Biološka, ekološka i genska obilježja invazivnih ponto-kaspijskih glavoča (Gobiidae) savskog sliva u Hrvatskoj

Jakšić, Goran

Doctoral thesis / Disertacija

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:054537

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Goran Jakšić

Biološka, ekološka i genska obilježja invazivnih ponto–kaspijskih glavoča (Gobiidae) savskog sliva u Hrvatskoj

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2016.



University of Zagreb

FACULTY OF AGRICULTURE

Goran Jakšić

Biological, ecological and genetic characteristics of invasive Ponto–Caspian gobies (Gobiidae) in the Sava River Basin in Croatia

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2016.



Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

GORAN JAKŠIĆ

Biološka, ekološka i genska obilježja invazivnih ponto–kaspijskih glavoča (Gobiidae) savskog sliva u Hrvatskoj

DOKTORSKI RAD

Mentori:

Izv. prof. dr. sc. Marina Piria

Dr. sc. Margita Jadan

Zagreb, 2016.

University of Zagreb

FACULTY OF AGRICULTURE

Goran Jakšić

Biological, ecological and genetic characteristics of invasive Ponto–Caspian gobies (Gobiidae) in the Sava River Basin in Croatia

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Associate professor Marina Piria, PhD

Margita Jadan, PhD

Zagreb, 2016.

Bibliografski podaci:

- Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
- Znanstveno polje: Poljoprivreda (agronomija)
- Znanstvena grana: Ribarstvo
- Institucija: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za ribarstvo, pčelarstvo, lovstvo i specijalnu zoologiju
- Voditelji doktorskog rada: Izv. prof. dr. sc. Marina Piria, Dr. sc. Margita Jadan
- Broj stranica: 83
- Broj slika: 28
- Broj tablica: 12
- Broj priloga: 0
- Broj literaturnih referenci: 183
- Datum obrane doktorskog rada: 21.09.2016.
- Sastav povjerenstva za obranu doktorskog rada:

Doc. dr. sc. Tea Tomljanović, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
Izv. prof. dr. sc. Davor Zanella, Sveučilište u Zagrebu Prirodoslovno-matematički fakultet
Prof. dr. sc. Tomislav Treer, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

Rad je pohranjen u:

Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ulica hrvatske bratske zajednice 4 p.p. 550, 10 000 Zagreb,
Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 09. 09. 2014., te odobrena na sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 18. 11. 2014.

Doktorski rad je obranjen 21.09.2016. pred povjerenstvom u sastavu:

Doc. dr. sc. Tea Tomljanović

_____

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

Izv. prof. dr. sc. Davor Zanella

_____

Sveučilište u Zagrebu Prirodoslovno-matematički fakultet

Prof. dr. sc. Tomislav Treer

_____

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Marina Piria

Marina Piria rođena je 22. 09.1972. u Zagrebu. Diplomirala je na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 1997. godine te je na istom fakultetu obranila i magistarski rad. Doktorirala je 2007. godine s temom Ekološki i biološki čimbenici ciprinidnih riba rijeke Save. Od 2012. godine obnaša funkciju izvanredne profesorice na Agronomskom fakultetu pri Zavodu za ribarstvo, pčelarstvo, lovstvo i specijalnu zoologiju. Sudjelovala je na starom studiju Agronomskog fakulteta na mnogim ribarskim predmetima, a od nastanka bolonje voditelj je modula Limnologija i Oceanologija na Ms Ribarstvo i lovstvo. Suradnik je na modulima Agrarna zoologija, Osnove agrarne zoologije, Ribarstvo, Biodiverzitet Jadrana i kopnenih voda, Uzgoj avertebrata, Ihtiologija. Osim toga voditelj je modula Limnology and Oceanology na engleskom jeziku te suradnik na modulu Ichthyology. Na engleskom studiju Environment, agriculture and resource management (INTER-EnAgro) voditeljica je modula Limnology and oceanology te suradnica na Ichthyology and Biodiversity of freshwaters and Adriatic Sea. Na specijalističkom studiju vodi module Hidrobiologija i zaštita voda te Akvatični avertebrata. Na poslijediplomskom studiju Poljoprivredne znanosti suradnica je na modulu Metode ribarskih istraživanja otvorenih voda. U periodu od 01. 11. 2014 do 15. 06. 2015. boravila je na Massey University Institute of Agriculture and Environment na Novom Zelandu. Aktivna je članica međunarodne organizacije EIFAAC/FAO Technical and scientific committee (2013. – sad) http://www.fao.org/fishery/rfb/eifaac/en. Također, obišla je mnoge znanstvene institucije u svijetu, Malezija, Austrija, Mađarska, Češka, gdje se znanstveno usavršavala. Sudjelovala je na više od 40 kongresa, međunarodnih i domaćih, do sad je publicirala ukupno 23 A1 radova, 29 A2 i preko 30 ostalih radova uključujući monografiju, radove objavljene u zbornicima kao i priručnike. Osim toga objavila je u koautorstvu i više od 30 stručnih studija.

Mentor:

Dr. sc. Margita Jadan

Margita Jadan rođena je 03. 12. 1974. godine u Zaboku. Diplomirala je 1998. godine na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Poslijediplomski studij iz biologije, smjer molekularna i stanična biologija upisala je na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu gdje je i magistrirala 2004. godine. Doktorirala je 2008. godine također na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Od 2000. do 2004. godine radi kao znanstvena novakinja na Katedri za medicinsku kemiju i biokemiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Od 2004. do danas zaposlena je na Institutu Ruđer Bošković, na Zavodu za kemiju materijala u Laboratoriju za biotehnologiju u akvakulturi, gdje ima radno mjesto znanstvene suradnice. Sudjelovala je na više od 20 kongresa, međunarodnih i domaćih, do sad je publicirala 18 znanstvenih radova objavljenih u *Current Contents* (CC) bibliografskoj bazi podataka, te više ostalih radova uključujući priručnike i radove objavljene u zbornicima. Sudjelovala je u nastavi iz Medicinske kemije i biokemije kao i studija na engleskom jeziku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Na specijalističkom poslijediplomskom studiju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu suradnica je na modulu Ribarstvo.

ZAHVALA

Zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Marini Piria na svesrdnoj podršci, odabiru aktualne i zanimljive teme te posebno na ustrajnosti u poučavanju pisanja radova.

Zahvaljujem mentorici dr. sc. Margiti Jadan na pomoći kod genskih analiza te iznimno korisnim savjetima u pisanju doktorskog rada.

Zahvaljujem kolegama sa Zavoda za ribarstvo, pčelarstvo, lovstvo i specijalnu zoologiju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na pruženoj pomoći i podršci za vrijeme studiranja kao i za vrijeme stvaranja ovog rada.

Također zahvaljujem Gradu Karlovcu, Klubu športskih ribolovaca "Korana" Karlovac te mojoj supruzi Davorki Jakšić na potpori.

SAŽETAK

Invazivni ponto-kaspijski glavoči: riječni glavočić (*Neogobius fluviatilis*), glavočić okrugljak (*Neogobius melanostomus*), keslerov glavočić (*Ponticola kessleri*) nedavno su uzrokovali dramatične promjene struktura ribljih zajednica diljem europskih riječnih sustava. Iako je njihova prisutnost u hrvatskom dijelu dunavskog slijeva primjećena i distribucija izučena, njihova ishrana, utjecaj na autohtone populacije riba, kondicija, dob i rast, zastupljenost haplotipova i porijeklo, do sada su bili nepoznati. Analiza sadržaja probavnog trakta riječnog glavočića (*Neogobius fluviatilis*) ukazuje da mu je ishrana vrlo raznolika, ali prevladavaju Trichoptera, Chironomidae, Bivalvia i Odonata. Ishrana mu se u znatnoj mjeri preklapa s ishranom glavočića okrugljaka (*Neogobius melanostomus*), kojem u ishrani prevladava Gastropoda. Mala riba i *Gammarus* sp. prevladavaju u ishrani keslerova glavočića (*Ponticola kessleri*). Usporedba sadržaja probavnog trakta s plijenom dostupnim u okolini ukazuje da riječni glavočić i glavočić okrugljak preferiraju Trichoptera, Megaloptera i Coleoptera, a keslerov glavočić Trichoptera, *Gammarus* sp. i Pisces. Analize ukazuju na potencijalno pozitivan utjecaj prisustva ponto-kaspijskih glavoča na neke populacije riba: glavočića okrugljaka i keslerova glavočića na zlatnog vijuna (*Sabanejewia balcanica*), riječnog glavočića na šarana (*Cyprinus carpio*), karasa (*Carassius carassius*), manjića (*Lota lota*) i velikog vijuna (*Cobitis elongata*). Međutim, postoje i naznake da keslerov glavočić negativno utječe na klena (*Squalius cephalus*), a glavočić okrugljak na malog vretenca (*Zingel streber*). Pozitivan alometrijski rast utvrđen je za sve tri analizirane vrste ponto-kaspijskih glavoča upućujući na vremenski duže prisutne populacije. Kondicijski faktor najveći je za glavočića okrugljaka, a najmanji za riječnog glavočića. Za riječnog glavočića je utvrđena dob I, II i III, a za glavočića okrugljaka i keslerova glavočića I, II, III i IV, s tim da najveću brzinu rasta ima riječni glavočić, a najmanju glavočić okrugljak. Za svaku od analiziranih vrsta ponto-kaspijskih glavoča utvrđen je jedan crnomorski haplotip. Malen broj haplotipova upućuje na relativno malobrojne populacije ponto-kaspijskih glavoča što potencijalno smanjuje visinu njihova invazivnog potencijala u savskom slijevu.

Ključne riječi: riječni glavočić, glavočić okrugljak, keslerov glavočić, ishrana, bentička fauna, abundanca riba, rast, haplotip, genska raznolikost.

Biological, ecological and genetic characteristics of invasive Ponto-Caspian gobies (Gobiidae) in the Sava River Basin in Croatia

ABSTRACT

Invasive Ponto-Caspian gobies have recently caused dramatic changes in fish assemblage structures throughout the Danube basin. While their presence in the Croatian part of the basin has been noted and distribution studied, their dietary habits, impact on native fish communities, condition, age and growth, presence of haplotypes and origin, until now, have been unknown. In 2011, 17 locations in the Sava River Basin were sampled for fish and 15 for benthic invertebrates. Fish population monitoring data, available for nine seasons (2003-2006 and 2010-2014) and 12 locations, were used to analyse the impacts of Ponto-Caspian gobies on benthic fish abundance. Gut content analysis indicates that the monkey goby (*Neogobius fluviatilis*) diet is very diverse, but dominated by Trichoptera, Chironomidae, Bivalvia and Odonata. The diet overlaps considerably with the round goby (*Neogobius melanostomus*) diet, although Gastropoda are dominant in the latter's diet. Small fish and *Gammarus* sp. dominate the bighead goby (*Ponticola kessleri*) diet. Comparison of gut content with the prey available in the environment indicates that monkey and round gobies exhibit preference for Trichoptera, Megaloptera and Coleoptera, and bighead goby for Trichoptera, *Gammarus* sp. and Pisces. Ponto-Caspian gobies in the Sava River are spreading upstream, towards the reaches with lower fish diversity. Analyses indicate potentially positive impacts of Ponto-Caspian gobies presence on some fish populations: round and bighead goby on Balkan golden loach (*Sabanejewia balcanica*) and monkey goby on common carp (*Cyprinus carpio*), crucian carp (*Carassius carassius*), burbot (*Lota lota*) and Balkan loach (*Cobitis elongata*). However, there are also indications that bighead and round goby could adversely impact the native chub (*Squalius cephalus*) and zingel (*Zingel streber*) populations, respectively. Positive allometric growth has been determined for all three analyzed Ponto-Caspian goby species, suggesting that they have been present for a longer period of time. Condition factor, as a function of available energy resources, is the largest for the round goby and the lowest for the monkey goby. Age I, II, III have been determined for the monkey goby and age I, II, III, IV for the round and bighead goby, with the highest growth rate determined for the monkey goby and the lowest for the round goby. For each of the analyzed Ponto-Caspian goby species only one haplotype, originated from native Black Sea populations, has been found. Determined monkey goby haplotype has also been found in Ukraine and Slovakia and determined round goby haplotype in Ukraine, Bulgaria, Slovakia, Serbia, Poland and Belgium. Determined bighead goby haplotype has also been found only in Ukraine. A small number of haplotypes indicates a relatively small number of Ponto-Caspian goby populations and potentially reduces their invasive potential in the Sava River Basin. Although the Ponto-Caspian goby caused significant disruptions in some areas of the Danube basin, density of its population and impacts are relatively limited in the Sava River and its tributaries. As Ponto-Caspian gobies are still in the expansionary period of invasion and the ecosystem still adapting to new circumstances, continued monitoring of fish population dynamics in the Sava basin is needed to determine the outcome and impacts of this invasion.

Keywords: monkey goby, round goby, bighead goby, diet, benthic fauna, fish abundance, growth, haplotype, genetic diversity

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja 3

1.1.1. Hipoteze istraživanja 3

1.1.2. Ciljevi istraživanja 3

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA 4

2.1. Ishrana i preklapanje u ishrani 4

2.2. Morfologija u funkciji ishrane i Fultonov faktor kondicije 8

2.3. Dob i rast 9

2.4. Molekularne analize 10

3. MATERIJAL I METODE RADA 14

3.1. Područje uzorkovanja i broj uzoraka 14

3.2. Prikupljanje i čuvanje uzoraka do analize 17

3.3. Kvalitativna analiza sadržaja probavila 18

3.4. Uzorkovanje bentičke faune 18

3.5. Kvantitativna analiza sadržaja probavila 19

3.5.1. Indeks ispunjenosti i praznosti probavila 19

3.6. Dužinsko-maseni odnosi i Fultonov faktor kondicije 20

3.6.1. Dužinsko-maseni odnosi 20

3.6.2. Fultonov faktor kondicije 20

3.7. Ivlevov koeficijent izbora 21

3.8. Analiza kompeticije u ishrani 21

3.9. Značaj plijena 22

3.10. Statistička analiza učinaka na bentičke riblje zajednice 22

3.11. Dobna struktura i von Bertalanffyjev rast 22

3.11.1. Dobna struktura 22

3.11.2. Von Bertalanffyjev rast 23
3.12. Izolacija molekule DNK 23
3.13. Provjera kvalitete izolirane molekule DNK 24
3.14. Lančana reakcija polimerazom (PCR) 25
3.15. Provjera PCR-produkata 26
3.16. Pročišćavanje PCR-produkata 27
3.17. Određivanje primarne strukture DNK (sekvenciranje) 27
3.18. Statistička i filogenetska analiza podataka 28
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA 31
4.1. Analiza sadržaja probavila, sastava i važnosti plijena i preklapanje u ishrani 31
4.2. Sklonosti ponto-kaspijskih glavoča spram dostupnih bentičkih beskralješnjaka 34
4.3. Utjecaj abundance ponto-kaspijskih glavoča na bentičke riblje zajednice 36
4.4. Dužinsko-maseni odnosi ponto-kaspijskih glavoča 40
4.5. Kondicijsko stanje ponto-kaspijskih glavoča 43
4.6. Morfologija probavnog trakta ponto-kaspijskih glavoča 45
4.7. Dob ponto-kaspijskih glavoča i von Bertalanffyjev rast 47
4.8. Provjera kvalitete DNK i produkata lančane reakcije polimerazom 51
4.9. Analiza sekvenciranja citokrom b gena mitohondrijske DNK 52
4.10. Usporedba utvrđenih haplotipova s haplotipovima iz drugih zemalja 53
5. RASPRAVA 56
6. ZAKLJUČCI 65
7. POPIS LITERATURE 67
ŽIVOTOPIS 83

POPIS KORIŠTENIH KRATICA

ATP	adenozin-trifosfat
bp	bazni par (eng. *base pair*)
CCA	kanonska korelacijska analiza (eng. *canonical correspondence analysis*)
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
DPT	dužina probavnog trakta
EDTA	etilendiaminotetraoctena kiselina
GLM	generalizirani linearni model (eng. *generalized linear model*)
HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. *high performance liquid cromatography*)
mtDNK	mitohondrijska DNK
NF	riječni glavočić (lat. *Neogobius fluviatilis*)
NM	glavočić okrugljak (lat. *Neogobius melanostomus*)
P-C	ponto-kaspijski (eng. *Ponto-Caspian*)
PCR	lančana reakcija polimerazom (eng. *polymerase chain reaction*)
PK	keslerov glavočić (lat. *Ponticola kessleri*)
SL	standardna dužina (eng. *standard length*)
TAE	TRIS-acetat-EDTA
TL	totalna dužina (eng. *total length)*
TRIS	trishidroksimetilaminometan

POPIS TABLICA

Tablica 1. Sastojci reakcijske smjese.....26

Tablica 2. Haplotipovi s pristupnim brojevima u banci gena (engl. *GenBank*) korišteni u filogenetskoj analizi i lokacije uzorkovanja za riječnog glavočića (NF = AF = NP), glavočića okrugljaka (NM = AM) i keslerova glavočića (PK = NK). AF = *Apollonia fluviatilis*, NP = *Neogobius pallasi*, AM = *Apollonia melanostoma*, NK = *Neogobius kessleri*.....29, 30

Tablica 3. Broj analiziranih uzoraka (n), totalna dužina (TL), standardna dužina (SL), srednja vrijednost ± standardna devijacija ($\bar{x}$ ± SD), standardna pogreška (STD ERR) i koeficijent varijabilnosti (CV).....31

Tablica 4. Varijacija obzirom na dob (od 0+ do 4+) postotka učestalosti pojavljivanja (*F*%), postotka brojnosti (*N*%), postotka mase (*W*%), indeksa ispunjenosti (*FI*%) i indeksa praznosti (*VI*%) hranidbenim svojtama konzumiranim od strane riječnog glavočića (NF), glavočića okrugljaka (NM) i keslerova glavočića (PK).....33

Tablica 5. Važnost hranidbenih svojti ponto-kaspijskih glavoča analizirana uporabom modela GLM (eng. *generalized linear model*).....34

Tablica 6. Preklapanje u ishrani između riječnog glavočića (NF), glavočića okrugljaka (NM) i keslerova glavočića (PK).....34

Tablica 7. Popis 27 uzorkovanih vrsta riba, uključujući ponto-kaspijske glavoče, njihova znanstvena i hrvatska imena, kratice, lokacije i ukupan broj uhvaćenih riba po svakoj lokaciji.....37, 38

Tablica 8. Utjecaj riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića na bentičke vrste riba u vremenu u Savi analiziran uporabom GLM modela.....40

Tablica 9. Rasponi totalnih dužina (TL) i pripadajuće srednje vrijednosti Fultonovog faktora kondicije ($\bar{K}$ ± SD) za riječnog glavočića (NF), glavočića okrugljaka (NM) i keslerova glavočića (PK).....44

Tablica 10. Dobna struktura (godine u rimskim brojevima) i srednja totalna dužina za populacije riječnog glavočića *(L_1-L_3*, u cm), glavočića okrugljaka (L_1-L_4, u cm) i keslerova glavočića (L_1-L_4, u cm) na temelju povratno izračunatih podataka dobivenih od riba ulovljenih 2011. godine (n = broj proučavanih riba) u rijeci Savi, Kupi i Kupčini.....48

Tablica 11. Von Bertalanffyjevi parametri rasta, dob i performanca rasta za riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića ulovljenih 2011. godine u rijeci Savi, Kupi i Kupčini, kao i za navedene ponto-kaspijske glavoče iz drugih radova.....49

Tablica 12. Apsolutni godišnji prirast totalne dužine (i_n), prosječni apsolutni prirast totalne dužine ($\bar{i}_{1-4}$) i realna stopa rasta ($L_4 = 4\ \bar{i}_{1-4}$) u cm u prvim trima godinama za riječnog glavočića i prve četiri godine za glavočića okrugljaka i keslerova glavočića u rijeci Savi, Kupi i Kupčini.....50

POPIS SLIKA

Slika 1. Riječni glavočić (*Neogobius fluviatilis*) iz Korane kod Karlovca totalne dužine približno 200 mm (fotografirao Dejan Ranitović).....14

Slika 2. Glavočić okrugljak (*Neogobius melanostomus*) iz Save (fotografirala Marina Piria).....15

Slika 3. Keslerov glavočić (*Ponticola kessleri*) iz Save (fotografirala Marina Piria).....15

Slika 4. Riječni glavočić iz Kupe kod Karlovca na šljunkovito-pjeskovitoj podlozi (fotografirao Goran Jakšić).....15

Slika 5. Riječni glavočić iz Korane kod Karlovca na pjeskovitoj podlozi (fotografirao Josip Papst).....16

Slika 6. Područje uzorkovanja riječnog glavočića (NF), glavočića okrugljaka (NM) i keslerova glavočića (PK).....17

Slika 7. Lokacije uzorkovanja od 2003. do 2014. godine u Savi i 2011. godine u Kupi u Hrvatskoj s naznakom prisutnosti ponto-kaspijskih vrsta glavoča, lokacijama analize probavnog trakta i lokacijama analize učinka ponto-kaspijskih glavoča na bentičke ribe.....32

Slika 8. Odnos svojti bentičke faune, sakupljene na lokacijama rijeke Save, izražen kao broj uzoraka (%) po kvadratnom metru.....35

Slika 9. Ivlevov indeks selektivnosti (***E***) plijena u rijeci Savi za riječnog glavočića (NF), glavočića okrugljaka (NM) i keslerova glavočića (PK).....35

Slika 10. CCA dijagram zasnovan na abundanci 24 vrste riba, tri okolišne varijable (zavisne varijable) i 12 nominalnih varijabli.....39

Slika 11. Odnos totalne dužine i mase kod riječnog glavočića (*Neogobius fluviatilis*).....41

Slika 12. Odnos logaritama totalne dužine i mase kod riječnog glavočića (*Neogobius fluviatilis*).....41

Slika 13. Odnos totalne dužine i mase kod glavočića okrugljaka (*Neogobius melanostomus*).....42

Slika 14. Odnos logaritama totalne dužine i mase kod glavočića okrugljaka (*Neogobius melanostomus*).....42

Slika 15. Odnos totalne dužine i mase kod keslerova glavočića (*Ponticola kessleri*).....43

Slika 16. Odnos logaritama totalne dužine i mase kod keslerova glavočića (*Ponticola kessleri*).....43

Slika 17. Odnos Fultonovog faktora kondicije *K* i totalne dužine TL riječnog glavočića.....44

Slika 18. Odnos Fultonovog faktora kondicije *K* i totalne dužine TL glavočića okrugljaka.....45

Slika 19. Odnos Fultonovog faktora kondicije *K* i totalne dužine TL keslerova glavočića.....45

Slika 20. Odnos dužine probavnog trakta DPT i totalne dužine TL riječnog glavočića.....46

Slika 21. Odnos dužine probavnog trakta DPT i totalne dužine TL glavočića okrugljaka.....46

Slika 22. Odnos dužine probavnog trakta DPT i totalne dužine TL keslerova glavočića.....47

Slika 23. Ljuska riječnog glavočića iz Save kraj Županje (fotografirao Goran Jakšić).....47

Slika 24. Funkcionalna ovisnost totalne dužine u cm o dobi u godinama za riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića.....50

Slika 25. Primjer uzoraka DNK za 15 jedinki riječnog glavočića nakon elektroforeze na agaroznom gelu.....51

Slika 26. Primjer provjere PCR produkata citokrom b gena mitohondrijske DNK riječnog glavočića.....52

Slika 27. Citokrom b gen mtDNK veličine oko 1280 bp za riječnog glavočića (Nf) glavočića okrugljaka (Nm) i keslerova glavočića (Pk).....54

Slika 28. Filogenetsko stablo haplotipova napravljeno metodom "neighbor-joining" na temelju 1000 pseudoponavljanja *bootstrap*.....55

1. UVOD

Posljednjih desetljeća nekoliko ponto-kaspijskih glavoča (Gobiidae) je iz područja prirodne rasprostranjenosti brodovima prevezeno u glavne europske luke da bi zatim migrirali u većinu europskih kopnenih voda (Jazdzewski i Konopacka, 2002; Copp i sur., 2005a; Polačik i sur., 2008; Leuven i sur., 2009; Manné i sur., 2013; Roche i sur., 2013; Povž, 2016). U Hrvatskoj su nedavno zabilježene četiri vrste: riječni glavočić (*Neogobius fluviatilis*) (Pallas, 1814), keslerov glavočić (*Ponticola kessleri*) (Günther, 1861), glavočić okrugljak (*Neogobius melanostomus*) (Pallas, 1814), *Babka gymnotrachelus* (Kessler, 1857) (Polačik i sur., 2008a; Piria i sur., 2011a; Piria i sur., 2011b; Šanda i sur., 2013). Sve četiri vrste smatraju se invazivnim (Copp i sur., 2005a), što potvrđuju analize procjene rizika od alohtonih vrsta (Copp i sur., 2005b) u Hrvatskoj i Sloveniji, ukazujući na "visok rizik" od glavočića okrugljaka i "umjereno visok rizik" od ostalih triju vrsta (Piria i sur., 2016a). Postoji relativno malo radova o njihovu djelovanju na autohtonu ihtiofaunu (Corkum i sur., 2004; Copp i sur., 2008; Borcherding i sur., 2011; Kipp i Ricciardi, 2012), a za Hrvatsku samo jedan (Piria i sur., 2016b). Istraživanje provedeno u Slovačkoj je ukazalo da se širenje riječnog glavočića ne očekuje na tim prostorima jednako brzo kao glavočića okrugljaka i keslerova glavočića (Čápová i sur., 2008), međutim, u hrvatskom dijelu dunavskog slijeva se najviše rasprostranila upravo ova vrsta (Piria i sur., 2011a), a širi se i dalje. Tako je riječni glavočić lovljen u rijeci Savi i njenim pritokama, Kupi i Ilovi, a primijećen je i u rijeci Korani. Glavočić okrugljak i keslerov glavočić primijećeni su samo u donjem toku Save te Dunavu (Piria i sur., 2011b), a prvi nalaz *B. gymnotrachelus* u rijeci Dravi zabilježen je prije nekoliko mjeseci (Šanda i sur., 2013). Većina kontinentalne Hrvatske (i značajan dio Jugoistočne Europe) pripadaju savskom slijevu, što odgovara površini od 12% dunavskog slijeva (Komatina i Grošelj, 2015). Iako su trenutno gotovo beznačajne hidromorfološke promjene uglavnom ograničene na pritoke Save (Ogrinc i sur., 2015), a kvaliteta vode poboljšala se od početka 1990. godine kao rezultat smanjenja teške industrije i rudarstva (Treer i sur., 2007), prisutnost invazivnih vrsta postaje sve važniji stresor u slijevu (Copp i sur., 2005a; Simonović i sur., 2015). Svaka od ovih vrsta ima neke specifičnosti u zahtjevima prema staništu, ali sve spomenute vrste mogu opstati na šljunkovito-pjeskovitom i kamenitom dnu (Kottelat i Freyhof, 2007; Kessel van i sur., 2011) do pet godina dosežući maksimalnu standardnu dužinu od 220 mm (Erős i sur., 2005; Bogut i sur., 2006; Vassilev i sur., 2012). Hrane se beskralješnjacima i ribama (Adámek i sur., 2007; Piria i sur., 2016b; Jakšić i sur., 2016), što ovisi o vrsti staništa, dobu dana i godine, kao i veličini glavoča (Kornis i sur., 2012). Prema von Bertalanffyjevom modelu rasta, dužina glavočića okrugljaka obzirom na njegovu dob

znatno se razlikuje u starijoj literaturi i novijim radovima (Simonović i sur., 2001; Grul'a i sur., 2012). Slično su i za riječnog glavočića dobivene značajne razlike u parametrima rasta (Sasi i Berber, 2010; Plachá i sur., 2010). U novijim radovima koji se odnose na molekularne analize pronađeno je da se genska raznolikost glavočića okrugljaka povećava uslijed pasivnog transporta larvi do novih staništa putem struja. Time dolazi do prijenosa gena između udaljenih populacija (Kocovsky i sur., 2011). Genska raznolikost povećava se i uslijed prometa brodovima pri kojem se juvenilne jedinke prenose balastnim vodama (Brown i Stepien, 2008), čineći populacije više sličnima nego kad do prijenosa gena dolazi uslijed prirodnih mehanizama (LaRue i sur., 2011). Najčešće korišten gen za filogenetska istraživanja je citokrom b na mitohondrijskoj DNK (Avise, 1994; Meyer, 1994), a njegove analize pokazuju da su za riječnog glavočića najučestaliji crnomorski haplotipovi (Neilson i Stepien, 2011), kao i za glavočića okrugljaka (Cerwenka i sur., 2014). U rijekama savskog slijeva u Hrvatskoj po prvi put će se odrediti kvalitativni i kvantitativni sastav ishrane, važnost određenih hranidbenih kategorija, sklonost spram dostupnih bentičkih beskralješnjaka, preklapanje u ishrani, te utjecaj na bentičke riblje zajednice riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića, kao i kondiciono stanje, dob i rast istraživanih vrsta. Odredit će se genska raznolikost populacija i filogenetska pripadnost. Rezultati ovog istraživanja doprinijet će razumijevanju prodora proučavanih invazivnih vrsta u nova staništa i njihove uloge u ekosustavu.

1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja

1.1.1. Hipoteze istraživanja

1. glede svojih bioloških i ekoloških osobina, ponto-kaspijski glavoči (riječni glavočić, glavočić okrugljak i keslerov glavočić) imaju povoljne uvjete za rast i razvoj u savskom slijevu Hrvatske,
2. ponto-kaspijski glavoči (riječni glavočić, glavočić okrugljak i keslerov glavočić) negativno utječu na većinu autohtonih bentičkih vrsta riba rijeke Save,
3. ponto-kaspijski glavoči (riječni glavočić, glavočić okrugljak i keslerov glavočić) savskog slijeva u Hrvatskoj, pripadaju istoj filogenetskoj skupini kao i ponto-kaspijski glavoči utvrđeni kao invazivne vrste u većini europskih kopnenih voda.

1.1.2. Ciljevi istraživanja

1. odrediti dobnu strukturu riba i von Bertalanffyjev rast,
2. izraditi dužinsku i masenu strukturu riba,
3. izračunati Fultonov faktor kondicije,
4. odrediti kvalitativni i kvantitativni sastav ishrane,
5. odrediti važnost određenih hranidbenih svojti,
6. prikazati sklonost spram dostupnih bentičkih beskralješnjaka,
7. izračunati indeks ispunjenosti probavila i indeks praznosti probavila,
8. prikazati morfologiju probavnog trakta (odnos dužine probavila i totalne dužine tijela),
9. usporediti međusobne kompeticije u ishrani istraživanih vrsta,
10. prikazati utjecaj na bentičke riblje zajednice,
11. odrediti gensku raznolikost populacija invazivnih glavoča,
12. utvrditi filogenetske linije u istraživanom području,
13. utvrditi haplotipove zastupljene u pojedinoj populaciji,
14. usporediti haplotipove s haplotipovima iz banke gena.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Ishrana i preklapanje u ishrani

Studije prirodne ishrane riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića svode se na opće informacije (Ray i Corkum, 1997; Kakareko i sur., 2005; Adámek i sur., 2007; Grabowska i sur., 2009; Piria i sur., 2011a; Kornis i sur., 2012, Piria i sur., 2016b), a četiri rada odnose se na podatke o ishrani riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića obzirom na hranu koja se nalazi u okolini, te na njihovo preklapanje u ishrani obzirom na strukturu dna i doba godine (Borza i sur., 2009; Brandner i sur., 2013b; Števove i Kováč, 2013, Piria i sur., 2016b). Analize preklapanja ishrane invazivnih vrsta riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića s autohtonim vrstama riba svode se na nekoliko navoda (Charlebois i sur., 2001; Sindilariu i Freyhof, 2003; Karlson i sur., 2007; Copp i sur., 2008; Kornis i sur., 2012). Neke studije daju podatke o navedenim invazivnim glavočima kao plijenu za autohtone vrste (Corkum i sur., 2004; Almqvist i sur., 2010; Lenhardt i sur., 2010).

Istraživanja ishrane riječnog glavočića u rijeci Visli u Poljskoj pokazuju da su mu preferirana hranidbena svojta trzalci (Chironomidae), dok su mu drugi najvažniji plijen rakušci (Amphipoda) i puževi (Gastropoda), a rijeđe ribe. Trzalci i rakušci dominiraju u ishrani riba svih dužinskih skupina, dok su veslonošci (Copepoda) i maločetinaši (Oligochaeta) isključivo pronađeni u probavilima malih, kao i riba srednjih dužina. Puževi i vodencvjetovi (Ephemeroptera) nisu pronađeni u probavnom traktu malih riba (Grabowska i sur., 2009). Nadalje, istraživanja ishrane riječnog glavočića u Savi u Hrvatskoj pokazuju da su mu preferirana hranidbena svojta nedeterminirani kukci (Insecta), slijede larve tulara (Trichoptera) *Hydropscyhe angustipennis*, *Gammarus* sp., trzalci i detritus (Piria i sur., 2011a). Novija istraživanja (Piria i sur., 2016b) ukazuju da su larve tulara, trzalci, školjkaši (Bivalvia) i vretenca (Odonata) važna hranidbena svojta riječnog glavočića, male ribe i *Gammarus* sp. keslerova glavočića, a puževi glavočića okrugljaka. Također istraživanja ishrane riječnog glavočića u Dunavu i rijeci Hron u južnoj Slovačkoj pokazuju da su mu larve i pupe trzalaca, kao i rakušac *Corophium curvispinum* preferirana hranidbena svojta (Adámek i sur., 2007). Slična ishrana pronađena je u probavilima keslerova glavočića iz Dunava u južnoj Slovačkoj, gdje se između 11 hranidbenih svojti u najvećem broju i masi nalazio upravo *Corophium curvispinum*. Osim beskralješnjaka u probavilima su pronađene ribe, veliki vretenac (*Zingel zingel*) i smuđ (*Sander lucioperca*) u dobi 0+

(Adámek i sur., 2007). Isto tako se i neke druge vrste ponto-kaspijskih glavoča, kao *Proterorhinus semilunaris*, pretežno hrane rakušcima i larvama trzalaca (Kocovsky i sur., 2011) – dosadašnja istraživanja rijeke Dunav u Češkoj pokazuju da će tu vrstu potisnuti glavočić okrugljak iz mikrostaništa (Lusk i sur., 2010) – dok se *Babka gymnotrachelus* iz Visle u Poljskoj pretežno hrani maločetinašima, mekušcima (Mollusca), rakušcima i larvama trzalaca, slično kao riječni glavočić (Kakareko i sur., 2005). Proučavana vrsta je i ponto-kaspijski glavočić okrugljak koji se kao juvenilna jedinka hrani zooplanktonom, a u kasnijim stadijima bentičkim beskralješnjacima, malim ribama, kao i jajima i larvama velikih riba. Na ishranu utječe stanište, doba dana i godine i veličina tijela. U jezerima i morima (lentička staništa), školjkaši su obično primarna hranidbena svojta. Laboratorijske studije pokazuju da ishrana isključivo školjkašima kao posljedicu ima manju stopu rasta (-0,04 g/dan) za glavočića okrugljaka od ishrane koja primjerice sadrži isključivo trzalace (0,13 g/dan). Studije nadalje pokazuju da je 50% plijena školjkaša zdrobljeno ždrijelnim zubima (veći primjerci školjkaša), dok je ostalih 50% progutano (manji primjerci školjkaša). Dužina konzumiranih školjkaša je proporcionalna dužini glavoča. U potocima i rijekama (lotička staništa) u ishrani dominiraju bentički beskralješnjaci koji nisu školjkaši (Kornis i sur., 2012). Ishrana glavočića okrugljaka u Dunavu u Srbiji sastoji se od školjkaša, puževa, rakušaca, maločetinaša i kukaca (Simonović i sur., 1998). U kasno ljeto hrani se uglavnom školjkašima, posebno raznolikom trokutnjačom (*Dreissena polymorpha*), kao i vrstama iz porodica Spheriidae i Unionidae. Plijen su mu i dvije vrste puževa, *Lymnaea peregra* i *Theodoxus danubialis*, rakušci *Gammarus* sp., maločetinaši, insekti dvokrilci (Diptera) i insekti obalčari (Plecoptera). Školjkaši su bili dominantan plijen u svim dobnim skupinama, a rakušci tamo gdje školjkaša nije bilo. Selektivnost za školjkaše prema puževima nije se pojavila u dobnim i dužinskim skupinama (Simonović i sur., 2001). Analiza ishrane glavočića okrugljaka iz gornjih tokova rijeke Detroit u Kanadi pokazuje da se za standardne dužine od 7,0-8,4 cm, srednja vrijednost ispunjenosti probavnog trakta odnosila 58% na raznoliku trokutnjaču, 36% na vodene insekte i 6% na puževe. Mali (5,5-6,9 cm SL) i srednji (7,0-8,4 cm SL) glavočići okrugljaci hranili su se isključivo najmanjim dužinskim skupinama (6,0-9,9 mm TL) raznolike trokutnjače, dok su se najveći (8,5-10,3 cm SL) hranili najmanjim dužinskim skupinama, kao i dužinskim skupinama 10,0-12,9 mm (Ray i Corkum, 1997). U sjevernoameričkim Velikim jezerima, točnije u južnom dijelu jezera Michigan, prisutnost glavočića okrugljaka statistički signifikantno djeluje na smanjenje gustoće raznolike trokutnjače i larvi tulara. Gustoće većine ostalih svojti bile su također manje, ali ne signifikantno (Kuhns i Berg, 1999). Također u navedenim jezerima ishrana glavočića okrugljaka uključuje rakušce, trzalce, rašljoticalce, rakove, vretenca, školjkaše, vodencvjetove, riblja jaja i riblje larve (Corkum i sur., 2004), ovisno o tipu supstrata dna i intenzitetu svjetlosti (Diggins i sur., 2002). Chotkowski i Marsden (1999)

pokazuju u svojim laboratorijskim studijama da se glavočić okrugljak hrani jajima i mlađi jezerske pastrve (*Salvelinus namaycush*). Istraživanja nadalje pokazuju da se glavočić okrugljak hrani i jajima jezerske jesetre (*Acipenser fluvescens*), smanjujući nasad te autohtone vrste. Istraživanja pritoka jezera Erie provedena u Pensilvaniji pokazuju da se glavočić okrugljak uglavnom hrani larvama i pupama trzalaca, mada su se jedinke veće od 75 mm u manjoj mjeri hranile trzalcima od jedinki manjih dužina. Osim porodice trzalaca iz reda dvokrilaca, ostali plijen odnosio se na porodice iz reda vodencvijetova, tulara i obalčara, kao i na vodene grinje i riblja jaja (Phillips i sur., 2003). Istraživanja litoralne zone Dunava u Mađarskoj pokazuju da su u proljeće trzalci dominirali u ishrani glavočića okrugljaka. Ljeti u blizini obale nije bilo dominantne hranidbene svojte među pronađenim vrstama *Dikerogammarus* sp., *C. fluminea*, *O. obesus*, *T. fluviatilis* i Chironomidae, dok su u kamenim procjepima to bile vrste *Dikerogammarus* sp. Ujesen su *Dikerogammarus* sp. bile dominantna hranidbena svojta u blizini obale, a u kamenim procjepima glavočić okrugljak je konzumirao *Dikerogammarus* sp., *C. Curvispinum* i *Jaera istri* u približno jednakim postocima. Keslerov glavočić se pretežno hranio *Dikerogammarus* sp. u svim navedenim godišnjim dobima u oba staništa. Često su konzumirani *C. Curvispinum* i *O. obesus*. U proljeće su trzalci konzumirani učestalo, ali u malom broju. Riba je relativno rijetko konzumirana i tada bi ispunjavala većinu probavnog trakta. Primaran plijen je bio glavočić okrugljak. Ribe iz porodice šarana, kao i mali primjerci keslerova glavočića, također su pronađeni u probavnom traktu. U proljeće su glavočić okrugljak i keslerov glavočić pokazivali suprotnu preferenciju spram ishrane u kamenim procjepima. Keslerov glavočić je preferirao *Dikerogammarus* sp. i odbijao trzalce, dok se glavočić okrugljak oslanjao na trzalce, izbjegavajući *Dikerogammarus* sp. U blizini obale su *Dikerogammarus* sp. i trzalci konzumirani razmjerno. Ljeti i ujesen razlike u ishrani su se manje pojavljivale (Borza i sur., 2009). U gornjim dijelovima Dunava u Njemačkoj rakovi (Crustacea) bili su dominantna svojta konzumirana od glavočića okrugljaka (oko 2/3 ukupne ishrane) i keslerova glavočića (oko 3/4 ukupne ishrane). *Dikerogammarus* sp. i invazivni rakušci bili su najznačajnije hranidbene svojte. Ishrana rakovima povećavala se od ranog do kasnog ljeta. U manjoj mjeri obje vrste hranile su se larvama insekata (uglavnom trzalaca, ali također tulara, vodencvjetova, obalčara i drugih vodenih insekata). Posebno je ishrana glavočića okrugljaka trzalcima bila u porastu u rano ljeto (33%) i u opadanju u kasno ljeto (5%) (Brandner i sur., 2013b). U srednjem dijelu Dunava u Slovačkoj u ishrani keslerova glavočića prevladavale su larve trzalaca, zatim *Dikerogammarus* sp. i *Corophium* sp. U odnosu na biomasu, *Dikerogammarus* sp. je najviše doprinosio ukupnoj ishrani. Drugi prevladavajući tip ishrane bile su male ribe. (Konzumirale su ih jedinke od 63 do 135 mm SL). Slično, u ishrani glavočića okrugljaka prevladavale su larve trzalaca, zatim *Corophium* sp. i Cladocera. U odnosu na biomasu,

mahovnjaci (Bryozoa) najviše su doprinosili ukupnoj ishrani glavočića okrugljaka. Drugi prevladavajući tip ishrane bili su *Corophium* sp., a zatim *Dikerogammarus* sp. U dvije su jedinke (100-143 mm SL) male ribe također pronađene u probavnom traktu (Ševove i Kováč, 2013). Njegovu ishranu ribom potvrđuje i zanimljiv primjer iz američke države Ohio gdje je ribičima u jezeru Erie dopušten ulovi i pusti ribolov maloustog pastrvskog grgeča (*Micropterus dolomieu*) za vrijeme mrijesta. Prilikom njegova ulova čuvano gnijezdo ostaje nezaštićeno, to jest zameci ostaju izloženi predaciji glavočića okrugljaka. Takva kombinacija ribolova i predacije predstavlja značajan gubitak novačenja maloustog pastrvskog grgeča (Corkum i sur., 2004). Opažanja pokazuju i da mužjaci glavočića okrugljaka agresivno brane svoje gnijezdo od maloustog pastrvskog grgeča i drugih vrsta (Corkum i sur., 1998). Za Savu u Hrvatskoj pokazuje se signifikantno preklapanje u ishrani između riječnog glavočića i glavočića okrugljaka, međutim, ishrana keslerova glavočića ne podudara se s ishranom dviju spomenutih vrsta (Piria i sur., 2016b). U Dunavu kraj Bratislave u Slovačkoj glavočić okrugljak i keslerov glavočić primarno su konzumirali rakušce, a sekundarno trzalce. Također je grgeč (*Perca fluviatilis*) u svim dužinskim skupinama osim dužinskog razreda dobi 2+, pokazivao signifikantno preklapanje u ishrani s ove dvije vrste glavoča (Copp i sur., 2008). Riječni glavočić iz delte Dunava u Rumunjskoj hranio se rakovima, i to rakušcima (Amphipoda) i Mysidacea. Preklapanje ishrane riječnog glavočića i krupatice (*Blicca bjoerkna*) bilo je maksimalno među malim jedinkama riječnog glavočića i juvenilnim jedinkama krupatice (Sindilariu i Freyhof, 2003). U Baltičkom moru utvrđeno je preklapanje ishrane glavočića okrugljaka i iverka (*Platichthys flesus*) (Karlson i sur., 2007). Ispitujući pod eksperimentalnim uvjetima ponašanje između peša (*Cottus gobio*) i ponto-kaspijskog glavoča *Babka gymnotrachelus*, Kakareko i sur. (2013) ustanovili su da se *Babka gymnotrachelus* agresivno ponaša prema pešu (prosječno 2,5 agresivnih događaja/h), ali rijetko obrnuto (prosječno 0,05 događaja/h). Peš je signifikantno ograničavajuće tragao za hranom u 62% slučajeva, i bio brži u dosezanju hrane u 76% slučajeva. *Babka gymnotrachelus* bio je u 77% slučajeva agresivniji danju, dok su se obje vrste pretežno hranile noću. Nadalje, istraživanja donjih tokova Visle u Poljskoj pokazuju da se *Babka gymnotrachelus* primarno hrani rakušcima i trzalcima, kao i da mu se ishrana signifikantno ne preklapa s grgečom (*Perca fluviatilis*) i balavcem (*Gymnocephalus cernuus*) (Grabowska i Grabowski, 2005). Ponto-kaspijski glavoči ishrana su i drugim ribljim vrstama. Tako analiza ishrane bakalara iz Baltičkog mora pokazuje da mu je glavočić okrugljak osnovna hranidbena svojta. Bakalari od 16 do 25 cm TL hranili su se uglavnom kozicom pjeskuljom (*Crangon crangon*) i glavočićem okrugljakom, a veći primjerci uglavnom glavočićem okrugljakom. U ishrani grgeča (*Perca fluviatilis*) dominira i glavočić okrugljak, čija važnost raste s veličinom grgeča. Glavočić okrugljak je relativno slab plivač, što ga čini lakim plijenom kad nije u zaklonu. Kako je

glavočić okrugljak rijetko duži od 25 cm TL, bakalar duži od 50 cm TL hrani se svim veličinama glavočića okrugljaka (Almqvist i sur., 2010). Slično su, riječni glavočić, glavočić okrugljak, keslerov glavočić, *Babka gymnotrachelus*, kao i vrsta *Proterorhinus marmoratus* hranidbena komponenta ekonomski važnim ribljim vrstama u vodama Srbije, somu (*Silurus glanis*) i smuđu (*Sander lucioperca*). Porast komercijalnog ulova smuđa u posljednjih nekoliko godina u Srbiji bio je dijelom i zbog povećanja količine tih vrsta glavoča kao njegove hranidbene svojte. Ribolovci također koriste navedene glavoče kao dobar mamac za soma i smuđa (Lenhardt i sur., 2010).

2.2. Morfologija u funkciji ishrane i Fultonov faktor kondicije

Studije morfoloških osobina riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića svode se na nekoliko navoda literature (Kováč i Siryová, 2005; L'avrinčíková i sur., 2005; Čápová i sur., 2008; Polačik i sur., 2012; Brandner i sur., 2013b; Lindner i sur., 2013). Od navedenih radova dva istražuju morfološke značajke u odnosu na konzumirani plijen (Čápová i sur., 2008; Brandner i sur., 2013b), dok jedan istražuje morfološke usporedbe autohtonih i unesenih populacija (Polačik i sur., 2012). Lindner i sur. (2013) prvi daju dokaz o hibridizaciji riječnog glavočića i glavočića okrugljaka na temelju morfoloških i genskih osobina. Studije kondicije navedenih vrsta svode se na nekoliko navoda literature (Piria i sur., 2011a; Piria i sur., 2011b; Polačik i sur., 2012; Konečná i Jurajda, 2012; Brandner i sur., 2013a; Brandner i sur., 2013b; Jakovlić i sur., 2015).

Istraživanjem vanjske morfologije riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića ustanovljeno je da riječni glavočić ima signifikantno manju dužinu donje i gornje čeljusti od glavočića okrugljaka i keslerova glavočića što pokazuje njegovu specijalizaciju prema hranidbenim svojtama manjih dimenzija za razliku od drugih dviju vrsta (Čápová i sur., 2008). Upravo je položaj kuta čeljusti, naravno uz ostale morfološke i genske osobine, odredio hibrida između riječnog glavočića i glavočića okrugljaka u rijeci Rajni (Lindner i sur., 2013). Također, unesene populacije glavočića okrugljaka iz Dunava u Slovačkoj imaju manju dužinu donje i gornje čeljusti i signifikantno veće vrijednosti Fultonovog faktora kondicije od autohtonih populacija iz Dunava u Bugarskoj (Polačik i sur., 2012). Za riječnog glavočića iz Dunava u Bugarskoj pokazano je da kondicija mužjaka naglo raste od travnja do srpnja, a ženkama još brže raste u travnju, ali i brzo pada u lipnju. Za razliku od mužjaka kondicija im se povećava tijekom mrijesta. U listopadu nije bilo signifikantne razlike u kondiciji između mužjaka i ženki (Konečná i Jurajda, 2012). Za riječnog glavočića iz Save u Hrvatskoj pokazuje se da mu je kondicija u

pritokama (K = 0,94) nešto veća od one u samoj rijeci (K = 0,88) te da u tom pogledu duž cijele rijeke nema statistički signifikantnog trenda za sve tri istraživane vrste (Jakovlić i sur., 2015). Uspoređujući glavočića okrugljaka i keslerova glavočića u gornjim tokovima Dunava, pokazuje se da je kondicija keslerova glavočića signifikantno manja od kondicije glavočića okrugljaka u rano i kasno ljeto (Brandner i sur., 2013a), čemu mogu ići u prilog istraživanja kojima je pokazano kako keslerov glavočić ima signifikantno kraći probavni trakt od glavočića okrugljaka, a posljedično i užu hranidbenu nišu prilagođenu hrani životinjskog porijekla (Brandner i sur., 2013b).

2.3. Dob i rast

Većina autora navodi opće podatke vezane uz dob i rast riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića, kao i poteškoće nastale u određivanju rasta koristeći von Bertalanffyjev model (Smirnov, 1986; Simonović, 1996; MacInnis, 1997; Phillips i sur., 2003; Plachá i sur., 2010; Sasi i Berber, 2010; Sokołovska i Fey, 2011; Grul'a i sur., 2012; Huo i sur., 2014). Pet radova odnosi se na dob i rast glavočića okrugljaka i keslerova glavočića u ovisnosti o dosezanju spolne zrelosti (Berg, 1949; MacInnis i Corkum, 2000a, 2000b; L'avrinčíková i Kováč, 2007; Kováč i sur., 2009), dok Corkum i sur. (2004) i Plachá i sur. (2010) pronalaze vezu između dobi, rasta i okoline u kojoj ribe obitavaju.

Analizom ljusaka riječnog glavočića iz jezera Manyas (Sasi i Berber, 2010) i rijeke Ipeľ (Plachá i sur., 2010) te keslerova glavočića iz rijeke Save (Simonović, 1996) i Dunava (Copp i sur., 2008) utvrđeno je pet dobnih skupina. Također je analizom ljusaka glavočića okrugljaka iz Dunava utvrđeno četiri dobne skupine (Grulʹa i sur., 2012) a analizom otolita glavočića okrugljaka iz Baltičkog mora (Sokołovska i Fey, 2011) i Velikih jezera (Huo i sur., 2014) pet odnosno šest dobnih skupina. Primjerci glavočića okrugljaka iz Azovskog, Crnog i Kaspijskog mora duži su od riječnih i jezerskih (Corkum i sur., 2004). Tako za dob 3+ Smirnov (1986) u Azovskom moru nalazi jedinku glavočića okrugljaka maksimalne totalne dužine 123 mm, a Phillips i sur. (2003) u jezeru Erie 93,5 mm, dok Berg (1949) u Azovskom moru za dob 2+ pronalazi jedinku od 140 mm. Iz navedenog također proizlazi da za spomenutu vrstu, obzirom na dob, dolazi do značajnog preklapanja u dužinama (Phillips i sur., 2003; Grul'a i sur., 2012). Izvori se slažu da su mužjaci glavočića okrugljaka duži od ženki u svim dobnim skupinama osim u dobnoj skupini 0+ (Kornis i sur., 2012). Također, Plachá i sur. (2010) i Grul'a i sur. (2012) von Bertalanffyjev model smatraju neadekvatnim za izračun rasta riječnog glavočića odnosno glavočića okrugljaka. U jednom i drugom slučaju razlog je probijanje granice pouzdanosti od 95% za izračunate

parametre rasta. Suprotno prethodnim razmatranjima, Sasi i Berber (2010) u jezeru Manyas u Turskoj za riječnog glavočića pronalaze pet dobnih skupina, a koristeći von Bertalanffyjev model određuju parametre rasta. Isti model uspješno primjenjuju MacInnis (1997) i Huo i sur. (2014) proučavajući otolite glavočića okrugljaka iz američkog jezera Michigan. Uneseni glavočić okrugljak doseže spolnu zrelost u manjim dužinskim i dobnim skupinama od većine autohtonih populacija (MacInnis i Corkum, 2000a, 2000b; L'avrinčíková i Kováč, 2007), kao i keslerov glavočić (Kováč i sur., 2009).

2.4. Molekularne analize

Razvojem molekularnih markera unaprijeđena su genska istraživanja ribljih vrsta i njihovih populacija. Zajedno s novim statističkim metodama molekularni markeri predstavljaju revoluciju u istraživanju genske raznolikosti (Liu i Chordes, 2004). Razni molekularni markeri kao što su mikrosateliti, RAPD, SNP, mitohondrijski citokrom b gen i COI gen, nuklearni RAG 1 gen, DNK sekvence kontrolne regije koriste se u ribarstvu. Navedeni markeri omogućuju identifikaciju vrsta (Nugroho i sur., 1997; Johns i Avise, 1998; Rocha-Olivares i sur., 1999; Neilson i Stepien, 2009b; Kohout i sur., 2013; Stepien i Neilson, 2013) i hibrida među vrstama (Neilson i Stepien, 2011; Lindner i sur., 2013), analizu genske raznolikosti prirodnih populacija (Carvalho i Hauser, 1998; Knowlton, 2000; Harada i sur., 2002; Hallerman, 2003; Brown i Stepien, 2009; Earl i sur., 2010; Sorokin i sur., 2011), usporedbu između divljih i uzgojenih populacija (Jones i sur., 2001; Odak i sur., 2002), te uspješnost mrijesta (Gjedrem 2005), procjenu *uskih grla* (eng. *bottleneck*) za prirodne populacije (Halliburton, 2004; Puillandre i sur., 2007) i potpomognuto razmnožavanje (Chauhan i Rajiv, 2010). U ovom pregledu dosadašnjih istraživanja tri rada odnose se na molekularne analize mitohondrijskog citokrom b gena i mikrosatelitskih lokusa sa svrhom utvrđivanja najučestalijih haplotipova, to jest filogenetskih linija (Stepien i Tumeo, 2006; Neilson i Stepien, 2011; Cerwenka i sur., 2014), dok se većina radova odnosi na utvrđivanje genske, to jest haplotipske raznolikosti (Vyskočilová i sur., 2007; Brown i Stepien, 2008; Feldheim i sur., 2009; Björklund i Almqvist, 2010; LaRue i sur., 2011). Za usporedbu s dvama spomenutim molekularnim markerima navedena su i dva istraživanja koja se odnose na DNK sekvence nekodirajuće kontrolne regije (Dillon i Stepien, 2001; Stepien i sur., 2005).

Analizom citokrom b gena za glavočića okrugljaka iz gornjeg toka Dunava utvrđen je najučestaliji crnomorski haplotip ame1, to jest nije bilo naznake mitohondrijske DNK

primjese filogeografski različitih skupina. F_{ST}[1] parametar je za jedinke iz Dunava iznosio samo 0,05 (Cerwenka i sur., 2014). Za spomenuti gen pokazana je najveća genska (haplotipska) raznolikost među populacijama sjevernoameričkih Velikih jezera Erie i St. Clair, kao i u zapadnom dijelu Crnog mora, a najmanja među europskim slatkovodnim populacijama Dunava i Dnjepra. Analiza pokazuje da se kod glavočića okrugljaka 10% genske raznolikosti odnosi na tri meta populacije, a to su američka Velika jezera, europske rijeke i Crno more, dok je 85% genske raznolikosti pronađeno unutar uzoraka populacija pojedinih grupa (Stepien i Tumeo, 2006). Na većem broju lokacija Crnog, Kaspijskog, Azovskog i Baltičkog mora, te rijeka Dunav, Dnjepar, Moskva i Volga, Brown i Stepien (2008) pokazuju kako je srednja genska raznolikost glavočića okrugljaka veća kod autohtonih nego unesenih populacija. Tako je za citokrom b gen ona 0,58 za autohtone, dok je 0,35 za unesene jedinke. Za mikrosatelite je 0,46 za autohtone, a 0,42 za unesene jedinke. Posebno je u rijeci Moskvi pronađena unesena populacija velike genske raznolikosti 0,86 za citokrom b gen. Najmanju gensku raznolikost za citokrom b gen imale su populacije iz Dunava u Slovačkoj 0,05 i Srbiji 0,04, dok je za mikrosatelite bila usporediva s navedenim srednjim vrijednostima. Stepien i sur. (2005) pokazuju da za glavočića okrugljaka nekodirajuća kontrolna regija ima veću razinu divergencije, to jest genske raznolikosti, nego kodirajući citokrom b gen. Prema broju haplotipova po lokaciji i genskoj raznolikosti, sjevernoameričke populacije glavočića okrugljaka imaju veću gensku raznolikost od autohtonih euroazijskih populacija. Također uporabom DNK sekvenci kontrolne regije Dillon i Stepien (2001) pokazuju za glavočića okrugljaka relativno veliku gensku raznolikost. Uspoređene su populacije Velikih jezera, unesene populacije zaljeva Gdanjsk u Poljskoj i autohtone populacije sjevernog Crnog mora. Genska raznolikost je bila slična za autohtone i unesene populacije, što sugerira relativno brojne osnovane populacije i nepostojanje *uskog grla*[2]. Genska raznolikost bila je najveća za autohtone populacije iz Crnog mora i iznosila je 0,96, dok je za unesene populacije iz jezera St. Clair iznosila 0,84. Istraživanje mikrosatelitskih lokusa keslerova glavočića iz Dunava u Slovačkoj pokazuje nisku do umjerenu gensku raznolikost. Broj alela po lokusu iznosio je od jedan do četiri, a genska raznolikost varirala je između 0,13 i 0,75. Slično je i za glavočića okrugljaka s jednim do dva alela po lokusu i genskom raznolokosti od 0,15 do 0,50 dobiven malen polimorfizam kao posljedica *founder efekta*[3] (Vyskočilová i sur., 2007), dok se za unesene populacije glavočića okrugljaka u jezero St. Clair izračunava 4

[1] *Indeks genske diferencijacije* F_{ST} se može promatrati kao udio ukupne genske raznolikosti, koja je uzrokovana diferencijacijom između populacija, u odnosu na ukupnu gensku raznolikost (Z. Šatović, usmeno priopćenje).

[2] *Usko grlo* se pojavljuje kada se populacija reducira na vrlo malen broj jedinki, a genske posljedice su identične onima *founder efekta*: heterozigotnost je smanjena, rijetki aleli su izgubljeni, a frekvencije alela su promijenjene (Halliburton, 2004).

[3] *Founder efekt* je uspostavljanje nove populacije od strane nekoliko izvornih osnivača. Primjerice, većina otočkih populacija je osnovana pomoću samo nekoliko jedinki s kopna (Halliburton, 2004).

do 22 alela po lokusu i genska raznolikost između 0,25 i 0,89, a za autohtone populacije iz Dnjepra u Ukrajini nešto manji broj alela po lokusu od 4 do 17, ali nešto veća genska raznolikost između 0,55 i 0,95 (Feldheim i sur., 2009). Analizirajući glavočića okrugljaka iz sjevernoameričkog jezera Michigan, pronađeno je ukupno 53 alela na sedam mikrosatelitskih lokusa. Lokusi su imali od 3 do 16 alela, a genska raznolikost je varirala između 0,46 i 0,60. Najveća genska diferencijacija između pristaništa iznosila je F_{ST} = 0,16, a najmanja F_{ST} = -0,02; interpretirano kao 0. Nije pronađena ovisnost između geografske udaljenosti i genske raznolikosti, već između količine prometa brodovima i genske raznolikosti glavočića okrugljaka. Kontinuiranim unosom glavočića okrugljaka omogućen je prijenos gena između populacija (LaRue i sur., 2011). Analizirajući devet mikrosatelitskih lokusa za glavočića okrugljaka iz južnog Baltičkog mora, Björklund i Almqvist (2010) pronalaze najveću gensku diferencijaciju između dviju najudaljenijih lokacija s najrazličitijim staništima. Lokusi su imali između 6 i 19 alela, dok se genska raznolikost nalazila između 0,55 i 0,65. *Prijenos gena Nm*[4] bio je malen i približno jednak među lokacijama. Analizom autohtonih jedinki riječnog glavočića iz crnomorskog i kaspijskomorskog slijeva, kao i unesenih populacija iz gornjeg toka Dunava i Visle, utvrđeno je 107 citokrom b haplotipova. Broj haplotipova po lokaciji je iznosio od 1 do 16, dok je genska raznolikost po lokaciji iznosila od 0,00 do 1,00. U Azerbejdžanu je u Kaspijskom moru genska raznolikost na šest lokacija iznosila 1,00, dok je u Poljskoj u Visli na dvije lokacije iznosila 0,00, a u Ukrajini u Dunavu je na jednoj lokaciji iznosila 0,85. Filogenetskom analizom citokrom b haplotipova utvrđene su dvije glavne grane koje odgovaraju hidrogeografskim područjima Ponto-kaspijske regije. Jednu granu čine svi haplotipovi pronađeni u crnomorskom slijevu, uključujući Azovsko more, uzvodne lokacije rijeka koje se uljevaju u Crno more: Dnjestar, Dnjepar, Dunav, te unesene populacije u Vislu, kao i populacije rijeka Volge, Don i Manych. Drugu granu čine svi haplotipovi iz Kaspijskog mora, kao i dva haplotipa iz delte rijeke Volge (Neilson i Stepien, 2011). Istraživanje mikrosatelitskih lokusa autohtonih riječnih glavočića iz Dunava u Bugarskoj pokazuje nisku do umjerenu gensku raznolikost. Broj alela po lokusu je iznosio jedan do devet, a genska raznolikost je varirala između 0,03 i 0,83 (Vyskočilová i sur., 2007). Identičnim metodama je izračunato za autohtonog riječnog glavočića iz Dnjestra u Ukrajini 1 do 15 alela po lokusu, a genska raznolikost je varirala između 0,00 i 0,91, dok je za riječnog glavočića iz Kaspijskog mora u Azerbejdžanu broj alela po lokusu iznosio 1 do 29, a genska raznolikost je bila gotovo identična i nalazila se u intervalu od 0.00 do 0,93 (Feldheim i sur., 2009). Spomenimo i novija istržavanja nekih drugih invazivnih vrsta riba,

[4] Za razliku od *genskog drifta*, *prijenosom gena* teži se homogenizirati populacije, učiniti ih sličnima. Kako prijenos gena Nm utječe na populacijsku diferencijaciju F_{ST} najbolje pokazuje jednadžba $Nm \cong \frac{1-F_{ST}}{4F_{ST}}$ (Halliburton, 2004), iz koje se vidi da su te dvije veličine obrnuto proporcionalne, to jest da smanjenje jedne veličine znači povećanje druge i obratno.

primjerice belgijske populacije ponto-kaspijskog glavoča *Proterorhinus semilunaris* za koje se analizom citokrom b gena ustanovio manji broj haplotipova, ali i veća nukleotidna raznolikost od sjevernoameričkih i istočnoeuropskih populacija (Mombaerts i sur., 2014); kao i turske populacije sunčanice (*Lepomis gibbosus*), za koje su se analizom mtDNK COI (eng. *cytochrome c oxidase subunit I*) sekvenci utvrdila tri nova haplotipa porijeklom iz sjevernoameričkih lokacija gdje je vrsta prirodno rasprostranjena. Također su utvrđeni visoka tolerancija na okolinu i potencijalno invazivni karakter (Ağdamar i sur., 2015).

3. MATERIJAL I METODE RADA

3.1. Područje uzorkovanja i broj uzoraka

Analizirani uzorci riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića (Slike 1, 2 i 3) prikupljeni su iz područja rijeka savskog slijeva Hrvatske Save, Ilove, Kupe, Kupčine i Korane (Slika 6; Međunarodna komisija za slijev rijeke Save, 2010), koja prema zonaciji pripadaju zoni mrene i zoni deverike. Zona mrene Save i Korane podudara se sa srednjim tokom šljunkovito-pjeskovite podloge (Slike 4 i 5; Oreščanin i sur., 2004; Globevnik i sur., 2010; Ćuk i Vučković, 2014). Od riba uz mrenu (*Barbus barbus*), dolaze još i klen (*Squalius cephalus*), podust (*Chondrostoma nasus*), jez (*Leuciscus idus*), bolen (*Leuciscus aspius*), klenić (*Leuciscus leuciscus*) i mladica (*Hucho hucho*) (Duplić, 2008). Donji tok Save i Kupe sa sitno-zrnatim sedimentima riječnoga dna kojih udio nizvodno postupno raste do 90% (Milačić i sur., 2010; Franciskovic-Bilinski i sur., 2012) obuhvaća zonu deverike. Uz deveriku (*Abramis brama*), od riba nalazimo i bodorku (*Rutilus rutilus*), šarana (*Cyprinus carpio*), linjaka (*Tinca tinca*), smuđa (*Sander lucioperca*), soma (*Silurus glanis*) i štuku (*Esox lucius*) (Duplić, 2008).



Slika 1. Riječni glavočić (*Neogobius fluviatilis*) iz Korane kod Karlovca totalne dužine približno 200 mm (fotografirao Dejan Ranitović).



Slika 2. Glavočić okrugljak (*Neogobius melanostomus*) iz Save (fotografirala Marina Piria).



Slika 3. Keslerov glavočić (*Ponticola kessleri*) iz Save (fotografirala Marina Piria).



Slika 4. Riječni glavočić iz Kupe kod Karlovca na šljunkovito-pjeskovitoj podlozi (fotografirao Goran Jakšić).



Slika 5. Riječni glavočić iz Korane kod Karlovca na pjeskovitoj podlozi (fotografirao Josip Papst).

Rijeka Sava nastaje spajanjem rijeka Save Dolinke i Save Bohinjke u Sloveniji, kroz Hrvatsku protječe u dužini od 562 km, a utječe u rijeku Dunav u Srbiji. Ranković (1954) i Habeković i sur. (1997) naglašavaju da po ribljem prinosu rijeka Sava spada u red vrlo produktivnih voda Europe, te da je u ribolovnom smislu uvijek bila značajna za Hrvatsku. Gotovo polovica ulova iz otvorenih voda Hrvatske pripada rijeci Savi i njezinim pritocima. Na temelju novijih istraživanja rijeku Savu nastanjuje 55 vrsta riba, među kojima je i pet endemskih vrsta dunavskog slijeva (Mrakovčić i sur., 2006). Dužinom rijeke od Račinovaca do Savice uzorkovano je 141 uzoraka riječnog glavočića, 84 uzorka glavočića okrugljaka i 21 uzoraka keslerova glavočića. Također su u njezinoj pritoci Ilovi uzorkovana dva uzorka riječnog glavočića.

Pritoka rijeke Save je i rijeka Kupa koja izvire u Nacionalnom parku Risnjak u Gorskom kotaru. Ukupne je dužine toka 296 km, a utječe u rijeku Savu kod Siska. U gornjem toku rijeka Kupa se probija kroz šumovit kanjon, a kod Ozlja ulazi u ravničarski tok. Stižući do Karlovca pritokom joj postaje rijeka Korana – koja izvire u Nacionalnom parku Plitvička jezera i ukupne je dužine toka 134,2 km – a zatim i rijeka Kupčina. Mrakovčić i Ćaleta (2009) procjenjuju da ribolovnu zonu Kupe i Korane kojom gospodari Klub športskih ribolovaca "Korana" Karlovac nastanjuje 35, odnosno 27 vrsta riba. U tom dijelu Kupe i Korane uzorkovano je 28, odnosno tri uzorka riječnog glavočića. Također su u rijeci Kupčini uzorkovana dva uzorka riječnog glavočića.



Slika 6. Područje uzorkovanja riječnog glavočića (NF), glavočića okrugljaka (NM) i keslerova glavočića (PK).

3.2. Prikupljanje i čuvanje uzoraka do analize

Uzorci analizirani u ovom radu prikupljeni su u periodu od travnja do listopada 2011. godine iz rijeka Save, Ilove, Kupe i Kupčine električnim agregatom tipa Hans Grassel 6 kW u suradnji s kolegama s Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Halačka i Jurajda, 1994), te ljubaznošću ribolovaca od svibnja do lipnja 2013. godine iz rijeke Korane priborom za sportsko-rekreacijski ribolov (Treer i sur., 1995).

Prilikom izlova i uzorkovanja jedinkama je sterilnim škaricama odrezano oko 0,5 cm^2 podrepne peraje, koje su pohranjene u numeriranim posudicama u 96-postotnom etanolu za potrebe molekularnih analiza. Ljuske uzimane s bočne strane tijela ispod osnove leđne peraje pohranjene su u numerirane papirnate vrećice, dok su primjerci riba pohranjeni u numerirane plastične vrećice na -20ºC, do daljnjih analiza.

3.3. Kvalitativna analiza sadržaja probavila

Nakon odmrzavanja ribama je izmjerena totalna i standardna dužina *L* tijela milimetarskim papirom uz točnost od 0,1 cm, kao i masa *W* elektronskom vagom "Kern" tipa 440-33N s preciznošću od 0,1 g.

Iz analiziranih primjeraka izdvojeno je probavilo nakon rezanja kod jednjaka i analnog otvora, pri čemu je izmjerena i njegova dužina za potrebe morfoloških analiza. Sadržaj je izuzet iz prednjeg dijela izoliranog i rastegnutog probavila, izvagan kao mokra masa elektronskom vagom te spremljen u numerirane posudice i fiksiran u 96-postotnom etanolu do daljnje analize. Uslijedila je analiza kvalitativnog i kvantitativnog sadržaja probavila (Treer i sur., 2006), a identifikacija i brojanje svojti plijena obavljena je pomoću binokularnog mikroskopa. Za determinaciju je korištena literatura (Matoničkin i sur., 1998, 1999) i standardni ključevi za određivanje bentičkih beskralješnjaka (Kerovec, 1986; Nilsson, 1996, 1997).

3.4. Uzorkovanje bentičke faune

Na istim lokacijama rijeke Save na kojima je provedeno uzorkovanje riblje faune, provedeno je i uzorkovanje bentičke faune, uzimajući uzorke s različitih tipova podloga: kamenje (>60 mm), šljunak (2-64 mm), pijesak (0,06-2 mm) i mulj (<0,06 mm). Uzorkovanje je provedeno uporabom Surber pribora za uzimanje uzoraka (300x300 mm, 250 mm veličina mrežice). Uzorkovana bentička fauna je fiksirana u 96-postotnom etanolu na terenu. Identifikacija uzoraka bentičke faune provodi se u laboratoriju prema Nilsson (1996, 1997). Izračunata je biomasa svih bentičkih svojti po kvadratnom metru.

3.5. Kvantitativna analiza sadržaja probavila

Prilikom analiza pojedinih svojti plijena upotrijebljene su metode (Holden i Raitt, 1974; Hyslop, 1980):

3.1 postotak učestalosti pojavljivanja F_i:

$$F_i = \frac{f_i}{\sum_{i=1}^{n} f_i} \cdot 100$$

gdje je f_i frekvencija jedne hranidbene svojte, a $\sum_{i=1}^{n} f_i$ ukupna frekvencija n hranidbenih svojti,

3.2 postotak brojnosti N_i:

$$N_i = \frac{n_i}{\sum_{i=1}^{n} n_i} \cdot 100$$

gdje je n_i broj jedne hranidbene svojte, a $\sum_{i=1}^{n} n_i$ ukupan broj n hranidbenih svojti,

3.3 postotak mase W_i:

$$W_i = \frac{w_i}{\sum_{i=1}^{n} w_i} \cdot 100$$

gdje je w_i masa jedne hranidbene svojte, a $\sum_{i=1}^{n} w_i$ ukupna masa n hranidbenih svojti.

3.5.1. Indeks ispunjenosti i praznosti probavila

Promjene u navikama hranjenja analizirane su pomoću (Windell, 1971):

3.4 indeksa ispunjenosti probavila FI:

$$FI = \frac{masa\ sadržaja\ probavila}{masa\ ribe} \cdot 100$$

3.5 indeksa praznosti probavila VI:

$$VI = \frac{broj\ praznih\ probavila}{ukupan\ broj\ istraženih\ probavila} \cdot 100$$

3.6. Dužinsko-maseni odnosi i Fultonov faktor kondicije

3.6.1. Dužinsko-maseni odnosi

Dužinsko-maseni odnosi analizirani su pomoću (Le Cren, 1951):

3.6 jednadžbe za dužinsko-masene odnose:

$$W = a \cdot L^b$$

3.7 logaritamske funkcije:

$$log_{10}W = log_{10}a + b \cdot log_{10}L$$

gdje su a i b koeficijenti izračunati pomoću linearne regresije, logaritmiranjem jednadžbe 3.6 po bazi 10. Ukoliko je koeficijent b = 3, tada govorimo o izometrijskom rastu, pri b > 3 ribe napreduju više u masi, a pri b < 3 ribe dobivaju više na dužini.

3.6.2. Fultonov faktor kondicije

Kondiciono stanje analizirano je pomoću (Ricker, 1975):

3.8 Fultonovog faktora kondicije K:

$$K = \frac{W}{L^3} \cdot 100$$

koji služi za istraživanje sezonskih razlika i razlika u staništu. Osim što se gore navedenim faktorom može vidjeti porast mase radi rasta i sazrijevanja gonada, on se mijenja i uslijed hranidbe.

3.7. Ivlevov koeficijent izbora

Praćenje varijacije u ishrani istraživanih vrsta u odnosu na raspoloživu hranu u okolini analizirano je pomoću (Ivlev, 1961):

3.9 Ivlevovog koeficijenta izbora E:

$$E = \frac{r_1 - p_1}{r_1 + p_1}$$

gdje je r_1 postotak organizama u probavilu, a p_1 postotak organizama u okolini. Moguće vrijednosti koeficijenta variraju od -1 do +1. Pozitivne vrijednosti pokazuju aktivan odabir hrane dok negativne vrijednosti pokazuju tendenciju odbijanja hrane ili nedostupnost hrane. Ako je dobivena vrijednost 0, tada je hranjenje slučajno to jest nasumično (Harrell i sur., 1977).

3.8. Analiza kompeticije u ishrani

Preklapanje ishrane istraživanih vrsta analizirano je pomoću (Schoener, 1970):

3.10 Schoenerovog indeksa kompeticije α:

$$\alpha = \frac{1}{2} \cdot \left(\sum_{i=1}^{n} |P_{xi} - P_{yi}| \right)$$

gdje su P_{xi} i P_{yi} udjeli plijena i u ukupnom sastavu plijena u ishrani vrsta x i y. Iznos ovoga indeksa varira od 0, kada se dvije vrste koriste sasvim različitim plijenom, do 1, kada se koriste istim plijenom u ishrani. Iznosi veći od 0,6 označavaju signifikantno preklapanje sastava plijena i kompeticije vrsta (Zaret i Rand, 1971; Lorenzioni i sur., 2002; Encina i sur., 2004). Pregledi preklapanja ishrane kod različitih vrsta riba pokazuju da Schoenerov indeks daje dobru procjenu kompeticije u ishrani (Wallace, 1981).

3.9. Značaj plijena

Da bismo ispitali važnost svakog pojedinog plijena za sve tri istraživane vrste, analiziran je sadržaj probavila uporabom generaliziranog linearnog modela GLM (eng. *generalized linear model*) implementiranog u CANOCO softverski paket. Korišteni su Poissonovi generalizirani linearni modeli s logaritamskom vezom, gdje su analizirani ponto-kaspijski glavoči zavisne varijable za plijen pronađen u probavilu (Ter Braak i Šmilauer, 2012).

3.10. Statistička analiza učinaka na bentičke riblje zajednice

Podaci monitoringa dostupni za devet sezona: od 2003. do 2006. godine, od 2010. do 2014. godine (Aničić i sur., 2014), kao i dodatni podaci uzorkovanja 2004. godine za nekoliko nizvodnih lokacija duž Save (Mustafić, 2005), upotrijebljeni su za analizu učinaka ponto-kaspijskih glavoča na abundancu riba u Savi. Koristeći kanonsku korelacijsku analizu CCA (eng. *canonical correspondence analysis*) sa zavisnim podacima kao logaritamskim transformacijama, ograničenim testom na osi i neograničenim permutacijama, implementiranu u CANOCO 5 softverski paket, određene su bentičke riblje vrste, čija je abundanca jednaka broju uzorkovanih riba duž 100 m obale, kao zavisne varijable, dok su ponto-kaspijski glavoči okolišne (eksplanatorne) varijable, a lokacije nominalne eksplanatorne varijable. Isti je program upotrijebljen za analizu dodatnih učinaka ponto-kaspijskih glavoča kao zavisnih varijabli na abundancu riba koristeći Poissonove generalizirane linearne modele s logaritamskom vezom (Ter Braak i Šmilauer, 2012).

3.11. Dobna struktura i von Bertalanffyjev rast

3.11.1. Dobna struktura

Starost riba je određena metodom brojanja skleritnih prstena (anula) na ljuskama (Treer, 2008). Ljuske su uzimane s bočne strane tijela ispod osnove leđne peraje te pohranjene u papirnate vrećice na kojima je napisan redni broj pod kojim je riba vođena. Identifikacija skleritnih prstena je određena pomoću Dino capture 2.0 računalnog programa korištenjem digitalnog mikroskopa "Dino-Lite" tipa AM-413T.

3.11.2. Von Bertalanffyjev rast

Povratnim izračunom dužina iz svih generacija ustanovljene su dužine u svim godinama života metodom (Guy i Brown, 2007):

3.11 Fraser-Leeove jednadžbe:

$$L_n = \frac{S_n}{S} \cdot (L - c) + c$$

gdje je L_n povratno izračunata dužina ribe u svim njenim godinama života n , dok su S_n i S polumjeri mjereni iz središta ljuske do njezinih pojedinačnih anula n, to jest do ruba ljuske. Koeficijent c računa se pomoću linearne regresije dužine ribe na polumjer ljuske.

Nakon povratnog izračuna prosječnih dužina istraživanih vrsta riba podaci su statistički obrađeni metodom (Murphy i Willis, 1996; Piria i sur., 2011):

3.12 von Bertalanffyjeve jednadžbe rasta:

$$L_t = L_\infty \cdot \left(1 - e^{-K \cdot (t - t_0)}\right)$$

gdje je L_∞ najveća dužina koju ribe mogu doseći, K je koeficijent rasta koji pokazuje kojom brzinom ribe dosežu L_∞, dok je t_0 hipotetska dob kod $L_t = 0$.

Za provjeru vjerodostojnosti dobivenih parametara izračunata je (Moreau i sur., 1986):

3.13 ukupna performanca rasta Φ:

$$\Phi = lnK + 2lnL_\infty$$

3.12. Izolacija molekule DNK

Molekula DNK izolirana je iz tkiva podrepne peraje pomoću Qiagen DNeasy Blood & Tissue kompleta kemikalija, prema uputama proizvođača Qiagen GmbH Germany (www.qiagen.com/handbooks). Otopljena DNK se čuva na + 4˚C do daljnje analize.

3.13. Provjera kvalitete izolirane molekule DNK

Reagensi:

1. agaroza (Applied Biosystems)

2. 0,7-postotni agarozni gel

Agaroza	0,7%
1x TAE-pufer	1x
etidijev bromid	1µg/mL

3. 50x TAE-pufer

TRIS	40 mM
octena kiselina	20 mM
EDTA	1 mM
destilirana voda	

4. 1x TAE-pufer

50x TAE-pufer	20 mL
destilirana voda	do 1 L

5. etidijev bromid (10 mg/mL, Merck)

6. molekularni marker (*Gene Ruler DNK Ladder Mix*, Fermentas)

7. boja za nanošenje uzoraka (*6x Loading Dye Solution, Fermentas*)

TRIS	10 mM
brom-fenol plavilo	0,03%
ksilen-cijanol	0,03%
Glicerol	60%
EDTA	60 mM

Reagense kod kojih nije drugačije navedeno proizvodi Kemika.

Postupak:

Kvaliteta DNK ispitana je elektroforezom na 0,7-postotnom agaroznom gelu. Izvagana agaroza se otopi u 1x TAE-puferu zagrijavanjem do vrenja, te se doda etidijev bromid. Nakon hlađenja (oko 50˚C) gel se izlije u kadicu za elektroforezu i ostavi skrutnuti. U jažice gela se nanesu uzorci koji sadrže 5 µL otopine DNK i 1 µL boje za nanošenje uzoraka. Također se u jednu jažicu nanese 1 µL molekularnog markera pomiješanog s 1 µL boje. Elektroforeza se odvija pri naponu 100 V tijekom jednog sata. Rezultati se očitaju pod ultraljubičastom svjetlošću, a gel pohrani kao digitalna slika na računalu.

3.14. Lančana reakcija polimerazom (PCR)

Reagensi:

1. 10x PCR-pufer bez $MgCl_2$ (Fermentas)
2. $MgCl_2$ (10 mM, Fermentas)
3. DNK Taq-polimeraza (Fermentas)
4. Deoksiribonukleotidi (dNTP, Fermentas)

dATP	10 mM
dGTP	10 mM
dCTP	10 mM
dTTP	10 M

5. HPLC voda (Merck)
6. Početnice 5' prema 3' (Invitrogen)

AJG15	CAAAAACCATCGTTGTAATTCAACT
H5	GAATTYTRGCTTTGGGAG

Lančanom reakcijom polimerazom umnoženi su odsječci na citokromu b veličine oko 1280 bp na mitohondrijskoj DNK, pri čemu su korištene navedene početnice (Akihito i sur., 2000; Neilson i Stepien, 2009a). Reakcija umnažanja izvođena je u ukupnom volumenu od 25 µL. Sastojci reakcijske smjese (Tablica 1) tijekom pripreme su držani na ledu.

Tablica 1. Sastojci reakcijske smjese

SASTOJAK	KONAČNA KONCENTRACIJA
10x PCR-pufer	1x
$MgCl_2$	1,5 mM
dNTP	0,2 µM
Početnica	0,2 µM
Početnica	0,2 µM
Taq-polimeraza	1 U
HPLC voda	do 25 µL

U svaku reakcijsku smjesu dodaje se oko 100 ng DNK. Reakcija se odvijala u uređaju za lančanu reakciju polimerazom *Mastercycler personal* (Eppendorf). Umnažanje odsječaka odvijalo se prema uvjetima:

- početna denaturacija: 94˚C, 3 minute
- 40 ciklusa umnažanja, a svaki se sastoji od: denaturacija 94˚C, 1 minuta; sparivanje početnica 52˚C, 45 sekundi; produljivanje lanca 72˚C, 1 minuta
- završno produljivanje lanca: 72˚C, 5 minuta

3.15. Provjera PCR-produkata

Reagensi:

1. agaroza (Applied Biosystems)
2. 0,7-postotni agarozni gel
3. 50x TAE-pufer
4. 1x TAE-pufer
5. Etidijev bromid (10 mg/mL)
6. Boja za nanošenje uzoraka (6x *Loading Dye Solution*, Fermentas)
7. Molekularni marker (*Gene Ruler DNA Ladder Mix*, Fermentas)

Postupak:

Provjera rezultata umnažanja lančanom reakcijom polimerazom napravljena je elektroforezom na 0,7-postotnom agaroznom gelu. Izvagana agaroza se otopi u 1x TAE-puferu zagrijavanjem do vrenja, te se doda etidijev bromid. Nakon hlađenja (oko 50˚C) gel se izlije u kadicu za elektroforezu i ostavi skrutnuti. U jažice gela se nanesu uzorci koji sadrže 5 µL otopine DNK i 1 µL boje za nanošenje uzoraka. Također se u jednu jažicu nanese 1 µL molekularnog markera pomiješanog s 1 µL boje. Elektroforeza se odvija pri

naponu 100 V tijekom 40 minuta. Rezultati se očitaju pod ultraljubičastom svjetlošću, a gel pohrani kao digitalna slika na računalu.

3.16. Pročišćavanje PCR-produkata

1. *QIAquick PCR Purification Kit* (Qiagen)

Postupak:

Umnoženi i provjereni PCR-produkti se pročišćavaju prije određivanja primarne strukture DNK. PCR-produkti pročišćeni su komercijalno dostupnim kompletom *QIAquick PCR Purification Kit* (Qiagen) prema uputama proizvođača.

3.17. Određivanje primarne strukture DNK (sekvenciranje)

1. Početnice 5' prema 3' (Invitrogen)

AJG15	CAAAAACCATCGTTGTAATTCAACT
H15343	GGGTTATTAGATCCTGTTTCGTGTAGG
L15162	GCTATGTCCTACCATGGGGGCAAATATC
H5	GAATTYTRGCTTTGGGAG

2. *BigDye Terminator Ready Reaction Mix* (Applied Biosystems)

Postupak:

Uzorci za sekvenciranje pripremljeni su kompletom *BigDye Terminator Ready Reaction Mix* (Applied Biosystems) prema uputama proizvođača. Reakcija sekvenciranja odsječka oba lanca 5' citokrom b na mitohondrijskoj DNK se odvijala na ABI PRISM 3730-*Avant Genetic Analyzer* (Applied Biosystems) DNK sekvenatoru koristeći AJG15, H15343, L15162 i H5 početnice. Za analizu odsječaka korišten je kompjutorski program DNA Sequencing Analysis Software 3.0.

3.18. Statistička i filogenetska analiza podataka

Analiza i slaganje dobivenih sljedova nukleotida (sekvenci) napravljena je programom Sequencher 4.1.4. Dobivene sekvence uspoređene su sa sekvencama koje postoje u bazi podataka *GenBank*, odnosno NCBI-*National Center for Biotechnology Information* (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/), alatom BLAST (eng. *Basic Local Alignment Search Tool*). Na taj način su utvrđeni haplotipovi.

Osim haplotipova utvrđenih u ovoj studiji, za potrebe filogenetskih analiza su uzeti i haplotipovi iz drugih zemalja (Tablica 2). Srodni odnosi su prikazani u obliku filogenetskog stabla napravljenog prema metodi "neighbor-joining" (NJ). Metoda "neighbor-joining" spada u metode distanci (eng. *distance methods*) koje za oblikovanje filogenetskog stabla koriste udaljenosti između parova nukleotidnih sljedova. Brzo izračunavanje i rezultat u obliku samo jednog stabla čine ovu metodu vrlo privlačnom (Saitou i Nei, 1987; Saitou i Imanishi, 1989).

Evolucijska udaljenost je izračunata pomoću metode "maximum composite likelihood" (MCL) u kojoj se učestalost tranzicijskih i transferzijskih supstitucija razmatra zasebno uzimajući u obzir nejednake učestalosti četiriju nukleotida (Tamura i sur., 2004).

Pogreška uzorkovanja prilikom izrade filogenetskog stabla utvrđena je neparametrijskom tehnikom poduzorkovanja (eng. *resampling technique*) *bootstrap*. Skupina je pouzdana za vrijednost *bootstrap* iznad 75% (Felsenstein, 1985).

Sve filogenetske analize napravljene su pomoću programskog paketa MEGA 6 (Tamura i sur., 2013).

Tablica 2. Haplotipovi s pristupnim brojevima u banci gena (eng. *GenBank*) korišteni u filogenetskoj analizi i lokacije uzorkovanja za riječnog glavočića (NF = AF = NP), glavočića okrugljaka (NM = AM) i keslerova glavočića (PK = NK). AF = *Apollonia fluviatilis*, NP = *Neogobius pallasi*, AM = *Apollonia melanostoma*, NK = *Neogobius kessleri*.

Vrsta	Naziv haplotipa	Pristupni broj	Lokacija uzorkovanja	Referenca
NF	haplotip 2	GQ444337	Crno more, gornji tok rijeke Volge, rijeka Don	Neilson i Stepien, 2011
NF	Nf1	KC886273	jezero Sasyk, Odeška oblast, Ukrajina	Medvedev i sur., 2013
NF	haplotip 6	GQ444341	Crno more, gornji tok rijeke Volge, rijeka Don	Neilson i Stepien, 2011
NF	AGV7[1]	FJ526749	ušće rijeke Dunav u Crno more, Vilkovo, Ukrajina	Neilson i Stepien, 2009b
AF	AGV9	FJ526750	Azovsko more, Molochnyy, Ukrajina	Neilson i Stepien, 2009b
AF	ALL13	FJ526751	Crno more i rijeka Volga, Volgograd, Rusija	Neilson i Stepien, 2009b, 2011
AF	ANG11	FJ526752	kanal Chernozemelskii, Elista, Rusija	Neilson i Stepien, 2009b
AF	ANT5	FJ526753	Crno more, rijeka Volga i jezero Manych, Prujitnoe, Rusija	Neilson i Stepien, 2009b, 2011
NP	haplotip 37	GQ444372	Kaspijsko more, delta rijeke Volge	Medvedev i sur., 2013
NP	haplotip 96	GQ444431	Kaspijsko more, delta rijeke Volge	Neilson i Stepien, 2011
AM	ame20 = AMP2	EU331175	rijeka Volga, Svetli Yar, Rusija	Neilson i Stepien, 2009b
AM	ame31 = AKB1	EU331186	Kaspijsko more, Nabran, Azerbejdžan	Neilson i Stepien, 2009b
AM	ame10	EU331165	Crno more, Varna, Bugarska i Crno more, Sevastopol, Ukrajina	Medvedev i sur., 2013
NM	Nm2	KC886277	jezero Sasyk, Odeška oblast, Ukrajina	Medvedev i sur., 2013
AM	ame75 = AHF8	EU331225	Crno more, Sevastopol, Ukrajina	Neilson i Stepien, 2009b
AM	ame2	EU331157	Crno more, Bilgorod, Ukrajina	Brown i Stepien, 2008
NM	ame1[2]	EU331156	Crno more, Ukrajina	Brown i Stepien, 2008
AM	ame58 = AHC3	EU331208	rijeka Dnjepar, Kijev, Ukrajina	Neilson i Stepien, 2009b
NM	Nm3	KC886278	Crno more, Odeška oblast, Ukrajina	Medvedev i sur., 2013
NK	APT7	FJ526769	jezero Simferopol, Simferopol, Ukrajina	Neilson i Stepien, 2009b
NK	NkeAGV3	EU444669	Crnomorski slijev	Neilson i Stepien, 2009a
NK	ALC2	FJ526768	rijeka Dnjestar, Yampil, Ukrajina	Neilson i Stepien, 2009b
PK	Pk2[3]	KC886260	rijeka Dunav, luka Izmajil, Ukrajina	Medvedev i sur., 2013
PK	Pk1	KC886259	jezero Sasyk, Odeška oblast, Ukrajina	Medvedev i sur., 2013
NK	APT8	FJ526770	rijeka Dunav, Dobra, Srbija	Neilson i Stepien, 2009b

GN*	AOD8	FJ526782	plaža Jalte, Jalta, Ukrajina	Neilson i Stepien, 2009b

[1]AGV7 = haplotip 5 = NfCR1, [2]ame1 = haplotip 1 = NmCR1 i [3]Pk2 = PkCR1 su utvrđeni haplotipovi u ovom radu.

**Gobius niger* (GN) je korišten kao vanjska grupa (eng. *outgroup*).

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

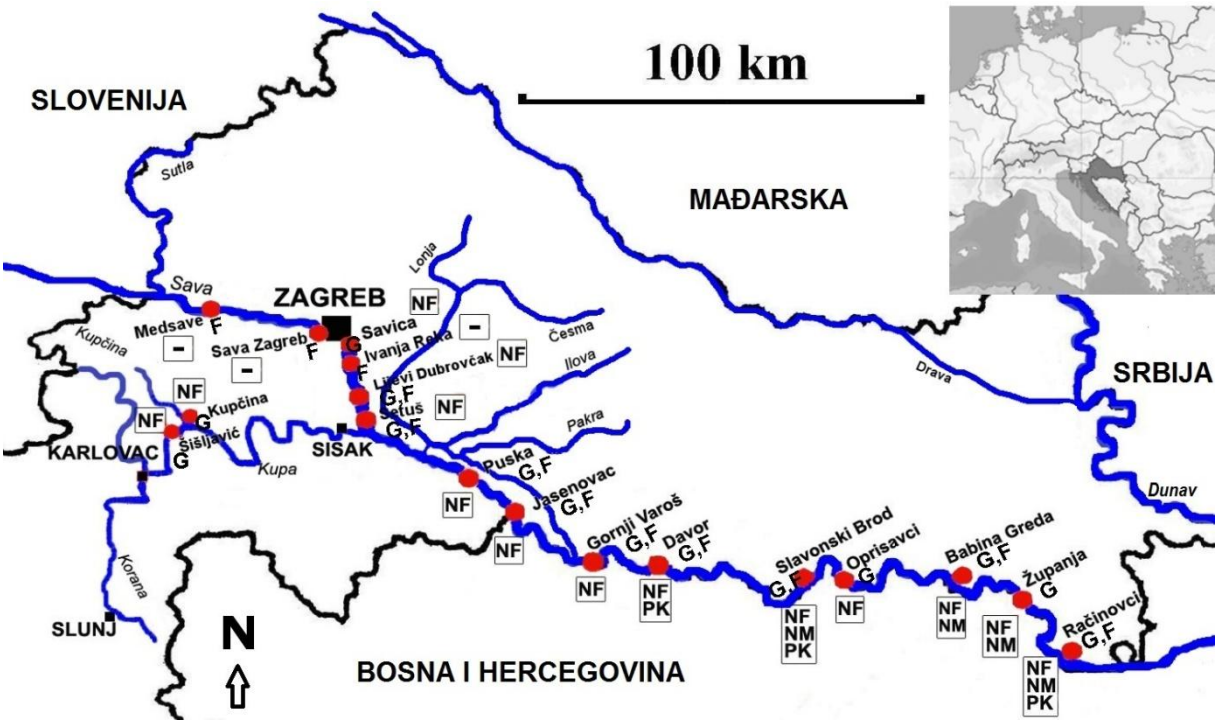
4.1. Analiza sadržaja probavila, sastava i važnosti plijena i preklapanje u ishrani

U 2011. godini prikupljeno je ukupno 278 ponto-kaspijskih glavoča koji pripadaju trima vrstama: 173 riječna glavočića, 84 glavočića okrugljaka, 21 keslerov glavočić. Vrsta *Babka gymnotrachelus* nije pronađena. Analiza sadržaja probavila obavljena je na 242 jedinke (Tablica 3 i 4) iz 14 lokacija Save i jedne lokacije Kupe (Slika 7). Riječni glavočić i glavočić okrugljak imali su više raznoliku ishranu od keslerova glavočića. Premda je riječni glavočić bio najbrojnija vrsta, nije pronađena jedinka u dobi 4+ za razliku od ostalih dviju vrsta.

Tablica 3. Broj analiziranih uzoraka (n), totalna dužina (TL), standardna dužina (SL), srednja vrijednost ± standardna devijacija ($\bar{x}$ ± SD), standardna pogreška (STD ERR) i koeficijent varijabilnosti (CV).

Parametar	Riječni glavočić n=156		Glavočić okrugljak n=73		Keslerov glavočić n=15	
	TL	SL	TL	SL	TL	SL
$\bar{x}$ ± SD	7,5±2,0	6,4±1,8	6,0±1,8	4,9±1,5	7,8±2,6	6,5±2,2
Minimum	3,9	3,2	4,0	3,2	4,6	3,8
Maksimum	12,6	10,8	13,6	11,3	11,9	10,0
STD ERR	0,2	0,1	0,2	0,2	0,7	0,6
CV(%)	26,9	27,7	30,3	30,0	33,4	33,8

Aproksimativno 7,6% uzoraka glavočića okrugljaka u dobi 1+ (*VI* = 7,62) i 3+ (*VI* = 7,69) imalo je prazna probavila, dok je najveći indeks ispunjenosti u svim dobnim skupinama (*FI* od 3,44 do 5,39) pronađen kod keslerova glavočića (Tablica 4). GLM analize sadržaja probavila pokazuju da su Trichoptera, Chironomidae, Bivalvia i Odonata vrlo važne hranidbene svojte za riječnog glavočića; male ribe i *Gammarus* sp. za keslerova glavočića te Gastropoda za glavočića okrugljaka. Analize također pokazuju manju važnost različitih ličinki insekata (Trichoptera i Chironomidae) za glavočića okrugljaka (Tablica 5). Analiza ishrane ponto-kaspijskih glavoča pokazuje signifikantno preklapanje u ishrani između riječnog glavočića i glavočića okrugljaka, dok se ishrana keslerova glavočića ne podudara s ishranom drugih dviju vrsta (Tablica 6).



Slika 7. Lokacije uzorkovanja od 2003. do 2014. godine u Savi i 2011. godine u Kupi u Hrvatskoj s naznakom prisutnosti ponto-kaspijskih vrsta glavoča, lokacijama analize probavnog trakta i lokacijama analize učinka ponto-kaspijskih glavoča na bentičke ribe.

NF = *N. fluviatilis*, NM = *N. melanostomus*, PK = *P. kessleri*, - = nijedan; G pokazuje lokacije analize probavnog trakta; F pokazuje lokacije analize učinka ponto-kaspijskih glavoča na bentičke ribe; crne linije predstavljaju državne granice, a plave linije rijeke, gdje debljina linije simbolizira veličinu rijeke.

Tablica 4. Varijacija obzirom na dob (od 0+ do 4+) postotka učestalosti pojavljivanja (*F*%), postotka brojnosti (*N*%), postotka mase (*W*%), indeksa ispunjenosti (*FI*%) i indeksa praznosti (*VI*%) hranidbenim svojtama konzumiranim od strane riječnog glavočića (NF), glavočića okrugljaka (NM) i keslerova glavočića (PK) (n = broj analiziranih vrsta, n.d. = ne determiniran).

Hranidbene svojte	0+									1+									2+									3+									4+					
	NF *FI*=2,06 *VI*=0 n=34			NM *FI*=1,37 *VI*=0 n=5			PK *FI*=5,26 *VI*=0 n=1			NF *FI*=2,22 *VI*=0 n=46			NM *FI*=1,15 *VI*=7,62 n=26			PK *FI*=5,39 *VI*=0 n=4			NF *FI*=1,85 *VI*=0 n=54			NM *FI*=2,17 *VI*=0 n=27			PK *FI*=3,44 *VI*=0 n=4			NF *FI*=2,52 *VI*=0 n=22			NM *FI*=2,20 *VI*=7,69 n=13			PK *FI*=3,80 *VI*=0 n=4			NM *FI*=2,52 *VI*=0 n=2			PK *FI*=4,21 *VI*=0 n=2		
	N	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*	*N*	*F*	*W*
Trichoptera	30,3	12,5	11,4							32,3	12,9	18,3	28,8	17,1	71,6	20,0	25,0	10,7	22,1	9,0	9,9	4,0	2,3	1,1				22,2	15,1	12,4	5,6	4,2	1,1									
Chironomidae	16,7	7,1	2,0	7,1	10,0	3,7				34,1	12,9	24,3	37,9	14,6	5,7				37,2	9,8	9,7							14,8	3,8	2,1												
Tipulidae																20,0	25,0	5,3	0,4	0,8	1,0							2,5	3,8	1,2												
Megaloptera										0,6	1,1	0,2	1,5	2,4	0,8				0,4	0,8	0,2																				
Gastropoda				42,9	30,0	50,1				7,9	2,2	3,2	9,1	7,3	2,1							37,3	14,0	33,6				7,4	5,7	5,5	38,9	16,7	7,4									
Bivalvia										4,9	6,5	2,6							9,7	6,8	11,1							14,8	9,4	6,8												
Crustacea n.d.										1,2	2,2	2,1	3,0	4,9	1,6				3,5	4,5	5,8							8,6	5,7	8,9												
Gammarus sp.							100	100	100	1,8	1,1	2,9	1,5	2,4	1,6	40,0	25,0	46,6	3,1	3,0	4,2	5,3	7,0	12,8				8,6	7,5	11,5	33,3	16,7	24,5	50,0	28,6	53,9						
Odonata										0,6	1,1	1,2							1,3	2,3	6,8							3,7	3,8	15,5												
Coleoptera	7,6	5,4	4,5										1,5	2,4	7,4				1,8	0,8	0,6	30,7	7,0	3,7							5,6	4,2	0,9								
Oligochaeta										0,6	1,1	0,4							1,3	0,8	0,7							1,2	1,9	0,3	5,6	4,2	1,5								
Insecta n.d.	45,5	30,4	37,5	50,0	30,0	33,7				15,9	21,5	13,6	16,7	19,5	5,6				18,6	17,3	24,1	22,7	27,9	25,7	80,0	40,0	16,2	16,0	17,0	10,4	11,1	8,3	14,5	25,0	14,3	5,9	100	50,0	65,8	33,3	33,3	23,1
Detritus		44,6	44,6		30,0	12,5					37,6	31,2		29,3	3,6					28,6	23,5		41,9	23,1		40,0	76,5		26,4	25,4		45,8	50,1		42,9	10,7		50,0	34,2			
Pisces n.d.																									20,0	20,0	7,3							25,0	14,3	29,5				33,3	33,3	34,6
Cyprinidae																			0,4	0,8	2,6																					
Gobiidae																																								33,4	33,4	42,3
L. cephalus																20,0	25,0	37,4																								

Tablica 5. Važnost hranidbenih svojti ponto-kaspijskih glavoča analizirana uporabom modela GLM (eng. *generalized linear model*), gdje je n.d. = ne determiniran, b = koeficijent regresije, SE = standardna pogreška, T = odgovarajuća T statistika i p(T) = odgovarajuća signifikantna vrijednost. Prikazana je samo signifikantna vrijednost GLM analize za konkretne hranidbene svojte u ishrani ponto-kaspijskih glavoča.

Hranidbene svojte	**b**	**SE**	**T**	**p(T)**
Riječni glavočić				
Intercept	-0,621	0,081	-7,68	<0,001
Trichoptera	0,068	0,022	3,16	0,002
Chironomidae	0,046	0,017	2,79	0,006
Bivalvia	0,137	0,047	2,93	0,004
Odonata	0,419	0,202	2,08	0,039
Glavočić okrugljak				
Intercept	-0,710	0,127	-5,58	<0,001
Trichoptera	-0,233	0,084	-2,77	0,006
Chironomidae	-0,167	0,066	-2,53	0,012
Gastropoda	0,070	0,034	2,05	0,041
Keslerov glavočić				
Intercept	-1,869	0,309	-6,04	<0,001
Gammarus sp.	0,546	0,212	2,58	0,010
Pisces n.d.	0,803	0,294	2,73	0,007

Tablica 6. Preklapanje u ishrani između riječnog glavočića (NF), glavočića okrugljaka (NM) i keslerova glavočića (PK).

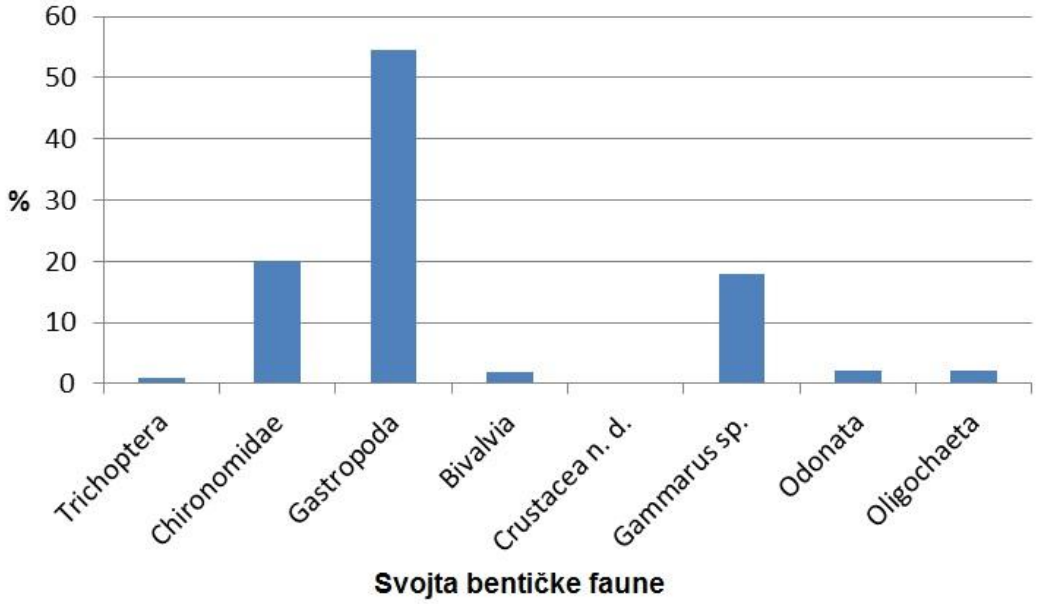
Vrste	NF	NM
NM	0,87*	
PK	0,21	0,33

* p<0,05

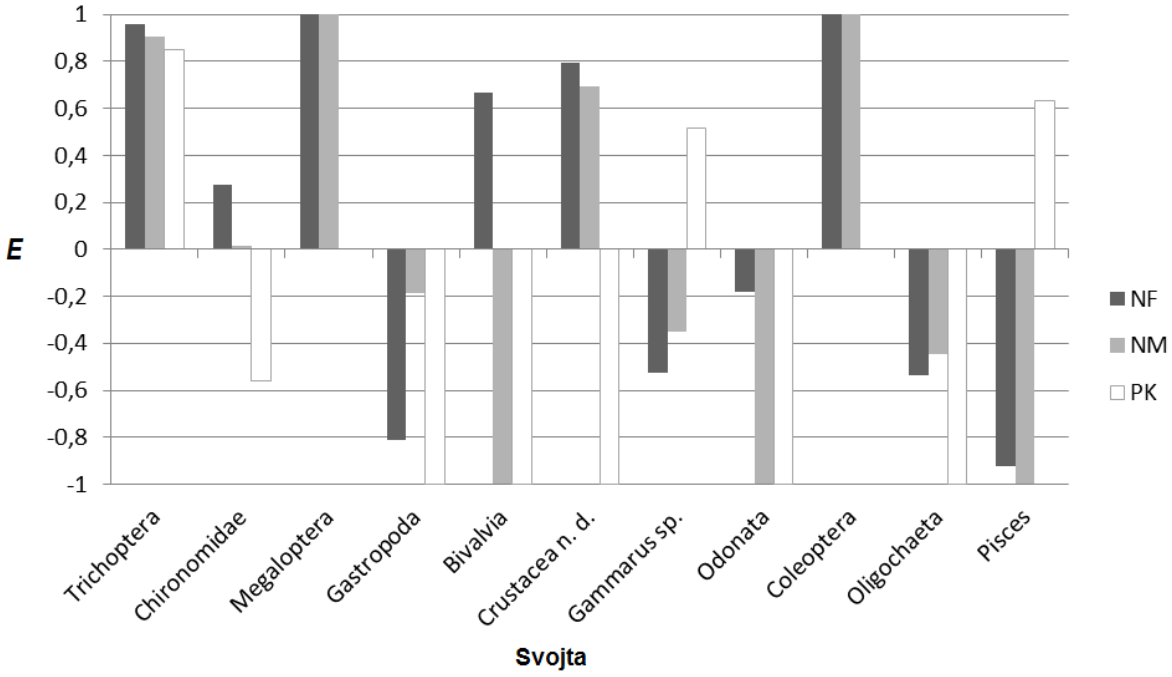
4.2. Sklonosti ponto-kaspijskih glavoča spram dostupnih bentičkih beskralješnjaka

U okolini su bili dostupni Gastropoda (54,49%), Chironomidae (20,08%) i *Gammarus* sp. (18,02%), dok Megaloptera i Coleoptera nisu pronađeni (Slika 8). Ivlevov indeks selektivnosti izračunat za 25 lokacija u Savi ukazuje na aktivan odabir Trichoptera za sve tri ponto-kaspijske vrste glavoča. Riječni glavočić i glavočić okrugljak aktivno odabiru Megaloptera, Crustacea i Coleoptera, dok keslerov glavočić odabire *Gammarus* sp. i Pisces. Riječni glavočić također aktivno bira Bivalvia, ali ih druge dvije vrste glavoča izbjegavaju. Premda je Gastropoda bila najzastupljenija u okolini, riječni i keslerov

glavočić je izbjegavaju, dok je slučajno hranjenje pokazano za glavočića okrugljaka (Slike 8 i 9).



Slika 8. Odnos svojti bentičke faune, sakupljene na lokacijama rijeke Save, izražen kao broj uzoraka (%) po kvadratnom metru.



Slika 9. Ivlevov indeks selektivnosti (***E***) plijena u rijeci Savi za riječnog glavočića (NF), glavočića okrugljaka (NM) i keslerova glavočića (PK). Pozitivne vrijednosti pokazuju

aktivan odabir bentičkih svojti, a negativne vrijednosti pokazuju izbjegavanje svojti, dok nula pokazuje neutralnost.

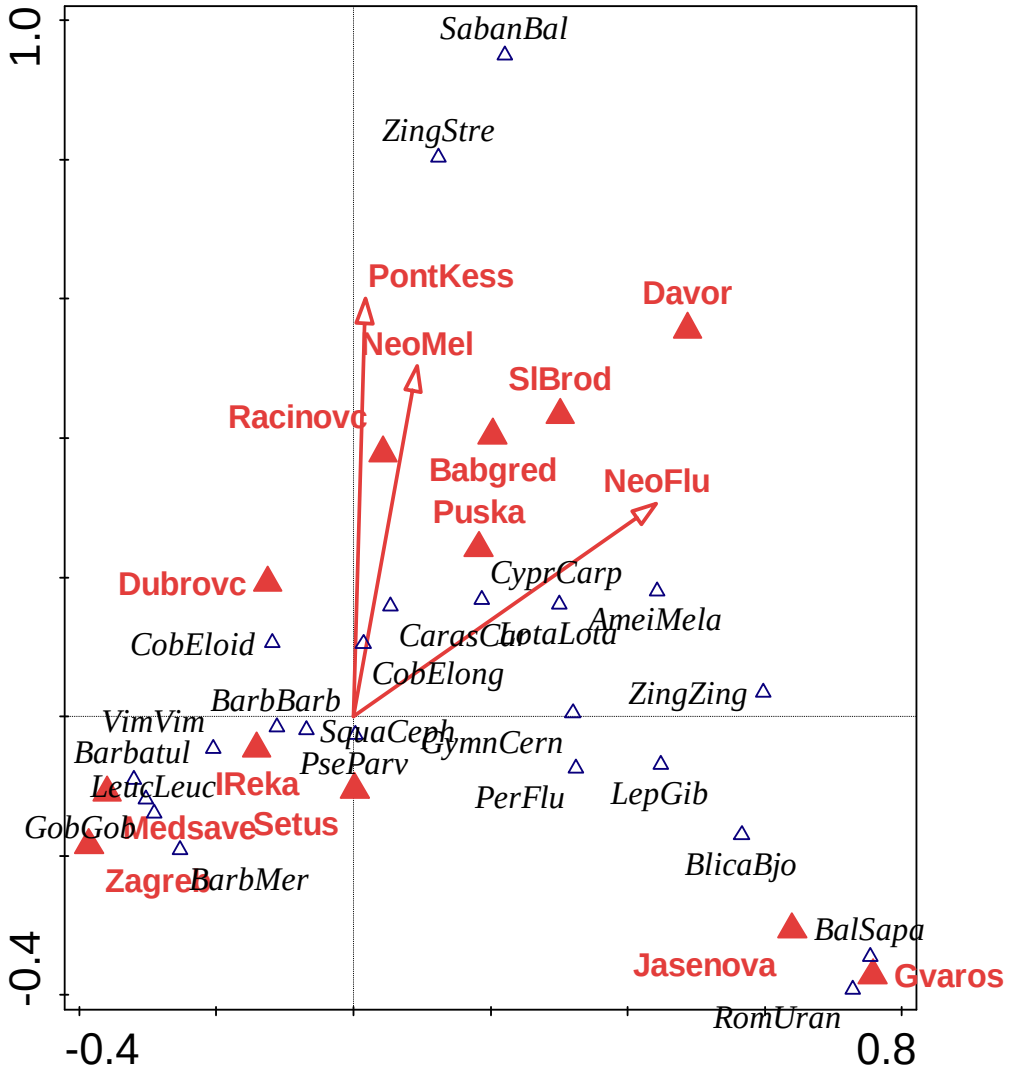
4.3. Utjecaj abundance ponto-kaspijskih glavoča na bentičke riblje zajednice

Podaci o dvanaest lokacija na Savi kao nominalnim eksplanatornim varijablama (od 2004. do 2014. godine), podaci o 24 bentičke vrste riba kao zavisnim varijablama i ponto-kaspijskim glavočima kao eksplanatornim varijablama uključeni su u CCA (eng. *canonical correspondence analysis)* i GLM (eng. *generalized linear model*) analize (Tablica 7). CCA analiza abundance riba i ponto-kaspijskih glavoča pokazuje 44,81% varijacije na prvoj i 57,98% varijacije na drugoj osi (Slika 10). Test na sve osi pokazuje signifikantnu varijaciju okolišnih varijabli ($F = 1,8$, $p = 0,002$) (Slika 10). CCA dijagram pokazuje da se ponto-kaspijski glavoči šire od lokacije najbliže ušću Dunava (Račinovci) uzvodno: Babina Greda, Slavonski Brod, Davor. Mogućnost utjecaja na zlatnu nežicu (*Sabanejewia balcanica*), malog vretenca (*Zingel streber*), velikog vijuna (*Cobitis elongata*) i karasa (*Carassius carassius*) je naznačena za glavočića okrugljaka i keslerova glavočića, dok bi riječni glavočić mogao utjecati na šarana (*Cyprinus carpio*), karasa, manjića (*Lota lota*) i populacije velikog vijuna (Slika 10). GLM model je upotrijebljen za analizu dodatnih učinaka ponto-kaspijskih glavoča na svaku ispitanu vrstu riba. Statistički signifikantne odnose imali su podaci o abundanci za sve tri zavisne varijable. Pri analizi keslerova glavočića devet varijabli je isključeno zbog njegove odsutnosti na određenim lokacijama (Tablica 7). Negativni *intercept* podaci pokazuju opadanje abundance keslerova glavočića, ali uslijed perioda invazije njegova prisutnost imala je negativan učinak na populacije klena (*Squalius cephalus*) ($p<0,05$) (Tablica 8). Abundanca riječnog glavočića je u porastu ($p<0,05$), što nije slučaj s glavočićem okrugljakom ($p>0,05$). Mali vretenac je jedina vrsta na čije je populacije signifikantno negativno utjecao glavočić okrugljak ($p<0,05$). Osim toga zabilježen je trend porasta zlatne nežice kao reakcija na prisutnost glavočića okrugljaka ($p<0,001$), isto tako i karasa, velikog vijuna i manjića kao reakcija na prisutnost riječnog glavočića ($p<0,05$) (Tablica 8). Nije bilo signifikantnog utjecaja na druge riblje vrste uključene u analizu, pa iste nisu prezentirane u tablici 8.

Tablica 7. Popis 27 uzorkovanih vrsta riba, uključujući ponto-kaspijske glavoče, njihova znanstvena i hrvatska imena, kratice, lokacije i ukupan broj uhvaćenih riba po svakoj lokaciji; *vrste nisu uključene u GLM analize za *Ponticola kessleri*; **podaci su dostupni za 2003., 2004., 2005., 2006., 2010., 2011., 2012., 2013. i 2014. godinu (Aničić i sur., 2014); *** podaci su dostupni za 2011., 2012., 2013. i 2014. godinu (Aničić i sur., 2014); podcrtani podaci dostupni su za 2004. godinu (Mustafić, 2005).

			Lokacija / Ukupan broj riba										
Znanstveno ime	**Kratica**	**Hrvatsko ime**	**Medsave****	**Zagreb****	**I Reka****	**Lijevi Dubrovčak****	**Setuš*****	**Puska*****	**Jasenovac*****	**G. Varoš*****	**Davor*****	**Sl. Brod*****	**Račinovci*****
*Ameiurus melas**	AmeiMela	Somić							1	1	3	3	1
*Balerus sapa**	BalSapa	Crnooka deverika								2			
*Barbatula barbatula**	Barbatul	Brkica		7		1							
Barbus barbus	BarbBarb	Mrena	1541	427	157	3	12	32	2	31	16	24	135
*Barbus meridionalis**	BarbMer	Potočna mrena	4	4			3						
Blicca bjoerkna	BlicaBjo	Krupatica							21	31	8	4	12
*Carassius carassius**	CarasCar	Karas	4			1		6		1		4	
Carassius gibelio	CarasGib	Babuška	8	119	4			26	12	57	12	33	30
Cobitis elongatoides	CobEloide	Vijun	193	104	27	27	2	11	1	14	6	27	12
Cobitis elongata	CobElong	Veliki vijun	64	535	2	53	8	14	19	23	2	43	17
*Cyprinus carpio**	CyprCarp	Šaran		8					1	2	1	3	
*Gobio gobio**	GobGob	Krkuša	65	242	1	8	7	3					10
Gymnocephalus cernua	GymnCern	Balavac				9	12	1	2	8	3	42	
Lepomis gibbosus	LepGib	Sunčanica	3				1	6	11	54	12	40	4
*Leuciscus leuciscus**	LeucLeuc	Klenić	46	201	5	3				1		1	
Lota lota	LotaLota	Manjić				3	12	15	7	55	7	26	10

Neogobius fluviatilis	NeoFlu	Riječni glavočić	1	3		15	37	9	42	60	6	94	41
Neogobius melanostomus	NeoMel	Glavočić okrugljak				1				17		40	33
Perca fluviatilis	PerFlu	Grgeč	3	17	16	7	17	16	37	128	6	35	11
Pseudorasbora parva	PseParv	Bezribica	28	18	29	1	1	5	14	5	9	6	19
Ponticola kessleri	PontKess	Keslerov glavočić								1	2	11	4
Romanogobio uranoscopus	RomUran	Tankorepa krkuša							3	28			
Sabanejewia balcanica	SabanBal	Zlatna nežica								1	3	1	4
Squalius cephalus	SquaCeph	Klen	1855	1149	111	93	112	44	80	68	54	97	307
Vimba vimba	VimVim	Nosara	333	69	10	17	10	1	1	1	2	8	3
*Zingel zingel**	ZingZing	Veliki vretenac							1				
Zingel streber	ZingStre	Mali vretenac										1	1



Slika 10. Dijagram kanonske korelacijske analize zasnovan na abundanci 24 vrste riba, tri okolišne varijable (zavisne varijable) i 12 nominalnih varijabli, gdje: ▲ predstavlja nominalne eksplanatorne varijable, ∆ abundancu riba, → eksplanatorne varijable / zavisne varijable. Ukupna varijacija je 3,44376, eksplanatorne varijable iskazuju 19,4% varijacije, Monte Carlo permutacijski test rezultira na svim osima: pseudo-F=1,8, P=0,002.

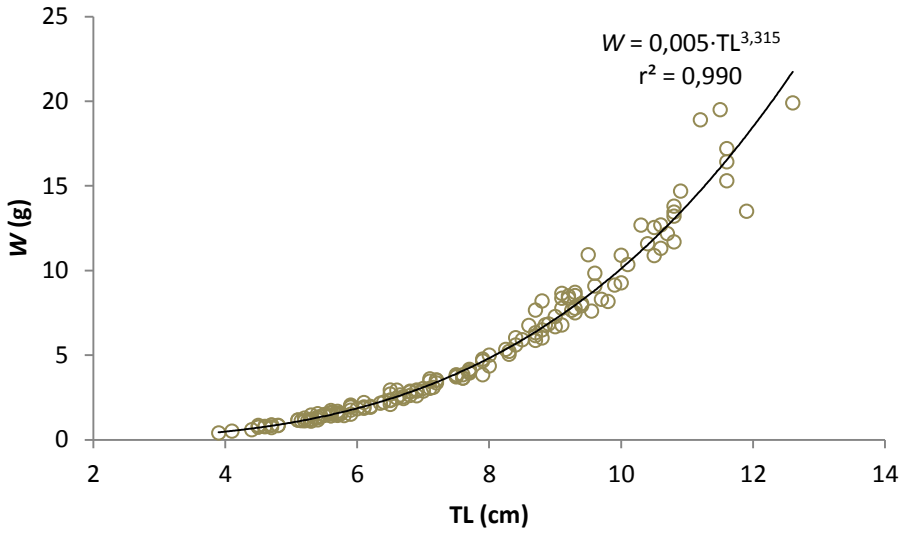
Tablica 8. Utjecaj riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića na bentičke vrste riba u vremenu u Savi analiziran uporabom GLM modela, gdje je n.d. = ne determiniran, b = koeficijent regresije, SE = standardna pogreška, T = odgovarajuća T statistika i p(T) = odgovarajuća signifikantna vrijednost.

Vrsta	b	SE	T	p(T)
Riječni glavočić				
Intercept	0,795	0,374	2,13	0,036
Carassius carassius	0,916	0,455	2,01	0,047
Cobitis elongata	0,402	0,185	2,17	0,032
Lota Lota	0,756	0,344	2,20	0,030
Glavočić okrugljak				
Intercept	0,068	0,869	0,08	0,937
Sabanejewia balcanica	4,552	1,182	3,85	0,0002
Zingel streber	6,323	2,806	2,25	0,027
Keslerov glavočić				
Intercept	-2,533	0,831	3,05	0,003
Carassius gibelio	1,445	0,531	2,72	0,008
Cobitis elongatoides	1,022	0,426	2,40	0,018
Sabanejewia balcanica	2,818	1,197	2,35	0,021
Squalius cephalus	-1,180	0,470	2,51	0,014

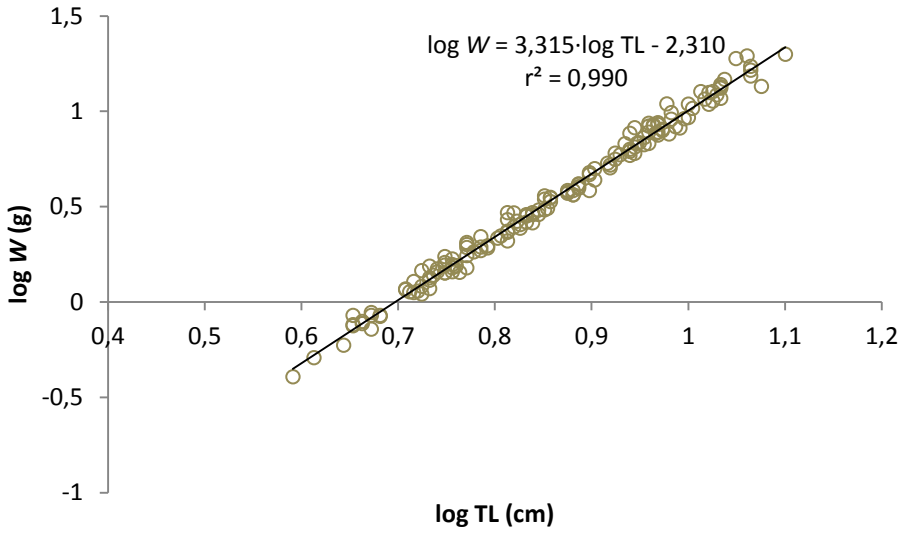
4.4. Dužinsko-maseni odnosi ponto-kaspijskih glavoča

Totalna dužina 156 izmjerenih jedinki riječnog glavočića nalazi se u intervalu od 3,90 do 12,60 cm s prosječnom vrijednosti od 7,54 cm, dok se njihova masa nalazi u intervalu od 0,41 do 19,90 g s prosječnom vrijednosti od 5,13 g. Dužinsko-maseni odnosi za riječnog glavočića određeni su jednadžbom $W = 0{,}005 \cdot TL^{3{,}315}$ (Slika 11). Ta jednadžba odgovara logaritamskoj formi jednadžbe $\log W = 3{,}315 \cdot \log TL - 2{,}310$ (Slika 12). Koeficijent b = 3,315, što znači da ribe napreduju više u masi, te je to pozitivan alometrijski rast, dok je kvadratno odstupanje $r^2 = 0{,}990$. Kod 73 izmjerene jedinke glavočića okrugljaka totalna dužina se nalazi u intervalu od 4,00 do 13,60 cm s prosječnom vrijednosti od 5,97 cm. Masa se nalazi u intervalu od 0,54 do 32,36 g s prosječnom vrijednosti od 3,51 g. Dužinsko-maseni odnosi glavočića okrugljaka definirani su jednadžbom $W = 0{,}007 \cdot TL^{3{,}327}$ (Slika 13). Odgovarajuća logaritamska forma dane jednadžbe glasi $\log W = 3{,}327 \cdot \log TL - 2{,}186$ (Slika 14). Slično kao i kod riječnog glavočića koeficijent b = 3,327 pa ribe napreduju više u masi, dakle imaju pozitivan alometrijski rast. Kvadratno odstupanje iznosi $r^2 = 0{,}993$. Za 15 keslerovih glavočića čija se totalna dužina nalazi u intervalu od 4,6 do 11,9 cm s prosječnom vrijednosti od 7,76 cm, masa se nalazi u intervalu od 0,78 do 22,95 g s prosječnom vrijednosti od 7,03 g. Dužinsko-maseni odnosi keslerova glavočića izraženi su pomoću jednadžbe $W = 0{,}005 \cdot TL^{3{,}387}$ (Slika 15), čijim logaritmiranjem

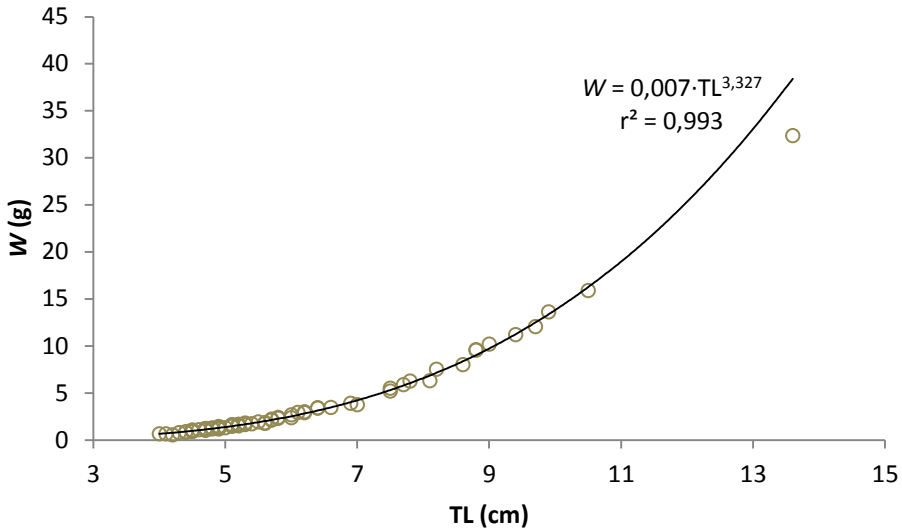
dobivamo novu jednadžbu log *W* = 3,387·log TL – 2,326 (Slika 16). Kao i u prethodnim dvama slučajevima, za keslerova glavočića također dobivamo pozitivan alometrijski rast s koeficijentom *b* = 3,387 i kvadratnim odstupanjem od r^2 = 0,995.



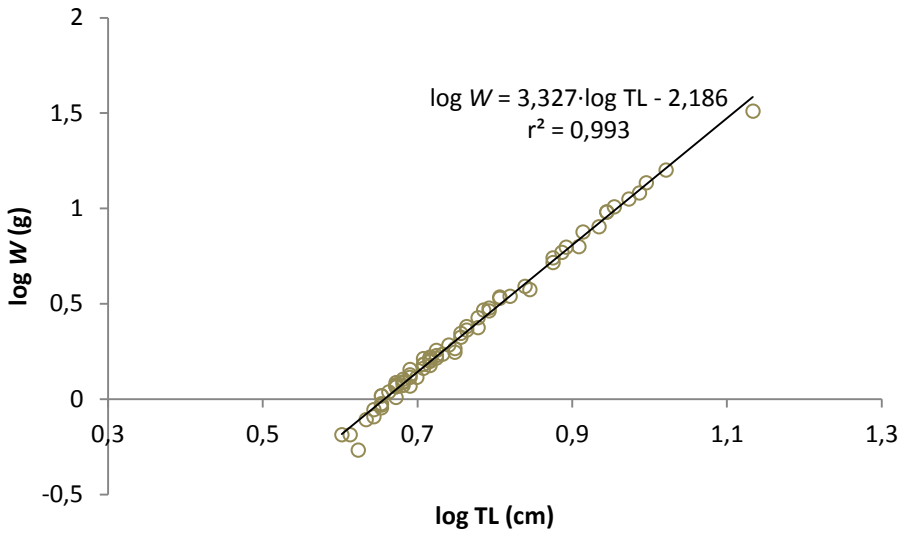
Slika 11. Odnos totalne dužine i mase kod riječnog glavočića (*Neogobius fluviatilis*).



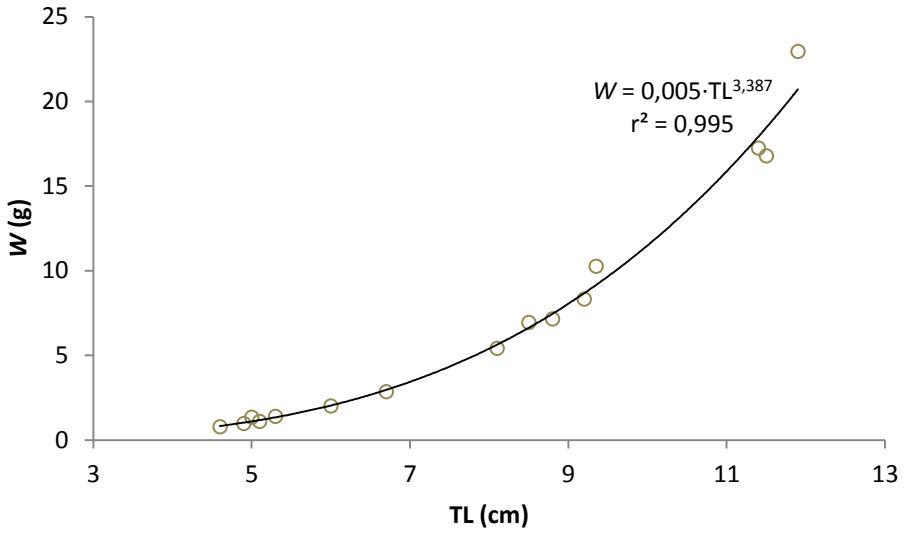
Slika 12. Odnos logaritama totalne dužine i mase kod riječnog glavočića (*Neogobius fluviatilis*).



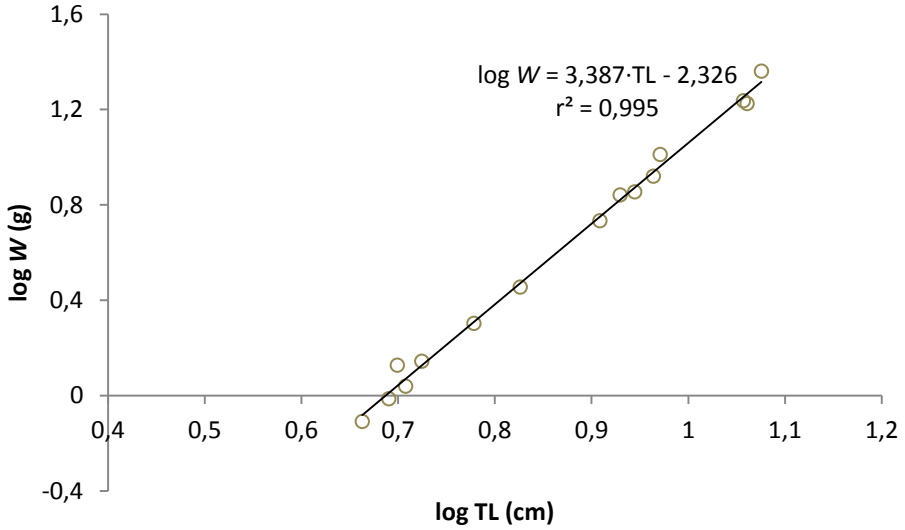
Slika 13. Odnos totalne dužine i mase kod glavočića okrugljaka (*Neogobius melanostomus*).



Slika 14. Odnos logaritama totalne dužine i mase kod glavočića okrugljaka (*Neogobius melanostomus*).



Slika 15. Odnos totalne dužine i mase kod keslerova glavočića (*Ponticola kessleri*).



Slika 16. Odnos logaritama totalne dužine i mase kod keslerova glavočića (*Ponticola kessleri*).

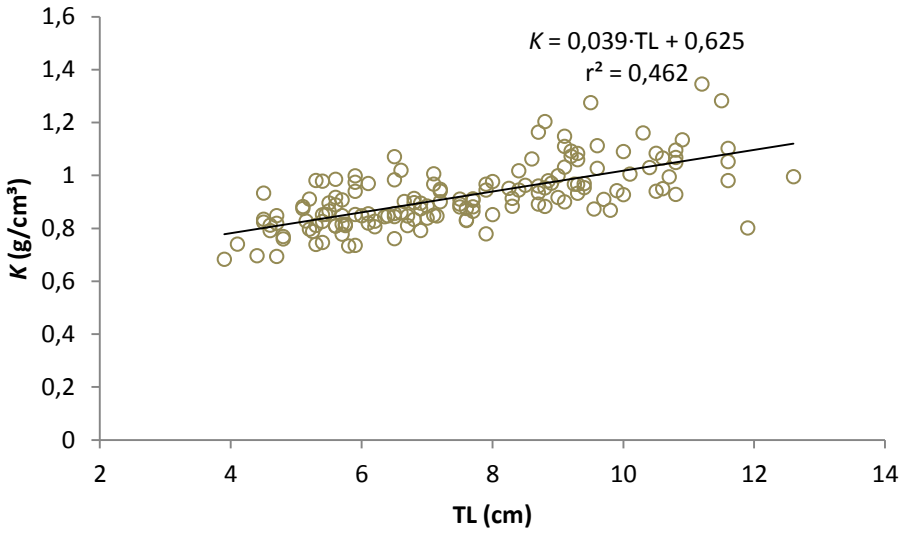
4.5. Kondicijsko stanje ponto-kaspijskih glavoča

Srednje vrijednosti Fultonovog faktora kondicije $\bar{K}$ za 156 analiziranih riječnih glavočića, 73 glavočića okrugljaka i 15 keslerovih glavočića rastu kako se povećavaju pripadajući rasponi totalnih dužina TL. Ako usporedimo kondicijska stanja ovih triju vrsta, vidimo da

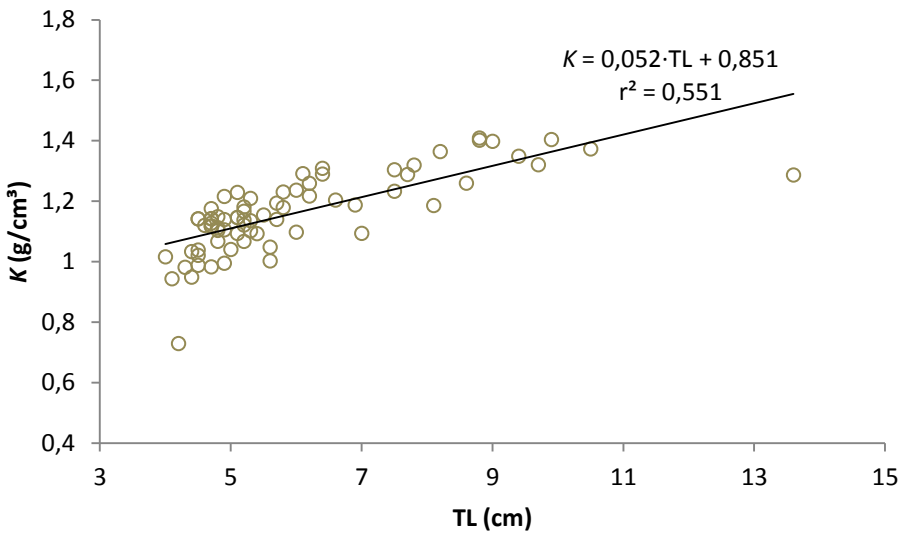
najbolje kondicijsko stanje ima glavočić okrugljak. Isto tako najmanje jedinke glavočića okrugljaka imaju bolje kondicijsko stanje od najvećih jedinki riječnog glavočića, dok najmanje i jedinke srednjih dužina keslerova glavočića imaju približno jednako kondicijsko stanje najmanjim i jedinkama srednjih dužina riječnog glavočića, a najveći primjerci keslerova glavočića imaju bolje kondicijsko stanje od najvećih primjeraka riječnog glavočića (Tablica 9). Kod riječnog glavočića Fultonov faktor kondicije znatno je odstupao od proporcionalnosti s totalnom dužinom (Slika 17). Nešto bolja slika dobivena je za glavočića okrugljaka (Slika 18), dok je za keslerova glavočića to odstupanje još manje (Slika 19).

Tablica 9. Rasponi totalnih dužina (TL) i pripadajuće srednje vrijednosti Fultonovog faktora kondicije ($\bar{K}$ ± SD) za riječnog glavočića (NF), glavočića okrugljaka (NM) i keslerova glavočića (PK).

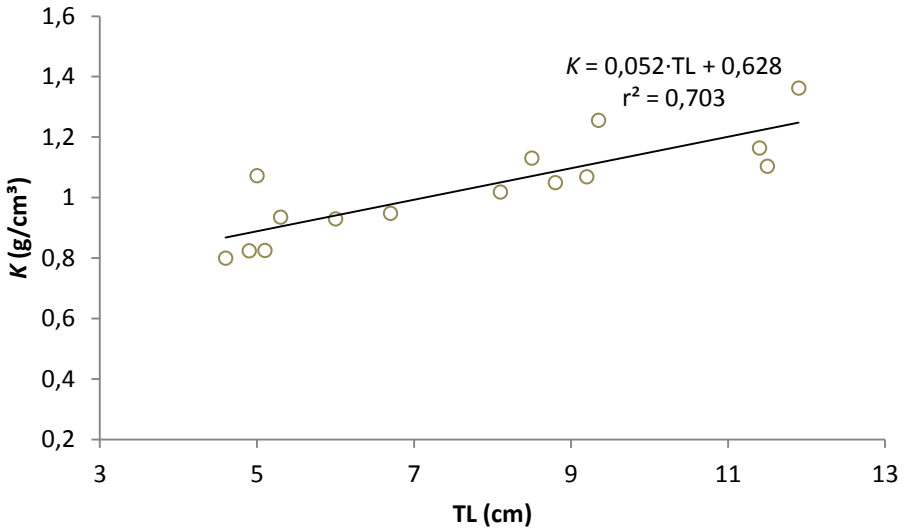
TL (cm)	$\bar{K}$ (g/cm^3) ± SD (NF)	$\bar{K}$ (g/cm^3) ± SD (NM)	$\bar{K}$ (g/cm^3) ± SD (PK)
3,9 – 6,0	0,84 ± 0,08	1,10 ± 0,09	
4,6 – 8,1			0,92 ± 0,10
6,1 – 8,0	0,88 ± 0,07	1,25 ± 0,07	
8,1 – 10,0	1,00 ± 0,10	1,34 ± 0,08	
8,5 – 11,9			1,16 ± 0,11
10,1 – 13,6	1,05 ± 0,12	1,33 ± 0,06	



Slika 17. Odnos Fultonovog faktora kondicije *K* i totalne dužine TL riječnog glavočića.



Slika 18. Odnos Fultonovog faktora kondicije *K* i totalne dužine TL glavočića okrugljaka.

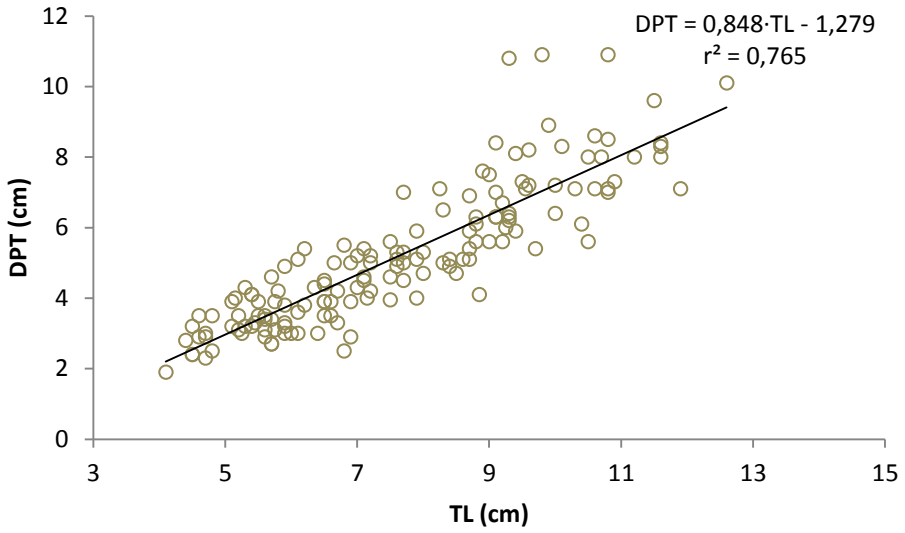


Slika 19. Odnos Fultonovog faktora kondicije *K* i totalne dužine TL keslerova glavočića.

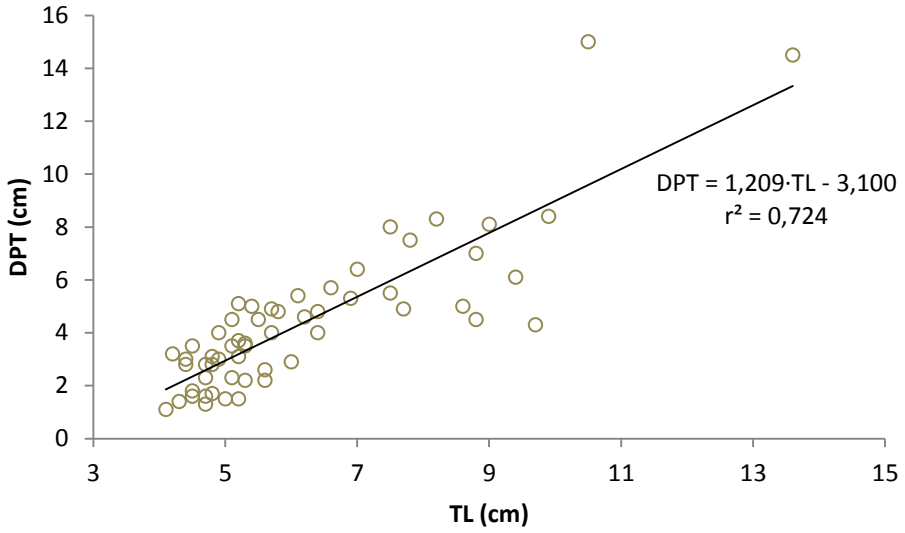
4.6. Morfologija probavnog trakta ponto-kaspijskih glavoča

Omjeri srednjih vrijednosti dužina probavnog trakta i srednjih vrijednosti totalnih dužina riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića iznose redom: 68,79%, 73,37%, 78,22%. Dakle, srednje vrijednosti dužina probavnog trakta manje su od srednjih vrijednosti totalnih dužina analiziranih glavoča. Na slikama 20, 21 i 22 vidi se promjena

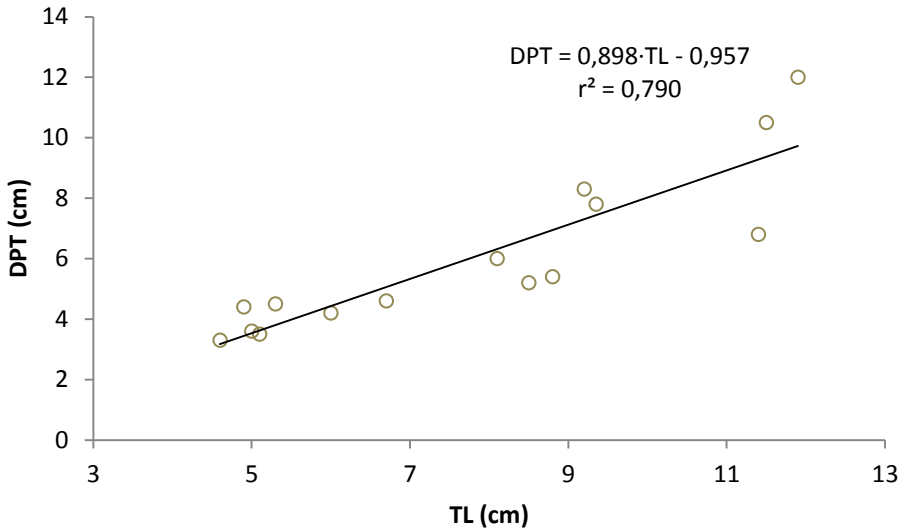
dužine probavnog trakta (DPT), odnosno rast spomenute dužine obzirom na porast totalne dužine glavoča.



Slika 20. Odnos dužine probavnog trakta DPT i totalne dužine TL riječnog glavočića.



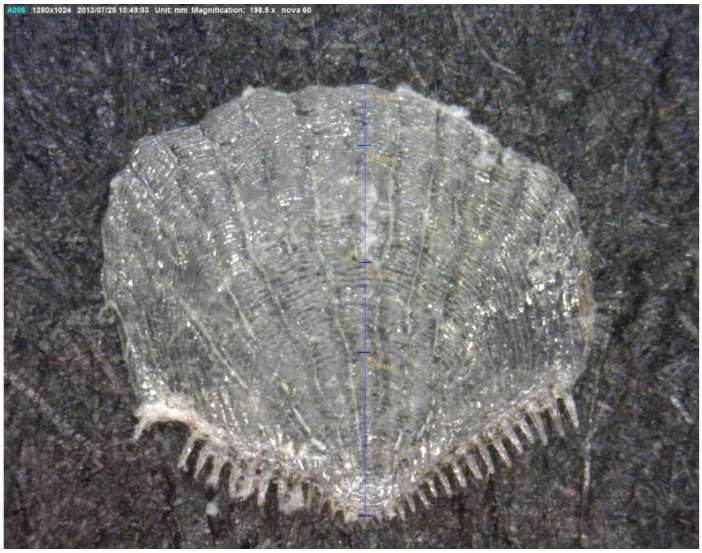
Slika 21. Odnos dužine probavnog trakta DPT i totalne dužine TL glavočića okrugljaka.



Slika 22. Odnos dužine probavnog trakta DPT i totalne dužine TL keslerova glavočića.

4.7. Dob ponto-kaspijskih glavoča i von Bertalanffyjev rast

Dob ponto-kaspijskih glavoča (Tablica 10) određena je identifikacijom skleritnih prstena (anula) na ljuskama korištenjem digitalnog mikroskopa (Slika 23).



Slika 23. Ljuska riječnog glavočića iz Save kraj Županje (fotografirao Goran Jakšić).

Povratno izračunat rast primijenjen je na ukupno 121 jedinku: 67 riječnih glavočića, 40 glavočića okrugljaka, 14 keslerovih glavočića. Prikazan u tablici 10, dok je von Bertalanffyjev model rasta istraživanih glavoča prikazan u tablici 11 i na slici 24 pomoću jednadžbi:

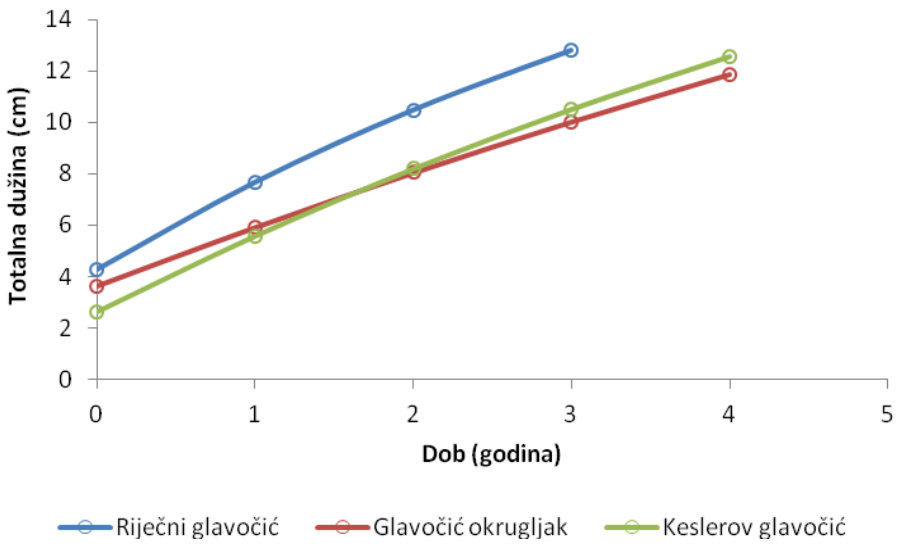
- $L_t = 23{,}9 \cdot (1 - e^{-0{,}19 \cdot (t + 1{,}03)})$ za riječnog glavočića
- $L_t = 37{,}4 \cdot (1 - e^{-0{,}07 \cdot (t + 1{,}48)})$ za glavočića okrugljaka
- $L_t = 28{,}7 \cdot (1 - e^{-0{,}12 \cdot (t + 0{,}80)})$ za keslerova glavočića

Tablica 10. Dobna struktura (godine u rimskim brojevima) i srednja totalna dužina za populacije riječnog glavočića (L_1-L_3, u cm), glavočića okrugljaka (L_1-L_4, u cm) i keslerova glavočića (L_1-L_4, u cm) na temelju povratno izračunatih podataka dobivenih od riba ulovljenih 2011. godine (n = broj proučavanih riba) u rijeci Savi, Kupi i Kupčini.

Vrste	Dob	n	L_1	L_2	L_3	L_4
Riječni glavočić (*Neogobius fluviatilis*)	**I**	23	6,51			
	II	28	4,78	8,67		
	III	16	4,92	7,32	11,09	
	Ukupno	67				
	Srednje		5,40	8,00	11,09	
Glavočić okrugljak (*Neogobius melanostomus*)	**I**	14	4,82			
	II	13	3,80	5,84		
	III	12	3,37	4,64	8,61	
	IV	1	3,60	4,69	6,91	10,50
	Ukupno	40				
	Srednje		3,90	5,06	7,76	10,50
Keslerov glavočić (*Ponticola kessleri*)	**I**	4	5,08			
	II	4	3,57	7,33		
	III	4	3,61	5,61	9,69	
	IV	2	4,21	6,68	9,77	11,70
	Ukupno	14				
	Srednje		4,12	6,54	9,73	11,70

Tablica 11. Von Bertalanffyjevi parametri rasta, dob i performanca rasta za riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića ulovljenih 2011. godine u rijeci Savi, Kupi i Kupčini, kao i za navedene ponto-kaspijske glavoče iz drugih radova. Simbol * označava standardnu dužinu, inače je prikazana totalna dužina, dok simbol ** označava brojanje anula na otolitima, inače je prikazano brojanje anula na ljuskama.

Vrsta	Dob	L_∞(cm)	K(godina^{-1})	t_0(godina)	Φ	Spol	Referenca
Riječni glavočić	I - III	23,9	0,19	- 1,03	8,98	M + Ž	Ovaj rad
Glavočić okrugljak	I - IV	37,4	0,07	- 1,48	8,77	M + Ž	Ovaj rad
Keslerov glavočić	I - IV	28,7	0,12	- 0,80	8,88	M + Ž	Ovaj rad
Glavočić okrugljak	I - III	10,18±3,84	0,61±0,51	0,28±0,23		M + Ž	MacInnis, 1997 * **
Riječni glavočić	I - V	22,89	0,489	-1,390		M + Ž	Sasi i Berber, 2010
Riječni glavočić	I - IV	8,037	0,30	-0,95		Ž	Plachá i sur., 2010 *
	I - V	11,129	0,23	-0,77		M	
Glavočić okrugljak	I - IV	12,35±2,38	0,24±0,10	-1,06±0,38		Ž	Grulʹa i sur., 2012 *
		23,69±10,54	0,11±0,07	-0,95±0,30		M	
Glavočić okrugljak	II - VII	13,285±0,943	0,263±0,037	-0,275±0,087		Ž	Huo i sur., 2014 **
		18,447±2,375	0,162±0,032	-0,144±0,086		M	
Riječni glavočić		13,80	0,69		2,12		Froese i Pauly, 2015
Glavočić okrugljak		21,9	0,11	-1,62	1,72	Ž	Froese i Pauly, 2015



Slika 24. Funkcionalna ovisnost totalne dužine u cm o dobi u godinama za riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića.

Tablica 12. Apsolutni godišnji prirast totalne dužine (i_n), prosječni apsolutni prirast totalne dužine ($\bar{i}_{1-4}$) i realna stopa rasta ($L_4 = 4\ \bar{i}_{1-4}$) u cm u prvim trima godinama za riječnog glavočića i prve četiri godine za glavočića okrugljaka i keslerova glavočića u rijeci Savi, Kupi i Kupčini.

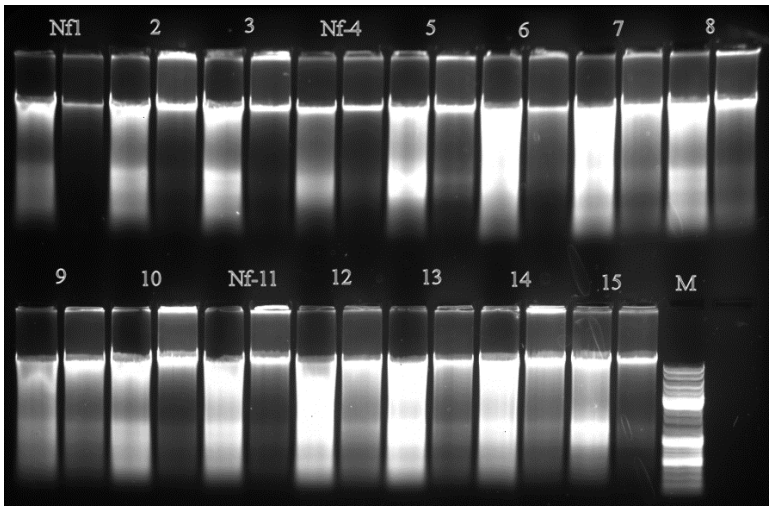
Lokacija/vrsta	i_1	i_2	i_3	i_4	$\bar{i}_{1-4}$	L_4
Sava, Hrvatska/ riječni glavočić	5,40	2,60	3,09		3,70	14,80
Sava, Hrvatska/ glavočić okrugljak	3,90	1,16	2,70	2,74	2,63	10,52
Sava, Hrvatska/ keslerov glavočić	4,12	2,42	3,19	1,97	2,93	11,72

Uspoređujući ponto-kaspijske glavoče iz ovog rada, iz tablice 11 je vidljivo da je riječni glavočić imao najveću brzinu rasta (K = 0,19), ali i da mu je najveća dužina koju može doseći bila najmanja (23,90 cm) u odnosu na druge dvije vrste. Iz tablice 10 je pak vidljivo da riječni glavočić obzirom na dob doseže najveću srednju totalnu dužinu koja od L_1 do L_3 iznosi redom: 5,40 cm, 8,00 cm, 11,09 cm, dok je iz tablice 12 vidljivo da je riječni glavočić najsporije rastao u drugoj godini (2,60 cm), kao i glavočić okrugljak (1,16 cm), a keslerov glavočić u četvrtoj godini života (1,97 cm), te da je riječni glavočić imao najveći prosječni

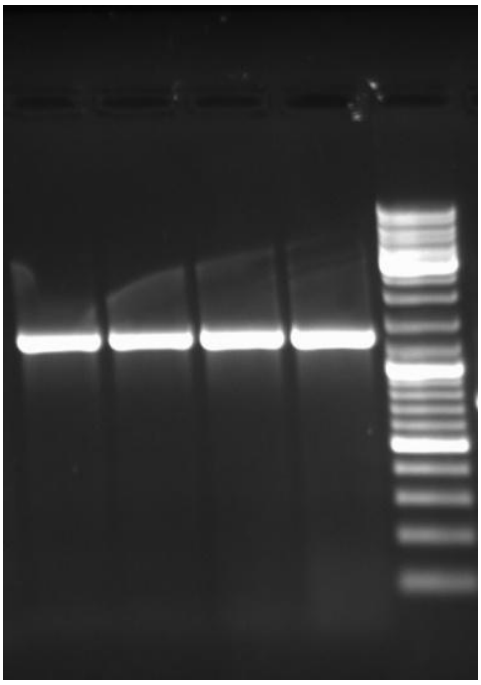
apsolutni prirast totalne dužine (3,70 cm), kao i najveću realnu stopu rasta (14,80 cm). Iz tablice 12 je također vidljivo da su glavočić ogrugljak i keslerov glavočić imali približno jednake vrijednosti prosječnog apsolutnog prirasta totalne dužine i približno jednake najveće realne stope rasta. Sve tri vrste iz ovog rada imaju približno jednaku performancu rasta, kao što se očekuje kod srodnih vrsta (Tablica 11).

4.8. Provjera kvalitete DNK i produkata lančane reakcije polimerazom

Kako je kvalitetno izolirana DNK preduvjet molekularne analize, njezina je strukturna cjelovitost provjerena elektroforezom na 0,7-postotnom agaroznom gelu (Slika 25). Također je i elektroforeza umnoženih odsječaka DNK provedena na 0,7-postotnom agaroznom gelu, a umnoženi produkti lančane reakcije polimerazom (PCR) citokrom b gena mitohondrijske DNK veličine su oko 1280 bp (Slika 26). Veličina i koncentracija PCR-produkata određena je prema molekularnom markeru (*GeneRuler DNA Ladder Mix*, Fermentas).



Slika 25. Primjer uzoraka DNK za 15 jedinki riječnog glavočića nakon elektroforeze na agaroznom gelu. M je molekularni marker.



Slika 26. Primjer provjere PCR produkata citokrom b gena mitohondrijske DNK riječnog glavočića. Prva četiri uzorka predstavljaju PCR-produkte, dok je peti molekularni marker.

4.9. Analiza sekvenciranja citokrom b gena mitohondrijske DNK

Od triju vrsta analiziranih ponto-kaspijskih glavoča, s triju različitih lokacija - rijeke Save, Ilove i Korane, ukupno je sekvencirano 15 uzoraka, i to devet uzoraka riječnog glavočića za sve tri lokacije pa možemo govoriti o trima subpopulacijama riječnog glavočića, a po tri uzorka glavočića okrugljaka, kao i keslerova glavočića iz Save, pošto nismo utvrdili prodiranje dviju posljednjih spomenutih vrsta u Ilovu i Koranu. Na slici 27 je prikazana ukupna dužina citkrom b gena mitohondrijske DNK veličine oko 1280 bp za sve tri ponto-kaspijske vrste glavoča.

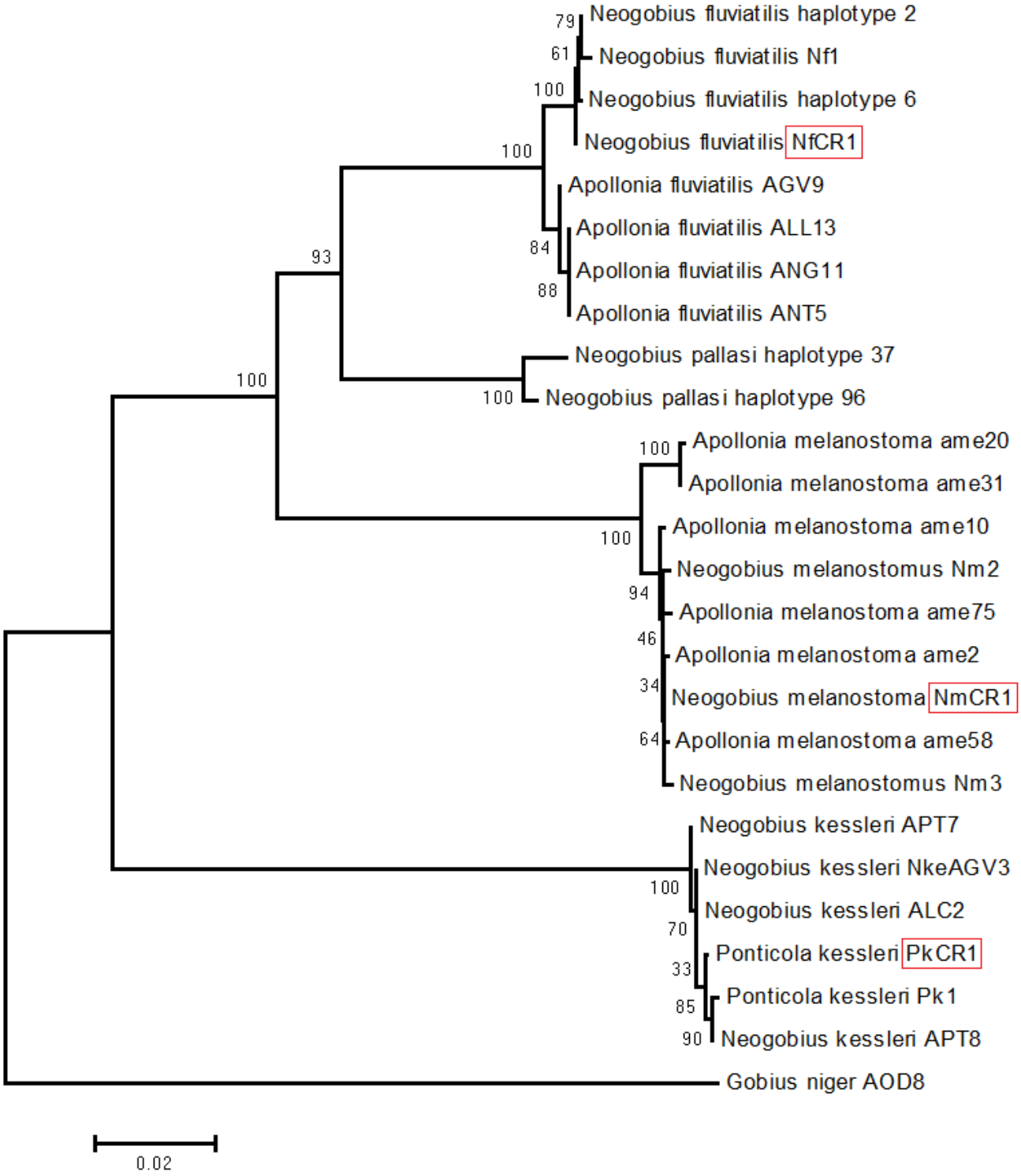
Na osnovu dobivenih rezultata za svaku od analiziranih vrsta utvrđen je po jedan haplotip. Kako bi se utvrdilo o kojim se točno haplotipovima radi, pronađeni haplotipovi su programom BLAST uspoređeni s već postojećim. Utvrđeni haplotipovi su NfCR1 = AGV7 = haplotip 5 za riječnog glavočića, NmCR1 = ame1 = haplotip 1 za glavočića okrugljaka i PkCR1 = Pk2 za keslerova glavočića. Analizirani haplotipovi imaju drugačije nazive: NfCR1, NmCR1, PkCR1 od već postojećih jer su im sekvence duže (oko 1280 bp) – u analizi su zbog usporedbe s već postojećim haplotipovima podrezani na 1111 bp – i pod tim nazivima bit će prijavljeni u banku gena (eng. *GenBank*).

4.10. Usporedba utvrđenih haplotipova s haplotipovima iz drugih zemalja

Za riječnog glavočića na filogenetskom stablu uočava se odvajanje crnomorskih i kaspijskomorskih haplotipova. Također se haplotip NfCR1 iz ovog rada svrstava u crnomorske haplotipove koji se većinom odnose na Crno i Azovsko more te gornji tok rijeke Volge i rijeku Don, dok se haplotipovi 37 i 96 odnose na Kaspijsko more i deltu rijeke Volge. Slično je i s glavočićem okrugljakom čiji se većinom crnomorski haplotipovi svrstavaju u određene filogenetske linije, baš kao i haplotip NmCR1 iz ovog rada, a haplotipovi ame20 i ame31 odnose se na Kaspijsko more i rijeku Volgu. U slučaju crnomorskih haplotipova keslerova glavočića, haplotipovi Pk1 iz jezera Sasyk u Ukrajini i APT8 iz Dunava u Srbiji jednako su udaljeni od haplotipa PkCR1 iz ovog rada. Kao vanjska grupa (eng. *outgroup*) korištena je vrsta *Gobius niger* (Tablica 2, Slika 28).



Slika 27. Citokrom b gen mtDNK veličine oko 1280 bp za riječnog glavočića (Nf), glavočića okrugljaka (Nm) i keslerova glavočića (Pk).



Slika 28. Filogenetsko stablo haplotipova napravljeno metodom "neighbor-joining" na temelju 1000 pseudoponavljanja *bootstrap*. Utvrđeni haplotipovi uokvireni su crvenim pravokutnikom.

5. RASPRAVA

Na temelju analize sadržaja probavila konzumirani plijen invazivnih ponto-kaspijskih glavoča u rijeci Savi i Kupi je uglavnom sličan konzumiranom plijenu opisanom u nekim prijašnjim istraživanjima: riječni glavočić u sustavu rijeke Visle (Baltički slijev, Poljska) i slovačkom dijelu Dunava konzumirao je široki raspon plijena uključujući ličinke insekata i pupe, rakušce, rakove, maločetinaše, puževe i ribe. Insekti (Chironomidae, Trichoptera) su dominantna hranidbena svojta svih dužinskih skupina, a zatim rakušci (Tablice 4 i 5, Kakareko i sur., 2005; Grabowska i sur., 2009). Iako se riječni glavočić i glavočić okrugljak znatno preklapaju u ishrani, pored larvi tulara (Trichoptera), trzalaca (Chironomidae) i drugih insekata, puževi su veoma važan plijen samo za glavočića okrugljaka. To je u skladu s pronalascima iz srpskog dijela Dunava, gdje su mekušci prevladavajući plijen (Simonović i sur., 1998, 2001). Ipak, Chironomidae su najvažniji plijen glavočića okrugljaka u slovačkom dijelu Dunava (Števove i Kováč, 2013) uz druge vodene insekte jezera Erie u Pennsylvaniji (Phillips i sur., 2003). Ishrana keslerova glavočića u Savi bazira se na *Gammarus* sp. i ribi, što je u skladu s istraživanjima Dunava u Austriji (Polačik i sur., 2009), Slovačkoj (Števove i Kováč, 2013), Mađarskoj (Borza i sur., 2009) i Rajne u Njemačkoj (Borcherding i sur., 2013). Suprotno od Števove i Kováč (2013) i Borcherding i sur. (2013), preklapanje u ishrani keslerova glavočića i glavočića okrugljaka nije pronađeno u našem istraživanju. U još jednom istraživanju provedenom u Mađarskoj pronađeno je da se ishrana spomenutih dviju vrsta ne preklapa u proljeće, ali se signifikantno preklapa u ljeto i jesen (Borza i sur., 2009). Osim toga, preklapanje pojedinih hranidbenih svojti varira u sezoni (Števove i Kováč, 2013) i ovisi o veličini glavoča i vrsti supstrata dna (Borcherding i sur., 2013). Malen ukupan broj keslerovih glavočića analiziranih u ovom istraživanju, uz vrlo malen broj plijena pronađenog u probavnom traktu nekih jedinki, može utjecati na rezultate.

Usporedbom sadržaja probavnog trakta i plijena dostupnog u okolini za riječnog glavočića se pokazuje jaka hranidbena sklonost za Trichoptera, Megaloptera i Coleoptera jer su vrijednosti Ivlevovog indeksa selektivnosti (*E*) za sve tri svojte plijena približno jednake ili jednake 1 (*E* = 0,96, 1,00, 1,00, redom; Slika 9). Gotovo slučajna hranidba (*E* = 0,24) navedena je za njegovu glavnu svojtu plijena, Chironomidae, iako je ova svojta dostupna u okolini. U sustavu Visle isti rezultat je dobiven za jedno uzorkovano mjesto, dok je više izraženih sklonosti za Chironomidae bilo na drugim dvjema uzorkovanim lokacijama (Grabowska i sur., 2009). Glavočić okrugljak ima slične hranidbene preferencije: iako je Gastropoda njegova glavna, ili najvažnija svojta plijena, s najvećom abundancom u okolini

(Slika 8), analiza pokazuje izbjegavanje te svojte (E = - 0,19). Sličnu pojavu su prethodno objavili Polačik i sur. (2009), pretpostavivši da su mekušci (Mollusca) neizbježna alternativa, a ne preferirani plijen. Hranidbene preferencije keslerova glavočića, to jest njegov preferirani plijen su Trichoptera, *Gammarus* sp. i Pisces (E = 0,85, 0,52, 0,63, redom, Slika 9). Trichoptera nije abundantna u okolini (Slika 8), i nije signifikantno važan plijen u sadržaju probavila (Tablice 4 i 5), ali isto tako ne može biti isključena kao sekundarni izvor hrane za keslerova glavočića (Adámek i sur., 2007; Ševove i Kováč, 2013).

Širenje i proliferacija invazivnih ponto-kaspijskih glavoča u Europi podudara se s opadanjem nekoliko autohtonih, bentičkih vrsta riba: peš (*Cottus gobio*), brkica (*Barbatula barbatula*) i bjeloperajna krkuša (*Romanogobio albipinnatus*) (Charlebois i sur., 2001; Corkum i sur., 2004; Copp i sur., 2005a; Jurajda i sur., 2005; Kornis i sur., 2012). Među njima trenutno jedino brkica dijeli stanište u Savi (Simonović i sur., 2015) i nema dokaza negativnog učinka na njezine populacije. Slično, iako je predložena mogućnost kompeticije u ishrani između ponto-kaspijskih glavoča i euroazijskog grgeča (*Perca fluviatilis*), kao i balonijevog balavca (*Gymnocephalus baloni*) (Copp i sur., 2008), naši rezultati ne pokazuju signifikantan utjecaj na populacije grgeča ili balavca (*Gymnocephalus cernua*, vrsta usko povezana s *G. baloni*, ali s većom abundancom u Savi). Podaci o hranidbenim navikama tih vrsta u analiziranom dijelu savskog slijeva dosta su rijetki, međutim, za glavnu hranidbenu svojtu velikog vijuna (*Cobitis elongata*) i zlatnog vijuna (*Sabanejewia balcanica*) predloženi su Chironomidae (Mičetić i sur., 2008), koji ukazuju na preklapanje u ishrani riječnog glavočića i glavočića okrugljaka (Tablica 5). Iako je pokazana mogućnost negativnog utjecaja keslerova glavočića na populacije klena (*Squalius cephalus*) (Tablica 8), nisu izgledne posljedice preklapanja u ishrani, jer je klen omnivorna riba (Piria i sur., 2005), vrlo prilagodljiva na razne stresore u okolišu (Piria, 2007). Negativan učinak na njegove populacije je vjerojatno mnogo bolje objašnjen prema prilično velikom broju jedinki klena pronađenih u probavnom traktu keslerova glavočića (Tablica 4). Podaci o ishrani velikog vretenca, manjića i karasa još uvijek nisu dostupni, tako da je teško procijeniti mjeru preklapanja u ishrani i moguće negativne učinke izravne kompeticije u ishrani. U prijašnjim se istraživanjima (Jakovlić i sur., 2015) dinamike populacija u vremenu na lokaciji Lijevog Dubrovčaka sugerira smanjenje broja krkuše (*Gobio gobio*) u ukupnom ulovu kao odgovor na povećanje broja riječnog glavočića od 2003. do 2013. godine, ali u ovom istraživanju GLM test nije pokazao nikakav značajan utjecaj na abundancu krkuše uslijed prisutnosti riječnog glavočića za bilo koju od analiziranih lokacija tijekom vremena, uključujući Lijevi Dubrovčak (Tablice 7 i 8). Duž Save, ponto-kaspijski glavoči su najrasprostranjeniji u njenom srednjem i donjem toku, a

riječni glavočić se proširio najdalje uzvodno. Međutim, i glavočić okrugljak napreduje uzvodno (Slika 10), (Jakovlić i sur., 2015), prema mjestima manje riblje raznolikosti, prvenstveno zoni lipljena i zoni pastrve (Aničić i sur., 2014; Simonović i sur., 2015), gdje također utjecaji mogu biti različiti. Pozitivna reakcija tri osjetljive riblje vrste (karas, veliki vijun i manjić) u prisutnosti riječnog glavočića (Tablica 8) je vrlo intrigantna (Mrakovčić i sur., 2006). Moguće objašnjenje je u tome da je riječni glavočić prisutan u Savi godinama prije no što su nas znanstvenici o tome izvijestili (Piria i sur., 2011a), pretpostavlja se i prije 2000. godine (M. Piria, osobna zapažanja), a to bi moglo uzrokovati oporavak autohtonih vrsta nakon perioda prilagodbe na invaziju. Keslerov glavočić nije bio prisutan u podacima monitoringa nakon 2011. godine, što se odrazilo u GLM testu kao signifikantna, negativna *intercept* vrijednost (Tablica 8). Zbog kratke prisutnosti glavočića okrugljaka u Savi ne postoji dokaz njegova signifikantnog utjecaja na druge vrste riba, no ipak ne treba isključiti mogućnost negativnog utjecaja na malog vretenca. Iz prethodno napisanog proizlazi zahtjev za većom pozornosti zaštiti ribljih vrsta u Hrvatskoj kategoriziranih kao "osjetljive" (Mrakovčić i sur., 2006). Valja napomenuti da signifikantnost ovih analiza može biti u manjoj mjeri ograničena zbog sklonosti spram određene metode uzorkovanja (Polačik i sur., 2008b) i relativno malog broja dobivenih uzoraka na nekim lokacijama. Također, postoji mogućnost da u nekim slučajevima, umjesto uzrokujući značajne poremećaje u ekosustavima, uvođenje životinjskih vrsta može rezultirati povećanjem biološke raznolikosti (Gozlan, 2008), ili čak imati pozitivan učinak na autohtone vrste (Rodriguez, 2006; Schlaepfer i sur., 2011). Iako su ponto-kaspijski glavoči uzrokovali signifikantne poremećaje drugdje u dunavskom slijevu, njihova populacijska gustoća i učinci relativno su ograničeni u Savi. Bilo kao pogodno stanište ili neki drugi ekološki čimbenik, Sava i njezine pritoke pogoduju riječnom glavočiću, ali ne i keslerovu glavočiću (Jakovlić i sur., 2015).

Za riječnog glavočića iz jezera Manyas totalna dužina jedinki nalazi se u intervalu od 5,80 do 15,60 cm s prosječnom vrijednosti od 11,97 cm, a masa u intervalu od 3,80 do 47,2 g s prosječnom vrijednosti od 24,58 g (Sasi i Berber, 2010). U ovom radu dobivene su znatno manje vrijednosi dužine i mase, pa je tako minimalna vrijednost totalne dužine 3,90 cm a maksimalna 12,60 cm s prosječnom vrijednosti od 7,54 cm, što je približno jednako vrijednostima koje su dobili Plachá i sur. (2010) za riječnog glavočića iz rijeke Ipeľ u Slovačkoj. U našem je istraživanju za riječnog glavočića izračunat pozitivan alometrijski rast (b = 3,315), to jest napredak riba više u masi nego u dužini, dok Sasi i Berber (2010) dobivaju negativan alometrijski rast (b = 2,985), što znači napredak više u dužini nego u masi. Također, u ovom radu izračunat kondicijski faktor obzirom na dužinske razrede riba ima srednje vrijednosti od K = 0,84 do K = 1,05 (Tablica 9). Sasi i Berber (2010) pokazuju

– osim za dob II – suprotno, da vrijednost kondicijskog faktora pada kako totalna dužina raste. Razlog da određeni broj dužih i starijih jedinki ima manji kondicijski faktor od kraćih i mlađih vjerojatno je u tome što se duže i starije jedinke izmrijeste pa time imaju i manju kondiciju, što je slučaj u endemskih mekousnih pastrva (*Salmothymus obtusirostris*), a posljedica toga je i njihov negativan alometrijski rast jer duži, a time i stariji izmriješteni primjerci imaju manju masu u odnosu na svoju dužinu (Treer i sur., 2008). Međutim, u ovom je radu pokazano da kondicijski faktor ne korelira signifikantno s totalnom dužinom, što za određeni dio jedinki, statistički gledano, potvrđuje relativno veliko kvadratno odstupanje (r^2 = 0,462) (Slika 17). Mogući razlozi toga su da jedinke istraživanih vrsta ponto-kaspijskih glavoča dosežu spolnu zrelost pri manjim dužinama od autohtonih i da se mrijeste više od jedanput u sezoni (MacInnis i Corkum, 2000; Balážová-Ľavrinčíková i Kováč, 2007). Moguće je i da se fluktuacija kondicijskog faktora s tendencijom povećanja odnosi na ulaganje energije u rast riba (Konečná i Jurajda, 2012) kao posljedica dostupnih izvora hrane (Piria i sur., 2016b). Slično je i za neke druge alohtone vrste poput somića (*Ameiurus melas*) pronađeno signifikantno statističko odstupanje u fekunditetu obzirom na njegovu dužinu i masu (Novomeská i Kováč, 2009), što nije slučaj s keslerovim glavočićem (Kovač i sur., 2009). Upravo zamjetna varijabilnost kondicijskog faktora sličnih dužina tijela ostaje nejasna i treba biti predmet daljnjih istraživanja.

Ako usporedimo podatke standardne dužine i mase glavočića okrugljaka iz Dunava u Slovačkoj, gdje je standardna dužina određena intervalom od 1,50 do 11,80 cm s prosječnom vrijednosti od 6,10 cm, a masa intervalom od 0,08 do 54,35 g s prosječnom vrijednosti od 8,07 g (Grul'a i sur., 2012) s našim izmjerenim podacima koji se nalaze u intervalu od 0,54 g (3,20 cm SL) do 32,36 g (11,30 cm SL) s pripadajućim prosječnim vrijednostima 3,51 g i 4,93 cm, vidimo da u našem slučaju nisu lovljeni najmanji juvenilni primjerci, ali i da je prosječna masa bila više nego dvostruko manja od jedinki iz Dunava. U našoj je analizi, kako za riječnog glavočića, tako i za glavočića okrugljaka, izračunat pozitivan alometrijski rast (b = 3,327). Grul'a i sur. (2012) analizirali su dužinsko-masene odnose odmah nakon invazije i pet godina kasnije, ustanovivši da se izvoran negativan alometrijski rast (b = 2,761) netom pristiglih populacija glavočića okrugljaka pretvorio u pozitivan alometrijski rast (b = 3,135) duže vrijeme prisutnih populacija. U jezerima Erie (Phillips i sur., 2003) i Ontario (Vélez-Espino i sur., 2010) također se vjerojatno radi o vremenski duže prisutnim populacijama jer je koeficijent b > 3, pa na ovaj način možemo pretpostaviti da su i ponto-kaspijski glavoči iz ovog rada već duže vrijeme prisutni u hrvatskim rijekama savskog slijeva (M. Piria, osobna zapažanja). Prosječna vrijednost kondicijskog faktora analiziranog glavočića okrugljaka je rasla obzirom na njegovu totalnu dužinu i iznosila od 1,10 do 1,33, dok je za autohtone populacije iz Dunava u Bugarskoj

iznosila 2,10, a za unesene populacije iz Dunava u Slovačkoj 2,30 (Polačik i sur., 2012). Za unesene populacije glavočića okrugljaka iz Dunava u Njemačkoj u razdoblju od četiri godine vrijednost kondicijskog faktora je rasla od K = 1,37 do K = 1,53 (Brandner i sur., 2013a). Usporedbom rezultata za glavočića okrugljaka iz savskog slijeva dobiva se manja prosječna vrijednost kondicijskog faktora, a mogući razlog je u dostupnim izvorima hrane (Piria i sur., 2016b).

Riječni i keslerov glavočić imaju približno jednake prosječne vrijednosti totalnih dužina koje redom iznose 7,54 i 7,76 cm, dok je prosječna vrijednost totalne dužine glavočića okrugljaka 5,97 cm, a prosječna masa keslerova glavočića je približno za 2 to jest 3 grama veća od prosječne mase riječnog glavočića odnosno glavočića okrugljaka. Za jedan do dva centimetra dobivene su veće prosječne dužine keslerova glavočića u rijekama Dunav i Hron u Slovačkoj (Kováč i Siryová, 2005; Adámek i sur., 2007) i Rajni u Njemačkoj (Borcherding i sur., 2011), pa mu je i prosječna masa bila dvostruko veća u Dunavu i trostruko u Hronu nego što je u ovom radu (Adámek i sur., 2007). Kao za riječnog glavočića i glavočića okrugljaka, tako i za keslerova glavočića dobivamo pozitivan alometrijski rast pri kojem je koeficijent b = 3,387. Ako usporedimo kondicijske faktore istraživanih vrsta, vidjet ćemo da se vrijednost K obzirom na totalnu dužinu keslerova glavočića kreće od 0,92 do 1,16, što je veće od izračunatih vrijednosti za riječnog glavočića, ali manje od vrijednosti za glavočića okrugljaka (Tablica 9). Treba napomenuti da je pri grafičkom prikazivanju linearne regresije između faktora kondicije i totalne dužine, vjerojatno samo zbog manjeg broja uzoraka, kvadratno odstupanje bliže jedinici (r^2 = 0,703) (Slika 19), to jest rezultat je točniji nego kod drugih dviju istraživanih vrsta (Slika 17 i 18).

Usporedbom omjera prosječnih vrijednosti dužina probavnog trakta i prosječnih vrijednosti totalnih dužina riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića dobivamo redom iznose 68,79%, 73,37% i 78,22%. Kako su prosječne vrijednosti totalnih dužina riječnog i keslerova glavočića približno jednake, proizlazi da je prosječna vrijednost dužine probavnog trakta riječnog glavočića manja za približno 9,5% od prosječne vrijednosti dužine probavnog trakta keslerova glavočića, dok neposrednim stavljanjem u omjer prosječnih dužina njihovih probavila dobivamo rezultat od 13,3%. No, u ovoj procjeni treba uzeti u obzir da je za analizu morfologije probavnog trakta keslerova glavočića uzeto samo 15 uzoraka. Analizirajući ponto-kaspijske glavoče iz gornjih tokova Dunava, Brandner i sur. (2013b) pokazuju da keslerov glavočić ima signifikantno kraći probavni trakt od glavočića okrugljaka prilagođen hrani životinjskog porijekla. Suprotno pokazuju naša mjerenja u kojima je prosječna vrijednost dužine probavnog trakta keslerova glavočića za 1,7 cm duža od probavnog trakta glavočića okrugljaka. Navedeni autori

također pokazuju da je prosječna vrijednost kondicijskog faktora glavočića okrugljaka (*K* = 1,39) veća nego u keslerova glavočića (*K* = 1,15), a sličan rezultat dobiven je usporedbom glavočića okrugljaka i keslerova glavočića iz rijeke Rajne, s tim da je riječni glavočić imao najmanju prosječnu vrijednost kondicijskog faktora (Borcherding i sur., 2013). Identičan padajući niz pri izračunu prosječne vrijednosti kondicijskog faktora dobiven je u ovom radu gdje smo za glavočića okrugljaka dobili *K* = 1,26, za keslerova glavočića *K* = 1,04, a za riječnog glavočića *K* = 0,94.

Uzorci glavočića okrugljaka iz Baltičkog mora imaju duži životni vijek (do 6 godina) i duži su obzirom na dob od većine drugih populacija (Sokołowska i Fey, 2011), što upućuje na duže jedinke obzirom na dob od riječnih i jezerskih. Tako glavočić okrugljak iz Azovskog mora u prvoj godini doseže srednju totalnu dužinu od 11,90, dok mu je u drugoj godini 13,94 cm. Glavočić okrugljak iz Dunava u Srbiji u prvoj godini ima srednju totalnu dužinu 9,70 a u drugoj 11,18 cm (Kornis i sur., 2012). U ovom radu rezultat iznosi 4,85 odnosno 5,88 cm, što pretpostavlja manji koeficijent rasta obzirom na jedinke iz Dunava. Sličan rezultat dobiven je pri usporedbi keslerova glavočića iz Save s keslerovim glavočićem iz Dunava u Slovačkoj (Copp i sur., 2008). Riječni glavočić iz jezera Manyas u prvim dvjema godinama doseže srednje totalne dužine od 7,50 odnosno 10,90 cm (Sasi i Berber; 2010), a iz Save 6,52 odnosno 8,68 cm pokazujući 2,6 puta manji koeficijent rasta (Tablica 11). Analizirajući otolite glavočića okrugljaka iz jezera Michigan, Huo i sur. (2014) koriste von Bertalanffyjevu jednadžbu rasta, dobivši manje vrijednosti najveće dužine koju ribe mogu doseći (L_∞), ali i veće vrijednosti koeficijenta rasta (*K*) obzirom na jedinke iz Save (Tablica 11). Obično je veća vrijednost L_∞ povezana s manjom vrijednosti *K* (Froese i Binohlan, 2003). Vjerojatno je rast svih triju istraživanih vrsta glavoča u Hrvatskoj sporiji od onih iz spomenutih rijeka i jezera Srbije, Slovačke, Turske i Amerike. Mogući razlozi sporijeg rasta su u većem utrošku energije na mrijest (L'avrinčíková i Kováč, 2007; Kováč i sur., 2009), kao i signifikantnoj kompeticiji u ishrani između riječnog glavočića i glavočića okrugljaka (Piria i sur., 2016b). Na dvogodišnjim i petogodišnjim mužjacima, kao i četverogodišnjim ženkama riječnog glavočića pokazana je nepouzdanost von Bertalanffyjevog modela (Plachá i sur., 2010), a u tablici 10 za povratno izračunate srednje totalne dužine vidljivo je značajnije odstupanje za riječnog i keslerova glavočića u prvoj i drugoj, te glavočića okrugljaka u prvoj, drugoj i trećoj godini života. Hernaman i Munday (2005) u istraživanju provedenom u Australiji na pet vrsta koraljno-grebenskih glavoča pokazuju da von Bertalanffyjev model nije najbolje riješenje za *Istigobius goldmanni*, dok navedeni model adekvatno opisuje ostale četiri vrste. Isto tako Azevedo i Simas (2000) spomenuti model smatraju uspješnim za opis rasta glavoča *Gobius paganellus*, dok Lorenzioni i sur. (2002) njime izračunavaju rast štuke (*Esox lucius*),

Prokeš i sur. (2006) rast mrene (*Barbus barbus*), Treer i sur. (2006) rast dvoprugaste uklije (*Alburnoides bipunctatus*), a Lujić i sur. (2013) rast grgeča (*Perca fluviatilis*), sunčanice (*Lepomis gibbosus*), bodorke (*Rutilus rutilus*), jeza (*Leuciscus idus*), babuške (*Carrasius gibelio*) i uklije (*Alburnus alburnus*). Već i samo brojanje anula na ljuskama pokazuje značajno odstupanje od točne dobi za određene vrste riba iz porodice šarana (Britton i sur., 2004), pa je za pretpostaviti mogućnost pojavljivanja istog problema u ponto-kaspijskih glavoča (Slika 23). Lester i sur. (2004) matematički dokazuju kako von Bertalanffyjev model dobro opisuje somatski rast isključivo nakon spolne zrelosti, ali ne i prije jer su parametri spomenutog modela jednostavne funkcije spolno zrele dobi i ulaganja u reprodukciju. Mada se u najvećem broju slučajeva primjenjuje von Bertalanffyjev model, on ne sadržava varijablu temperature vode koja utječe na fiziološke procese određujući rast. Upravo je peš (*Cottus gobio*), vrsta osjetljiva na promjenu temperature, s koeficijentom rasta većim i asimptotskom dužinom manjom pri višim temperaturama, i obratno (Kielbassa i sur., 2010).

Za riječnog glavočića filogenetske analize mitohondrijskih i nuklearnih sekvenci DNK ukazuju na odvajanje crnomorskih i kaspijskomorskih haplotipova koje datira približno 3 milijuna godina, dok unesene populacije u slijevove rijeka Dunava i Visle imaju sjeverozapadno crnomorsko porijeklo (Neilson i Stepien, 2011). Na sličan je način za glavočića okrugljaka analizom citokrom b gena i mikrosatelita pokazano odvajanje crnomorskih i kaspijskomorskih haplotipova u vremenu od približno 350 000 godina (Brown i Stepien, 2008). Upravo je i u ovom radu u tablici 2 i na slici 28 za riječnog glavočića i glavočića okrugljaka pokazano odvajanje crnomorskih i kaspijskomorskih haplotipova. Tako su za riječnog glavočića haplotip 2 i haplotip 6 crnomorski, a haplotip 37 i haplotip 96 kaspijskomorski (Neilson i Stepien, 2011), dok su za glavočića okrugljaka haplotip ame10 i haplotip ame58 crnomorski, a haplotip ame20 i haplotip ame31 kaspijskomorski (Brown i Stepien, 2008). Također haplotipovi naših analiziranih riječnih glavočića NfCR1 i glavočića okrugljaka NmCR1, kao i keslerovih glavočića PkCR1 imaju crnomorsko porijeklo. No, ipak su određene vrste kaspijskomorskih glavoča pronađene u istočnoj Europi. Tako je glavočić okrugljak porijeklom iz Kaspijskog mora rasprostranjen u Baltičkom moru vjerojatno uslijed brodskog prometa pomoću balastnih voda ili uslijed ljepljenja jaja na vanjsku, u vodu uronjenu, površinu broda. Njegovu prilagodbu, kao i prilagodbu ostalih spomenutih ponto-kaspijskih vrsta glavoča vjerojatno pospješuje i porast prosječne vrijednosti temperature vode – koja je primjerice u Dunavu kraj Budimpešte u Mađarskoj u zadnjih 50 godina porasla za 1,3˚C – uslijed izgradnje elektrana, kanaliziranja rijeka i retencija voda koje akumulraju velike količine toplinske energije (Harka i Bíró, 2007).

Pretpostavlja se da je analizirani riječni glavočić migrirao iz Dunava u Savu kod Beograda, zatim u njezinu pritoku Ilovu nedaleko Zagreba, a nadalje u Kupu kod Siska i Koranu kod Karlovca (Slika 7). Analizirajući devet jedinki iz rijeka Save, Ilove i Korane pronađen je samo jedan haplotip riječnog glavočića NfCR1 = AGV7 = haplotip 5, a upravo je taj haplotip naziva AGV7 pronađen u istočnoj Europi u jugozapadnoj Ukrajini u gradu Vilkovu na ušću Dunava u Crno more (Neilson i Stepien, 2009b). Slično su u rijeci Visli u Poljskoj i rijeci Hron u Slovačkoj pronađene unesene populacije riječnog glavočića iz sjeverozapadnih dijelova Crnog mora, a analiza citokrom b gena je za 31 jedinku iz Visle ukazala na jedan haplotip, kao i za 13 jedinki iz Hrona, dok je primjerice za autohtone populacije iz Azovskog mora u Ukrajini, analiza za četiri jedinke ukazala na četiri haplotipa, a iz Kaspijskog mora u Azerbejdžanu za šest jedinki na pet haplotipova (Neilson i Stepien, 2011). Upravo su spomenuti autori pronašli haplotip 5 u srednjoj Europi u Slovačkoj u rijeci Hron – lijevoj pritoci Dunava, a to je utvrđeni haplotip NfCR1. Tako su moguća dva načina unosa riječnog glavočića u Savu; jedan je uzvodni unos iz donjeg toka Dunava, a drugi nizvodni unos iz gornjeg toka Dunava.

Na sličan način pretpostavlja se unos glavočića okrugljaka iz donjih tokova Dunava u Savu (Piria i sur., 2011b), kao i iz gornjih tokova koji prolaze Austrijom i Slovačkom (Roche i sur., 2013), a identično kao i kod riječnog glavočića pronađen mu je samo jedan haplotip NmCR1 = ame1 = haplotip 1. Navedeni haplotip pronađen je u Ukrajini u Crnom moru gdje je minimalan broj haplotipova po lokaciji iznosio dva, a maksimalan 10, kao i u gradu Mikolajivu, u južnim dijelovima rijeke Bug, gdje je broj haplotipova po lokaciji iznosio osam i rijeci Dnjepar s dva do četiri haplotipa po lokaciji. Isto tako je pronađen u jugoistočnoj Europi u Bugarskoj u gradu Varni u Crnom moru uz još devet haplotipova. Također je za unesene populacije, uz haplotip 58 i haplotip 59, utvrđeni haplotip pronađen u Kijevu u Ukrajini u Dnjepru, te u srednjoj i jugoistočnoj Europi – Bratislavi u Slovačkoj uz haplotip 23 i Prahovu u Srbiji uz haplotip 7 u Dunavu, a kao jedini haplotip pronađen je i u Poljskoj u Baltičkom moru (Brown i Stepien, 2008). Isto tako je za unesene populacije u zapadnu Europu u Belgiji u slijevu rijeke Rajne pronađeno među 45 sekvenci tri haplotipa, a svaki se razlikuje od onog drugog u jednoj mutaciji. U kanalima Albert i Gent-Terneuzen navedenog slijeva nalaze se sva tri haplotipa, dok haplotip NSB1 ima najveću učestalost od 88% (Mombaerts i sur., 2014), a to je upravo analizirani, to jest iz Save u Hrvatskoj haplotip NmCR1 = ame1 = haplotip 1. Također je za jedinke iz Rajne pokazana visoka razina genske diferencijacije (Cerwenka i sur., 2014), pretpostavlja se uslijed geopolitičkih promjena iz devedesetih godina prošlog stoljeća, naime, u to je vrijeme ukupan promet brodovima bio osam puta veći Rajnom nego Dunavom, uslijed rata u Hrvatskoj i sankcija Srbiji (Roche i sur., 2013). U literaturi je naveden i haplotip iz Dunava kraj Beča u Austriji,

ali približne veličine od samo 300 bp, što nije bilo dovoljno za usporedbu s haplotipom iz ovog rada (Dougherty i sur., 1996; Stepien i sur., 2005).

Za keslerova glavočića je analizom citokroma b na svim uzorkovanim lokacijama utvrđen samo jedan haplotip, haplotip PkCR1, koji je identičan ranije opisanom haplotipu Pk2. Spomenuti haplotip pronađen je u istočnoj Europi u jugozapadnoj Ukrajini u luci Izmajil, najvećoj ukrajinskoj luci na Dunavu (Medvedev i sur., 2013). U susjednoj Srbiji u Dunavu je utvrđen haplotip APT8 (Neilson i Stepien, 2009b), kao i u Švicarskoj u Rajni (Kalchhauser i sur., 2014), ali ne i Pk2 koji je utvrđen u Hrvatskoj u Savi. Još uvijek nedostaju citokrom b haplotipske analize populacija keslerova glavočića u područjima prirodne rasprostranjenosti (Cerwenka i sur., 2014), kao i u područjima izvan prirodne rasprostranjenosti (Jakšić i sur., 2016), što zaključno onemogućuje opsežniju analizu te vrste u Savi. No, za pretpostaviti je da je keslerov glavočić došao preko Srbije Dunavom u Savu. Isto tako je moguće, da se u Srbiji i Švicarskoj jedinke s utvrđenim haplotipom nisu održale, ali jesu u Hrvatskoj.

U ovom je istraživanju za svaku od analiziranih vrsta utvrđen samo jedan haplotip, to jest pokazano je nepostojanje genske raznolikosti, što upućuje na relativno malobrojne unesene populacije ponto-kaspijskih glavoča.

Navedenu pretpostavku potvrđuje istraživanje europskih populacija gambuzije (*Gambusia holbrooki*) za koje se analizom citokroma b ustanovila signifikantno manja genska raznolikost od američkih populacija, što se slaže s relativno malim brojem unesenih jedinki (Vidal i sur., 2010); kao i istraživanje glavočića okrugljaka, za kojeg je utvrđena genska raznolikost u području prirodne rasprostranjenosti približno jednaka genskoj raznolikosti u području gdje je vrsta unesena, što upućuje na relativno brojne unesene populacije (Dillon i Stepien, 2001). Što je brojnost populacija veća, to je i vjerojatnost njihove prilagodbe i utemeljenja veća (Facon i sur., 2008; Fitzpatrick i sur., 2012). Jednom kad su ponto-kaspijski glavoči utemeljeni, predstavljaju potencijalno iznimno visok rizik za okolinu i nije ih moguće "kontrolirati" (Stepien i sur., 2005; Stepien i Tumeo, 2006).

Moguće je da su shodno tome, riječni i keslerov glavočić pokazali umjereno visok, a glavočić okrugljak visok, ali ne i vrlo visok invazivni potencijal (Piria i sur., 2016a).

6. ZAKLJUČCI

1. Riječnom glavočiću su ličinke insekata iz skupina Chironomidae i Trichoptera, a keslerovu glavočiću *Gammarus* sp. i riba dominantne hranidbene svojte, dok su puževi veoma važan plijen isključivo za glavočića okrugljaka.
2. Riječni glavočić i glavočić okrugljak znatno se preklapaju u ishrani (α = 0,87), dok se ishrana keslerova glavočića ne podudara s ishranom drugih dviju vrsta.
3. Usporedbom sadržaja probavnog trakta i plijena dostupnog u okolini za riječnog glavočića se pokazuje jaka hranidbena sklonost za Trichoptera, Megaloptera i Coleoptera. Iako dostupne u okolini, Chironomidae su mu gotovo slučajna hrana. Iako je Gastropoda glavna svojta plijena glavočića okrugljaka s najvećom abundancom u okolini, analiza pokazuje izbjegavanje te svojte plijena. Iako Trichoptera nije abundantna u okolini, i nije važan plijen u sadržaju probavila keslerova glavočića, ne može biti isključena kao njegov sekundarni izvor hrane.
4. Riječni glavočić ne utječe negativno na autohtone vrste riba, dok glavočić okrugljak negativno utječe na malog vretenca, a keslerov glavočić na klena.
5. Iako su ponto-kaspijski glavoči uzrokovali signifikantne poremećaje u nekim područjima dunavskog slijeva, njihova populacijska gustoća i učinci relativno su ograničeni u Savi i njezinim pritokama.
6. Pozitivan alometrijski rast ($b > 3$) ukazuje da su ponto-kaspijski glavoči u Savi i njezinim pritokama prisutni već duže vrijeme.
7. Najmanja prosječna vrijednost kondicijskog faktora izračunata je za riječnog glavočića (K = 0,94) a najveća za glavočića okrugljaka (K = 1,26). Zamjetna varijabilnost kondicijskog faktora riječnih glavočića približno jednakih totalnih dužina ostaje nejasna i treba biti predmet daljnjih istraživanja.
8. Najmanja prosječna vrijednost dužine probavnog trakta izračunata je za riječnog, a najveća za keslerova glavočića. Analizom malog broja keslerovih glavočića možemo utjecati na rezultate.
9. Za riječnog glavočića utvrđena je dob I, II i III, a za glavočića okrugljaka i keslerova glavočića I, II, III i IV. Prema von Bertalanffyjevu modelu rasta najveći koeficijent rasta ima riječni glavočić (K = 0,19) a najmanji glavočić okrugljak (K = 0,09). Zbog nepouzdanosti von Bertalanffyjevog modela rasta za riječnog glavočića, glavočića okrugljaka i keslerova glavočića potrebno je testirati druge modele rasta.

10. Za svaku od analiziranih vrsta ponto-kaspijskih glavoča utvrđen je jedan haplotip: NfCR1 za riječnog glavočića, NmCR1 za glavočića okrugljaka, PkCR1 za keslerova glavočića.
11. Analizirani ponto-kaspijski glavoči pripadaju crnomorskom slijevu kao i ponto-kaspijski glavoči utvrđeni kao invazivne vrste u većini europskih kopnenih voda.
12. Malen broj haplotipova (genska/haplotipska raznolikost = 0) upućuje na relativno malobrojne unesene populacije, čime se umanjuje vjerojatnost njihove prilagodbe i utemeljenja, a posljedično i visina njihova invazivnog potencijala u savskom slijevu Hrvatske.
13. Kontinuirani monitoring dinamike populacija riba u savskom slijevu nužan je da bismo ustanovili učinke invazije, kao i doprinijeli razumijevanju složenih ekoloških interakcija koje određuju uspješnost invazije ponto-kaspijskih glavoča.

7. POPIS LITERATURE

1. Adámek, Z., Andreji, J., Gallardo, J. M. (2007): Food Habits of Four Bottom-Dwelling Gobiid Species at the Confluence of the Danube and Hron Rivers (South Slovakia). International Review of Hydrobiology, 92: 554-563.
2. Ağdamar, S., Tarkan, A. S., Keskin, E., Top, N., Doğaç, E., Baysal, Ö., Emiroğlu, Ö. (2015): The role of environmental factors and genetic diversity on colonization success of a non-native fish, *Lepomis gibbosus* from western part of Turkey. Biochemical Systematics and Ecology, 58: 195-203.
3. Akihito, Ivata, A., Kobayashi, T., Ikeo, K., Imanishi, T., Ono, H., Umehara, Y., Hamamatsu, C., Sugiyama, K., Ikeda, Y., Sakamoto, K., Fumihito, A., Ohno, S., Gojoboro, T. (2000): Evolutionary aspects of gobioid fishes based upon a phylogenetic analysis of mitochondrial cytochrome b genes. Gene, 259: 5-15.
4. Almqvist, G., Strandmark, A. K., Appelberg, M. (2010): Has the invasive round goby caused new links in Baltic food webs?. Environmental Biology of Fishes, 89: 79-93.
5. Aničić, I., Treer, T., Safner, R., Piria, M., Tomljanović, T., Šprem, N., Matulić, D. (2013): Završno izvješće o provođenju programa praćenja stanja u slatkovodnom ribarstvu u 2013. godini – Grupa B, Ribolovno područje Sava. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, 161 pp.
6. Aničić, I., Treer, T., Safner, R., Piria, M., Tomljanović, T., Šprem, N., Matulić, D. (2014): Završno izvješće o provođenju programa praćenja stanja u slatkovodnom ribarstvu u 2014. godini – Grupa B, Ribolovno područje Sava. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, 124 pp.
7. Avise, J. C. (1994): Molecular markers, Natural History and Evolution. Journal of Evolutionary Biology, 7: 766-767.
8. Azevedo, J. M. N., Simas, A. M. V. (2000): Age and growth, reproduction and diet of a sublittoral population of the rock goby *Gobius paganellus* (Teleostei, Gobiidae). Hydrobiologia, 440: 129-135.
9. Balážová-L'avrinčíková, M., Kováč, V. (2007): Epigenetic context in the life-history of round goby *Neogobius melanostomus* from Slovak stretch of the Danube. In: Freshwater bioinvaders: profiles, distribution and threats. F. Gherardi (Ed.). Springer, Berlin, pp. 275-287.
10. Berg, L. S. (1949): Freshwater fish of the USSR and its surrounding regions. Ch. Z. Moskva, pp. 929-1382.

11. Björklund, M., Almqvist, G. (2010): Rapid spatial genetic differentiation in an invasive species, the round goby *Neogobius melanostomus* in the Baltic Sea. Biological Invasions, 12: 2609-2618.
12. Bogut, I., Novoselić, D., Pavličević, J. (2006): Biologija riba. Poljoprivredni fakultet, Osijek, 620 pp.
13. Borcherding, J., Staas, S., Krüger, S., Ondračková, M., Šlapanský, L., Jurajda, P. (2011): Non-native Gobiid species in the lower River Rhine (Germany): recent range extensions and densities. Journal of Applied Ichthyology, 27: 153-155.
14. Borcherding, J., Dolina, M., Heermann, L., Knutzen, P., Krüger, S., Matern, S., van Treeck, R., Gertzen, S. (2013): Feeding and niche differentiation in three invasive gobies in the Lower Rhine, Germany. Limnologica, 43: 49-58.
15. Borza, P., Erős, T., Oertel, N. (2009): Food Resource Partitioning between Two Invasive Gobiid Species (Pisces, Gobiidae) in the Littoral Zone of the River Danube, Hungary. International Review of Hydrobiology, 94: 609-621.
16. Brandner, J., Cerwenka, A. F., Schliewen, U. K., Geist, J. (2013a): Bigger is Better: Characteristics of Round Gobies Forming an Invasion Front in the Danube River. PLOS One, 8: e73036.
17. Brandner, J., Auerswald, K., Cerwenka, A. F., Schliewen, U. K., Geist, J. (2013b): Comparative feeding ecology of invasive Ponto-Caspian gobies. Hydrobiologia, 703: 113-131.
18. Britton, J. R., Cowx, I. G., Peirson, G. (2004): Management and Ecological Note Sources of error in the ageing of stocked cyprinids. Fisheries Management and Ecology, 11: 415-417.
19. Brown, J. E., Stepien, C. A. (2008): Ancient division, recent expansions: phylogeography and population genetics of the round goby *Apollonia melanostoma*. Molecular Ecology, 17: 2598-2615.
20. Brown, J. E., Stepien, C. A. (2009): Invasion genetics of the Eurasian round goby in North America: tracing sources and spread patterns. Molecular Ecology, 18: 64-79.
21. Carvalho, G. R., Hauser, L. (1998): Advances in the molecular analysis of fish population structure. Italian Journal of Zoology, 65: 21-33.
22. Cerwenka, A. F., Brandner, J., Geist, J., Schliewen, K. (2014): Strong versus weak population genetic differentiation after a recent invasion of gobiid fishes (*Neogobius melanostomus* and *Ponticola kessleri*) in the upper Danube. Aquatic Invasions, 9: 71-86.

23. Charlebois, P. M., Corkum, L. D., Jude, D. J., Knight, C. (2001): The Round Goby (*Neogobius melanostomus*) Invasion: Current Research and Future Needs. Journal of Great Lakes Research, 27: 263-266.
24. Chauhan, T., Rajiv, K. (2010): Molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture. Advances in Bioscience and Biotechnology, 1: 281-291.
25. Chotkowski, M. A., Marsden, J. E. (1999): Round goby and mottled sculpin predation on trout eggs and fry: field predictions from laboratory experiments. Journal of Great Lakes Research, 25: 26-35.
26. Copp, G. H., Bianco, P. G., Bogutskaya, N. G., Erös, T., Falka, I., Ferreira, M. T., Fox, M. G., Freyhof, J., Golzan, R. E., Grabowska, J., Kováč, V., Moreno-Amich, R., Naseka, A. M., Peňáz, M., Povž, M., Przybylski, M., Robillard, M., Russell, I. C., Stakėnas, S., Šumer, S., Vila-Gispert, A., Wiesner, C. (2005a): To be, or not to be, a non-native freshwater fish? Journal of Applied Ichthyology, 21: 242-262.
27. Copp, G. H., Garthwaite, R., Gozlan, R. E. (2005b): Risk identification and assessment of non-native freshwater fishes: a summary of concepts and perspectives on protocols for the UK. Journal of Applied Ichthyology, 21: 371-373.
28. Copp, G. H., Kováč, V., Zweimüller, I., Dias, A., Nascimento, M., Balážová, M. (2008): Preliminary study of dietary interactions between invading Ponto-Caspian gobies and some native fish species in the River Danube near Bratislava (Slovakia). Aquatic Invasions, 3: 189-196.
29. Corkum, L. D., MacInnis, A. J., Wickett, R. G. (1998): Reproductive Habits of Round Gobies. Great Lakes Research Review, 3: 13-20.
30. Corkum, L. D., Sapota, M. R., Skora, K. E. (2004): The round goby, *Neogobius melanostomus*, a fish invader on both sides of the Atlantic Ocean. Biological Invasions, 6: 173-181.
31. Čápová, M., Zlatnická, I., Kovač, V., Katina, S. (2008): Ontogenetic variability in the external morphology of monkey goby, *Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1814) and its relevance to invasion potential. Hydrobiologia, 607: 17-26.
32. Ćuk, R., Vučković, I. (2014): The first record of caddisfly *Setodes viridis* (Fourcroy, 1785) (Insecta: Trichoptera) in Croatia. Natura Croatica, 23: 407-413.
33. Diggins, T. P., Kauer, J., Chakraborti, R. K., DePinto, J. V. (2002): Diet choice by the exotic round goby (*Neogobius melanostomus*) as influenced by prey

motillity and environmental complexity. Journal of Great Lakes Research, 28: 411-420.

34. Dillon, A. K., Stepien, C. A. (2001): Genetic and Biogeographic Relationships of the Invasive Round (*Neogobius melanostomus*) and Tubenose (*Proterorhinus marmoratus*) Gobies in the Great Lakes Versus Eurasian Populations. Journal of Great Lakes Research, 27: 267-280.
35. Dougherty, J. D., Moore, W. S., Ram, J. L. (1996): Mitochondrial DNA analysis of round goby (*Neogobius melanostomus*) and tubenose goby (*Proterorhinus marmoratus*) in the Great Lakes basin. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 53: 474-480.
36. Duplić, A. (2008): Slatkovodne ribe. Priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb, 35 pp.
37. Earl, D. A., Louie, K. D., Bardeleben, C., Swift, C. C., Jacobs, D. K. (2010): Rangewide microsatellite phylogeography of the endangered tidewater goby, *Eucyclogobius newberryi* (Teleostei: Gobiidae), a genetically subdivided coastal fish with limited marine dispersal. Conservation Genetics, 11: 103-114.
38. Encina, L., Rodríguez-Ruiz, A., Granado-Lorencio, C. (2004): Trophic habits of the fish assemblage in an artificial freshwater ecosystem: the Joaquín Costa reservoir, Spain. Folia Zoologica, 53: 437–449.
39. Erős, T., Sevcsik, A., Tóth, B. (2005): Abundance and night-time habitat use patterns of Ponto-Caspian gobiid species (Pisces, Gobiidae) in the littoral zone of the River Danube, Hungary. Journal of Applied Ichthyology, 21: 350-357.
40. Facon, B., Pointier, J. P., Jarne, P., Sarda, V., David, P. (2008): High genetic variance in life-history strategies within invasive populations by way of multiple introductions. Current Biology, 18: 363-367.
41. Feldheim, K. A., Willink, P., Brown, J. E., Murphy, D. J., Neilson, M. E., Stepien, C. A. (2009): Microsatellite loci for Ponto-Caspian gobies: markers for assessing exotic invasions. Molecular Ecology Resources, 9: 639-644.
42. Felsenstein, J. (1985): Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution, 39: 783-791.
43. Fitzpatrick, B. M., Fordyce, J. A., Niemiller, M. L., Reynolds, R. G. (2012): What can DNA tell us about biological invasions? Biological Invasions, 14: 245-253.
44. Franciskovic-Bilinski, S., Bhattacharya, A. K., Bilinski, H., Mitra, A., Sarkar, S. K. (2012): Fluvial geomorphology of the Kupa River drainage basin, Croatia: A

perspective of its application in river management and pollution studies. Zeitschrift für Geomorphologie, 56: 93-119.

45. Froese, R., Binohlan, C. (2003): Simple methods to obtain preliminary growth estimates for fishes. Journal of Applied Ichthyology, 19: 376-379.
46. Frose, R. and D. Pauly. Editors. (2015): FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (10/2015).
47. Gjedrem, T. (2005): Selection and Breeding Programs in Aquaculture. AKVAFORSK, Institute of Aquaculture Research AS, Norway, 364 pp.
48. Globevnik, L., Mikoš, M., Padežnik, M., Petan, S., Petkovšek, A., Vidmar, A., Milaci, R., Ščančar, J., Heath, E., Ogrinc, N., Brilly, M. (2010): Hydrological Processes of the Danube River Basin: perspectives from the Danubian countries. Springer Verlag, Dordrecht, pp. 389-428.
49. Gozlan, R. E. (2008): Introduction of non-native freshwater fish: is it all bad? Fish and Fisheries, 8: 106-115.
50. Grabowska, J., Grabowski, M. (2005): Diel-feeding activity in early summer of racer goby *Neogobius gymnotrachelus* (Gobiidae): a new invader in the Baltic basin. Journal of Applied Ichthyology, 21: 282-286.
51. Grabowska, J., Grabowski, M., Kostecka, A. (2009): Diet and feeding habits of monkey goby (*Neogobius fluviatilis*) in a newly invaded area. Biological Invasions, 11: 2161-2170.
52. Grul'a, D., Balážová, M., Copp Gordon, H., Kováč, V. (2012): Age and growth of invasive round goby *Neogobius melanostomus* from middle Danube. Central European Journal of Biology, 7: 448–459.
53. Guy, C. S., Brown, M. L. (2007): Analysis and Interpretation of Freshwater Fisheries Data. American Fisheries Society, Maryland, Bethesda, 961 pp.
54. Habeković, D., Safner, R., Aničić, I., Treer, T. (1997): Ihtiofauna dijela rijeke Save. Ribarstvo, 55: 99-100.
55. Halačka, K., Jurajda, P. (1994): Characteristics of electrofishing equipment. Živočišna Vyroba, 39: 733-741.
56. Hallerman, E. M. (2003): Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientists. American Fisheries Society, USA, 458 pp.
57. Halliburton, R. (2004): Introduction to Population Genetics. Pearson Education International, USA, 650 pp.
58. Harada, S., Jeon, S. R., Kinoshita, I., Tanaka, M., Nishida, M. (2002): Phylogenetic relationships of four species of floating gobies (Gymnogobius) as

inferred from partial mitochondrial cytochrome b gene sequences. Ichthyological Research, 49: 324-332.

59. Harka, A., Biró, P. (2007): New Patterns in Danubian Distribution of Ponto-Caspian Gobies – a Result of Global Climatic Change and/or Canalization? Electronic Journal of Ichthyology, 1: 1-14.

60. Harrell, R. M., Loyacano, H. A. Jr, Bayless, J. D. (1977): Zooplankton Availability and Feeding Selectivity of Fingerling Striped Bass. Georgia Journal of Science, 35: 129-135.

61. Hernaman, V., Munday, P. L. (2005): Life-history characteristics of coral reef gobies. I. Growth and life-span. Marine Ecology Progress Series, 290: 207-221.

62. Holden, M. J., Raitt, D. F. S. (1974): Methods of Resource Investigation and their Application. Manual of fisheries science. FAO, Rim, 255 pp.

63. Huo, B., Madenjian, C. P., Xie, C. X., Zhao, Y., Oˈ Brien, T. P., Czesny, S. J. (2014): Age and growth of round gobies in Lake Michigan, with preliminary mortality estimation. Journal of Great Lakes Research, 4C: 4, 5, 6.

64. Hyslop, E. J. (1980): Stomach content analysis – a review of methods and their application. Journal of fish biology, 17: 411-429.

65. Ivlev, V. W. (1961): Experimental Ecology of the Feeding of Fishes. Yale University Press, New Haven, Connecticut, 302 pp.

66. Jakovlić, I., Piria, M., Šprem, N., Tomljanović, T., Matulić, D., Treer, T. (2015): Distribution, abundance and condition of invasive Ponto-Caspian gobies *Ponticola kessleri* (Günther, 1861), *Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1814), and *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) in the Sava River basin, Croatia. Journal of Applied Ichthyology, 1-7.

67. Jakšić, G., Jadan, M., Piria, M. (2016): The review of ecological and genetic research of Ponto-Caspian gobies (Pisces, Gobiidae) in Europe. Croatian Journal of Fisheries, 74: 93-114.

68. Jazdzewski, K., Konopacka, A. (2002): Invasive Ponto-Caspian species in waters of the Vistula and Oder Basins and the Southern Baltic Sea, In: Leppäkoski, E., Gollasch, S., Olenin, S. (Eds.), Invasive Aquatic Species of Europe; Distribution, Impacts and Management. Springer, Netherlands, pp. 384-398.

69. Johns, G. C., Avise, J. C. (1998): A Comparative Summary of Genetic Distances in the Vertebrates from the Mitochondrial Cytochrome b Gene. Molecular Biology and Evolution, 15: 1481-1490.

70. Jones, A. G., Walker, D., Lindström, K., Kvarnemo, C., Avise, J. C. (2001): Surprising similarity of sneaking rates and genetic mating patterns in two populations of sand goby experiencing disparate sexual selection regimes. Molecular Ecology, 10: 461-469.

71. Jurajda, P., Černý, J., Polačik, M., Valová, Z., Janáč, M., Blažek, R., Ondračková, M. (2005): The recent distribution and abundance of non-native *Neogobius* fishes in the Slovak section of the River Danube. Journal of Applied Ichthyology, 21: 319-323.

72. Kakareko, T., Żbikowski, J., Żytkowicz, J. (2005): Diet partitioning in summer of two syntopic neogobiids from two different habitats of the lower Vistula River, Poland. Journal of Applied Ichthyology, 21: 292-295.

73. Kakareko, T., Kobak, J., Grabowska, J., Jermacz, Ł., Przybylski, M., Poznańska, M., Pietraszewski, D., Copp, G. H. (2013): Competitive interactions for food resources between invasive racer goby *Babka gymnotrachelus* and native European bullhead *Cottus gobio*. Biological Invasions, 15: 2519-2530.

74. Kalchhauser, I., Kutschera, V. E., Burkhardt-Holm, P. (2014): The complete mitochondrial genome of the invasive Ponto-Caspian goby *Ponticola kessleri* obtained from high-throughput sequencing using the Ion Torrent Personal Genome Machine. Mitochondrial DNA Part A, 20: 1-3.

75. Karlson, A. M. L., Almqvist, G., Skóra, K. E., Appelberg, M. (2007): Indications of competition between indigenous round goby and native flounder in the Baltic Sea. ICES Journal of Marine Science, 64: 479-486.

76. Kessel van, N., Dorenbosch, M., De Boer, M. R. M., Leuven, R. S. E. W., Van der Velde, G. (2011): Competition for shelter between four invasive gobiids and two native benthic fish species. Current Zoology, 57: 844-851.

77. Kerovec, M. (1986): Priručnik za upoznavanje beskralježnjaka naših potoka i rijeka. Sveučilišna naklada Liber, Zagreb, 127 pp.

78. Kielbassa, J., Delignette-Muller, M. L., Pont, D., Charles, S. (2010): Application of a temperature-dependent von Bertalanffy growth model to bullhead (*Cottus gobio*). Ecological Modelling, 221: 2475-2481.

79. Kipp, R., Ricciardi, A. (2012): Impacts of the Eurasian round goby (*Neogobius melanostomus*) on benthic communities in the upper St. Lawrence River. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 69: 469-486.

80. Knowlton, N. (2000): Molecular genetic analyses of species boundaries in the sea. Hydrobiologia, 420: 73-90.

81. Kocovsky, P. M., Tallman, J. A., Jude, D. J., Murphy, D. M., Brown, J. E., Stepien, C. A. (2011): Expansion of tubenose gobies *Proterorhinus semilunaris* into western Lake Erie and potential effects on native species. Biological Invasions, 13: 2775-2784.

82. Kohout, J., Pekárik, L., Šedivá, A., Didenko, A., Čiampor, F., Zat'ovičová, T. Č. (2013): Discrimination between invasive Ponto-Caspian gobies using a PCR-RFLP method. Journal of Applied Ichthyology, 30: 121-126.

83. Komatina, D., Grošelj, S. (2015): Transboundary water cooperation for sustainable development of the Sava River Basin. In: Milačić, R., et al. (Eds.), The Sava River. The Handbook of Environmental Chemistry 31. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 1-25.

84. Konečná, M., Jurajda, P. (2012): Population structure, condition, and reproduction characteristics of native monkey goby, *Neogobius fluviatilis* (Actinopterygii: Perciformes: Gobiidae), in the Bulgarian Danube. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 42: 321-327.

85. Kornis, M. S., Mercado–Silva, N., Vander Zanden, M. J. (2012): Twenty years of invasion: a review of round goby *Neogobius melanostomus* biology, spread and ecological implications. Journal of Fish Biology, 80: 235–285.

86. Kottelat, M., Freyhof, J. (2007): Handbook of European Freshwater Fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany, 646 pp.

87. Kováč, V., Siryová, S. (2005): Ontogenetic variability in external morphology of bighead goby *Neogobius kessleri* from the Middle Danube, Slovakia. Journal of Applied Ichthyology, 21: 312-315.

88. Kováč, V., Copp, G. H., Sousa, R. P. (2009): Life-history traits of invasive bighead goby *Neogobius kessleri* from the middle Danube with a reflection of who may win the goby competition. Journal of Applied Ichthyology, 25: 33-37.

89. Kuhns, L. A., Berg, M. B. (1999): Benthic Invertebrate Community Responses to Round Goby (*Neogobius melanostomus*) and Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) Invasion in Southern Lake Michigan. Journal of Great Lakes Research, 25: 910-917.

90. LaRue, E. A., Ruetz III, C. R., Stacey, M. B., Thum, R. A. (2011): Population genetic structure of the round goby in Lake Michigan: implications for dispersal of invasive species. Hydrobiologia, 663: 71-82.

91. L'avrinčíková, M., Kováč, V., Katina, S. (2005): Ontogenetic variability in external morphology of round goby *Neogobius melanostomus* from Middle Danube, Slovakia. Journal of Applied Ichthyology, 21: 328-334.

92. L'avrinčíková, M., Kováč, V. (2007): Invasive round goby *Neogobius melanostomus* from the Danube mature at small size. Journal of Applied Ichthyology, 23: 276-278.

93. Le Cren, E. D. (1951): The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition factor in perch (*Perca fluviatilis*). Journal of Animal Ecology, 20: 201-219.

94. Lenhardt, M., Markovic, G., Hegedis, A., Maletin, S., Cirkovic, M., Markovic, Z. (2010): Non-native and translocated fish species in Serbia and their impact on the native ichthyofauna. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 21: 407-421.

95. Lester, N. P., Shuter, B. J., Abrams, P. A. (2004): Interpreting the von Bertalanffy model of somatic growth in fishes: the cost of reproduction. Proceedings of the Royal Society of London, 271: 1625-1631.

96. Leuven, R. S. E. W., van der Velde, G., Baijens, I., Snijders, J., van der Zwart, C., Lenders, H. J. R., bij de Vaate, A. (2009): The river Rhine: a global highway for dispersal of aquatic invasive species. Biological Invasions, 11: 1989-2008.

97. Lindner, K., Cerwenka, A. F., Brandner, J., Gertzen, S., Borcherding, J., Geist, J., Schliewen, U. K. (2013): First evidence for interspecific hybridization between invasive goby species *Neogobius fluviatilis* and *Neogobius melanostomus* (Teleostei: Gobiidae: Benthophilinae). Journal of Fish Biology, 82: 2128-2134.

98. Liu, Z. J., Cordes, J. F. (2004): DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture, 238: 1-37.

99. Lorenzioni, M., Corboli, M., Dörr, A. J. M., Giovinazzo, G., Selvi, S., Mearelli, M. (2002): Diets of Micropterus salmoides and *Esox lucius* L. in lake Trasimeno (Umbria, Italy) and their diet overlap. Bulletin Francais De La Peche Pisciculture, 365: 537-547.

100. Lujić, J., Kostić, D., Bjelić-Čabrilo, O., Popović, E., Miljanović, B., Marinović, Z., Marković, G. (2013): Ichthyofauna Composition and Population Parameters of Fish Species from the Special Nature Reserve "Koviljsko-Petrovaradinski Rit" (Vojvodina, Serbia). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 13: 665-673.

101. Lusk, S., Lusková, V., Hanel, L. (2010): Alien fish species in the Czech Republic and their impact on the native fish fauna. Folia Zoologica, 59: 57-72.

102. MacInnis, A. J. (1997): Aspects of the life history of the round goby, *Neogobius melanostomus* (Perciformes: Gobiidae), in the Detroit River

(Ontario, Michigan). PhD Thesis, Scholarship at UWindsor, University of Windsor, 108 pp.

103. MacInnis, A. J., Corkum, L. D. (2000a): Age and growth of round goby *Neogobius melanostomus* in the upper Detroit River. Transactions of the American Fisheries Society, 129: 852-858.

104. MacInnis, A. J., Corkum, L. D. (2000b): Fecundity and Reproductive Season of the Round Goby *Neogobius melanosomus* in the Upper Detroit River. Transactions of the American Fisheries Society, 129: 136-144.

105. Manné, S., Poulet, N., Dembski, S. (2013): Colonisation of the Rhine basin by non-native gobiids: an update of the situation in France. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, 411: 02.

106. Matoničkin, I., Habdija, I., Habdija, B. P. (1998): Beskralješnjaci. Biologija nižih avertebrata. Školska knjiga, Zagreb, 691 pp.

107. Matoničkin, I., Habdija, I., Habdija, B. P. (1999): Beskralješnjaci. Biologija viših avertebrata. Školska knjiga, Zagreb, 609 pp.

108. Medvedev, D. A., Sorokin, P. A., Vasil'ev, V. P., Chernova, N. V., Vasil'eva, E. D. (2013): Reconstruction of Phylogenetic Relations of Ponto-Caspian Gobies (Gobiidae, Perciformes) Based on Mitochondrial Genome Variation and Some Problems of Their Taxonomy. Journal of Ichthyology, 53: 702-712.

109. Međunarodna komisija za sliv rijeke Save (2010): Analiza sliva rijeke Save – Sažetak, ISRBC, Zagreb, 34 pp.

110. Meyer, A. (1994): Shortcomings of the cytochrome b gene as a molecular marker. Trends in Ecology and Evolution, 9: 278-280.

111. Mičetić, V., Bučar, M., Ivković, M., Piria, M., Krulik, I., Mihoci, I., Delić, A., Kučinić, M. (2008): Feeding ecology of *Sabanejewia balcanica* and *Cobitis elongata* in Croatia. Folia Zoologica, 57: 181-190.

112. Milačić, R., Ščančar, J., Murko, S., Kocman, D., Horvat, M. (2010): A complex investigation of the extent of pollution in sediments of the Sava River. Part 1: Selected elements. Environmental Monitoring and Assessment, 163: 277-293.

113. Mombaerts, M., Verreycken, H., Volckaert, F. A. M., Huyse, T. (2014): The invasive round goby *Neogobius melanostomus* and tubenose goby *Proterorhinus semilunaris*: two introduction routes into Belgium. Aquatic Invasions, 9: 305-314.

114. Moreau, J., Bambino, C., Pauly, D. (1986): Indexes of overall fish growth performance of 100 tilapia (*Cichlidae*) populations, In: Maclean, J. L., Dizon, L.

B., Hosillos, L. V. (Eds.), The first Asian fisheries forum. Asian Fisheries Society, Manilla, Philippines, pp. 201-206.

115. Mrakovčić, M., Brigić, A., Buj, I., Ćaleta, M., Mustafić, P., Zanella, D. (2006): Crvena knjiga slatkovodnih riba Hrvatske. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb, 253 pp.

116. Mrakovčić, M., Ćaleta, M. (2009): Ribolovno gospodarska osnova. Mjere za unapređenje slatkovodnog ribarstva na ribolovnoj zoni KŠR "Korana". Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 100 pp.

117. Murphy, B. R., Willis, D. W. (1996): Fisheries techniques. American Fisheries Society, Maryland, Bethesda, 732 pp.

118. Mustafić, P. (2005): Indeks biotičkog integriteta riblje zajednice velikih rijeka Hrvatske. Doktorska disertacija. Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 185 pp.

119. Neilson, M. E., Stepien, C. A. (2009a): Evolution and phylogeography of the tubenose goby genus *Proterorhinus* (Gobiidae: Teleostei): evidence for new cryptic species. Biological Journal of the Linnean Society, 96: 664–684.

120. Neilson, M. E., Stepien, C. A. (2009b): Escape from the Ponto-Caspian: Evolution and biogeography of an endemic goby species flock (Benthophilinae: Gobiidae: Teleostei). Molecular Phylogenetics and Evolution, 52: 84-102.

121. Neilson, M. E., Stepien, C. A. (2011): Historic speciation and recent colonization of Eurasian monkey gobies (*Neogobius fluviatilis* and *N. pallasi*) revealed by DNA sequences, microsatellites, and morphology. Diversity and Distributions, 17: 688-782.

122. Nilsson, A. (1996): Aquatic insects of North Europe. Vol 1. Apollo Books, Stenstrup Denmark, 274 pp.

123. Nilsson, A. (1997): Aquatic insects of North Europe. Vol 2. Apollo Books, Stenstrup Denmark, 440 pp.

124. Novomeská, A., Kováč, V. (2009): Life-history traits of non-native black bullhead *Ameiurus melas* with comments on its invasive potential. Journal of Applied Ichthyology, 25: 79-84.

125. Nugroho, E., Takagi, M., Taniguchi, N. (1997): Practical Manual on Detection of DNA Polymorphism in Fish Population Study. Bulletin of Marine Sciences and Fisheries, Kochi University, 17: 109-129.

126. Odak, T., Treer, T., Aničić, I., Safner, R., Piria, M. (2002): Primjena molekularnih metoda u ribarstvu. Ribarstvo, 60: 116-126.

127. Ogrinc, N., Kanduč, T., Kocman, D. (2015): Integrated approach to the evaluation of chemical dynamics and anthropogenic pollution sources in the Sava River Basin. In: Milačić, R., et al. (Eds.), The Sava River. The Handbook of Environmental Chemistry 31. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 75-94.
128. Oreščanin, V., Lulić, S., Pavlović, G., Mikelić, L. (2004): Granulometric and chemical composition of the Sava River sediments upstream and downstream of the Krško nuclear power plant. Environmental Geology, 46: 605-613.
129. Phillips, E.C., Washek, M.E., Hertel, A.W., Niebel, B.M. (2003): The Round Goby (*Neogobius melanostomus*) in Pennsylvania Tributary Streams of Lake Erie. Journal of Great Lakes Research, 29: 34-40.
130. Piria, M., Treer, T., Aničić, I., Safner, R., Odak, T. (2005): The natural diet of five cyprinid fish species. Agriculturae Conspectus Scientificus, 70: 21-28.
131. Piria, M. (2007): Ekološki i biološki čimbenici ishrane ciprinidnih vrsta riba iz rijeke Save. Doktorska disertacija, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 250 pp.
132. Piria, M., Treer, T., Tomljanović, T., Šprem, N., Matulić, D., Aničić, I., Safner, R. (2011a): First record of monkey goby, *Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1814) in the barbell zone of the Sava River, Croatia. Journal of Applied Ichthyology, 27: 1383-1384.
133. Piria, M., Šprem, N., Jakovlić, I., Tomljanović, T., Matulić, D., Treer, T., Aničić, I., Safner, R. (2011b): First record of round goby, *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) in the Sava River, Croatia. Aquatic Invasions, 6: 153-157.
134. Piria, M., Vrbanec, D., Đurđević, G. (2011): Von Bertalanffyeva krivulja rasta crvenperke *Scardinius erythrophthalmus* L. iz jezera Ključić brdo, Središnja Hrvatska. Ribarstvo, 69: 127-136.
135. Piria, M., Povž, M., Vilizzi, L., Zanella, D., Simonović, P., Copp, G. H. (2016a): Risk screening of non-native freshwater fishes in Croatia and Slovenia using the Fish Invasiveness Screening Kit. Fisheries Management and Ecology, 23: 21-31.
136. Piria, M., Jakšić, G., Jakovlić, I., Treer, T. (2016b): Dietary habits of invasive Ponto-Caspian gobies in the Croatian part of the Danube River basin and their potential impact on benthic fish communities. Science of the Total Environment, 540: 386-395.
137. Plachá, M., Balážová, M., Kováč, V., Katina, S. (2010): Age and growth of non-native monkey goby *Neogobius fluviatilis* (Teleostei, Gobiidae) in the River Ipel', Slovakia. Folia Zoologica, 59: 332-340.

138. Polačik, M., Trichkova, T., Janáč, M., Vassilev, M., Jurajda, P. (2008): The Ichthyofauna of the Shoreline Zone in the Longitudinal Profile of the Danube River, Bulgaria. Acta Zoologica Bulgarica, 60: 77-88.

139. Polačik, M., Janáč, M., Trichkova, T., Vassilev, M., Keckeis, H., Jurajda, P. (2008a): The distribution and abundance of the *Neogobius* fishes in their native range (Bulgaria) with notes on the non-native range in the Danube River. Large Rivers, 18: 193-208.

140. Polačik, M., Janáč, M., Jurajda, P., Vassilev, M., Trichkova, T. (2008b): The sampling efficiency of electrofishing for *Neogobius* species in a riprap habitat: a field experiment. Journal of Applied Ichthyology, 24: 601-604.

141. Polačik, M., Janáč, M., Jurajda, P., Adámek, Z., Ondračková, M., Trichkova, T., Vassilev, M. (2009): Invasive gobies in the Danube: invasion success facilitated by availability and selection of superior food resources. Ecology of Freshwater Fish, 18: 640-649.

142. Polačik, M., Janáč, M., Vassilev, M., Trichkova, T. (2012): Morphometric comparison of native and non-native populations of round goby *Neogobius melanostomus* from the River Danube. Folia Zoologica, 61: 1-8.

143. Povž, M. (2016): Glavati kapič (*Neogobius kessleri*) – riba pripetenka. Ribič, 3: 45.

144. Prokeš, M., Šovčík, P., Peňáz, M., Baruš, V., Spurný, P., Vilizzi, L. (2006): Growth of barbel, *Barbus barbus*, in the River Jihlava following major habitat alteration and estimated by two methods. Folia Zoologica, 55: 86-96.

145. Puillandre, N., Dupas, S., Dangles, O., Zeddam, J. L., Capdevielle-Dulac, C., Barbin, K., Torres-Leguizamon, M., Silvain, J. F. (2007): Genetic bottleneck in invasive species: the potato tuber moth adds to the list. Biological Invasions, 10: 319-333.

146. Ranković, N. (1954): Proučavanje riblje populacije u reci Savi. Ribarstvo Jugoslavije, 1: 1-4.

147. Ray, W.J., Corkum, L.D. (1997): Predation of zebra mussels by round gobies, *Neogobius melanostomus*. Environmental Biology of Fishes, 50: 267-273.

148. Ricker, W. E. (1975): Computation and Interpretation of Biological Statistics of Fish Populations. Bulletin of Fishery Research Board Canada, 191: 382 pp.

149. Rocha-Olivares, A., Rosenblatt, R. H., Vetter, R. D. (1998): Molecular Evolution, and Zoogeography of the Rockfish Subgenus Sebastomus (Sebastes, Scorpaenidae) Based on Mitochondrial Cytochrome b and Control Region Sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution, 11: 441-458.

150. Roche, K. F., Janač, M., Jurajda, P. (2013): A review of Gobiid expansion along the Danube-Rhine corridor – geopolitical change as a driver for invasion. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, 411: 01.

151. Rodriguez, L. F. (2006): Can invasive species facilitate native species? Evidence of how, when, and why these impacts occur. Biological Invasions, 8: 927-939.

152. Saitou, N., Nei, M. (1987): The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. Molecular Biology and Evolution, 4: 406-425.

153. Saitou, N., Imanishi, T. (1989): Relative Efficiencies of the Fitch-Margoliash, Maximum-Parsimony, Maximum-Likelihood, Maximum-Evolution, and Neighbor-joining Methods of Phylogenetic Tree Construction in Obtaining the Correct Tree. Molecular Biology and Evolution, 6: 514-525.

154. Sasi, H., Berber, S. (2010): Some Biological Characteristics of Monkey Goby in Anatolia. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 5: 229-233.

155. Schlaepfer, M. A., Sax, D. F., Olden, J. D. (2011): The potential conservation value of non-native species. Conservation Biology, 25: 428-437.

156. Simonović, P. D. (1996): Cranial osteology of the bighead goby *Neogobius kessleri* from the rivers Danube and Sava (Serbia, Yugoslavia). Italian Journal of Zoology, 63: 65-72.

157. Simonović, P., Valković, B., Paunović, M. (1998): Round goby *Neogobius melanostomus*, a new Ponto Caspian element for Yugoslavia. Folia Zoologica, 47: 305-312.

158. Simonović, P., Paunović, M., Popović, S. (2001): Morphology, Feeding, and Reproduction of the Round Goby, *Neogobius melanostomus* (Pallas), in the Danube River Basin, Yugoslavia. Journal of Great Lakes Research, 27: 281-289.

159. Simonović, P., Povž, M., Piria, M., Treer, T., Adrović, A., Škrijelj, R., Nikolić, V., Simić, V. (2015): Ichthyofauna of the River Sava System. In: Milačić, R., et al. (Eds.), The Sava River. The Handbook of Environmental Chemistry 31. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 361-400.

160. Sindilariu, P. D., Freyhof, J. (2003): Food overlap of benthic fishes in the Danube Delta, with special respect to two invasive gobiids (Teleostei: Gobiidae, Percidae, Cyprinidae). Lauterbornia, 46: 149-157.

161. Smirnov, A. I. (1986): Percifomes (Gobioidei), Scorpaeniformes, Pleuronectiformes, Lophiiformes. Fauna Ukraini, 8: 7-183.

162. Stepien, C. A., Brown, J. E., Neilson, M. E., Tumeo, M. A. (2005): Genetic Diversity of Invasive Species in the Great Lakes Versus Their Eurasian Source Populations: Insights for Risk Analysis. Risk Analysis, 25: 1043-1060.

163. Stepien, C. A., Tumeo, M. A. (2006): Invasion genetics of Ponto-Caspian gobies in the Great Lakes: a 'cryptic' species, absence of founder effects, and comparative risk analysis. Biologial Invasions, 8: 61-78.

164. Stepien, C. A., Neilson, M. E. (2013): What's in a name? Taxonomy and nomenclature of invasive gobies in the Great Lakes and beyond. Journal of Great Lakes Research, 39: 555-559.

165. Sokołovska, E., Fey, D. P. (2011): Age and growth of the round goby *Neogobius melanostomus* in the Gulf of Gdansk several years after invasion. Is the Baltic Sea a new Promised Land? Journal of Fish Biology, 78: 1993-2009.

166. Sorokin, P. A., Medvedev, D. A., Vasil'ev, V. P., Vasil'eva, E. D. (2011): Further studies of mitochondrial genome variability in Ponto-Caspian Proterorhinus species (Actinopterygii: Perciformes: Gobiidae) and their taxonomic implications. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 41: 95-104.

167. Šanda, R., Balković, I.,Bogut, I., Galović, D., Vidaković, J., Čerba, D., Kovačević, T. (2013): Nova saznanja o rasprostranjenosti invazivnih vrsta porodice Gobiidae. Zbornik sažetaka, 9. međunarodni gospodarsko-znanstveni skup o ribarstvu, Vukovar 8 – 10. 5. 2013., Izdavač: HGK, pp. 25-26.

168. Števove, B., Kováč, V. (2013): Do invasive bighead goby *Neogobius kessleri* and round goby *N. Melanostomus* (Teleostei, Gobiidae) compete for food?. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, 410: 08.

169. Tamura, K., Nei, M., Kumar, S. (2004): Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA), 101: 11030-11035.

170. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013): MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30: 2725-2729.

171. Ter Braak, C. J. F., Šmilauer, P. (2012): Canoco reference manual and user's guide: software for ordination,version 5.0. Microcomputer Power, Ithaca, USA, 496 pp.

172. Treer, T., Safner, R., Aničić, I., Lovrinov, M. (1995): Ribarstvo. Nakladni zavod globus, Zagreb, 463 pp.

173. Treer, T., Aničić, I., Safner, R., Odak, T., Piria, M. (2005): Post-spawning condition of endemic soft-muzzled trout *Salmothymus obtusirostris* in the Žrnovnica river. Ribarstvo, 63: 85-90.

174. Treer, T., Piria, M., Aničić, I., Safner, R., Tomljanović, T. (2006): Diet and growth of spirlin, *Alburnoides bipunctatus* in the barbell zone of the Sava River. Folia Zoologica, 55: 97-106.

175. Treer, T., Piria, M., Aničić, I., Safner, R., Šprem, N., Tomljanović, T. (2007): Recent trends of CPUE in the barbell zone of the Sava river, Croatia. XII European Congress of Ichthyology, 9-13 September, Dubrovnik, Book of abstracts, pp. 174-175.

176. Treer, T. (2008): Ihtiologija II. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 92 pp.

177. Vassilev, M., Apostolou, A., Velkov, B., Dobrev, D., Zarev, V. (2012): Atlas of the gobies (Gobiidae) in Bulgaria. Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, 112 pp.

178. Vélez-Espino, L. A., Koops, M. A., Balshine, S. (2010): Invasion dynamics of round goby (*Neogobius melanostomus*) in Hamilton Harbour, Lake Ontario. Biological Invasions, 12: 3861-3875.

179. Vidal, O., García-Berthou, E., Tedesco, P. A., García-Marín, J. L. (2010): Origin and genetic diversity of mosquitofish (*Gambusia halbrooki*) introduced to Europe. Biological Invasions, 12: 841-851.

180. Vyskočilová, M., Ondračková, M., Šimková, A., Martin, J. F. (2007): Isolation and characterization of microsatellites in *Neogobius kessleri* (Perciformes, Gobiidae) and cross-species amplification within the family Gobiidae. Molecular Ecology Notes, 7: 701-704.

181. Windell, J. T. (1971): Food analysis and Rate of Digestion. IBP Handbook No. 3.

182. Wallace, R. K. (1981): An assessment of diet overlap indexes. Transactions of the American Fisheries Society, 110: 72-76.

183. Zaret, T. M., Rand, A. S. (1971): Competition in tropical stream fishes: support for the competitive exclusion principle. Ecology, 52: 336-342.

ŽIVOTOPIS

Goran Jakšić rođen je 08. 02. 1973. godine u Karlovcu gdje je završio osnovnu školu i gimnaziju. Prirodoslovno matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao je 1990. godine, a 2002. diplomirao na smjeru profesor fizike. Poslijediplomski specijalistički studij Ribarstvo upisao je na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2009. godine, a diplomirao 2011. godine. Od 2002. do 2004. godine radio je kao profesor fizike u Gimnaziji Karlovac, a od 2004. do 2006. godine kao asistent iz fizike na Veleučilištu u Karlovcu. Od 2006. godine radi u Gradu Karlovcu kao pročelnik u Upravnom odjelu za društvene djelatnosti, pomoćnik pročelnika u Upravnom odjelu za poslove gradonačelnika i pomoćnik pročelnika u Upravnom odjelu za društvene djelatnosti. Koautor je jednog znanstvenog rada indeksiranog u a1 bazi podataka i jednog preglednog rada indeksiranog u a2 bazi podataka te je sudjelovao na tri međunarodna simpozija.

Lista radova:

Piria, M., Jakšić, G., Jakovlić, I., Treer, T. (2016): Dietary habits of invasive Ponto-Caspian gobies in the Croatian part of the Danube River basin and their potential impact on benthic fish communities. Science of the Total Environmnet, 540: 386-395.

Jakšić, G., Jadan, M., Piria, M. (2016): The review of ecological and genetic research of Ponto-Caspian gobies (Pisces, Gobiidae) in Europe. Croatian Journal of Fisheries, 74: 93-114.

Lista sažetaka:

Jakšić, G., Treer, T., Tomljanović, T., Jadan, M., Piria, P. (2016): Genotyping of invasive Ponto-Caspian gobies (Gobiidae) from the Sava River Basin in Croatia. 51st Croatian and 11th International Symposium on Agriculture, Book of Abstracts, Opatija, Croatia, February 15-18, 2016, 129-130.

Jakšić, G., Piria, M., Tomljanović, T., Čož-Rakovac, R., Treer, T. (2013): Survey of ichthyocoenosis and fishermen attitudes at fishing waters managed by the Sport Fisherman Association "Korana", Karlovac. 48th Croatian and 8th International Symposium on Agriculture, Book of Abstracts, Dubrovnik, Croatia, February 17-22, 2013, 222-223.

Barišić, J., Jakšić, G., Rathman, M., Jendriš-Škrljak, E., Mihaldinec, D., Čož-Rakovac, R. (2013): Modern technology in the service of aquaculture-preliminary magnetic resonance imaging of the live date mussel *Lithopaga lithopaga* (Linnaeus, 1758). 10th International Production and Scientific Conference on Aquaculture "Croatian Aquaculture in the European Union-Present and Future" Book of Abstracts, Vukovar, Croatia, November 27-28, 2013, 18.