

PLANKTONSKE ZAJEDNICE DUBOKOG KRŠKOG JEZERA: STRUKTURA I TROFIČKE INTERAKCIJE

Šimunović, Maja

Doctoral thesis / Doktorski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:796868>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-11**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Maja Šimunović

**PLANKTONSKE ZAJEDNICE DUBOKOG
KRŠKOG JEZERA: STRUKTURA I
TROFIČKE INTERAKCIJE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2024.



University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology

Maja Šimunović

**PLANKTON COMMUNITIES IN THE DEEP
KARSTIC LAKE: COMPOSITION AND
TROPHIC INTERACTIONS**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2024

Ovaj doktorski rad je izrađen u Laboratoriju za istraživanje slatkovodnih alga Botaničkog zavoda Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom prof. dr. sc. Marije Gligora Udovič, u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog doktorskog studija Biologije pri Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Informacije o mentoru

Marija Gligora Udovič diplomirala je na studijskim programima profesor biologije i kemije 2001., a doktorirala 2007. godine u području ekologije fitoplanktona na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Od 2001. godine do danas zaposlena je u Botaničkom zavodu Biološkog odsjeka PMF-a Sveučilišta u Zagrebu, te je trenutno na poziciji redovite profesorice. Od 2001. do danas kontinuirano sudjeluje u izvođenju nastave na preddiplomskim i diplomskim studijskim programima te doktorskom studiju na Biološkom odsjeku PMF-a (Botanika, Protista, Ekologija protista, Plankton slatkih voda, Alge i učenički projekti, Mikrobiologija ekosustava, Terenska nastava iz biološke raznolikosti protista, Alge u biološkoj valorizaciji slatkovodnih ekosustava, Laboratorijska stručna praksa) kao i na Fakultetu šumarstva i drvne tehnologije te Agronomskom fakultetu (Mikrobiologija ekosustava, Mikrobna raznolikost prirodnih i antropogenih ekoloških sustava). Autor je i koautor na 61 izvornih znanstvenih radova, 84 sažetaka sa skupova te je bila mentor na 21 diplomskih i završnih radova kao i više doktorskih disertacija. Sudjelovala je na nekoliko znanstvenih osposobljavanja u Europi i SAD-u te je bila uključena u mnogo istraživačkih projekata iz područja akvatičke ekologije i mikroorganizama tijekom svoje karijere čiji je fokus korištenje algi u standardima za ocjenu stanja. To je vodilo do karijere primijenjene slatkovodne ekologinje s naglaskom na problematiku biomonitoringa slatkih voda i razvoj metoda klasifikacije ekološkog stanja površinskih voda u Hrvatskoj. Sudjelovala je u razvoju nacionalne metode za ocjenu ekološkog stanja uzimajući u obzir ciljeve Okvirne direktive o vodama, konkretno korištenje fitoplanktona i dijatomeja u ekološkoj ocjeni. Bila je član organizacijskog odbora 7. Europskog fikološkog kongresa, 15. Simpozija akvatičke mikrobne ekologije, 12. Hrvatskog biološkog kongresa s međunarodnim sudjelovanjem, 8. Srednjeeuropskog sastanka dijatomeja te je dala svoj doprinos u sklopu mnogih događanja i radionica na temu popularizacije znanosti. Član je COST Akcije Ocean4Biotech platforme, te je bila suradnik na više istraživačka projekta Hrvatske zaklade za znanost npr. CELLSTRESS i TRANITAL, a trenutno je suradnik na projektu NATURAVITA za monitoring stanja voda i NKFIH K137950 Complex Study of Diatom Diversity with Special Emphasis on Rarity and Invasion. Osnovala je jedinstvenu Hrvatsku nacionalnu zbirku dijatomeja 2018. godine.

ZAHVALE

Prvo želim zahvaliti dragoj mentorici prof. dr. sc. Mariji Gligori Udovič koja me poticala, inspirirala i gurala naprijed tijekom izrade ovog doktorskog rada. Hvala na svim savjetima, vremenu i strpljenju.

Također se zahvaljujem svim suradnicima i koautorima, a posebno Petru Žutiniću, Antoniji Kulaš, Mireli Šušnjari i Jeleni Fressl na pomoći pri terenskom i laboratorijskom radu te doprinosu prilikom izrade radova.

Velika hvala mami, tati, bratu, prijateljicama i prijateljima, kolegama na ohrabrenjima, potpori i razumijevanju kad su mi najviše trebali.

Najveći poticaj da ovo putovanje privedem kraju bili su moj životni suputnik Goran i kćer Lucija.

PLANKTONSKE ZAJEDNICE DUBOKOG KRŠKOG JEZERA: STRUKTURA I TROFIČKE INTERAKCIJE

MAJA ŠIMUNOVIĆ

Biološki odsjek Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Fitoplankton je dobar pokazatelj ekološkog stanja jer brzo odgovara na okolišne pritiske. Analiza kompozitnih i eufotičkih uzoraka Visovačkog jezera pokazala je visoku razinu sličnosti u kvantitativnom i kvalitativnom sastavu fitoplanktona. Rezultati horizontalne raspodjele ukazuju na odvajanje uzoraka limnetičke i litoralne zone. Usporedivost morfološkog i molekularnog pristupa očituje se u detektiranju funkcionalnih grupa sličnih ekoloških karakteristika te se eDNA metabarkoding može koristiti u monitoringu. Usporedba mrežnih analiza trofičkih interakcija fitoplanktona i bakterioplanktona s drugim jezerima ukazala je kako ne postoji jedinstveni uzorak pojavljivanja određenih skupina bakterija te kako miksotrofija nije prevladavajući način ishrane dominantnih vrsta fitoplanktona Visovačkog jezera. Prema specifičnostima jezera predložene su prilagođene granične vrijednosti koncentracije klorofila *a* za ocjenu stupnja trofije. Stupanj trofije usporediv je s ekološkim stanjem te je ekološko stanje ocijenjeno dobro, a prema trofiji mezotrofno. Predloženo je mjerenje koncentracije klorofila *a* za brzu ocjenu, određivanje indeksa za fitoplankton jezera jednom mjesečno te postavljanje bove za praćenje na limnetičkom dijelu.

(167 stranica, 51 slika, 37 tablica, 287 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Ključne riječi: fitoplankton, krško jezero, raznolikost, eDNA metabarkoding, ekološko stanje, stupanj trofije, biomonitoring

Mentor: prof. dr. sc. Marija Gligora Udovič

Ocjenjivači: doc. dr. sc. Petar Žutinić

prof. dr. sc. Zrinka Ljubešić

doc. dr. sc. Filip Stević

PLANKTON COMMUNITIES IN THE DEEP KARSTIC LAKE: COMPOSITION AND TROPHIC INTERACTIONS

MAJA ŠIMUNOVIĆ

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb

The phytoplankton community is a good bioindicator as it reacts quickly to environmental pressures. The analysis of composite and euphotic samples from Lake Visovačko showed high degree of similarity in quantitative and qualitative composition of phytoplankton. The results of horizontal distribution indicated separation of limnetic and littoral zone samples. The comparability of morphological and molecular approaches was shown in the detection of functional groups with similar ecological characteristics, confirming eDNA metabarcoding as a reliable biomonitoring tool. A network analysis comparison of trophic interactions between phytoplankton and bacterioplankton with other lakes showed no clear pattern of occurrence of certain bacterial groups and that mixotrophy is not the predominant nutrition mode of the dominant phytoplankton species in Lake Visovačko. Regarding lake specificities, the adjusted threshold values for chlorophyll *a* concentration were proposed to assess the trophic state. It was proposed to measure chlorophyll *a* concentrations for a rapid daily assessment, to determine the lake phytoplankton index on a monthly basis and to install a buoy in the limnetic part of the Lake.

(167 pages, 51 figures, 37 tables, 287 references, original in Croatian)

Keywords: Phytoplankton, karst lake, diversity, eDNA metabarcoding, ecological status, trophic state, biomonitoring

Supervisor: Dr Marija Gligora Udovič, Full Professor

Reviewers: Dr Petar Žutinić, Assistant Professor

Dr Zrinka Ljubešić, Full Professor

Dr Filip Stević, Associate Professor

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Krška jezera	3
1.2. Što je fitoplankton	5
1.3. Trofičke interakcije	11
1.4. Miksotrofija	13
1.5. Standardi u praćenju promjena fitoplanktonske zajednice	14
1.6. Eutrofikacija	17
1.7. Praćenje eutrofikacije	23
1.8. Dosadašnja istraživanja Visovačkog jezera	25
1.9. Ciljevi i hipoteze istraživanja	26
2. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA	28
3. MATERIJALI I METODE	33
3.1. Istraživanje tijekom 2016. i 2019. godine	33
3.1.1. Postaje	33
3.1.2. Uzorkovanje	34
3.1.3. Analiza fitoplanktona	35
3.1.4. Ocjena ekološkog stanja i stupnja trofije	36
3.1.5. Analiza bakterioplanktona	39
3.1.6. Usporedba trofičkih interakcija Visovačkog jezera s jezerima Kozjak, Prošće, Sakadaš i Jarun	39
3.1.7. Statističke analize rezultata	41
3.2. Istraživanje tijekom kolovoza 2018. godine	43
3.2.1. Postaje	43
3.2.2. Uzorkovanje	46
3.2.3. Analiza fitoplanktona	48
3.2.4. DNA izolacija, PCR i bioinformatička obrada	48
3.2.5. Statističke analize rezultata	50
4. REZULTATI	51
4.1. Sezonska raspodjela fitoplanktona u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine	51

4.2.	Usporedba stupnja trofije s ekološkim stanjem _____	64
4.3.	Uspostava standarda u ocjeni stupnja trofije i primjena nove generacije monitoringa u ocjeni ekološkog stanja _____	71
4.4.	Horizontalna raspodjela fitoplanktona u Visovačkom jezeru tijekom 2018. godine ____	74
4.5.	Vertikalna raspodjela fitoplanktona u Visovačkom jezeru tijekom 2018. godine _____	84
4.6.	Primjena novih metoda u opisu zajednice fitoplanktona 2018. godine _____	95
4.7.	Trofičke interakcije između planktonskih zajednica _____	102
5.	RASPRAVA _____	130
5.1.	Fizikalno-kemijski čimbenici Visovačkog jezera _____	130
5.2.	Ocjena ekološkog stanja i stupnja trofije Visovačkog jezera _____	132
5.3.	Zajednica fitoplanktona _____	134
5.4.	eDNA metabarkoding _____	138
5.5.	Trofičke interakcije fitoplanktona i bakterioplanktona u jezerima _____	141
6.	ZAKLJUČAK _____	143
7.	LITERATURNI IZVORI _____	146
	ŽIVOTOPIS _____	165
	PROŠIRENI SAŽETAK _____	166

1. UVOD

Premda je više od 70 % Zemlje pokriveno morima i oceanima (O'Sullivan i Reynolds, 2004), slatke vode čine tek 3 %, odnosno manje od 1 % ukupne površine kada izuzmemo dvije trećine smrznute slatke vode zarobljene u ledenjacima i polarnom ledu (Oelkers i sur., 2011). Slatka voda na Zemlji pojavljuje se u obliku podzemnih i površinskih voda (tekućice i stajaćice), ali i u atmosferi kao vodena para. Unatoč malom udjelu slatke vode u odnosu na Zemljinu površinu, slatkovodni ekosustavi su rezervoar bioraznolikosti (WWF, 2018). Slatkovodni ekosustavi sadrže veći broj vrsta po jediničnoj površini u usporedbi s kopnenim i morskim ekosustavima, a procjena je da u njima živi ili o njima ovisi više od 126 000 poznatih vrsta (Balian i sur., 2008) ili slikovito 1 od 10 vrsta riba, školjkaša, gmazova, kukaca, biljaka i sisavaca (Gleick, 2011).

Rijeke i jezera su nezamjenjiv izvor života za čovjeka, one su oblikovale razvoj prvih civilizacija, no u današnje vrijeme su među najugroženijim ekosustavima. Slatkovodni ekosustavi izloženi su antropogenim opterećenjima i raznim stresorima koji uzrokuju promjene narušavajući staništa i zdravlje ekosustava te u konačnici smanjuju bioraznolikost (Collen i sur., 2014; Cumberlidge i sur., 2009). Prema Izvješću o stanju planeta (WWF, 2018), broj slatkovodnih vrsta se dramatično smanjuje. Konkretno, slatkovodni indeks živućeg planeta (eng. Freshwater Living Planet Index - Freshwater LPI) koji prati stanje globalne bioraznolikosti slatkovodnih vrsta mjerenjem brojnosti populacije pokazuje smanjenje 83 % od 1970. godine ili ekvivalent od 4 % godišnje te ukazuje na zabrinjavajući i alarmantni trend. Ljudi iskorištavaju vodni potencijal slatkovodnih ekosustava za potrebe vodoopskrbe, dobivanja hidroenergije, navodnjavanja poljoprivrednih površina, akvakulture, prijevoza, rekreacije itd. Slatkovodni ekosustavi pod utjecajem su klimatskih promjena, eutrofikacije i raznih izvora/oblika onečišćenja. Zaštita zaliha vode potrebne za svjetsku populaciju, koja bi do 2050. godine trebala dosegnuti 10 milijardi, predstavlja izazovan zadatak (UN DESA, 2022).

Klimatske promjene uzrokuju učestalije i snažnije trajanje ekstremnih vremenskih događaja, promjene u rasporedu i količini padalina, podizanje razine mora, povećanje koncentracije stakleničkih plinova u atmosferi, zaslanjivanje riječnih ušća itd. (Cunningham i sur., 2005; Filipe i sur., 2012). U novije vrijeme govori se o klimatskim promjenama izazvanim isključivo djelovanjem čovjeka te mnogi klimatolozi smatraju da smo zakoračili u novu geološku epohu, Antropocen (Waters i sur., 2016). Primjenom različitih modela, klimatske projekcije neovisnih institucija pokazuju trend povišenja prosječnih godišnjih temperatura na Zemlji (Cook i sur., 2016). Kao posljedica djelovanja klimatskih promjena dolazi do pogoršanja hidroloških značajki slatkovodnih ekosustava i to uslijed povećanja temperatura zraka, smanjenja količina oborina te otjecanja iz sliva što se posebno odnosi na područje Mediterana (Cudennec i sur., 2007; Svensson i sur., 2004). Promjene u hidrološkom režimu utječu na biotu slatkovodnih ekosustava, točnije na dinamiku rasta, vrijeme i reprodukciju organizama te na procese fotosinteze i mineralizacije (Beklioglu i sur., 2007; Coops i sur., 2003). Povišenje temperature tijekom dužih vremenskih razdoblja, posebno uz pojavu niskih vodostaja, pojačava stratifikaciju vodnih tijela koja može značajno utjecati na brojnost i zastupljenost vrsta vodenih organizama (Bates i sur., 2008).

Eutrofikacija uvjetovana okolišnim pritiscima ima izniman utjecaj na slatkovodnu biološku raznolikost u velikim i malim vodnim tijelima (Hering i sur., 2010). Radi se o procesu intenzivnog povećavanja primarne produkcije koji se manifestira kao pretjeran rast i razmnožavanje fitoplanktona, bentičkih alga te makrofita. Eutrofikacija se javlja uslijed prisutnosti visoke koncentracije anorganskih hranjivih tvari u vodenim ekosustavima, prvenstveno fosfora i dušika, koje nastaju kao posljedica aktivnosti čovjeka (Mainstone i Parr, 2002). Znanstvena istraživanja predstavljaju temelj dobrog poznavanja funkcioniranja vodenih ekosustava u svrhu ublažavanja antropogenog utjecaja i zaštite bioraznolikosti te održivog upravljanja slatkovodnim ekosustavima. Uspostavljanje i nadogradnja kvalitetnih baza podataka, provedba redovitog monitoringa korištenjem najboljih raspoloživih metoda i uspostava standardiziranog ocjenjivanja ekološkog stanja vodotoka preduvjeti su koji daju nedvojbenu povratnu informaciju o trenutnom ekološkom stanju.

1.1. Krška jezera

Prirodna jezera u Hrvatskoj su iznimna pojava uzimajući u obzir njihov broj, a povezana su uz krški tip reljefa Dinaridske ekoregije. Karbonatne stijene koje čine kršku podlogu zbog velike propusnosti slabo zadržavaju vodu te su iz navedenog razloga stalna jezera u kršu rijetki fenomen. Svako krško jezero je jedinstven slatkovodni ekosustav prema geološkim, fizikalnim i kemijskim obilježjima (Mikac i sur., 2011). Zbog iznimne važnosti krških jezera, u smislu bioraznolikosti i osjetljivosti, prepoznata je potreba za njihovim očuvanjem dodjelom određenog stupnja zaštite, primjerice nacionalni park, park prirode ili posebni ornitološki rezervat.

Krška jezera nastaju u različitim prirodnim uvjetima te mogu biti stalna ili sezonska, tj. privremena (Tanocki i Crljenko, 2011). Sezonska jezera nastaju poplavlivanjem udubljenih dijelova reljefa kao što su močvarna područja ili krška polja, posebno u rano proljeće kad se topi snijeg ili tijekom kišnog razdoblja. Krška jezera mogu nastati morfološko-erozijskim procesima, pod utjecajem mora ili procesima taloženja sedrenih barijera (Biondić i Biondić, 2014).

Sedra, tufa ili travertin predstavlja sedimentni tip karbonatnih stijena raznolikih mineraloško-petrografskih obilježja, a glavna zajednička poveznica je sudjelovanje živih organizama u njihovom nastanku (Rubinić i sur., 2016). Stvaranje sedre je dinamičan proces koji započinje rasprskavanjem vode i oslobađanjem ugljikovog dioksida (CO₂), odnosno poremećajem kemijske ravnoteže koji dovodi do taloženja kalcijeva karbonata ili kalcita (CaCO₃) u obliku sitnih kristala i njegove sedimentacije na dno ili potopljene podloge. Proces taloženja kalcijeva karbonata odvija se prema sljedećoj jednadžbi (Pentecost, 2005):



Osnovni preduvjeti koji moraju biti zadovoljeni za stvaranje sedre su sljedeći (Srdoč i sur., 1985):

- Indeks zasićenosti vode kalcijevim karbonatom mora biti veći od 3.
- Voda mora biti alkalična, točnije pH mora biti od 8,2 do 8,4.
- Odsutnost onečišćenja u vodi, tj. koncentracija organske tvari mora biti niža od 10 mg L⁻¹.

Uz navedene preduvjete stvaranju sedre pogoduje stalan protok dovoljnih količina vode, strujanje vode brzinom od 0,5 do 3,5 m s⁻¹ te viša temperatura u toplijim dijelovima godine (Pevalek, 1953). Jedan od preduvjeta taloženja sedre je i prisutnost sedrotvornih zajednica koje svojim životnim procesima potiču stvaranje mineralizacijskih jezgri za taloženje kalcita i nastanak sedre (Rubinić i sur., 2016). Sedrotvorcima se prvenstveno smatraju cijanobakterije i alge koje stvaraju ekstracelularni matriks (Plenković-Moraj i sur., 2002), određene vrste mahovina (Pevalek, 1953) te beskralježnjaci: ličinke skupine Simuliidae koje luče svilene niti (Matonićkin Kepčija i sur., 2006), Gastropoda, Trichoptera i Chironomidae (Matonićkin, 1989). Najpoznatija jezera nastala formiranjem sedrenih barijera u Hrvatskoj su Plitvička jezera i Visovačko jezero (Slika 1).



Slika 1. Visovačko jezero. Autor fotografije A. Kulaš.

Do nastanka jezera pod utjecajem mora dolazi uslijed glacioeustatičkih i epirogenetskih pokreta. Glacioeustatički pokreti odnose se na izdizanje i spuštanje razine mora zbog klimatskih promjena tijekom ledenih tj. međuledenih razdoblja, dok se epirogenetski pokreti odnose na tektonsko dizanje, tj. spuštanje razine morskih obala koje uzrokuju transgresije i regresije mora (Kapelj, 2018). Primjer krških jezera koja su nastala pod utjecajem mora nakon posljednjeg

ledenog doba su Vransko jezero kod Biograda, Vransko jezero na otoku Cresu, Baćinska jezera i Prokljansko jezero.

Krška jezera mogu nastati i morfološko-erozijskim procesima (sufozija) što podrazumijeva tektonsko urušavanje svoda šupljina, tj. ponikva unutar kojih se nalaze jezera (Biondić i Biondić, 2014). Radi se o udubinama u reljefu, a najpoznatiji primjer su Crveno i Modro jezero kod Imotskog.

1.2. Što je fitoplankton

Pojam plankton odnosi se na zajednicu organizama koji su prilagođeni životu u vodenom stupcu, a obuhvaća grupe od virusa do bakterija, protista, gljiva i metazoa. Plankton možemo razlikovati prema veličini stanica na: pikoplankton ($< 2 \mu\text{m}$), nanoplankton ($2 - 20 \mu\text{m}$), mikrop plankton ($20 - 200 \mu\text{m}$) i makrop plankton ($> 200 \mu\text{m}$) (Sieburth i sur., 2022). Uzimajući u obzir ulogu u ekosustavu plankton dijelimo na fotosintetski aktivne proizvođače (fitoplankton), fagotrofne potrošače (zooplankton) i heterotrofne razlagače (bakterioplankton). Fitoplankton je taksonomski raznolika grupa fotosintetskih mikroorganizama (protista i cijanobakterija) prilagođenih životu u pelagijalu voda. Do današnjeg je dana opisano oko 25 000 vrsta fitoplanktona (Falkowski, 2004). Slatkovodni fitoplankton nalazimo u sljedećim taksonomskim skupinama (Guiry i Guiry, 2023): Cyanobacteria (Stanier ex Cavalier-Smith, 2002), Euglenozoa (Cavalier-Smith, 1981), Cryptista ili Cryptophyta (Cavalier-Smith, 1989), Ochrophyta (Cavalier-Smith, 1996), Miozoa (Cavalier-Smith, 1987), Bacillariophyta (Karsten, 1928), Charophyta (Migula, 1889) i Chlorophyta (Reichenbach, 1834). Ova grupa mikroorganizama ima udio manji od 1 % ukupne fotosintetske biomase na Zemlji (Falkowski, 1994) i njegovo djelovanje je odgovorno za glavninu primarne proizvodnje kisika i organskog ugljika u vodenim ekosustavima te za gotovo polovicu fotosintetske aktivnosti na Zemlji (Reynolds, 1984).

Čimbenici koji utječu na strukturu fitoplanktonske zajednice u slatkovodnim ekosustavima proizlaze iz odnosa kemijskih, fizikalnih i bioloških pokazatelja u određenom ekosustavu. Sukcesija fitoplanktona je promjena njegovog kvalitativnog sastava, brojnosti i biomase u određenom vremenu i prostoru te je pod izravnim utjecajem niza ekoloških čimbenika, poput

dostupnosti hranjivih tvari, temperature, količine svjetlosti, ugljikovog dioksida (CO₂) i gustoće zooplanktona (Carpenter i Kitchell, 1993; Mortensen i sur., 1994; Shapiro, 1997).

Sastav fitoplanktonskih zajednica u slatkovodnom ekosustavu teško je predvidjeti ako se u svrhu njegove procjene uzimaju samo taksonomske skupine, a ne i specifični ekološki uvjeti koji uzrokuju njihov razvoj. Suvremena istraživanja fitoplanktona usmjerena su na utvrđivanje fitoplanktonskih zajednica (Reynolds, 1997; Reynolds i sur., 2002) prema funkcionalnim kriterijima, odnosno prema utvrđenim karakterističnim morfološkim i ekološkim svojstvima. Razvoj funkcionalnih skupina fitoplanktona i mogućnost njihove primjene u opisu ekologije fitoplanktonskih zajednica u različitim jezerima započeo je 1967. godine Hutchinson (Hutchinson, 1967) opisavši sezonske sukcesije fitoplanktona kao rezultat međudjelovanja fizikalnih (temperatura, svjetlost, miješanje), biokemijskih (anorganske hranjive tvari, organske čestice, vitamini, antibiotici) i bioloških čimbenika okoliša (kompeticija, parazitizam i predatorstvo). Među značajnijim modelima sezonske sukcesije fitoplanktona je i PEG (eng. Plankton Ecology Group) model (Sommer i sur., 1986). PEG model objedinjuje autogene (akumuliranje biomase, promjene u relativnim brzinama metabolizma, promjene dostupnosti hranjivih tvari i kompeticiju algi za ograničenim hranjivim tvarima te utjecaj zooplanktona-herbivora) i alogene (npr. temperatura, svjetlost, stratifikacija) procese. Pretpostavke PEG modela su: (1) ograničavajući uvjeti postoje u jezeru kada je riječ o hranjivim tvarima i ostalim izvorima energije potrebnima za razvoj planktona; (2) kompeticija je jedan od postojanih procesa u zajednici; (3) alge se razvijaju uvijek u svom maksimumu ako su im dostupni optimalni fizikalni i kemijski uvjeti; (4) zooplankton se hrani malim vrstama fitoplanktona; (5) tijekom faze bistre vode dio hranjivih tvari će se regenerirati; (6) nakon te iste faze u planktonu će se razviti velike vrste; (7) fosfor kao ograničavajući čimbenik u kombinaciji s visokim koncentracijama silicija omogućuje razvoj dijatomeja u zajednici te im pritom resuspenzija dozvoljava da se održe u eufotičkoj zoni; (8) silicij i fosfor kao ograničavajući čimbenici dovode do razvoja dinoflagelatnih vrsta dok dodatno snižavanje koncentracije dušikovih spojeva dovodi do razvoja cijanobakterija; (9) brojnost fitoplanktona tijekom ljeta rezultat je ograničavajućih čimbenika i selektivnog grejzinga.

U usporedbi s taksonomskim pristupom, glavna prednost korištenja funkcionalnih skupina u klasifikaciji je mogućnost generalizacije rezultata (Blaum i sur., 2011). Metode funkcionalne

klasifikacije zasnovane su na kriteriju funkcionalnosti, morfometrije ili morfologije (Kruk i sur., 2010; Margalef, 1978; Reynolds, 1988a, b; Stanca i sur., 2012) ili njihovoj kombinaciji s fenološkim, ekološkim i/ili taksonomskim značajkama vrsta (Reynolds, 1980; Reynolds i sur., 2002; Salmaso i Padisák, 2007). Od navedenih kombiniranih pristupa najutjecajnija, najšire prihvaćena i najčešće korištena je Reynoldsova funkcionalna klasifikacija fitoplanktona (Padisák i sur., 2009; Reynolds i sur., 2002). Reynoldsova funkcionalna klasifikacija temeljena je na funkcionalnim osobinama fitoplanktonskih vrsta, optimalnim ekološkim čimbenicima za njihov razvoj i njihovom supostojanju. Uspješnost ove klasifikacije proizlazi iz pojednostavljenja opsežnih i dugih taksonomskih lista u nekoliko desetaka funkcionalnih skupina (eng. functional group - FG) ili kodona s definiranim tipičnim predstavnicima i uvjetima staništa (Tablica 1). Fitoplanktonske vrste svrstane su u funkcionalne skupine prema fiziološkim, morfološkim i ekološkim značajkama te njihovoj osjetljivosti ili toleranciji. Prvobitno se model sastojao od 14 funkcionalnih skupina fitoplanktona (Reynolds, 1980), a tijekom godina pristup je poboljšan i proširen te se broj funkcionalnih skupina, tj. kodona s dodijeljenim alfanumeričkim oznakama više nego udvostručio (Padisák i sur., 2009; Reynolds i sur., 2002). Teorija funkcionalnih skupina zasnovana je na dvije glavne ideje (Padisák i sur., 2009): (1) funkcionalno dobro prilagođene vrste uspješnije će podnijeti ograničavajuće uvjete nedostatka određenog čimbenika od slabije prilagođenih vrsta, (2) vjerojatnije je da će stanište ograničeno svjetlosti, koncentracijom hranjivih tvari (P, C ili N) ili bilo kojim drugim čimbenikom, biti nastanjeno vrstama s odgovarajućim prilagodbama koje im omogućavaju opstanak u navedenim uvjetima.

Tablica 1. Funkcionalne skupine (kodoni) s osnovnim obilježjima staništa i predstavnicima (Padisák i sur., 2009; Reynolds i sur., 2002). CO₂ – ugljikov dioksid, C – ugljik, Si – silicij, BPK₅ – petodnevna biokemijska potrošnja kisika.

Kodon	Stanište	Tipični predstavnici	Tolerancija	Osjetljivost
A	Bistra, često dobro izmiješana, kisela jezera, vrste osjetljive na porast pH	<i>Urosolenia</i> , <i>Cyclotella comensis</i>	Nedostatak hranjivih tvari	Porast pH
B	Vertikalno izmiješana, mezotrofna jezera male i srednja veličine	<i>Aulacoseira subarctica</i> , <i>Aulacoseira italica</i> , <i>Cyclotella comta</i>	Nedostatak svjetlosti	Porast pH, manjak silicija

Kodon	Stanište	Tipični predstavnici	Tolerancija	Osjetljivost
C	Dobro izmiješana, eutrofna jezera i rijeke male i srednje veličine	<i>Asterionella formosa</i> , <i>Aulacoseira ambigua</i> , <i>Cyclotella ocellata</i> , <i>Stephanodiscus rotula</i>	Nedostatak svjetlosti i ugljika	Manjak Si, stratifikacija
D	Plitke, obogaćene i mutne vode, uključujući i rijeke	<i>Synedra acus</i> , <i>Nitzschia</i> spp., <i>Stephanodiscus hantzschii</i>	Otplavljivanje	Manjak hranjivih tvari
Tc	Eutrofne stajaće vode ili sporo tekuće rijeke s podvodnom makrofitskom vegetacijom	Epifitske cijanobakterije; <i>Oscillatoria</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Rivularia</i> ; <i>Gloeocapsa punctata</i>	Nedostatak svjetla	Otplavljivanje
Td	Mezotrofne stajaće vode ili sporo tekuće rijeke s podvodnom makrofitskom vegetacijom	epifitski i metafitski predstavnici skupine Desmidiiales, nitaste zelene alge i pridnene dijatomeje	Nedostatak svjetla	Otplavljivanje
Tb	Visoka lotička staništa, uključujući rijeke i potoke	Epilitičke dijatomeje <i>Didymosphaenia geminata</i> , <i>Gomphonema</i> , <i>Fragilaria</i> , <i>Achnanthes</i> , <i>Surirella</i> ; neke vrste rodova <i>Nitzschia</i> i <i>Navicula</i> ; <i>Melosira varians</i>	Otplavljivanje, umjereno osvjetljenje	Manjak Si
N	Mezotrofni epilimnij	<i>Tabellaria</i> , <i>Cosmarium</i> , <i>Staurodesmus</i>	Manjak hranjivih tvari	Stratifikacija, porast pH
P	Eutrofni epilimnij	<i>Fragilaria crotonensis</i> , <i>Aulacoseira granulata</i> , <i>Closterium aciculare</i> , <i>Staurastrum pingue</i>	Umjereno osvjetljenje, nedostatak ugljika	Stratifikacija, nedostatak silicija
T	Duboka voda, dobro izmiješan epilimnij	<i>Geminella</i> , <i>Mougeotia</i> , <i>Tribonema</i>	Nedostatak svjetla	Nedostatak hranjivih tvari
S1	Izmiješani slojevi	<i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Pseudanabaena limnetica</i> , <i>Leptolyngbya tenue</i>	Uvjeti velikog nedostatka svjetla	Otplavljivanje
S2	Plitka voda, izmiješani slojevi	<i>Spirulina</i> , <i>Arthrospira platensis</i>	Uvjeti nedostatka svjetla	Otplavljivanje
SN	Topli, slabo izmiješani slojevi	<i>Raphidiopsis raciborskii</i> , <i>Anabaena minutissima</i> , <i>Raphidiopsis</i>	Uvjeti nedostatka svjetla i dušika	Otplavljivanje
Z	Bistri, izmiješani slojevi (ukoliko stanište nisu duboka oligotrofna jezera kodon K)	Jednostanični prokariotski pikoplankton; <i>Synechococcus</i> , <i>Cyanobium</i>	Niska koncentracija hranjivih tvari	Nedostatak svjetla, predatorski pritisak
X3	Plitka, bistra voda, izmiješani slojevi	<i>Koliella</i> , <i>Chrysococcus</i> , eukariotski pikoplankton,	Nisko bazični status	Miješanje, predatorski pritisak

Kodon	Stanište	Tipični predstavnici	Tolerancija	Osjetljivost
		<i>Chlorella, Chromulina, Ochromonas</i>		
X2	Plitka, bistra voda, dobro izmiješani slojevi u mezotrofnim jezerima	<i>Plagioselmis, Chrysochromulina Chlamydomonas, Kephyrion</i>	Stratifikacija	Miješanje, predatorski pritisak od filtratora
X1	Plitki dobro izmiješani slojevi u obogaćenim uvjetima	<i>Chlorella, Monoraphidium contortum, M. minutum, Ankyra, Ankistrodesmus</i>	Stratifikacija	Nedostatak hranjivih tvari, predatorski pritisak od filtratora
Y	Obično dobro izmiješana jezera obogaćena hranjivim tvarima male veličine	<i>Cryptomonas</i> , mali <i>Gymnodinium, Glenodinium</i>	Mala količina svjetla	Fagotrofi
Y_{PH} (X_{ph})	Kalcijem bogata, alkalna jezera male veličine	<i>Phacotus lenticularis, Phacotus</i> sp.		
E	Obično plitka, bazno siromašna jezera male veličine ili heterotrofne bare	<i>Dinobryon, Mallomonas</i>	Niska koncentracija hranjivih tvari (mogućnost miksotrofije)	Nedostatak CO ₂
F	Bistar epilimnij	<i>Botryococcus braunii, Oocystis lacustris, O. parva</i>	Niska koncentracija hranjivih tvari	Nedostatak CO ₂ , velika mutnoća
G	Obogaćena jezera, malene bare prepune makrofita	<i>Volvox, Eudorina, Pandorina, Carteria</i>	Velika količina svjetla	Nedostatak hranjivih tvari
J	Plitka, obogaćena jezera, bare i rijeke	<i>Pediastrum, Coelastrum, Crucigenia, Tetradron, Tetrastrum</i>		Spuštanje u slojeve manje svjetlosti
K	Plitka jezera, bogata hranjivim tvarima	<i>Aphanothece, Aphanocapsa</i>		Miješanje na većoj dubini
H1	Eutrofna stratificirana i plitka jezera s niskom koncentracijom dušika	Fiksatori dušika, Nostocales; <i>Anabaena flos-aquae, Aphanizomenon, Anabaenopsis cunningtonii</i>	Niska koncentracija dušika i ugljika	Miješanje, slabo svjetlo, niska koncentracija fosfora

Kodon	Stanište	Tipični predstavnici	Tolerancija	Osjetljivost
H2	Oligo- mezotrofna jezera koja mogu biti duboka stratificirana ili mezotrofna plitka s uvjetima dobrog osvjetljenja	Fiksatori dušika, Nostocales; <i>Anabaena lemmermanni</i> , <i>Gloeotrichia echinulata</i>	Niska koncentracija dušika	Miješanje, slabo svjetlo
U	Ljetni epilimnij	<i>Uroglena</i>	Niska koncentracija hranjivih tvari	Nedostatak CO ₂
L₀	Ljetni epilimnij mezotrofnih jezera	<i>Peridinium</i> , <i>Woronichinia</i> , <i>Merismopedia</i>	Postojanje gradijenta u dostupnosti hranjivih tvari	Produženo ili duboko miješanje
LM	Ljetni epilimnij eutrofnih jezera	<i>Ceratium</i> , <i>Microcystis</i>	Vrlo niska koncentracija ugljika, stratifikacija	Miješanje, slabo svjetlo
M	Slojevi vode s dnevnim miješanjima u malim eutrofnim jezerima nižih nadmorskih visina	<i>Microcystis</i> , <i>Sphaerocavum</i>	Naglašena insolacija	Otplavlivanje, nizak intenzitet ukupnog svjetla
R	Metalimnij u mezotrofnim stratificiranim jezerima	<i>Planktothrix rubescens</i> , <i>P. mougeotii</i>	Malo svjetla, jaka segregacija	Nestabilnost vodenog stupca
V	Metalimnij u eutrofnih stratificiranim jezerima	<i>Chromatium</i> , <i>Chlorobium</i>	Vrlo malo svjetla, jaka segregacija	Nestabilnost vodenog stupca
W₀	Malene bare s ekstremno visokim organskim sadržajem	<i>Chlamydomonas</i> , <i>Pyrobotrys</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Polytoma</i> , <i>Oscillatoria chlorina</i>		
W1	Malene bare pune organskih tvari	<i>Euglena</i> , <i>Phacus</i> , <i>Synura</i> , <i>Gonium</i>	Visoka BPK ₅	Predatorski pritisak
W2	Plitka, mezotrofna, dobro izmiješana jezera	<i>Trachelomonas</i> , <i>Strombomonas</i>		
Ws	Mala, mezotrofna, izmiješana jezera s neutralnim pH	<i>Synura</i>		
MP	Česta strujanja vode i anorganski zamućena plića voda u kojoj je prisutan i stalan dotok bentoskih vrsta koje se ispiru iz perifitona i bentosa	Metafitske, perifitske i epilitske vrste koje lako bivaju otplovljene u plankton, uglavnom dijatomeje i autotrofni organizmi koji se mogu slučajno naći u fitoplanktonskim uzorcima, npr.		

Kodon	Stanište	Tipični predstavnici	Tolerancija	Osjetljivost
		<i>Surirella, Campylodiscus clypeus, Cymatopleura, Aulacoseira, Fragilaria construens</i>		
Q	Mala jezera s huminskim tvarima	<i>Gonyostomum</i>	Obojenost	

1.3. Trofičke interakcije

Fitoplankton i bakterioplankton brojčano dominiraju u planktonskim vodenim zajednicama (Sarmiento i Gasol, 2012), zajedno utječu na globalni ciklus ugljika i u konačnici na samu klimu (Ramanan i sur., 2016). Trofičke interakcije između fitoplanktona i bakterioplanktona predstavljaju fundamentalnu ekološku interakciju u jezerima, obzirom na njihov značajni sinergijski utjecaj na kruženje hranjivih tvari i produkciju slatkovodnih ekosustava u samoj bazi trofičke piramide (Seymour i sur., 2017). Promjene u strukturi zajednice fitoplanktona u međuodnosu su s promjenom zajednice bakterioplanktona (Kent i sur., 2004; 2007). Bakterioplankton ima ključnu ulogu u recikliranju biomase fitoplanktona te tako kontrolira značajnu frakciju globalnog toka ugljika u mikrobnj petlji (Azam i sur., 1983). Interakcije fitoplanktona i bakterioplanktona obuhvaćaju spektar ekoloških odnosa od mutualizma, komenzalizma, antagonizma, parazitizma do kompeticije (Amin i sur., 2012) te utječu na dinamiku cjelokupne bakterijske zajednice jezerskih pelagijala (Kent i sur., 2007; Paver i Kent, 2010; Paver i sur., 2013; Šimek i sur., 2008).

Prema novijim istraživanjima, odnosom između fitoplanktona i bakterioplanktona upravljaju međudjelovanja u zoni oko same stanice fitoplanktona ili mikrookolišu nazvanom fikosfera (Seymour i sur., 2017). Pojam fikosfera prvi su definirali Bell i Mitchell kao zonu oko stanice fitoplanktona s visokom koncentracijom organskih tvari, slično rizosferi u kopnenih biljaka (Bell i Mitchell, 1972). Suživot bakterioplanktona i fitoplanktona traje više od 200 milijuna godina, a tijekom duge i duboko međusobno povezane evolucijske povijesti razvile su se kompleksne mreže između ovih dviju skupina potaknute međudjelovanjima unutar postojane zone fikosfere (Ramanan i sur., 2016). Bakterioplankton koji živi u sklopu fikosfere asimilira velike

količine otopljenog organskog ugljika te druge kompleksnije proizvode, npr. polisaharide koji oslobađa fitoplankton kao i oštećene ili mrtve stanice fitoplanktona (Larsson i Hagström, 1979; Piontek i sur., 2011; Teeling i sur., 2012). Zauzvrat, domaćin fitoplankton koristi limitirajuće makronutrijente, posebice vitamine, koje remineralizira bakterioplankton (Azam i Ammerman, 1984; Legendre i Rassoulzadegan, 1995). U uvjetima niske koncentracije hranjivih tvari iz alohtonih izvora, razvoj fitoplanktona ovisi o dostupnosti dušika i fosfora koji stvara bakterioplankton (Cole, 1982). Nadalje, dokazi o razvoju specifičnih interakcija između fitoplanktona i bakterioplanktona temeljenih na sintezi vitamina, npr. B₁₂ i povećanja biodostupnosti mikronutrijenata poput željeza (Amin i sur., 2009; Croft i sur., 2005; Durham i sur., 2015), naglašavaju kompleksnu prirodu njihove ekološke povezanosti. Bakterioplankton također proizvodi bioaktivne molekule koje često pridonose mehanizmima obrane fitoplanktona od patogena i predatora (Paul i sur., 2012). Međutim, fitoplankton i bakterioplankton mogu biti i u kompeticiji za limitirajućim anorganskim hranjivim tvarima koji su nužni za opstanak (Joint i sur., 2002), a moguća je i pojava lize stanice domaćina fitoplanktona potaknuta djelovanjem bakterioplanktona (Amin i sur., 2012). Rezultati nekolicine istraživanja utvrdili su povezanost istih vrsta bakterioplanktona sa zajednicom fitoplanktona, što potvrđuje postojanje specifičnih interakcija unutar mikrobioma fikosfere (Amin i sur., 2009; Amin i sur., 2015). Najistaknutije skupine bakterija koje možemo naći u fikosferi su: Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Actinobacteria, Betaproteobacteria, Bacilli i Bacteroidetes (Amin i sur., 2012; Sapp i sur., 2007). Iako se interakcije između fitoplanktona i bakterioplanktona odvijaju unutar fikosfere pojedinačnih mikroorganizama, one pokazuju snažan utjecaj na temeljne procese na razini ekosustava (Seymour i sur., 2017).

1.4. Miksotrofija

Miksotrofija podrazumijeva kombinaciju fototrofnog i heterotrofnog načina ishrane unutar iste stanice, tj. miksotrofi zadovoljavaju barem dio svojih potreba za ugljikom i/ili hranjivim tvarima iz anorganskih i organskih izvora (Kamjunke i sur., 2007). Heterotrofna sastavnica okarakterizirana je unosom otopljenih tvari (osmotrofija) ili čestica (fagotrofija). Fenomen miksotrofije prepoznat je kao sveprisutan u slatkovodnim ekosustavima još od sredine 20. stoljeća (Aaronson i Baker, 1959; Pascher, 1943; Pringsheim, 1952; Sanders, 2011; Stoecker i sur., 2009). Miksotrofija je zabilježena u većem broju taksonomskih razreda fitoplanktonskih skupina Ochrophyta, Miozoa i Haptophyta, među kojima su Chrysophyceae, Cryptophyceae, Dictyochophyceae, Raphidophyceae, Dinophyceae i Coccolithophyceae (Sandgren i sur., 2009). Miksotrofne vrste mogu postići sličnu razinu ingestije kao i isključivo heterotrofne vrste flagelata u jezerima (Bird i Kalff, 1986; Sanders i sur., 1989). Miksotrofija je posebno važna u oligotrofnim uvjetima (Stibor i Sommer, 2003) u kojima potencijalna sposobnost ishrane fosforom bogatim bakterioplanktonom daje konkurentsku prednost. U oligotrofnim jezerima, fototrofni flagelati mogu biti odgovorni za do 80 % ukupnog grejzina bakterioplanktona (Hartmann i sur., 2012; Sanders i Gast, 2012; Unrein i sur., 2007;). Miksotrofija ima važan selektivni pritisak te je stoga i strukturni čimbenik koji utječe na brojnost, morfologiju, strukturu i distribuciju zajednice bakterioplanktona (Jürgens i sur., 1999; Vrba i sur., 2003). Zbog velike brojnosti miksotrofnog fitoplanktona, miksotrofni način ishrane predstavlja vrlo bitan biotički čimbenik te ima izrazito važnu ulogu u funkcioniranju planktonskih zajednica (Ballen-Segura i sur., 2017).

Primjer poznatih i važnih bakterivora u lentičkim sustavima su vrste roda *Dinobryon* (Chrysophyceae), koje su uglavnom prisutne u fosforom osiromašenoj vodenoj sredini (Hutchinson, 1944; Lee, 1980; Sandgren, 1988). Zahvaljujući sposobnosti dobivanja hranjivih tvari, tj. fosfora iz bakterija u oligotrofnim uvjetima rod *Dinobryon* ima kompetitivnu prednost u zajednici jezerskog fitoplanktona tijekom ljetne stratifikacije (Kamjunke i sur., 2007). Značajan dio potreba za energijom i hranjivih tvari (do 79 %) vrste roda *Dinobryon* namiruju upravo ingestijom bakterija, a ne procesom fotosinteze (Caron i sur., 1993).

1.5. Standardi u praćenju promjena fitoplanktonske zajednice

Okvirna direktiva o vodama EU predstavlja najznačajniji propis na razini Europske Unije čiji je cilj održati i unaprijediti kakvoću voda (ODV, 2000/60/EC). Prema pristupu ODV, u ocjeni ekološkog stanja određenog vodnog tijela koriste se podaci o bioraznolikosti koji se uspoređuju s referentnim uvjetima. Bioraznolikost, odnosno biološki elementi kakvoće uključuju fitoplankton, fitobentos, makrofite, makrozoobentos i ribe. Ekološko stanje određuje se pomoću monitoringa bioloških elemenata kakvoće te pratećih hidromorfoloških, fizikalno-kemijskih i kemijskih elemenata.

Kako bi se zadovoljili zahtjevi ODV razvijeno je oko 300 metoda za ocjenu ekološkog stanja vodnih tijela (Birk i sur., 2012). Metode ocjene tradicionalno su utemeljene na taksonomskom određivanju raznih indikatorskih grupa organizama. Ekološko stanje jezera na temelju fitoplanktona se prema odredbama Uredbe o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019) u Hrvatskoj ocjenjuje korištenjem Indeksa za fitoplankton jezera (HLPI). HLPI ukazuje na opterećenje hranjivim tvarima, a obuhvaća kombinaciju normaliziranih omjera ekološke kakvoće (OEK) sastava zajednice fitoplanktona te indeksa biomase, tj. koncentracije klorofila *a*. Ocjena sastava zajednice temelji se na podacima dobivenim kvantitativnom analizom sastava fitoplanktona. HLPI se temelji na pripadajućim kodovima funkcionalnih skupina (FG) fitoplanktona prema "Q Indeksu sastava zajednice" (Padisák i sur., 2006). Vrijednosti faktora (F) se dodjeljuju s obzirom na raspodjelu duž stresorskih vrijednosti prema operativnoj listi svojti u nacionalnoj Metodologiji (Hrvatske vode, 2016). Ovaj pristup određivanja i praćenja bioraznolikosti fitoplanktona najviše se oslanja na metodu svjetlosne mikroskopije koja je vremenski zahtjevna te traži visoku razinu stručnog znanja u determinaciji kojoj prethodi i složeno terensko istraživanje.

U potrazi za bržim, jeftinijim i pouzdanijim pristupima razvijaju se nove metode koje uključuju analize pigmenata putem tekuće kromatografije visoke djelotvornosti (eng. High Performance Liquid Chromatography, HPLC) pri čemu je moguće odabrati specifične indikatorske pigmente na temelju kemotaksonomskih značajki. U današnje vrijeme razvija se i implementacija

inovativne tehnologije za automatski monitoring kvalitete vode temeljene na razvoju informacijsko-komunikacijskih tehnologija (eng. ICT - Information and Communications Technology). Konkretno, radi se o senzorima za mjerenje fizikalno-kemijskih čimbenika instaliranim na energetske samoodržive plutače koji putem pratećih softverskih sustava dojavljaju izmjerene rezultate u realnom vremenu. Aktualni podaci omogućuju pravovremenu reakciju na promjene koje ugrožavaju kvalitetu vode te imaju potencijal za bolje poznavanje, upravljanje i očuvanje slatkovodnih ekosustava.

U najnovije vrijeme, kao posljedica napretka eDNA metabarkodinga, otvoreno je i novo polje istraživanja koje se temelji na molekularnim analizama izolirane tzv. okolišne DNA (eng. eDNA). Kombinirani eDNA metabarkoding omogućuje pristup informacijama o metagenomici ili genomici zajednica (Mandal i sur., 2015), tj. omogućuje uvid u cjelokupnu biološku raznolikost organizama koji žive u vodenom ekosustavu. Molekularne metode su brže i sve jeftinije te imaju potencijal revolucionizirati praćenje stanja okoliša (Huo i sur., 2020; Pawlowski i sur., 2020), ali još uvijek postoje brojni izazovi kao što je primjerice nepotpunost trenutnih referentnih baza podataka. Potrebno je sagledati potencijal molekularnih metoda te ih povezati s tradicionalnim metodama u svrhu premošćivanja razlika, a također ih je neophodno standardizirati kako bi se mogle koristiti u rutinskom monitoringu (Hering i sur., 2018).

Kao jedan od bioloških pokazatelja ekološkog stanja, fitoplankton izravno i u najkraćem vremenskom roku ukazuje na promjene fizikalno-kemijskih čimbenika u okolišu promjenom svog kvalitativnog sastava i brojnosti (Lyche-Solheim i sur., 2013). Antropogeno djelovanje mijenja ekološke čimbenike koji utječu na biološku raznolikost, strukturu i funkciju vodenih ekosustava narušavajući time prirodnu ravnotežu. Pojam antropogena eutrofikacija odnosi se na proces do kojeg dolazi zbog povećanog unosa hranjivih tvari u vodeni ekosustav uslijed utjecaja čovjeka primjerice uslijed upotrebe nitratnih gnojiva u poljoprivredi ili ispuštanja otpadnih voda (Pinay i sur., 2017).

Pojam antropogena eutrofikacija odgovara pristupu ODV, tj. klasifikaciji ekološkog stanja površinskih voda u odnosu na specifične referentne uvjete. Unos hranjivih tvari (pritisak) uzrokuje promjenu bioloških elemenata kakvoće (npr. sastav, brojnost i biomasa fitoplanktona) koji mogu utjecati na fizikalno-kemijske elemente kakvoće (npr. prozirnost, količina otopljenog kisika) i

biotu (npr. fitoplankton). Vodna tijela koja ne zadovoljavaju uvjete dobrog ekološkog stanja smatraju se pod nepovoljnim utjecajem eutrofikacije u smislu unosa hranjivih tvari antropogenog porijekla (Tablica 2).

Tablica 2. Granične vrijednosti kategorija ekološkog stanja za fitoplankton jezera, izražene kao omjer ekološke kakvoće, preuzeto iz Uredbe o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019).

Kategorije ekološkog stanja	Omjer ekološke kakvoće	Opis promjena
vrlo dobro	0,80 – 1,00	Vrlo male ili nikakve antropogene promjene vrijednosti fizikalno-kemijskih i hidromorfoloških elemenata kakvoće određenog tipa površinske vode u odnosu na vrijednosti uobičajene za taj tip voda u nenarušenom stanju. Vrijednosti bioloških elemenata kakvoće određenog tipa površinske vode odražavaju uobičajene vrijednosti za taj tip voda u nenarušenom stanju i pokazuju vrlo mala ili nikakva odstupanja. Ovi uvjeti i biološke zajednice se smatraju tip-specifičnima.
dobro	0,60 – 0,79	Vrijednosti bioloških elemenata kakvoće za određeni tip površinskih voda pokazuju nisku razinu promjena uzrokovanih ljudskom djelatnošću, no samo malo odstupaju od vrijednosti uobičajenih za taj tip površinskih voda u nenarušenom stanju.
umjereno	0,40 – 0,59	Vrijednosti bioloških elemenata kakvoće za određeni tip površinskih voda umjereno odstupaju od vrijednosti uobičajenih za taj tip voda u nenarušenom stanju. Vrijednosti pokazuju umjerena odstupanja uslijed ljudske djelatnosti, a poremećaji su znatno veći nego u uvjetima dobrog stanja.
loše	0,20 – 0,39	Vode koje pokazuju znakove većih promjena vrijednosti bioloških elemenata za određeni tip površinskih voda i u kojima odgovarajuće biološke zajednice znatno odstupaju od uobičajenih za taj tip voda u nenarušenom stanju.
vrlo loše	< 0,20	Vode koje pokazuju znakove jakih promjena vrijednosti bioloških elemenata kakvoće za određeni tip površinskih voda i u kojima su veliki dijelovi odgovarajućih bioloških zajednica uobičajenih za taj tip voda odsutni.

1.6. Eutrofikacija

Glavni uzrok degradacije jezera jest eutrofikacija (Birk i sur., 2020). Pojam eutrofikacija vodenih ekosustava odnosi se na skup bioloških procesa uzrokovanih povećanom dostupnošću hranjivih tvari, koji za posljedicu imaju povećanje produktivnosti (Carpenter i sur., 1998; Dodds, 2009; Dupas i sur., 2015; Schindler, 2006; Smith, 2003). Najznačajniji utjecaji eutrofikacije na jezera su povećani razvoj fitoplanktona, gubitak bioraznolikosti i uvjeti niske koncentracije kisika (Hupfer i Hilt, 2008; Jeppesen i sur., 2007; Søndergaard i sur., 2005).

U znanstvenim radovima s početka 20. stoljeća, eutrofikacija je opisana kao obogaćenje vodenih ekosustava hranjivim tvarima iz slivnog područja i atmosfere. To je proces povezan sa starenjem jezera tijekom geoloških razdoblja u rasponu od nekoliko tisuća do nekoliko milijuna godina. Opisana tzv. prirodna eutrofikacija, ili prema nekim autorima ontogeneza, nije rezultat povećanja vanjskih unosa hranjivih tvari, već je postupna i prirodna evolucija vodenih ekosustava (Pinay i sur., 2017). Nakon 1945. godine pojavio se pojam kulturna ili antropogena eutrofikacija, naglašavajući ulogu ljudskog utjecaja na koncentraciju dušika (N) i fosfora (P) u jezerima, odnosno povećanje vanjskog unosa hranjivih tvari u ekosustav tijekom kratkog vremenskog razdoblja. Kod antropogene eutrofikacije utjecaj na ekosustav je vrlo brzo vidljiv (u satima, danima, tjednima, mjesecima ili godinama), dok se kod prirodne eutrofikacije ekosustav mijenja vrlo sporo i promjene su rijetko vidljive tijekom trajanja ljudskog životnog vijeka. Svjetska populacija u 20. stoljeću učetverostručila je svoj broj te se procjenjuje da trenutno na Zemlji živi 8 milijardi ljudi (UN DESA, 2022). Sve više ljudi živi u urbanim područjima što postavlja izazove u primjerenom rješavanju problema otpada i pročišćavanja otpadnih voda. Značajan utjecaj na ciklus N i P ima i sve veći napredak poljoprivrede uslijed razvoja mehanizacije te upotrebe umjetnih gnojiva i gnojiva dobivenih iz fosilnih goriva.

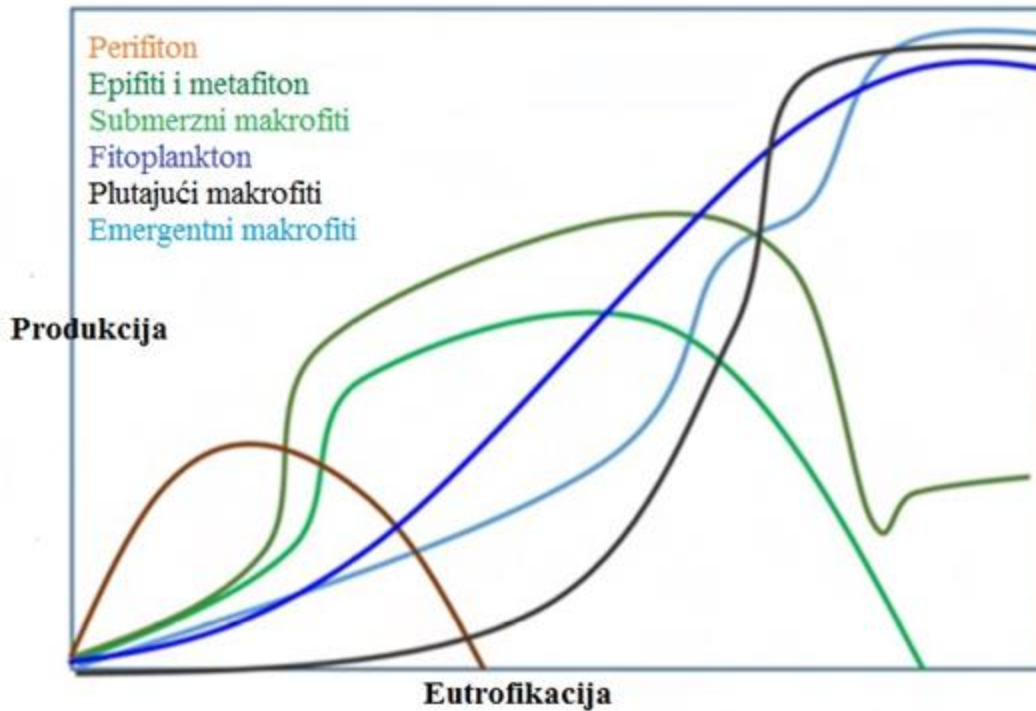
Eutrofikacija je prvotno primijećena u jezerima, poluzatvorenim ekosustavima koja su posebno osjetljiva na ovaj proces, kao i na druge promjene poput utjecaja klimatskih promjena. Područja prvih istraživanja eutrofikacije bila su Velika jezera, skupina povezanih jezera na granici SAD-a i Kanade (jezero Erie) te jezero Geneva u Europi. Opsežne limnološke studije koje

obuhvaćaju povezivanje podataka o prošlosti jezera istraživanjem jezerskog sedimenta, klimatskih uvjeta, cvjetanja fitoplanktona i trofičkih interakcija, preduvjet su za razumijevanje cjelokupnog mehanizma eutrofikacije (Pinay i sur., 2017).

Neovisno o kojem se vodenom ekosustavu radi, primarni proizvođači su uvijek prvi pod utjecajem eutrofikacije (Sonarghare i sur., 2020). Nakon toga slijedi lančana reakcija na drugim trofičkim razinama s posljedicama na biogeokemijski ciklus, dinamiku bioloških zajednica i u konačnici na evoluciju cjelokupnog vodenog ekosustava (Pinay i sur., 2017). Svojim međudjelovanjem razni okolišni čimbenici kao što su povećani unos hranjivih tvari, dugo retencijsko vrijeme vode, dostatna količina svjetlosti i odgovarajuća temperatura, utječu na pojavu i kontrolu eutrofikacije, izazivajući pritom kompleksan odgovor vodenih ekosustava i mijenjajući njihovo funkcioniranje (Yang i sur., 2008). Dušik i fosfor su okarakterizirani kao limitirajući čimbenici u razvoju primarnih proizvođača te su stoga glavni uzročnici početka eutrofikacije (Dodds i sur., 2002). Retencijsko vrijeme i svjetlost uglavnom ovise o lokalnim uvjetima, dok temperatura vode i unos hranjivih tvari mogu ovisiti i o slivnom području. Retencijsko vrijeme, tj. vrijeme zadržavanja vode u jezeru ili dijelu jezera utječe na razvoj proliferacije fitoplanktona (Wiik i sur., 2014). Što je dulje retencijsko vrijeme vode u jezeru, smanjuje se brzina otplavlivanja planktona, povećava se razmjena između fotosintetskih organizama i otapa se veća količina hranjivih tvari, potencijalno povećavajući rizik od eutrofikacije. Uz bočno zadržavanje koje je povezano s geografskim položajem jezera može biti prisutno i okomito zadržavanje u slučaju uvjeta toplinske stratifikacije, kao npr. u dubokim jezerima (Woolway i Merchant, 2019). Toplinska stratifikacija u proljeće potiče početak razvoja i cvjetanja fitoplanktonske zajednice, zasjenjujući biljke koje rastu u dobro osvijetljenom sloju obogaćenim hranjivim tvarima, nekoliko metara ispod površine. Dodatno, povišena temperatura vode utječe na pad koncentracije otopljenog kisika u vodi te uvjetuje hipoksične i/ili anoksične uvjete (Del Giudice i sur., 2018).

Osnovni mehanizam eutrofikacije svodi se na povećanje unosa hranjivih tvari, što posljedično uzrokuje povećanje primarne produkcije (Gold i Sims, 2005). Vodeni se ekosustavi pritom mijenjaju iz sustava s ograničenim unosom hranjivih tvari u ekosustav koji je postupno zasićen hranjivim tvarima, čime ograničavajući čimbenik postaje svjetlost (Chislock i sur., 2013). Zona primarne produkcije tako se koncentrira prema površini vodenog stupca na sve plićej dubini,

tj. kako se prodor svjetlosti smanjuje zasjenjenjem zbog povećanje biomase primarnih proizvođača. Izazvane promjene u početku će biti vidljive na fiziološkoj/biokemijskoj razini pojedinog organizma, zatim na morfološkoj razini ili promjeni ponašanja i konačno na razini populacije ili zajednice. Povećanje unosa hranjivih tvari ili neravnoteža u omjerima između hranjivih elemenata uzrokuje rast kompetitivnih vrsta, a zatim i značajno utječe na sastav vrsta i primarnu proizvodnju ekosustava. Povećani unos hranjivih tvari uzrokuje sukcesiju zajednice fitoplanktona, promjenu fitoplanktonskih funkcionalnih skupina te promjene u strukturi i funkcioniranju zajednice pa i značajni gubitak bioraznolikosti u vodenom ekosustavu (Cook i sur., 2018; Wang i sur., 2022). Plutajuće biljke, alge, epifiti i ukorijenjeni makrofiti mogu apsorbirati hranjive tvari iz sedimenta (Preiner i sur., 2020) te stoga nisu toliko ovisne o hranjivim tvarima u vodenom stupcu kao fitoplankton. Ukorijenjeni makrofiti bolje iskorištavaju hranjive tvari, dok su fitoplankton, plutajuće biljke i alge u prednosti kad se radi o apsorpciji svjetlosti. Iz navedenog razloga, ukorijenjeni makrofiti dominiraju u oligotrofnim uvjetima. U uvjetima povećanog unosa hranjivih tvari prvo se razvijaju epibionti, zatim emergentni makrofiti, slijede oportunistički plutajući makrofiti i/ili fitoplankton, što posljedično štetno djeluje na submerzne (potopljene) makrofite obzirom da više nema dostupne svjetlosti (Wetzel, 2001). U oligotrofnim uvjetima prevladava perifiton pričvršćen na sediment (Slika 2), a kada se poveća unos hranjivih tvari dominiraju ukorijenjeni i submerzni višegodišnji makrofiti zajedno s mnoštvom epifita i makroalgama iz drifta koje žive između makrofita (metafiton). Kod još viših koncentracija hranjivih tvari u lentičkim ekosustavima sa slabim protocima vode, prisutna je dominacija fitoplanktona i plutajućih biljaka (npr. rodovi *Lemna*, *Azolla*) te ponekad i invazivnih vrsta, dok kod većih protoka vode i na plićim dubinama dominiraju submerzni ukorijenjeni makrofiti.



Slika 2. Promjene relativne dominacije primarnih proizvođača u ovisnosti s razinom eutrofikacije u slatkovodnim ekosustavima (prilagođeno prema Brönmark i Hansson, 2005; Wetzel, 2001; preuzeto iz Pinay i sur., 2017).

Pri većoj koncentraciji hranjivih tvari u vodenom stupcu flagelatne vrste skupina Cryptophyta i Miozoa (dinoflagelati) zamjenjuju vrste skupina Ochrophyta i Bacillariophyta (Pinay i sur., 2017). Miozoa su manje kvalitetan izvor hrane od Bacillariophyta i Cryptophyta, a promjene u kvaliteti i kvantiteti primarnih proizvođača posljedično utječu na grejzing zooplanktona te dovode do promjena u cjelokupnoj hranidbenoj mreži. Isto vrijedi i u slučaju pojave cvjetanja Cyanobacteria, čija je hranjiva vrijednost znatno niže kvalitete od drugih skupina fitoplanktona (Taipale i sur., 2022). Štetno cvjetanje fitoplanktona (eng. harmful algal blooms - HABS) odnosi se na pretjeran razvoj mikroalgi, posebice toksičnih vrsta koje mogu uzrokovati trovanje drugih organizama u ekosustavu uključujući i čovjeka, s potencijalno negativnim utjecajem na ekosustav i ljudsko zdravlje (Anderson i sur., 2008). Masovno razmnožavanje fitoplanktona i stvaranje velike biomase povećava potrošnju kisika te može uzrokovati anoksiju i mehanička oštećenja (stvaranje guste pjene, začepljenje škrva riba). U odsutnosti otopljenog kisika u vodi, neki heterotrofni mikroorganizmi mogu procesom denitrifikacije koristiti kisik iz molekule

nitrata (NO_3^-) kako bi mogli oksidirati organsku tvar (Chaffey, 2010). Kad se reduciraju svi nitrati, drugi mikroorganizmi mogu koristiti kisik iz oksida mangana, željeza i sulfata. U konačnici, kad su svi oksidi reducirani, metanogeni mikroorganizmi koriste anaerobno disanje, tj. proces metanogeneze kako bi razgradili organsku tvar. Uslijed ovih redoks reakcija (procesi oksidacije i redukcije) nastaje ugljikov dioksid (CO_2), sumporovodik (H_2S) ili metan (CH_4) koji se ispuštaju u vodu i zatim u atmosferu. Dodatno, redukcija oksida željeza u sedimentu uzrokuje oslobađanje prethodno apsorbiranog fosfora koji tako ponovno postaje biološki dostupan za rast fitoplanktona. Ovo je pozitivna povratna sprega koja dodatno povećava intenzitet cvjetanja fitoplanktona (Pinay i sur., 2017). Ispuštanje sumporovodika i metana u vodu uzrokuje pomor većine višestaničnih organizama koji žive pričvršćeni na supstratu (Riesch i sur., 2014), dok pokretne vrste, posebno herbivori, po mogućnosti bježe i tako povećavaju produkciju primarnih proizvođača obzirom da nema više "top-down" regulacije biomase.

Izravna posljedica eutrofikacije u lentičkim slatkovodnim ekosustavima je pojačan razvoj cijanobakterija. U fitoplanktonskim zajednicama, vrste skupine Cyanobacteria koriste niz adaptivnih strategija što ih čini posebno kompetitivnim u iskorištavanju N i P te svjetlosti (Paerl, 2014). Vrste iz skupine Cyanobacteria imaju visoki afinitet za iskorištavanje P, neke vrste mogu fiksirati N iz atmosfere ili mogu koristiti organske oblike N i P, mnoge proizvode plinske vakuole koji im omogućuju plutanje blizu površine kako bi mogle bolje iskoristiti svjetlost, a neke vrste mogu stvarati dormantne stanice koje omogućuju povećanje brojnosti u sljedećoj sezoni (Pinay i sur., 2017). Unutar svih redova skupine Cyanobacteria postoje vrste koje mogu proizvoditi cijanotoksine i bioaktivne spojeve (Figueiredo i sur., 2004). S obzirom na činjenicu da unutar istih cijanobakterijskih vrsta neki sojevi proizvode toksine dok ih drugi ne proizvode, trenutno nije moguće predvidjeti potencijalnu toksičnost tijekom njihovog pojačanog razvoja u slatkovodnim ekosustavima. Dodatno, udio stanica s genima koji im omogućuju sintezu toksina može značajno varirati tijekom cvjetanja ili od jednog cvata do drugog cvata, čak i u slučaju kad se razvijaju u geografski bliskim ekosustavima (WHO, 2003).

Dušik i fosfor se u kontekstu eutrofikacije često razmatraju zajedno, iako postoji velika razlika u njihovim ciklusima. Dušik u prirodi nalazimo u slobodnom obliku kao atmosferski plin N_2 (79 % atmosfere) te u anorganskim (nitrati, nitriti i soli amonijaka) i organskim spojevima

(urea, aminokiseline). Diazotrofni organizmi mogu fiksirati plinoviti dušik izravno iz atmosfere, što im daje prednost u odnosu na druge vrste, posebno u uvjetima smanjene dostupnosti otopljenih oblika anorganskih spojeva dušika. Adsorpcija dušika od strane mikroorganizama i biljaka se većinom odvija iz otopljenih anorganskih spojeva (NH_4^+ ili NO_3^-) koji su prirodno prisutni kao produkt fiksiranja dušika od strane simbiotskih bakterija ili mineralizacije organske tvari u tlu i sedimentu (amoniifikacija i nitrifikacija). Izvori N su anorganska (amonijev nitrat, NH_4NO_3) i organska gnojiva (mulj, kompost, gnojiva iz stočarstva). Denitrifikacija je proces u kojem određene vrste bakterija i gljiva u anoksičnim uvjetima reduciraju nitrate (NO_3^-) u plinoviti oblik dušika, tj. inertni dušik (N_2) ili staklenički plin dušikov oksid (N_2O). Najveći udio dušika prenosi se u vodenom slijevu u otopljenom obliku (nitrati). Živi organizmi apsorbiraju fosfor prvenstveno u otopljenom fosfatnom obliku (PO_4^{3-}) prirodno dostupnom u tlu ili iz drugih unosa, npr. anorganskih i organskih gnojiva kao i dušika. Ciklus fosfora u cijelosti se odvija u tekućoj i čvrstoj formi, tj. nema plinovitog oblika kao u ciklusu dušika. Većina fosfora prenosi se putem površinskog i podpovršinskog otjecanja u vodenom slijevu (Sharpley i sur., 1994). Fosfor se može prenijeti i na daleke udaljenosti putem zraka ukoliko se apsorbira na sitne čestice te može značajno utjecati na obogaćenje oligotrofnih ekosustava, posebno jezera (Pinay i sur., 2017).

Točkaste izvore dušika i fosfora koji su jasno definirani u prostoru, kao što su npr. ispusti komunalnih i/ili industrijskih otpadnih voda, relativno je jednostavno identificirati i kvantificirati uz preduvjet provođenja mjerenja. Međutim, raspršene je izvore mnogo teže odrediti i kvantificirati u vremenskom i prostornom kontekstu, iako najviše doprinose unosu dušika u vodene slivove te imaju značajan udio fosfora. Točkasti i raspršeni izvori N i P slično utječu na eutrofikaciju, s razlikom u vremenu prijenosa od izvora onečišćenja do vodenih ekosustava. Točkasti izvori izravno ispuštaju onečišćujuće tvari u vodene ekosustave, dok se onečišćenje iz raspršenih izvora prenosi preko ili putem tla, tj. površinskim i podpovršinskim otjecanjem. Kapacitet retencije dušika prvenstveno ovisi o padalinama, retencijskom vremenu u vodonosniku te okolnom močvarnom području, dok za fosfor ovisi o povezanosti otjecanja između izvora i vodenog sliva. Specifični tokovi mogu varirati ovisno o vodenom području, pritiscima i kapacitetu retencije (Pinay i sur., 2017).

1.7. Praćenje eutrofikacije

Pokazatelje eutrofikacije možemo podijeliti na pokazatelje pritiska (ispuštanje i tijek hranjivih tvari), kemijskih stanja (koncentracija hranjivih tvari u vodi) i utjecaja koji odražavaju zdravstveno stanje vodnog tijela (biološki pokazatelji, kisik itd.; Tablica 3).

Tablica 3. Pokazatelji eutrofikacije jezera prema Ibisch i sur., 2016. P – fosfor, N – dušik, NO_3^- – nitrat, PO_4^{3-} – fosfat.

Pokazatelji pritiska	Pokazatelji stanja	Pokazatelji utjecaja
Ispuštanje i tijek hranjivih tvari	Koncentracija fosfora (ukupni P, PO_4^{3-})	Ekološko stanje
	Koncentracija dušika (ukupni N, NO_3^-)	Fitoplankton
		Secchi dubina
		Makrofiti
		Fitobentos
		Makrozoobentos
		Koncentracija kisika na dnu (*samo za stratificirana jezera)

Pokazatelji pritiska (koncentracija hranjivih tvari) predstavljaju izravnu vezu s biološkim pokazateljima. U kontekstu ODV-a pokazatelji kemijskih stanja se razmatraju samo kao podrška biološkim pokazateljima. Postoji još mnogo pokazatelja utjecaja, međutim, njihova interpretacija je vrlo kompleksna. Svim je pokazateljima zajednička specifičnost odgovora na unos hranjivih tvari, a dijelimo ih na izravne (biološki pokazatelji na razini primarnih proizvođača) i neizravne (biološki pokazatelji na drugim trofičkim razinama osim primarnih proizvođača i fizikalno-kemijski pokazatelji na koje utječu biološki procesi).

Proces eutrofikacije prvenstveno utječe na primarne proizvođače u hranidbenom lancu povećavajući biomasu fitoplanktona i makrofita u jezeru. Učinak eutrofikacije iz navedenog razloga ovisi o sezonskoj dinamici određenog vodenog ekosustava. Proučavanje trofičke klasifikacije jezera datira iz 1960. godine pod pokroviteljstvom Organizacije za ekonomsku suradnju i razvoj (eng. Organisation for Economic Cooperation and Development - OECD). Richard A. Vollenweider je 1968. završio prvu studiju na temu eutrofikacije vodenih ekosustava, metoda praćenja, ocjene stanja i kontrole (Vollenweider, 1968) koja je kasnije nadopunjavana. Prilikom određivanja stupnja trofije jezera (ultra-oligotrofno, oligotrofno, mezotrofno, eutrofno, hipereutrofno) u razmatranje se uzima koncentracija hranjivih tvari, tj. N i P, Secchi dubina, koncentracija klorofila *a* (OECD, 1982) te ukupna biomasa fitoplanktona (Brettum, 1989). Važno je analizirati i trend rasta cijanobakterija, posebice toksičnih sojeva koji pokazuju tendenciju povećanja u vodenim ekosustavima uslijed klimatskih promjena, npr. zbog intenzivnijih i ekstremnih padalina koje utječu na povećani dotok hranjivih tvari u vodene ekosustave (Jeppesen i sur., 2009), korištenja umjetnih gnojiva u intenzivnoj poljoprivredi (Bennett i sur., 2001) i neprimjerenog pročišćavanja otpadnih voda (Loosdrecht i Brdjanović, 2014). U cilju razumijevanja i poznavanja kompleksnih prostorno-vremenskih karakteristika i dinamike pojedinog jezera kao i potencijalnih stanja neravnoteže između produkcije (fotosinteze) i respiracije (potrošnje) u sklopu monitoringa neophodna su sustavna i kontinuirana mjerenja fizikalno-kemijskih čimbenika (otopljeni kisik, temperatura, pH, konduktivitet itd.) te praćenje lokalnih vremenskih uvjeta (brzina vjetra, sunčevo zračenje itd.).

1.8. Dosadašnja istraživanja Visovačkog jezera

Rijeka Krka u prošlosti je proučavana najviše zbog njenog vodnog potencijala za potrebe dobivanja hidroenergije, vodoopskrbe, akvakulture i navodnjavanja. U današnje je vrijeme uočena potreba provođenja ciljanih istraživanja sa stajališta zaštite i vrednovanja njezinih resursa, kako bismo imali cjelokupnu spoznaju o specifičnosti funkcioniranja ovog jedinstvenog ekosustava. Prema podacima iz Bibliografije radova o rijeci Krki (Marguš i Lakić, 2012) prva algološka istraživanja na slapovima rijeke Krke objavljena su 1957. godine (Golubić, 1957). Sustavna prirodoslovna istraživanja, koja uključuju i istraživanja fitoplanktona, započela su nakon proglašenja Nacionalnog parka Krka 1985. godine, ali pretežno na području estuarija (Tomec, 1988; Viličić i sur., 1989). Od ukupno 1359 radova navedenih u Bibliografiji o rijeci Krki, svega 3 rada se odnose na istraživanja fitoplanktona u Visovačkom jezeru, od kojih je samo jedan rad, i to u obliku sažetka predavanja sa znanstvenog skupa, isključivo vezan za tematiku te mu je glavni cilj istraživanje biocenotičke strukture fitoplanktona u Visovačkom jezeru (Gligora i sur., 2005). Drugi se rad odnosi na opisivanje sezonske raspodjele fitoplanktona u estuariju rijeke Krke i u Visovačkom jezeru (Viličić i sur., 1990), dok je treći rad tek sekundarno tematski povezan obzirom da se bavi istraživanjem cvjetanja fitoplanktona u Visovačkom jezeru kao razloga mortaliteta bentosa u estuariju rijeke Krke (Petrioli i sur., 1996). Ostali radovi koji se bave biologijom Visovačkog jezera navedeni u Bibliografiji odnose se na istraživanja visovačke jezerske pastrve (Taler, 1951), dinamiku naseljavanja perifitona (Kralj i sur., 2007) i zooplankton (Ternjej i sur., 2005). Istraživanja fitoplanktona u Visovačkom jezeru sustavnije su provedena u zadnjih desetak godina. Gligora Udovič i suradnici istražuju vertikalnu i sezonsku raspodjelu fitoplanktona u odnosu na fizikalno-kemijske čimbenike Visovačkog jezera u razdoblju od travnja 1995. do ožujka 1996. godine (Gligora Udovič i sur., 2011). Nakon toga, ista znanstvena grupa istražuje međuođnose funkcionalnih skupina fitoplanktona u Visovačkom jezeru i drugim krškim jezerima u Hrvatskoj (Gligora Udovič i sur., 2015) te opisuje reprezentativne vrste uz naglasak na centrične dijatomeje (Gligora Udovič i sur., 2016). Istraživanja na bakterijskim zajednicama uglavnom su provedena u području estuarija ili blizu izvora rijeke Krke (Kolda i sur., 2019; Korlević i sur., 2016; Kveštak i Ahel, 1995). Uz objavljene radove, bitno je spomenuti studije Instituta Ruđer

Bošković (IRB) iz 2013. i 2015. godine koje istražuju mogući antropogeni utjecaj na eutrofikaciju Visovačkog jezera, kao i utjecaj eutrofikacije na ciklus organske tvari i pojavu anoksije te se bavi praćenjem opterećenja različitim onečišćujućim tvarima u vodenom stupcu i sedimentu (Ciglonečki-Jušić i sur., 2013; 2015). U najnovije vrijeme objavljeni su radovi koji se bave usporedbom molekularnih i morfoloških analiza mikroorganizama u ocjeni ekološkog stanja vodenih ekosustava (Hanžek i sur., 2021; Kulaš i sur., 2022). U tijeku je i projekt IRB-a Mikrobna ekologija jezerskih ekosustava - novi pristupi (MALENA) koji korištenjem najnovijih tehnologija ima za cilj razumjeti značaj mikroba u kruženju metana u jezerima.

1.9. Ciljevi i hipoteze istraživanja

Ciljevi ove disertacije uključuju:

1. Opisati horizontalnu, vertikalnu i sezonsku raspodjelu fitoplanktona u Visovačkom jezeru.
2. Odrediti trofičke interakcije između planktonskih zajednica.
3. Usporediti trofičke interakcije u krškom jezeru s trofičkim interakcijama jezera različitih ekoloških stanja.
4. Primijeniti nove metode u opisu zajednice fitoplanktona.
5. Primijeniti nove generacije monitoringa u ocjeni ekološkog stanja.
6. Uspostaviti standard u ocjeni eutrofikacije Visovačkog jezera.
7. Usporediti stupanj trofije s ekološkim stanjem.

S obzirom na ciljeve i svrhu istraživanja postavljene su sljedeće hipoteze:

1. Miksotrofija je prevladavajući način ishrane dominantnih vrsta fitoplanktona u dubokom krškom ekosustavu Visovačkog jezera, što omogućuje specifične trofičke interakcije u vodenom stupcu.
2. Funkcionalna skupina **E**, koja je inače karakteristična za plitka eutrofna jezera, zbog trofičkih interakcija s bakterioplanktonom i miksotrofije, dominantna je funkcionalna skupina u mezotrofnom dubokom krškom ekosustavu Visovačkog jezera.
3. DNA metabarkoding je primjenjiv alat za procjenu biološke raznolikosti u dubokom krškom ekosustavu Visovačkog jezera.
4. DNA metabarkoding, morfo-taksonomski pristup te funkcionalna klasifikacija fitoplanktona usporedivi su načini za identifikaciju organizama te praćenje sastava zajednica i ekološkog stanja dubokog krškog jezera.
5. *In situ* određivanje klorofila *a* usporedivo je s laboratorijskim metodama određivanja koncentracije klorofila *a* te pokazuje jasan odgovor na stupanj trofije u dubokom krškom ekosustavu Visovačkog jezera.
6. Stupanj trofije Visovačkog jezera usporediv je s ekološkim stanjem.
7. Nove metode praćenja usporedive su s postojećim tradicionalnim metodama te se mogu koristiti u budućem sustavu monitoringa Visovačkog jezera.

2. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA

Rijeka Krka nalazi se u Dalmaciji na području Šibensko-kninske županije, između Ravnih kotara i Dalmatinske zagore. Tok rijeke dug je 72,5 km, a Nacionalni park Krka obuhvaća 2/3 toka rijeke uključujući donji tok Čikole. Nacionalni park Krka proglašen je 1985. godine i prostire se na površini od 109 km² (Rubinić, 2011). U slivu rijeke Krke proglašena su i druga zaštićena područja: geomorfološki rezervat rijeke Krčić, geomorfološki i ornitološki rezervat kanjon rijeke Čikole te značajni krajobrazi rijeke Krke uzvodno od Nacionalnog parka, rijeka Krka od Skradinskog mosta do ušća u Prokljansko jezero, kanjon Goduče i Prokljansko jezero. Krka izvire u podnožju Dinare ispod Topoljskog slapa rijeke Krčić, a završava s ujezerenjem zajedno s pritokom Čikolom (Slika 3) te se zatim ulijeva u zaslanjeno Prokljansko jezero koje utiče u Šibenski zaljev. Rijeka Krka ima još dva izvora nizvodnije, a procjenjuje se da je najuzvodniji izvor ujedno i najizdašniji te doprinosi između 80 do 90 % ukupnih voda (Bonacci i Ljubenković, 2005). Krka se prihranjuje nizom stalnih ili povremenih površinskih i podzemnih pritoka sa slivnog područja od 2650 km² (Plan upravljanja NP Krka, 2011). Glavni površinski pritoci u gornjem dijelu toka su: Krčić, Kosovčica, Butišnica s Radljevcem i Orašnica, a u donjem dijelu toka značajni su: Čikola, Jaruga i Guduča. Preko izvorišta Miljacka, podzemnim putem u blizini Mokrog polja, prihranjuje se i vodom iz susjednog sliva rijeke Zrmanje (Terzić i sur., 2010). Ova hidrogeološka veza s rijekom Zrmanjom ustanovljena je trasiranjem u studenom 1985. godine u razdoblju niskih voda. Vododijelnice između slivova Krke, Zrmanje, Une i Cetine nisu pouzdano određene. Kao posljedica kompleksnih međuodnosa sastava, tektonike, hidroloških značajki i egzogenih procesa, mogu se izdvojiti tri različita morfološka dijela: planinsko područje (Dinara, Kozjak, Svilaja, Moseć, Promina), dolinska proširenja, tj. krška polja (Kninsko, Kosovo i Petrovo) i Sjevernodalmatinska vapnenačka zaravan koja daje osnovnu morfološku odrednicu i u koju je usječen najveći dio doline Krke (Friganović, 1990; Fritz i sur., 1990; Pelivan, 2004).

Krški fenomen rijeke Krke karakteriziraju duboko usječeni kanjon, sedrene barijere, brzaci i ujezerenja, špilje, jame, ponori te udoline. Glavna prirodna značajka toka rijeke Krke su slapovi nastali prelijevanjem preko sedrenih barijera i to su redom: Bilušića buk (visina 22,4 m), Čorića buk ili Brljan (15,5 m), Manojlovački slapovi (59,6 m), Rošnjak (8,4 m), Miljacka slap (23,8 m),

Roški slap (25,5 m) i Skradinski buk (visinska razlika 45,7 m). Morfološki najrazvijenija barijera, od koje ujedno počinje i bočati dio toka, je Skradinski buk. Duž svojih 800 m dužine, Skradinski buk se sastoji od 17 sedrenih stepenica širine od 200 do 400 m (Bralić, 2005). Ukupni pad toka rijeke Krke je 224 m. Za rijeku Krku karakteristično je da njen otvoreni vodni tok stalno teče, čak i u uvjetima kada je razina podzemne vode 50 m ispod dna korita (Fritz i Pavičić, 1987). Na temelju hidroloških obrada podataka mjerenja Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ) za razdoblje od 1979. do 1986. godine, ukupni sliv ima središnji višegodišnji protok od 65 do 70 m³ s⁻¹, minimalne vode kreću se od izvora prema ušću od 2,5-7 m³ s⁻¹, dok se maksimalne vode kreću od 50 do 500 m³ s⁻¹ (Bonacci i Perica, 1990). Za primjerenu zaštitu rijeke Krke nužno je poznavanje hidroloških značajki dinamike i protjecanja voda obzirom na dominantno značenje vodenih ekosustava (Rubinić, 2011).



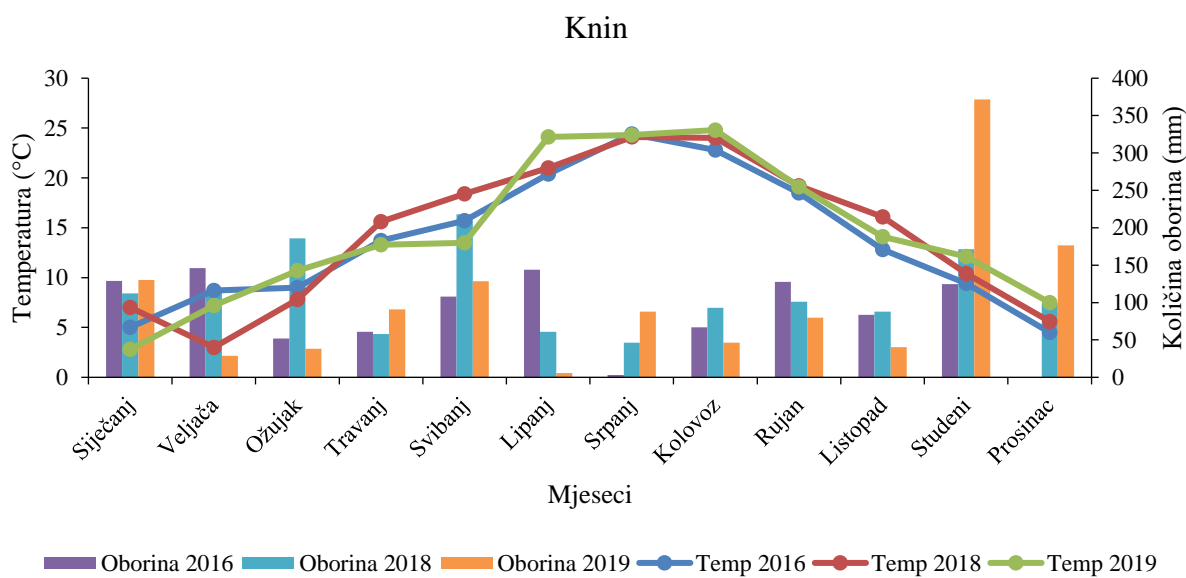
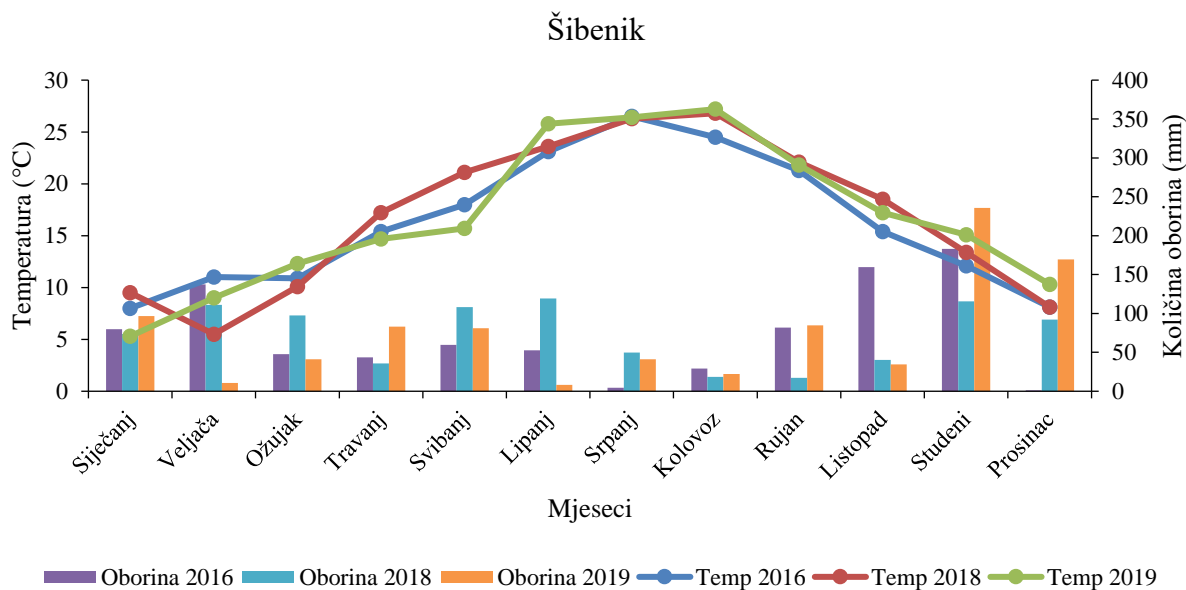
Slika 3. Spoj Krke i Čikole. Autor fotografije M. Gligora Udovič.

S obzirom da rijeka Krka kontinuiranim rastom sedrenih barijera duž svog toka izgrađuje i nadograđuje jezerske formacije, nužno je promatrati rijeku Krku ne samo kao posebno vrijednu rijeku u kršu, već i kao područje s aktivno prisutnim procesima ujezerenja (Rubinić i sur., 2016). Najveće jezero nastalo je formiranjem sedrene barijere na Skradinskom buku u poslijeglacijalnom razdoblju kada je došlo i do potapanja donjeg dijela ušća rijeke Krke te se po postanku svrstava u krška baražna jezera. Jezero je dobilo ime prema otoku Visovac. Visovačko jezero je monomiktično krško baražno jezero koje pripada nizinskim, srednje velikim i srednje dubokim jezerima na karbonatnoj podlozi u Dinaridskoj ekoregiji, Primorskoj subregiji Hrvatske (tip HR-J_5). Najširi dio jezera iznosi oko 1400 m, a njegova dužina je oko 4 km. U Visovačkom jezeru voda je sporog tijeka (Rubinić, 2011) te su se na obalama jezera formirali plićaci obrasli gustom vegetacijom vodenog i močvarnog bilja (Slika 4). Površina mu je 5,72 km², a najveća dubina oko 30 m.



Slika 4. Vegetacija na obali Visovačkog jezera.

Na klimatske prilike područja Visovačkog jezera najznačajniji utjecaj ima mediteranska klima, zatim okolne planine, oblik terena, riječna dolina i nadmorska visina (Rubinić, 2011). Srednja godišnja temperatura zraka prema podacima s najbližih meteoroloških postaja DHMZ-a tijekom godina obuhvaćenim ovim istraživanjem (2016., 2018. i 2019.) bila je u rasponu od 13,7 do 14,5 °C na postaji Knin, dok je na postaji Šibenik bila u rasponu od 16,2 do 16,9 °C (Slika 5). Najtopliji mjesec na postaji Šibenik tijekom 2016. godine bio je srpanj sa srednjom temperaturom od 26,5 °C, dok je 2018. i 2019. godine bio kolovoz sa srednjom temperaturom od 26,8 °C odnosno 27,2 °C. Najhladniji mjesec na postaji Šibenik bio je 2016. i 2019. godine siječanj (8 °C tj. 5,3 °C), dok je 2018. godine bila veljača (5,5 °C). Najtopliji mjeseci na postaji Knin su također bili srpanj (2016. i 2018.) i kolovoz (2019.), ali su srednje temperature bile niže te su se kretale od 24,1 do 24,8 °C. Najhladniji mjesec tijekom 2016. godine na postaji Knin bio je prosinac (4,5 °C), 2018. godine veljača (3 °C), a 2019. godine siječanj (2,8 °C). Srednja godišnja količina oborina tijekom istraživanih godina u području ušća rijeke Krke, tj. na postaji Šibenik, kretala se u rasponu od 879 mm do 908 mm, a na postaji Knin od 1046 mm do 1350 mm (Slika 5). Najveća količina oborina zabilježena je u zimskim mjesecima dok su ljeta vrlo suha. Na obje postaje posebno se ističe kišoviti studeni 2019. godine s najvećom zabilježenom količinom oborina na postaji Knin (372 mm). Godišnji hod temperatura i oborina odražava se na vodostaj i protok vode koji je izrazito smanjen tijekom ljetnih mjeseci uz dodatni nepovoljan utjecaj visokih ljetnih temperatura na isparavanje vode. Raspodjela oborina tijekom godine je nepravilna, a jedna od osnovnih obilježja je česta pojava jakih intenzivnih oborina koje su uzrok plavljenja. Za klimatske prilike od iznimne su važnosti vjetrovi. Na području rijeke Krke prevladava sjeveroistočni vjetar ili bura. Jugoistočni vjetar ili jugo značajan je samo u donjem toku. Ljeti se za vedra vremena javlja blagi danji vjetar zapadnog ili jugozapadnog smjera, maestral.



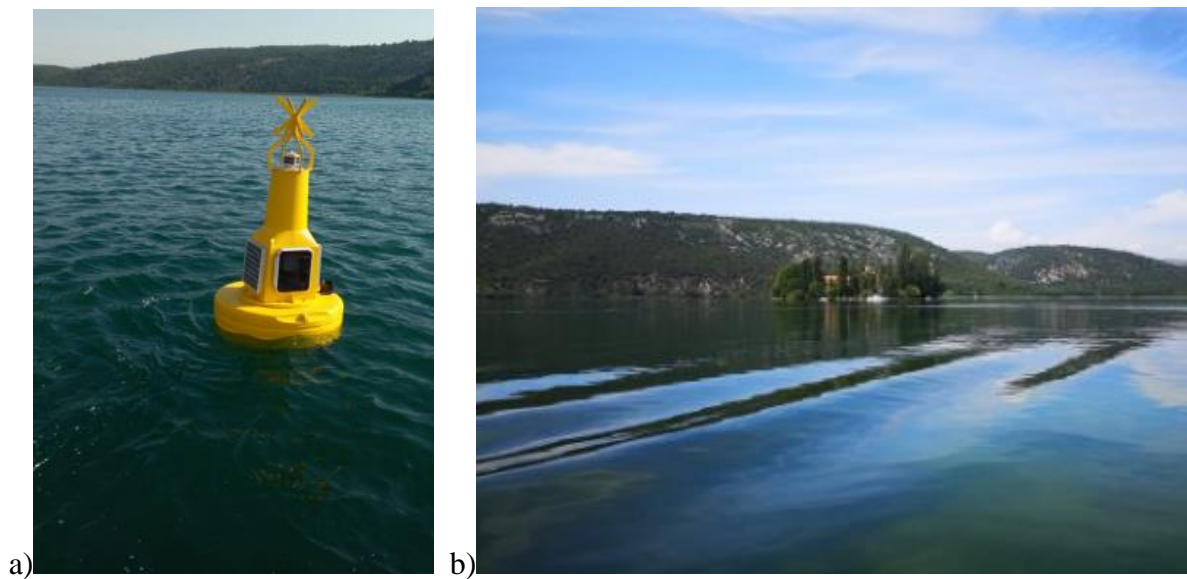
Slika 5. Srednja mjesečna temperatura (°C) i mjesečna količina oborina (mm) tijekom 2016., 2018. i 2019. godine na meteorološkim postajama Šibenik i Knin (podaci DHMZ-a preuzeti 22. siječnja 2020. godine).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Istraživanje tijekom 2016. i 2019. godine

3.1.1. Postaje

Uzorkovanje Visovačkog jezera provedeno je jednom mjesečno u razdoblju od travnja do rujna 2016. i 2019. godine. Istraživanje je obuhvaćalo prikupljanje kompozitnih uzoraka na monitoring točki (postaja V5) u limnetičkoj zoni Visovačkog jezera. Tijekom 2019. godine prikupljeni su uzorci vode za potrebe mjerenje klorofila *a* u laboratoriju i na postaji V4 u litoralnoj zoni gdje se nalazila plutača sa sensorima, tj. bova za mjerenje kakvoće vode (Slika 6). U rujnu 2019. godine plutača je premještena na monitoring točku (s postaje V4 na postaju V5).



Slika 6. Lokacije uzorkovanih postaja na Visovačkom jezeru: a) bova (postaja V4), b) monitoring točka (postaja V5).

3.1.2. Uzorkovanje

Za uzorkovanje vode korišten je dubinski uzorkivač tzv. crpac (Hydro-Bios Apparatebau GmbH, Njemačka). Koncentracija klorofila *a* određivana je *in situ* sondom bbe AlgaeTorch (bbe moldaenke, Njemačka). Iz kompozitnog uzorka uz pomoć multimetra WTW MultiLine P4 (WTW, Njemačka), Hach HQ40d (HACH, SAD) i YSI EXO2 (Xylem Inc., SAD) *in situ* su izmjereni temperatura vode, pH, koncentracija i topljivost odnosno zasićenost kisika u vodi i električna provodljivost.

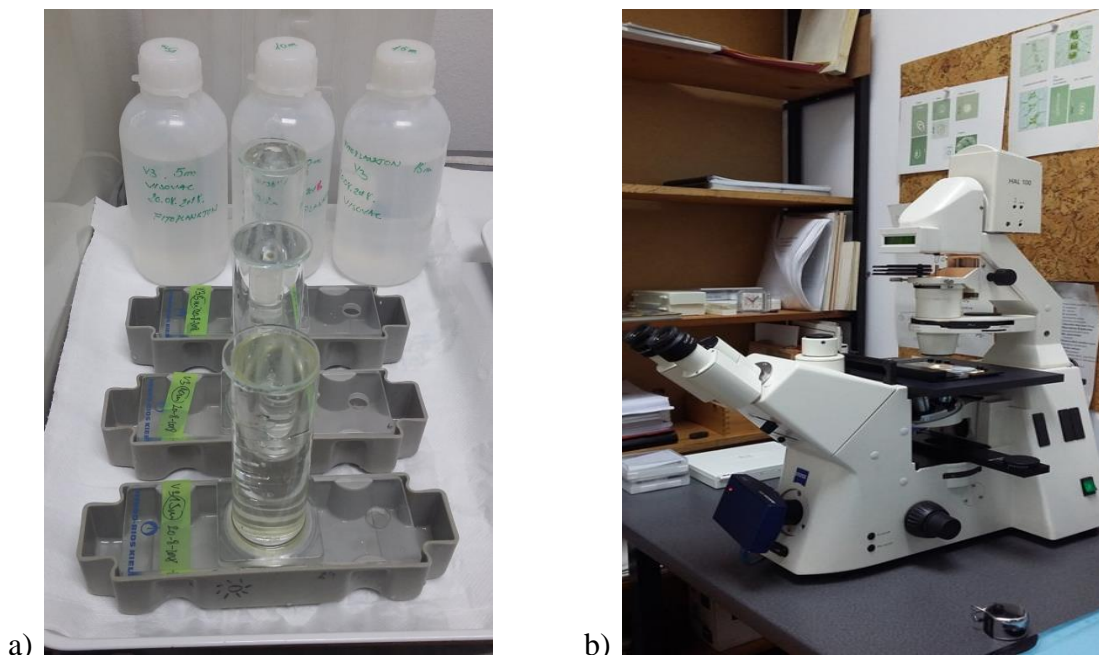
Iz kompozitnog uzorka uzeti su uzorci za kemijsku analizu vode te su pohranjeni na -20 °C do analize u laboratoriju. U laboratoriju su za potrebe kemijske analize vode određeni ukupni fosfor, nitriti, nitrati, amonij ion i ukupni dušik (HRN EN ISO/IEC 17025:2017).

Neposredno nakon uzorkovanja, uzorci vode za klorofil *a* (po 1 L) filtrirani su na Whatman GF/F filtere (Sigma Aldrich, UK) promjera 47 mm, veličine pora 0,7 µm te su pohranjeni na -80 °C. U laboratoriju su filteri uzoraka iz 2016. godine homogenizirani u 7 mL mješavine acetona i metanola (7:2). Čisti ekstrakti su analizirani pomoću Prominence-iLC2030C HPLC (eng. High performance liquid chromatography) sustava (Shimadzu, Japan). Pigmenti su odvojeni na Luna 3µC8(2) 100 Å koloni (Phenomene Inc., SAD). Klorofil *a* je detektiran na 665 nm. HPLC sustav je kalibriran pomoću 100 % metanol ekstrakta od *Synechocystis* sp. PCC6803. Za filtere uzoraka iz 2019. godine za ekstrakciju pigmenata korišten je 96 % etanol, a za mjerenje je korišten Specord 40 UV-VIS spektrofotometar (Analytik Jena GmbH, Njemačka). Uzorci fitoplanktona iz 2016. godine pohranjeni su u plastične bočice od 250 mL i fiksirani u 2 % otopini formaldehida, a uzorci iz 2019. godine su fiksirani dodavanjem 13 do 15 kapi kisele Lugolove otopine. Nakon fiksiranja u oba su slučaja uzorci preneseni do laboratorija u prijenosnim frižiderima na 4 °C.

3.1.3. Analiza fitoplanktona

Za potrebe taksonomske analize fitoplanktona korištena je metoda sedimentacije (Utermöhl, 1958). Prilikom postavljanja poduzorka i punjenja u sedimentacijske komorice, uzorak je ručno homogeniziran kombinacijom horizontalnog okretanja i vertikalnog miješanja, polagano kako ne bi došlo do uništavanja stanica. Poduzorak se označio s informacijama o volumenu, postaji i datumu uzorkovanja pored komorice odnosno sedimentacijske kolone koja se prekrila staklom za odstranjivanje valjka (Slika 7a). Komorice (Hydro-Bios Apparatebau GmbH, Njemačka) od 50 mL sedimentiraju se najmanje 24 sata te se nakon toga zatvorena komorica stavlja na stolić svjetlosnog invertnog mikroskopa Zeiss AxioVert (Carl Zeiss, Njemačka) (Slika 7b). Ovisno o gustoći uzorka mikroskopiranje fitoplanktona obavljeno je u transektima ili probnim vidnim poljima. Za determinaciju vrsta korišteni su ključevi: Hofmann i sur., 2011; John i sur., 2011; Komárek i Anagnostidis, 1998, 2005; Krammer, 2000; Krammer i Lange-Bertalot, 2000; Kristiansen i Preisig, 2007. Nazivlje svih određenih fitoplanktonskih vrsta provjereno je sukladno web stranici Algaebase (Guiry i Guiry, 2023).

Brojnost fitoplanktona određena je brojanjem stanica prema Utermöhl metodi (Utermöhl, 1958). Prosječne veličine stanica, uključujući i najveću linearnu veličinu, određene su mjerenjem najmanje 30 stanica svake vrste pri povećanju od 400x i 1000x pomoću okularnog mikrometra te računalnog programa AxioVision LE 4.8 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, 2010). Stanice su fotografirane pomoću kamere AxioCam MRc (Carl Zeiss Microscopy GmbH, 2006). Za procjenu volumena pojedinačne stanice koristio se aproksimirajući oblik prema odgovarajućem geometrijskom tijelu (HRN EN 16695:2015). Biomasa fitoplanktona izražena u mg L^{-1} izračunata je umnoškom brojnosti stanica i izračuna volumena stanice svake pojedine vrste uz pretpostavku da je gustoća stanica jednaka gustoći vode (Cronberg, 1980; Sommer, 1989) odnosno da je volumen od 1 cm^3 ekvivalent biomase od 1 mg (Rott, 1981). Fitoplanktonske vrste svrstane su u funkcionalne skupine prema sličnim morfološkim, fiziološkim i ekološkim obilježjima te prema sličnim dimenzijama jedinki, stanica ili kolonija. Funkcionalne skupine razmatrane su prema relevantnoj literaturi (Padisák i sur., 2009; Reynolds i sur., 2002).



Slika 7. a) Sedimentacijske komorice s poduzorcima; b) svjetlosni invertni mikroskop Zeiss Axiovert 200 (Carl Zeiss, Njemačka) s kamerom AxioCam MRC (Carl Zeiss Microscopy GmbH, 2006).

3.1.4. Ocjena ekološkog stanja i stupnja trofije

Za ocjenu ekološkog stanja na osnovi fitoplanktona kao biološkog elementa kakvoće korišten je indeks za fitoplankton jezera (eng. Hungarian Lake Phytoplankton Indeks - HLPI) (Borics i sur., 2018). HLPI predstavlja konačnu ocjenu ekološkog stanja, a kombinacija je normaliziranih vrijednosti omjera ekološke kakvoće - OEK (eng. Ecological Quality Ratio - EQR) dvaju indeksa prema formuli:

$$HLPI = \frac{OEK_Q + 2 \times OEK_{Chl a}}{3}$$

gdje je:

OEK_Q - normalizirani OEK sastava zajednice temeljen na funkcionalnim skupinama,

$OEK_{Chl a}$ - normalizirani OEK indeks biomase (koncentracije klorofila a).

Za pretvorbu koncentracije klorofila *a* (Chl *a*) u normalizirane vrijednosti $OEK_{Chl\ a}$ korištene su jednadžbe u Tablici 4 gdje je: *x* – koncentracija Chl *a* ($\mu\text{g L}^{-1}$).

Tablica 4. Jednadžbe za pretvorbu koncentracije klorofila *a* (Chl *a*) u normalizirane vrijednosti OEK.

Koncentracija klorofila <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Jednadžba
<i>Chl a</i> $\leq 5,3$	$OEK_{Chl\ a} = 0.0074x^2 - 0.1149x + 1$
<i>Chl a</i> $> 5,3$	$OEK_{Chl\ a} = 0.00005x^2 - 0.0118x + 0.6617$

HLPI indeks se temelji na Indeksu sastava zajednice ili Q indeksu (Padisák i sur., 2006). Vrijednosti faktora *F* pridružene su kodovima prema nacionalnoj Metodologiji (Hrvatske vode, 2016). Q_k indeks je izračunat prema formuli:

$$Q_k = \sum_{i=1}^s p_i F$$

gdje je:

p_i - relativni udio *i*-te funkcionalne skupine prema ukupnoj biomasi fitoplanktona,
F - faktor procjene cjelokupne zajednice na temelju brojčanih vrijednosti pridruženih različitim FG u danom tipu jezera.

Vrijednost Q_k indeksa standardizira (Q_{k_Stand}) se tako što se izračunata vrijednost Q indeksa dijeli s maksimalnom vrijednošću indeksa (9).

Za normalizaciju vrijednosti indeksa Q_{k_Stand} korištena je polinomska regresijska jednadžba trećeg reda u Tablici 5 gdje je *x* – standardizirana vrijednost Q indeksa, tj. Q_{k_Stand}.

Tablica 5. Polinomska regresijska jednadžba trećeg reda za Visovačko jezero.

TIP jezera	Polinomska regresijska jednadžba
HR-J_5	$y = -2e^{-13}x^3 - 9e^{-14}x^2 + 0,9756x - 8e^{-14}$

Za ocjenu ekološkog stanja korištena je Tablica 6 prema Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019). Za izdvojene prateće elemente pri ocjeni ekološkog stanja (Secchi prozirnost vode i koncentraciju hranjivih tvari) potrebnih za usporedbe korištene su također vrijednosti prema Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019).

Tablica 6. Granične vrijednosti ekološkog stanja za tip jezera HR-J_5 prema Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019). HLPI – indeks za fitoplankton jezera.

Ekološko stanje	HLPI
Vrlo dobro	0,80 – 1,00
Dobro	0,60 – 0,79
Umjereno	0,40 – 0,59
Loše	0,20 – 0,39
Vrlo loše	< 0,20

U sklopu rada ocjena stupnja trofije temeljila se na pokazateljima eutrofikacije jezera prilagođenim prema Ibisch i sur. (2016). Primijenjeni su pokazatelji stanja (koncentracije hranjivih tvari) i pokazatelji utjecaja (Secchi dubina i fitoplankton). Korištene su i široko prihvaćene granične vrijednosti stupnja trofije prema Organizaciji za ekonomsku suradnju i razvoj (OECD, 1982) i Brettumu (1989) (Tablica 7).

Tablica 7. Granične vrijednosti stupnja trofije (OECD, 1982; *Brettum, 1989). SD – Secchi dubina, TP – ukupni fosfor, Chl *a* – klorofil *a*.

Stupanj trofije	SD (m)	TP ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Chl <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Biomasa fitoplanktona (mg L^{-1}) *
Ultra-oligotrofno	> 12	< 4	< 1	< 0,12
Oligotrofno	12 – 6	4 – 10	1 – 2,5	0,12 – 0,4
Oligo-mezotrofno				0,4 – 0,6
Mezotrofno	6 – 3	10 – 35	2,5 - 8	0,6 – 1,5
Eutrofno	3 – 1,5	35 – 100	8 - 25	1,5 – 2,5
Polieutrofno				2,5 - 5
Hipereutrofno	< 1,5	> 100	> 25	> 5

3.1.5. Analiza bakterioplanktona

U svrhu određivanja sastava zajednice bakterioplanktona molekularnom metodom, umnožena je hipervarijabilna V4 regija fragmenta gena 16S rRNA korištenjem para početnica: 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') i 806R (5'-GGACTACHVHHHTWTCTAAT-3') (Caporaso i sur., 2011). V4 amplikoni sekvencirani su na Illumina MiSeq (SeqIT GmbH & Co.KG, Kaiserslautern, Njemačka). Dobivene sekvence su skraćene na 3' kraju korištenjem opcije BBduk, a sparni sljedovi sekvenci su spojeni pomoću opcije BBMerge programa BBDuk, zahtijevajući minimalno preklapanje od 50 bp (<https://sourceforge.net/projects/bbmap/>, verzija 36.11). Zatim je svaka datoteka za očitavanje nasumično poduzorkovana na 20 000 čitanja po uzorku pomoću Mothur v.1.34 (Schloss i sur., 2009). Poduzorkovani skupovi podataka obrađeni su pomoću SILVAngs (<https://www.arb-silva.de/ngs>; Quast i sur., 2013). Dobivene sekvence uzoraka grupirane su u OTU (eng. Operational Taxonomic Units – OTU) koje zahtijevaju minimalni identitet sekvence od 98 %. Reprezentativne sekvence za svaki OTU taksonomski su klasificirane pomoću SILVA baze podataka (v. 123; <http://www.arb-silva.de>).

3.1.6. Usporedba trofičkih interakcija Visovačkog jezera s jezerima Kozjak, Prošće, Sakadaš i Jarun

Trofičke interakcije u Visovačkom jezeru uspoređene su s trofičkim interakcijama u jezerima Kozjak, Prošće, Sakadaš i Jarun. Kompozitni uzorci fitoplanktona u jezerima Kozjak, Prošće, Sakadaš i Jarun uzeti su iz eufotičke zone na najdubljem točki jezera jednom mjesečno od travnja do rujna 2016. godine i analizirani u laboratoriju Hrvatskih voda, današnjem Institutu za vode Josip Juraj Strossmayer i Odjelu za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku prema Utermöhl metodi (Utermöhl, 1958). Bakterijska zajednica određena je u laboratoriju Instituta Ruđer Bošković molekularnom metodom opisanom u prethodnom potpoglavlju.

Jezero Kozjak najveće je i najdublje jezero (0,8 km²) Plitvičkih jezera, međusobno povezanih 16 kaskadnih jezera u izvorišnom području rijeke Korane. Kozjak je duboko prirodno krško jezero nastalo tijekom holocenske morfogeneze krša, koja je uključivala taloženje sedre i razvoj sedrotvornih zajednica (Špoljar i sur., 2007; Žutinić i sur., 2014; Gligora Udovič i sur., 2015). Kozjak se napaja vodom koja se prelijeva s gornjih barijera, s manjim dotokom potoka Rječice. Jezero Prošće najgornje je i drugo najveće jezero (0,7 km²) u skupini Plitvičkih jezera (Tanocki i Crljenko, 2011). Prošće je duboko prirodno krško jezero koje se napaja vodom iz Matice i Sužanjskog potoka. Kao i u slučaju Kozjaka, nastanak jezera Prošće rezultat je složenog spleta tektonskih pokreta i biološkog taloženja sedrenih barijera. Oba jezera leže na nepropusnim karbonatno-dolomitnim stijenama mezozojskog podrijetla (Polšak, 1974). Jezera su oligotrofna i dimiktička, s proljetnim i jesenskim miješanjem vodenog stupca (eng. overturn). Najniže temperature vode u jezerima kreću se od 3 do 4,4 °C zimi, dok se ljetne maksimalne temperature kreću u rasponu od 21,8 do 22,6 °C (Špoljar i sur., 2007; Žutinić, 2014), s tendencijom porasta temperature.

Sakadaš je najdublje jezero u Parku prirode Kopački rit u sjeveroistočnoj Hrvatskoj. Kopački rit je jedna od najvećih i najočuvanijih riječnih močvara u Europi, a nastala je plavljenjem Dunava i Drave. Jezero Sakadaš je formirano poplavnim vodama rijeke Dunav koja je 1926. probila nasip Zmajevac-Kopačevo te je kasnije umjetno produbljena i proširena melioracijskim radovima (Gucunski, 1994; Mihaljević i sur., 1999). Hidrologija Sakadaša je pod jakim utjecajem podzemnih voda, oborina i intenzitetom fluktuacije vodostaja Dunava. Sakadaš je najdublje jezero Kopačkog rita, prosječne dubine oko 5 m, a najveće dubine između 9 i 12 m (Mihaljević i Stević, 2011). Jezero je povezano kanalom Čonakut s Kopačkim jezerom koje je s Dunavom povezano Hulovskim kanalom. Sakadaš je polimiktičko jezero koje uvelike ovisi o poplavnim impulsima rijeke Dunav koji potječu od sezonskih oborina, te otapanju snijega i leda iz uzvodnog područja Alpa. Prosječna temperatura vode je 4,5 °C zimi, ljeti od 26 do 29 °C, dok se prosječna godišnja temperatura vode kreće od 13 do 18 °C (Mihaljević i Stević, 2011).

Jarun je umjetno jezero smješteno na lijevoj obali Save u jugozapadnom dijelu Zagreba. Sastoji se od dva povezana jezera i šest otočića. Jezero Jarun je nastalo nakon poplave 1964. godine koja je potaknula izgradnju nasipa uz Savu, čime je tadašnji rukavac odvojen od rijeke. U to

vrijeme iz njega se vadio šljunak koji je služio za gradnju nasipa pa se s vremenom produbilo i nastalo je jezero (Tanocki i Crljenko, 2011). Sadašnji kompleks uređen je 1987. godine za potrebe Univerzijade, a koristi se kao višenamjenski rekreacijski sportski centar grada Zagreba. Na vodostaj Jaruna izravno utječu razine podzemnih voda iz aluvija rijeke Save. Prosječna dubina jezera je oko 4 m, a najveća je do 11 m (Sabolić, 2003). Prosječna godišnja temperatura jezera je 14 °C. Zimi je prosječna temperatura jezera 4 °C, dok je ljeti 24 °C (Sabolić, 2003). S obzirom da se radi o rekreativnom centru kvaliteta vode se redovito prati.

3.1.7. Statističke analize rezultata

Sve statističke multivarijatne analize napravljene su u statističkom programu PRIMER v7 (Primer-E Ltd., UK). Prije svih analiza podaci su normalizirani korištenjem log-transformacije ili kvadratnog korijena. Analiza glavnih komponenti (PCA) provedena je kako bi se opisali i vizualizirali odnosi između okolišnih čimbenika. NMDS analiza napravljena je temeljem Bray-Curtis indeksa sličnosti te predstavlja vizualizaciju beta raznolikosti. Klusterska analiza i NMDS korišteni su radi opisa razlika, odnosno sličnosti fitoplanktonske i bakterijske zajednice u Visovačkom jezeru kao i za usporedbu s trofičkim interakcijama jezera različitih ekoloških stanja (Jarun, Sakadaš, Kozjak i Prošće).

Statistički program Statistica 13 (TIBCO Software Inc., SAD) korišten je za izračunavanje Spearmanove rang korelacije između fizikalno-kemijskih čimbenika, HLPI indeksa i Chl *a*. Odnos između zajednice fitoplanktona i čimbenika okoliša istražen je korištenjem analize korespondencije Canonical (CCA) u statističkom programu Canoco 5 (Microcomputer Power, SAD). Uz napomenu da je prethodno provedena DCA analiza na temelju čije se duljine gradijenta odredilo da se koristi CCA. Grafički prikazi izrađeni su u programu Microsoft Excel za Microsoft 365 (Microsoft Corporation, SAD).

Zajednica fitoplanktona opisana je ukupnim brojem vrsta u uzorku te raznolikošću vrsta. Struktura zajednice opisana je Margalefovom indeksom bogatstva vrsta (*d*) i ukupnim brojem vrsta

(S). Margalefov indeks definira bogatstvo vrsta kao funkciju ukupnog broja jedinki (N) ukupnog broja vrsta (S):

$$d = \frac{(S - 1)}{\log(N)}$$

Raznolikost fitoplanktona je opisana Shannon-Wienerovim indeksom (H') koji je izračunat po formuli:

$$H' = - \sum p_i / \ln p_i$$
$$p_i = n_i/N$$

gdje je n_i - broj jedinki jedne vrste, N - ukupan broj svih jedinki, p_i - vjerojatnost pojavljivanja za vrstu i .

Uz Margalefov i Shannonov indeks raznolikosti, korišten je i Pielouov indeks ujednačenosti (J'):

$$J' = \frac{H'}{H_{max}} = \frac{H'}{\log(S)}$$

gdje je H' - Shannonov indeks, S - ukupan broj vrsta u uzorku i H_{max} - maksimalna vrijednost Shannonovog indeksa koji bi bio postignut kad bi sve vrste bile jednako zastupljene ($\log S$).

Podaci iz 2016. godine za svih pet jezera korišteni su također za analizu korelacijske matrice - mrežna analiza (eng. „co-occurrence network analysis“), kako bi se testirale potencijalne interakcije između fitoplanktonskih vrsta s bakterioplanktonom. Iz svakog seta podataka fitoplanktona i bakterioplanktona, zasebno su za svako jezero izdvojene najčešće i najzastupljenije vrste fitoplanktona odnosno skupine bakterija u podskupove sa 16 vrsta odnosno 16 skupina. Podskupovi koji su se koristili za mrežnu analizu pomoću funkcija „Igraph“ paketa (Csárdi i sur., 2024) u R programu v. 4.3.3 (R Core Team, 2024) su prethodno transformirani pomoću CRL transformacije (eng. „center-log ration transformation“; Gloor i sur., 2017). Kako bi se razjasnili odnosi između fitoplanktona i bakterioplanktona, izračunate su i Spearmanove korelacijske matrice. Naknadno je konstruiran grafički prikaz „igraph“ paketa koristeći Erdős–Rényi model. Pozitivni i negativni pravci dodijeljeni su na temelju unaprijed određene statističke značajnosti ($p < 0,05$) za predstavljanje korelacija unutar mreže (Ríos-Castro i sur., 2022).

3.2. Istraživanje tijekom kolovoza 2018. godine

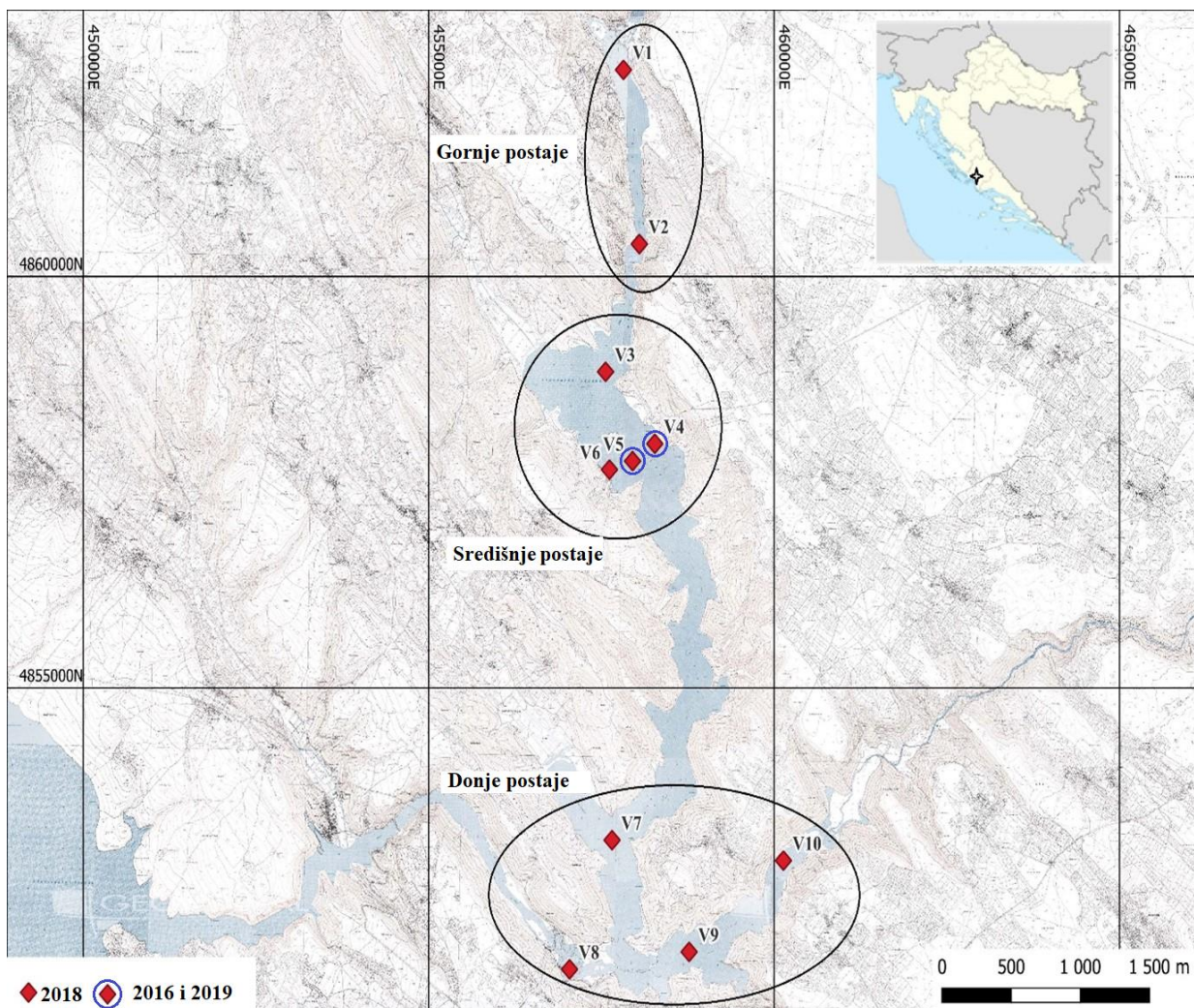
3.2.1. Postaje

Tijekom uzorkovanja u razdoblju od 20. do 22. kolovoza 2018. godine uz kompozitni uzorak uzete su vertikalne serije fitoplanktona na 10 postaja (V1 do V10) duž limnetičke i litoralne zone Visovačkog jezera (Tablica 8). Istraživanje je obuhvatilo područje od sjevernog dijela jezera u blizini Roškog slapa (V1) do južnog dijela neposredno prije slapa Skradinski buk (V8) i blizu ušća pritoke rijeke Čikole (V9 i V10). Postaje su podijeljene u tri skupine prema geografskom položaju na jezeru (Slika 8): gornje (V1, V2), središnje (V3, V4, V5 i V6) i donje postaje (V7, V8, V9 i V10). Postaja V8 je isključena iz daljnjih analiza zbog male maksimalne dubine od 3 m.

Ukupan broj uzoraka definiran je maksimalnom dubinom svake postaje, Secchi dubinom, dubinom termokline i dubinom miješanja stupca vode s obzirom na temperaturnu razliku. Prozirnost vodenog stupca (Z_{SD}) određena je Secchi diskom te je korištena za izračun dubine eufotičke zone (Z_{EU}) množenjem sa standardiziranim faktorom za mediteransko geografsko područje (Poikane, 2009). Kompozitni uzorak predstavlja integrirani uzorak u vertikalnom stupcu eufotičke zone (2,5 x Secchi dubina). Za morfološku analizu fitoplanktona uzeti su uzorci na svakih 5 m od površine do dna zajedno s kompozitnim uzorcima iz eufotičke zone. S obzirom na dubinu eufotičke zone, uzorci su razdvojeni na eufotičku i afotičku zonu te su za svaku postaju izračunate srednje vrijednosti koje su korištene u daljnjim analizama. Grupiranje uzoraka u eufotičku zonu i afotičku zonu također je primijenjeno za prostornu usporedbu zajednice fitoplanktona na postajama za uzorkovanje u Visovačkom jezeru. Za molekularnu analizu (eDNA metabarkoding) fitoplanktona uzeti su kompozitni uzorci i uzorci iz afotičke zone.

Tablica 8. Popis uzorkovanih postaja na Visovačkom jezeru s pripadajućim koordinatama i maksimalnim dubinama uzorkovanja.

Naziv postaje	Lokacija postaje	N	E	Dubina (m)
V1	Gornja	43.901367	15.974897	15,2
V2	Gornja	43.882333	15.977925	18
V3	Središnja	43.868333	15.971972	18
V4	Središnja	43.8605	15.980899	15,5
V5	Središnja	43.858583	15.976916	18
V6	Središnja	43.857636	15.972761	15
V7	Donja	43.817111	15.973583	24
V8	Donja	43.802947	15.966064	3
V9	Donja	43.80495	15.987558	23
V10	Donja	43.815011	16.004436	5



Slika 8. Visovačko jezero s uzorkovanim postajama (od V1 do V10) tijekom kolovoza 2018. godine (QGIS 3.16 software). Na slici su označene i postaje uzorkovane 2016. i 2019. godine.

3.2.2. Uzorkovanje

Za uzorkovanje vode korišten je dubinski uzorkivač tzv. crpac (Hydro-Bios Apparatebau GmbH, Njemačka) (Slika 9). Koncentracija klorofila *a* određivana je *in situ* sondom bbe AlgaeTorch (bbe moldaenke, Njemačka). Uz pomoć multimetra WTW MultiLine P4 (WTW, Njemačka) i Hach HQ40d (HACH, SAD) *in situ* su izmjereni temperatura vode, pH, koncentracija kisika u vodi, zasićenje kisikom i električna provodljivost iz kompozitnog uzorka te na svakih 5 m od površine do dna (Slika 10).



Slika 9. Dubinski uzorkivač ili crpac zapremine pet litara (Hydro-Bios Apparatebau GmbH, Njemačka) za uzorkovanje fitoplanktona.



Slika 10. Mjerenje fizikalno-kemijskih čimbenika vode i koncentracije klorofila *a* neposredno pri uzorkovanju.

Iz kompozitnog uzorka uzeti su uzorci za kemijsku analizu vode te su pohranjeni na -20 °C do analize u laboratoriju. Kemijska analiza vode 2018. godine obuhvatila je kvantificiranje nitrata, nitrita, amonij iona, ukupnog dušika, fosfata, silicija, ukupnog anorganskog ugljika, otopljenog anorganskog ugljika, ukupnog organskog ugljika, otopljenog organskog ugljika i bikarbonata prema standardiziranim analitičkim metodama (APHA, 2017).

Neposredno nakon uzorkovanja, uzorci vode za klorofil *a* (po 1 L) filtrirani su na Whatman GF/F filtere (Sigma Aldrich, UK) promjera 47 mm, veličine pora $0,7 \mu\text{m}$ (Slika 11) te su pohranjeni na -80 °C. U laboratoriju su filteri uzoraka homogenizirani u 7 mL mješavine acetona i metanola (7:2). Čisti ekstrakti su analizirani pomoću Prominence-iLC2030C HPLC) sustava (Shimadzu, Japan). Pigmenti su odvojeni na Luna $3\mu\text{C}8(2)$ 100 Å koloni (Phenomene Inc., SAD). Klorofil *a* je detektiran na 665 nm. HPLC sustav je kalibriran pomoću 100 % metanol ekstrakta od *Synechocystis* sp. PCC6803. Uzorci fitoplanktona pohranjeni su u plastične bočice od 250 mL i fiksirani u 2 % otopini formaldehida na terenu te su pohranjeni u prijenosne frižidere na 4 °C.



Slika 11. Filtriranje uzoraka vode na Whatman GF/F filterima (Sigma Aldrich, UK).

3.2.3. Analiza fitoplanktona

Korištene su iste metode za taksonomsku analizu fitoplanktona prethodno opisane u poglavlju *3.1. Istraživanje tijekom 2016. i 2019. godine.*

3.2.4. DNA izolacija, PCR i bioinformatička obrada

Za izolaciju DNA, oko 300 do 400 mL uzorka vode je filtrirano na Nucleopore polikarbonatnim membranskim filterima (promjer 47 mm, veličina pora 0,2 μm ; Whatman International Ltd, UK). Nakon filtracije filteri su pohranjeni na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do daljnje obrade. Prije

početka same izolacije DNA, filteri su izrezani na manje komade te je proces same ekstrakcije DNA odrađen pomoću DNeasy PowerWater Kit-a (Qiagen, Njemačka) prema uputama proizvođača, uz manju promjenu u završnom koraku, gdje je dodano 60 µL sterilne PCR vode bez DNA umjesto Qiagenove C6 otopine. Kvaliteta i koncentracija ekstrahirane DNA provjerena je NanoDrop spektrofotometrom (BioSpec – nano, Shimadzu Corporation, Japan).

Za istraživanje strukture mikrobnih eukariota pomoću molekularne metode umnožena je hipervarijabilna V9-regija fragmenta gena 18S rRNA, početnicama: 1391F (5'-GTACACACCGCCCGTC-3') i EukB (5'-TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC-3'; Amaral-Zettler i sur., 2009; Stoeck i sur., 2010). Program lančane reakcije polimerazom (eng. polymerase chain reaction - PCR) uključivao je početni korak na 98 °C tijekom 30 sekundi, 30 ciklusa od 94 °C tijekom 30 sekundi, 57 °C tijekom 45 sekundi i 72 °C tijekom 30 sekundi, sa završnim korakom elongacije na 72 °C tijekom 5 minuta (Stoeck i sur., 2018). PCR produkti su vizualizirani na 1 % agaroznom gelu. Biblioteke za sekvenciranje pripremljene su pomoću NEB Next® Ultra™ DNA Library Prep Kit za Illumina (NEB, SAD), te su V9 amplikoni sekvencirani na Illumina MiSeq platformi (SeqIT GmbH & Co. KG, Njemačka).

Neobrađeni V9 amplikoni su demultipleksirani pomoću alata Cutadapt v3.0 (Martin, 2011), pri čemu su uklonjeni barkodovi u kombinaciji 5' do 3'. Naknadno je kvaliteta demultipleksiranih nesparenih sljedova sekvenci provjerena pomoću alata FastQC (Andrews, 2010). Nakon početnih koraka, sljedovi sekvenci su obrađeni pomoću QIIME2-2020.11 platforme. Uzorci su demultipleksirani u početnom koraku, te su filtrirani prema koeficijentu kvalitete. DADA2 paket (Callahan i sur., 2016) je korišten za klasteriranje i detektiranje pogrešaka nastalih Illumina amplikon sekvenciranjem. Sekvence su skraćene za dužinu barkodova i početnica, te su također skraćene na 185 nukleotida radi uklanjanja krajnjih nukleotida loše kvalitete. Završno taksonomsko dodjeljivanje dobivenih varijanti amplikona ASV (eng. amplicon sequencing variant) provedeno je korištenjem Bayesovog klasifikatora. Bayesov klasifikator prethodno je usklađen s predstavnicima filotipova s ribosomskom bazom podataka protista PR2 v.4.14.0 (Protist Ribosomal Reference; Guillou i sur., 2012) grupiranih s 99 % sličnosti. Sekvence koje su bile povezane s predstavnicima skupine Metazoa su uklonjene iz skupa podataka. Filogenetsko stablo je analizirano iz filtriranih tablica svojti kako bi se podržala metrika filogenetske

raznolikosti koja se koristi u dodatku q2-diversity. Neobrađene sekvence pohranjene su i dostupne u Europskoj arhivi nukleotida (eng. European Nucleotide Archive - ENA) pod brojem projekta PRJEB60049. Samo ASV-ovi koji su taksonomski pripisani zajednici fitoplanktona filtrirani su iz glavnih podataka i korišteni za daljnje statističke analize.

3.2.5. Statističke analize rezultata

Statističke multivarijatne analize napravljene su u statističkom programu PRIMER v7 (Primer-E Ltd., UK). Analiza glavnih komponenti (PCA) provedena je kako bi se opisali i vizualizirali odnosi između okolišnih čimbenika. Jednosmjerna analiza sličnosti (ANOSIM) korištena je za testiranje značajnih razlika između kompozitnih i uzoraka vertikalnog profila te potvrde da se kompozitni uzorci mogu koristiti kao relevantna zamjena za karakterizaciju zajednice fitoplanktona u eufotičkoj zoni umjesto uzorkovanja vertikalnog profila. Ordinacijska metoda nemetričkog multidimenzionalnog skaliranja (NMDS) provedena je kako bi se odredili prostorni obrasci u strukturi zajednice fitoplanktona s obzirom na uzorkovane postaje duž Visovačkog jezera.

Grafički prikazi izrađeni su u programu Microsoft Excel za Microsoft 365 (Microsoft Corporation, SAD). Karta područja istraživanja izrađena je korištenjem softvera QGIS 3.16 besplatnog i otvorenog koda (<https://qgis.org/en/site/>).

Korištene su iste analize za opis zajednice fitoplanktona prethodno opisane u poglavlju 3.1. *Istraživanje tijekom 2016. i 2019. godine.*

4. REZULTATI

4.1. Sezonska raspodjela fitoplanktona u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine

Fizikalno-kemijski čimbenici izmjereni *in situ* na monitoring postaji (V5) u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine prikazani su u Tablici 9. Secchi dubina kretala se od 3 m u srpnju 2019. do 9 m u svibnju 2019. Minimalna vrijednost temperature vode zabilježena je u travnju 2019. (13,8 °C), a maksimalna u srpnju 2016. godine (24 °C). Najviša koncentracija O₂ zabilježena je u travnju 2016. (11,00 mg L⁻¹), a najniža je bila u rujnu 2019. godine (5,35 mg L⁻¹). Najniži pH (7,79) zabilježen je u lipnju 2019., dok je najviši bio u travnju 2016. godine (8,51). Električna vodljivost vode kretala se od 413 μS cm⁻¹ (lipanj 2019.) do 558 μS cm⁻¹ (rujan 2016.).

Tablica 9. Fizikalno-kemijski čimbenici u Visovačkom jezeru na monitoring postaji (V5) tijekom 2016. i 2019. godine izmjereni *in situ*. SD – Secchi dubina, T – temperatura, O₂ – koncentracija kisika, EC – električna vodljivost.

	SD (m)	T (°C)	O₂ (mg L⁻¹)	pH	EC (μS cm⁻¹)
2016.					
Travanj	5,5	14,8	11,00	8,51	543
Svibanj	6,0	14,6	10,40	8,12	532
Lipanj	7,5	18,4	10,50	7,96	514
Srpanj	5,0	24,0	9,50	8,36	526
Kolovoz	5,0	18,6	7,80	7,93	534
Rujan	4,0	18,5	7,10	8,29	558
2019.					
Travanj	6,5	13,8	10,71	7,91	416
Svibanj	9,0	14,3	10,50	7,91	414
Lipanj	5,8	15,2	10,88	7,79	413
Srpanj	3,0	16,8	9,33	7,85	436
Kolovoz	5,1	17,7	6,85	7,87	453
Rujan	4,6	16,6	5,35	7,82	448

Kemijski čimbenici izmjereni u laboratoriju s monitoring postaje u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine prikazani su u Tablici 10. Koncentracija ukupnog fosfora (TP) kretala se od najniže u rujnu 2016. (0,001 mg L⁻¹) do najviše u travnju 2019. godine (0,072 mg L⁻¹). Najviša koncentracija NO₃⁻ izmjerena je u svibnju 2016. (0,302 mg L⁻¹), a najniža u srpnju 2019. godine (0,034 mg L⁻¹). Koncentracija NO₂⁻ kretala se od 0,001 mg L⁻¹ (u travnju, svibnju i lipnju 2019.) do 0,137 mg L⁻¹ (rujan 2016.). Koncentracija NH₄⁺ varirala je od najniže u lipnju 2019. (0,004 mg L⁻¹) do najviše u svibnju 2016. godine (0,809 mg L⁻¹). Najviša koncentracija ukupnog dušika (TN) izmjerena je u lipnju 2016. godine (0,753 mg L⁻¹), a najniža (0,180 mg L⁻¹) u srpnju 2019. godine.

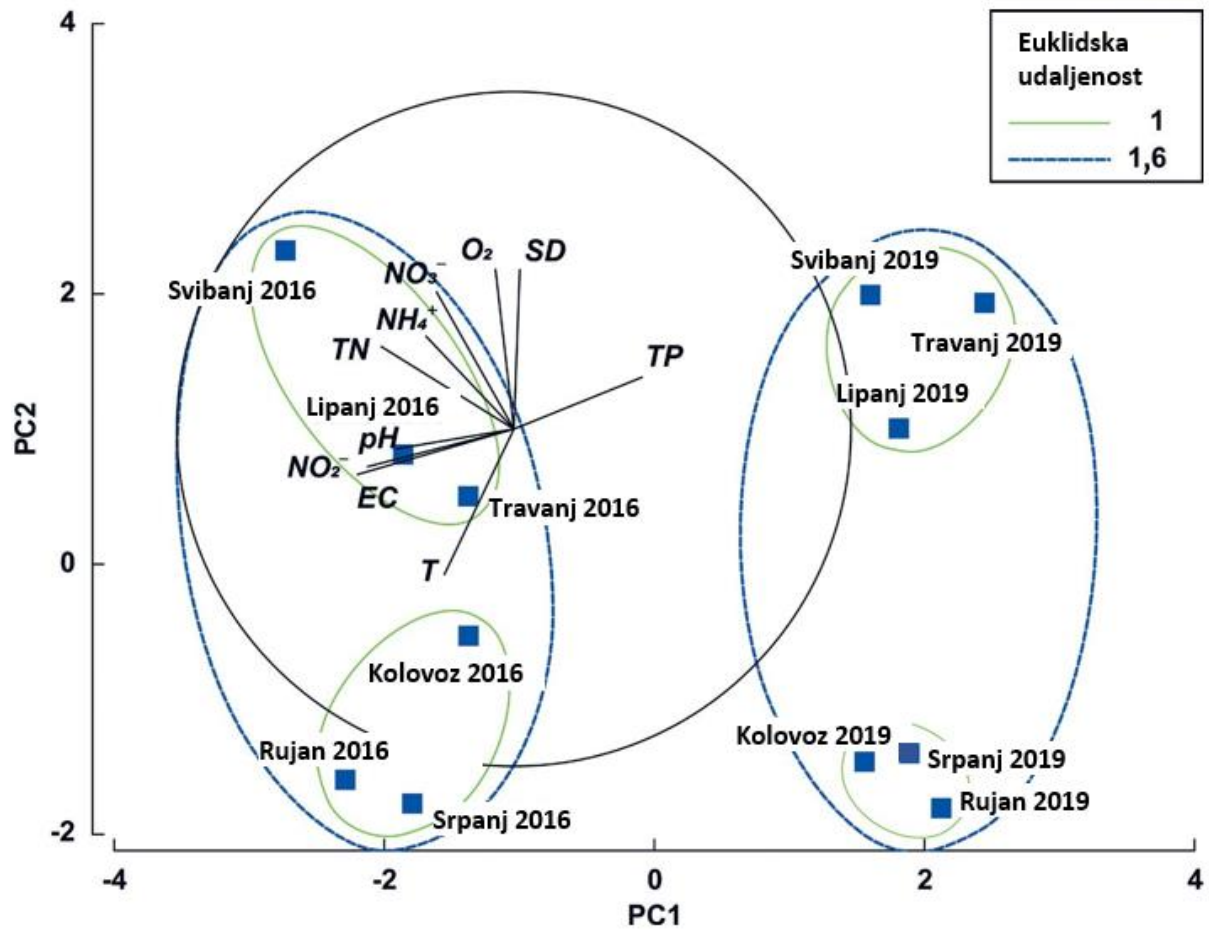
Tablica 10. Kemijski čimbenici na monitoring postaji (V5) u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine izmjereni u laboratoriju. TP – ukupni fosfor, NO₃⁻ – nitrati, NO₂⁻ – nitriti, NH₄⁺ – amonij ion, TN – ukupni dušik.

	TP (mg L⁻¹)	NO₃⁻ (mg L⁻¹)	NO₂⁻ (mg L⁻¹)	NH₄⁺ (mg L⁻¹)	TN (mg L⁻¹)
2016.					
Travanj	0,010	0,162	0,035	0,052	0,488
Svibanj	0,004	0,302	0,074	0,809	0,680
Lipanj	0,010	0,147	0,128	0,123	0,753
Srpanj	0,011	0,147	0,106	0,069	0,305
Kolovoz	0,013	0,275	0,112	0,057	0,449
Rujan	0,001	0,224	0,137	0,033	0,408
2019.					
Travanj	0,072	0,240	0,001	0,006	0,280
Svibanj	0,022	0,220	0,001	0,005	0,230
Lipanj	0,028	0,200	0,001	0,004	0,250
Srpanj	0,024	0,034	0,002	0,008	0,180
Kolovoz	0,021	0,047	0,002	0,011	0,230
Rujan	0,033	0,036	0,004	0,012	0,190

Analiza glavnih komponenti (eng. Principal Component Analysis - PCA) provedena za 10 fizikalno-kemijskih čimbenika objasnila je 67,2 % ukupne varijance na prve dvije PC osi (Tablica 11). Najvažniji čimbenici za PCA os 1 bili su električna vodljivost i koncentracija NO_2^- (korelacije unutar skupa: -0,466 odnosno -0,436). Što se tiče osi 2, koncentracija O_2 , Secchi dubina i temperatura vode bile su varijable koje su imale najveću težinu za ordinaciju (korelacije unutar skupa: 0,476, 0,474 odnosno -0,433). Prema PCA analizi uzorci su razdvojeni u dvije skupine prema godinama uzorkovanja: prvu skupinu činili su uzorci iz 2016., a drugu skupinu uzorci iz 2019. godine (Slika 12). Unutar svake godine uzorci su dalje podijeljeni na proljetno (travanj, svibanj i lipanj) i ljetno razdoblje (srpanj, kolovoz i rujanj).

Tablica 11. Vrijednosti relativnih varijanci i faktora fizikalno-kemijskih čimbenika za prve dvije glavne komponente (PC1 i PC2) PCA analize.

Varijable	PC1	PC2
% Varijance	41,4	25,8
Kumulativni % varijance	41,4	67,2
Svojtvena vrijednost	4,14	2,58
Koncentracija O_2	-0,055	0,476
Temperatura	-0,207	-0,433
Secchi dubina	0,018	0,474
pH	-0,350	-0,059
Električna vodljivost	-0,466	-0,135
Ukupni fosfor (TP)	0,382	0,154
Nitrati (NO_3^-)	-0,230	0,408
Nitriti (NO_2^-)	-0,436	-0,112
Amonij ion (NH_4^+)	-0,262	0,276
Ukupni dušik (TN)	-0,395	0,245



Slika 12. Ordinacijski dijagram analize glavnih komponenti (PCA) fizikalno-kemijskih čimbenika na temelju Euklidske udaljenosti između uzoraka na monitoring postaji (V5) u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine. SD – Secchi dubina, T – temperatura, O₂ – koncentracija kisika, EC – električna vodljivost, TP – ukupni fosfor, NO₃⁻ – nitrati, NO₂⁻ – nitriti, NH₄⁺ – amonij ion, TN – ukupni dušik.

Najveći broj fitoplanktonskih svojti u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine (Tablica 12) zabilježen je u rujnu 2016. godine (33), dok je najmanji broj svojti zabilježen u travnju 2019. godine (12). Brojnost fitoplanktona kretala se između 358 070 st L⁻¹ (lipanj 2016.) i 4 881 190 st L⁻¹ (rujan 2016.). Margalefov indeks bogatstva kretao se od 0,848 u travnju 2019. do 2,108 u srpnju 2016. godine. Pielouov indeks ravnornosti varirao je između 0,219 u travnju 2016. i 0,727 u lipnju iste godine. Najniža vrijednost Shannon-Wienerovog indeksa raznolikosti bila je prisutna tijekom travnja 2016. godine (0,620), dok je najveća bila u srpnju iste godine (2,312).

Tablica 12. Ukupan broj svojti, brojnost stanica, Margalefov indeks bogatstva (d), Pielouov indeks ravnornosti (J') i Shannon-Wienerov indeks raznolikosti (H') fitoplanktona na monitoring postaji (V5) u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine.

	Broj svojti	Brojnost (st L⁻¹)	Margalefov indeks	Pielouov indeks	Shannon-Wienerov indeks
2016.					
Travanj	17	716 820	1,187	0,219	0,620
Svibanj	20	688 580	1,413	0,435	1,304
Lipanj	21	358 070	1,564	0,727	2,214
Srpanj	30	944 520	2,108	0,680	2,312
Kolovoz	24	1 265 840	1,637	0,526	1,671
Rujan	33	4 881 190	2,078	0,240	0,840
2019.					
Travanj	12	427 140	0,848	0,527	1,310
Svibanj	14	428 560	1,002	0,617	1,629
Lipanj	15	1 086 970	1,007	0,573	1,551
Srpanj	19	1 483 520	1,267	0,497	1,464
Kolovoz	23	726 750	1,630	0,639	2,003
Rujan	17	997 340	1,158	0,628	1,779

Biomasaom najzastupljenija vrsta fitoplanktona u Visovačkom jezeru tijekom 2016. godine bila je centrična dijatomeja *Pantocsekiella ocellata* (Pantocsek) K.T. Kiss & E. Ács (Tablica 13). Ostale vrste koje opisuju zajednicu fitoplanktona u Visovačkom jezeru su: *Tetraselmis cordiformis* (N. Carter) Stein i *Chlamydomonas* sp. iz skupine Chlorophyta te *Ceratium hirundinella* (O.F. Müller) Dujardin iz skupine Miozoa. Vrste roda *Dinobryon* nisu bile izrazito zastupljene u 2016. godini te se nisu osobito izdvajale u zajednici svojom dominacijom.

Tablica 13. Taksonomski sastav fitoplanktona u Visovačkom jezeru u razdoblju od travnja do rujna 2016. godine. Max – maksimalna biomasa mg L⁻¹, StDev – standardna devijacija, Fr – učestalost pojavljivanja.

Svojte	Max	StDev	Fr (%)
<i>Achnanthydium</i> sp.	0,002	0,001	83,33
<i>Anathece smithii</i> (Komárková-Legnerová & Cronberg) Komárek, Kastovsky & Jezberová	0,0004	0,0002	50
<i>Ankistrodesmus spiralis</i> (W.B.Turner) Lemmermann	0,002	0,001	100
<i>Ankyra lanceolata</i> (Korshikov) Fott	0,006	0,003	83,33
<i>Asterionella formosa</i> Hassall	0,02	0,01	100
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	0,006	0,002	33,33
<i>Bitrichia chodatii</i> (Reverdin) Chodat	0,01	0,004	83,33
<i>Ceratium hirundinella</i> (O.F.Müller) Dujardin	0,32	0,03	33,33
<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,05	0,02	83,33
<i>Chromulina pigra</i> Skuja	0,003	0,002	66,67
<i>Chroococcus dispersus</i> (Keissler) Lemmermann	0,001	0	16,67
<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg	0,006	0,002	83,33
<i>Coelastrum microporum</i> Nägeli	0,0002	0	16,67
<i>Cosmarium</i> sp.	0,002	0	16,67
<i>Cryptomonas</i> sp.	0,003	0,001	50
<i>Cymbella</i> sp.	0,001	0	16,67
<i>Diatoma vulgare</i> Bory de Saint-Vincent	0,02	0,01	83,33
<i>Dictyosphaerium subsolitarium</i> Van Goor	0,0004	0,0001	33,33
<i>Dinobryon bavareicum</i> Imhof	0,002	0,001	33,33
<i>Dinobryon crenulatum</i> West & G.S.West	0,003	0,001	66,67
<i>Dinobryon divergens</i> O.E.Imhof	0,002	0,0004	33,33
<i>Elakatothrix gelatinosa</i> Wille	0,001	0,0003	83,33
<i>Fragilaria crotonensis</i> Kitton	0,001	0	16,67
<i>Kephyrion ovale</i> (Lackey) Huber-Pestalozzi	0,0003	0,0002	33,33

Svojte	Max	StDev	Fr (%)
<i>Mallomonas</i> sp.	0,002	0,001	50
<i>Monoraphidium dybowskii</i> (Woloszynska) Hindák & Komárková Legnerová	0,002	0,001	66,67
<i>Monoraphidium minutum</i> (Nägeli) Komárková Legnerová	0,0001	0,00001	66,67
<i>Navicula lanceolata</i> Ehrenberg	0,008	0,003	66,67
<i>Nitzschia acicularis</i> (Kützing) W.Smith	0,04	0,02	33,33
<i>Ochromonas danica</i> E.G.Pringsheim	0,02	0,01	83,33
<i>Oocystis parva</i> West & G.S.West	0,003	0,001	66,67
<i>Pantocsekiella ocellata</i> (Pantocsek) K.T.Kiss & E.Ács	0,26	0,07	100
<i>Parvodinium inconspicuum</i> (Lemmermann) Carty	0,03	0,01	83,33
<i>Plagioselmis nannoplanctica</i> (H.Skuja) G.Novarino, I.A.N.Lucas & S.Morrall	0,004	0,002	100
<i>Planktosphaeria gelatinosa</i> G.M.Smith	0,0001	0,00004	66,67
<i>Radiococcus planktonicus</i> J.W.G.Lund	0,003	0,001	33,33
<i>Scenedesmus</i> sp.	0,0001	0,00003	33,33
<i>Sphaerocystis schroeteri</i> Chodat	0,03	0	16,67
<i>Tetraselmis cordiformis</i> (N.Carter) Stein	0,10	0,04	100
<i>Tetrastrum triangulare</i> (Chodat) Komárek	0,0002	0,0001	50
<i>Ulnaria acus</i> (Kützing) M.Aboal	0,005	0,002	83,33
<i>Woronichinia obtusa</i> Joosten	0,001	0	16,67

Najvažnije vrste koje opisuju zajednicu fitoplanktona Visovačkog jezera tijekom 2019. godine bile su *Ceratium hirundinella* (Miozoa) i centrična dijatomeja *Pantocsekiella ocellata* (Tablica 14). Ostale vrste koje su opisivale zajednicu fitoplanktona tijekom istog razdoblja bile su svojte *Cryptomonas* sp. i *Plagioselmis nannoplanctica* (Skuja) G. Novarino iz skupine Cryptophyta, penatna dijatomeja *Asterionella formosa* Hassall te *Parvodinium inconspicuum* iz skupine Miozoa.

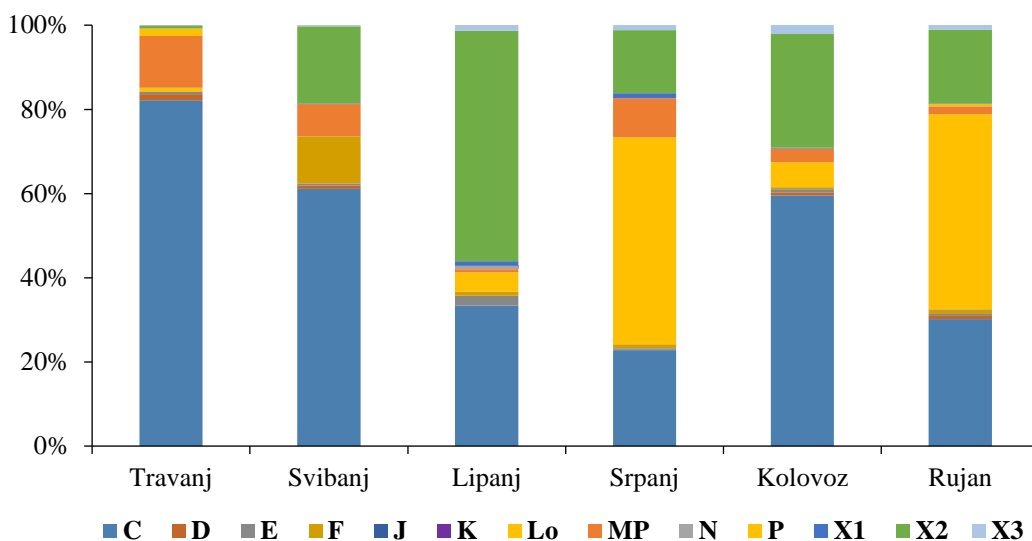
Tablica 14. Taksonomski sastav fitoplanktona u Visovačkom jezeru u razdoblju od travnja do rujna 2019. godine. Max – maksimalna biomasa mg L⁻¹, StDev – standardna devijacija, Fr – učestalost pojavljivanja.

Svojte	Max	StDev	Fr (%)
<i>Anathece smithii</i> (Komárková-Legnerová & Cronberg) Komárek, Kastovsky & Jezberová	0,00002	0,00001	50
<i>Ankistrodesmus nannoselene</i> Skuja	0,002	0	16,67
<i>Ankistrodesmus spiralis</i> (W.B.Turner) Lemmermann	0,001	0	16,67
<i>Ankyra lanceolata</i> (Korshikov) Fott	0,005	0,002	66,67
<i>Asterionella formosa</i> Hassall	0,02	0,008	66,67
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	0,02	0,01	33,33
<i>Bitrichia chodatii</i> (Reverdin) Chodat	0,01	0,002	66,67
<i>Ceratium hirundinella</i> (O.F.Müller) Dujardin	0,43	0,16	83,33
<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,01	0	16,67
<i>Chromulina pigra</i> Skuja	0,001	0,0003	66,67
<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg	0,002	0,001	50
<i>Coelastrum microporum</i> Nägeli	0,001	0	16,67
<i>Cryptomonas</i> sp.	0,18	0,07	100
<i>Cymbella</i> sp.	0,002	0	33,33
<i>Diatoma vulgare</i> Bory de Saint-Vincent	0,01	0	16,67
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	0,0002	0,0001	33,33
<i>Dinobryon bavaricum</i> Imhof	0,0002	0	33,33
<i>Dinobryon crenulatum</i> West & G.S.West	0,001	0,001	50
<i>Dinobryon divergens</i> O.E.Imhof	0,004	0,002	66,67
<i>Elakatothrix gelatinosa</i> Wille	0,001	0,0001	66,67
<i>Fragilaria crotonensis</i> Kitton	0,0001	0	16,67
<i>Gomphonema</i> sp.	0,002	0,001	50
<i>Monoraphidium dybowskii</i> (Woloszynska) Hindák & Komárkova Legnerová	0,002	0,001	83,33
<i>Monoraphidium minutum</i> (Nägeli) Komárková Legnerová	0,0001	0,00002	66,67
<i>Navicula lanceolata</i> Ehrenberg	0,01	0	16,67

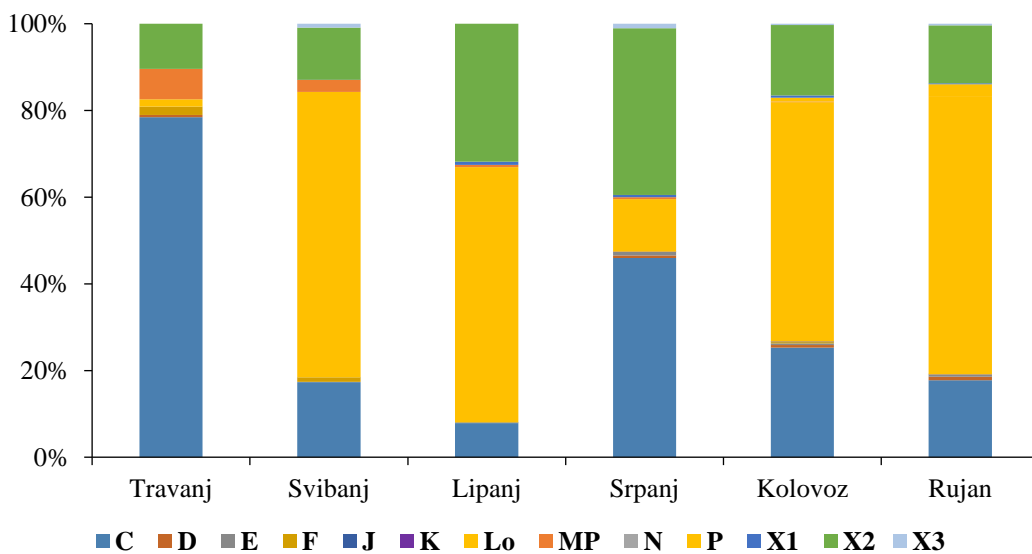
Svojte	Max	StDev	Fr (%)
<i>Oocystis parva</i> West & G.S.West	0,0005	0	16,67
<i>Pantocsekiella ocellata</i> (Pantocsek) K.T.Kiss & E.Ács	0,24	0,07	100
<i>Parvodinium inconspicuum</i> (Lemmermann) Carty	0,03	0,01	66,67
<i>Plagioselmis nannoplantica</i> (H.Skuja) G.Novarino, I.A.N.Lucas & S.Morrall	0,08	0,04	66,67
<i>Planktosphaeria gelatinosa</i> G.M.Smith	0,002	0,002	33,33
<i>Radiococcus planktonicus</i> J.W.G.Lund	0,0004	0	16,67
<i>Skeletonema potamos</i> (C.I.Weber) Hasle	0,004	0,002	33,33
<i>Tetraselmis cordiformis</i> (N.Carter) Stein	0,02	0,004	33,33
<i>Tetrastrum triangulare</i> (Chodat) Komárek	0,0004	0,0002	33,33
<i>Ulnaria acus</i> (Kützing) M.Aboal	0,003	0,001	66,67
<i>Woronichinia</i> sp.	0,00001	0	16,67

Travanj i svibanj 2016. godine karakterizirala je funkcionalna skupina **C**, koja je dominirala zajednicom s 82 % odnosno 61 % ukupne biomase fitoplanktona (Slika 13). Kodon **MP** pojavio se kao subdominantan tijekom travnja (12 %), da bi u svibnju pao na 8 % ukupne biomase te bio zamijenjen kodonima **X2** i **F** kao subdominantnima (s 18 % odnosno 11 % ukupne biomase fitoplanktona). Tijekom lipnja 2016. najveći porast biomase imala je funkcionalna skupina **X2** i preuzela dominaciju (55 % ukupne biomase fitoplanktona), dok je kodon **C** subdominantan (33 %). Tijekom srpnja 2016. godine skupina **X2** zamijenjena je funkcionalnim skupinama **Lo** i **C** (s 49 %, odnosno 23 % ukupne biomase fitoplanktona). Funkcionalna skupina **C** ponovno je postala dominantna u kolovozu 2016. (59 %), a slijedi je kodon **X2** (27 %). Funkcionalne skupine koje opisuju zajednicu u rujnu 2016. bile su **Lo** i **C** (s 46 %, odnosno 30 % ukupne biomase fitoplanktona).

Tijekom travnja 2019. godine funkcionalna skupina **C** dominirala je zajednicom sa 78 % ukupne biomase fitoplanktona (Slika 14). Relativna biomasa kodona **C** značajno se smanjila tijekom svibnja 2019. na 17 %, dok se kodon **Lo** pokazao dominantnim (66 %). Funkcionalna skupina **Lo** nastavila je dominirati tijekom lipnja 2019. godine (59 %), a slijedi je kodon **X2** (32 %). Tijekom srpnja 2019. skupina **C** ponovno je postala dominantna (46 %), dok je kodon **X2** ostao subdominantan (38 %). U kolovozu i rujnu 2019. godine funkcionalna skupina **Lo** preuzela je dominaciju (s 55 % odnosno 64 % ukupne biomase fitoplanktona), dok je funkcionalna skupina **C** postala subdominantna (s 25 % odnosno 18 % ukupne biomase fitoplanktona).



Slika 13. Relativni udio biomase funkcionalnih skupina na monitoring postaji (V5) u Visovačkom jezeru u 2016. godini.

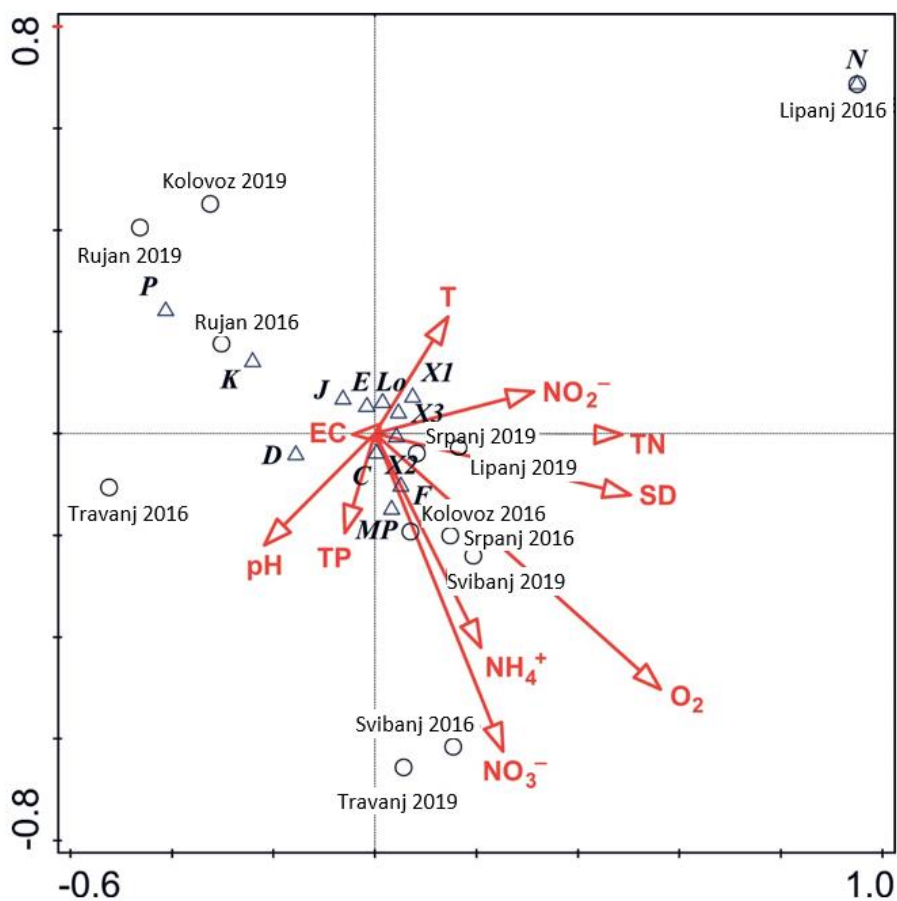


Slika 14. Relativni udio biomase funkcionalnih skupina na monitoring postaji (V5) u Visovačkom jezeru u 2019. godini.

Korelacija između izmjerenih fizikalno-kemijskih čimbenika i biomase funkcionalnih skupina fitoplanktona istražena je pomoću kanoničke analize korespondencije (CCA). Ukupna varijanca iznosila je 0,3188, dok su eksplanatorne varijable činile 97,7 % (prilagođena objašnjena varijanca bila je 74,6 %). Monte Carlo permutacijski test potvrdio je značajnost CCA modela (pseudo-F = 4,2, $p = 0,026$). Svojtvene vrijednosti osi 1 i 2 bile su 0,1044 i 0,0695 te su činile 32,76 % odnosno 54,55 % objašnjene varijance (Tablica 15). Prva os je uglavnom objašnjena Secchi dubinom, TN i NO_2^- , dok drugu os pretežno opisuju O_2 , NO_3^- i NH_4^+ te TP (Slika 15). Većina kodona nalazila se u središtu CCA triplota. Izdvojena je funkcionalna skupina **N** koja se pojavila isključivo u lipnju 2016. godine. Kodoni **L₀**, **X1** i **X3** pozitivno su povezani s temperaturom i NO_2^- . Funkcionalne skupine **P** i **K** smještene su na CCA triplotu zajedno s uzorcima iz rujna 2016., kolovoza i rujna 2019. te su pokazale negativan odnos prema čimbenicima Secchi disk i O_2 , a i s amonijem i nitratima. Funkcionalna skupina **J** negativno je korelirala s O_2 . Kodon **D** i uzorak iz travnja 2016. pokazali su pozitivan odnos s pH i električnom vodljivosti. Funkcionalna skupina **C** korelirala je s TP i NO_3^- , a kodon **MP** s NO_3^- . Kodon **F** je na osima za NH_4^+ i NO_3^- . Uzorci iz travnja 2019. i svibnja 2016. bili su pozitivno povezani s NO_3^- . Uzorci iz kolovoza 2019. idu prema NO_3^- , dok su uzorci iz srpnja 2016. i svibnja 2019. su između NH_4^+ i O_2 . Funkcionalna skupina **X2** te uzorci iz lipnja i srpnja 2019. bili su povezani sa Secchi dubinom i TN.

Tablica 15. Svojtvene vrijednosti četiri osi CCA analize na osnovi relativne biomase funkcionalnih skupina, fizikalno-kemijskih čimbenika i uzoraka u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine.

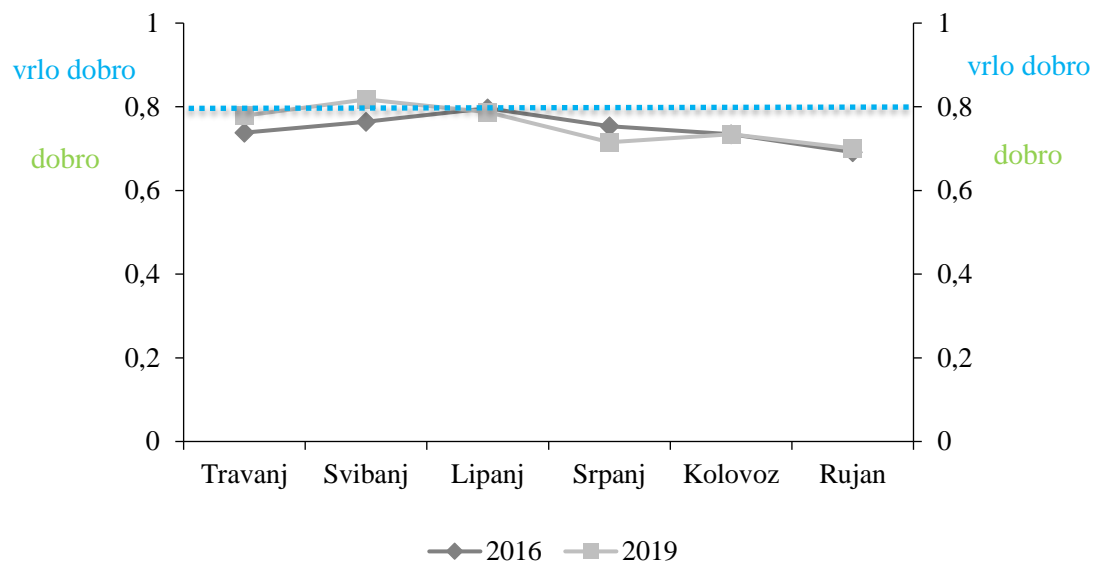
CCA osi	1	2	3	4
Svojtvena vrijednost	0,1044	0,0695	0,0590	0,0279
Objašnjeni kumulativni % varijance	32,76	54,55	73,07	81,83
Pseudo-kanonička korelacija	0,9999	0,9874	0,9998	0,9906
Objašnjena varijanca (kumulativno)	33,53	55,84	74,80	83,76



Slika 15. CCA triplot na osnovi relativne biomase funkcionalnih skupina, fizikalno-kemijskih čimbenika i uzoraka u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine. O₂ – koncentracija kisika, T – temperatura, SD – Secchi dubina, EC – električna vodljivost, TP – ukupni fosfor, NO₃⁻ – nitrati, NO₂⁻ – nitriti, NH₄⁺ – amonijevi ioni, TN – ukupni dušik.

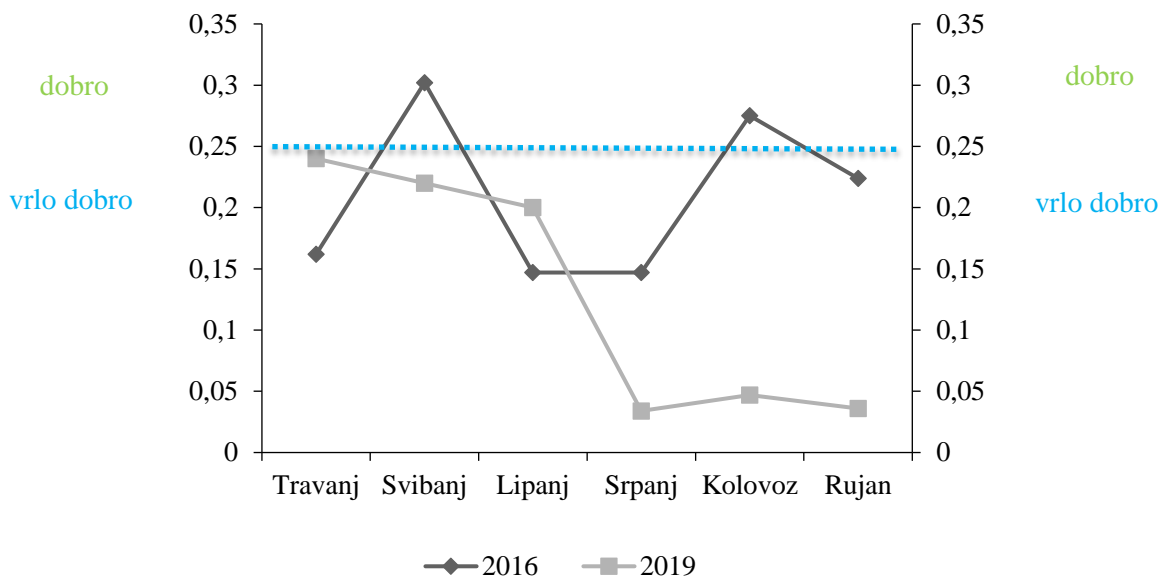
4.2. Usporedba stupnja trofije s ekološkim stanjem

Na temelju HLPI indeksa ekološko stanje Visovačkog jezera ocijenjeno je kao dobro, osim u lipnju 2016. i svibnju 2019. kada je bilo vrlo dobro (Slika 16). U 2016. godini HLPI indeks kretao se u rasponu od 0,69 (rujan) do 0,80 (lipanj), a u 2019. godini od 0,70 (rujan) do 0,82 (svibanj).



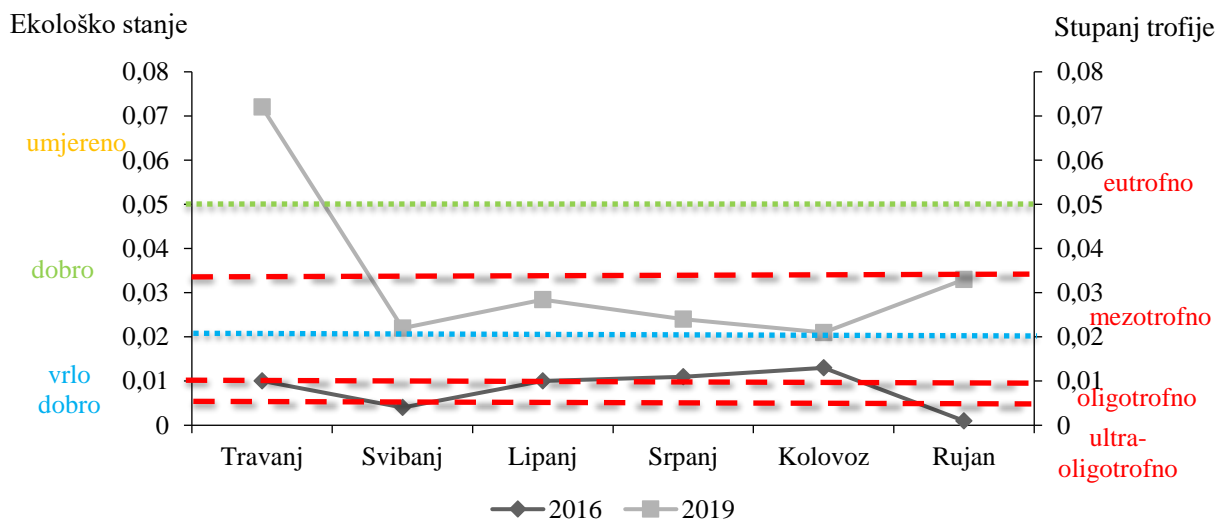
Slika 16. Ocjena ekološkog stanja Visovačkog jezera na monitoring postaji (V5) korištenjem HLPI indeksa. Granične vrijednosti (plava točkasta linija) ekološkog stanja prema Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019).

Prosječna godišnja koncentracija nitrata u 2016. godini bila je 0,21 mg L⁻¹, dok je u 2019. godina bila 0,13 mg L⁻¹ (Slika 17). Uzimajući u obzir koncentraciju nitrata, ekološko stanje Visovačkog jezera bilo je vrlo dobro, osim u svibnju i kolovozu 2016. kada je ocijenjeno kao dobro.



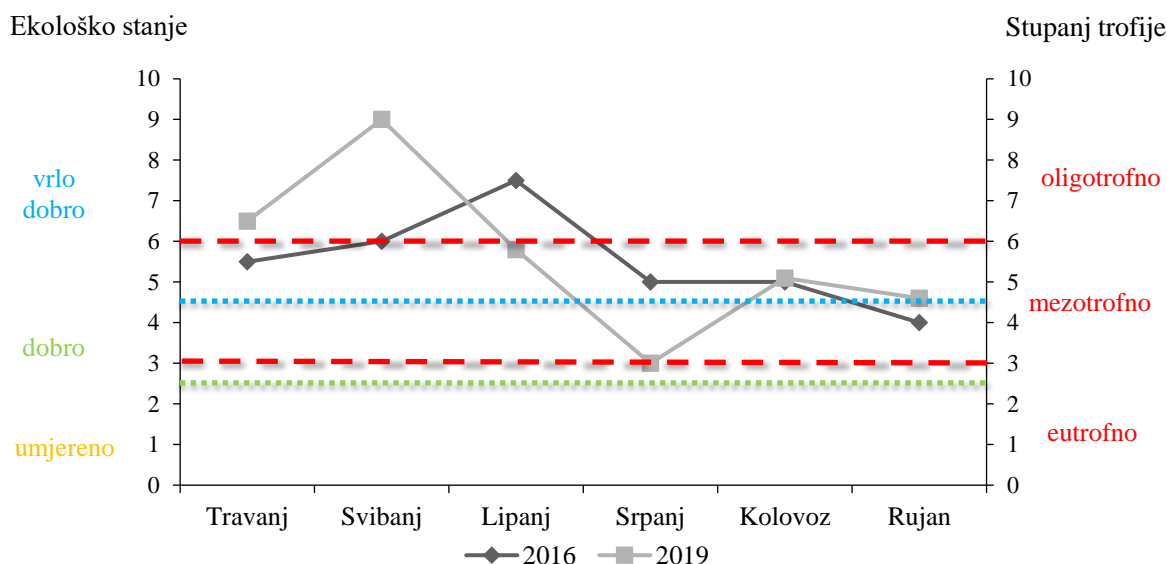
Slika 17. Ocjena ekološkog stanja Visovačkog jezera na monitoring postaji (V5) prema koncentraciji nitrata NO₃⁻ (mg L⁻¹). Granične vrijednosti (plava točkasta linija) ekološkog stanja prema Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019).

Srednja godišnja koncentracija TP u 2016. godini iznosila je $0,008 \text{ mg L}^{-1}$, dok je u 2019. godini iznosila $0,033 \text{ mg L}^{-1}$ (Slika 18). Tijekom 2016. godine Visovačko jezero bilo je uglavnom u granicama mezotrofnog, osim u svibnju i rujnu, kada je klasificirano kao ultra-oligotrofno. Tijekom 2019. godine stupanj trofije jezera okarakteriziran je kao mezotrofan, osim u travnju kada je jezero ocijenjeno stupnjem eutrofno. Prema koncentraciji TP ekološko je stanje Visovačkog jezera u 2016. godini bilo vrlo dobro, dok je u 2019. godini uglavnom bilo u dobrom ekološkom stanju, osim u travnju kada je jezero naginjala prema umjerenom ekološkom stanju.



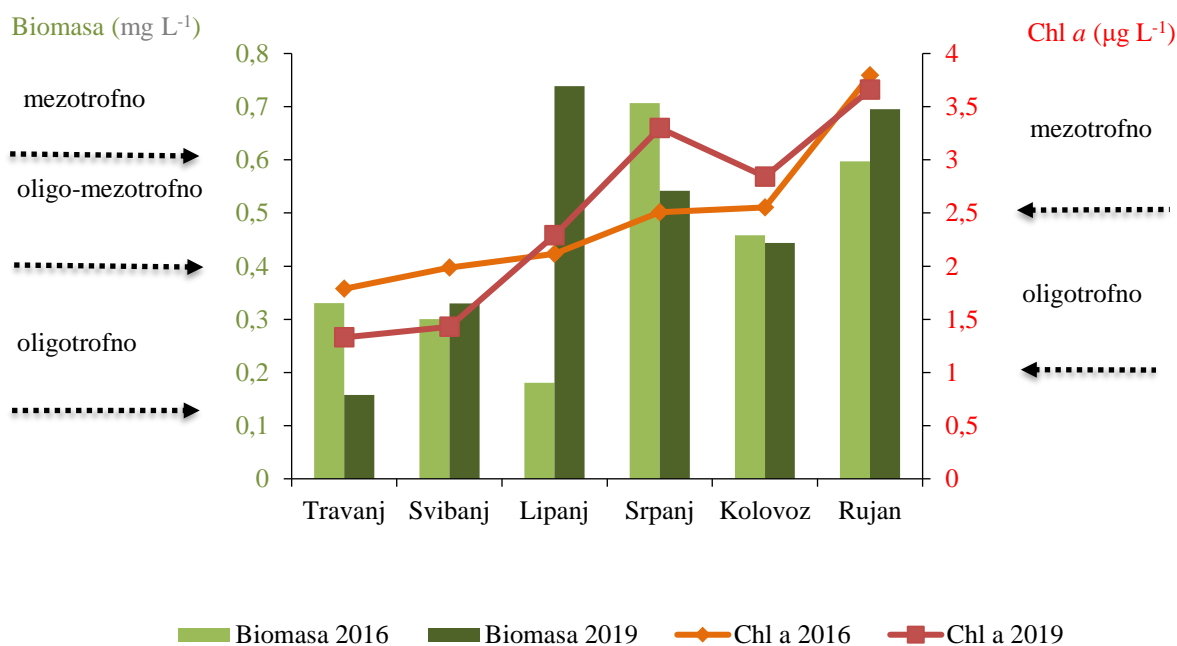
Slika 18. Ocjena stupnja trofije* i ekološkog** stanja Visovačkog jezera na monitoring postaji (V5) prema koncentraciji ukupnog fosfora (mg L^{-1}). *Granične vrijednosti (crvene točkaste linije) prema OECD-u (1982), **granične vrijednosti (zelena i plava točkasta linija) prema Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019).

Srednja godišnja Secchi dubina u 2016. godini bila je 5,50 m, dok je u 2019. iznosila 5,70 m (Slika 19). Tijekom 2016. godine Visovačko jezero je uglavnom bilo u granicama mezotrofnog, osim oligotrofnih uvjeta zabilježenih u lipnju. Stupanj trofije jezera tijekom 2019. godine spustio se iz oligotrofnog (travanj i svibanj) prema mezotrofnom (lipanj, kolovoz i rujan), dok je u srpnju bilo eutrofno. Prema Secchi dubini, Visovačko jezero je uglavnom bilo u vrlo dobrom ekološkom stanju, osim u rujnu 2016. i srpnju 2019. kada je bilo u dobrom ekološkom stanju.



Slika 19. Ocjena stupnja trofije* i ekološkog** stanja Visovačkog jezera na monitoring postaji (V5) prema Secchi dubini (m). *Granične vrijednosti (crvene točkaste linije) prema OECD-u (1982), **granične vrijednosti (zelena i plava točkasta linija) prema Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019).

Najniže koncentracije Chl *a* u Visovačkom jezeru izmjerene su u travnju 2016. i 2019. (1,79 $\mu\text{g L}^{-1}$ i 1,33 $\mu\text{g L}^{-1}$), dok su najviše zabilježene u rujnu obje godine (3,80 $\mu\text{g L}^{-1}$ i 3,66 $\mu\text{g L}^{-1}$). Uzimajući u obzir koncentraciju Chl *a*, tijekom proljetnih je mjeseci u obje istraživane godine (od travnja do lipnja) Visovačko jezero bilo u granicama oligotrofnog stupnja, dok je u ljetnom razdoblju (od srpnja do rujna) bilo mezotrofno (Slika 20). Ukupna biomasa fitoplanktona u 2016. kretala se od 0,18 mg L^{-1} (lipanj) do 0,71 mg L^{-1} (srpanj). Tijekom 2019. najniža zabilježena biomasa bila je u travnju (0,16 mg L^{-1}), dok je najveća bila u lipnju (0,74 mg L^{-1}). Tijekom travnja, svibnja i lipnja 2016. Visovačko jezero je bilo oligotrofno, prelazeći u mezotrofno tijekom srpnja i rujna, dok je u kolovozu bilo oligo-mezotrofno. Što se tiče 2019. godine, prema ukupnoj biomasi fitoplanktona Visovačko jezero je okarakterizirano kao oligotrofno tijekom travnja i svibnja, mezotrofno tijekom lipnja i rujna te oligo-mezotrofno tijekom srpnja i kolovoza.



Slika 20. Ocjena stupnja trofije Visovačkog jezera na monitoring postaji (V5) prema ukupnoj biomasi fitoplanktona* i koncentraciji klorofila *a***.

*Granične vrijednosti prema Brettumu (1989), ** granične vrijednosti prema OECD-u (1982).

Spearmanov koeficijent korelacije ranga korišten je za testiranje razine značajnosti međuodnosa Chl *a* i HLPI indeksa s fizikalno-kemijskim čimbenicima (Tablica 16). Koncentracija Chl *a* pokazala je statistički značajnu pozitivnu korelaciju s temperaturom i negativnu korelaciju s koncentracijom O₂ i Secchi dubinom. HLPI je bio u pozitivnoj korelaciji s koncentracijom O₂ i Secchi dubinom.

Tablica 16. Spearmanov koeficijent korelacije ranga (*r*, *N* = 12) između fizikalno-kemijskih čimbenika, klorofila *a* i HLPI. Korelacije označene crvenom bojom označavaju statističku značajnost *p* < 0,05. O₂ – koncentracija kisika, T – temperatura, SD – Secchi dubina, EC – električna vodljivost, TP – ukupni fosfor, NO₃⁻ – nitrati, NO₂⁻ – nitriti, NH₄⁺ – amonijev ion, TN – ukupni dušik.

	O ₂ (mg L ⁻¹)	T (°C)	SD (m)	pH	EC (μS cm ⁻¹)	TP (mg L ⁻¹)	NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹)	TN (mg L ⁻¹)
Chl <i>a</i>	-0,839	0,678	-0,872	-0,224	0,273	-0,091	-0,448	0,372	0,070	-0,347
HLPI	0,734	-0,462	0,928	-0,021	-0,497	0,133	0,259	-0,382	-0,133	0,256

Ekološko stanje Visovačkog jezera tijekom 2016. godine okarakterizirano je kao vrlo dobro 16 puta i dobro 8 puta (Tablica 17a). Tijekom 2019. ekološko stanje jezera bilo je vrlo dobro u 12 slučajeva, dobro u 11 slučajeva i jednom umjereno (Tablica 17b). Ocjena ekološkog stanja varirala je ovisno o korištenom pokazatelju, a posebno za uzorke iz travnja 2019. godine. Rezultati stupnja trofije bili su heterogeniji. Tijekom 2016. godine Visovačko jezero je 14 puta okarakterizirano kao mezotrofno, jednom oligo-mezotrofno, 7 puta oligotrofno i 2 puta ultra-oligotrofno. Što se tiče 2019. godine, stupanj trofije je ocijenjen kao mezotrofno u 13 slučajeva, oligo-mezotrofno u 2 slučaja, oligotrofno u 7 slučajeva te eutrofno u 2 slučaja.

Tablica 17. Stupanj trofije* i ekološko** stanje Visovačkog jezera na monitoring postaji (V5) prema različitim pokazateljima. *Granične vrijednosti prema OECD-u (1982) i Brettumu (1989), **granične vrijednosti prema Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019). SD – Secchi dubina, TP – ukupni fosfor, NO₃⁻ – nitrati, Chl *a* – klorofil *a*, eu – eutrofno, mezo – mezotrofno, oligo-mezo – oligo-mezotrofno, oligo – oligotrofno, ultra-oligo – ultra-oligotrofno.

a) 2016. godina

Pokazatelj	Travanj	Svibanj	Lipanj	Srpanj	Kolovoz	Rujan
Ekološko stanje						
SD	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	dobro
TP	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro
NO ₃ ⁻	vrlo dobro	dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	dobro	vrlo dobro
HLPI	dobro	dobro	vrlo dobro	dobro	dobro	dobro
Stupanj trofije						
SD	mezo	mezo	oligo	mezo	mezo	mezo
TP	mezo	ultra-oligo	mezo	mezo	mezo	ultra-oligo
Chl <i>a</i>	oligo	oligo	oligo	mezo	mezo	mezo
Biomasa	oligo	oligo	oligo	mezo	oligo-mezo	mezo

b) 2019. godina

Pokazatelj	Travanj	Svibanj	Lipanj	Srpanj	Kolovoz	Rujan
Ekološko stanje						
SD	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	dobro	vrlo dobro	vrlo dobro
TP	umjereno	dobro	dobro	dobro	dobro	dobro
NO ₃ ⁻	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro	vrlo dobro
HLPI	dobro	vrlo dobro	dobro	dobro	dobro	dobro
Stupanj trofije						
SD	oligo	oligo	mezo	eu	mezo	mezo
TP	eu	mezo	mezo	mezo	mezo	mezo
Chl <i>a</i>	oligo	oligo	oligo	mezo	mezo	mezo
Biomasa	oligo	oligo	mezo	oligo-mezo	oligo-mezo	mezo

4.3. Uspostava standarda u ocjeni stupnja trofije i primjena nove generacije monitoringa u ocjeni ekološkog stanja

Na temelju rezultata ocjene stupnja trofije i ekološkog stanja predložena je usporedba ekološkog i trofičkog stanja Visovačkog jezera (Tablica 18), gdje je vrlo dobro ekološko stanje istovrijedno oligotrofnom stupnju trofije, dobro ekološko stanje je istovrijedno oligotrofnom i mezotrofnom stupnju trofije, umjereno ekološko stanje mezotrofnom i eutrofnom stupnju trofije, loše ekološko stanje eutrofnom stupnju trofije, dok je vrlo loše ekološko stanje izjednačeno s hipereutrofnim stupnjem trofije.

Tablica 18. Prijedlog usporedbe ekološkog stanja i stupnja trofije Visovačkog jezera.

Ekološko stanje	Stupanj trofije
vrlo dobro	oligotrofno
dobro	oligotrofno mezotrofno
umjereno	mezotrofno eutrofno
loše	eutrofno
vrlo loše	hipereutrofno

Kako bi se dobile granične vrijednosti za ocjenu stupnja trofije pomoću koncentracije klorofila *a* su korištene jednadžbe navedene u tablicama 4. i 5. u poglavlju Materijali i metode. Na temelju dobivenih rezultata predložene su granične vrijednosti za ocjenu u Tablici 19.

Tablica 19. Predložene granične vrijednosti za određivanje stupnja trofije Visovačkog jezera pomoću koncentracije klorofila *a*.

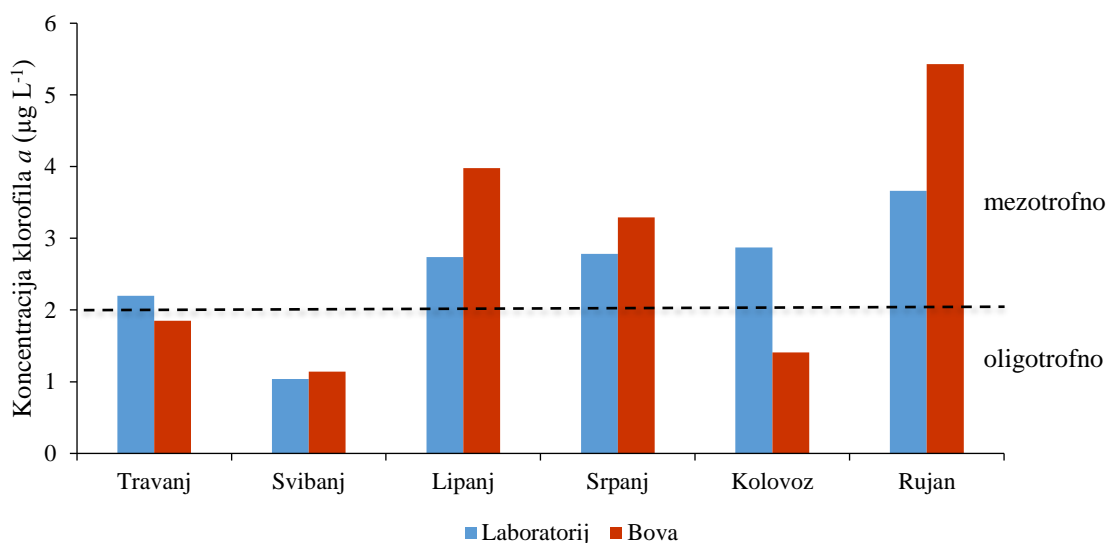
Stupanj trofije	Granične vrijednosti klorofila <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$)
ultra-oligotrofno	< 1
oligotrofno	1- 1,99
mezotrofno	2 – 6,99
eutrofno	7 – 24,99
hipereutrofno	≥ 25

Razvoj informacijskih i komunikacijskih tehnologija zadnjih godina omogućio je automatiziranje monitoringa te upravljanje praćenim ekosustavima u realnom vremenu. Sonda za mjerenje klorofila *a*, uz druge senzore za mjerenje fizikalno-kemijskih čimbenika u Visovačkom jezeru, nalazi se na energetske samoodrživoj plutači, tj. bovi s ugrađenim solarnim panelima koji omogućavaju automatsku dojavu izmjerenih vrijednosti kroz softverski sustav počevši od 16. svibnja 2018. godine kao dio provedbenih aktivnosti EcoSUSTAIN projekta. Prema podacima Javne ustanove „Nacionalni park Krka“ o izmjerenim koncentracijama klorofila *a* pomoću sonde na bovi te uzimajući prosječne dnevne vrijednosti, primijećena su odstupanja u odnosu na koncentracije klorofila *a* koje su izmjerene spektrofotometrijskom metodom u laboratoriju na isti dan tijekom istraživanja 2019. godine (Tablica 20). Koncentracije klorofila *a* izmjerene na bovi bile su u prosjeku veće od onih izmjerenih u laboratoriju. Najveća razlika u mjerenoj koncentraciji klorofila *a* zabilježena je u rujnu 2019. godine ($1,77 \mu\text{g L}^{-1}$).

Tablica 20. Koncentracija klorofila *a* izmjerena spektrofotometrijski u laboratoriju i na bovi na postaji V4 (od travnja do kolovoza), tj. monitoring postaji V5 u rujnu 2019. godine u Visovačkom jezeru.

Chl <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$)	25. travanj	23. svibanj	18. lipanj	25. srpanj	27. kolovoz	26. rujanj
Laboratorij	2,20	1,04	2,74	2,78	2,87	3,66
Bova	1,85	1,14	3,98	3,29	1,41	5,43

Uzimajući u obzir predloženu graničnu vrijednost za pokazatelj koncentracija klorofila *a* za granicu stupnja trofije između oligotrofnog i mezotrofnog ($2 \mu\text{g L}^{-1}$) može se primijetiti da je u četiri od šest slučajeva ocjena stupnja trofije bila usklađena (Slika 21). U lipnju, srpnju i rujnu prema koncentraciji klorofila *a* dobivenoj u laboratoriju i na bovi Visovačko jezero je bilo mezotrofno, dok je u svibnju bilo oligotrofno. Ovisno o metodi dobivene koncentracije klorofila *a* stupanj trofije se razlikovao u travnju (prema laboratoriju mezotrofno, a prema bovi oligotrofno) i kolovozu (prema laboratoriju mezotrofno, a prema bovi oligotrofno).



Slika 21. Ocjena stupnja trofije Visovačkog jezera na postaji V4 (od travnja do kolovoza), tj. monitoring postaji V5 u rujnu 2019. godine prema koncentraciji klorofila *a* izmjerenoj spektrofotometrijski u laboratoriju i na bovi.

4.4. Horizontalna raspodjela fitoplanktona u Visovačkom jezeru tijekom 2018. godine

Fizikalno-kemijski čimbenici izmjereni *in situ* u kompozitnim uzorcima u kolovozu 2018. godine prikazani su u Tablici 21. Najplića postaja bila je V10 (5 m) s eufotičkom zonom koja se proteže duž cijelog vodenog stupca. Postaje s najvećim maksimalnim dubinama bile su V7 i V9 (24 m odnosno 23 m). Secchi dubina kretala se od 2,5 m (postaja V2) do 5 m (postaja V9). Temperatura vode kretala se od 20,6 °C na postaji V7 do 26,2 °C na postaji V10. Najniža koncentracija O₂ zabilježena je na postaji V4 (9,03 mg L⁻¹), a najveća na postaji V1 (11,68 mg L⁻¹). Zasićenost kisikom bila je u rasponu od 102,6 % (postaja V4) do 138 % (postaja V1). Najniži pH zabilježen je na postaji V7 (7,75), a najviši na postaji V1 (8,00). Električna vodljivost vode kretala se od 494 μS cm⁻¹ na postaji V10 do 562 μS cm⁻¹ na postaji V6.

Tablica 21. Fizikalno-kemijski čimbenici izmjereni *in situ* u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine. SD – Secchi dubina, Z_{EU} – dubina eufotičke zone, T – temperatura, O₂ – koncentracija kisika, O₂ (%) – zasićenje kisikom, EC – električna vodljivost.

Postaja	Maksimalna dubina (m)	SD (m)	Z _{EU} (m)	T (°C)	O ₂ (mg L ⁻¹)	O ₂ (%)	pH	EC (μS cm ⁻¹)
V1	15,2	3,0	7,5	23,8	11,68	138,0	8,00	545
V2	18,0	2,5	6,25	23,3	11,03	129,8	7,99	547
V3	18,0	3,0	7,5	22,0	10,00	115,0	7,84	556
V4	15,5	4,0	10,0	21,5	9,03	102,6	7,79	559
V5	18,0	3,5	8,75	22,1	9,79	113,0	7,94	559
V6	15,0	3,5	8,75	21,7	9,09	103,3	7,77	562
V7	24,0	3,5	8,75	20,6	11,14	124,5	7,75	545
V9	23,0	5,0	12,5	25,9	10,18	125,6	7,84	505
V10	5,0	4,5	5,0	26,2	9,97	123,5	7,98	494

Kemijski čimbenici vode izmjereni u laboratoriju prikazani su u Tablici 22. Koncentracija NO_3^- bila je vrlo niska na većini postaja ($< 0,1 \text{ mg L}^{-1}$), s nešto višim vrijednostima na postajama V4 ($0,7 \text{ mg L}^{-1}$) i V5 ($0,3 \text{ mg L}^{-1}$). Na svim postajama zabilježene su vrlo niske koncentracije NO_2^- i NH_4^+ ($< 0,001 \text{ mg L}^{-1}$, odnosno $< 0,01 \text{ mg L}^{-1}$). Koncentracija PO_4^{3-} varirala je od najniže ispod granice detekcije na ukupno šest postaja ($< 0,01 \text{ mg L}^{-1}$) do najviše izmjerene na postaji V9 ($0,06 \text{ mg L}^{-1}$). Vrijednosti SiO_2 kretale su se od najniže na postaji V9 ($1,5 \text{ mg L}^{-1}$) do najviše na postaji V6 ($4,5 \text{ mg L}^{-1}$). Najveća koncentracija TN izmjerena je na postajama V4 i V5 (1 mg L^{-1}), dok je na ostalim postajama bila vrlo niska ($< 1 \text{ mg L}^{-1}$). Najniže koncentracije anorganskih spojeva ugljika detektirane su na postaji V3 (TIC i DIC od $11,48 \text{ mg L}^{-1}$ odnosno $10,32 \text{ mg L}^{-1}$), dok su najviše bile prisutne na postaji V7 (TIC i DIC od $13,98 \text{ mg L}^{-1}$ odnosno $13,83 \text{ mg L}^{-1}$). TOC je bio u rasponu između $1,55 \text{ mg L}^{-1}$ (postaja V3) i $2,39 \text{ mg L}^{-1}$ (postaja V7). Vrijednosti DOC kretale su se od $0,80 \text{ mg L}^{-1}$ (postaja V2) do $2,37 \text{ mg L}^{-1}$ (postaja V1), dok su vrijednosti HCO_3^- bile u rasponu od 151 mg L^{-1} (postaja V4) do 212 mg L^{-1} (postaja V7).

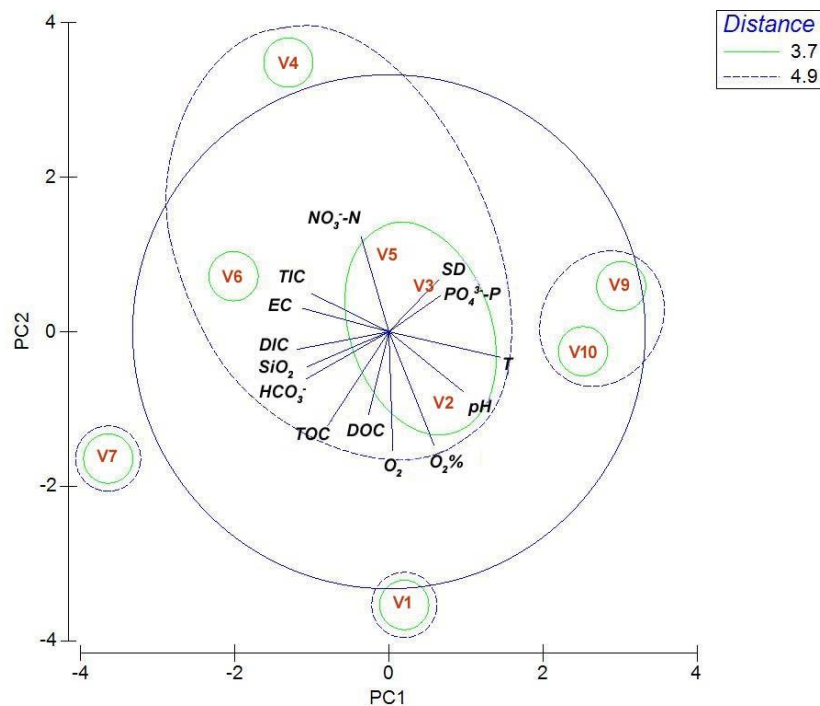
Tablica 22. Kemijski čimbenici izmjereni u laboratoriju iz kompozitnih uzoraka u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine. NO_3^- – nitrati, NO_2^- – nitriti, NH_4^+ – amonijevi ioni, PO_4^{3-} – ortofosfati, SiO_2 – ukupni silicij, TN – ukupni dušik, TIC – ukupni anorganski ugljik, DIC – otopljeni anorganski ugljik, TOC – ukupni organski ugljik, DOC – otopljeni organski ugljik, HCO_3^- – bikarbonati.

Postaja/ (mg L^{-1})	NO_3^-	NO_2^-	NH_4^+	PO_4^{3-}	SiO_2	TN	TIC	DIC	TOC	DOC	HCO_3^-
V1	$< 0,1$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,01$	4,0	< 1	11,84	11,38	2,25	2,37	163
V2	$< 0,1$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,01$	2,8	< 1	11,82	11,68	1,65	0,80	171
V3	$< 0,1$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,01$	2,6	< 1	11,48	10,32	1,55	1,11	173
V4	0,7	$< 0,001$	$< 0,01$	0,02	3,3	1	13,65	12,12	1,57	1,09	151
V5	0,3	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,01$	2,5	1	12,52	11,38	1,67	1,17	164
V6	$< 0,1$	$< 0,001$	$< 0,01$	0,02	4,5	< 1	12,21	11,85	1,94	1,47	189
V7	$< 0,1$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,01$	3,5	< 1	13,98	13,83	2,39	1,50	212
V9	$< 0,1$	$< 0,001$	$< 0,01$	0,06	1,5	< 1	12,29	11,25	1,76	1,33	163
V10	$< 0,1$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,01$	3,0	< 1	12,15	11,08	1,74	1,18	161

Analiza glavnih komponenti (PCA) provedena za 14 fizikalno-kemijskih čimbenika objasnila je 59 % ukupne varijance na prve dvije PC osi (Tablica 23). NO_2^- i NH_4^+ isključeni su iz PCA jer njihove koncentracije nisu varirale među postajama. Najvažniji čimbenici za PCA os 1 bili su temperatura, DIC i električna vodljivost (korelacije unutar skupa: 0,433, -0,361 i -0,338). Što se tiče osi 2, koncentracija O_2 , nitrati i TOC bile su varijable koje su imale najveću težinu za ordinaciju (korelacije unutar skupa: -0,464, 0,369 i -0,368). PCA je rasporedio uzorke (Slika 22) u četiri skupine: prvu skupinu činili su uzorci sa središnjih postaja (V3, V4, V5, V6) i jedan uzorak s gornje postaje (V2), dok su drugu skupinu činili uzorci s donjeg dijela jezera (V9 i V10). Izdvojen je uzorak V1 iz najgornjeg dijela te uzorak V7 iz donjeg dijela jezera.

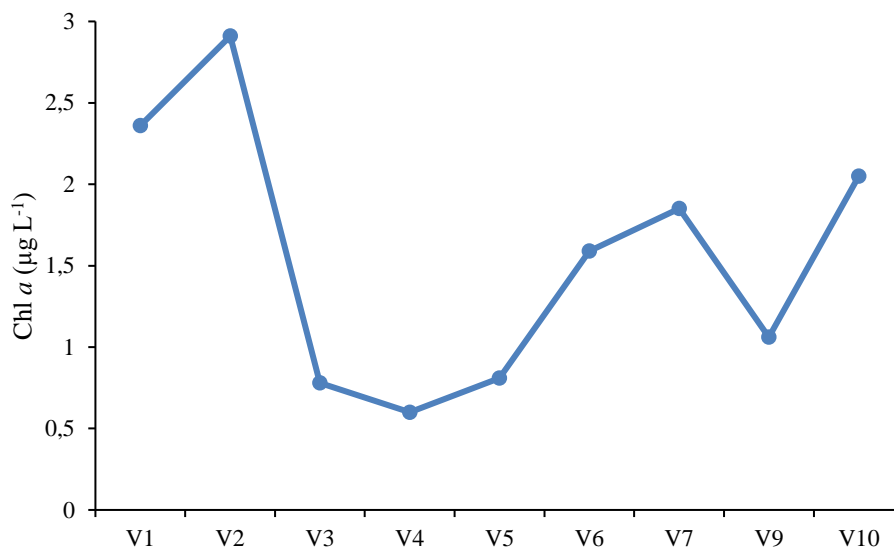
Tablica 23. Vrijednosti relativnih varijanci i faktora fizikalno-kemijskih čimbenika za prve dvije glavne komponente (PC1 i PC2) PCA analize.

Varijable	PC1	PC2
% Varijance	31,5	27,5
Kumulativni % varijance	31,5	59
Svojstvena vrijednost	4,41	3,84
Koncentracija O_2	0,015	-0,464
Zasićenje O_2 (%)	0,176	-0,44
Temperatura	0,433	-0,099
Secchi dubina	0,193	0,202
pH	0,292	-0,234
Električna vodljivost	-0,338	0,091
Nitrati (NO_3^-)	-0,108	0,369
Ortofosfati (PO_4^{3-})	0,203	0,142
Ukupni silicij (SiO_2)	-0,318	-0,136
Ukupni anorganski ugljik (TIC)	-0,3	0,147
Otopljeni anorganski ugljik (DIC)	-0,361	-0,069
Ukupni organski ugljik (TOC)	-0,241	-0,368
Otopljeni organski ugljik (DOC)	-0,08	-0,325
Bikarbonati (HCO_3^-)	-0,325	-0,185



Slika 22. Ordinacijski dijagram analize glavnih komponenti (PCA) fizikalno-kemijskih čimbenika i postaja V1 do V10 (osim postaje V8) u Visovačkom jezeru tijekom kolovoza 2018. godine. O_2 – koncentracija kisika, $O_2\%$ – zasićenje kisikom, T – temperatura, SD – Secchi dubina, EC – električna vodljivost, NO_3^- – nitrat, $PO_4^{3-}P$ – ortofosfat, SiO_2 – ukupni silicij, TIC – ukupni anorganski ugljik, DIC – otopljeni anorganski ugljik, TOC – ukupni organski ugljik, DOC – otopljeni organski ugljik, HCO_3^- – bikarbonati.

Koncentracije Chl *a* mjerene u laboratoriju iz kompozitnih uzoraka u prosjeku su iznosile 1,46 $\mu\text{g L}^{-1}$. Najveća zabilježena koncentracija Chl *a* bila je na gornjoj postaji V2 (2,91 $\mu\text{g L}^{-1}$), dok je najmanja bila na središnjoj postaji V4 (0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$) (Slika 23).



Slika 23. Ukupna koncentracija klorofila *a* ($\mu\text{g L}^{-1}$) postaja V1 do V10 (osim postaje V8) u Visovačkom jezeru tijekom kolovoza 2018. godine.

Najveći broj fitoplanktonskih svojti u kompozitnim uzorcima (Tablica 24) utvrđen je na postaji V10 (26), a najmanji na postaji V1 (16). Najmanja zabilježena brojnost fitoplanktona bila je na postaji V9 (632 880 st L^{-1}), a najveća na postaji V5 (7 411 110 st L^{-1}). Margalefov indeks bogatstva kretao se od 0,999 na postaji V1 do 1,797 na postaji V10. Pielouov indeks ravnomjernosti varirao je između 0,396 (postaja V4) i 0,782 (postaja V9). Sukladno tome, najniža vrijednost Shannon-Wienerovog indeksa raznolikosti bila je prisutna na postaji V4 (1,223), dok je najveća bila na postaji V9 (2,382).

Tablica 24. Ukupan broj svojti, brojnost, Margalefov indeks bogatstva (d), Pielouov indeks ravnomjernosti (J') i Shannon-Wienerov indeks raznolikosti (H') fitoplanktona u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine.

Postaja	Broj svojti	Brojnost (st L⁻¹)	Margalefov indeks	Pielouov indeks	Shannon- Wienerov indeks
V1	16	3 297 770	0,999	0,628	1,740
V2	21	1 451 320	1,410	0,643	1,959
V3	19	6 396 630	1,149	0,603	1,776
V4	22	1 747 780	1,461	0,396	1,223
V5	21	7 411 110	1,264	0,656	1,998
V6	22	1 123 850	1,507	0,612	1,892
V7	17	1 597 990	1,120	0,690	1,955
V9	21	632 880	1,497	0,782	2,382
V10	26	1 101 180	1,797	0,726	2,364

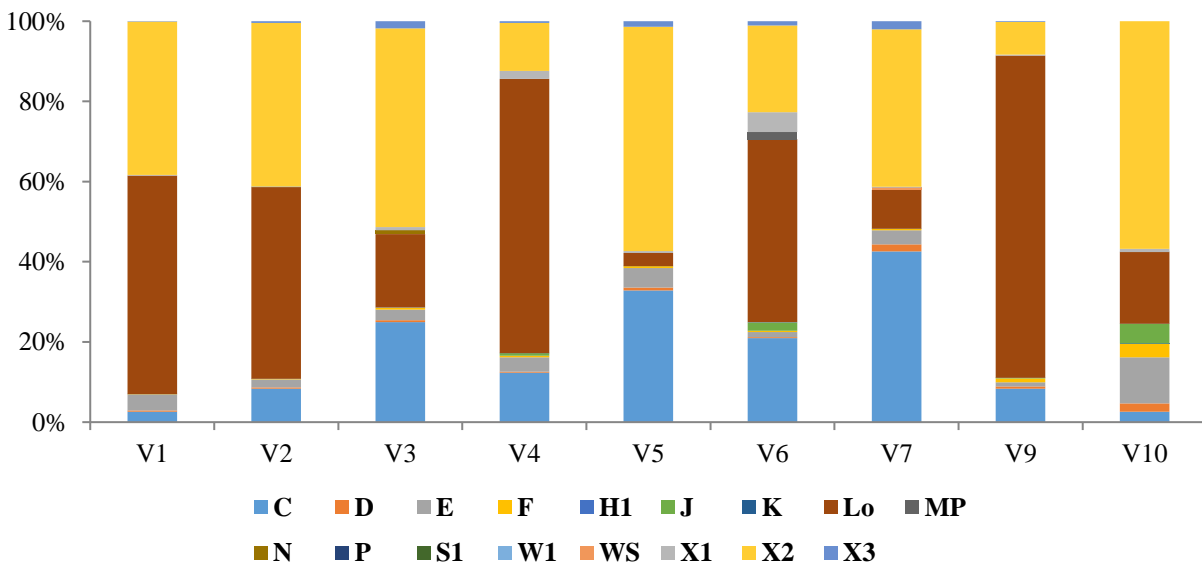
Najvažnija deskriptivna fitoplanktonska vrsta tijekom 2018. godine bila je *Ceratium hirundinella* (Miozoa), a zatim slijede *Pantocsekiella ocellata* iz skupine Bacillariophyta, *Cryptomonas* sp. i *Plagioselmis nannoplanctica* iz skupine Cryptophyta, *Tetraselmis cordiformis* iz skupine Chlorophyta i *Parvodinium inconspicuum* iz skupine Miozoa (Tablica 25).

Tablica 25. Taksonomski sastav fitoplanktona u Visovačkom jezeru za postaje od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine. Max – maksimalna biomasa mg L⁻¹, StDev – standardna devijacija, Fr – učestalost pojavljivanja.

Svojte	Max	StDev	Fr (%)
<i>Anabaena</i> sp.	0,00002	0	11,11
<i>Anathece smithii</i> (Komárková-Legnerová & Cronberg) Komárek, Kastovsky & Jezberová	0,0003	0,0001	100
<i>Ankyra lanceolata</i> (Korshikov) Fott	0,003	0,001	66,67
<i>Bitrichia chodatii</i> (Reverdin) Chodat	0,02	0,01	88,89
<i>Ceratium hirundinella</i> (O.F.Müller) Dujardin	0,91	0,30	100
<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,09	0,03	77,78
<i>Chromulina pigra</i> Skuja	0,002	0,001	66,67
<i>Coelastrum microporum</i> Nägeli	0,01	0	11,11
<i>Cosmarium</i> sp.	0,01	0	11,11
<i>Crucigenia fenestrata</i> (Schmidle) Schmidle	0,002	0,001	22,22
<i>Cryptomonas</i> sp.	0,44	0,16	100
<i>Diatoma vulgare</i> Bory	0,01	0	11,11
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	0,002	0,001	22,22
<i>Dictyosphaerium subsolitarium</i> Van Goor	0,002	0	11,11
<i>Dinobryon bavaricum</i> Imhof	0,04	0,02	66,67
<i>Dinobryon crenulatum</i> West & G.S.West	0,01	0,003	44,44
<i>Dinobryon divergens</i> O.E.Imhof	0,07	0,02	100
<i>Elakatothrix gelatinosa</i> Wille	0,002	0,001	100
<i>Golenkinia radiata</i> Chodat	0,02	0,01	22,22
<i>Monoraphidium arcuatum</i> (Korshikov) Hindák	0,0002	0	11,11
<i>Monoraphidium dybowski</i> (Woloszynska) Hindák & Komárkova Legnerová	0,01	0,002	100
<i>Monoraphidium minutum</i> (Nägeli) Komárková Legnerová	0,001	0,0004	88,89
<i>Ochromonas danica</i> E.G.Pringsheim	0,004	0,001	33,33
<i>Oocystis parva</i> West & G.S.West	0,003	0,001	77,78
<i>Pantocsekiella ocellata</i> (Pantocsek) K.T.Kiss & E.Ács	0,53	0,17	100
<i>Parvodinium inconspicuum</i> (Lemmermann) Carty	0,20	0,06	100
<i>Plagioselmis nannoplanctica</i> (Skuja) G.Novarino, I.A.N.Lucas & Morrall	0,14	0,05	100

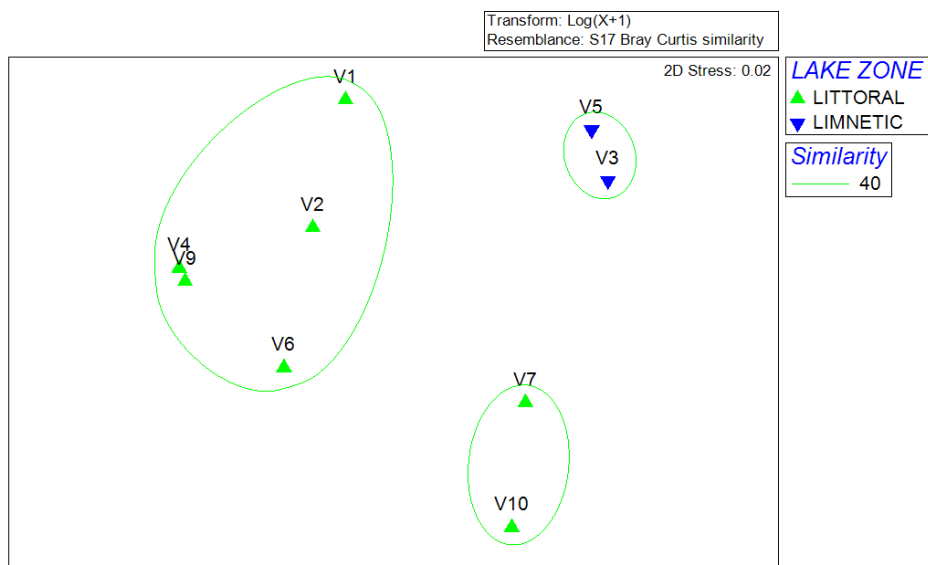
Svojte	Max	StDev	Fr (%)
<i>Planktosphaeria gelatinosa</i> G.M.Smith	0,002	0,0005	44,44
<i>Pseudanabaena</i> sp.	0,0001	0,0001	22,22
<i>Radiococcus planktonicus</i> J.W.G.Lund	0,005	0,002	33,33
<i>Scenedesmus obtusus</i> Meyen	0,001	0	11,11
<i>Scenedesmus planctonicus</i> (Korshikov) Fott	0,003	0,001	22,22
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turpin) Brébisson	0,004	0	11,11
<i>Skeletonema potamos</i> (C.I.Weber) Hasle	0,01	0,003	100
<i>Sphaerocystis schroeteri</i> Chodat	0,001	0	11,11
<i>Synura</i> sp.	0,002	0	11,11
<i>Tetraëdron minimum</i> (A.Braun) Hansgirg	0,002	0,001	22,22
<i>Tetraselmis cordiformis</i> (N.Carter) Stein	0,35	0,13	100
<i>Tetrastrum triangulare</i> (Chodat) Komárek	0,0004	0,0001	22,22

Dominantne funkcionalne skupine na gornjim postajama V1 i V2 bile su **Lo** i **X2** (Slika 24). Za uzorak na postaji V3 karakteristična je bila funkcionalna skupina **X2** s najvećim udjelom biomase (50 %), a slijede **C** i **Lo** (25 % i 18 %). Funkcionalna skupina **Lo** dominirala je zajednicom u kompozitnom uzorku na postaji V4, sa 68 % ukupne biomase fitoplanktona, dok kodoni **C** i **X2** doprinose s 12 %. Na postaji V5 funkcionalna skupina **X2** uspostavila je dominaciju (56 %), dok se kodon **C** pojavio kao subdominantan (33 %). Skupina **Lo** bila je dominantna na postaji V6 (46 %), a zatim slijede kodoni **X2** i **C** (22 % i 21 %). Kodon **C** je prevladao na postaji V7 zajedno s **X2** (43 % odnosno 39 % ukupne biomase fitoplanktona). Kodon **Lo** je dominirao zajednicom s 80 % ukupne biomase fitoplanktona na postaji V9. Opisna funkcionalna skupina na postaji V10 bila je **X2** (57 % ukupne biomase fitoplanktona). Vrste koje pripadaju kodonu **E** (rod *Dinobryon*) bile su prisutne u vrlo niskom udjelu biomase na svakoj postaji, osim nešto viših udjela zabilježenih na postaji V10 (11 %).



Slika 24. Relativni udio biomase funkcionalnih skupina fitoplanktona kompozitnih uzoraka u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine.

S obzirom na horizontalnu raspodjelu, NMDS analiza kompozitnih uzoraka pokazala je grupiranje uzoraka s limnetičkih i litoralnih postaja (Slika 25). Vrste *Cryptomonas* sp. i *P. ocellata* dominirale su na središnjim limnetičkim postajama V3 i V5. Postaje iz obalne zone grupirane su u dvije različite skupine kako slijedi: u prvoj skupini dominira *C. hirundinella* (postaje V1, V2, V4, V6, V9), a u drugoj skupini dominiraju *P. ocellata* (postaja V7) i *Cryptomonas* sp. (postaja V10).



Slika 25. Nemetrička multidimenzionalna skalirajuća analiza (NMDS) na osnovu Bray-Curtis indeksa sličnosti na postajama V1 do V10 (osim postaje V8) s obzirom na litoralnu i limnetičku zonu Visovačkog jezera tijekom kolovoza 2018. godine.

4.5. Vertikalna raspodjela fitoplanktona u Visovačkom jezeru tijekom 2018. godine

Fizikalno-kemijski čimbenici izmjereni *in situ* u eufotičkoj i afotičkoj zoni u kolovozu 2018. godine prikazani su u Tablici 26. Minimalna izmjerena vrijednost temperature vode u eufotičkoj zoni iznosila je 22,4 °C na postaji V2, a maksimalna 26,4 °C na postaji V10. Najniža koncentracija O₂ zabilježena je na postaji V10 (10,13 mg L⁻¹), dok je najveća koncentracija i zasićenost O₂ u eufotičkoj zoni izmjerena na postaji V7 (12,28 mg L⁻¹ odnosno 147,5 %). Najniža zasićenost O₂ zabilježena je na postaji V5 (80,1 %). Najniži pH (7,88) zabilježen je na postaji V2, a najviši (8,20) na postaji V5. Električna vodljivost vode u eufotičkoj zoni kretala se od najmanje 495 μS cm⁻¹ na postaji V10 do najviše 562 μS cm⁻¹ na postaji V2. U afotičkoj zoni temperatura vode varirala je od 16,5 do 20,8 °C (postaja V7, odnosno V1). Najniža koncentracija i zasićenost O₂ u afotičkoj zoni zabilježena je na postaji V9 (2,91 mg L⁻¹ odnosno 27,4 %), a najveća na postaji V1 (9,60 mg L⁻¹ odnosno 108,2 %). Vrijednost pH u afotičkoj zoni kretala se od 7,05 do 7,80 (postaje V4, odnosno V5), dok je električna vodljivost vode varirala od 517 do 587 μS cm⁻¹ (postaje V9, odnosno V1).

Tablica 26. Fizikalno-kemijski čimbenici izmjereni *in situ* u eufotičkoj (a) i afotičkoj (b) zoni u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine. O₂ – koncentracija kisika, O₂ (%) – zasićenje kisikom, EC – električna vodljivost, T – temperatura.

a) eufotička zona

Postaja	T (°C)	O₂ (mg L⁻¹)	O₂ (%)	pH	EC (μS cm⁻¹)
V1	22,7	10,99	127,8	7,95	559
V2	22,4	11,55	132,6	7,88	562
V3	23,1	10,42	122,2	8,01	549
V4	22,6	10,14	118,2	7,90	553
V5	22,9	11,12	80,1	8,20	549
V6	23,4	10,98	129,9	7,93	553
V7	22,9	12,28	147,5	7,95	534
V9	26,0	10,61	131,6	7,95	502
V10	26,4	10,13	125,7	7,94	495

b) afotička zona

Postaja	T (°C)	O₂ (mg L⁻¹)	O₂ (%)	pH	EC (μS cm⁻¹)
V1	20,8	9,60	108,2	7,71	587
V2	18,4	5,89	62,7	7,62	579
V3	19,4	4,62	50,4	7,65	559
V4	18,3	5,38	57,1	7,05	553
V5	17,2	4,32	46,4	7,80	559
V6	19,2	6,18	67,5	7,54	568
V7	16,5	5,02	52,3	7,39	542
V9	20,3	2,91	27,4	7,43	517

Najveći broj svojiti fitoplanktona u eufotičkoj zoni tijekom kolovoza 2018. godine (Tablica 27) zabilježen je na postaji V10 (33), dok je najmanji broj svojiti zabilježen na postaji V1 (19). Brojnost fitoplanktona kretala se od najmanje na postaji V1 (1 179 865 st L⁻¹) do najveće na postaji V6 (9 779 570 st L⁻¹). Margalefov indeks bogatstva varirao je između 1,201 (postaja V3) i 2,215 (postaja V10). Pielouov indeks ravnornosti bio je između 0,488 (postaja V3) i 0,697 (postaja V10). Sukladno tome, Shannon-Wienerov indeksa raznolikosti bio je najniži na postaji V3 (1,463), dok je najveći bio na postaji V10 (2,436).

Tablica 27. Ukupan broj određenih svojiti fitoplanktona, brojnost, Margalefov indeks bogatstva (d), Pielouov indeks ravnornosti (J') i Shannon-Wienerov indeks raznolikosti (H') fitoplanktona u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine u eufotičkoj zoni.

Postaja	Broj svojiti	Brojnost (st L ⁻¹)	Margalefov indeks	Pielouov indeks	Shannon-Wienerov indeks
V1	19	1 179 865	1,287	0,640	1,885
V2	20	2 083 800	1,306	0,638	1,912
V3	20	7 424 630	1,201	0,488	1,463
V4	25	3 975 370	1,579	0,589	1,897
V5	24	8 761 765	1,439	0,615	1,954
V6	21	9 779 570	1,243	0,665	2,025
V7	23	2 645 400	1,488	0,674	2,114
V9	30	2 216 830	1,985	0,690	2,348
V10	33	1 884 693	2,215	0,697	2,436

U eufotičkoj zoni utvrđeno je 45 svojiti (Tablica 28). Zajednicu fitoplanktona u eufotičkoj zoni opisivale su sljedeće svojite: *Ceratium hirundinella* (Miozoa), *Pantocsekiella ocellata* (Bacillariophyta), *Cryptomonas* sp. (Cryptophyta), *Tetraselmis cordiformis* (Chlorophyta), *Plagioselmis nannoplanctica* (Cryptophyta) i *Parvodinium inconspicuum* (Miozoa).

Tablica 28. Taksonomski sastav fitoplanktona u Visovačkom jezeru za postaje od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine u eufotičkoj zoni. Max – maksimalna biomasa mg L⁻¹, StDev – standardna devijacija, Fr – učestalost pojavljivanja.

Svojte	Max	StDev	Fr (%)
<i>Anabaena</i> sp.	0,001	0	11,11
<i>Anathece smithii</i> (Komárková-Legnerová & Cronberg) Komárek, Kastovsky & Jezberová	0,0005	0,0002	100
<i>Ankistrodesmus spiralis</i> (W.B.Turner) Lemmermann	0,0002	0,0001	22,22
<i>Ankyra lanceolata</i> (Korshikov) Fott	0,005	0,002	77,78
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	0,0005	0	11,11
<i>Bitrichia chodatii</i> (Reverdin) Chodat	0,03	0,01	88,89
<i>Ceratium hirundinella</i> (O.F.Müller) Dujardin	1,29	0,38	100
<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,09	0,03	100
<i>Chromulina pigra</i> Skuja	0,003	0,001	88,89
<i>Coelastrum astroideum</i> De Notaris	0,002	0	11,11
<i>Coelastrum microporum</i> Nägeli	0,001	0,0003	22,22
<i>Cosmarium</i> sp.	0,004	0	11,11
<i>Crucigenia fenestrata</i> (Schmidle) Schmidle	0,001	0	11,11
<i>Cryptomonas</i> sp.	0,45	0,15	100
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	0,0004	0,0001	22,22
<i>Dictyosphaerium subsolitarium</i> Van Goor	0,001	0,0003	22,22
<i>Dinobryon bavaricum</i> Imhof	0,04	0,01	88,89
<i>Dinobryon crenulatum</i> West & G.S.West	0,01	0,002	77,78
<i>Dinobryon divergens</i> O.E.Imhof	0,10	0,03	100
<i>Elakatothrix gelatinosa</i> Wille	0,005	0,001	100
<i>Gomphonema</i> sp.	0,001	0	11,11
<i>Gonatozygon</i> sp.	0,001	0	11,11
<i>Monoraphidium arcuatum</i> (Korshikov) Hindák	0,0000 4	0,0000 3	22,22
<i>Monoraphidium dybowskii</i> (Woloszynska) Hindák & Komárkova Legnerová	0,01	0,003	100
<i>Monoraphidium minutum</i> (Nägeli) Komárková Legnerová	0,002	0,001	100
<i>Navicula lanceolata</i> Ehrenberg	0,004	0	11,11
<i>Ochromonas danica</i> E.G.Pringsheim	0,02	0,01	33,33
<i>Oocystis parva</i> West & G.S.West	0,001	0,0004	88,89
<i>Pantocsekiella ocellata</i> (Pantocsek) K.T.Kiss & E.Ács	0,63	0,24	100
<i>Parvodinium inconspicuum</i> (Lemmermann) Carty	0,13	0,04	100
<i>Phacus</i> sp.	0,001	0	11,11
<i>Plagioselmis nannoplantica</i> (Skuja) G.Novarino, I.A.N.Lucas & Morrall	0,23	0,07	100
<i>Planktosphaeria gelatinosa</i> G.M.Smith	0,01	0,003	66,67
<i>Pseudanabaena</i> sp.	0,001	0,0003	22,22
<i>Radiococcus planktonicus</i> J.W.G.Lund	0,003	0,001	44,44
<i>Scenedesmus obtusus</i> Meyen	0,0001	0,0001	22,22

Svojte	Max	StDev	Fr (%)
<i>Scenedesmus planctonicus</i> (Korshikov) Fott	0,0005	0,0002	22,22
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turpin) Brébisson	0,01	0,01	22,22
<i>Skeletonema potamos</i> (C.I.Weber) Hasle	0,05	0,01	100
<i>Sphaerocystis schroeteri</i> Chodat	0,01	0,003	22,22
<i>Staurastrum tetracerum</i> Ralfs ex Ralfs	0,02	0	11,11
<i>Tetraëdron minimum</i> (A.Braun) Hansgirg	0,002	0,0003	22,22
<i>Tetraselmis cordiformis</i> (N.Carter) Stein	0,36	0,15	88,89
<i>Tetrastrum triangulare</i> (Chodat) Komárek	0,001	0,0002	77,78
<i>Ulnaria acus</i> (Kützing) Aboal	0,002	0	11,11

Najveći broj svojiti fitoplanktona u afotičkoj zoni tijekom kolovoza 2018. godine (Tablica 29) zabilježen je na postaji V3 (26), dok je najmanji broj svojiti zabilježen na postaji V1 (19). Brojnost fitoplanktona kretala se od 162 840 st L⁻¹ na postaji V9 do 4 267 950 st L⁻¹ na postaji V6. Margalefov indeks bogatstva bio je najmanji na postaji V1 (1,269), a najveći na postaji V3 (1,982). Pielouov indeks ravnornosti kretao se od 0,548 (postaja V4) do 0,763 (postaja V9). Shannon-Wienerov indeksa raznolikosti bio je između 1,613 (postaja V4) i 2,365 (postaja V3).

Tablica 29. Ukupan broj određenih svojiti fitoplanktona, brojnost, Margalefov indeks bogatstva (d), Pielouov indeks ravnornosti (J') i Shannon-Wienerov indeks raznolikosti (H') fitoplanktona u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V9 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine u afotičkoj zoni.

Postaja	Broj svojiti	Brojnost (st L⁻¹)	Margalefov indeks	Pielouov indeks	Shannon-Wienerov indeks
V1	19	1 444 545	1,269	0,583	1,715
V2	20	251 190	1,528	0,707	2,118
V3	26	300 380	1,982	0,726	2,365
V4	19	493 920	1,373	0,548	1,613
V5	24	606 897	1,727	0,640	2,035
V6	25	4 267 950	1,572	0,598	1,926
V7	25	301 515	1,902	0,733	2,358
V9	21	162 840	1,667	0,763	2,322

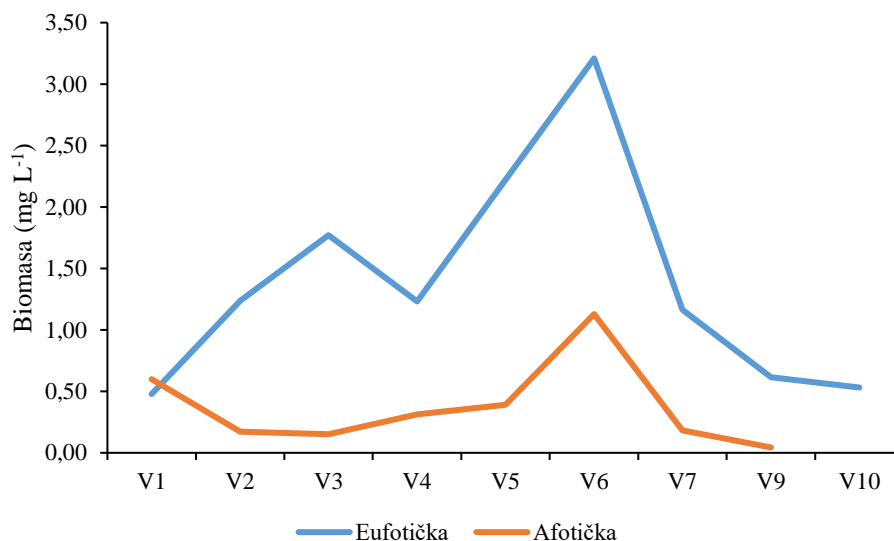
U afotičkoj zoni zabilježeno je 38 svojti (Tablica 30). Svojte koje opisuju zajednicu fitoplanktona u afotičkoj zoni bile su: *Ceratium hirundinella* (Miozoa), *Tetraselmis cordiformis* (Chlorophyta), *Cryptomonas* sp. (Cryptophyta) *Pantocsekiella ocellata* (Bacillariophyta) i *Chlamydomonas* sp. (Chlorophyta).

Tablica 30. Taksonomski sastav fitoplanktona u Visovačkom jezeru za postaje od V1 do V9 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine u afotičkoj zoni. Max – maksimalna biomasa mg L⁻¹, StDev – standardna devijacija, Fr – učestalost pojavljivanja.

Svojte	Max	StDev	Fr (%)
<i>Actinastrum hantzschii</i> Lagerheim	0,00001	0	12,50
<i>Anathece smithii</i> (Komárková-Legnerová & Cronberg) Komárek, Kastovsky & Jezberová	0,0002	0,0001	100
<i>Ankistrodesmus spiralis</i> (W.B.Turner) Lemmermann	0,0003	0,0001	75
<i>Ankyra lanceolata</i> (Korshikov) Fott	0,001	0,0002	75
<i>Bitrichia chodatii</i> (Reverdin) Chodat	0,01	0,004	75
<i>Ceratium hirundinella</i> (O.F.Müller) Dujardin	0,27	0,09	100
<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,19	0,07	87,50
<i>Chromulina pigra</i> Skuja	0,001	0,0002	100
<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg	0,001	0	12,50
<i>Coelastrum astroideum</i> De Notaris	0,001	0	12,50
<i>Coelastrum microporum</i> Nägeli	0,001	0,0004	25
<i>Cosmarium</i> sp.	0,004	0	12,50
<i>Cryptomonas</i> sp.	0,24	0,08	100
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	0,001	0,0002	37,50
<i>Dictyosphaerium subsolitarium</i> Van Goor	0,0005	0,0001	50
<i>Dinobryon bavaricum</i> Imhof	0,001	0,001	62,50
<i>Dinobryon crenulatum</i> West & G.S.West	0,001	0,001	75
<i>Dinobryon divergens</i> O.E.Imhof	0,06	0,02	100
<i>Elakatothrix gelatinosa</i> Wille	0,002	0,001	62,50
<i>Merismopedia tenuissima</i> Lemmermann	0,00000 4	0	12,50
<i>Monoraphidium arcuatum</i> (Korshikov) Hindák	0,00000	0	12,50
<i>Monoraphidium dybowskii</i> (Woloszynska) Hindák & Komárkova Legnerová	0,01	0,002	87,50
<i>Monoraphidium minutum</i> (Nägeli) Komárková Legnerová	0,0005	0,0002	100
<i>Navicula lanceolata</i> Ehrenberg	0,00002	0	12,50
<i>Ochromonas danica</i> E.G.Pringsheim	0,004	0,001	50
<i>Oocystis parva</i> West & G.S.West	0,001	0,0002	87,50
<i>Pantocsekiella ocellata</i> (Pantocsek) K.T.Kiss & E.Ács	0,21	0,07	100
<i>Parvodinium inconspicuum</i> (Lemmermann) Carty	0,04	0,01	100
<i>Plagioselmis nannoplantica</i> (Skuja) G.Novarino, I.A.N.Lucas & Morrall	0,10	0,03	100
<i>Planktosphaeria gelatinosa</i> G.M.Smith	0,0003	0,0001	75

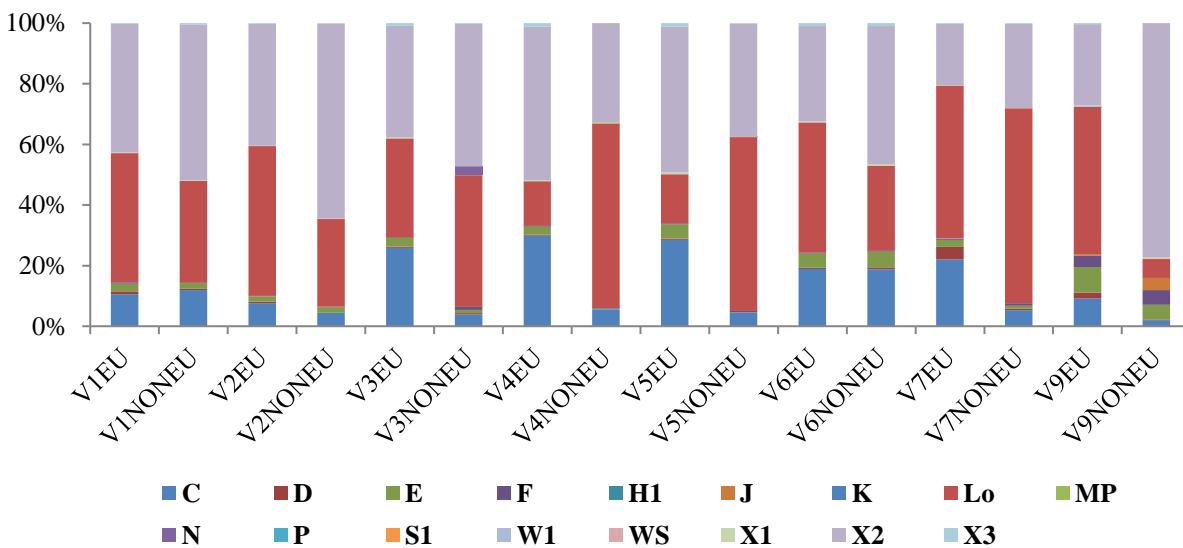
Svojte	Max	StDev	Fr (%)
<i>Pseudanabaena</i> sp.	0,0001	0,0000 1	25
<i>Radiococcus planktonicus</i> J.W.G.Lund	0,002	0,001	25
<i>Scenedesmus obtusus</i> Meyen	0,00001	0	12,50
<i>Skeletonema potamos</i> (C.I.Weber) Hasle	0,01	0,003	62,50
<i>Synura</i> sp.	0,0004	0	12,50
<i>Tetraëdron minimum</i> (A.Braun) Hansgirg	0,0001	0	12,50
<i>Tetraselmis cordiformis</i> (N.Carter) Stein	0,16	0,05	100
<i>Tetrastrum triangulare</i> (Chodat) Komárek	0,0001	0,0000 3	75

Prosječna biomasa na postajama u eufotičkoj zoni bila je $1,38 \text{ mg L}^{-1}$, dok je na postajama u afotičkoj zoni bila $0,37 \text{ mg L}^{-1}$ (Slika 26). Najveća biomasa u eufotičkoj zoni zabilježena je na postaji V6 ($3,21 \text{ mg L}^{-1}$), a najmanja na postaji V1 ($0,48 \text{ mg L}^{-1}$). Najveća biomasa u afotičkoj zoni zabilježena je na postaji V6 ($1,13 \text{ mg L}^{-1}$), a najmanja na postaji V9 ($0,04 \text{ mg L}^{-1}$).



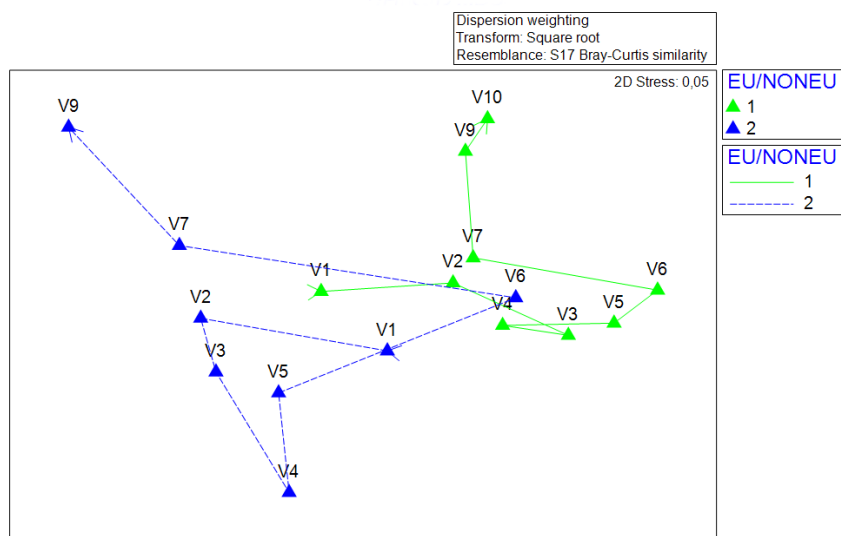
Slika 26. Ukupna biomasa fitoplanktona u eufotičkoj i afotičkoj zoni Visovačkog jezera po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine.

U uzorcima eufotičke zone s gornjih postaja V1 i V2 dominantne funkcionalne skupine bile su **Lo** i **X2** (Slika 27). Uzorke eufotičke zone na postaji V3 karakterizirala je funkcionalna skupina **X2** s najvećim udjelom biomase (37 %), a slijede **Lo** i **C** (33 % i 26 %). Na postaji V4 u uzorcima eufotičke zone zajednicom je dominirala funkcionalna skupina **X2** (51 %), a kodoni **C** i **Lo** su bili subdominantni (30 % odnosno 15 %). U uzorcima eufotičke zone na postaji V5 funkcionalna skupina **X2** uspostavila je dominaciju (48 %), dok se kodon **C** pojavio kao subdominant (29 %). Skupina **Lo** bila je dominantna na postaji V6 (43 %), a slijede je kod **X2** i **C** (31 % i 19 %). U uzorcima eufotičke zone na postajama V7 i V9 zajednicom je dominirao kodon **Lo** (s 50 % i 49 % ukupne biomase fitoplanktona). U uzorcima afotičke zone na postajama V1, V2 i V6 dominirao je kodon **X2** (51 %, 64 % i 45 % ukupne biomase fitoplanktona), a zatim kodon **Lo** (34 %, 29 % i 28 % ukupne biomase fitoplanktona). Funkcionalne skupine **X2** i **Lo** kodominirale su zajednicom fitoplanktona u afotičkoj zoni na postaji V3 (47 % i 43 % ukupne biomase fitoplanktona). Deskriptivni kodon u afotičkoj zoni na postajama V4, V5 i V7 bio je **Lo** (61 %, 57 % i 64 % ukupne biomase fitoplanktona), a zatim slijedi kodon **X2** (33 %, 37 % i 28 % ukupne biomase fitoplanktona). Funkcionalna skupina **X2** dominirala je zajednicom u afotičkoj zoni na postaji V9 (77 % ukupne biomase fitoplanktona).



Slika 27. Relativni udio biomase funkcionalnih skupina fitoplanktona u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V9 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine. EU – eufotička i NONEU – afotička zona.

NMDS analiza taksonomskog sastava fitoplanktona (Slika 28) pokazala je odvajanje gotovo svih uzoraka u dvije odvojene skupine, prvu koja obuhvaća eufotičku zonu, a druga afotičku zonu. Svi uzorci s postaje V10 pripadali su eufotičkoj zoni.



Slika 28. Nemetrička multidimenzionalna skalirajuća analiza (NMDS) na osnovu Bray-Curtis indeksa sličnosti na postajama V1 do V10 (osim postaje V8) s obzirom na eufotičku (1-EU) i afotičku (2-NONEU) zonu Visovačkog jezera tijekom kolovoza 2018. godine.

Analiza sličnosti jednosmjernog ANOSIM testa (Tablica 31) pokazala je značajne razlike pri usporedbi kompozitnih uzoraka u odnosu na uzorke afotičke zone ($p = 0,042$), te uzoraka eufotičke zone u odnosu na afotičku zonu ($p = 0,006$). S druge strane, negativna R statistika blizu nule i visoka razina značajnosti ukazuju na vrlo niske razlike između kompozitnih uzoraka i uzoraka eufotičke zone.

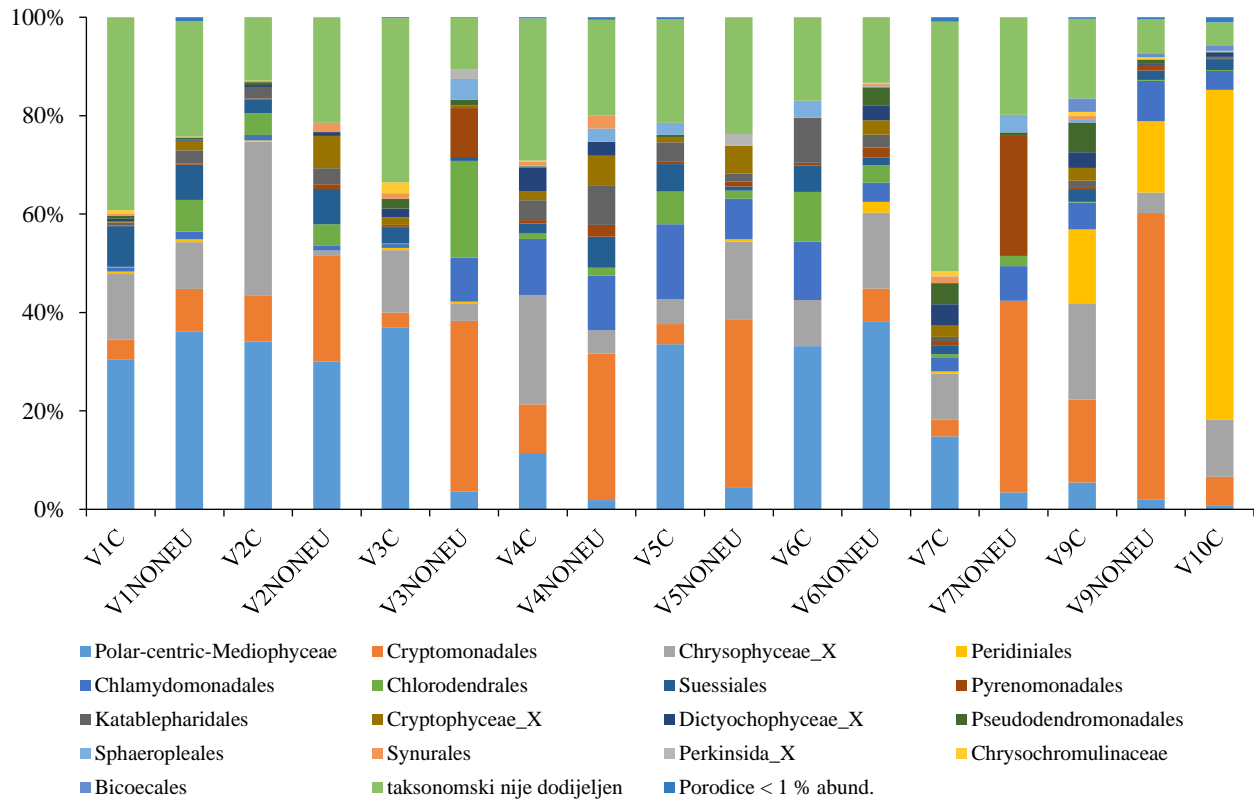
Tablica 31. Jednosmjerna analiza sličnosti (ANOSIM) između uzoraka kompozitne (C), eufotičke (EU) i afotičke (NONEU) zone u Visovačkom jezeru. Statistički značajne vrijednosti označene su podebljanim crvenim brojkama.

Usporedba uzoraka	R Statistika	Razina značajnosti (p)
C vs. EU	-0,023	0,548
C vs. NONEU	0,168	0,042
EU vs. NONEU	0,391	0,006

4.6. Primjena novih metoda u opisu zajednice fitoplanktona 2018. godine

ANOSIM testiranje u paru potvrdilo je da se kompozitni uzorci mogu koristiti kao reprezentativna zajednica fitoplanktona u Visovačkom jezeru i koristiti za molekularne analize. Sukladno tome, analize metabarkodiranja eDNA provedene su na kompozitnim uzorcima i uzorcima iz afotičke zone. Ukupno 1 010 539 kvalitetnih očitavanja dobiveno je u 19 uzoraka za eukariote, sa 7 140 varijanti amplikonskih sekvenci (ASV) grupiranim na 99 % sličnosti. Nakon što su filtrirane sekvence Metazoa, pronađeno je ukupno 902 798 kvalitetnih očitavanja sa 7 002 ASV-a. Prosječna učestalost po uzorku bila je 47 515 (najmanje 9 779, a najviše 108 716). Samo 97 ASV-ova odgovaralo je zajednici algi s ukupno 150 005 kvalitetnih očitavanja. Na temelju zbroja relativne brojnosti dobivene korištenjem molekularnog pristupa, utvrđeno je da taksonomski neodređene fitoplanktonske amplikonske sekvence imaju najveću relativnu brojnost u svim kompozitnim uzorcima i uzorcima afotičkih zona, s približno 50 % zabilježenih u kompozitnim uzorcima V7 (Slika 29). Četiri najrasprostranjenije skupine bile su Mediophyceae, Cryptomonadales, Chrysophyceae_X i Peridinales. Zanimljivo je da su dvije najrasprostranjenije skupine imale najveću relativnu brojnost u uzorcima afotičke zone, Mediophyceae na postaji V6 (38 %) i Cryptomonadales na postaji V9 (58 %), dok su druge dvije najrasprostranjenije skupine imale najveću relativnu brojnost u kompozitnim uzorcima i to Chrysophyceae_X na postaji V2 (31 %) i Peridinales na postaji V10 (67 %). Taksonomske kategorije s ukupnom relativnom brojnošću između 65 % i 20 % u svim uzorcima bile su: Chlorodendrales, Suessisales, Pyrenomonadales, Katablepharidales, Cryptophyceae_X, Dictyochophyceae_X i Pseudodendromonadales. Od ovih taksonomskih kategorija, četiri su imale najveću relativnu brojnost u kompozitnim uzorcima kako slijedi: Suessisales (postaja V1), Dictyochophyceae_X (postaja V4), Catablepharidales (postaja V6) i Pseudodendromonadales (postaja V9). Nasuprot tome, Cryptophyceae_X (postaja V2), Chlorodendrales (postaja V3) i Pyrenomonadales (postaja V7) imale su najveću relativnu brojnost u uzorcima afotičke zone, dok je njihova relativna brojnost u kompozitnim uzorcima bila oko ili manje od 1 %. Ukupna relativna brojnost dviju skupina koje odgovaraju redovima Sphaeropleales i Synurales bila je manja od 20 % u svim uzorcima, ali njihova je brojnost bila najveća u uzorcima afotičke zone (postaja V3 za Sphaeropleales i postaja V4 za Synurales). Ukupna relativna brojnost skupina Perkinsida_X, Chrysochromulinaceae i

Bicoceales u svim uzorcima bila je manja od 10 %. Taksonomske kategorije s udjelom manjim od 1 % bile su Gymnodiniaceae, Dolichomastigales, Cyanidiales, Charophyceae_X, Chlorellales, Distigmidae, Euglenophyceae, Petalomonadida, Choanoflagellida_X, Nucleariida, Araphid-pennate, Bacillariophyta_X, Raphid-pennate, Eustigmatophyceae_X i Xanthophyceae_X.

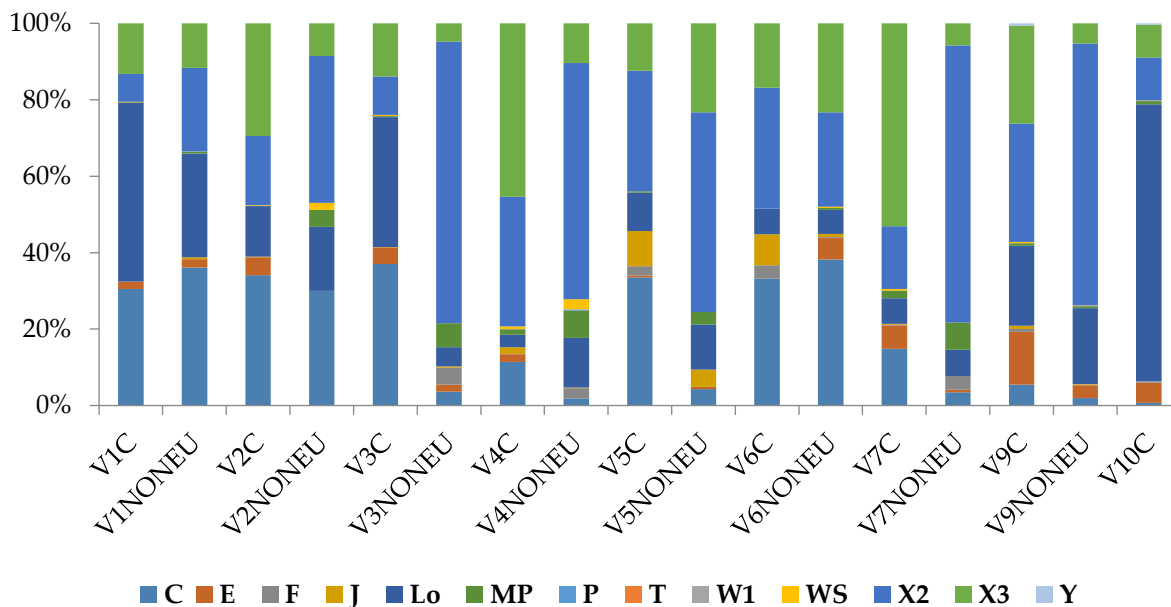


Slika 29. Relativni udio biomase fitoplanktona kompozitnih uzoraka (C) i uzoraka afotičke zone (NONEU) u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine na temelju eDNA molekularnog pristupa.

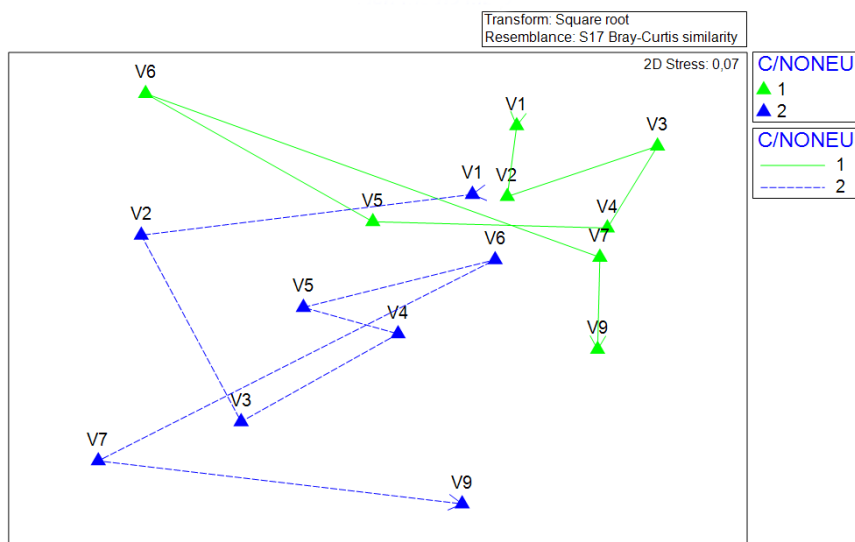
Deskriptivne funkcionalne skupine u kompozitnom uzorku eDNA postaje V1 bile su **Lo** (47 %) i **C** (30 %) (Slika 30). U kompozitnom uzorku postaje V2 dominantna je bila skupina **C** (34 %), dok su kodoni **X3**, **X2** i **Lo** bili subdominantni (29 %, 18 % odnosno 13 %). Funkcionalne skupine **C** i **Lo** dominirale su zajednicom na postaji V3 (37 % odnosno 34 %), dok su **X3** i **X2** bile subdominantne (14 % odnosno 10 %). Kodoni **X3** i **X2** pojavili se se kao dominantni na postaji V4 (45 % odnosno 34 %), dok se kodon **C** pojavio kao subdominantan (11 %). Funkcionalne skupine **C** i **X2** bile su dominantne na postajama V5 (34 % odnosno 32 %) i V6 (33 % odnosno 32 %), dok su kodon **X3**, **Lo** i **J** bili subdominantni. Funkcionalna skupina **X3** dominirala je zajednicom na postaji V7 (53 %), a slijede je funkcionalne skupine **X2**, **C** i **Lo** (16 %, 15 % odnosno 7 %). Kodoni **X2**, **X3** i **Lo** prevladali su na postaji V9 (s 31 %, 26 % i 21%). Kodon **Lo** bio je dominantan na postaji V10 (73 %).

Što se tiče uzoraka afotičke zone eDNA, funkcionalna skupina **X2** prevladavala je s preko 50 % ukupne biomase fitoplanktona na većini istraživanih postaja, konkretno na postajama V3, V4, V5, V7 i V9 (74 %, 62 %, 52%, 72% i 68 % ukupne biomase fitoplanktona). Postaju V1 karakterizirala je dominacija kodona **C** (36 %) s kodonima **Lo** i **X2** kao subdominantnima (27 % odnosno 22 %), dok su kodoni **X2** i **C** imali najveći udio biomase na postaji V2 (38 % i 30 %). Uzorci afotičke zone s postaje V6 karakterizirani su funkcionalnim skupinama **C**, **X2** i **X3** (38 %, 25 % odnosno 23 %).

NMDS analiza eDNA metabarkodiranja fitoplanktona grupirala je podatke u dvije skupine, prvu koja uključuje kompozitne uzorke te drugu s uzorcima afotičke zone (Slika 31).



Slika 30. Relativni udio biomase funkcionalnih skupina fitoplanktona kompozitnih uzoraka (C) i uzoraka afotičke zone (NONEU) u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine na temelju eDNA molekularnog pristupa.



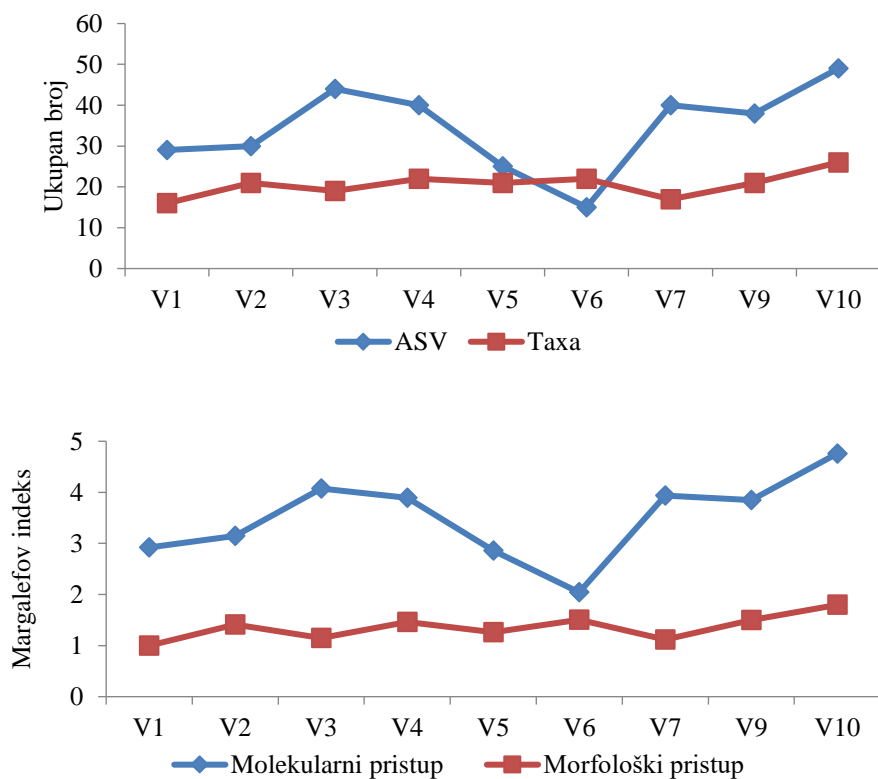
Slika 31. Nemetrička multidimenzionalna skalirajuća analiza (NMDS) uzoraka eDNA molekularnog pristupa temeljem Bray-Curtis indeksa sličnosti na postajama V1 do V9 (osim postaje V8) s obzirom na kompozitnu (1-C) i afotičku (2-NONEU) zonu Visovačkog jezera tijekom kolovoza 2018. godine.

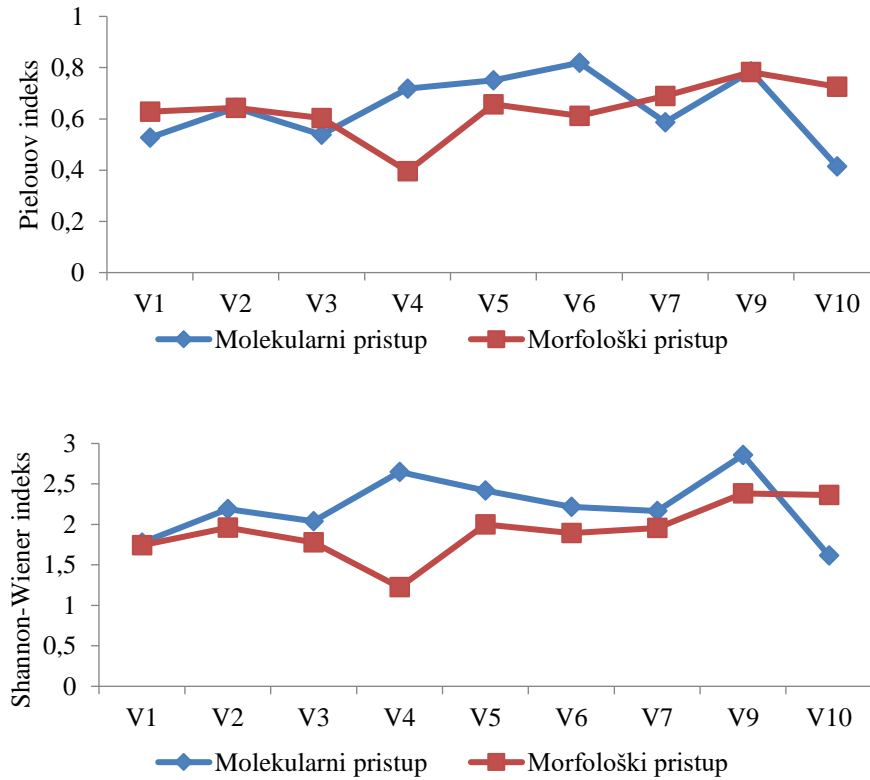
Najveći broj fitoplanktonskih ASV-ova dobiven eDNA metabarkodiranjem u kompozitnim uzorcima (Tablica 32) zabilježen je na postaji V10 (49), dok je najmanji na postaji V6 (15). Najniži Margalef indeks u kompozitnim uzorcima eDNA bio je na postaji V6 (2,042), dok je najveće bogatstvo svojti zabilježeno na postaji V10 (4,760). Pielouov indeks ravnornosti u kompozitnim uzorcima eDNA oscilirao je između 0,415 (postaja V10) i 0,819 (postaja V6). Shannon-Wienerov indeks raznolikosti za kompozitne uzorke eDNA varirao je između 1,614 (postaja V10) i 2,857 (postaja V9).

Tablica 32. Ukupan broj fitoplanktonskih ASV-ova, Margalefov indeks bogatstva, Pielouov indeks ravnornosti (J') i Shannon-Wienerov indeks raznolikosti (H') fitoplanktona u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine.

Postaja	Broj ASV	Margalefov indeks	Pielouov indeks	Shannon-Wienerov indeks
V1	29	2,920	0,527	1,774
V2	30	3,147	0,643	2,187
V3	44	4,072	0,539	2,038
V4	40	3,893	0,718	2,648
V5	25	2,859	0,751	2,417
V6	15	2,042	0,819	2,218
V7	40	3,938	0,587	2,167
V9	38	3,846	0,785	2,857
V10	49	4,760	0,415	1,614

Ukupan broj taksonomski dodijeljenih ASV-ova otkrivenih eDNA molekularnim pristupom bio je dva puta veći od broja svojiti otkrivenih tradicionalnom morfološkom identifikacijom pomoću mikroskopa. Uzimajući u obzir rezultate na svakoj postaji, broj ASV-ova bio je veći od broja svojiti na svakoj postaji osim na postaji V6 koja se pokazala kao izuzetak i za morfološke uzorke (Slika 32). Margalefov indeks bio je veći u svim uzorcima eDNA u usporedbi s morfološkim uzorcima. Pielouov indeks ujednačenosti bio je niži u uzorcima eDNA na postajama V1 i V3 (oko 40 % nedodijeljenih ASV-ova i visok udio dominacije skupine Mediophyceae), V7 (oko 60 % nedodijeljenih ASV-ova) i V10 (jasna dominacija Peridiniaceae). Rezultati dobiveni eDNA metabarkodiranjem pokazali su veće vrijednosti Shannon-Wienerovog indeksa raznolikosti, osim za postaju V10 zbog izričite prevalencije skupine Peridiniaceae.



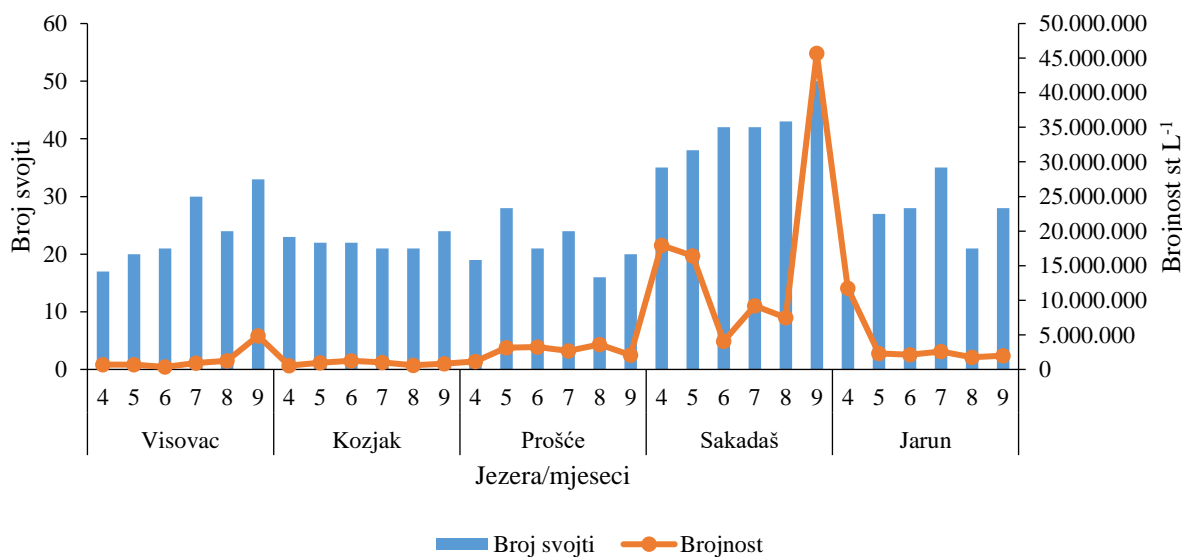


Slika 32. Ukupan broj svojiti fitoplanktonskih ASV-ova, Margalefov indeks bogatstva, Pielouov indeks ravnomjernosti (J') i Shannon-Wienerov indeks raznolikosti (H') dobiven eDNA molekularnim (plava linija) i morfološkim pristupom (crvena linija) u Visovačkom jezeru po postajama od V1 do V10 (osim postaje V8) u kolovozu 2018. godine.

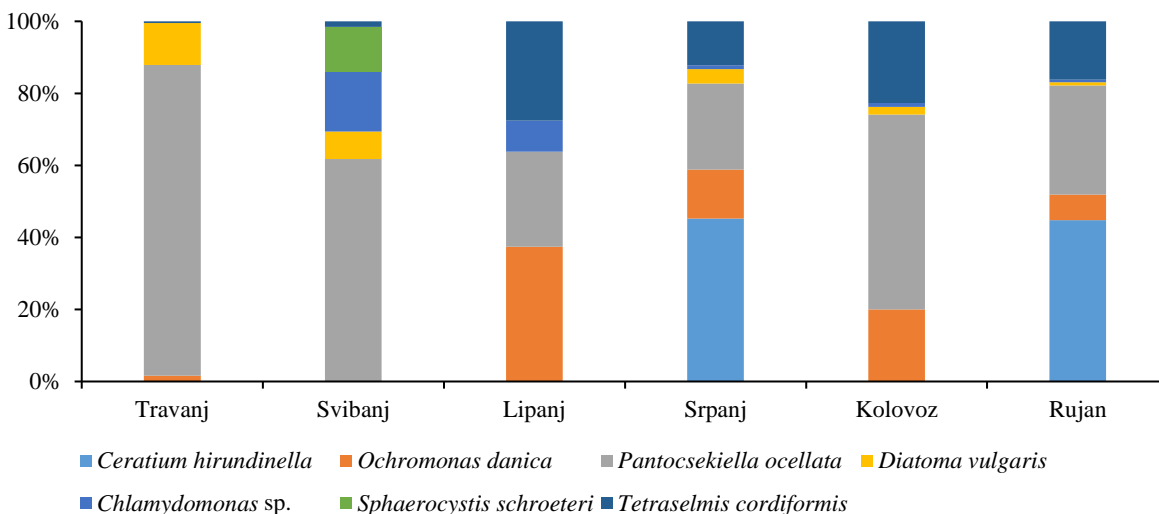
4.7. Trofičke interakcije između planktonskih zajednica

Fitoplankton

Brojnost fitoplanktona tijekom 2016. godine u Visovačkom jezeru kretala se od 358 070 zabilježenih u lipnju do 4 881 190 st L⁻¹ u rujnu (Slika 33). Maksimalna brojnost i dominacija vrste dijatomeje *Pantocsekiella ocellata* zabilježena je u Visovačkom jezeru (Slika 34). Tijekom proljetnih mjeseci (travanj i svibanj) i kolovoza *Pantocsekiella ocellata* dominirala je zajednicom fitoplanktona. Dinoflagelat *Ceratium hirundinella* preuzeo je dominaciju tijekom srpnja i rujna. Druga najčešća vrsta u Visovačkom jezeru bila je *Tetraselmis cordiformis* (Chlorophyta). Najveći broj svojti fitoplanktona zabilježen je u rujnu (33).

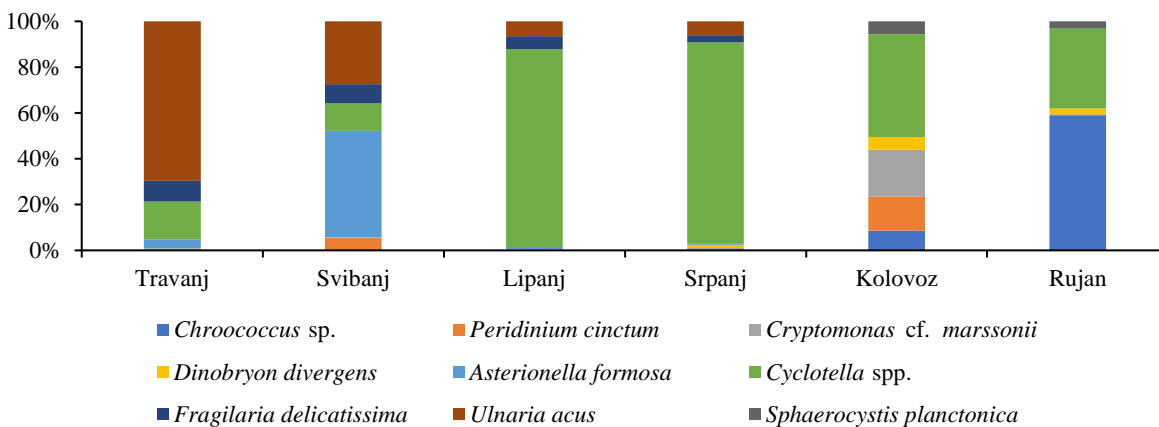


Slika 33. Ukupan broj svojti i brojnost fitoplanktona (st L⁻¹) u Visovačkom jezeru, te jezerima Kozjak, Prošće, Sakadaš i Jarun u 2016. godini.

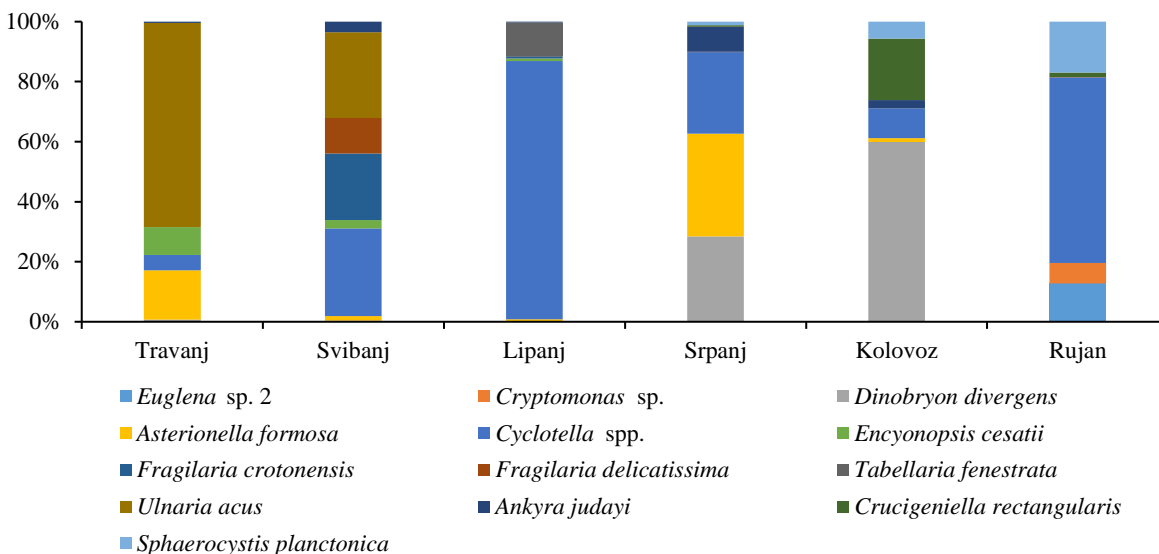


Slika 34. Relativni udio biomase 5 % najzastupljenijih svojti fitoplanktona u Visovačkom jezeru u 2016. godini.

Tijekom 2016. u jezeru Kozjak brojnost fitoplanktona kretala se od 577 500 (travanj) i 1 257 200 st L⁻¹ (lipanj), dok se u jezeru Prošće kretala između 1 146 570 (travanj) i 3 620 760 st L⁻¹ (kolovoz). Najčešće vrste u jezerima Prošće i Kozjak (Slika 35; Slika 36) bile su centrične dijatomeje iz roda *Cyclotella*. Tijekom travnja u oba Plitvička jezera dijatomejska vrsta *Ulnaria acus* (Kützing) Aboal dominirala je zajednicom. Svibanj je u jezeru Kozjak obilježen dominacijom dijatomeje *Asterionella formosa*, dok su u jezeru Prošće dijatomeje *Cyclotella* spp. i *Ulnaria acus* bile dominantne. Diatomeja *Cyclotella* spp. izrazito je dominirala tijekom lipnja na Plitvičkim jezerima. U srpnju dijatomeja *Cyclotella* spp. i dalje dominira u jezeru Kozjak, dok u jezeru Prošće dijatomeja *Cyclotella* spp. dijeli dominaciju s dijatomejom *Asterionella formosa* i krizomonadom *Dinobryon divergens* O.E.Imhof. Tijekom kolovoza u jezeru Kozjak *Cyclotella* spp. je ponovno dominantna, dok u Prošćanskom jezeru dominaciju preuzima *Dinobryon divergens*. U rujnu u jezeru Kozjak uočena je dominacija cijanobakterije *Chroococcus* sp., dok se u jezeru Prošće *Cyclotella* spp. pojavila još jednom kao dominantna svojta.

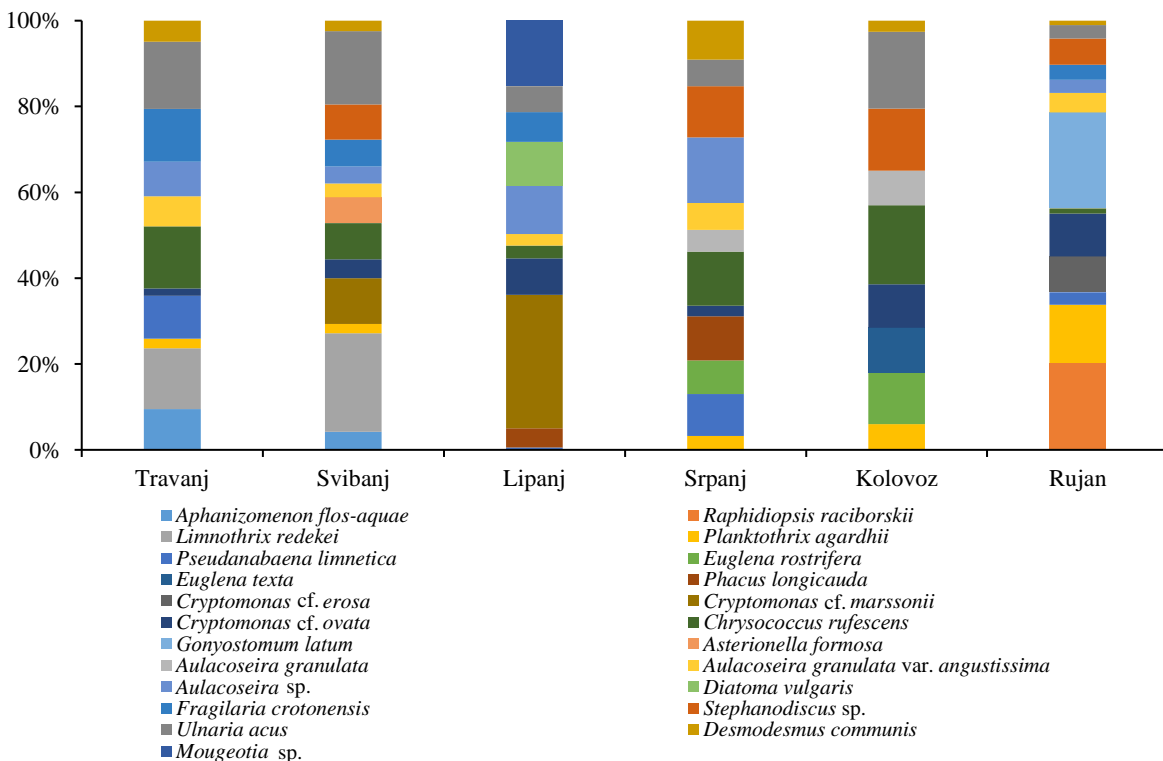


Slika 35. Relativni udio biomase 5 % najzastupljenijih svojti fitoplanktona u jezeru Kozjak u 2016. godini.



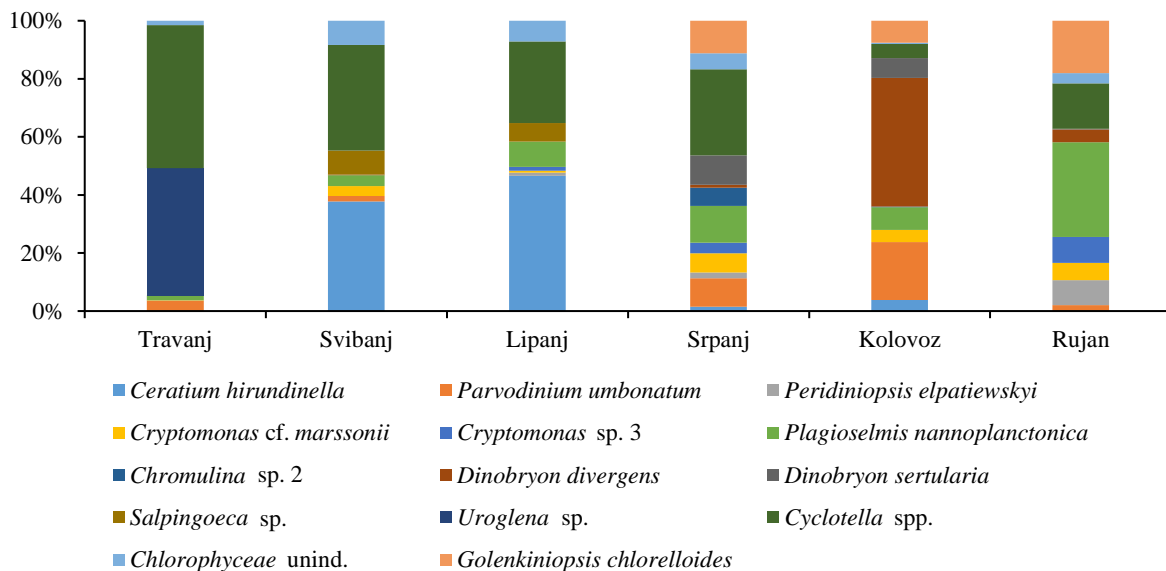
Slika 36. Relativni udio biomase 5 % najzastupljenijih svojti fitoplanktona u jezeru Prošće u 2016. godini.

Jezero Sakadaš bilo je najraznolikije jezero u pogledu sastava fitoplanktona (maksimalno zabilježeno 50 svojti), a također je i primijećena značajno veća brojnost u odnosu na druga jezera i to najviše u rujnu 2016. godine (45 714 550 st L⁻¹). Glavne deskriptivne vrste fitoplanktona u jezeru Sakadaš bile su: dijatomeja *Ulnaria acus*, *Chrysococcus rufescens* Klebs (Ochrophyta) i *Cryptomonas* cf. *ovata* Ehrenberg (Cryptophyta). Osim navedenih svojti, u proljeće (travanj i svibanj) je zabilježena veća brojnost cijanobakterije *Limnothrix redekei* (Goor) Meffert (Slika 37). Tijekom lipnja svojta *Cryptomonas* cf. *marssonii* Skuja (Cryptophyta) pojavila se kao dominantna, dok su u ostatku ljetnog razdoblja (srpanj i kolovoz) *Chrysococcus rufescens* (Ochrophyta), svojte koje pripadaju rodu *Euglena* (Euglenozoa) i dijatomeje (*Ulnaria acus*, *Aulacoseira* sp., i *Stephanodiscus* sp.) bile dominantne. U rujnu su svojta *Gonyostomum latum* Iwanoff (Ochrophyta), te cijanobakterije *Raphidiopsis raciborskii* (Wołoszyńska) Aguilera & al. i *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek imale značajan udio u zajednici fitoplanktona.



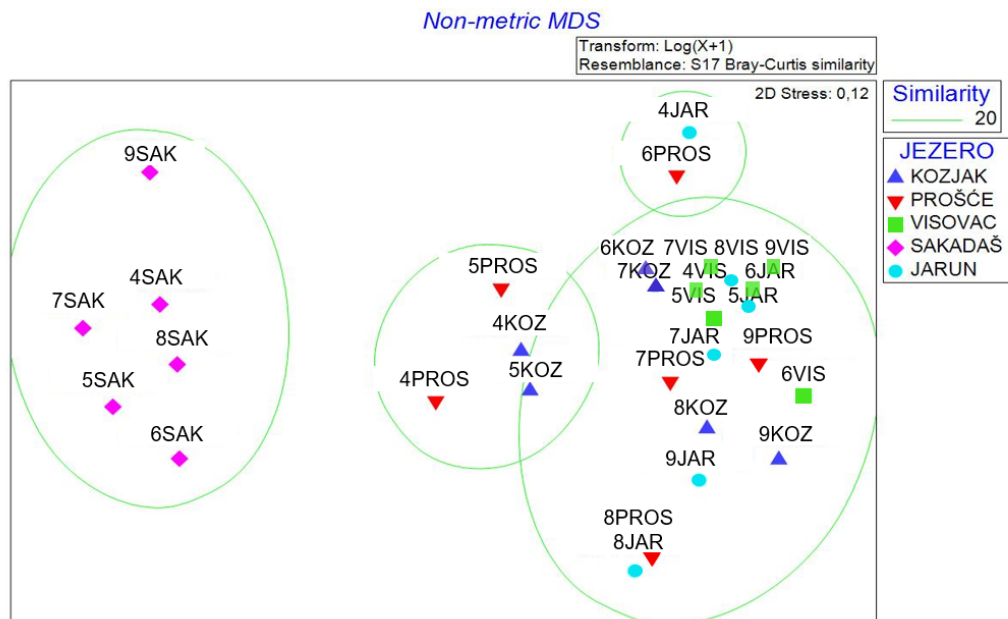
Slika 37. Relativni udio biomase 5 % najzastupljenijih svojti fitoplanktona u jezeru Sakadaš u 2016. godini.

Brojnost fitoplanktona u jezeru Jarun bila je između 1 776 580 (kolovoz) i 11 754 630 st L⁻¹ (travanj) tijekom 2016. godine. U Jarunskom jezeru kao deskriptori zajednice fitoplanktona pojavili su se dijatomeja *Cyclotella* spp., dinoflagelat *Ceratium hirundinella* i kriptofit *Plagioselmis nannoplanctica* (Slika 38). U travnju su dijatomeja *Cyclotella* spp. i *Uroglena* sp. (Ochrophyta) bili kodominantni, dok su to u svibnju bili dijatomeja *Cyclotella* spp. i dinoflagelat *Ceratium hirundinella*. U lipnju je zajednicom dominirao dinoflagelat *Ceratium hirundinella*, dok je u srpnju ponovno dijatomeja *Cyclotella* spp. preuzela dominaciju. U kolovozu se kao dominantna vrsta pojavila *Dinobryon divergens* (Ochrophyta), dok je u rujnu to bila vrsta *Plagioselmis nannoplanctica* (Cryptophyta).



Slika 38. Relativni udio biomase 5 % najzastupljenijih svojti fitoplanktona u jezeru Jarun u 2016. godini.

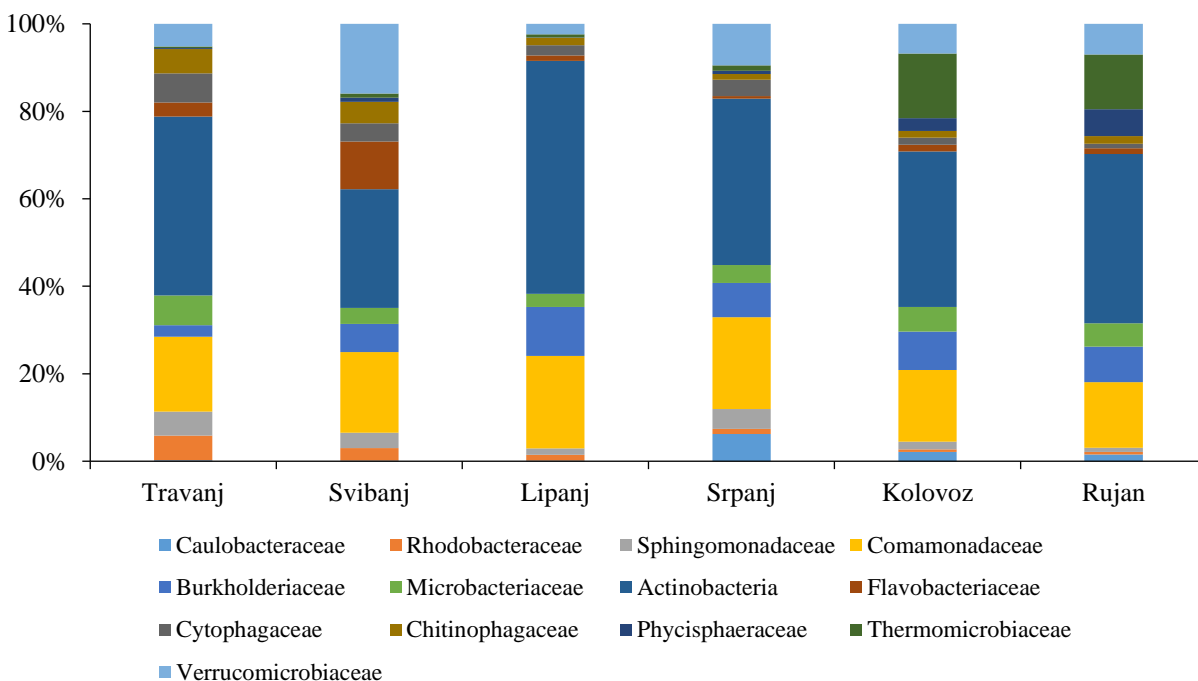
Na temelju Bray-Curtisove sličnosti, analiza NMDS je pokazala da zajednica fitoplanktona u jezerima Prošće, Kozjak, Jarun i Visovačkom jezeru pokazuje određenu sličnost, osim u jezeru Sakadaš koje čini odvojenu skupinu (Slika 39). Jezero Sakadaš imalo je značajno najveću raznolikost i prisutne su bile specifične svojte koje nisu pronađene u drugim jezerima, primjerice *Raphidiopsis raciborskii*, *Limnothrix redekei*, *Planktothrix agardhii*, *Gonyostomum latum* i *Chrysococcus rufescens*. U grupiranim uzorcima jezera Kozjak i Prošće iz travnja i svibnja dominirala je svojta *Ulnaria acus*. Tijekom svibnja u jezeru Kozjak zabilježena je i veća brojnost dijatomeje *Asterionella formosa*, dok u jezeru Prošće uz svojtu *Ulnaria acus* kodominiraju svojte *Cyclotella* spp. i *Fragilaria crotonensis*. Nadalje, uzorci uzeti u travnju iz jezera Jarun i lipnja iz jezera Prošće pokazali su grupiranje. U ovim uzorcima poveznica je bila dominantna svojta *Cyclotella* spp., dok je u jezeru Jarun kodominantna sa svojtom *Uroglena* sp. (Ochrophyta). Svi ostali uzorci iz Visovačkog jezera, Jarun, Kozjak i Prošće su bili grupirani zajedno. U navedenim jezerima svojta *Cyclotella* bila je u 5 % najzastupljenijih predstavnika fitoplanktonske zajednice. Uz napomenu da je u Visovačkom jezeru dominantna vrsta *Pantocsekiella ocellata* koja je relativno nedavno izdvojena iz roda *Cyclotella*.



Slika 39. Nemetrička multidimenzionalna skalirajuća analiza (NMDS) zajednice fitoplanktona jezera Prošće, Kozjak, Sakadaš, Jarun i Visovačkog jezera temeljem Bray-Curtis indeksa sličnosti tijekom 2016. godine.

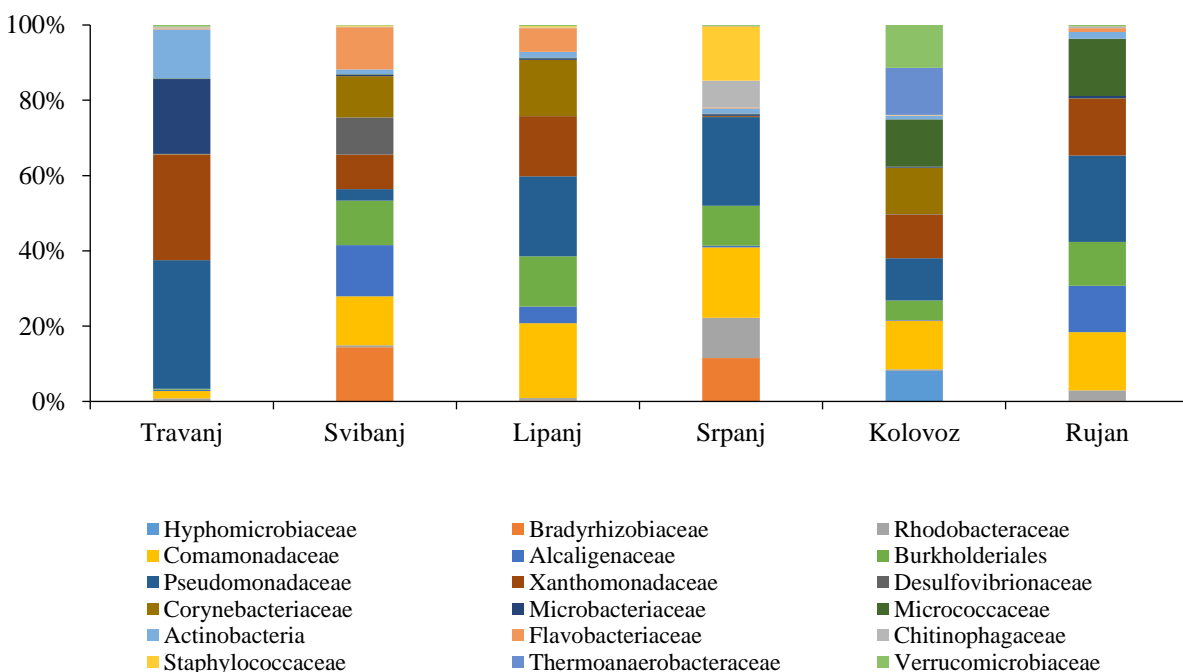
Bakterioplankton

U Visovačkom jezeru od travnja do rujna 2016. godine dominantna skupina bakterija bila je Actinobacteria (Slika 40). Druga najbrojnija bakterijska porodica tijekom cijelog promatranog razdoblja bila je Comamonadaceae (razred Betaproteobacteria). U svibnju je uz prethodno navedene veću zastupljenost imala i porodica Verrucomicrobiaceae, a u kolovozu i rujnu Thermomicrobiaceae.

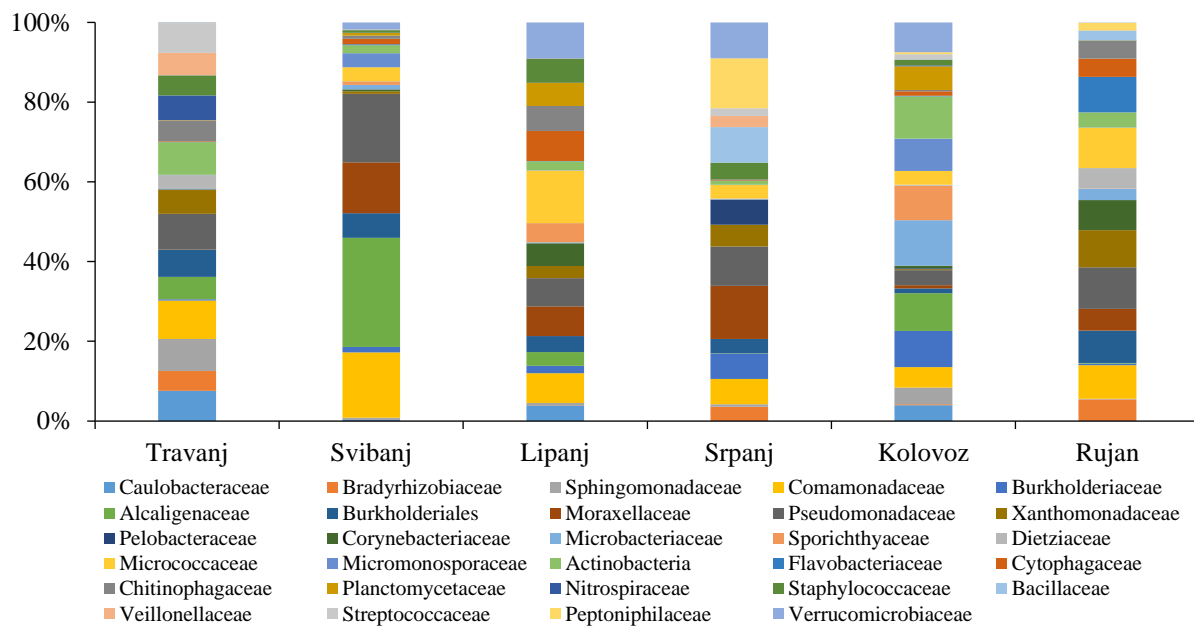


Slika 40. Relativni udio biomase 5 % najzastupljenijih bakterijskih skupina u Visovačkom jezeru u 2016. godini.

U jezerima Kozjak i Prošće (Slika 41; Slika 42) dominantne porodice bakterija bile su Pseudomonadaceae (razred Gammaproteobacteria) i Comamonadaceae (razred Betaproteobacteria). U jezeru Kozjak porodica Pseudomonadaceae bila je najbrojnija u travnju, lipnju, srpnju i rujnu. U svibnju se u jezeru Kozjak kao najbrojnija pojavila porodica Bradyrhizobiaceae (razred Alphaproteobacteria), a u kolovozu Comamonadaceae (razred Betaproteobacteria). Za Prošće je specifičan veliki broj različitih bakterijskih skupina (29) koje su sudjelovale s najmanje 5 % ukupne brojnosti bakterija. U Prošću je tijekom travnja najbrojnija bila porodica Comamonadaceae, zatim slijede Pseudomonadaceae i Actinobacteria. U svibnju u istom jezeru najbrojnija je bila porodica Alcaligenaceae, u lipnju porodica Micrococcaceae, a u srpnju Moraxellaceae i Peptoniphilaceae. U kolovozu su u Prošću najbrojnije bile porodica Microbacteriaceae i Actinobacteria, dok su u rujnu to bile Pseudomonadaceae i Micrococcaceae.

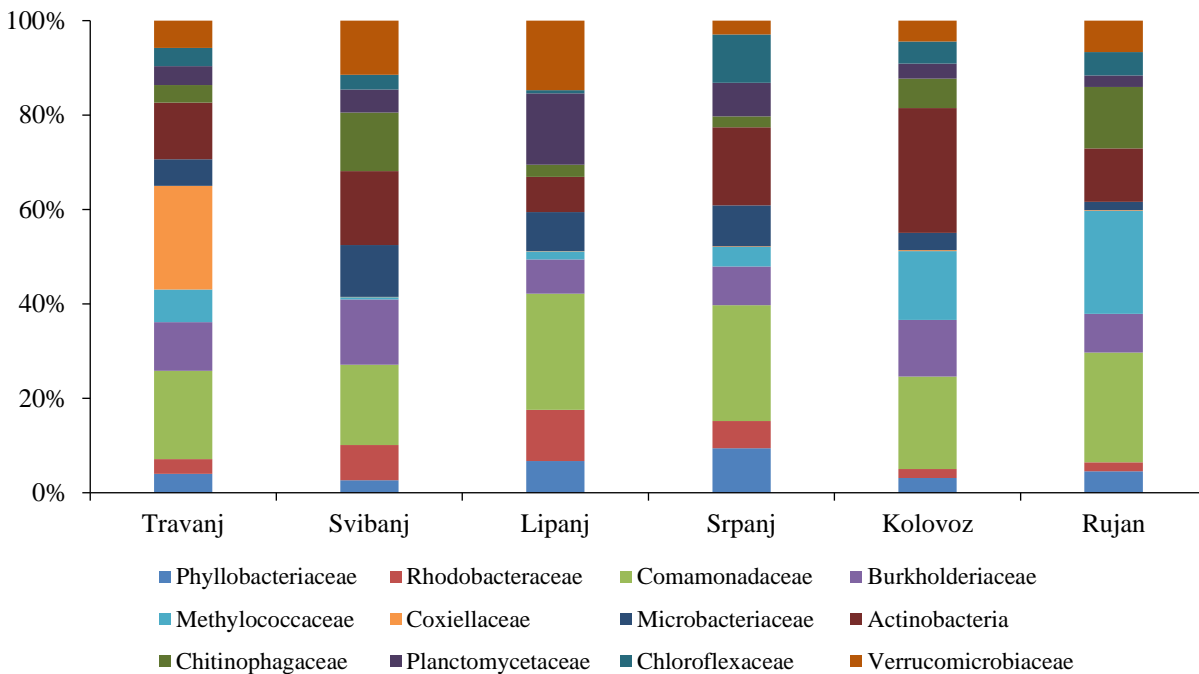


Slika 41. Relativni udio biomase 5 % najzastupljenijih bakterijskih skupina u jezeru Kozjak u 2016. godini.



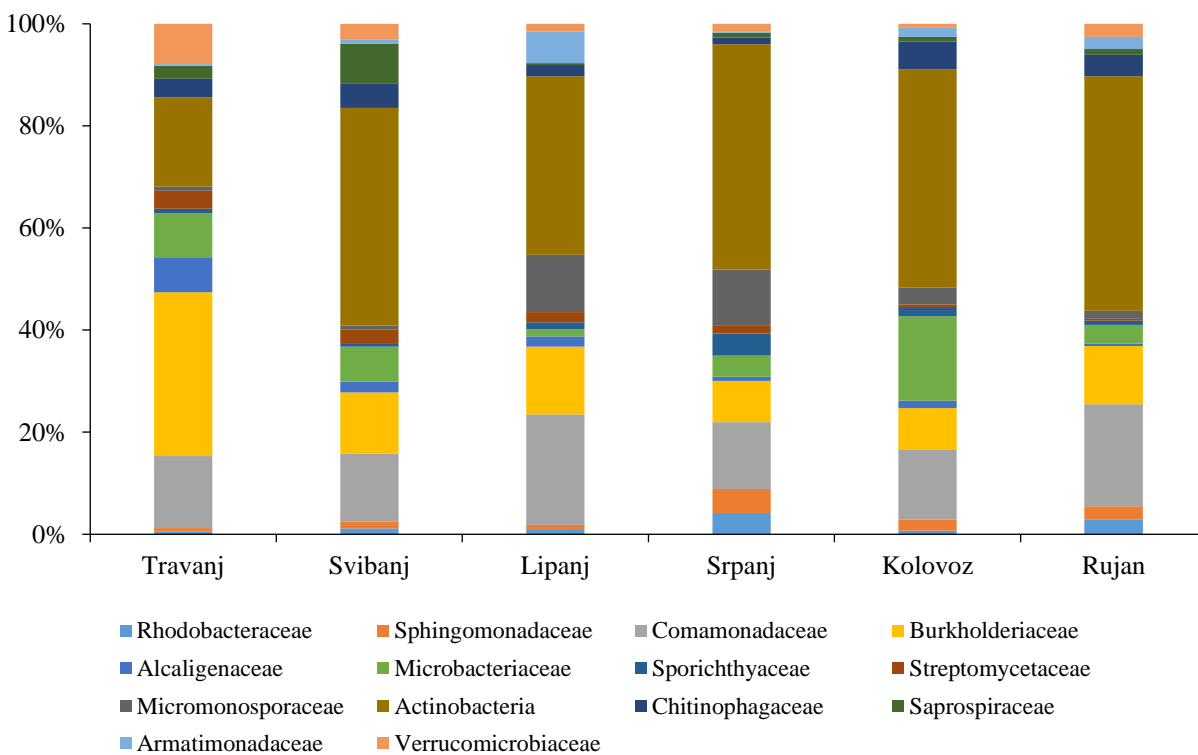
Slika 42. Relativni udio biomase 5 % najzastupljenijih bakterijskih skupina u jezeru Prošće u 2016. godini.

Najbrojnija porodica bakterija u jezeru Sakadaš (Slika 43) bila je Comamonadaceae (razred Betaproteobacteria). U travnju se kao najbrojnija pojavila porodica Coxiellaceae (razred Gammaproteobacteria). U svibnju, lipnju, srpnju i rujnu najbrojnija je bila porodica Comamonadaceae, dok je u kolovozu to bila skupina Actinobacteria.



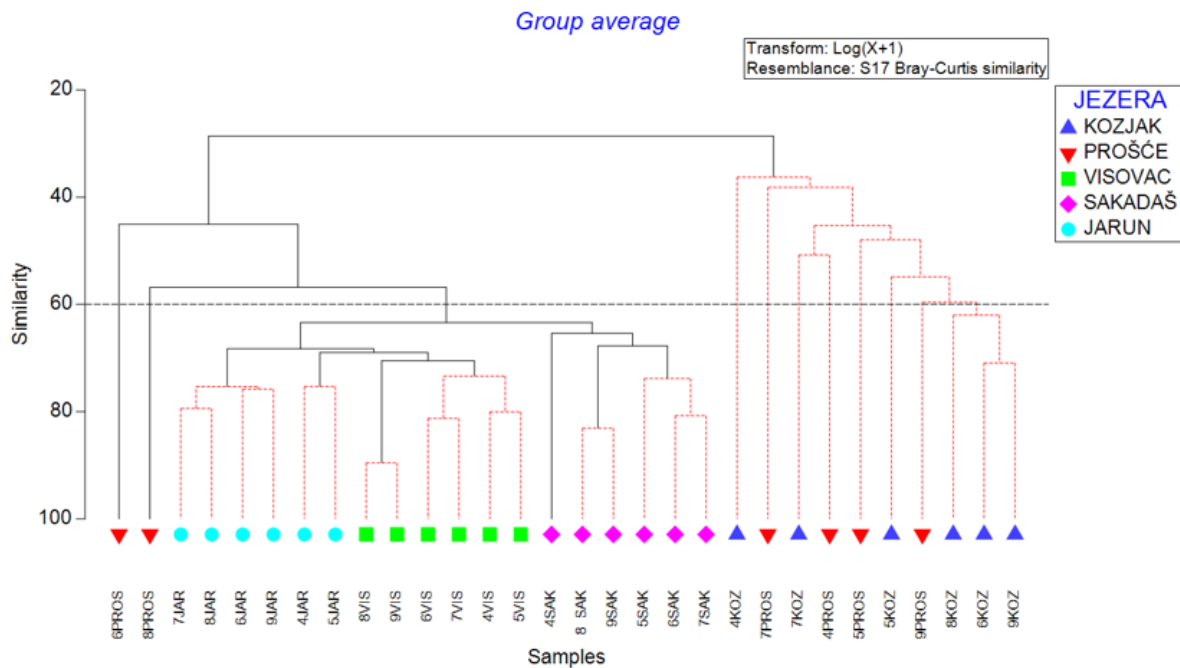
Slika 43. Relativni udio biomase 5 % najzastupljenijih bakterijskih skupina u jezeru Sakadaš u 2016. godini.

U travnju je u jezeru Jarun (Slika 44) najbrojnija bila porodica Burkholderiaceae (razred Betaproteobacteria), a slijede Actinobacteria i Comamonadaceae. Od svibnja do rujna skupina Actinobacteria je bila dominantna u Jarunu. U svibnju, lipnju i rujnu iza Actinobacteria slijede Comamonadaceae i Burkholderiaceae, u srpnju Comamonadaceae i Micromonosporaceae, a u kolovozu Microbacteriaceae i Comamonadaceae.



Slika 44. Relativni udio biomase 5 % najzastupljenijih bakterijskih skupina u jezeru Jarun u 2016. godini.

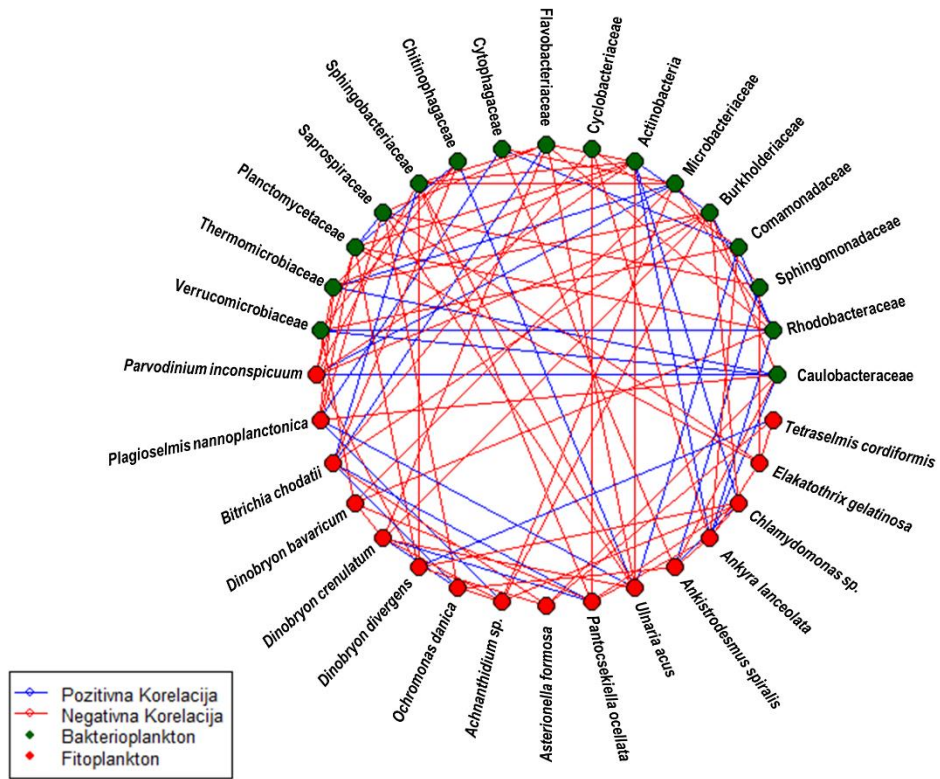
Hijerarhijsko grupiranje na temelju Bray-Curtisove sličnosti pokazalo je odvajanje bakterijske zajednice u dvije skupine na sličnosti od 60 % (Slika 45). Prvu skupinu činila su Plitvička jezera Kozjak i Prošće, dok su u drugoj grupi Visovačko jezero, Jarun i Sakadaš. U jezerima Kozjak i Prošće najbrojnije su bile skupine bakterija Pseudomonadaceae iz razreda Gammaproteobacteria i Comamonadaceae iz razreda Betaproteobacteria. Unutar grupe Plitvička jezera posebno su se izdvojili uzorci lipnja i kolovoza iz Prošća (najbrojnija skupina Micrococcaceae, odnosno Microbacteriaceae). U Visovačkom jezeru, Jarunu i Sakadašu dominantne bakterijske skupine bile su razred Actinobacteria i porodica Comamonadaceae iz razreda Betaproteobacteria.



Slika 45. Hijerarhijsko grupiranje jezera Prošće, Kozjak, Sakadaš, Jarun i Visovačkog jezera prema sličnostima u bakterijskim zajednicama temeljem Bray-Curtis indeksa sličnosti tijekom 2016. godine.

Trofičke interakcije

U Visovačkom jezeru bilo je 48 % pozitivnih korelacija (122) i 52 % negativnih korelacija (132) između fitoplanktona i bakterioplanktona (Slika 46). *Achnanthydium* sp. pozitivno je korelirao s 10 skupina, a negativno sa 6 skupina bakterioplanktona. Svoje *Bitrichia chodatii*, *Ochromonas danica* i *Tetraselmis cordiformis* svaka su pojedinačno pozitivno korelirale s 9 skupina, a negativno sa 7 skupina bakterioplanktona. Vrste fitoplanktona *Pantocsekiella ocellata*, *Parvodinium inconspicuum*, *Plagioselmis nannoplanctonica*, *Ankistrodesmus spiralis* i *Asterionella formosa* su jednako pozitivno i negativno korelirale s odabranim skupinama bakterioplanktona. *Dinobryon bavarium* pozitivno je korelirao sa 7 skupina, dok je negativno korelirao s 9 skupina bakterioplanktona. *Ulnaria acus* i *Dinobryon divergens* svaka su pojedinačno pozitivno korelirale sa 7 skupina, a negativno s 9 skupina bakterioplanktona. Svoja fitoplanktona *Ankyra lanceolata* pokazala je pozitivnu korelaciju sa 7 skupina, te negativnu korelaciju s 8 skupina bakterioplanktona. Nadalje, vrsta *Elakatothrix gelatinosa* pozitivno je korelirala sa 6 skupina, a negativno s 9 skupina bakterioplanktona. *Chlamydomonas* sp. pozitivno je korelirao sa 6 skupina, dok je negativno s 10 skupina bakterioplanktona. Vrsta *Dinobryon crenulatum* imala je najveći udio negativnih korelacija s bakterioplanktonom (11 skupina), dok je pozitivno korelirala s 5 skupina bakterioplanktona. Najveće pozitivne korelacije između fitoplanktona i bakterioplanktona u Visovačkom jezeru (Tablica 33) pokazale su *Elakatothrix gelatinosa* i Rhodobacteraceae (0,943), zatim *Dinobryon crenulatum* i Burkholderiaceae (0,943), *Elakatothrix gelatinosa* i Cyclobacteriaceae (0,886), te *Asterionella formosa* i Actinobacteria (0,886). Najznačajnije negativne korelacije bile su između *Parvodinium inconspicuum* i Flavobacteriaceae (-0,943), *Asterionella formosa* i Flavobacteriaceae (-0,886), *Bitrichia chodatii* i Caulobacteraceae (-0,829), *Dinobryon divergens* i Verrucomicrobiaceae (-0,829), te *Tetraselmis cordiformis* i Flavobacteriaceae (-0,829).

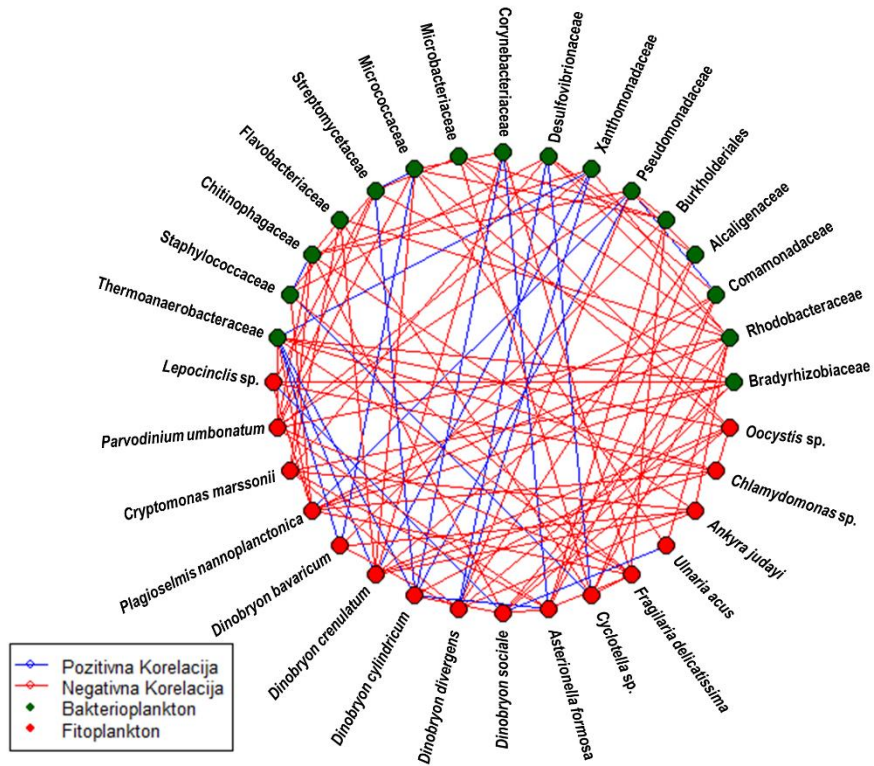


Slika 46. Mrežna analiza interakcija između izdvojenih fitoplanktonskih vrsta i skupina bakterioplanktona u Visovačkom jezeru.

Tablica 33. Prvih 10 pozitivnih i negativnih interakcija između fitoplanktona i bakterioplanktona u Visovačkom jezeru. Pozitivne korelacije su označene plavom bojom, a negativne korelacije crvenom bojom.

Fitoplankton	Bakterioplankton	Korelacija (Spearman)
<i>Dinobryon crenulatum</i>	Burkholderiaceae	0,943
<i>Elakatothrix gelatinosa</i>	Rhodobacteraceae	0,943
<i>Asterionella formosa</i>	Actinobacteria	0,886
<i>Elakatothrix gelatinosa</i>	Cyclobacteriaceae	0,886
<i>Dinobryon bavaricum</i>	Rhodobacteraceae	0,829
<i>Plagioselmis nannoplanctica</i>	Sphingomonadaceae	0,829
<i>Tetraselmis cordiformis</i>	Saprospiraceae	0,829
<i>Bitrichia chodatii</i>	Burkholderiaceae	0,771
<i>Chlamydomonas</i> sp.	Burkholderiaceae	0,771
<i>Dinobryon bavaricum</i>	Cyclobacteriaceae	0,771
<i>Parvodinium inconspicuum</i>	Flavobacteriaceae	-0,943
<i>Asterionella formosa</i>	Flavobacteriaceae	-0,886
<i>Bitrichia chodatii</i>	Caulobacteraceae	-0,829
<i>Dinobryon divergens</i>	Verrucomicrobiaceae	-0,829
<i>Tetraselmis cordiformis</i>	Flavobacteriaceae	-0,829
<i>Bitrichia chodatii</i>	Comamonadaceae	-0,771
<i>Bitrichia chodatii</i>	Sphingobacteriaceae	-0,771
<i>Ulnaria acus</i>	Chitinophagaceae	-0,771
<i>Dinobryon divergens</i>	Cyclobacteriaceae	-0,714
<i>Parvodinium inconspicuum</i>	Sphingomonadaceae	-0,714

U jezeru Kozjak zabilježeno je 47 % pozitivnih (120) i 53 % negativnih (135) korelacija između fitoplanktona i bakterioplanktona (Slika 47). Vrsta *Ankyra judayi* je bila u pozitivnoj korelaciji s 13 skupina, a negativnoj s 3 skupine bakterioplanktona. Dijatomeja *Asterionella formosa* pozitivno je korelirala s 5, a negativno s 11 skupina bakterioplanktona. Svojta *Chlamydomonas* sp. pozitivno je korelirala s 11, a negativno s 5 skupina bakterioplanktona. Svojte *Cryptomonas marssonii*, *Cyclotella* sp., *Dinobryon sociale*, *Lepocinclis* sp. pozitivno su korelirale sa 6, a negativno s 10 skupina bakterioplanktona. Vrste *Dinobryon bavaricum* i *Dinobryon cylindricum* pozitivno su korelirale s 10, a negativno sa 6 skupina bakterioplanktona. *Dinobryon crenulatum* pozitivno je korelirao s 4, a negativno s 12 skupina bakterioplanktona. Vrsta *Dinobryon divergens* pokazala je pozitivnu korelaciju s 9, a negativnu sa 6 skupina bakterioplanktona. Vrste *Fragilaria delicatissima* i *Oocystis* spp. pozitivno su korelirale s 7, a negativno s 9 skupina bakterioplanktona. *Parvodinium umbonatum* pozitivno je korelirao s 3, a negativno s 13 skupina bakterioplanktona. *Plagioselmis nannoplanctonica* je korelirao podjednako tj. pozitivno s 8 i negativno s 8 skupina bakterioplanktona. Vrsta *Ulnaria acus* pozitivno je korelirala s 9, a negativno sa 7 skupina bakterioplanktona. Najveće pozitivne korelacije između fitoplanktona i bakterioplanktona u jezeru Kozjak (Tablica 34) bile su između *Chlamydomonas* sp. i Flavobacteriaceae (0,886), te *Ulnaria acus* i Bradyrhizobiaceae (0,886). Najveće negativne korelacije bile su između *Dinobryon crenulatum* i Micrococcaceae (-0,943) te *Parvodinium umbonatum* i Rhodobacteraceae (-0,943).

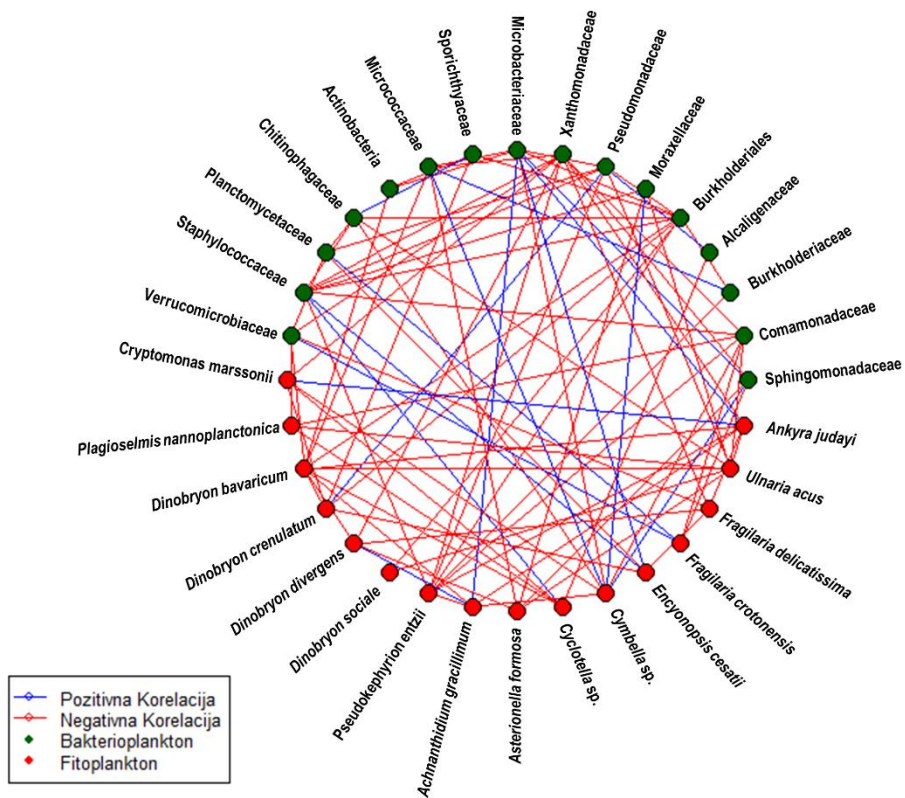


Slika 47. Mrežna analiza interakcija između izdvojenih fitoplanktonskih vrsta i skupina bakterioplanktona u jezeru Kozjak.

Tablica 34. Prvih 10 pozitivnih i negativnih interakcija između fitoplanktona i bakterioplanktona u jezeru Kozjak. Pozitivne korelacije su označene plavom bojom, a negativne korelacije crvenom bojom.

Fitoplankton	Bakterioplankton	Korelacija (Spearman)
<i>Chlamydomonas</i> sp.	Flavobacteriaceae	0,886
<i>Ulnaria acus</i>	Bradyrhizobiaceae	0,886
<i>Cryptomonas marssonii</i>	Thermoanaerobacteraceae	0,829
<i>Dinobryon bavaricum</i>	Microbacteriaceae	0,829
<i>Lepocinclis</i> sp.	Pseudomonadaceae	0,829
<i>Oocystis</i> spp.	Thermoanaerobacteraceae	0,829
<i>Dinobryon crenulatum</i>	Pseudomonadaceae	0,771
<i>Dinobryon cylindricum</i>	Flavobacteriaceae	0,771
<i>Fragilaria delicatissima</i>	Comamonadaceae	0,771
<i>Ulnaria acus</i>	Staphylococcaceae	0,771
<i>Dinobryon crenulatum</i>	Micrococcaceae	-0,943
<i>Parvodinium umbonatum</i>	Rhodobacteraceae	-0,943
<i>Parvodinium umbonatum</i>	Microbacteriaceae	-0,886
<i>Dinobryon crenulatum</i>	Thermoanaerobacteraceae	-0,829
<i>Fragilaria delicatissima</i>	Xanthomonadaceae	-0,829
<i>Lepocinclis</i> sp.	Burkholderiales	-0,829
<i>Lepocinclis</i> sp.	Micrococcaceae	-0,829
<i>Asterionella formosa</i>	Burkholderiales	-0,771
<i>Asterionella formosa</i>	Micrococcaceae	-0,771
<i>Dinobryon divergens</i>	Bradyrhizobiaceae	-0,771

U jezeru Prošće bilo je 55 % pozitivnih (140) i 45 % negativnih korelacija (116) između fitoplanktona i bakterioplanktona (Slika 48). Vrste *Ulnaria acus*, *Pseudokephyrion entzii*, *Fragilaria crotonensis*, *Dinobryon bavaricum*, *Cryptomonas marssonii* i *Asterionella formosa* pokazale su pozitivne korelacije svaka pojedinačno s 9, a negativne sa 7 skupina bakterioplanktona. Vrste *Plagioselmis nannoplanctonica*, *Achnantheidium gracillimum* i *Dinobryon sociale* pozitivno su korelirale sa 7, a negativno s 9 skupina bakterioplanktona. Vrsta *Fragilaria delicatissima* pozitivno je korelirala s 11, a negativno s 5 skupina bakterioplanktona. Vrste *Encyonopsis cesatii*, *Dinobryon divergens* i *Dinobryon crenulatum* imale su interakcije s jednakim udjelom pozitivnih i negativnih korelacija sa skupinama bakterioplanktona. Vrste *Cymbella* sp., *Cyclotella* sp. i *Ankyra judayi* pozitivno su korelirale s 10, a negativno sa 6 skupina bakterioplanktona. Najveće pozitivne korelacije između fitoplanktona i bakterioplanktona u jezeru Prošće (Tablica 35) bile su između *Fragilaria delicatissima* i Moraxellaceae (0,943), *Fragilaria crotonensis* i Sporichthyaceae (0,943) te *Dinobryon divergens* i Staphylococcaceae (0,943). Najznačajnija negativna korelacija bila je između *Fragilaria delicatissima* i Sphingomonadaceae (-0,886).

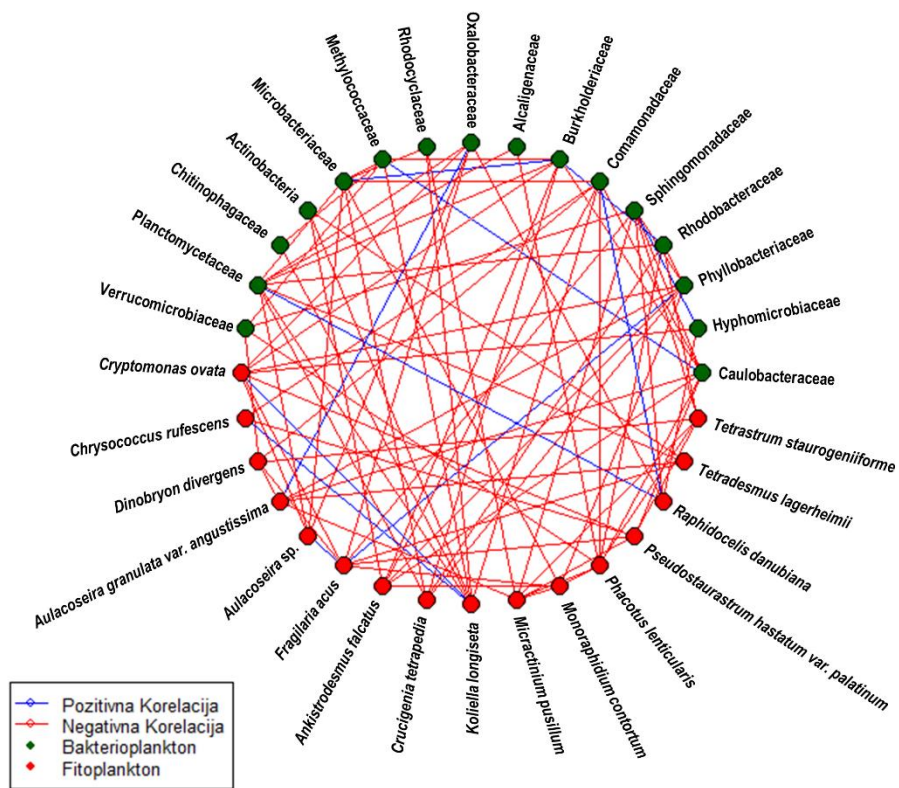


Slika 48. Mrežna analiza interakcija između izdvojenih fitoplanktonskih vrsta i skupina bakterioplanktona u jezeru Prošće.

Tablica 35. Prvih 10 pozitivnih i negativnih interakcija između fitoplanktona i bakterioplanktona u jezeru Prošće. Pozitivne korelacije su označene plavom bojom, a negativne korelacije crvenom bojom.

Fitoplankton	Bakterioplankton	Korelacija (Spearman)
<i>Fragilaria delicatissima</i>	Moraxellaceae	0,943
<i>Fragilaria crotonensis</i>	Sporichthyaceae	0,943
<i>Dinobryon divergens</i>	Staphylococcaceae	0,943
<i>Fragilaria crotonensis</i>	Micrococcaceae	0,886
<i>Ankyra judayi</i>	Planctomycetaceae	0,886
<i>Plagioselmis nannoplanctonica</i>	Microbacteriaceae	0,829
<i>Dinobryon bavaricum</i>	Alcaligenaceae	0,829
<i>Achnantheidium gracillimum</i>	Actinobacteria	0,829
<i>Plagioselmis nannoplanctonica</i>	Pseudomonadaceae	0,771
<i>Fragilaria crotonensis</i>	Planctomycetaceae	0,771
<i>Fragilaria delicatissima</i>	Sphingomonadaceae	-0,886
<i>Pseudokephyrion entzii</i>	Microbacteriaceae	-0,829
<i>Dinobryon sociale</i>	Comamonadaceae	-0,829
<i>Dinobryon sociale</i>	Verrucomicrobiaceae	-0,829
<i>Dinobryon crenulatum</i>	Sphingomonadaceae	-0,829
<i>Cryptomonas marssonii</i>	Burkholderiales	-0,829
<i>Cryptomonas marssonii</i>	Pseudomonadaceae	-0,829
<i>Cryptomonas marssonii</i>	Chitinophagaceae	-0,829
<i>Asterionella formosa</i>	Pseudomonadaceae	-0,829
<i>Pseudokephyrion entzii</i>	Pseudomonadaceae	-0,771

U jezeru Sakadaš zabilježen je jednak udio pozitivnih i negativnih korelacija između fitoplanktona i bakterioplanktona (Slika 49). Vrste *Ankistrodesmus falcatus*, *Aulacoseira* sp., *Chrysococcus rufescens*, *Cryptomonas ovata* i *Monoraphidium contortum* pozitivno su korelirale s 9, a negativno sa 7 skupina bakterioplanktona. *Aulacoseira granulata* var. *angustissima* i *Phacotus lenticularis* pokazale su pozitivne korelacije sa 6, a negativne s 10 skupina bakterioplanktona. Vrste *Crucigenia tetrapedia* i *Fragilaria acus* pozitivno su korelirale s 5, a negativno s 11 skupina bakterioplanktona. Vrste *Dinobryon divergens* i *Pseudostaurastrum hastatum* var. *palatinum* bile su u pozitivnoj korelaciji svaka pojedinačno s 10, a negativno sa 6 skupina bakterioplanktona. Vrsta *Koliella longiseta* pokazala je pozitivnu korelaciju 11, a negativnu s 5 skupina bakterioplanktona. Vrste *Micractinium pusillum* i *Raphidocelis danubiana* pozitivno su korelirale sa 7, a negativno s 9 skupina bakterioplanktona. Vrsta *Tetradesmus lagerheimii* imala je jednaki broj pozitivnih i negativnih korelacija s bakterioplanktonom. Najznačajnije pozitivne korelacije između fitoplanktona i bakterioplanktona u jezeru Sakadaš (Tablica 36) bile su između *Dinobryon divergens* i Verrucomicrobiaceae (0,943), *Koliella longiseta* i Planctomycetaceae (0,886) te *Crucigenia tetrapedia* i Phyllobacteriaceae (0,829). Najveće negativne korelacije bile su između *Crucigenia tetrapedia* i Sphingomonadaceae (-0,943), *Dinobryon divergens* i Methylococcaceae (-0,943), te *Raphidocelis danubiana* i Chitinophagaceae (-0,886).

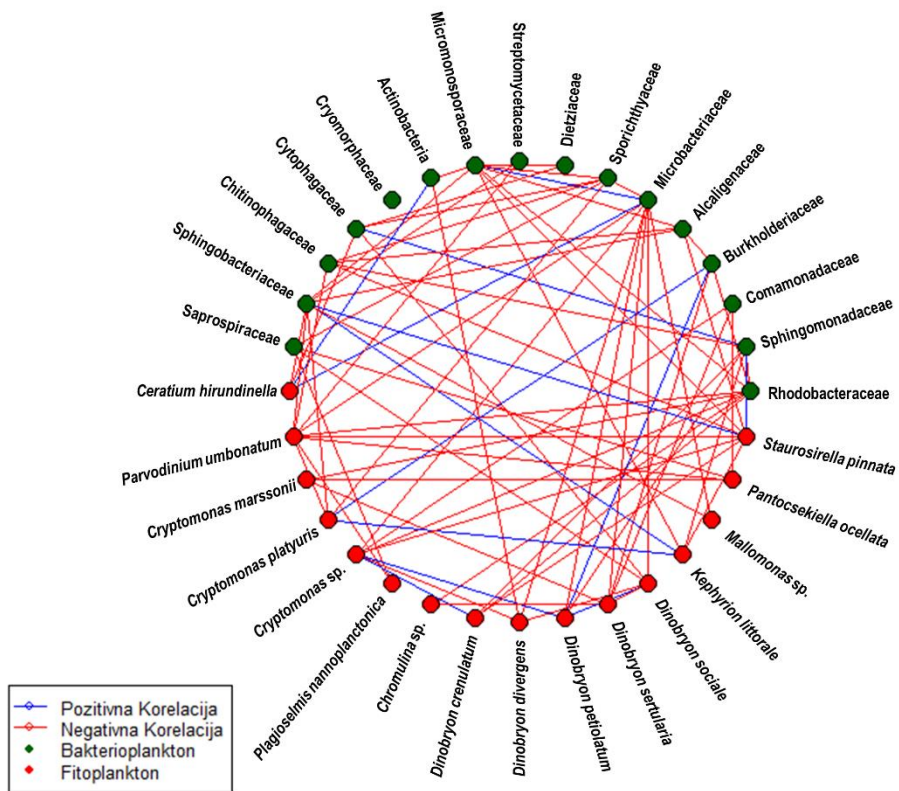


Slika 49. Mrežna analiza interakcija između izdvojenih fitoplanktonskih vrsta i skupina bakterioplanktona u jezeru Sakadaš.

Tablica 36. Prvih 10 pozitivnih i negativnih interakcija između fitoplanktona i bakterioplanktona u jezeru Sakadaš. Pozitivne korelacije su označene plavom bojom, a negativne korelacije crvenom bojom.

Fitoplankton	Bakterioplankton	Korelacija (Spearman)
<i>Dinobryon divergens</i>	Verrucomicrobiaceae	0,943
<i>Koliella longiseta</i>	Planctomycetaceae	0,886
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	Phyllobacteriaceae	0,829
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	Methylococcaceae	0,771
<i>Cryptomonas ovata</i>	Comamonadaceae	0,771
<i>Dinobryon divergens</i>	Microbacteriaceae	0,771
<i>Koliella longiseta</i>	Comamonadaceae	0,771
<i>Aulacoseira</i> sp.	Sphingomonadaceae	0,714
<i>Cryptomonas ovata</i>	Hyphomicrobiaceae	0,714
<i>Dinobryon divergens</i>	Rhodobacteraceae	0,714
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	Sphingomonadaceae	-0,943
<i>Dinobryon divergens</i>	Methylococcaceae	-0,943
<i>Raphidocelis danubiana</i>	Chitinophagaceae	-0,886
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	Actinobacteria	-0,829
<i>Pseudostaurastrum hastatum</i> var. <i>palatinum</i>	Oxalobacteraceae	-0,829
<i>Aulacoseira granulata</i> var. <i>angustissima</i>	Rhodocyclaceae	-0,771
<i>Phacotus lenticularis</i>	Comamonadaceae	-0,771
<i>Aulacoseira</i> sp.	Oxalobacteraceae	-0,714
<i>Phacotus lenticularis</i>	Hyphomicrobiaceae	-0,714
<i>Phacotus lenticularis</i>	Rhodocyclaceae	-0,714

U jezeru Jarun bilo je 53 % pozitivnih (137) i 46 % negativnih korelacija (118) između fitoplanktona i bakterioplanktona (Slika 50). Vrsta *Ceratium hirundinella* pozitivno je korelirala s 11, a negativno s 5 skupina bakterioplanktona. Svojta *Chromulina* sp. pozitivno je korelirala s 10, a negativno s 5 skupina bakterioplanktona. Vrste *Cryptomonas platyuris*, *Parvodinium umbonatum* i *Kephyrion littorale* pozitivno su korelirale s 9, a negativno sa 7 skupina bakterioplanktona. Svojte *Cryptomonas* sp., *Dinobryon sociale* i *Pantocsekiella ocellata* pozitivno su korelirale sa 7, a negativno s 9 skupina bakterioplanktona. Vrste *Dinobryon crenulatum* i *Staurosirella pinnata* pokazale su pozitivne korelacije svaka pojedinačno s 10, a negativne sa 6 skupina bakterioplanktona. Svojte *Cryptomonas marssonii*, *Dinobryon divergens*, *Dinobryon petiolatum*, *Dinobryon sertularia*, *Mallomonas* sp. i *Plagioselmis nannoplanctonica* imale su jednaki broj pozitivnih i negativnih korelacija s bakterioplanktonom. Najveće pozitivne korelacije između fitoplanktona i bakterioplanktona u jezeru Jarun (Tablica 37) bile su između *Cryptomonas platyuris* i Dietziaceae (0,886), te *Dinobryon divergens* i Sphingobacteriaceae (0,886). Najznačajnija negativna korelacija bila je između *Dinobryon petiolatum* i Streptomycetaceae (-0,943).

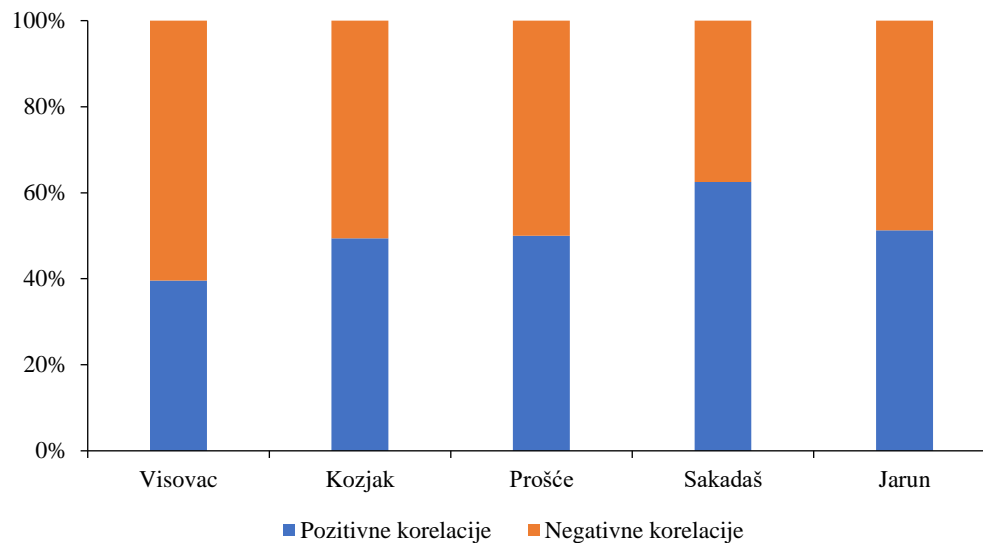


Slika 50. Mrežna analiza interakcija između izdvojenih fitoplanktonskih vrsta i skupina bakterioplanktona u jezeru Jarun.

Tablica 37. Prvih 10 pozitivnih i negativnih interakcija između fitoplanktona i bakterioplanktona u jezeru Jarun. Pozitivne korelacije su označene plavom bojom, a negativne korelacije crvenom bojom.

Fitoplankton	Bakterioplankton	Korelacija (Spearman)
<i>Cryptomonas platyuris</i>	Dietziaceae	0,886
<i>Dinobryon divergens</i>	Sphingobacteriaceae	0,886
<i>Cryptomonas marssonii</i>	Alcaligenaceae	0,771
<i>Cryptomonas marssonii</i>	Sphingobacteriaceae	0,771
<i>Dinobryon crenulatum</i>	Chitinophagaceae	0,771
<i>Dinobryon petiolatum</i>	Micromonosporaceae	0,771
<i>Dinobryon petiolatum</i>	Sphingomonadaceae	0,714
<i>Dinobryon sertularia</i>	Sphingobacteriaceae	0,714
<i>Dinobryon sociale</i>	Sporichthyaceae	0,714
<i>Mallomonas</i> sp.	Micromonosporaceae	0,714
<i>Dinobryon petiolatum</i>	Streptomycetaceae	-0,943
<i>Chromulina</i> sp.	Microbacteriaceae	-0,829
<i>Cryptomonas platyuris</i>	Alcaligenaceae	-0,829
<i>Dinobryon petiolatum</i>	Microbacteriaceae	-0,829
<i>Chromulina</i> sp.	Streptomycetaceae	-0,771
<i>Dinobryon crenulatum</i>	Sporichthyaceae	-0,771
<i>Dinobryon divergens</i>	Comamonadaceae	-0,771
<i>Kephyrion littorale</i>	Cryomorphaceae	-0,771
<i>Mallomonas</i> sp.	Alcaligenaceae	-0,771
<i>Parvodinium umbonatum</i>	Chitinophagaceae	-0,771

Promatrajući korelacije između vrste roda *Dinobryon* u odnosu na bakterioplankton u različitim jezerima (Slika 51), primijećeno je da je najveći omjer negativnih korelacija bio u Visovačkom jezeru (60 %), dok je najmanji udio negativnih korelacija bio u jezeru Sakadaš (38 %).



Slika 51. Udio pozitivnih i negativnih korelacije vrsta roda *Dinobryon* u Visovačkom jezeru, te jezerima Kozjak, Prošće, Sakadaš i Jarun.

5. RASPRAVA

5.1. Fizikalno-kemijski čimbenici Visovačkog jezera

Okolišni čimbenici uglavnom su odgovarali izmjerenim vrijednostima tijekom ranijih istraživanja Visovačkog jezera (Ciglenečki-Jušić i sur., 2013; Gligora Udovič i sur., 2011, 2015). Osobito važan fizikalno-kemijski čimbenik u ocjeni ekološkog stanja i stupnja trofije je koncentracija otopljenog kisika (Best i sur., 2007). Tijekom proljetnog obrata, tj. cirkulacije vodenog stupca, toplija voda bogata kisikom iz epilimniona prodire u hipolimnion, nadopunjujući tako duboke slojeve kisikom, ali također omogućujući prijenos hranjivih tvari iz hipolimniona prema gore (Salmaso i sur., 2012). Ovaj događaj omogućuje razvoj fitoplanktona (Bleiker i sur., 1989), što rezultira početnim povećanjem koncentracije kisika (Yang i sur., 2021) kao što je bio slučaj u Visovačkom jezeru tijekom travnja, svibnja i lipnja 2016. i 2019. godine (prosječna koncentracija O₂ od 10,66 mg L⁻¹). S druge strane, ljetne mjesece karakterizirao je pad koncentracije O₂, posebice u afotičkoj zoni i to na postajama V3, V5 i V9 na kojima je izmjerena značajno niža koncentracija kisika (< 5 mg L⁻¹) što ukazuje na hipoksične uvjete tijekom kolovoza 2018. godine vjerojatno uzrokovane razgradnjom organske tvari akumulirane od strane primarnih proizvođača (Sommer i sur., 2012). Tijekom ljetnih mjeseci izmjerena je najviša temperatura vode, što uvjetuje stabilnu stratifikaciju vodenog stupca uslijed insolacije i zagrijavanja površinskog sloja vode (Boehrer i Schultze, 2008). Jezera na karbonatnoj podlozi karakteriziraju relativno visoke pH vrijednosti vode zbog otapanja supstrata (Wetzel, 2001). Najviše pH vrijednosti zabilježene su u proljeće, što ukazuje na pojačanu aktivnost planktona (Habdija i sur., 2009). Dostupnost hranjivih tvari jedan je od ključnih čimbenika koji kontrolira eutrofikaciju budući da određuje dinamiku fitoplanktona. Većina dušika u jezerima obično dolazi iz izravnog kopnenog otjecanja (Ongley, 1996). Čak i manje varijacije u unosu dušika mogu izazvati značajne promjene u produktivnosti i kruženju dušika u jezerima (Sheibley i sur., 2014). Nitriti su reducirani, relativno nestabilni prijelazni oblik dušika (WHO, 2011) sa značajnom ulogom indikatora promjene redoks stanja u vodenom stupcu i hipoksije (Ciglenečki-Jušić i sur., 2013). Vrlo niske razine nitrita bile su zabilježene i tijekom prethodnih istraživanja Visovačkog jezera (Gligora Udovič i sur., 2016). Povišene vrijednosti nitrata tijekom svibnja i kolovoza 2016. godine vjerojatno su posljedica ispuštanja otpadnih voda iz kanalizacijskog sustava grada Knina koje sadrže organski dušik i

poljoprivrednih otjecanja koja sadrže anorganski dušik. Organski i anorganski dušik može se razgraditi u amonijak te zatim oksidirati u nitrit (WHO, 2011). Nitratni i amonijevi ioni najvažniji su izvori dušika za rast fitoplanktona (Domingues i sur., 2011). Vrijednosti nitrata mogu značajno oscilirati ovisno o mjesecu uzorkovanja i stanju okoliša. Razine nitrata i ukupnog dušika zabilježene u Visovačkom jezeru tijekom ovog istraživanja bile su u skladu s prethodnim studijama (Gligora Udovič i sur., 2011). Niže vrijednosti ukupnog dušika i nitrata u ljetnim mjesecima mogu se protumačiti kao posljedica povećane potrošnje fitoplanktona tijekom stabilnosti vodenog stupca, dok više proljetne vrijednosti sugeriraju visoku oksigenaciju vodenog stupca vertikalnim miješanjem i mogućim procesima bakterijske nitrifikacije (Philips i sur., 2002). Vrijednosti NH_4^+ bile su većinom niske, osim u svibnju i lipnju 2016. godine, što ukazuje na veći sadržaj organske tvari i pojačanu mikrobiološku razgradnju (Wetzel, 2001). Niske vrijednosti ukupnog fosfora u Visovačkom jezeru u suglasju su s prethodnim istraživanjima (Gligora Udovič i sur., 2011; 2015) i općenito se mogu pripisati hidrološkom razrjeđivanju tijekom transporta kroz kršku drenažu u kombinaciji s potencijalno visokim kapacitetom neto zadržavanja (Jarvie i sur., 2014). U usporedbi s relativno malim volumenom, Visovačko jezero prima velike količine slatkovodnih prinosa obogaćenih hranjivim tvarima (Ciglencečki-Jušić i sur., 2013). Uzimajući u obzir tendenciju promjene jezera u produktivnije sustave (Špoljar i sur., 2007), potrebno je redovito provoditi monitoring u svrhu ocjenjivanja stupnja trofije. Važno je uzeti u obzir i djelovanje klimatskih promjena na planktonske zajednice, konkretno utjecaj povišenja temperature na stratifikaciju jezera (Woolway i Merchant, 2019).

5.2. Ocjena ekološkog stanja i stupnja trofije Visovačkog jezera

Prema Okvirnoj direktivi o vodama EU (ODV, 2000/60/EC) biološki elementi kakvoće temelj su za ocjenu ekološkog stanja, dok se fizikalno-kemijski čimbenici i hidromorfološke karakteristike smatraju pratećim elementima. Biološke zajednice su dobri pokazatelji kvalitete vode jer reflektiraju uvjete okoliša tijekom dužeg vremenskog razdoblja i relativno brzo odgovaraju na okolišne pritiske. Prednosti korištenja fitoplanktonske zajednice kao pokazatelja ranog upozorenja na potencijalno onečišćenje su kratko generacijsko vrijeme, brojnost i raznolikost vrsta te brzi odgovor na promjene u okolišu.

Prije uspješne interkalibracije 2019. godine, nacionalna Metodologija (Hrvatske vode, 2016) za ocjenu ekološkog stanja jezera uključivala je trofički model temeljen na koncentraciji klorofila *a*, ukupnoj biomasi i udjelu taksonomskih skupina fitoplanktona. Prema Uredbi o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019) u Hrvatskoj se koristi HLPI indeks koji uzima u obzir indeks biomase (koncentracija klorofila *a*) i taksonomski sastav fitoplanktona.

U disertaciji su predložene granične vrijednosti za ocjenu stupnja trofije Visovačkog jezera pomoću koncentracije klorofila *a* na temelju analize rezultata iz 2016. i 2019. godine. Standard ocjene stupnja trofije za klorofila *a* razlikuje se od prijedloga OECD-a (OECD, 1982), a proizlazi iz potrebe za prilagodbom graničnih vrijednosti za Visovačko jezero. Konkretno, prilagođene su granične vrijednosti za klorofil *a* u dijelu određivanja oligotrofnog i mezotrofnog stupnja trofije ($2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ na $2 \mu\text{g L}^{-1}$) te mezotrofnog i eutrofnog stupnja trofije Visovačkog jezera ($8 \mu\text{g L}^{-1}$ na $7 \mu\text{g L}^{-1}$). Kako bi se dobile granične vrijednosti za ocjenu stupnja trofije pomoću koncentracije klorofila *a* su korištene jednadžbe navedene u tablicama 4. i 5. u poglavlju Materijali i metode. Primjenom predloženih graničnih vrijednosti koncentracije klorofila *a*, došlo je do promjene u ocjeni stupnja trofije jezera za lipanj 2016. i 2019. iz oligotrofnog u mezotrofni. Koncentracija klorofila *a* često se koristi kao aproksimacija za biomasu fitoplanktona (Kasprzak i sur., 2008), međutim potrebno ga je koristiti s oprezom uzimajući u obzir njegove promjenjive udjele po jedinici biomase fitoplanktona. Količina klorofila *a* u stanicama fitoplanktona ovisi o staničnim zahtjevima za ugljikom i svjetlom, kao i nedostatku glavnih hranjivih tvari, dušika i fosfora (Reynolds, 2006). Pokazatelj HLPI zadovoljava standarde propisane Okvirnom direktivom o vodama, pruža sveobuhvatan uvid u zajednicu fitoplanktona te izravno ukazuje na ekološko stanje.

Spearmanov koeficijent korelacije ukazuje na pozitivnu korelaciju HLPI s koncentracijom kisika i Secchi dubinom. Predlažem korištenje koncentracije klorofila *a* za brzu ocjenu svakodnevno ili jednom tjedno kao pokazatelja ranog upozorenja o potencijalnom pogoršanju stanja ekosustava. Preporuka je primijenjivati HLPI jednom mjesečno s obzirom na kompleksnu i opsežnu analizu koju ovaj pokazatelj podrazumijeva. Nadalje, oba pokazatelja tj. i klorofil *a* i HLPI, treba redovito primjenjivati tijekom vegetacijskog razdoblja od travnja do rujna.

Tradicionalne metode koje podrazumijevaju mikroskopsku analizu fitoplanktona i određivanje pigmenta u laboratoriju ne omogućavaju praćenje eutrofikacije jezera i promjene zajednice fitoplanktona u stvarnom vremenu već najčešće samo jednom mjesečno tijekom vegetacijskog razdoblja te je na taj način teško rano detektirati i pratiti kratkotrajne fenomene u prirodi primjerice cvjetanja algi ili mješanja vodenog stupca (Bertone i sur., 2018).

Uspoređujući prosječne dnevne vrijednosti koncentracije klorofila *a* izmjerene pomoću sonde na bovi za praćenje kakvoće vode u realnom vremenu na isti dan uzorkovanja, primijećena su odstupanja u odnosu na koncentracije klorofila *a* izmjerene u laboratoriju. Navedeno sugerira da su neophodne dodatne korekcije postavljenih sonda/senzora ili mjernih uređaja na bovi. Gledajući predloženu graničnu vrijednost za koncentraciju klorofila *a* za stupanj oligotrofno/mezotrofno ($2 \mu\text{g L}^{-1}$) može se primijetiti da je u četiri od šest slučajeva stupanj trofije dobiven u laboratoriju i sensorima na bovi bio usklađen. Na temelju rezultata, predloženo je postavljanje bove za praćenje kakvoće vode na limnetičkom dijelu Visovačkog jezera u eufotičkoj zoni. Disertacija potvrđuje da je praćenje ekološkog stanja jezera pomoću komplementarnih metoda, poput *in situ* mjerenja pomoću sonda na bovi u realnom vremenu, koristan pomoćni alat za dugoročna istraživanja i sveobuhvatnije praćenje sukcesije fitoplanktona, posebno kad se kombiniraju senzori za određivanje različitih pigmenta (Chegoonian i sur., 2022), a time predstavlja učinkovit napredak u automatiziranju monitoringa kao i omogućavanje rane dojave potencijalnih promjena (Hodges i sur., 2018; Marcé i sur., 2016; Meinson i sur., 2016; Rogora i sur., 2023). Nedavne studije istaknule su ograničenja pri korištenju *in situ* senzora za praćenje koncentracije klorofila *a*, kao što su zamućenost vodenog stupca i različiti udjeli skupina fitoplanktona (Kasinak i sur., 2015). Međutim, i ostali fizikalno-kemijski čimbenici, kao što su temperatura vode, stratifikacija vodenog stupca i količina svjetlosti, mogu utjecati na konačnu vrijednost izmjerene koncentracije klorofila *a* pomoću *in situ* sonda (Ostrowska, 2012). Stoga je

potrebna redovita provjera i validacija očitavanja senzora kroz laboratorijske analize kako bi se dobili pouzdani podaci. Podaci s bove ne mogu zamijeniti podatke o stupnju trofije jezera i biomasi fitoplanktona koji su dobiveni tradicionalnim metodama, tj. mikroskopiranjem i laboratorijskom analizom direktnih uzoraka. Unatoč tome, *in situ* senzor na bovi, čak i kada je ograničen na nekoliko osnovnih varijabli, može nadopuniti vremenske serije pridonoseći dubljem poznavanju dinamike ekosustava, posebno u pogledu kratkoročnih i vrlo promjenjivih procesa, kao i iznimno epizodnih i nepredvidivih događaja (Carpenter i sur., 2020). Neophodno je kombinirati pristupe u praćenju stanja jezera u svrhu potpunijeg znanja o procesima s kraćom vremenskom skalom od uobičajene frekvencije uzrokovanja tradicionalnim metodama (Meinson i sur., 2016) te imati višestruki pristup s različitim vremenskim i prostornim razinama (Sparrow i sur., 2020).

5.3. Zajednica fitoplanktona

Najbrojnija i biomasom najzastupljenija vrsta u Visovačkom jezeru tijekom 2016. i 2019. godine je centrična dijatomeja *Pantocsekiella ocellata*, koja prema funkcionalnoj klasifikaciji pripada kodonu C, tj. vrstama koje su karakteristične po vrlo varijabilnoj fenotipskoj plastičnosti (Duleba i sur., 2015; Edlund i sur., 2003) i toleranciji na raznolike uvjete u okolišu, npr. slabu dostupnost svjetlosti i toplinsku stratifikaciju jezera (Beamud i sur., 2015; Reynolds, 1997; Reynolds i sur., 2002). Posljedično, navedene osobine svrstavaju vrste kodona C u indikatorske vrste mezotrofnih staništa (Hu i sur., 2013). Niske vrijednosti Secchi dubina i toplinska stratifikacija mezotrofnog Visovačkog jezera omogućuje vrsti *P. ocellata* da bude osnovna deskriptivna vrsta što je u suglasju i s prethodnim istraživanjima (Gligora Udovič i sur., 2011, 2015; Hanžek i sur., 2021). Tijekom 2018. godine *P. ocellata* imala je veću brojnost na svim središnjim postajama i nižoj postaji V7.

Penatna dijatomeja *Asterionella formosa*, svrstana također u funkcionalnu skupinu C, obično je karakteristična za jezera s visokim koncentracijama hranjivih tvari (Salmaso, 2003), budući da je njen rast osjetljiv na smanjenje fosfora i dušika (Bertrand i sur., 2003; Reynolds, 1984). Razvoj vrste *A. formosa* u Visovačkom jezeru vjerojatno se može povezati s povećanom dostupnošću koncentracije silicija tijekom proljetnog obrata (Gligora Udovič i sur., 2011;

Sommer, 1984). Osim dijatomeja, fitoplanktonske zajednice krških jezera često se odlikuju vrstama iz skupine Ochrophyta (Gligora Udovič i sur., 2015; Morata i sur., 2003; Žutinić i sur., 2014). Miksotrofne vrste iz roda *Dinobryon*, koje se svrstavaju u funkcionalnu skupinu **E**, bile su prisutne u manjem udjelu tijekom istraživanih godina na svim postajama. Iako kodon **E**, karakterističan za mala, plitka jezera siromašna hranjivim tvarima ili heterotrofne bare (Padisák i sur., 2009; Reynolds i sur., 2002), nije u potpunosti u skladu s ekološkim značajkama ovog krškog jezera, svojite koje pripadaju ovoj skupini su često zabilježene sastavnice proljetno-ranoljetnog planktona u oligotrofno-mezotrofnim krškim jezerima (Žutinić i sur., 2014).

Na svim postajama u kolovozu 2018. godine, kao i od travnja do rujna 2016. i 2019. godine, primijećena je veća zastupljenost vrsta koje su indikatori mezo-eutrofnih uvjeta, konkretno *Cryptomonas* sp. i *Plagioselmis nannoplantica* (Cryptophyta) te *Tetraselmis cordiformis* (Chlorophyta) koje pripadaju funkcionalnoj skupini **X2** (Reynolds i sur., 2002). Funkcionalne skupine **C** i **X2** bile su pozicionirane u središtu CCA ordinacije što potvrđuje njihov širok raspon tolerancije na promjene ekoloških uvjeta u Visovačkom jezeru kao i indikaciju mezo-eutrofnih uvjeta staništa (Reynolds i sur., 2002). Kodon **MP**, koji se pojavio subdominantno tijekom proljeća 2016. i 2019. godine, sastoji se uglavnom od bentoskih dijatomeja koje se zadržavaju u planktonu tijekom proljetnog miješanja vodenog stupca (Padisák i sur., 2006).

Tijekom istraživanja u kolovozu 2018. godine te u ljetnom periodu 2016. i 2019. godine vrsta koja dominira zajednicom fitoplanktona bila je *Ceratium hirundinella*, prilagođena ljetnim uvjetima u Visovačkom jezeru (Gligora Udovič i sur., 2011, 2015). Velika dinoflagelatna vrsta *C. hirundinella* poznata je po svojoj pokretljivosti i miksotrofiji (Popovsky i Pfister, 1990). Navedena vrsta pripada kodonu **L0** koji se uobičajeno razvija u toplinski stratificiranim mezotrofnim jezerima tijekom ljeta (Reynolds i sur., 2002). Njezine pokretljive stanice omogućuju vertikalnu migraciju kroz vodeni stupac čime se olakšava učinkovito iskorištavanje hranjivih tvari i potiče fotosinteza (Padisák i sur., 2009; Sommer, 1988). CCA analiza potvrdila je da na vrste kodona **L0** utječe temperatura (Grigorszky i sur., 2003), što se može povezati s produženim razdobljem stratifikacije dubokih mediteranskih jezera uslijed produljenja uvjeta ljetnog godišnjeg doba (Pérez-Martínez i Sánchez-Castillo, 2002). U vodenim ekosustavima primijećen je značajan porast dominacije vrsta roda *Ceratium* kao posljedica povišenja globalnih temperatura uzrokovanim klimatskim promjenama (Ollrik i sur., 2012). Miksotrofija omogućava

fitoplanktonskim vrstama fagotrofiju u okolišu siromašnom hranjivim tvarima (Hansen, 2011; Kamjunke i sur., 2007). Miksotrofne vrste mogu mijenjati svoje funkcionalne uloge, tj. trofičke razine od primarnih proizvođača do potrošača te na taj način utječu na interakcije vrsta, kao i jačinu i smjer toka ugljika (Wilken i sur., 2013). Negativna korelacija uzoraka iz rujna 2016., kolovoza 2019. i rujna 2019. godine sa Secchi diskom i koncentracijom kisika na CCA triplotu bila je jasno povezana s ekološkim preferencijama povezanih kodona **P** i **K**. Niske koncentracije kisika i nitrata zabilježene u tim mjesecima dovele su do razvoja cijanobakterije *Anathece smithii* koja pripada kodonu **K**, tipičnom u stupcima bogatim hranjivim tvarima (Reynolds i sur., 2002), te dijatomeja *Aulacoseira granulata* i *Fragilaria crotonensis* (kodon **P**) koje su obično prisutne u eutrofnom epilimniju (Reynolds i sur., 2002).

U Visovačkom jezeru definirane su sukcesije fitoplanktona pomoću funkcionalnih skupina: **C – X2 – Lo – C – Lo**, tj. **C – Lo – C – Lo** tijekom 2016. i 2019. godine. Determinirane dominantne vrste i pripadajuće funkcionalne skupine fitoplanktona tipične su za krška jezera Dinaridske ekoregije te su u suglasju s prethodnim istraživanjima fitoplanktona u Visovačkom jezeru (Gligora Udovič i sur., 2015; Hanžek i sur., 2021). U svrhu predviđanja odgovora zajednice fitoplanktona na promjene u okolišu koje nastaju uslijed antropogenih pritisaka neophodno je poznavanje prirodne sukcesije i precizno razumijevanje ekosustava. Također, prisutnost ili odsutnost određenih funkcionalnih skupina povezana je s trenutnim stanjem jezera te nam služi kao vjerodostojan orijentir kod provođenja monitoringa.

Funkcionalni pristup ima neke nedostatke, npr. grupiranje vrsta u jednu funkcionalnu skupinu prihvatljivo je u onih rodova koji imaju samo nekoliko slatkovodnih vrsta (npr. rod *Uroglena*). No, postoji i 500 slatkovodnih vrsta roda *Chlamydomonas* opisane u raznim staništima, a sve su dodijeljene **X2** kodonu. Također, centrične dijatomeje sa široko raširenom distribucijom grupirane su u samo tri kodona (**A**, **B** i **C**), što bez sumnje predstavlja pojednostavljenje stvarnih, mnogo složenijih međuodnosa (Görgényi i sur., 2024).

Usporedba identificiranih svojti pokazala je visoku razinu sličnosti između kompozitnih uzoraka i uzoraka eufotičke zone u Visovačkom jezeru, konkretno identificiran je sličan broj vrsta, kao i deskriptivne svojte. Sličnost u uzorcima eufotičke zone i kompozitnim uzorcima je posebice utvrđena za sljedeće svojte: *C. hirundinella*, *Cryptomonas* sp. i *P. ocellata*. Visoka razina sličnosti dodatno je podržana analizom ANOSIM, koja je pokazala da se uzorci eufotičke zone mogu

pouzdana zamijeniti kompozitnim uzorcima kako bi se dobila točna karakterizacija fitoplanktonske zajednice u eufotičkoj zoni. Štoviše, osim nekih nepodudarnosti u uzorcima s postaja V4 i V7, posebno kodona **Lo** koji je posljedično utjecao na druge relativne udjele biomase, rezultati o zajednici fitoplanktona iz kompozitnih uzoraka i uzoraka eufotičke zone bili su uglavnom podudarni. Nepodudarnosti u udjelima funkcionalnih skupina fitoplanktona mogu se objasniti odstupanjem u biomasi pri određivanju vrsta s velikom vrijednosti biovolumena, odnosno razlika od samo jedne ili dvije pronađene stanice u promatranom uzorku može značajno utjecati na rezultate (Zarauz i sur., 2008). Iz navedenog se može zaključiti je kompozitno uzorkovanje fitoplanktona optimalan metodološki pristup u redovnom monitoringu Visovačkog jezera. Zajednica fitoplanktona u jezeru ovisi o čimbenicima kao što su dostupnost hranjivih tvari, svjetlost, temperatura i hidrološki uvjeti (Ptacnik i sur., 2008), a svi oni uvjetuju predvidljivo nižu biomasu fitoplanktona u afotičkoj zoni Visovačkog jezera nego u eufotičkoj zoni.

Što se tiče horizontalne raspodjele, sličnost unutar fitoplanktonske zajednice bila je očitija s obzirom na mikrolokaciju uzorkovanja nego na postaju uzorkovanja, što je rezultiralo jakim odvajanjem između uzoraka limnetičke i litoralne zone u Visovačkom jezeru. Relativno kratko retencijsko vrijeme i velika dubina miješanja jezera može spriječiti da centrične dijatomeje potonu u hipolimnion, što im posljedično omogućava dominaciju tijekom toplinske stratifikacije (Žutinić i sur., 2014). S druge strane, vrste *Cryptomonas* sp. i *Ceratium hirundinella* mogu aktivno plivati u vodenom stupcu kako bi dobile dovoljnu količinu svjetla i hranjivih tvari (Clegg i sur., 2007; Jamal i sur., 2014). Odvajanje litoralnih uzoraka može se pripisati biotičkim čimbenicima, kao što su utjecaj makrofitske vegetacije na razvoj fitoplanktona, grejzing zooplanktona i kompeticijom među vrstama, te abiotskim čimbenicima poput varijacija u kemijskom sastavu vode i razlikama u dostupnosti hranjivih tvari (Lemly i Dimmick, 1982; Mulderij i sur., 2007).

U eufotičkoj i afotičkoj zoni tijekom kolovoza 2018. godine dominirao je, kako je već i prethodno opisano u ovom poglavlju, veliki miksotrofni plivajući dinoflagelat *C. hirundinella*. Osim vrste *C. hirundinella*, dinoflagelat *Parvodinium inconspicuum* također je bio deskriptivni predstavnik funkcionalne skupine **Lo**, karakteristične za ljetni epilimnion mezotrofnih jezera i tolerantne na nedostatak hranjivih tvari (Padisák i sur., 2009; Reynolds i sur., 2002). Strategija miksotrofne prehrane široko je rasprostranjena i često dominantna u slatkovodnim ekosustavima (Sanders, 2011; Stoecker i sur., 2009), što omogućuje fitoplanktonu da bude sposoban za

bakteriofagiju u uvjetima smanjene koncentracije hranjivih tvari (Hansen, 2011; Kamjunke i sur., 2007). Različite miksotrofne vrste mogu mijenjati svoje sposobnosti reguliranja prijelaza između autotrofnog i heterotrofnog stila života, s obzirom na promjene u okolišu (Wilken i sur., 2013). Promjene u funkcionalnoj ulozi miksotrofa, od primarnih proizvođača do potrošača, mogu kaskadirati duž hranidbene mreže, mijenjajući na taj način interakcije između vrsta, kao i magnitudu i smjer toka ugljika (Wilken i sur., 2013). Rezultati modeliranja pokazuju da globalna hranidbena mreža planktona sastavljena od 100 % miksotrofa povećava sekvencijaciju ugljika za 35 % u usporedbi s hranidbenom mrežom bez miksotrofa (Ward i Follows, 2016). Istraživanja idu u smjeru karakterizacije pojedinih vrsta koje su dokazano miksotrofi koristeći nove pristupe (Dobbertin da Costa i sur., 2024).

5.4. eDNA metabarkoding

Funkcionalne skupine fitoplanktona mogu se uspješno integrirati u ekološke ocjene koje se temelje na eDNA uzorcima (Hanžek i sur., 2021). Usporedivost tradicionalne svjetlosne mikroskopije i pristupa eDNA metabarkodiranja očita je u označavanju centričnih dijatomeja, dinoflagelata i kriptofita kao deskriptivnih svojiti Visovačkog jezera. Iako su dinoflagelat *Ceratium hirundinella*, dijatomeja *Pantocsekiella ocellata* te kriptofiti *Cryptomonas* sp. i *Plagioselmis nannoplanctica* identificirani na razini vrste korištenjem tradicionalne mikroskopije, metoda eDNA metabarkodiranja odredila je više odgovarajuće razine kao dominantne skupine i to: centrične Mediophyceae, Cryptomonadales i Peridinales. Mogući razlog zašto su deskriptivne svojite identificirane samo mikroskopijom, a ne i pomoću eDNA metabarkodinga na razini vrste je taj što su taksonomske dodjele čitanja kratkih amplikona na razini vrste još uvijek problematične, s obzirom da veliki broj vrsta nije unesen u referentnu bazu podataka (Amaral-Zettler i sur., 2009; Stoeck i sur., 2010). Metabarkodiranje na V9-regiji SSU rRNA gena omogućuje ispravnu identifikaciju od roda do više taksonomske razine te su iz tog razloga eDNA analize raznolikosti eukariotskog fitoplanktona temeljene na razini porodice (Choi i Park, 2020; Stoeck i sur., 2010). Iako postoji nekoliko specifičnijih početnica koje se koriste u svrhu istraživanja raznolikosti dijatomeja, kao što su ribosomalni (*rbcL*) geni (Rimet i sur., 2018; Vasselon i sur., 2017), mala univerzalna hipervarijabilna V9 regija gena 18S rRNA odabrana je u ovoj disertaciji jer pruža

sveobuhvatan pregled na zajednicu i ima sposobnost otkrivanja zajednica fotosintetskih organizama, posebno kada se radi o zajednici fitoplanktona koja se sastoji od mnogo različitih skupina (Hanžek i sur., 2021; Stoeck i sur., 2010). S druge strane, prema relativnoj brojnosti, bilo je mnogo taksonomski nedodijeljenih ASV-ova. Prvi razlog za ovo nesuglasje mogao bi biti izbor početnica, kao što je gore spomenuto, budući da je izbor početnica ključan za identifikaciju pojedinih vrsta (Pawlowski i sur., 2020). Drugo, metoda uzorkovanja također može utjecati na rezultate, jer uzorci eDNA zahtijevaju različite količine vode za filtriranje. U ovom slučaju, količine vode bile su niže od uobičajenih kako bi se smanjili potencijalni inhibitori PCR-a od filtriranja većih količina vode, ali to bi moglo utjecati na uspješnost detekcije svih svojiti prisutnih u uzorcima (Bruce i sur., 2021; Pawlowski i sur., 2020).

Uspoređujući rezultate fitoplanktonske zajednice definirane funkcionalnom klasifikacijom, oba su se pristupa pokazala pouzdanima u otkrivanju funkcionalnih skupina sa sličnim ekološkim zahtjevima (**Lo, C, X2, X3**) i bila su u skladu s prethodnim studijama (Hanžek i sur., 2021). Razlike između dva pristupa mogu se pripisati sposobnosti razlikovanja nejasnih morfoloških karakteristika, s obzirom na to da prisutnost kriptičnih vrsta, piko- i skrivenog fitoplanktona može biti teško utvrditi tradicionalnim morfološkim analizama (Huo i sur., 2020). Osim toga, pri pridruživanju razina razreda i porodica prema eDNA u odgovarajuće funkcionalne skupine korišteni su samo najčešći kodoni, što također može utjecati na rezultate. Navedeno bi moglo objasniti veći udio funkcionalne skupine **X3**, kojoj je u molekularnom pristupu pridružena razina porodice *Chrysophyceae_X*.

Što se tiče alfa raznolikosti, u većini slučajeva rezultati eDNA metabarkodiranja dali su veće vrijednosti od morfološkog pristupa za sve indekse, osim za Pielouov indeks koji je pokazao kontrastne rezultate za sve uzorke. To može biti povezano s pojavom sličnih morfoloških značajki između mikroskopski određenih vrsta, što može dovesti do poteškoća u razlikovanju vrsta (Hanžek i sur., 2021; Wilmotte i sur., 2017). Osim toga, određene fitoplanktonske vrste malih veličina mogu se lako detektirati eDNA metabarkodiranjem, dok ih svjetlosna mikroskopija obično propušta, što može utjecati na raznolikost vrsta (Not i sur., 2007; Xiao i sur., 2014). Nekoliko prethodnih studija također je potvrdilo da V9-regija ima potencijal za širi spektar prepoznavanja pri korištenju rezultata za određivanje Shannon-Wienerovog indeksa raznolikosti (Maritz i sur., 2017; Tragin i sur., 2018). S druge strane, jasna dominacija skupina *Mediophyceae* i *Peridinales* bila je glavni

uzrok vrlo niskih vrijednosti Pielouovog indeksa za uzorke eDNA u odnosu na morfološki pristup (Maritz i sur., 2017). Iako je ukupan broj taksonomski dodijeljenih ASV-ova identificiranih molekularnim pristupom bio dva puta veći od broja svojti utvrđenih tradicionalnom morfološkom metodom, ove rezultate treba tumačiti s oprezom, posebno za one ASV-ove koji nisu dobili taksonomsku oznaku, budući da se ne odnose na isti postotak ili broj neidentificiranih svojti (Kulaš i sur., 2022). S obzirom da broj kopija rDNA varira među svojtima, još uvijek postoje izazovi u interpretaciji dobivenih podataka o brojnosti pomoću sekvencioniranja. Stoga treba biti oprezan pri tumačenju najzastupljenijih svojti detektiranih sekvencama amplicona, jer sekvence Alveolata (dinoflagelati) variraju u broju kopija rDNA (Medinger i sur., 2010). Međutim, u ovom radu rezultati eDNA uspoređeni su, te donekle potvrđeni i verificirani s rezultatima morfološkog pristupa. Analiza nemetričkog višedimenzionalnog skaliranja (NMDS) pokazala je odgovarajuće grupiranje uzoraka u morfološkom i molekularnom eDNA pristupu. Slični usporedivi rezultati molekularnih i morfoloških metoda potvrđeni su i u drugim radovima (Kahlert i sur., 2021; Lanzén i sur., 2016; Maitland i sur., 2020). Rezultati NMDS analize ukazali su na značajnu razliku između kompozitnih uzoraka i uzoraka afotičke zone u oba pristupa, čime je potvrđena primjenjivost eDNA metabarkodiranja u rutinskom biomonitoringu Visovačkog jezera. Značajne razlike u horizontalnoj i vertikalnoj raspodjeli fitoplanktona u Visovačkom jezeru prethodno su utvrdili Ciglencečki-Jušić i sur. (2013).

5.5. Trofičke interakcije fitoplanktona i bakterioplanktona u jezerima

Jezeru sa specifičnim uvjetima okoliša rezultiraju njihovim jedinstvenim sastavom bakterijske zajednice, a takve razlike objašnjavaju različite biogeografije planktonskih zajednica u različitim staništima (Yang i sur., 2016). Poznato je da skupina Actinobacteria ima najpostojaniju biomasu te najveću brojnost i raznolikost tijekom vremena u raznim slatkovodnim staništima (Newton i sur., 2011). Njihova brojnost je često rezultat njihove veličine i otpornosti prema UV svjetlu te se njihov broj povećava s cvatnjom fitoplanktona. Skupina Actinobacteria bila je prisutna u velikom broju u obuhvaćenim jezerima. Vjerojatan uzrok relativno malih promjena u biomasi i visoke frekvencije prisutnosti skupine Actinobacteria tijekom istraživanih mjeseci su mala veličina stanica i sastav stanične stijenke koji ih čini manje osjetljivima na grejzing (Newton i sur., 2011; Rahlwes i sur., 2019; Szabó i sur., 2020; Tarao i sur., 2009). U epimilionu jezera Bacteroidetes mogu predstavljati značajnu brojku pogotovo na agregatima te su vrlo bitni u razgradnji složenih biopolimera. Njihova povećana brojnost se može utvrditi nakon cvata cijanobakterija (Newton i sur., 2011). Alphaproteobacteria predstavljaju vrlo šarolik razred koji je otporan na predaciju mikroeuکاریota te mogu razgrađivati složenu organsku tvar (Newton i sur., 2011). Betaproteobacteria su utvrđeni u većem broju od Alphaproteobacteria te su često povezani s fitoplanktonom kao npr. *Cryptomonas* sp. (Pernthaler i sur., 2001) ili cijanobakterijama (Eiler i sur., 2006). Betaproteobacteria preferiraju bogata jezera te brzo rastu, a posebno su konkurentne zbog svog oportunističkog načina života, u kojem balansiraju svoju osjetljivost na grejzing s brzim stopama rasta (Newton i sur., 2011). Neki pripadnici Verrucomicrobia povezani su sa staništima koja su bogata hranjivim tvarima ili cvjetanjem fitoplanktona (Eiler i sur., 2004; Haukka i sur., 2006).

Sukcesija fitoplanktona otkrila je izražene sukcesije različitih bakterijskih skupina npr. Actinobacteria i flagelata te Verrucomicrobia i kriptofita. Prema rezultatima disertacije zaključeno je da ne postoji jedinstveni uzorak pojavljivanja određenih skupina bakterija i vrste *Dinobryon* u Visovačkom jezeru. Primijećen je veći udio negativnih korelacija *Dinobryon* u Visovačkom jezeru u odnosu na jezera Prošće, Kozjak, Sakadaš i Jarun. Potrebna su daljnja istraživanja za detaljno razumijevanje vrste međuodnosa svakog (potencijalnog) miksotrofa s bakterijskim skupinama. U ostalim jezerima bile su dominantne druge bakterijske zajednice. U jezeru Sakadaš, s najvećom

eutrofikacijom, nije dominirala neka specifična skupina, što je u skladu sa specifičnom hidrologijom i nastankom ovog jezera te pojavom plavljenja rijeke Dunav (De Melo i sur., 2019). Slično našim rezultatima, autori su pronašli pozitivnu korelaciju između stupnja trofije jezera i taksonomskog bogatstva mikroorganizama (Jankowski i sur., 2014).

6. ZAKLJUČAK

Rijeka Krka je vrlo osjetljiv krški vodeni sustav koji zahtijeva stalno ciljano praćenje kako bi se spriječio mogući rizik od pogoršanja, posebno u njegovim jezerskim segmentima poput Visovačkog jezera. Kako bi zaštitili osjetljivi krški ekosustav Visovačkog jezera iznimno je bitno provoditi redoviti, ciljani i adekvatni monitoring te je neophodno stremiti ka poboljšanju razine točnosti pokazatelja ekološkog stanja jezera. Na kraju ovog doktorskog rada slijedi zaključak po postavljenim hipotezama.

1. *Miksotrofija je prevladavajući način ishrane dominantnih vrsta fitoplanktona u dubokom krškom ekosustavu Visovačkog jezera, što im omogućuju specifične trofičke interakcije u vodenom stupcu.*

Ova hipoteza nije potvrđena zbog nemogućnosti jednoznačnog povezivanja iste vrste fitoplanktona i skupine bakterioplanktona s točno definiranom trofičkom interakcijom. Miksotrofija nije potvrđena unatoč postojanju nekolicine dokazano miksotrofnih vrsta koje nisu dominirale no potrebno je detaljnije istražiti ove interakcije za konačne zaključke. Usporedba mrežnih analiza trofičkih interakcija fitoplanktona i bakterioplanktona s drugim jezerima ukazala je kako ne postoji jedinstveni uzorak pojavljivanja određenih skupina bakterija te kako miksotrofija nije prevladavajući način ishrane dominantnih vrsta fitoplanktona Visovačkog jezera.

2. *Funkcionalna skupina E, koja je inače karakteristična za plitka eutrofna jezera, zbog trofičkih interakcija s bakterioplanktonom i miksotrofije, dominantna je funkcionalna skupina u mezotrofnom dubokom krškom ekosustavu Visovačkog jezera.*

Nastavno na rezultate ovog rada možemo zaključiti da funkcionalna skupina **E** tijekom istraživanog perioda koji je obuhvatio 2016., 2018. i 2019. godinu nije bila dominantna u Visovačkom jezeru. Navedeni pronalazak sugerira sljedeće: (i) prijašnjih godina kada je

utvrđeno da vrste roda *Dinobryon* opisuju zajednicu fitoplanktona Visovačkog jezera (Gligora-Udovič i sur., 2015), ekosustav je bio u eutrofnom stanju te u lošijem ekološkom stanju, (ii) opis funkcionalne skupine **E** predložen prema Reynoldsu i Padišák (Padišák i sur., 2009; Reynolds i sur., 2002) primjenjiv je i za mezotrofni duboki krški ekosustav Visovačkog jezera. Rezultate ove disertacije potvrđuju i druga slična istraživanja koja sugeriraju da obilježja staništa nekih vrsta koje se svrstavaju u određenu funkcionalnu skupinu ili kodon mogu biti šira nego što su bila u izvorno predloženim opisima (Béres i sur., 2024).

3. *DNA metabarkoding je primjenjiv alat za procjenu biološke raznolikosti u dubokom krškom ekosustavu Visovačkog jezera.*
4. *DNA metabarkoding, morfo-taksonomski pristup te funkcionalna klasifikacija fitoplanktona usporedivi su načini za identifikaciju organizama te praćenje sastava zajednica i ekološkog stanja dubokog krškog jezera.*
5. *Nove metode praćenja usporedive su s postojećim tradicionalnim metodama te se mogu koristiti u budućem sustavu monitoringa Visovačkog jezera.*

Na temelju ove disertacije utvrđeno je da su morfološke (morfo-taksonomski i funkcionalna klasifikacija) i molekularne metode usporedive. Prednosti molekularnih metoda su povećana točnost u identificiranju vrsta, detekcija kriptičkih vrsta, informacije o genetičkoj varijabilnosti vrsta i potencijal za automatiziranjem procesa s visokom prostornom i vremenskom rezolucijom (Borics i sur., 2021; Huo i sur. 2020; Pawlowski i sur., 2020). Zaključeno je da se eDNA metabarkoding može koristiti kod procjene bioraznolikosti zajednice fitoplanktona u Visovačkom jezeru. Nedvojbeno, potrebno je raditi na daljnjem razvoju eDNA metabarkodinga kako bi dobili što točnije podatke, a posebno u dijelu povećanja potpunosti trenutnih referentnih baza podataka. Predloženo je mjerenje koncentracije klorofila *a* za brzu ocjenu svakodnevno ili jednom tjedno te određivanje indeksa za fitoplankton jezera (HLPI) jednom mjesečno od travnja do rujna u eufotičkoj zoni Visovačkog jezera.

6. *In situ određivanje klorofila a usporedivo je s laboratorijskim metodama određivanja koncentracije klorofila a te pokazuje jasan odgovor na stupanj trofije u dubokom krškom ekosustavu Visovačkog jezera.*

Zaključeno je da laboratorijsko mjerenje klorofila a pokazuje jasan odgovor na stupanj trofije Visovačkog jezera. Preporuka je postaviti bovu (ili bove) za praćenje kvalitete vode u realnom vremenu na limeničkom dijelu Visovačkog jezera te uzimati uzorke iz eufotičke zone. Potrebna je korekcija sonde za automatizirano mjerenje koncentracije klorofila a u realnom vremenu kako bi se mjerenja harmonizirala.

7. *Stupanj trofije Visovačkog jezera usporediv je s ekološkim stanjem.*

Ekološko stanje Visovačkog jezera ocijenjeno je kao dobro koristeći granične vrijednosti Indeksa za fitoplanktona jezera (HLPI) i dostupne osnovne fizikalno-kemijske pokazatelje (Secchi prozirnost i hranjive tvari) iz nacionalne metodologije. Analiza sugerira da se ekološko stanje i stupanj trofije može usporediti na sljedeći način: vrlo dobro ekološko stanje jest oligotrofno, dobro ekološko stanje je analogno oligotrofnom i mezotrofnom, umjereno ekološko stanje je ekvivalent mezotrofnom i eutrofnom, loše ekološko stanje izjednačuje se s eutrofnim, a vrlo loše ekološko stanje s hipereutrofnim. Prema svemu navedenom, rezultati su potvrdili postavljenu hipotezu da je stupanj trofije Visovačkog jezera usporediv s ekološkim stanjem. Prema specifičnostima jezera predložene su prilagođene granične vrijednosti koncentracije klorofila a za ocjenu stupnja trofije. Isto je potvrđeno i stupanjem na snagu izmjena Uredbe o standardu kakvoće voda (Narodne novine 96/2019, 20/2023, 50/2023), u međuvremenu od izrade ove disertacije za ocjenu s obzirom da su podaci obuhvaćeni ovim istraživanjem objavljeni u radu Šimunović i sur., 2022. Zaključno, ekološko stanje Visovačkog jezera ocijenjeno je kao dobro, a prema stupnju trofije mezotrofno.

7. LITERATURNI IZVORI

1. Aaronson, S., Baker, H., 1959. A comparative biochemical study of two species of *Ochromonas*, *The Journal of Protozoology*. 6, 282-4.
2. Amaral-Zettler, L.A., McCliment, E.A., Ducklow, H.W., Huse, S.M., 2009. A Method for Studying Protistan Diversity Using Massively Parallel Sequencing of V9 Hypervariable Regions of Small-Subunit Ribosomal RNA Genes. *PLoS ONE*, 4, e6372.
3. Amin, S.A., Green, D.H., Hart, M.C., Küpper, F.C., Sunda, W.G., Carrano, C.J., 2009. Photolysis of iron-siderophore chelates promotes bacterial-algal mutualism. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. 106(40),17071-6.
4. Amin, S.A., Parker, M.S., Armbrust, E.V., 2012. Interactions between diatoms and bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 76(3),667-84.
5. Amin, S.A., Hmelo, L.R., van Tol, H.M., Durham, B.P., Carlson, L.T., Heal, K.R., Morales, R.L., Berthiaume, C.T., Parker, M.S., Djunaedi, B., Ingalls, A.E., Parsek, M.R., Moran, M.A., Armbrust, E.V., 2015. Interaction and signalling between a cosmopolitan phytoplankton and associated bacteria. *Nature*. 522(7554), 98-101.
6. Anderson, D.M., Burkholder, J.M., Cochlan, W.P., Glibert, P.M., Gobler, C.J., Heil, C.A., Kudela, R.M., Parsons, M.L., Rensel, J.E.J., Townsend, D.W., Trainer, V.L., Vargo, G.A., 2008. Harmful algal blooms and eutrophication: Examining linkages from selected coastal regions of the United States, *Harmful Algae*, Volume 8, 1, 39-53, ISSN 1568-9883.
7. Andrews, S., 2010. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data.
8. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater; American Public Health Association: Washington, DC, USA, 2017.
9. Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A., Thingstad, F.,1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 10, 257–263.
10. Azam, F., Ammerman, J. W.,1984. in *Flows of Energy and Materials in Marine Ecosystems: Theory and Practice* (ed. Fasham, M. J. R.) Springer. 345–360.
11. Balian, E. V., Segers, H., Lévêque, C., Martens, K. 2008. The Freshwater Animal Diversity Assessment: an overview of the results. *Hydrobiologia*. 595, 627-637.
12. Ballen-Segura, M., Felip, M., Catalan, J., 2017. Some Mixotrophic Flagellate Species Selectively Graze on Archaea. *Applied and Environmental Microbiology*. 83(2), e02317-16.
13. Bates, B.C., Kundzewicz, Z.W., Wu, S., Palutikof, J.P., 2008. Climate Change and Water. Technical paper of the Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC Secretariat. Intergovernmental Panel on Climate Change, Geneva.
14. Beamud, S.G., León, J.G., Kruk, C., Pedrozo, F., Diaz, M., 2015. Using Trait-Based Approaches to Study Phytoplankton Seasonal Succession in a Subtropical Reservoir in Arid Central Western Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*. 187, 271.
15. Bell, W., Mitchell, R., 1972. Chemotactic and growth responses of marine bacteria to algal extracellular products. *The Biological bulletin*. 143, 265-277.
16. Beklioglu, M., Romo, S., Kagalou, I., Quintana, X., Becares, E., 2007. State of the Art in the Functioning of Shallow Mediterranean Lakes: Workshop Conclusions. *Hydrobiologia*. 584, 317-326.

17. Bennett, E.M., Carpenter, S.R., Caraco, N.F., 2001. Human Impact on Erodeable Phosphorus and Eutrophication: A Global Perspective: Increasing accumulation of phosphorus in soil threatens rivers, lakes, and coastal oceans with eutrophication. *AIBS Bulletin*. 51 (3), 227-234.
18. B-Béres, V., Naselli-Flores, L., Padišák, J., Borics, G., 2024. Trait-based ecology of microalgae. *Hydrobiologia*. 851, 713–732.
19. Bertrand, C., Fayolle, S., Franquet, E., Cazaubon, A., 2003: Responses of the planktonic diatom *Asterionella formosa* Hassall to abiotic environmental factors in a reservoir complex (south-eastern France). *Hydrobiologia*. 501, 45–58.
20. Bertone, E., Burford, M. A., Hamilton, D. P., 2018. Fluorescence probes for real-time remote cyanobacteria monitoring: A review of challenges and opportunities. *Water Research*. 141, 152–162.
21. Best, M.A., Wither, A.W., Coates, S., 2007. Dissolved oxygen as a physico-chemical supporting element in the Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*. 55, 53–64.
22. Biondić, B., Biondić, R., 2014. Hidrogeologija Dinarskog krša u Hrvatskoj. Sveučilište u Zagrebu, Geotehnički fakultet, Varaždin.
23. Bird, D.F., Kalff, J., 1986. Bacterial grazing by planktonic lake algae. *Science* 231, 493-5.
24. Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., Bund, W., Zampoukas, N., Hering, D., 2012. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators*. 18, 31-41.
25. Birk, S., Chapman, D., Carvalho, L., Spears, B.M., Andersen, H.E., Argillier, C., Auer, S., Baattrup-Pedersen, A., Banin, L., Beklioglu, M., Bondar-Kunze, E., 2020. Impacts of multiple stressors on freshwater biota across spatial scales and ecosystems. *Nature Ecology & Evolution*. 4(8), 1060-1068.
26. Blaum, N., Mosner, E., Schwager, M., Jeltsch, F., 2011. How Functional Is Functional? Ecological Groupings in Terrestrial Animal Ecology: Towards an Animal Functional Type Approach. *Biodiversity and Conservation*. 20, 2333–2345.
27. Bleiker, W., Schanz, F., 1989. Influence of environmental factors on the phytoplankton spring bloom in Lake Zürich. *Aquatic Sciences*. 51, 47-58.
28. Boehrer, B., Schultze, M., 2008. Stratification of lakes. *Reviews of Geophysics*. 46, 1-27.
29. Bonacci, O., Ljubenković, I., 2005. Nove spoznaje o hidrologiji rijeke Krke, Hrvatske vode, 52(13), 257-349.
30. Bonacci, O., Perica, S., 1990. Specifičnost hidrologije sliva Krke. *Ekološke monografije*. Knjiga 2, Hrvatsko ekološko društvo, 85-114.
31. Borics, G., Wolfram, G., Chiriac, G., Belkinova, D., Donabaum, K., Poikane, S., 2018. Intercalibration of the national classifications of ecological status for Eastern Continental lakes: Biological Quality Element: Phytoplankton. EUR 29338 EN, Publications Office of the European Union, Luxembourg.
32. Borics, G., Abonyi, A., Salmaso, N., Ptacnik, R., 2021. Freshwater Phytoplankton Diversity: Models, Drivers and Implications for Ecosystem Properties. *Hydrobiologia*. 848, 53–75.
33. Bralić, I. 2005. Nacionalni parkovi Hrvatske. Zagreb: Školska knjiga.

34. Brettum, P., 1989. Algae as indicators of water quality in Norwegian lakes. Planteplankton. NIVA, Blindern, Oslo.
35. Bruce, K., Blackman, R., Bourlat, S.J., Hellström, A.M., Bakker, J., Bista, I.; Bohmann, K., Bouchez, A., Brys, R., Clark, K., et al. 2021. A Practical Guide to DNA-Based Methods for Biodiversity Assessment; Pensoft Publishers.
36. Brönmark, C., Hansson, L. A., 2005. The biology of lakes and ponds. Oxford University Press.
37. Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A., Holmes, S.P., 2016. DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data. Nature Methods. 13, 581–583.
38. Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A. et al., 2011. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS). 108, 4516–4522.
39. Caron, D.A., Sanders, R.W., Lim, E.L., Marrase, C., Amaral, L.A., Whitney, S., Aoki, R.B., Porter, K.G., 1993. Light-dependent phagotrophy in the freshwater mixotrophic chrysophyte *Dinobryon cylindricum*. Microbial Ecology. 25, 93-111.
40. Carpenter, S.R., Kitchell, J.F., 1993, The Trophic Cascade in Lakes. Cambridge University Press.
41. Carpenter, S. R., Caraco, N. F., Correll, D. L., Howarth, R. W., Sharpley, A. N., Smith, V. H., 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. Ecological applications. 8(3), 559-568.
42. Carpenter, S. R., Arani, B. M., Hanson, P. C., Scheffer, M., Stanley, E. H., Van Nes, E., 2020. Stochastic dynamics of Cyanobacteria in long-term high-frequency observations of a eutrophic lake. Limnology and Oceanography Letters. 5 (5), 331–336.
43. Chaffey N. 2010. Encyclopedia of Ecology. Ann Bot.;105(3) 10.1093/aob/mcp308.
44. Chegoonian, A. M., Zolfaghari, K., Leavitt, P. R., Baulch, H. M., Duguay, C. R., 2022. Improvement of field fluorometry estimates of chlorophyll a concentration in a cyanobacteria-rich eutrophic lake. Limnology and Oceanography Methods. 20 (4), 193–209.
45. Chislock, M.F., Doster, E., Zitomer, R.A., Wilson, A.E., 2013. Eutrophication: Causes, Consequences, and Controls in Aquatic Ecosystems. Nature Education Knowledge 4(4),10.
46. Choi, J., Park, J.S., 2020. Comparative Analyses of the V4 and V9 Regions of 18S rDNA for the Extant Eukaryotic Community Using the Illumina Platform. Scientific Reports. 10, 6519.
47. Ciglencečki-Jušić, I., Ahel, M., Mikac, N., Omanović, D., Vdović, N., 2013. Istraživanje prirodnih značajki i procjena antropogenog utjecaja na kvalitetu ekosustava rijeke Krke u području Visovačkog jezera, Institut Ruđer Bošković, Zagreb.
48. Ciglencečki-Jušić, I., Ahel, M., Mikac, N., Omanović, D., 2015. Istraživanje prirodnih značajki i procjena antropogenog utjecaja na kvalitetu ekosustava rijeke Krke u području Visovačkog jezera: Faza II, Institut Ruđer Bošković, Zagreb.
49. Clegg, M.R., Maberly, S.C., Jones, R.I., 2007. Behavioral Response as a Predictor of Seasonal Depth Distribution and Vertical Niche Separation in Freshwater Phytoplanktonic Flagellates. Limnology and Oceanography. 52, 441–455.

50. Cole, J.J., 1982. Interactions between bacteria and algae in aquatic ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 13, 291-314.
51. Collen, B., Whitton, F., Dyer, E., Baillie, J., Cumberlidge, N., Darwall, W., Pollock, C., Dewhurst-Richman, N., Soulsby, A., Böhm, M., 2014. Global patterns of freshwater species diversity, threat and endemism. *Global Ecology and Biogeography*. 23, 40-51.
52. Cook, J., Oreskes, N., Doran, P., Anderegg, W., Verheggen, B., Maibach, E., Carlton, J., Lewandowsky, S., Skuce, A., Green, S., Nuccitelli, D., Jacobs, P., Richardson, M., Winkler, B., Painting, R., Rice, K., 2016. Consensus on Consensus: A Synthesis of Consensus Estimates on Human-Caused Global Warming. *Environmental Research Letters*. 11. 048002. 10.1088/1748-9326/11/4/048002.
53. Cook, S.C., Housley, L., Back, J.A., King, R.S., 2018. Freshwater eutrophication drives sharp reductions in temporal beta diversity. *Ecology*. (1), 47-56.
54. Coops, H., Beklioglu, M., Crisman, T., 2003. The Role of Water-Level Fluctuations in Shallow Lake Ecosystems – Workshop Conclusions. *Hydrobiologia*. 506-509, 23-27.
55. Croft, M.T., Lawrence, A.D., Raux-Deery, E., Warren, M.J., Smith, A.G., 2005. Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature*. 438(7064), 90-3.
56. Cronberg, G., 1980. Phytoplankton changes in Lake Trummen induced by restoration. Dissertation. Institute of Limnology, University of Lund.
57. Csárdi, G., Nepusz, T., Traag, V., Horvát, S., Zanini, F., Noom, D., Müller, K., 2024. *igraph: Network Analysis and Visualization in R*.
58. Cudennec, C., Leduc, C., Koutsoyiannis, D., 2007. Dryland hydrology in Mediterranean regions - a review. *Hydrological Sciences Journal*. 52, 1077–1087.
59. Cumberlidge, N., Ng, P., Yeo, D., Magalhães, C., Campos, M., Alvarez, F., Naruse, T., Daniels, S., Esser, L., Attipoe, F., Clotilde-Ba, F., Darwall, W., Mcivor, A., Baillie, J., Collen, B., Ram, M., 2009. Freshwater crabs and the biodiversity crisis: Importance, threats, status, and conservation challenges. *Biological Conservation*. 142, 1665-1673. 10.1016/j.biocon.2009.02.038.
60. Cunningham, W.P., Cuningham, M.A., Saigo, B., 2005. *Environmental sciences: A global concern*, Eight edition, McGraw Hill, New York.
61. Del Giudice, D., Zhou, Y., Sinha, E., Michalak, A., 2018. Long-Term Phosphorus Loading and Springtime Temperatures Explain Interannual Variability of Hypoxia in a Large Temperate Lake. *Environmental Science & Technology*. 52. 10.1021/acs.est.7b04730.
62. De Melo, M.L., Bertilsson, S.; Henrique, J., Amaral, F., Barbosa, P.M., Forsberg, B.R., Sarmientoet, H., 2019. Flood pulse regulation of bacterioplankton community composition in an Amazonian floodplain lake. *Freshwater Biology*. 64, 108–120.
63. Dobbertin da Costa, M., Gast, R., Millette, N., 2024. Temporal and Spatial Variability of Constitutive Mixotroph Abundance and Proportion. *FEMS microbiology ecology*. 100. 10.1093/femsec/fiae015.
64. Dodds, W.K., Smith, V.H., Lohman, K., 2002. Nitrogen and phosphorus relationships to benthic algal biomass in temperate streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 59, 865-874.

65. Dodds W.K., Bouska, W.W., Eitzmann, J.L., Pilger, T.J., Pitts, K.L., Riley, A.J., Schloesser, J.T., Thornbrugh, D.J., 2009. Eutrophication of U.S. freshwaters: analysis of potential economic damages. *Environmental Science & Technology*. 1, 43, 12-9.
66. Domingues, R.B., Barbosa, A.B., Sommer, U., Galvão, H.M., 2011. Ammonium, nitrate and phytoplankton interactions in a freshwater tidal estuarine zone: potential effects of cultural eutrophication. *Aquatic Sciences*. 73, 331–343.
67. Duleba, M., Kiss, K.T., Földi, A., Kovács, J., Kralj Borojević, K, Molnár, L.F., Plenković-Moraj, A., Pohner, Z., Solak, C.N., Tóth, B., Ács, É., 2015. Morphological and genetic variability of assemblages of *Cyclotella ocellata* Pantocsek/*Cyclotella comensis* Grunow complex (Bacillariophyta, Thalassiosirales). *Diatom Research*. 30, 283–306.
68. Dupas, R., Delmas, M., Dorioz, J.-M., Garnier, J., Moatar, F., Gascuel-Oudou, C., 2015. Assessing the impact of agricultural pressures on N and P loads and eutrophication risk, *Ecological Indicators*. 48, 396-407.
69. Durham, B.P., Sharma, S., Luo, H., Smith, C.B., Amin, S.A., Bender, S.J., Dearth, S.P., Van Mooy, B.A., Campagna, S.R., Kujawinski, E.B., Armbrust, E.V., Moran, M.A., 2015. Cryptic carbon and sulfur cycling between surface ocean plankton. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. 112(2), 453-7.
70. Edlund, M.B., Williams, R.M., Soninkhishig, N., 2003. The planktonic diatom diversity of ancient Lake Hovsgol, Mongolia. *Phycologia*. 42, 232–260.
71. Eiler, A., Bertilsson, S., 2004. Composition of freshwater bacterial communities associated with cyanobacterial blooms in four Swedish lakes. *Environ Microbiol*. 6(12), 1228-43.
72. Eiler, A., Olsson, J.A., Bertilsson, S., 2006. Diurnal variations in the auto- and heterotrophic activity of cyanobacterial phycospheres (*Gloeotrichia echinulata*) and the identity of attached bacteria. *Freshwater Biology*. 51, 298-311.
73. Europska komisija, 2000. Okvirna direktiva o vodama EU (ODV) 2000/60/EC Europskog parlamenta i Vijeća od 23. listopada 2000. o uspostavi okvira za djelovanje Zajednice u području vodne politike.
74. Falkowski, P.G., 1994. The role of phytoplankton photosynthesis in global biogeochemical cycles. *Photosynthesis Research*. 39, 235–258.
75. Falkowski, P.G., Katz, M.E., Knoll, A.H., Quigg, A., Raven, J. A., Schofield, O., Taylor, F., 2004. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science*, 305, 354–360.
76. Figueiredo, D.R., Azeiteiro U.M., Esteves, S.M., Gonçalves, F.J., Pereira, M.J. 2004. Microcystin-producing blooms--a serious global public health issue. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 59(2), 151-63.
77. Filipe, A.F., Lawrence, J.E., Núria B., 2012. Vulnerability of stream biota to climate change in mediterranean climate regions: a synthesis of ecological responses and conservation challenges, *Hydrobiologia*. 719 (1), 331–351.
78. Friganović, M., 1990. Geografske značajke i vrednote Krke. *Ekološke monografije, Knjiga 2. Hrvatsko ekološko društvo*, 1-14.
79. Fritz, F., Pavičić, A. 1987. Hidrogeološki viseći dijelovi Krke i Zrmanje. *Zbornik radova 7. Jug. hidrogeol.i inž. geol. Knjiga 1*, 115-121.
80. Fritz, F., Pavičić, A., Renić, A., 1990. Porijeklo voda u Nacionalnom parku Krka. *Ekološke monografije, Knjiga 2. Hrvatsko ekološko društvo*, 115-126.

81. Gleick, P.H., 2011. Water resources. In Encyclopedia of Climate and Weather; Schneider, S.H. Ed.; Oxford University Press: New York, USA, Vol. 2, 817-823.
82. Gligora, M., Kralj, K., Grigorszky, I., Plenковиć-Moraj, A., Sipos, L., 2005. Changes of microphytoplankton species dominance in Lake Visovačko jezero. 15th Hungarian Algological Meeting. Hungarian Algological Society, 10-x.
83. Gligora Udovič, M., Kralj Borojević, K., Žutinić, P., Šipoš, L., Plenковиć-Moraj, A., 2011. Net-Phytoplankton Species Dominance in a Travertine Riverine Lake Visovac, NP Krka. *Natura Croatica*. 20, 411–424.
84. Gligora Udovič, M., Žutinić, P., Kralj Borojević, K., Plenковиć-Moraj, A., 2015. Co-Occurrence of Functional Groups in Phytoplankton Assemblages Dominated by Diatoms, Chrysophytes and Dinoflagellates. *Fundamental and Applied Limnology*. 187, 101–111.
85. Gligora Udovič, M., Cvetkoska, A., Žutinić, P., Bosak, S., Stanković, I., Špoljarić, I., Mršić, G., Kralj Borojević, K., Čukurin, A., Plenковиć-Moraj, A., 2016. Defining centric diatoms of most relevant phytoplankton functional groups in deep karst lakes. *Hydrobiologia*. 788, 1, 169-191.
86. Gloor, G.B., Macklaim, J.M., Pawlowsky-Glahn, V., Egozcue, J.J., 2017. Microbiome Datasets Are Compositional: And This Is Not Optional. *Front. Microbiol.* 8, 2224.
87. Gold, A.J. , Sims, J.T., 2005. Eutrophication, Editor(s): Daniel Hillel, Encyclopedia of Soils in the Environment, Elsevier. 486-494.
88. Golubić, S. 1957. Vegetacija alga na slapovima rijeke Krke u Dalmaciji. *Rad JAZU*. 312, 207-259.
89. Görgényi, J., Krasznai, E., Lukács, Á., Kókai, Z., Viktória, B., Varbiro, G., Acs, E., Kiss, K., Tóthmérész, B., Borics, G., 2024. Functional properties of planktic microalgae determine their habitat selection. *Hydrobiologia*. 851, 1-21.
90. Grigorszky, I., Padišák, J., Borics, G., Schitchen, C., Borbély, G., 2003. Deep Chlorophyll Maximum by *Ceratium hirundinella* (O. F. Müller) Bergh in a Shallow Oxbow in Hungary. *Hydrobiologia*. 506–509, 209–212.
91. Gucunski, D., 1994. Komparativna istraživanja fitoplanktona u Specijalnom zoološkom rezervatu Kopački rit i Dunavu. Peti kongres biologa Hrvatske s međunarodnim sudjelovanjem. Zbornik sažetaka, Pula, 267-268.
92. Guillou, L., Bachar, D., Audic, S., Bass, D., Berney, C., Bittner, L., Boutte, C., Burgaud, G., de Vargas, C., Decelle, J., et al., 2012. The Protist Ribosomal Reference Database (PR2): A Catalog of Unicellular Eukaryote Small Sub-Unit rRNA Sequences with Curated Taxonomy. *Nucleic Acids Research*, 41, D597–D604.
93. Guiry, M.D., Guiry, G.M., 2023. AlgaeBase. In World-wide electronic publication; National University of Ireland: Galway.
94. Habdija, I., Kerovec, M., Mrakovčić, M., Plenковиć-Moraj, A., Primc-Habdija, B., 2009. Ekološko istraživanje površinskih kopnenih voda u Hrvatskoj prema kriterijima Okvirne direktive o vodama. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Zagreb, 295.
95. Hansen, P.J., 2011. The Role of Photosynthesis and Food Uptake for the Growth of Marine Mixotrophic Dinoflagellates. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 58, 203–214.
96. Hanžek, N., Gligora Udovič, M., Kajan, K., Borics, G., Várбірó, G., Stoeck, T., Žutinić, P., Orlić, S., Stanković, I., 2021. Assessing Ecological Status in Karstic Lakes through the

- Integration of Phytoplankton Functional Groups, Morphological Approach and Environmental DNA Metabarcoding. *Ecological Indicators*. 131, 108166.
97. Hartmann, M., Grob, C., Tarran, G.A., Martin, A.P., Burkill, P.H., Scanlan, D.J. et al., 2012. Mixotrophic basis of Atlantic oligotrophic ecosystems. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. 109, 5756–5760.
 98. Haukka, K., Kolmonen, E., Hyder, R., Hietala, J., Vakkilainen, K., Kairesalo, T., Haario, H., Sivonen, K., 2006. Effect of nutrient loading on bacterioplankton community composition in lake mesocosms. *Microbial Ecology*. 51(2), 137-46.
 99. Hering, D., Haidekker, A., Schmidt-Kloiber, A., Barker, T., Buisson, L., Graf, W., Grenouillet, G., Lorenz, A., Sandin, L., and Stendera, S., 2010. Monitoring the Responses of Freshwater Ecosystems to Climate Change. In: Kernan, M., Battarbee, R. W., and Moss, B. (Eds.) *Climate Change Impacts on Freshwater Ecosystems*. Wiley-Blackwell. 84-118.
 100. Hering, D., Borja, A., Jones, J.I., Pont, D., Boets, P., Bouchez, A., Bruce, K., Drakare, S., Hänfling, B., Kahlert, M., et al., 2018. Implementation Options for DNA-Based Identification into Ecological Status Assessment under the European Water Framework Directive. *Water Research*. 138, 192–205.
 101. Hodges, C. M., Wood, S. A., Puddick, J., McBride, C. G., Hamilton, D. P., 2018. Sensor manufacturer, temperature, and cyanobacteria morphology affect phycocyanin fluorescence measurements. *Environmental Science and Pollution Research*. 25 (2), 1079–1088.
 102. Hofmann, G., Werum, M., Lange-Bertalot, H., 2011. *Diatomeen Im Süßwasser – Benthos von Mitteleuropa. Bestimmungsflora Kieselalgen Für Die Ökologische Praxis. Über 700 Der Häufigsten Arten Und Ihre Ökologie.*; A.R.G. Gantner; Koeltz Scientific Books, Ruggell.
 103. HRN EN ISO/IEC 17025:2017, Opći zahtjevi za osposobljenost ispitnih i umjernih laboratorija.
 104. HRN EN 16695:2015 Kvaliteta vode - Upute za procjenu biovolumena fitoplanktona.
 105. Hrvatske vode, 2016. Metodologija uzorkovanja, laboratorijskih analiza i određivanja omjera ekološke kakvoće bioloških elemenata kakvoće. Pristupljeno 10. svibnja 2024. na poveznici <https://www.voda.hr/hr/node/1293>.
 106. Hu, R., Han, B., Naselli-Flores, L., 2013. Comparing Biological Classifications of Freshwater Phytoplankton: A Case Study from South China. *Hydrobiologia*, 701, 219–233.
 107. Huo, S., Li, X., Xi, B., Zhang, H., Ma, C., He, Z., 2020. Combining Morphological and Metabarcoding Approaches Reveals the Freshwater Eukaryotic Phytoplankton Community. *Environmental Sciences Europe*. 32, 37.
 108. Hupfer, M., Hilt, S., 2008. Lake Restoration. In: Jørgensen, S.E., Fath, B.D. (eds.), *Encyclopedia of Ecology* (1st ed.). 2080– 2093. Academic Press, Oxford.
 109. Hutchinson, G. E., 1944. Limnological studies in Connecticut. VII. A critical examination of the supposed relationship between phytoplankton periodicity and chemical changes in lake waters. *Ecology*. 25, 3-26.
 110. Hutchinson, G. E., 1967. *A Treatise on Limnology, Volume 2. Introduction to lake biology and the limnoplankton*. Wiley.
 111. Ibisch, R., Austnes, K., Borchardt, D., Boteler, B., Leujak, W., Lukat, E., Rouillard, J., Schmedtje, U., Solheim, A.L., Westphal, K., 2016. European assessment of eutrophication

- abatement measures across land-based sources, inland, coastal and marine waters. European Topic Centre on Inland, Coastal and Marine Waters, Helmholtz Centre for Environmental Research GmbH-UFZ, Germany, ETC/ICM Technical Report – 2/2016.
112. Jamal, A., Yusoff, F.Md., Banerjee, S., Shariff, M., 2014. Littoral and Limnetic Phytoplankton Distribution and Biodiversity in a Tropical Man-Made Lake, Malaysia. *asb*, 6, 149–168.
113. Jankowski, K., Schindler, D.E., Horner-Devine, MC. 2014. Resource availability and spatial heterogeneity control bacterial community response to nutrient enrichment in lakes. *PLoS One*. 8;9(1):e86991.
114. Jarvie, H.P., Sharpley, A.N., Brahana, V., Simmons, T., Price, A., Neal, C., Haggard, B.E., 2014. Phosphorus Retention and remobilization along hydrological pathways in karst terrain. *Environmental Science & Technology*. 48, 4860–4868.
115. Javna ustanova „Nacionalni park Krka“, 2011. Plan upravljanja NP „Krka“ Pristupljeno 10. svibnja 2024. na poveznici <https://www.npkrka.hr/wp-content/uploads/Plan-upravljanja.pdf>.
116. Jeppesen, E., Meerhoff, M., Jacobsen, B.A., Hansen, R.S., Søndergaard, M., Jensen, J.P., Lauridsen, T.L., Mazzeo, N., Branco, C.W.C., 2007. Restoration of shallow lakes by nutrient control and biomanipulation – the successful strategy varies with lake size and climate. *Hydrobiologia*. 581, 269-285.
117. Jeppesen, E., Kronvang, B., Meerhoff, M., Søndergaard, M., Hansen, K.M., Andersen, H.E., Lauridsen, T.L., Liboriussen, L., Beklioglu, M., Özen, A., Olesen, J., 2009. Climate change effects on runoff, catchment phosphorus loading and lake ecological state, and potential adaptations. *Journal of Environmental Quality*. 38, 1930-1941.
118. John, D.M., Whitton, B.A., Brook, A.J., 2011. *The Freshwater Algal Flora of the British Isles: An Identification Guide to Freshwater and Terrestrial Algae*; Cambridge University Press: Cambridge, UK.
119. Joint, I., Henriksen, P., Flaten, G.A., Bourne, D., Thingstad, T.F., Riemann, B., 2002. Competition for inorganic nutrients between phytoplankton and bacterioplankton in nutrient manipulated mesocosms. *Aquatic Microbial Ecology*. 29, 145-159.
120. Jürgens, K., Pernthaler, J., Schalla, S., Amann, R., 1999. Morphological and compositional changes in a planktonic bacterial community in response to enhanced protozoan grazing. *Applied and Environmental Microbiology*. 65, 1241–1250.
121. Kahlert, M., Bailet, B., Chonova, T., Karjalainen, S.M., Schneider, S.C., Tapolczai, K., 2021. Same Same, but Different: The Response of Diatoms to Environmental Gradients in Fennoscandian Streams and Lakes – Barcodes, Traits and Microscope Data Compared. *Ecological Indicators*. 130, 108088.
122. Kamjunke, N., Henrichs, T., Gaedke, U., 2007. Phosphorus Gain by Bacterivory Promotes the Mixotrophic Flagellate *Dinobryon* Spp. during Re-Oligotrophication. *Journal of Plankton Research*. 29, 39–46.
123. Kapelj, S., 2018. *Geologija i okoliš. Skripte iz predmeta Geologija 1*.
124. Kasinak, J. E., Holt, B. M., Chislock, M. F., Wilson, A. E., 2015. Benchtop fluorometry of phycocyanin as a rapid approach for estimating cyanobacterial biovolume. *Journal of Plankton Research*. 37, 248–257.

125. Kasprzak, P., Padisák, J., Koschel, R., Krienitz, L., and Gervais, F., 2008. Chlorophyll *a* concentration across a trophic gradient of lakes: An estimator of phytoplankton biomass? *Limnologia* 38, 327–338.
126. Kent, A.D., Jones, S.E., Yannarell, A.C., Graham, J.M., Lauster, G.H., Kratz, T.K., Triplett, E.W., 2004. Annual patterns in bacterioplankton community variability in a humic lake. *Microbial Ecology*. 48(4), 550-60.
127. Kent, A.D., Yannarell, A.C., Rusak, J.A., Triplett, E.W., McMahon, K.D., 2007. Synchrony in aquatic microbial community dynamics. *ISME J.* 1(1), 38-47.
128. Kolda, A., Petrić, I., Mucko, M., Gottstein, S., Žutinić, P., Goreta, G., Ternjeji, I., Rubinić, J., Radišić, M., Gligora Udovič, M., 2019. How environment selects: Resilience and survival of microbial mat community within intermittent karst spring Krčić (Croatia). *Ecohydrology*. 12, 2, e2063, 16.
129. Komárek, J., Anagnostidis, K., 1998. Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales. In *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19/1; Ettl, H., Gärtner, G., Heynig, H., Mollenhauer, D., Eds.; Gustav Fischer: Jena, Germany; Stuttgart, Germany; Lübeck, Germany; Ulm, Germany.
130. Komárek, J., Anagnostidis, K., 2005. Cyanoprokaryota 2. Teil/ 2nd Part: Oscillatoriales. In *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19/2; Büdel, B., Krienitz, L., Gärtner, G., Schagerl, M., Eds.; Elsevier/Spektrum: Heidelberg.
131. Korlević, M., Šupraha, L., Ljubešić, Z., Henderiks, J., Ciglencečki, I., Dautović, J., Orlić, S., 2016. Bacterial diversity across a highly stratified ecosystem: A salt-wedge Mediterranean estuary. *Systematic and Applied Microbiology*. 39(6), 398–408.
132. Kralj, K., Gligora, M., Plenković-Moraj, A., Primc-Habdija, B., Sipos, L., 2007. Dinamika naseljavanja perifitona Visovačkog jezera. Šibenik. Javna ustanova „Nacionalni park Krka. 613-624.
133. Krammer, K., Lange-Bertalot, H., 2000. Bacillariophyceae 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. In *Süßwasserflora von Mitteleuropa* Band 2/3; Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D., Eds.; Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg.
134. Krammer, K., 2000. *Bacillariophyceae*; Spektrum Akademischer: Heidelberg.
135. Kristiansen, J., Preisig, H.R., 2007. Süßwasserflora von Mitteleuropa 1. Chrysophyte and Haptophyte Algae: Part 2: Synurophyceae (2nd Edition); Spektrum Akademischer Verlag: Berlin, Germany.
136. Kruk, C., Huszar, V.L.M., Peeters, E.T.H.M., Bonilla, S., Costa, L., Lurling, M., et al., 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology*. 55, 614–627.
137. Kulaš, A., Gligora Udovič, M., Tapolczai, K., Žutinić, P., Orlić, S., Levkov, Z., 2022. Diatom EDNA Metabarcoding and Morphological Methods for Bioassessment of Karstic River. *Science of the total environment*. 829, 154536.
138. Kveštak, R., Ahel, M., 1995. Biotransformation of nonylphenol polyethoxylate surfactants by estuarine mixed bacterial cultures. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 29, 551-556.

139. Lanzén, A., Lekang, K., Jonassen, I., Thompson, E.M., Troedsson, C., 2016. High-Throughput Metabarcoding of Eukaryotic Diversity for Environmental Monitoring of Offshore Oil-Drilling Activities. *Molecular Ecology*. 25, 4392–4406.
140. Larsson, U., Hagström, A., 1979. Phytoplankton exudate release as an energy source for the growth of pelagic bacteria. *Marine Biology*. 52, 199–206.
141. Lee, R. E., 1980. *Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge.
142. Legendre, L., Rassoulzadegan, F., 1995. Plankton and nutrient dynamics in marine waters. *Ophelia*. 41, 153–172.
143. Lemly, A.D., Dimmick, J.F., 1982. Phytoplankton Communities in the Littoral Zone of Lakes: Observations on Structure and Dynamics in Oligotrophic and Eutrophic Systems. *Oecologia*. 54, 359–369.
144. Loosdrecht, M., Brdjanovic, D., 2014. Water treatment. Anticipating the next century of wastewater treatment. *Science (New York)*. 344, 1452-3.
145. Lyche-Solheim, A., Feld, C.K., Birk, S. et al., 2013. Ecological status assessment of European lakes: a comparison of metrics for phytoplankton, macrophytes, benthic invertebrates and fish. *Hydrobiologia*. 704, 57–74.
146. Mainstone, C.P., Parr, W., 2002. Phosphorus in Rivers—Ecology and Management. *Science of the Total Environment*. 282-283, 25-47.
147. Mandal, S.D., Panda, A.K., Bisht, S.S., Kumar, N.S., 2015. Microbial Ecology in the Era of Next Generation Sequencing. *Next Generation: Sequencing & Applications*. 10.4172/jngsa.S1-001.
148. Marcé, R., George, G., Buscarinu, P., Deidda, M., Dunalska, J., de Eyto, E., et al., 2016. Automatic high frequency monitoring for improved lake and reservoir management. *Environmental Science and Technology*. 50 (20), 10780–10794.
149. Maitland, V.C., Robinson, C.V., Porter, T.M., Hajibabaei, M., 2020. Freshwater Diatom Biomonitoring through Benthic Kick-Net Metabarcoding. *PLOS ONE*, 15, e0242143.
150. Margalef, R., 1978. Life Forms of Phytoplankton as Survival Alternatives in an Unstable Environment. *Oceanology Acta*. 1, 493-509.
151. Marguš D., Lakić V., 2012. Bibliografija radova o rijeci Krki. Javna ustanova „Nacionalni park Krka“. Šibenik.
152. Maritz, J.M., Rogers, K.H., Rock, T.M., Liu, N., Joseph, S., Land, K.M., Carlton, J.M., 2017. An 18S rRNA Workflow for Characterizing Protists in Sewage, with a Focus on Zoonotic Trichomonads. *Microbial Ecology*. 74, 923–936.
153. Martin, M., 2011. Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads. *EMBnetjournal*. 17, 10.
154. Matoničkin, I., 1989. Limnofauna beskralješnjaka (Avertebrata) na brzacima i slapovima rijeke Krke u Dalmaciji; u: Nacionalni park Krka / zbornik radova sa Simpozija NP Krka - stanje istraženosti i problemi zaštite ekosistema, Šibenik, od 3. do 7. 10. 1989. 229-233.
155. Matoničkin Kepčija, R., Habdija, I., Primc-Habdija, B., Miliša, M., 2006. Simuliid silk pads enhance tufa deposition, *Archiv fur Hydrobiologie*. 166(3), 387-409.
156. Medinger, R., Nolte, V., Pandey, R.V.; Jost, S., Ottenwalder, B., Schlotterer, C., Boenigk, J., 2010. Diversity in a Hidden World: Potential and Limitation of next-Generation Sequencing for Surveys of Molecular Diversity of Eukaryotic Microorganisms. *Molecular Ecology*. 19, 32–40.

157. Meinson, P., Idrizaj, A., Nõges, P., Nõges, T., Laas, A., 2016. Continuous and high-frequency measurements in limnology: History, applications, and future challenges. *Environmental Reviews*. 24 (1), 52–62.
158. Mihaljević, M., Getz, D., Tadić, Z., Živanović, B., Gucunski, D., Topić, J., Kalinović, I., Mikuška, J., 1999. Kopački rit - pregled istraživanja i bibliografija. HAZU, Zavod za znanstveni rad Osijek, Zagreb-Osijek, 187.
159. Mihaljević, M., Stević, F., 2011. Cyanobacterial blooms in a temperate river-floodplain ecosystem: the importance of hydrological extremes. *Aquatic ecology*. 45, 335-349.
160. Mikac, I., Fiket, Ž., Terzić, S., Barešić, J., Mikac, N., Ahel, M., 2011. Chemical Indicators of Anthropogenic Impacts in Sediments of the Pristine Karst Lakes. *Chemosphere*. 84, 1140–1149.
161. Morata, S. M., Camacho, A., Miracle, M. R., Vicente, E. 2003. Asociaciones fitoplanctónicas y su periodicidad en un lago marcadamente estratificado. *Limnetica*. 22, 35–52.
162. Mortensen, E., Jeppesen, E., Søndergaard, M., Kamp Nielsen, L., 1994. Nutrient dynamics and biological structure in shallow freshwater and Brackish Lakes. Springer-Verlag, New York.
163. Mulderij, G., Van Nes, E.H., Van Donk, E., 2007. Macrophyte–Phytoplankton Interactions: The Relative Importance of Allelopathy versus Other Factors. *Ecological Modelling*. 204, 85–92.
164. Newton, R. J., Jones, S. E., Eiler, A., McMahon, K. D., Bertilsson, S., 2011. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 75, 14–49.
165. Not, F., Zapata, M., Pazos, Y., Campaña, E., Doval, M., Rodríguez, F., 2007. Size-Fractionated Phytoplankton Diversity in the NW Iberian Coast: A Combination of Microscopic, Pigment and Molecular Analyses. *Aquatic Microbial Ecology*. 49, 255–265.
166. OECD, 1982. Eutrophication of waters: monitoring, assessment and control. Final Report. OECD Cooperative Program on Monitoring of Inland Waters (Eutrophication Control, Environment Directorate). Paris, France. OECD.
167. Oelkers, E.H., Hering, J.G., Zhu, C., 2011. Water: is there a global crisis?. *Elements*. 7, 157-162.
168. Olrik, K., Cronberg, G., Annadotter, H., 2012. Lake Phytoplankton Responses to Global Climate Changes. In *Climatic change and global warming of inland waters: impacts and mitigation for ecosystems and societies*; Goldman, C.R., Kumagai, M., Robarts, R.D., Eds.; Wiley: Chichester. 173–199.
169. Ongley, E. D., 1996. Control of Water Pollution from Agriculture, FAO Irrigation and Drainage, Vol. 55, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
170. Ostrowska, M., 2012. Model of the dependence of the sun-induced chlorophyll *a* fluorescence quantum yield on the environmental factors in the sea. *Optics Express*. 20 (21), 23300–23317.
171. O’Sullivan, P. E., Reynolds, C. S., 2004. The Lakes Handbook. Volume 1. Limnology and Limnetic Ecology. Blackwell Science Ltd., Oxford. 699.

172. Padisák, J., Borics, G., Grigorszky, I., Soróczki-Pintér, É., 2006. Use of phytoplankton assemblages for monitoring ecological status of lakes within the water framework directive: the assemblage index. *Hydrobiologia*. 553, 1–14.
173. Padisák, J., Crossetti, L.O., Naselli-Flores, L., 2009. Use and Misuse in the Application of the Phytoplankton Functional Classification: A Critical Review with Updates. *Hydrobiologia*. 621, 1–19.
174. Paerl, H.W., 2014. Mitigating Harmful Cyanobacterial Blooms in a Human- and Climatically-Impacted World. *Life*. 4, 988-1012.
175. Pascher, A., 1943. Zur Kenntnis verschiedener Ausbildungen der planktonischer *Dinobryon*. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie*. 43, 110-23.
176. Paul, A., Dziallas, C., Zwirnmann, E., Gjessing, E., Grossart, H.-P., 2012. UV irradiation of natural organic matter (NOM): Impact on organic carbon and bacteria. *Aquatic Sciences*. 74.
177. Paver, S.F., Kent, A.D., 2010. Temporal Patterns in Glycolate-Utilizing Bacterial Community Composition Correlate with Phytoplankton Population Dynamics in Humic Lakes. *Microbial Ecology*. 60, 406–418.
178. Paver, S.F., Hayek, K.R., Gano, K.A., Fagen, J.R., Brown, C.T., Davis-Richardson, A.G., Crabb, D.B., Rosario-Passapera, R., Giongo, A., Triplett, E.W., Kent, A.D., 2013. Interactions between specific phytoplankton and bacteria affect lake bacterial community succession. *Environmental Microbiology*. 15(9):2489-504.
179. Pawlowski, J., Apothéoz-Perret-Gentil, L., Mächler, E., Altermatt, F., 2020. Environmental DNA Applications in Biomonitoring and Bioassessment of Aquatic Ecosystems; Environmental Studies. no 2010; Federal Office for the Environment, Bern, Switzerland, 71.
180. Pelivan, A., 2004. Zrmanja, Krka, Cetina i njihovi pritoci, *Ekološki glasnik, Donja Lomnica*, 239.
181. Pentecost, A., 2005. *Travertine*, Springer, London.
182. Pérez-Martínez, C., Sánchez-Castillo, P., 2002. Winter dominance of *Ceratium hirundinella* in a southern north-temperate reservoir. *Journal of Plankton Research*. 24, 89–9.
183. Pernthaler, J., Posch, T., Šimek, K., Vrba, J., Pernthaler, A., Glöckner, FO., Nübel, U., Psenner, R., Amann, R., 2001. Predator-Specific Enrichment of Actinobacteria from a Cosmopolitan Freshwater Clade in Mixed Continuous Culture. *Applied and Environmental Microbiology*. 67.
184. Petricioli, D., 1996. Pridnena hipokisja u ušću rijeke Krke u jesen 1988. godine. *Hrvatsko ekološko društvo*. 331-341.
185. Pevalek, I., 1953. Prikaz i stanje sedre na Krki. Krka i problemi njezine zaštite, Konzervatorski zavod NR Hrvatske, Zagreb. 31-41.
186. Philips, S., Laanbroek, H., Verstraete, W., 2002. Origin, Causes and Effects of Increased Nitrite Concentrations in Aquatic Environments. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 1. 10.1023/A:1020892826575.
187. Pinay, G., Gascuel, C., Ménesguen, A., Souchon, Y., Le Moal, M., Levain, A., Etrillard, C., Moatar, F., Pannard, A., Souchu, P., 2017. Eutrophication: manifestations, causes,

- consequences and predictability. Joint Scientific Appraisal, report, CNRS - Ifremer - INRA - Irstea (France).
188. Piontek, J., Handel, N., Bodt, C., Harlay, J., Chou, L., Engel, A., 2011. The utilization of polysaccharides by heterotrophic bacterioplankton in the Bay of Biscay (North Atlantic Ocean). *Journal of Plankton Research*. 33, 1719-1735.
 189. Plenković-Moraj, A., Horvatinčić, N., Primc, B., 2002. Periphyton and its role in tufa deposition in karstic waters (Plitvice Lakes, Croatia). *Biologia - Section Botany*. 57, 423-431.
 190. Poikane, S., 2009. Water Framework Directive Intercalibration Technical Report; Part 2: Lakes; Office for Official Publications of the European Communities (OPOCE). Luxembourg.
 191. Polšak, A., 1974. Geološki aspekti zaštite Plitvičkih jezera. *Arhiv JUNP Plitvička jezera*.
 192. Popovsky, J., Pfiester, L. A., 1990. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 6: Dinophyceae (Dinoflagellida). Jena & Stuttgart, Gustav Fischer.
 193. Preiner, S., Dai, Y., Pucher, M., Reitsema, R.E., Schoelynck, J., Meire, P., Hein, T., 2020. Effects of macrophytes on ecosystem metabolism and net nutrient uptake in a groundwater fed lowland river, *Science of The Total Environment*. 721, 137620, ISSN 0048-9697.
 194. Pringsheim, E.G., 1952. On the nutrition of *Ochromonas*. *Q. J. Microsc. Sci.* 93: 71-96.
 195. Ptacnik, R., Lepistö, L., Willén, E., Brettum, P., Andersen, T., Rekolainen, S., Lyche Solheim, A., Carvalho, L., 2008. Quantitative Responses of Lake Phytoplankton to Eutrophication in Northern Europe. *Aquatic Ecology*. 42, 227–236.
 196. QGIS A Free and Open Source Geographic Information System. Open Source. Geospatial Foundation Project. 2009. Pristupljeno 21. ožujka 2023. na poveznici <https://qgis.org/en/site/>.
 197. Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F. O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*. 41(D1), 590–596.
 198. Rahlwes, K.C., Sparks, I.L., Morita, Y.S., 2019. Cell Walls and Membranes of Actinobacteria. In: Kuhn, A. (eds) *Bacterial Cell Walls and Membranes*. Subcellular Biochemistry. 92. Springer, Cham.
 199. Ramanan, R., Kim, B.-H., Cho, D.-H., Oh, H.-M., Kim, H.-S., 2016. Algae–bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications. *Biotechnology Advances*. 34, 14–29.
 200. R Core Team, 2024. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
 201. Reynolds, C.S., 1980. Phytoplankton assemblages and their periodicity in stratifying lake systems, *Holarctic Ecology* 3.
 202. Reynolds, C.S., 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press.
 203. Reynolds, C.S., 1988a. Functional morphology and the adaptive strategies of freshwater phytoplankton. U:Sandgren CD (ed.) *Growth and Reproductive Strategies of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge University Press, 388–433.

204. Reynolds, C.S., 1988b. The concept of ecological succession applied to seasonal periodicity of freshwater phytoplankton. *Verh Internat Verein Theor Angew Limnol.* 23, 683–691.
205. Reynolds, C.S., 1997. *Vegetation Processes in the Pelagic: A Model for Ecosystem Theory.* Xxvii, 371 p. Oldendorf/Luhe, Germany: Ecology Institute. (Excellence in Ecology No. 9). Price DM 68.00. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom.* 77, 919–919.
206. Reynolds, C.S., Huszar, V., Kruk, C., Naselli-Flores, L., Melo, S., 2002. Towards a Functional Classification of the Freshwater Phytoplankton. *Journal of Plankton Research.* 24, 417–428.
207. Reynolds, C.S., 2006. *Ecology of phytoplankton.* Cambridge University Press, Cambridge.
208. Riesch, R., Tobler, M., Plath, M., 2014. Hydrogen Sulfide-Toxic Habitats. 10.1007/978-3-319-13362-1_7.
209. Rimet, F., Vasselon, V., A.-Keszte, B., Bouchez, A., 2018. Do We Similarly Assess Diversity with Microscopy and High-Throughput Sequencing? Case of Microalgae in Lakes. *Organisms Diversity & Evolution.* 18, 51–62.
210. Ríos-Castro, R., Costas-Selas, C., Pallavicini, A., Vezzulli, L., Novoa, B., Teira, E., Figueras, A., 2022. Cooccurrence and diversity patterns of benthonic and planktonic communities in a shallow marine ecosystem. *Frontiers in Marine Science.* 9:934976.
211. Rogora, M., Cancellario, T., Caroni, R., Kamburska, L., Manca, D., Musazzi, S., Tiberti, R., Lami, A., 2023. High-frequency monitoring through in-situ fluorometric sensors: A supporting tool to long-term ecological research on lakes. *Frontiers in Environmental Science.* 10:1058515.
212. Rott, E., 1981. Some results from phytoplankton counting intercalibrations. *Schweiz. Z. Hydrologie.* 43, 34–62.
213. Rubinić, J., 2011. Hidrologija krškog hidrosustava rijeke Krke – analiza recentnih procesa i sintezni prikaz osnovnih značajki. Hidrološka studija. Građevinski fakultet, Sveučilište Rijeka.
214. Rubinić, J., Radišić, M., Güttler, I., Cindić Kalin, K., Baković, N., 2016. Hidrološka istraživanja voda rijeke Krke – trendovi i utjecaji klimatskih promjena/varijacija. Građevinski fakultet, Sveučilište Rijeka.
215. Sabolić, K., 2003. Jarun. Carstvo vode, zelenila i mira. Jarun d.o.o. za uređivanje i održavanje rekreacijsko-športskih objekata, Zagreb.
216. Salmaso, N., 2003. Life strategies, dominance patterns and mechanisms promoting species coexistence in phytoplankton communities along complex environmental gradients. *Hydrobiologia.* 502, 13–36.
217. Salmaso N., Padisak J., 2007. Morpho-Functional Groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia.* 578, 97–112.
218. Salmaso, N., Buzzi, F., Garibaldi, L., Morabito, G., Simona, M., 2012. Effects of nutrient availability and temperature on phytoplankton development: a case study from large lakes south of the Alps. *Aquatic Sciences.* 74, 555–570.

219. Sanders, R.W., Porter, K.G., Bennett, S.J., DeBiase, A.E., 1989. Seasonal patterns of bacterivory by flagellates, ciliates, rotifers and cladocerans. *Limnology and Oceanography*. 34, 673-87.
220. Sanders, R.W., 2011. Alternative Nutritional Strategies in Protists: Symposium Introduction and a Review of Freshwater Protists That Combine Photosynthesis and Heterotrophy¹. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 58, 181–184.
221. Sanders, R.W., Gast, R.J., 2012. Bacterivory by phototrophic picoplankton and nanoplankton in Arctic waters. *FEMS Microbial Ecology*. 80, 242–253.
222. Sandgren, C.D., 1988. The ecology of chrysophyte flagellates: their growth and perennation strategies as freshwater phytoplankton. In: Sandgren, C.D. (ed.) *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge. 9-104.
223. Sandgren, C.D., Smol J.P., Kristiansen J., 2009. *Chrysophyte Algae: Ecology, Phylogeny and Development*. Cambridge University Press.
224. Sapp, M., Schwaderer, A.S., Wiltshire, K.H., Hoppe, H.G., Gerds, G., Wichels, A., 2007. Species-specific bacterial communities in the phycosphere of microalgae? *Microbial Ecology*. 53(4), 683-99.
225. Sarmiento, H., Gasol, J.M., 2012. Use of phytoplankton-derived dissolved organic carbon by different types of bacterioplankton. *Environmental Microbiology*. 14(9), 2348-60.
226. Schindler, D.W., 2006. Recent advances in the understanding and management of eutrophication. *Limnology and Oceanography*. 51, 356-363.
227. Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., Lesniewski, R. A., Oakley, B. B., Parks, D. H., Robinson, C. J., Sahl, J. W., Stres, B., Thallinger, G. G., Van Horn, D. J., and Weber, C. F., 2009. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. 75(23), 7537– 7541.
228. Seymour J.R., Amin S.A., Raina J.B., Stocker R., 2017. Zooming in on the phycosphere: the ecological interface for phytoplankton-bacteria relationships. *Nature Microbiology*. 30, 2, 17065.
229. Shapiro, J., 1997. The role of carbon dioxide in the initiation and maintenance of blue-green dominance in lakes. *Freshwater Biology*. 37, 307–323.
230. Sharpley, A.N., Chapra, S.C., Wedepohl, R., Sims, J.T., Daniel, T.C., Reddy, K.R., 1994. Managing agricultural phosphorus for protection of surface waters: Issues and options. *Journal of Environmental Quality*. 23437–451.
231. Sheibley, R.W., Enache, M., Swarzenski, P.W., Moran, P.W., Foreman, J.R., 2014. Nitrogen deposition effects on diatom communities in lakes from three National Parks in Washington State. *Water, Air, & Soil Pollution*. 225, 1857.
232. Sieburth, J.M., Smetacek, V., Lenz J., 1978. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions, *Limnology and Oceanography*. 23.
233. Smith, V.H., 2003. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems: a global problem. *Environmental Science and Pollution Research*. 10(2), 126-39.

234. Sommer, U., 1984. The paradox of the plankton: fluctuations of phosphorus availability maintain diversity of phytoplankton in flow-through cultures. *Limnology and Oceanography*. 29, 633–636.
235. Sommer, U., Gliwicz, Z.M., Lampert, W., Duncan, A., 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archiv für Hydrobiologie*.
236. Sommer, U., 1988. Growth and Survival Strategies of Plankton Diatoms. In *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*; Sandgren, C.D., Ed.; Cambridge University Press, Cambridge, UK, 227–260.
237. Sommer, U., 1989. Toward a Darwinian Ecology of Plankton. In Sommer, U. (ed), *Plankton ecology*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo 1-8.
238. Sommer, U., Adrian, R., De Senerpont Domis, L., Elser, J.J., Gaedke, U., Ibelings, B., Jeppesen, E., Lürling, M., Molinero, J.C., Mooij, W.M., Van Donk, E., Winder, M., 2012. Beyond the Plankton Ecology Group (PEG) Model: Mechanisms driving plankton succession. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 43, 429–448.
239. Sonarghare, P.C., Masram S.C., Sonparote, U.R., Khaparde, K.P., Kharkate, S.K., 2020. Causes and Effects of Eutrophication on Aquatic Life (A Review). *International Journal for Environmental Rehabilitation and Conservation*. XI (SP2), 213-218.
240. Søndergaard, M., Jeppesen, E., Peder Jensen, J., Lildal Amsinck, S., 2005. Water Framework Directive: Ecological classification of Danish lakes: Water Framework Directive and Danish lakes. *Journal of Applied Ecology*. 42(4), 616–629.
241. Sparrow, B. D., Edwards, W., Munroe, S. E., Wardle, G. M., Guerin, G. R., Bastin, J. F., et al. 2020. Effective ecosystem monitoring requires a multi-scaled approach. *Biological reviews*. 95 (6), 1706–1719.
242. Srdoč, D., N. Horvatinčić, B. Obelić, I. Krajcar Bronić, Slipečević, A., 1985. Procesi taloženja kalcita u krškim vodama s posebnim osvrtom na Plitvička jezera. *Krš Jugoslavije =Carsus Iugoslaviae*. 11, 101–204.
243. Stanca, E., Cellamare, M., Basset, A., 2012. Geometric shape as a trait to study phytoplankton distributions in aquatic ecosystems. *Hydrobiologia*. 701.
244. Stibor, H., Sommer, U., 2003. Mixotrophy of a photosynthetic flagellate viewed from an optimal foraging perspective. *Protist*. 154(1), 91-8.
245. Stoeck, T., Bass, D., Nebel, M., Christen, R., Jones, M.D.M., Breiner, H.-W., Richards, T.A., 2010. Multiple Marker Parallel Tag Environmental DNA Sequencing Reveals a Highly Complex Eukaryotic Community in Marine Anoxic Water. *Mol. Ecol.*, 19, 21–31.
246. Stoeck, T., Kochems, R., Forster, D., Lejzerowicz, F., Pawlowski, J., 2018. Metabarcoding of Benthic Ciliate Communities Shows High Potential for Environmental Monitoring in Salmon Aquaculture. *Ecological Indicators*. 85, 153–164.
247. Stoecker, D.K., Johnson, M.D., deVargas, C., 2009. Not, F. Acquired Phototrophy in Aquatic Protists. *Aquatic Microbial Ecology*. 57, 279–310.
248. Svensson, C., Kundzewicz, Z. W., Maurer, T., 2004. Trends in flood and low flow hydrological time series. Report to the World Meteorological Organization (WMO), World Climate Programme. Applications and Services Report WCASP – 66, WMO/TD no. 1241. WMO, Geneva.

249. Szabó, A., Korponai, K., Somogyi, B. et al., 2020. Grazing pressure-induced shift in planktonic bacterial communities with the dominance of acIII-A1 actinobacterial lineage in soda pans. *Scientific Reports*. 10, 19871.
250. Šimek, K., Horňák, K., Jezbera, J., Nedoma, J., Znachor, P., Hejzlar, J., Sed'a, J., 2008. Spatio-temporal patterns of bacterioplankton production and community composition related to phytoplankton composition and protistan bacterivory in a dam reservoir. *Aquatic Microbial Ecology*. 51, 249-262.
251. Šimunović, M., Kulaš, A., Žitunić, P., Goreta, G., Gligora Udovič, M., 2022. Phytoplankton Metrics for Trophic and Ecological Status Assessment of a Natural Karstic Lake. *Acta botanica Croatica*. 81, 185–196.
252. Špoljar, M., Primc-Habdija, B., Habdija, I., 2007. Transport of seston in the karstic hydrosystem of the Plitvice Lakes (Croatia). *Hydrobiologia*. 579, 199–209.
253. Taipale, S. J., Ventelä, A., Litmanen, J., Anttila, L., 2022. Poor nutritional quality of primary producers and zooplankton driven by eutrophication is mitigated at upper trophic levels. *Ecology and Evolution*. 12(3).
254. Taler, Z., 1951. Visovačka jezerska pastrva (*Salmo visovasensis*). *Glas. biol. sek.* 2-3, 118-158.
255. Tanocki, Z., Crljenko, I., 2011. Jezera Hrvatske. Zagreb: Školska knjiga.
256. Tarao, M., Jezbera, J., Hahn, MW., 2009. Involvement of cell surface structures in size-independent grazing resistance of freshwater Actinobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 75(14), 4720-6.
257. Teeling, H., Fuchs, B.M., Becher, D., Klockow, C., Gardebrecht, A., Bennis, C.M., Kassabgy, M., Huang, S., Mann, A.J., Waldmann, J., Weber, M., Klindworth, A., Otto, A., Lange, J., Bernhardt, J., Reinsch, C., Hecker, M., Peplies, J., Bockelmann, F.D., Callies, U., Gerdt, G., Wichels, A., Wiltshire, K.H., Glöckner, F.O., Schweder, T., Amann, R., 2012. Substrate-controlled succession of marine bacterioplankton populations induced by a phytoplankton bloom. *Science*. 336(6081), 608-11.
258. Ternjej, I., Mihaljević Z., Kerovec, M., 2005. Makrozooplankton jezera Visovac. Šibenik. Javna ustanova „Nacionalni park Krka“. 37.
259. Terzić, J., Pavičić, A., Marković, T., Lukač Reberski, J., 2010. Protection of the Miljacka karst spring: an underground connection between the rivers Zrmanja and Krka. Sustainability of the karst environment - Dinaric karst and other karst regions. Bonacci, O. (ur.). Pariz: UNESCO, 179-186.
260. Tragin, M., Zingone, A., Vaulot, D., 2018. Comparison of Coastal Phytoplankton Composition Estimated from the V4 and V9 Regions of the 18S rRNA Gene with a Focus on Photosynthetic Groups and Especially Chlorophyta. *Environmental Microbiology*. 20, 506–520.
261. Tomec, M. 1988. Struktura fitoplanktona u estuaru Krke kao odraz kvalitete vode. *Ekol.* 21, 1, 25-30.
262. United Nations Department of Economic and Social Affairs (UN DESA), Population Division, 2022. World Population Prospects 2022: Summary of Results. NO. 3.
263. Unrein, F., Massana, R., Alonso-Sáez, L., Gasol, J.M., 2007. Significant year-round effect of small mixotrophic flagellates on bacterioplankton in an oligotrophic coastal system. *Limnology and Oceanography*. 52, 456–469.

264. Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommnung Der Quantitativen Phytoplankton-Methodik. *SIL Communications*. 1953-1996, 9, 1–38.
265. Vasselon, V., Domaizon, I., Rimet, F., Kahlert, M., Bouchez, A., 2017. Application of High-Throughput Sequencing (HTS) Metabarcoding to Diatom Biomonitoring: Do DNA Extraction Methods Matter? *Freshwater Science*, 36, 162–177.
266. Vlada Republike Hrvatske, 2019. Uredba o standardu kakvoće voda, *Narodne novine* 96/2019.
267. Viličić, D., Legović, T., Žutić, V., 1989. Vertical distribution of phytoplankton in a stratified estuary. *Aquatic sciences*. 51, 1, 31-46-x.
268. Viličić, D., Petricoli, D., Jasprica, N., 1990. Sezonska raspodjela fitoplanktona u estuariju rijeke Krke i u Visovačkom jezeru. *Zagreb: Hrvatsko ekološko društvo*, 317-330.
269. Vollenweider, R.A., 1968. *Water Management Research: Scientific Fundamentals of the Eutrophication of Lakes and Flowing Waters, with Particular Reference to Phosphorus and Nitrogen as Factors in Eutrophication*. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Paris, Report No. DAS/CSI/68.27.
270. Vrba, J., Nedoma, J., Kohout, L., Kopáček, J., Nedbalová, L., Ráčková, P., Šcaronimek, K., 2003. Massive occurrence of heterotrophic filaments in acidified lakes: seasonal dynamics and composition. *FEMS Microbial Ecology*. 46, 281–294.
271. Wang, H., Zhang, X., Shan, H., Lv, C., Ren, W., Wen, Z., Tian, Y., Weigel, B., Ni, L., Cao, T., 2022. Biodiversity buffers the impact of eutrophication on ecosystem functioning of submerged macrophytes on the Yunnan-Guizhou Plateau, Southwest China, *Environmental Pollution*. 314. 120210. 10.1016/j.envpol.2022.120210.
272. Ward, B. A., Follows, M. J., 2016. Marine mixotrophy increases trophic transfer efficiency, mean organism size, and vertical carbon flux. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. 113, 2958–2963.
273. Waters, C.N., Zalasiewicz, J., Summerhayes, C., Barnosky, A.D., Poirier, C., Gałuszka, A., Cearreta, A., Edgeworth, M., Ellis, E.C., Ellis, M., Jeandel, C., Leinfelder, R., McNeill, J.R., Richter, D., Steffen, W., Syvitski, J., Vidas, D., Wagleich, M., Williams, M., Zhisheng, A., Grinevald, J., Odada, E., Oreskes, N., Wolfe, A.P., 2016. The Anthropocene is functionally and stratigraphically distinct from the Holocene. *Science*. 351 (6269).
274. Wetzel, R.G., 2001. *Limnology. Lake and river ecosystems* (3rd ed.). Academic Press, San Diego.
275. Wilken, S., Huisman, J., Naus-Wiezer, S., Van Donk, E., 2013. Mixotrophic Organisms Become More Heterotrophic with Rising Temperature. *Ecology Letters*. 16, 225–233.
276. Wilmotte, A., Dail Laughinghouse IV, H., Capelli, C., Rippka, R., Salmaso, N., 2017. Taxonomic Identification of Cyanobacteria by a Polyphasic Approach. In *Molecular Tools for the Detection and Quantification of Toxigenic Cyanobacteria*; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 79–134.
277. World Health Organization, (WHO), 2003. *Guidelines for safe recreational water environments: Coastal and fresh waters* (Vol. 1). WHO Press, World Health Organization, Geneva.
278. World Health Organization (WHO), 2011. Nitrate and nitrite in drinking-water. Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. WHO Press, World Health Organization, Geneva.

279. Woolway, R.I., Merchant, C.J., 2019. Worldwide alteration of lake mixing regimes in response to climate change. *Nature Geoscience*. 12, 271–276.
280. Wiik, E., Bennion, H., Sayer, C.D., Willby, N.J., 2014. Chemical and biological responses of Marl Lakes to eutrophication. *Freshwater Reviews*. 6, 35–62.
281. WWF. 2018. Living Planet Report - 2018: Aiming Higher. Grooten, M. and Almond, R.E.A.(Eds). WWF, Gland, Switzerland.
282. Xiao, X., Sogge, H., Lagesen, K., Tooming-Klunderud, A., Jakobsen, K.S., Rohrlack, T., 2014. Use of High Throughput Sequencing and Light Microscopy Show Contrasting Results in a Study of Phytoplankton Occurrence in a Freshwater Environment. *PLoS ONE*. 9, e106510.
283. Yang, X., Wu, X., Hao, H. et al., 2008. Mechanisms and assessment of water eutrophication. *J Journal of Zhejiang University Science B*. 9, 197–209.
284. Yang, S.-J., Kang, I., Cho, J.-C., 2016. Expansion of cultured bacterial diversity by large-scale dilution-to-extinction culturing from a single seawater sample. *Microbial Ecology*. 71, 29–43.
285. Yang, J.R., Yu, X., Chen, H., Kuo, Y.M., Yang, J., 2021. Structural and functional variations of phytoplankton communities in the face of multiple disturbances. *Journal of Environmental Sciences*. 100, 287-297.
286. Zarauz, L., Irigoien, X., Fernandes, J.A., 2008. Changes in Plankton Size Structure and Composition, during the Generation of a Phytoplankton Bloom, in the Central Cantabrian Sea. *Journal of Plankton Research*. 31, 193–207.
287. Žutinić, P., Gligora Udovič, M., Kralj Borojević, K., Plenković-Moraj, A., Padisák, J., 2014. Morpho-Functional Classifications of Phytoplankton Assemblages of Two Deep Karstic Lakes. *Hydrobiologia*. 740, 147–166.

ŽIVOTOPIS

Maja Šimunović, rođena je u Zagrebu, 29. travnja 1984. godine. Nakon završene Osnovne škole Samobor i Opće gimnazije Antun Gustav Matoš u Samoboru, nastavlja svoje obrazovanje na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu na Biološkom odsjeku u Zagrebu. Tijekom studija sudjeluje na dvije IAESTE (Hrvatska udruga za međunarodnu razmjenu studenata prirodnih i tehničkih znanosti) stručne prakse na University of Applied Sciences Zittau/Gorlitz u Njemačkoj i na Universidad del Quindío, Laboratorio de Ictiología Armenia u Kolumbiji. Svoj diplomski rad pod nazivom "Sezonska raspodjela fitoplanktona u akumulaciji Butoniga" obranila je 2008. godine te stječe stručni naziv diplomiranog inženjera biologije - ekologije. Nakon studija 2009. godine sudjeluje na Tempus projektu "QUALI European Quality Standards in Limnology Education" koji je uključivao 17 kolegija iz polja limnologije uz posebni naglasak standardizacije metoda na području Europe prema Okvirnoj direktivi o vodama. Projekt je bio održan na pet različitih europskih sveučilišta (Sveučilište u Gironi, Sveučilište u Potsdamu, Panonsko sveučilište u Veszpremu, Sveučilište u Zagrebu i Sveučilište u Uppsali). Zatim se 2010. godine zapošljava u Agenciji za zaštitu okoliša (od 2015. Hrvatska agencija za okoliš i prirodu) u Zagrebu. U želji da nastavi svoje obrazovanje iz znanstvenog područja biologije, 2016. godine upisuje Poslijediplomski studij na Biološkom odsjeku PMF-a pod mentorstvom prof. dr. sc. Marije Gligore Udovič. Prvi je autor dva objavljena znanstvena rada, koautor na još dva znanstvena rada, pet stručnih radova te devet sažetaka s međunarodnih znanstvenih konferencija (CROSBI Profil: 40995, OBAD: -399796). Trenutno, od 2019. godine, radi u Agenciji za plaćanje u poljoprivredi, ruralnom razvoju i ribarstvu.

Izabrane publikacije:

Šimunović, M., Kulaš, A., Žutinić, P., Goreta, G., Gligora Udovič, M., 2022. Phytoplankton Metrics for Trophic and Ecological Status Assessment of a Natural Karstic Lake. *Acta botanica Croatica*. 81, 185–196.

Šimunović, M., Kulaš, A., Žutinić, P., Gligora Udovič, M., 2023. Phytoplankton Diversity of a Natural Karst Lake Combining Morphological and Molecular Approaches. *Water*. 15(7),1379.

PROŠIRENI SAŽETAK

Rijeka Krka predstavlja krški fenomen koju karakteriziraju duboko usječen kanjon, sedrene barijere, brzaci i ujezerenja, špilje, jame, ponori te udoline. U pojedinim dijelovima toka rijeke Krke nastala su prava jezera od kojih je najveće Visovačko jezero. Visovačko jezero pripada nizinskim, srednje velikim i srednje dubokim jezerima na karbonatnoj podlozi u Dinaridskoj ekoregiji, Primorskoj subregiji Hrvatske. Zaštita, očuvanje i obnova vodenih ekosustava, nisu samo prepoznati kao globalni izazov, već su postali i pravna obveza. Najznačajniji propis na razini Europske Unije koji ima za cilj održati i unaprijediti kakvoću voda je Okvirna direktiva o vodama EU (ODV, 2000/60/EC). Prema pristupu Okvirne direktive za ocjenu ekološkog stanja određenog vodnog tijela koriste se podaci o bioraznolikosti koji se uspoređuju s referentnim vodnim tijelima. Ocjena ekološkog stanja se temelji na biološkim elementima kakvoće koji uključuju fitoplankton, fitobentos, makrofite, makrozoobentos i ribe. Fitoplankton kao jedan od bioloških pokazatelja najizravnije i u najkraćem vremenskom roku promjenom svog kvalitativnog sastava i brojnosti ukazuje na promjene fizikalno-kemijskih čimbenika u okolišu. Antropogeno djelovanje mijenja ekološke čimbenike koji utječu na biološku raznolikost, strukturu i funkciju vodenih ekosustava narušavajući time prirodnu ravnotežu. Pojam antropogena eutrofikacija odnosi se na proces do kojeg dolazi zbog povećanog unosa hranjivih tvari u vodeni ekosustav uslijed utjecaja čovjeka primjerice uslijed upotrebe nitratnih gnojiva u poljoprivredi ili ispuštanja otpadnih voda. Metode ocjene ekološkog stanja vodnih tijela su tradicionalno utemeljene na taksonomskom određivanju raznih indikatorskih grupa organizama. Ovaj pristup određivanja i praćenja bioraznolikosti fitoplanktona najviše se oslanja na metodu svjetlosne mikroskopije koja je vremenski zahtjevna te traži visoku razinu stručnog znanja u determinaciji kao i složeno terensko istraživanje. U potrazi za bržim, jeftinijim i pouzdanijim metodama razvijaju se nove metode koje uključuju DNA barkoding i metabarkoding, polje istraživanja koje se temelji na molekularnim analizama izolirane tzv. okolišne DNA (eDNA). Kombinirani eDNA metabarkoding omogućuje pristup informacijama o metagenomici ili genomici zajednica, tj. omogućuje uvid u cjelokupnu biološku raznolikost organizama koji žive u vodenom ekosustavu. Tehnološki razvoj genetičkih alata napreduje brzo, ali još uvijek postoje brojni izazovi kako bi se molekularne metode mogle

primijeniti u standardiziranom praćenju okoliša te je potrebno sagledati njihov potencijal i povezati ih s postojećim tradicionalnim metodama.

Provedba redovitog i ciljanog monitoringa od iznimne je važnosti za zaštitu osjetljivog krškog ekosustava Visovačkog jezera. Fitoplankton je dobar pokazatelj ekološkog stanja jezera jer relativno brzo odgovara na okolišne pritiske. Analiza kompozitnih i eufotičkih uzoraka Visovačkog jezera pokazala je visoku razinu sličnosti u kvantitativnom i kvalitativnom sastavu fitoplanktona. Rezultati horizontalne raspodjele ukazuju na odvajanje uzoraka limnetičke i litoralne zone. Usporedivost morfološkog i molekularnog pristupa očituje se u detektiranju funkcionalnih grupa sličnih ekoloških karakteristika te se eDNA metabarkoding može koristiti u monitoringu. Usporedba mrežnih analiza trofičkih interakcija fitoplanktona i bakterioplanktona s drugim jezerima ukazala je kako ne postoji jedinstveni uzorak pojavljivanja određenih skupina bakterija te kako miksotrofija nije prevladavajući način ishrane dominantnih vrsta fitoplanktona Visovačkog jezera. Prema specifičnostima jezera predložene su prilagođene granične vrijednosti koncentracije klorofila *a* za ocjenu stupnja trofije. Stupanj trofije usporediv je s ekološkim stanjem te je ekološko stanje ocijenjeno dobro, a prema trofiji mezotrofno. Predloženo je mjerenje koncentracije klorofila *a* za brzu ocjenu (svakodnevno ili jednom tjedno), određivanje indeksa za fitoplankton jezera jednom mjesečno od travnja do rujna te postavljanje bove za praćenje kakvoće vode u realnom vremenu na limnetičkom dijelu.

Ovaj doktorski rad prilog je boljem poznavanju biološke raznolikosti krških dubokih jezera. Znanstveni rezultati prilog su zaštiti jedinstvenog krškog sustava rijeke Krke. Dinarska ekoregija je dio Sredozemlja koje je prepoznato kao jedno od Zemljinih žarišta bioraznolikosti. Područje Dinarskog krša posebno je osjetljivo na klimatske promjene i antropogeno onečišćenje, stoga su istraživanja poput ovog doktorskog rada nužna.