

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Marko B. Raković

UTICAJ LEDENIH DOBA NA  
FILOGEOGRAFSKE OBRASCE ŠUMSKIH  
PTICA: *PHYLLOSCOPUS COLLYBITA*,  
*PRUNELLA MODULARIS* I *CERTHIA*  
*FAMILIARIS*

doktorska disertacija

Beograd, 2019

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Marko B. Raković

IMPACT OF ICE AGES ON  
PHYLOGEOGRAPHIC PATTERNS OF  
FOREST BIRD SPECIES:  
*PHYLLOSCOPUS COLLYBITA*,  
*PRUNELLA MODULARIS* AND *CERTHIA*  
*FAMILIARIS*

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2019

**Mentori:**

---

dr Anđeljko Petrović, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu

Biološki fakultet

---

dr Stefan Skorić, naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu

Institut za multidisciplinarna istraživanja

**Član komisije:**

---

dr Milan Plećaš, docent

Univerzitet u Beogradu

Biološki fakultet

**Datum odbrane:**

### ***Izjave zahvalnosti:***

*Ovom prilikom želim da se zahvalim mnogim saradnicima koji su zajedničkim snagama doprineli da ova disertacija ugleda svetlo dana. Pre svega duboku zahvalnost dugujem mentorima Anđeljku Petroviću i Stefanu Skoriću koji su me vodili kroz izradu teze od početka do kraja. Takođe, ovom prilikom zahvaljujem se i Milanu Plećašu koji je svojim naučnim doprinosom unapredio finalnu verziju doktorske disertacije. Svoju izrazitu zahvalnost dugujem kolegama Sergei Drovetski, Gary Voelker, Kristof Zyskowski, Igor Fadeev, Sargis Aghayan, Giovanni Boano, Marco Pavia, Julio Neto, Evgenii Koblik, Yaroslav Redkin, Ricardo Lopes, Jerome Fuch, Jean – Marc Pons, Martin Collinson i ostalim od kojih sam dosta toga naučio i čiji projekti su finansirali terenska istraživanja i laboratorijski rad.*

*Zahvalnost i strpljenje dugujem i kolegama iz Prirodnjačkog muzeja, Milanu Paunoviću, Daliborki Stanković, Milošu Joviću i Borisu Ivančeviću koji su mi pomogli pri izradi doktorske teze i koji su trpeli moje izostanke iz kancelarije radi terenskih istraživanja.*

*Ipak, moram da priznam da svega ovoga ne bi bilo bez podrške moje porodice, pre svega roditelja koji su od početka pratili moja interesovanja za ptice i finansirali deo istraživanja. Takođe želim da se posebno zahvalim mom sinu Brani Rakoviću zbog podrške prilikom izrade doktorske teze i izvinem zbog čestog izostajanja radi proučavanja ptica. Hvala Vam, Vama posvećujem ovu doktorsku tezu!*

*Autor*

## Uticaj ledenih doba na filogeografske obrasce šumskih vrsta ptica: *Phylloscopus collybita*, *Prunella modularis* i *Certhia familiaris*

### Sažetak:

Paradigma koja opisuje efekte Pleistocenskih glacijacija na živi svet podrazumeva izolaciju populacija u refugijumima za vreme glacijalnih maksimuma, i nakon toga rekolonizaciju šireg dela Evropskog kontinenta za vreme povlačenja lednika. Da bi se ova paradigma testirala, analizirani su filogenetski obrasci unutar tri šumske vrste ptica (*Phylloscopus collybita*, *Prunella modularis* i *Certhia familiaris*) koje su rasprostranjene širom Evroazije. Obrasci geografske varijacije jednog mitohondrijalnog i jednog nuklearnog gena su analizirani kod običnog zviždka (*P. collybita*). Kod običnog popića (*P. modularis*) u istraživanjima je korišćen jedan mitohondrijalni gen i 10 nuklearnih gena, dok kod kratkokljunog puzića (*C. familiaris*) tri mitohondrijalna i tri nuklearna gena. Analiza mitohondrijalnog gena kod običnog zviždka je pokazala postojanje šest filogenetskih linija koje odgovaraju postojećim podvrstama. Kod običnog popića, analize mitohondrijalnog gena, kao i analize nuklearnih gena i razgraničavanja podvrsta su ukazale na postojanje tri odvojene evolutivne linije: jedna je rasprostranjena na prostoru Pirinejskog poluostrva, druga na području Kavkaza i treća na području Apeninskog, Balkanskog poluostrva i ostatka Evrope. Kratkokljuni puzić se sastoji od dve filogenetske linije koje su se razdvojile u srednjem Pleistocenu: jedna paleoendemična koja ima alopatričko rasprostranjenje ograničeno na ostrvo Korzika i region Kavkaza i drugu, mlađu i široko rasprostranjenu, koja je prisutna u većem delu Evroazije i severnog dela Kine. Rezultati dobijeni u ovom istraživanju naglašavaju značaj glacijacija u oblikovanju evolucione istorije sve tri istraživane vrste ptica na prostoru Evroazije.

**Ključne reči:** filogeografija, šumske vrste ptica, ledeno doba, refugijumi, mitohondrijalni geni, nuklearni geni, *Phylloscopus collybita*, *Prunella modularis*, *Certhia familiaris*

**Naučna oblast:** Biologija

**Uža naučna oblast:** Morfologija, sistematika i filogenija životinja

## **Impact of ice ages on phylogeographic patterns of forest bird species: *Phylloscopus collybita*, *Prunella modularis* and *Certhia familiaris***

### **Abstract:**

Hewitt's paradigm for effects of Pleistocene glaciations on European populations assumes their isolation in peninsular refugia during glacial maxima, followed by recolonization of broader Europe during interstadials. To test this paradigm, we analyzed the phylogenetic relationships within three forest bird species (*Phylloscopus collybita*, *Prunella modularis* and *Certhia familiaris*) which ranges includes parts of Eurasia. For Common Chiffchaff (*P. collybita*) the patterns of intraspecific geographic variation in one mitochondrial and one nuclear gene were analyzed, for Dunnock (*P. modularis*) one mitochondrial and 10 nuclear genes and for Eurasian Treecreeper (*C. familiaris*) three mitochondrial and three nuclear genes. Common Chiffchaff subspecies were differentiated in their mtDNA, and formed six distinct mtDNA lineages. Regarding Dunnock, mtDNA gene tree, multilocus species tree and species delimitation analyses indicate the presence of three distinct lineages: one in the Iberian refugium, one in the Caucasus refugium, and one comprising the Italian and Balkan refugia and broader Europe. Eurasian Treecreeper comprises of two lineages that diverged during the mid-Pleistocene: one palaeoendemic lineage has an allopatric range nowadays restricted to the Corsica Island and the Caucasus region whereas the second one, more recent and widespread, is distributed over most of Eurasia and in northern China. Results obtained in this study highlight the importance of glaciations in shaping the evolutionary history of these three forest bird species in Eurasia.

Key words: phylogeography, forest bird species, ice age, refugium, mitochondrial genes, nuclear genes, *Phylloscopus collybita*, *Prunella modularis*, *Certhia familiaris*

**Scientific field:** Biology

**Scientific subfield:** Morphology, systematics and phylogeny of animals

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Uticaj ledenih doba na floru i faunu Evroazije .....	1
1.1.1. Glacijalni ciklusi na području Evroazije .....	1
1.1.2. Refugijumi tokom ledenog doba.....	2
1.1.3. Rekolonizacija severnog dela Evroazije iz južnih refugijuma .....	2
1.1.4. Uticaj ledenih doba na genetičku raznovrsnost i evolucionu istoriju vrsta .....	4
1.1.5. Uticaj ledenih doba na filogeografiju ptica Evroazije.....	6
1.2. Istraživane vrste ptica .....	7
1.2.1. Obični zviždak ( <i>Phylloscopus collybita</i> ).....	7
1.2.2. Obični popić ( <i>Prunella modularis</i> ) .....	13
1.2.3. Kratkokljuni pužić ( <i>Certhia familiaris</i> ) .....	15
2. CILJEVI .....	18
3. MATERIJAL I METODE.....	19
3.1. Prikupljanje materijala .....	19
3.1.1. Uzorci vrste <i>Phylloscopus collybita</i> .....	19
3.1.2. Uzorci vrste <i>Prunella modularis</i> .....	22
3.1.3. Uzorci vrste <i>Certhia familiaris</i> .....	25
3.2. DNK ekstrakcija, umnožavanje i sekvencioniranje.....	28
3.3. Filogeografske analize .....	31
3.2.1. Manipulacija i provera sekvenci .....	31
3.3.2. Testovi provere selektivnog pritiska na korišćene genske lokuse .....	31
3.3.3. Rekonstrukcija filogenetskih stabala i molekularno datiranje razdvajanja filogenetskih linija .....	32
3.3.4. Molekularno razdvajanje vrsta.....	34
3.3.5. Rekonstrukcija mreža haplotipova .....	35
3.3.6. Populaciono genetičke analize .....	36
3.3.7. Protok gena između populacija i analize efektivne veličine populacije.....	37
4. REZULTATI .....	39
4.1. Filogeografija vrste <i>Phylloscopus collybita</i> .....	39
4.1.1. Mitohondrijalna filogeografija.....	39
4.1.2. Varijacija <i>ACO119</i> nuklearnog gena .....	51
4.2. Filogeografija vrste <i>Prunella modularis</i> .....	59
4.2.1. Mitohondrijalna filogeografija i višelokusna filogenetska stabla .....	59

4.2.2. Razdvajanje vrsta u okviru običnog popića .....	63
4.2.2. Protok gena između geografskih regiona i njihova populaciona istorija .....	63
4.3. Filogeografija vrste <i>Certhia familiaris</i> .....	68
4.3.1. Filogenetski odnosi .....	68
4.3.2. Vremena razdvajanja mitohondrijalnih filogenetskih linija .....	74
4.3.3. Filogeografski obrasci .....	76
4.3.4. Razgraničenje vrsta .....	85
5. DISKUSIJA .....	86
5.1. Obični zviždak ( <i>Phylloscopus collybita</i> ) .....	86
5.1.1. Obrasci genetičke varijacije i biogeografije kompleksa običnog zviždka ....	86
5.1.2. Taksonomske preporuke.....	92
5.2. Obični popić ( <i>Prunella modularis</i> ).....	95
5.2.1. Filogeografija običnog popića i naseljavanje severne Evrope u interglacijalu .....	95
5.2.2. Preporuke i zaključci bazirani na istraživanju običnog popića.....	98
5.3. Kratkokljuni pužić ( <i>Certhia familiaris</i> ).....	99
5.3.1. Filogenetski odnosi .....	99
5.3.2. Biogeografija kratkokljunog pužića .....	100
5.3.3. Taksonomski problemi .....	103
5.3.4. Konzervacioni problemi .....	105
5.4. Glacijalni refugijumi i rekolonizacija severa Evroazije iz južnih refugijuma kod tri istraživane vrste ptica.....	105
5.4.1. Glacijalni refugijumi .....	105
5.4.2. Rekolonizacija severa Evroazije .....	107
6. ZAKLJUČCI.....	109
7. LITERATURA .....	111
8. PRILOZI.....	128
8.1. Korišćeni uzorci običnog zviždka i srodnih vrsta .....	128
8.2. Korišćeni uzorci običnog popića i srodnih vrsta .....	138
8.3. Korišćeni uzorci kratkokljunog pužića i srodnih vrsta .....	153



## **1. UVOD**

### **1.1. Uticaj ledenih doba na floru i faunu Evroazije**

#### **1.1.1. Glacijalni ciklusi na području Evroazije**

Smatra se da je klima planete Zemlje počela drastično da se menja tokom Paleogena (pre oko 65 miliona godina) i da postaje sve hladnija. Tokom ovom perioda, česte oscilacije temperature koje su se povećavale vremenom dovele su do serije velikih ledenih doba u toku Kvartara, epohe koja je počela pre oko 2,4 miliona godina, i koja traje sve do danas. Dokazi za ovakve, globalne fluktuacije klimatskih uslova dobijeni su analizom izotopa ugljenika i kiseonika u različitim slojevima morskih i jezerskih dna, slojevima lednika, kao i analizirajući vrste polena, Radiolaria i uz pomoć drugih bioloških i fizičkih dokaza iz ovog perioda (Bennett, 1997; Williams *et al.*, 1998).

Dok je Antarktička ledena kapa rasla od perioda oligocena (preko oko 35 miliona godina), Arktička ledena kapa je nastala početkom kvartara. Od tog perioda pa sve do pre oko 900 000 godina, glacijalni lednici su se širili i skupljali u ciklusima, na otprilike svakih 41 000 godina. Pre oko 900 000 godina, ovi ciklusi su zamenjeni ciklusima koji su se smenjivali na 100 000 godina, sa mnogo većim oscilacijama temperature (Bennett, 1997; Williams *et al.*, 1998). Ove ekstremne oscilacije klimatskih uslova napravile su velike promene u rasprostranjenju vrsta, pre svega u Evropi i Severnoj Americi (Hewitt, 1996, 2000, 2004). Neke od vrsta su izumrle, dok su neke migrirale u nova staništa, a neke su preživele u refugijumima i za vreme interglacijala ponovo raširile po Evroaziji. Pretpostavlja se da se ovakav scenario ponavljao više puta u periodu glacijacija.

Za vreme najvećih glacijacija (pre 900 000 godina do danas), polarni ledeni pokrivači su se značajno proširili tako da su se morske i vegetacione zone povukle ka ekvatoru (Williams *et al.*, 1998). Planinski venci (Alpi, Andi, Stenovite planine, Jakutske planine) na granicama rasprostranjenja lednika i permafrosta su takođe bili prekriveni lednicima, tako da je velika zapremina lednika smanjila nivo mora za oko 120 m (Rohling *et al.*, 1998). Smanjenje nivoa svetskih mora dovelo je do pojave zemljanih mostova koji su spajali različite udaljene kopnene mase i uticali na širenje i mešanje različitih biljnih i životinjskih zajednica (Hewitt, 1999).

### **1.1.2. Refugijumi tokom ledenog doba**

Tokom ledenih doba, različite vrste biljaka i životinja su nepovoljne vremenske uslove preživljavale na mestima sa odgovarajućom klimom, a kada govorimo o Evroaziji, obično na jugu, u regionu Sredozemlja. Refugijumi se mogu opisati kao geografska područja koja obezbeđuju odgovarajuća staništa za dugoročni život populacija koja predstavljaju rezervoar evolucione istorije vrsta (Hewitt, 2000; Bennett and Provan, 2008). Dokazi potekli iz nekoliko različitih naučnih oblasti su ukazali da je dominantni tip staništa na prostoru severne Evrope, Azije i Severne Amerike za vreme poslednjih ledenih doba bila kombinovana vegetacija tipa stepo – tundre (engl. steppe – tundra) (Guthrie, 1990). Vrste prilagođene umerenim klimatskim uslovima i šumskim staništima su preživele nepovoljne klimatske uslove u refugijumima, pre nego što su se proširile na severne delove kontinenta u sadašnjem interglacijalu, kao i u prethodnim interglacijalima. Za taksone koji su rekolonizovali severnu i centralnu Evropu na početku sadašnjeg interglacijala se pretpostavlja da su imali refugijume na području južnog dela Evrope, pri Sredozemnom moru, kao i istočno, na području Azije. Kao najznačajniji refugijumi tokom pleistocenskih glacijalnih ciklusa u Evropi i zapadnom delu Azije označeni su Balkansko, Pirinejsko i Apeninsko poluostrvo, kao i Kavkaz (Hewitt, 2000). Međutim, najnovije studije ukazuju na pojavu kriptičnih severnih refugijuma za mnoge organizme umerenog klimatskog pojasa, pre svega za neke vrste drveća, sisara, leptira, i drugih vrsta ovog pojasa (Stewart and Lister, 2001; Magri *et al.*, 2006; Stewart *et al.*, 2009; Parducci *et al.*, 2012; Schmitt and Varga, 2012; Tzedakis, Emerson and Hewitt, 2013). Postojanje raznih tipova refugijuma dovelo je do klasifikacije refugijuma na: klasične južne glacijalne refugijume i kriptične severne glacijalne refugijume za vrste umerenog pojasa; polarne i kriptične južne interglacijalne refugijume za vrste adaptirane na hladne klimatske prilike; kontinentalne interglacijalne refugijume duž gradijenata severne geografske dužine (Stewart *et al.*, 2009).

### **1.1.3. Rekolonizacija severnog dela Evroazije iz južnih refugijuma**

Nakon svakog pleistocenskog perioda glacijacija, tokom interglacijalnih perioda iz južnih refugijuma započeta je rekolonizacija severnih delova Evrope u nekoliko pravaca zavisno od pokretljivosti organizma i dostupnosti odgovarajućih staništa. U paradigmi

naseljavanja severne Evrope Hewitt (1999, 2000) je opisao tri tipa naseljavanja severne Evrope iz južnih refugijuma kod različitih vrsta:

1. *Chorthippus parallelus* – livadski skakavac. Kod ove vrste je nađeno pet filogenetskih linija, u svakom od refugijuma. Diverzitet haplotipova na području severne Evrope je bio dosta nizak, dok su jedinke pripadale filogenetskoj liniji sa područja Balkana, ukazujući na naseljavanje severnog dela Evrope iz pravca Balkana. Filogenetske linije iz Turske, Grčke, Pirinejskog i Apeninskog poluostrva su imale veliku proporciju jedinstvenih haplotipova i bile ograničene na date geografske regione. Hibridne zone između različitih filogenetskih linija su opisane između pirinejske i balkanske filogenetske linije, kao i između apeninske i balkanske filogenetske linije. Takođe hibridne zone se mogu očekivati i na drugim mestima gde se različite filogenetske linije sreću. Analize polena ukazuju da je vegetacija koja odgovara ovoj vrsti bila ograničena na južne delove Evrope za vreme poslednjeg glacijalnog maksimuma, i brzo se raširila ka istoku. Veliki mrmoljak (*Triturus cristatus*), crna jova (*Alnus glutinosa*) kao i bukva (*Fagus sylvatica*) takođe prate ovaj obrazac kolonizacije severnog i centralnog dela Evrope (Hewitt, 1999, 2000).
2. *Erinaceus europeus* – jež. Zapadnoevropska populacija ježa je parapatrička u odnosu na sestrinsku vrstu *Erinaceus concolor* koja je rasprostranjena na istoku. Istraživanje urađeno na mitohondrijalnom *CYTB* genu potvrdilo je značajnu razliku između ove dve sestrinske vrste koje su se razdvojile pre nekoliko miliona godina, verovatno na samom početku Kvartara. Na području Evrope, ova vrsta je izdvojena na tri filogenetske linije, dok je četvrta filogenetska linija prisutna na području Turske i Izraela. Obrazac naseljavanja severnog dela Evrope je veoma različit od primera livadskog skakavca. Naime, jež je naselio severni deo Evrope iz tri refugijuma – pirinejskog, apeninskog i balkanskog. Područje Turske je takođe predstavljalo refugijum za ovu vrstu, i izgleda da genetički podaci ukazuju na diferencijaciju između istoka i juga Turske. Obrasci rekolonizacije severne Evrope po ugledu na ježa su otkriveni kod nekoliko vrsta hrastova (*Quercus* spp.), kao i kod jele (*Abies alba*) gde su kolonisti naseljavali sever iz nekoliko južnih refugijuma (Hewitt, 1999, 2000).

3. *Ursus arctos* – mrki medved. Mrki medved je imao široko rasprostranjenje u Evropi, koje je redukovano uticajem ljudi, dok se veće populacije sreću na području Skandinavije, istočne Evrope i Rusije. Analiza kontrolnog dela mitohondrijalne DNK (*CR* – control region) je otkrila postojanje zapadne i istočne filogenetske linije. Mrki medved je naselio veći deo severne Evrope iz pirinejskog refugijuma i kavkaskog/karpatskog refugijuma. Jedinke ovih filogenetskih linija se sreću na području Skandinavije i formiraju hibridnu zonu. Zapadna i kavkaska/karpatska filogenetska linija su izgleda brzo naselile centralni i severni deo Evrope, i na taj način sprečile prodor i širenje filogenetskih linija sa područja Apeninskog i Balkanskog poluostrva (Hewitt, 1999, 2000).

#### **1.1.4. Uticaj ledenih doba na genetičku raznovrsnost i evolucionu istoriju vrsta**

Na početku ledenih doba vrste su imale kontinuirani areal i dolazilo je do slobodne razmene gena. Nakon povlačenja vrsta u južne refugijume došlo je do razdvajanja na nekoliko populacija koje su odvojeno evoluirale. Pošto nije dolazilo do međusobnog ukrštanja i protoka gena između populacija u refugijumima, tokom vremena su nastale genetičke razlike između izdvojenih populacija. Različite populacije iz četiri glavna refugijuma su mogle da kolonizuju Evropu u nekoliko pravaca. Mnoge od dosadašnjih studija ukazuju da su jedinke sa Balkana najčešće kolonizovale sever Evrope, a onda slede populacije sa područja Pirinejskog poluostrva, zatim Apeninskog, dok su jedinke poreklom sa područja Kavkaza/Turske najmanje naseljavale sever Evrope (Hewitt, 1996, 2004). Tokom sadašnjeg interglacijalnog perioda često dolazi do sekundarnog kontakta između populacija koje su bile razdvojene u različitim refugijumima. Na relativno maloj kontaktnoj površini dolazi do mešanja filogenetskih linija više različitih vrsta/podvrsta. Mesta susreta dve ili više filogenetskih linija nazivaju se sekundarne zone hibridizacije ili zone sučeljavanja ako se radi o nekoliko vrsta koje prate isti obrazac rasprostranjenja i hibridizacije. Sa obzirom da se sekundarne zone hibridizacije grupišu na nekim mestima predložene su uopštene zone sučeljavanja na području Evrope, tačnije na Skandinavskom poluostrvu, Alpima i u centralnoj Evropi, sa produžecima na severnom Balkanu i Pirinejima (Avisé and Walker, 1998; Taberlet *et al.*, 1998; Hewitt, 2000; Helbig *et al.*, 2001).

Modeliranjem rasprostranjenja kao i simulacijama ekspanzije iz refugijuma došlo se do zaključaka da populacije na krajnjem severu imaju smanjenu heterozigotnost i samim tim su genetički homogene, za razliku od refugijalnih populacija koji imaju mnogo veći genetički diverzitet (Ibrahim, Nichols and Hewitt, 1996). Ovakav obrazac smanjenog genetičkog diverziteta kod severnih populacija je pokazan kod mnogih vrsta (Hewitt, 1996, 2004). Rekolonizacija severa može biti brza, spora i postepena (engl. stepping stone), i u zavisnosti od tipa kolonizacije, genomi kolonista se razlikuju pre svega po genetičkom diverzitetu. Recimo, moglo bi se očekivati da brza ekspanzija na područje velikih ravnica u Evropi ima različit uticaj na genome populacija u odnosu na sporu rekolonizaciju planinskih venaca od podnožja ka vrhovima planina (Hewitt, 1993, 1996). Kako je klima brzo otopljavala, populacije iz severnog dela areala su se proširile na relativno velika severna prostranstva. Naravno, mnoge vrste su više ili manje zavisne od drugih vrsta i tokom kolonizacije severa su pratile rasprostranjenje vrsta od kojih su zavisne. Brzo naseljavanje severnog dela kolonistima na velike udaljenosti koje su uspostavile populacije severno od glavnog areala dovodi do ispunjenja kapaciteta sredine i dominacije gena prvih kolonista na severnom području. Ovakav vid naseljavanja severa je ponovljen mnogo puta tokom pleistocenskih glacijacija. Ovakve serije efekata osnivača (engl. founder effect) su dovele do gubitka alela i povećane homozigotnosti populacija na severu (Ibrahim, Nichols and Hewitt, 1996). Brzo naseljavanje severnog dela Evrope je dovelo do široke rasprostranjenosti populacija sa smanjenim genetičkim diverzitetom i brojna istraživanja ukazuju na ovaj obrazac (Hewitt, 1996). Spora rekolonizacija ima drugačije posledice na genetičku strukturu populacija, i kod ovog tipa naseljavanja genetički diverzitet je održan u severnim populacijama. Generalno gledano, ako populacija brzo naseli sever iz jednog od južnih refugijuma, onda sprečava populacije iz drugih refugijuma da se šire. Ako je kolonizacija sporija, različite populacije imaju šansu da nasele sever iz južnih refugijuma (Hewitt, 1996). Obrazac sprečavanja drugih populacija pri brzom naseljavanju severnog područja je objašnjen pre svega gustinom i logističkim, a ne ekspanzionalnim rastom populacija (Hewitt, 1993). Ako postoje razlike u genomima prvih populacija koje su naselile sever u odnosu na nove došljake, hibridi između različitih populacija mogu imati manji fitnes u odnosu na pripadnike obe populacije i na taj način napraviti barijeru u protoku gena koja je veća što je veća razlika u genomima

(Hewitt, 1993). Stoga, populacije koje se nalaze u refugijumima ne mogu da napreduju na sever tako lako. Južne populacije moraju da prežive na mestima refugijuma ili da se pomeraju u planinske pojaseve. Takođe, veoma je bitno napomenuti da bi planinski venci koji se prostiru u pravcu istok-zapad mogli da utiču kao prepreke pri širenju iz južnih refugijuma. Planinski venci na severnom delu južnih mediteranskih evropskih poluostrva kao što su Pirinejsko, Apeninsko i Balkansko služe kao barijera za naseljavanje severa i na taj način izoluju refugijalne južne populacije. Turska, kao potencijalni refugijum je takođe izolovana na severu Crnim morem, a na jugu Sredozemnim morem (Hewitt, 2004).

### **1.1.5. Uticaj ledenih doba na filogeografiju ptica Evroazije**

Vrste koje su uzete kao primeri naseljavanja severne Evrope iz južnih refugijuma (Taberlet *et al.*, 1998; Hewitt, 1999, 2000, 2004) uključuju biljke, insekte, vodozemce i sisare, koje imaju malu sposobnost disperzije osim mrkog medveda (*Ursus arctos*) koji ima umerenu sposobnost disperzije. Visoko disperzivne vrste, kao što su ptice, su izostavljene iz ovakvih preglednih radova. Iako i ptice moraju da se povuku u južne refugijume za vreme širenja lednika, nejasno je da li ima neke diferencijacije između refugijalnih populacija sa obzirom da ptice preleću mnogo veće udaljenosti tokom migracije u odnosu na udaljenost između refugijuma. Mnoge od evropskih ptica selica redovno preleću Sredozemno more, dok su neke vrste kolonizovale Azorska i Kanarska ostrva u Atlanskom okeanu (Rodrigues *et al.*, 2013, 2016; Valente *et al.*, 2017). Nekoliko skorašnjih filogeografskih studija u kojima su korišćeni uzorci nekoliko vrsta ptica iz područja refugijuma i rekolonizovanih delova severne Evrope su publikovane poslednjih godina (Brito, 2005; Pons *et al.*, 2011; Pentzold *et al.*, 2013; Perkaş and Quintero, 2013; Pellegrino *et al.*, 2014). Dok neka od ovih istraživanja podržavaju ranije publikovane studije o naseljavanju severne Evrope iz južnih refugijuma, ni jedna od njih nema uključene sve refugijume, dok su mnoge istraživane vrste stanarice ili selice na male udaljenosti, sa ograničenom sposobnošću disperzije.

Sposobnost letenja na velike razdaljine olakšava osvajanje novih prostora, tako da među pticama Palearktika postoji mnogo slučajeva zona sekundarnog kontakta. U ovim zonama dve ili više fenotipski sličnih, ali genetički različitih populacija koje su evoluirale u geografskoj izolaciji dolazi u kontakt i hibridizuju do određenog nivoa.

Nivo hibridizacije je usko povezan sa genetičkim inkompatibilitetima, odnosno što su vrste/podvrste duže bivale u izolaciji, to je zona hibridizacije uža i postoji jača selekcija protiv hibrida. Primeri kod ptica uključuju vrste koje u zonama sekundarnog kontakta podležu selekciji protiv hibrida kao kod običnog i pirinejskog zviždka (*Phylloscopus collybita*, *Phylloscopus ibericus*) (Helbig et al. 2001), gde je činjenica da fenotipovi na obe strane zone ostaju razdvojeni uzeta kao indikator barijere protoka gena. Manji stepen selekcije protiv hibrida dokumentovan je kod nekoliko vrsta ptica. Interesantan primer predstavlja studija genetičke strukture jelove senice (*Periparus ater*) na području centralne Evrope gde dve filogenetske linije koje su veoma morfološki slične sa velikim razlikama u mitohondrijalnoj DNK hibridizuju u dosta širokoj zoni preklapanja (Pentzold et al., 2013). Takođe, kod velikog trstenjaka (*Acrocephalus arundinaceus*) koji je naselio sever Evrope iz dva refugijuma dolazi do široke zone hibridizacije na području većeg dela Evrope (Hansson et al., 2008), dok kod obične crvenrepke (*Phoenicurus phoenicurus*) postoje dve mitohondrijalne filogenetske linije koje su pomešane u svim populacijama na području Evrope i gde izgleda da nema reproduktivne izolacije (Hogner et al., 2012).

Sa obzirom na to da su procenjena vremena razdvajanja filogenetskih linija gore navedenih vrsta ptica manja od million godina, uticaj glacijalnih ciklusa na populacije ptica na području Evrope je veoma izražen kao i kod ostalih manje disperzivnih biljaka i životinja.

## **1.2. Istraživane vrste ptica**

### **1.2.1. Obični zviždak (*Phylloscopus collybita*)**

#### **1.2.1.1. Uopšteno o rodu i vrsti**

Ceo rod zviždaka (*Phylloscopus*) je rasprostranjen širom Evroazije i Afrike, sa najvećim brojem vrsta na području Azije. Čak 16 vrsta se može naći od podnožja do vrha istočnog dela Himalaja, dok više od 20 vrsta obitava na području Kinling planina u severnom delu centralne Kine. Severne populacije svih vrsta zviždaka su migratorne, dok su južne populacije ili staničnice ili selice na male udaljenosti (Bairlein et al., 2006). Neke vrste ovog roda su izuzetne selice na duge udaljenosti. Na primer, podvrsta brezovog zviždka (*Phylloscopus trochilus yakutensis*) koja se gnezdi u severoistočnom

delu Azije (ostrvo Ajopehan) zimuje na području južnog dela Tanzanije i severnog dela Mozambika pri tome prevaljujući razdaljine oko 13 000 km u jednom pravcu (Sokolovskis *et al.*, 2018).

Sa razvijanjem molekularnih metoda u poslednjih tridesetak godina, naglo je porastao broj opisanih vrsta: sredinom osamdesetih godina opisane su 52 vrste (Watson, Traylor and Mayr, 1986), do 2003. opisano je 56 vrsta (Dickinson, 2003), dok je 2018. godine rod *Phylloscopus* predstavljen sa 77 vrsta (Gill and Donsker, 2018). Čak i u 2018. godini nove vrste se opisuju i otkrivaju, uglavnom u neistraženim predelima jugoistočne Azije (Ng *et al.*, 2018), tako da broj vrsta ovog roda raste veoma velikom brzinom. Većina novoopisanih vrsta su morfološki kriptične vrste, i opisane su korišćenjem kako molekularnih metoda tako i korišćenjem opisa oglašavanja i pesme. Pored alopatričkih, među novootkrivenim vrstama su bile i simpatrične vrste koje su fenotipski toliko slične da su bile greškom smatrane za konspecijske. Većina vrsta roda *Phylloscopus* je politipska, sa intraspecijskom diferencijacijom na nekoliko podvrsta. U zapadnom Palearktiku javlja se 18-20 vrsta, među kojima *Ph. collybita*, *Ph. trochilus* i *Ph. sibilatrix* imaju najšire rasprostranjenje (Cramp, 1992; Ciach, 2009). Nekoliko vrsta u okviru roda *Phylloscopus* dobili su ime (engl. Chiffchaff) po onomatopeji specifične pesme koja je jedan od prvih znakova povratka proleća i koja ih odvaja od drugih vrsta roda *Phylloscopus*. Veoma su brojne i na nekim lokalitetima mogu predstavljati i do 40% svih ptica (Price, 2010).

Obični zviždak (*Ph. collybita*) je široko rasprostranjen u Evropi i Aziji, sa izolovanim populacijama u severnoj i zapadnoj Turskoj i severozapadnom Iranu i istočnom Turkmenistanu (Clement and Helbig, 1998). Pripadnici ove vrste zimuju u južnoj i zapadnoj Evropi, južnoj Aziji i severnoj Africi (Snow *et al.*, 1998). Naseljavaju različite vrste šuma i šumovitih predela, posebno mešovite i četinarske šume. U periodu gnežđenja nalaze se u otvorenim šumama sa visokim drvećem (najčešće preko 5 m). Tokom zime manje su zavisni od drveća i imaju širi spektar staništa (Bairlein *et al.*, 2006).

Obični zviždci se odlikuju raznovrsnim strategijama migracije. Populacije iz severne i istočne Evrope i Sibira su regularne selice na dugačke udaljenosti. Populacije iz zapadne Evrope su selice na kraće udaljenosti, dok je deo južnih populacija sedentaran.



Prolećna migracija je tokom marta, a jesenja tokom septembra i oktobra. U proleće se vraćaju među prvima u gnezdeća područja, dok ih u jesen napuštaju među poslednjima. Zimujuća područja uključuju subtropske i umerene zone zavisno od podvrste (Snow *et al.*, 1998; Ciach, 2009).

Mušjaci se prvi vraćaju i zauzimaju teritorije. Kada uoče ženku, privlače je pevajući uz kratke letove slične letu leptira kao deo repertoara udvaranja. Mušjaci štite gnezda koja ženke grade od biljnog materijala i perja, na ili blizu zemlje na prikrivenim mestima u gustoj niskoj vegetaciji. Obično legu 2 do 7 jaja, na kojima ženke leže 13 do 14 dana do izleganja ptića. Ženka hrani ptiće narednih 14 do 15 dana dok ne dobiju perje nakon čega ostaju u gnezdu još 3 do 4 dana (Cramp, 1992).

#### **1.2.1.2. Taksonomska diferencijacija kompleksa običnog zviždka**

Obični zviždak (*Phylloscopus collybita*) pripada rodu *Phylloscopus*, familiji Phylloscopidae, redu Passeriformes (Gill and Donsker, 2018). Intraspecijska diferencijacija kompleksa *Ph. collybita* je dosta složena. U prvom istraživanju kompleksa običnog zviždka (Helbig *et al.*, 1996), autori su koristili parcijalne sekvence *CYTB* gena (300-1 041 baznih parova) i našli značajne razlike između više filogenetskih linija. Analiza koja je uključila molekularne razlike, fenotipske razlike, kao i razlike u pesmi dovela do razdvajanja pirinejskog i kanarskog zviždka od običnog zviždka, i potvrdila status planinskog zviždka (Clement and Helbig, 1998). Ova studija je pokazala da u okviru vrste postoji pet filogenetskih linija koje odgovaraju opisanim podvrstama, ali su po jedna sekvenca podvrsta *Ph. c. caucasicus* i *Ph. c. brevirostris* bile različite samo u dva bazna para (0,2% genetička distanca) bacajući sumnju na genetičku različitost ovih taksona sa obzirom da su druge podvrste bile genetički različite od 1,0 – 1,9%. U ovu studiju nisu bili uključeni uzorci podvrste *Ph. c. menzbieri*, ali jedina dostupna sekvenca u banci gena (GenBank accession AF136374) potvrđuje da je ova vrsta takođe 1 – 2% različita od ostalih populacija običnog zviždka. Sve filogenetske linije su morfološki veoma slične, mada postoje manje razlike u obojenosti, obliku krila i proporciji tela, kao i oglašavanju. Kao rezultat gore navedenih analiza predložena je nova klasifikacija sa razdvajanjem na nekoliko vrsta (Helbig *et al.*, 1996; Salomon *et al.*, 1997; Clement and Helbig, 1998; del Hoyo and Collar, 2014; Gill and Donsker, 2018):

Genus *Phylloscopus* (Boie 1826)

Superspecies *Phylloscopus [collybita]*

1. *Phylloscopus brehmii* (Homeyer 1871) – pirinejski zviždak (Pirinejsko poluostrvo, zapadna Afrika i jugozapadna Francuska); smatra se za najstariju filogenetsku liniju u grupi. Po najnovijoj master listi (Gill and Donsker, 2018) *Ph. brehmii* se smatra sinonimom *Ph. ibericus* (Ticehurst 1937) koji je monotipska vrsta:

1.1. *Phylloscopus ibericus* (Ticehurst 1937)

2. *Phylloscopus canariensis* (Hartwig 1886) – kanarski zviždak (Kanarska ostrva).

2.1. *Phylloscopus canariensis canariensis* (Hartwig 1886)

2.2. *Phylloscopus canariensis exsul* (Hartert 1907) – smatra se iščezlom.

3. *Phylloscopus collybita* (Vieillot 1817) – obični zviždak

3.1. *Phylloscopus collybita collybita* (Vieillot 1817) – severozapadna, centralna i južna Evropa; gnezde se u Britaniji i Irskoj, severnoj i centralnoj Škotskoj, Danskoj, južnoj Švedskoj, zapadnoj i južnoj Nemačkoj i južnoj Poljskoj, istočno do Rumunije; na jugu, kroz Francusku (gde se preklapaju sa *Ph. ibericus* u uskoj hibridnoj zoni na jugozapadu), severoistočnoj Španiji, Švajcarskoj, centralnim i zapadnim planinama Italije i severnoistočne Sicilije, istočno do Bugarske, severne Grčke i severozapadne Turske (gde doseže do Bosfora); zimuju u zapadnoj Evropi od Britanije, Francuske i Pirinejskog poluostrva do zapadnog dela Sredozemlja i zapadne Afrike.

3.2. *Phylloscopus collybita abietinus* (Nielson 1819) – severna i istočna Evropa; gnezde se od severoistočne Poljske, preko Baltičkih republika, obalskih delova Norveške i Švedske, istočno kroz Finsku i evropski deo Rusije i preko poluostrva Kola i obala Belog mora do reke Pehora; na jugu preko centralnog Urala do Odese na Crnom moru, sa izuzetkom ostatka južne Ukrajine i zapadnog i južnog Kazahstana; zimuju u istočnom delu Mediteranskog basena i u srednjeistočnim, severnoistočnim i istočnim delovima Afrike.

3.3. *Phylloscopus collybita brevirostris* (Strickland 1836) – severna i zapadna Mala Azija, visoravni zapadne i obale Crnog mora severne Turske.

3.4. *Phylloscopus collybita caucasicus* (Loskot 1991) – istočno od podvrste *brevirostris* na nižim nadmorskim visinama centralnog i zapadnog Kavkaza, južno do Jermenije, severnog i severozapadnog Irana.

3.5. *Phylloscopus collybita menzbieri* (Schestoperov 1937) – Turkmenistan i planine severoistočnog Irana.

3.6. *Phylloscopus collybita tristis* (Blyth 1843) – istočna Rusija, centralni Ural, Sibir, severni Kazahstan i severozapadna Mongolija; status nije jasno definisan zbog hibridnih zona sa podvrstom *abietinus* u zoni preklapanja ili moguće hibridizacije na zapadu Urala; fenotipski i molekularni podaci dovode do različitih zaključaka o taksonomskom statusu datih populacija. U jednom periodu je smatrana odvojenom vrstom (del Hoyo and Collar, 2014).

4. *Phylloscopus sindianus* (Brooks 1880) – planinski zviždak – planine centralne Azije i Kavkaza.

4.1. *Phylloscopus sindianus sindianus* (Brooks 1880) – planine centralne Azije.

4.2. *Phylloscopus sindianus lorenzii* (Lorenz 1887) – Kavkaz, Mali Kavkaz i Zakavkazje.

Razdvajanje u okviru vrste *Phylloscopus collybita* predstavlja poseban problem jer se prostire na dve velike alopatrične regije: *collybita/abietinus* (centralna i severna Evropa) i *brevirostris/caucasicus/menzbieri* (Bliski istok). Grupe se jasno razlikuju po oglašavanju, ali su im pesme veoma slične i ukazuju na blisku vezu (Martens and Hanel, 1981). Podvrsta *abietinus* se seli preko regija gde se gnezde *brevirostris* i *caucasicus*, pa bi rana terminacija prolećne migracije mogla da dovede do povremenih mešanja. S druge strane, postoji jasna diferencijacija između podvrsta *abietinus* i *collybita* i izgleda da odvojeno evoluiraju već nekoliko stotina ili hiljada godina (Cramp, 1992; Helbig *et al.*, 1996).

#### **1.2.1.3. Hibridne zone u okviru kompleksa vrsta običnog zviždka (*Phylloscopus collybita*)**

Do sada su pronađene i istražene tri zone hibridizacije između različitih vrsta i podvrsta kompleksa običnog zviždka. U okviru kompleksa vrsta, najistraženija je hibridna zona

između pirinejskog zviždka *Phylloscopus ibericus* i nominalne podvrste običnog zviždka *Phylloscopus collybita collybita* koja se prostire na zapadnim Pirinejima (jugozapadna Francuska i severnoistočna Španija). Ova hibridna zona široka je oko 20 km. Ove dve vrste su morfološki vrlo slične, ali se genetički jasno razlikuju po mitohondrijalnom *CYTB* genu (4,6%). Pasma im se takođe razlikuje, s tim što su zabeleženi slučajevi gde jedna ptica imitira drugu. Molekularna istraživanja pokazala su da se u ovoj uskoj zoni javljaju hibridi. Pirinejski zviždci migriraju na veće udaljenosti, odnosno sele se južno od Sahare gde zimuju. Tokom zime na mestima gnežđenja pirinejskog zviždka zamenjuje ih centralnoevropski obični zviždak (*Phylloscopus collybita collybita*). Različit obrazac migriranja ima važan uticaj na održavanje diferencijacije ove dve vrste sa obe strane kontaktne zone, jer selekcija protiv hibrida sa loše adaptiranim, intermedijarnim migratornim ponašanjem može da doprinese reproduktivnoj izolaciji i samim tim slabijem preživljavanju hibrida (Salomon *et al.*, 1997; Helbig *et al.*, 2001; Salomon, Voisin and Bried, 2003).

Primer istražene hibridne zone u okviru podvrsta običnog zviždka uključuju podvrste *Phylloscopus collybita abietinus* i *Ph. c. tristis* na području zapadnog Sibira (Marova *et al.*, 2009, 2013; Shipilina *et al.*, 2017). Istraživanja o ovoj hibridnoj zoni su pokazala da je ukupna genetička diferencijacija između istraživanih podvrsta niska uprkos značajnoj fenotipskoj razlici. Visoki procenat jedinki iz centra hibridne zone pokazuje intermedijarne fenotipske karakteristike kao i pomešane genske alele, koji ukazuju na obiman protok gena u prošlosti i u sadašnjosti. Obrasci fenotipske i genetičke varijabilnosti variraju između severnog i južnog dela hibridne zone, verovatno usled razlika u gustini populacija i/ili starosti hibridne zone. Dobijeni rezultati ukazuju da ptice koje pokazuju intermedijarne fenotipske karakteristike ustvari predstavljaju jedinke kod kojih su aleli podvrste *Ph. c. abietinus* introgresovani u genome jedinki podvrste *Ph. c. tristis*. Ovi rezultati ukazuju takođe da je veoma teško pripisati pojedinačne jedinke jednoj od podvrsta samo na osnovu fenotipa (Shipilina *et al.*, 2017).

Po trenutno raspoloživim podacima podvrste *Ph. c. collybita* i *Ph. c. abietinus* ne hibridizuju ali postoje vrlo jasne indikacije da će do njihovog kontakta doći na prostoru centralne Švedske (Hansson, Bensch and Brännström, 2000). Na severu Švedske živi podvrsta *Ph. c. abietinus*, dok se populacija podvrste *Ph. c. collybita* skoro doselila i širi

se brzo iz pravca juga ka severu. Do 2000. godine kada su objavljeni podaci gore pomenute studije, između ove dve podvrste je postojao prostor od oko 500 km. Autori su uporedili morfologiju, oglašavanje i pesmu, izbor staništa i neutralnu genetičku varijabilnost (mitohondrijalnu DNK i četiri mikrosatelitska lokusa) između 30 mužjaka od svake podvrste. Zaključili su da se ove podvrste razlikuju značajno u mitohondrijalnoj DNK i nekoliko morfoloških mera. Takođe postojao je i protok gena između populacija, tako da je oko 90% mitohondrijalne DNK odgovaralo opisanim podvrstama (Hansson, Bensch and Brännström, 2000).

I na kraju, kontakt bez hibridizacije dve srodne vrste javlja se na području Kavkaza, Malog Kavkaza i Zakavkazja gde podvrsta običnog zviždka *Ph. collybita caucasica* i podvrsta planinskog zviždka *Phylloscopus sindianus lorenzii* žive u simpatriji (Helbig *et al.*, 1996). Do sada nisu registrovane jedinke koje imaju intermedijarni fenotip, ili genotip koji ne odgovara fenotipu na ovom području. Ove jedinke su takođe ekološki razdvojene sa obzirom da podvrsta *Ph. c. caucasica* živi na nižim nadmorskim visinama, a *Ph. s. lorenzii* na višim, mada su lokalne zone simpatrije nađene na nekoliko lokaliteta (Helbig *et al.*, 1996).

## **1.2.2. Obični popić (*Prunella modularis*)**

### **1.2.2.1. Uopšteno o rodu i vrsti**

Familija popića (Prunellidae) obuhvata do sada prepoznatih 13 vrsta iz roda *Prunella* (Snow *et al.*, 1998; Gill and Donsker, 2018). Neki od autora smatraju da ima 12 vrsta u rodu (del Hoyo and Collar, 2014), dok skorašnje filogeografske studije ukazuju na nove filogenetske linije unutar bar dve vrste (*Prunella collaris*, *Prunella atrogularis*) koje zavređuju status vrste zbog alopatričnog rasprostranjenja i velikih genetičkih razlika koje prate razlike u fenotipu (Drovetski *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2017). Od tradicionalno smatranih 13 vrsta, 11 vrsta imaju bar dve opisane podvrste, dok vrsta *Prunella collaris* ima čak devet. Pripadnici ove familije su rasprostranjeni u Evroaziji, a najviše vrsta je rasprostranjeno u planinskom delu centralne Azije. U istočnom delu planinskog lanca Himalaja može se naći i do pet vrsta koje žive u simpatriji. Mnoge vrste su mozaično rasprostranjene, sa disjunktivnim arealima u zavisnosti od dostupnog preferiranog staništa. Većina vrsta popića se gnezdi u alpskoj zoni, blizu gornje šumske granice na visokim planinama. Popići su uglavnom stanarice, koje za vreme zime silaze u podnožja

planina, dok su severno rasprostranjene vrste selice na male udaljenosti (Cramp, 1992; Snow *et al.*, 1998). Sve vrste su morfološki veoma slične, a izražena je razlika u veličini. Karakter koji je najbitniji za razlikovanje vrsta je boja perja, naročito perja na glavi. Polovi kod svih vrsta popića su veoma slično obojeni (Snow *et al.*, 1998), te polni dimorfizam nije izražen.

Obični popić je rasprostranjen u centralnoj, severnoj i istočnoj Evropi, dok na jugu Evrope naseljava delove Pirinejskog, Apeninskog i Balkanskog poluostrva, planine Male Azije i severni Iran. Južne populacije ove vrste se gnezde najčešće na obodu gornje granice šuma u alpskom pojasu, birajući niže drveće i žbunje kleke. Nasuprot južnim, planinskim populacijama, populacije koje naseljavaju ostatak Evrope se gnezde na malim nadmorskim visinama, u parkovima, baštama, rubovima šuma, kao i zasadima drveća sa razvijenim spratom žbunja. Obični popići zimu provode u južnom delu areala. Južne populacije ove vrste su stanarice, dok su severne populacije selice na kraće udaljenosti, pa je zimi ova vrsta u svakom od refugijuma dosta brojna (Snow *et al.*, 1998; Hatchwell, 2005).

Ova vrsta je poznata po veoma različitim strategijama uparivanja, gde dolazi do uparivanja jednog mužjaka i jedne ženke, dva mužjaka i jedne ženke, dve ženke i jednog mužjaka, kao i više mužjaka i ženki ako je gustina populacije velika (Davies and Lundberg, 1984). Obično se gnezdi od aprila do jula. Gnezda prave obično u žbunju ili na manjem drveću, i to samo ženke. Na jajima leže isključivo ženke, dok mlade hrane zajedno sa mužjacima. Inkubacija traje 12 – 13 dana, a mladi izleću pri starosti 11 – 12 dana nakon izleganja i postaju samostalni u periodu 14 – 17 dana posle izletanja iz gnezda. Obični popić se hrani uglavnom insektima, dok tokom zime jede i semena različitih biljaka (Snow *et al.*, 1998).

#### **1.2.1.2. Taksonomska diferencijacija običnog popića**

Vrsta *Prunella modularis* pripada rodu *Prunella*, porodici Prunellidae, redu Passeriformes (Gill & Donsker 2014). Intraspecijska diferencijacija *P. modularis* je dosta složena. Opisano je osam podvrsta (del Hoyo and Collar, 2014; Gill and Donsker, 2018):

1. *Prunella modularis mohebridium* Meinertzhagen, R, 1934 – Irska i Hebridska ostrva zapadno od Škotske.
2. *Prunella modularis occidentalis* (Hartert, 1910) – Škotska osim Hebridskih ostrva, Engleska i zapadni deo Francuske.
3. *Prunella modularis modularis* (Linnaeus, 1758) – severna i centralna Evropa.
4. *Prunella modularis mabbotti* Harper, 1919 – Pirinejsko poluostrvo, južni deo centralne Francuske i Italija.
5. *Prunella modularis meinertzhageni* Harrison, JM & Pateff, 1937 – Balkansko poluostrvo.
6. *Prunella modularis fuscata* Mauersberger, 1971 – južni deo Krma (severna obala Crnog mora).
7. *Prunella modularis euxina* Watson, 1961 – severozapadni i severni deo Turske.
8. *Prunella modularis obscura* (Hablizl, 1783) – severoistočna Turska, Kavkaz i severni deo Irana.

Za sada nisu pronađene hibridne zone između različitih podvrsta/populacija ove vrste na području celog areala.

### **1.2.3. Kratkokljuni puzić (*Certhia familiaris*)**

#### **1.2.3.1. Uopšteno o rodu i vrsti**

Familija puzića (Certhidae) je predstavljena sa devet vrsta iz roda *Certhia*, koje su morfološki uniformne i jedinstvenog izgleda (Gill and Donsker, 2018), kao i dve vrste iz roda *Salpornis*, koji je genetički sličniji familiji Sittidae i nekad su bili izdvojeni u posebnu familiju (Johansson, Fjeldså and Bowie, 2008). Zajedničko za sve vrste roda *Certhia* je srednje dug, ukrućen rep, povijen kljun i kriptična obojenost perja. Pripadnici ovog roda imaju veoma specifičnu i usku nišu (naseljavaju šumska staništa sa većim stablima), gde sakupljaju insekte sa stabala i grana drveća. Ovaj tip ekološke specijacije je ograničio različitost između pripadnika ovog roda, koji su uniformni po izgledu i ponašanju (Tietze and Martens, 2009). Sa obzirom na nivo specijalizacije i malu širinu ekološke niše, maksimum simpatričkih vrsta na jednom širem području je četiri (planine centralne Azije), a ne više od tri vrste koje žive sintopijski (Tietze and Martens, 2009). U većem delu areala, u severnom delu Azije i Severnoj Americi, prisutna je samo jedna vrsta, dok na području Evrope postoje dve simpatrične vrste, *C. familiaris* i *C.*

*brachydactyla*. Nova istraživanja pripadnika ovog roda bazirana na genetičkim razlikama i razlikama u pesmi i oglašavanju dovela su do podizanja dve podvrste kratkokljunog puzića na nivo vrsta (Tietze, Martens and Sun, 2006). To su manipurski puzić (*Certhia manipurensis* Hume, 1881) i južnoazijski Hodgsonijev puzić (*Certhia hodgsoni* Brooks, 1871).

Rasprostranjenost vrsta iz roda *Certhia* je ograničena uglavnom na Holarktiku, od Severne Amerike, zapadne Evrope i severnog dela Afrike do Japana, dok samo nekoliko vrsta naseljavaju Indo – malajsku oblast, kao i planinski deo Centralne Amerike (Harrap and Quinn, 1996). Sve vrste iz ovog roda naseljavaju različita šumska staništa, od nivoa mora, pa do visokih planina (do gornje ivice šumskog pojasa). Južne populacije puzića su stanarice, koje za vreme zime silaze u podnožja planina, dok su severno rasprostranjene vrste selice na male udaljenosti (Cramp and Perrins, 1993; Snow *et al.*, 1998). Polovi kod svih vrsta puzića su veoma slično obojeni i morfološki se veoma malo razlikuju (Tietze and Martens, 2009; del Hoyo and Collar, 2014), te polni dimorfizam nije izražen.

Kratkokljuni puzić (*C. familiaris*) je široko rasprostranjen na području Evroazije, od Velike Britanije na zapadu, pa sve do istočnog dela Rusije, Japana i severnog dela Kine. Pripadnici ove vrste žive i na području ostrva Korzike u Sredozemlju. Ova vrsta naseljava šumska staništa na različitim nadmorskim visinama. Više joj odgovaraju planinske, bukove, jelove, smrčeve, kao i mešovite šume sa većim stablima. Takođe kratkokljuni puzić se može naći i u drugim tipovima šuma u manjem broju, pre svega listopadnim šumama, kao i šumama bora. Južne populacije ove vrste su uglavnom stanarice, sa lokalnim pomeranjima tokom zime sa planina u podnožja, dok su severne populacije selice na male udaljenosti i zimu provode u južnom delu areala (Snow *et al.*, 1998).

Kratkokljuni puzić je monogamna vrsta, i živi u parovima i nakon sezone gnežđenja. Gnezdi se dosta rano, od marta pa sve do kraja juna, i obično ima dva legla. Na jajima isključivo leže ženke, dok mlade hrane oba roditelja. Gnezdo smešta u rupama na stablima, kao i u račvama drveća. Inkubacija traje oko 15 dana, a mladi izleću oko 16 dana nakon izleganja. Potpuno samostalni postaju 17 dana nakon izletanja iz gnezda (Cramp and Perrins, 1993). Ova vrsta se hrani insektima i paucima tokom cele godine, a



tokom zime se hrani i semenkama bora i smrče. Hranu traži obično na stablima, od donjeg dela puzi spiralno ka gornjem delu i istražuje pukotine u kori (Snow *et al.*, 1998).

### **1.2.3.2. Taksonomska diferencijacija kratkokljunog puzića**

Vrsta *Certhia familiaris* pripada rodu *Certhia*, familiji Certhidae, redu Passeriformes (Gill & Donsker 2014). Intraspecijska diferencijacija kompleksa *C. familiaris* je dosta složena. Opisano je 10 podvrsta (del Hoyo and Collar, 2014; Gill and Donsker, 2018):

1. *Certhia familiaris britannica* Ridgway, 1882 – Irska i Velika Britanija.
2. *Certhia familiaris macrodactyla* Brehm, CL, 1831 – zapadna i centralna Evropa.
3. *Certhia familiaris corsa* Hartert, 1905 – ostrvo Korzika.
4. *Certhia familiaris familiaris* Linnaeus, 1758 – severna i istočna Evropa.
5. *Certhia familiaris daurica* Domaniewski, 1922 – južni deo Sibira, severni deo Kazahstana do severoistočnog Sibira, severni deo Japana, Koreja i severoistočna Kina.
6. *Certhia familiaris caucasica* Buturlin, 1907 – od severnog dela Turske do Kavkaza.
7. *Certhia familiaris persica* Zarudny & Loudon, 1905 – severoistočni Azerbejdžan i severni Iran.
8. *Certhia familiaris bianchii* Hartert, 1905 – severna i centralna Kina.
9. *Certhia familiaris tianschanica* Hartert, 1905 – severoistočni Kazahstan, Kirgistan i severozapadna Kina.
10. *Certhia familiaris japonica* Hartert, 1897 – južni Japan.

Hibridne zone između različitih podvrsta kod kratkokljunog puzića nisu registrovane u dosadašnjim istraživanjima.

## 2. CILJEVI

Predmet ove doktorske disertacije je ispitivanje uticaja ledenih doba na filogeografske obrasce tri brojne šumske vrste ptica pevačica koje se mogu sresti širom Evroazije (*Phylloscopus collybita*, *Prunella modularis* i *Certhia familiaris*). Za neke od ovih vrsta je opisano nekoliko podvrsta (šest) kao što je slučaj kod običnog zviždka (*Phylloscopus collybita*), dok je kod drugih prisutan veći broj podvrsta (10) recimo kao kod kratkokljunog puzića (*Certhia familiaris*). Svi dosadašnji podaci o ovim vrstama ptica na Balkanu a i u većem delu Evroazije zasnivaju se uglavnom na morfometrijskim karakteristikama. Na osnovu sekvenci mitohondrijalnih i nuklearnih gena biće rekonstruisani filogenetski odnosi među istraživanim populacijama, kao i utvrđivanje vremena razdvajanja filogenetskih linija u okviru vrsta. Sve navedeno će poslužiti za postavljanje hipoteze o njihovim refugijumima tokom glacijacija i pravcima rekolonizacije u periodima interglacijacija kao i formiranju hibridnih zona.

U skladu sa predmetom doktorske disertacije postavljeni su sledeći ciljevi:

- Identifikacija haplotipova na osnovu mitohondrijalnih i nuklearnih gena u populacijama tri šumske vrste ptica.
- Izračunavanje genetičkih distanci i rekonstrukcija filogenetskih odnosa na intraspecijskom nivou na osnovu sekvenci datih gena.
- Utvrđivanje vremena razdvajanja filogenetskih linija u okviru vrsta.
- Postavljanje hipoteze o mestima refugijuma ispitivanih vrsta tokom perioda glacijacija i pravcima rekolonizacije u periodu interglacijacija.
- Određivanje hibridnih zona različitih filogenetskih linija na području Evroazije.

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1. Prikupljanje materijala

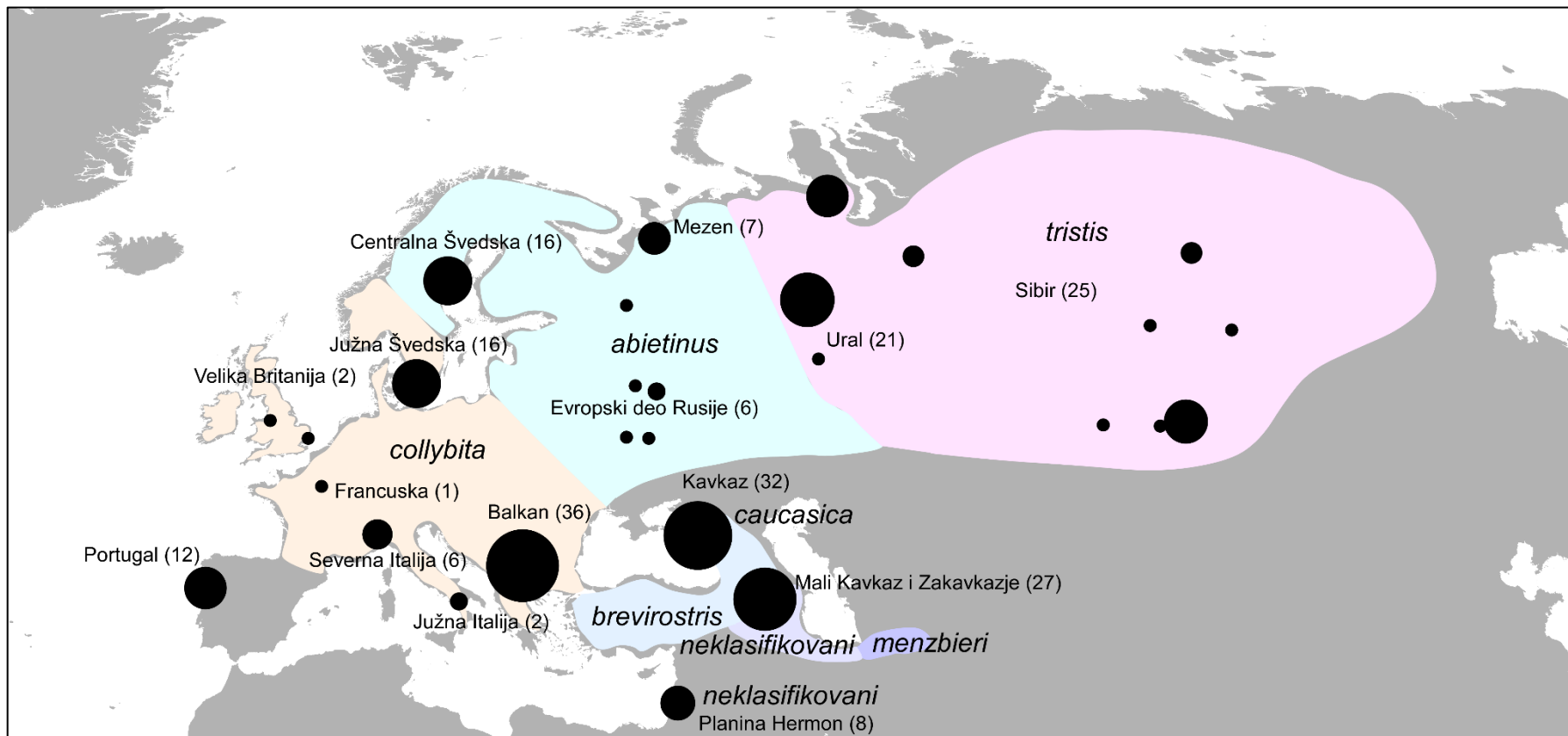
##### 3.1.1. Uzorci vrste *Phylloscopus collybita*

Za izolaciju DNK korišćeni su uzorci mišićnog tkiva ili krvi. Obični zviždci su hvatani vertikalnim ornitološkim mrežama u svojim prirodnim staništima širom Evroazije. Većina uzorkovanih ptica ove vrste potiču iz perioda gnežđenja (lokalne gnezdarice), osim 12 jedinki iz Portugala, i po jedne jedinke iz Velike Britanije i Izraela koje su uhvaćene u periodu zimovanja. Krv je prikupljana direktno u kapilaru punkcijom krilne vene pomoću insulinske igle. Nakon uzimanja male količine krvi (oko 20 µl) krv je stavljana u plastične bočice od 2 ml i dodat je 96% etanol. Uzorci krvi su do ekstrakcije čuvani na ovaj način. Kod jedinki koje su prikupljene i preparirane za zbirke Prirodnjačkih muzeja korišćen je uzorak tkiva grudnog mišića. Uzorci grudnog mišića su čuvani takođe u plastičnim bočicama od 2 ml u koje je dodat 96% etanol do procesa ekstrakcije DNK.

Ukupno je uhvaćeno 227 jedinki običnog zviždka (Slika 1; Tabela P1) na području celog areala ove vrste. Pored običnog zviždka, u analizi su korišćene i jedinke tri vrste koje su prethodno bile smatrane podvrstama običnog zviždka, ali su u međuvremenu razdvojene u zasebne vrste. To su: pirinejski zviždak (*Phylloscopus ibericus*), u analizama je korišćeno pet gnezdećih jedinki; planinski zviždak (*Phylloscopus sindianus*) koji je zastupljen sa dve alopatrične podvrste (*P. s. sindianus* i *P. s. lorenzii*), u analizama je korišćeno šest gnezdećih jedinki podvrste *sindianus* i sedam gnezdećih jedinki podvrste *lorenzii*; kao i kanarski zviždak (*Phylloscopus canariensis*), analizirano je sedam gnezdećih jedinki sa ostrva La Palma (Kanarska ostrva). U analizama kao spoljnu grupu (engl. "outgroup") u odnosu na proučavani kompleks običnog zviždka korišćene su tri jedinke brezovog zviždka (*Phylloscopus trochilus*) koji predstavlja najrodniju vrstu ovom kompleksu (Helbig *et al.*, 1996). Tri sekvence mitohondrijalnog ND2 gena i 21 sekvenca CYTB gena (po jedna od vrsta *P. ibericus*, *P. sindianus*, *P. canariensis* i 18 od *P. collybita*) su preuzete iz banke gena (GenBank), a pristupni brojevi sekvenci (engl. "accession number") su dati u prilogu (Tabela P1). Broj analiziranih sekvenci dat je u Tabeli 1.

Tabela 1. Broj analiziranih sekvenci zviždaka (*Phylloscopus*).

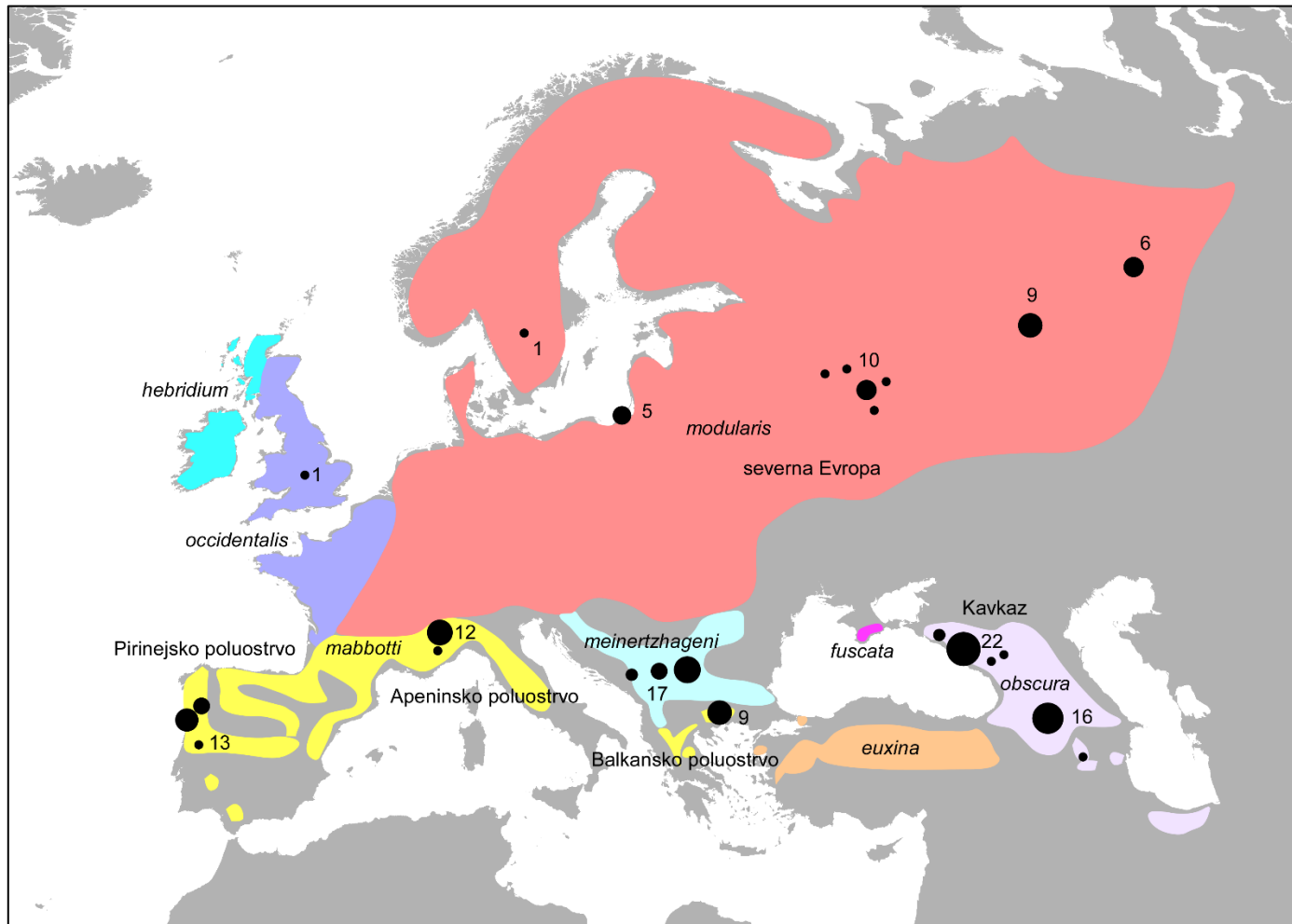
Gen	<i>ND2</i>		<i>CYTb</i>		<i>ACO119</i>
	originalne	GenBank	originalne	GenBank	originalne
<i>P. trochilus</i>	3				3
<i>P. ibericus</i>	5			1	10
<i>P. canariensis</i>	6			1	8
<i>P. sindianus</i>	13			1	19
<i>P. collybita</i>	223	3	8	18	342



Slika 1. Areali podvrsta običnog zviždaka tokom sezone gnežđenja (različito obojeni) i lokaliteti uzorkovanja. Lokaliteti uzorkovanja običnih zviždaka su predstavljeni krugovima veličine proporcionalne broju uzorkovanih jedinki.

### 3.1.2. Uzorci vrste *Prunella modularis*

Za filogenetsku analizu običnog popića ukupno je uzorkovana 121 jedinka. Za izolaciju DNK korišćeni su uzorci krvi ili mišićnog tkiva, u zavisnosti od toga da li su jedinke preparirane nakon hvatanja ili oslobođene. Ptice su uhvaćene u prirodnim staništima širom Evrope kao i na području Kavkaza, u sva četiri potencijalna refugijuma tokom ledenih doba (Pirinejsko, Apeninsko, Balkansko poluostrvo kao i šire područje Kavkaza), kao i na raznim lokalitetima na severu Evrope i Urala za koje se pretpostavlja da su obični popići kolonizovali nakon poslednjeg glacijalnog maksimuma (Slika 2; Tabela P2). Dve sekvence mitohondrijalnog *ND2* gena su preuzete iz banke gena (GenBank), a pristupni brojevi sekvenci (engl. "accession number") su dati u prilogu (Tabela P2). Kao spoljne grupe (engl. "outgroup") u analizi su korišćena tri uzorka crnogrllog popića (*Prunella atrogularis*) i šest uzoraka azijskog popića (*Prunella ocularis*) (Drovetski *et al.*, 2013). Broj dobijenih i preuzetih sekvenci korišćen u analizama je predstavljen u tabeli 2. Obični popići su hvatani tokom gnezdećeg perioda osim nekoliko jedinki koje se ne sele iz populacije sa Pirinejskog poluostrva, kao i nekoliko potencijalnih selica uzorkovanih na području severoistočne Evrope. U slučaju kada je više jedinki uhvaćeno na istom lokalitetu, mlade ptice nisu uzorkovane, da bi se izbeglo uzorkovanje ptica iz istog legla ili od jednog ili oba uzorkovana roditelja.



Slika 2. Rasprostranjenje običnog popića tokom sezone gnežđenja, lokaliteti uzorkovanja i broj uzorkovanih jedinki. Površina krugova je proporcionalna veličini uzorka. Različite površine koje naseljavaju jedinstvene podvrste su različito obojene.

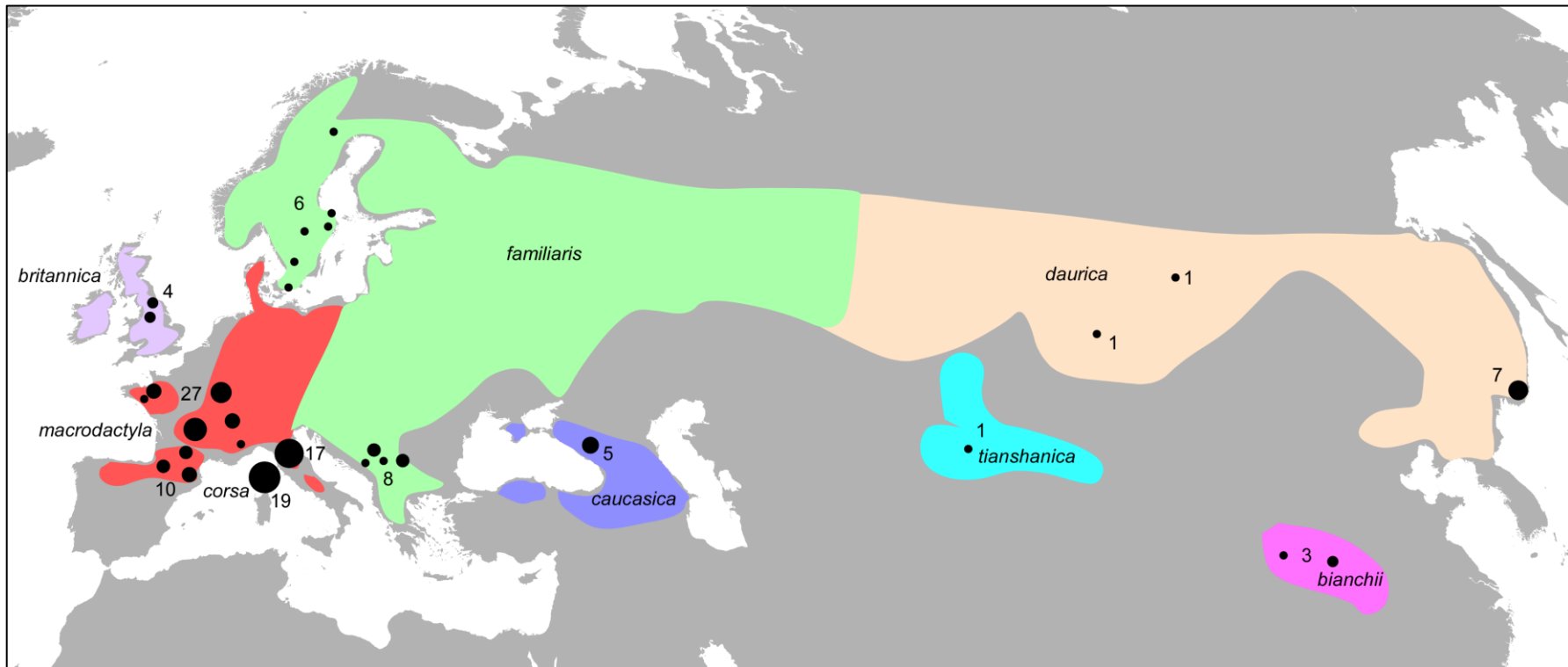
Tabela 2. Broj analiziranih sekvenci popića koje su dobijene prilikom izrade doktorata, kao i preuzetih iz Banke gena.

Gen	<i>Prunella modularis</i>		<i>Prunella ocularis</i>		<i>Prunella atrogularis</i>	
	Originalne	GenBank	Originalne	GenBank	Originalne	GenBank
<i>ND2</i>	98	18		6		3
<i>ACO119</i>	168	8		12		6
<i>ADIPOR1</i>	102		4		4	
<i>MED31</i>	104		4		4	
<i>EIF3A</i>	104		4		4	
<i>EDF1</i>	104		4		4	
<i>CDC132</i>	104		4		4	
<i>PNN</i>	104		4		4	
<i>ACL</i>	100		4		4	
<i>RHO</i>	104		2		4	
<i>TGFB2</i>	104		4		4	



### 3.1.3. Uzorci vrste *Certhia familiaris*

Za izolaciju DNK kratkokljunog puzića uglavnom su korišćeni su uzorci perja (N = 85). Takođe pored uzoraka perja, DNK je izolovana iz uzoraka krvi ili grudnog mišića (N = 18). Kratkokljuni puzići su hvatani vertikalnim ornitološkim mrežama u svojim prirodnim staništima. Uzorkovanje je izvršeno u periodu gnežđenja, a pokriven je skoro ceo areal vrste (Slika 3; Tabela P3). Ukupno su uzorkovane 103 jedinke kratkokljunog puzića koje pripadaju različitim podvrstama. Dve od 10 podvrsta nisu uzorkovane, i to *C. f. japonica* Hartert, 1897 i *C. f. persica* Zarudny & Loudon, 1905. Pored jedinki vrste *C. familiaris*, u analizama su korišćene i dve jedinke vrste *C. hodgsoni*. Multilokusne filogenetske analize su urađene na odabranih 25 jedinki iz uzorkovanih osam podvrsta, dve jedinke vrste *C. hodgsoni*, kao i dve jedinke vrste *C. brachydactyla* da bi se proverila monofiletičnost vrste *C. familiaris* u odnosu na vrstu *C. hodgsoni*. Vrsta *C. brachydactyla* izabrana za spoljnu grupu (engl. “outgroup”) kao najsirodnija istraživanim vrstama u skladu sa objavljenom filogeografskom studijom roda *Certhia* (Tietze, Martens and Sun, 2006). Osam sekvenci mitohondrijalnog *COI* gena je preuzeto iz banke gena (GenBank), a pristupni brojevi sekvenci (engl. “accession number”) su dati u prilogu (Tabela P3). Broj dobijenih i preuzetih sekvenci korišćen u analizama je predstavljen u tabeli 3.



Slika 3. Areal kratkokljunog puzića. Brojevi uz crne krugove predstavljaju broj uzorkovanih jedinki na datim lokalitetima. Površina krugova je srazmerna broju uzorkovanih jedinki na datom lokalitetu. Areali opisanih podvrsta su označeni različitim bojama i obeleženi na mapi.

Tabela 3. Broj analiziranih sekvenci pužića koje su dobijene prilikom izrade doktorata, kao i preuzetih iz Banke gena.

Vrste	<i>COI</i>		<i>ATP6</i>	<i>ND2</i>	<i>LDH</i>	<i>TGFB</i>	<i>ACO119</i>
	Originalne	GenBank	Originalne	GenBank	Originalne	Originalne	Originalne
<i>Certhia familiaris</i>	103	8	28	28	21	21	21
<i>Certhia hodgsoni</i>	2		2	2	4	4	4
<i>Certhia brachydactyla</i>	2		2	2	4	4	4

### 3.2. DNK ekstrakcija, umnožavanje i sekvencioniranje

Za ekstrakciju DNK iz uzoraka mišićnog tkiva i krvi korišćen je DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN, Valencia, CA), kao i JETQUICK Tissue DNA Spin Kit (Genomed, Loöhne, Germany) po uputstvima proizveoča. Za ekstrakciju DNK iz uzoraka perja kod vrste *Certhia familiaris* korišćen je QIAamp DNA Micro Kit (QIAGEN).

Za svaku jedinku bar jedan mitohondrijalni gen je amplifikovan PCR metodom koristeći GoTaq Green Master Mix (Promega, Madison, WI) i različite prajmere (u zavisnosti od vrste i gena koji se umnožava) u količinama određenim od strane GoTaq uputstva za korišćenje (Tabela 4). Profil PCR reakcije je sastojao od inicijalne DNK denaturacije u roku od 3 minuta na 98 °C, a zatim 35 ciklusa koji su se sastojali iz: denaturacije na 98 °C u trajanju od 45 sekundi, anilinga (engl. annealing) na 58 °C u trajanju od 45 sekundi i ekstenzije na 78 °C u trajanju od jednog minuta . Finalna ekstenzija je trajala 10 minuta na 72 °C. Sekvencioniranje je urađeno na ABI 3730 48 – Capillary Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) na Jejl Univerzitetu, kao i uslužno u firmi Macrogen u Holandiji u oba pravca. Za umnožavanje nuklearnih gena (do 10 po vrsti) korišćen je isti PCR protokol kao i za mitohondrijalne gene osim temperature anilinga koja je bila od 55 – 60 °C zavisno od korišćenih prajmera.

Tabela 4. Prajmeri korišćeni za amplifikovanje mitohondrijalnih i nuklearnih gena kod sve tri istraživane vrste.

Vrsta	Gen	Prajmer (5'-3')	Izvor
<i>Phylloscopus collybita</i>	<i>ND2</i>	L5219Met (CCCATACCCCGAAAATGATG) H6313Trp (CTCTTATTTAAGGCTTTGAAGGC)	(Sorenson <i>et al.</i> , 1999)
<i>Phylloscopus collybita</i>	<i>CYTB</i>	L14995 (CTCCCAGCCCCATCCAACATCTCAGCATGATGAAACTTCG) H16065 (CTAAGAAGGGTGGAGTCTTCAGTTTTTGGTTTACAAGA)	(Helbig <i>et al.</i> , 1995)
<i>Phylloscopus collybita</i>	<i>ACO119</i>	ACO119-I9F2 (CTCCTCTCAGGATCCAGACTT) ACO119-I9R2 (CAACTTTGTCCTGGGGTCTTT)	(Kimball <i>et al.</i> , 2009)
<i>Prunella modularis</i>	<i>ND2</i>	L5215 (TATCGGGCCCATACCCCGAAAAT) H1064 (CTTTGAAGGCCTTCGGTTTA)	(Hackett, 1996; Drovetski <i>et al.</i> , 2004)
<i>Prunella modularis</i>	<i>ACO119</i>	ACO119F (CTGTGGGAATGCTGAGAGATTT) ACO119R (CTGCAGCAAGGCACAACAGT)	(Kimball <i>et al.</i> , 2009)
<i>Prunella modularis</i>	<i>ADIPOR1</i>	00132-F (ATGGCTGTGATGTACATCAC) 00132-R (CCATAGAAGTGGACAAAGGC)	(Backström, Fagerberg and Ellegren, 2008)
<i>Prunella modularis</i>	<i>MED31</i>	09663F (ATACAGGAAATCGACTTCG) 09663R (AGTATCCTCTTTGTGCAAG)	(Backström, Fagerberg and Ellegren, 2008)
<i>Prunella modularis</i>	<i>EIF3A</i>	13336F (CAGTTAGCAGACAAACTACG) 13336R (GGTTCATGGCATCTATTCC)	(Backström, Fagerberg and Ellegren, 2008)
<i>Prunella modularis</i>	<i>EDF1</i>	14657F (CAGAAGAGCTGCACCATG) 14657R (TTCTGATTCGTAGTCAGC)	(Backström, Fagerberg and Ellegren, 2008)
<i>Prunella modularis</i>	<i>CDC132</i>	15463F (TCTGGGAACAGATCTGTC) 15463R (AAACTTCAGACTTACTGCC)	(Backström, Fagerberg and Ellegren, 2008)
<i>Prunella modularis</i>	<i>PNN</i>	16532F (GGCCCTGGTGGAGGTAG) 16532R (TTCAAGATCCCTCTGTTTGG)	(Backström, Fagerberg and Ellegren, 2008)
<i>Prunella modularis</i>	<i>ACLY</i>	ACL-F (GCTCTGCTTATGACAGCACT) ACL-R (CAGCAATAATGGCAATGGTG)	(Primmer <i>et al.</i> , 2002)
<i>Prunella modularis</i>	<i>RHO</i>	RHO-I1F (TGCTACATCGAGGGCTTCTT) RHO-I1R (CGAGTGACCAGAGAGCGATT)	(Kimball <i>et al.</i> , 2009)
<i>Prunella</i>	<i>TGFB2</i>	TGFB2.5F (GAAGCGTGCTCTAGATGCTG)	(Kimball <i>et al.</i> , 2009)

<i>modularis</i>		TGFB2.6R (AGGCAGCAATTATCCTGCAC)	
<i>Certhia familiaris</i>	ND2	L5219 (CCCATACCCCGAAAATGATG) H6313 (CTCTTATTTAAGGCTTTGAAGGC)	(Sorenson <i>et al.</i> , 1999)
<i>Certhia familiaris</i>	ATP6	L9245 (CCTGAACCTGACCATGAAC) H9947 (CATGGGCTGGGGTCRACTATGTG)	(Eberhard and Bermingham, 2004)
<i>Certhia familiaris</i>	COI	COIext (ACGCTTTAACTCAGCCATCTTACC) FISHR1 (TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA)	(Ward <i>et al.</i> , 2005; Johnsen <i>et al.</i> , 2010)
<i>Certhia familiaris</i>	LDH	B1 (CAAACAAAAGGAGAAATGATGGA) B4 (GGGCTGTATTTNACRATCTGAGG)	(Helbig <i>et al.</i> , 2005)
<i>Certhia familiaris</i>	TGFB2	tgf5 (GAAGCGTGCTCTAGATGCTG) tgf6 (AGGCAGCAATTATCCTGCAC)	(Bures, Nadvornik and Saetre, 2002)
<i>Certhia familiaris</i>	ACO119	ACO119F (CTGTGGGAATGCTGAGAGATTT) ACO119R (CTGCAGCAAGGCACAACAGT)	(Kimball <i>et al.</i> , 2009)

### 3.3. Filogeografske analize

#### 3.2.1. Manipulacija i provera sekvenci

Sekvence su složene u programu Sequencher 4.9 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI) i verifikovane manuelno da bi se potencijalne insercije i delecije nukleotida u nuklearnim genima pravilno poređale. Kod običnog zviždka nađene su insercije na mestima 123 – 127 kod četiri jedinke sa područja Zakavkazja, kao i delecije na mestima 956 – 959 kod jedne jedinke sa područja Urala u sekvencama *ACO119* gena. Što se tiče mitohondrijalnih gena, u njihovim sekvencama nije bilo indela. Translacijom sekvenci nije otkriven ni jedan stop kodon osim krajnjeg. Procenti supstitucije, sastav nukleotida i kodona su bili slični između haplotipova, čime je isključeno eventualno prisustvo pseudogena (Bensasson *et al.*, 2001).

Aleli nuklearnih gena koji su se razlikovali u dužini su popravljani manuelno, po ugledu na prethodne radove (Drovetski *et al.*, 2010, 2013, 2014, 2015, 2018; Hung, Drovetski and Zink, 2012). Aleli nuklearnih gena kod jedinki koji su bili iste dužine sa višebrojnim supstitucijama su poređani u programu PHASE 2.1.1 (Stephens, Smith and Donnelly, 2001; Voelker *et al.*, 2015). Dva nezavisne analize su obavljene, a prvih 500 ponavljanja su odbačene a sledećih 500 ponavljanja su proređene za faktor 10. Poznati haplotipovi koji su potekli od ženki, homozigotnih mužjaka i mužjaka sa jednim polimorfnim mestom su određeni kao poznati aleli prilikom analiza u PHASE programu.

#### 3.3.2. Testovi provere selektivnog pritiska na korišćene genske lokuse

Za testiranje da li su istraživani geni pod pritiskom selekcije korišćen je MK test (McDonald–Kreitman test) (McDonald and Kreitman, 1991) u sklopu programskog paketa DnaSP v 5.0 (Librado and Rozas, 2009), kao i na internet sajtu <http://mkt.uab.es> (Egea, Casillas and Barbadilla, 2008). Kod običnog popića testirane su sve tri filogenetske linije i to: pirinejska naspram severne Evrope + apeninske + balkanske; pirinejska naspram kavkaske; i severna Evropa + apeninska + balkanska naspram kavkaske. Ni jedan od ovih testova nije bio statistički značajan, ukazujući na neutralnu evoluciju istraživanih genskih lokusa. Kod kratkokljunog puzića, MK testovi su sprovedeni između *Certhia familiaris* i *Certhia hodgsoni*, kao i između *corsa-caucasica*

naspram ostalih filogenetskih linija unutar vrste *Certhia familiaris* i nisu bili statistički značajni.

Kod običnog popića takođe je korišćen i HKA test (Hudson, Kreitman and Aguade, 1987) analiziran u programu HKA (<https://bio.cst.temple.edu/~hey/software/>). Testirane su sve tri filogenetske linije i to: pirinejska naspram severne Evrope + apeninske + balkanske; pirinejska naspram kavkaske; i severna Evropa + apeninska + balkanska naspram kavkaske. Ni jedan HKA test nije bio statistički značajan.

### **3.3.3. Rekonstrukcija filogenetskih stabala i molekularno datiranje razdvajanja filogenetskih linija**

Modeli supstitucije za *ND2* gen kod vrste *Phylloscopus collybita*, kao i za 10 nuklearnih gena i jedan mitochondrijalni gen kod vrste *Prunella modularis* su određeni koristeći program JModelTest 2.1.1 (Darriba *et al.*, 2012) i selektovani BIC model (Bayesian Information Criterion). Model supstitucije *COI* gena kod vrste *Certhia familiaris* je određen u programu TOPALi v.2.5 (Milne *et al.*, 2004).

Za rekonstrukciju vremenski kalibrisanog filogenetskog stabla mitochondrijalnog *ND2* gena kod vrste *Phylloscopus collybita* korišćen je program BEAST 2.4.2 (Bouckaert *et al.*, 2014). Srednja stopa evolucije sekvenci ( $2,9 \times 10^{-2}$  substitucija/mestu/million godina) za *ND2* gen koja je korišćena prilikom izrade filogenetskog stabla je preuzeta iz studije endemičnih havajskih mednih pužica (Passeriformes, Drepanididae) (Lerner *et al.*, 2011). Ova studija predstavlja za sada najbolje kalibrisanu višelokusnu studiju evolucije ptica pevačica. Kalibracione tačke u ovoj studiji su određene starošću vulkanskih ostrva u Havajskom arhipelagu. U programu je selektovan Julov proces specijacije (Yule process of speciation) i program je pokrenut dva puta, prvi put sa strogim evolucionim satom (strict clock prior), a drugi put lognormalnim satom (relaxed lognormal clock prior). Julov proces pretpostavlja konstatnu stopu nastanka filogenetskih linija za svaku filogenetsku granu na stablu. Ovaj unapred određeni proces specijacije (engl. prior) je najpogodniji za opisivanje odnosa između jedinki koje pripadaju različitim vrstama. Sa obzirom da test maksimalnog odnosa verovatnoće (engl. maximum likelihood ratio test) (Huelsenbeck and Crandall, 1997) nije pokazao značajne razlike između verovatnoća ( $\Delta L = 122.938$ ,  $df = 251$ ,  $P = 1$ ) dobijenih filogenetskih stabala koristeći strogi evolucioni sat i lognormalni sat, predstavljeno je



filogenetsko stablo zasnovano na strogo evolucionom satu. Dve nezavisne Bajesove analize su urađene sa dužinom lanca (engl. chain length)  $10^8$  generacija koji je uzorkovan svakih  $10^4$  generacija. Prvih  $10^4$  filogenetskih stabala je odbačeno u analizama. Program Tracer 1.6 (<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>) je korišćen da odredi efektivnu veličinu uzorka i izračuna srednji i 95% najveći posteriorni interval gustine (95% HPD) za svaki parametar. Za kombinovanje dve nezavisne analize korišćen je program LogCombiner 2.4.2 (Drummond *et al.*, 2012). Topologija filogenetskog stabla je dobijena u programu TreeAnnotator 2.4.2 (Drummond *et al.*, 2012), a filogenetsko stablo je vizualizovano u programu FigTree 1.4.1 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Kod vrste *Prunella modularis*, filogenetsko stablo *ND2* gena je dobijeno istim analizama kao i kod *Phylloscopus collybita*, dok je višelokusno specijsko filogenetsko stablo dobijeno u StarBeast šablonu (engl. template) u programu BEAST 2.4.8 (Bouckaert *et al.*, 2014). Prilikom kalibrisanja filogenetskog stabla korišćena je srednja stopa evolucije sekvenci za *ND2* gen kao i kod prethodne vrste (Lerner *et al.*, 2011), dok su kod rekonstrukcije specijskog filogenetskog stabla stope evolucije za nuklearne gene procenjene u odnosu na *ND2* gen u StarBeast šablonu.

Filogenetska stabla za svaki analizirani gen dobijena su analizom jedinstvenih haplotipova kod kratkokljunog pužića u programu MRBAYES 3.2 (Ronquist *et al.*, 2012). Modeli supstitucije i strategija particionisanja (engl. partitioning strategy) su dobijeni u programu PartitionFinder v1.1.1 (Lanfear *et al.*, 2012). Mitohondrijalne sekvence su izdvojene u devet particija (po lokusu i poziciji kodona), a nuklearne sekvence u tri particije (svaki od introna). Četiri MCMC ponavljanja (engl. Metropolis – coupled Markov chain Monte Carlo) (jedna hladna i tri vruće) su puštene sa  $5 \times 10^6$  ponavljanja svaka sa filogenetskim stablima uzorkovanim svakih 1000 ponavljanja. Prvih 500 000 ponavljanja (5 000 filogenetskih stabala) su izostavljene iz analiza, i posteriorne verovatnoće (engl. posterior probabilities) su procenjene za ostala uzorkovana filogenetska stabla. Dve nezavisne Bajesove analize (engl. Bayesian analyses) su urađene. Program Tracer 1.6 (<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>) je korišćen da odredi efektivnu veličinu uzorka i izračuna srednji i 95% najveći posteriorni interval gustine (95% HPD) za svaki parametar. Specijsko filogenetsko stablo dobijeno je u programu BEAST v1.7.2 (Drummond *et al.*, 2006; Drummond and Rambaut, 2007;

Heled and Drummond, 2010) koristeći specijski pristup. Specijski pristup uključuje spajanje (coalescent) za procene specijskog filogenetskog stabla dobijenog analizom različitih genskih filogenetskih stabala. Ovaj pristup daje pouzdanije rezultate od tradicionalnog pristupa sa obzirom da je u specijskom pristupu uračunato i nekompletno sortiranje filogenetskih linija (Edwards, 2009). Prilikom analize specijskog stabla korišćen je model strogog molekularnog sata za sve korišćene lokuse i najbolji model supstitucije za svaku particiju dobijen je u programu PartitionFinder. Analize su obavljene u 50 miliona ponavljanja.

Za procenu vremena razdvajanja filogenetskih linija u okviru kratkokljunog puzića korišćen je program BEAST 1.8 (Drummond *et al.*, 2006; Drummond and Rambaut, 2007) sa strogim modelom molekularnog sata i Julovim procesom specijacije (engl. Yule). Upoređene su procene vremena razdvajanja dobijene koristeći: (1) neutralne četvorostruke stope korišćene od strane Subramanian *et al.*, (2009); i (2) stope supstitucija dobijene od Lerner *et al.*, (2011) za *ATP6*, *ND2* and *COI* gene. Stopa molekularne evolucije za kompletnu mitohondrijalnu DNK rađena na adeli pingvinima (*Pygoscelis adeliae*) je procenjena na 0,073 supstitucije po mestu po filogenetskoj liniji po milionu godina ( $s^{-1} \Gamma^{-1}/Myr$ ) (95% HPD: 0,025 – 0,123). Autori rada (Lerner *et al.*, 2011) predložili su nove stope supstitucija za *ND2* (0,029 s/s/l/Myr; 95% HPD: 0,024 – 0,033 s/s/l/Myr), *ATP6* (0,026 s/s/l/Myr; 95% HPD: 0,021 – 0,031 s/s/l/Myr), i *COI* (0,016 s/s/l/Myr; 95% HPD: 0,014 – 0,019 s/s/l/Myr). U analize je ubačen faktor nepouzdanosti u stope molekularne evolucije modeliranjem stope kao normalne distribucije sa srednjom greškom i devijacijom koje odgovaraju vrednostima dobijenim u radovima (Subramanian *et al.*, 2009; Lerner *et al.*, 2011). MCMC analize su obavljene u  $10^8$  ponavljanja i filogenetska stabla su uzorkovana svakih 1 000 generacija. Prvih 10% uzorkovanih filogenetskih stabala je izbačeno iz analize.

### **3.3.4. Molekularno razdvajanje vrsta**

Za proveru da li filogenetske linije kod vrste *Prunella modularis* predstavljaju odvojene vrste po filogenetskom konceptu vrste korišćen je program BPP 3.1 (Yang and Rannala, 2010; Yang, 2015). Verovatnoća specijacije na račvanju filogenetskog stabla 1,0 ukazuje da svi modeli razdvajanja vrsta koji su prošli kroz algoritam programa podržavaju hipotezu da filogenetske linije koje kreću od datog račvanja predstavljaju

različite vrste. Sa obzirom na razlike u veličini populacije i brzini sortiranja filogenetskih linija između mitohondrijalnih i nuklearnih gena, analiza je sprovedena samo na nuklearnim genima. Takođe je pretpostavljeno da ne postoje varijacije u stopama mutacije korišćenih nuklearnih gena. Unapred određeni gama proces (engl. gamma prior) evolucije sekvenci je korišćen na parametrima veličine populacije ( $u$ ) i na starosti korena specijskog filogenetskog stabla ( $t_0$ ), sa ostalim parametrima divergencije koji su parametrizovani sa unapred određenim Dirihlet procesom (engl. Dirichlet prior). Podrazumevana je mala veličina populacija (refugijalne populacije) i plitke divergencije između filogenetskih linija. U analizu je uključeno pet geografski određenih populacija običnog popića (severna Evropa, Balkansko, Pirinejsko, Apeninsko poluostrvo i Kavkaz), kao i crnogri popić (*Prunella atrogularis*) kao spoljna grupa (engl. outgroup). Analize su obavljene  $5 \times 10^5$  generacija sa odbačenim prvim delom od  $1 \times 10^5$  generacija i frekvencijom uzorkovanja od 5.

Da bi se proverilo koliko ima vrsta unutar istraživanih podvrsta *Certhia familiaris* korišćena je Bajesova implementacija generalnog mešanog Yule-coalescent modela u programu bGMYC 1.0 (Reid and Carstens, 2012). Ova implementacija je nastavak GMYC modela (Pons *et al.*, 2006) koji uključuje neizvesnost filogenetskog stabla određenog gena tako što uzorkuje preko posteriorne distribucije uzorkovanih genskih stabala. Korišćena je posteriorna distribucija genskih stabala dobijenih analizom jedinstvenih 29 mitohondrijalnih haplotipova u programu BEAST v 1.8 (Drummond and Rambaut, 2007). Korišćen je strogi model molekularnog sata sa svakim lokusom koji je imao specifičnu stopu evolucije (Lerner *et al.*, 2011). MCMC analiza je obavljena u  $10^7$  ponavljanja sa uzorkovanjem parametara i filogenetskih stabala svakih  $10^3$  ponavljanja. Prvih 10% uzorkovanih filogenetskih stabala i parametara je odbačeno. Analizirano je 100 filogenetskih stabala koja su uzorkovana po principu slučajnosti iz posteriorne distribucije i ubačena su u program bGMYC. Program je pokrenut u  $5 \times 10^4$  ponavljanja sa odbačenih  $4 \times 10^4$  ponavljanja i uzorkovanim parametrima svakih 100 ponavljanja.

### **3.3.5. Rekonstrukcija mreža haplotipova**

Mreže haplotipova su urađene u programu TCS (Clement, Posada and Crandall, 2000) za nuklearni gen kod vrste *Phylloscopus collybita* i srodnih vrsta ( $N = 382$ ). Kod vrste

*Certhia familiaris*, mreže haplotipova su dobijene u programu NETWORK 4.6.1.2 (Bandelt, Forster and Rohl, 1999) za *COI* gen (N = 111), kao i za *ATP6* and *ND2* gene (N = 27 po genu).

### 3.3.6. Populaciono genetičke analize

Jedinstveni haplotipovi, diverzitet haplotipova (Nei, 1987), diverzitet nukleotida (Nei, 1987), broj polimorfnih mesta po nukleotidu (theta per site) (Tajima, 1996) kao i Tajima's D (Tajima, 1989) su identifikovani iz podataka sekvenci *ND2* i *ACO119* gena pomoću programa DnaSP v5 (Librado and Rozas, 2009) za populacije običnog zviždka. Za utvrđivanje među populacione diferencijacije u *ACO119* genu kod običnog zviždka korišćena je analiza molekularne varijanse (AMOVA) u programu Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier and Lischer, 2010). Nivo divergencije *ACO119* gena je nizak, i da bi bio predstavljen objektivan set podataka, divergencija između alela je analizirana kao nekorigovana *p*-distanca (engl. uncorrected *p*-distance) i mesta sa indelima su isključena iz analiza samo ako su bila prisutna u uparenim (engl. pairwise) poređenjima. Da bi se sumirao matriks uparenih  $\Phi_{st}$  vrednosti na osnovu *ACO119* sekvenci i procenila proporcija genetičkog diverziteta pripisivog razlici između populacija urađena je analiza osnovnih komponenti (PCA) u programu Genalex (<http://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Welcome.html>).

Za kratkokljunog puzića prosečne genetičke distance (Tamura – Nei) u okviru i između podvrsta su procenjene u programu MEGA6 (Tamura *et al.*, 2013). Standardni populaciono-genetički indeksi (diverzitet haplotipova, diverzitet nukleotida, broj polimorfnih mesta) su analizirani u programu Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer, 2010). Za otkrivanje zapisa o ekspanziji populacija, korišćeni su Fu's  $F_s$  i Tajima's D testovi (1 000 ponavljanja). Radi izračunavanja nivoa geografskog struktuiranja genetičke varijabilnosti izračunate su uparene (engl. pairwise)  $\Phi_{st}$  vrednosti za sve podvrste/populacije. Za podvrste *C. f. macrodactyla* (Francuska N = 37; Italija N = 17) i *C. f. familiaris* (Skandinavija N = 6; Balkan N = 8) provereno je da li postoji bilo kakvo genetičko struktuiranje populacija i razlika u odnosu na sever-jug. Značajnost komponenata varijabilnosti je testirana sa 110 permutacija. Sa obzirom da je samo jedan uzorak podvrste *C. f. tianschanica* bio dostupan za analize, ova podvrsta je izuzeta iz populaciono-genetičkih analiza.

### 3.3.7. Protok gena između populacija i analize efektivne veličine populacije

Kod običnog popića, protok gena između populacija koje naseljavaju različite geografske oblasti procenjen je u programu MIGRATE 3.6.11 (Beerli and Palczewski, 2010). Tri nezavisne analize su urađene sa protokom gena koji je bio moguć samo između susednih geografskih područja. Tokom prve analize, podrazumevana (engl. default) podešavanja su postavljena za parametre populacije ( $u$ ) i migracije ( $M$ ). U ostale dve analize, korišćene su procene parametara ( $u$  i  $M$ ) od prve analize kao startne vrednosti. Korišćene su Bajesove metode, po principu slučajnosti, stope mutacija koje variraju i procenjene su iz seta podataka, četiri ponavljanja jednog dugog Markovljevog lanca (engl. Markov chain) sa  $10^4$  zabeležena koraka i  $10^3$  koraka povećanja uzorka. Broj uzorkovane vrednosti parametra je  $4 \times 10^7$  i  $10^4$  prvih filogenetskih stabala su odbačeni iz dalje analize. Korišćena je šema statičnog grejanja sa temperaturama 1 000 000, 3,00, 1,50, 1,00 i interval zamene 2. Za procenu veličine populacije kroz vreme (extended Bayesian skyline plots – EBSP) (Heled and Drummond, 2008) korišćen je program BEAST 2.4.8 za svaku populaciju u odvojenim geografskim područjima da bi populaciona dinamika kroz vreme bila određena. Strogi molekularni sat je bio korišćen sa modelima evolucije i stopama koje su opisane prethodno u tekstu, kao i podrazumevana podešavanja (coalescent extended Bayesian skyline prior). Analize su podešene na 109 generacija sa odbačenim prvim  $10^5$  uzorkovanih parametara i uzorkovanim parametrima svakih  $10^5$  koraka sa 10 inicijalizovanih pokušaja. Faktori populacione lestvice su bili podešeni na 2 za autozomalne lokuse, 1,5 za *ACO119* i 0,5 za *ND2* gene. Gornja granica za stopu molekularnog sata je podešena na 1, i podešena je hyper-prior na srednju vrednost distribucije veličine populacije (populationMean.alltrees) na normalno raspodeljenu sa srednjom vrednošću 1 i standardnom devijacijom od 0,1. Promenjene su sledeće težine operatora: Bit Flip: indicators.alltrees EBSP bitflip operator na 330; Sample Off Values: popSizes.alltrees indicators.alltrees, EBSP indicator sampler na 165; Scale: indicators.alltrees popSizes.alltrees EBSP veličine populacija na 165 po preporukama EBSP priručnika (Heled and Vaughan, 2014). Efektivne veličine uzoraka su ispitane da bi se dokazala konvergencija za sve parametre u programu TRACER 1.6. Grafici su napravljeni u program R 3.3.3 koristeći plotEBSP.r skriptu dostupnu na <https://github.com/laurechan/scripts/blob/master/figures/PlotEBSP.r>. Granične

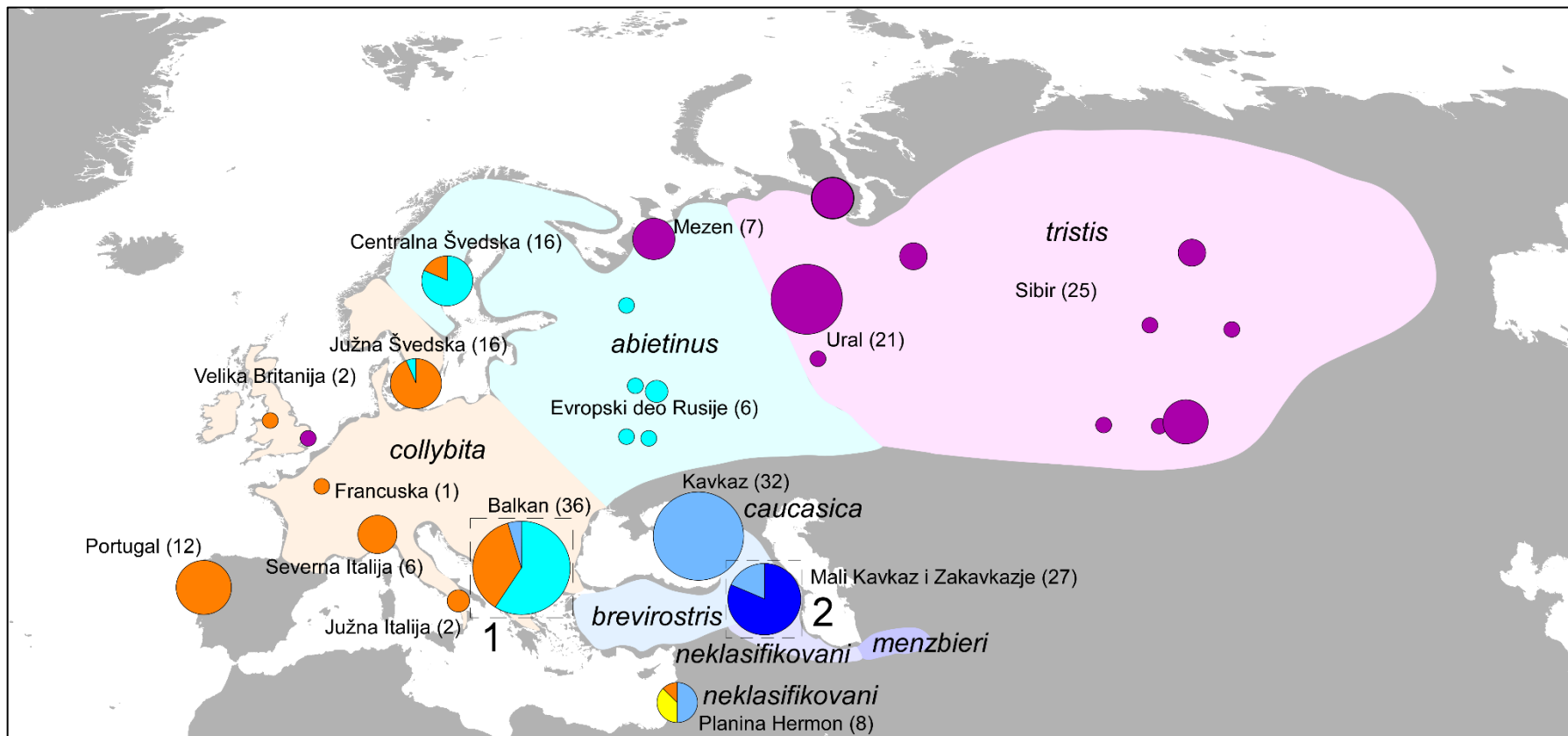
vrednosti za x- i y-ose su nameštene tako da se najbolje vizuelizuju posteriorne vrednosti i 95% interval centralne posteriorne gustine (CDP). Prepostavljeno je da je vreme generacije jedna godina.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Filogeografija vrste *Phylloscopus collybita*

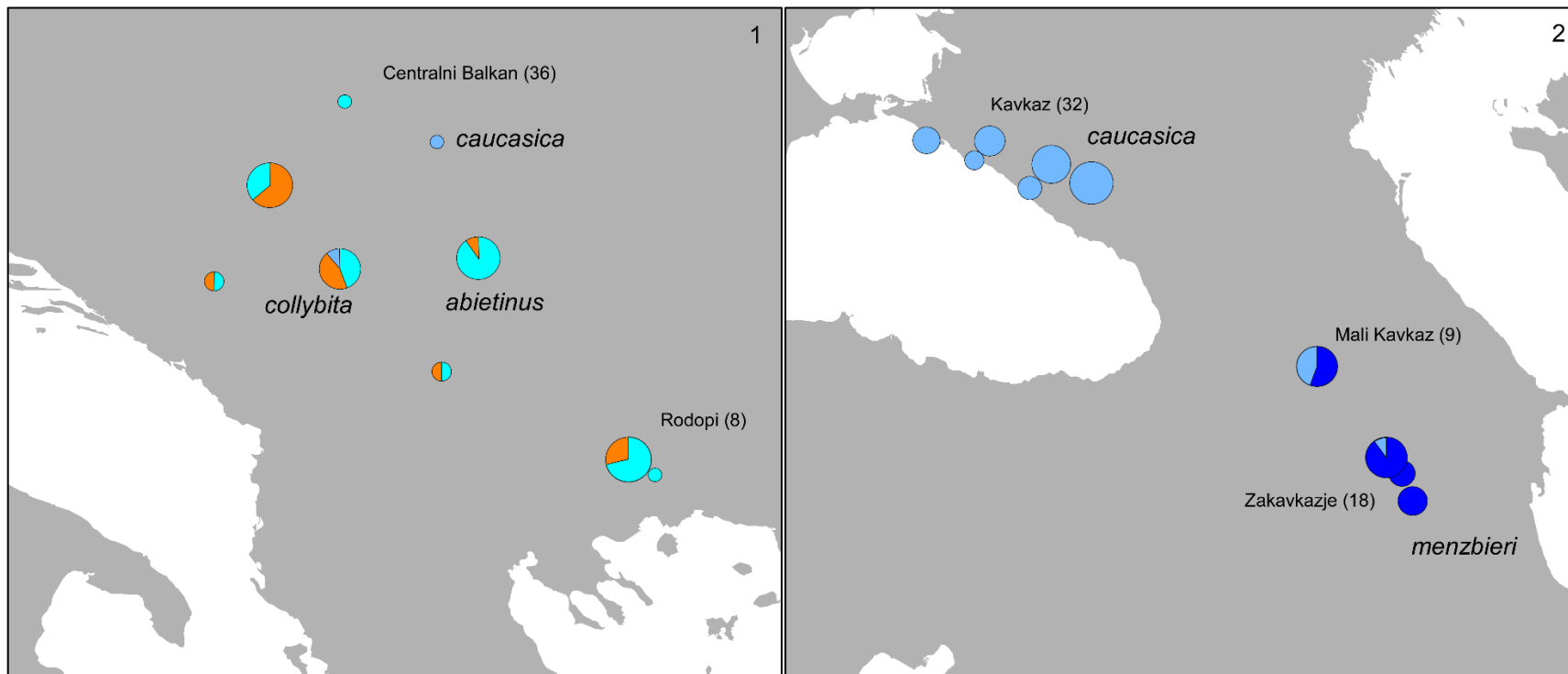
#### 4.1.1. Mitohondrijalna filogeografija

Analizom mitohondrijalnog gena *ND2* običnog zviždka dobijeno je šest filogenetskih linija među istraživanim populacijama. Geografsko rasprostranjenje evolutivnih linija običnog zviždka je prikazano na slikama 4 i 5. Monofiletičnost celog kompleksa običnih zviždaka je podržana u potpunosti (Bajesova podržanost račvanja = 1) u odnosu na spoljnu grupu (engl. outgroup) (*Phylloscopus trochilus*) na dobijenom filogenetskom stablu (Slika 6). Topologija filogenetskog stabla ukazuje na monofiletičnost četiri opisane vrste iz kompleksa zviždaka osim jednog uzorka sa Kanarskih ostrva (ostrvo La Palma) koji pripada mitohondrijalnoj evolutivnoj liniji običnog zviždka (zapadnoevropskoj evolutivnoj liniji). Pirinejski zviždak (*Phylloscopus ibericus*) i kanarski zviždak (*Phylloscopus canariensis*) su predstavljeni sa po jednom filogenetskom linijom unutar vrsta. Utvrđene su dve filogenetske linije u okviru planinskog zviždka (*Phylloscopus sindianus*) koje odgovaraju podvrstama *P. s. sindianus* i *P. s. lorenzii* (PR = 1). Obični zviždak je monofiletičan (PR = 1) i svih šest filogenetskih linija su statistički podržane (PR = 1).

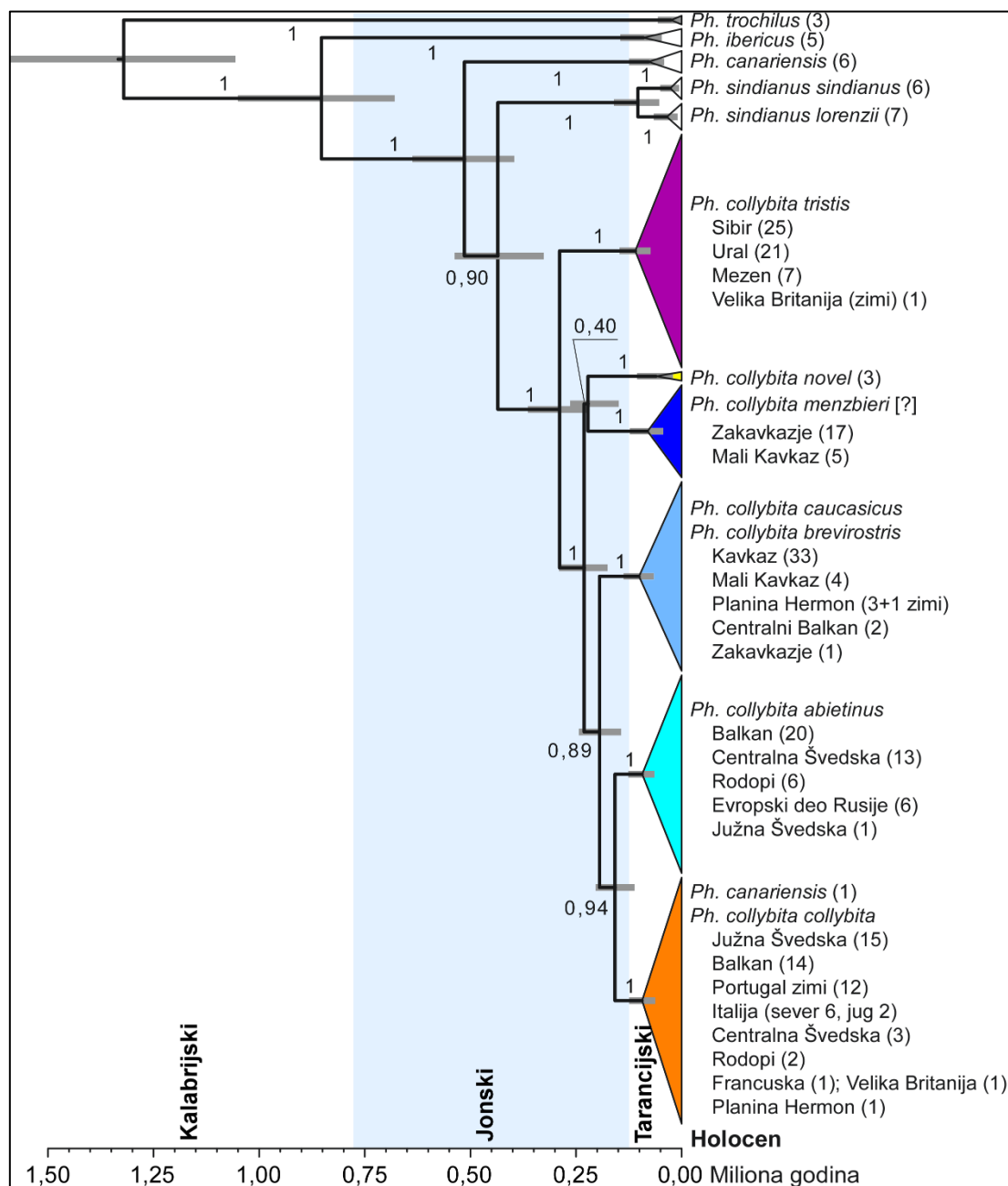


Slika 4. Geografsko rasprostranjenje filogenetskih linija običnog zviždka. Različite filogenetske linije su obojene različitim bojama. Površina krugova je srazmerna broju uzoraka sa datog lokaliteta.





Slika 5. Uvećano geografsko rasprostranjenje filogenetskih linija običnog zviždka sa slike 4 na području Balkanskog poluostrva (1) i području Kavkaza, Malog Kavkaza i Zakavkazja (2). Različite filogenetske linije su obojene različitim bojama. Površina krugova je srazmerna broju uzoraka sa datog lokaliteta.



Slika 6. Datirani filogenetski odnosi između mitohondrijalnih *ND2* haplotipova. Filogenetsko stablo vremenski kalibrisano dobijeno je Bajesovom metodom i predstavlja odnose između filogenetskih linija običnog zviždka i ostalih vrsta iz kompleksa kao i spoljne grupe (engl. outgroup) (*Phylloscopus trochilus*). Lokaliteti, podvrste i broj uzorkovanih ptica su dati na desnoj strani slike. Brojevi koji se nalaze do filogenetskih grana odnose na statističku podržanost evolutivnih linija. Sive linije koje se nalaze na čvorištima stabla predstavljaju 95% Bajesove intervale poverenja za procenu starosti razdvajanja dve evolutivne linije.

Kompleks običnih zviždaka je evoluciono mlad. Procenom vremena razdvajanja svih vrsta iz kompleksa, kao i filogenetskih linija običnog zviždaka došlo se do zaključka da su se filogenetske linije odvojile u toku Jonske epohe Pleistocena (između 781 000 i 126 000 godina). Vremena radvajanja filogenetskih linija u kompleksu običnog zviždaka su procenjena koristeći mitohondrijalni *ND2* gen. Najstariji u kompleksu običnih zviždaka, pirinejski zviždak (PR = 1) (imajući u vidu da je pretpostavljeno vreme generacije jedna godina) se odvojio od zajedničkog pretka svih ostalih zviždaka (PR = 1) na kraju Kalabrijske epohe Pleistocena, približno pre 853 000 godina (95% Bajesov interval poverenja 680 000 – 1 050 000 godina; Slika 6). Zajednički predak kanarskog zviždaka odvojio se od pretka planinskog i običnog zviždaka za vreme Jonske epohe Pleistocena približno pre 514 000 godina (369 000 – 637 000 godina). Monofiletičnost planinskog i običnog zviždaka je marginalno podržana (PR = 0,90), te ne možemo odbiti hipotezu o trostrukom razdvajanju ove dve vrste i kanarskog zviždaka. Planinski i obični zviždak su se razdvojili za vreme Jonske epohe Pleistocena, približno pre 435 000 godina (327 000 – 537 000 godina).

Dve podvrste planinskog zviždaka su se razdvojile za vreme Tarancijske epohe Pleistocena, približno pre 104 000 godina (53 000 – 161 000 godina). Svaka od ove dve filogenetske linije predstavljena je jednim haplotipom kojeg dele sve uzorkovane jedinke podvrsta *P. s. sindianus* (pet primeraka) i *P. s. lorenzii* (sedam primeraka). Tranzicija između Kalabrijske i Jonske epohe Pleistocena karakteristična je po smeni glacijalnih ciklusa sa 41 000 godišnje na 100 000 godišnje cikluse koji su bili mnogo veće oscilacije i jačine i koji su imali veoma izražene efekte na kopnene organizme (Head and Gibbard, 2005). Jonski, visoko oscilujuć glacijalni ciklusi su mogli da utiču na geografsko struktuiranje mitohondrijalnih evolutivnih linija u kompleksu vrsta običnog zviždaka.

Zapadne filogenetske linije običnog zviždaka su geografski struktuirane i suštinski odgovaraju trenutno znanim arealima prihvaćenih podvrsta. Razdvajanje filogenetskih linija u okviru običnog zviždaka je počelo izdvajanjem istočne linije (Sibir, Ural i Mezen, odgovara podvrsti *P. c. tristis*) od zajedničkog pretka pet ostalih filogenetskih linija običnog zviždaka za vreme Jonske epohe Pleistocena približno pre 289 000 godina (220 000 – 365 000 godina). Mada je monofiletičnost svih pet zapadnih filogenetskih linija običnog zviždaka u potpunosti podržana (PR = 1), odnosi između njih nisu

odgonetnuti ( $0,40 < PP < 0,94$ ; Slika 6). Starosti ovih razdvajanja su bile u opsegu od 158 000 (111 000 –234 000 godina) do 231 000 (175 000 –290 000 godina).

Svaka od pet zapadnih filogenetskih linija zauzima različite geografske oblasti u zapadnom Palearktiku, mada je nekoliko filogenetskih linija nađeno zajedno u različitim geografskim oblastima. Dve najmlađe filogenetske linije naseljavaju Evropu (Slike 4, 5 i 6). Istočnoevropska filogenetska linija naseljava evropski deo Rusije, južno od 61 stepena severne geografske širine i zapadno od 44 stepena istočne geografske dužine (šest jedinki), takođe je najčešća je u centralnoj Švedskoj (13 od 16 jedinki), Rodopima (šest od osam jedinki), centralnom Balkanu (20 od 37 jedinki). Za ovu filogenetsku liniju može da se provereno tvrdi da pripada podvrsti *P. c. abietinus*. Samo jedna od 16 ptica u južnoj Švedskoj je pripadala ovoj filogenetskoj liniji.

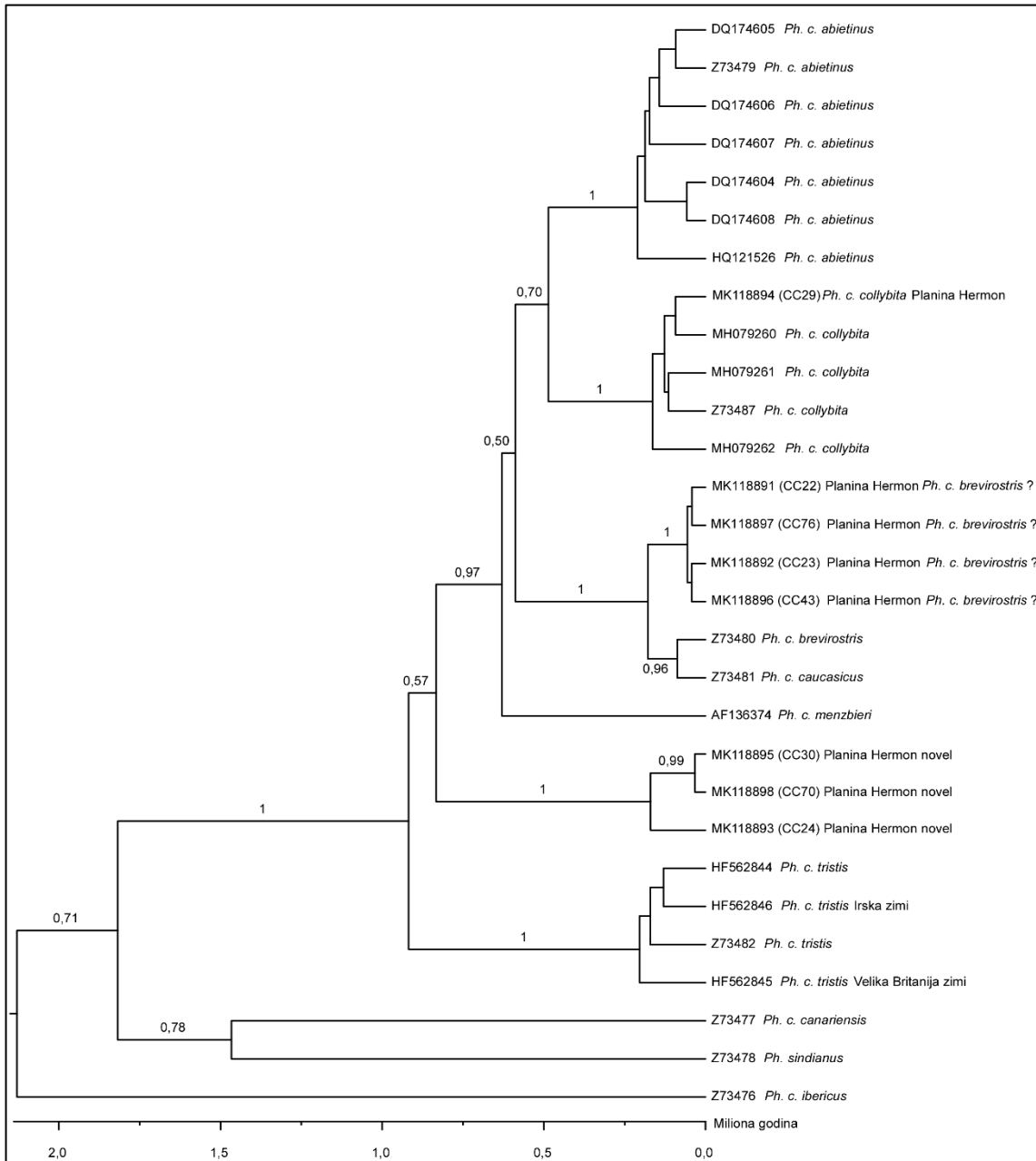
Najzapadniji deo Evrope naseljava filogenetska linija kojoj pripadaju svih 12 zimujućih jedinki iz Portugala, po jedna ptica uzorkovana u Velikoj Britaniji i Francuskoj, svih osam jedinki iz Italije, kao i 15 od 16 jedinki iz južne Švedske (Slike 4, 5 i 6). Ova filogenetska linija je rasprostranjena kao i opisana nominalna podvrsta *P. c. collybita*. Jedinke iz ove filogenetske linije su zabeležene i na centralnom Balkanu (14 od 37 jedinki) i to uglavnom na zapadnom delu (Slike 4, 5 i 6), takođe na Rodopima (dve od osam jedinki), tri od 16 jedinki u centralnoj Švedskoj, jedna od osam ptica na planini Hermon (Izrael) i jedna od sedam jedinki na ostrvu La Palma (Kanarska ostrva; Slike 4, 5 i 6).

Sve 33 jedinke koje pripadaju trećoj zapadnoj filogenetskoj liniji su uhvaćene na Kavkazu (Slike 4, 5 i 6). Jedinke iz ove filogenetske linije su uzorkovane i na Malom Kavkazu (četiri od devet jedinki), Zakavkazju (jedna od 18 jedinki), četiri od osam jedinki sa planine Hermon u Izraelu i dve od 37 jedinki na centralnom Balkanu. Gnezdeće jedinke koje su rasprostranjene na području Kavkaza pripadaju podvrsti *P. c. caucasicus*, međutim ova podvrsta nije genetički različita od podvrste *P. c. brevirostris* koja naseljava planinski deo Turske (Helbig 1996). Činjenica da su jedinke koje pripadaju „*caucasicus*“ filogenetskoj liniji zabeležene na udaljenim lokalitetima kao što je centralni Balkan, i planina Hermon u Izraelu, što je dosta bliže poznatom arealu *P. c. brevirostris* ukazuje da je prirodno da ova filogenetska linija bude kombinovana *P. c. brevirostris/caucasicus* (Slike 4, 5 i 6). *CYTB* sekvence četiri jedinke sa planine Hermon u Izraelu su takođe dobijene (Slika 7) i upoređivanjem sa već publikovanim sekvencama

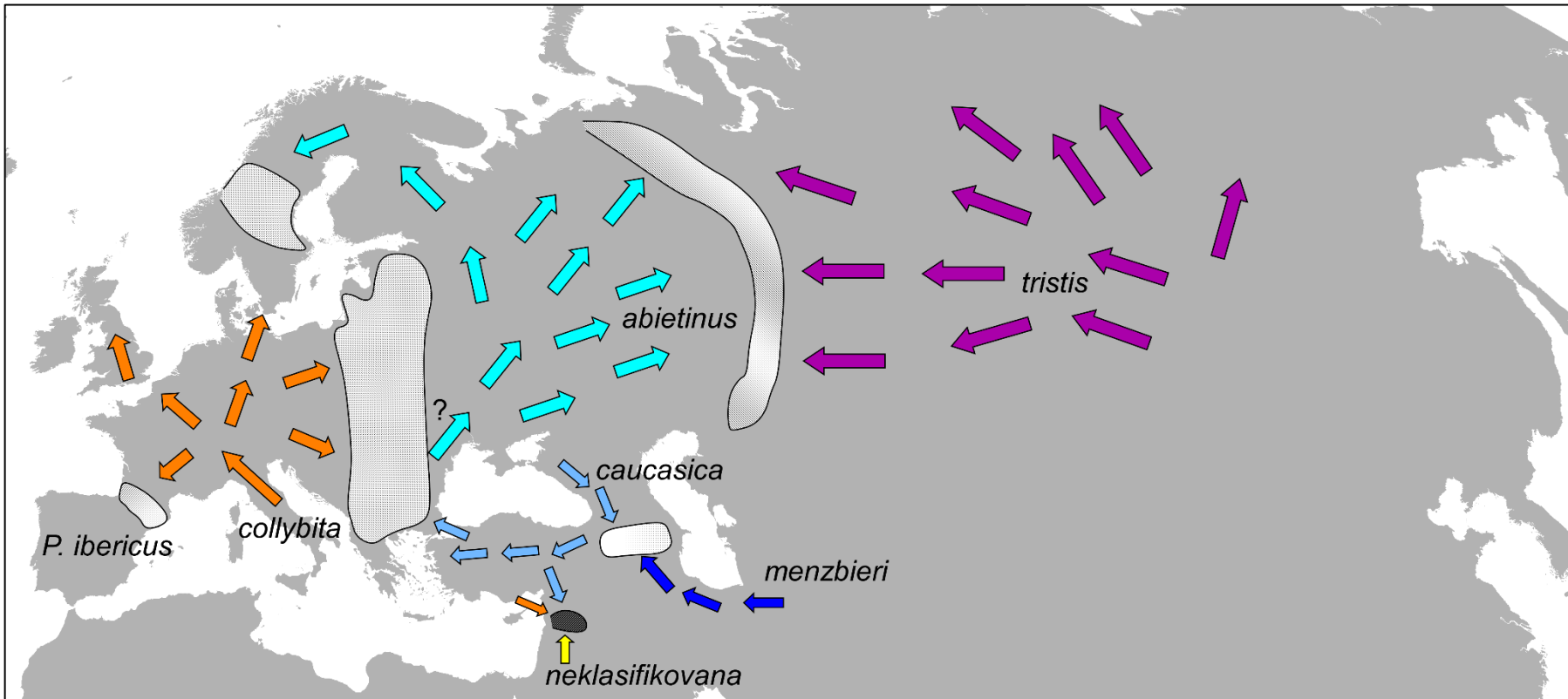
iz banke gena dobijeno je filogenetsko stablo na kome su sekvence jedinki sa planine Hermon grupisane u istu filogenetsku liniju sa prethodno publikovanim sekvencama podvrsta *P. c. caucasicus* i *P. c. brevirostris* (Helbig 1996). Kombinovanje ove dve podvrste zajedno *P. c. brevirostris/caucasicus* i pripadnost jednoj od filogenetskih linija je potkrepljeno genetičkim dokazima.

Najdalje dve filogenetske linije u okviru zapadnih običnih zviždaka rasprostranjene su na jugoistoku areala rasprostranjenja. Prva od ove dve filogenetske linije je rasprostranjena na Zakavkazju (17 od 18 jedinki) i na Malom Kavkazu (pet od devet jedinki) i najverovatnije predstavlja podvrstu *P. c. menzbieri*. Druga filogenetska linija je uzorkovana samo na planini Hermon u Izraelu (tri od osam jedinki) i ova filogenetska linija predstavlja novu do sada ne opisanu filogenetsku liniju/podvrstu. *CYTB* sekvence predstavljene na filogenetskom stablu (Slika 7) potvrđuju zaključak da se radi o novoj filogenetskoj liniji koja je dosta različita od sekvenci dobijenih u radu Helbig (1996).

Sa obzirom da su sve filogenetske linije evoluirale u različitim refugijumima, na slici 8 su predstavljeni pravci rekolonizacije Evroazije iz različitih refugijuma, kao i mesta formiranih hibridnih zona nakon sekundarnog kontakta.



Slika 7. Filogenetsko stablo dobijeno analizom *CYTB* sekvenci običnog, kanarskog, planinskog i pirinejskog zviždka. Pristupni brojevi za sekvence na sajtu banke gena (engl. GenBank accession numbers) kao i pripadnost podvrstama su označeni na stablu. Brojevi iznad grana predstavljaju Bajesovu podržanost račvanja (engl. bayesian posterior probability values).



Slika 8. Pravci rekolonizacije Evroazije iz glacijalnih refugijuma. Hibridne zone između različitih filogenetskih linija su ošene na slici. Imena podvrsta su data pored pravaca naseljavanja za svaku filogenetsku liniju.

Razlike u parovima između *ND2* sekvenci u okviru vrsta kompleksa zviždaka i filogenetskih linija običnog zviždka su sumirane u Tabeli 5. Genetička raznovrsnost *ND2* gena u okviru populacija običnog zviždka je generalno bila veoma slična između populacija (Tabela 6). Raznolikost haplotipova je najmanja u južnom delu Švedske i Kavkazu (0,542 i 0,556), a najveća na Rodopima i Uralu (1 i 0,981). Raznolikost nukleotida varira od 0,00144 u južnoj Švedskoj i Italiji do 0,01107 na planini Hermon. Gledajući širu sliku, nukleotidna raznolikost je bila najveća u populacijama koje su sastavljene od više filogenetskih linija, mada je južna Švedska imala najmanji diverzitet (Tabela 6). Za većinu populacija, Tajima's D vrednosti su negativne, ali ne značajno.



Tabela 5. Srednja razlika u parovima (ne korigivane *P*-distance) između filogenetskih linija *ND2* gena kompleksa vrsta zviždaka, običnog zviždka i brezovog zviždka (*Phylloscopus trochilus*).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. <i>Ph. trochilus</i>										
2. <i>Ph. ibericus</i>	0,10112									
3. <i>Ph. canariensis</i>	0,09206	0,06571								
4. <i>Ph. s. sindianus</i>	0,09286	0,06359	0,04195							
5. <i>Ph. s. lorenzii</i>	0,09094	0,06167	0,03810	0,00576						
6. <i>Ph. c. tristis</i>	0,08590	0,06017	0,03823	0,03198	0,03102					
7. <i>Ph. c. novel</i>	0,09638	0,06462	0,03971	0,03330	0,03234	0,01824				
8. <i>Ph. c. menzbieri</i>	0,09290	0,06103	0,03736	0,03096	0,03000	0,01694	0,01448			
9. <i>Ph. c. caucasicus</i>	0,09467	0,06150	0,03710	0,03257	0,03161	0,01857	0,01601	0,01384		
10. <i>Ph. c. abietinus</i>	0,09328	0,05782	0,03198	0,02759	0,02663	0,01538	0,01283	0,01051	0,01025	
11. <i>Ph. c. collybita</i>	0,09023	0,05789	0,03481	0,02649	0,02557	0,01624	0,01374	0,01126	0,01115	0,00615

Tabela 6. Vrednosti genetičkog diverziteta gnezdećih populacija običnog zviždka dobijenih analizom *ND2* mitohondrijalnog gena (1 041 bazni par). Zimujuće jedinke iz Portugala su izostavljene iz analiza. Statistički značajne vrednosti Tajima's D testa su označene masnim slovima. Populacije koje su označene masnim slovima predstavljaju populacije u kojima se mogu naći bar dve simpatrične filogenetske *ND2* linije.

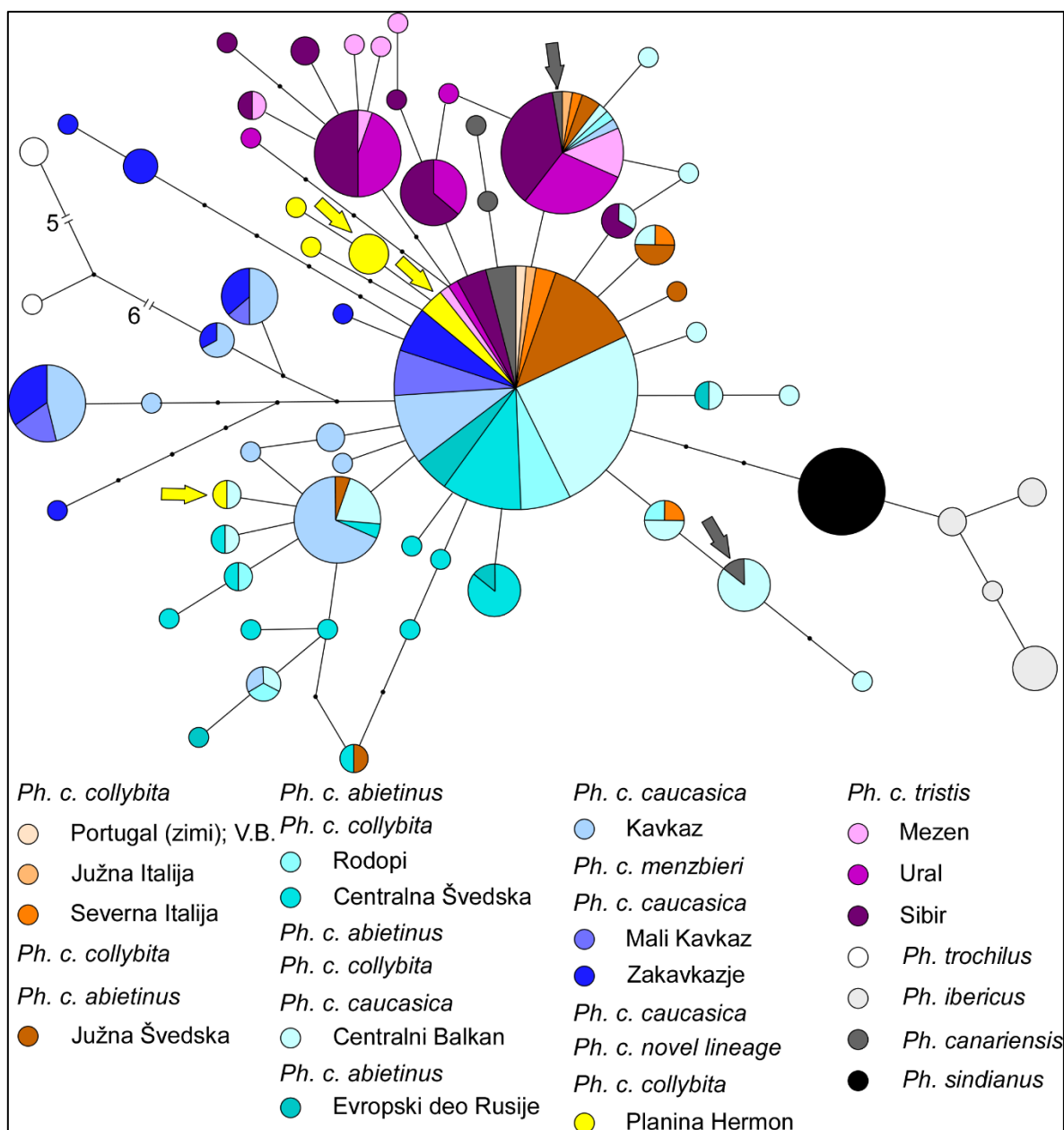
Populacija	Broj jedinki	Broj haplotipova	Diverzitet haplotipova	Diverzitet nukleotida	Theta per site (S)	Tajima's D test
Sibir	25	18	0,927	0,00217	0,00611	<b>-2,36871</b>
Ural	21	18	0,981	0,00309	0,00641	<b>-1,97437</b>
Mezen	7	6	0,952	0,00311	0,00353	-0,62991
<b>Planina Hermon</b>	7	5	0,905	0,01107	0,00902	1,28547
<b>Zakavkazje</b>	18	5	0,556	0,0021	0,00475	<b>-2,24653</b>
<b>Mali Kavkaz</b>	10	7	0,911	0,00826	0,00679	1,01752
Kavkaz	32	12	0,861	0,0017	0,0031	-1,47367
Evropski deo Rusije	6	5	0,933	0,00224	0,00294	-1,39031
<b>Centralna Švedska</b>	16	10	0,867	0,00275	0,00405	-1,25424
<b>Rodopi</b>	8	8	1	0,00374	0,00445	-0,79932
<b>Centralni Balkan</b>	36	20	0,906	0,00437	0,00741	-1,443
<b>Južna Švedska</b>	16	6	0,542	0,00144	0,00347	-2,23554
Italija	8	4	0,643	0,00144	0,00222	-1,63982

#### 4.1.2. Varijacija *ACO119* nuklearnog gena

Za razliku od mitohondrijalnih *ND2* haplotipova, sortiranje filogenetskih linija između alela *ACO119* gena je nekompletno širom kompleksa vrsta zviždaka, kao i običnog zviždka. Genetička raznovrsnost populacija je sumirana u Tabeli 7. Pirinejski i planinski zviždci imaju jedinstvene *ACO119* genske allele koji nisu pronađeni kod drugih vrsta (Slika 9). Deljenje alela je zabeleženo između kanarskog i običnog zviždka (Slika 9). Samo dva od 10 *ACO119* alela kanarskih zviždaka pripadaju jedinstvenim haplotipovima. Šest ostalih *ACO119* alela kanarskih zviždaka koji pripadaju *ND2* filogenetskoj liniji *P. canariensis* su identični sa najčešćim alelom običnog zviždka (koji je nađen kod 148 jedinki običnog zviždka na svim lokalitetima). Mužjak zviždka uhvaćen na Kanarskim ostrvima koji pripada *ND2* filogenetskoj liniji podvrste *P. c. collybita* je heterozigot za *ACO119* gen i jedan od alela je identičan sa drugim najčešćim haplotipom običnog zviždka (koji ima 37 jedinki od Evrope do istočne Rusije) i drugi alel koji je nađen kod šest običnih zviždaka sa centralnog Balkana (Slika 9). Ovi aleli nisu nađeni ni kod jedne jedinke koja pripada *canariensis ND2* filogenetskoj liniji.

Tabela 7. Vrednosti genetičkog diverziteta gnezdećih populacija običnog zviždka dobijenih obradom *ACO119* nuklearnog gena (989 baznih parova). Zimujuće jedinke iz Portugala su izostavljene iz analiza. Statistički značajne vrednosti Tajima's D testa su označene masnim slovima.

Populacija	Broj jedinki	Broj istraživanih alela	Broj haplotipova	Raznolikost haplotipova	Raznolikost nukleotida	Theta per site (S)	Tajima's D test
Sibir	22	38	8	0,788	0,00192	0,00193	-0,00978
Ural	21	34	8	0,795	0,00199	0,00174	0,41403
Mezen	5	9	4	0,694	0,00169	0,00223	-1,06907
Planina Hermon	7	12	6	0,758	0,00138	0,00201	-1,19623
Zakavkazje	17	25	8	0,737	0,0026	0,00375	-1,06813
Mali Kavkaz	8	13	3	0,5	0,00156	0,00163	-0,16103
Kavkaz	31	52	15	0,85	0,00254	0,00313	-0,57249
Evropski deo Rusije	6	10	4	0,533	0,00117	0,00179	-1,38818
Centralna Švedska	16	32	12	0,728	0,00153	0,00251	-1,22364
Rodopi	7	14	5	0,505	0,00099	0,00191	-1,72892
Centralni Balkan	35	63	16	0,646	0,00125	0,003	-1,70491
Južna Švedska	13	26	6	0,468	0,00076	0,00185	<b>-1,80814</b>
Italija	7	10	4	0,644	0,00076	0,00107	-1,03446



Slika 9. Mreža *ACO119* alela. Svaki krug predstavlja jedinstveni *ACO119* alel. Površina kruga je proporcionalna broju pojedinačnih sekvenci koje su istovetne. Boja predstavlja lokalitet uzorkovanja, a imena lokaliteta su data na slici. Na lokalitetima gde se *ND2* filogenetske linije mešaju, dominantna filogenetska linija je stavljena prva. Krugovi su izdvojeni proporcionalno broju sekvenci dobijenih od jedinki na svakoj lokaciji sa datim alelom. Sive strelice predstavljaju *ACO119* alele jedinke koja je uhvaćena na ostrvu La Palma, i koja je imala *ND2* haplotip podvrste *P. c. collybita*. Žute strelice predstavljaju *ACO119* alele koje nose jedinke iz novo otkrivene *ND2* filogenetske linije sa planine Hermon.

Obe podvrste planinskog zviždka (*P. s. sirdianus* i *P. s. lorenzii*) dele isti jedinstveni *ACO119* alel, tako da za razliku od mitohondrijalne DNK, nuklearna DNK ne ukazuje na razlike između podvrsta (Slika 9).

Sve podvrste običnog zviždka među sobom dele *ACO119* sekvence sa svim podvrstama u okviru običnog zviždka. Većina jedinki sa područja Sibira, Urala i Mezena koje pripadaju najstarijoj *ND2* filogenetskoj liniji *P. c. tristis* poseduju alele koji su jedinstveni za tu filogenetsku liniju. Međutim ostale jedinke sa gore navedenih lokaliteta (koje pripadaju *P. c. tristis ND2* filogenetskoj liniji) dele dva najčešća alela sa jedinkama koje su rasprostranjene u ostatku areala. Proporcija sekvenci sa područja Sibira, Urala i Mezena u okviru najčešćeg alela je mala (11 od 154), dok je 30 sekvenci sa ovog područja od 38 ukupno zabeleženo u okviru drugog najčešćeg alela.

Tri jedinke poreklom sa planine Hermon koje pripadaju novopronađenoj *ND2* filogenetskoj liniji takođe dele neke od *ACO119* alela sa ostalim podvrstama običnog zviždka u celom arealu. Jedan mužjak je homozigot za jedinstveni alel (Slika 9). Drugi mužjak je heterozigot sa jednim jedinstvenim alelom, dok drugi alel pripada najčešćem haplotipu. Treća jedinka, ženka, deli jedan alel sa jednom jedinkom sa centralnog Balkana (Slika 9). Dva ostala jedinstvena alela su zabeležena kod jedinki sa planine Hermon koje pripadaju *ND2* filogenetskoj liniji *P. c. brevirostris/caucasicus*, dok ostali aleli pripadaju najčešćem haplotipu.

Analiza molekularne varijacije (AMOVA) je otkrila statistički značajno razdvajanje između istočnih lokaliteta (Sibir, Ural i Mezen) i svih ostalih lokaliteta koja objašnjava 15,4% ukupne varijanse *ACO119* gena u okviru običnog zviždka ( $P = 0,005 \pm 0,002$ ). Razlike između lokaliteta u okviru regiona su odgovorne za 6,9% varijanse ( $P < 0,001$ ), dok su razlike između jedinki sa istog lokaliteta odgovorne za 77,7% varijanse ( $P < 0,001$ ). Uparenim poređenjima između lokaliteta dobijeno je značajno razdvajanje svakog istočnog lokaliteta (Sibir, Ural, Mezen) od svih zapadnih lokaliteta ( $\Phi_{st} = 0,066 - 0,220$ ,  $P = 0 - 0,5$ ; Tabela 8) osim za Italiju i Mezen ( $\Phi_{st} = 0,066$ ,  $P = 0,11$ ) i Italiju i Ural ( $\Phi_{st} = 0,110$ ,  $P = 0,06$ ) gde je diferencijacija bila na granici značajnosti. Sva tri istočna lokaliteta (Sibir, Ural i Mezen) nisu se razlikovali među sobom ( $\Phi_{st} = -0,019 - 0,024$ ,  $P = 0,19 - 0,91$ ; Tabela 8) ukazujući da je diferencijacija između lokaliteta u AMOVA analizi ograničena na zapadni deo areala običnog zviždka. U okviru zapadnog regiona ne postoji diferencijacija između

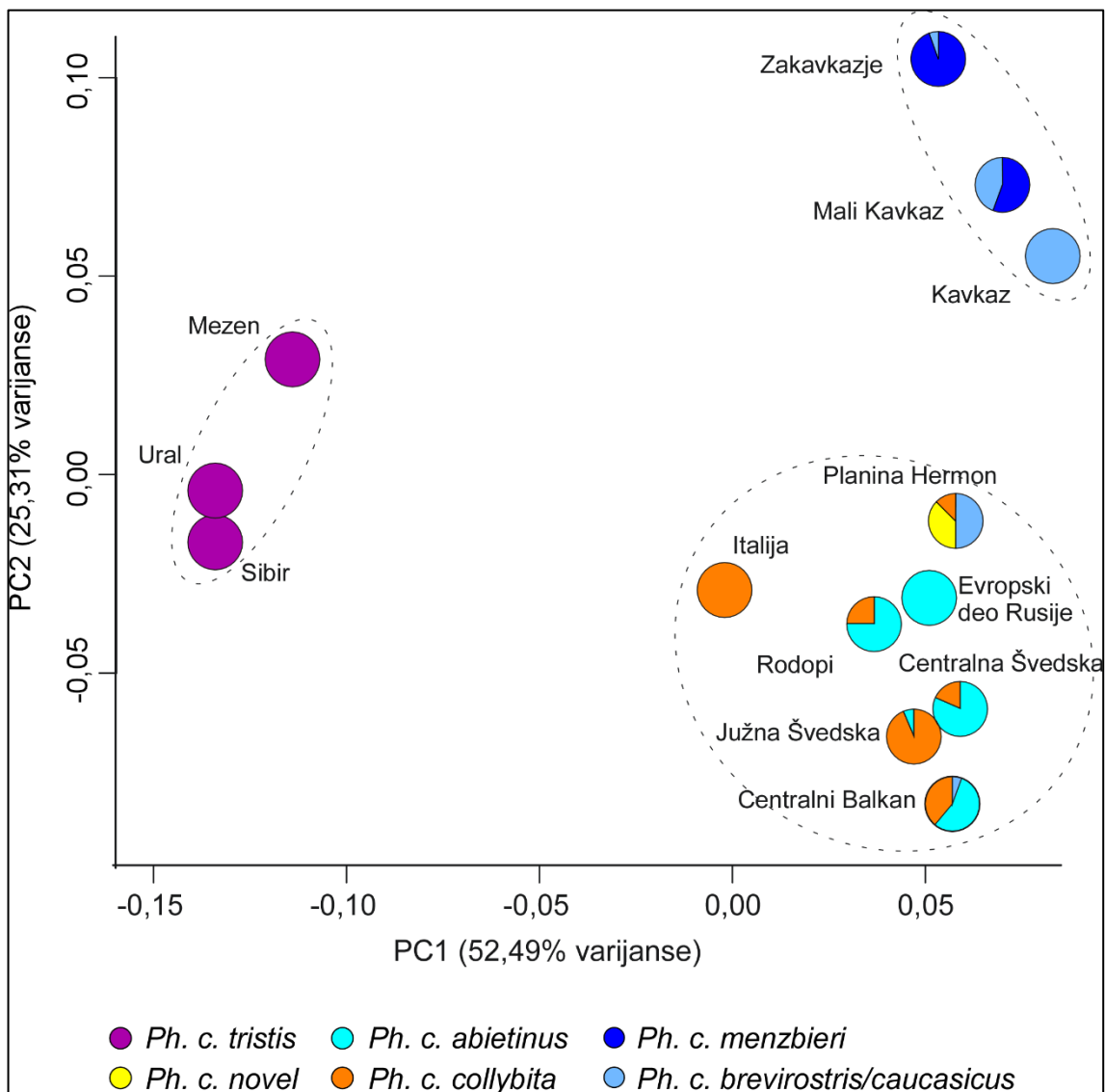
evropskog dela Rusije, Rodopa, centralnog Balkana, centralne i južne Švedske i Italije ( $\Phi_{st} = -0,028 - 0,051$ ,  $P = 0,06 - 0,76$ ; Tabela 8), osim za najudaljeniji par lokaliteta: centralnu Švedsku i centralni Balkan ( $\Phi_{st} = 0,059$ ,  $P < 0,001$ ; Tabela 8). Sve zajedno, ovi lokaliteti su diferencirani od Kavkaza ( $\Phi_{st} = 0,082 - 0,143$ ,  $P = 0 - 0,07 \pm 0,02$ ), Malog Kavkaza ( $\Phi_{st} = 0,111 - 0,151$ ,  $P = 0 - 0,06 \pm 0,02$ ), i Zakavkazja ( $\Phi_{st} = 0,099 - 0,199$ ,  $P = 0 - 0,03 \pm 0,02$ ). Mali Kavkaz nije diferenciran od Kavkaza ( $\Phi_{st} = -0,006$ ,  $P = 0,42$ ), i Zakavkazja ( $\Phi_{st} = -0,003$ ,  $P = 0,41$ ), mada su poslednja dva diferencirana jedan od drugog ( $\Phi_{st} = 0,053$ ,  $P = 0,01$ ; Tabela 8). Samo jedinke sa planine Hermon su diferencirane od svih zapadnih lokaliteta u *ACO119* frekvencijama alela ( $\Phi_{st} = 0,109 - 0,173$ ,  $P = 0 - 0,02 \pm 0,01$ ; Tabela 8).

Tabela 8. Vrednosti  $\Phi_{st}$  dobijene analizom *ACO119* sekvenci (ispod dijagonale) i njihove P-vrednosti (iznad dijagonale) za upareno upoređivanje regionalnih uzoraka običnog zviždka.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1. Sibir	*	0,91±0,03	0,19±0,05	0	0	0	0	0	0	0,01±0,01	0	0	0,02±0,01
2. Ural	-0,019	*	0,19±0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,06±0,02
3. Mezen	0,019	0,024	*	0,001±0,001	0	0,01±0,01	0	0	0	0	0	0	0,11±0,03
4. Planina Hermon	0,216	0,211	0,225	*	0,01±0,01	0	0	0,01±0,01	0	0,01±0,01	0	0	0,02±0,01
5. Zakavkazje	0,225	0,219	0,152	0,139	*	0,41±0,05	0,01±0,01	0,02±0,01	0	0	0	0	0,03±0,02
6. Mali Kavkaz	0,216	0,211	0,214	0,173	-0,003	*	0,42±0,04	0,05±0,02	0	0,03±0,02	0	0,01±0,01	0,06±0,02
7. Kavkaz	0,228	0,229	0,184	0,144	0,053	-0,006	*	0,07±0,02	0	0,03±0,01	0	0	0,01±0,01
8. Evropski deo Rusije	0,167	0,164	0,178	0,109	0,099	0,111	0,085	*	0,76±0,04	0,63±0,04	0,13±0,06	0,18±0,03	0,21±0,03
9. Centralna Švedska	0,198	0,201	0,18	0,12	0,167	0,138	0,112	-0,028	*	0,31±0,05	0	0,07±0,02	0,09±0,01
10. Rodopi	0,151	0,154	0,153	0,109	0,115	0,118	0,082	-0,021	0	*	0,59±0,04	0,73±0,04	0,59±0,04
11. Balkan	0,203	0,212	0,186	0,127	0,199	0,141	0,143	0,025	0,059	-0,01	*	0,06±0,02	0,45±0,05
12. Južna Švedska	0,175	0,183	0,195	0,147	0,156	0,151	0,12	0,024	0,031	-0,018	0,019	*	0,71±0,03
13. Italija	0,103	0,11	0,066	0,134	0,099	0,122	0,105	0,044	0,051	-0,015	-0,004	-0,02	*



Da bi grafički bile predstavljene razlike između lokaliteta, analiza osnovnih komponenti (PCA – *Principal Component Analysis*) je primenjena na uparene  $\Phi_{st}$  vrednosti dobijene analizom *ACO119* gena. Ovom analizom su dobijena tri odvojena klastera lokaliteta (Slika 10) koji predstavljaju tri grupe podvrsta običnog zviždka. Prva osnovna komponenta (PC1) opisuje 52,5% varijabilnosti i odvaja tri istočna lokaliteta na kojima su sve jedinke podvrste *P. c. tristis* (i iste *ND2* filogenetske linije) kao najrazličitije u okviru tri klastera. Druga osnovna komponenta (PC2) opisuje 25,3% varijabilnosti i odvaja tri južna lokaliteta (Kavkaz, Mali Kavkaz i Zakavkazje) od ostala dva klastera. Ovaj južni klaster je bliži trećem klasteru koji obuhvata istočne i zapadne evropske lokalitete i planinu Hermon. Mali Kavkaz, gde jedinke u skoro jednakoj proporciji pripadaju *ND2* filogenetskim linijama *P. c. caucasicus* i *P. c. menzbieri*, se nalazi između ova dva klastera. I na kraju, evropski klaster, koji predstavlja lokalitete sa pomešanim *ND2* filogenetskim linijama *P. c. collybita*, *P. c. abietinus* i *P. c. caucasicus* je bliži evropskom delu Rusije (gde su konstatovane jedinke *ND2* filogenetske linije *P. c. abietinus*) nego Italiji (gde su konstatovane jedinke *ND2* filogenetske linije *P. c. collybita*) (Slika 10).

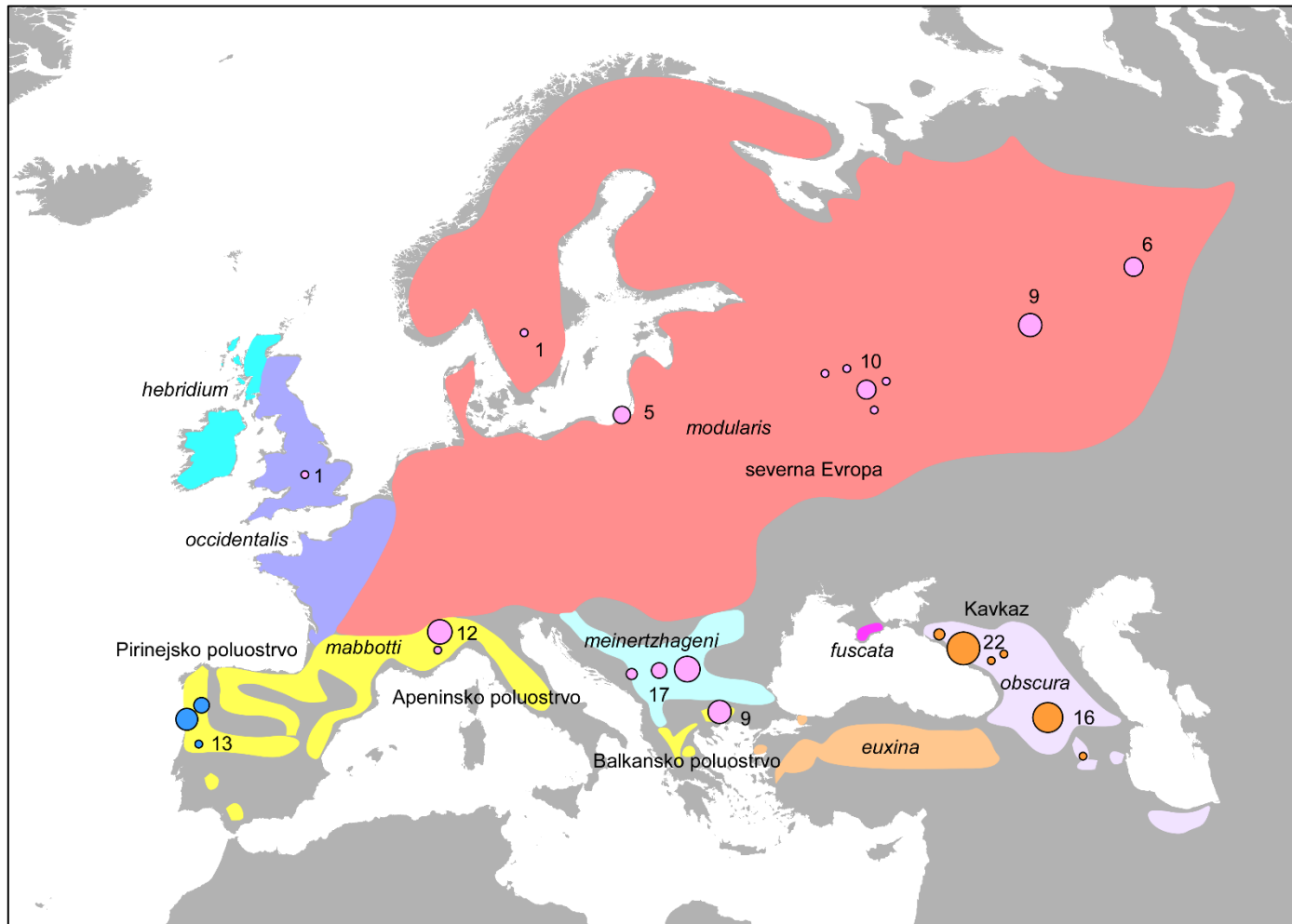


Slika 10. Analiza osnovnih komponenti uparenih  $\Phi_{st}$  vrednosti izračunatim korišćenjem *ACO119* sekvenci. Različite boje predstavljaju udeo različitih *ND2* filogenetskih linija uzorkovanih na svakom od lokaliteta.

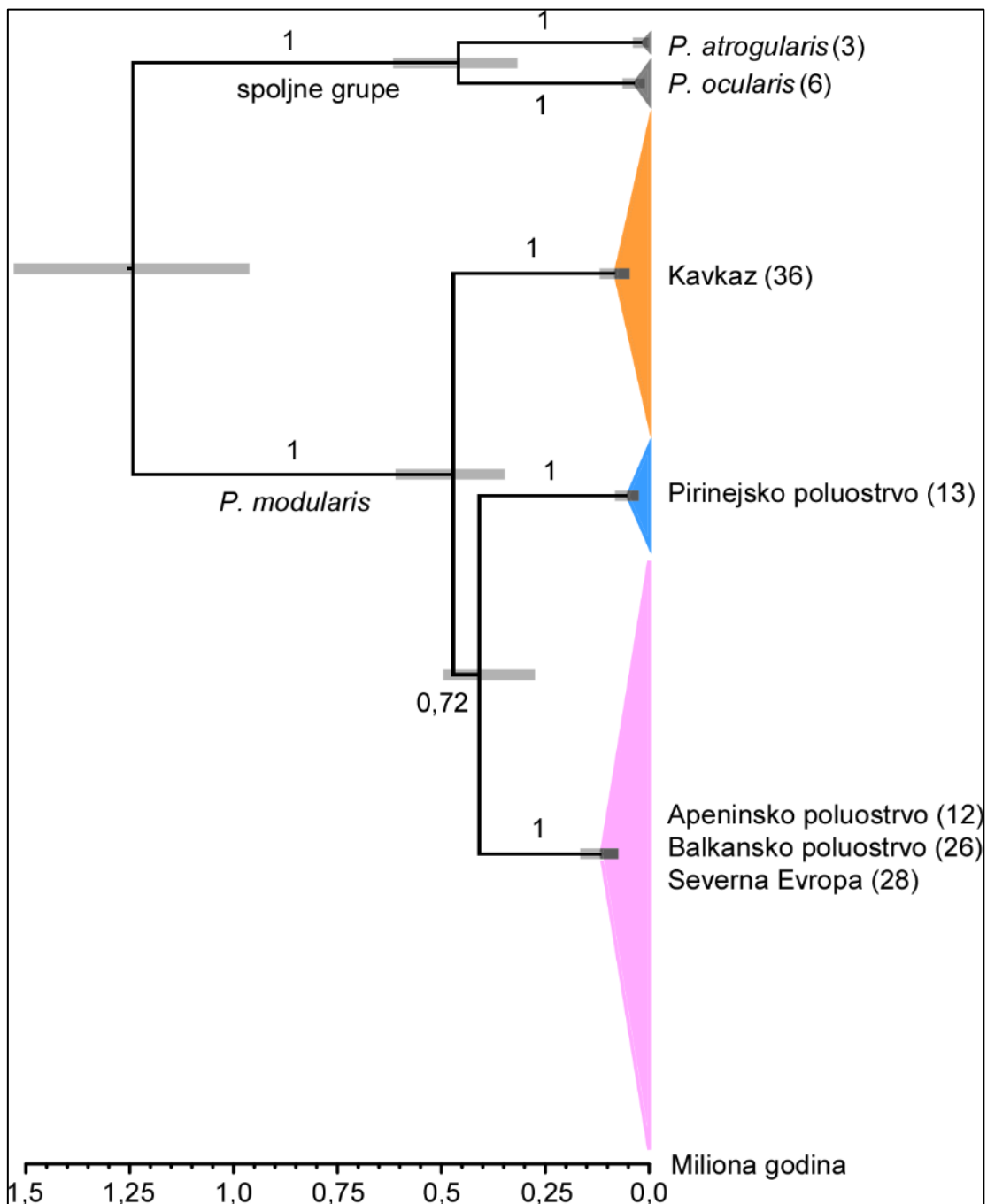
## 4.2. Filogeografija vrste *Prunella modularis*

### 4.2.1. Mitohondrijalna filogeografija i višelokusna filogenetska stabla

Analizom mitohondrijalnih *ND2* sekvenci u okviru korišćenih uzoraka običnog popića dobijeno je filogenetsko stablo koje ukazuje na podržanost monofiletičnosti običnog popića u odnosu na spoljne grupe (engl. “outgroup”) (PR = 1). Analiza mitohondrijalnog *ND2* gena otkrila je tri *ND2* filogenetske linije koje su podržane u potpunosti (PR = 1) i one su geografski predstavljene (Slika 11). Prvoj filogenetskoj liniji pripadaju sve jedinke sa Kavkaza (Kavkaz, Mali Kavkaz i Zakavkazje). Drugu filogenetsku liniju čine jedinke sa područja Pirinejskog poluostrva, dok trećoj filogenetskoj liniji pripadaju jedinke sa širokog područja zapadne, severne i centralne Evrope, kao i Italije i Balkanskog poluostrva. Pirinejska filogenetska linija i balkansko-apeninska filogenetska linija predstavljaju sestrinske linije na filogenetskom stablu, ali ovaj odnos nije statistički podržan (PR = 0,72). Procenjeno je da je razdvajanje pirinejske filogenetske linije i balkansko-apeninske filogenetske linije bilo pre 408 000 godina (275 000 – 495 000, 95% HPD interval), dok je razdvajanje između ove dve filogenetske linije i kavkasko filogenetske linije procenjeno kao neznatno starije, pre 471 000 godina (347 000 – 610 000). Vreme razdvajanja *ND2* filogenetskih linija običnog popića je uporedivo sa vremenom razdvajanja spoljnih nesestrinskih grupa koje se desilo pre 459 000 godina (317 000 – 616 000) (Slika 12).

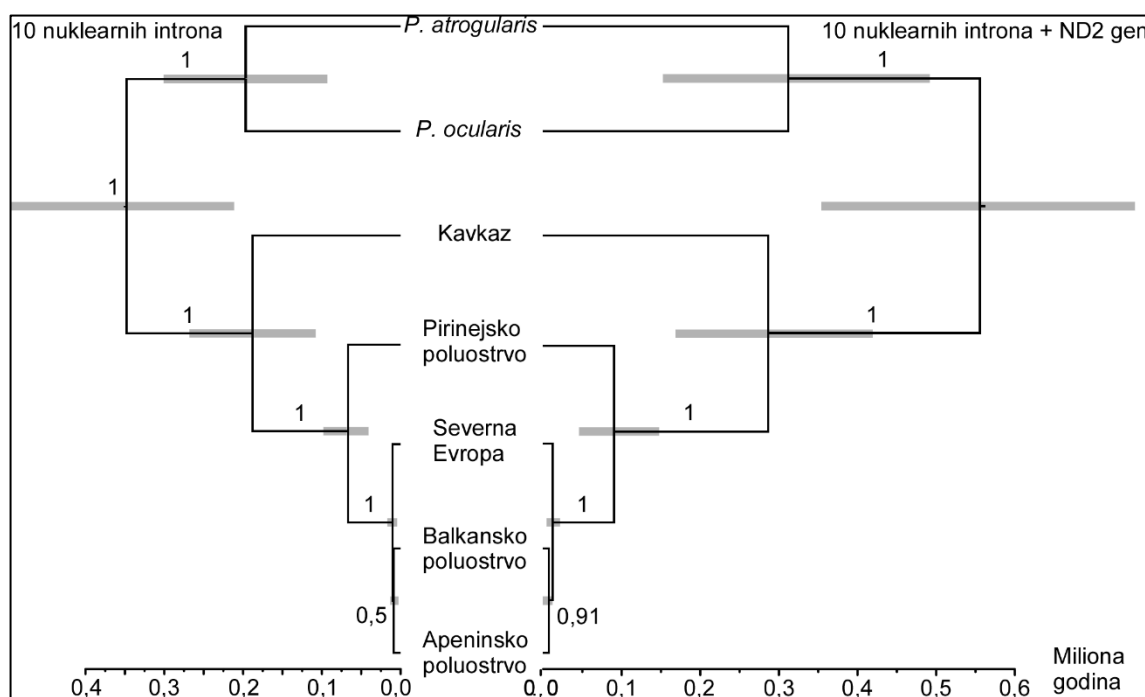


Slika 11. Geografsko rasprostranjenje filogenetskih linija običnog popića. Različite filogenetske linije su obojene različitim bojama. Površina krugova je srazmerna broju uzoraka sa datog lokaliteta.



Slika 12. Filogenetsko stablo dobijeno analizom mitohondrijalnog *ND2* gena. Brojevi na filogenetskim granama predstavljaju njihovu Bajesovu posteriornu podržanost (PR). Sive zadebljane linije kod račvanja (čvorišta) predstavljaju 95% HPD intervale za procenu starosti razdvajanja.

Višelokusna filogenetska stabla dobijena analizama 10 nuklearnih introna zajedno sa ili bez mitohondrijalnog *ND2* gena (Slika 13) imala su sličnu topologiju kao stablo dobijeno analizom *ND2* mitohondrijalnog gena (Slika 12). Obe analize su otkrile postojanje iste tri glavne filogenetske linije, sa kavaskom kladom sestriškom u odnosu na druge dve (PR = 1). Ipak, za razliku od mitohondrijalnog *ND2* filogenetskog stabla, sestriški odnosi pirinejske i balkansko-apepinske filogenetske linije kod obe višelokusne analize su bili statistički podržani (PR = 1). U okviru balkansko-apepinske filogenetske linije, jedinice sa Apeninskog i Balkanskog poluostrva predstavljaju sestrišne filogenetske linije u odnosu na jedinice sa područja severne Evrope, ali ovi odnosi nisu statistički podržani u obe analize (10 introna PR = 0,50; 10 introna + *ND2* PR = 0,91) ukazujući na slabo geografsko strukturiranje u okviru balkansko-apepinske filogenetske linije.



Slika 13. Višelokusno specijsko filogenetsko stablo dobijeno analizom 10 nuklearnih introna (levo) i 10 nuklearnih introna i jednim mitohondrijalnim genom (*ND2*; desno). Brojevi na filogenetskim granama predstavljaju njihovu Bajesovu posteriornu podržanost (PR). Sive zadebljane linije kod račvanja (čvorišta) predstavljaju 95% HPD intervale za procenu starosti razdvajanja.

Vremensko razdvajanje između filogenetskih linija u oba višelokusna filogenetska stabla je bilo skorije u odnosu na mitohondrijalno *ND2* filogenetsko stablo. Razdvajanje između pirinejske filogenetske linije i balkansko-apeninske filogenetske linije je procenjeno da se desilo pre 67 000 godina (41 000 – 98 000 godina) sa setom podataka od 10 introna, ali se povećalo na 90 000 godina (46 000 – 148 000 godina) kada je *ND2* gen dodat setu podataka. Razdvajanje kavkaske filogenetske linije od zajedničkog pretka ostale dve filogenetske linije je procenjeno da se desilo pre 188 000 godina (108 000 – 268 000 godina) bez *ND2* sekvenci i pre 286 000 godina (168 000 – 419 000 godina) sa dodatim *ND2* sekvencama u set podataka. Oba višelokusna filogenetska stabla ukazuju da je vreme razdvajanja kavkaske filogenetske linije od zajedničkog pretka druge dve filogenetske linije slično vremenu razdvajanja crnogrllog popića (*Prunella atrogularis*) i azijskog popića (*Prunella ocularis*) koje se desilo pre 197 000 godina (93 000 – 301 000 godina) bez *ND2* sekvenci u setu podataka i 312 000 godina (152 000 – 492 000 godina) sa uključenim *ND2* sekvencama u analizi (Slika 13).

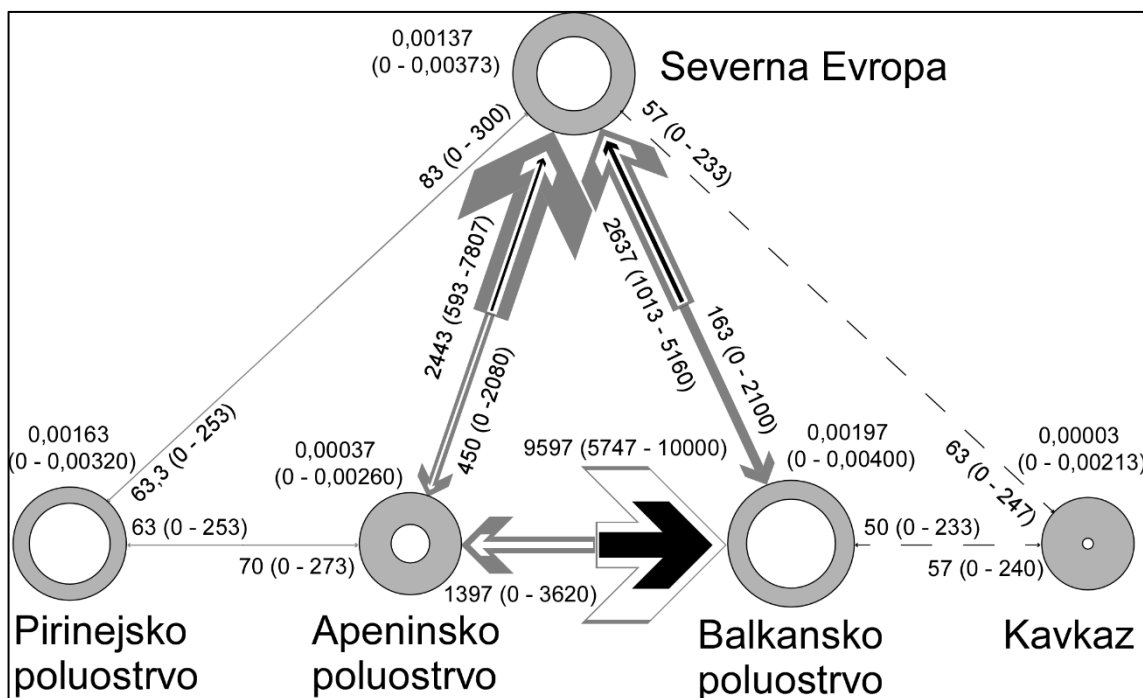
#### **4.2.2. Razdvajanje vrsta u okviru običnog popića**

Rezultati korišćenjem programa BPP ukazuju da obični popić nije jedna vrsta. Molekularno razdvajanje vrsta u okviru običnog popića je otkrilo da se obični popić ustvari sastoji od tri posebne vrste koju su snažno podržane ( $PR = 1,0$ ). Prvoj vrsti pripadaju jedinke sa Pirinejskog poluostrva, drugoj sa područja Kavkaza, dok je treća vrsta uključuje sve jedinke iz severnog dela Evrope, Apeninskog i Balkanskog poluostrva. Ovaj rezultat je dosledan sa analizama filogenetskih stabala (Slike 12 i 13).

#### **4.2.2. Protok gena između geografskih regiona i njihova populaciona istorija**

Svi procenjeni parametri protoka gena između jedinki sa Pirinejskog poluostrva i Kavkaza uključuju nulu kao niži 95% interval poverenja (Slika 14) ukazujući da hipoteza o izostanku protoka gena između ove dve teritorije ne može biti odbijena. Modaliteti parametara protoka gena za ove dve teritorije, bez obzira na pravac varirali su od 50 do 63,3. Za razliku od toga, modaliteti parametara protoka gena između Apeninskog, Balkanskog poluostrva i severne Evrope su varirali od 163 do 9 597 i u tri slučaja (Apeninsko ostrvo nasuprot Balkanskog poluostrva, Apeninsko poluostrvo nasuprot severne Evrope i Balkansko poluostrvo nasuprot severne Evrope) niža

vrednost 95% intervala poverenja je bila znatno veća od nule (5 747, 593 i 1 013; Slika 10) ukazujući na obiman protok gena između ovih teritorija. Ipak, protok gena je jako asimetričan zato što u sva tri slučaja parametri protoka gena u suprotnim pravcima su bili mnogo niži (1 397 nasuprot 9 597, 450 nasuprot 2 443, 163 nasuprot 2 637). Tako da je protok gena sa Apeninskog poluostrva ka Balkanskom poluostrvu i severnoj Evropi, i sa Balkanskog poluostrva ka severnoj Evropi veći nego u suprotnim pravcima.



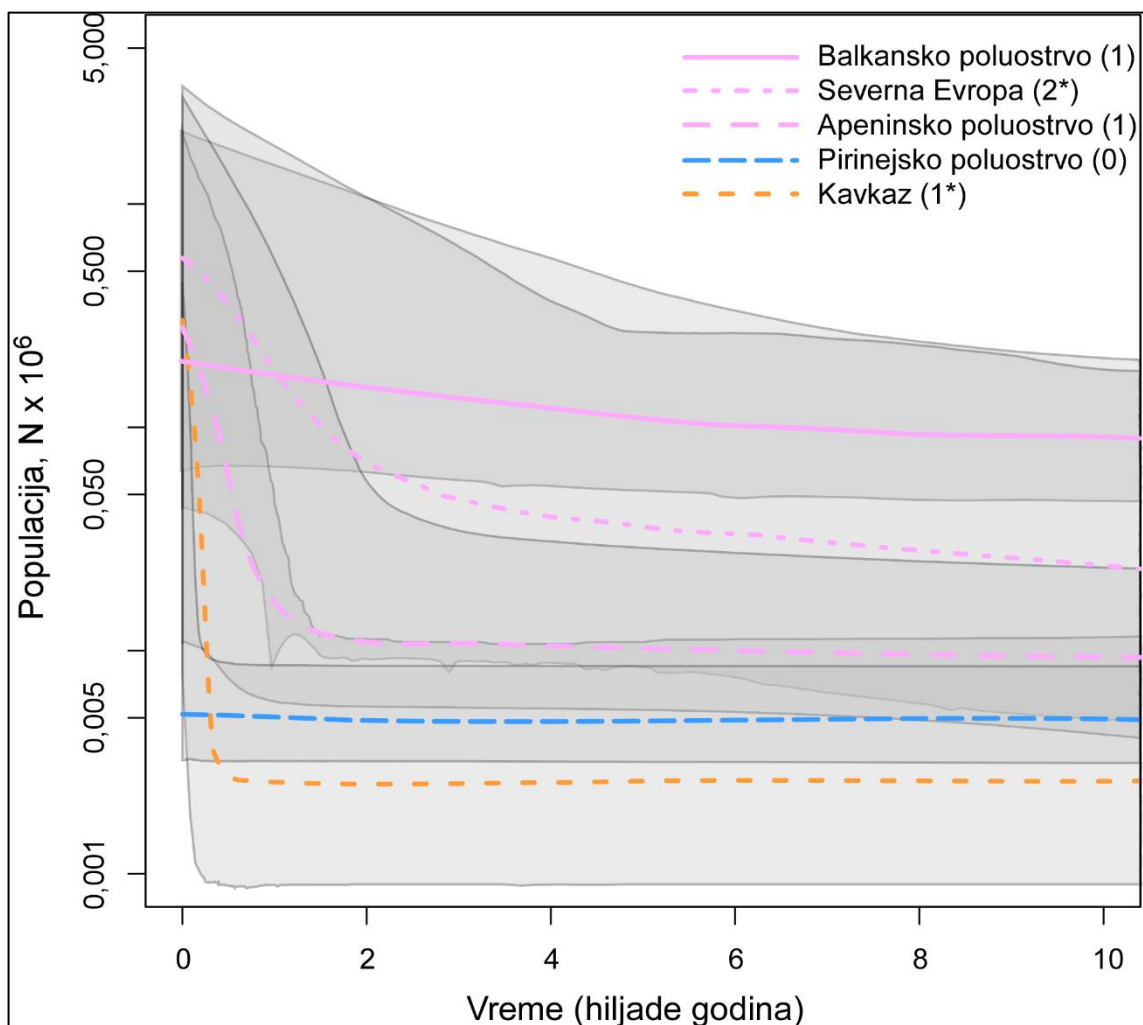
Slika 14. Rezultati dobijeni MIGRATE analizom. Površina krugova je proporcionalna procenjenim parametrima veličine populacije ( $u$ ), a debljina strelica je proporcionalna procenjenim parametrima migracije ( $M$ ). Isprekidane linije predstavljaju  $M$  vrednosti koje su suviše male da bi se grafički predstavile. Osenčenja predstavljaju modalitet (bela), niži 2,5% interval poverenja (crna) i viši interval poverenja (siva). Površina krugova je proporcionalna intervalu poverenja (siva). Brojevi do krugova i strelica predstavljaju procene parametara – modalitet i 95% interval poverenja je dat u zagradama.

Procena veličine populacije kroz vreme (Extended Bayesian Skyline plots) za različite teritorije pokazala je malu umerenu rezoluciju. Stabilna mala veličina populacije je otkrivena kod običnih popića sa Pirinejskog poluostrva za vreme poslednjih 10 000 godina, bez naznaka o promeni veličine populacije kroz vreme (Slika 15). Skorašnji

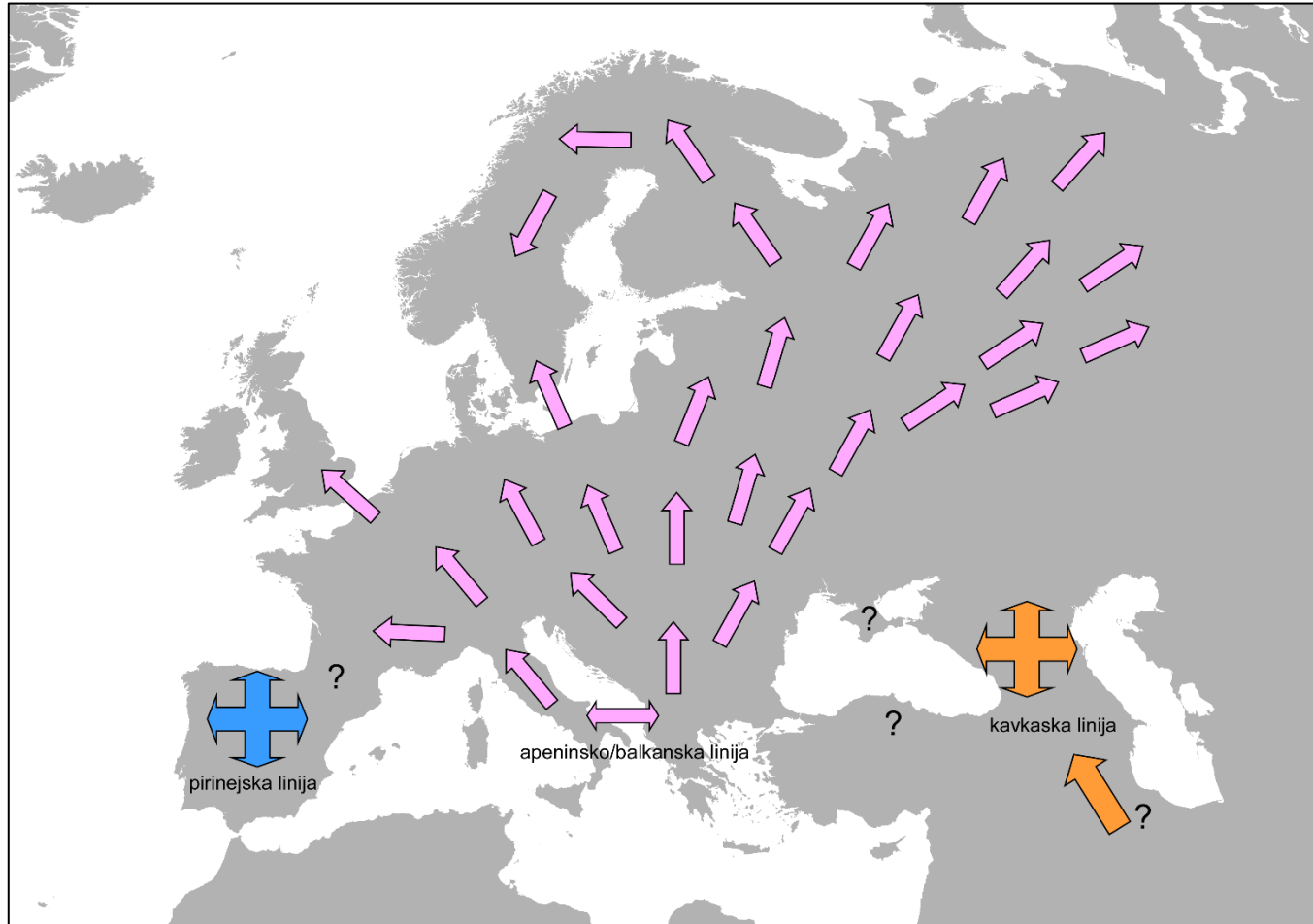


veoma brzi rast (u poslednjih 1 000 godina) brojnosti populacije je zabeležen na prostoru Kavkaza. U odnosu na ostala geografska područja, brojnost populacije sa Kavkaza je bila najniža. Srednji broj promena populacije u okviru regiona Kavkaza je 1 i hipoteza o stabilnoj populaciji kroz vreme je odbijena. Srodnije populacije običnih popića koje su povezane protokom gena sa teritorije Apeninskog poluostrva i severnog dela Evrope, a naročito sa Balkanskog poluostrva imale su mnogo veću brojnost populacija u prošlosti. Populacije sa Balkanskog poluostrva su imale najveću brojnost koja je bila stabilna, i u poslednjih 10 000 godina brojnost populacija je polako, ravnomerno rasla. Populacija sa severa Evrope imala je srednju brojnost populacije i rasla je generalno gledano brže nego populacija sa Balkana, i naglo je ubrzala rast u prethodnih 3 000 godina. Populacija sa Apeninskog poluostrva je imala manju brojnost populacije u odnosu na populacije u severnoj Evropi i stabilnu veličinu populacije do pre oko 1 500 godina kada je populacija naglo počela da raste (Slika 15). Mada je srednji broj promena populacije sa područja Apeninskog i Balkanskog poluostrva jedan, hipoteza o stabilnoj populaciji ne može biti odbijena zato što je nula uključena u 95% centralni posteriorni interval gustine (CPD). Za razliku od Balkanskog i Apeninskog poluostrva, srednji broj promena populacije sa područja severne Evrope je dva i hipoteza o stabilnoj populaciji je odbijena.

Sa obzirom da su sve tri filogenetske linije evoluirale u različitim refugijumima, na slici 16 su predstavljeni pravci rekolonizacije Evroazije iz glacijalnih refugijuma sa područja Apeninskog i Balkanskog poluostrva.



Slika 15. Grafik procene veličine populacija kroz vreme (Extended Bayesian skyline) za efektivne veličine populacija (pretpostavljajući da je vreme generacije jedna godina) u uzorkovanim refugijumima i severnoj Evropi. Obeležene linije predstavljaju srednje vrednosti, a sivo obeležene površine njihov 95% centralni posteriorni interval (CPD). Brojevi u zagradama posle imena širih lokaliteta u legendi predstavljaju srednji broj promena populacije i zvezdica ukazuje na populacije gde nema promena izvan 95% višeg posteriornog intervala gustine (HPD), na primer populacije u kojima je hipoteza o stabilnoj brojnosti kroz vreme odbačena.



Slika 16. Pravci rekolonizacije Evroazije iz glacijalnih refugijuma kod populacija običnog popića. Imena filogenetskih linija su data pored pravaca naseljavanja.

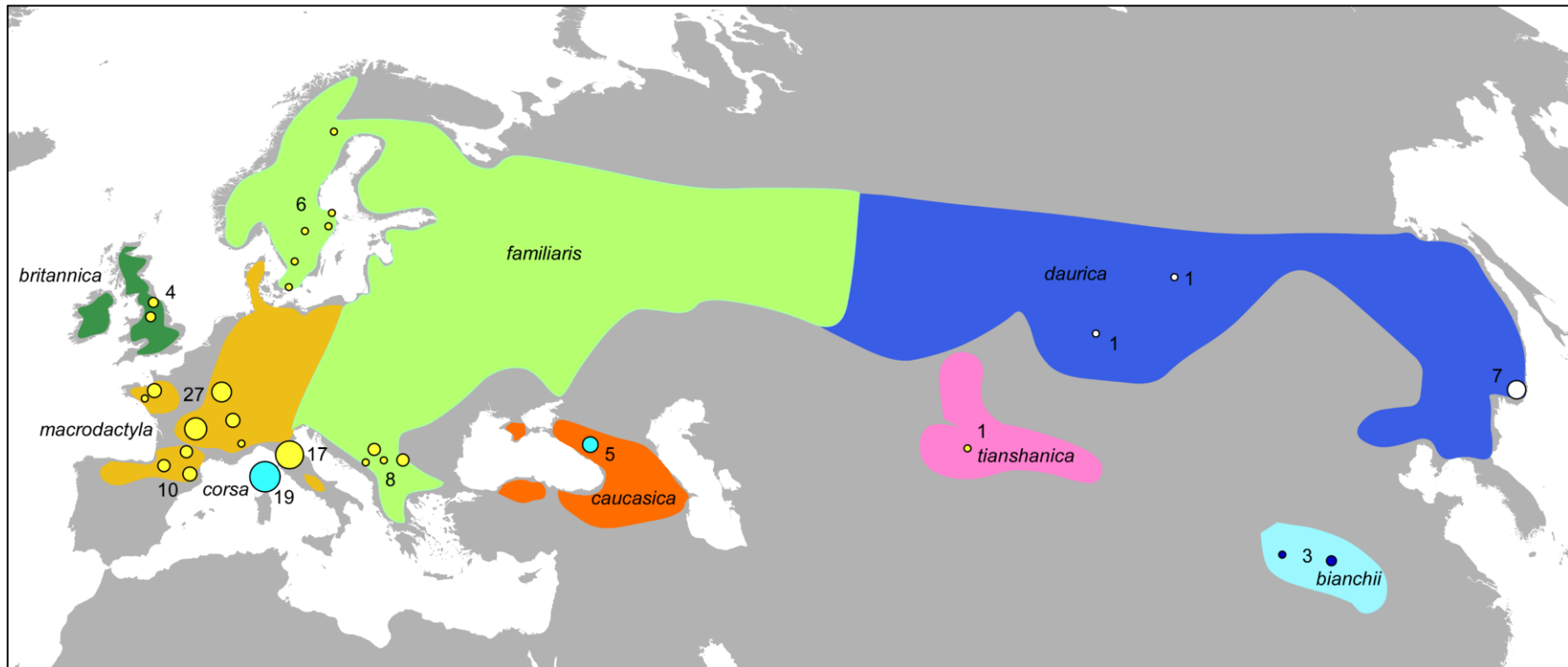
### 4.3. Filogeografija vrste *Certhia familiaris*

#### 4.3.1. Filogenetski odnosi

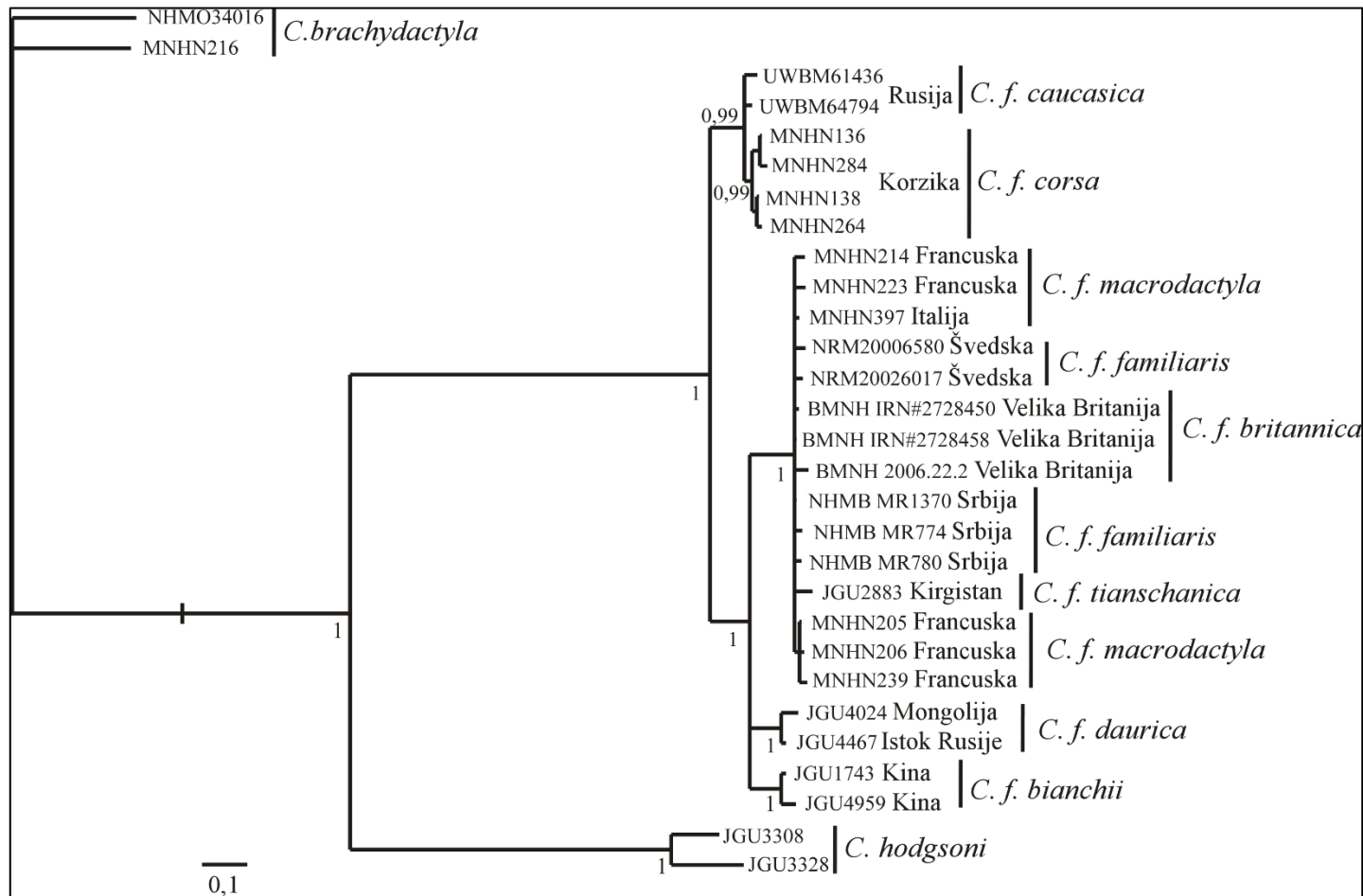
##### 4.3.1.1. Mitohondrijalna filogenija

Rezultati testa selekcije kod mitohondrijalnih gena (*COI*, *ATP6* i *ND2*) koji su testirani MK testom (McDonald-Kreitman test) nisu pokazali statističku značajnost pri upoređivanju vrsta *C. familiaris* i *C. hodgsoni* (Fischer's exact test,  $P > 0,27$ ). Takođe, upoređivanjem između filogenetskih linija unutar *C. familiaris* nije dobijena statistička značajnost na selekciju mitohondrijalnih gena (Fischer's exact test,  $P > 0,5$ ).

Geografski raspored filogenetskih linija kratkokljunog puzića je predstavljen na slici 17. Filogenetsko stablo dobijeno analizom mitohondrijalnih gena (Slika 18) ukazuje na monofiletičnost vrste *C. familiaris* u odnosu na *C. hodgsoni*. Unutar vrste *C. familiaris* postoje dve filogenetske linije. Jednoj filogenetskoj liniji pripadaju jedinke podvrsta *C. f. caucasica* i *C. f. corsa* koje predstavljaju dve parapatričke populacije sa malim arealima. Druga filogenetska linija je sastavljena iz jedinki koje pripadaju svim preostalim podvrstama (ukupno šest podvrsta). U okviru ove filogenetske linije, postoje tri podgrupe. Prva podgrupa je široko rasprostranjena na području zapadnog Palearktika, od Velike Britanije na zapadu, do Kirgistana na istoku, i sastoji se od jedinki koje pripadaju podvrstama *C. f. macrodactyla*, *C. f. familiaris*, *C. f. britannica* i *C. f. tianschanica*. Dve preostale podgrupe su rasprostranjene u istočnom Palearktiku i odgovaraju podvrstama *C. f. daurica* i *C. f. bianchii*. Red granjanja filogenetskog stabla između ove tri podgrupe nije ustanovljen, te se trihotomo grananje ne može isključiti.



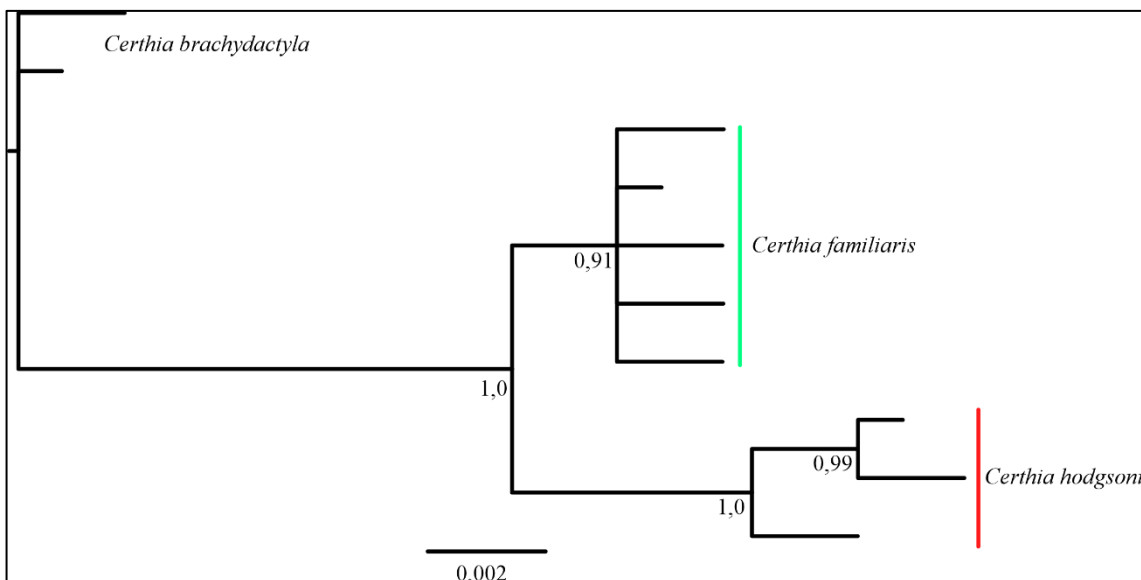
Slika 17. Geografsko rasprostranjenje filogenetskih linija kratkokljunog puzića. Različite filogenetske linije su obojene različitim bojama. Površina krugova je srazmerna broju uzoraka sa datog lokaliteta



Slika 18. Filogenetsko stablo dobijeno Bajesovim analizama tri spojena mitohondrijalna markera (2409 baznih parova, *COI*, *ND2* i *ATP6*). Samo jedinstveni haplotipovi od 32 jedinke su uključeni u analizu. Vrednosti koje se nalaze pored račvanja filogenetskih linija predstavljaju Bajesovu posteriornu podržanost. *Certhia brachydactyla* je korišćena kao spoljna grupa (engl. outgroup).

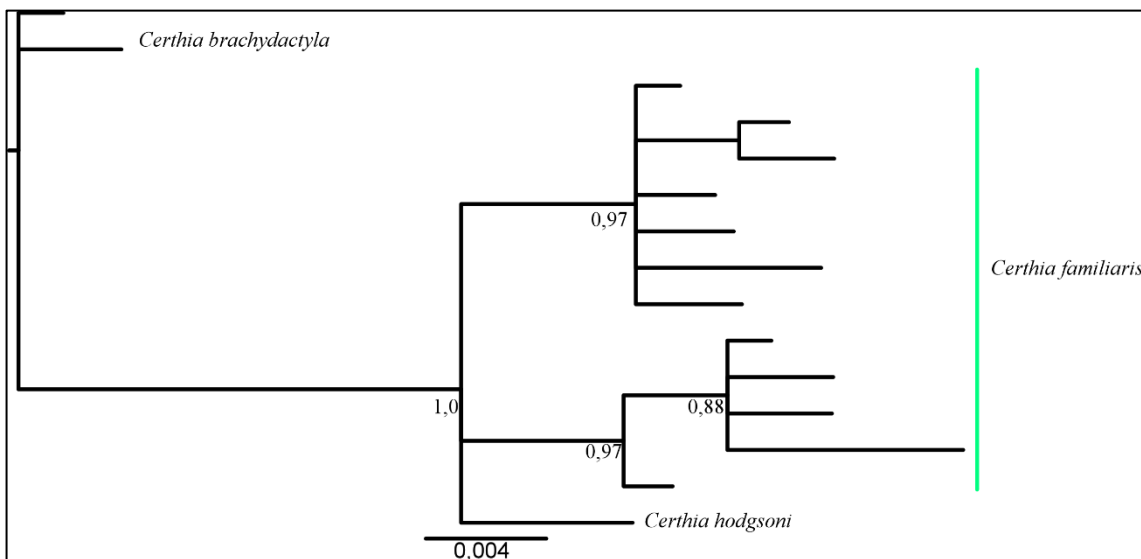
#### 4.3.1.2. Filogenetski odnosi rekonstruisani na osnovu analize nuklearnih gena

Monofiletičnost *C. familiaris* u odnosu na *C. hodgsoni* je značajno podržana na filogenetskom stablu dobijenom analizom Z-vezanog gena *ACO119* (Slika 19). Filogenetski odnosi između podvrsta *C. familiaris* su ostali nerazjašnjeni. Analiza autozomalnog gena *TGFB2* potvrdila je sestrinske odnose između *C. familiaris* i *C. hodgsoni* u odnosu na spoljnu grupu (engl. outgroup) *C. brachydactyla*, dok je analiza gena *LDH* nije pokazala nikakvu filogeografsku strukturu između ovih taksona (Slike 20 i 21). Deljenje istih alela nuklearnih gena u okviru podvrsta *C. familiaris* je prisutno na filogenetskim stablima, i uzrok tome može biti skorašnje razdvajanje populacija, kao i sporije sortiranje filogenetskih linija zbog manje stope mutacije nuklearnih gena i veće efektivne veličine populacije u odnosu na mitohondrijalne gene.

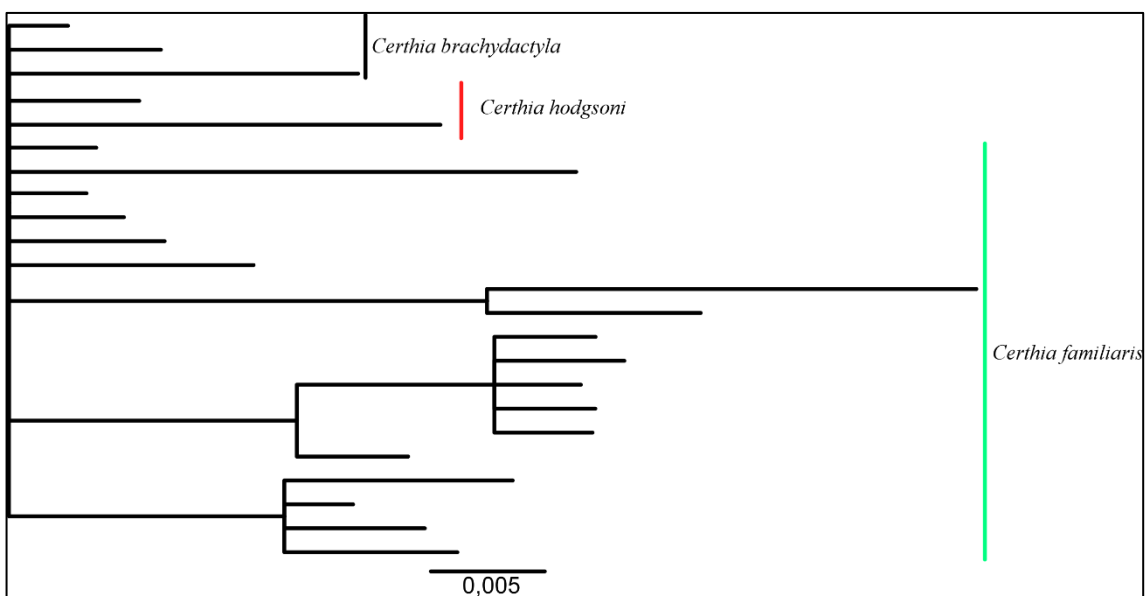


Slika 19. Bajesovo filogenetsko stablo dobijeno analizom nuklearnog *ACO119* gena.

Brojevi na filogenetskim granama predstavljaju Bajesovu posteriornu podržanost (PR).



Slika 20. Bajesovo filogenetsko stablo dobijeno analizom nuklearnog *TGFβ2* gena. Brojevi na filogenetskim granama predstavljaju Bajesovu posteriornu podržanost (PR).

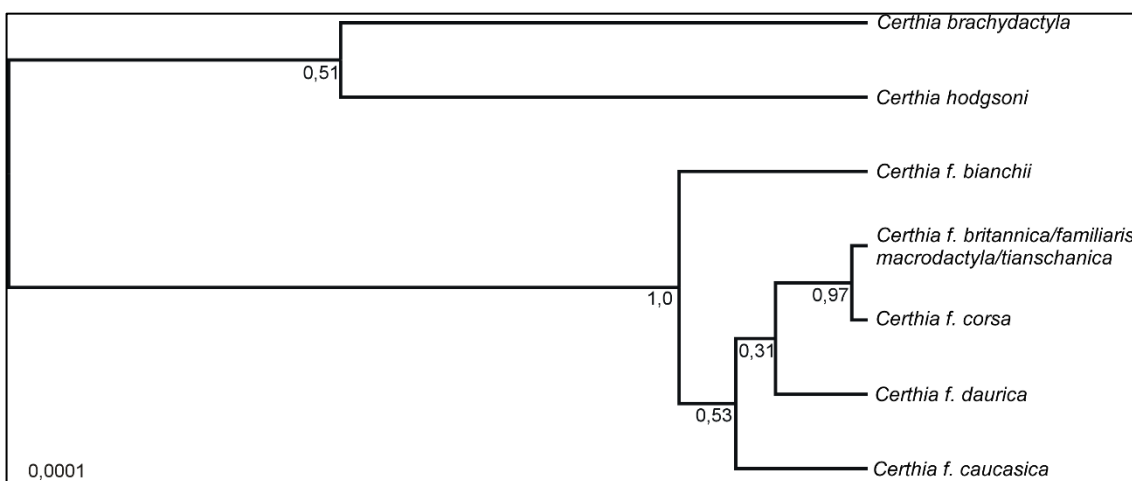


Slika 21. Bajesovo filogenetsko stablo dobijeno analizom nuklearnog *LDH* gena.



#### 4.3.1.3. Filogenetska specijska stabla dobijena analizom nuklearnih gena

Koristeći specijski pristup u analizi nuklearnih gena dobijeno je da je *C. familiaris* monofiletična u odnosu na *C. hodgsoni* sa statistički značajnom Bajesovom posteriornom verovatnoćom (Slika 22, PK = 0,99). Većina ostalih odnosa između filogenetskih linija na stablu nisu bili statistički značajni. Kineska podvrsta (*C. f. bianchii*) prva se odvojila na filogenetskom stablu. Nakon toga se odvojila kavkaska populacija (*C. f. caucasica*) koja na ovom stablu nije sestrinska vrsta korzikanske podvrsti (*C. f. corsa*). Korzikanska podvrsta zajedno sa ostalim taksonima sa područja zapadnog Palearktika formira monofiletičku filogenetsku liniju koja ima značajnu statističku podršku (PK = 0,97).



Slika 22. Specijsko filogenetsko stablo dobijeno analizom dva autozomalna nuklearna introna (*LDH*, *TGFB2*) i jednog Z-vezanog introna (*ACO119*) koristeći pristup spajanja (engl. coalescent approach) u programu \*BEAST. Analizirano je 25 jedinki. Brojevi na filogenetskim granama predstavljaju Bajesovu posteriornu podržanost (PR).

#### 4.3.2. Vremena razdvajanja mitohondrijalnih filogenetskih linija

Procene vremena razdvajanja mitohondrijalnih filogenetskih linija varirale su u odnosu na mitohondrijalni gen koji je korišćen u analizi. Analizom *ND2* gena dobijena su skorija vremena razdvajanja u odnosu na analizu *COI* gena, dok su analizom *ATP6* gena dobijena srednja vremena razdvajanja u odnosu na prva dva gena. Kombinovane procene vremena razdvajanja koristeći neutralne četvorostruke stope i stope supstitucije ptica pevačica (Lerner *et al.*, 2011) su bile saglasne. Neutralni četvorostruki 95% Bajesov interval poverenja (HPD) bio je širi u odnosu na interval dobijen korišćenjem stopa supstitucija (Tabela 9). *C. hodgsoni* se odvojila od *C. familiaris* za vreme ranog Pleistocena, pre oko 2 200 000 godina (Tabela 9), dok je *C. familiaris* počela da se razdvaja na filogenetske linije pre oko 350 000 godina za vreme srednjeg Pleistocena. U okviru *C. familiaris* prvo se odvojila filogenetska linija koja se sastoji od dve podvrste *corsa-caucasica*. Razdvajanje između zapadnih podvrsta (*familiaris*, *macroductyla*, *britannica*, *tianschanica*) u odnosu na istočne podvrste (*aurica*, *bianchii*) desilo se pre oko 260 000 godina. Filogenetska linija sa Korzike se razdvojila od kavkaske filogenetske linije pre oko 86 000 godina. Ostale zapadne podvrste su počele da se razdvajaju za vreme gornjeg Pleistocena, pre oko 99 000 godina.

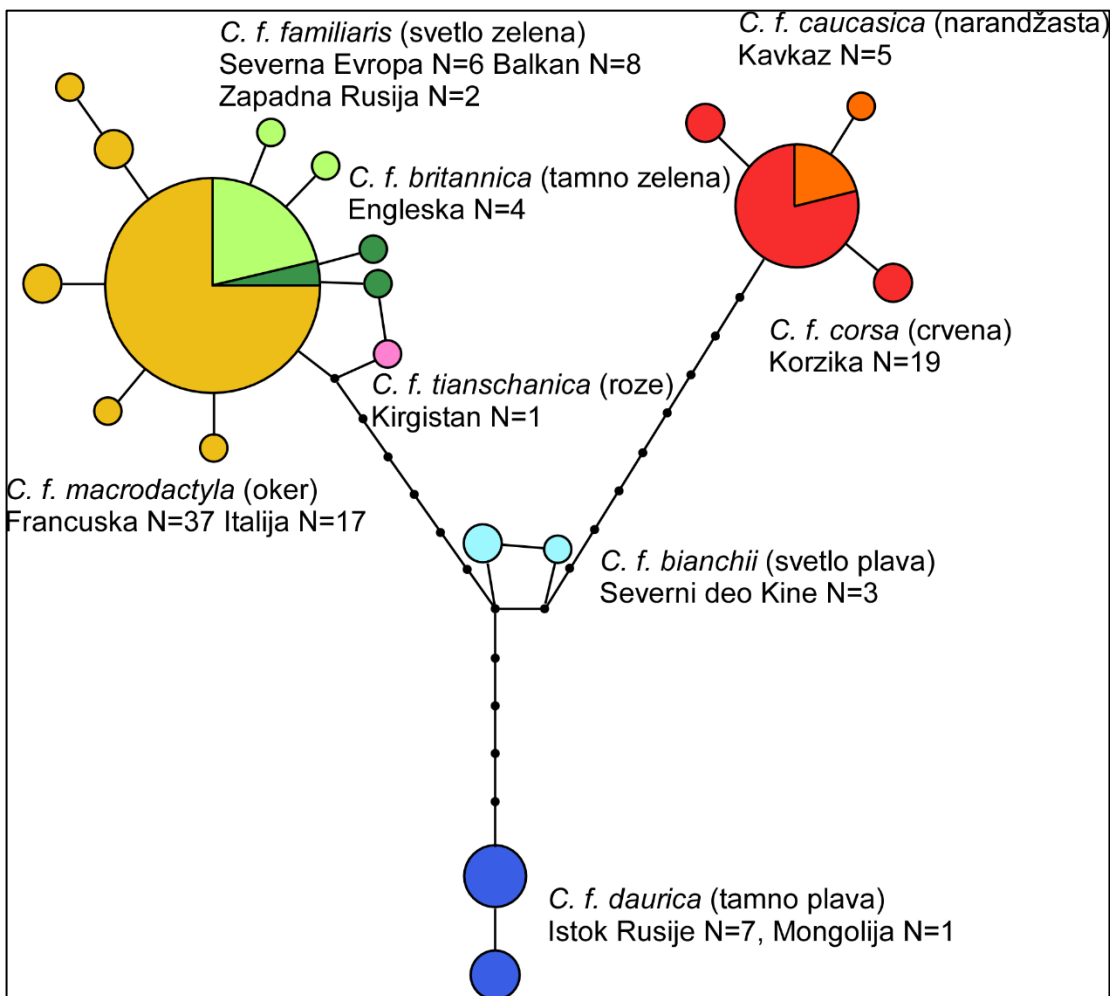
Tabela 9. Procene vremena razdvajanja u milionima godina (95% Highest Posterior Density) dobijene koristeći neutralnu četvorostruku stopu (engl. four-fold-degenerated site rate) i stope supstitucije DNK procenjene za svaki mitohondrijalni marker od strane autora Lerner et al. (Lerner *et al.*, 2011).

	<i>C. familiaris/ C. hodgsoni</i>	<i>corsa, caucasica/druge familiaris</i> podvrste	<i>corsa/caucasica</i>	<i>bianchii, daurica/ zapadne podvrste</i>	<i>C. f. familiaris, macroductyla, britannica</i>
Four-fold degenerated	2,24 (1,03 – 3,88)	0,351 (0,147 – 0,622)	0,0857 (0,0219 – 0,173)	0,257 (0,110 – 0,460)	0,0985 (0,0383 – 0,183)
Kombinovane stope	2,40 (1,91 – 2,95)	0,420 (0,313 – 0,536)	0,0938 (0,0523 – 0,145)	0,278 (0,205 – 0,359)	0,0936 (0,058 – 0,131)
<i>ATP6</i>	2,30 (1,59 – 3,04)	0,399 (0,265 – 0,541)	0,0886 (0,0452 – 0,141)	0,265 (0,176 – 0,366)	0,089 (0,05 – 0,130)
<i>COI</i>	2,93 (1,95 – 3,93)	0,511 (0,334 – 0,708)	0,113 (0,0556 – 0,178)	0,34 (0,219 – 0,478)	0,115 (0,066 – 0,172)
<i>ND2</i>	1,83 (1,32 – 2,36)	0,316 (0,220 – 0,426)	0,0698 (0,0357 – 0,108)	0,211 (0,144 – 0,287)	0,0706 (0,0413 – 0,103)

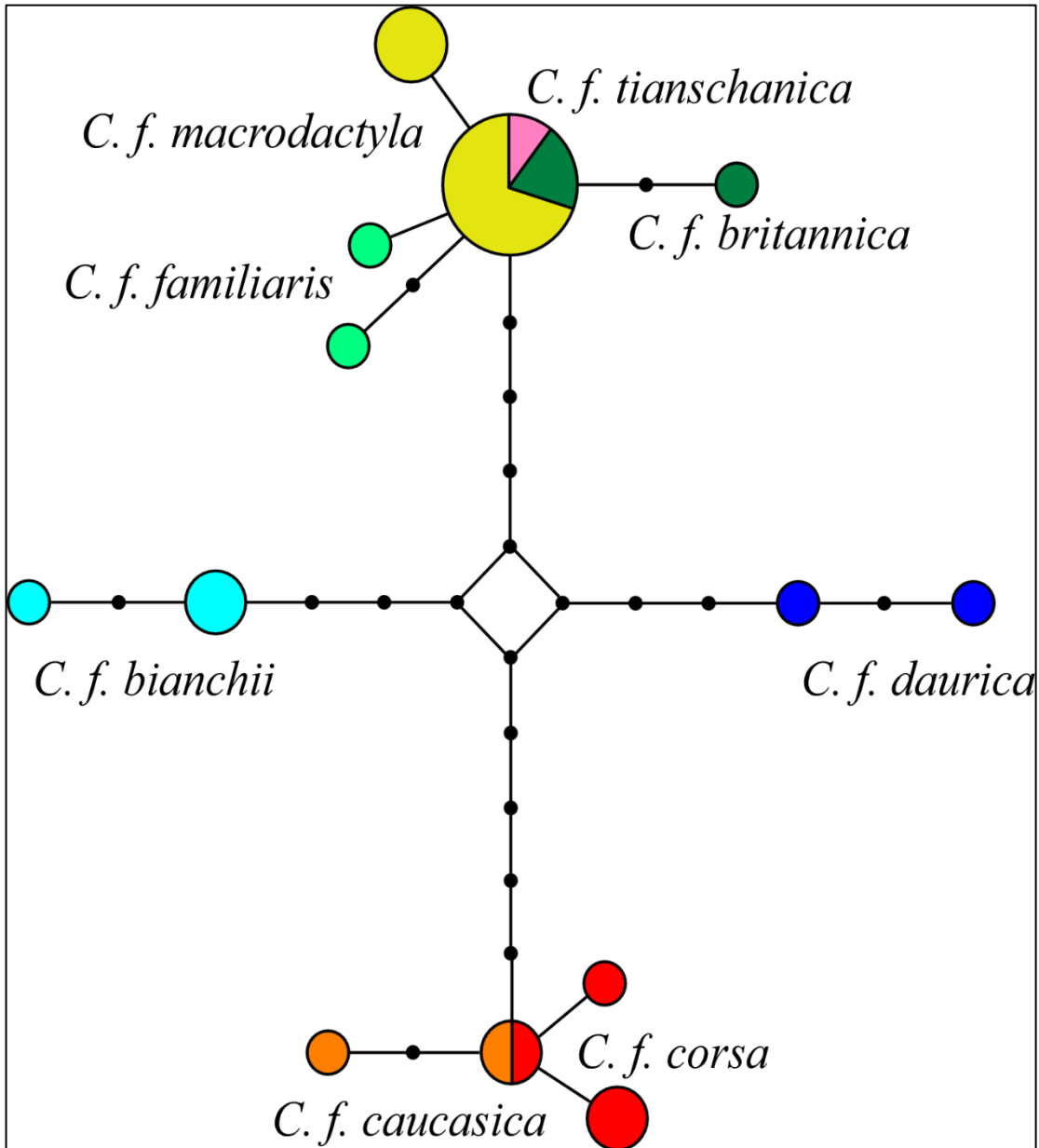
### 4.3.3. Filogeografski obrasci

#### 4.3.3.1. Mreže haplotipova

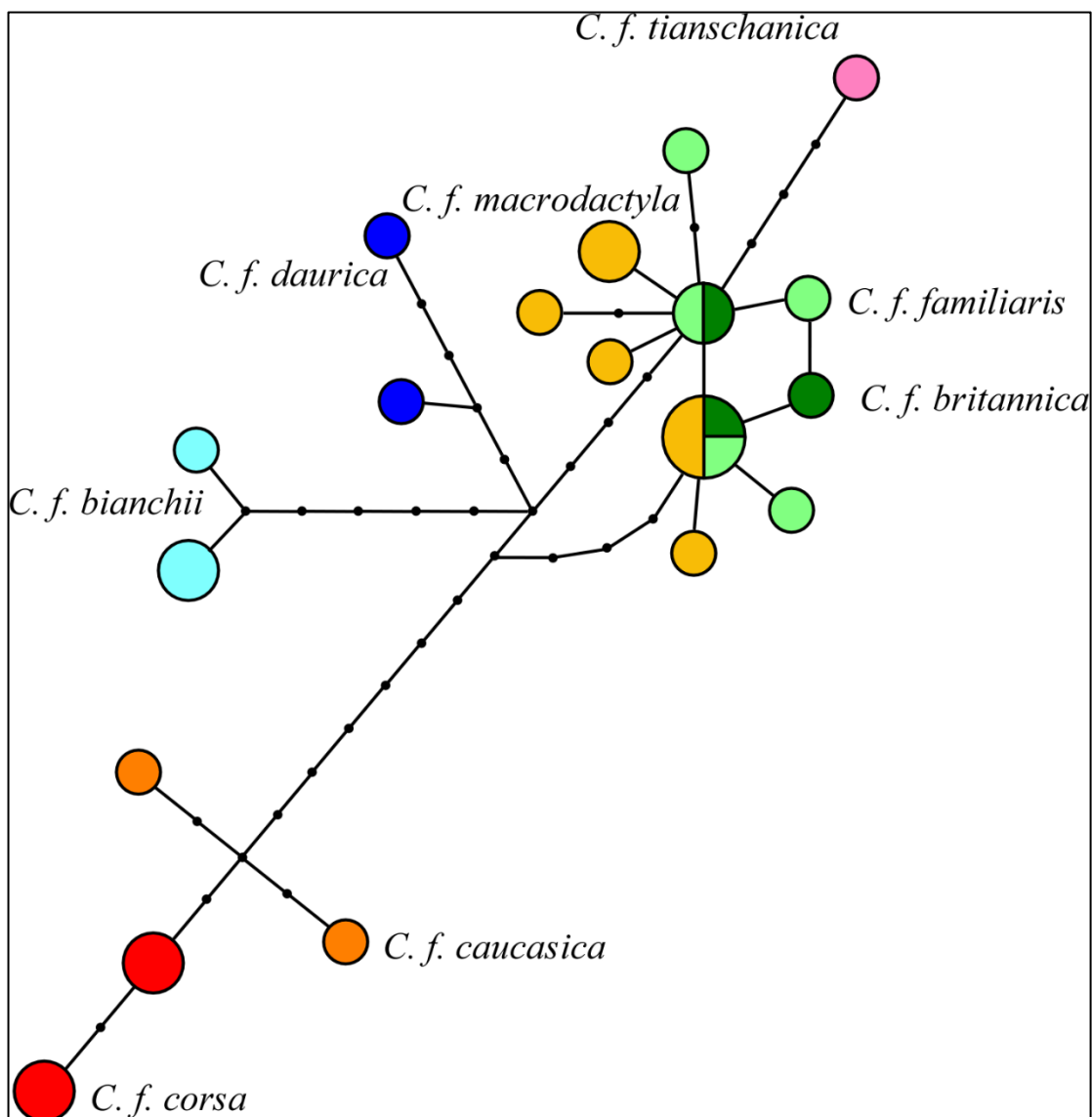
Mreže haplotipova koje su dobijene analizama *COI* sekvenci ( $N = 111$  *C. familiaris*), *ATP6* i *ND2* sekvencama su prikazane na slikama 23, 24 i 25. Haplotipovi *COI* gena (19) su grupisani u tri grupe koji predstavljaju tri glavne filogenetske linije dobijene u filogenetskim analizama (Slika 23). *Corsa-caucasica* grupa je odvojena od istočno palearktičke grupe za devet, a od zapadno palearktičke grupe za 14 mutacija. Zapadno palearktička grupa je predstavljena u obliku zvezde sa najbrojnijim centralnim haplotipom koji je geografski široko rasprostranjen i izvedenim haplotipovima koju su malo diferencirani od centralnog haplotipa. Ovakav obrazac je uobičajen za slučaj skorije ekspanzije date populacije. U zapadno palearktičkoj grupi tri podvrste (*macroductyla*, *familiaris*, *britannica*) su delile isti predački haplotip i slabo su diferencirane. Jedinstveni haplotip podvrste *C. f. tianschanica* iz Kirgistana koje je uključen u mrežu haplotipova razlikuje se od najbrojnijeg zapadno palearktičkog haplotipa za samo jednu mutaciju. Sve jedinke sa područja Balkana ( $N = 8$ ) su delile isti, najbrojniji haplotip. Ovakav rezultat ne podržava scenario glacijalnog refugijuma na prostoru Balkanskog poluostrva. Na isti način, jedinke sa područja Apeninskog poluostrva ( $N = 17$ ) delile su isti, široko rasprostranjeni haplotip koje se mogao naći bilo gde u zapadnoj Evropi. Podvrsta *C. f. britannica* ima mnogo veću genetičku raznovrsnost u odnosu na ostale podvrste ( $H = 0,83$ ;  $\pi = 0,001$ , Tabela 10), i dva od četiri haplotipa sa područja Velike Britanije nisu nađena u kontinentalnom delu Evrope. Ovi rezultati mogu da ukažu da je podvrsta *C. f. britannica* počela da se genetički razdvaja od jedinki iz kontinentalnog dela Evrope. Međutim, za potvrdu ove hipoteze potrebno je dosta veći broj uzoraka. Kao što je i očekivano, analiza filogeografske structure *ATP6* i *ND2* gena (Slike 24 i 25) na manjem broju uzoraka je slična rezultatima dobijenim analizom svih jedinki na *COI* genu.



Slika 23. Mreža haplotipova koja ukazuje na odnose između *COI* haplotipova u okviru podvrsta *Certhia familiaris*. Površina kruga je proporcionalna broju pojedinačnih sekvenci koje su istovetne. Crne tačke predstavljaju jedan mutacioni korak između sekvenci i mogu predstavljati haplotipove koji nisu uzorkovani, ili su izumrli.



Slika 24. Mreža haplotipova (13 haplotipova, 27 jedinki) koja predstavlja odnose između podvrsta/populacija kratkokljunog puzića koristeći sekvence *ATP6* gena. Površina kruga je proporcionalna broju pojedinačnih sekvenci koje su istovetne. Crne tačke predstavljaju jedan mutacioni korak između sekvenci i mogu predstavljati haplotipove koji nisu uzorkovani, ili su izumrli.



Slika 25. Mreža haplotipova (19 haplotipova, 27 jedinki) koja predstavlja odnose između podvrsta/populacija koristeći sekvence *ND2* gena. Površina kruga je proporcionalna broju pojedinačnih sekvenci koje su istovetne. Crne tačke predstavljaju jedan mutacioni korak između sekvenci i mogu predstavljati haplotipove koji nisu uzorkovani, ili su izumrli iz datih populacija.

#### 4.3.3.2. Genetička varijabilnost *COI* gena

Parametri genetičke varijabilnosti mitohondrijalnog *COI* gena ( $H$ ,  $\pi$ ) su generalno vrlo niski i sličnih vrednosti između većine podvrsta bez obzira na njihovo rasprostranjenje (Tabela 10). Dva taksona, *C. f. britannica* i *C. f. bianchii* imali su nešto više vrednosti parametara genetičke raznovrsnosti. Dokaz o ekspanziji populacije nađen je za podvrste *C. f. familiaris* i *C. f. macrodactyla* za koje su dobijene statistički značajne negativne vrednosti testova Fu's  $F_s$  i Tajima's  $D$  (Tabela 10). Za populacije podvrsta *C. f. caucasica* i *C. f. corsa* nije pronađen ni jedan dokaz o ekspanziji populacije. Takođe, analiziran je i test ekspanzije populacija na nivou *caucasica/corsa* i *macrodactyla/familiaris* filogenetskih linija koje predstavljaju statistički podržane evolutivne linije. Rezultati ukazuju na obrazac ekspanzije populacije u slučaju filogenetske linije *macrodactyla/familiaris* (Tajima's  $D = -2$ ;  $P = 0,002$  and Fu's  $D = -8,79$ ;  $P < 0,0001$ ). Kod evolutivne linije *caucasica/corsa* nije utvrđena ekspanzija populacije (Tajima's  $D = -1,26$ ;  $P = 0,007$  and Fu's  $D = -1,89$ ;  $P = 0,003$ ).

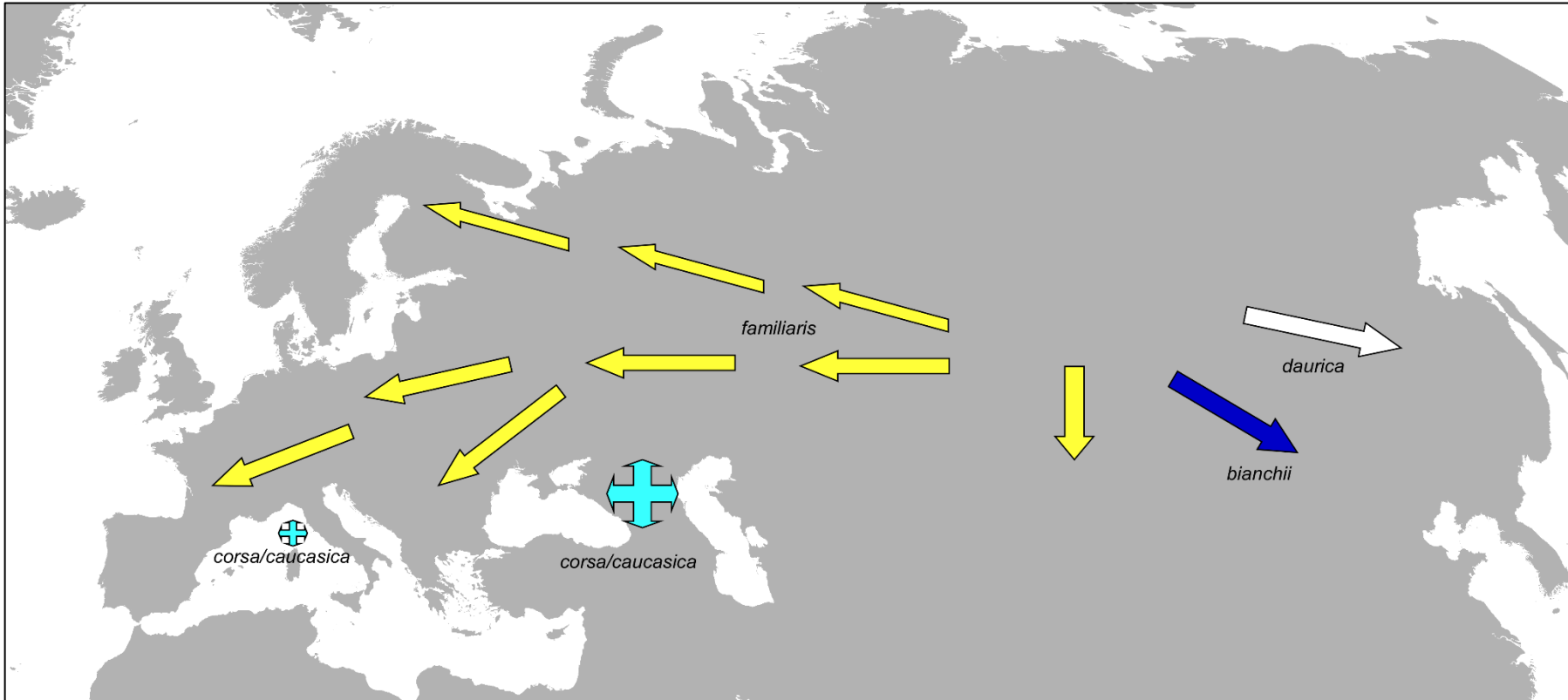
Na slici 26. su predstavljeni pravci rekolonizacije Evroazije iz glacijalnog refugijuma koji se nalazi u centralnom delu Azije.



Tabela 10. Broj haplotipova, diverzitet haplotipova (H), diverzitet nukleotida ( $\pi$ ), Tajima's D i Fu's statistika selektivne neutralnosti izračunati na osnovu sekvenci mitohondrijalnog *COI* gena (659 baznih parova) za svaku podvrstu kratkokljunog pužića.

	<i>corsa</i>	<i>caucasica</i>	<i>britannica</i>	<i>familiaris</i>	<i>macroductyla</i>	<i>daurica</i>	<i>bianchii</i>
Broj jedinki	19	5	4	15	54	8	3
Broj haplotipova	3	2	3	3	6	2	2
Broj polimorfnih mesta	2	1	2	2	5	1	1
H	0,37 ± 0,13	0,4 ± 0,23	0,83 ± 0,22	0,26 ± 0,14	0,24 ± 0,007	0,54 ± 0,12	0,67 ± 0,31
$\pi$	0,0006 ± 0,0007	0,0006 ± 0,0007	0,001 ± 0,001	0,0004 ± 0,0005	0,0004 ± 0,0005	0,0008 ± 0,0008	0,001 ± 0,001
Tajima D's	-0,73 (NS)	-0,81 (NS)	(1)	-1,149*	-1,75*	-0,02 (NS)	(1)
Fu's Fs	-0,67 (NS)	0,09 (NS)	(1)	-1,155*	-5,21**	0,87 (NS)	(1)

(1) – Testovi nisu rađeni kada je veličina uzorka bila manja od pet jedinki, NS – nije značajna razlika, \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,001$



Slika 26. Pravci rekolonizacije Evroazije iz glacijalnih refugijuma kod populacija kratkokljunog puzića. Imena filogenetskih linija su data pored pravaca naseljavanja

#### 4.3.3.2. Genetička divergencija *COI* gena

Model supstitucije koji je najviše odgovarao *COI* setu sekvenci je HKY85. Upareno (engl. pairwise) upoređivanje populacija ( $\Phi_{st}$ ) je analizirano radi utvrđivanja genetičke divergencije između taksona (Tabela 11). *C. f. corsa* je značajno različita od svih ostalih taksona ( $0,96 < \Phi_{st} < 0,98$ ) osim od *C. f. caucasica* ( $\Phi_{st} = 0,03$ ;  $P > 0,10$ ). Kao što je i očekivano, nije bilo značajne razlike između podvrsta *C. f. macrodactyla* i *C. f. familiaris* ( $\Phi_{st} = 0,008$ ;  $P > 0,10$ ). Ovaj rezultat ističe nedostatak genetičke razlike između ove dve podvrste. Uparena  $\Phi_{st}$  vrednost između podvrsta *C. f. britannica* i *C. f. familiaris* nije bila značajna, dok je genetička divergencija između *C. f. britannica* i *C. f. macrodactyla* bila marginalno značajna ( $\Phi_{st} = 0,21$ ;  $P = 0,04$ ). Da bi se utvrdio geografski trend u genetičkoj varijaciji unutar podvrste *C. f. macrodactyla* upoređene su Francuska ( $N = 37$ ) i Italijanska ( $N = 17$ ) populacija. Južno rasprostranjena Italijanska populacija nije bila genetički varijabilna, dok je mali stepen genetičke varijacije utvrđen u Francuskoj populaciji ( $H = 0,34$ ,  $\pi = 0,0003$ ).  $\Phi_{st}$  vrednost dobijena upoređivanjem ovih dveju populacija nije bila statistički značajna ( $P = 0,54$ ). Na isti način, testirane populacije za podvrstu *C. f. familiaris* sa područja Skandinavije i Balkana nisu geografski strukturirane. Vrednosti genetičke varijabilnosti su slične (Skandinavija:  $N = 6$ ,  $H = 0,33$ ,  $\pi = 0,0005$ ; Balkan  $N = 8$ ,  $H = 0,25$ ,  $\pi = 0,0004$ ) i nema geografskog strukturiranja genetičke varijabilnosti ( $\Phi_{st} = 0,06$ ;  $P = 0,70$ ).

U okviru taksona, Tamura – Nei genetičke distance nisu prelazile 0,1%. Između taksona, Tamura – Nei genetičke distance su bile u opsegu od 0,1% do 2,4% (Tabela 11). Genetička distanca između podvrste *C. f. corsa* i ostalih evropskih podvrsta (*macrodactyla*, *familiaris* i *britannica*) je 2,4%, dok je u odnosu na *C. f. caucasica* samo 0,1%.

Tabela 11. Genetičke distance (Tamura – Nei srednja distanca  $\pm$  standardna greška, ispod dijagonale) i uparena (engl. pairwise) poređenja između populacija ( $\Phi_{st}$ , iznad dijagonale) podvrsta *Certhia familiaris*.

	<i>corsa</i>	<i>caucasica</i>	<i>macroactyla</i>	<i>familiaris</i>	<i>britannica</i>	<i>bianchii</i>	<i>aurica</i>
<i>corsa</i>		0,029 (NS)	0,98***	0,98***	0,97***	0,96***	0,97***
<i>caucasica</i>	0,1 $\pm$ 0		0,98***	0,98***	0,95***	0,95***	0,96***
<i>macroactyla</i>	2,4 $\pm$ 0,6	2,4 $\pm$ 0,6		0,008 (NS)	0,21*	0,95***	0,97***
<i>familiaris</i>	2,4 $\pm$ 0,6	2,4 $\pm$ 0,6	0		0,15 (NS)	0,96***	0,93***
<i>britannica</i>	2,4 $\pm$ 0,6	2,4 $\pm$ 0,6	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1		0,89**	0,90***
<i>bianchii</i>	1,5 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 0,5	1,1 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 0,4		0,96***
<i>aurica</i>	2,1 $\pm$ 0,5	2,1 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,4	1,4 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,4	0,9 $\pm$ 0,3	

NS – nije značajna razlika –  $P > 0,05$ , \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$

#### 4.3.4. Razgraničenje vrsta

Urađene analize prema modelu (Generalized Mixed Yule-coalescent) i slučajno izabranom setu sastavljenom od 100 filogenetskih stabala po posteriornoj distribuciji mitohondrijalnih haplotipova koristeći bGMYC ukazuju na postojanje dve vrste u okviru kompleksa: *Certhia hodgsoni* i *Certhia familiaris*. Značajno je napomenuti da dve primarne mitohondrijalne filogenetske linije unutar vrste *C. familiaris* nisu statistički značajno diferencirane ( $P = 0,18$ ).

## 5. DISKUSIJA

### 5.1. Obični zviždak (*Phylloscopus collybita*)

#### 5.1.1. Obrasci genetičke varijacije i biogeografije kompleksa običnog zviždka

Studija iz 1996 godine o filogeografiji običnog zviždka (Helbig *et al.*, 1996) koja je bila dosadašnja osnova za taksonomiju zviždaka je zasnovana na analizi malog broja uzoraka. Od tada, zviždci su uzorkovani sporadično i u nekim geografskim oblastima, fokusirajući se na hibridne zone između pirinejskog zviždka (*P. ibericus*) i nominalne podvrste običnog zviždka (*P. c. collybita*) (Helbig *et al.*, 2001), između *P. c. abietinus* i *P. c. tristis* u Rusiji (Marova *et al.*, 2009, 2013; Shipilina *et al.*, 2017), i između *P. c. abietinus* i *P. c. collybita* u Švedskoj (Hansson, Bensch and Brännström, 2000). Veoma malo sekvenci je deponovano u javne baze podataka. U ovoj doktorskoj disertaciji je uzorkovan veliki broj jedinki uključujući jedinke iz celog areala i sa područja moguće zone hibridizacije između podvrsta kao što su Balkan, Kavkaz i Zakavkazje. Takođe po prvi put je opisana hibridna populacija sa područja Izraela gde se do sada nije znalo da se ova vrsta gnezdi.

Za istraživanje ove vrste koristili smo kombinaciju mitohondrijalnog (*ND2*) i nuklearnog polno vezanog gena (*ACO119*). Topologija mitohondrijalnog stabla (Slika 6) je bila identična topologiji stabla iz rada (Helbig *et al.*, 1996) koje je bilo bazirano na parcijalnim sekvencama *CYTB* gena i imalo višu statističku značajnost. Sortiranje filogenetskih linija između četiri vrste iz kompleksa običnog zviždka (pirinejskog, kanarskog, planinskog i običnog zviždka) bilo je gotovo kompletno za mitohondrijalnu DNK (Slika 6). Oba filogenetska stabla ukazuju da je pirinejski zviždak najdivergentniji u okviru kompleksa vrsta običnog zviždka. Ovu početnu divergenciju prati skoro trostruko razdvajanje na kanarskog, planinskog i običnog zviždka. Sekvencijalno razdvajanje malih perifernih populacija od zajedničkog pretka sa velikim arealom ukazuje na peripatrički način specijacije. Peripatrička specijacija je uobičajeni geografski modalitet specijacije kod drugih borealnih vrsta ptica, kao i ptica iz umerenih predela (Barraclough and Vogler, 2000; Drovetski, 2003) i verovatno je doprinela razdvajanju filogenetskih linija u okviru kompleksa običnog zviždka.

Varijacija mitohondrijalnog gena je strukturirana u okviru planinskog i običnog zviždka. Kod planinskog zviždka sekvence *ND2* gena su razdvojene u dve filogenetske linije koje predstavljaju po jednu alopatričnu podvrstu *P. s. sindianus* (Pamir i Tjen Šan planinski venci) i *P. s. lorenzii* (Kavkaz, Mali Kavkaz, Zakavkazje, istočni deo Turske i severozapadni Iran). Nedostatak varijabilnosti u okviru obe filogenetske linije je iznenađujuć naročito kod podvrste *P. s. lorenzii* zato što su četiri jedinke uzorkovane na zapadnom Kavkazu i tri jedinke sa područja Malog Kavkaza koje su udaljene oko 465 km imale identični *ND2* haplotip. Najverovatnije se desilo da su populacije planinskog zviždka posle početnog razdvajanja na dve podvrste, verovatno u različitim glacijalnim refugijumima (Hewitt, 2000), drastično smanjile brojnost populacije koja je dovela do efekta uskog grla (engl. bottleneck).

Za razliku od podvrsta planinskog zviždka, ni jedna od trenutno prepoznatih podvrsta običnog zviždka (Clements *et al.*, 2015) nije potpuno geografski izolovana. Međutim, različite filogenetske linije evidentno odgovaraju zvaničnoj taksonomiji podvrsta:

*P. c. collybita* (zapadna i centralna Evrope, Švedska, jugoistočna Evropa i Bliski Istok);

*P. c. abietinus* (istočna i severna Evropa, evropski deo Rusije);

*P. c. tristis* (krajnji severoistok Evrope, do istočnog dela Azije);

*P. c. brevirostris/caucasicus* (od Balkanskog poluostrva do Kavkaza, Malog Kavkaza i Zakavkazja, Bliski Istok);

*P. c. menzbieri* (Zakavkazje, istočno do severoistočnog Irana i južnog dela Turkmenistana).

Dodatno, nova filogenetska linija je otkrivena u uzorku od tri jedinke sa planine Hermon, i ova filogenetska linija predstavlja neopisanu podvrstu običnog zviždka.

Za rasprostranjenje podvrste *P. c. tristis* je prethodno smatrano da se prostire do sliva reke Pečora (Pechora) na zapadu, a na istoku do srednje toka reke Kalima (Kolyma) (Helbig *et al.*, 1996; Baker, 1997; Clement and Helbig, 1998; Stepanyan, 2003). Ipak, prisustvo isključivo haplotipova ove podvrste na lokalitetu Mezen koji se nalazi 365 km zapadno od reke Pečora je u skladu sa skorašnjim podacima koji pokazuju da je *P. c. tristis* rasprostranjen dosta više zapadno na području severne Evrope nego što se

prethodno smatralo (Marova *et al.*, 2013; Shipilina *et al.*, 2017). Rezultati u ovom istraživanju ukazuju da se glacialni refugijum za ovu filogenetsku liniju nalazio negde na području istočnog dela Azije, gde pleistocenske glacijacije nisu bile toliko izražene (Hewitt, 2000). Nakon ekspanzije iz pravca istoka, ova filogenetska linija formira usku, ali dugačku hibridnu zonu na području Urala i severoistočnog dela Evrope sa podvrstom *abietinus* (Marova *et al.*, 2009, 2013; Shipilina *et al.*, 2017).

Kao i što se može očekivati za nuklearne gene mladog kompleksa vrsta, varijacija *ACO119* gena nije geografski i taksonomski strukturirana kao što je bio slučaj za mitohondrijalni *ND2* gen. Postoje tri faktora koji doprinose ograničenju polno vezanog lokusa za istraživanje filogenetskih odnosa vrsta tokom inicijalnog stepena specijacije. Prvo, efektivna veličina populacije polno vezanih lokusa je trostruko veća u odnosu na mitohondrijalnu DNK, rezultirajući u trostruko većem vremenu koje je potrebno za kompletiranje sortiranja filogenetskih linija (Zink and Barrowclough, 2008). Drugo, stopa supstitucije *ACO119* gena je nekoliko puta niža nego stopa supstitucije mitohondrijalnog *ND2* gena (Lerner *et al.*, 2011; Drovetski *et al.*, 2013, 2014). Treće, za razliku od mitohondrijalne DNK koja se prenosi preko ženki koje su disperzivnije od mužjaka (Clarke, Saether and Roskaft, 1997), polno vezani nuklearni lokusi su većinski ( $\frac{2}{3}$  od Z-vezanih alela) vezani za filopatrične mužjake, te je verovatnija introgresija između populacija u hibridnim zonama (Currat *et al.*, 2008; Excoffier, Foll and Petit, 2009; Drovetski *et al.*, 2015).

Uprkos ograničenoj rezoluciji polno vezanog *ACO119* gena, pirinejski, planinski i obični zviždci nisu delili iste alele, ukazujući da su genetički diferencirani i po mitohondrijalnom i nuklearnom lokusu.

Nasuprot planinskom i pirinejskom zviždku, neke jedinke kanarskog zviždka koje pripadaju filogenetskoj liniji *P. canariensis* delile su iste nuklearne alele sa običnim zviždkom. Osam od 10 *ACO119* sekvenci koje pripadaju uzorkovanim jedinkama delile su alele sa običnim zviždkom. Jedna jedinka za koju se pretpostavlja da pripada kanarskom zviždku sa ostrva La Palma (Kanarska ostrva) imala je *ND2* sekvencu koja pripada podvrsti *P. c. collybita*, i nuklearni *ACO119* aleli su pripadali običnom zviždku i takvi haplotipovi nisu bili nađeni kod ostalih jedinki *P. canariensis*. Gnežđenje kanarskog zviždka traje od januara do juna (Clarke, Orgill and Disley, 2006), ukazujući



da korišćeni uzorci pripadaju gnezdećim jedinkama, uprkos ranim datumima uzorkovanja ptica. Kraj februara je takođe i period zimovanja/seobe običnog i pirinejskog zviždka na Kanarskim ostrvima, ali prisutnost obe vrste je ograničena na najistočnija ostrva u arhipelagu, i nijedna od vrsta nije nađena na zapadnim Kanarskim ostrvima uključujući i ostrvo La Palma (Garcia-del-Rey, 2011). Uprkos različitim pesmama, rezultati u ovom doktoratu ukazuju da je hibridizacija između ove dve vrste moguća, barem povremeno, a da se zimujuće jedinke podvrste *P. c. collybita* mogu teže razlikovati zbog odsustva pevanja van sezone gnežđenja i jako sličnog fenotipa kanarskom zviždku.

U okviru običnog zviždka rezultati analize AMOVA se poklapaju sa mitohondrijalnim *ND2* stablom. Analiza osnovnih komponenti (PCA) na uparenim (engl. pairwise)  $\Phi_{st}$  vrednostima kod običnog zviždka (Slika 10) je takođe podržala jaku sličnost filogenetskog signala mitohondrijalne DNK i stepena diferencijacije između geografskih regiona u frekvencijama i divergenciji nuklearnog *ACO119* alela. Slično kao i na mitohondrijalnom *ND2* stablu, jedinke sa istočnih lokaliteta sa mitohondrijalnom DNK podvrste *P. c. tristis* su formirale klaster koji je bio najrazličitiji od ostalih lokaliteta. Sekvence jedinki sa područja Zakavkazja, Malog Kavkaza i Kavkaza formirali su klaster u analizi osnovnih komponenti (PCA) na grafikonu (Slika 10), predstavljajući jedinke podvrsta *P. c. brevirostris/caucasicus* i *P. c. menzbieri*. Ovaj klaster je udaljen od klastera sastavljenog od dve sestrinske filogenetske linije sa područja Evrope (*P. c. collybita* i *P. c. abietinus*). Ove dve filogenetske linije sa prostora zapadne (*P. c. collybita*) i istočne Evrope (*P. c. abietinus*) predstavljaju podvrste koje su se najskorije razdvojile. Glacijalni refugijum za podvrstu *collybita* predstavlja Apeninsko poluostrvo i ova filogenetska linija je naselila zapadnu i centralnu Evropu, sve do hibridne zone sa vrstom *P. ibericus* na Pirinejima (Helbig *et al.*, 2001) i široke hibridizacione zone sa podvrstom *abietinus* na području istočne i severne Evrope (Hansson, Bensch and Brännström, 2000) (Cramp, 1992). Refugijum za podvrstu *abietinus* može da bude područje Balkana, mada se ceo uzorkovani deo Balkanskog poluostrva sastoji od hibridne populacije *collybita* i *abietinus*, ili područje Karpata koje je označen kao refugijum u skorašnjim istraživanjima (Schmitt and Varga, 2012). Nakon širenja iz refugijuma podvrsta *abietinus* na istoku hibridizuje sa filogenetskom linijom *tristis* (Shipilina *et al.*, 2017). Razlike između podvrsta običnog

zviždka koje su vidljive na mitohondrijalnom *ND2* stablu, zajedno sa razlikama u frekvenciji *ACO119* alela su vidljive i na fenotipskom nivou kod populacija van zona hibridizacije.

Ovo istraživanje nije imalo dovoljno elemenata da odredi da li je razlog deljenja alela nuklearnog *ACO119* gena između kanarskog zviždka i običnog zviždka, kao i između podvrsta običnog zviždka zbog zadržavanja predačkih deljenih alela ili zbog hibridizacije/introgresije u zonama preklapanja. U tom svetlu, prethodna istraživanja i naša analiza *ND2* gena iz više zona preklapanja ukazuju da dolazi do introgresije. Mada istraživanje u ovom doktoratu nije pokazalo da postoji široka zona mitohondrijalne introgresije između filogenetske linije *P. c. tristis* i *P. c. abietinus* (Slika 4), uska zona hibridizacije postoji na području južnog dela planine Urala (Marova *et al.*, 2009), a skoro je otkrivena i na području Arhangelskog regiona (Arkhangelsk region) (Shipilina *et al.*, 2017). Velika proporcija mužjaka u hibridnoj zoni ispoljava intermedijarne fenotipske karaktere kao i pomešano genetičko poreklo, ukazujući na trenutni i istorijski protok gena (Shipilina *et al.*, 2017).

Areali južnih podvrsta *P. c. brevirostris*, *P. c. caucasicus* i *P. c. menzbieri* su veoma slabo istraženi i informacije o zonama hibridizacije ne postoje (Helbig *et al.*, 1996; Clement and Helbig, 1998; Stepanyan, 2003). Analiza osnovnih komponenti urađena na *ACO119* genu (Slika 10) je smestila jedinke koje pripadaju ovim trima podvrstama zajedno u jedan klaster. Dostupna literatura ukazuje da povrsta *P. c. brevirostris* naseljava zapadnu i severnu Malu Aziju, *P. c. caucasicus* se gnezdi na području Kavkaza i Malog Kavkaza južno do grada Goris u Jermeniji, dok se *P. c. menzbieri* gnezdi na području severoistočnog Irana i planina Kopet Dag duž južne granice Turkmenistana. Za ovu doktorsku disertaciju uzorci iz Male Azije nisu bili dostupni, a 32 uzorka običnog zviždka sa područja Kavkaza (pripisanih području gneždenja podvrste *P. c. caucasicus*), kao i četiri od devet jedinki sa područja Malog Kavkaza, jedna jedinka sa područja Zakavkazja, dve jedinke sa područja Balkanskog poluostrva i četiri od osam jedinki sa planine Hermon u Izraelu (Slika 4) ukazuju na postojanje jedne filogenetske linije sastavljene od dve podvrste (*P. c. caucasicus* i *P. c. brevirostris*), koja hibridizuje sa podvrstama *P. c. collybita* i *P. c. abietinus* na području Balkanskog poluostrva. Glacijalni refugijum za filogenetsku liniju *caucasicus/brevirostris* verovatno predstavlja područje Kavkaza koje je poznato po diferenciranosti filogenetskih linija u

odnosu na ostatak Evroazije (Hung, Drovetski and Zink, 2016). Ova filogenetska linija se nakon glacijacija verovatno proširila šumskim pojasem na područje Male Azije, Levanta, i Balkana. Druga hipoteza koja ne može biti odbačena je postojanje zajedničkog refugijuma na Kavkazu i na prostoru Turske za vreme glacijacija. Ovakav scenario je već poznat kod turskog brgljeza (*Sitta krueperi*), gde su populacije ove vrste preživele na oba područja (Perktaş *et al.*, 2014). Centralni deo Malog Kavkaza i Zakavkazja južno do granice sa Iranom je naseljen genetički diferenciranom „jugoistočnom“ filogenetskom linijom. Premda za ovu doktorsku disertaciju nisu dobavljeni uzorci sa područja severoistočnog Irana i južnog Turkmenistana (gde su poznata gnezdišta podvrste *P. c. menzbieri*), prisutnost neprekinutog pojasa odgovarajućeg staništa od Jermenije preko planinskog venca Elburs i severnog dela Irana sve do Turkmenistana ukazuje da uzorkovane jedinke predstavljaju podvrstu *P. c. menzbieri*. Kao glacijalni refugijum ove filogenetske linije može se označiti severni deo Irana i južnog Turkmenistana, i naseljavanje juga Jermenije iz ovog pravca neprekinutim šumskim pojasom. Podaci iz ove doktorske disertacije ukazuju na postojanje hibridne zone između podvrsta *P. c. caucasicus/brevirostris* i *P. c. menzbieri* na području istočnog dela Malog Kavkaza i Zakavkazja.

Planinski venac Anti-Lebanon koji se nalazi na tromeđi Sirije, Libana i Izraela nikada nije bio uključen u rasprostranjenje običnog zviždka (Ticehurst, 1938; Helbig *et al.*, 1996; Baker, 1997; Clement and Helbig, 1998; Stepanyan, 2003; Clements *et al.*, 2015). Ipak, sedam jedinki je uhvaćeno na najvišem vrhu planinskog venca (Mount Hermon) za vreme juna, jula i avgusta (Tabela P1) uključujući odrasle jedinke koje su bile reproduktivno aktivne. Ni jedna od uhvaćenih jedinki nije odudarala po biometrijskim karakteristikama od filogenetske linije *P. c. brevirostris/caucasicus*. Osim toga, obe jedinke uzorkovane tokom jula su bile lokalni mladunci sa različitih lokaliteta potvrđujući prethodno neotkrivenu gnezdeću populaciju. Prisustvo jedinki iz filogenetskih linija *P. c. brevirostris/caucasicus* i *P. c. collybita* može biti objašnjeno privlačenjem i razmnožavanjem ženki koje zimuju na ovom području poreklom sa Kavkaza, Male Azije i Balkanskog poluostrva od strane lokalnih mužjaka. Četiri gnezdeće jedinke su imale *ND2* alele dosledne ovoj tvrdnji. Ostale tri jedinke su imale *ND2* alele koje su pripadale novoj, do sada nepoznatoj filogenetskoj liniji. Ove jedinke su takođe imale *ACO119* jedinstvene alele koji nisu pronađeni kod pripadnika ostalih filogenetskih

linija. Genetička udaljenosti od ostalih filogenetskih linija običnog zviždka je bila slična kao i razlika između ostalih filogenetskih linija u okviru običnog zviždka, navodeći na zaključak da na području Srednjeg Istoka postoji nova, za sada neimenovana podvrsta običnog zviždka. Refugijum ove reliktno filogenetske linije verovatno predstavlja područje Levanta. Nastavak istraživanja je potreban da se razluči potencijalno komplikovana biogeografska istorija običnih zviždaka u ovom regionu.

### 5.1.2. Taksonomske preporuke

Rezultati u ovom doktoratu uključuju analizu preko 250 uzoraka običnih zviždaka koji pripadaju verovatno svim taksonima sa većeg broja lokaliteta unutar rasprostranjenja vrste, i uključuju i mitohondrijalne i nuklearne markere. Rezultati koji su dobijeni analizama su limitirani i treba da se interpretiraju u svetlu potrebe za nastavkom analiza na više gena ili celih genoma, kao i više jedinki. Ipak, urađene analize ukazuju da su obični zviždak i srodne vrste iz kompleksa evoluirale u poslednjih milion godina za vreme dramatičnih klimatskih oscilacija. Fragmentacija areala ovih vrsta dovela je do izolacije različitih populacija koje se nalaze u različitim fazama procesa specijacije.

Na jednom kraju, za planinskog zviždka (*P. sindianus*) se može zaključiti da je različit od ostalih vrsta/podvrsta iz kompleksa po bar jednom mitohondrijalnom i nuklearnom genu, da je različit u oglašavanju, pesmi i boji perja i živi simpatrički sa bar dve podvrste običnog zviždka bez hibridizacije ili introgresije na području Kavkaza, Malog Kavkaza i Zakavkazja. Na taj način ova vrsta ispunjava kriterijum striktno biološke vrste. Neki autori tretiraju podvrste planinskog zviždka (*P. s. sindianus* i *P. s. lorenzii*) odvojenim vrstama (Dickinson and Christidis, 2014), ali ovo nije snažno podržano genetičkim podacima dobijenim u ovoj disertaciji.

Pirinejski zviždak (*P. ibericus*) se od drugih taksona razlikuje morfološki i po oglašavanju/pesmi, kao i po nuklearnim i mitohondrijalnim genima, ali živi simpatrično sa nominalnom podvrstom običnog zviždka na području Pirineja i formira hibridnu zonu koja je široka od 20-55km i koja je dobro istražena (Helbig *et al.*, 2001). Stoga izgleda da je mlada, ali očigledno dobra, evolucionarna vrsta (Clement and Helbig, 1998).

Kanarski zviždak (*P. canariensis*) se gnezdi alopatrično u odnosu na druge populacije iz kompleksa običnog zviždka. Ova vrsta se razlikuje i po pesmi i oglašavanju. Ipak, iako

je verovatno različit u mitohondrijalnoj DNK (u ovoj studiji je nađena jedna ptica čija mitohondrijalna DNK pripada nominalnoj podvrsti običnog zviždka), kanarski zviždak deli iste alele nuklearnog *ACO119* gena sa običnim zviždkom (*P. collybita*). Istraživanja na ovoj populaciji treba da se nastave da bi se utvrdilo da li vrsta odgovara statusu posebne vrste (Helbig *et al.*, 2002). Interesantna je i činjenica da su istočna Kanarska ostrva imala i svoj takson, odnosno podvrstu *P. canariensis exsul* koji je izumro i koji je verovatno bio više izložen introgresiji sa nominalnom podvrstom običnog zviždka.

Jedinke iz filogenetske linije običnog zviždka koja pripada podvrsti *P. c. tristis* sa područja Sibira se razlikuju od ostalih taksona u okviru kompleksa običnog zviždka, kako fenotipski, tako i u pesmi i oglašavanju (Helbig *et al.*, 1996; Clement and Helbig, 1998). Ova podvrsta formira usku zonu hibridizacije sa podvrstom *P. c. abietinus* u kojoj dolazi do mešanja, a jedinke se delom razdvajaju i po izboru staništa (Marova *et al.*, 2009). Jedinke ove podvrste su skoro potpuno različite od ostalih filogenetskih linija i u nuklearnom lokusu, mada su neki aleli deljeni sa drugim populacijama, bilo kroz hibridizaciju ili zadržavanje predačkih deljenih alela. Postojanje jedinki podvrste „*fulvescens*“ čiji je status posebne podvrste upitan (Helbig *et al.*, 1996) na području istočno od Urala koje imaju maslinaste i žućkaste tonove na leđima i obrvi, a koje su karakteristične za podvrstu *P. c. abietinus* ukazuje na verovatno širu zonu hibridizacije. Mada je nastavak detaljnog istraživanja u zoni hibridizacije preko potreban, može se reći da je ova filogenetska linija bar u početnom stadijumu specijacije i zaslužuje status poluvrste (Helbig *et al.*, 2002), mada opravdani argumenti se mogu naći i u slučaju da ova populacija zaslužuje status podvrste i status odvojene vrste.

U jugoistočnom dela areala običnog zviždka postoje bar dve mitohondrijalne filogenetske linije koje predstavljaju podvrste *P. c. brevirostris/caucasicus* i *P. c. menzbieri*. Ove podvrste se među sobom veoma malo razlikuju, uglavnom u obojenosti perja, i formiraju hibridnu zonu na području Zakavkazja i Malog Kavkaza. Takođe jedinke podvrste *P. c. brevirostris/caucasicus* su pronađene i na Balkanskom poluostrvu, i verovatno hibridizuju sa podvrstama *P. c. collybita* i *P. c. abietinus*. Iako se na grafiku dobijenom analizom osnovnih komponenti (PCA) (Slika 10) na nuklearnom *ACO119* genu jedinke sa ovih lokaliteta grupišu u posebni klaster u odnosu na evropske i sibirске populacije običnog zviždka, ove jedinke dele iste *ACO119* alele sa

ostalim taksonima u okviru običnog zviždka, i njihovo tretiranje kao različite podvrste običnog zviždka je opravdano.

Zapadnoevropska *P. c. collybita* i istočnoevropska *P. c. abietinus* podvrsta običnog zviždka su morfološki veoma slične i mogu biti razlikovane samo uz pomoć srednjih biometrijskih mera. Ove populacije koje pripadaju različitim filogenetskim linijama mogu se naći u simpatiji u severoistočnoj Nemačkoj, severnoj i istočnoj Poljskoj (Baker, 1997), jugozapadnoj Ukrajini (Stepanyan, 2003) i Švedskoj (Hansson, Bensch and Brännström, 2000). Na pomenutim prostorima je utvrđena i njihova hibridizacija nakon sekundarnog kontakta posle divergencije u različitim refugijumima za vreme ledenih doba (Slika 8). Razlika u mitohondrijalnom *ND2* genu između ove dve podvrste je očigledna, ali se ne ogleda i u razlici u alelima nuklearnog gena (Slike 9 i 10). Konzervativna procena zone hibridizacije na prostoru Balkanskog poluostrva između podvrsta *P. c. collybita* i *P. c. abietinus* iznosi 481 km, i skoro je za red veličine veća od hibridnih zona između *P. c. collybita* i *P. ibericus* ili između *P. c. abietinus* i *P. c. tristis*, što potvrđuje njihov status suptilno različitih podvrsta. Ostaje da se istraži postoje li biološke barijere protiv protoka gena između datih podvrsta.

Za nedavno otkrivenu gnezdeću populaciju običnog zviždka na planini Hermon se pokazalo u ovim istraživanjima da pripada običnom zviždku (*P. collybita*) i da ima dugu nezavisnu evolutivnu istoriju. Prisustvo jedinki filogenetskih linija koje odgovaraju podvrstama *P. c. collybita* i *P. c. brevirostris/caucasicus* u ovoj populaciji ukazuje na skorašnje osnivanje gnezdeće populacije od zimujućih jedinki s drugih prostora, i suživot sa do sada nepoznatom, genetički različitom filogenetskom linijom koja predstavlja reliktnu populaciju koja je odavno na tim prostorima. Dodatna istraživanja su potrebna da bi se ustanovili jasniji odnosi ove tri podvrste na području Levanta, kao i detaljno rasprostranjenje nove filogenetske linije.

Kompleks običnog zviždka i srodnih vrsta predstavlja model vrstu za proučavanje specijacije u toku i zahteva dalja istraživanja sa bolje raspoređenim uzorkovanjem, analizom celog genoma, morfološkim analizama, kao i analizom pesme.

## 5.2. Obični popić (*Prunella modularis*)

### 5.2.1. Filogeografija običnog popića i naseljavanje severne Evrope u interglacijalu

Istraživanje uticaja ledenih doba na filogeografiju običnog popića u ovom doktoratu je jedna od retkih studija gde je istraživana Hjujtova refugijalna paradigma i gde su uzorkovana sva četiri glavna refugijuma u Evropi (Pirinejsko, Apeninsko, Balkansko poluostrvo i Kavkaz). Koristeći običnog popića kao model vrstu, koji se gnezdi u Zapadnoj Evropi i predstavlja endemičnu vrstu za zapadnu Evroaziju izbegnuti su potencijalno zbunjujući faktori iz populacija izvan regiona od interesa, a koje bi potencijalno mogle da imaju refugijalnu ili kolonijalnu ulogu.

Kod običnog popića analize mitohondrijalnog gena, višelokusne analize, analize razgraničenja vrsta (BPP) kao i MIGRATE procene protoka gena se slažu jedne sa drugima i jasno dokazuju postojanje tri različite, evoluciono nezavisne grupe populacija. Dalje, ove analize ukazuju da je umereni i severni deo Evrope naseljen sa područja Balkanskog i Apeninskog poluostrva koji su verovatno bili zajednički refugijum. Sva filogenetska stabla ukazuju da su pripadnici Iberijske populacije sestrinska filogenetska linija u odnosu na filogenetsku liniju sa područja Balkanskog i Apeninskog poluostrva, mada je samo specijsko filogenetsko stablo imalo statističku podršku za ovu tvrdnju.

Procene razdvajanja filogenetskih linija običnih popića dobijene analizom mitohondrijalnog filogenetskog stabla su starije u odnosu na procene dobijene analizama specijskih filogenetskih stabala (Slike 12 i 13). Ovaj rezultat nije neočekivan i smatramo da je mitohondrijalna DNK bolja za molekularno datiranje filogenetskih linija zbog bržeg sortiranja filogenetskih linija i niže stope introgresije (Drovetski *et al.*, 2015, 2018). Takođe, dosadašnji podaci ukazuju da je procena starosti filogenetskih linija bolje odgovara paleontološkim nalazima (Drovetski *et al.*, 2015). Dok je većina paleontoloških nalaza običnog popića vezana za kasni Pleistocen, postoje po jedan nalaz sa područja Italije i Francuske iz srednjeg Pleistocena (Tyrberg, 1998). Procene razdvajanja filogenetskih linija bazirane jedino na mitohondrijalnoj DNK (Slika 12) ukazuju da se filogenetska linija poreklom sa Kavkaza razdvojila od ostalih filogenetskih linija običnog popića pre 471 000 godina, i da se filogenetska linija poreklom sa Pirinejskog poluostrva razdvojila od široko rasprostranjene filogenetske linije pre 408 000 godina. Ove procene više odgovaraju nalazima fosila tokom srednjeg

Pleistocena nego procenama baziranim na nukleranim genima koje su vezane za područje kasnog Pleistocena. Značajno je i napomenuti da su vremena razdvajanja između tri filogenetske linije običnog popića slične vremenu razdvajanja između taksona spoljnih grupa (engl. outgroups) koje nisu sestrinske vrste (Slika 12) (Drovetski *et al.*, 2013), mada prema autorima (Liu *et al.*, 2017) vremena razdvajanja u radu (Drovetski *et al.*, 2013) su skorija u odnosu na procenu u njihovom istraživanju. Jedna od dve vrste korišćene kao spoljne grupe (engl. outgroup) je skoro endemična za područje Kavkaza (Hatchwell, 2005), ukazujući na deljeno geografsko i vremensko poreklo sa filogenetskom linijom običnog popića, pre samo četiri glacijalna maksimuma. Obični popić je dakle mlada vrsta, i u stvari je mlađa nego što je ukazao prethodni rad o sistematici roda *Prunella* (Drovetski *et al.*, 2013). Ipak, upoređujući sa drugim blisko srodnim vrstama, recimo kao kod vrsta kompleksa roda *Motacilla*, gde su se filogenetske linije odvojile vrlo skoro, obični popić nije izuzetno mlada vrsta.

Pri evaluaciji uloge refugijuma u ponovnom naseljavanju centralne i severne Evrope nakon ledenih doba, Hjuit (Hewitt, 1999, 2000) je zaključio da je Balkansko poluostrvo bilo najznačajniji refugijalni centar za mnoge vrste biljaka i životinja. Jedan od razloga zbog čega je to tako je i visina Dinarskih i Balkanskih planina, čiji su venci najniži u odnosu na planine na severu drugih refugijuma, te ne predstavljaju veliku barijeru prilikom kolonizacije severa. Sa druge strane, Pirineji su predstavljali neprobojnu barijeru u nekim slučajevima, dok u drugim nisu. Nasuprot Pirinejima i Balkanskim planinskim vencima, izgleda da su Alpi predstavljali neprobojnu barijeru za većinu istraživanih vrsta, te je Apeninski refugijum iznedrio malo severnih kolonista (Hewitt, 2000). Za sada, jedini slučaj da je Evropa naseljena iz Kavkaskog refugijuma opisan je u studiji mrkog medveda (*Ursus arctos*) (Hewitt, 2000).

Rezultati ove doktorske disertacije ukazuju da su Apeninsko i Balkansko poluostrvo bili veoma značajni refugijumi i da su obični popići naselili centralnu i severnu Evropu sa ovih prostora. Za vreme povlačenja glacijala, nastale brze promene uslova životne sredine su omogućile brzu ekspanziju refugijalnih populacija ka severu. Samim tim, naročito je interesantna činjenica da su populacije običnih popića na području severne Evrope doživele dva perioda rasta populacija (Slika 15), što može da ukaže na bilo kolonizaciju iz dva refugijuma (Apeninskog i Balkanskog poluostrva), ili da je postojalo dva talasa kolonizacije (na primer, jedan sa prostora Balkanskog poluostrva na područje



istočne Evrope, a drugi sa područja Apeninskog poluostrva na područje zapadne Evrope). U tom pogledu, zato što su populacije sa područja Balkanskog i Apeninskog poluostrva genetički slične i pripadaju istoj filogenetskoj evolucionoj liniji i imaju visoke stope protoka gena (Slika 14), moguće je da su populacije običnog popića u ova dva refugijuma predstavljale jednu refugijalnu populaciju. Veza između Balkanskog i Apeninskog poluostrva je postojala u prošlosti za vreme glacijala, kada je nivo Mediteranskog mora bio nizak i tada su obični popići mogli da prelete malu udaljenost između juga Apeninskog i istoka Balkanskog poluostrva. Na taj način jedinke ove vrste nisu morale da prelaze Alpe koji su bili značajna barijera ka severu Evrope.

Rezultati filogenetske studije šumske sove (*Strix aluco*) potvrđuju isti obrazac naseljavanja severne Evrope, gde je Balkansko poluostrvo bilo najznačajniji refugijum za koloniste, a nakon Balkanskog i Apeninsko poluostrvo (Brito, 2005). Dok je samo nekoliko jedinki šumske sove pripadnika filogenetske evolutivne linije sa područja Pirinejskog poluostrva nađeno na području južnog dela Francuske, jedinke poreklom sa Balkanskog i Apeninskog poluostrva su bile sposobne da prođu Pirineje i nasele Pirinejsko poluostrvo (Brito, 2005). Slični rezultati su dobijeni i u studiji zelene žune (*Picus viridis*), gde su postojale dve filogenetske linije na području Evrope, i jedna sa područja severne Afrike. Pirinejska filogenetska linija je ograničena na Pirinejsko poluostrvo i južnu Francusku, dok je široko rasprostranjena filogenetska linija poreklom iz istočnog refugijuma, isključujući Kavkaz koji je relativno nedavno naseljen (Pons *et al.*, 2011). Na osnovu procene protoka gena utvrđeno je da jedinke sa područja Pirinejskog poluostrva i Kavkaza nisu učestvovalе u naseljavanju šireg dela Evrope i da su obe populacije u ovim refugijumima efektivno izolovane od populacija sa Balkanskog, Apeninskog poluostrva i centralne i severne Evrope. Osim toga, populacije sa područja Pirinejskog poluostrva i Kavkaza imale su najmanje istorijske veličine populacije. Ova činjenica ukazuje da ne samo da su ova područja izolovana, već da njihova istorijska mala veličina populacije bi mogla da da prednost populacijama poreklom sa Balkanskog i Apeninskog poluostrva u kolonizaciji severa. Uz sve to, hipoteza o stabilnoj veličini populacije ne može da bude odbijena za sve refugijalne populacije osim za Kavkaz, dok je za severnu Evropu odbijena. Demografsko proširenje populacije sa područja Kavkaza je samo nekoliko stotina godina staro, i ovo može da

ukaže da je refugijum bio niže, na jugu (na području Iraka i/ili Irana) i da je Kavkaz kolonizovan veoma skoro.

### **5.2.2. Preporuke i zaključci bazirani na istraživanju običnog popića**

Rezultati istraživanja običnog popića su u skladu sa delom Hjuiteve paradigme (Hewitt, 2000, 2004), gde Balkansko poluostrvo predstavlja glavni izvor kolonizatora severne Evrope, ali nisu u skladu sa paradigmom da je Apeninsko poluostrvo predstavljalo istaknutu ulogu u kolonizaciji severa Evrope kao i Balkansko poluostrvo. Činjenica da ova dva refugijuma nisu bila izolovana za vreme ledenih doba sugerise da sposobnost disperzije može učiniti izolaciju susednih refugijuma manje verovatnom u odnosu na vrste sa slabim sposobnostima disperzije. Što se tiče Pirinejskog poluostrva, prema paradigmi neke filogenetske linije poreklom sa ovog poluostrva su naselile sever Evrope, dok druge nisu (Hewitt, 2000, 2004). Kod običnog popića Pirinejsko poluostrvo nije imalo ulogu u naseljavanju severne Evrope. Za područje Kavkaza, Malog Kavkaza i Zakavkazja, odakle nije bilo mnogo filogeografskih studija u vreme publikovanja paradigme (Hewitt, 2000, 2004) se spekulisalo da nema ulogu u rekolonizaciji severa Evrope. Ovaj obrazac je potvrđen i kod običnog popića.

Sve analize u ovom doktoratu ukazuju da se populacije običnog popića sastoje od tri filogenetske linije koje su nezavisno evoluirale u različitim refugijumima. Ovi rezultati otvaraju dodatna pitanja o evoluciji neobičnog sistema uparivanja kod ove vrste koji uključuje poliginiju, poliandriju i poliginandriju (Davies and Lundberg, 1984). Ovaj sistem uparivanja je istraživan samo u okviru jedne filogenetske linije i to na području rekolonizovanog areala rasprostranjenja (Velika Britanija). Određivanje da li je ovakav način uparivanja karakterističan samo za refugijalnu Balkansko-Apeninsku filogenetsku liniju od kojih potiču populacije u Velikoj Britaniji ili je zajednički za sve filogenetske linije, ili je pak evoluirao samo u rekolonizovanim područjima bi značajno poboljšao naše razumevanje evolucije neobičnog sistema razmnožavanja. Rezultati u ovom doktoratu obezbeđuju okosnicu za komparativnu studiju sistema uparivanja unutar različitih filogenetskih linija običnog popića.

### 5.3. Kratkokljuni pužić (*Certhia familiaris*)

#### 5.3.1. Filogenetski odnosi

Tietze et al. (Tietze, Martens and Sun, 2006) su predložili razdvajanje istočnih populacija Sino-Himalajskog regiona (*Certhia hodgsoni*) kao zasebnu vrstu zbog razlika u oglašavanju, pesmi i genetici u odnosu na druge populacije kratkokljunog pužića rasprostranjene širom Evroazije. Naši rezultati dobijeni na osnovu sekvenci nekoliko mitohondrijalnih i nuklearnih gena podržavaju monofiliju vrste *C. familiaris* u odnosu na *C. hodgsoni*.

Filogenetski odnosi između nuklearnih alela često nisu imali statističku podržanost verovatno zbog skorašnjeg razdvajanja filogenetskih linija. Za razliku od čistog filogenetskog signala mitohondrijalne DNK, sortiranje nuklearnih filogenetskih linija je u procesu i nove mutacije su veoma retke da bi se dobio jasan signal iz malog broja nuklearnih gena. Glavno nepodudaranje filogenetskih stabala dobijenih iz mitohondrijalnih i nuklearnih gena je sestrinski odnos između filogenetske linije poreklom sa Korzike i filogenetskih linija sa prostora Evroazije koje je dobijeno u nuklearnom filogenetskom stablu (Slika 22, PP = 0,97), dok su podvrste *C. f. corsa* i *C. f. caucasica* formiraju statistički podržanu filogenetski liniju u mitohondrijalnom filogenetskom stablu (Slika 18, PP = 1,0). Postoji nekoliko uobičajenih hipoteza koje bi mogle da objasne razliku između mitohondrijalnih i nuklearnih filogenetskih stabala: (1) zaostatak starih polimorfizama koji je nasleđen od zajedničkog pretka evroazijskih filogenetskih linija i filogenetske linije sa područja Korzike; (2) protok gena isključivo preko muške linije bez posledica na genom prenošen majčinskom linijom (3) pozitivna selekcija koja favorizuje neke mitohondrijalne varijante; i (4) sterilitet hibrida kod heterogameta, u ovom slučaju ženki prema Haldanovom pravilu (Haldane, 1922). Dodatna istraživanja su potrebna da bi se potvrdilo koja je od postavljenih hipoteza ispravna. Ipak, ako malo bolje pogledamo dobijene rezultate (slaba rezolucija i statistička podržanost nuklearnih filogenetskih stabala, bez dokaza o selekciji mitohondrijalnih gena), savremeni stav o disperzivnom ponašanju kod ptica (ženke su disperznije od mužjaka kod mnogih ptica pevačica (Greenwood, 1980) i evolucije steriliteta kod ženki hibrida ptica koja dugo traje (Price and Bouvier, 2002), pretpostavlja se da u slučaju kratkokljunog pužića zadržavanje predačkog polimorfizma

(Fahey, Ricklefs and Dewoody, 2014) može biti najverovatnije objašnjenje za mitohondrijalno-nuklearnu protivrečnost povodom odnosa filogenetske linije *C. f. corsa* u odnosu na najsrodnije filogenetske linije.

Razdvajanje između kratkokljunih puzića sa područja Evroazije (*C. familiaris*) i Sino-Himalajskog puzića (*C. hodgsoni*) seže do ranog Pleistocena, pre oko dva miliona godina, dok su filogenetske linije u okviru *C. familiaris* počele da se razdvajaju pre oko 350 000 godina. Analiza dobijenih mitohondrijalnih sekvenci ističe evolucionu istoriju kratkokljunog puzića koji se dalje razdvaja na dve glavne filogenetske linije: prva koja je do sada bila nepoznata, kriptična i stara filogenetska linija sa alopatričkim rasprostranjenjem koje je ograničeno na ostrvo Korziku i region Kavkaza; i drugu, mlađu i široko rasprostranjenu filogenetsku liniju koja naseljava većinu Evroazije i severnog dela Kine. Ova mlađa filogenetska linija je dalje podeljena na tri filogenetske linije čiji su odnosi nerazjašnjeni sa obzirom na slabu statističku podržanost razdvajanja. Jedna od njih uključuje zapadno evroazijske podvrste *C. f. britannica*, *C. f. macrodactyla*, *C. f. familiaris*, *C. f. tianshanica*, dok druge dve filogenetske linije odgovaraju podvrstama *C. f. daurica* i *C. f. bianchii*. Sekvence podvrste *C. f. japonica* koja nije uključena u ovo istraživanje, a postoje publikovane sekvence u javnoj bazi BOLD (Barcode Of Life Data, [http:// www.boldsystems.org](http://www.boldsystems.org)), se razlikuju samo po jednoj mutaciji od sekvenci podvrste *C. f. daurica* koja je rasprostranjena na području istočnog dela Rusije.

### **5.3.2. Biogeografija kratkokljunog puzića**

#### **5.3.2.1. Oscilacije klimatskih faktora u toku Pleistocena**

Pleistocenske klimatske oscilacije su odigrale glavnu ulogu u diferencijaciji nekoliko vrsta ptica sa područja Palearktika, naročito šumskih vrsta ptica, kao što je i kratkokljuni puzić (Kvist *et al.*, 2004; Brito, 2005; Hung, Drovetski and Zink, 2012). Promene u rasprostranjenju staništa koje su se ponavljale za vreme Pleistocenskih glacijacija (u poslednjih dva miliona godina) su verovatno bile glavni razlog divergencije glavnih filogenetskih linija, slično kao i kod ostalih šumskih vrsta ptica. Smanjenje ostataka šuma za vreme glacijalnih maksimuma izolovalo je populacije u malim refugijumima i alopatrička divergencija je favorizovana na intraspecijском nivou.

Genetičko istraživanje u ovom doktoratu je otkrilo filogeografski obrazac kod kratkokljunog puzića koji do sada nije otkriven kod evropskih vrsta ptica. Kratkokljuni puzići sa područja ostrva Korzike pripadaju paleoendemičnoj mitohondrijalnoj liniji koja je nestala sa područja kopna u Evropi, osim iz regiona Kavkaza za vreme glacijalnog perioda koji je prethodio poslednjem glacijalnom maksimumu, pre oko 20 000 godina. Ova filogenetska linija sa područja Kavkaza/Korzike se verovatno razdvojila od široko rasprostranjene filogenetske linije pre oko 400 000 godina, dok se široko rasprostranjena filogenetska linija razdvojila pre oko 300 000 godina na jednu filogenetsku liniju na istoku (*bianchii*, *daurica*) i jednu na zapadu (*macroductyla*, *familiaris*, *britannica*). Najverovatniji scenario koje je podržan u dobijenim rezultatima i koji objašnjava filogeografski obrazac kratkokljunog puzića je dvostruka kolonizacija zapadnog Palearktika sa područja istočnog dela rasprostranjenja vrste. Za vreme perioda srednjeg Pleistocena, starija filogenetska linija se raširila na područje Evrope, ali nije preživela glacijalne cikluse osim na području Korzike i Kavkaza. Nakon toga u periodu gornjeg Pleistocena, mlađa filogenetska linija je počela da evoluirati pre oko 90 000 godina i da se širi prema zapadnom Palearktiku iz refugijuma koji je verovatno bio lociran na području istočnog Palearktika koji je bio manje zahvaćen glacijalnim ciklusima (Hewitt, 1996). Na primer, veliki deo azijskog dela Palearktika je bio bez stalnog leda i snega za vreme poslednjeg glacijalnog maksimuma, dok je većina Evrope bila pokrivena ledom (Adams, 1997). Skorašnja ekspanzija filogenetske linije *macroductyla/familiaris* je sugerisana zbog negativnih vrednosti Tajima's D i Fu's  $F_s$  statističkih testova ( $P < 0,05$ ).

Proširenje areala iz glacijalnih refugijuma smeštenih na području južne Evrope (npr. Pirinejsko, Apeninsko i Balkansko poluostrvo), koje je često dokumentovano za različite taksone na području Evrope (Hewitt, 2004), nije validno u slučaju kratkokljunog puzića. Naime populacije na području Apeninskog i Balkanskog poluostrva imaju veoma niske vrednosti genetičkog diverziteta, što nije u skladu sa nekoliko istraživanja taksona u Evropi u kojima je konstatovana viša genetička varijabilnost u refugijalnim prostorima (Brito, 2005; Bennett and Provan, 2008; Pons *et al.*, 2011). Nedostatak opadanja genetičke varijabilnosti od juga ka severu u Evropi, nedostatak genetičkog struktuiranja kao i sestrinski odnosi mitohondrijalnih filogenetskih linija sa područja zapadnog Palearktika sa podvrstama sa područja

istočnog Sibira i severozapadne Kine ukazuje na skorašnje proširenje areala iz jedinstvenog refugijuma koji se nalazi na području istočnog areala rasprostranjenja kratkokljunog puzića. Alternativno objašnjenje bi bilo da su populacije sa juga Evrope bile izložene uskim grlima koja su se ponavljala, ili selekciji koja bi obrisala veći deo genetičkog diverziteta. Selekcija nije podržana MK (McDonald and Kreitman, 1991) testovima. Dodatne analize nuklearnih genetičkih markera kao i uzorkovanje više jedinki bi bile neophodne da se proveriti teorija uskih grla.

### 5.3.2.2. Endemizam ptica i glacijalni refugijumi

Rezultati dobijeni u ovom istraživanju podržavaju postojanje paleoendemične filogenetske linije kratkokljunog puzića na području dve alopatričke regije, Kavkaza i ostrva Korzike. Prema tome, Korzika je bila refugijum za ovu vrstu za vreme nekoliko kasnih Pleistocenskih glacijacija koji su prethodili poslednjem glacijalnom maksimumu (koji je bio pre oko 20 000 godina), mada Korzika nije bila izvor kolonizatora okolnih kontinentalnih regiona. Alternativna hipoteza uključuje jedan ili nekoliko disperzivnih događaja između Kavkaza i Korzike koji su locirani na razdaljini oko 2 700 km. Ova hipoteza je malo verovatna sa obzirom da kratkokljuni puzić nema dobru sposobnost disperzije preko vodenih površina (Harrap, 2008), a i haplotipovi filogenetske linije *corsa/caucasica* nisu prisutni bilo gde na području južne Evrope. Treća hipoteza uključuje pozitivnu selekciju mitohondrijalne DNK kao kod srodne vrste brgljeza (*Sitta europaea*) (Zink, Drovetski and Rohwer, 2006) što bi značilo da je mitohondrijalna filogenetska linija *corsa/caucasica* nije neutralno evoluirala. Mada u raspoloživim podacima nije dobijen dokaz o pozitivnoj selekciji koristeći MK testove, više uzoraka i statističkih analiza je potrebno da bi se ova hipoteza odbacila (Garvin *et al.*, 2015).

Globalni filogeografski obrazac se pojavljuje iz istraživanja endemizma ptica sa područja ostrva Korzike, koji karakterišu jedinstveni haplotipovi koji pripadaju posebnim filogenetskim linijama srodnim sa filogenetskim linijama sa područja kontinentalne Evrope. Ovakav obrazac je dokumentovan kod kraljića (*Regulus regulus*) (Päckert, Martens and Severinghaus, 2009), plave senice (*Cyanistes caeruleus ogliastreae*) (Kvist *et al.*, 2004), velike senice (*Parus major corsus*) (Kvist *et al.*, 2003), jelove senice (*Periparus ater sardus*) (Pentzold *et al.*, 2013), dugorepe senice (*Aegithalos caudatus*) (Päckert, Martens and Sun, 2010) i korzikanske žutarice

(*Carduelis corsicana*) (Förschler *et al.*, 2009). Ovaj filogeografski obrazac se ne odnosi ni na kratkokljunog puzića sa područja Korzike, ni na korzikanskog brgljeza (*Sitta whiteheadi*), dve vrste iz reda pevačica koje dele stanište (stare klimaksne šume na ostrvu Korzika, uglavnom bora). Evolucione istorije ove dve vrste ne mogu se objasniti geografskim rasprostranjenjem njihovih srodnika sa područja kopnene Evrope.

### 5.3.3. Taksonomski problemi

Nedostatak saglasnosti između podvrsta koje su opisane morfološki i filogenetskih linija je konstatovano za mnoge taksone ptica na području Palearktika (Pavlova *et al.*, 2003; Koopman *et al.*, 2005). Sa taksonomskog gledišta, i u skladu sa konzervacionim interesima, podržan je stav da data populacija treba da bude rangirana kao podvrsta ako poseduje različitu evolucionu istoriju u odnosu na najrodnije populacije (Zink, 2004). Takva evolucionarna različitost se najčešće karakteriše skupom fenotipskih i genotipskih karakteristika koji služe za rangiranje određenih populacija. U ovoj sekciji je diskutovan status podvrsta kratkokljunog puzića i njihova validnost u odnosu na njihovu evolucionu istoriju.

Mitohondrijalno filogenetsko stablo rađeno na uzorcima kratkokljunih puzića sa područja skoro celog areala je otkrilo da korzikanska podvrsta *C. f. corsa* nije blisko srodna sa kontinentalnom susednom podvrstom *C. f. macrodactyla* kao što je ranije pretpostavljeno (Vaurie, 1959; Harrap, 2008). Neočekivano, *C. f. corsa* pripada paleoendemičnoj filogenetskoj liniji koja je takođe rasprostranjena na Kavkazu i koja je verovatno nestala iz ostatka Evrope za vreme kasnog Pleistocena. Dodatno, *C. f. corsa* se razlikuje od ostalih kontinentalnih podvrsta u nekoliko morfoloških (dužina kljuna i krila) i vokalnih karakteristika (Tietze *et al.*, 2008; Tietze and Martens, 2009). Mada su Tietze *et al.*, (2008) analizirali svega nekoliko pesama mužjaka sa Korzike, uspeali su da nađu značajne razlike u karakteristikama pesme podvrste *C. f. corsa* u odnosu na ostale podvrste. Takođe, eksperimenti sa puštanjem pesme podvrste *C. f. corsa* u populacijama podvrste *C. f. macrodactyla* su dokazali da jedinke iz centralne Evrope slabo odgovaraju na pesmu korzikanske podvrste (odgovor na pesmu korzikanske podvrste je bio mnogo manjeg inteziteta od odgovora na kontrolnu pesmu), dok su jače reagovali na pesmu podvrste *C. f. familiaris* (Tietze, 2007). Podvrsta *C. f. corsa* ne deli zajedničku evolucionu istoriju sa kontinentalnim populacijama koje su rasprostranjene u Evropi sve

do regiona Kavkaza i ova podvrsta je različita i fenotipski od kontinentalnih populacija. Prema tome podvrsta sa ostrva Korzike *C. f. corsa* zavređuje status podvrste prema preporukama autora (Zink, 2004). Štaviše, znajući da su ostrvske populacije često pod naročitim ekološkim selektivnim pritiscima, jak genetički drift i efekat osnivača može doprineti brznoj evoluciji ostrvskih taksona. Takođe mora se imati u vidu da je ova vrsta slabo disperzivna i na taj način izolovana od kontinentalnih populacija Sredozemnim morem, te se može predložiti i status vrste pod filogenetskim konceptom vrste, mada to nije podržano rezultatima molekularnih analiza. Naime bGMYC analize su otkrile da dve primarne mitohondrijalne filogenetske linije verovatno nisu dovoljno različite da bi bile prepoznate kao odvojene vrste, iako je ovaj metod među najliberalnijim u razdvajanju filogenetskih linija (Miralles and Vences, 2013; Satler, Carstens and Hedin, 2013).

Dobijeni rezultati ukazuju da su kratkokljuni puzići sa područja zapadne Evrope koji pripadaju podvrsti *C. f. macrodactyla* i populacije iz istočne i severne Evrope koje pripadaju podvrsti *C. f. familiaris* genetički isti. Ove podvrste se fenotipski razlikuju vrlo malo, i to klinalno u obojenosti perja (Harrap, 2008). Većina jedinki deli isti predački haplotip koji je nađen širom Evrope, osim na području Korzike i Kavkaza. Prema tome, nije otkriveno nikakvo geografsko struktuiranje u genetičkoj varijaciji ove dve podvrste koje se mešaju na području Nemačke i Poljske (Harrap, 2008). Ovi rezultati ne podržavaju dosadašnje taksonomsko gledište da su ovo dve odvojene podvrste. Jedina jedinka uključena u analize koja pripada podvrsti *C. f. tianschanica* koja je veoma fenotipski slična nominalnoj podvrsti je uključena u filogenetsku liniju *macrodactyla/familiaris*. Više jedinki je potrebno da se utvrdi validnost ove podvrste čije rasprostranjenje uključuje predele od Kazahstana do zapadne Kine. Slično kao i za ovu podvrstu, veći uzorak bi bio optimalan da se utvrdi filogenetski status kratkokljunih puzića sa područja Velike Britanije koji se razlikuju kako u pesmi od ptica sa područja kontinentalne Evrope (Tietze *et al.*, 2008), tako i u obojenosti perja (Harrap, 2008). Od četiri kratkokljuna puzića sa područja Velike Britanije, dva su imala jedinstvene mitohondrijalne haplotipove koji nisu nađeni u ostatku Evrope ( $\Phi_{st}^{britannica/macroductyla} = 0,21$ ,  $P < 0,05$ ). Ako bi se povećanjem broja uzoraka sa područja Velike Britanije potvrdio značajni procenat privatnih haplotipova koji je dobijen preliminarnim analizama, to bi značilo da je populacija sa područja Velike



Britanije počela da se diferencira u odnosu na populaciju sa Evropskog kopna i podržalo bi validnost podvrste *C. f. britannica* kao filogenetske podvrste.

#### **5.3.4. Konzervacioni problemi**

Ova studija ističe veliku konzervacionu vrednost korzikanske podvrste kratkokljunog puzića koja ima jedinstvenu evolucionu istoriju i razlikuje se u nekoliko dijagnostičkih karakterata (fenotipskih i genotipskih). Dodatno, *C. f. corsa* je rasprostranjena samo na ostrvu Korzika koje je odvojeno od ostatka areala kratkokljunog puzića Sredozemnim morem. Gledano sa konzervacione strane, sve ove evolucione i ekološke specifičnosti pokazuju da je korzikanski kratkokljuni puzić od velikog konzervacionog značaja. Ova podvrsta je ograničena na guste šume korzikanskog bora (*Pinus nigra laricio*), hrasta crnike (*Quercus ilex*) i nekoliko listopadnih vrsta drveća (uglavnom kestena *Castanea sativa* i bukve *Fagus sylvatica*) (Thibault and Bonaccorsi, 1999). Korzikanske borove šume takođe predstavljaju glavno stanište endemične i ranjive (IUCN kategorija Vulnerable) vrste korzikanskog brgljeza (Thibault *et al.*, 2006). Ovo istraživanje daje nove informacije koje naglašavaju presudnu ulogu zrelih šuma korzikanskog bora u evoluciji ova dva endemična taksona. Prema tome, rezultati u ovom istraživanju ukazuju na neophodnost zaštite šuma korzikanskog bora kao centra endemičnosti ptica na ovom području.

### **5.4. Glacijalni refugijumi i rekolonizacija severa Evroazije iz južnih refugijuma kod tri istraživane vrste ptica**

#### **5.4.1. Glacijalni refugijumi**

Postoje četiri glavna glacijalna refugijuma za vrste koje naseljavaju šumska staništa umerenog pojasa. To su Pirinejsko poluostrvo, Apeninsko poluostrvo, Balkansko poluostrvo i Kavkaz (Hewitt, 2000). Takođe postoje i istočni refugijumi, koji su manje istraženi, ali su značajni za evolucionu diverzifikaciju vrsta na području Evroazije (Hewitt, 2000). Sa obzirom da ne postoje istraživanja ptica koja pokrivaju sva četiri glacijalna refugijuma za široko rasprostranjene vrste, rezultati dobijeni u našim istraživanjima predstavljaju prva istraživanja ovakve vrste na području Evroazije.

Pirinejsko poluostrvo je bilo refugijum za običnog popića za vreme glacijacija. Zasebna filogenetska linija običnog popića je rasprostranjena na ovom području, koju karakteriše

mala istorijska i savremena brojnost jedinki. Jedinственe filogenetske linije sa područja Pirinejskog poluostrva su poznate za neke vrste ptica šumskih staništa, kao što su zelena žuna (*Picus viridis sharpei*) (Pons *et al.*, 2011) i šumska sova (*Strix aluco*) (Brito, 2005), ali i za brojne druge organizme (Weiss and Ferrand, 2007). Nema dokaza za običnog zviždka i kratkokljunog puzića da je Pirinejsko poluostrvo bilo refugijum tokom glacijacija. Obični zviždak je verovatno bio u kompeticiji sa pirinejskim zviždkom, endemičnom srodnom vrstom sa područja Pirinejskog poluostrva, pa se zbog toga verovatno nije naselio na ovom području tokom glacijalnih ciklusa.

Apeninsko poluostrvo je predstavljalo glacijalni refugijum kako za običnog popića (zajedno sa Balkanskim poluostrvom) tako i za nominalnu podvrstu (filogenetsku liniju) običnog zviždka, za razliku od kratkokljunog puzića za kojeg nema dokaza da je Apeninsko poluostrvo predstavljalo refugijum tokom glacijacija. Ovo područje je bilo refugijum za neke vrste ptica, kao što su grmuša crvenovoljka (*Sylvia cantillans*) (Brambilla *et al.*, 2008), šumska sova (*Strix aluco*) (Brito, 2005) i kukumavka (*Athene noctua*) (Pellegrino *et al.*, 2014). Navedene vrste imaju jedinственe filogenetske linije rasprostranjene samo na Apeninskom poluostrvu, osim kukumavke čija je filogenetska linija prisutna i na području Balkanskog poluostrva.

Za Balkansko poluostrvo se smatra da je bilo glavni refugijum tokom glacijacija (Hewitt, 2000). Jedinственe filogenetske linije sa ovog područja su registrovane kod običnog zviždka i običnog popića. Za razliku od ove dve istraživane vrste, u slučaju kratkokljunog puzića naši rezultati ne ukazuju da je Balkansko poluostrvo, kao i Apeninsko poluostrvo imalo ulogu refugijuma za vreme glacijacija. Već pomenut primer kukumavke (Pellegrino *et al.*, 2014) nam ukazuje da su se Balkansko i Apeninsko poluostrvo u nekim slučajevima ponašali kao zajednički refugijum, što potvrđuje naše istraživanje običnog popića. Jedinственa filogenetska linija sa prostora Balkanskog poluostrva postoji kod šumske sove (Brito, 2005) i brgljeza (*Sitta europaea*) (Chen *et al.*, 2019).

Kavkaz je kao centar endemizma i refugijum za mnoge vrste ptica prepoznat i u skorijim filogeografskim studijama (Zink *et al.*, 2009; Hung, Drovetski and Zink, 2012, 2013, 2016, 2017). Sve tri istraživane vrste su glavne glacijacije preživele u refugijumu na području Kavkaza, Malog Kavkaza i Zakavkazja. Takođe sve tri vrste predstavljaju

posebne filogenetske linije u okviru svojih vrsta koje su odvojeno evoluirale od ostatka populacije. Kod običnog zviždka, međutim postoje dve evolutivne linije na ovom prostoru. Smatramo da se druga evolutivna linija (podvrsta *menzbieri*) proširila iz južnog refugijuma koji se nalazi na području Irana i Turkmenistana na područje Malog Kavkaza i Zakavkazja, a da je primarna filogenetska linija (podvrsta *caucasica*) preživela na području Kavkaza. Takođe kod kratkokljunog pužića, ista filogenetska linija je nađena na ostrvu Korzika, na oko 2 700 km udaljenosti od Kavkaza što predstavlja do sada neobjašnjen filogeografski obrazac. Populacija običnog popića sa ovog područja predstavlja odvojenu filogenetsku liniju koja je rasprostranjena samo na ovom području.

Pored glavnih refugijuma koji su predstavljeni, postoje i manji refugijumi koji su značajni za preživljavanje manjeg dela populacije široko rasprostranjenih vrsta i koje naseljavaju endemične filogenetske linije raznih vrsta ptica. Kao posebni refugijumi mogu se izdvojiti ostrva u Mediteranu (Sardinija, Korzika, Kipar) (Pentzold *et al.*, 2013; Pons *et al.*, 2016; Thibault *et al.*, 2016; Tritsch *et al.*, 2018) i Atlanskom okeanu (Azorska i Kanarska ostrva) (Päckert and Martens, 2004; Rodrigues *et al.*, 2013, 2016). Za kratkokljunog pužića, ostrvo Korzika je predstavljalo refugijum tokom pleistocenskih glacijacija, dok kod običnog zviždka i običnog popića ostrva nisu bila refugijumi za vreme glacijacija. Kod običnog zviždka moramo napomenuti postojanje refugijuma na severu Irana i jugu Turkmenistana za filogenetsku liniju *menzbieri*, kao i područje Levanta za novu, neopisanu filogenetsku liniju. Šumska staništa na području Irana predstavljaju jedan od novo otkrivenih refugijuma za šumske vrste ptica (Nazarizadeh *et al.*, 2016).

#### **5.4.2. Rekolonizacija severa Evroazije**

Nakon preživljavanja glacijalnih maksimuma u refugijalnim područjima, neke od populacija su naselile sever Evroazije pri povlačenju lednika. Nisu svi refugijumi iznedrili koloniste podjednako (Hewitt, 1999).

Obični zviždak je naselio sever Evroazije iz tri refugijuma, a to su Apeninsko poluostrvo (*collybita*), Balkansko poluostrvo ili Karpatske planine (*abietinus*) i istočni refugijum koji se nalazi na prostoru centralnog dela Azije (*tristis*) (Slika 8). Takođe jedinke sa prostora Kavkaza (*caucasica*) su naselile celo područje Male Azije i stigle do

Balkanskog poluostrva, dok su se jedinke podvrste *menzbieri* proširile iz refugijuma na području Irana i Turkmenistana do Malog Kavkaza i Zakavkazja. Jedino su jedinke neopisane filogenetske linije verovatno ostale na području gde su preživele glacijalne cikluse (Slika 8). Ovakav scenario naseljavanja severa je jedinstven i ne potpada ni pod jednu predloženu Hjuittovu paradigmu (Hewitt, 1999, 2000). Zone hibridizacije su dokumentovane na mestima gde se kolonizatori iz različitih refugijuma sreću i označene su na slici 8.

Obični popić je naselio sever Evrope sa područja Apeninskog i Balkanskog poluostrva koja su predstavljala zajednički refugijum za istu filogenetsku liniju, slično kao i kod kukumavke (Pellegrino *et al.*, 2014) (Slika 16). Razmena gena između populacija sa Apeninskog i Balkanskog poluostrva je utvrđena, što navodi na zaključak da Jadransko more nije bilo efektivna barijera protiv protoka gena, verovatno zbog blizine ova dva poluostrva i zemljanih mostova za vreme hladnih perioda dok je nivo mora bio nizak (Taberlet *et al.*, 1998). Filogenetske linije sa Pirinejskog poluostrva i Kavkaza nisu kolonizovale sever Evrope, mada je filogenetska linija poreklom sa Kavkaza možda naselila sadašnji areal sa prostora refugijuma koje je potencijalno bio na području Irana. Razmena gena kod ove vrste između različitih filogenetskih linija nije dokumentovana. Ovakva paradigma naseljavanja severne Evrope podseća na slučaj mrmoljka (*Triturus cristatus*) (Hewitt, 1999), ali nije u potpunosti ista sa obzirom da je sever Evrope naseljen jedinkama jedne filogenetske linije koja naseljava i Apeninsko i Balkansko poluostrvo.

Najintrigantniji slučaj naseljavanja Evrope je dokumentovan kod kratkokljunog pužića. Naime naša istraživanja ukazuju da je verovatno Evropa naseljena sa područja istočnog refugijuma koji se nalazi na području centralne Azije koja nije bila toliko pogođena glacijacijama kao Evropa (Hewitt, 1996, 2000) (Slika 26). Evropa je naseljena iz dva talasa. Prvi talas se desio tokom srednjeg Pleistocena, gde se filogenetska linija *corsa/caucasica* raširila na području Evrope, ali je samo preživela na Kavkazu i Korzici, a nakon toga tokom gornjeg Pleistocena mlađa evolutivna linija je počela takođe da se širi prema zapadnom Palearktiku iz pravca istočnog Palearktika. Ovo je jedinstven način naseljavanja Evrope nakon glacijacija i do sada nije dokumentovan (Hewitt, 1999, 2000).

## 6. ZAKLJUČCI

Pleistocenske glacijacije su imale značajan uticaj na filogenetsku strukturu običnog zviždka, običnog popića i kratkokljunog puzića. Sve tri vrste su preživjele glacijalne maksimume na području različitih refugijuma, i različiti refugijumi su iznedrili koloniste koji su naselili sever Evroazije u periodima interglacijacija. Genetička varijabilnost populacija sve tri vrste je geografski strukturirana.

Analize rađene na mitohondrijalnom *ND2* genu kod običnog zviždka ukazale su na postojanje šest filogenetskih linija na prostoru celog areala. Kod običnog zviždka, analize nuklearnog polno vezanog gena *ACO119* ukazale su na slabu diferencijaciju između podvrsta, ali generalni obrazac analize molekularne varijanse (AMOVA) pratio je diferencijaciju između podvrsta. Sve podvrste običnog zviždka u zonama preklapanja su hibridizovale ukazujući na početni stadijum specijacije podvrsta ove vrste. Hibridne zone su takođe pronađene i između vrsta iz kompleksa običnog zviždka i nekih podvrsta običnog zviždka potvrđujući činjenicu da je reč o kompleksu vrsta koje su nekad smatrane za podvrste običnog zviždka.

Kod običnog popića analize mitohondrijalnog gena, višelokusne analize, analize razgraničenja vrsta (BPP) kao i MIGRATE procene protoka gena se slažu jedne sa drugima i jasno dokazuju postojanje tri različite, evoluciono nezavisne grupe populacija. Između pripadnika ove tri evolutivne linije koje su evoluirale na području glacijalnih refugijuma na području Pirinejskog poluostrva, Kavkaza kao i na području Balkanskog i Apeninskog poluostrva nema dokumentovanih zona hibridizacija, i ove populacije su diferencirane kako u mitohondrijalnom genu, tako i u 10 nuklearnih gena što ukazuje na krajnji stadijum specijacije. Dalje, ove analize ukazuju da je umereni i severni deo Evrope naseljen sa područja Balkanskog i Apeninskog poluostrva koji su verovatno bili zajednički refugijum tokom Pleistocenskih glacijacija.

Mitohondrijalne sekvence *COI*, *ATP6* i *ND2* gena otkrivaju evolucionu istoriju kratkokljunog puzića koji se razdvaja na dve glavne filogenetske linije: prva koje do sada bila nepoznata, kriptična i stara filogenetska linija sa alopatričkim rasprostranjenjem koje je ograničeno na ostrvo Korziku i region Kavkaza; i drugu, mlađu i široko rasprostranjenu filogenetsku liniju koja naseljava većinu Evroazije i severnog dela Kine. Ova mlađa filogenetska linija je dalje podeljena na tri filogenetske

linije čiji su odnosi nerazjašeni sa obzirom na slabu statističku podržanost razdvajanja. Jedna od njih uključuje zapadno evroazijske podvrste *C. f. britannica*, *C. f. macrodactyla*, *C. f. familiaris*, *C. f. tianschanica*, dok druge dve filogenetske linije odgovaraju podvrstama *C. f. daurica* i *C. f. bianchii*. Filogenetski odnosi između nuklearnih alela često nisu imali statističku podržanost verovatno zbog skorašnjeg razdvajanja filogenetskih linija. Glavno nepodudaranje filogenetskih stabala dobijenih iz mitohondrijalnih i nuklearnih gena je sestrinski odnos između filogenetske linije poreklom sa Korzike i filogenetskih linija sa prostora Evroazije koje je dobijeno u nuklearnom filogenetskom stablu, dok su podvrste *C. f. corsa* i *C. f. caucasica* formiraju statistički podržanu filogenetsku liniju u mitohondrijalnom filogenetskom stablu. Za razliku od prethodne dve vrste, severna Evropa je naseljena iz dva puta, i oba puta sa područja istočnog refugijuma, dok je paleoendemična evolutivna linija preživela ledeno doba na području ostrva Korzike i Kavkaza.

## 7. LITERATURA

- Adams, J. (1997) *Global land environments since the last interglacial*. Oak Ridge. TN, USA.
- Avise, J. C. and Walker, D. (1998) 'Pleistocene phylogeographic effects on avian populations and the speciation process', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265, pp. 457–463.
- Backström, N., Fagerberg, S. and Ellegren, H. (2008) 'Genomics of natural bird populations: A gene-based set of reference markers evenly spread across the avian genome', *Molecular Ecology*, 17(4), pp. 964–980. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03551.x.
- Bairlein, F. *et al.* (2006) 'Family Sylviidae (Warblers)', in del Hoyo, J., Elliott, A., and Christie, D. A. (eds) *Handbook of the Birds of the World Volume 12*. Barcelona: Lynx Edicions, pp. 492–709.
- Baker, K. (1997) *Warblers of Europe, Asia and North Africa*. London: Helm.
- Bandelt, H.-J., Forster, P. and Rohlf, A. (1999) 'Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies', *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), pp. 37–48. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036.
- Barracough, T. G. and Vogler, A. P. (2000) 'Detecting the Geographical Pattern of Speciation from Species-Level Phylogenies', *The American Naturalist*, 155(4), pp. 419–434. doi: 10.1086/303332.
- Berli, P. and Palczewski, M. (2010) 'Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations', *Genetics*, 185(1), pp. 313–326. doi: 10.1534/genetics.109.112532.
- Bennett, K. D. and Provan, J. (2008) 'What do we mean by "refugia"?', *Quaternary Science Reviews*. Elsevier Ltd, 27(27–28), pp. 2449–2455. doi: 10.1016/j.quascirev.2008.08.019.
- Bennett, K. J. (1997) *Evolution and Ecology: The Pace of Life*. Cambridge: Cambridge University Press.

- Bensasson, D. *et al.* (2001) 'Mitochondrial pseudogenes: Evolution's misplaced witnesses', *Trends in Ecology and Evolution*, pp. 314–321. doi: 10.1016/S0169-5347(01)02151-6.
- Bouckaert, R. *et al.* (2014) 'BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis', *PLoS Computational Biology*, 10(4), pp. 1–6. doi: 10.1371/journal.pcbi.1003537.
- Brambilla, M. *et al.* (2008) 'A molecular phylogeny of the *Sylvia cantillans* complex: Cryptic species within the Mediterranean basin', *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(2), pp. 461–472. doi: 10.1016/j.ympev.2008.05.013.
- Brito, P. H. (2005) 'The influence of Pleistocene glacial refugia on tawny owl genetic diversity and phylogeography in western Europe', *Molecular Ecology*, 14(10), pp. 3077–3094. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02663.x.
- Bures, S., Nadvornik, P. and Saetre, G.-P. (2002) 'Brief report Hybridization and apparent hybridization between meadow pipit (*Anthus pratensis*) and water pipit (*A. spinoletta*)', *Hereditas*, 136, pp. 254–256.
- Chen, Y.-C. *et al.* (2019) 'The niches of nuthatches affect their lineage evolution differently across latitude', *Molecular Ecology*, 28(4), pp. 803–817. doi: <https://doi.org/10.1111/mec.14980>.
- Ciach, M. (2009) 'Leaf warblers (*Phylloscopus* spp.) as a model group in migration ecology studies', *The Ring*, 31, p. 2. doi: 10.2478/v10050-008-0050-x.
- Clarke, A. L., Saether, B.-E. and Roskaft, E. (1997) 'Sex biases in avian dispersal: a reappraisal', *Oikos*, 79, pp. 429–438. doi: 10.2307/3546885.
- Clarke, T., Orgill, C. and Disley, T. (2006) *Field guide to the birds of the Atlantic Islands: Canary Islands, Madeira, Azores*. Cape Verde: Helm Field Guides.
- Clement, M., Posada, D. and Crandall, K. A. (2000) 'TCS: a computer program to estimate gene genealogies', *Molecular Ecology*, 9(10), pp. 1657–1660. doi: 10.1046/j.1365-294x.2000.01020.x.
- Clement, P. and Helbig, A. T. (1998) 'Taxonomy and identification of chiffchaffs in the



western Palearctic', *British Birds*, 91(9), pp. 361–376.

Clements, J. *et al.* (2015) 'The eBird/Clements checklist of birds of the world. The Cornell Lab Ornithology, Ithaca, NY'.

Cramp, S. (1992) *Handbook of the Birds of Europe, the Middle East and North Africa: The Birds of the Western Palearctic: Warblers Vol 6*. Oxford: Oxford University Press.

Cramp, S. and Perrins, C. M. (eds) (1993) *The Birds of the Western Palearctic Vol VII*. Oxford: Oxford University Press.

Currat, M. *et al.* (2008) 'The hidden side of invasions: massive introgression by local genes', *Evolution*, 62(8), pp. 1908–1920. doi: 10.1111/j.1558-5646.2008.00413.x.

Darriba, D. *et al.* (2012) 'jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing', *Nature Methods*. Nature Publishing Group, 9(8), pp. 772–772. doi: 10.1038/nmeth.2109.

Davies, N. B. and Lundberg, A. (1984) 'Food Distribution and a Variable Mating System in the Dunnock, *Prunella modularis*', *The Journal of Animal Ecology*, 53(3), pp. 895–912. doi: 10.2307/4666.

Dickinson, E. (2003) *The Howard & Moore Complete Checklist of the Birds*. New Jersey: Princeton University Press.

Dickinson, E. and Christidis, L. (2014) *The Howard and Moore Complete Checklist of the Birds of the World, Vol 2*. Eastbourne, UK: Aves Press.

Drovetski, S. V. (2003) 'Plio-Pleistocene climatic oscillations, Holarctic biogeography and speciation in an avian subfamily', *Journal of Biogeography*, 30(8), pp. 1173–1181. doi: 10.1046/j.1365-2699.2003.00920.x.

Drovetski, S. V. *et al.* (2004) 'Mitochondrial phylogeny of *Locustella* and related genera', *Journal of Avian Biology*, 35(2), pp. 105–110. doi: 10.1111/j.0908-8857.2004.03217.x.

Drovetski, S. V. *et al.* (2010) 'A multilocus study of pine grosbeak phylogeography supports the pattern of greater intercontinental divergence in Holarctic boreal forest birds than in birds inhabiting other high-latitude habitats', *Journal of Biogeography*,

37(4), pp. 696–706. doi: 10.1111/j.1365-2699.2009.02234.x.

Drovetski, S. V. *et al.* (2013) ‘Geographic mode of speciation in a mountain specialist Avian family endemic to the Palearctic’, *Ecology and Evolution*, 3(6), pp. 1518–1528. doi: 10.1002/ece3.539.

Drovetski, S. V. *et al.* (2014) ‘Limited phylogeographic signal in sex-linked and autosomal loci despite geographically, ecologically, and phenotypically concordant structure of mtDNA variation in the holarctic avian genus *eremophila*’, *PLoS ONE*. Public Library of Science, 9(1), p. e87570. doi: 10.1371/journal.pone.0087570.

Drovetski, S. V. *et al.* (2015) ‘Effects of asymmetric nuclear introgression, introgressive mitochondrial sweep, and purifying selection on phylogenetic reconstruction and divergence estimates in the pacific clade of *Locustella* Warblers’, *PLoS ONE*, 10(4), p. e0122590. doi: 10.1371/journal.pone.0122590.

Drovetski, S. V. *et al.* (2018) ‘Molecular Phylogenetics and Evolution Multi-locus reassessment of a striking discord between mtDNA gene trees and taxonomy across two congeneric species complexes’, *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Elsevier, 120, pp. 43–52. doi: 10.1016/j.ympev.2017.11.023.

Drummond, A. J. *et al.* (2006) ‘Relaxed phylogenetics and dating with confidence’, *PLoS Biology*, 4(5), pp. 699–710. doi: 10.1371/journal.pbio.0040088.

Drummond, A. J. *et al.* (2012) ‘Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7’, *Molecular Biology and Evolution*, 29(8), pp. 1969–1973. doi: 10.1093/molbev/mss075.

Drummond, A. J. and Rambaut, A. (2007) ‘BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees’, *BMC evolutionary biology*, 7, p. 214. doi: 10.1590/2175-7860201667537.

Eberhard, J. R. and Bermingham, E. (2004) ‘Phylogeny and biogeography of the *Amazona ochrocephala* (Aves: Psittacidae) complex’, *The Auk*, 121(2), pp. 318–332. doi: 10.1642/0004-8038(2004)121[0318:PABOTA]2.0.CO;2.

Edwards, S. V. (2009) ‘Is a new and general theory of molecular systematics emerging?’, *Evolution*, 63(1), pp. 1–19. doi: 10.1111/j.1558-5646.2008.00549.x.

- Egea, R., Casillas, S. and Barbadilla, A. (2008) ‘Standard and generalized McDonald-Kreitman test: a website to detect selection by comparing different classes of DNA sites.’, *Nucleic acids research*, 36(Web Server issue), pp. 157–162. doi: 10.1093/nar/gkn337.
- Excoffier, L., Foll, M. and Petit, R. J. (2009) ‘Genetic consequences of range expansions’, *Annual Review of Ecology and Systematics*, 40, pp. 481–501. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173414.
- Excoffier, L. and 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, pp. 564–567. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
- Fahey, A. L., Ricklefs, R. E. and Dewoody, J. A. (2014) ‘DNA-based approaches for evaluating historical demography in terrestrial vertebrates’, *Biological Journal of the Linnean Society*, 112, pp. 367–386.
- Förschler, M. I. *et al.* (2009) ‘Molecular Phylogenetics and Evolution The species status of the Corsican finch *Carduelis corsicana* assessed by three genetic markers with different rates of evolution’, *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Elsevier Inc., 52(1), pp. 234–240. doi: 10.1016/j.ympev.2009.02.014.
- Garcia-del-Rey, E. (2011) *Field Guide to the birds of Macaronesia. Azores, Madeira, Canary Islands, Cape Verde*. Bellaterra. Barcelona: Lynx edicions.
- Garvin, M. R. *et al.* (2015) ‘Review and meta-analysis of natural selection in mitochondrial complex I in metazoans’, *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 53(1), pp. 1–17. doi: 10.1111/jzs.12079.
- Gill, F. and Donsker, D. (2018) *IOC World Bird List (v8.2)*. doi: 10.14344/IOC.ML.8.2.
- Greenwood, P. J. (1980) ‘Mating systems , philopatry and dispersal in birds and mammals’, *Animal behaviour*, 28, pp. 1140–1162.
- Guthrie, R. D. (1990) *Frozen Fauna of the Mammoth Steppe: the Story of Blue Babe*. Chicago: University of Chicago Press.
- Hackett, S. J. (1996) ‘Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the

genus *Ramphocelus* (Aves).’, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 5(2), pp. 368–82. doi: 10.1006/mpev.1996.0032.

Haldane, M. A. (1922) ‘Sex Ratio and Unisexual Sterility in Hybrid Animals’, *Journal of Genetics*, 12(2), pp. 101–109.

Hansson, B. *et al.* (2008) ‘Postglacial colonisation patterns and the role of isolation and expansion in driving diversification in a passerine bird’, *PLoS ONE*, 3(7). doi: 10.1371/journal.pone.0002794.

Hansson, M., Bensch, S. and Brännström, O. (2000) ‘Range expansion and the possibility of an emerging contact zone between two subspecies of Chiffchaff *Phylloscopus collybita* ssp’, *Journal of Avian Biology*, 31(4), pp. 548–558. doi: 10.1034/j.1600-048X.2000.1310414.x.

Harrap, S. (2008) ‘Family Certhiidae (treecreepers)’, in del Hoyo J., Elliott, A., and Christie, D. (eds) *Handbook of the birds of the world, Vol. 13 Pendulines tits to Shrikes*. Barcelona: Lynx edicions, pp. 166–187.

Harrap, S. and Quinn, D. (1996) *Tits, nuthatches & treecreepers*. London, UK: Blackwell Publishing Ltd.

Hatchwell, B. (2005) ‘Family Prunellidae (Accentors)’, in *Handbook of birds of the world (eds J del Hoyo, A Elliott, DA Christie)*. Barselona: Lynx Edicions, p. 10.

Head, M. J. and Gibbard, P. L. (2005) ‘Early-Middle Pleistocene transitions: an overview and recommendation for the defining boundary’, in Head, M. J. and Gibbard, P. L. (eds) *Early-middle Pleistocene transitions: the land-ocean evidence*. London: Geological Society of London, pp. 1–18. doi: 10.1144/GSL.SP.2005.247.01.01.

Helbig, A. J. *et al.* (1995) ‘Genetic differentiation and phylogenetic relationships of Bonelli’s Warbler *Phylloscopus bonelli* and Green Warbler *P. nitidus*’, *Journal of Avian Biology*, 26, pp. 139–153.

Helbig, A. J. *et al.* (1996) ‘Phylogeny and species limits in the Palearctic chiffchaff *Phylloscopus collybita* complex: mitochondrial genetic differentiation and bioacoustic evidence’, *Ibis*, 138, pp. 650–666.

- Helbig, A. J. *et al.* (2001) 'Male-biased gene flow across an avian hybrid zone: Evidence from mitochondrial and microsatellite DNA', *Journal of Evolutionary Biology*, 14(2), pp. 277–287. doi: 10.1046/j.1420-9101.2001.00273.x.
- Helbig, A. J. *et al.* (2002) 'Guidelines for assigning species rank', *Ibis*, 144, pp. 518–525. doi: 10.1046/j.1474-919X.2002.00091.x.
- Helbig, A. J. *et al.* (2005) 'A multi-gene phylogeny of aquiline eagles ( Aves: Accipitriformes ) reveals extensive paraphyly at the genus level', *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 35, pp. 147–164. doi: 10.1016/j.ympev.2004.10.003.
- Heled, J. and Drummond, A. J. (2008) 'Bayesian inference of population size history from multiple loci', *BMC Evolutionary Biology*, 8(289). doi: 10.1186/1471-2148-8-289.
- Heled, J. and Drummond, A. J. (2010) 'Bayesian Inference of Species Trees from Multilocus Data Research article', *Molecular Biology and Evolution*, 27(3), pp. 570–580. doi: 10.1093/molbev/msp274.
- Heled, J. and Vaughan, T. (2014) 'Extended Bayesian Skyline Plot tutorial for BEAST 2', pp. 1–15. Available at: <http://evomics.org/wpengine.netdna-cdn.com/wp-content/uploads/2015/11/ebsp2-tut1.pdf>.
- Hewitt, G. (1999) 'Post-glacial re-colonization of European biota', *Biological Journal of the Linnean Society*, 68(1–2), pp. 87–112. doi: 10.1111/j.1095-8312.1999.tb01160.x.
- Hewitt, G. (2000) 'The genetic legacy of the Quaternary ice ages.', *Nature*, 405(6789), pp. 907–913. doi: 10.1038/35016000.
- Hewitt, G. M. (1993) 'Post-glacial distribution and species substructure: lessons from pollen, insects and hybrid zones', in Lees, D. R. and Edwards, D. (eds) *Evolutionary Patterns and Processes. Linnean Society Symposium Series 14*. London: Academic Press, pp. 97–123.
- Hewitt, G. M. (1996) 'Some genetic consequences of ice ages, and their role, in divergence and speciation', *Biological Journal of the Linnean Society*, 58(3), pp. 247–276. doi: 10.1006/bijl.1996.0035.
- Hewitt, G. M. (2004) 'Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary.',

*Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 359(1442), p. 183–195; discussion 195. doi: 10.1098/rstb.2003.1388.

Hogner, S. *et al.* (2012) ‘Deep sympatric mitochondrial divergence without reproductive isolation in the common redstart *Phoenicurus phoenicurus*’, *Ecology and Evolution*, 2(12), pp. 2974–2988. doi: 10.1002/ece3.398.

del Hoyo, J. and Collar, N. J. (2014) *HBW and BirdLife International illustrated checklist of the birds of the world. Volume 2. Passerines*. Barcelona: Lynx Edicions.

Hudson, R. R., Kreitman, M. and Aguade, M. (1987) ‘A test of neutral molecular evolution based on nucleotide data’, *Genetics*, 116, pp. 153–159.

Huelsenbeck, J. and Crandall, K. (1997) ‘Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood’, *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28(1), pp. 437–466. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.28.1.437.

Hung, C.-M., Drovetski, S. V. and Zink, R. M. (2017) ‘The roles of ecology, behaviour and effective population size in the evolution of a community’, *Molecular Ecology*, 26(14), pp. 3775–3784. doi: doi.org/10.1111/mec.14152.

Hung, C.-M., Drovetski, S. V. and Zink, R. M. (2012) ‘Multilocus coalescence analyses support a mtDNA-based phylogeographic history for a widespread Palearctic passerine bird, *Sitta europaea*’, *Evolution*, 66(9), pp. 2850–2864. doi: 10.1111/j.1558-5646.2012.01657.x.

Hung, C.-M., Drovetski, S. V. and Zink, R. M. (2016) ‘Matching loci surveyed to questions asked in phylogeography’, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 283(1826). doi: 10.1098/rspb.2015.2340.

Hung, C. M., Drovetski, S. V. and Zink, R. M. (2013) ‘Recent allopatric divergence and niche evolution in a widespread Palearctic bird, the common rosefinch (*Carpodacus erythrinus*)’, *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Elsevier Inc., 66(1), pp. 103–111. doi: 10.1016/j.ympev.2012.09.012.

Ibrahim, K. M., Nichols, R. A. and Hewitt, G. M. (1996) ‘Spatial patterns of genetic variation generated by different forms of dispersal during range expansion’, *Heredity*, 77, pp. 282–291. doi: 10.1038/hdy.1996.142.

- Johansson, U. S., Fjeldså, J. and Bowie, R. C. K. (2008) 'Phylogenetic relationships within Passerida (Aves: Passeriformes): A review and a new molecular phylogeny based on three nuclear intron markers', *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48, pp. 858–876. doi: 10.1016/j.ympev.2008.05.029.
- Johnsen, A. *et al.* (2010) 'DNA barcoding of Scandinavian birds reveals divergent lineages in trans-Atlantic species', *Journal of Ornithology*, 151, pp. 565–578. doi: 10.1007/s10336-009-0490-3.
- Kimball, R. T. *et al.* (2009) 'A well-tested set of primers to amplify regions spread across the avian genome', *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Elsevier Inc., 50(3), pp. 654–660. doi: 10.1016/j.ympev.2008.11.018.
- Koopman, M. E. *et al.* (2005) 'Genetic similarity among Eurasian subspecies of boreal owls *Aegolius funereus*', *Journal of Avian Biology*, 36, pp. 179–183.
- Kvist, L. *et al.* (2003) 'Evolution and genetic structure of the great tit ( *Parus major* ) complex Evolution and genetic structure of the great tit ( *Parus major* ) complex', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270, pp. 1447–1454. doi: 10.1098/rspb.2002.2321.
- Kvist, L. *et al.* (2004) 'Glacial history and colonization of Europe by the blue tit *Parus caeruleus*', *Journal of Avian Biology*, 35, pp. 352–359.
- Lanfear, R. *et al.* (2012) 'PartitionFinder : Combined Selection of Partitioning Schemes and Substitution Models for Phylogenetic Analyses', *Molecular Biology and Evolution*, 29(6), pp. 1695–1701. doi: 10.1093/molbev/mss020.
- Lerner, H. R. L. *et al.* (2011) 'Multilocus resolution of phylogeny and timescale in the extant adaptive radiation of Hawaiian honeycreepers', *Current Biology*, 21(21), pp. 1838–1844. doi: 10.1016/j.cub.2011.09.039.
- Librado, P. and Rozas, J. (2009) 'DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data', *Bioinformatics*, 25(11), pp. 1451–1452. doi: 10.1093/bioinformatics/btp187.
- Liu, B. *et al.* (2017) 'Explosive radiation and spatial expansion across the cold environments of the Old World in an avian family', *Ecology and Evolution*, 7, pp.

6346–6357. doi: 10.1002/ece3.3136.

Magri, D. *et al.* (2006) ‘A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences’, *New Phytologist*, 171, pp. 199–221.

Marova, I. *et al.* (2013) ‘Siberian and East European chiffchaffs: Geographical distribution, morphological features, vocalization, phenomenon of mixed singing, and evidences of hybridization in sympatry zone’, in Martínez, N. R., Fernández, J. G., and Copete, J. L. (eds) *El mosquitero ibérico*. Leon: Grupo Iberico de Anillamiento., pp. 119–139.

Marova, I. M. *et al.* (2009) ‘Genetic and Vocal Differentiation in Hybrid Zones of Passerine Birds: Siberian and European Chiffchaffs (*Phylloscopus [collybita] tristis* and *Ph. [c.] abietinus*) in the Southern Urals’, *Doklady Biological Sciences*, 427(6), pp. 848–850. doi: 10.1134/S0012496609040231.

Martens, J. and Hanel, S. (1981) ‘Gesangsformen und Verwandtschaft der asiatischen Zilpzalpe *Phylloscopus collybita abietinus* und *Ph. c. sindianus\**’, *Journal für Ornithologie*, 122(4), pp. 403–427.

McDonald, J. H. and Kreitman, M. (1991) ‘Adaptive protein evolution at the *Adh* locus in *Drosophila*’, *Nature*, 351, pp. 652–654.

Milne, I. *et al.* (2004) ‘TOPALi: Software for automatic identification of recombinant sequences within DNA multiple alignments’, *Bioinformatics*, 20(11), pp. 1806–1807. doi: 10.1093/bioinformatics/bth155.

Miralles, A. and Vences, M. (2013) ‘New Metrics for Comparison of Taxonomies Reveal Striking Discrepancies among Species Delimitation Methods in *Madascincus* Lizards’, *PLoS ONE*, 8(7), p. e68242. doi: 10.1371/journal.pone.0068242.

Nazarizadeh, M. *et al.* (2016) ‘Phylogenetic relationships of Eurasian Nuthatches (*Sitta europaea* Linnaeus, 1758) from the Alborz and Zagros Mountains, Iran’, *Zoology in the Middle East*, 62(3), pp. 217–226. doi: 10.1080/09397140.2016.1226547.

Nei, M. (1987) *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia university press.



- Ng, N. S. R. *et al.* (2018) 'A striking new species of leaf warbler from the Lesser Sundas as uncovered through morphology and genomics', *Scientific Reports*. Springer US, 8(1), p. 15646. doi: 10.1038/s41598-018-34101-7.
- Päckert, M. and Martens, J. (2004) 'Song dialects on the Atlantic islands: Goldcrests of the Azores (*Regulus regulus azoricus*, *R. r. sanctae-mariae*, *R. r. inermis*)', *Journal of Ornithology*, 145(1), pp. 23–30. doi: 10.1007/s10336-003-0003-8.
- Päckert, M., Martens, J. and Severinghaus, L. L. (2009) 'The Taiwan Firecrest (*Regulus goodfellowi*) belongs to the Goldcrest assemblage (*Regulus regulus* s. l.): Evidence from mitochondrial DNA and the territorial song of the Regulidae', *Journal of Ornithology*, 150(1), pp. 205–220. doi: 10.1007/s10336-008-0335-5.
- Päckert, M., Martens, J. and Sun, Y. H. (2010) 'Phylogeny of long-tailed tits and allies inferred from mitochondrial and nuclear markers (Aves: Passeriformes, Aegithalidae)', *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Elsevier Inc., 55(3), pp. 952–967. doi: 10.1016/j.ympev.2010.01.024.
- Parducci, L. *et al.* (2012) 'Glacial survival of boreal trees in northern Scandinavia.', *Science*, 335(6072), pp. 1083–6. doi: 10.1126/science.1216043.
- Pavlova, a *et al.* (2003) 'Phylogeographic patterns in *Motacilla flava* and *Motacilla citreola*: species limits and population history.', *The Auk*, 120(3), pp. 744–758. doi: 10.1642/0004-8038(2003)120.
- Pellegrino, I. *et al.* (2014) 'Phylogeography and Pleistocene refugia of the Little Owl *Athene noctua* inferred from mtDNA sequence data', *Ibis*, 156(3), pp. 639–657. doi: 10.1111/ibi.12162.
- Pentzold, S. *et al.* (2013) 'Where is the line? Phylogeography and secondary contact of western Palearctic coal tits (*Parus ater*: Aves, Passeriformes, Paridae)', *Zoologischer Anzeiger*. Elsevier GmbH., 252(3), pp. 367–382. doi: 10.1016/j.jcz.2012.10.003.
- Perktaş, U. *et al.* (2014) 'Climate-driven range shifts and demographic events over the history of Kruper's Nuthatch *Sitta krueperi*', *Bird Study*, 62(1), pp. 14–28. doi: 10.1080/00063657.2014.977220.
- Perktaş, U. and Quintero, E. (2013) 'A wide geographical survey of mitochondrial DNA

variation in the great spotted woodpecker complex, *Dendrocopos major* (Aves: Picidae)', *Biological Journal of the Linnean Society*, 108(1), pp. 173–188. doi: 10.1111/j.1095-8312.2012.02003.x.

Pons, J. *et al.* (2006) 'Sequence-Based Species Delimitation for the DNA Taxonomy of Undescribed Insects', *Systematic Biology*, 55(4), pp. 595–609. doi: 10.1080/10635150600852011.

Pons, J. M. *et al.* (2011) 'Phylogeography of the Eurasian green woodpecker (*Picus viridis*)', *Journal of Biogeography*, 38(2), pp. 311–325. doi: 10.1111/j.1365-2699.2010.02401.x.

Pons, J. M. *et al.* (2016) 'The role of western Mediterranean islands in the evolutionary diversification of the spotted flycatcher *Muscicapa striata*, a long-distance migratory passerine species', *Journal of Avian Biology*, 47(3), pp. 386–398. doi: 10.1111/jav.00859.

Price, T. D. (2010) 'The roles of time and ecology in the continental radiation of the Old World leaf warblers (*Phylloscopus* and *Seicercus*)', *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 365, pp. 1749–1762. doi: 10.1098/rstb.2009.0269.

Price, T. D. and Bouvier, M. M. (2002) 'The evolution of F1 postzygotic incompatibilities in birds', *Evolution*, 56(10), pp. 2083–2089.

Primmer, C. R. *et al.* (2002) 'Single-nucleotide polymorphism characterization in species with limited available sequence information: High nucleotide diversity revealed in the avian genome', *Molecular Ecology*, 11(3), pp. 603–612. doi: 10.1046/j.0962-1083.2001.01452.x.

Reid, N. M. and Carstens, B. C. (2012) 'Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model', *BMC evolutionary biology*, 12, p. 196.

Rodrigues, P. *et al.* (2013) 'Phylogeography and genetic diversity of the Robin (*Erithacus rubecula*) in the Azores Islands: Evidence of a recent colonisation', *Journal of Ornithology*, 154(4), pp. 889–900. doi: 10.1007/s10336-013-0953-4.

Rodrigues, P. *et al.* (2016) 'Genetic Diversity of the Azores Blackbirds *Turdus merula*

- Reveals Multiple Founder Events’, *Acta Ornithologica*, 51(2), pp. 221–234. doi: 10.3161/00016454AO2016.51.2.008.
- Rohling, E. J. *et al.* (1998) ‘Magnitudes of sea-level lowstands of the past 500,000 years’, *Nature*, 394, pp. 162–165. doi: 10.1038/28134.
- Ronquist, F. *et al.* (2012) ‘MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space’, *Systematic biology*, 61(3), pp. 539–542. doi: 10.1093/sysbio/sys029.
- Salomon, M. *et al.* (1997) ‘Morphometric differentiation between male Common Chiffchaffs, *Phylloscopus [c.] collybita* Vieillot, 1817, and Iberian Chiffchaffs, *P. [c.] brehmii* Homeyer, 1871, in a secondary contact zone (Aves: Sylviidae)’, *Zoologischer Anzeiger*, 236, pp. 25–36.
- Salomon, M., Voisin, J. and Bried, J. (2003) ‘On the taxonomic status and denomination of the Iberian Chiffchaffs’, *Ibis*, 145(1), pp. 87–97.
- Satler, J. D., Carstens, B. C. and Hedin, M. (2013) ‘Multilocus Species Delimitation in a Complex of Morphologically Conserved Trapdoor Spiders ( Mygalomorphae , Antrodiaetidae , Aliatypus )’, *Systematic biology*, 62(6), pp. 805–823. doi: 10.1093/sysbio/syt041.
- Schmitt, T. and Varga, Z. (2012) ‘Extra-Mediterranean refugia: The rule and not the exception?’, *Frontiers in Zoology*, 9(1), p. 22. doi: 10.1186/1742-9994-9-22.
- Shipilina, D. *et al.* (2017) ‘Patterns of genetic, phenotypic, and acoustic variation across a chiffchaff ( *Phylloscopus collybita abietinus/tristis* ) hybrid zone’, *Ecology and Evolution*, (August 2016), pp. 1–12. doi: 10.1002/ece3.2782.
- Snow, D. J. *et al.* (1998) *The birds of the western palearctic. Concise edition. vol. 2 passerines*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Sokolovskis, K. *et al.* (2018) ‘Ten grams and 13,000 km on the wing – route choice in willow warblers *Phylloscopus trochilus yakutensis* migrating from Far East Russia to East Africa’, *Movement Ecology*. *Movement Ecology*, 6, p. 20. doi: 10.1186/s40462-018-0138-0.

- Sorenson, M. D. *et al.* (1999) 'Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates.', *Molecular phylogenetics and evolution*, 12(2), pp. 105–114. doi: 10.1006/mpev.1998.0602.
- Stepanyan, L. S. (2003) *Conspectus of the ornithological fauna of Russia and adjacent territories (within the borders of the USSR as a historic region)*. Moscow, Russia: Academkniga.
- Stephens, M., Smith, N. J. and Donnelly, P. (2001) 'A new statistical method for haplotype reconstruction from population data.', *American journal of human genetics*, 68(4), pp. 978–989. doi: 10.1086/319501.
- Stewart, J. R. *et al.* (2009) 'Refugia revisited: individualistic responses of species in space and time.', *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 277(1682), pp. 661–71. doi: 10.1098/rspb.2009.1272.
- Stewart, J. R. and Lister, A. M. (2001) 'Cryptic northern refugia and the origins of the modern biota', *Trends in Ecology and Evolution*, 16(11), pp. 608–613.
- Subramanian, S. *et al.* (2009) 'High mitogenomic evolutionary rates and time dependency', *Trends in Genetics*, 25(11), pp. 482–486.
- Taberlet, P. *et al.* (1998) 'Comparative phylogeography and postglacial colonization', *Molecular Ecology*, 7(1998), pp. 453–464. doi: doi:10.1046/j.1365-294x.1998.00289.x.
- Tajima, F. (1989) 'Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism', *Genetics*, 123(123), pp. 585–595.
- Tajima, F. (1996) 'The Amount of DNA polymorphism maintained in the Finite Population when the Neutral Mutation Rate Varies Among Sites.', *Genetics*, 143(3), pp. 1457–1465.
- Tamura, K. *et al.* (2013) 'MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0', *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), pp. 2725–2729. doi: 10.1093/molbev/mst197.
- Thibault, J.-C. *et al.* (2006) 'Habitat requirements and foraging behaviour of the Corsican nuthatch *Sitta whiteheadi*', *Journal of Avian Biology*, 37, pp. 477–486. doi:

10.1111/j.0908-8857.2006.03645.x.

Thibault, J.-C. and Bonaccorsi, G. (1999) *The birds of Corsica: an annotated checklist*. Tring: British Ornithologists' Union.

Thibault, J. C. *et al.* (2016) 'Quaternary history of an endemic passerine bird on Corsica Island: Glacial refugium and impact of recent forest regression', *Quaternary Research (United States)*. University of Washington, 85(2), pp. 271–278. doi: 10.1016/j.yqres.2016.01.002.

Ticehurst, C. B. (1938) *A Systematic Review of the Genus Phylloscopus*. London, UK: British Museum (Natural History).

Tietze, D. T. (2007) *Differentiation processes in treecreepers (Aves: Certhia): phylogeny, vocalisations, morphometrics* University of Mainz, Germany: 116 p. University of Mainz, Germany.

Tietze, D. T. *et al.* (2008) 'Evolutionary history of treecreeper vocalisations (Aves : Certhia)', *Organisms Diversity & Evolution*, 8, pp. 305–324. doi: 10.1016/j.ode.2008.05.001.

Tietze, D. T. and Martens, J. (2009) 'Morphometric characterisation of treecreepers (genus Certhia)', *Journal of Ornithology*, 150, pp. 431–457. doi: 10.1007/s10336-008-0363-1.

Tietze, D. T., Martens, J. and Sun, Y. (2006) 'Molecular phylogeny of treecreepers (Certhia) detects hidden diversity', *Ibis*, 148, pp. 477–488.

Tritsch, C. *et al.* (2018) 'Gene flow in the European coal tit, *Periparus ater* (Aves : Passeriformes): low among Mediterranean populations but high in a continental contact zone', *Biological Journal of the Linnean Society*, 124(3), pp. 319–338. doi: 10.1093/biolinnean/bly043/4998292.

Tyrberg, T. (1998) *Pleistocene birds of the Palearctic: a catalogue*. Cambridge: MA: Nuttall Ornithological Club.

Tzedakis, P. C., Emerson, B. C. and Hewitt, G. M. (2013) 'Cryptic or mystic? Glacial tree refugia in northern Europe', *Trends in Ecology and Evolution*. Elsevier Ltd, 28(12),

pp. 696–704. doi: 10.1016/j.tree.2013.09.001.

Valente, L. *et al.* (2017) ‘Equilibrium Bird Species Diversity in Atlantic Islands’, *Current Biology*. Elsevier Ltd., 27(11), p. 1660–1666.e5. doi: 10.1016/j.cub.2017.04.053.

Vaurie, C. (1959) *The birds of the Palearctic fauna. Passeriformes*. London: H.F. & G. Witherby Ltd.

Voelker, G. *et al.* (2015) ‘The biogeographic history of *Phoenicurus* redstarts reveals an allopatric mode of speciation and an out-of-Himalayas colonization pattern’, *Systematics and Biodiversity*, 13(January), pp. 296–305. doi: 10.1080/14772000.2014.992380.

Ward, R. D. *et al.* (2005) ‘DNA barcoding Australia’s fish species’, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360, pp. 1847–1857. doi: 10.1098/rstb.2005.1716.

Watson, G. E., Traylor, M. A. and Mayr, E. (1986) ‘Family Sylviidae, Old World warblers’, in Mayr, E. and Cottrell, G. W. (eds) *Checklist to the Birds of the World, vol. XI*. Cambridge, MA: Museum of Comparative Zoology.

Weiss, S. and Ferrand, N. (2007) *Phylogeography of the Southern Europe refugia – evolutionary perspectives on the origins and conservation of European biodiversity*. Dordrecht: Springer Netherlands.

Williams, D. *et al.* (1998) *Quaternary Environments*. London: Arnold.

Yang, Z. (2015) ‘The BPP program for species tree estimation and species delimitation’, *Current Zoology*, 61(5), pp. 854–865. doi: 10.1093/czoolo/61.5.854.

Yang, Z. and Rannala, B. (2010) ‘Bayesian species delimitation using multilocus sequence data’, *PNAS*, 107(20), pp. 9264–9269. doi: 10.1073/pnas.0913022107.

Zink, R. M. (2004) ‘The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy’, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271, pp. 561–564. doi: 10.1098/rspb.2003.2617.

Zink, R. M. *et al.* (2009) ‘Taxonomic status and evolutionary history of the *Saxicola*

torquata complex’, *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Elsevier Inc., 52(3), pp. 769–773. doi: 10.1016/j.ympev.2009.05.016.

Zink, R. M. and Barrowclough, G. F. (2008) ‘Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography’, *Molecular Ecology*, 17(9), pp. 2107–2121. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03737.x.

Zink, R. M., Drovetski, S. V and Rohwer, S. (2006) ‘Selective neutrality of mitochondrial ND2 sequences, phylogeography and species limits in *Sitta europaea*’, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40, pp. 679–686. doi: 10.1016/j.ympev.2005.11.002.

## 8. PRILOZI

### 8.1. Korišćeni uzorci običnog zviždka i srodnih vrsta

Tabela P1. Oznake institucija koje čuvaju uzorke/preparirane jedinke (BMUM = University of Minnesota Bell Museum of Natural History, St. Paul, USA; CIBIO = Research Centre in Biodiversity and Genetic Resources, Vairao, Portugal; YSU = Yerevan State University, Yerevan, Armenia; UA = University of Aberdeen, Aberdeen, UK; UH = University of Haifa, Haifa, Israel; TCWC = Biodiversity Research and Teaching Collections at Texas A&M University, USA; NHMBEO = Natural History Museum, Belgrade, Serbia; YPM = Yale Peabody Museum of Natural History; USNM = National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, USA; ZMMU = Zoological Museum of Moscow University, Russia; UWBM = Burke Museum of Natural History and Culture; SDM = State Darwin Museum, Russia). Sve sekvence korišćene u doktoratu su javno dostupne i mogu se preuzeti sa sajta banke gena (GenBank). SGŠ = severna geografska širina; IGD = istočna geografska dužina.

Vrsta/podvrsta	Oznaka	SGŠ	IGD	ND2	ACO119a	ACO119b	CYTb
<i>Phylloscopus trochilus</i>	SDM IVF0800	55,18	46,56	MK113672	MK113425		
<i>Phylloscopus trochilus</i>	ZMMU SVD4734	60,79	59,55	MK113673	MK113426		
<i>Phylloscopus trochilus</i>	ZMMU SVD4735	60,79	59,55	MK113674	MK113427		
<i>Phylloscopus ibericus</i>	CIBIO 72340	40,73	-8,58	MK113555	MK113230	MK113231	
<i>Phylloscopus ibericus</i>	CIBIO 72341	40,73	-8,58	MK113556	MK113232	MK113233	
<i>Phylloscopus ibericus</i>	CIBIO 72342	40,73	-8,58	MK113557	MK113234	MK113235	
<i>Phylloscopus ibericus</i>	CIBIO 72343	40,73	-8,58	MK113558	MK113236	MK113237	
<i>Phylloscopus ibericus</i>	CIBIO 72345	40,73	-8,58	MK113559	MK113238	MK113239	
<i>Phylloscopus canariensis</i>	CIBIO PAL1	28,74	-17,74	MK113500	MK113145	MK113146	
<i>Phylloscopus canariensis</i>	CIBIO PAL2	28,74	-17,74	MK113501	MK113147		



<i>Phylloscopus canariensis</i>	CIBIO PAL4	28,74	-17,74	MK113503	MK113150	MK113151	
<i>Phylloscopus canariensis</i>	CIBIO PAL5	28,74	-17,74	MK113504	MK113152		
<i>Phylloscopus canariensis</i>	CIBIO PAL6	28,74	-17,74	MK113505	MK113153		
<i>Phylloscopus canariensis</i>	CIBIO PAL7	28,74	-17,74	MK113506	MK113154		
<i>Phylloscopus sindianus sindianus</i>	ZMMU 01062012	37,70	71,93	MK113616	MK113335		
<i>Phylloscopus sindianus sindianus</i>	ZMMU 06062012	37,70	71,93	MK113617			
<i>Phylloscopus sindianus sindianus</i>	ZMMU EAK393	36,91	72,18	MK113618	MK113336	MK113337	
<i>Phylloscopus sindianus sindianus</i>	ZMMU EAK399	36,91	72,18	MK113619	MK113338	MK113339	
<i>Phylloscopus sindianus sindianus</i>	ZMMU VD99327	36,92	72,18	MK113621	MK113341		
<i>Phylloscopus sindianus sindianus</i>	ZMMU MVN076	37,55	71,70	MK113620	MK113340		
<i>Phylloscopus sindianus lorenzii</i>	YSU IVF1062	40,98	43,74	MK113568	MK113250		
<i>Phylloscopus sindianus lorenzii</i>	YPM ORN 101842	43,92	40,78	MK113569	MK113251	MK113252	
<i>Phylloscopus sindianus lorenzii</i>	UWBM 64745	43,82	40,72	MK113570	MK113253		
<i>Phylloscopus sindianus lorenzii</i>	UWBM 64751	43,82	40,72	MK113571	MK113254	MK113255	
<i>Phylloscopus sindianus lorenzii</i>	UWBM 64775	43,82	40,72	MK113572	MK113256	MK113257	
<i>Phylloscopus sindianus lorenzii</i>	YSU SVD4619	40,57	44,69	MK113573	MK113258	MK113259	
<i>Phylloscopus sindianus lorenzii</i>	YSU SVD4629	40,37	44,69	MK113574	MK113260	MK113261	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO PAL3	28,74	-17,74	MK113502	MK113148	MK113149	
<i>Phylloscopus collybita</i>	SDM SVD4519	41,31	-8,73	MK113701	MK113463		
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03607	41,31	-8,73	MK113702			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03610	41,31	-8,73	MK113703			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03611	41,31	-8,73	MK113704			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03612	41,31	-8,73	MK113705			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03614	41,31	-8,73	MK113706			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03616	41,31	-8,73	MK113707			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03618	41,31	-8,73	MK113708			

<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03619	41,31	-8,73	MK113709			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03621	41,31	-8,73	MK113710			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03623	41,31	-8,73	MK113711			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC X03625	41,31	-8,73	MK113712			
<i>Phylloscopus collybita</i>	UA CC26	53,23	-2,61		MK113428		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UA SC02	51,94	1,32	MK113713			
<i>Phylloscopus collybita</i>	GenBank	48,55	2,71	DQ125988			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC I2016271	45,19	7,31	MK113563			
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC I2016276	45,19	7,31	MK113564	MK113244	MK113245	
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC I2016288	45,19	7,31	MK113565	MK113246		
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC I2016016	44,75	8,89	MK113560	MK113240	MK113241	
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC I2016039	44,75	8,89	MK113561	MK113242		
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC I2016049	44,75	8,89	MK113562	MK113243		
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC I2016202	40,39	15,85	MK113566	MK113247	MK113248	
<i>Phylloscopus collybita</i>	TCWC I2016234	40,25	16,11	MK113567	MK113249		
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU304	55,69	13,47	MK113642	MK113378	MK113379	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU300	55,69	13,47	MK113638	MK113374	MK113375	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU301	55,69	13,47	MK113639	MK113376	MK113377	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU302	55,69	13,47	MK113640			
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU303	55,69	13,47	MK113641			
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU306	55,69	13,47	MK113643	MK113380	MK113381	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU307	55,69	13,47	MK113644	MK113382	MK113383	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU308	55,69	13,47	MK113645	MK113384	MK113385	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU309	55,69	13,47	MK113646	MK113386	MK113387	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU310	55,69	13,47	MK113647	MK113388	MK113389	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU311	55,69	13,47	MK113648	MK113390	MK113391	

<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU312	55,69	13,47	MK113649	MK113392	MK113393	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU313	55,69	13,47	MK113650	MK113394	MK113395	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU314	55,69	13,47	MK113651	MK113396	MK113397	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU315	55,69	13,47	MK113652			
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU316	55,69	13,47	MK113653	MK113398	MK113399	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU348	62,98	18,17	MK113625	MK113348	MK113349	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU349	62,98	18,17	MK113626	MK113350	MK113351	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU356	63,00	18,19	MK113633	MK113364	MK113365	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU350	62,95	18,22	MK113627	MK113352	MK113353	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU352	62,93	18,22	MK113629	MK113356	MK113357	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU351	62,93	18,22	MK113628	MK113354	MK113355	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU353	62,99	18,28	MK113630	MK113358	MK113359	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU354	62,97	18,30	MK113631	MK113360	MK113361	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU355	62,97	18,30	MK113632	MK113362	MK113363	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU357	62,90	18,32	MK113634	MK113366	MK113367	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU358	62,90	18,32	MK113635	MK113368	MK113369	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU346	63,05	18,35	MK113623	MK113344	MK113345	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU347	63,05	18,35	MK113624	MK113346	MK113347	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU359	63,32	18,38	MK113636	MK113370	MK113371	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU345	63,03	18,40	MK113622	MK113342	MK113343	
<i>Phylloscopus collybita</i>	CIBIO LU360	63,29	18,70	MK113637	MK113372	MK113373	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHM BEO MR0641	43,20	19,17	MK113498	MK113139	MK113140	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHM BEO MR0682	43,20	19,17	MK113499	MK113143	MK113144	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHM BEO MR0681	43,20	19,17		MK113141	MK113142	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHM BEO MR0325	44,10	19,98	MK113489	MK113124	MK113125	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHM BEO MR0521	44,10	19,98	MK113493	MK113132		

<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0528	44,10	19,98	MK113495	MK113134	MK113135	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0531	44,10	19,98	MK113496	MK113136	MK113137	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YPM ORN 084596	44,10	19,98	MK113487	MK113120	MK113121	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0314	44,10	19,98	MK113488	MK113122	MK113123	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0503	44,10	19,98	MK113490	MK113126	MK113127	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0513	44,10	19,98	MK113491	MK113128	MK113129	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0520	44,10	19,98	MK113492	MK113130	MK113131	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0522	44,10	19,98	MK113494	MK113133		
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0640	44,10	19,98	MK113497	MK113138		
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0594	43,28	20,82	MK113465	MK113084	MK113085	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0646	43,28	20,82	MK113470	MK113092	MK113093	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0666	43,28	20,82	MK113471	MK113094		
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0696	43,28	20,82	MK113473	MK113097		
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0597	43,28	20,82	MK113466	MK113086		
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0643	43,28	20,82	MK113467	MK113087	MK113088	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0645	43,28	20,82	MK113469	MK113091		
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0667	43,28	20,82	MK113472	MK113095	MK113096	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0644	43,28	20,82	MK113468	MK113089	MK113090	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0504	44,85	21,10	MK113464	MK113082	MK113083	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0350	42,33	21,98	MK113476	MK113101	MK113102	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0347	42,33	21,98	MK113475	MK113099	MK113100	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MRSCG2	44,47	22,25	MK113486	MK113119		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YPM ORN 084379	43,38	22,62	MK113474	MK113098		
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0505	43,38	22,62	MK113478			
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0506	43,38	22,62	MK113479	MK113105	MK113106	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0507	43,38	22,62	MK113480	MK113107	MK113108	

<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0508	43,38	22,62	MK113481	MK113109	MK113110	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0509	43,38	22,62	MK113482	MK113111	MK113112	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0511	43,38	22,62	MK113484	MK113115	MK113116	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0512	43,38	22,62	MK113485	MK113117	MK113118	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0510	43,38	22,62	MK113483	MK113113	MK113114	
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR0361	43,38	22,62	MK113477	MK113103	MK113104	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 637517	41,48	24,33	MK113587	MK113283	MK113284	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 637519	41,48	24,33	MK113588	MK113285	MK113286	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640169	41,48	24,33	MK113591	MK113289	MK113290	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640868	41,48	24,33	MK113592	MK113291	MK113292	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640873	41,48	24,33	MK113593	MK113293	MK113294	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 637527	41,48	24,33	MK113589			
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640163	41,48	24,33	MK113590	MK113287	MK113288	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640892	41,35	24,59	MK113594	MK113295	MK113296	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 49384	51,69	34,91	MK113552	MK113225	MK113226	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UH CC43	32,50	35,50	MK113700			MK118896
<i>Phylloscopus collybita</i>	UH CC22	33,29	35,73	MK113580	MK113271	MK113272	MK118891
<i>Phylloscopus collybita</i>	UH CC23	33,29	35,73	MK113581	MK113273		MK118892
<i>Phylloscopus collybita</i>	UH CC76	33,29	35,73	MK113585	MK113279	MK113280	MK118897
<i>Phylloscopus collybita</i>	UH CC24	33,29	35,73	MK113582	MK113274	MK113275	MK118893
<i>Phylloscopus collybita</i>	UH CC77	33,29	35,73	MK113586	MK113281	MK113282	MK118898
<i>Phylloscopus collybita</i>	UH CC29	33,30	35,77	MK113583	MK113276		MK118894
<i>Phylloscopus collybita</i>	UH CC30	33,30	35,77	MK113584	MK113277	MK113278	MK118895
<i>Phylloscopus collybita</i>	NHMBE0 MR1261	55,28	37,11	MK113553	MK113227		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 49331	51,58	37,21	MK113551	MK113223	MK113224	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 64613	44,72	37,45	MK113522	MK113180	MK113181	

<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 64614	44,72	37,45	MK113523	MK113182		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 71218	44,72	37,45	MK113524	MK113183	MK113184	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 71222	44,72	37,45	MK113525	MK113185	MK113186	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 64605	44,72	37,45		MK113178	MK113179	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 64654	44,43	38,40	MK113526	MK113187	MK113188	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 64679	44,37	38,47	MK113527	MK113189		
<i>Phylloscopus collybita</i>	BMUM SVD2760	60,99	38,55	MK113554	MK113228	MK113229	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 61113	44,70	38,82	MK113507	MK113155	MK113156	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 61179	44,70	38,82	MK113508	MK113157	MK113158	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 61185	44,70	38,82	MK113509			
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 61392	44,70	38,82	MK113518	MK113172	MK113173	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 61397	44,70	38,82	MK113519	MK113174	MK113175	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 49241	54,96	39,30	MK113549	MK113220	MK113221	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 49253	54,96	39,30	MK113550	MK113222		
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 639790	43,94	39,48	MK113510	MK113159	MK113160	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640361	43,94	39,48	MK113531	MK113195	MK113196	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640371	43,94	39,48	MK113532			
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 639817	44,20	40,08	MK113511	MK113161		
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 639845	44,20	40,08	MK113512	MK113162		
<i>Phylloscopus collybita</i>	SDM IVF0545	44,20	40,08	MK113513	MK113163	MK113164	
<i>Phylloscopus collybita</i>	SDM IVF0556	44,20	40,08	MK113514	MK113165	MK113166	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640399	44,20	40,08	MK113533	MK113197	MK113198	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640413	44,20	40,08	MK113534	MK113199		
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640448	44,20	40,08	MK113535	MK113200	MK113201	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640456	44,20	40,08	MK113536	MK113202		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 64753	43,82	40,72	MK113529	MK113192		

<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 64729	44,05	40,73	MK113528	MK113190	MK113191	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 64865	44,05	40,73	MK113530	MK113193	MK113194	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YPM ORN 101815	44,03	40,85	MK113516	MK113168	MK113169	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YPM ORN 101817	44,03	40,85	MK113517	MK113170	MK113171	
<i>Phylloscopus collybita</i>	SDM IVF0712	44,03	40,85	MK113515	MK113167		
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640911	44,03	40,85	MK113537	MK113203	MK113204	
<i>Phylloscopus collybita</i>	USNM 640912	44,03	40,85	MK113538	MK113205	MK113206	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 61444	44,12	41,08	MK113520	MK113176		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 61446	44,12	41,08	MK113521	MK113177		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU EAK490	41,13	44,91	MK113539	MK113207		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5618	41,13	44,91	MK113544	MK113211	MK113212	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5635	41,13	44,91	MK113545	MK113213	MK113214	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5642	41,13	44,91	MK113546	MK113215		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU GAV4015	41,13	44,91	MK113540			
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU MR1470	41,13	44,91	MK113543	MK113210		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU IVF1391	41,13	44,91	MK113541			
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU IVF1392	41,13	44,91	MK113542			
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5650	41,13	44,91	MK113547	MK113216	MK113217	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5662	41,13	44,91	MK113548	MK113218	MK113219	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU EAK492	41,13	44,91		MK113208	MK113209	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD4668	39,45	46,16	MK113657	MK113404		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD4674	39,45	46,16	MK113658	MK113405		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD4676	39,45	46,16	MK113659	MK113406	MK113407	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5554	39,01	46,21	MK113671			
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU GAV3970	39,40	46,24	MK113655	MK113402		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5494	39,40	46,24	MK113663	MK113413	MK113414	

<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5496	39,40	46,24	MK113664	MK113415	MK113416	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU GAV3966	39,40	46,24	MK113654	MK113400	MK113401	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5500	39,40	46,24	MK113665	MK113417	MK113418	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5507	39,40	46,24	MK113666	MK113419		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5525	39,40	46,24	MK113667	MK113420	MK113421	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5532	39,40	46,24	MK113668	MK113422		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5533	39,40	46,24	MK113669	MK113423		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD5535	39,40	46,24	MK113670	MK113424		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU MR1301	39,07	46,27	MK113656	MK113403		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD4914	39,07	46,27	MK113660	MK113408	MK113409	
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD4934	39,07	46,27	MK113661	MK113410		
<i>Phylloscopus collybita</i>	YSU SVD4937	39,07	46,27	MK113662	MK113411	MK113412	
<i>Phylloscopus collybita</i>	BMUM BRB523	65,72	44,37	MK113575	MK113262	MK113263	
<i>Phylloscopus collybita</i>	BMUM SVD2783	65,72	44,37	MK113578	MK113268		
<i>Phylloscopus collybita</i>	BMUM SVD2824	65,72	44,37	EU481500			
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 82237	65,72	44,37	MK113579	MK113269	MK113270	
<i>Phylloscopus collybita</i>	BMUM IUK0799	65,72	44,37	MK113576	MK113264	MK113265	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 82191	65,72	44,37	MK113577	MK113266	MK113267	
<i>Phylloscopus collybita</i>	BMUM IUK0768	65,72	44,37	EU481499			
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 49566	56,76	58,11	MK113679	MK113429	MK113430	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SGA1611	60,79	59,55	MK113680	MK113431		
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SGA1612	60,79	59,55	MK113681	MK113432		
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SGA1613	60,79	59,55	MK113682	MK113433	MK113434	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4696	60,79	59,55	MK113683	MK113435		
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4702	60,79	59,55	MK113684	MK113436	MK113437	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4713	60,79	59,55	MK113685	MK113438	MK113439	



<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4714	60,79	59,55	MK113686	MK113440		
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4715	60,79	59,55	MK113687	MK113441	MK113442	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4729	60,79	59,55	MK113688	MK113443	MK113444	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4731	60,79	59,55	MK113689	MK113445		
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4732A	60,79	59,55	MK113690	MK113446	MK113447	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4737	60,79	59,55	MK113691	MK113448	MK113449	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4738	60,79	59,55	MK113692	MK113450	MK113451	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4744	60,79	59,55	MK113693	MK113452	MK113453	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4751	60,79	59,55	MK113694	MK113454	MK113455	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4752	60,79	59,55	MK113695	MK113456	MK113457	
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4762	60,79	59,55	MK113696	MK113458		
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4776	60,79	59,55	MK113697	MK113459		
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4785	60,79	59,55	MK113698	MK113460		
<i>Phylloscopus collybita</i>	ZMMU SVD4791	60,79	59,55	MK113699	MK113461	MK113462	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 59438	68,02	68,60	MK113605	MK113317	MK113318	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 59459	68,02	68,60	MK113606	MK113319		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 59469	68,02	68,60	MK113607	MK113320	MK113321	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 59470	68,02	68,60	MK113608	MK113322		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 59642	68,02	68,60	MK113613	MK113330		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 59651	68,02	68,60	MK113614	MK113331	MK113332	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 59653	68,02	68,60	MK113615	MK113333	MK113334	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 56509	63,48	74,87	MK113596	MK113299	MK113300	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 56537	63,48	74,87	MK113597	MK113301	MK113302	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 56789	63,48	74,87	MK113599	MK113305	MK113306	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 46318	51,05	85,65	MK113598	MK113303	MK113304	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 66431	50,65	91,60	MK113609	MK113323	MK113324	

<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 67612	50,78	94,43	MK113677	MK113312	MK113313	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 75607	51,71	94,54	MK113602	MK113309	MK113310	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 75592	51,71	94,54	MK113601			
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 67621	50,03	95,03	MK113678	MK113314	MK113315	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 67586	50,03	95,03	MK113675	MK113311		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 67595	50,03	95,03	MK113676			
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 70944	50,03	95,03	MK113603			
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 71054	50,03	95,03	MK113604	MK113316		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 51799	57,47	97,30	MK113612	MK113328	MK113329	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 73119	56,68	105,77	MK113595	MK113297	MK113298	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 78369	62,17	108,33	MK113610	MK113325	MK113326	
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 78382	62,17	108,33	MK113611	MK113327		
<i>Phylloscopus collybita</i>	UWBM 78259	62,17	108,33	MK113600	MK113307	MK113308	

## 8.2. Korišćeni uzorci običnog popića i srodnih vrsta

Tabela P2. Oznake institucija koje čuvaju uzorke/preparirane jedinke (FKSHAMR = Felitsyn's Krasnodar State Historical and Archaeological Museum-Reserve, Krasnodar, Russia; CIBIO = Research Centre in Biodiversity and Genetic Resources, Vairao, Portugal; MCCI = Museo civico di storia naturale, Carmagnola, Italy; TCWC = Biodiversity Research and Teaching Collections at Texas A&M University, USA; MNHB = Natural History Museum, Belgrade, Serbia; YPM = Yale Peabody Museum of Natural History; USNM = National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, USA; ZMMU = Zoological Museum of Moscow University, Russia; UWBM = Burke Museum of Natural History and Culture; UMMZ = University of Michigan Museum of Zoology; NRM = Swedish Museum of Natural History, Sweden; SDM = State Darwin Museum, Russia). Sve sekvence korišćene u doktoratu su javno dostupne i mogu se preuzeti sa sajta banke gena (GenBank). SGŠ = severna geografska širina; IGD = istočna geografska dužina.

Vrsta/podvrsta	Oznaka	SGŠ	IGD	ADIPOR1	MED31	EIF3A	EDF1	CDC132
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A251869	41,32	-8,73	MH783535, MH783536	MH783647, MH783648	MH783759, MH783760	MH783871, MH783872	MH783425, MH783426
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285808	41,31	-8,73	MH783541, MH783542	MH783653, MH783654	MH783765, MH783766	MH783877, MH783878	MH783431, MH783432
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285821	41,31	-8,73	MH783545, MH783546	MH783657, MH783658	MH783769, MH783770	MH783881, MH783882	MH783435, MH783436
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285828	41,34	-8,73	MH783547, MH783548	MH783659, MH783660	MH783771, MH783772	MH783883, MH783884	MH783437, MH783438
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285829	41,34	-8,73	MH783549, MH783550	MH783661, MH783662	MH783773, MH783774	MH783885, MH783886	MH783439, MH783440
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285803	41,31	-8,73	MH783539, MH783540	MH783651, MH783652	MH783763, MH783764	MH783875, MH783876	MH783429, MH783430
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285812	41,31	-8,73	MH783543, MH783544	MH783655, MH783656	MH783767, MH783768	MH783879, MH783880	MH783433, MH783434
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A255158	41,10	-8,56	MH783537, MH783538	MH783649, MH783650	MH783761, MH783762	MH783873, MH783874	MH783427, MH783428
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A327690	40,09	-7,86	MH783559, MH783560	MH783671, MH783672	MH783783, MH783784	MH783895, MH783896	MH783449, MH783450
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A324109	41,82	-7,78	MH783551, MH783552	MH783663, MH783664	MH783775, MH783776	MH783887, MH783888	MH783441, MH783442
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A324112	41,82	-7,78	MH783553, MH783554	MH783665, MH783666	MH783777, MH783778	MH783889, MH783890	MH783443, MH783444
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A324115	41,79	-7,75	MH783555, MH783556	MH783667, MH783668	MH783779, MH783780	MH783891, MH783892	MH783445, MH783446
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A324122	41,79	-7,75	MH783557, MH783558	MH783669, MH783670	MH783781, MH783782	MH783893, MH783894	MH783447, MH783448
<i>Prunella modularis</i>	MCCI B- 1331	44,97	6,93					
<i>Prunella modularis</i>	MCCI B- 3551	44,32	6,98					
<i>Prunella modularis</i>	TCWC I2016270	45,19	7,31	MH783561, MH783562	MH783673, MH783674	MH783785, MH783786	MH783897, MH783898	MH783451, MH783452
<i>Prunella modularis</i>	TCWC I2016273	45,19	7,31	MH783563, MH783564	MH783675, MH783676	MH783787, MH783788	MH783899, MH783900	MH783453, MH783454

<i>Prunella modularis</i>	TCWC I2016275	45,19	7,31	MH783565, MH783566	MH783677, MH783678	MH783789, MH783790	MH783901, MH783902	MH783455, MH783456
<i>Prunella modularis</i>	TCWC I2016277	45,19	7,31	MH783567, MH783568	MH783679, MH783680	MH783791, MH783792	MH783903, MH783904	MH783457, MH783458
<i>Prunella modularis</i>	TCWC I2016287	45,19	7,31	MH783569, MH783570	MH783681, MH783682	MH783793, MH783794	MH783905, MH783906	MH783459, MH783460
<i>Prunella modularis</i>	TCWC JAH094	45,19	7,31	MH783571, MH783572	MH783683, MH783684	MH783795, MH783796	MH783907, MH783908	MH783461, MH783462
<i>Prunella modularis</i>	TCWC JAH096	45,19	7,31	MH783573, MH783574	MH783685, MH783686	MH783797, MH783798	MH783909, MH783910	MH783463, MH783464
<i>Prunella modularis</i>	TCWC JAH102	45,19	7,31	MH783575, MH783576	MH783687, MH783688	MH783799, MH783800	MH783911, MH783912	MH783465, MH783466
<i>Prunella modularis</i>	TCWC JAH115	45,19	7,31	MH783577, MH783578	MH783689, MH783690	MH783801, MH783802	MH783913, MH783914	MH783467, MH783468
<i>Prunella modularis</i>	TCWC JAH129	45,19	7,31	MH783579, MH783580	MH783691, MH783692	MH783803, MH783804	MH783915, MH783916	MH783469, MH783470
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0565	43,19	19,09	MH783487, MH783488	MH783597, MH783598	MH783709, MH783710	MH783821, MH783822	MH783375, MH783376
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0566	43,19	19,09		MH783599, MH783600	MH783711, MH783712	MH783823, MH783824	MH783377, MH783378
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0556	43,34	20,85					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0557	43,34	20,85	MH783483, MH783484	MH783593, MH783594	MH783705, MH783706	MH783817, MH783818	MH783371, MH783372
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0560	43,34	20,85	MH783485, MH783486	MH783595, MH783596	MH783707, MH783708	MH783819, MH783820	MH783373, MH783374
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0561	43,34	20,85					
<i>Prunella modularis</i>	YPM 84385	43,38	22,63					
<i>Prunella modularis</i>	YPM 84390	43,38	22,63	MH783479, MH783480	MH783589, MH783590	MH783701, MH783702	MH783813, MH783814	MH783367, MH783368
<i>Prunella modularis</i>	YPM 84391	43,38	22,63					
<i>Prunella modularis</i>	YPM 84400	43,38	22,63					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0354	43,38	22,63	MH783481, MH783482	MH783591, MH783592	MH783703, MH783704	MH783815, MH783816	MH783369, MH783370

<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0358	43,38	22,63					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0359	43,38	22,63					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0366	43,38	22,63					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0567	43,38	22,63					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0568	43,38	22,63	MH783489, MH783490	MH783601, MH783602	MH783713, MH783714	MH783825, MH783826	MH783379, MH783380
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0569	43,38	22,63					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 637507	41,48	24,33					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 637509	41,48	24,33					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 637524	41,48	24,33					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640157	41,48	24,33					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640847	41,48	24,33					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640862	41,48	24,33					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 637503	41,48	24,33					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1142	41,48	24,33	MH783491, MH783492	MH783603, MH783604	MH783715, MH783716	MH783827, MH783828	MH783381, MH783382
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1173	41,48	24,33	MH783493, MH783494	MH783605, MH783606	MH783717, MH783718	MH783829, MH783830	MH783383, MH783384
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU ZMMU067A	54,90	20,27					
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU ZMMU068A	54,90	20,27					
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU ZMMU132A	54,90	20,27					

<i>Prunella modularis</i>	ZMMU GVA021	54,90	20,28	MH783515, MH783516	MH783627, MH783628	MH783739, MH783740	MH783851, MH783852	MH783405, MH783406
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU MIM026	54,90	20,28	MH783519, MH783520	MH783631, MH783632	MH783743, MH783744	MH783855, MH783856	MH783409, MH783410
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU KOJ006	56,52	34,94	MH783517, MH783518	MH783629, MH783630	MH783741, MH783742	MH783853, MH783854	MH783407, MH783408
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SKY296	56,67	36,48	MH783523, MH783524	MH783635, MH783636	MH783747, MH783748	MH783859, MH783860	MH783413, MH783414
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU MIM249	55,73	37,05					
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SKY180	55,50	37,55					
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU KDV005	54,84	37,71					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61272	55,90	37,90					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 83451	55,90	37,90					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61012	55,90	37,90					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61015	55,90	37,90					
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU PAM003	56,06	39,05					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74267	58,40	50,43					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74264	58,40	50,43					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74450	58,40	50,43					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74265	58,40	50,43					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74337	58,40	50,43					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74437	58,40	50,43					

<i>Prunella modularis</i>	ZMMU CBH0877	58,39	50,44					
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU CBH0884	58,39	50,44					
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU CBH0889	58,39	50,44					
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SGA1604	60,79	59,55	MH783521, MH783522	MH783633, MH783634	MH783745, MH783746	MH783857, MH783858	MH783411, MH783412
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SVD4692	60,79	59,55	MH783525, MH783526	MH783637, MH783638	MH783749, MH783750	MH783861, MH783862	MH783415, MH783416
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SVD4704	60,79	59,55	MH783527, MH783528	MH783639, MH783640	MH783751, MH783752	MH783863, MH783864	MH783417, MH783418
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SVD4706	60,79	59,55	MH783529, MH783530	MH783641, MH783642	MH783753, MH783754	MH783865, MH783866	MH783419, MH783420
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SVD4720	60,79	59,55	MH783531, MH783532	MH783643, MH783644	MH783755, MH783756	MH783867, MH783868	MH783421, MH783422
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SVD4755	60,79	59,55	MH783533, MH783534	MH783645, MH783646	MH783757, MH783758	MH783869, MH783870	MH783423, MH783424
<i>Prunella modularis</i>	UMMZ A374							
<i>Prunella modularis</i>	NRM 976138							
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61177	44,70	38,82					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61189	44,70	38,82					
<i>Prunella modularis</i>	SDM IVF0530	43,94	39,48					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640349	43,94	39,48					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640358	43,94	39,48					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640381	43,94	39,48					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61196	44,12	39,90					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM	44,12	39,90					

	61203							
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61528	44,12	39,90					
<i>Prunella modularis</i>	SDM EVN660	44,20	40,08					
<i>Prunella modularis</i>	SDM EVN665	44,20	40,08					
<i>Prunella modularis</i>	SDM IVF0541	44,20	40,08					
<i>Prunella modularis</i>	SDM IVF0566	44,20	40,08					
<i>Prunella modularis</i>	FKSHAMR LYV068	44,20	40,08	MH783499, MH783500	MH783611, MH783612	MH783723, MH783724	MH783835, MH783836	MH783389, MH783390
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640452	44,20	40,08					
<i>Prunella modularis</i>	USNM 639823	44,20	40,08					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 64697	43,70	40,35					
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 64743	43,82	40,72					
<i>Prunella modularis</i>	YPM 101846	43,92	40,78					
<i>Prunella modularis</i>	SDM IVF0888	44,04	40,88	MH783495, MH783496	MH783607, MH783608	MH783719, MH783720	MH783831, MH783832	MH783385, MH783386
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU EAK066	43,45	41,78					
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU ZMMU1120 00	43,72	42,65					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0981	40,94	44,48	MH783501, MH783502	MH783613, MH783614	MH783725, MH783726	MH783837, MH783838	MH783391, MH783392
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1028	40,94	44,48	MH783503, MH783504	MH783615, MH783616	MH783727, MH783728	MH783839, MH783840	MH783393, MH783394
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1029	40,94	44,48	MH783505, MH783506	MH783617, MH783618	MH783729, MH783730	MH783841, MH783842	MH783395, MH783396



<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1030	40,94	44,48	MH783507, MH783508	MH783619, MH783620	MH783731, MH783732	MH783843, MH783844	MH783397, MH783398
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1034	40,94	44,48	MH783509, MH783510	MH783621, MH783622	MH783733, MH783734	MH783845, MH783846	MH783399, MH783400
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1035	40,94	44,48					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1037	40,94	44,48					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1042	40,94	44,48	MH783511, MH783512	MH783623, MH783624	MH783735, MH783736	MH783847, MH783848	MH783401, MH783402
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1045	40,94	44,48					
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1055	40,94	44,48					
<i>Prunella modularis</i>	TCWC C012426	40,61	44,59					
<i>Prunella modularis</i>	TCWC C012427	40,61	44,59					
<i>Prunella modularis</i>	TCWC C012434	40,61	44,59					
<i>Prunella modularis</i>	TCWC C012435	40,61	44,59					
<i>Prunella modularis</i>	SDM IVF1040	41,13	44,92	MH783497, MH783498	MH783609, MH783610	MH783721, MH783722	MH783833, MH783834	MH783387, MH783388
<i>Prunella modularis</i>	SDM SVD4935	39,07	46,27	MH783513, MH783514	MH783625, MH783626	MH783737, MH783738	MH783849, MH783850	MH783403, MH783404
<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1092	40,41	44,25					
<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1093	40,41	44,25					
<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1094	40,41	44,25					
<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1095	40,41	44,25					
<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1096	40,41	44,25	MH783581, MH783582	MH783693, MH783694	MH783805, MH783806	MH783917, MH783918	MH783471, MH783472

<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1101	40,41	44,25	MH783583, MH783584	MH783695, MH783696	MH783807, MH783808	MH783919, MH783920	MH783473, MH783474
<i>Prunella atrogularis huttoni</i>	ZMMU SGA1414	51,04	85,64	MH783475, MH783476	MH783585, MH783586	MH783697, MH783698	MH783809, MH783810	MH783363, MH783364
<i>Prunella atrogularis huttoni</i>	ZMMU SGA1419	51,04	85,64	MH783477, MH783478	MH783587, MH783588	MH783699, MH783700	MH783811, MH783812	MH783365, MH783366
<i>Prunella atrogularis huttoni</i>	UWBM 46587	51,03	85,65					

Tabela P2. Nastavak.

Vrsta/podvrsta	Oznaka	SGŠ	IGD	PNN	ACL	ACO119	ND2	RHO11	TGFB2
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A251869	41,32	-8,73	MH783983, MH783984	MH784091, MH784092	MH783195, MH783196	MH778323	MH784203, MH784204	MH784313, MH784314
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285808	41,31	-8,73	MH783989, MH783990	MH784097, MH784098		MH778326	MH784209, MH784210	MH784319, MH784320
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285821	41,31	-8,73	MH783993, MH783994	MH784101, MH784102	MH783201, MH783202	MH778328	MH784213, MH784214	MH784323, MH784324
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285828	41,34	-8,73	MH783995, MH783996	MH784103, MH784104	MH783203	MH778329	MH784215, MH784216	MH784325, MH784326
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285829	41,34	-8,73	MH783997, MH783998	MH784105, MH784106	MH783204, MH783205	MH778330	MH784217, MH784218	MH784327, MH784328
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285803	41,31	-8,73	MH783987, MH783988	MH784095, MH784096	MH783198, MH783199	MH778325	MH784207, MH784208	MH784317, MH784318
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A285812	41,31	-8,73	MH783991, MH783992	MH784099, MH784100	MH783200	MH778327	MH784211, MH784212	MH784321, MH784322
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A255158	41,10	-8,56	MH783985, MH783986	MH784093, MH784094	MH783197	MH778324	MH784205, MH784206	MH784315, MH784316
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A327690	40,09	-7,86	MH784007, MH784008	MH784115, MH784116	MH783212	MH778335	MH784227, MH784228	MH784337, MH784338
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A324109	41,82	-7,78	MH783999, MH784000	MH784107, MH784108	MH783206	MH778331	MH784219, MH784220	MH784329, MH784330
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A324112	41,82	-7,78	MH784001, MH784002	MH784109, MH784110	MH783207, MH783208	MH778332	MH784221, MH784222	MH784331, MH784332
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO	41,79	-7,75	MH784003,	MH784111,	MH783209	MH778333	MH784223,	MH784333,

	A324115			MH784004	MH784112			MH784224	MH784334
<i>Prunella modularis</i>	CIBIO A324122	41,79	-7,75	MH784005, MH784006	MH784113, MH784114	MH783210, MH783211	MH778334	MH784225, MH784226	MH784335, MH784336
<i>Prunella modularis</i>	MCCI B-1331	44,97	6,93			KC759206	KC759276		
<i>Prunella modularis</i>	MCCI B-3551	44,32	6,98			MH783213, MH783214	MH778336		
<i>Prunella modularis</i>	TCWC I2016270	45,19	7,31	MH784009, MH784010	MH784117, MH784118	MH783240, MH783241	MH778353	MH784229, MH784230	MH784339, MH784340
<i>Prunella modularis</i>	TCWC I2016273	45,19	7,31	MH784011, MH784012	MH784119, MH784120	MH783242	MH778354	MH784231, MH784232	MH784341, MH784342
<i>Prunella modularis</i>	TCWC I2016275	45,19	7,31	MH784013, MH784014	MH784121, MH784122	MH783243	MH778355	MH784233, MH784234	MH784343, MH784344
<i>Prunella modularis</i>	TCWC I2016277	45,19	7,31	MH784015, MH784016	MH784123, MH784124	MH783244, MH783245	MH778356	MH784235, MH784236	MH784345, MH784346
<i>Prunella modularis</i>	TCWC I2016287	45,19	7,31	MH784017, MH784018	MH784125, MH784126	MH783246, MH783247	MH778357	MH784237, MH784238	MH784347, MH784348
<i>Prunella modularis</i>	TCWC JAH094	45,19	7,31	MH784019, MH784020	MH784127, MH784128	MH783270, MH783271	MH778369	MH784239, MH784240	MH784349, MH784350
<i>Prunella modularis</i>	TCWC JAH096	45,19	7,31	MH784021, MH784022	MH784129, MH784130	MH783272	MH778370	MH784241, MH784242	MH784351, MH784352
<i>Prunella modularis</i>	TCWC JAH102	45,19	7,31	MH784023, MH784024	MH784131, MH784132	MH783273, MH783274	MH778371	MH784243, MH784244	MH784353, MH784354
<i>Prunella modularis</i>	TCWC JAH115	45,19	7,31	MH784025, MH784026	MH784133, MH784134	MH783275	MH778372	MH784245, MH784246	MH784355, MH784356
<i>Prunella modularis</i>	TCWC JAH129	45,19	7,31	MH784027, MH784028	MH784135, MH784136	MH783276, MH783277	MH778373	MH784247, MH784248	MH784357, MH784358
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0565	43,19	19,09	MH783933, MH783934	MH784045, MH784046	MH783297, MH783298	MH778387	MH784153, MH784154	MH784263, MH784264
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0566	43,19	19,09	MH783935, MH783936	MH784047, MH784048	MH783299	MH778388	MH784155, MH784156	MH784265, MH784266
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0556	43,34	20,85			MH783289, MH783290	MH778383		
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0557	43,34	20,85	MH783929, MH783930	MH784041, MH784042	MH783291, MH783292	MH778384	MH784149, MH784150	MH784259, MH784260
<i>Prunella modularis</i>	MNHB	43,34	20,85	MH783931,	MH784043,	MH783293,	MH778385	MH784151,	MH784261,

	MR0560			MH783932	MH784044	MH783294		MH784152	MH784262
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0561	43,34	20,85			MH783295, MH783296	MH778386		
<i>Prunella modularis</i>	YPM 84385	43,38	22,63				MH778349		
<i>Prunella modularis</i>	YPM 84390	43,38	22,63	MH783925, MH783926	MH784037, MH784038	MH783235	MH778350	MH784145, MH784146	MH784255, MH784256
<i>Prunella modularis</i>	YPM 84391	43,38	22,63			MH783236, MH783237	MH778351		
<i>Prunella modularis</i>	YPM 84400	43,38	22,63			MH783238, MH783239	MH778352		
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0354	43,38	22,63	MH783927, MH783928	MH784039, MH784040	KC759244	KC759300	MH784147, MH784148	MH784257, MH784258
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0358	43,38	22,63			MH783283, MH783284	MH778380		
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0359	43,38	22,63			MH783285, MH783286	MH778381		
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0366	43,38	22,63			MH783287, MH783288	MH778382		
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0567	43,38	22,63			MH783300, MH783301	MH778389		
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0568	43,38	22,63	MH783937, MH783938	MH784049, MH784050	MH783302, MH783303	MH778390	MH784157, MH784158	MH784267, MH784268
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0569	43,38	22,63			MH783304, MH783305	MH778391		
<i>Prunella modularis</i>	USNM 637507	41,48	24,33			KC759208	KC759278		
<i>Prunella modularis</i>	USNM 637509	41,48	24,33			MH783217, MH783218	MH778338		
<i>Prunella modularis</i>	USNM 637524	41,48	24,33				MH778339		
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640157	41,48	24,33			MH783281, MH783282	MH778379		
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640847	41,48	24,33				MH778419		
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640862	41,48	24,33			MH783346	MH778420		
<i>Prunella modularis</i>	USNM 637503	41,48	24,33			MH783215,	MH778337		

						MH783216			
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1142	41,48	24,33	MH783939, MH783940	MH784051, MH784052	MH783321, MH783322	MH778401	MH784159, MH784160	MH784269, MH784270
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1173	41,48	24,33	MH783941, MH783942	MH784053, MH784054	MH783323, MH783324	MH778402	MH784161, MH784162	MH784271, MH784272
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU ZMMU067A	54,90	20,27			MH783356, MH783357	MH778320		
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU ZMMU068A	54,90	20,27			MH783358	MH778321		
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU ZMMU132A	54,90	20,27			MH783361, MH783362	MH778322		
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU GVA021	54,90	20,28	MH783963, MH783964	MH784075, MH784076	KC759223, KC759224	KC759288	MH784183, MH784184	MH784293, MH784294
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU MIM026	54,90	20,28	MH783967, MH783968	MH784079, MH784080		MH778377	MH784187, MH784188	MH784297, MH784298
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU KOJ006	56,52	34,94	MH783965, MH783966	MH784077, MH784078	MH783278, MH783279	MH778374	MH784185, MH784186	MH784295, MH784296
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SKY296	56,67	36,48	MH783971, MH783972	MH784081, MH784082	MH783341, MH783342	MH778411	MH784191, MH784192	MH784301, MH784302
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU MIM249	55,73	37,05				MH778378		
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SKY180	55,50	37,55			MH783339, MH783340	MH778410		
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU KDV005	54,84	37,71			KC759239	KC759297		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61272	55,90	37,90			MH783248	KU859334		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 83451	55,90	37,90			MH783249, MH783250	KU859328		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61012	55,90	37,90			MH783251	KU859329		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61015	55,90	37,90			MH783252, MH783253	KU859330		
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU PAM003	56,06	39,05			MH783335, MH783336	MH778408		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74267	58,40	50,43			MH783330	MH778406		

<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74264	58,40	50,43			MH783325, MH783326	KU859335		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74450	58,40	50,43			MH783327	MH778404		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74265	58,40	50,43			MH783328, MH783329	MH778405		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74337	58,40	50,43			MH783331, MH783332	MH778407		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 74437	58,40	50,43			MH783333, MH783334			
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU CBH0877	58,39	50,44			KC759211	KC759280		
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU CBH0884	58,39	50,44			MH783227	MH778344		
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU CBH0889	58,39	50,44			MH783228, MH783229	MH778345		
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SGA1604	60,79	59,55	MH783969, MH783970		MH783337, MH783338	MH778409	MH784189, MH784190	MH784299, MH784300
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SVD4692	60,79	59,55	MH783973, MH783974		MH783347, MH783348	MH778421	MH784193, MH784194	MH784303, MH784304
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SVD4704	60,79	59,55	MH783975, MH783976	MH784083, MH784084	MH783349, MH783350	MH778422	MH784195, MH784196	MH784305, MH784306
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SVD4706	60,79	59,55	MH783977, MH783978	MH784085, MH784086	KC759263	KC759315	MH784197, MH784198	MH784307, MH784308
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SVD4720	60,79	59,55	MH783979, MH783980	MH784087, MH784088	MH783351		MH784199, MH784200	MH784309, MH784310
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU SVD4755	60,79	59,55	MH783981, MH783982	MH784089, MH784090	MH783352, MH783353	MH778423	MH784201, MH784202	MH784311, MH784312
<i>Prunella modularis</i>	UMMZ A374						AF407038		
<i>Prunella modularis</i>	NRM 976138						GU816839		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61177	44,70	38,82			MH783254, MH783255	KU859331		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61189	44,70	38,82			MH783256, MH783257	KU859332		
<i>Prunella modularis</i>	SDM IVF0530	43,94	39,48			MH783264	MH778365		

<i>Prunella modularis</i>	USNM 640349	43,94	39,48				MH778415		
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640358	43,94	39,48				MH778416		
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640381	43,94	39,48				MH778417		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61196	44,12	39,90			MH783258, MH783259	MH778362		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61203	44,12	39,90			MH783260, MH783261	KU859333		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 61528	44,12	39,90				MH778412		
<i>Prunella modularis</i>	SDM EVN660	44,20	40,08			MH783232, MH783233	MH778347		
<i>Prunella modularis</i>	SDM EVN665	44,20	40,08			MH783234	MH778348		
<i>Prunella modularis</i>	SDM IVF0541	44,20	40,08				MH778366		
<i>Prunella modularis</i>	SDM IVF0566	44,20	40,08			MH783265, MH783266	MH778367		
<i>Prunella modularis</i>	FKSHAMR LYV068	44,20	40,08	MH783947, MH783948	MH784059, MH784060	MH783280	MH778376	MH784167, MH784168	MH784277, MH784278
<i>Prunella modularis</i>	USNM 640452	44,20	40,08				MH778418		
<i>Prunella modularis</i>	USNM 639823	44,20	40,08			MH783262, MH783263	MH778364		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 64697	43,70	40,35			MH783343	KU859336		
<i>Prunella modularis</i>	UWBM 64743	43,82	40,72			MH783344, MH783345	KU859337		
<i>Prunella modularis</i>	YPM 101846	43,92	40,78				MH778375		
<i>Prunella modularis</i>	SDM IVF0888	44,04	40,88	MH783943, MH783944	MH784055, MH784056	MH783267		MH784163, MH784164	MH784273, MH784274
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU EAK066	43,45	41,78			MH783230, MH783231	MH778346		
<i>Prunella modularis</i>	ZMMU ZMMU112000	43,72	42,65			MH783359, MH783360	MH778425		
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR0981	40,94	44,48	MH783949, MH783950	MH784061, MH784062	MH783306	MH778392	MH784169, MH784170	MH784279, MH784280
<i>Prunella modularis</i>	MNHB	40,94	44,48	MH783951,	MH784063,	MH783307,	MH778393	MH784171,	MH784281,

	MR1028			MH783952	MH784064	MH783308		MH784172	MH784282
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1029	40,94	44,48	MH783953, MH783954	MH784065, MH784066	MH783309	MH778394	MH784173, MH784174	MH784283, MH784284
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1030	40,94	44,48	MH783955, MH783956	MH784067, MH784068	MH783310, MH783311	MH778395	MH784175, MH784176	MH784285, MH784286
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1034	40,94	44,48	MH783957, MH783958	MH784069, MH784070	MH783312	MH778396	MH784177, MH784178	MH784287, MH784288
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1035	40,94	44,48			MH783313, MH783314			
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1037	40,94	44,48			MH783315	MH778397		
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1042	40,94	44,48	MH783959, MH783960	MH784071, MH784072	MH783316	MH778398	MH784179, MH784180	MH784289, MH784290
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1045	40,94	44,48			MH783317, MH783318	MH778399		
<i>Prunella modularis</i>	MNHB MR1055	40,94	44,48			MH783319, MH783320	MH778400		
<i>Prunella modularis</i>	TCWC C012426	40,61	44,59			MH783219, MH783220	MH778340		
<i>Prunella modularis</i>	TCWC C012427	40,61	44,59			MH783221, MH783222	MH778341		
<i>Prunella modularis</i>	TCWC C012434	40,61	44,59			MH783223, MH783224	MH778342		
<i>Prunella modularis</i>	TCWC C012435	40,61	44,59			MH783225, MH783226	MH778343		
<i>Prunella modularis</i>	SDM IVF1040	41,13	44,92	MH783945, MH783946	MH784057, MH784058	MH783268, MH783269	MH778368	MH784165, MH784166	MH784275, MH784276
<i>Prunella modularis</i>	SDM SVD4935	39,07	46,27	MH783961, MH783962	MH784073, MH784074	MH783354, MH783355	MH778424	MH784181, MH784182	MH784291, MH784292
<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1092	40,41	44,25			KC759226, KC759227	KC759291		
<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1093	40,41	44,25			KC759228, KC759229	KC759292		
<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1094	40,41	44,25			KC759230, KC759231	KC759293		



<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1095	40,41	44,25			KC759232, KC759233	KC759294		
<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1096	40,41	44,25	MH784029, MH784030	MH784137, MH784138	KC759234, KC759235	KC759295	MH784249, MH784250	MH784359, MH784360
<i>Prunella ocularis</i>	SDM IVF1101	40,41	44,25	MH784031, MH784032	MH784139, MH784140	KC759236, KC759237	KC759296		MH784361, MH784362
<i>Prunella atrogularis huttoni</i>	ZMMU SGA1414	51,04	85,64	MH783921, MH783922	MH784033, MH784034	KC759252, KC759253	KC759309	MH784141, MH784142	MH784251, MH784252
<i>Prunella atrogularis huttoni</i>	ZMMU SGA1419	51,04	85,64	MH783923, MH783924	MH784035, MH784036	KC759254, KC759255	KC759310	MH784143, MH784144	MH784253, MH784254
<i>Prunella atrogularis huttoni</i>	UWBM 46587	51,03	85,65			KC759219, KC759220	KC759285		

### 8.3. Korišćeni uzorci kratkokljunog puzića i srodnih vrsta

Tabela P3. Oznake institucija koje čuvaju uzorke/preparirane jedinke (NRM = Swedish Museum of Natural History, Stockholm; BNHM = Natural History Museum, Tring; NHMO = Natural History Museum of Oslo; MNHN = Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris; JGU = Johannes Gutenberg-Universität, Mainz; NHMB = Natural History Museum, Belgrade; UWBM = University of Washington, Burke Museum, Seattle). Osam sekvenci *COI* gena na samom kraju tabele je preuzeto iz banke gena (GenBank). Pristupni brojevi iz banke gena (engl. accession numbers) su dati u kolonama sa oznakama datih gena. Sekvence kod kojih je u koloni ispod imena gena napisano "Na upit" mogu se dobiti od autora doktorske disertacije, ali nisu javno dostupne. SGŠ = severna geografska širina; IGD = istočna geografska dužina.

Vrsta/podvrsta	Oznaka	SGŠ	IGD	<i>COI</i>	<i>ATP6</i>	<i>ND2</i>	<i>LDH</i>	<i>TGFB2</i>	<i>ACO119</i>
<i>Certhia familiaris bianchii</i>	JGU1743	33,95	107,77	KP282534	KP282509	KP282559	KP282584	KP282609	KP282484
<i>Certhia familiaris bianchii</i>	JGU4911	33,95	107,77	KP282535	KP282510	KP282560	KP282585	KP282610	KP282485
<i>Certhia familiaris bianchii</i>	JGU4959	34,56	103,48	KP282536	KP282511	KP282561	KP282586	KP282611	KP282486
<i>Certhia familiaris britannica</i>	IRN#2728450	53,4	-1,92	KP282526	KP282501	KP282551	KP282576	KP282601	KP282476

<i>Certhia familiaris britannica</i>	IRN#2728458	53,4	-1,92	KP282527	KP282502	KP282552	KP282577	KP282602	KP282477
<i>Certhia familiaris britannica</i>	BNHM2006.22.2	54,38	-1,69	Na upit	Na upit	Na upit			
<i>Certhia familiaris britannica</i>	BNHM2006.22.3	54,37	-1,62	Na upit					
<i>Certhia familiaris caucasica</i>	UWBM61436	44,12	41,09	KP282522	KP282497	KP282547	KP282572	KP282597	KP282472
<i>Certhia familiaris caucasica</i>	UWBM61534	44,12	41,09	Na upit					
<i>Certhia familiaris caucasica</i>	UWBM64646	44,12	41,09	Na upit					
<i>Certhia familiaris caucasica</i>	UWBM64668	44,12	41,09	Na upit					
<i>Certhia familiaris caucasica</i>	UWBM64794	44,12	41,09	KP282523	KP282498	KP282548	KP282573	KP282598	KP282473
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN136	42,26	8,83	KP282514	KP282489	KP282539	KP282564	KP282589	KP282464
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN138	42,26	8,83	KP282515	KP282490	KP282540	KP282565	KP282590	KP282465
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN139	42,26	8,83	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN140	42,26	8,83	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN142	42,26	8,83	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN145	42,26	8,83	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN156	42,28	8,91	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN169	42,45	9,03	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN170	42,45	9,03	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN177	41,75	9,13	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN188	42,5	8,97	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHH263	42,12	9,13	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHH264	42,12	9,13	Na upit	Na upit	Na upit			
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHH265	42,71	9,36	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHH266	42,15	9,19	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN284	41,88	9,28	Na upit	Na upit	Na upit			
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN419	42,28	8,91	Na upit					
<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN423	42,28	8,91	Na upit					

<i>Certhia familiaris corsa</i>	MNHN609	42,50	8,97	Na upit					
<i>Certhia familiaris daurica</i>	JGU4024	49,87	95,58	KP282532	KP282506	KP282557	KP282582	KP282607	KP282482
<i>Certhia familiaris daurica</i>	JGU90351	43,69	134,19	KP282533	KP282508	KP282558	KP282583	KP282608	KP282483
<i>Certhia familiaris daurica</i>	JGU4467	53,15	107,38	KP282538	KP282513	KP282563	KP282588	KP282613	KP282488
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NRM20006580	59,59	17,82	KP282524	KP282499	KP282549	KP282574	KP282599	KP282473
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NRM20026017	59,27	15,13	KP282525	KP282500	KP282550	KP282575	KP282600	KP282475
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NRM20026382	60,52	18,39	Na upit					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NRM20036539	66,15	20,01	Na upit					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NRM20046286	55,41	12,84	Na upit					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NRM20066559	57,18	13,74	Na upit					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NHMB,MR1140	43,28	22,77	Na upit					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NHMB,MR1370	44,11	20,00	KP282530	KP282505	KP282555	KP282580	KP282605	KP282480
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NHMB,MR1371	44,11	20,00	Na upit					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NHMB,MR1372	43,28	22,77	Na upit					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NHMB,MR364	43,38	22,62	Na upit					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NHMB,MR516	44,11	20,00	Na upit					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NHMB,MR774	43,19	19,07	KP282531	KP282506	KP282556	KP282581	KP282606	KP282481
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	NHMB,MR780	43,32	20,83	Na upit	Na upit	Na upit			
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN187	45,54	3,38	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN204	44,02	1,72	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN205	44,02	1,72	KP282516	KP282491	KP282541	KP282566	KP282591	KP282466
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN206	43,08	-0,46	KP282517	KP282492	KP282542	KP282567	KP282592	KP282467
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN207	43,08	-0,46	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN208	43,08	-0,46	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN209	48,27	-1,43	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN210	48,27	-1,43	Na upit					

<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN211	48,27	-1,43	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN212	44,02	1,72	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN213	48,23	5,31	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN214	48,06	5,12	Na upit	Na upit	Na upit			
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN215	48,28	5,22	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN218	48,27	-1,43	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN219	45,87	2,40	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN220	45,87	2,40	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN221	45,87	2,35	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN222	45,77	2,37	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN223	45,73	2,33	Na upit	Na upit	Na upit			
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN224	45,73	2,33	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN225	45,67	2,28	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN226	45,67	2,28	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN227	45,77	2,37	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN228	47,75	-2,42	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN229	46,21	6,35	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN230	46,21	6,35	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN231	46,21	6,35	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN232	46,21	6,35	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN239	42,50	2,08	Na upit	Na upit	Na upit			
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN240	42,50	2,08	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN250	42,48	1,94	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN253	42,52	2,13	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN392	48,23	5,31	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN393	48,30	5,51	Na upit					

<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN394	48,30	5,51	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN395	48,30	5,51	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN396	48,30	5,51	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN397	43,95	11,73	KP282519	KP282494	KP282544	KP282569	KP282594	KP282469
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN398	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN399	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN400	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN401	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN402	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN403	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN404	43,95	11,73	KP282520	KP282495	KP282545	KP282570	KP282595	KP282470
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN405	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN406	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN407	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN408	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN409	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN410	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN411	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MNHN412	43,95	11,73	Na upit					
<i>Certhia familiaris macrodactyla</i>	MCCI 2588	44,59	7,08	Na upit					
<i>Certhia familiaris tianschanica</i>	JGU2883	42,80	77,68	KP282537	KP282512	KP282562	KP282587	KP282612	KP282487
<i>Certhia hodgsoni khamensis</i>	JGU3308	30,67	102,73	KP282528	KP282503	KP282553	KP282578	KP282603	KP282478
<i>Certhia hodgsoni mandellii</i>	JGU3328	29,98	81,98	KP282529	KP282504	KP282554	KP282579	KP282604	KP282479
<i>Certhia brachydactyla mauretanic</i>	NHMO34016	33,55	-5,21	KP282521	KP282496	KP282546	KP282571	KP282596	KP282471
<i>Certhia brachydactyla megarhynchos</i>	MNHN216	48,27	-1,41	KP282518	KP282493	KP282543	KP282568	KP282593	KP282468
<i>Certhia familiaris daurica</i>	GenBank			GQ481545					

<i>Certhia familiaris daurica</i>	GenBank			GQ481544					
<i>Certhia familiaris daurica</i>	GenBank			GQ481540					
<i>Certhia familiaris daurica</i>	GenBank			GQ481539					
<i>Certhia familiaris daurica</i>	GenBank			GQ481538					
<i>Certhia familiaris daurica</i>	GenBank			GQ481541					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	GenBank			GQ481543					
<i>Certhia familiaris familiaris</i>	GenBank			GQ481542					

## **BIOGRAFIJA AUTORA**

Marko B. Raković rođen je 18. juna 1980. godine u Valjevu. Srednju školu, valjevsku gimnaziju, završio je 1999. godine. Iste godine upisao je Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, smer Biologija. Diplomirao je u aprilu 2007. godine, sa prosečnom ocenom 8.71 i ocenom 10 na diplomskom ispitu. Diplomski rad pod naslovom “Zajednice ptica gnezdarica planinskih pašnjaka i livada obraslih klekovinom na Durmitoru pod mentorstvom dr Aleksandra Makarova uradio je na Katedri za ekologiju i geografiju životinja. Tokom 2014 godine upisao je doktorske studije na Univerzitetu u Beogradu - Biološkom fakultetu, studijski program Ekologija, modul Zaštita biodiverziteta. Od septembra 2007. godine zaposlen je kao kustos-pripravnik u Prirodnjačkom muzeju u Beogradu. Zvanje kustos stekao je u maju 2010. godine, a viši kustos u novembru 2018. godine. Učesnik je četiri inostranih naučno – istraživačkih projekata, i devet nacionalnih projekata u vezi zaštite ptica na području Srbije finansiranih od strane Ministarstva zaštite životne sredine. U sklopu terenskih istraživanja učestvovao u 16 ekspedicija na području Evroazije, Severne Amerike i Južne Amerike. Autor dve izložbe u Prirodnjačkom muzeju i koautor četiri izložbe. Do sada je objavio dva naučna rada u međunarodnim časopisima izuzetnih vrednosti, tri u vrhunskim međunarodnim časopisima, dva u istaknutim međunarodnim časopisima, dva u međunarodnim časopisima i 10 kongresnih saopštenja na skupovima međunarodnog značaja. Takođe jedan je od autora monografije “Atlas migratornih ptica i slepih miševa Srbije”.

## Изјава о ауторству

Потписани Марко Раковић

број индекса E3004/2014

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Утицај ледених доба на филогеографске обрасце шумских врста птица:  
*Phylloscopus collybita*, *Prunella modularis* i *Certhia familiaris*

- 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 кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

**Потпис докторанда**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије

Име и презиме аутора Марко Раковић

Број индекса E3004/2014

Студијски програм Екологија

Наслов рада Утицај ледених доба на филогеографске обрасце шумских врста птица: *Phylloscopus collybita*, *Prunella modularis* i *Certhia familiaris*

Ментори Проф. др. Анђељко Петровић и др Стефан Скорић

Потписани Марко Раковић

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:

Утицај ледених доба на филогеографске обрасце шумских врста птица: *Phylloscopus collybita*, *Prunella modularis* i *Certhia familiaris*

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла 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 одлучио/ла.

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

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

**Потпис докторанда**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

1. Ауторство - Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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.