

## ODRŽAVANJE POPULACIJE TASMANIJSKIH PADEMELONA *THYLOGALE BILLARDIERII* U JOCK MARSHALL REZERVATU

### MANAGEMENT OF A POPULATION OF TASMANIAN PADEMELONS *THYLOGALE BILLARDIERII* IN THE JOCK MARSHALL RESERVE

Sanel Ridanović, mr.sci.

Lejla Ridanović, dr.sci.

Univerzitet „Džemal Bijedić“, Mostar, Bosna i Hercegovina

#### REZIME

Cilj ovog istraživanja je određivanje genetičke varijabilnosti unutar i među populacijama Tasmanijskih pademelona *Thylogale billardierii* iz Jock Marshall rezervata u Melburnu i Macquarie rezervata u Sidneju, Australija. Nivo genetičke varijabilnosti prisutne u populaciji Tasmanijskih pademelona iz Jock Marshall rezervata je značajno smanjen u poređenju sa populacijom Tasmanijskih pademelona iz Macquarie rezervata. Populacija pademelona iz Jock Marshall rezervata ima smanjnu heterozigotnost i alelsku varijabilnost na lokusima Me2 i Pa597. Efektivna veličina ove populacije ( $N_e$ ) je 5. Da bi se povećala efektivna veličina i genetička varijabilnost ove populacije, potrebno je introdukovati određeni broj priplodnih životinja iz populacije Macquarie rezervata, koja ima veći genetički diverzitet, čime bi se osigurala egzistencija i dugotrajni opstanak populacije Tasmanijskih pademelona na vegetaciju u Jock Marshall rezervatu. Ovo istraživanje je također ispitalo efekat Tasmanijskih pademelona na vegetaciju u Jock Marshall rezervatu. Rezultati obrađeni statističkom analizom ANOSIM ( $R=0.08$ ,  $p=0.08$ ) ukazuju da nema značajne razlike u broju biljnih vrsta koje rastu u dijelovima koje Tasmanijski Pademeloni intenzivno koriste za ishranu, u poređenju sa područjima koja su ograđena i nedostupna za ishranu. Međutim, postoji statistički značajna razlika u ukupnoj biomasi i biomasi monokotiledonih biljaka između područja rezervata gdje se nalaze životinje i ograđenog dijela koji im je nedostupan.

**Ključne riječi:** *Thylogale billardierii* – Tasmanijski pademelon, genetička variabilnost, alelska varijabilnost, efektivna veličina populacije ( $N_e$ ), distribucija vegetacije u Jock Marshall rezervatu.

#### SUMMARY

This study assessed genetic variation present within and between populations of Tasmanian Pademelons *Thylogale billardierii* from the Jock Marshall reserve in Melbourne and Macquarie reserve in Sydney, Australia. The level of genetic variability present in the population of Pademelons in Jock Marshall reserve is significantly reduced when compared to the population present in Macquarie reserve in Sydney, Australia. Population of Pademelons from Jock Marshall Reserve have reduced heterozygosity and allelic diversity at loci Me2 and Pa 597. It was concluded that effective population size ( $N_e$ ) is 5. In order to increase genetic variability of this population, a certain number of breeding individuals should be introduced from genetically more diverse Macquarie population, which would ensure existence and long-term survival of the Tasmanian Pademelon population in the Jock Marshall Reserve in Melbourne. This study also considered the effects of Pademelons herbivory on the understory vegetation. The results obtained using statistical analysis ANOSIM

( $R=0.08$ ,  $p=0.08$ ), suggest that there is no significant difference in the number of plant species in the area where Pademelons intensively graze when compared to the areas of the reserve which are not accessible to Pademelons. However, the obtained data showed that the total plant biomass and monocot biomass in the area where Pademelons graze is significantly reduced, compared to the fenced areas of the reserve which animals cannot enter.

**Keywords:** *Thylogale billardierii* – Tasmanian pademelon, genetic variability, allelic diversity, population, effective population size ( $N_e$ ), vegetation distribution in Jock Marshall reserve.

## 1. UVOD

Tasmanijski pademelon *Thylogale billardierii* je primjer životinje koja je od Evropske kolonizacije Australije do danas prošla kroz fazu drastičnog istrebljenja, putem uništavanja njihovog prirodnog staništa za potrebe agrokulture i stočarstva. Tasmanijski Pademeloni su bili široko rasprostranjeni, u velikim brojevima, širom Južne Australije i Viktorije. Međutim, sječa šuma i intenzivno stočarstvo je dovelo ovu vrstu patuljastog kengura skoro do istrebljenja, i danas se nažalost, smatraju potpuno izumrlim na Australijskom kontinentu. Jedino mjesto gdje su uspjeli preživjeti je Tasmanija i susjedna ostrva Bass Straight. Tasmanijski Pademeloni naseljavaju niz vegetacijskih formacija, kao što su vlažne sklerofilne šume, koje se odlikuju gustom vegetacijom. Herbivori su koji se hrane isključivo sočnim izdancima mlade trave i listovima žbunjeitog bilja [5,6]. Kao i većina malih torbara, kreću se u potrazi za hranom, uglavnom po rubovima šuma, u velikim grupama. Hrane se tokom noći i nerado se udaljavaju od ruba šume i graničnih pašnjaka. Teritorija koju obilaze može da pokriva površinu i do 170 hektara. Mužjaci se odlikuju snažnom miškulaturom prednjih noga i vrata, sa prosječnom težinom od 12 kg. Ženke su znatno manje i narastu do 3,9 kg. Period gestacije Tasmanijskih pademelona je 30 dana i mladi napuštaju majčinu torbu nakon 200 dana. Mladi se rađaju u periodu od Aprila do Juna. Za reprodukciju su spremni sa napunjenih 15 mjeseci [5,6].

Jock Marshall rezervat se nalazi u naselju Clayton u Melburnu, Australija. Zaštićen je od 1962. godine i koristio se isključivo kao botanički rezervat. Međutim, početna populacija koja se sastojala od 6 Tasmanijskih pademelona se uspješno razmnožila i 2010. godine, kada je vršen zadnji popis, populacija se sastojala od ukupno 142 jedinke. U ovom rezervatu su prisutne još dvije vrste torbara Sivi Kengur (*Macropus giganteus*) i Parma Wallaby (*Macropus parma*).

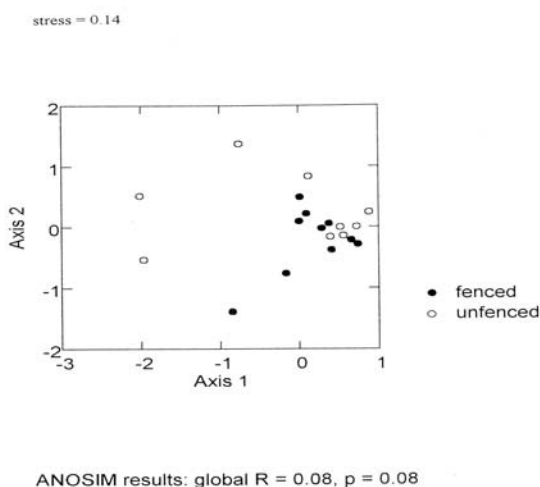
## 2. ODREĐIVANJE GENETIČKE VARIJABILNOSTI

Genetička varijabilnost koja je prisutna u populacijama svih životinjskih vrsta može se pratiti putem genetičkih markera kao što su mikrosateliti. Mikrosateliti su lokusi na genomskoj DNA u kojima se uzastopno ponavljaju kratki nizovi nukleotida, koji se obično sastoje od jedinica kraćih od 5 baznih parova, kao što su (TG) ili (ATT) [1,2,4]. Mikrosatelitski lokusi su polimorfni što znači da je većina životinja koje žive u brojnim populacijama heterozigotna, i vjerovatnoća da dvije životinje imaju isti genotip je mala. Najznačajnija karakteristika mikrosatelita je da se prajmeri, razvijeni za određenu vrstu životinja mogu koristiti i za taksonomski srodne vrste [4]. Mikrosatelitski lokusi igraju važnu ulogu prilikom određivanja: nivoa krvne srodnosti u populacijama, daju vrlo važne informacije o strukturi populacija, pomažu u određivanju nivoa emigracija i imigracija u populacijama. Mikrosateliti se također mogu koristiti za identifikaciju jedinki u određenoj populaciji, utvrđivanje očinstva i majčinstva, određivanja filogenetske srodnosti životinjskih vrsta [1,2,4,8].

### 3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA

DNA je ekstrahirana iz uzoraka dlake sa uha, koji su sakupljeni u periodu od januara 2005. do juna 2007. godine [9]. Ukupno 40 uzoraka je sakupljeno, 20 iz Jock Marshall rezervata i 20 iz Macquarie rezervata. Pomoću PCR amplificirana je DNA za dva mikrosatelitska lokusa. Mikrosateliti koji su se koristili u ovom istraživanju Pa597 i Me2, prvobitno su razvijeni za istraživanja koja su se radila na dvije vrste patuljastih kengura, a to su Allied Rock-wallabies (*Petrogale assimilis*) i Tammar wallabies (*Macropus eugenii*). Biljni materijal koji se koristio u ovoj studiji je sakupljen sa 20 označenih lokacija, dimenzija 0,5m x 0,5m, iz dijela rezervata gdje se nalaze životinje i ograđenog područja koje im je nedostupno. Prikupljeni biljni materijal je precizno izvagan i klasificiran na monokotiledone, dikotiledone biljke i mahovinu.

### 4. REZULTATI



Slika 1. Multi-dimenzionalna reprezentacija (Multi Dimensional Scaling –MDS) rasprostranjenosti biljnih vrsta iz ograđenog dijela rezervata u kojem se nalaze životinje i područja koje im je nedostupno.

Tabela 1. t-test (two-tailed) za određivanje raznovrsnosti biljaka, ukupne biomase, te biomase monokotiledonih, dikotiledonih biljaka i mahovine

Kategorija	Two – tailed t-test
Raznovrsnost biljaka (biodiverzitet) (ograđni vs neograđeni dio)	$P(T \leq t)$ two-tail=0,941435
Ukupna biomasa (ograđni vs neograđeni dio)	$P(T \leq t)$ two-tail=0,000991
Biomasa mahovine (ograđni vs neograđeni dio)	$P(T \leq t)$ two-tail =0,941435
Biomasa monokotiledonih biljaka (ograđni vs neograđeni dio)	$P(T \leq t)$ two-tail=0,941435
Biomasa dikotiledonih biljaka (ograđni vs neograđeni dio)	$P(T \leq t)$ two-tail=0,941435

Tabela 2. Rezultati genetičke varijabilnosti Tasmanijskih Pademelona iz Jock Marshall i Macquarie rezervata

	Populacija Tasmanijskih pademelona iz Jock Marshall rezervata		Populacija Tasmanijskih pademelona iz Macquarie rezervata	
	Locus A (Me 2)	Locus B (Pa 597)	Locus A (Me 2)	Locus B (Pa 597)
Procenat heterozgota	0%	64%	80%	100%
Prosječni procenat heterozigota	32%		90%	
Alelski diverzitet – broj alela na lokusu	1	5	7	8
Prosječan broj alela	3		7.5	
Efektivna veličina populacije ( $N_e$ )	5		10	

## 5. DISKUSIJA

Rezultati multi-dimenzionalne reprezentacije (Multi Dimensional Scaling – MDS) Jock Marshall rezervata nisu pokazali da postoji razlika u varijabilnosti, odnosno broju zastupljenih biljnih vrsta između dijela rezervata gdje se nalaze životinje i ograđenog dijela koji im je nedostupan (Slika 1). Stress vrijednost za MDS konfiguracionog grafa iznosi 0,14. Stress vrijednost predstavlja mjeru održivosti, gdje idealna vrijednost iznosi 0,12. Ako se stress vrijednost smanjuje, proporcionalno se povećava vrijednost održivosti. Vrijednosti ANOSIM-a,  $R=0,08$ ,  $P=0,08$  (Slika 1), ukazuje na to da ne postoji značajna razlika u sastavu biljnih vrsta u dijelu gdje su prisutni Tasmanijski Pademeloni i ograđenom dijela rezervata koji im je nedostupan.

Ovi rezultati jasno pokazuju da makropodi koji žive u Jock Marshall rezervatu: Tasmanijski Pademelon (*Thylogale billiardierii*), Sivi Kengur (*Macropus giganteous*) i Parma Wallaby (*Macropus parma*), nemaju značajnog uticaja na sastav biljnih vrsta. Rezultati t-testa, prikazani u Tabeli 1, pokazuju da ispaša Tasmanijskih Pademelona nema znatnog uticaja na biodiverzitet biljaka. Međutim, pretpostavka da će ukupna biomasa vegetacije tla na području na kojem žive makropodi biti znatno manja u poređenju sa ograđenim dijelom rezervata je potvrđena. Rezultati t-testova za biomasu vegetacije, pokazuju da nema značajne razlike u biomasi dikotiledonih biljaka i mahovine, dok je masa monokotiledonih biljaka značajno manja u dijelu rezervata u kojem životinje obitavaju (Tabela 1). Ovi podaci ukazuju da se makropodi hrane isključivo monokotiledonim biljkama, što je izuzetno značajno za organizaciju i upravljanje populacijama makropoda u Jock Marshall rezervatu. Kako bi se umanjili negativni efekti makropoda na vegetaciju tla u Jock Marshall rezervatu, predloženo je da se određeni broj Sivih Kengura (*Macropus giganteous*) i Parma Wallaby-ja (*Macropus parma*), koji se ne nalaze na ugroženoj listi, reguliše premještanjem u zoološke vrtove i konzervacione parkove. Ovaj proces bi osigurao dugotrajnu egzistenciju i očuvanje Tasmanijskih Pademelona, čiji se brojevi smanjuju iz godine u godinu.

Rezultati genetičke varijabilnosti Tasmanijskih Pademelona u Jock Marshall i Macquarie rezervatu su bili iznenađujući. Kao što se vidi u Tabeli 2. životinje u Jock Marshall rezervatu imaju značajno smanjen procenat heterozigota na lokusu A (Me2) i lokusu B (Pa597) u poređenju sa populacijom koja se nalazi u Macquarie rezervatu. Kao posljedica smanjenja heterozigota u populaciji došlo je do smanjenja alelskog diverziteta (broj alela na lokusu) kao

i prosječnog broja alela prisutnih u populaciji Tamanijskih Pademelona u Jock Marshall rezervatu. Iako u Jock Marshall rezervatu živi oko 140 Tasmanijskih Pademelona efektivna veličina populacije ( $N_e$ ) je 5. Razlozi odgovorni za smanjenje efektivne veličine populacije su mnogobrojni. Većina životinja koje žive u određenoj populaciji ne mogu proizvesti potomstvo i efektivna veličina populacije se reguliše procesima kao što su: dob životinje, zdravstveno stanje, sterilitet, neuhranjenost i socijalne strukture koje sprječavaju jedinke da nađu partnera i razmnožavaju se [7]. Kao rezultat ovih faktora efektivna veličina populacije ( $N_e$ ) životinja koje se razmnožavaju je znatno manja od stvarne veličine populacije. Iz ovoga sljedi zaključak da je smanjena genetička varijabilnost (broj heterozigota i alelska varijabilnost) vezana za efektivnu veličinu populacije ( $N_e$ ), gdje je gubitak genetičke varijabilnosti značajno veći u populacijama koje imaju znatno smanjen ( $N_e$ ). Još jedan od problema sa kojim se susrećemo u populacijama koje imaju malu efektivnu veličinu populacije ( $N_e$ ) je reprodukcija krvno srodnih životinja [7]. Godine 1963., samo šest Tasmanijskih Pademelona je prebačeno u Jock Marshall rezervat i ove životinje su predstavljale nukleus za program razmnožavanja. U velikim populacijama, životinje imaju veći izbor partnera. Ovo nije slučaj u malim populacijama, gdje su slučajevi reprodukcije između majke i sina, oca i kćerke, braće i sestara i prvih rođaka) jako česti i neizbježni [4,7]. Sistematska reprodukcija jedinki koje su krvno srodne, vodi do gubitka genetičke varijabilnosti (smanjen broj heterozigotnih životinja), koji u konačnici uzrokuje homozigotnost na određenom alelu u populaciji. Vjerovatnoća da su određeni aleli identičnog porijekla se može pojasniti i definisati terminom – koeficijent reprodukcije krvno srodnih životinja ( $F$ ) [4,7]. Rezultati prezentirani u Tabeli 2, pokazuju da smanjena efektivna veličinu populacije ( $N_e$ ) i reprodukcija krvno srodnih životinja imaju značajan uticaj na gubitak genetičke varijabilnosti Tasmanijskih Pademelona iz Jock Marshall rezervata, gdje su sve životinje homozigotne na lokusu A ( $Me_2$ ). Efekat reprodukcije krvno srodnih životinja u populaciji sa ograničenim brojem, povećava vjerovatnoću da je određena proporcija nepoželjnih recesivnih alela koji mogu negativno uticati na rast i razvoj prisutna kod većine homozigotnih životinja. Reprodukcija krvno srodnih životinja može dovesti do takozvane reproduktivne depresije populacije koja vodi do ozbiljnih posljedica, kao što su: smanjenje fertiliteta, rađanje manjeg broja mladih i poremećaja u rastu i razvoju. U malim populacijama makropoda i mammala u zoološkim vrtovima i rezervatima, gdje je česta pojava reprodukcije krvno srodnih životinja, stopa mortaliteta je 33% veća u poređenju sa populacijama životinja koje žive u prirodi i imaju veću mogućnost izbora partnera [7]. Posljedice koje se javljaju usljed smanjene efektivne veličine populacije je evidentirana u istraživanju Northern Hairy-nosed Wombat (*Lasiorninus krefftii*), koji se nalazi na kritičnoj listi ugroženih mammala Australije. Ova vrsta je pretrpjela drastičnu redukciju broja životinja u zadnjih 120 godina zbog nekontrolisane sječe šuma. Danas pod zaštitom, 70 wombata živi u Epping Forest Nacionalnom Parku u centralnom Queenslandu [10]. Mjerenje genetičke varijabilnosti Northern Hairy-nosed Wombata u Epping Forest Nacionalnom Parku, koristeći mikrosatelitske lokuse, je pokazalo da je ova populacija zadržala samo 41% heterozigotnosti i oko 36% alelskog diverziteta (broj alela na lokusu). Gubitak genetičke varijabilnosti je uzrokovan drastičnom smanjenom efektivnom veličinom populacije ( $N_e$ ), koja je bila manja od 10 jedinki u zadnjih 120 godina [10].

Da bi se dugoročno riješio problem egzistencije Tasmanijskih Pademelona, podnešen je zahtjev za selektivnu introdukciju 10 mužjaka i 10 ženki iz Macquarie Rezervata, kako bi se povećala efektivna veličina populacije ( $N_e$ ) i genetička varijabilnost (alelski diverzitet i povećanje broja heterozigotnih životinja). Ovaj zahvat zahtjeva pažnju prilikom selekcije životinja koje će biti prebačene, a to su:

1. Životinja koje su pokazale sposobnost reprodukcije
2. Životinje stare od 2 do 3 godine, čiji genotip je poznat

Predložena ja introdukcija Yellow - footed Rock Wallabies (*Petrogale xanthopus*) koji su postali ugrožena vrsta u Australiji. Eldridge (1999) je upozorio da je distribucija Yellow-Footed Rock Wallabies značajno smanjena i da je došlo do potpunog nestanka lokalnih populacija od dolaska Evropljana u Australiju. Broj ovih životinja se smanjuje drastično iz godine u godinu, a razlozi su intezivna ispaša stoke i introdukcija evropske lisice koja je postala jedan od najvećih i najrasprostranjenijih predatora na Australijskom kontinentu [3]. Iz ovog slijedi zaključak da bi introdukcija i formiranje matične populacije *Petrogale xanthopus* znatno poboljšala uslove za očuvanje još jedne ugrožene vrste makropoda.

## 6. ZAKLJUČAK

Ovo istraživanje je pokazalo da makropodi iz Jock Marshall rezervata u Melburnu, Australija, značajno ne narušavaju vegetaciju. Međutim, nivo genetičke varijabilnosti (heterozigotnosti i alelskog diverziteta) u populaciji Tasmanijskih Pademelona iz Jock Marshall rezervata je bio značajno manji u poređenju sa populacijom koja živi u Macquarie rezervatu. Da bi povećali genetičku varijabilnost Tasmanijskih Pademelona u Jock Marshall rezervatu podnešen je zahtjev za selektivnu introdukciju pademelona iz Macquarie rezervata. Introdukcija kritično ugroženih Yellow-footed Rock Wallaby (*Petrogale xanthopus*) je također razmatran kao opcija koja bi omogućila očuvanje još jedne ugrožene vrste makropoda u ovom rezervatu.

## 7. REFERENCE

- [1] Bruford, M.W.; Wayne, R.K.: Microsatellites and their application to population genetic studies, *Current Opinion in Genetics and Development*, Vol. 3, 1993, pp. 939 – 934.
- [2] Dobson, F.S.: Social Structure and Gene Dynamics in Mammals, *Journal of Mammalogy*, Vol. 79 1998, pp. 667-670.
- [3] Eldridge, M.D.B.: Restriction Analysis of Mitochondrial DNA from Yellow- footed rock wallaby, *Petrogale xanthopus*: Impications for managment, *Wildlife Research* Vol. 24, No.3 1999, pp. 289-294.
- [4] Griffiths, A.J.F.; Miller, J.H.; Suzuki, D.T.; Lewontin, R.C.; Gelbart, W. M.: An introduction to Genetic Analysis, (6<sup>th</sup> ed.) 1996, W.H. Freeman & CO. New Yor,.
- [5] Groves, C.; Wilson, D. E.; Reeder, D. M.: *Mammal Species of the World* (3<sup>rd</sup> ed.) 2005, Baltimore, Johns Hopkins University Press. pp. 69.
- [6] Menkhorst,P.: *A Field Guide to the Mammals of Australia*, 2001, p. 134. Oxford University Press,
- [7] Primack, R.B.: *Essentials of Conservation Biology*, 1993, Sinauer Associates Inc. Sunderland.
- [8] Slatkin, M.: Measure of Population Subdivision Based on Microsatellite Allele Frequencies, *Genetics*, Vol. 139, 1995, pp.457-462.
- [9] Sunnucks, P.: Efficient genetic markers for population biology, *Trends in Ecology and Evolution*, Vol. 15, 2000, pp.199 – 203.
- [10] Taylor, A.C; Sherwin, W.B.; Wayne, R.K.: Genetic Variation of Microsatellite Loci in a Bottlenecked Species: the Northern Hairy-nosed Wombat, *Lasiorninus krefftii*, *Molecular Ecology*, Vol. 3, pp. 277- 290.