10** (1), 29–34. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2001.01166.x
- McMillan, W. O., Palumbi, S. R. (1997). Rapid rate of control-region evolution in Pacific butterflyfishes (Chaetodontidae). *Journal of Molecular Evolution*, **45** (5), 473–484.
- McPhail, J. D., Strouder, D. J. (1997). "Pacific Salmon and Their Ecosystems: Status and Future Options". *The Origin and Speciation of Oncorhynchus*. New York, New York: Chapman & Hall.
- McVeigh, H. P., Bartlett, S. E., Davidson, W. S. (1991). Polymerase chain reaction direct sequence analysis of the cytochrome b gene in *Salmo slur*. *Aquaculture*, **95**, 225-233.
- Meier, K., Hansen, M. M., Bekkevold, D., Skaala, Ø., Mensberg, K. D. (2011). An assessment of the spatial scale of local adaptation in brown trout (*Salmo trutta* L.): footprints of selection at microsatellite DNA loci. *Heredity*, **106** (3), 488-499.
- Meldgaard, T., Crivelli, A. J., Jesensek, D., Poizat, G., Rubin, J. F., Berrebi, P. (2007). Hybridization mechanisms between the endangered marble trout (*Salmo marmoratus*) and the brown trout (*Salmo trutta*) as revealed by in-stream experiments. *Biological Conservation*, **136**, 602–611.
- Meraner, A., Baric, S., Pelster, B., Dalla Via, J. (2007). Trout (*Salmo trutta*) mitochondrial DNA polymorphism in the centre of the marble trout distribution area. *Hydrobiologia*, **579**, 337–349. DOI: 10.1007/s10750-006-0479-3
- Meyer, A., Kocher, T. D., Basasibwaki, P., Wilson, A. C. (1990). Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature*, **347**, 550-553.
- Michailowa, L. (1967). Seltene Fischarten aus der Suswasserfauna Bulgariens. *Zeitsch. Fisch., Radebeul Berlin*, **15**, (1/2) 153-160.
- Miller, S. A., Dykes, D. D., Polesky, H. F. R. N. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research*, **16** (3), 1215.
- Mihailović, R. (1984). Dolina Morače – geografski problemi zaštite životne sredine. Doktorska disertacija, PMF, Univerzitet u Novom Sadu.
- Mitrović, J., Pavlović, M. (1980). Paleozoogeografija. Rudarsko geološki fakultet – OOUR Grupa za regionalnu geologiju i paleontologiju. Beograd.
- Mjelle, K. A., Karlsen, B. O., Jorgensen, T. E., Moum, T., Johansen, S. D. (2008). Halibut mitochondrial genomes contain extensive heteroplasmic tandem repeat arrays involved in DNA recombination. *BMC Genomics*, **9**, 10.
- Montgomery, D. R. (2000). Coevolution of the Pacific Salmon and Pacific Rim Topography. Department of Geological Sciences, University of Washington. Archived from the original (PDF) on September 1, 2006. Retrieved August 8, 2006.
- Moore, S. S., Sargeant, L. L., King, T. J., Mattick, J. S., Georges, M., Hetzel, D. J. S. (1991). The conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primer pairs in closely related species. *Genomics*, **10**, 654–660.
- Morin, P. A., Wallis, J., Moore, J. J., Chakraborty, R., Woodruff, D. S. (1993). Non-invasive sampling and DNA amplification for paternity exclusion, community structure, and phylogeography in wild chimpanzees. *Primates*, **34**, 347-356.
- Mrdak, D., Simonović, P., Sušnik, S., Snoj, A. (2006). The existence of «strun» - *Salmo dentex* (Heckel, 1851) as distinct species from *Salmo trutta fario* (Linnaeus, 1758), in Adriatic rivers of Montenegro. *II International Symposium of Ecologists of Montenegro – The Book of Abstracts and Programme*: 48.
- Mrdak, D. (2011). Pastrmke (*Salmo* L., 1758) rijeka Crne Gore - diverzitet, taksonomski status i filogenetski odnosi [Trout (*Salmo* L., 1758) of streams in Montenegro-diversity, taxonomic status and phylogenetic relationships]. Dissertation, University of Belgrade, Belgrade (in Serbo-Croatian).

- Mundy, N. I., Winchell, C. S., Woodruff, D. S. (1996). Tandem Repeats and Heteroplasmy in the Mitochondrial DNA Control Region of the Loggerhead Shrike (*Lanius ludovicianus*). *Journal of Heredity*, **87** (1), 21–26.
- Nanda, I., Schmid, M., Nürnberg, P., Pena, S. D., Pöche, H., Sprecher, W., Scharl, M., Weising, K., Yassouridis, A. (1991). Oligonucleotide fingerprinting using simple repeat motifs: a convenient, ubiquitously applicable method to detect hypervariability for multiple purposes. In: Burke, T., Dolf, G., Jeffreys, A. J. and Wolff, R. (eds), *DNA Fingerprinting Approaches and Applications*. Basel, Birkhäuser, pp. 50-69.
- Neave, F. (1958). The origin and speciation of *Oncorhynchus*. *Transaction of the Royal Society of Canada*, **3**, **52**, (5): 25-49.
- Nei, M., Tajima, F. (1981). Genetic drift and estimation of effective population size. *Genetics*, **98** (3), 625-640.
- Nelson, J. S. (1994). *Fishes of the world*. Third edition. John Wiley & Sons, Inc., New York. 600.
- Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the World*. 4th eds. John Wiley & Sons, Inc., New York. 601.
- Nesbø, C. L., Arab, M. O., Jakobsen, K. S. (1998). Heteroplasmy, Length and Sequence Variation in the mtDNA Control Region of Three Percid Fish Species (*Perca fluviatilis*, *Acerina cernua*, *Stizostedion lucioperca*). *Genetics*, **148**, 1907-1919.
- Nesbø, C. L., Fosshem, T., Vollestad, L.A. & Jakobsen K. S. (1999). Genetic divergence and phylogeographic relationships among European perch (*Perca fluviatilis*) populations reflect glacial refugia and postglacial colonization. *Molecular Ecology*, **8**, 1387–1404.
- Nielsen, J. L., Fountain, M. C., Favela, J. C., Cobble, K., Jensen, B. L. (1998). *Oncorhynchus* at the southern extent of their range: a study of mtDNA control–region sequence with special reference to an undescribed subspecies of *O. mykiss* from Mexico. *Environmental Biology of Fishes*, **51**, 7-23. DOI: 10.1023/A:1007456529627.
- Ninua, L., Tarkhnishvili, D. & Gvazava, E. (2018). Phylogeography and taxonomic status of trout and salmon from the Ponto-Caspian drainages, with inferences on European brown trout evolution and taxonomy. *Ecology and Evolution*, **8** (5), 2645–2658. DOI: 10.1002/ece3.3884.
- Norden, C. R. (1961). Comparative osteology of representative salmonid fishes, with particular reference to the grayling (*Thymallus arcticus*) and its phylogeny. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **18** (5), 679-791.
- Oakley, T. H., Phillips, R. B. (1999). Phylogeny of salmonine fishes based on growth hormone introns: Atlantic (*Salmo*) and Pacific (*Oncorhynchus*) salmon are not sister taxa. *Molecular phylogenetics and evolution*, **11** (3), 381-393.
- Okada, K., Yamazaki, Y., Yokobori, S., Wada, H. (2010). Repetitive sequences in the lamprey mitochondrial DNA control region and speciation of Lethenteron. *Gene*, **465** (1–2), 45–52.
- O'Reilly, P. T., Hamilton, L. C., McConnell, S. K., Wright, J. M. (1996). Rapid analysis of genetic variation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) by PCR multiplexing of dinucleotide and tetranucleotide microsatellites. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **53** (10), 2292-2298.
- Orešarov, P., Niškov, M. (1959). P'tevoditel na ribolovcite. *Dr. Izd. Medic. Fizcult., Sofia*. pp. 177. (Bulgarian)
- Osinov, A. G. (1984). Zoogeographical origins of brown trout, *Salmo trutta* (Salmonidae): data from biochemical genetic markers. *Journal of Ichthyology*, **24**, 10-23.
- Osinov, A. G. (1990a). The level of genetic variation and differentiation of the brown trout (*Salmo trutta* L.) in Tadjikistan. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, **45**, 37-41.
- Osinov, A. G. (1990b). Low level of genetic variability and differentiation in ecological forms of Sevan trout *Salmo ischchan* Kessler. [Translated from] *Genetika*, **25**, 1827-1835 (1989).
- Osinov, A. G. (2009). Iranian samples of brown trout *Salmo trutta* or rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: comparison of evidence from allozyme and mitochondrial DNA control region sequence analysis. *Journal of Ichthyology*, **49** (9), 825–828.

- Osinov, A. and Bernatchez, L. (1996). Atlantic and Danubean phylogenetic groupings of brown trout (*Salmo trutta* L.) complex: genetic divergence, evolution, and conservation. *Journal of Ichthyology*, **36**, 762–786.
- Osinov, A. G. and Lebedev, V.S. (2000). Genetic divergence and phylogeny of the Salmoninae based on allozyme data. *Journal of Fish Biology*, **57**, 354–381. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2000.tb02177.x
- Oosterhout, G. R., Huntingdon, C. W., Nickelson, T. E. & Lawson, P. W. (2005). Potential benefits of a conservation hatchery program for supplementing Oregon coast coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) populations: a stochastic model investigation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **62**, 1920–1935.
- Pallas, P. S. (1814). Zoographia rosso-asiatica, sistens omnium animalium in extenso Imperio Rossico et adjacentibus maribus observatorum recensionem, domicilia, mores et descriptiones anatomicas atque icones plurimorum. Vol. 3. Animalia monocordia seu frigidi sanguinis imperii rosso-asiatici recensente P. S. Pallas. Supplementis quibusdam ranarum descriptionibus et locupletavit Guil. Theophil. Tilesius. Petropolis: Academia Scientiarum, pp. 422.
- Paterson, S., Piertney, S. B., Knox, D., Gilbey, J., Verspoor, E. (2004). Characterization and PCR multiplexing of novel highly variable tetranucleotide Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) microsatellites. *Molecular Ecology Notes*, **4** (2), 160-162.
- Patton, J. L., Smith, M. F. (1992). mtDNA phylogeny of Andean mice: a test of diversification across ecological gradients. *Evolution*, **46**, 174-183.
- Perdices, A., Doadrio, I., Economidis, P. S., Bohlen, J., Banareescu, P. (2003). Pleistocene effects on the European freshwater fish fauna: double origin of the cobitid genus *Sabanejewia* in the Danube basin (Osteichthyes: Cobitidae). *Molecular Phylogenetic Evolution*, **26**, 289–299.
- Phillips, R. B., Oakley, T. H. (1997). Phylogenetic relationship among the Salmoninae based on nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Molecular systematics of fishes*. Academic Press, London. Pp. 145-162.
- Phillips, R. B., Matsuoka, M. P., Konon, I. & Reed, K. M. (2000). Phylogenetic Analysis of Mitochondrial and Nuclear Sequences Supports Inclusion of *Acantholingua ohridana* in the genus *Salmo*. *Copeia* 2000, 546–550.
- Piganeau, G., Gardner, M., Eyre-Walker, A. (2004). A broad survey of recombination in animal mitochondria. *Molecular Biology and Evolution*, **21** (12), 2319–2325.
- Piry, S., Luikart, G., Cornuet, J. M. (1999). BOTTLENECK: a program for detecting recent effective population size reductions from allele data frequencies. *Journal of Heredity*, **90**, 502-503.
- Pokorný, J., Kalivoda, J. & Senft, V. (2000). The result of breeding of the Italian population of brown trout (*Salmo trutta* m. *fario*) at trout farms Žichovice and Annín. *Proceedings of the IV Czech Ichthyological Conference*, Vodňany, 223–226.
- Poljakov, G. D., Filipi, N. D., Basho, K., Hysenaj, A. (1958). Fishes of Albania. *Tirana: University of Tirana (in Albanian)*. Pp. 281.
- Poteaux, C., Bonhomme, F. & Berrebi, P. (1998). Differences between nuclear and mitochondrial introgressions of brown trout populations from a restocked main river and its unrestocked tributary. *Biological Journal of the Linnean Society*, **63**, 379–392.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155** (2), 945-959.
- Pustovrh, G., Sušnik Bajec, S., Snoj, S. (2012). A set of SNPs for *Salmo trutta* and its application in supplementary breeding programs. *Aquaculture*, **370**, 102–108.
- Pustovrh, G., Snoj, A., Sušnik Bajec, S. (2014). Molecular phylogeny of *Salmo* of the western Balkans, based upon multiple nuclear loci. *Genetics Selection Evolution*, **46**, 7.
- Querci, G., Pecchioli, E., Leonzio, C., Frati, F. & Nardi, F. (2013). Molecular characterization and hybridization in *Salmo (trutta) macrostigma* morphotypes from Central Italy. *Hydrobiologia*, **702**, 191–200.
- Radojičić, B. (2005). Vode Crne Gore. Filozofski fakultet, Institut za geografiju, Nikšić.

- Rakaj, N., Flloko, A. (1995). Conservation Status of Freshwater Fish of Albania. *Biological Conservation*, **72**, 195-199.
- Rassmann, K., Schlidtferer, C., Tautz, D. (1991). Isolation of simple-sequence loci for use in polymerase chain reaction base DNA fingerprinting. *Electrophoresis*, **12**, 113-118.
- Ray, D. A., Densmore, L. D. (2003). Repetitive sequences in the crocodylian mitochondrial control region: Poly-A sequences and heteroplasmic tandem repeats. *Molecular Biology and Evolution*, **20** (6), 1006–1013.
- Razpet, A., Sušnik, S., Jug, T., Snoj, A. (2007). Genetic variation among trout in the River Neretva basin, Bosnia and Herzegovina. *Journal of Fish Biology*, **70**, 94–110.
- Rember, W. C. (2007) The Clarkia Flora of northern Idaho. University of Idaho, Moscow, Idaho.
- Rexroad, C. E., Coleman, R. L., Hershberger, W. K., Killefer, J. (2002). Rapid communication: thirty-eight polymorphic microsatellite markers for mapping in rainbow trout. *Journal of Animal Science*, **80** (2), 541-542.
- Riffel, M., Storch, V. & Schreiber, A. (1995). Allozyme variability of brown trout (*Salmo trutta* L.) populations across the Rhenanian-Danubian watershed in southwest Germany. *Heredity*, **74**, 241–249.
- Ryman, N. (1983). Patterns of distribution of biochemical genetic variation in salmonids: differences between species. *Aquaculture*, **33** (1-4), 1-21.
- Ryman, N., Allendorf, F. W., Ståhl, G. (1979). Reproductive isolation with little genetic divergence in sympatric populations of brown trout (*Salmo trutta*). *Genetics*, **92** (1), 247-262.
- Ryman, N. & Laikre, L. (1991). Effects of supportive breeding on the genetically effective population size. *Conservation Biology*, **5**, 325–329.
- Sabiončelo, J., Marko, S., Pažur, K. (1973). Bioekološka istraživanja na salmonidima u Hrvatskoj. *Inst. Freshw. Fish. Sell. Sc. Proff. Works, Jub. Ed., Zagreb*, 106-120. (Croatian, English Summary).
- Saiki, R. K., Scharf, S., Faloona, F. et al. (1985). Enzymatic amplification of α -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, **230**, 1350-1354.
- Sammler, S., Bleidorn, C., Tiedemann, R. (2011). Full mitochondrial genome sequences of two endemic Philippine hornbill species (Aves: Bucerotidae) provide evidence for pervasive mitochondrial DNA recombination. *BMC Genomics*, **12**, 35.
- Sanford, C. P. J. (1990). The phylogenetic relationship of salmonid fishes. *Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology)* **56**, 145–153.
- Sanford, C. P. J. (2000). Salmonid fish osteology and phylogeny (Salmonidae: Teleostei), *Theses Zooogy*, **33**, 1–264.
- Sanz, N., Garcia-Marin, J. L., Pla, C. (2000). Divergence of brown trout (*Salmo trutta*) within glacial refugia. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **57**, 2201–2210.
- Sanz, N., Garcia-Marin J. L., Pla, C. (2002). Managing fish populations under mosaic relationships. The case of brown trout (*Salmo trutta*) in peripheral Mediterranean populations. *Conservation Genetics*, **3**, 385–400.
- Sanz, N., Cortey, M., Pla, C., Garcia-Marin, J. L. (2006). Hatchery introgression blurs ancient hybridization between brown trout (*Salmo trutta*) lineages as indicated by complementary allozymes and mtDNA markers. *Biological Conservation*, **130**, 278–289.
- Sanz, N., Araguas, R. M., Vidal, O. & Vinas, J. (2015). Glacial refuges for three-spined stickleback in the Iberian Peninsula: mitochondrial DNA phylogeography. *Freshwater Biology*, **60**, 1794–1809.
- Sanz, N. (2017). Phylogeography history of brown trout: a review. In *Brown Trout – Biology, Ecology and Management* (Lobón-Cerviá, J. & Sanz, N., eds), pp. 17-63. Hoboken, NJ: Wiley.
- Saunders, R. L., Schom, C. B. (1985). Importance of the variation in the life history parameters of atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciencis*, **42**, 625-618.
- Schenekar, T., Lerceteau-Köhler, E., Weiss, S. (2014). Fine-scale phylogeographic contact zone in Austrian brown trout *Salmo trutta* reveals multiple waves of postglacial colonization and a pre-

- dominance of natural versus anthropogenic admixture. *Conservation Genetics*, **15** (3), 561-572. DOI: 10.1007/s10592-013-0561-0.
- Schlötterer, C., Amos, B., Tautz, D. (1991). Conservation of polymorphic simple sequence loci in cetacean species. *Nature*, **354** (6348): 63-5.
- Schmidt, D. Y. (1947). Migrations of Fishes. USSR Academy of Sciences, Leningrad.
- Seifertova, M., Bryja, J., Vyskočilova, M., Martinkova, N., Šimkova, A. (2012). Multiple Pleistocene refugia and postglacial colonization in the European chub (*Squalius cephalus*) revealed by combined use of nuclear and mitochondrial markers. *Journal of Biogeography*, **39**, 1024–1040.
- Sell, J., Spirkovski, Z. (2004). Mitochondrial DNA differentiation between two forms of trout *Salmo letnica*, endemic to the Balkan Lake Ohrid, reflects their reproductive isolation. *Molecular Ecology*, **13**, 3633–3644.
- Shi, W., Kong, X. Y., Wang, Z. M., Yu, S. S., Chen, H. X., De Stasio, E. A. (2013). Pause-melting misalignment: a novel model for the birth and motif indel of tandem repeats in the mitochondrial genome. *BMC Genomics*, **14**, 103. DOI: 10.1186/1471-2164-14-103.
- Simonović, P. (2001). Ribe Srbije. NNK, Zavod za zaštitu prirode Srbije i Biološki fakultet, Beograd. Pp. 247.
- Simonović, P., Marić, S., Nikolić, V. (2007). Trout *Salmo* spp. complex in Serbia and adjacent regions of western Balkans: reconstruction of evolutionary history from external morphology. *Journal of Fish Biology*, **70**, pp. 359–380. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2007.01516.x
- Simonović P. (2010). Uvod u ihtiologiju. Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu. Beograd. Pp. 316.
- Simonović, P., Tošić, A., Vassilev, M., Apostolou, A., Mrdak, D., Ristovska, M., Kostov, V., Nikolić, V., Škraba, D., Vilizzi, L. & G.H. Copp (2013). Risk assessment of non-native fishes in the Balkans region using FISK, the invasiveness screening tool for non-native freshwater fishes. *Mediterranean Marine Science*, **14** (2), 369–376. DOI: 10.12681/mms.337
- Simonović, P., Mrdak, D., Tošić, A., Škraba, D., Grujić, S., Nikolić V. (2014). Effects of stocking with brood fish to manage resident stream dwelling brown trout *Salmo cf. trutta* stock. *Journal of Fisheries Sciences*, **8** (2), 139-152. DOI: 10.3153/jfscom.201418
- Simonović, P., Vidović, Z., Tošić, A., Škraba, D., Čanak Atlagić, J., Nikolić, V. (2015). Risks to stocks of native trout of the genus *Salmo* (Actinopterygii: Salmoniformes: Salmonidae) of Serbia and management for their recovery. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, **45** (2), 161–173.
- Simonović, P., Tošić, A., Škraba Jurlina, D., Nikolić, V., Piria, M., Tomljanović, T., Šprem, N., Mrdak, D., Milošević, D., Bećiraj, A., Dekić, R., Povž, M. (2017). Diversity of Brown trout *Salmo cf. trutta* in the River Danube Basin of Western Balkans as Assessed from the Structure of Their Mitochondrial Control Region Haplotypes. *Journal of Ichthyology*, **57**, (4), 603–616.
- Simonović, P., Tošić, A., Škraba Jurlina, D., Nikolić, V., Piria, M., Tomljanović, T., Šprem, N., Mrdak, D., Milošević, D., Bećiraj, A., Dekić, R., Povž M. (2017a). Diversity of brown trout *Salmo cf. trutta* (L.) in the Danube River basin of Western Balkans as assessed from the structure of their mitochondrial control region haplotypes. *Journal of Ichthyology*, **57**, (4), 603–616. DOI: 10.1134/S0032945217040154
- Skaala, O., Jorstad, K. E. (1987). Fine-spotted brown trout (*Salmo trutta*): its phenotypic description and biochemical genetic variation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **44**, 1775-1779.
- Skaala, O., Nædval, G. (1989). Genetic differentiation between freshwater resident and anadromous brown trout, *Sulmo trutta*, within watercourses. *Journal of Fish Biology*, **34**, 597-605.
- Slettan, A., Olsaker, I., Lie, Ø., (1995). Atlantic salmon, *Salmo salar*, microsatellites at the SSOSL25, SSOSL85, SSOSL311, SSOSL417 loci. *Animal Genetic*, **26**, 281–282.
- Smiley, C. J. (2004). "Late Cenozoic History of the Pacific Northwest" Association for the Advancement of Science: Pacific Division. Retrieved August 8, 2006.

- Snoj, A., Jug, T., Melkic, E., Susnik, S., Pohar, J., Dovc, P., ... Budihna, N. (2000). Mitochondrial and microsatellite DNA analysis of marble trout in Slovenia. *Journal of Freshwater Biology. Quaderni ETP*, **29**, 5-11.
- Snoj, A., Melkič, E., Sušnik, S., Muhamedagić, S., Dovč, P. (2002). DNA phylogeny supports revised classification of *Salmothymus obtusirostris*. *Biological Journal of the Linnean Society*, **77**, 399-411.
- Snoj, A. (2004). Filogenetska struktura postrvi (*Salmo trutta* L.) v Sloveniji. Ribič, Glasilo Slovenskog ribištva. *Ribiška sveza Slovenije*, **10**, 239-243.
- Snoj A., Bogut, I. & Sušnik, S. (2008). Evidence of a genetically distinct population of Vrljika softmouth trout *Salmo obtusirostris* Heckel evolved by vicariance. *Journal of Fish Biology*, **72**, 1945–1959.
- Snoj, A., Marić, S., Berrebi, P., Crivelli, A. J., Shumka, S., Sušnik, S. (2009). Genetic architecture of trout from Albania as revealed by mtDNA control region variation. *Genetics Selection Evolution*, **41**, 22.
- Snoj, A., Glamuzina, B., Razpet, A., Zablocki, J., Bogut, I., Lercetau-Köhler, E., Pojkić, N. & Sušnik, S. (2010). Resolving taxonomic uncertainties using molecular systematics: *Salmo dentex* and the Balkan trout community. *Hydrobiologia*, **651**, 199-212.
- Sømme, I. D. (1941). Ørretboka. *Jakob Dybwads Forlag*, Oslo.
- Splendiani, A., Giovannotti, M., Cerioni, P. N., Caniglia, M. L., Caputo, V. (2006). Phylogeographic inferences on the native brown trout mtDNA variation in central Italy. *Italian Journal of Zoology*, **73**, 179–189.
- Stanković, S. (1957). Ohridsko Jezero i njegov živi svet. *Kultura*, Skopje.
- Stearley, R. F., Smith, G. R. (1993). Phylogeny of the Pacific trouts and salmon (*Oncorhynchus*) and genera of the family Salmonidae. *Transactions of the American Fisheries Society*, **122**, 122 - 133.
- Steindachner, F. (1892). *Über einige neue und seltene Fischarten* usw. Denkschriften der Akademie der Wissenschaften Wien, Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse. *Abteilung*, **59**, 357–384.
- Steingrímsson, S. Ó., Gíslason, G. M. (2002). Body size, diet and growth of landlocked brown trout, *Salmo trutta*, in the subarctic River Laxá, North-East Iceland. *Environmental Biology of Fishes*, **63** (4), 417-426.
- Stojković, B., Tucić, N. (2012). Evolucionarna genetika čoveka. Elektronsko izdanje. Pp 149.
- Suárez, J., Bautista, J. M., Almodóvar, A., Machordom, A. (2001). Evolution of the mitochondrial control region in Palaeartic brown trout (*Salmo trutta*) populations: the biogeographical role of the Iberian Peninsula. *Heredity*, **87**, 198–206. DOI: 10.1046/j.1365-2540.2001.00905.x
- Sušnik, S., Schoffmann, J., Snoj, A. (2004). Phylogenetic position of *Salmo (Platysalmo) platycephalus* Behnke 1968 from south-central Turkey, evidenced by genetic data. *Journal of Fish Biology*, **64**, 947–960.
- Sušnik, S., Knizhin, I., Snoj, A., Weiss, S. (2006). Genetic and morphological characterization of a Lake Ohrid endemic, *Salmo (Acantholingua) ohridanus* with a comparison to sympatric *Salmo trutta*. *Journal of Fish Biology*, **68**, 2-23.
- Sušnik, S., Snoj, A., Wilson I. F., Mrdak, D., Weiss, S. (2007). Historical demography of brown trout (*Salmo trutta*) in the Adriatic drainage including the putative *S. letnica* endemic to Lake Ohrid. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44**, 63–76.
- Sušnik, S., Snoj, A., Wilson, I. F., Mrdak, D., Weiss, S. (2007b). Historical demography of brown trout (*Salmo trutta*) in the Adriatic drainage including the putative *S. letnica* endemic to Lake Ohrid. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44**, 63–76.
- Škraba, D., Bećiraj, A., Šarić, I., Ićanović, I., Džaferović, A., Piria, M., Dekić, R., Tošić, A., Nikolić, V., Simonović, P. (2017). Haplotype Diversity of Brown Trout (*Salmo trutta* L.) Populations from Una River Drainage Area in Bosnia and Herzegovina: Implications for Conservation and Fishery Management. *Acta zoologica bulgarica*, **69** (1), 25-30.
- Škraba Jurlina, D., Marić, A., Karanović, J., Nikolić, V., Brkušanić, M., Kanjuh, T., Mrdak, D., Simonović, P. (2018). Effect of the introgression of Atlantic brown trout, *Salmo trutta*, into

- Adriatic trout, *Salmo farioides* in a stream at the drainage area of the Adriatic Sea basin of Montenegro. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, **48** (4), 363–372.
- Šorić, V. (1990). Salmonids in the Ohrid–Drim–Skadar system. *Acta Societatis Zoologicae Bohemoslovacaiae*, **54**, 305–319.
- Štefanac, M., Bunjevčević, Z. (1982). Prilog poznavanju morfoloških karakteristika potočne pastrve rijeke Gacke, *Ribarstvo Jugoslavije*, **37** (2), 30–32.
- Taggart, J. B., Ferguson, A., Mason, F. M. (1981). Genetic variation in Irish populations of brown trout (*Salmo trutta* L.): electrophoretic analysis of allozymes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **69B**, 393–412.
- Taler, Z. (1936). Glavatica i mladica. *Priroda*, **26**, (8), 230–235. (Croatian, German Summary).
- Taler, Z. (1944). Lipljen *Thymallus thymallus* (Linne) njegov životni prostor u Hrvatskoj i na Balkanu i gospodarska vrijednost. *Ribar*, **2**, 5.82. (Croatian, German Summary).
- Taler, Z. (1950). Koji salmonidi žive u Jugoslaviji i koji se uzgajaju. *Ribarstvo Jugoslavije*, **5** (3–4), 58 – 60.
- Taler, Z. (1953). Rasprostranjenje i popis slatkovodnih riba Jugoslavije. *Bulletin of Museum of Natural History, Serbia, B* (5.6), 425–455. (Croatian).
- Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequence as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, **16**, 6463–6471.
- Templeton, A. R. (1986). Coadaptation and outbreeding depression. Pp. 105–116. In: Soulé M.E. (ed). Conservation biology. The science of scarcity and diversity. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.
- Teskeredžić, E., Teskeredžić, Z., McLean, E., Tomec, M. (1993). Occurrence, Distribution, and Potential Future of Yugoslavian Salmonids. In: *Genetic Conservation of Salmonid Fishes*, Edit., J. G. Cloud and G. H. Thorgaard, Plenum Press, New York, 314 pp.
- Torres-Cruz, J., van der Woude, M. W. (2003). Slipped-strand mispairing can function as a phase variation mechanism in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, **185** (23), 6990–6994.
- Tošić, A., Nikolić, V., Mrdak, D., Simonović, P. (2014). New mitochondrial DNA haplotype of brown trout *Salmo trutta* L. from Crni Timok drainage area in Serbia. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **14** (1), 37–42.
- Tošić, A., Škraba, D., Nikolić, V., Čanak Atlagić, J., Mrdak, D., Simonović, P. (2016). Haplotype diversity of brown trout in the broader Iron Gate area. *Turkish Journal of Zoology*, **40**, 655–662. DOI: 10.3906/zoo-1510-54
- Tsigenopoulos, C. S., Berrebi, P. (2000). Molecular phylogeny of North Mediterranean freshwater barbs (Genus *Barbus*: Cyprinidae) inferred from cytochrome *b* sequences: biogeographic and systematics implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **14**, 165–179.
- Turan, D., Kottelat, M. & Engin, S. (2009). Two new species of trouts, resident and migratory, sympatric in streams of northern Anatolia (Salmoniformes: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **20**, 333–364.
- Turan, D., Kottelat, M. & Bektas, Y. (2011). *Salmo tigridis*, a new species of trout from the Tigris River, Turkey (Teleostei: Salmonidae). *Zootaxa*, **2993**, 23–33.
- Turan, D., Kottelat, M. & Engin, S. (2012). The trouts of the Mediterranean drainages of southern Anatolia, Turkey, with description of three new species (Teleostei: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **23** (3), 219–236.
- Turan, D., Doğan, E., Kaya, C. & Kanyılmaz, M. (2014). *Salmo kottelati*, a new species of trout from Alakir Stream, draining to the Mediterranean in southern Anatolia, Turkey (Teleostei, Salmonidae). *Zookeys*, **462**, 135–151.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P., Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, **4** (3), 535–538.
- Vera, M., Cortey, M., Sanz, N., Garcia-Marin, J. L. (2010). Maintenance of an endemic lineage of brown trout (*Salmo trutta*) within the Duero river basin. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **48**, 181–187. DOI: 10.1111/j.1439-0469.2009.00547.x.

- Vera, M., Sanz, N., Hansen, M. M., Almodóvar, A., García-Marín, J. L. (2010b). Population and family structure of brown trout, *Salmo trutta*, in a Mediterranean stream. *Marine and Freshwater Research*, **61** (6), 672-681.
- Verspoor, E., O'Sullivan, M., Arnold, A. L., Knox, D., Amiro, P. G. (2002). Restricted matrilineal gene flow and regional differentiation among Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) populations within the Bay of Fundy, eastern Canada. *Heredity*, **89**, 465-472.
- Vigilant, L., Pennington, R., Harpending, H., Kocher, T. D., Wilson, A. C. (1989). Mitochondrial DNA sequences in single hairs from a southern African population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **86**, 9350-9354.
- Vladykov, V. D. (1963). A review of salmonid genera and their broad geographical distribution. Transaction of the Royal Society of Canada, Series IV, Section III, 1, 459-504.
- Volckaert, F. A. M., Hänfling, B., Hellemans, B., Carvalho, G. R. (2002). Timing of the population dynamics of bullhead *Cottus gobio* (Teleostei: Cottidae) during the Pleistocene. *Journal of Evolutionary Biology*, **15**, 930-944.
- Vollmer, N. L., Viricel, A., Wilcox, L., Moore, M. K., Rosel, P. E. (2011). The occurrence of mtDNA heteroplasmy in multiple cetacean species. *Current genetics*, **57** (2), 115-131. DOI: 10.1007/s00294-010-0331-1.
- Vuković, T., Ivanović, B. (1971). Slatkovodne ribe Jugoslavije. Zemaljski muzej, Sarajevo.
- Wandeler, P., Smith, S., Morin, P. A., Pettifor, R. A., Funk, S. M. (2003). Pattern of nuclear DNA degradation over time – a case study in historic teeth samples. *Molecular Ecology*, **12**, 1087-1093.
- Wang, T. Y., Tzeng, C. S., Teng, H. Y., Chang, T. (2007). Phylogeography and Identification of a 187-bp-Long Duplication within the Mitochondrial Control Region of *Formosania lacustre* (Teleostei: Balitoridae). *Zoological Studies*, **46** (5), 569-582.
- Wang, Y., Guo, R., Li, H., Zhang, X., Du, J., Song, Z. (2011). The complete mitochondrial genome of the Sichuan taimen (*Hucho bleekeri*): Repetitive sequences in the control region and phylogenetic implications for Salmonidae. *Marine Genomics*, **4**, 221-228. DOI: 10.1016/j.margen.2011.06.003.
- Ward, R. D., Billington, N., Hebert, P. D. N. (1989). Allozyme and mitochondrial DNA variation in populations of walleye, *Stizostedion vitreum*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **47**, 2074-2084.
- Ward, R. D., Woodward, M., Skibinski, D. O. F. (1994). A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater and anadromous fishes. *Journal of Fish Biology*, **44**, 213-227.
- Weber, I. L., May, P. E. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*, **44**, 388-396.
- Weir, B. S., Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1358-1370.
- Weiss, S., Kummer, H. (1998). Movement of wild and experimentally-stocked brown trout, *Salmo trutta* L., before and after a flood in a small Austrian stream. *Fisheries Management and Ecology*, **5**, 1-11.
- Weiss, S. & Schmutz, S. (1999). Performance of hatcheryreared brown trout and their effects on wild fish in two small Austrian streams. *Transactions of the American Fisheries Society*, **128**, 302-316.
- Weiss, S., Schmutz, S. (1999a). Performance of hatchery-reared brown trout and their effects on wild fish in two small Austrian streams. *Transactions of the American Fisheries Society*, **128**, 302-316.
- Weiss, S., Antunes, A., Schlötterer, C., Alexandrino, P. (2000). Mitochondrial haplotype diversity among Portuguese brown trout *Salmo trutta* L. populations: relevance to the post-Pleistocene recolonization of northern Europe. *Molecular Ecology*, **9**, 691-698.
- Weiss, S., Schlötterer, C., Waidbacher, H., Jungwirth, M. (2001). Haplotype (mtDNA) diversity of brown trout *Salmo trutta* in tributaries of the Austrian Danube: massive introgression of Atlantic basin fish—by man or nature? *Molecular Ecology*, **10** (5), 1241-1246.

- Weissenbach, J., Gyapay, G., Dib, C., Vignal, A., Morissette, J., Millasseau, P., Vayssiex, G., Lathrop, M. (1992). A second-generation linkage map of the human genome. *Nature*, **359** (6398), 794–801.
- Wetjen, M., Cortey, M., Vera, M., Schmidt, T., Schulz, R., García-Marín, J. L. (2016). Occurrence of length polymorphism and heteroplasmy in Brown trout. *Gene Reports*, **6**, 1–7. DOI:10.1016/j.genrep.2016.11.002
- Wheeler, A. (1992). Freshwater fishes of Britain and Europe. Rainbow Books, London, pp. 54-55.
- White, M. M., Martin, H. R. (2009). Structure and conservation of tandem repeats in the mitochondrial DNA control region of the Least Brook lamprey (*Lampetra aepyptera*). *Journal of Molecular Evolution*, **68** (6), 715–723.
- Wintero, A. K., Fredholm, M., Thomsen, P. D. (1992). Variable (dG-dT). (dC-dA) sequences in the porcine genome. *Genomics*, **12**, 281-288.
- Wong, A. K., Yee, H. A., Van de Sande, J. H., Raftner, J. B. (1990). Distribution of CT-rich tracts inversed in vertebrate chromosomes. *Chromosoma* (Berlin), **99**, 344-351.
- Zaccara, S., Trasforini, S., Antognazza, C. M., Puzzi, C., Britton, J. R., Crosa, G. (2015). Morphological and genetic characterization of Sardinian trout *Salmo cettii* Rafinesque, 1810 and their conservation implications. *Hydrobiologia*, **760**, 205–223.
- Zardoya, R., Doadrio, I. (1998). Phylogenetic relationships of Iberian cyprinids: systematics and biogeographical implications. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **265**, 1365–1372.
- Zhang, Y. P., Chen, X. J., Li Y. Y., Fukuhara H. (1992). LEU2 gene homolog in *Kluyveromyces lactis*. *Yeast*, **8** (9), 801-804.
- Zhang, D. X., Hewitt, G. M. (2003). Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular ecology*, **12** (3), 563-584.
- Zhaoxia, C., Yuan, L., Ka Hou, C. (2010). Broader pattern of tandem repeats in the mitochondrial control region of Perciformes. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, **28**, 785-794. DOI: 10.1007/s00343-010-9091-5.
- Zhivotovsky, L. A. (2015). Genetic history of salmonid fishes of the genus *Oncorhynchus*. *Russian Journal of Genetics*, **51** (5), 491-505.

BIOGRAFIJA AUTORA

Dubravka V. Škraba Jurlina rođena je 1. avgusta 1982. godine u Beogradu gde je završila osnovnu školu i Šestu beogradsku gimnaziju. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, smer Biologija, upisala je 2001. godine. Diplomirala je 2010. godine sa prosečnom ocenom 8.94, a diplomski rad pod nazivom „Ilegalni promet divljim i zaštićenim vrstama životinja u Republici Srbiji“ odbranila je sa ocenom 10. Iste godine upisala je doktorske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na smeru Morfologija, sistematika i filogenija životinja i zasnovala radni odnos na Katedri za morfologiju, sistematiku i filogeniju životinja istog fakulteta kao istraživač-pripravnik. U novembru 2011. godine izabrana je u zvanje istraživač-saradnik, dok je 2013. godine izabrana u zvanje asistenta, za koje je 2016. godine reizabrana. Učestvovala je u izvođenju nastave na sledećim predmetima osnovnih studija: Protozoologija, Zoologija beskičmenjaka, Zoologija kičmenjaka i Zoologija vodenih beskičmenjaka sa praktikumom. Doktorske studije je reupisala 2017. godine. Učestvovala je u realizaciji dva nacionalna projekta Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj (br. 143040), odnosno Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (br. 173025), kao i dva međunarodna projekta pod nazivom: “GLOBAQUA (Managing the Effects of Multiple Stressors on Aquatic Ecosystems Under Water Scarcity)” i “Inventarizacija lipljena i pastrmke u Bosni i Hercegovini i Republici Srbiji”. U toku svog naučno-istraživačkog rada objavila je 17 naučnih radova i 11 saopštenja sa naučnih skupova.

Изјава о ауторству

Потписана Дубравка В. Шкраба Јурлина

број индекса Б3040/2017

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Реконструкција еволуционе историје комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta* западног Балкана: диференцијација и диверзитет

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршиола ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Дубравка В. Шкраба Јурлина
Број индекса Б3040/2017
Студијски програм Морфологија, систематика и филогенија животиња
Наслов рада **Реконструкција еволуционе историје комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta* западног Балкана: диференцијација и диверзитет**
Ментори професор др Предраг Симоновић
 професор др Данило Мрдак
Потписана Дубравка В. Шкраба Јурлина

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Реконструкција еволуционе историје комплекса поточне пастрмке *Salmo cf. trutta* западног Балкана: диференцијација и диверзитет

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предала сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучиола.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

Потпис докторанда

У Београду, _____

1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.