

**MALAKOLOGIJA I
ASTAKOLOGIJA U NASTAVI
BIOLOGIJE (208676)
2P+1V+0S 4 ECTS**



Biologija i ekologija

Puno terenskih istraživanja

- Noćne životinje
- Generalno vole dobru kvalitetu vode (indikatori)
 - raznoliko stanište (strukturirano dno, obalna vegetacija)

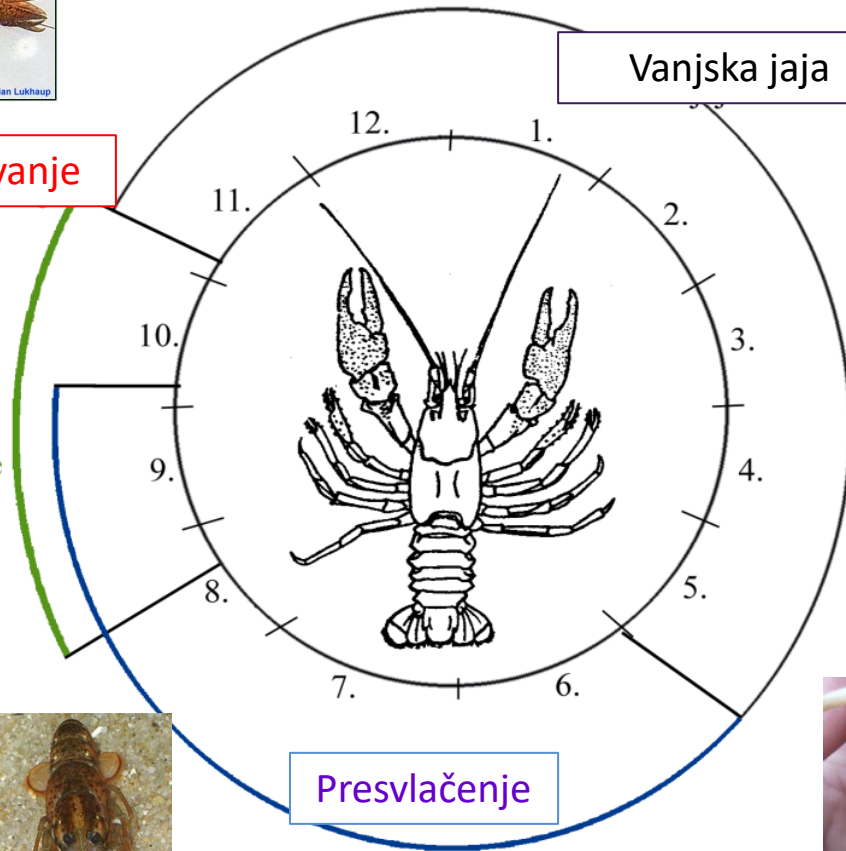


- Aktivni cijelu godinu (manje zimi)
- Razmnožavanje – jesen – ženke nose jaja do idućeg proljeća / ljeta – juvenilni
- Rastu periodično kroz presvlačenja



Razmnožavanje

cementne
žlijezde
+
jaja u
jajnicima



Vanjska jaja

Presvlačenje



Jednom u davna vremena....

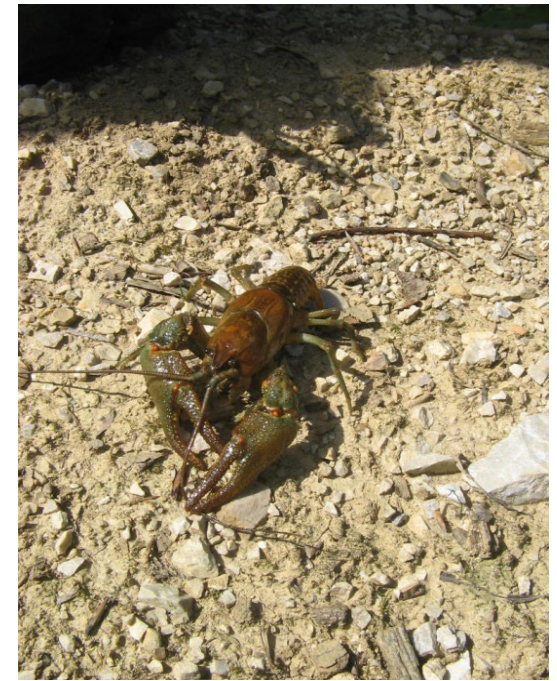
3 vrste – osim nekoliko znanstvenika nitko ih posebno ne razlikuje i jednim ih imenom nazivaju riječni rakovi



**Plemeniti ili riječni rak –
*Astacus astacus***



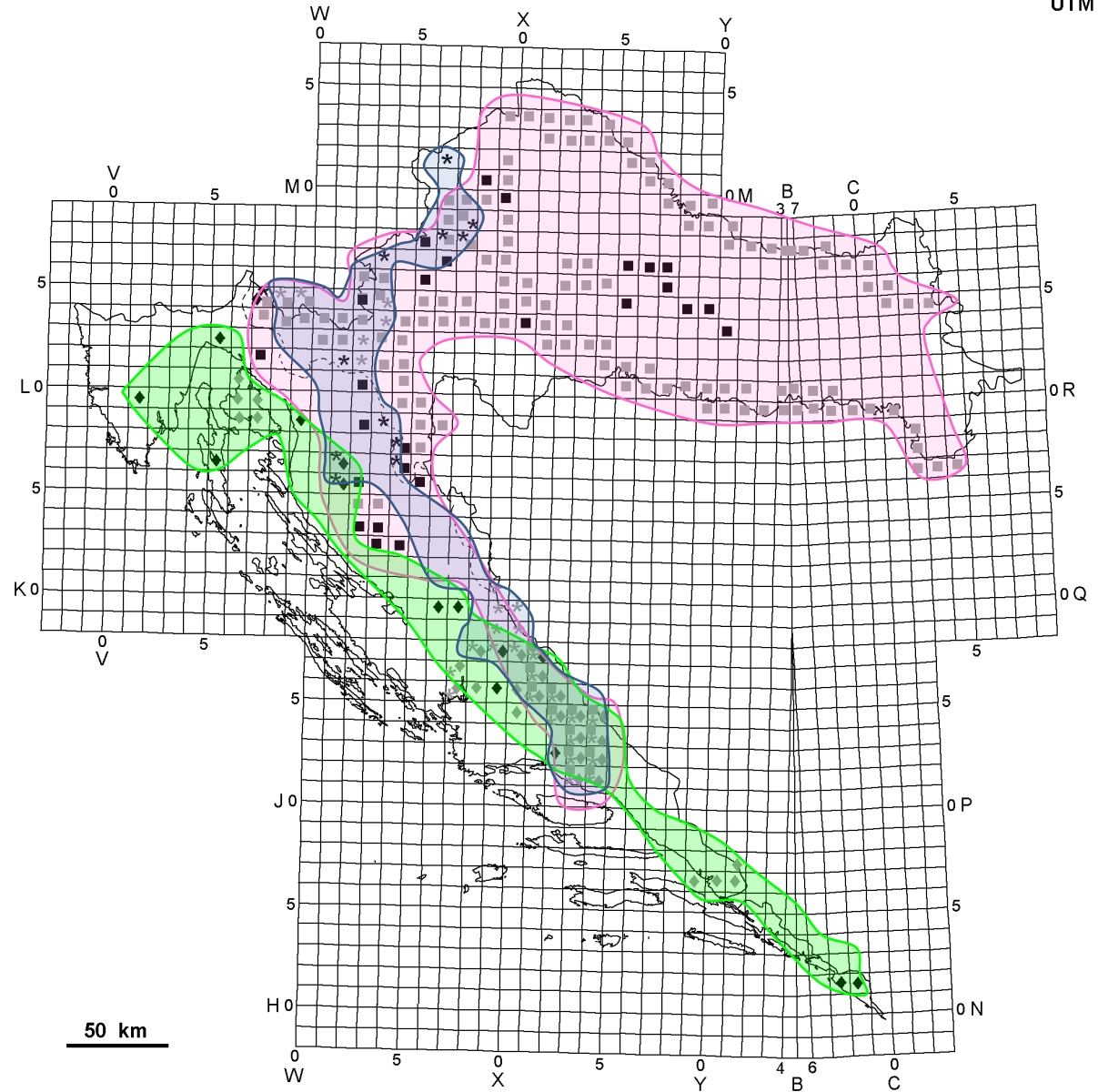
**Bjelonogi ili primorski rak –
*Austropotamobius fulcisanus (pallipes)***



**Potočni ili rak kamenjar –
*Austropotamobius torrentium***

Istraživanja u prošlosti

- taksonomska istraživanja porodice Astacidae (Entz, 1914; S. Karaman, 1929; M. Karaman, 1961, 1962, 1963; Albrecht, 1982),
- tijekom istraživanja pojedinih regija u Hrvatskoj (Grube, 1861; Sket, 1988; Delić, 1993; Gottstein, 1998; Gottstein & Kerovec, 1998; Gottstein et al., 1999; Maguire et al., 2002),
- općenitih istraživanja rakova (Šoštarić, 1888; Car, 1901; Sekulić et al., 1989; Brusina, 1995)
- Često neprecizna, korišteni krivi nazivi vrsta ili sinonimi (isti sinonim za 2 vrste!)

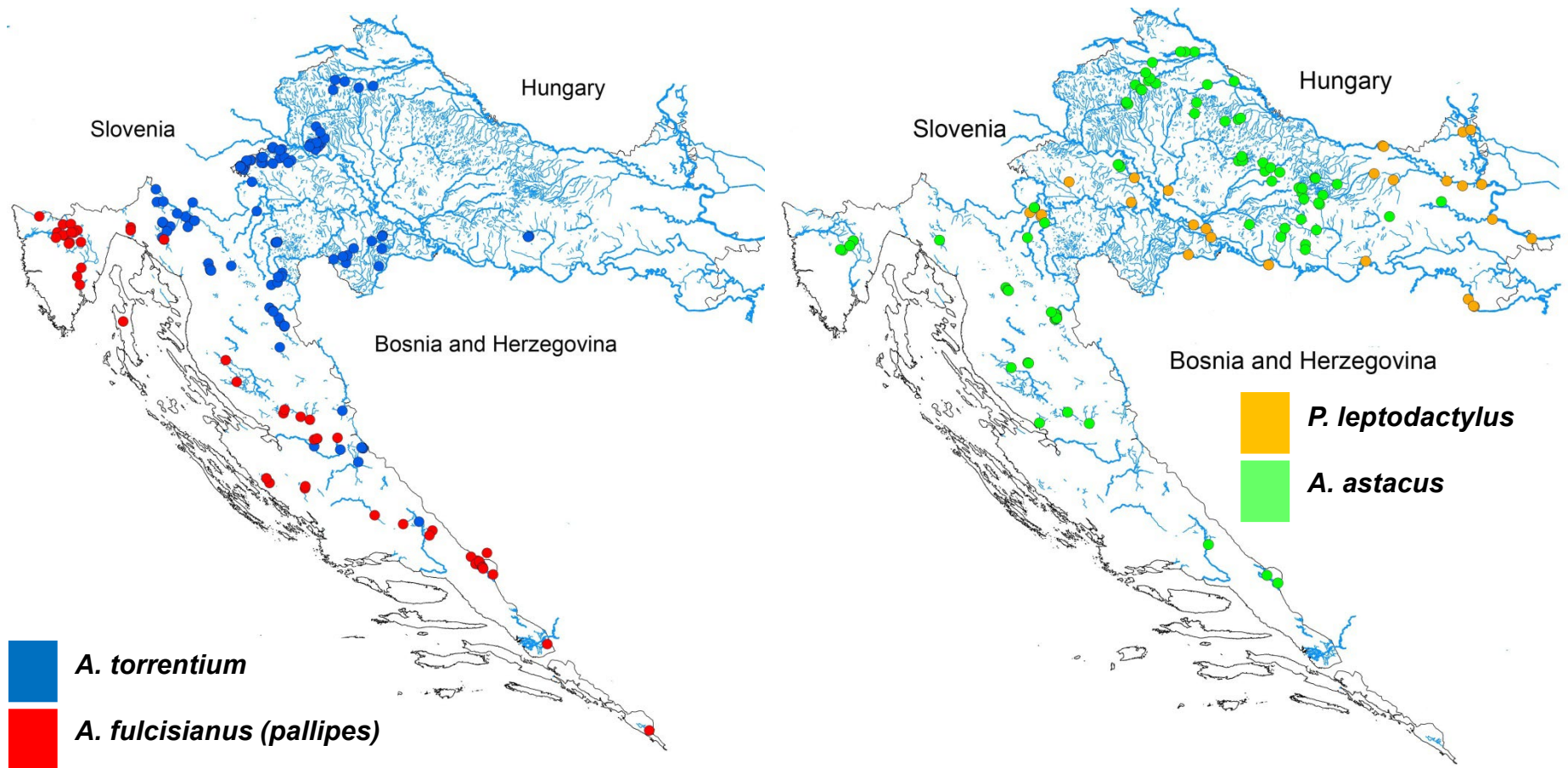


(Maguire & Gottstein-Matočec, 2004)

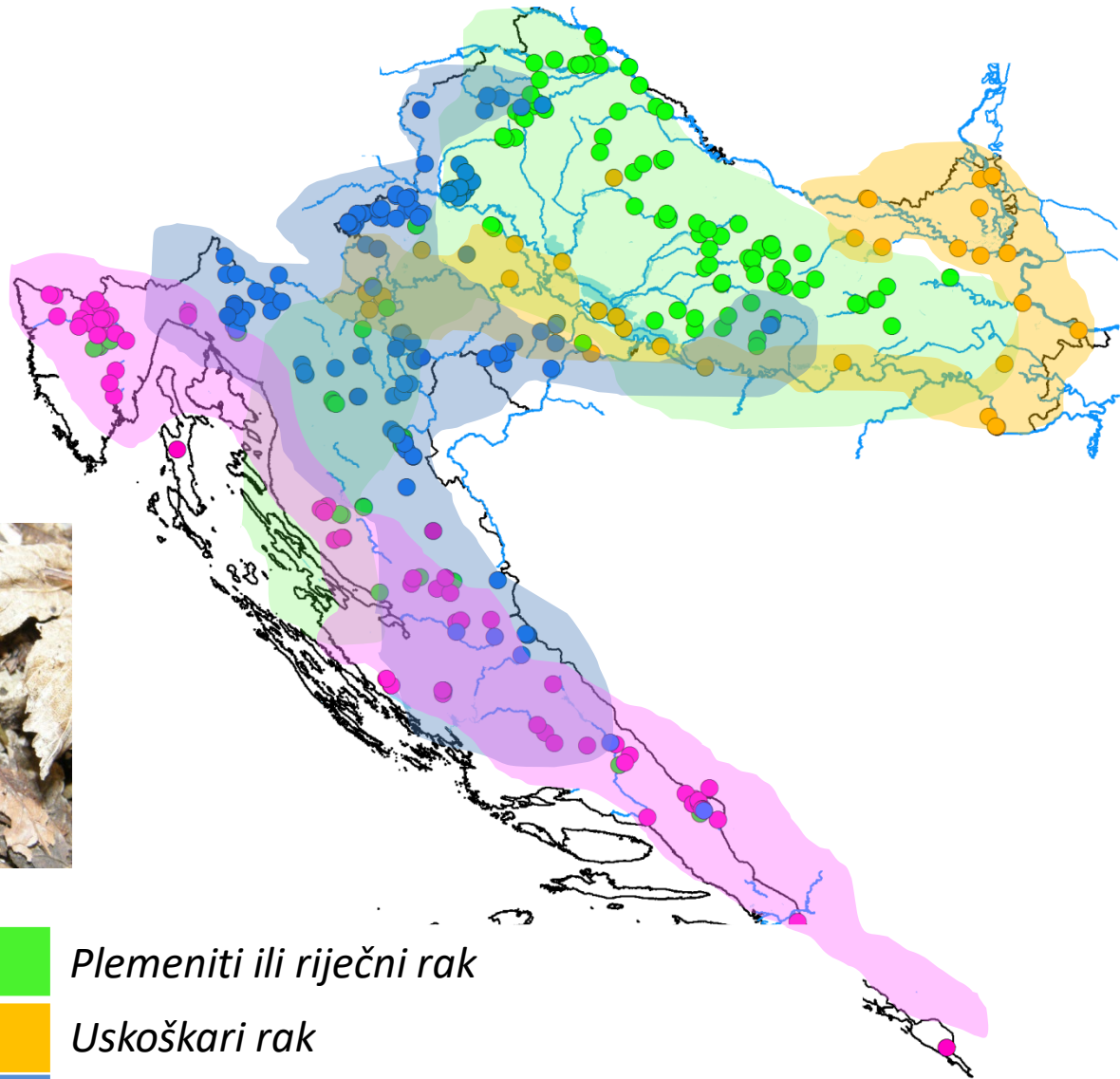
Krajem 90-ih prošlog stoljeća započeli s kontinuiranim istraživanjima rakova porodice Astacidae....od distribucije, preko biologije i ekologije do molekularne filogenije i filogeografije i modeliranja





Istraživanje rasprostranjenosti

- 1998 – 2014 – intenzivno unutar projekata Natura 2000 i NIP
- > 600 sites studied
- Potvrđena prisutnost 3 vrste
 - 1. put utvrđen *P. leptodactylus*

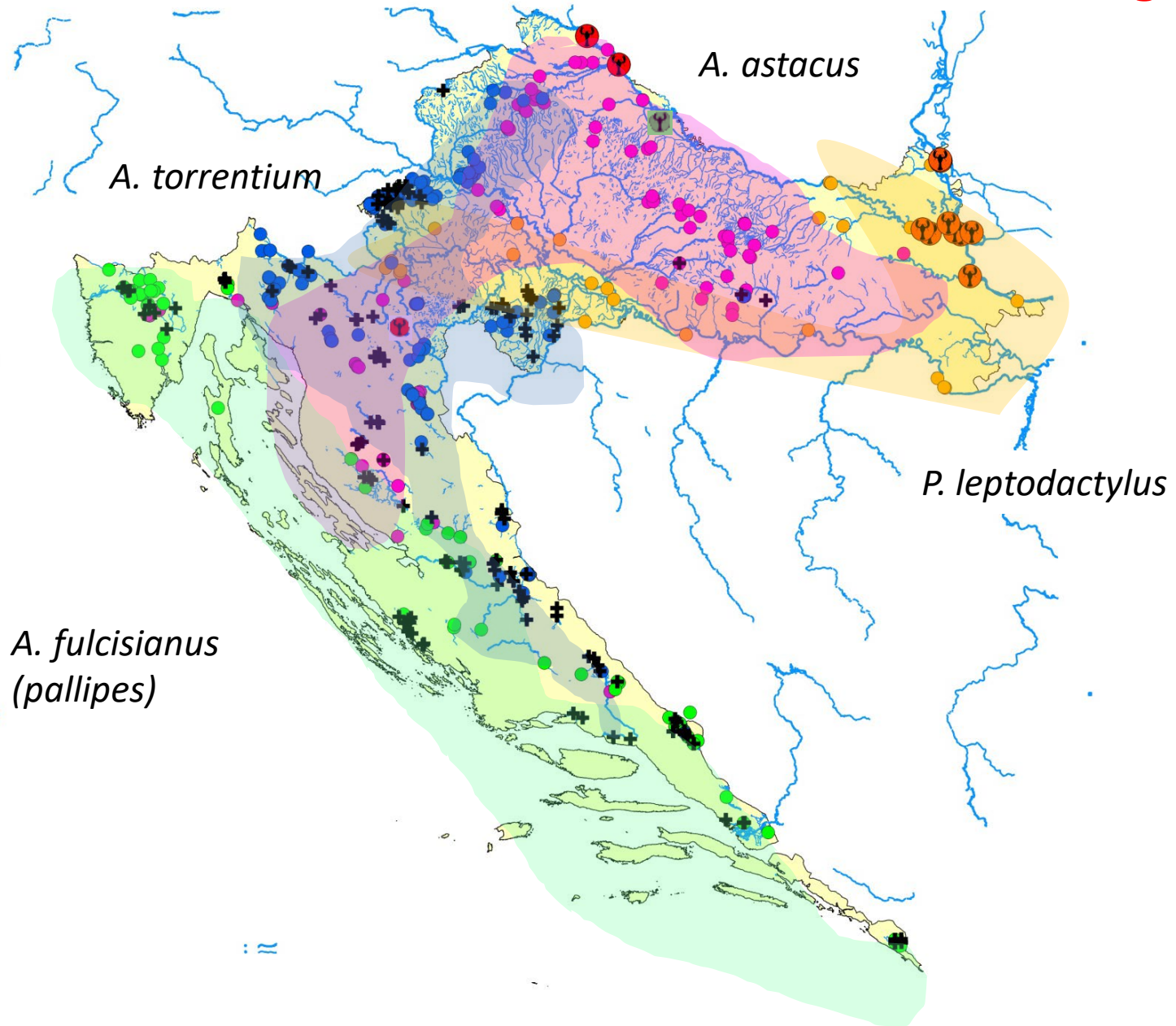


Hrvatska – 4 native vrste



-  *Plemeniti ili riječni rak*
-  *Uskoškari rak*
-  *Potočni rak*
-  *Bjelonogi rak*

> 200 negativnih



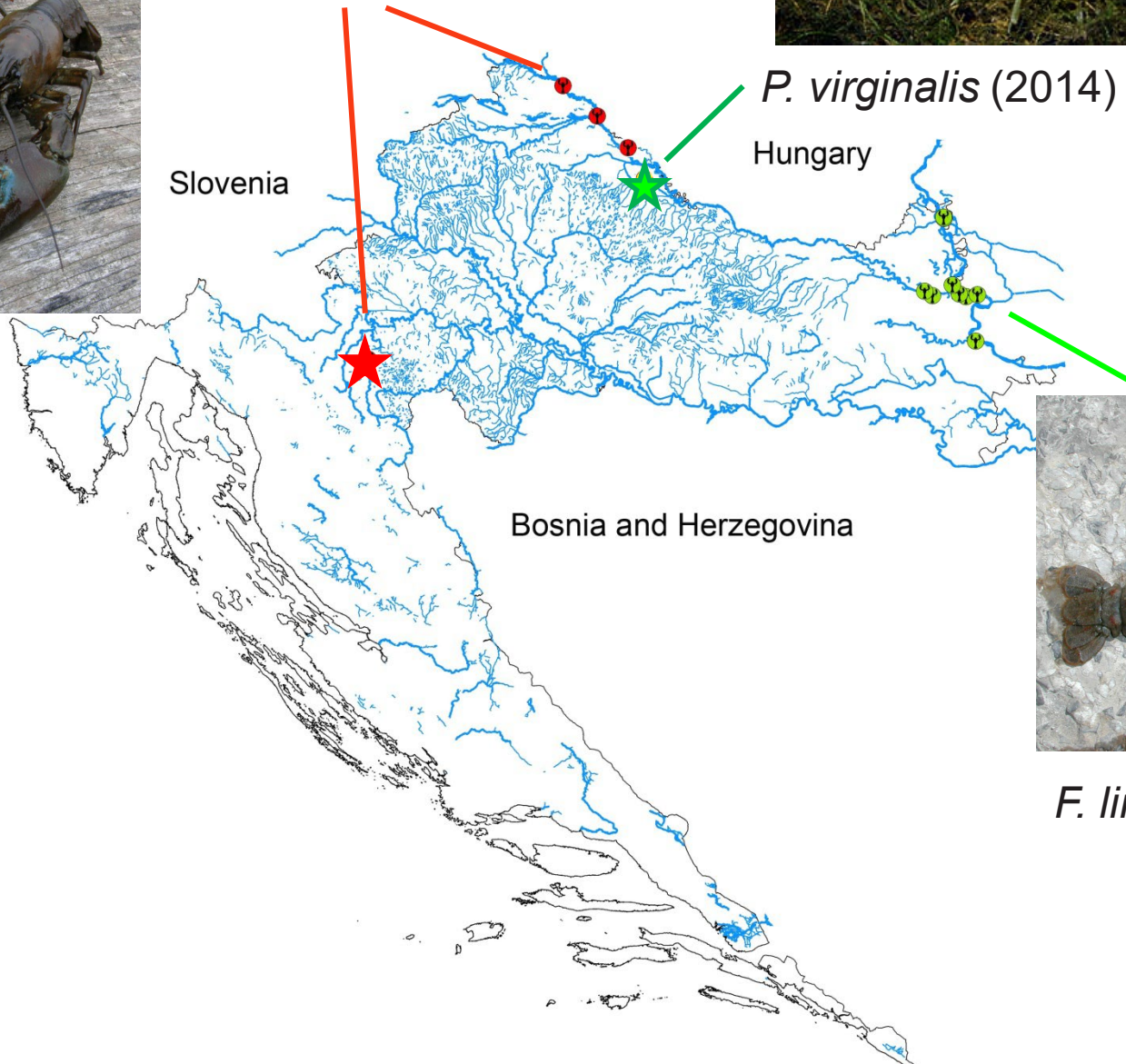
Hrvatska - 3 strane invazivne vrste



P. leniusculus (2008; 2012)



P. virginalis (2014)



F. limosus (2003)

Što smo mogli zaključiti u ovom kratkom periodu?

- stariji i noviji podaci o prisutnosti/odsutnosti rakova

	% izgubljenih populacija
<i>A. astacus</i>	36
!! <i>A. fulcisanus (pallipes)</i>	69
<i>A. torrentium</i>	29

RAZLOZI

- *P. leptodactylus* se širi na zapad kroz Savu – ušao je u Kupu (i pritoke) i Unu i u neke lijeve pritoke Save (potiskuje *A. astacus* i *A. torrentium*)

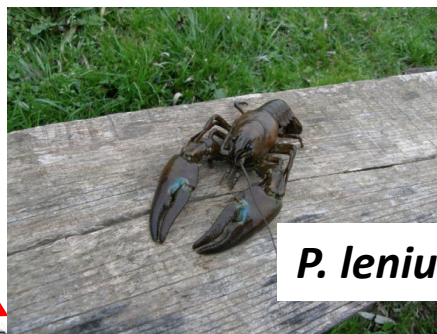


(Maguire et al., 2006)

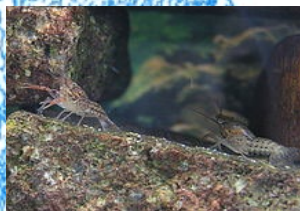
- šire se invazivci (potiskuju/istiskuju *A. astacus* i *P. leptodactylus*)



Cherax quadricarinatus ?



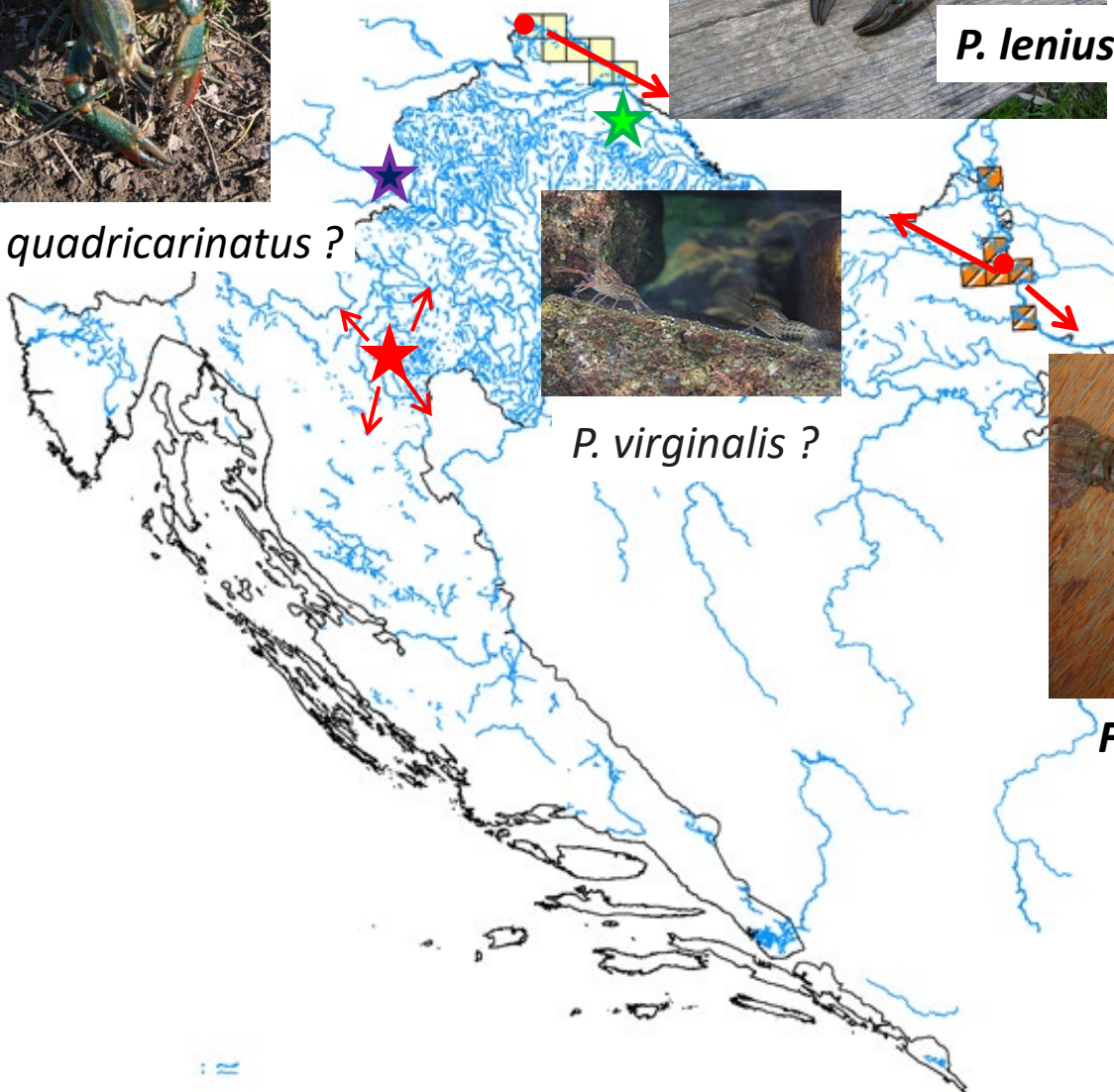
P. leniusculus – 24.4 km/year



P. virginalis ?

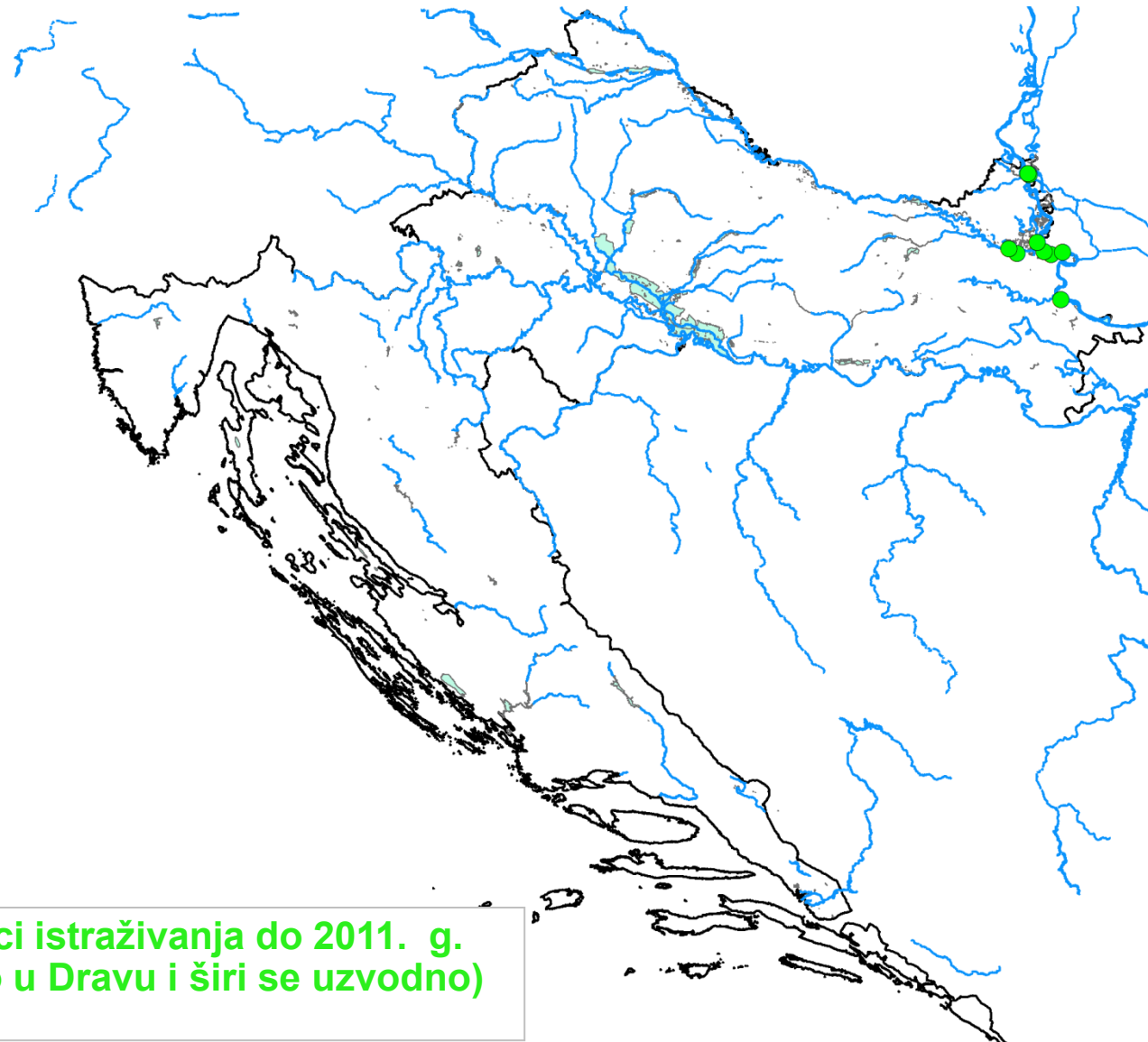


F. limosus – 2.5 km/year

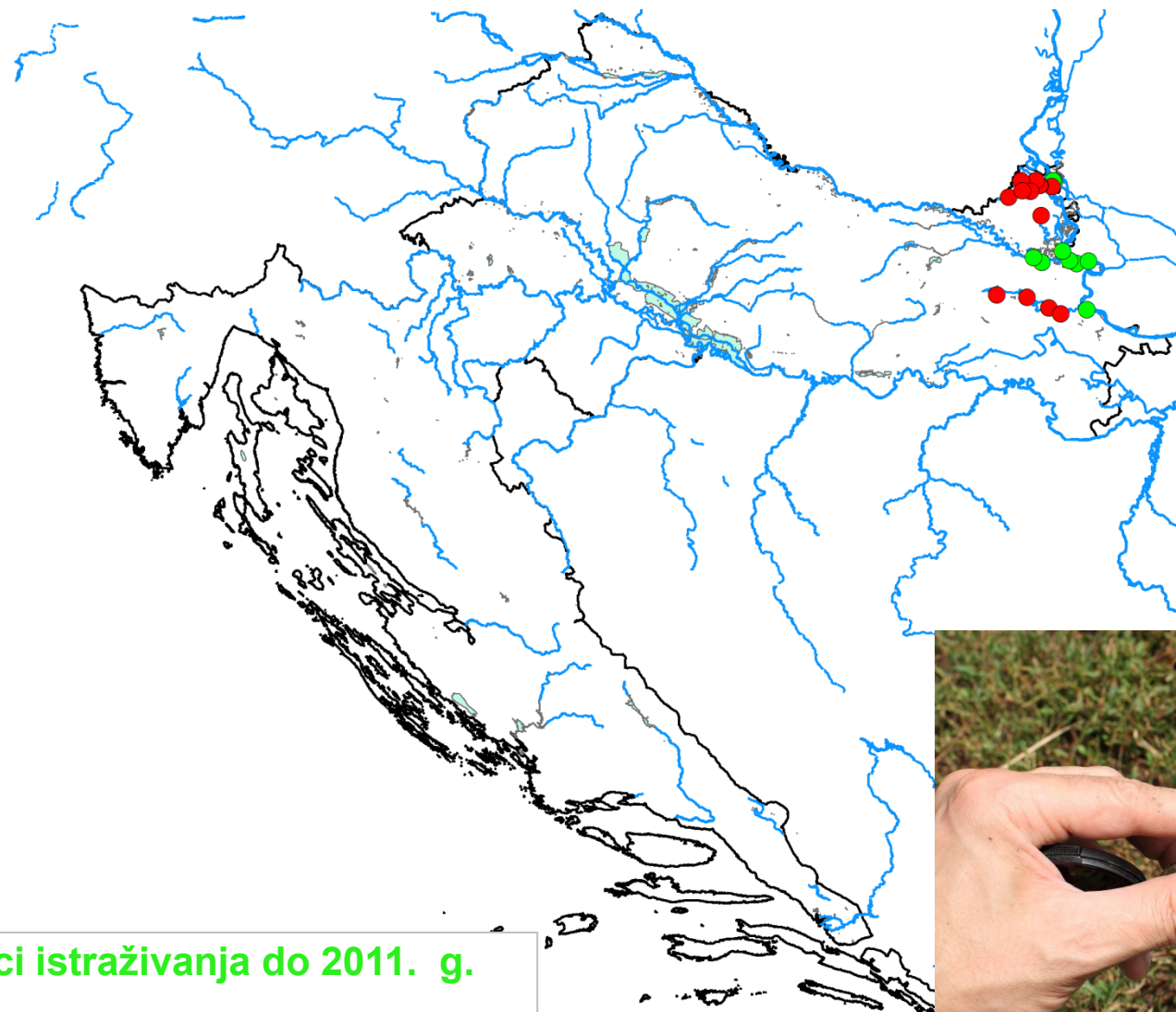


Rasprostranjenost vrste *F. limosus* u Hrvatskoj





podaci istraživanja do 2011. g.
(ušao u Dravu i širi se uzvodno)



podaci istraživanja do 2011. g.

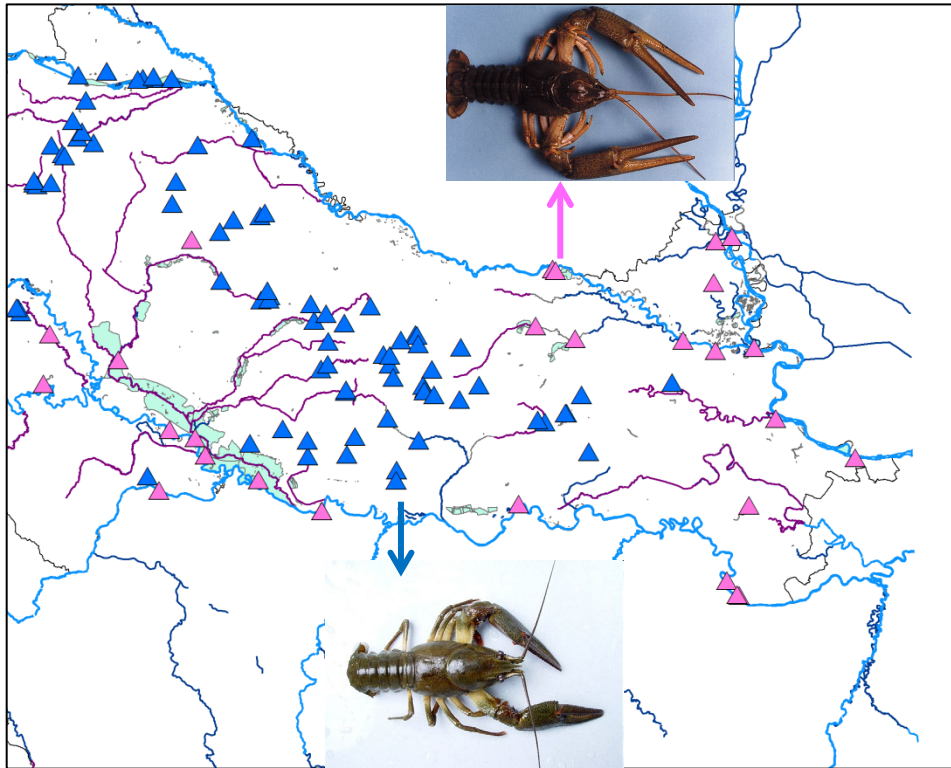
podaci istraživanja 2016. g.



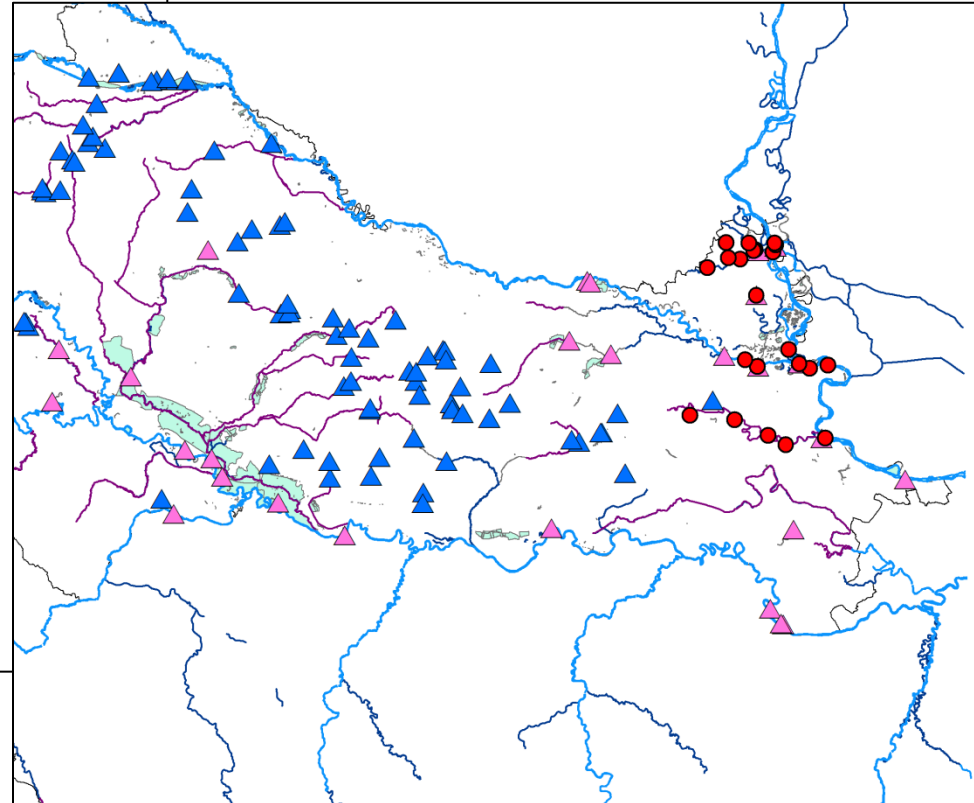
F. limosus

u Hrvatskoj *F. limosus* potiskuje autohtone vrste *Astacus astacus* i *Astacus (Pontastacus) leptodactylus*

A. leptodactylus - uskoškari rak



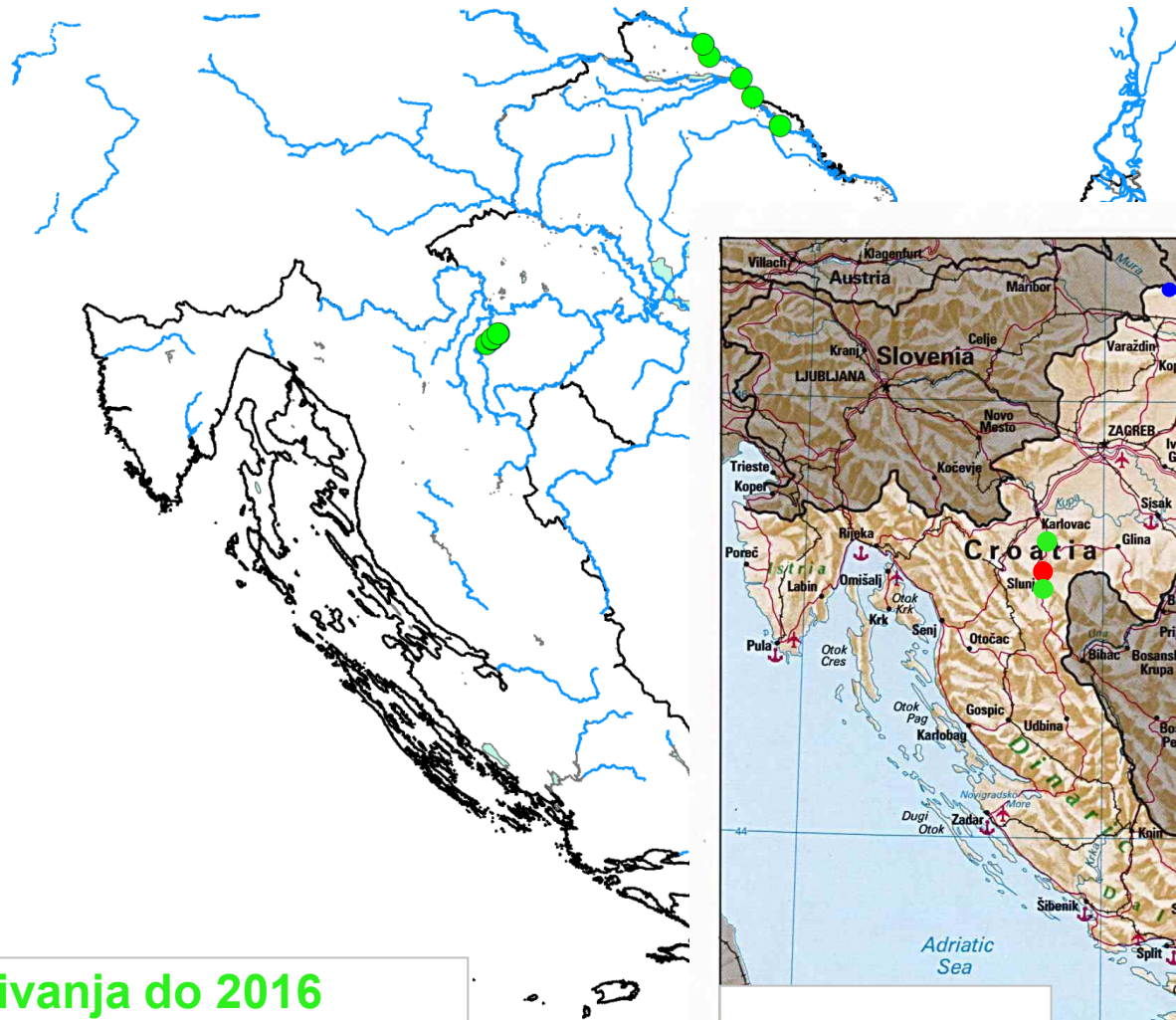
A. astacus - riječni rak



Rasprostranjenost vrste *P. leniusculus* u Hrvatskoj

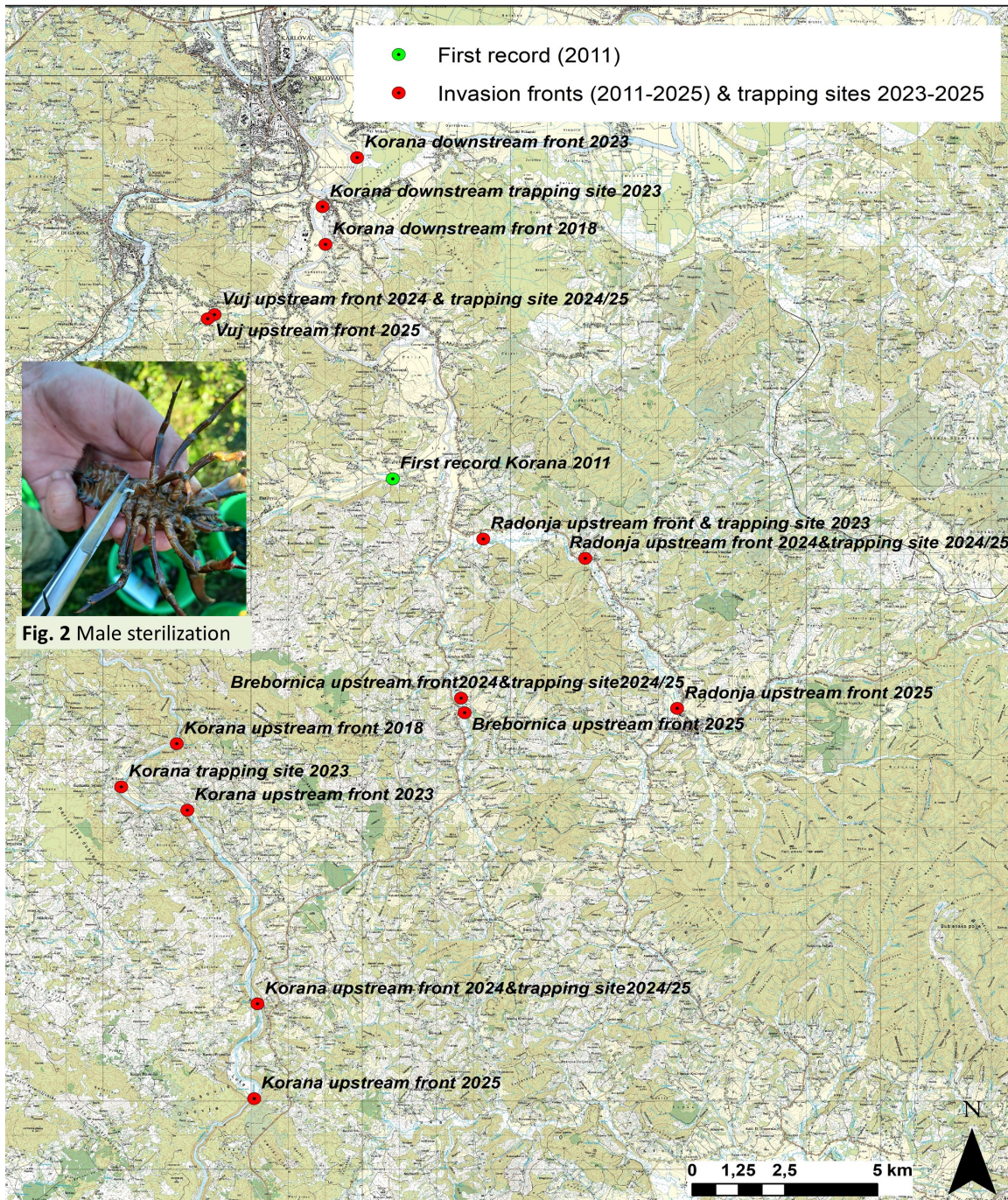
1. nalaz





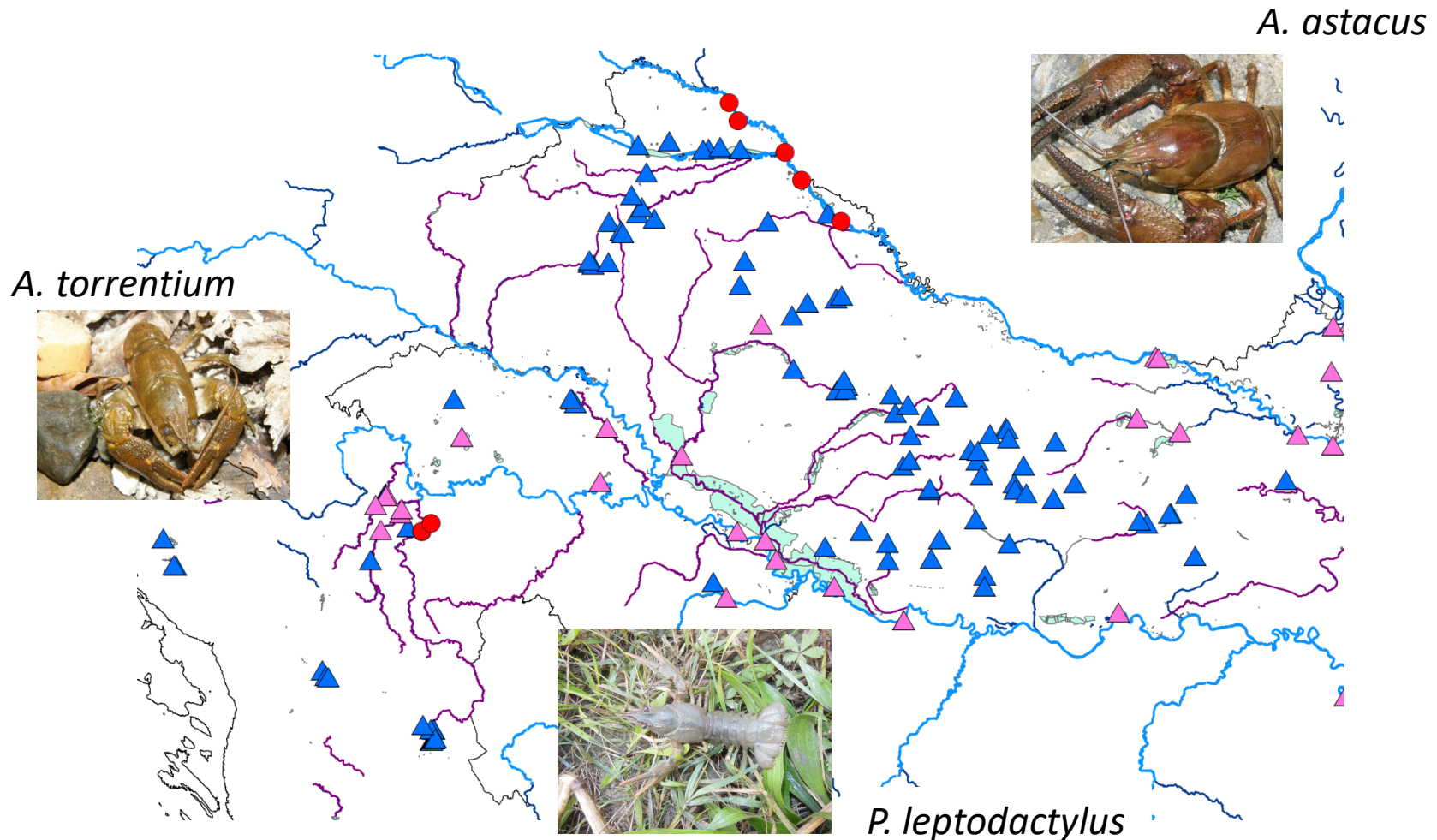
Istraživanja do 2016

- 2007. - 2009.
- 2011
- 2021



P. leniusculus

- u rijekama Muri i Dravi *P. leniusculus* nizvodno potiskuje autohtonu vrstu *Astacus astacus*
- u Korani potiskuje vrstu *P. leptodactylus*
- u pritokama Korane postiskuje *A. torrentium*



- Negativni antropogeni utjecaj na staništa (fragmentacija, obalo utvrde, uklanjanje obalne vegetacije, obradive površine – kemikalije)



- Ekstremni klimatski događaji (dugotrajne suše)



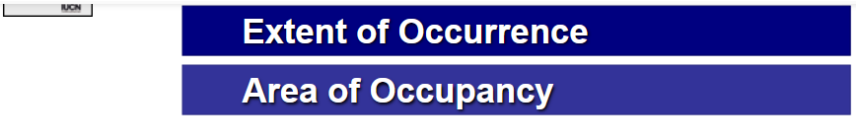
...velike štete populacijama posebno na jugu Hrvatske

Crvena lista rakova Hrvatske prema IUCN kriterijima

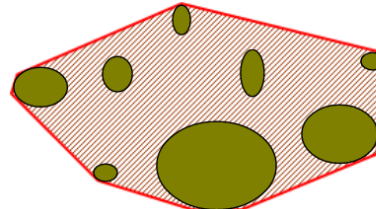
vrsta:	<i>Astacus astacus</i>	<i>Austropotamobius fulcisianus/pallipes</i>	<i>Austropotamobius torrentium</i>
globalno	VU (A2ad)	EN (A2ce)	LC
nacionalno:	VU	EN	VU
Kriterij A:	A2acde	A2acde	A2ace

A. Populacija se smanjuje (u prošlosti, u sadašnjosti ili projekcija)
a- izravnog opažanja; **b-** indeksa učestalosti; **c-** pada u AOO, EOO i/ili kvalitete staništa; **d-** stvarnih ili potencijalnih razina iskorištavanja; **e-** učinaka introduciranih svojti, hibridizacije, patogena, zagađivača, kompetitora ili parazita)

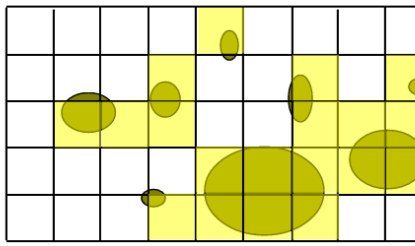
(AOO - area of occupancy, EOO - extent of occurrence)



Extent of Occurrence is the area contained within the shortest continuous imaginary boundary which can be drawn to encompass all known, inferred, or projected sites presently occupied by the taxon.



Area of Occupancy is the area within the extent of occurrence which is actually occupied by the taxon (measured by **overlaying a grid and counting number of occupied cells**).



- Rezultati dosadašnjih istraživanja – osnova za kvalitetnu zaštitu i upravljanje
- **jedan pristup - SENZIBILIZACIJA JAVNOSTI**

<https://www.youtube.com/watch?v=n1bgMxcGI6w>



rak kamenjar, potočni rak
Austropotamobius torrentium



Dužina im je maksimalno do 15 cm pa su najmanja vrsta porodice Astacidae.

Rostrum je kratak i ima oblik jednakostraničnog trokuta. Rostralna rebra su niska, glatka i obično se jako šire prema unazad. Oblik rostruma je promjenjiv. U odnosu na druge vrste rostrum ima manje rostralne trnove. Prostor između rostralnih rebara je

bodljobradi ili prugasti rak
Orconectes limosus



pruge na zatku

Dužina do 10 cm (totalne dužine), a ponekad su i duži.

Rostrum Strane rostruma su paralelne, apeks je dobro izražen.

Tijelo mnoštvo trnova sa strane karapaksa (i ispred i iza ovog brazde). Svjetlosmede su boje, dobro vidljivim tamnosmugunastim prugama preko zatka. Oči široka i okružena (velikano očara)

Ugrožene autohtone vrste slatkovodnih rakova

Maguire, I.

Slatkovodni rakovi

PRIRUČNIK
za inventarizaciju
i praćenje stanja

Zagreb, 2010.

Skolski sat - Rakovi





REPUBLICA HRVATSKA
petrak - žuja 2007 / zbirski
2,80

**INVAZIVNE
STRANE
VRSTE (SV)**

**IMA
KA**



- optimistični znakovi – mnogi kontakti, samoinicijativne akcije, pojačane dojave inspekcija, carine



Konavle, 2009.



Krijumčarenje iz B & H

ljetno 2011, carinska kontrola Cro – B & H



...još uvijek nedostatno

Gastronomska tradicija od 1965

Obiteljski hotel Sv. Mihovil – Trilj

Restoran Čaporice 1965

U prizemlju hotela samješten je a la carte restoran Čaporice 1965 sa prekrasnom terasom iznad rijeke, kao i pripadajući caffè bar.

Također u suterenu hotela nalazi se sala Cetina za grupe sa velikom terasom tik uz rijeku.

Neprestance od 1965. do danas čuveni restoran « Čaporice» mjesto je užitka zaljubljenicima u autohtone cetinske specijalitete ; žabe , rakovi , cetinska pastrva , arambašiči i koštradina, lešo janjetina uz dalmatinsku «šalšu» neke su od nadaleko najpoznatijih delicija .

Auohtona kuhinja , kvalitetna usluga i posvećenost gostu , razlozi su što je restoran Čaporice uvršten među 100 najboljih hrvatskih restorana .

Stari recepti prenose se na mlade generacije s eko porukom očuvanja prirode i povratka zdravoj hrani.

Romantična večera na ljetnoj terasi , obiteljsko slavlje u sali Cetina , poslovni ručak u čuvenom restoranu Čaporice ili gala proslava. U hotelu Sv Mihovil sve je podređeno željama gostiju.



Travanj 2024.

GLAVNA JELA

CETINSKI SPECIJALITETI OD ŽABA I RIJEČNIH RAKOVA

DOMAĆE ŽABE I RAKOVI

ŽABE NA ŽARU S PRŠUTOM

80,00

POHANE ŽABE S TATARSKIM UMAKOM

80,00

ŽABE NA BRUJET

80,00

ŽABE NA DOMAĆI NAČIN
pripremljene na lešo s krumpirom

80,00

RAKOVI NA BUZARU
pripremljeni u umaku od rajčica, bijelog vina i češnjaka

75,00

- drugi pristup – mogući programi upravljanja koji uključuju repopulaciju/ reintrodukciju

- mnoštvo „detalja” mora biti prikupljeno

- odabir staništa (kvaliteta vode, parametri vodotoka, geografska izoliranost (od invazivaca i ljudskog utjecaja)) – ARK SITES



- dobro poznavanje - biološke značajke „donorske” populacije
 - ekološke značajke „donorske” populacije

- genetske značajke „donorske” populacije



- da bi se prikupili podaci/rezultati o demografskim, etološkim, ekološkim i genetskim značajkama „donorske” populacije – puno terenskog rada
- kontinuirani terenski izlasci na istu lokaciju (2x mjesečno) – lov rakova

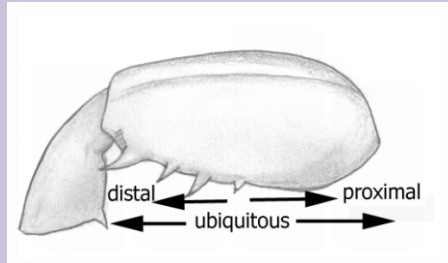


Terenska istraživanja

- Ulovljeni rakovi se određuju do vrste, odredi se svakoj jedinki spol, bilježe se morfometrijske i merističke značajke, fiziološke značajke, značajke staništa, uzimaju se uzorci tkiva za molekularne analize, uzorci za provjeru ima li na njima patogena.

Merističke značajke

Trnovi na 3.
maksilipedu



Rostralna krista

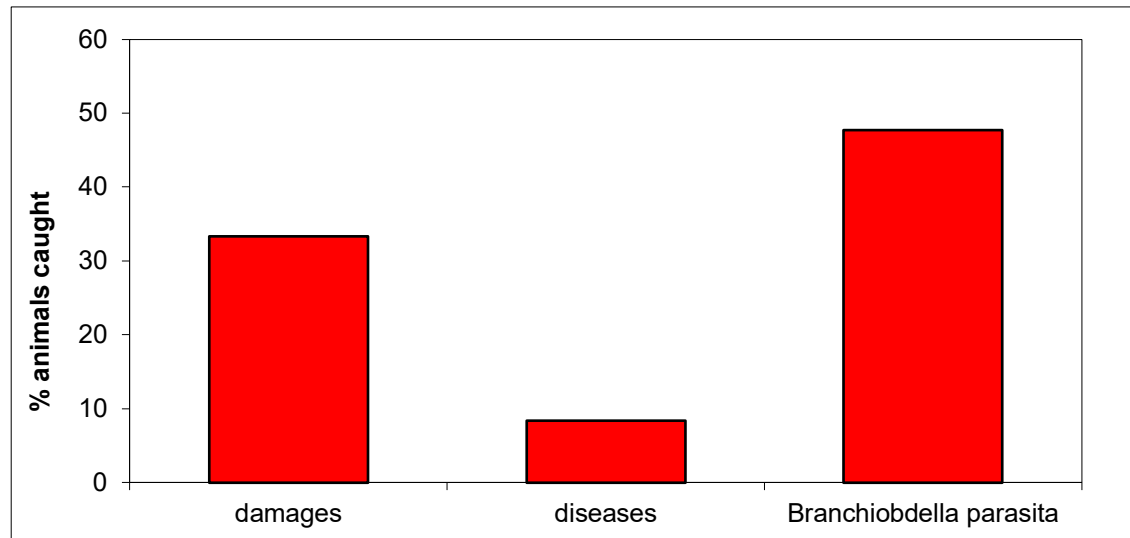
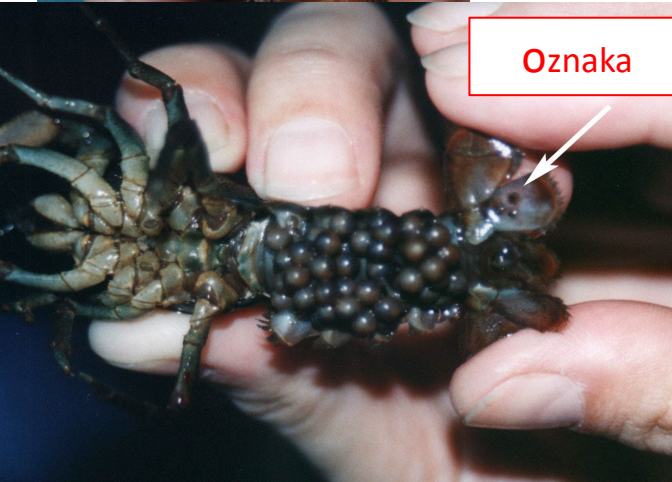
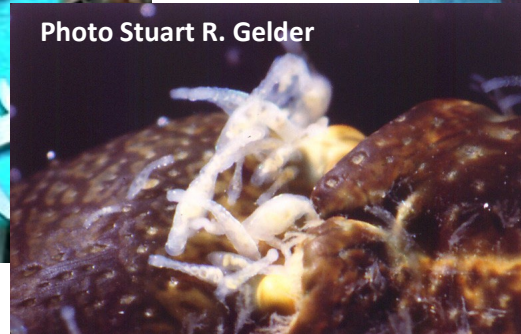


Antenalni egzopod



(Maguire et al., 2002)

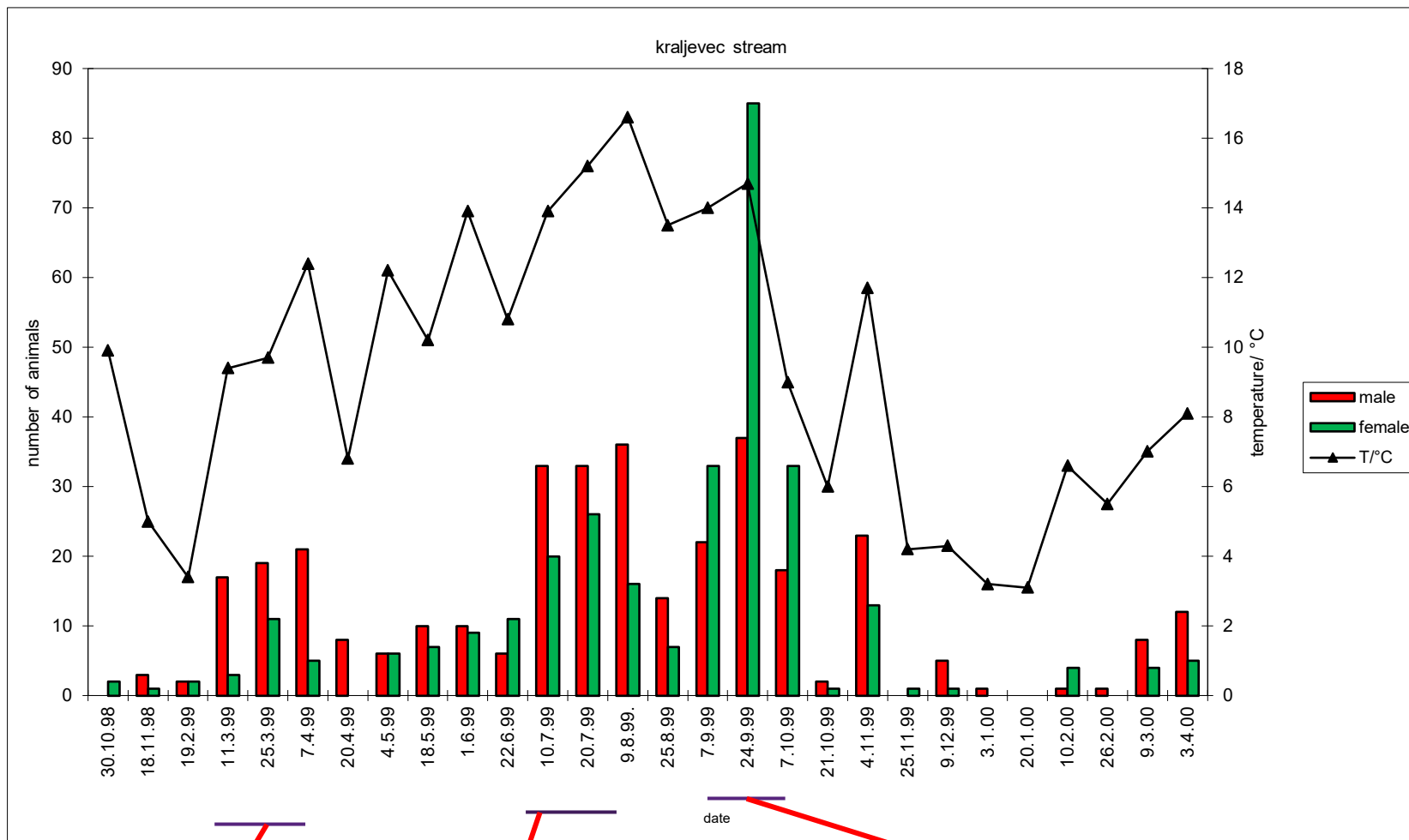
- fiziološki status, prisustvo epibionata, bolesti, povreda, rakovi se označavaju i puštaju natrag u stanište



- fizikalno-kemijski parametri vode se mjere

(Maguire et al., 2002)

- nakon 1.5 – 2 godine dovoljno podataka:
- da se upozna godišnji ciklus vrste i njegova ovisnost o fizikalno-kemijskim parametrima vode

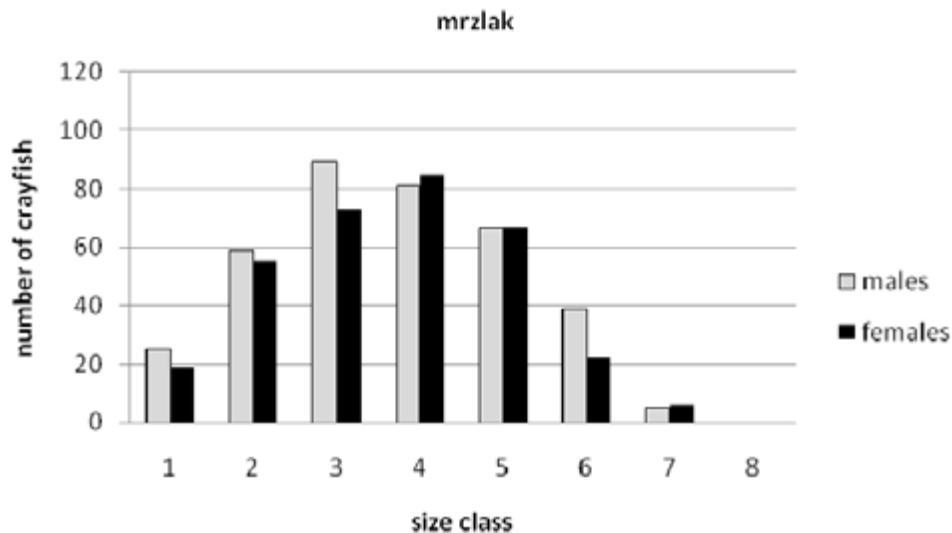


1. Povišenje temp. u godini

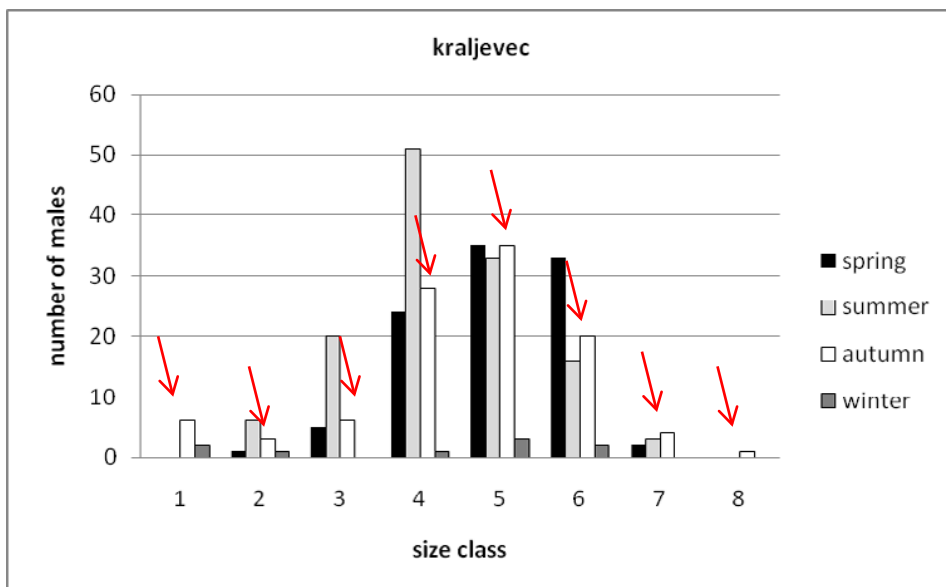
Juvenilni rakovi su se izlegli

Pripreme za parenje

- postojanje i brojnost različitih uzrasnih struktura u populaciji, odnos spolova i njihova aktivnost kroz godinu



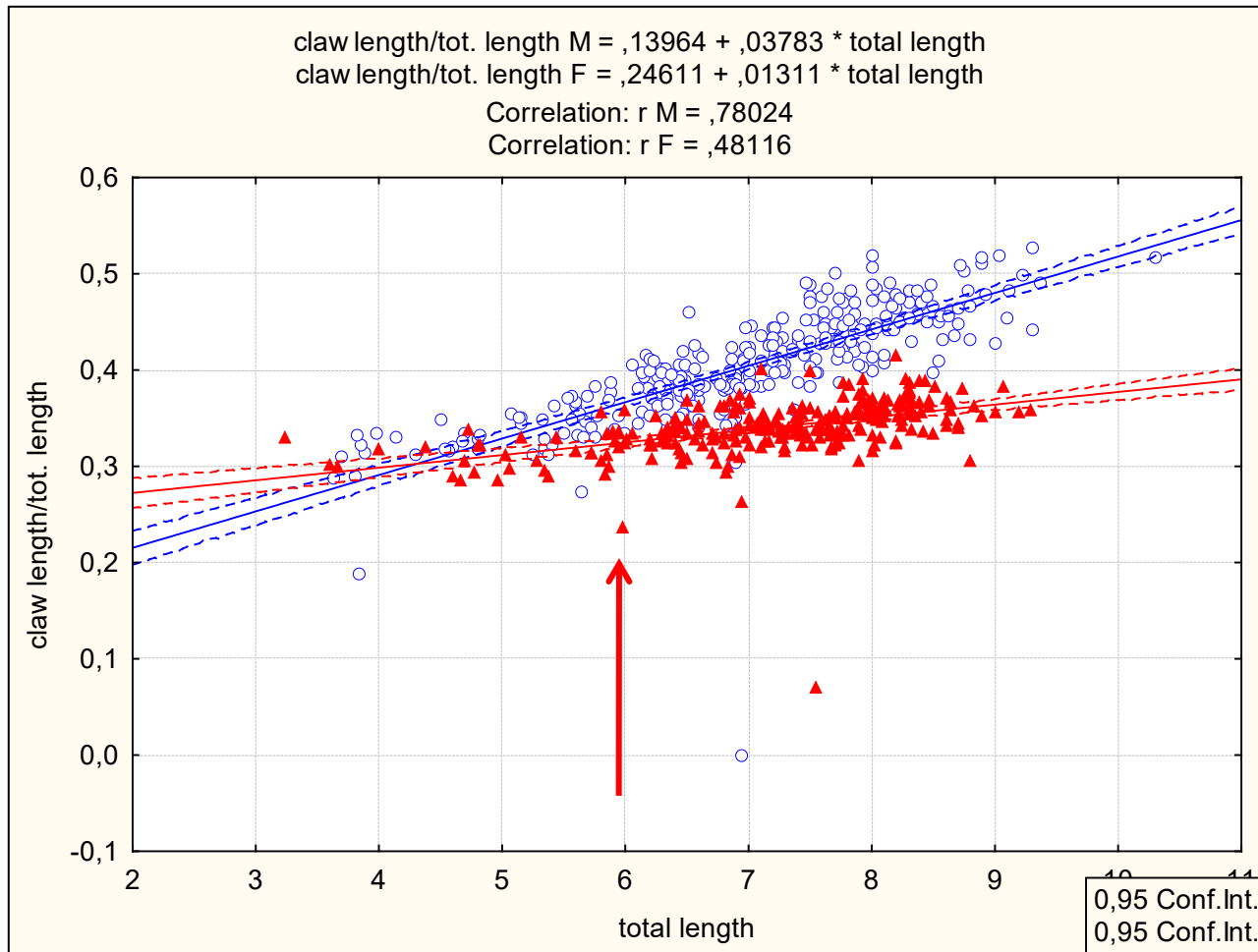
Stabilna populacija – veći udio manjih i srednje velikih rakova, manje najvećih, ujednačeni broj mužjaka i



Svi „uzrasti“ su aktivni u jesen – pripreme za parenje, pojačano hranjenje prije zimskog mirovanja – najbolje vrijeme za terenska istraživanja

- kad nastupa spolna zrelost?

- spolni dimorfizma – spolno zreli mušjaci i ženke (alometrijski rast kliješta u M, i abodmena u Ž)
- u odnos: omjer kliješta/TL i TL



- Spolna zrelost oko 6 cm TL

- Veličina populacije i spacijalna distribucija

1. Ulov- označavanje – ponovni ulov (eng. mark-recapture) – procjena veličine populacije (Schnabel, Schumacher and Eschmeyer Method)

Population	Method	Estimated population size	95% C.L.
Kraljevec	Schnabel	1217.76	1038.57-1471.68
	Schumacher-Eschmeyer	1218.78	1066.41-1421.96
Mrzlak	Schnabel	1246.71	1073.79-1486.01
	Schumacher-Eschmeyer	1373.24	1155.35-1692.42
Sarni	Schnabel	960.62	489.81-1051.34
	Schumacher-Eschmeyer	865.69	579.81-1707.69

2. Ulov po jedinici napora (eng. Catch per unit effort – CPUE) – relativna abundancija



site	sex	TL [mm]	w [g]	FCF [g/mm ³]	CPUE
1	male	49.97585 ± 13.76868	6.57317 ± 6.50822	0.00435 ± 0.00086	2.19756 ± 0.96475
1	female	54.22271 ± 12.92085	6.87879 ± 4.47218	0.00390 ± 0.00074	2.51212 ± 0.99591
2	male	62.50467 ± 9.82911	10.5000 ± 5.34499	0.00402 ± 0.00052	1.13000 ± 0.30529
2	female	65.90153 ± 12.56042	11.30769 ± 5.50468	0.00417 ± 0.00318	1.10370 ± 0.31191
3	male	59.93421 ± 11.54536	10.23684 ± 5.46038	0.00556 ± 0.00659	0.94210 ± 0.24339
3	female	65.24272 ± 8.99621	10.54545 ± 4.51692	0.00358 ± 0.00046	0.95000 ± 0.25023

□

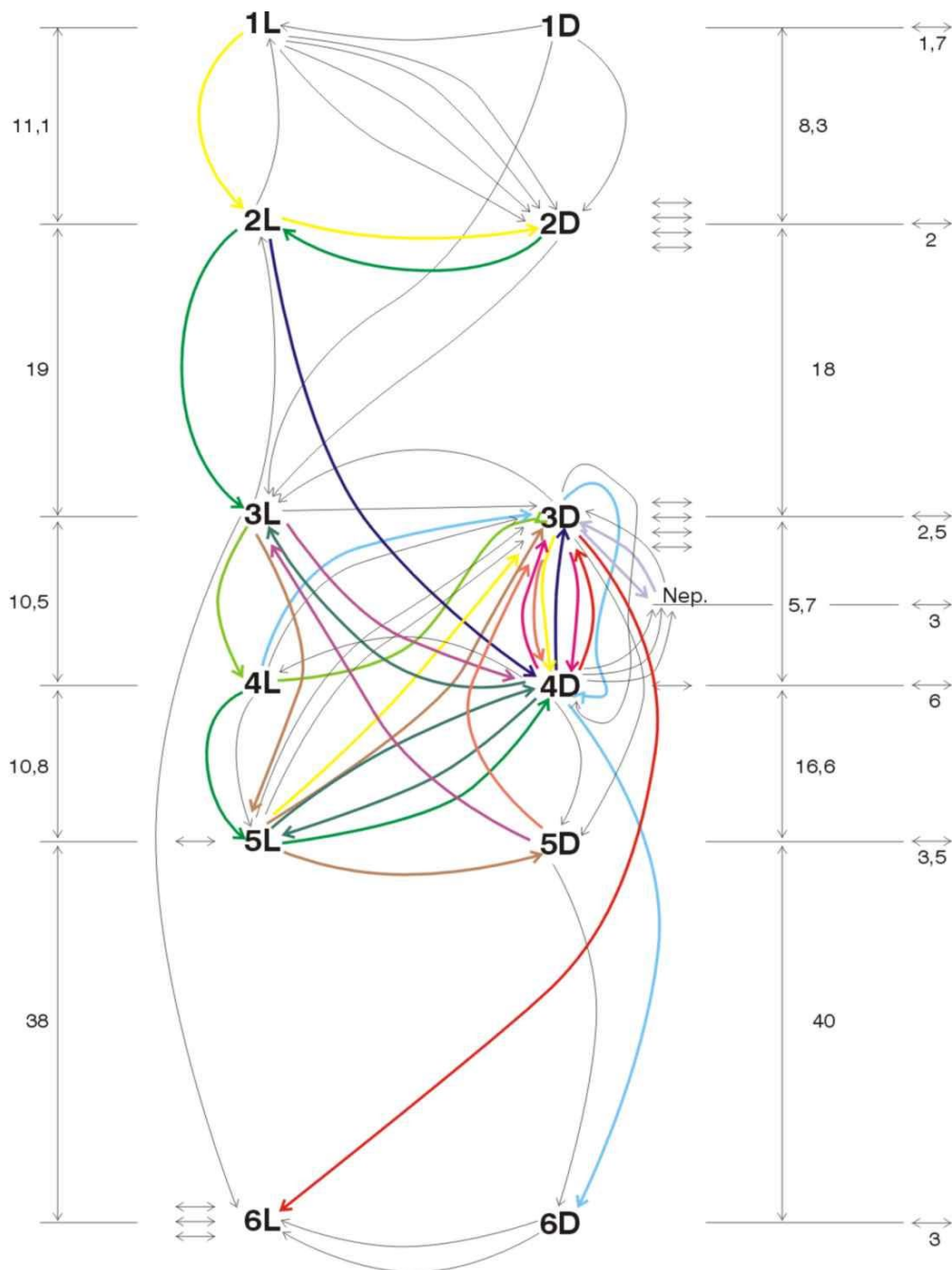
2. Korištenje prostora (isto iz mark-recapture)

- određivanje tipa distribucije,
- home range,
- smjer kretanja.

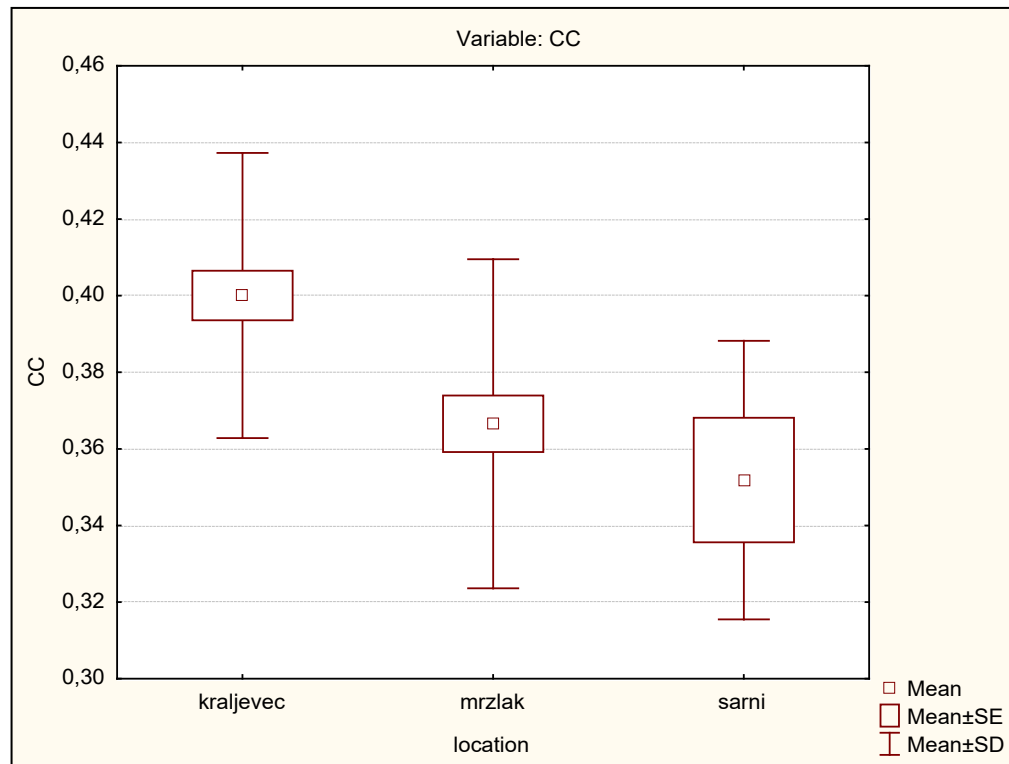
- **agregirana distribucija** – ovisna o staništu

- **mean home range** - 63.94 m²



- uzvodno kretanje češće



- Kondicija rakova u populaciji
 - Fultonov kondicijski faktor ($FCF = W/TL^3$);
 - *Crayfish Constant* ($CC = W/TL + CL + CW$)



Što iz prethodnih podataka možemo iskoristiti u programima repopulacije/reintrodukcij?

- **jesen** je razdoblje najveće aktivnosti svih uzrasnih klasa + rakovi su u najboljoj kondiciji
- najbrojniji su rakovi TL od 5-8 cm (spolno zreli) – mogući
- veličinu populacije relativno jednostavno za procijeniti – na temelju brojnosti izabrati populaciju koja može poslužiti kao donorska
- u slučaju repopulacije/reintrodukcije – rakovi će zauzeti povoljna staništa (agregirana distribucije) – neće se udaljavati previše od mjesta unosa – jednostavno pratiti uspješnost programa
- zaključak: pouzdani podaci o biološkim i ekološkim podacima prikupljeni 
- genetske značajke „donorske” populacije 

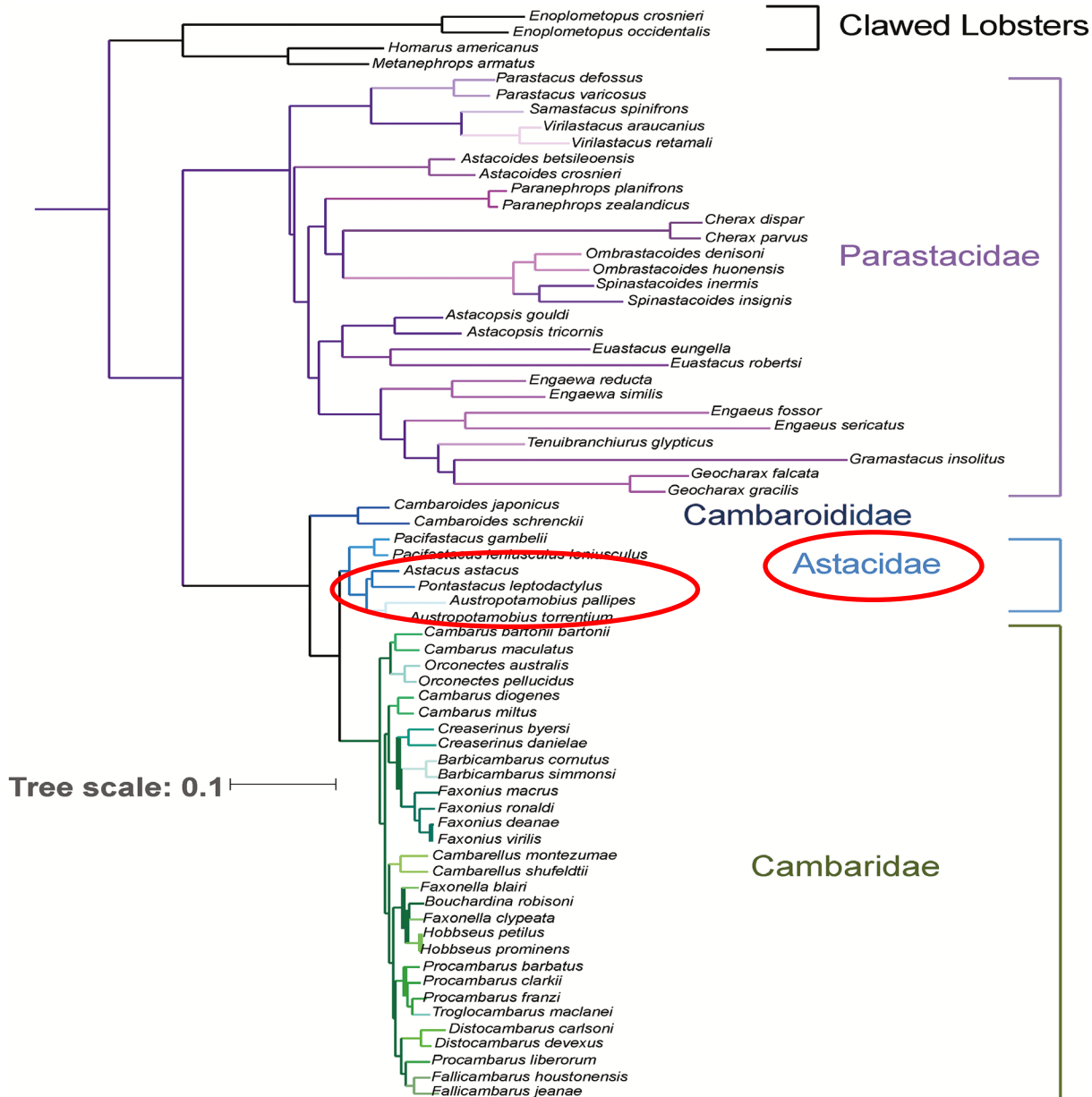


Figure 2. **Phylogenetic estimate of the freshwater crayfishes** based on a subset of data from Stern et al. (2017). Family clades of freshwater crayfish are shown in distinct colors with lobster outgroups shown in black.

Filogenija (grč. *phylon* i *phyle* – vrsta, rod, podrijetlo, srodstvo, *genesis*- nastajanje, postanak, rođenje) je znanstvena disciplina koje se bavi proučavanjem evolucijske (razvojne) povezanosti pojedinih skupina (taksa), koristeći se pri tome morfološkim, anatomskim, embriološkim, fiziološkim, **genetskim, molekularnim, fosilnim i geografskim homologijama**. Krajnji cilj filogenetskih istraživanja jest **rekonstrukcija rodoslovnog stabla nekog organizma (filogram)**.

Filogeografija je znanstvena disciplina koja uz pomoć filogenetskih metoda nastoji rekonstruirati povijesne promjene rasprostranjenosti vrsta na Zemlji.

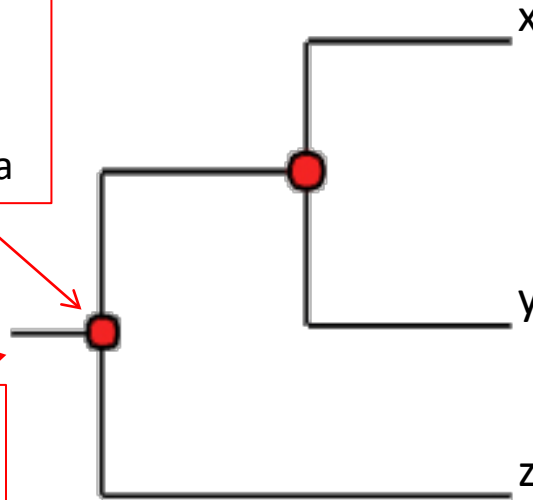
Populacijska genetika je grana genetike koja proučava nasljedne pojave i procese na razini reprodukcijski povezanih grupa organizama – populacija. Istražuje moguće odnose u genetičkoj strukturi populacije, faktorima održavanja i narušavanja njene ravnoteže, dinamiku i prirodu tih promjena. Ukratko, to je disciplina koja proučava gensku raznolikost jedinki u populaciji.

Modeli distribucije vrsta (eng. SDM), ili modeli okolišnih (ili ekoloških) niša (eng. ENM), ili modeli staništa, ili predikcijski modeli distribucije u okolišu - koriste računalne algoritme kako bi predvidjeli distribuciju vrste u geografskom prostoru koristeći okolišne podatke (i distribuciju vrste)

Čvor (node) –
mjesto
neposrednog
zajedničkog pretka

Korijen -
predstavlja
ancestralnu
liniju

Grana - klada



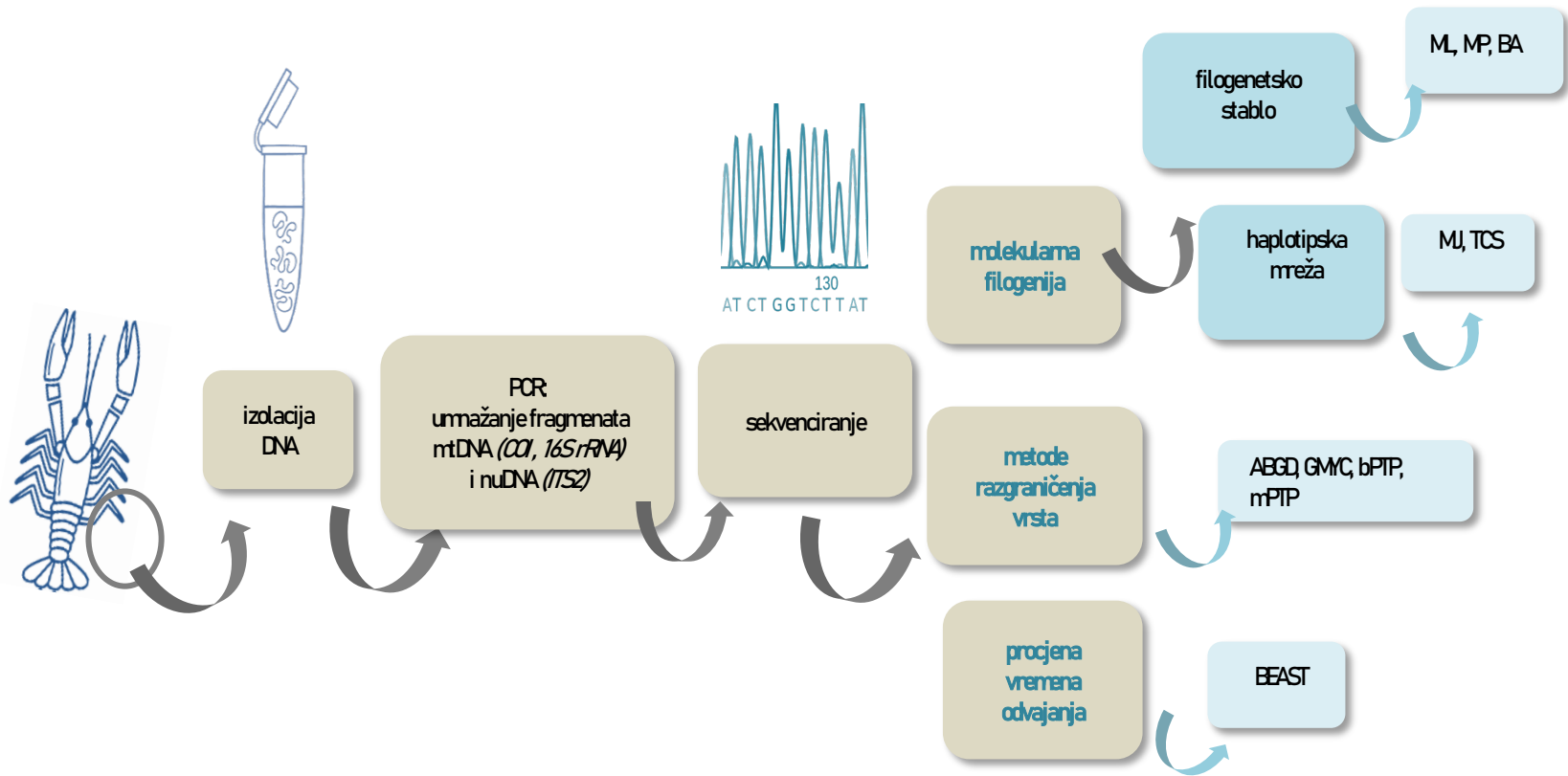
Takson – krajnji potomci –
sestrinski taksoni (x i y) dijele
neposrednog zajedničkog pretka

Haplotipovi (molekularna
filogenija) - jedinstvena
kombinacija genetičkih biljega
prisutna u uzorku

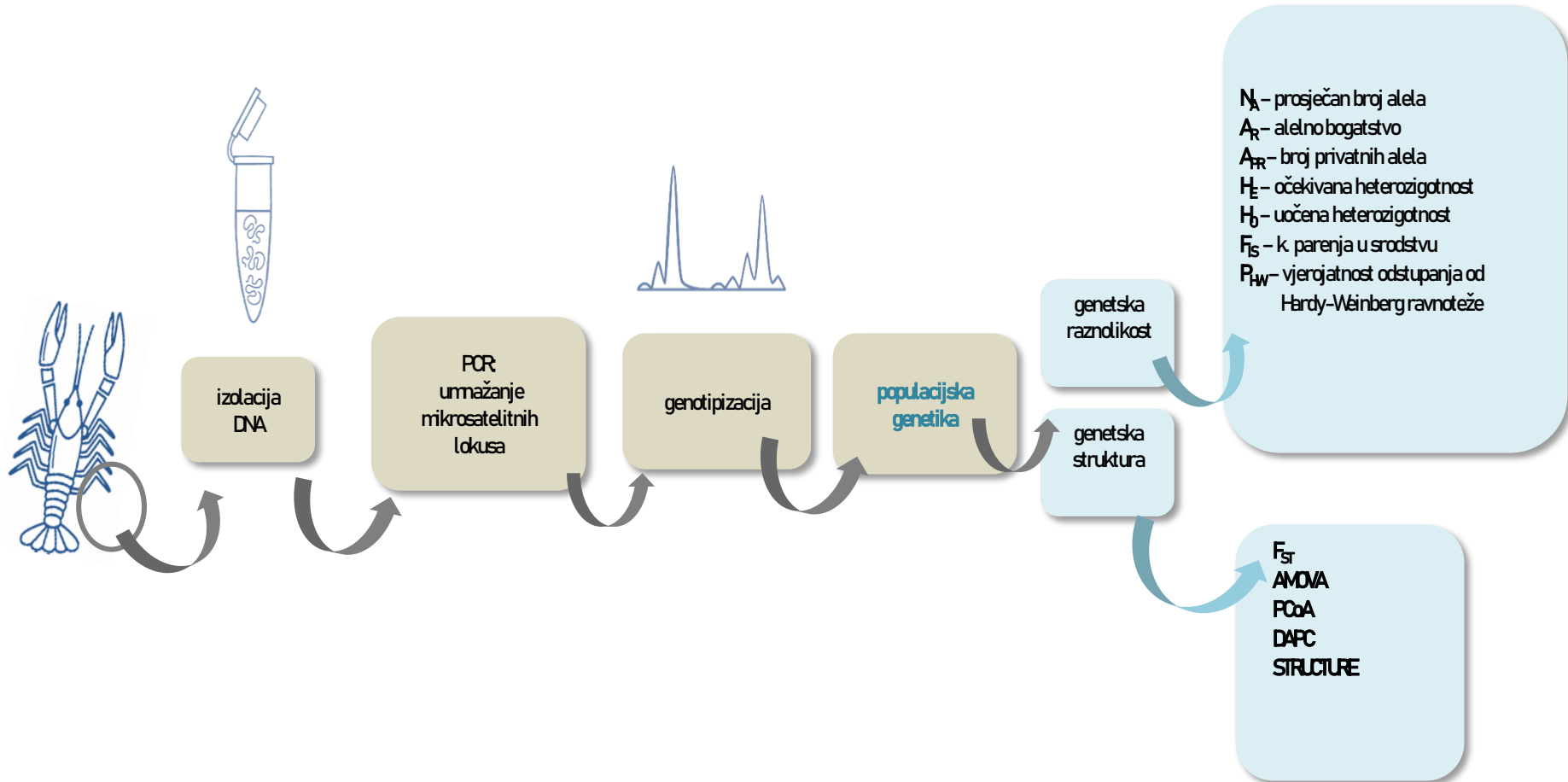
Filogenija, filogeografija i populacijska genetika & budućnost



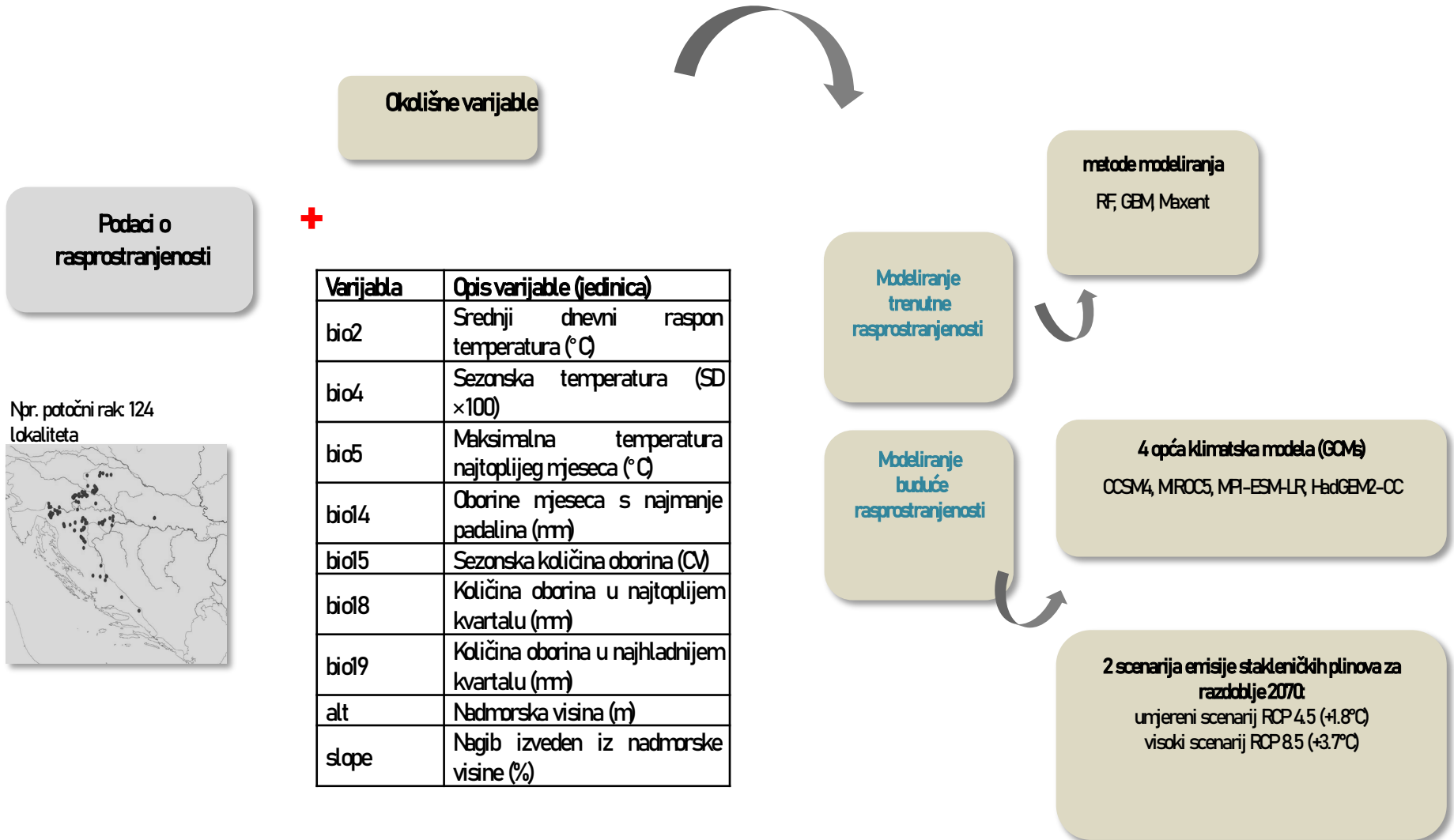
Molekularna filogenija



Populacijska genetika



Modeli povodnosti staništa

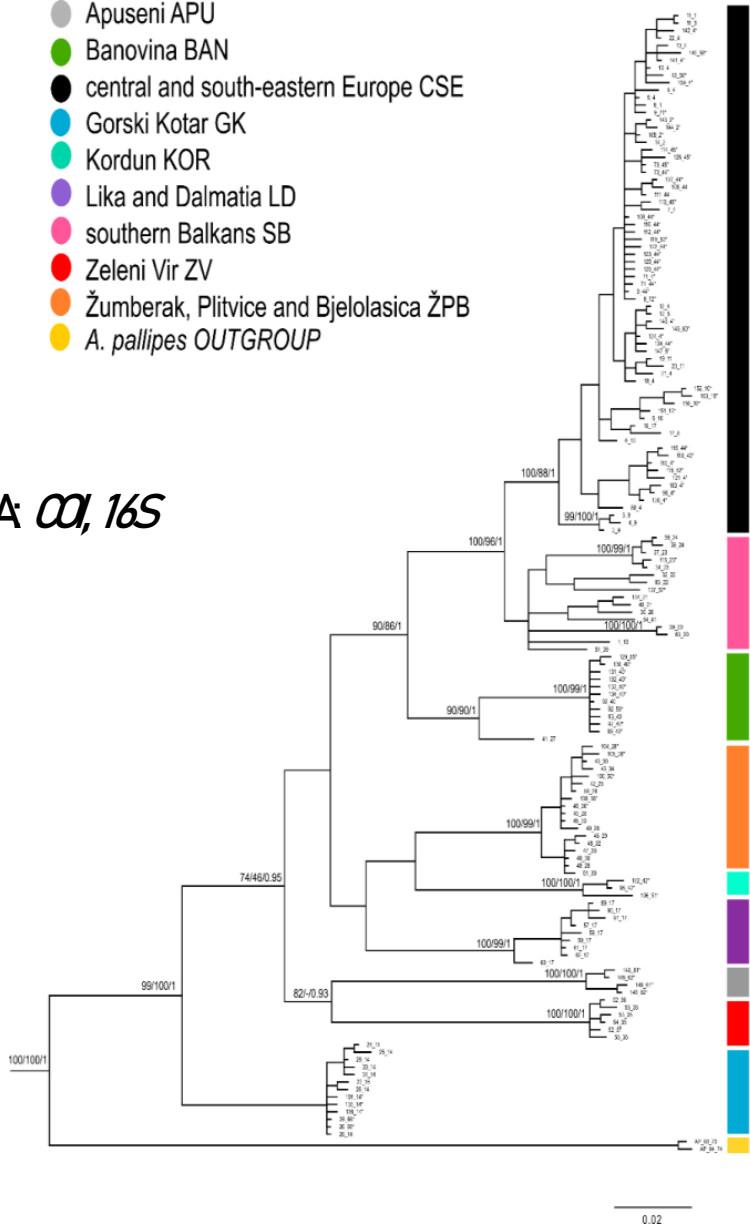


Rekonstrukcija filogenetskih odnosa

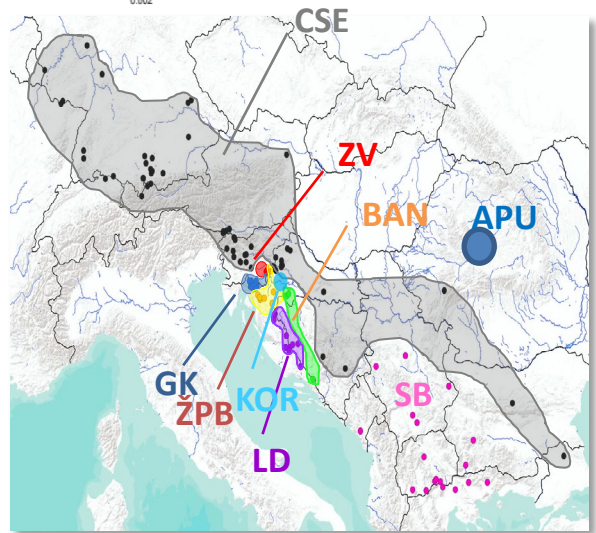
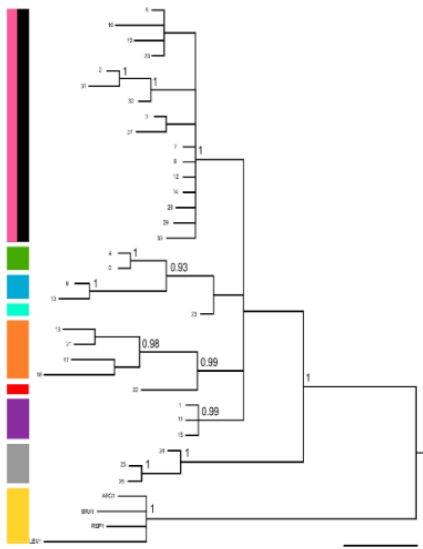
(i) filogenetsko stablo: BA, ML, MP

- Apuseni APU
- Banovina BAN
- central and south-eastern Europe CSE
- Gorski Kotar GK
- Kordun KOR
- Lika and Dalmatia LD
- southern Balkans SB
- Zeleni Vir ZV
- Žumberak, Plitvice and Bjelolasica ŽPB
- *A. pallipes* OUTGROUP

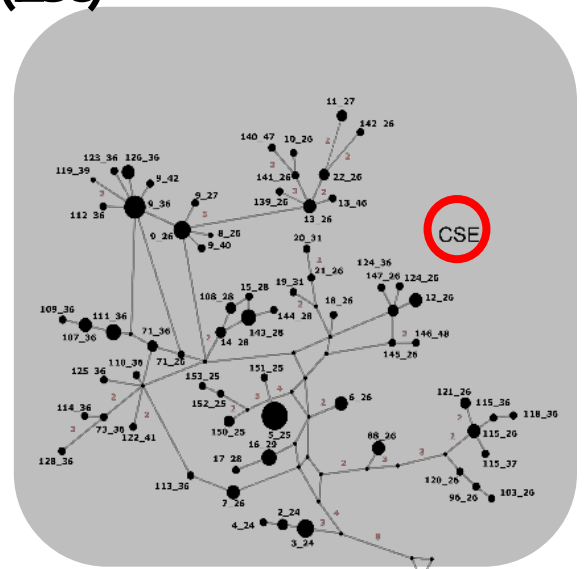
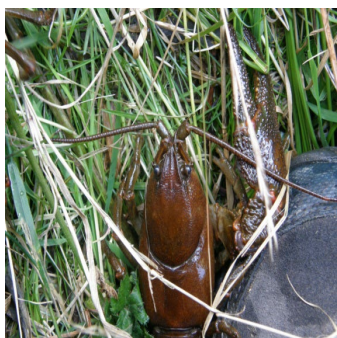
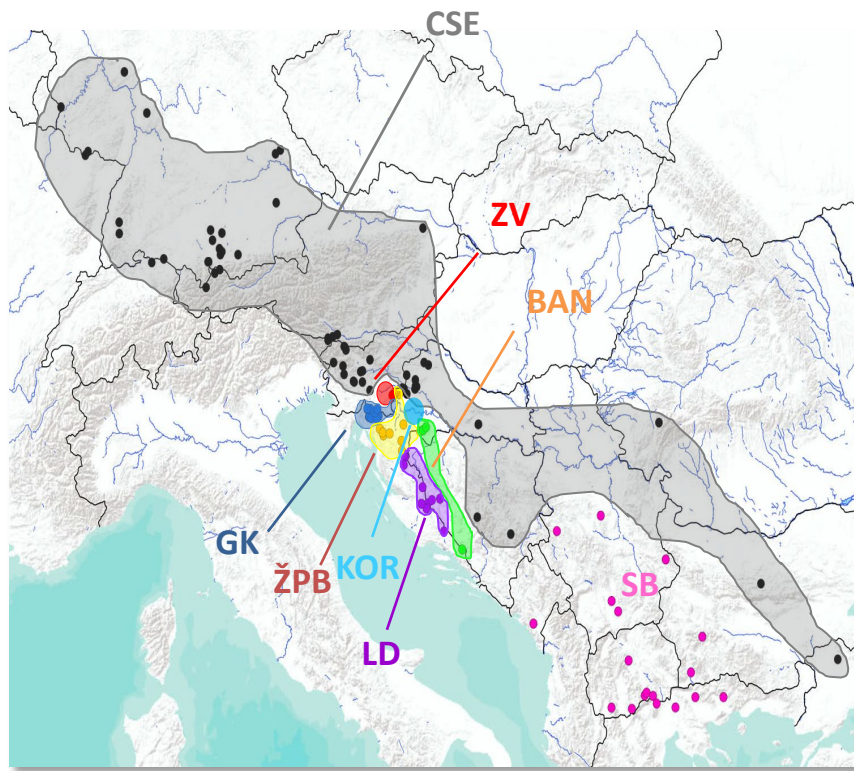
mtDNA: *COI*, *16S*



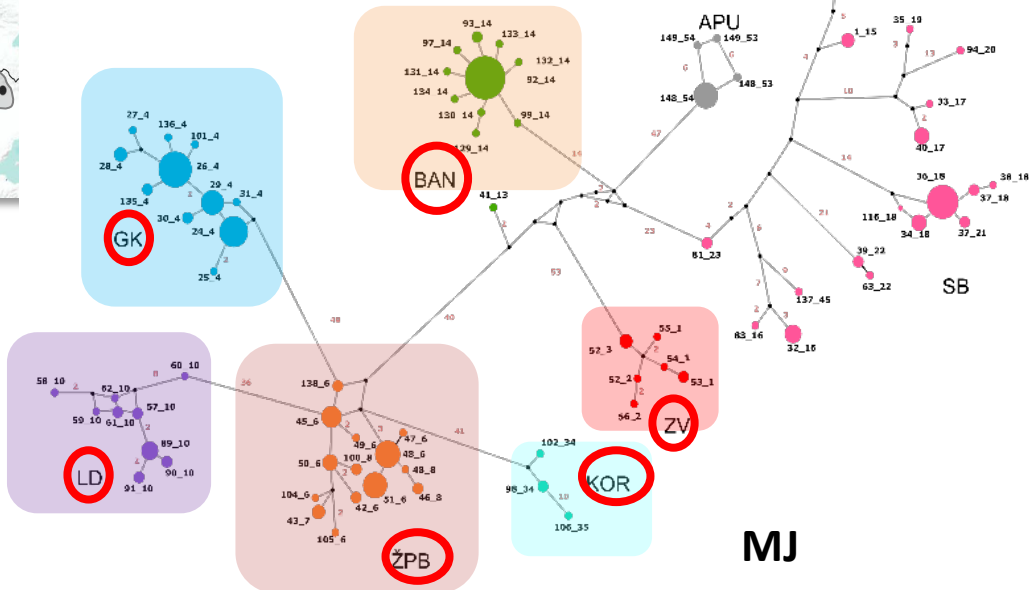
nuDNA: *ITS2*



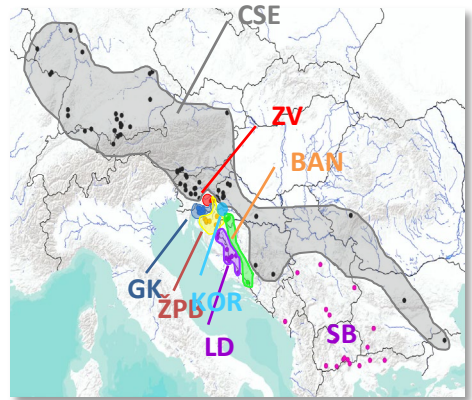
Hrvatska: 7 filogrupa → 7 evolucijski značajnih jedinica (ESU)



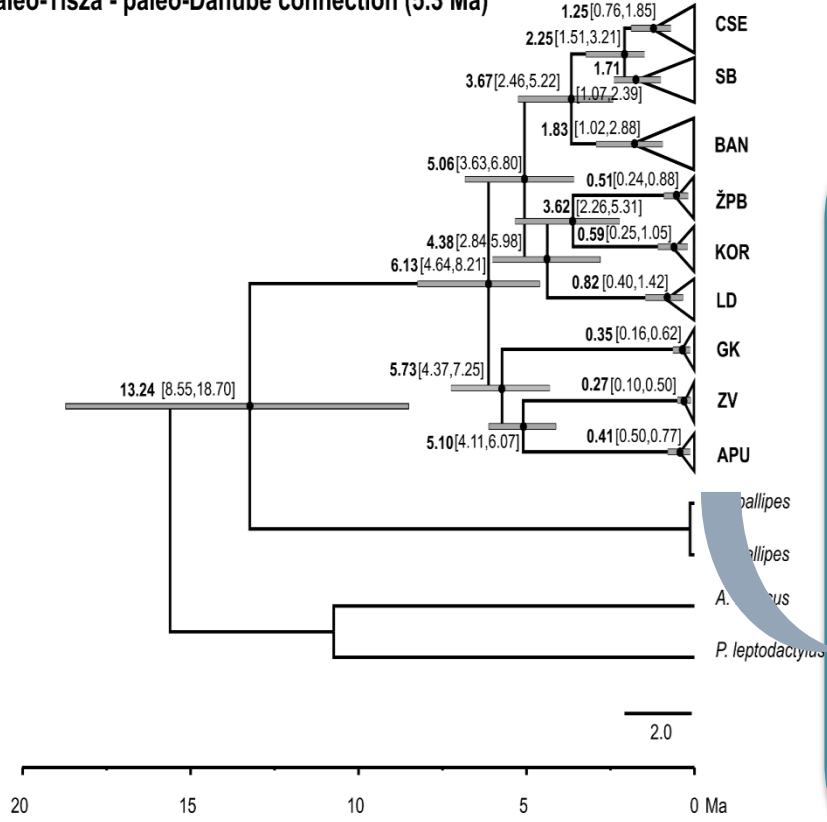
- Najveća raznolikost u Alpinskoj biogeo. regiji (dinaridski krš)



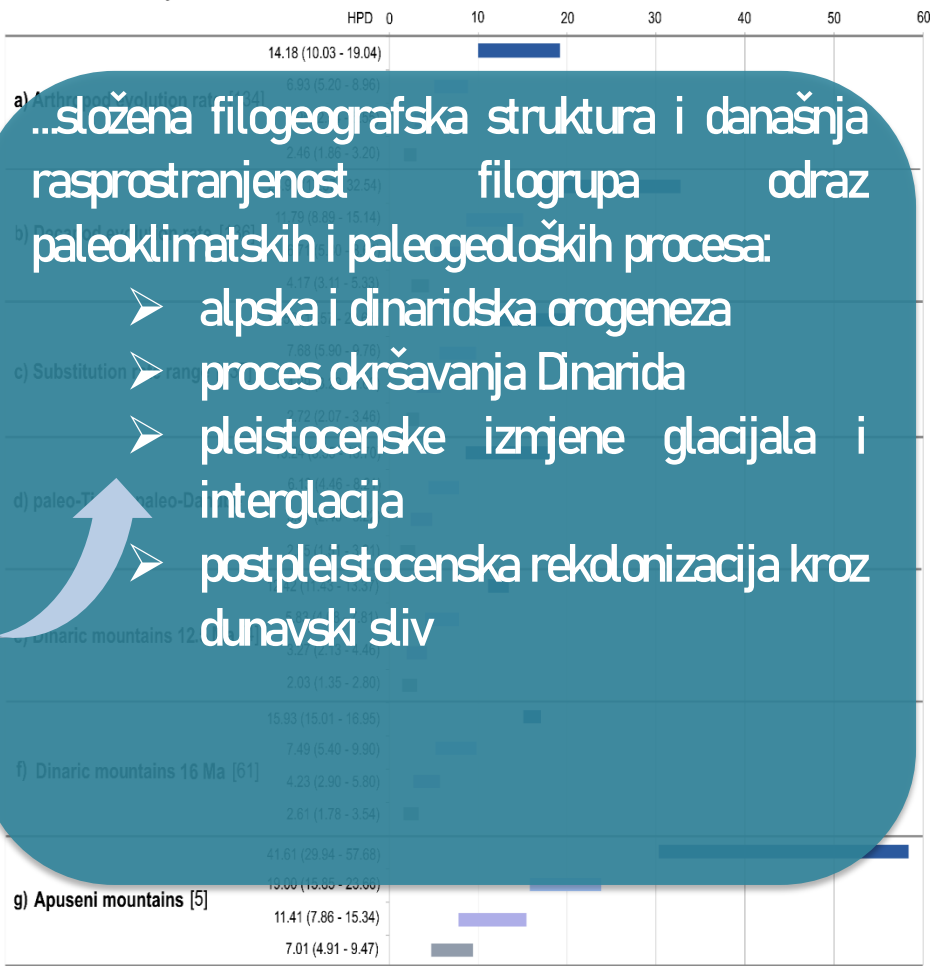
Procjena vremena odvajanja filogrupa



paleo-Tisza - paleo-Danube connection (5.3 Ma)



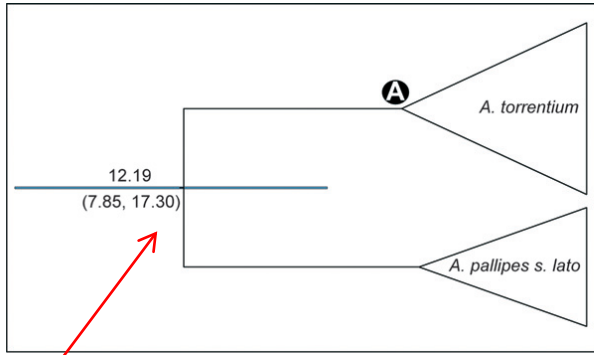
- HPD for *A. torrentium* - *A. pallipes* divergence
- HPD for NCD+APU - BAN+SB+CSE divergence
- HPD for BAN - SB+CSE divergence
- HPD for SB - CSE divergence



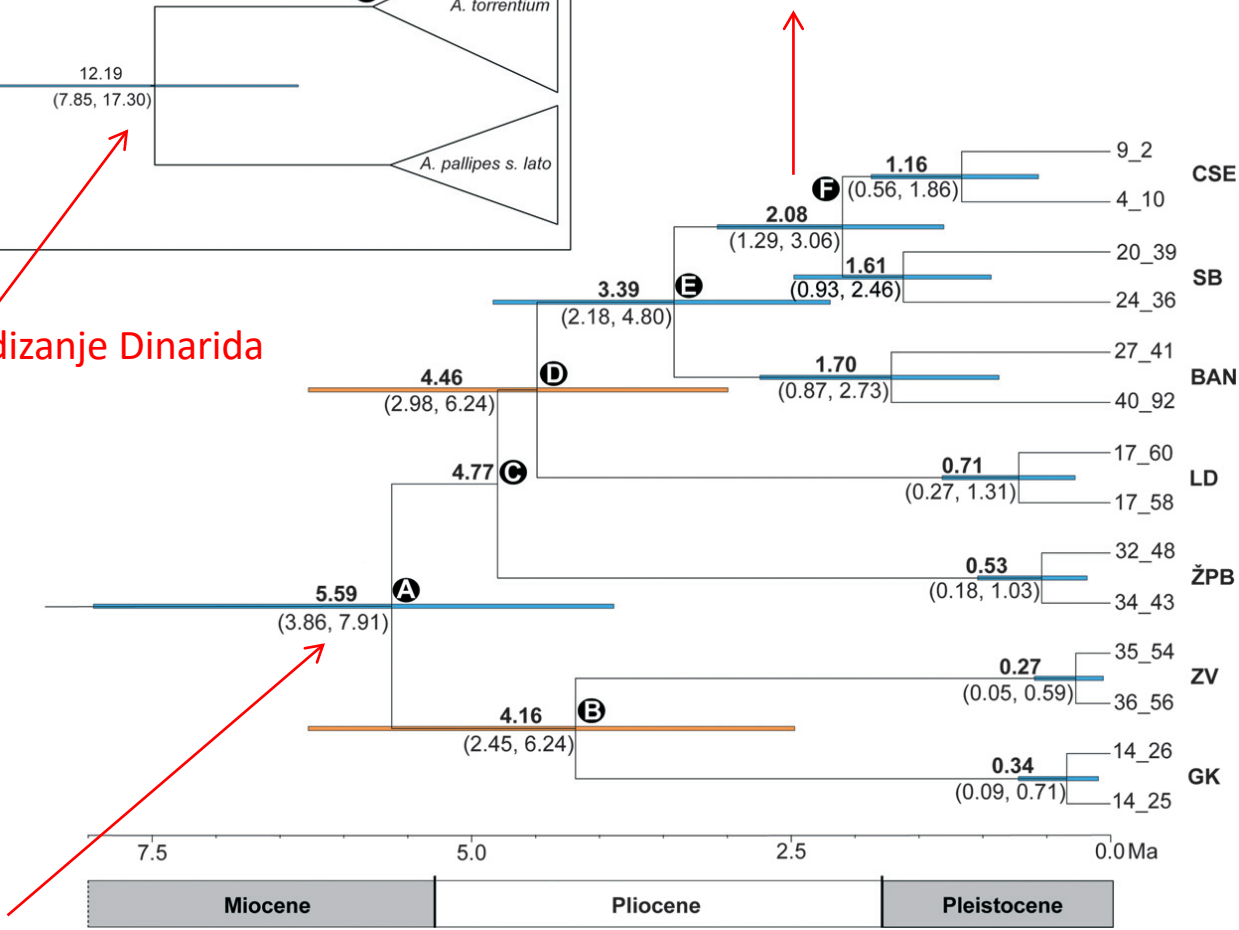
...složena filogeografska struktura i današnja rasprostranjenost filogrupa odraz paleoklimatskih i paleogeoloških procesa:

- alpska i dinaridska orogeneza
- proces okršavanja Dinarida
- pleistocenske izmjene glacijala i interglacija
- postpleistocenska rekolonizacija kroz dunavski sliv

Formiranje Dunava – pre-pleistocensko širanje na jug (SB) i post-glacijalno širenje na sjever (CSE)



Uzdizanje Dinarida



3-5 Ma intenzivna karstifikacija – fragmentirana paleohidrografija (slatkovodni otoci u kršu) – alopatrijska specijacija

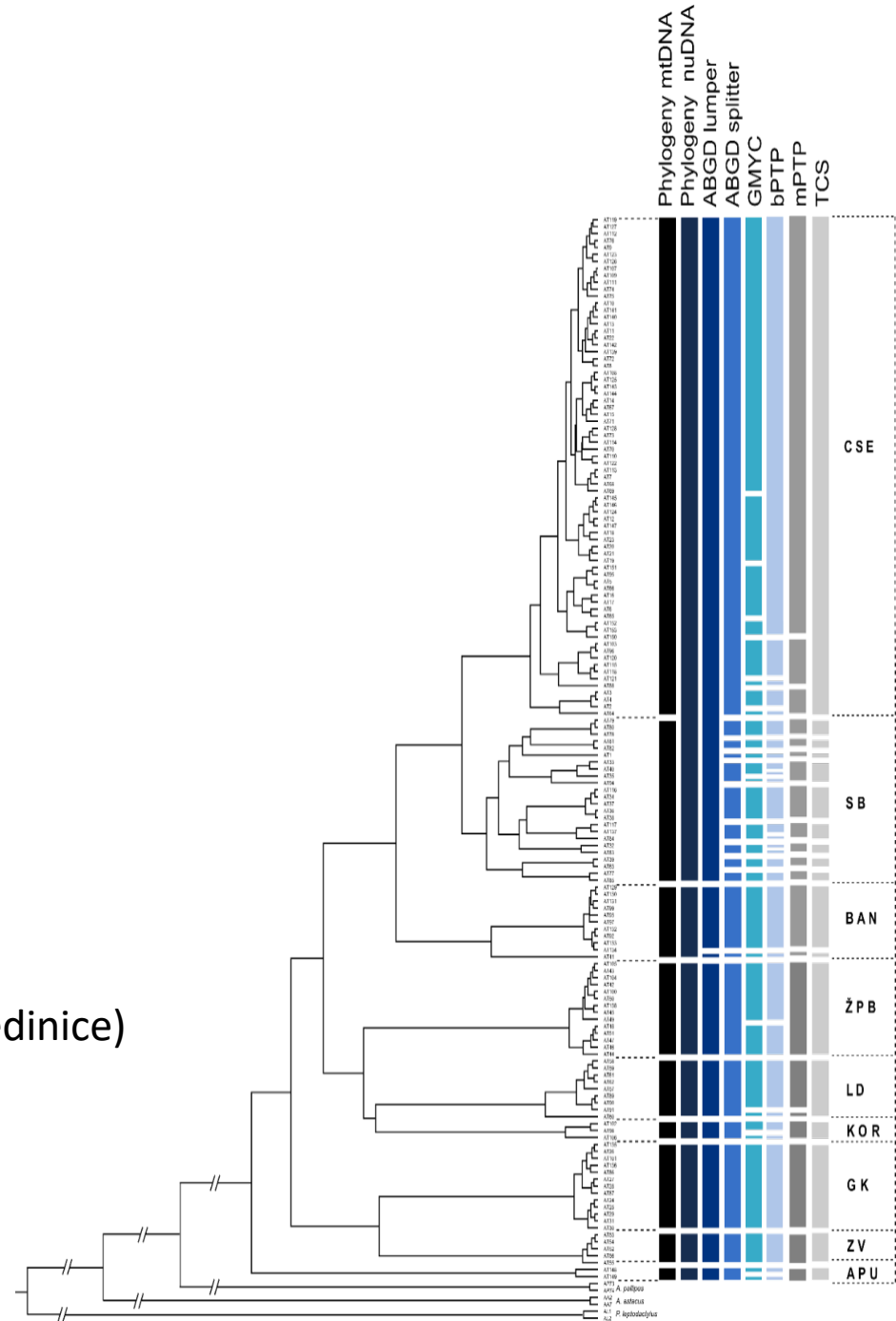
NCD

Panonsko jezero (bočato) (NCD izoliran s juga Dinaridima, sa sjevera brakičnom vodom)

Metode razgraničavanja potencijalnih vrsta

- rješavanje taksonomskog statusa filogrupa
- molekularne: ABGD, GMYC, bPTP, mPTP, TCS
 - nekongruetni rezultati
 - nerealno velik broj potencijalnih vrsta
- morfološke: GM, TM, meristika
 - Velika morfološka varijabilnost
 - ne postoji determinacijska značajka koja bi pomogla razlikovanju filogrupa i omogućila opis novih vrsta

VRSTE U NASTANKU – ESU (evol.signif.jedinice)



Često se uspoređuje zabilježeni stupanj heterozigotnosti (H_o) s očekivanim (H_e) (prema Hardy-Weinbergovoj ravnoteži -1 gen, 2 alela A i a (učestalosti $p + q = 1$); Genotipovi: AA Aa aa; $p^2 + 2pq + q^2 = 1$)

- ako je H_o manji od H_e – možemo pripisati srođivanju (inbreeding)/gubitak raznolikosti/veći udio homozigota – **pozitivne vrijednosti F_{is}**
- ako je H_o veća od H_e – možemo pripisati miješanju dvije prethodno izol. pop./više heterozigota – **negativne vrijednosti F_{is}**

Population code	N	No. of polymorphic						F_{is}
		loci	N_a	N_{ar}	N_{pr}	H_e	H_o	
KOZ	30	6	2.44	1.89	0.44	0.15	0.16	-0.04
TOL	29	2	1.22	1.09	0.11	0.01	0.02	-0.03
GLI	30	8	2.56	2.12	0	0.34	0.33	0.02
REK	29	8	2.22	2.09	0.11	0.36	0.34	0.08
RJE	30	8	3.00	2.44	0.22	0.44	0.42	0.06
SKO	30	8	4.00	3.01	0.33	0.50	0.48	0.06
ARG	30	7	2.00	1.91	0	0.29	0.24	0.17
BRA	39	8	4.89	3.44	0.56	0.53	0.51	0.05
PIV	26	5	1.67	1.60	0	0.18	0.21	-0.14
RAS	25	9	3.89	3.05	0.33	0.46	0.45	0.05

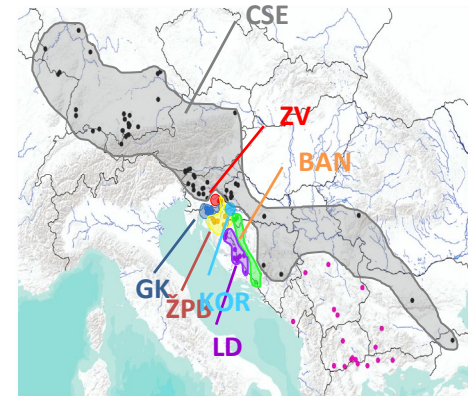
Reported values for intrapopulation measures of genetic variability. N – number of analysed crayfish, N_a – mean number of alleles per locus, N_{ar} – allelic richness, N_{pr} – mean number of private alleles per locus, H_e – expected heterozygosity, H_o – observed heterozygosity, F_{is} – F_{is} estimate across all loci (inbreeding coefficient). Minimum and maximum are shown in red. NA – not analysed

F_{is} – koeficijent križanja u bliskom srodstvu - **pozitivan ako u populaciji postoji manje heterozigota**, a **negativan ako se radi o velikom udjelu heterozigota**

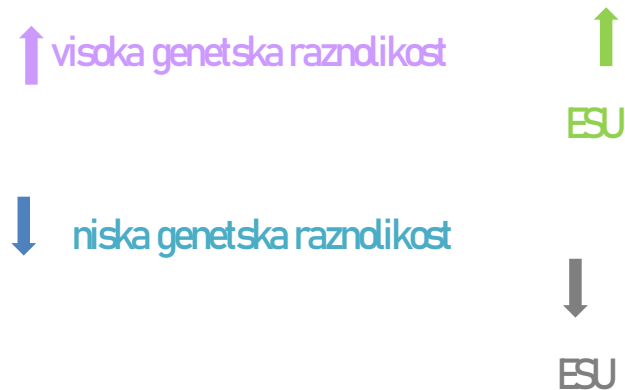
Genetska razndikost populacija (mikrosateliti)

Pop.	Abb.	ESU Abb.	N	P	N_A	A_R	A_{PR}	uH_E	H_O	F_{IS}	P_{HWE}
Bručina	BRU	BAN	31	1.00	4.75	3.62	1 (0.40)	0.551	0.473	0.144	ns
Maja	MAJ	BAN	30	1.00	4.13	3.19	1 (1.12)	0.456	0.313	0.317*	*
<i>BAN average</i>				1.00	4.44	3.41	1 (0.76)	0.504	0.393	0.231	
Bliznec	BLI	CSE	29	1.00	4.13	3.48	5 (2.72)	0.524	0.431	0.180*	ns
Jarak	JAS	CSE	21	1.00	3.88	2.90	3 (1.12)	0.362	0.351	0.032	ns
Okićnica	OKI	CSE	32	1.00	5.00	3.84	5 (2.88)	0.543	0.440	0.193*	*
Dolje	DOLJ	CSE	31	1.00	4.50	3.86	2 (2.08)	0.595	0.465	0.221*	*
<i>CSE average</i>				1.00	4.38	3.52	4 (2.24)	0.506	0.422	0.157	
Delnički	DEL	GK	29	0.75	2.75	2.50	0 (0.64)	0.393	0.349	0.113	*
V. Vode	VEL	GK	31	0.88	3.13	2.49	0 (0.24)	0.344	0.363	-0.055	ns
<i>GK average</i>				0.81	2.94	2.49	0 (0.44)	0.369	0.356	0.029	
Žrnica	ŽRN	KOR average	11	0.88	3.88	3.79	3 (2.80)	0.585	0.455	0.232*	ns
Krasulja	KRA	LD	30	0.88	3.13	2.72	0 (0.64)	0.454	0.434	0.045	ns
Orašnica	ORA	LD	33	0.88	3.25	2.53	0 (0.80)	0.307	0.227	0.262*	*
Prijeboj	PRI	LD	24	1.00	3.50	3.11	0 (0.08)	0.532	0.485	0.090	*
<i>LD average</i>				0.92	3.29	2.79	0 (0.51)	0.431	0.382	0.132	
				1.00			10				*
Zeleni Vir	ZV	ZV average	29		4.50	3.89	(8.00)	0.584	0.402	0.316*	
Jarak	JAR	ŽPB	10	0.75	2.38	2.32	0 (0.08)	0.307	0.325	-0.061	ns
Sartuk	SAR	ŽPB	27	0.88	2.88	2.60	1 (1.52)	0.457	0.315	0.315*	*
Sopotski	SOP	ŽPB	24	0.75	2.63	2.18	2 (0.88)	0.262	0.058	0.782*	*
<i>ŽPB average</i>				0.79	2.63	2.37	1 (0.83)	0.342	0.233	0.345	

N_A – prosječan broj alela; A_R – alelna bogatstva; A_{PR} – broj privatnih alela; H_E – očekivana heterozigotnost; H_O – uočena heterozigotnost; F_{IS} – k parenja u srodstvu; P_{HW} – vjerojatnost odstupanja od Hardy-Weinberg ravnoteže

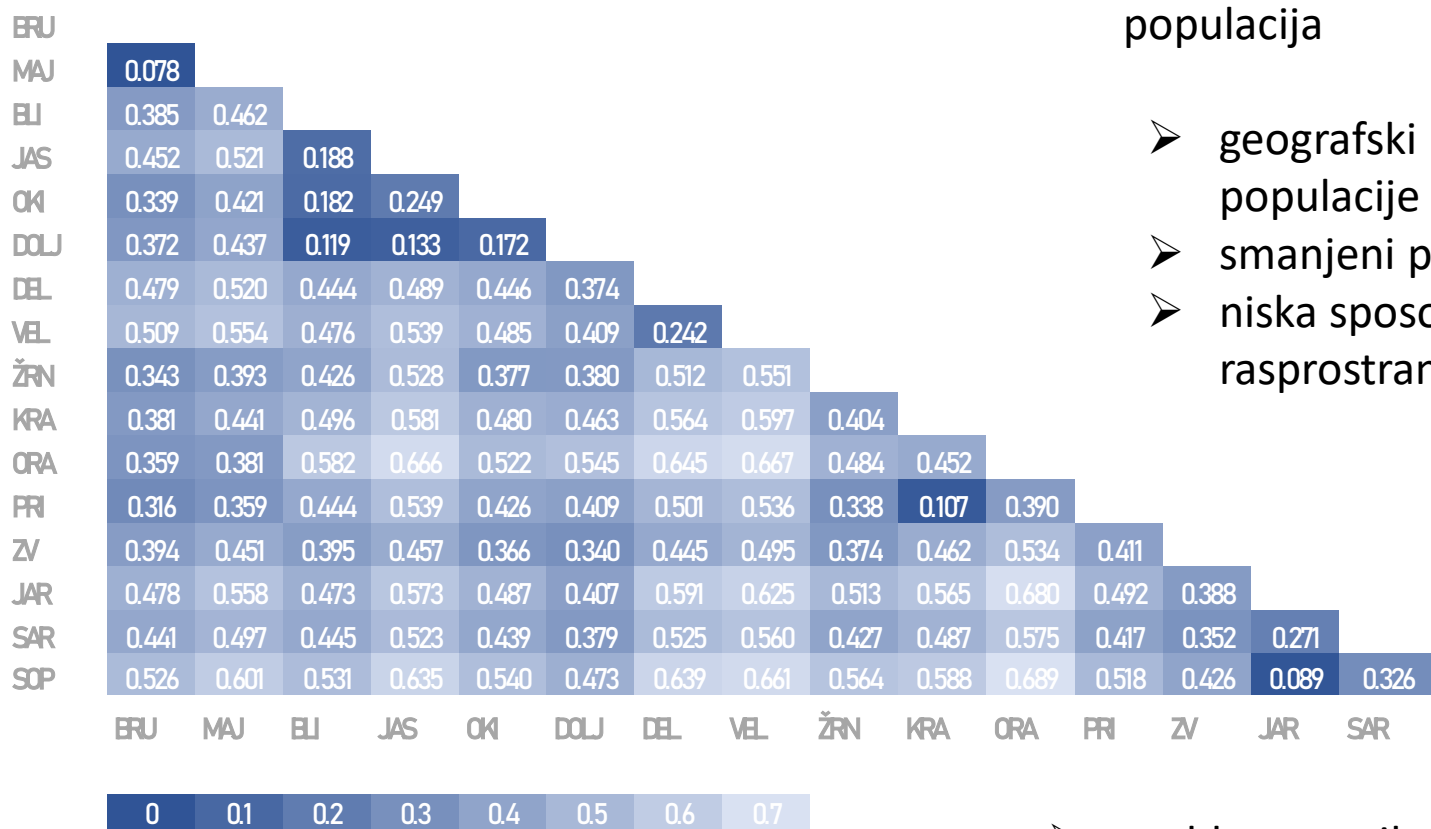


➤ Unjerena genetska razndikost (na temelju svih parametara)



➤ visoka vrijednost F_{IS} ukazuje na višak homozigota u većini populacija

Genetska diferencijacija populacija



- visoka razina diferencijacije između populacija
- geografski i genetski izolirane populacije
- smanjeni protok gena
- niska sposobnost rasprostranjanja

average $F_{ST} = 0.463$

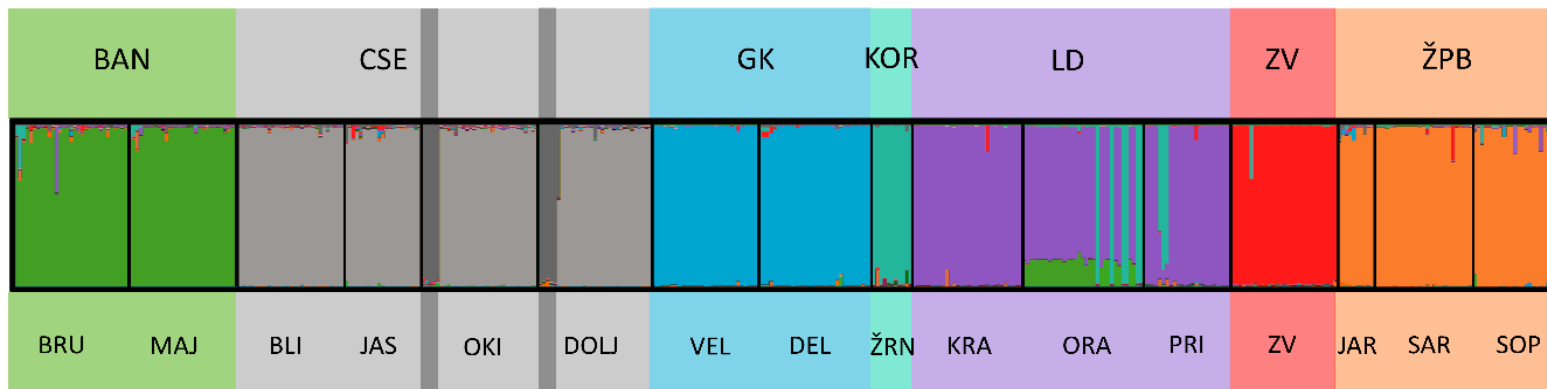
- Vrijednosti fiksacijskih indeksa (F_{ST}) – što su manje- povezanost kroz parenje; što su veće- manja povezanost kroz parenje

- problem u prilagođavanju klimatskim promjenama
 - limitirana mogućnost migriranja i pomicanja rasprostranjenosti prema klimatski povoljnijim staništima

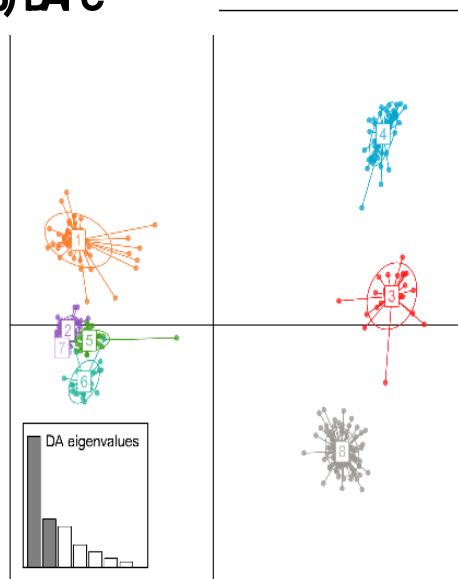
Genetska struktura populacija

(a) STRUCTURE

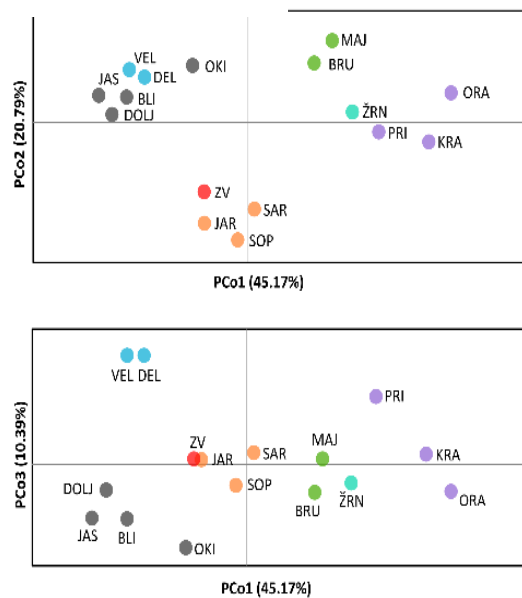
(a)



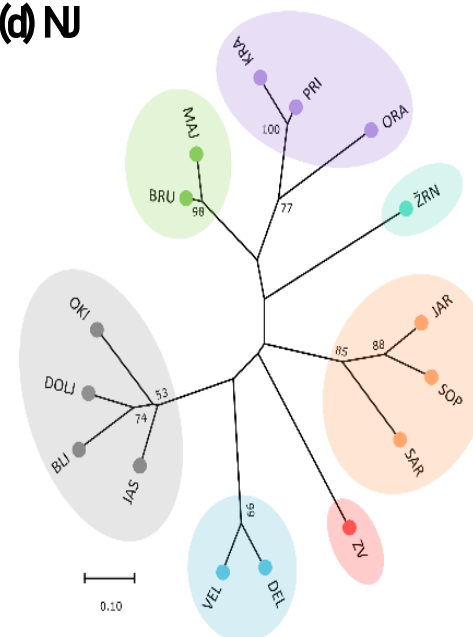
(b) DAPC



(c) PCoA

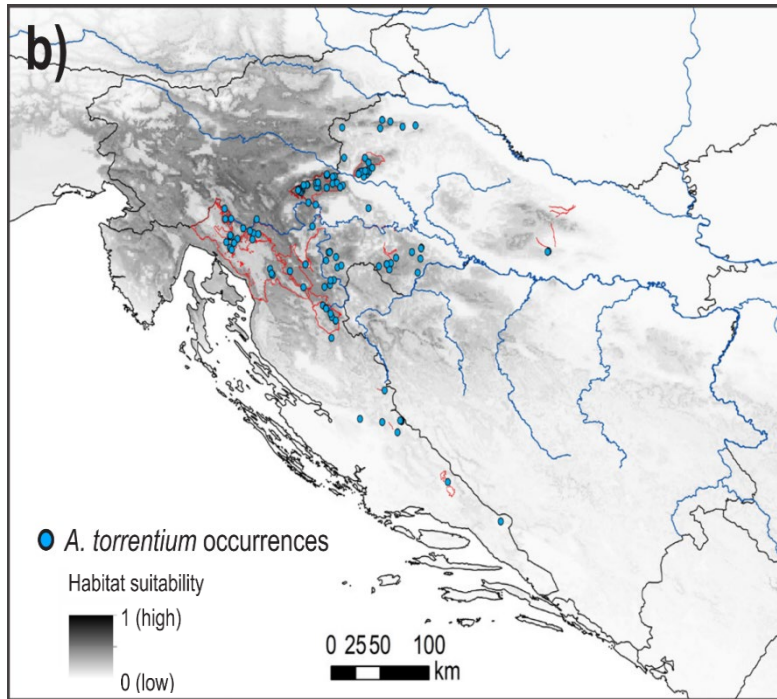


(d) NJ

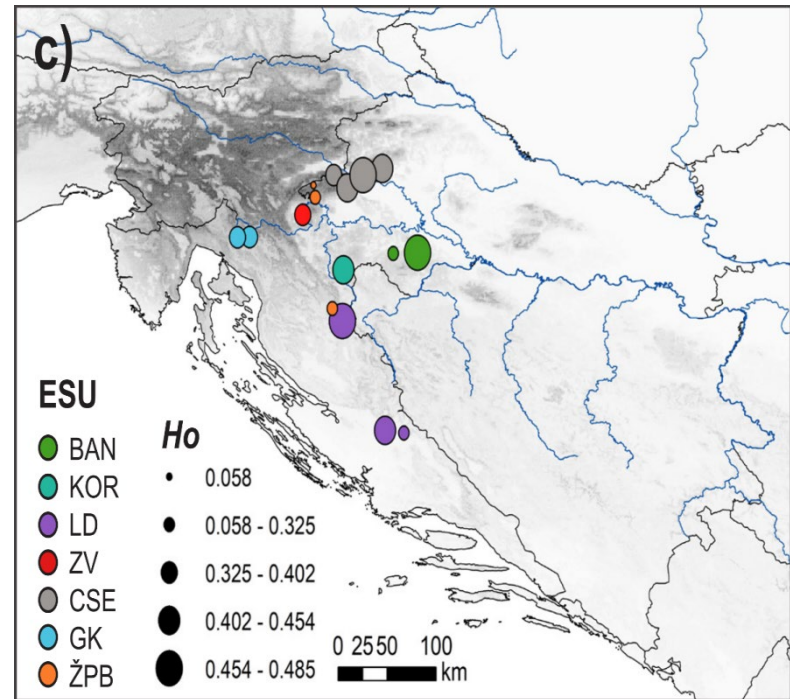


Potencijalna buduća (2070) rasprostranjenost (2 klim.scenarija)

2070 (+1.8°C)

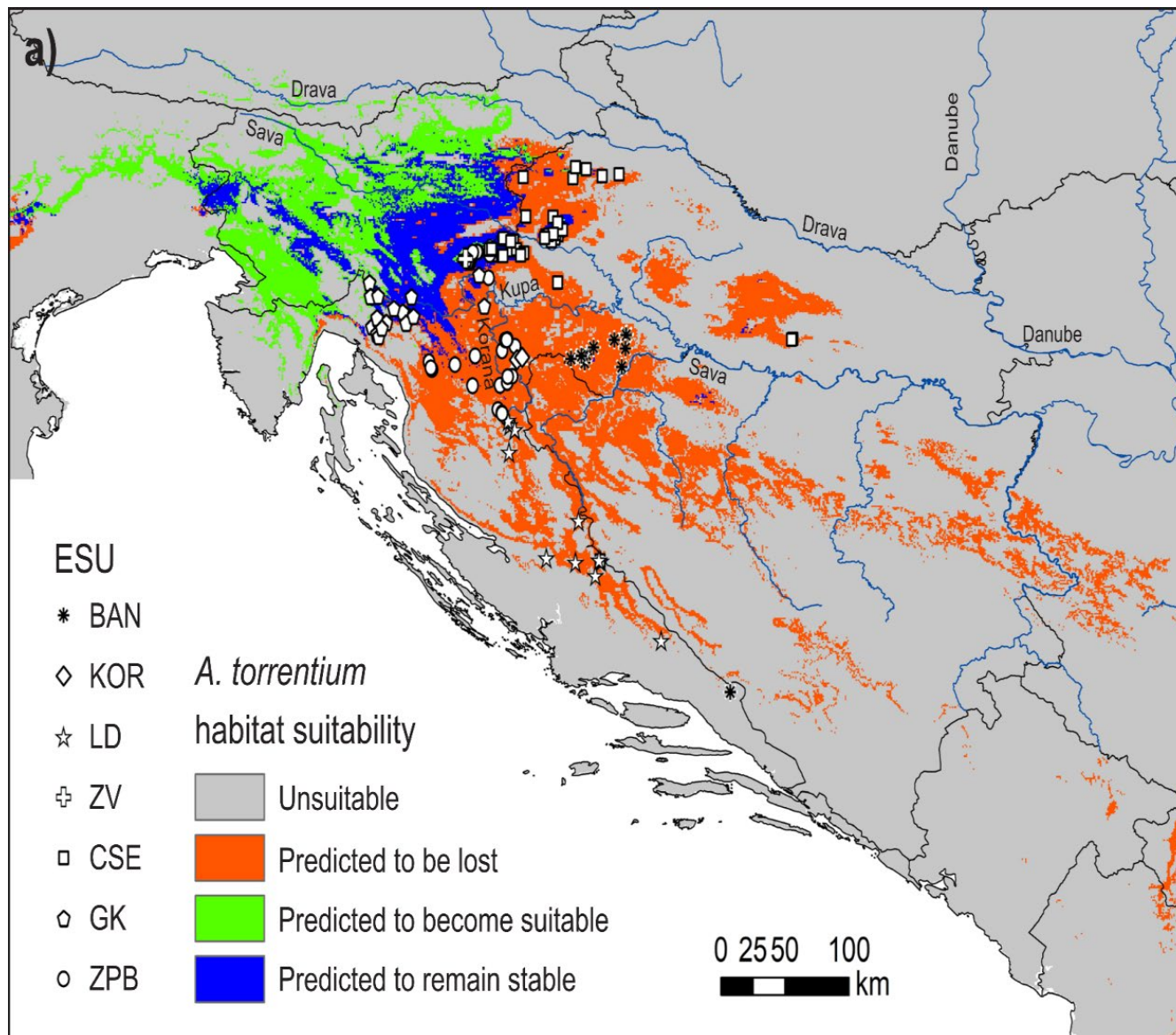


2070 (+3.7°C)



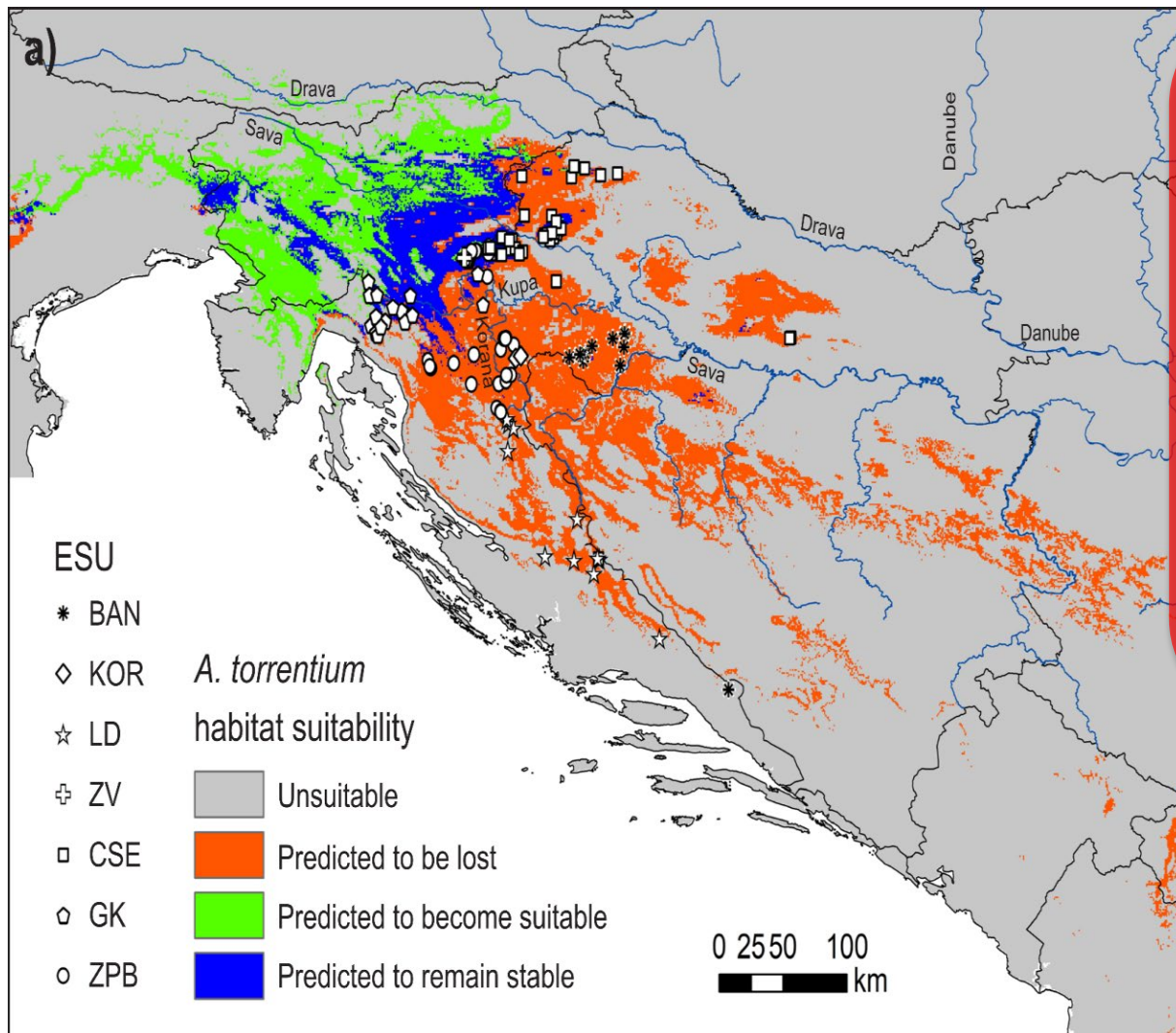
- značajno smanjenje povoljnih staništa zbog klimatskih promjena
- pomicanje potencijalne buduće rasprostranjenosti prema SZ

Preklapanje podataka o potencijalnoj trenutnoj i budućoj rasprostranjenosti



...gubitak 80%
trenutno pvdjnih
staništa za potočnog
raka do 2070
(+3.7°C)

Preklapanje potencijalne buduće rasprostranjenosti i genetske raznolikosti



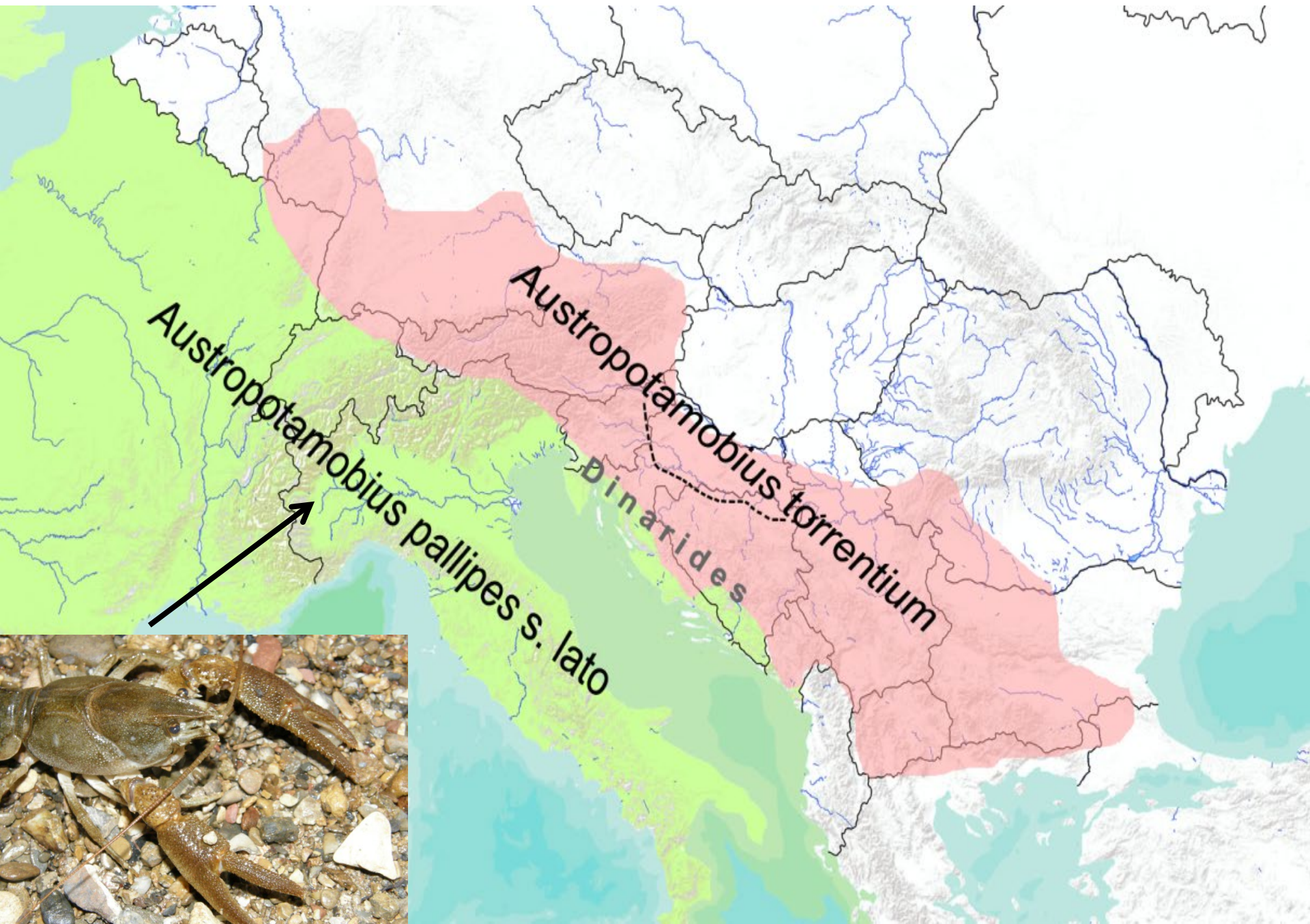
...**44%** populacija s visokom ili jedinstvenom genetskom raznolikosti smještene u područjima koja su predviđena kao nepovoljna u budućnosti, stoga potencijalno **izgubljena**

... uključujući

3 evolucijski značajne jedinice (LD, BAN, KOR)

Potencijalni klimatski refugiji

- potencijalni gubitak velikog dijela genetske raznolikosti potočnog raka zbog klimatskih promjena
 - populacije s najvećom i jedinstvenom genetskom raznolikosti smještene u područjima koja su predviđena kao nepovoljna u budućnosti
- predloženi klimatski refugiji za potočnog raka uz sjeverozapadnu granicu i prema staništima na višim nadmorskim visinama
 - nedostupni zbog prirodnih granica širenja
 - programi repopulacije i reintrodukcije
 - prekogranična suradnja u konzervaciji



***Austropotamobius pallipes* s. lato**



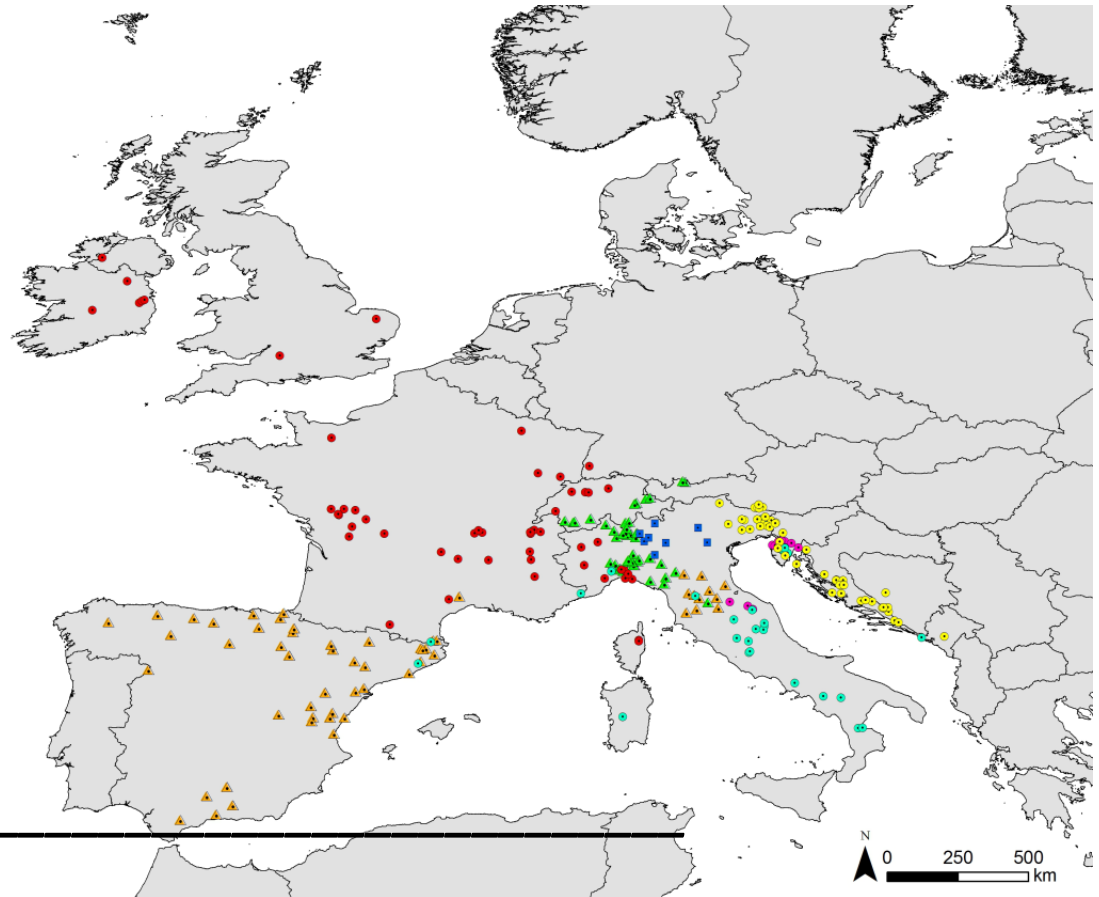
- Heterogen (genetski i morfološki)
- Prethodna istraživanja (Grandjean & Souty-Grosset, 2000; Fratini et al., 2005; Cataudella et al., 2010; Pedraza-Lara et al., 2010) ***Austropotamobius pallipes* s. lato** – dvij vrste – ***A. pallipes*** and ***A. italicus***
- Unutar *A. italicus* – 4 podvrste (Fratini et al., 2005) - ***A. i. italicus***
 - ***A. i. carinthiacus***
 - ***A. i. carsicus***
 - ***A. i. meridionalis***
- Cilj: smjestiti populacije iz Hrvatske u filogenetsko stablo *A. pallipes* s. lato

1. sekvence

721 jedinki - 160 lokacija (34 uzduž obale Jadrana, od Istre do Crne Gore)

DNA izolacija

- mtDNA: **16S rRNA** , **COI**
- *sekvenciranje*



sekvence: 72 jedinstvena **COI** haplotipa + 45 jedinstvenih **16S** haplotipova = 102 kombinirana **16S/COI** haplotipa

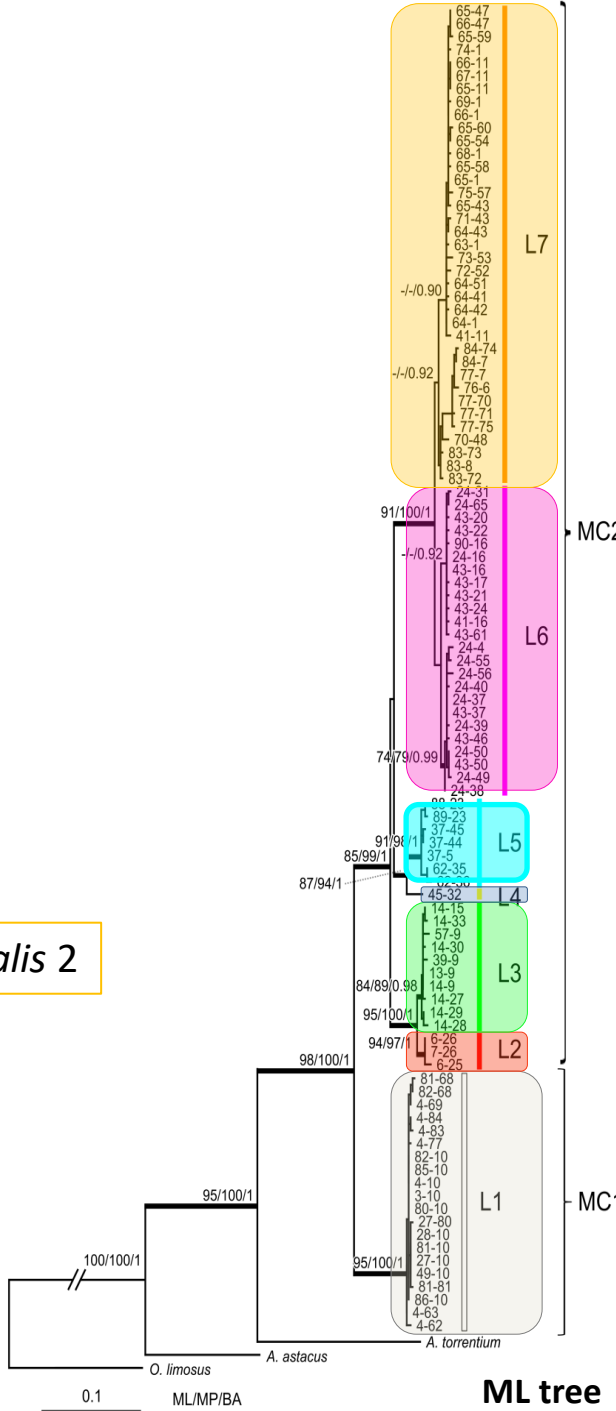
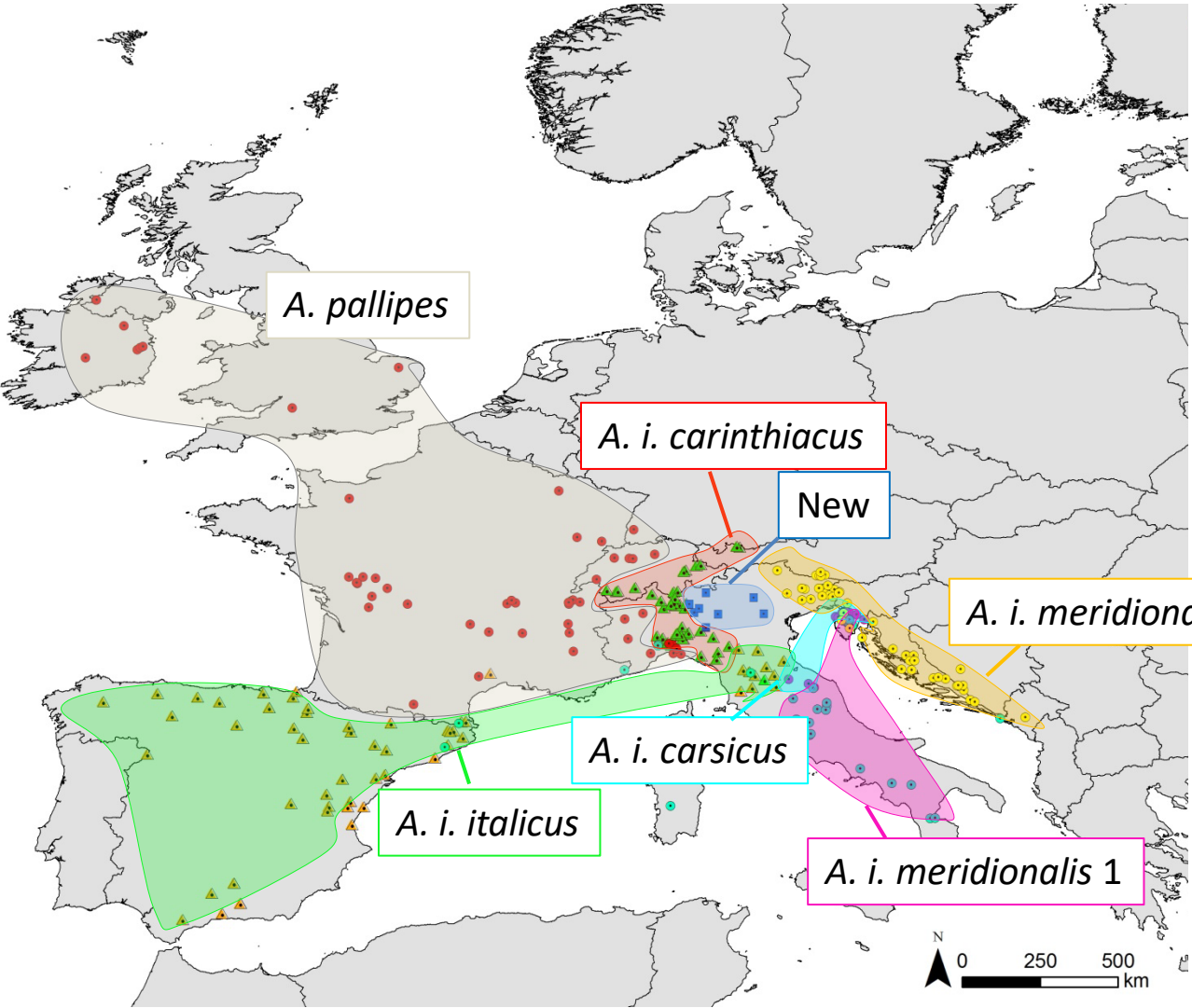
2. Filogenetske analize

Filogenetski odnosi između haplotipova



- Filogenetski odnosi - **Bayesian analysis, Maximum likelihood, Maximum Parsimony**
- Vrijeme divergencije **BEAST** (Bayesian analysis of molecular sequences related by an evolutionary tree)

• 2 glavne grupe (MC) - 7 linija (L)

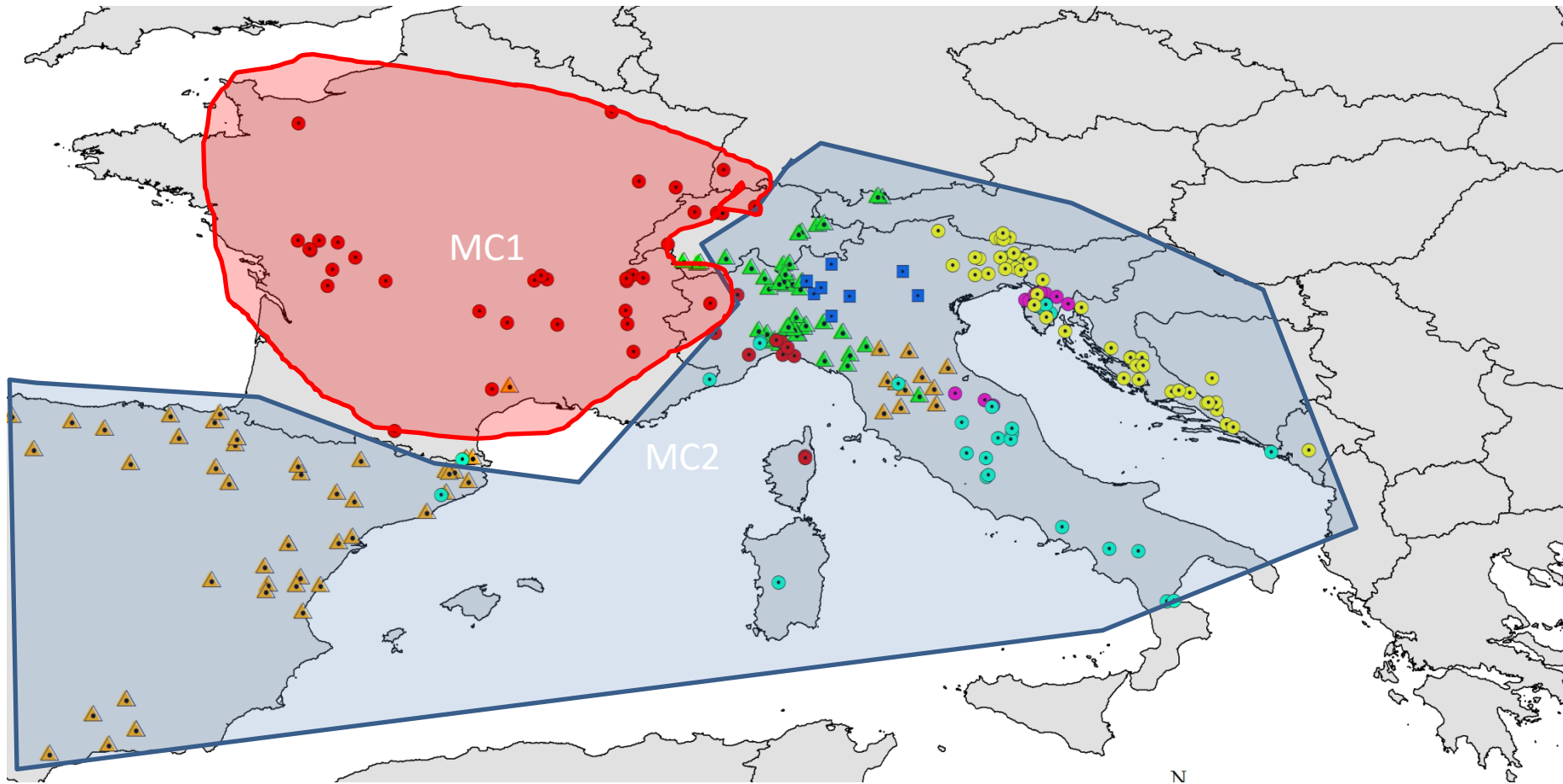


Genetska raznolikost

- genetske udaljenosti (p-distance)

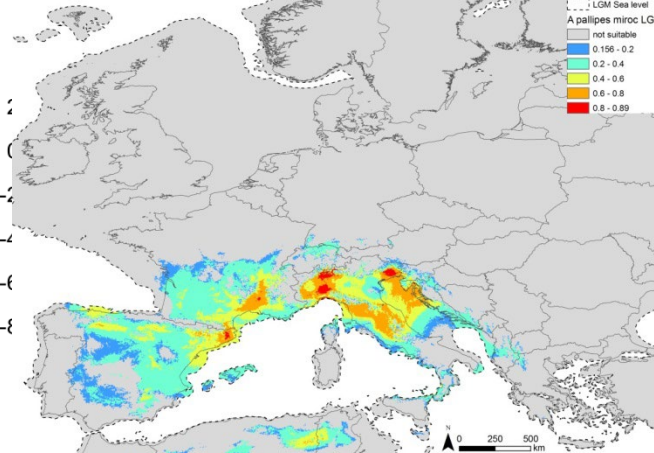
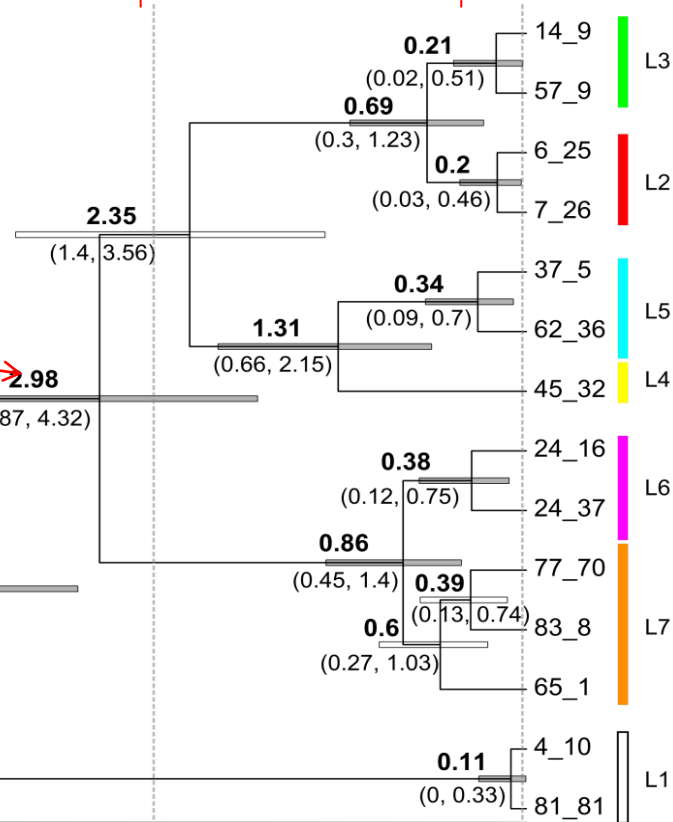
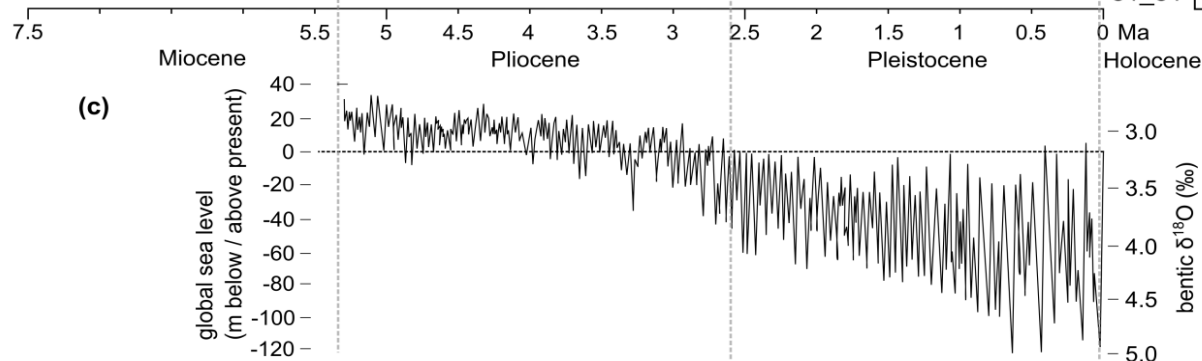
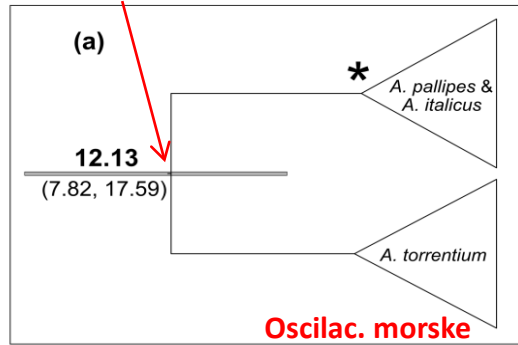
MC1 (*A. pallipes*) - MC2 (*A. italicus*) 5.1 – 5.6%

Između linija u MC2 (*A. italicus*) 1 – 4.2%



Uzdizanje Dinarida

glacijacije + micanje obale + mreža novih vodotokova

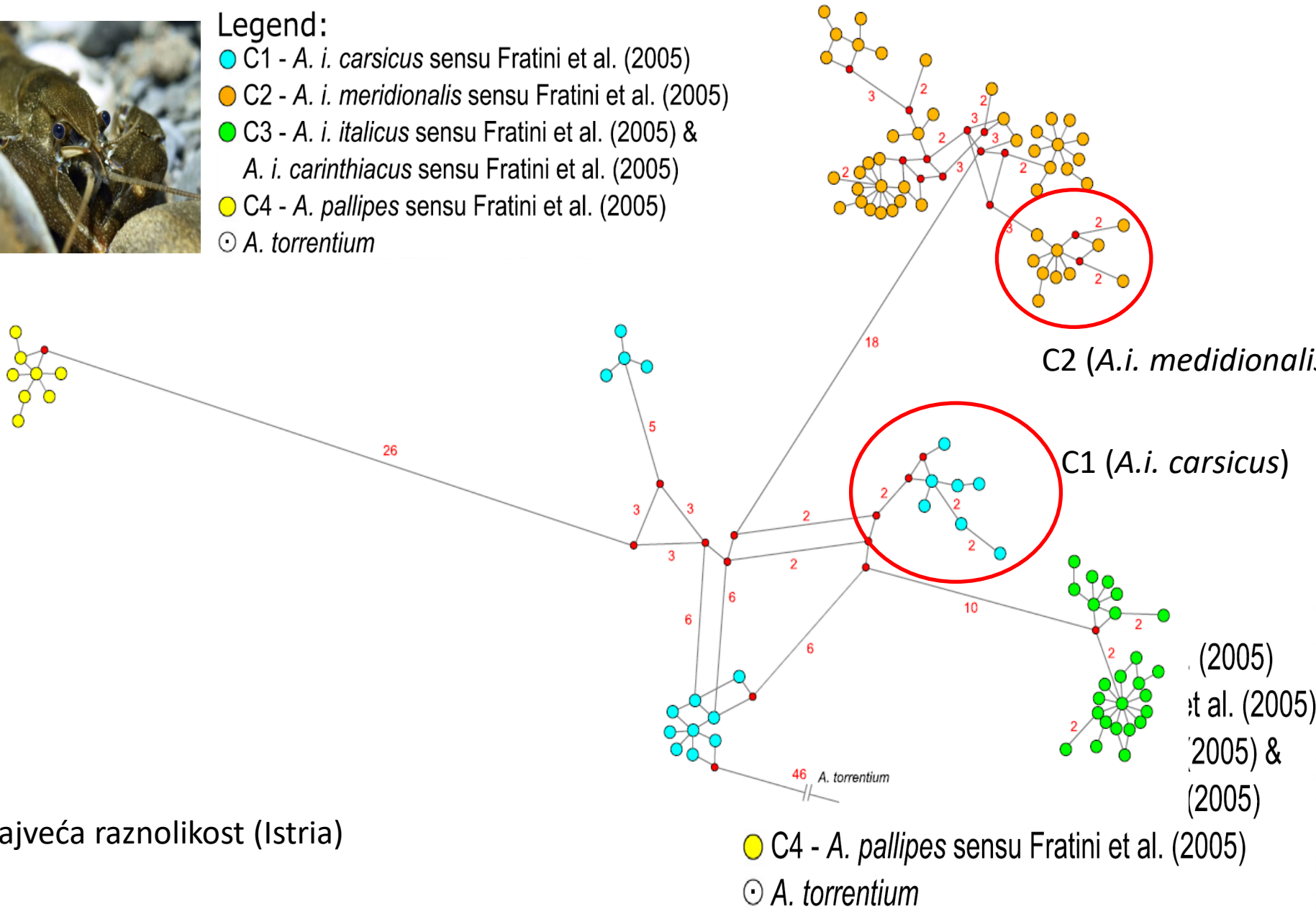


BEAST molecular clock estimate



Legend:

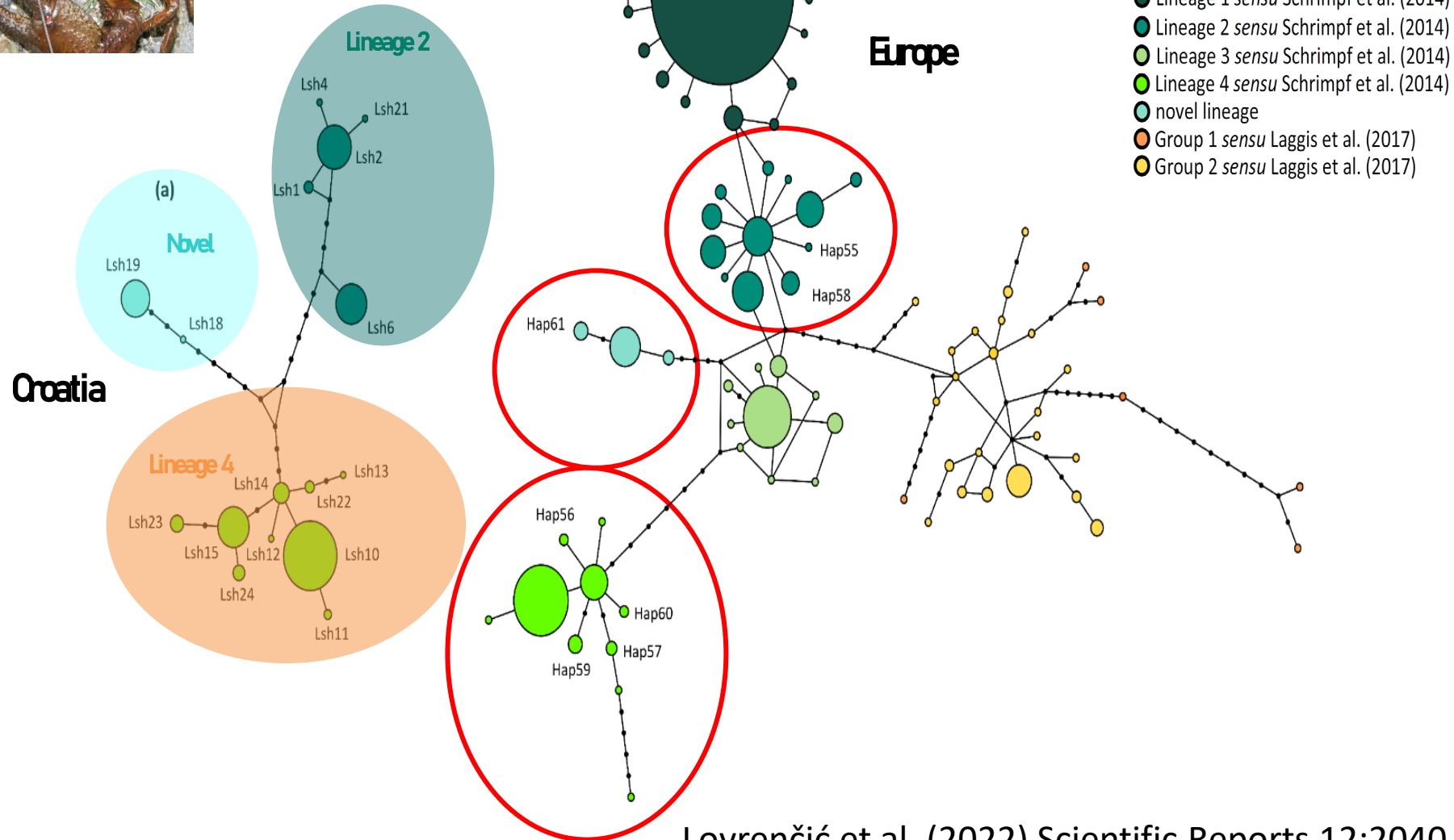
- C1 - *A. i. carsicus* sensu Fratini et al. (2005)
- C2 - *A. i. meridionalis* sensu Fratini et al. (2005)
- C3 - *A. i. italicus* sensu Fratini et al. (2005) & *A. i. carinthiacus* sensu Fratini et al. (2005)
- C4 - *A. pallipes* sensu Fratini et al. (2005)
- ⊙ *A. torrentium*



Molekularna filogenija (*mtDNA: COI, 16S*) – plemeniti rak

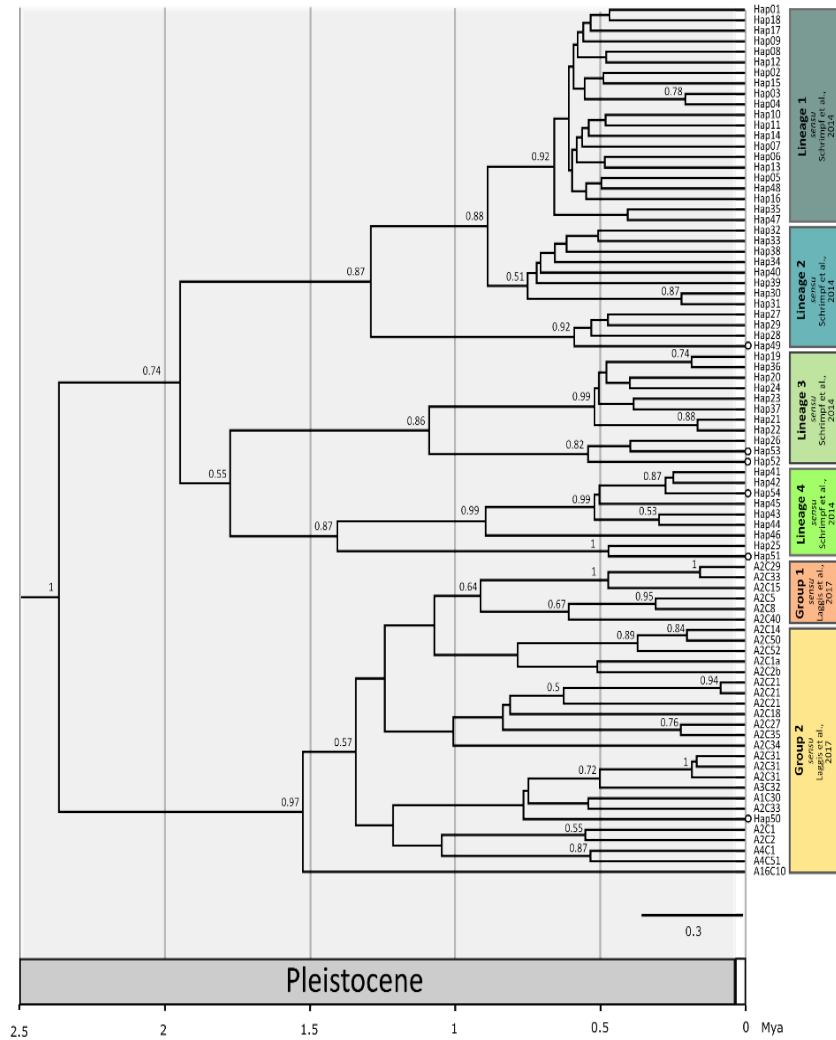


Njaveća raznolikost u kontinentalnoj Hr

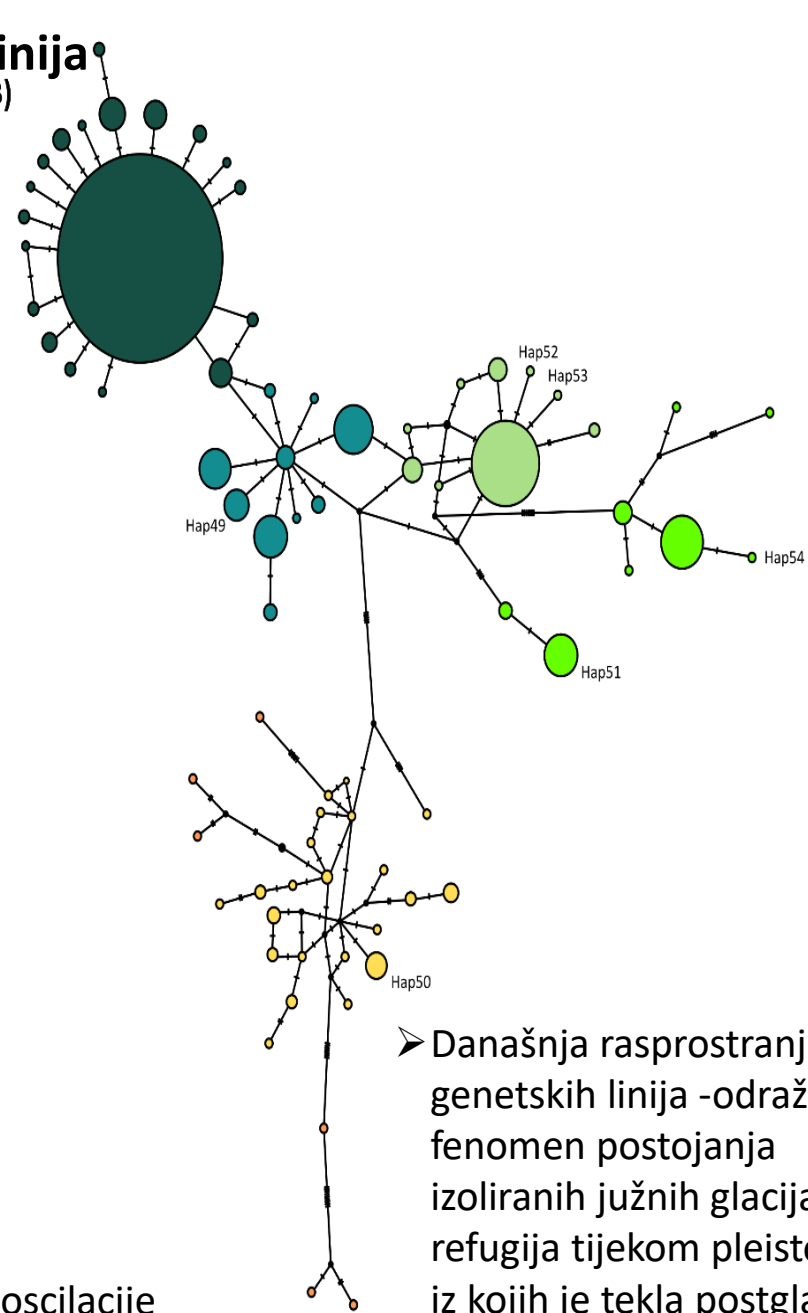


Procjena vremena odvajanja evolucijskih linija

(A)



(B)

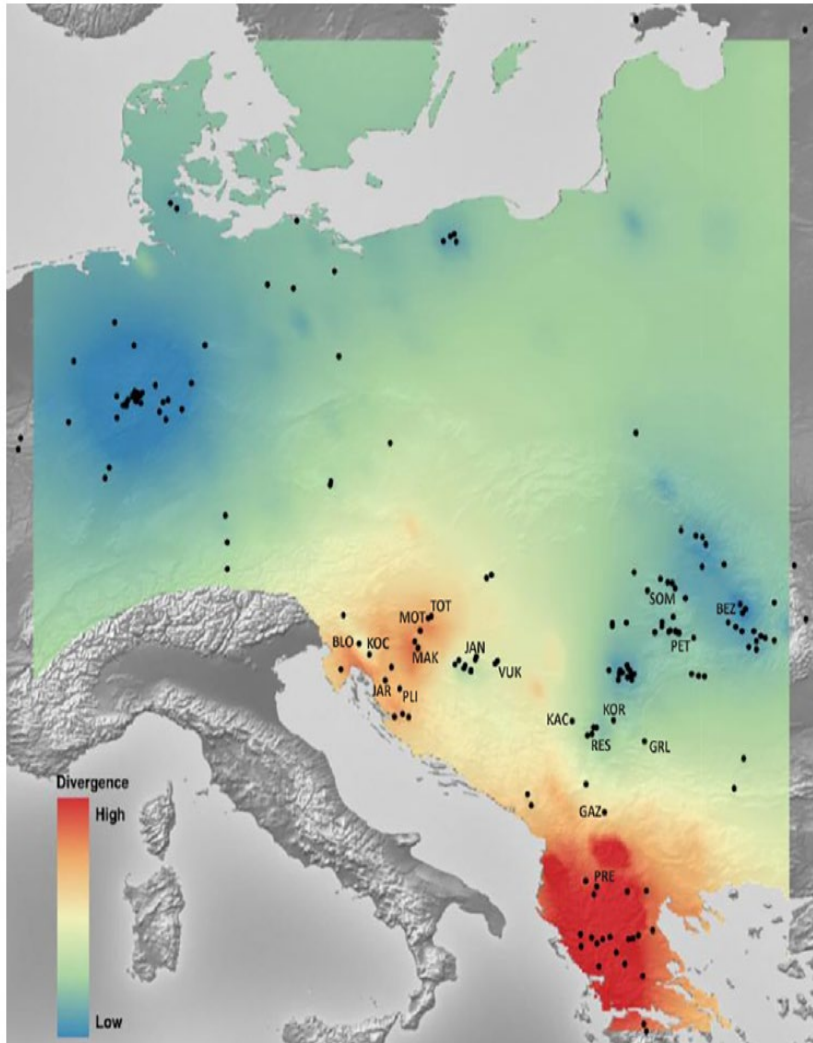


- Današnja rasprostranjenost genetskih linija -odražava fenomen postojanja izoliranih južnih glacijalnih refugija tijekom pleistocena iz kojih je tekla postglacijalna rekolonizacija ostatka Europe

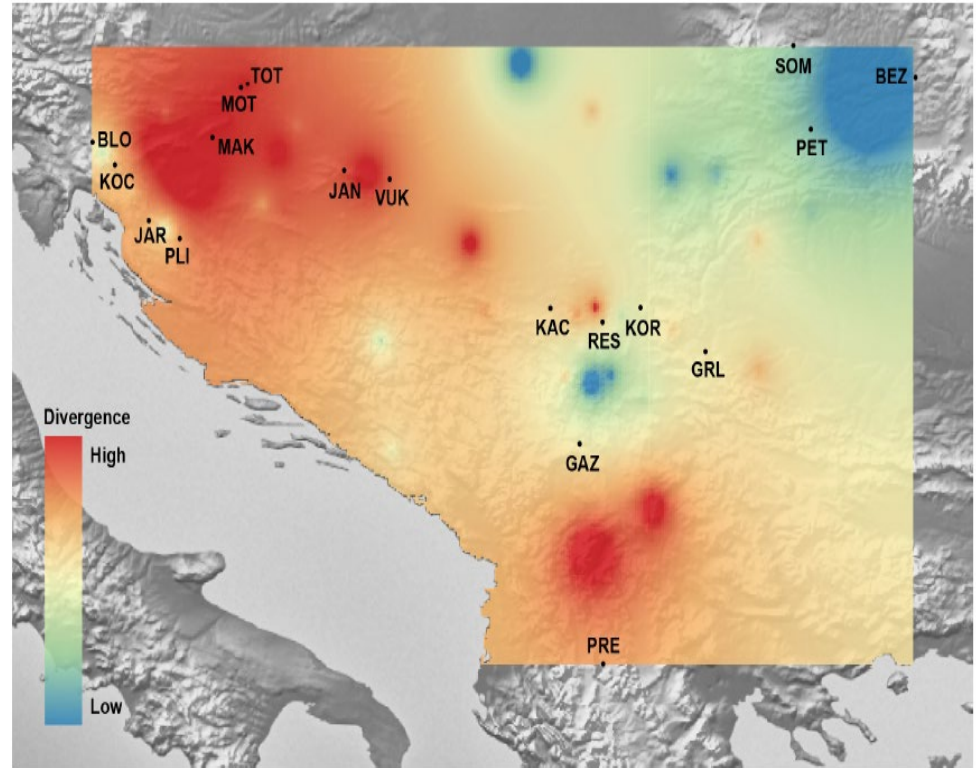
- divergencije evolucijskih linija u pleistocenu - snažne oscilacije klimatskih i ekoloških uvjeta za vrijeme izmjene glacijala i interglacijala

Karta rasprostranjenosti genetske raznolikosti

(a) mtDNA (*COI*)



(b) nuDNA (mikrosateliti)



Genetska razndikost populacija

Population	Abbr.	N	P	N_A	A_R	A_{PR}	H_E	H_O	F_{IS}	P_{HWE}
Motičnjak	MOT	21	1.00	3.73	3.33	2.70	0.580	0.562	0.032	ns
Breznica	BRE	14	1.00	3.67	3.20	2.10	0.541	0.495	0.087	*
Burgeti	BUR	19	1.00	3.33	2.94	0.15	0.450	0.453	-0.005	ns
Ilova	ILO	24	1.00	5.20	4.19	1.95	0.684	0.630	0.081	ns
Otuča	OTU	9	1.00	3.47	3.41	1.50	0.573	0.511	0.114	ns
Bijela	BIJ	21	1.00	4.47	3.72	3.30	0.590	0.568	0.037	ns
Glogovica	GLO	28	1.00	5.20	3.95	0.90	0.638	0.569	0.109	ns
Kikovac	KIK	30	1.00	4.00	3.42	0.60	0.554	0.566	-0.021	ns
Sloboština	SLO	27	0.93	4.07	3.32	2.70	0.565	0.455	0.198*	*
Bednja	BED	30	1.00	6.00	4.18	2.25	0.624	0.582	0.069	ns
Kutjevačka	KUT	16	1.00	4.93	4.23	3.30	0.674	0.586	0.133	*
Veličanka	VEL	30	1.00	5.27	4.07	3.90	0.600	0.515	0.145*	ns
Jaruga	JAR	23	0.93	3.47	3.05	2.10	0.562	0.577	-0.027	ns
Maksimir	MAK	30	0.93	2.93	2.39	3.30	0.355	0.350	0.013	ns
Totovec	TOT	30	1.00	3.27	3.09	1.35	0.577	0.557	0.036	ns
Jankovac	JAN	30	1.00	4.13	3.26	0.30	0.557	0.529	0.051	*
Vuka	VUK	31	0.87	2.67	2.33	0.15	0.404	0.411	-0.017	ns

- visoka genetska razndikost
- visoke vrijednosti N_A , P , A_R , A_{PR} , H_O

↑ visoka genetska razndikost

↓ niska genetska razndikost

- SLO & VEL → višak homozigota parenje u bliskom srodstvu → smanjenje genetske razndikosti

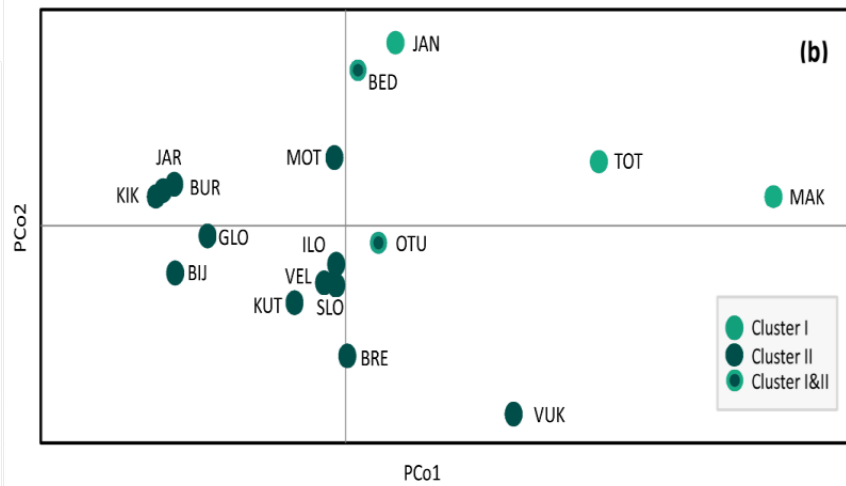
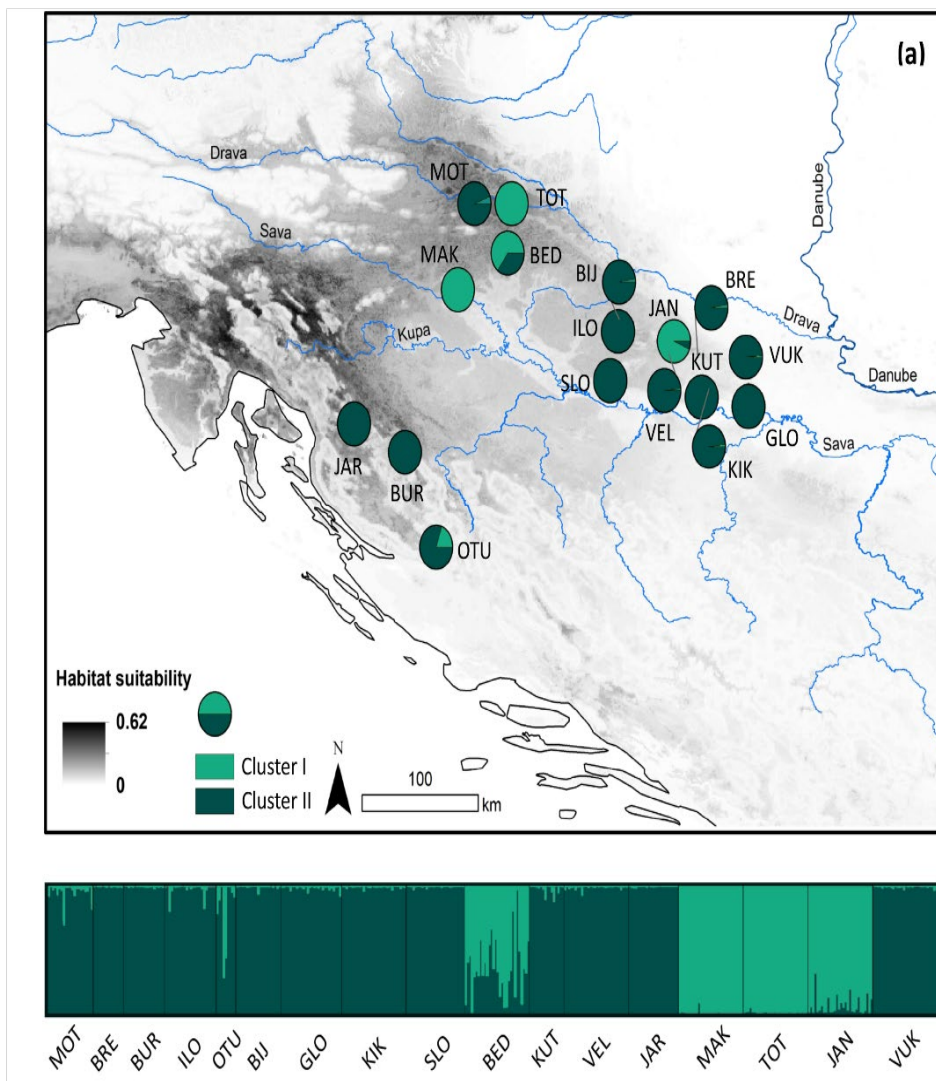
- JAN & TOT → usko grlo → smanjenje efektivne veličine, fitnesa i adaptivnog potencijala

N_A – prosječan broj alela; A_R – alelna bogatstvo; A_{PR} – broj privatnih alela; H_E – očekivana heterozigotnost;

H_O – uočena heterozigotnost; F_{IS} – k parenja u srodstvu

P_{HW} – vjerojatnost odstupanja od Hardy-Weinberg ravnoteže

Genetska struktura populacija

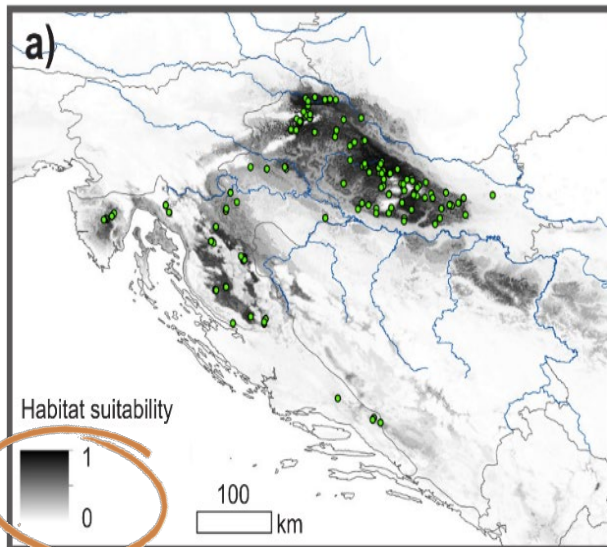


programa STRUCTURE -populacije u Hrvatskoj grupiraju u dvije genetske grupe

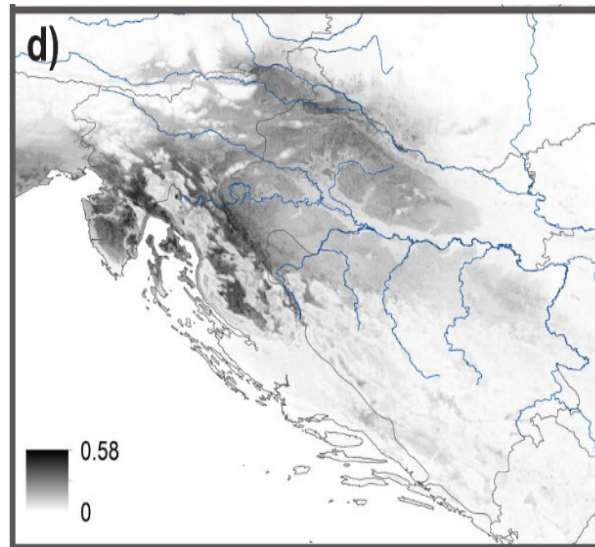
populacije koje sadrže jedinke iz obje grupe što odražava pripadnost zajedničkoj ancestralnoj grupi ili je posljedica antropogenih translokacija

Potencijalna rasprostranjenost plemenitog raka sada (2022) i u budućnosti (2070)

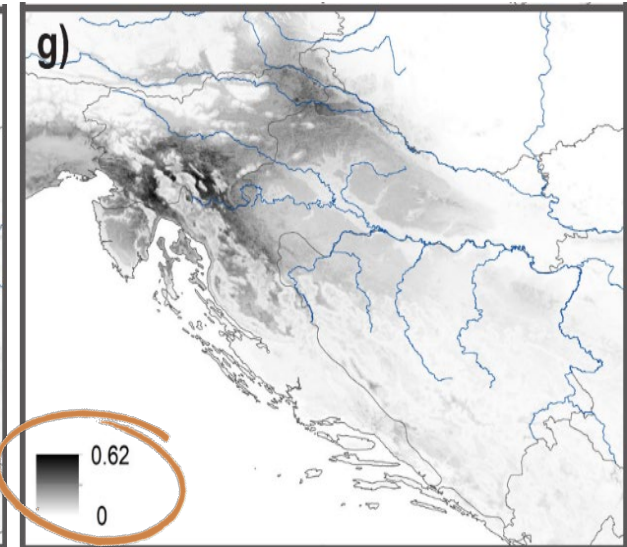
2022



2070: +1.8°C

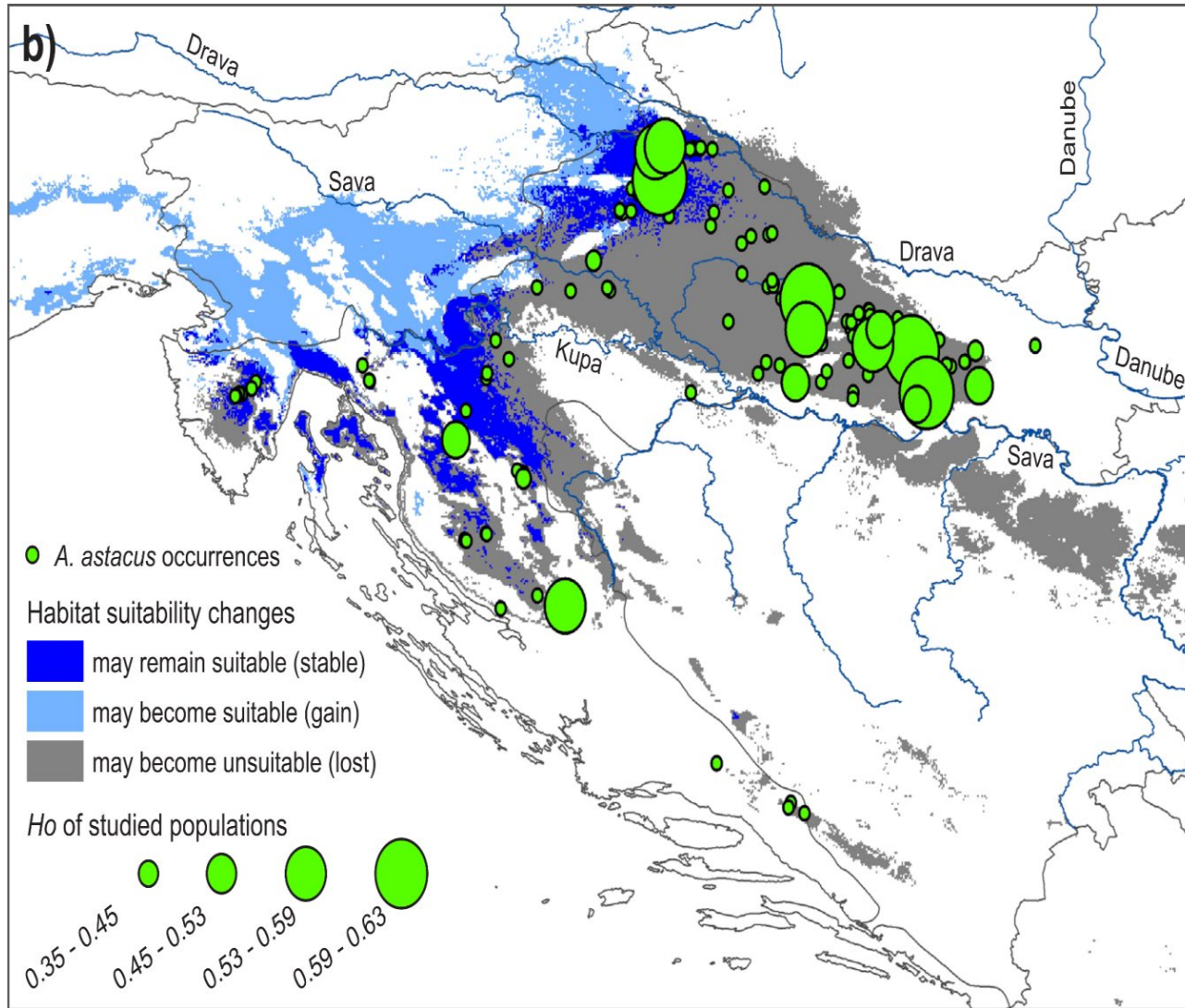


2070: +3.7°C



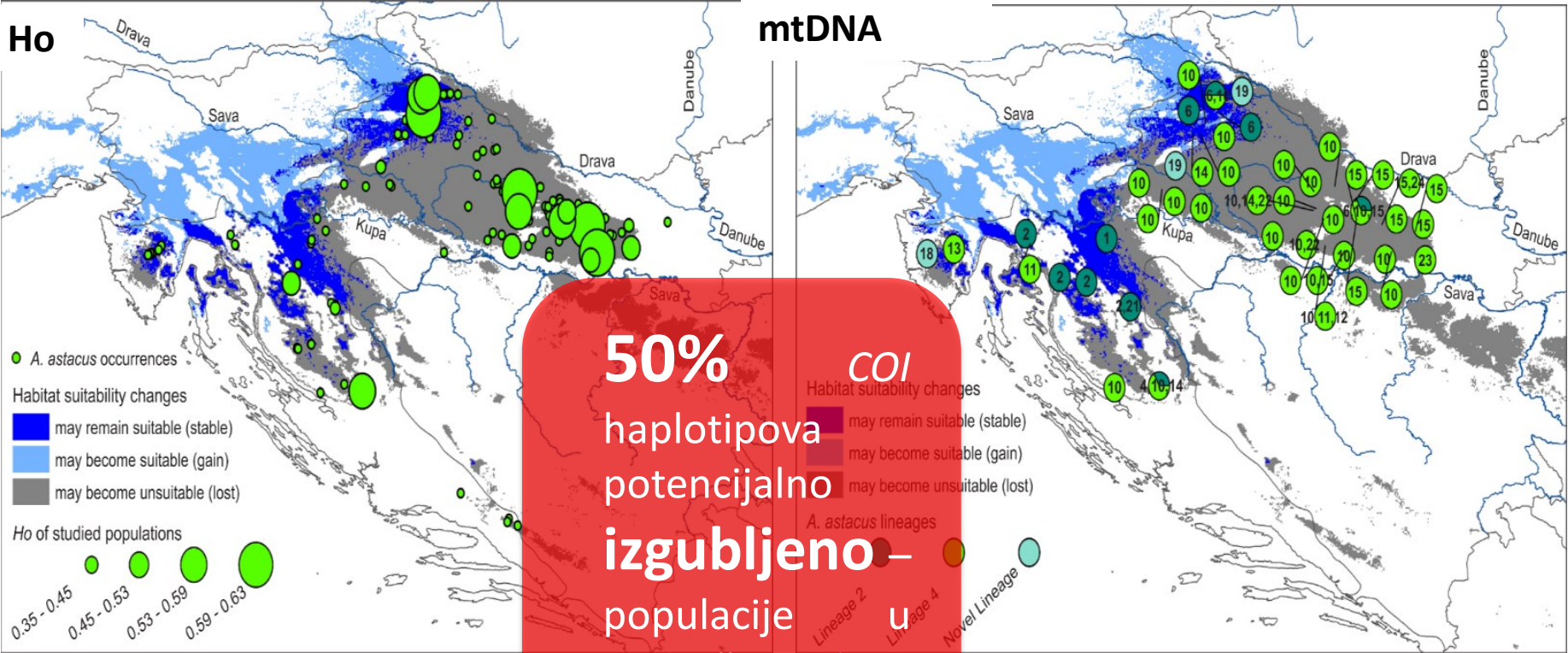
- negativni utjecaj klimatskih promjena
- značajno smanjenje povodnih staništa do 2070. godine
- pomicanje potencijalne rasprostranjenosti prema SZ i Sloveniji

Promjene u povodnosti staništa



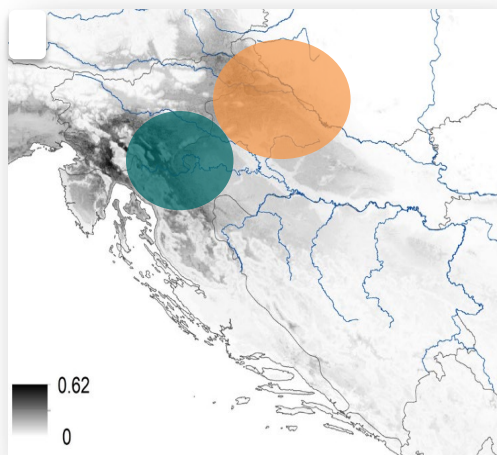
...gubitak oko **87%**
trenutno povodnih
staništa za plemenitog
raka do 2070 (+3.7°C)

Preklapanje potencijalne buduće rasprostranjenosti plemenitog raka i genetske raznolikosti



- potencijalni gubitak velikog dijela genetske raznolikosti plemenitog raka zbog klimatskih promjena
 - populacije s najvećom i jedinstvenom genetskom raznolikosti smještene u područjima koja su predviđena kao nepovoljna u budućnosti

Potencijalni klimatski refugiji



- područja s najvećom genetskom razndikošću i klimatski povoljnim staništima
 - rijeke i umjetna jezera na nižim nadmorskim visinama u alpskoj regiji
 - **mtDNA Linija 2 i/ili Genetska grupa II**
 - šljunčare i mrtvaje uz rijeke Dravu i Savu u sjeverozapadnom dijelu kontinentalne Hrvatske
 - **mtDNA Linija 4 i/ili Genetska grupa I**
- nedostupna zbog prirodnih barijera širenja → asistirana migracija i repopulacija
- donorske populacije za buduće repopulacije i reintrodukcije
 - populacije ILQ, KUT, VEL, BAČ i BIJ
 - visoka i jedinstvena genetska razndikost na razini mtDNA i nuDNA
 - potencijalno izgubljene zbog nepovoljnih staništa u budućnosti



Zaključak

- Hrvatske populacije čuvaju značajnu genetsku raznolikost slatkovodnih rakova – rezervoar na europskom nivou
- Najveća raznolikost potočnog raka – Alpska biogeografska regija
- Najveća raznolikost riječnog raka – Kontinentalna biogeo. regija
- Najveća raznolikost bjelonogog raka – Mediteranska biogeo. regija
- **Filogenija + filogeografija + populacijska genetika + SDM – neophodni za izradu konzervacijskih planova za ove ugrožene/osjetljive native vrste**

