

# Povezanost fluktuirajuće asimetrije i fitnesa dagnje (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) uvjetovanog okolišem

---

Vidović, Ivona

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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:217:906958>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-20**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Ivona Vidović

**Povezanost fluktuirajuće asimetrije i fitnesa dagnje (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) uvjetovanog okolišem**

Diplomski rad

Voditelj: doc.dr.sc. Anamaria Štambuk

Zagreb, 2017.

*Ovaj rad, izrađen na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno–matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom dr. sc. Anamarie Štambuk, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno–matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistar Ekologije i zaštite prirode.*

*Zahvaljujem mentorici dr.sc. Anamariji Štambuk na ukazanom povjerenju za izradu ovog diplomskog rada.*

*Također, neizmjerne zahvale neposrednoj mentorici mag. Dorotei Grbin na podršci, pomoći oko izrade i pisanja diplomskog rada te ogromne pomoći oko statističke obrade podataka kao i njihovog boljeg razumijevanja.*

*Zahvaljujem se svojoj obitelji na podršci, optimizmu, motivaciji tijekom cijelog studija bez kojih ovo ne bih uspjela.*

*Na posljatku veliko hvala mom cimeru Gabrijelu, koji je slušao moje „jude“ tijekom studiranja i bio tu u „usponima i padovima“ i dečku Mariju koji mi je bio velika podrška u svemu.*

---

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

**Povezanost fluktuirajuće asimetrije i fitnesa dagnje (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) uvjetovanog okolišem**

Ivona Vidović

Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb

Pojavljivanje vrste *Mytilus galloprovincialis* kao i njena morfologija uvjetovani su brojnim okolišnim čimbenicima. Glavni ciljevi rada bili su odrediti varijabilnost fluktuirajuće asimetrije 12 morfoloških obilježja ljušture između 15 nativnih populacija vrste *M. galloprovincialis* te utvrditi povezanost fluktuirajuće asimetrije i fitnesa. U svrhu utvrđivanja varijabilnosti fluktuirajuće asimetrije analizirano je 300 jedinki nativnih populacija (20 po populaciji). Kako bismo procijenili fitnes jedinki te povezanost fluktuirajuće asimetrije i fitnesa 900 jedinki jedne populacije smo podvrgnuli transplant eksperimentu i preživljavanju na zraku u „stres na stres“ (SOS) testu. Najveća asimetrija zabilježena je za udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljušture – PAL, te obilježja povezana sa stražnjim mišićima aduktorom i retraktorom, pri čemu najveća za širinu otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR. „Stres na stres“ metodom utvrdili smo da dagnje prethodno izložene čistim postajama imaju kraće preživljavanje od dagnji na onečišćenim postajama. Korelacije fluktuirajuće asimetrije i preživljavanja na zraku kod jedinki prethodno izloženih različitom stupnju onečišćenja utvrdili smo za dagnje izložene na četiri od šest postaja, pri čemu dvije čiste postaje Zadar Seline - ZBT i Ston - SUT nisu pokazale navedene korelacije.

(44 stranice, 20 slika, 66 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u središnjoj biološkoj knjižnici.

Ključne riječi: Okolišni čimbenici, morfometrija, stres na stres test, transplant eksperiment

Voditelj: Dr. sc. Anamaria Štambuk, doc.

Neposredni voditelj: Mag. oecol. et prot. nat. Dorotea Grbin

Ocjenitelji: 1. Dr. sc. Anamaria Štambuk, doc.

2. Dr. sc. Duje Lisičić, doc.

3. Izv. prof. dr. sc. Sven Jelaska

Rad je prihvaćen: 16. 2. 2017.

---

*BASIC DOCUMENTATION CARD*

*University of Zagreb*

*Faculty of Science*

*Division of Biology*

*Graduation Thesis*

**Relationship between fluctuating asymmetry and the environment-induced fitness alterations in the Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819)**

Ivona Vidović

Roosveltova trg 6, 10 000 Zagreb

The distribution of the species *Mytilus galloprovincialis* and its morphology are determined by numerous environmental factors. This study main objectives were to determine the variability of fluctuating asymmetry for 12 shell's morphological characteristics on 15 native populations of the species *M. galloprovincialis* and to identify the correlation between fluctuating asymmetry and fitness. For the purpose of identifying the variability of fluctuating asymmetry, 300 specimens of native populations (20 per population) were analyzed. In order to assess the fitness of specimens and relationship between fluctuating asymmetry and fitness, we submitted 900 specimens of a population to transplant experiment and survival in the air in "stress on stress" (SOS) responsive test. The maximum asymmetry is registered for distance from the mantle line to the ventral edge of the shell – PAL and traits related to posterior adductor and retractor muscles, where the highest asymmetry is registered for the width of the posterior retractor muscle – WPR. Through SOS test we identified that mussels previously exposed to less polluted sites live shorter than the mussels exposed on polluted sites. We identified correlations between fluctuating asymmetry and survival in the air in specimens previously exposed to different levels of pollution for mussels exposed to four out of six sites, where two less polluted sites Zadar Seline – ZBT and Ston SUT – showed no previously stated correlation.

(44 pages, 20 figures, 66 references, original in: Croatian)

*Thesis deposited in the Central Biological Library.*

*Key words: Enviromental factors, morphometry, stess on stress test, transplant experiment*

*Supervisor: Dr. Anamaria Štambuk, Asst. Prof.*

*Assistent supervisor: Mag. oecol. et prot. nat. Dorotea Grbin*

*Rewievers: 1. Dr. Anamaria Štambuk, Asst. Prof.*

*2. Dr. Duje Lisičić, Asst. Prof.*

*3. Dr. Sven Jelaska, Assoc. Prof.*

*Thesis accepted: 16. 2. 2017.*

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Osnovna morfološka obilježja dagnje <i>Mytilus galloprovincialis</i> .....	1
1.2. Sestrinske vrste .....	2
1.3. Morfometrija u znanstvenim istraživanjima .....	3
1.3.1. Tradicionalne metode morfometrije .....	3
1.3.2. Geometrijske metode morfometrije .....	3
1.4. Razvojna stabilnost.....	4
1.4.1. Simetrija.....	4
1.4.2. Fluktuirajuća asimetrija (FA).....	5
1.5. Utjecaj okolišnih čimbenika na morfologiju dagnje .....	6
1.5.1. Valovi .....	6
1.5.2. Temperatura i salinitet .....	7
1.5.3. Zakiseljavanje mora .....	7
1.5.4. Ishrana i razmnožavanje.....	8
1.5.5. Predatori.....	9
1.5.6. Onečišćenje .....	9
1.6. Transplant eksperiment .....	10
1.7. „Stres na stres“ eksperiment.....	10
1.8. Cilj istraživanja.....	11
2. MATERIJALI I METODE.....	12
2.1. Područje istraživanja .....	12
2.2. Prikupljanje jedinki i kavezno izlaganje .....	13
2.3. „Stres na stres“ .....	14
2.4. Fotografiranje ljuštura .....	15
2.5. Morfometrijska analiza ljuštura .....	16
2.6. Statistička obrada podataka .....	16
3. REZULTATI.....	18

3.1. Fluktuirajuća asimetrija morfoloških obilježja nativnih populacija.....	18
3.1.1. Analiza glavnih komponenti (PCA) fluktuirajuće asimetrije nativnih populacija .....	18
3.1.2. Fluktuirajuća asimetrija pojedinačnih nativnih populacija.....	19
3.1.3. Korelacije fluktuirajuće asimetrije pojedinih morfoloških obilježja nativnih populacija na čistim i onečišćenim postajama.....	23
3.2. Fluktuirajuća asimetrija morfoloških obilježja dagnji iz transplant eksperimenta (Marina).....	26
3.2.1. Korelacija fluktuirajuće asimetrije za pojedina morfološka obilježja dagnji iz transplant eksperimenta.....	26
3.3. „Stres na stres“ eksperiment.....	29
3.4. Korelacija fluktuirajuće asimetrije morfoloških obilježja i preživljavanja (fitesa).....	30
4. RASPRAVA.....	33
5. ZAKLJUČAK.....	36
6. LITERATURA I IZVORI .....	37
ŽIVOTOPIS.....	45



# 1. UVOD

## 1.1. Osnovna morfološka obilježja dagnje *Mytilus galloprovincialis*

Taksonomija

Carstvo (Regnum): Animalia (životinje)

Koljeno (Phylum): Mollusca (mekušci)

Razred (Classis): Bivalvia (školjkaši)

Podrazred (Subphylum): Pteriomorphia

Red (Ordo): Filibranchia (končastoškrgaši)

Porodica (Familia): Mytilidae (dagnje)

Rod (Genus): *Mytilus*

Vrsta (Species): *Mytilus galloprovincialis* (Meditranska dagnja)

Meditranska dagnja *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) je vrsta školjkaša iz porodice Mytilidae (Slika 1). Na području Hrvatske nalazimo je duž cijele obale Jadranskog mora.

Dagnje svoj životni ciklus započinju kao mikroskopske ličinke, koje plutaju na velike udaljenosti (i više od 200 km) nošene morskim strujama prije nego nasele bentos (Suchanek i sur. 1997). Nakon naseljavanja, ličinke započinju preobrazbu u odraslu formu i luče bisusne niti kojima se prihvaćaju za tvrdi supstrat. Prirodne populacije naseljavaju obalne zone s kamenitim podlogama, zone plime i oseke, ali se mogu nastaniti i na plutačama, trupovima brodova, sidrima tvoreći guste obraštaje (Župan 2012). Upravo obraštaji na trupovima brodova kao i prijevoz balastnim vodama doprinose rasprostranjanju ove vrste.

Budući da naseljavaju područja sa velikim rasponom okolišnih uvjeta, dagnje raznim prilagodbama ukazuju na toleranciju okolišnih čimbenika. Razni čimbenici kao što su valovi (Zardi, McQuaid i Nicastro 2007), zakiseljavanje (Gazeau 2014) i prisutnost predatora (Freeman 2007) utječu na morfologiju dagnje, koja u nepovoljnim uvjetima pokazuje smanjen rast (Freeman 2007), promjenu veličine mišića aduktora (Reimer i Tedengren 1996), zadebljanja ljuštura (Brown, Aronhime i Wang 2011) i dr.

Ljušturre su bilateralno simetrične, duguljaste i zaobljene na krajnjem rubu, tamno plave do crne boje s bisernim unutarnjim slojem. Uobičajena duljina ljušturre je od 5 do 8 cm, a zbog mogućnosti ubrzanog rasta pojedine jedinke mogu dosegnuti duljinu do 7 cm unutar prve godine života (Deelia 2015).



**Slika 1.** Mediteranska dagnja *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819).

### **1.2. Sestrinske vrste**

Mediteranska dagnja *Mytilus galloprovincialis* jedna je od tri vrste koje naseljavaju morska staništa u Europi. Tu još spadaju sestrinske vrste *Mytilus edulis* Linne, 1758 te *Mytilus trossulus* Gould, 1850. *M. galloprovincialis* je autohtono rasprostranjena u Mediteranskom, Crnom Moru te španjolskoj Atlantskoj obali (Iberian Atlantic coast). *M. edulis* se autohtono nalazi na obalama Srednje i Zapadne Europe, dok je *M. trossulus* prirodno nastanjena u Baltičkom moru. Osim već spomenutih vrsta koje naseljavaju područje Europe, porodica Mytilidae obuhvaća još i *Mytilus zonarius* Lamarck, 1819 te *Mytilus chilensis* Hupé, 1854 (Župan 2012).

U regijama gdje se preklapaju staništa vrste *M. galloprovincialis* i *M. edulis* se mogu križati i davati plodno potomstvo. Raspoznavanje ove dvije vrste na temelju morfologije ljušturre obično je vrlo teško zbog ekstremne plastičnosti oblika uzrokovane varijacijama okoliša

(Beaumont, Gjedrem i Moran 2006), a njihovi hibridi često izgledaju kao čiste vrste (Newell, Wildish i McDonald 2001).

### **1.3. Morfometrija u znanstvenim istraživanjima**

Morfometrija se odnosi na kvantitativnu analizu forme, odnosno koncepta koji obuhvaća veličinu i oblik (Breno, Leirs i Van Dongen 2011). Primjenjuje se u mnogim znanstvenim poljima, a u biologiji se bavi proučavanjem tjelesnih mjera i oblika neke životinjske vrste. Tjelesne mjere karakteristične su za pojedinu vrstu i populaciju uz veće ili manje varijacije. Te varijacije ovise o različitim okolišnim uvjetima, genotipu, mutacijama i razvojnim promjenama u obliku te je glavni cilj morfometrije statistički ispitati utjecaj čimbenika na oblik.

Morfometrijske analize mogu se podijeliti na tradicionalne i geometrijske pri čemu tradicionalne analize pokazuju određena ograničenja u odnosu na geometrijske.

#### **1.3.1. Tradicionalne metode morfometrije**

Tradicionalna metoda morfometrije uključuje računanje udaljenosti bez uzimanja u obzir geometrijske konfiguracije značajki (Holland, 2009). Analiziraju se mjere kao što su duljina, širina, masa, omjeri, stoga su tradicionalni morfometrijski podaci općenito mjere veličine. Korisni su kada su apsolutne ili relativne veličine od posebnog značaja, kao što je istraživanje rasta, te kada su mjerenja veličine od teorijskog značaja u istraživanjima funkcionalne morfologije. Također su korisni kod utvrđivanja u kojoj mjeri pojedini zagađivači imaju utjecaja na jedinke (<https://en.wikipedia.org/wiki/Morphometrics>). Najveća prednost ove metode je da je vrlo jednostavna, no ima nedostatke. Jedan od nedostataka tradicionalne metode je taj da mjerenja iz dva različita uzorka mogu dati jednake rezultate, jer podaci ne uključuju lokaciju gdje su mjerenja uzeta. Također, nije moguće rekonstruirati grafički prikaz oblika iz uzetih mjerenja.

#### **1.3.2. Geometrijske metode morfometrije**

Geometrijska morfometrija predstavlja važan alat za istraživanje evolucijske i razvojne biologije. Osim što obuhvaća niz novih analitičkih alata za rješavanje pitanja koja su uvijek bila u središtu proučavanja asimetrije metode geometrijske morfometrije nude fleksibilan pristup za kvantificiranje morfoloških varijacija koje se kasnije mogu koristiti za kvantificiranje asimetrije (<https://en.wikipedia.org/wiki/Morphometrics>).

Glavne metode se temelje na geometrijskim definicijama oblika, a koriste set značajki za opis oblika. Značajke kao aspekti oblika uključuju proporcije, kutove i relativni raspored u strukturi organizma. Ova metoda omogućuje analizu cijelog oblika jedinke, neovisno o veličini, a rezultati daju jasna, logička razdvajanja veličine i oblika koji su konceptualno različiti jedan od drugoga iako mogu biti u korelaciji bioloških podataka (Klingenberg 2015).

#### **1.4. Razvojna stabilnost**

Razvojna stabilnost definira se kao sposobnost jedinke da postigne stabilan razvoj uslijed genetičkih ili ekoloških poremećaja te kao takva predstavlja temeljnu karakteristiku razvoja. Na stabilnost utječu i genotip i okoliš na način da različiti genotipovi pokazuju različit stupanj stabilnosti u istom okolišu ili isti genotipovi pokazuju različitu stabilnost u različitom okolišu (Clark 1998).

Onečišćenje, ekstremne temperature, paraziti, nedostatak hrane i velika gustoća populacije uvjetuju razvojnu stabilnost tako da organizmi pokazuju različite mjere kao npr. odstupanje od savršene simetrije tj. fluktuirajuću asimetriju (FA) (Lazić i sur. 2013). Temeljna pretpostavka fluktuirajuće asimetrije je da isti genom kontrolira razvoj lijeve i desne strane bilateralne simetrije, te su razlike između dvije strane uvjetovane okolišem i odražavaju smetnje tijekom razvoja utječući na životni vijek (Clark 1998).

##### **1.4.1. Simetrija**

Simetrija bioloških struktura može se definirati kao ponavljanje dijelova u različitim položajima i orijentaciji jednog dijela na drugi. Temeljno je obilježje većine organizama i njihovih dijelova. Većina životinja ima bilateralnu simetriju, odnosno jednu ravninu simetrije koja tijelo dijeli na dva zrcalno jednaka dijela.

Osim bilateralne simetrije, prisutni su i drugi oblici simetrije. Oni su složeniji jer uključuju više od dva dijela te promatraju se kao kompleks simetrija. Dijeleg se na disimetriju (određena sa dvije okomite osi, koje mogu biti različite u razvojnim i funkcionalnim aspektima, a jako je zastupljena kod biljaka npr. Brassicaceae), rotacijsku simetriju (rotacija dijelova oko jedne ili više osi), translacijsku simetriju (ponavljanje dijelova duž osi u jednom smjeru, pokazuje segmentiranost životinje npr. kolutići kod crva) i spiralnu simetriju (predstavlja rotaciju i translaciju zajedno npr. ljuštore puževa).

Proučavanjem i određivanjem simetrije te uviđanjem razlika između dvije simetrije može se analizirati asimetrija (Klingenberg 2015, Graham i sur. 2010).

#### **1.4.2. Fluktuirajuća asimetrija (FA)**

Fluktuirajuća asimetrija je široko prepoznata kao koristan bioindikator egzogenog stresa u staništima, prirodnog ili antropogenog tipa (Allenbach 2011) te je najbolji pokazatelj razvojne nestabilnosti. Budući da je razvojna nestabilnost kontinuirano svojstvo organizma iznos asimetrije najčešće daje informaciju o stupnju razvojne nestabilnosti. Dok razvojno stabilne jedinke koriste više energije za rast, reprodukciju i preživljavanje, asimetrične jedinke mogu koristiti više energije za održavanje i time smanjiti svoju reproduktivnu stopu (Graham i sur. 2010).

Za procjenu fluktuirajuće asimetrije koristi se veliki broj značajki koje su podijeljene na metričke (izračun) i morfometrijske (mjerjenja). Izračun se temelji na proučavanju malih, slučajnih odstupanja od savršene simetrije (Fréchette i Daigle 2002) koja mogu nastati uslijed djelovanja okolišnih stresora kao što su kemijski (zakiseljavanje, pesticidi), fizički (temperatura, prozirnost) i biološki (infekcija, gustoća populacije) (Allenbach 2011). Odstupanja od savršene simetrije nastaju kao odgovor na okolišni stres tijekom ontogeneze gdje se svaki poremećaj u ranom stadiju reflektira u anatomske karakteristike koje prelaze u asimetriju. Genetski čimbenici kao što su narušavanje koadaptivnih genetskih procesa i manjak heterozgotnosti doprinose višoj FA (Fréchette, Gouletquer i Daigle 2003) i jednom stečena FA konstantna je kroz životni vijek (Fréchette i Daigle 2002).

Da bi se pravilno odredila fluktuirajuća asimetrija, uzorci za procjenu trebaju biti veliki, i što je više ponovljenih mjerenja rezultati su bolji. Na taj način umanjuju se pogreške tako da one ne utječu na samu analizu (Graham i sur. 2010).

## 1.5. Utjecaj okolišnih čimbenika na morfologiju dagnje

Fiziologija i ponašanje morskih školjkaša često je uvjetovana utjecajem različitih okolišnih čimbenika koji mogu voditi do stresa i tako utjecati na rast, prehranu, reproduktivni ciklus, podložnosti bolestima, masovni mortalitet i opću homeostazu organizma (Smodlaka 2015). Veličina i oblik ljuštura daju informacije o fenotipskoj varijaciji među populacijama dagnji, te sam W/H/L odnos ukazuje na odgovor jedinki na ekološki pritisak (Lajus i sur. 2015).

Na različite prilagodbe često utječu i dotok nutrijenata, izloženost valovima, salinitet, temperatura mora, zakiseljavanje, onečišćenje, predacija, parazitizam te dostupnost hrane.

### 1.5.1. Valovi

Sposobnost organizma da se odupre valovima preduvjet je za život u zoni plime i oseke. Budući da su dagnje često glavni okupatori stjenovitih i valovitih obala imaju sposobnost pričvršćivanja na supstrat ili za drugu jedinku bisusnim nitima (kolagena vlakna iz utora stopala). Ipak izloženost valovima utječe na razdoblje mrijesta, reprodukciju i rast organizma. Vrsta *Mytilus galloprovincialis* živi na izloženim mjestima i ima visoku toleranciju na stres povećanjem debljine ljuštura. Veća tolerancija daje joj mogućnosti da kolonizira gornje zone gdje autohtone vrste nisu u mogućnosti za kompeticiju. Snaga pričvršćivanja u korelaciji je sa sezonskom FA i povećava se zimi zbog jačih valova mijenjanjem broja i debljine bisusnih niti (sposobne su izgraditi bisusne niti u 5 minuta smanjenjem površinske temperature mora) (Zardi, McQuaid i Nicastro 2007). Osim bisusnih niti još jedna od prilagodbi su i niže i uže ljuštura, čime dagnje smanjuju prostor na koji djeluje hidrodinamički pritisak. Hidraulički pritisak smanjuje crpne stope i usporava rast i filtraciju, te smanjuje dotok kisika u plaštanu šupljinu (Newell, Wildish i McDonald 2001).

Povećavanjem gibanja vode povećava se i ponuda hrane te filtracija, što se smatra pozitivnim učinkom valova. Povećana ponuda hrane omogućuje rast organizama kada udari valova nisu siloviti, a u izloženijim mjestima energija dobivena konzumiranjem dostupnih čestica hrane se preusmjerava u proizvodnju bisusnih niti i zadebljanje ljuštura, dok višak izlučuju kroz mukoznu sluz formiranjem pseudofecesa (oslobađanje suspendiranih čestica koje se ne mogu koristiti kao hrana) (Zardi, McQuaid i Nicastro, 2007).

### **1.5.2. Temperatura i salinitet**

Sredozemno more smatra se toplim morem s relativno visokim salinitetom. Na obalama Jadrana organizmi su izloženi širokom spektru temperature od maksimalno 10 °C zimi, do 27 °C stupnjeva ljeti. Salinitet u otvorenom Jadranu iznosi 36,66 ‰ ± 0,77 ‰. Dagnja je prirodno rasprostranjena u mediolitoral, u pojasu plime i oseke čiji je površinski sloj morske vode najjače pod utjecajem dnevne i sezonske promjene temperature. Temperatura je jedan od glavnih abiotičkih čimbenika koji utječe na biološke i metaboličke procese, rast i reprodukciju, otpornost na patogene i bakterije te interakcije između vrsta (Sanford 1999, Portner i Knust 2007). Zbog veće sposobnosti prilagodbe na različite uvjete temperature i saliniteta od ostalih vrsta iz svoga roda *M. galloprovincialis* je jedan od najboljih kolonizatora tj. invazivni školjkaš (Braby i Somero 2006).

Postoji pozitivna korelacija između temperature vode i rasta dagnji (Hamer i sur. 2008), pri čemu je optimalni rast zabilježen između 18 °C - 28 °C, dok su njihove biološke aktivnosti smanjene na 10 °C - 28 °C (Aral 1999). Adaptacija na više temperature povezana je s regulacijom oksidativnog stresa, tj. aktiviranjem antioksidativnog enzimskog obrambenog mehanizma. Pri temperaturama od 24 °C i više, ljuštore dagnji su veći vremenski period zatvorene, čime se smanjuje izmjena plinova s okolinom te potiče aktivacija anaerobnog metabolizma (Anestis i sur. 2007).

Međuplimni mekušci koriste fiziološke i biološke mehanizme da izdrže razne nepovoljne uvjete pa tako i ekstremne promjene saliniteta. Prema Pelsencer- Shelford pravilu otpornost se povećava s razvojnim stadijem. Zatvaranjem sifona dagnje održavaju salinitet vode u plaštanoj šupljini i dulji anaerobni metabolizam (Hamer i sur. 2008). Varijacije saliniteta mogu mijenjati veličinu, spol i adaptivne sposobnosti fenotipa (Valladares i Suarez-Isla 2010). Dagnje mogu podnositi salinitet od 5-40 ‰, no optimalna stopa bi trebala biti između 15 i 25 ‰ (Aral 1999).

### **1.5.3. Zakiseljavanje mora**

Kroz izgaranja fosilnih goriva (nafta, plin, ugljen) dolazi do dramatičnog ispuštanja CO<sub>2</sub> u atmosferu, a njegovom akumulacijom do zagrijavanja oceana (mora) i atmosfere. Istraživanja su pokazala da od 1979. do 2010. godine dolazi do zagrijavanja od 0,11 °C po desetljeću, uz maksimalne stope u priobalju (Gazeau 2014).

Morski organizmi se osim utjecaja saliniteta i temperature moraju dobro nositi sa smanjenjem parcijalnog tlaka CO<sub>2</sub> i smanjenjem pH vrijednosti. Dodatni CO<sub>2</sub> kroz zakiseljavanje oceana povećava parcijalni tlak plina i može ugroziti zajednice grebena. Za suzbijanje ekstremnog zakiseljavanja morski organizmi mogu reagirati metaboličkom depresijom. Metaboličku depresiju postižu smanjenjem ATP potrošnje, protoka iona i pomakom energetskog transportera acidobazne regulacije.

Kod *M. galloprovincialis* pad anaerobnog metabolizma je odgovor na karakteristične i dugoročne prilagodbe na pCO<sub>2</sub> od oko 500 Pa, s povećanim izlučivanjem amonijaka. Višak energije kod dagnji izloženih hiperkapniji (prekomjerna razina CO<sub>2</sub> u „krvi“ kao uzrok neadekvatnog disanja) služi za održavanje unutarstanične pH i smanjenje pH iz okolne vode. Smanjenje pH utječe na fiziologiju i metabolizam te se mijenja sposobnost organizma da istaloži CaCO<sub>3</sub>. Ako se uz povišen tlak pCO<sub>2</sub> organizmi nađu u vodi više temperature reduciraju svoj rast i mogu gubiti na težini ljuštura zbog trošenja kalcita i aragonita (Gazeau 2014).

#### **1.5.4. Ishrana i razmnožavanje**

*M. galloprovincialis* je filtrator koji se crpljenjem vode hrani najvećim dijelom raznim vrstama fitoplanktona, mada za ishranu mogu koristiti i organski detritus, anorganske čestice, različite skupine zooplanktona te razgrađenu organsku tvar (Župan 2012). Čestice hrane nakupljaju se na lamelama škrga, a zatim se transportiraju trepetljikama prema ustima dok se neprestano razvrstavaju prema veličini. Fine čestice putuju do jednjaka i želuca, gdje se odvija dodatno razvrstavanje (Beaumont, Gjedrem i Moran 2006). Budući da su filtratori, dagnje imaju velik kapacitet akumuliranja zagađivača (Kristan i sur. 2014), a u idealnim uvjetima mogu filtrirati i do 80 dm<sup>3</sup> vode dnevno (Rožmarič Mačefat i sur. 2013).

Školjkaši spolnu zrelost postižu nakon prve godine života. Tada mrijestom ispuštaju milijune gameta u vodeni stupac. Milijuni gameta oslobođenih tijekom mriještenja s oplodnim jajima razvijaju se u slobodno plivajuće ličinke sposobne za disperziju na velike udaljenosti (Steffani i Branch 2003). Kada nasele bentos često se grupiraju u kolonije i veličina kolonija može dosegnuti milijune jedinki. Najveći intenzitet razmnožavanja javlja se od svibnja do rujna.



### 1.5.5. Predatori

Dagnje kao široko rasprostranjeni organizmi u svom životnom ciklusu nailaze i na razne predatore koji utječu na njihovu životnu dob, ali i način obrane. Predatori su najčešće zvjezdače, rakovi, morske ptice, a u uzgajalištima veliki problem predstavljaju i orade koje donose gubitke od oko 54 % (Gavrilović i sur. 2014). Na utjecaj predatora odgovaraju specifičnim morfološkim obilježjima od kojih su neka detaljno istražena, uključujući debljinu ljušture, povećanje mase mišića aduktora, rast gustoće populacije te povećana produkcija bisusnih niti (Caro i sur. 2008). Morfološkim prilagodbama jedinke energiju usmjeravaju u rast mišića aduktora i ljušture, a manje na filtraciju i probavni aparat. Ta smanjena aktivnost je uzrokovana mirisom predatora koja reducira njihovu ishranu (Reimer i Tedengren 1996).

Predatori poput rakova svoju žrtvu odvajaju od supstrata i lome joj ljušturu kako bi došli do hrane. U okolišu s mnogo rakova školjkaši stoga povećavaju debljinu i veličinu ljušture, te ona postaje zaobljenija i teža za manipuliranje (Brown, Aronhime i Wang 2011). S druge strane u prisutnosti morskih zvjezdača dagnje povećavaju masu stražnjeg mišića aduktora čime dolazi do smanjenja linearnog rasta ljušture i smanjenja dodirne površine dostupne zvjezdači za prihvaćanje plijena (Freeman 2007). Mnoge morske zvjezdače i rakovi preferiraju relativno male, juvenilne školjkaše kao plijen jer se lakše otvaraju (Enderlein i sur. 2003). Zato su juvenilne dagnje najviše izložene riziku stradavanja od grabežljivaca. Kako bi izbjegle predatore nastanjuju se na niskim razinama saliniteta koje njihovi grabežljivci ne mogu nastanjivati. Stoga su juvenilne jedinke najčešće u zonama niskog saliniteta koje isključuju predatore, te imaju veću mogućnost preživjeti do odrasle dobi.

### 1.5.6. Onečišćenje

Priobalne vode i oceani predstavljaju konačno spremište za otpad i otpadne vode iz kopnenog ekosustava. Do velikog onečišćenja posebno u plitkim uvalama dolazi uslijed rasta populacije, razvoja industrije, prometa, luka i marina (Kristan i sur. 2014). Upravo za određivanje stanja obalnog morskog okoliša koristi se mediteranska dagnja *M. galloprovincialis* (Lamarck, 1819), koja se pokazala kao pogodan biološki indikatorski organizam (Smodlaka, 2015). Zbog svog sjedilačkog načina života i filtracije akumulira zagađivače i pruža snažan i specifičan odgovor. Indeks stanja kod dagnji omogućava brzu i jednostavnu usporedbu štetnih utjecaja zagađivača na rast. Izloženost metalima i organskim nečistoćama potiskuje razvoj gameta i svako ometanje u razvoju povećava stopu smrtnosti. Ugljikovi i dušični izotopi se

koriste za razlikovanje morskih i kopnenih organskih tvari, odnosno za otkrivanje terestričke organske tvari u morskom okolišu kao posljedica kanalizacije otpadnih voda (Kristan i sur. 2014).

Ekološki čimbenici u zoni plime i oseke su jako promjenjivi te preživljavanje organizama ovisi o tome hoće li će se uspjeti prilagoditi novim uvjetima života i razini stresa koju preživljavaju. Izloženost školjkaša stresu u vidu zagađenja tijekom duljeg vremena može doprinijeti prilagodbama na novonastalo stanje. Jedinke na taj način postaju tolerantnije od jedinki koje nisu bile izložene zagađenju (stresu) pokazujući povišene vrijednosti LT50 (Hamer i sur. 2004).

### **1.6. Transplant eksperiment**

Transplant eksperiment je eksperiment kojim se proučava utjecaj okoliša na vrste prenesene iz svog prirodnog staništa u novi okoliš. Provodi se tako da se veliki broj jedinki određenih populacija „presađuje“ na nova staništa s drugim uvjetima gdje će se pratiti prilagodba na nove uvjete. Sam eksperiment se prvotno koristio za proučavanje biljaka, ali se sada primjenjuje i na životinjske vrste ([https://en.wikipedia.org/wiki/Transplant\\_experiment](https://en.wikipedia.org/wiki/Transplant_experiment)). Uključuje usporedbu genetski različitih sojeva ili populacija u jednakim uvjetima okoliša te omogućuje razdvajanje genetskih i okolišnih varijacija fenotipa. Za proučavanje genetske osnove koristi se set osobina kao što su povijest života, morfologija i fiziološke osobine (de Villemereuil i sur. 2016).

### **1.7. „Stres na stres“ eksperiment**

„Stres na stres“ (eng. *Stress on stress* – SOS) test je fiziološki biomarker koji se koristi za mjerenje sposobnosti dagnji da prežive izlaganje zraku. U testu se zraku izlažu jedinke školjkaša koje su već iskusile posljedice stresora, kao što su teški metali i organske kemikalije. Jedan stresor može inducirati promjene u ponašanju i metaboličkoj reakciji koji dovode do rezistencije na drugi stresor, alternativno stresor može smanjiti zdravlje ili stanje do te mjere da je zajednica više osjetljiva na utjecaj drugog stresora (Trush i sur., 2008, Hewitt i Trush 2009). Ovaj biomarker se pokazao učinkovit i u laboratorijskim i terenskim istraživanjima (de Zwaan i sur. 1996) jer vrijeme opstanka na zraku može ukazati na opće zdravlje organizma (Viarengo i sur. 2007).

## 1.8. Cilj istraživanja

Glavni ciljevi ovog rada su:

- 1) analizom jedinki iz 15 prirodnih populacija vrste *Mytilus galloprovincialis* utvrditi varijabilnost fluktuirajuće asimetrije morfoloških obilježja ljuštore između populacija
- 2) analizom velikog broja jedinki iz iste populacije utvrditi varijabilnost fluktuirajuće asimetrije morfoloških obilježja ljuštore dagnje unutar populacije
- 3) utvrditi na koji način kratkotrajno izlaganje različitim okolišnim uvjetima utječe na fitness dagnje;
- 4) istražiti utječe li fluktuirajuća asimetrija pojedinih fenotipskih obilježja na fitness dagnji i da li je ta povezanost ovisna o specifičnim uvjetima okoliša.

## 2. MATERIJALI I METODE

### 2.1. Područje istraživanja

Za ovo istraživanje odabrana je mediteranska dagnja (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck 1819), čija je biologija i morfologija dobro poznata.

Istraživanje je provedeno na populacijama dagnji s 15 postaja duž istočne obale Jadranskog mora (Slika 2). Lokaliteti su odabrani kako bi se pokrio širok raspon geografskih i ekoloških uvjeta. U svrhu određivanja fluktuirajuće asimetrije morfoloških obilježja, odabrane postaje podijeljene su na čiste i onečišćene prema povijesti onečišćenja lokaliteta, podacima dobivenim kemijskim analizama te prethodnim istraživanjima na tim područjima (Klobučar i sur. 2008, Petrović i sur. 2004, Štambuk i sur. 2013).

Čistim postajama ili postajama s niskom razinom antropogenog zagađenja smatraju se Linski zaljev (prirodni rezervat i uzgajalište dagnji u Istri), Ičići (malo turističko mjesto u Kvarnerskom zaljevu), Zadar Seline (uzgajalište dagnji na obali Velebitskog kanala blizu Paklenice), Marina (uzgajalište dagnji kraj Trogira), Mali Ston (naselje u blizini Stona), Ston (uzgajalište dagnji u Dubrovačko-neretvanskoj županiji) te Mljet (uvala Sapunara u nacionalnom parku Mljet).

Onečišćenim postajama s visokom razinom antropogenog onečišćenja smatraju se Pula i Rijeka (veliki gradovi i prometne luke), Viktor Lenac (brodogradilište kraj Rijeke), Zadar i Togir (marine), Adriavinil (bivša tvornica za proizvodnju kemikalija i kemijskih proizvoda kod Splita), Split (veliki grad i prometna luka) te Gruž (luka u Dubrovniku).



**Slika 2.** Geografski smještaj 15 lokaliteta na kojima je provedeno istraživanje. U lijevom kutu su prikazane postaje transplant eksperimenta.

## 2.2. Prikupljanje jedinki i kavezno izlaganje

Jedinke iz nativnih populacija dagnji prikupljane su metalnim grabilom u jesen 2013. godine sa dubine 0,5-1m. Nakon prikupljanja, dagnje su stavljene na led te prenesene u najbliži laboratorij u određenoj regiji (privremeni laboratoriji na Mljetu i Pelješcu, Istraživačka postaja Martinska te Centar za istraživanje mora Rovinj). U laboratorijima su izdvojeni uzorci tkiva, dagnje su očišćene od obraštaja te pohranjene u papirnate košuljice s oznakom svake jedinke.

Kako bismo utvrdili na koji način kratkotrajno izlaganje različitim okolišnim uvjetima utječe na fitness dagnje, uzorkovali smo dodatne jedinice s referentne postaje Marina s minimalnom razinom antropogenog onečišćenja u travnju 2014. godine, te kavezno izložili na 6 postaja različite kvalitete okoliša (Slika 2). Čiste postaje uključivale su Limski zaljev (LBT), Seline (ZBT) i Ston (SUT), dok su onečišćene postaje bile Pula, Zadar i Gruž. 150 jedinki po postaji raspoređeno je u tri kaveza veličine 50x50cm, izgrađenih od drvenog okvira i polietilenske mreže te učvršćenih ribarskim flaksom (Slika 3). Kavezi su postavljeni na dubinu od 1-1,5m te osigurani ciglom i konopom. Kavezno izlaganje dagnji trajalo je 30 dana nakon čega su jedinice podložene zraku u „Stres na stres“ eksperimentu s ciljem utvrđivanja fitnessa.



**Slika 3.** Ručno izrađen kavez s dagnjama.

### **2.3. „Stres na stres“**

Nakon 30 dana kaveznog izlaganja uzorkovali smo dagnje, očistili ih od obraštaja i podvrgnuli metodi „Stres na stres“. Dagnje su stavljene na vlažan filter papir i ostavljene na zraku. Svaki dan u isto vrijeme bilježen je broj preživjelih jedinki. Kada su sve dagnje uginule ljuštore su očišćene i oprane u etanolu te spremljene u papirnate košuljice s oznakom jedinice.

## 2.4. Fotografiranje ljuštura

S ciljem utvrđivanja fluktuirajuće asimetrije digitalno su fotografirane jedinke potrebne za analizu. Analizirano je 20 jedinki po postaji iz nativnih populacija i 150 jedinki iz transplant eksperimenta po izlaganju. Za fotografiranje jedinki korištena je Olympus digital camera 7.2V (model NO. E-PL1, leća M. Zuiko Digital 14-22mm). Jedinke smo fotografirali s unutrašnje strane ljuštore, postavljene na tamnu pozadinu s milimetarskim papirom i trakicom oznake koja sadrži ime postaje i redni broj (Slika 4). Na fotografijama se vide ožiljci gdje su za ljušturu bili prihvaćeni stražnji mišić aduktor i retraktor, rub plašta te otisak ligamenta.

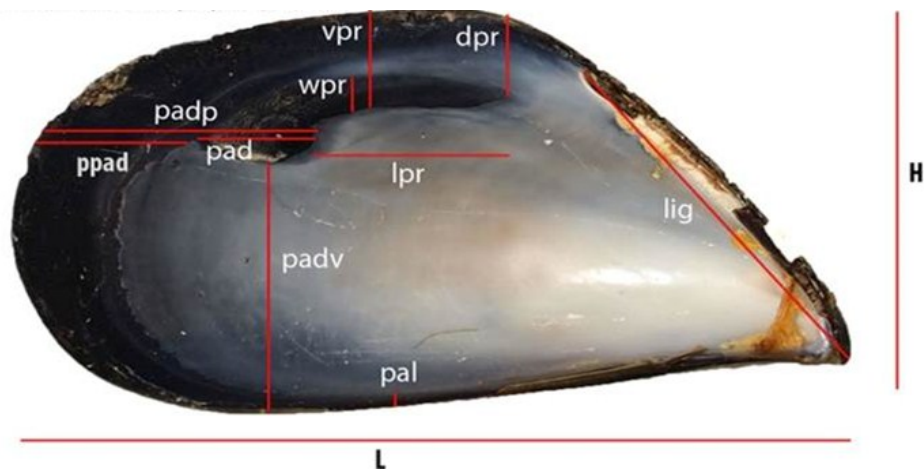


**Slika 4.** Unutrašnja strana ljuštore fotografirana i obrađena u ImageJ programu.

## 2.5. Morfometrijska analiza ljuštura

Programom ImageJ izmjerili smo 12 morfoloških obilježja (Slika 5) obje ljuštore kod svake jedinke. To su : duljina ligamenta – LIG, udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore – PAL, udaljenost od ventralnog ruba stražnjeg mišića aduktora do trbušnog ruba ljuštore – PADV, duljina otiska stražnjeg mišića aduktora – PAD, udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PADP, duljina otiska stražnjeg mišića retraktora – LPR, širina otiska stražnjeg mišića retraktora – WPR, udaljenost od trbušnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore – VPR, udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore – DPR, udaljenost od stražnjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PPAD, te visina – H i dužina L.

Procjenu asimetrije (i povezanost s fitnessom) dobili smo računanjem apsolutne vrijednosti razlike lijeve i desne strane ljuštore za svako morfometrijsko obilježje.



**Slika 5.** Analizirana morfometrijska obilježja ljuštore dagnje *M. galloprovincialis*.

## 2.6. Statistička obrada podataka

Morfometrijska obilježja analizirana su na jedinkama nativnih populacija i jedinkama transplanta. Analizirano je 300 jedinki nativnih populacija i 900 jedinki transplanta. Svi izmjereni parametri su logaritmirani i standardizirani na duljinu ljuštore. Rezultati su statistički obrađeni korištenjem programa Microsoft Excel (Microsoft 2007.) i R (R Core Team 2012.). Statistički značajne razlike između postaja prema morfometrijskim obilježjima utvrđene su analizom varijance ANOVA i post hoc TukeyHSD testom, dok su korelacije između fluktuirajuće asimetrije morfoloških karakteristika kao i korelacije s fitnessom dobivene pomoću statističkog programa R.



Rezultati su prikazani pripadajućim grafovima u kojima stupci imaju nazive parametara koji predstavljaju fluktuirajuću asimetriju morfoloških obilježja, grafičkim prikazima korelacije fluktuirajuće asimetrije pojedinih morfoloških obilježja gdje donji dijelovi predstavljaju grafičke rezultate, a gornji dijelovi p vrijednosti, te grafičkim prikazom odnosa fluktuirajuće asimetrije i fitnesa gdje su prikazane značajne statističke vrijednosti pojedinih obilježja i preživljavanja.

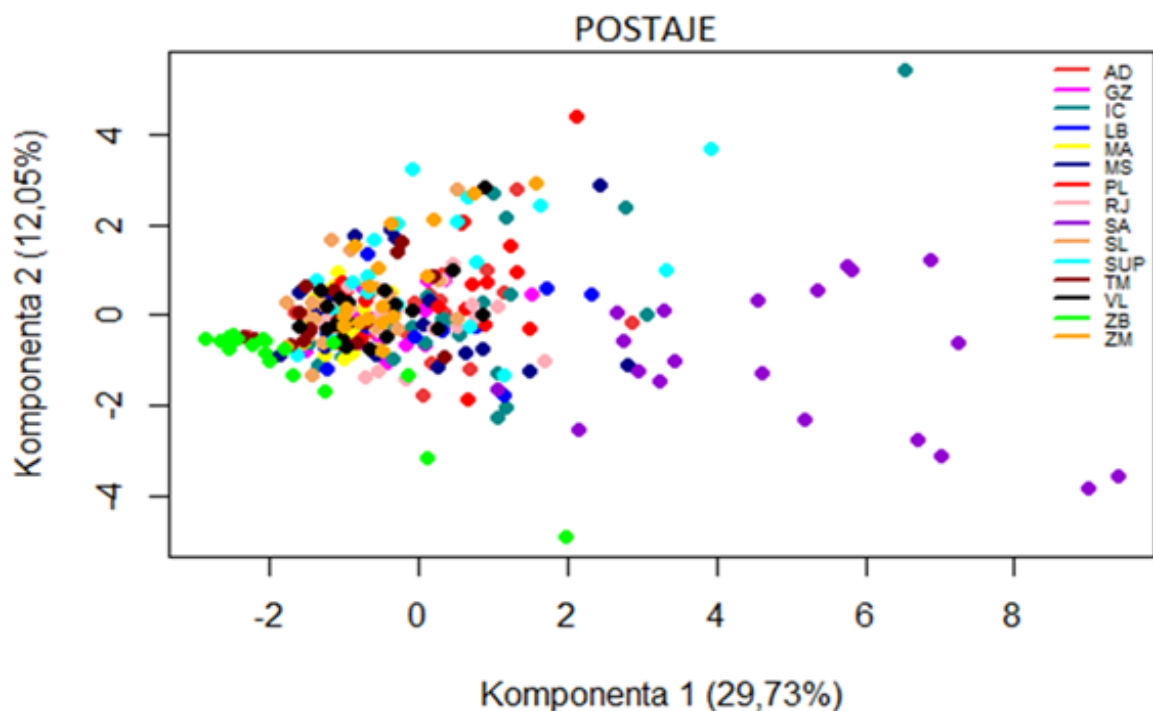
### 3. REZULTATI

#### 3.1. Fluktuirajuća asimetrija morfoloških obilježja nativnih populacija

##### 3.1.1. Analiza glavnih komponenti (PCA) fluktuirajuće asimetrije nativnih populacija

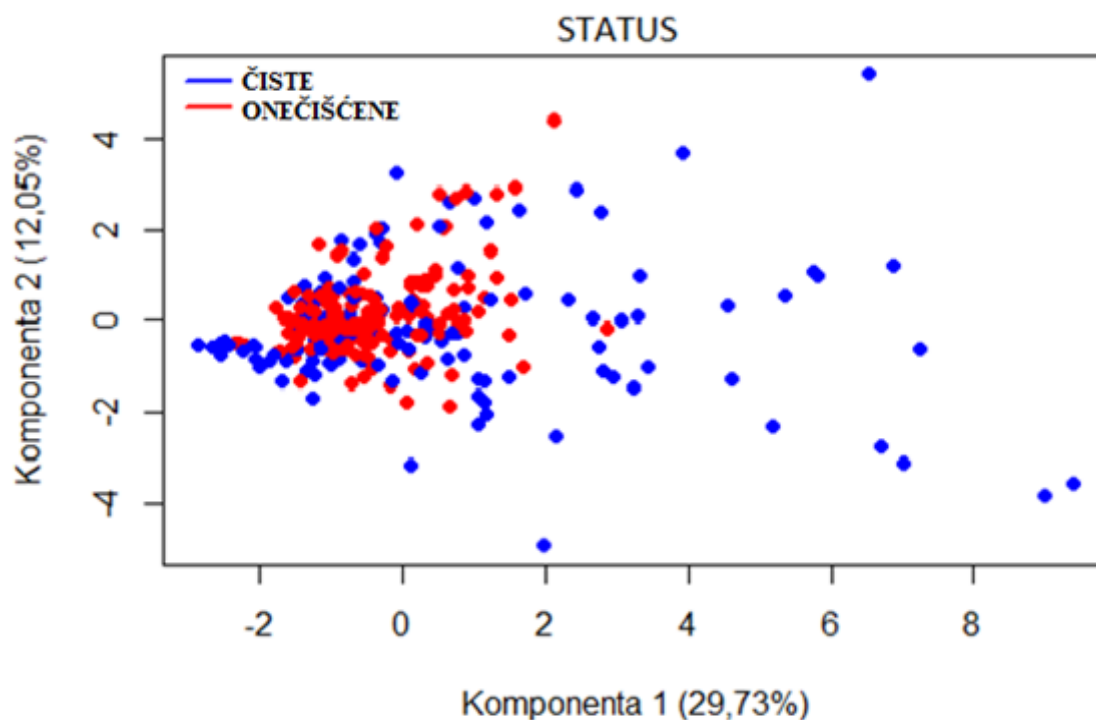
Prve dvije glavne komponente u PCA analizi (eng. Principal component analysis) fluktuirajuće asimetrije prirodnih populacija dagnji uzorkovanih u jesen 2013. godine objasnile su 41,78 % ukupne varijance, pri čemu je prva komponenta objasnila 29,73 %, a druga 12,05 % varijance. Jedinke pojedinih populacija su se s obzirom na asimetriju generalno grupirale zajedno, izuzev čiste postaje Mljet – Saplnara (SA) koja je pokazala široki raspon vrijednosti (Slika 6).

Jedinke su se odvajale s obzirom na kvalitetu okoliša na čiste i onečišćene u smislu da čiste postaje pokazuju veći raspon podataka (Slika 7).



#### PCA analiza - Fluktuirajuća asimetrija

**Slika 6.** PCA analiza provedena na fluktuirajućoj asimetriji morfoloških obilježja 15 prirodnih populacija dagnji *M. galloprovincialis* uzorkovanih u jesen 2013. godine (LB = Limski zaljev, PL = Pula, IC = Ičići, RJ = Rijeka, VL = Viktor Lenac, ZB = Zadar Seline, ZM = Zadar marina, MA = Marina, TM = Trogir, AD = Adriavinil, SL = Split, MS = Mali Ston, SUP = Ston uzgajalište, SA = Mljet, GZ = Gruž).

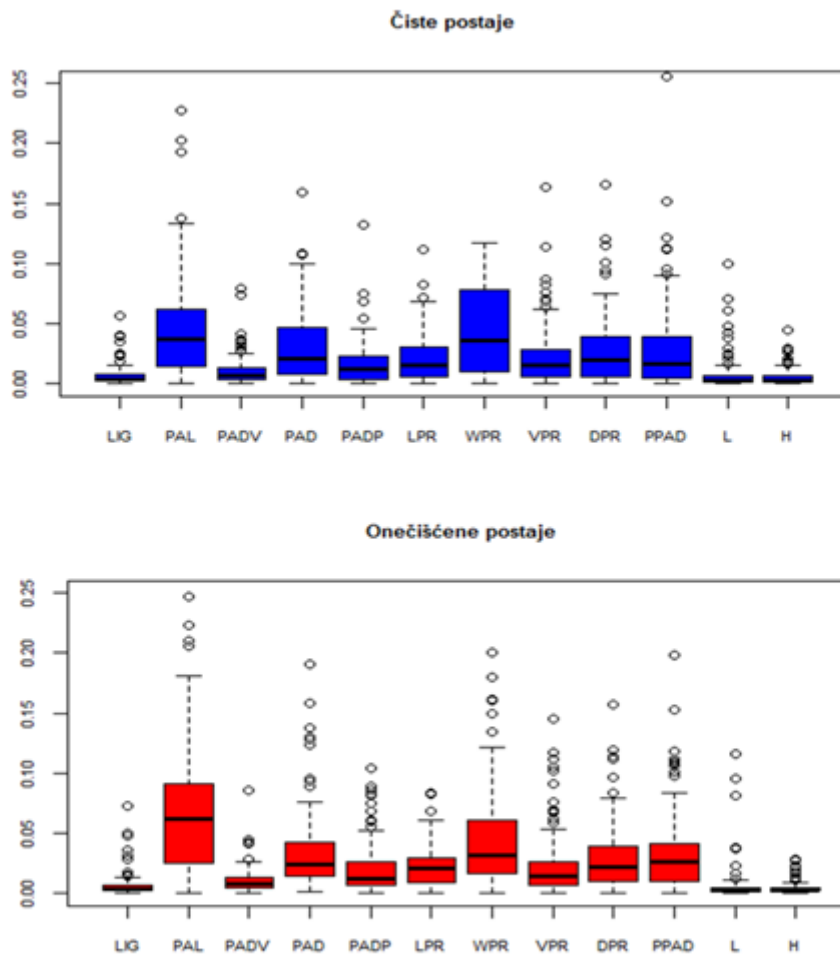


### PCA analiza - Fluktuirajuća asimetrija

**Slika 7.** PCA analiza provedena na prikupljenim podacima o fluktuirajućoj asimetriji morfoloških obilježja 15 prirodnih populacija dagnje *M. galloprovincialis* uzorkovanih u jesen 2013. godine s obzirom na kvalitetu okoliša.

#### 3.1.2. Fluktuirajuća asimetrija pojedinačnih nativnih populacija

Rezultati FA nativnih populacija (Slika 8) pokazali su da je fluktuirajuća asimetrija najveća za obilježja udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore – PAL, te obilježja vezana uz otiske stražnjih mišića aduktora i retraktora, pri čemu najveća za širinu otiska stražnjeg mišića retraktora – WPR. Varijabilnost podataka vezanih uz FA svih morfoloških obilježja je nešto veća za čiste postaje, s većom asimetrijom za WPR te većom FA za PAL na onečišćenim postajama.

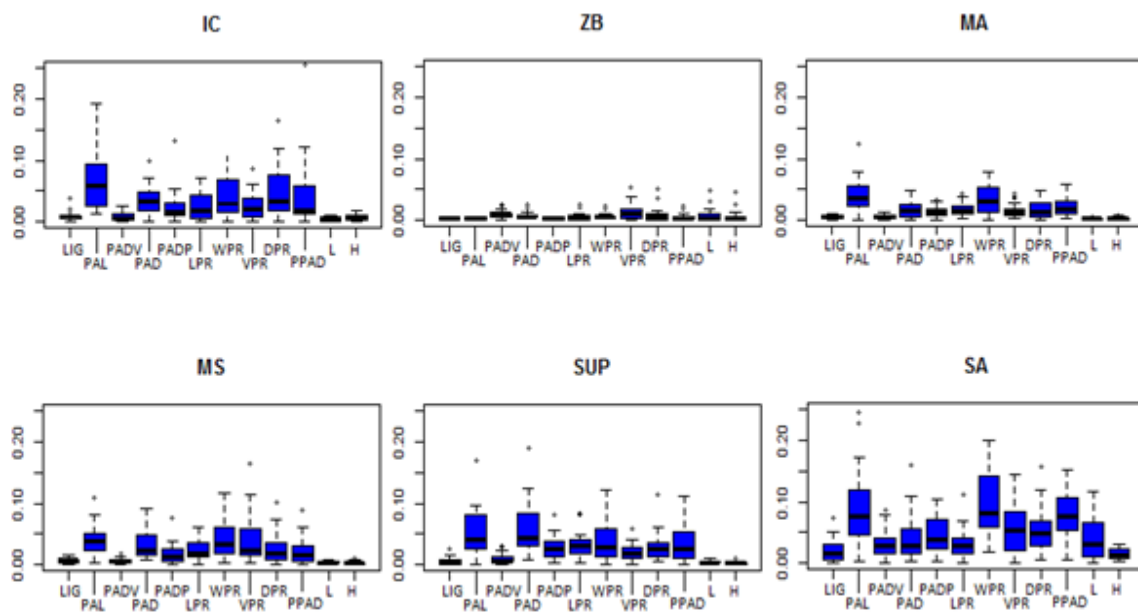


### Fluktuirajuća asimetrija nativnih populacija

**Slika 8.** Fluktuirajuća asimetrija 12 morfoloških obilježja čistih i onečišćenih nativnih populacija. Plavom bojom su postaje sa niskim stupnjem onečišćenja (Limski zaljev = LBT, Ičići = IC, Zadar Seline = ZB, Marina = MA, Mali Ston = MS, Ston = SUT, Mljet = SA ) na kojim je najveća asimetrija vezana za obilježja udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore – PAL i širinu otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR. Crvenom bojom su obilježene onečišćene postaje (Pula = PL, Rijeka = RJ, Viktor Lenac = VL, Zadar marina = ZM, Trogir = TM, Adriavil = AD, Split = SL, Gruž = GZ) na kojim je najveća asimetrija vezana za ista obilježja udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore - PAL i širinu otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR.

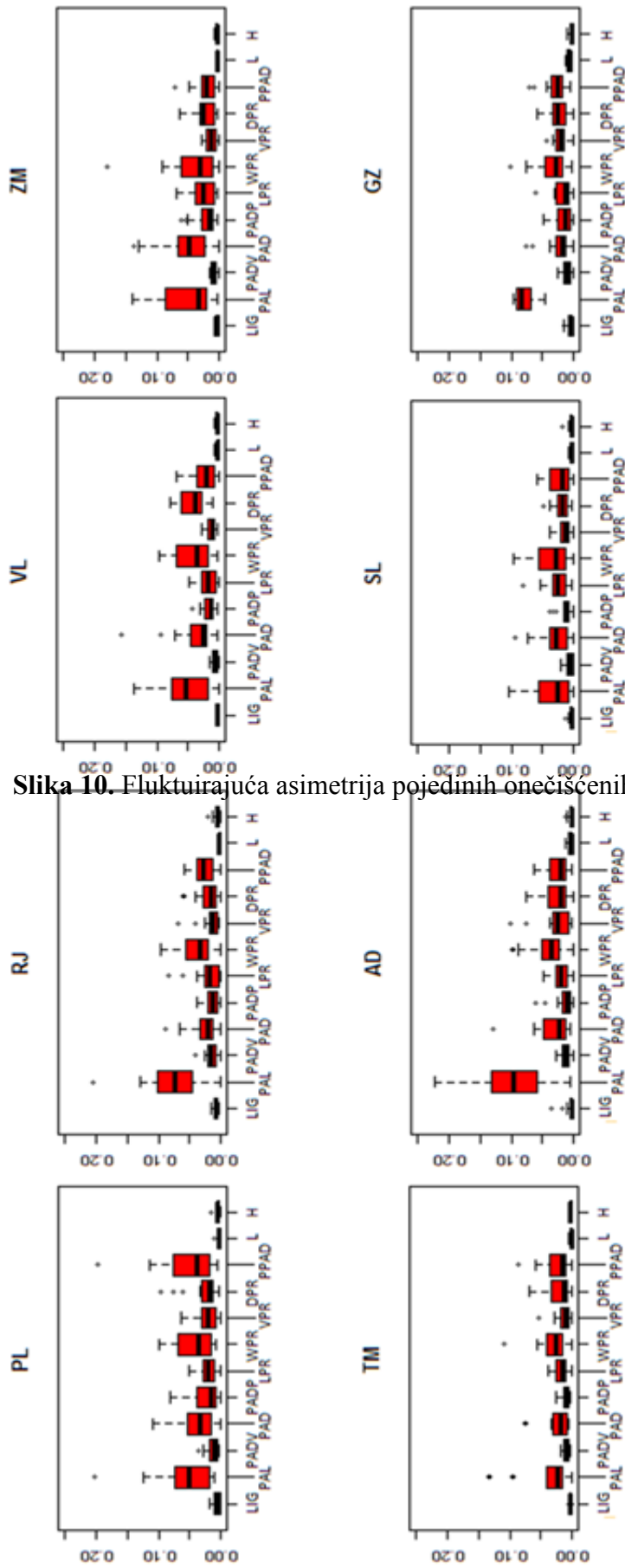
Prikaz FA za pojedine postaje nativnih populacija (Slike 9 i 10) potvrđuje da je asimetrija svih populacija najveća za obilježja povezana s otiscima stražnjih mišića aduktora i retraktora, te

za PAL, dok je najmanja za obilježja duljine otiska ligamenta LIG, te obilježja duljine – L i visine - H. Unutar čistih postaja generalno je najveća FA zabilježena za postaju Mljet - Saplnara (SA), te najmanja za postaju Zadar Seline (ZB). Među onečišćenim postajama populacija iz Pule je imala asimetriju za najveći broj obilježja, dok je najveća pojedinačna asimetrija (za obilježje PAL) izmjerena na postaji Adriavinil (AD).



**Fluktuirajuća asimetrija čistih nativnih populacija**

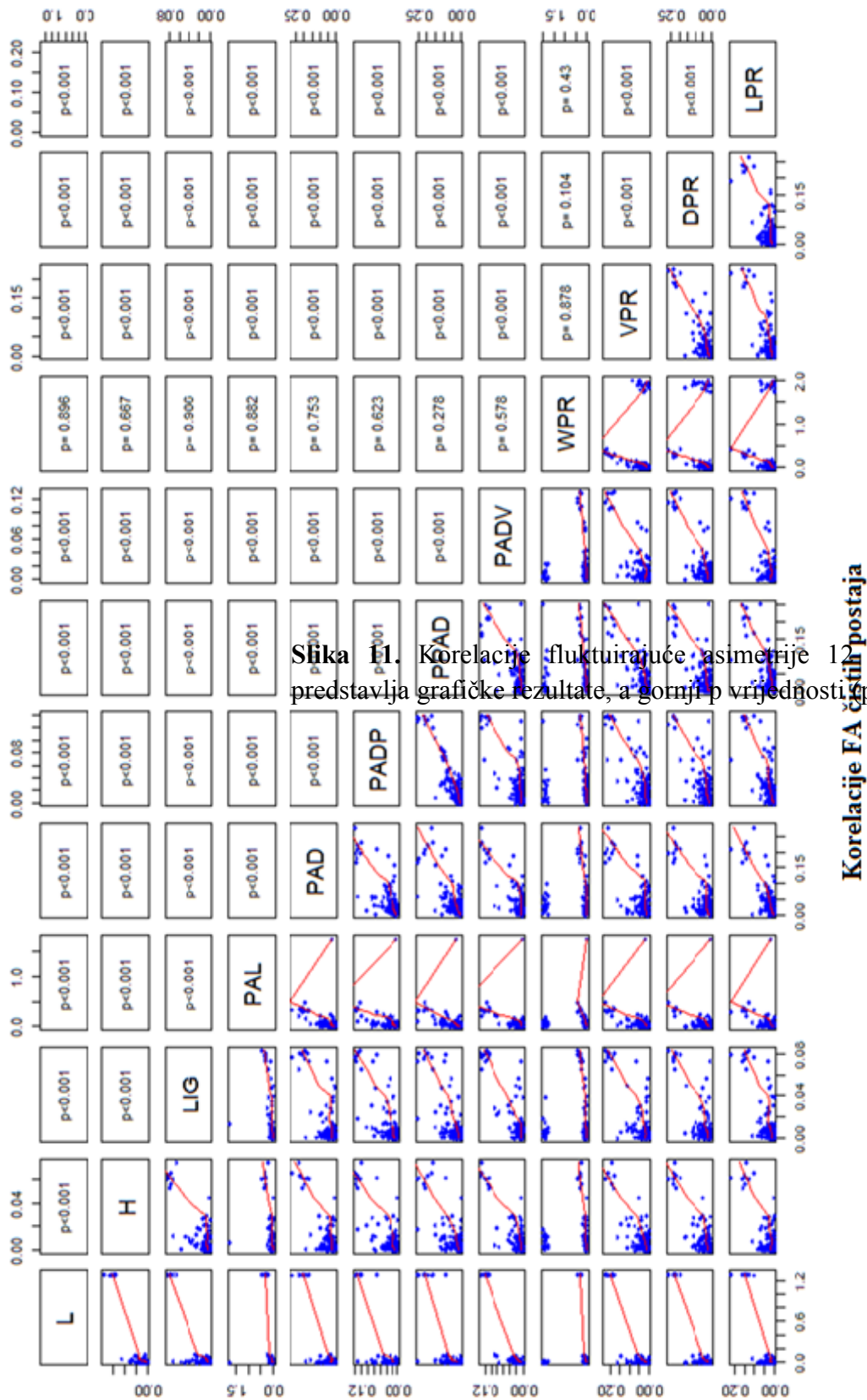
**Slika 9.** Fluktuirajuća asimetrija pojedinih čistih postaja nativnih populacija.



Slika 10. Fluktuirajuća asimetrija pojedinih onečišćenih populacija nativnih populacija.

**Fluktuirajuća asimetrija onečišćenih populacija**

### 3.1.3. Korelacije fluktuirajuće asimetrije pojedinih morfoloških obilježja nativnih populacija na čistim i onečišćenim postajama

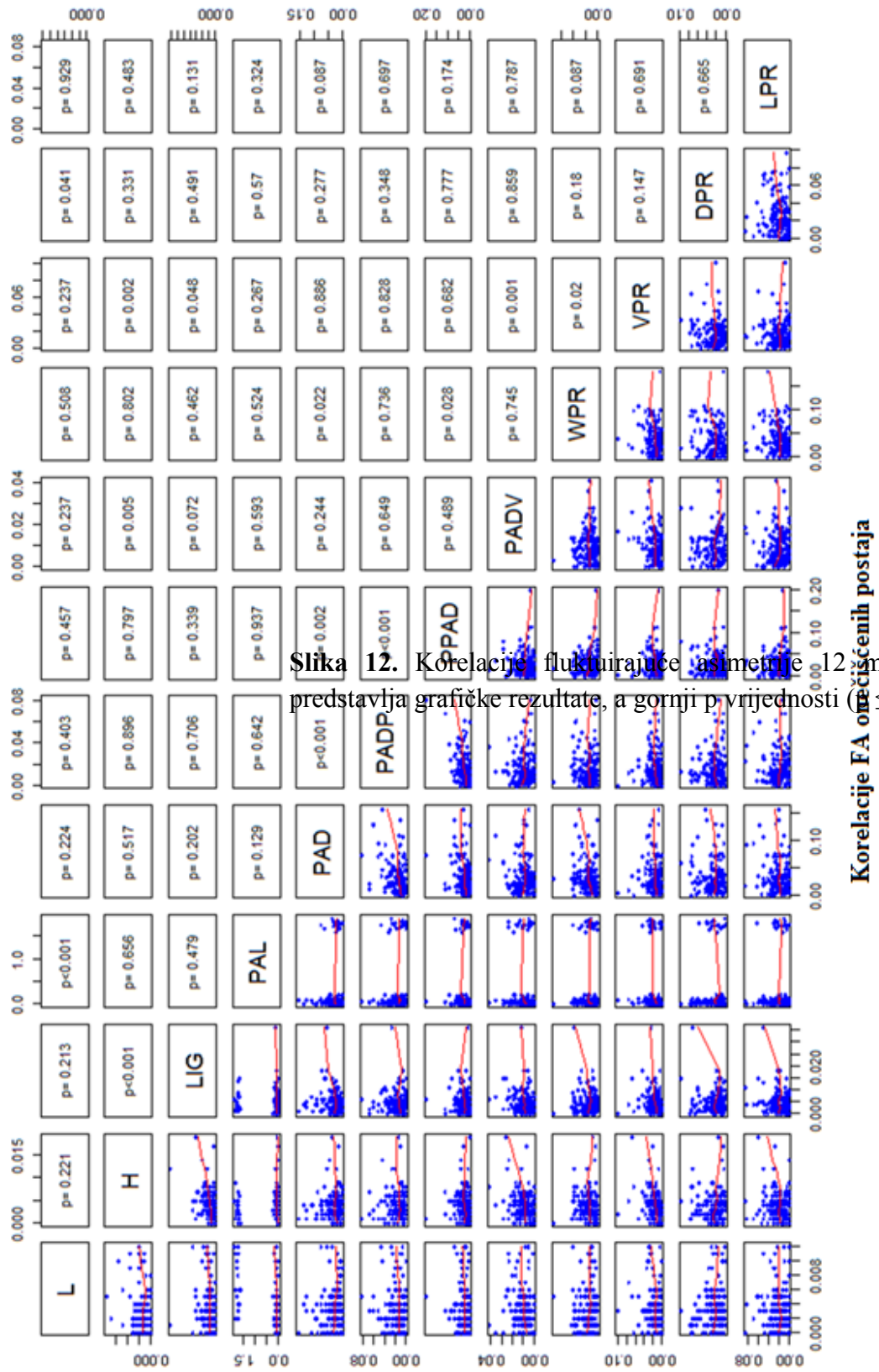


Slika 11. Korelacije fluktuirajuće asimetrije 12 morfometrijskih obilježja predstavlja grafičke rezultate, a gornji p vrijednosti  $p \leq 0,05$  statistički značajne

Za razliku od čistih postaja kod kojih su sva obilježja korelirala međusobno osim sa širinom stražnjeg mišića retraktora - WPR (Slika 11), kod onečišćenih postaja prisutne su korelacije s jednim do tri obilježja za p vrijednosti  $\leq 0,05$  (Slika 12).

Tako duljina - L korelira sa udaljenosti od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore -PAL i udaljenosti od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore - DPR; visina - H s ligamentom - LIG koji još korelira i s udaljenosti od trbušnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore - VPR; udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore - PAL s duljinom - L; duljina otiska stražnjeg mišića aduktora - PAD sa udaljenosti od stražnjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore - PPAD, udaljenosti od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore - PADP sa širinom otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR; udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore - PADP sa PAD, PPAD; udaljenost od stražnjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore - PPAD sa PADP, WPR, PAD; udaljenost od ventralnog ruba stražnjeg mišića aduktora do trbušnog ruba ljuštore - PADV sa H i VPR; širina otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR sa PPAD, PAD i VPR; udaljenost od trbušnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore - VPR sa WPR, PADV, LIG i H; udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore (DPR) sa L, dok duljina otiska stražnjeg mišića retraktora - LPR ne korelira ni s jednim obilježjem.

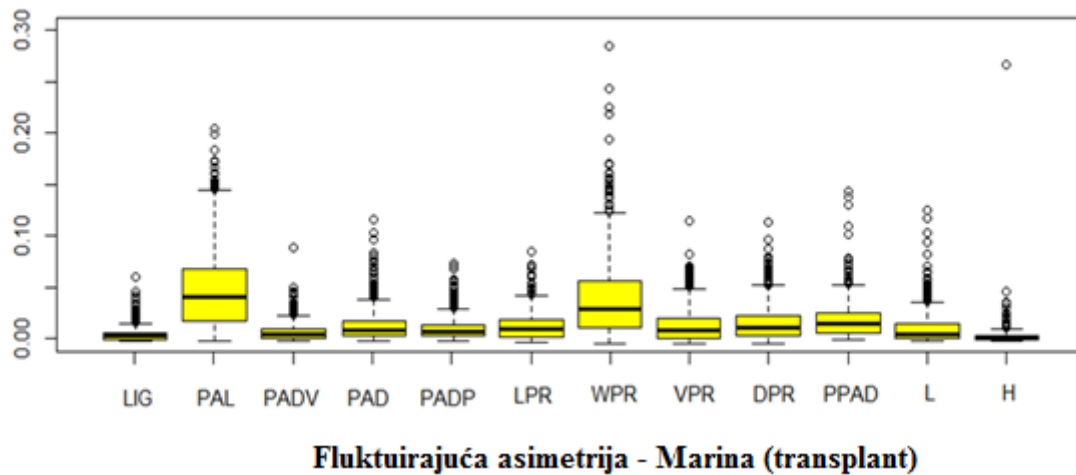




Slika 12. Korelacije fluktuirajuće asimetrije 12 morfoloških obilježja predstavlja grafičke rezultate, a gornji p-vrijednosti ( $\leq 0,05$  statistički značajni).

### 3.2. Fluktuirajuća asimetrija morfoloških obilježja dagnji iz transplant eksperimenta (Marina)

Rezultati fluktuirajuće asimetrije između lijeve i desne ljuštore pojedinih promatranih morfoloških obilježja kod 900 jedinki transplant eksperimenta su pokazali slične rezultate s rezultatima nativnih populacija (Slika 13). Asimetrija je manje izražena kod visine - H i duljine otiska ligamenta – LIG, dok je najveća izmjerena za udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore - PAL i za širinu otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR.



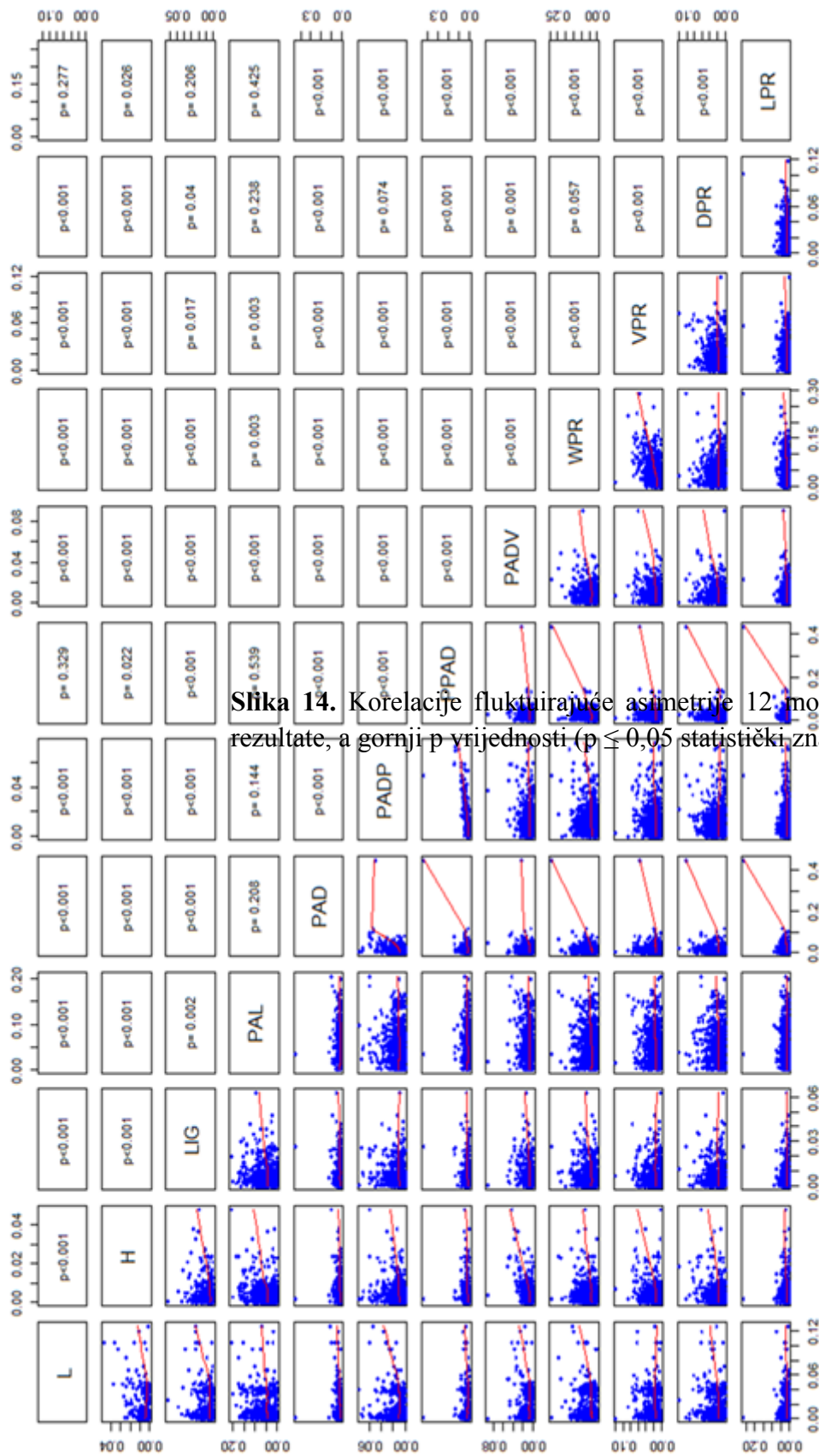
**Slika 13.** Fluktuirajuća asimetrija 12 morfometrijskih obilježja 900 jedinki iz transplant eksperimenta.

#### 3.2.1. Korelacija fluktuirajuće asimetrije za pojedina morfološka obilježja dagnji iz transplant eksperimenta

Prema rezultatima korelacija za fluktuirajuću asimetriju pojedinih obilježja (Slika 14) zabilježen je niz korelacija ( $p \leq 0,05$ ) među različitim obilježjima.

Od ispitanih obilježja transplanta visina (H) je u korelaciji s morfološkim obilježjima osim sa udaljenosti od stražnjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktoraa do stražnjeg ruba ljuštore (PPAD) i sa duljinom otiska stražnjeg mišića retraktora (LPR); širina otiska stražnjeg mišića retraktora (WPR) korelira sa svima osim sa udaljenosti od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore (DPR). Udaljenost od trbušnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore (VPR) korelira sa svima, kao i udaljenost od ventralnog

rubu stražnjeg mišića aduktora do trbušnog ruba ljuštore (PADV). Duljina (L) ne korelira sa udaljenosti od stražnjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore (PPAD) i sa duljinom otiska stražnjeg mišića retraktora (LPR); duljina otiska stražnjeg mišića aduktora (PAD) ne korelira sa udaljenosti od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore (PAL); udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore (PADP) ne korelira sa udaljenosti od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore (PAL) i udaljenosti od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore (DPR); udaljenost od stražnjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore (PPAD) ne korelira sa PAL i H, L i DPR; duljina otiska stražnjeg mišića retraktora (LPR) ne korelira sa LIG, PAL i L; udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore (DPR) nije u korelaciji sa PAL i PAD; udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore (PAL) nije u korelaciji sa PAD, PADP, PPAD, DPR, LPR dok ligament (LIG) ne korelira s duljinom otiska stražnjeg mišića retraktora (LPR).

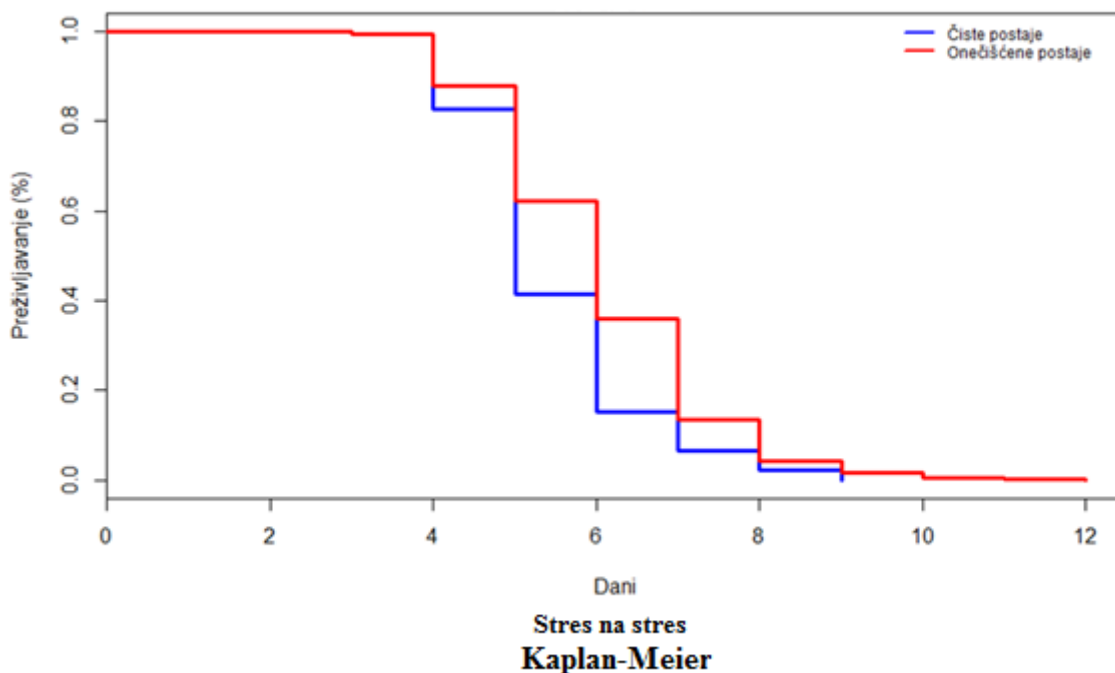


Slika 14. Korelacije fluktuirajuće asimetrije 12 morfolometrijskih obilježja transp... rezultate, a gornji p vrijednosti ( $p \leq 0,05$  statistički značajne korelacije).

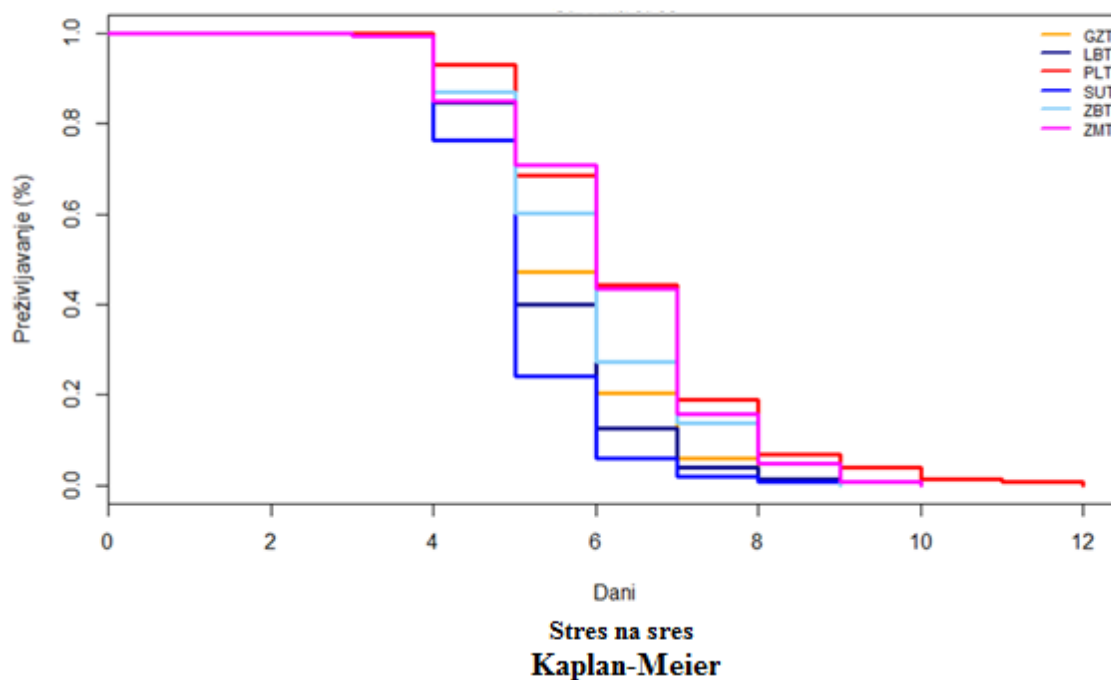
Korelacije fluktuirajuće asimetrije Marina

### 3.3. „Stres na stres“ eksperiment

Nakon 4 tjedna izlaganja u okolišu različitog stupnja antropogenog utjecaja (subpopulacije), iste smo jedinke dagnji podvrgnuli stresnim uvjetima, ostavljajući ih na zraku s visokom količinom vlage. Preživljavanje jedinki je variralo od subpopulacije do subpopulacije te se s vremenom ubrzano smanjivalo. SOS metoda je pokazala da su dagnje koje su bile izložene na postajama nižeg stupnja onečišćenja (LBT = Limski zaljev, ZBT = Zadar Seline, SUT = Ston) imale manji fitnes (Slika 15). Maksimalni živući broj dana je za ove jedinke bio 9, dok su jedinke izložene postajama višeg stupnja onečišćenja (GZT = Gruž, PLT = Pula, ZMT = Zadar Marina) preživjele do 12 dana na zraku. Najdulje su živjele dagnje s postaje PLT (Pula), dok su najbrži mortalitet pokazale jedinke s čiste postaje SUT (Ston) (Slika 16).



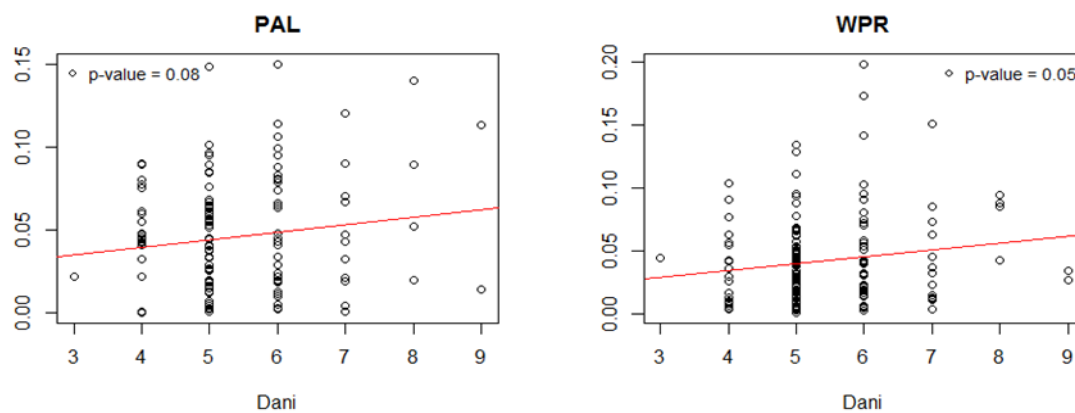
**Slika 15.** Mortalitet dagnji u eksperimentu „Stres na stres“ koje su predhodno bile izložene postajama s nižim stupnjem onečišćenja (plava linija; LBT = Limski zaljev, ZBT = Zadar Seline, SUT = Ston), u odnosu na one izložene postajama s višim stupnjem onečišćenja (crvena linija; GZT = Gruž, PLT = Pula, ZMT = Zadar Marina).



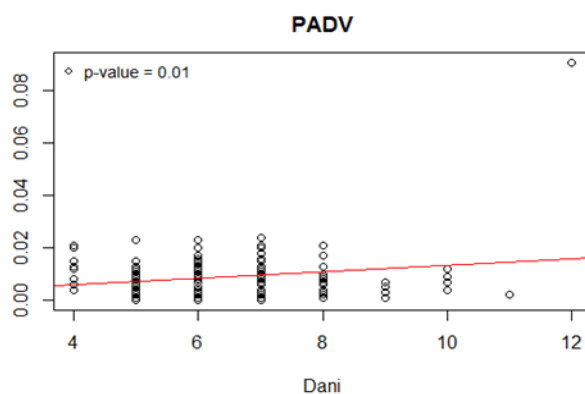
**Slika 16.** Vrijeme preživljavanja jedinki u metodi „stres na stres“ za pojedine postaje.

### 3.4. Korelacija fluktuirajuće asimetrije morfoloških obilježja i preživljavanja (fitesa)

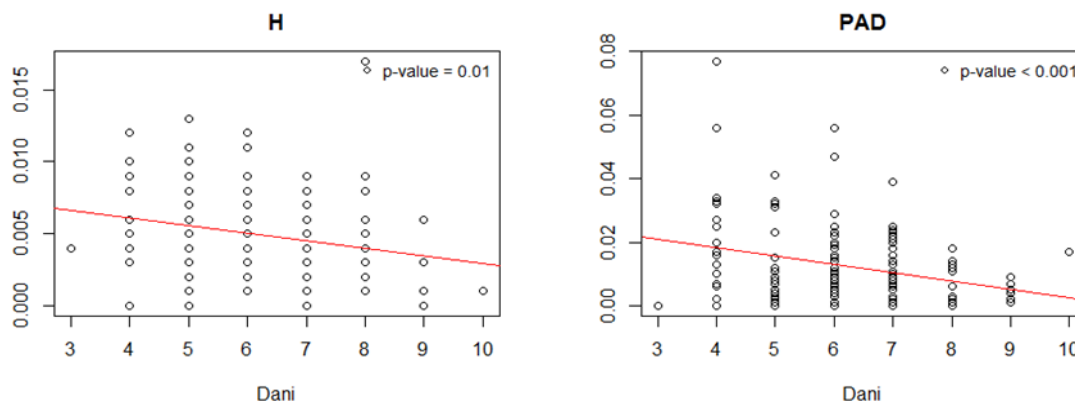
Analizom korelacije FA morfoloških obilježja i preživljavanja dobili smo različite rezultate za pojedine postaje (subpopulacije). Kod dagnji izloženih na čistim postajama Zadar Seline (ZBT) i uzgajalište Ston (SUT) nisu zabilježene korelacije između FA morfoloških obilježja i preživljavanja u stresnim uvjetima. Na postaji Limski zaljev (LBT) pozitivna je korelacija zabilježena između FA i širine otiska stražnjeg mišića retraktora – WPR (p-vrijednost=0,05) (Slika 17), a na postaji Pula (PLT) prisutna je pozitivna korelacija FA i udaljenosti od ventralnog ruba stražnjeg mišića aduktora do trbušnog ruba ljuštore – PADV (p-vrijednost=0,01) (Slika 18). Na postaji Zadar Marina (ZMT) prisutne su negativne korelacije između FA i visine - H (p-vrijednost=0,01) i duljine otiska stražnjeg mišića aduktora - PAD (p-vrijednost<0,001) (Slika 19). Na postaji Gruž (GZT) prisutne su negativne korelacije FA asimetrije i preživljavanja za duljinu otiska stražnjeg mišića aduktora - PAD (p-vrijednost=0,01), širinu otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR (p-vrijednost=0,05) te udaljenost od trbušnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore - VPR (p-vrijednost=0,01) (Slika 20).



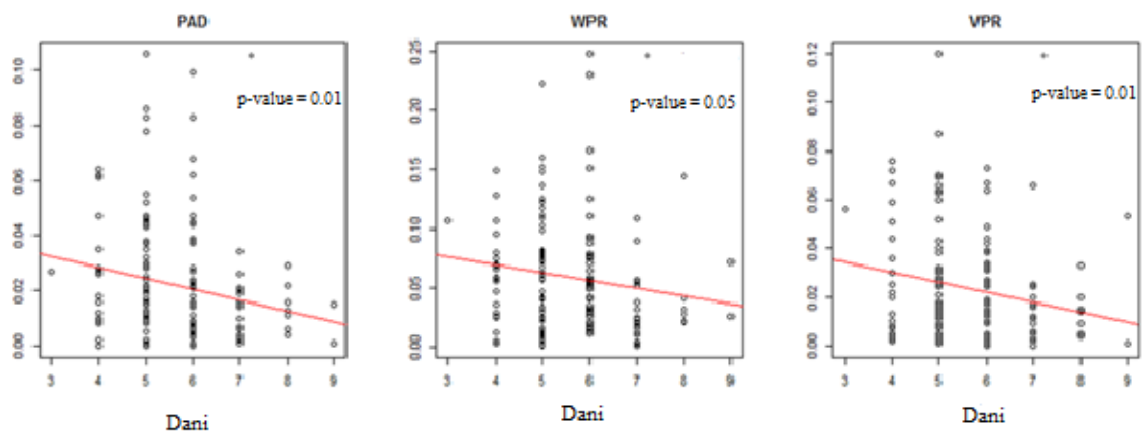
**Slika 17.** Korelacije fluktuirajuće asimetrije i fitnessa (preživljavanje na zraku) Limski zaljev (LBT).



**Slika 18.** Korelacija fluktuirajuće asimetrije i fitnessa (preživljavanje na zraku) Pula (PLT).



**Slika 19.** Korelacije fluktuirajuće asimetrije i fitnessa (preživljavanje na zraku) Zadar (ZMT).



**Slika 20.** Značajne korelacije fluktuirajuće asimetrije i fitnesa (preživljavanje na zraku) Gruž (GZT).



## **4. RASPRAVA**

### **Fluktuirajuća asimetrija**

Fluktuirajuća asimetrija je korištena u nizu istraživanja kao mjera razvojne nestabilnosti te se povezuje s mjerama izloženosti stresu ili drugim nepovoljnim uvjetima, hibridizacijom ili fitnessom (Graham 1992, Hochwender i Fritz 1999). Morfološka varijabilnost može biti i funkcija jake fenotipske plastičnosti, koja je često adaptivna u fluktuirajućem okruženju (Whitman i Agrawal 2009).

Dobivenim rezultatima u ovom istraživanju potvrđena je fluktuirajuća asimetrija za većinu ispitivanih morfoloških obilježja kod 300 jedinki 15 nativnih populacija, te unutar populacije od 900 promatranih jedinki transplant eksperimenta. Rezultati su također potvrdili da postoji varijabilnost među nativnim populacijama, gdje jedinice sa čistih postaja pokazuju nešto veći raspon podataka za fluktuirajuću asimetriju. Ipak konačni zaključak iz analize svih 15 populacija je bio podjednak. Tom zaključku je pridonijela i dodatna analiza velikog broja jedinki unutar jedne populacije koja je pokazala sličan rezultat. Najveća asimetrija je zabilježena za obilježja vezana uz otiske stražnjih mišića aduktora i retraktora (pri čemu najviše za širinu otiska stražnjeg mišića retraktora – WPR) te udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštare (PAL). Treba napomenuti da je obilježje PAL bilo često teško jasno razlučivo na ljušturi te da postoji mogućnost da je ovakva izražena asimetrija rezultat subjektivnosti prilikom mjerenja. Najmanja asimetrija u ovom je istraživanju izmjerena za visinu (H) i ligament (LIG), te duljinu (L).

Činjenicu da naši rezultati pokazuju najveću asimetriju vezanu uz stražnji mišić aduktor i retraktor možemo povezati sa studijama o utjecaju predatora gdje jedinice da bi se zaštitile promiču rast mišića aduktora (Reimer i Tedengren 1996). Valladares i suradnici (2010) objašnjavaju da nativne populacije školjkaša koje se suočavaju s većim pritiskom predatora obično izdvajaju manje energije na somatski rast. Takve jedinice veći dio energije ulažu u jačanje ljuštura te promiču rast mišića aduktora i na taj način pospješuju fitness i preživljavanje.

### **Korelacija fluktuirajuće asimetrije pojedinih morfoloških obilježja dagnje**

Rezultati nativnih populacija pokazuju široki spektar korelacija između FA pojedinih morfoloških karakteristika ali ni jedno obilježje ne korelira sa širinom otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR na čistim nativnim postajama te duljinom otiska stražnjeg mišića retraktora -

LPR na onečišćenim. U transplant eksperimentu također je zabilježen veliki broj međusobnih korelacija FA morfoloških obilježja pri čemu je udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore - PAL korelirana s najmanjim brojem njih. Razlike u korelacijama obilježja s fluktuirajućom asimetrijom pojedinog obilježja mogu se povezati sa različitim okolišnim čimbenicima koje su utjecale na populacije.

### **„Stres na stres“ metoda**

Iako fitness obično označava preživljavanje i reproduktivni uspjeh, on se kod dagnji ne može izravno mjeriti. Mjerimo ga kroz rast i opstanak (Gardner i sur. 1993, Gardner i Skibinski 1990) budući da veličina tijela (obično mjerena kao duljina ljuštore ili volumen) pozitivno korelira s plodnosti - fekunditetom (Rodhouse i sur. 1986, Mzighani 2005).

Test odgovor „stres na stres“ (SOS) - test tolerancije na izloženost zraku je proveden kako bi se postigli uvjeti općenitog stresa u izloženih školjkaša. SOS metoda je pokazala da su dagnje koje su bile izložene na postajama nižeg stupnja onečišćenja živjele kraće nego one izložene na postajama višeg stupnja onečišćenja, pri čemu su najduže živjele dagnje s onečišćene postaje Pula (PLT), koja je prometna luka, izložena slabo pročišćenim komunalnim, industrijskim i brodogradilišnim otpadnim vodama, a najkraće dagnje sa postaje Ston (SUT) koja je uzgajalište. Pretpostavka je da su dagnje na onečišćenim postajama živjele duže zbog toga što su njihovi enzimi bili konstantno inducirani u onečišćenom staništu, te su se kad smo ih stavili na zrak lakše borile s tim (još jednim novim) stresom nego one izložene čistim postajama. Enzimi citokroma P450 (CYP) čine važnu komponentu staničnog sustava detoksifikacije. U dagnji, *Mytilus galloprovincialis*, identificirano je sedam eksprimiranih grupa gena citokroma P450, kao posljedicu različitih uvjeta u okolišu, a vrlo su bitni za održavanje homeostaze organizma, te se nalaze u endoplazmatskom retikulumu probavne žlijezde (Livingstone 1991).

Nekoliko istraživanja vrsta *Mytilus* spp. su pokazala da učinci okoliša uvelike određuju preživljavanje (Mallet i Carver 1989, Kautsky i sur. 1990, Stirling i Okumus 1994). Okolišno ovisan učinak na neizravnim mjerama fitnessa kao fiziološke performanse, utječe na reproduktivno ulaganje, plodnost (fekunditet), snagu vezivanja za podlogu i osjetljivost na parazitske infekcije što je pokazano na dagnjama u radovima Gardner (1994), Rawson i sur. (1999), Riginos i Cunningham (2005).

De Zwaan i sur. (1996) su utvrdili da metabolički zastoj, što je važan mehanizam uključen u opstanak pod anoksičnim uvjetima, može biti ugrožen kada su organizmi ujedno izloženi i teretu onečišćenja. Radovi Eertman i sur. (1993) i Viarengo i sur. (1995) su pokazali da dagnje izložene zagađivalima koriste veliku količinu energije za proces detoksikacije i imaju manje tolerancije na anoksične uvjete.

Međutim, izloženost školjkaša zagađivačima kroz dugo vremensko razdoblje može dovesti do neke razine prilagodbe onečišćenju. Dagnje uzorkovane iz zagađenih mjesta mogu biti fiziološki tolerantnije na kontaminanate od jedinki prikupljenih na ne zagađenim područjima, a kao rezultat toga one pokazuju povišene vrijednosti LT50 (Koukouzika i Dimitriadis 2004). Ova činjenica podupire pretpostavku da neki stupanj prilagodbe na zagađenje može biti razvijen u dagnji iz zagađenih područja koje pokazuju povećanu fizičku toleranciju i dugotrajniji opstanak na zraku (Koukouzika i Dimitriadis 2004) što je u skladu s našim rezultatima.

### **Korelacija fluktuirajuće asimetrije i preživljavanja (fitnessa)**

Naši rezultati su pokazali korelaciju FA više morfoloških obilježja s fitnessom, pri čemu su različita obilježja pokazala korelaciju na različitim postajama. Zanimljivo je da na dvije od tri čiste postaje nismo dobili korelacije između FA i fitnessa. Pozitivna korelacija zabilježena je na čistoj postaji Limski zaljev (LBT) i onečišćenoj postaji Pula (PLT) za obilježja PAL i PADV gdje su jedinke s većom asimetrijom preživljavale dulje, dok je negativna korelacija zabilježena za obilježja H, PAD i VPR na onečišćenim postajama Zadar Marina (ZMT) i Gruž (GZT) gdje su jedinke s manjom FA preživljavale dulje. Obilježje WPR je pokazalo pozitivnu FA na postaji LBT, te negativnu na postaji GZT. Slučajna odstupanja od simetrične morfologije su pripisana nizu uzroka. Primjerice, Leary i Allendorf (1989) ukazuju da stres uzrokovan okolišnim čimbenicima može smanjiti energiju utrošenu na razvoj, što dovodi do razlika u rastu podudarajućih strana bilateralnih struktura. Zbog smanjene razvojne stabilnosti općenito se pretpostavlja da je simptom niskog fitnessa (Van Valen 1962, Parsons 1990). Ranije je već spomenuto da jedinke izložene predatorima veći dio energije ulažu u jačanje ljuštura te promiču rast mišića aduktora što može dovesti do razvojne nestabilnosti u obilježjima vezanim uz ovaj mišić. Naše istraživanje je pokazalo da s jedinke s manjom asimetrijom širine mišića aduktora PAD preživljavale dulje.

## 5. ZAKLJUČAK

PCA analiza fluktuirajuće asimetrije pokazala je da se jedinke pojedinih populacija generalno nisu razdvajale po populacijama obzirom na asimetriju, ali su jedinke s čistih postaja pokazale veći raspon podataka.

Usporedbom 12 morfoloških obilježja između lijeve i desne ljuštore velikog broja jedinki uočena je fluktuirajuća asimetrija. Najveće vrijednosti izmjerene su za udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore – PAL, te obilježja vezana uz otiske stražnjih mišića aduktora i retraktora, pri čemu je najveća za širinu otiska stražnjeg mišića retraktora – WPR. Pretpostavlja se da je FA ovih obilježja posljedica djelovanja okolišnih čimbenika na jedinke, kao što su valovi i dostupnost hrane.

Stres na stres test pokazao je da dagnje prethodno izložene na postajama nižeg stupnja onečišćenja imaju manji fitness tj. preživljavale su kraće, dok su jedinke izložene na postajama višeg stupnja onečišćenja preživljavale dulje. To nam ukazuje na činjenicu da dagnje prethodno izložene stresu kao što je onečišćenje lakše podnose dodatni stres, u ovom slučaju izlaganje na zraku, zbog povećane tolerancije na nepovoljne uvjete.

Naši rezultati su pokazali korelaciju FA više morfoloških obilježja s fitnessom, pri čemu su različita obilježja pokazala korelaciju na različitim postajama. Zabilježene su pozitivne korelacije gdje su jedinke s većom asimetrijom za obilježja PAL i PADV preživljavale dulje i negativne korelacije gdje su jedinke s manjom asimetrijom za H, PAD i VPR preživljavale dulje. Budući da se radi o postajama različitog stupnja onečišćenja, razlike u korelacijama FA obilježja i fitnessa pripisujemo varijacijama u uvjetima okoliša.

## 6. LITERATURA I IZVORI

### Popis literature

- Anestis, A., Lazou A., Pörtner, H. O., Michaelidis, B. (2007): Behavioral, metabolic, and molecular stress responses of marine bivalve *Mytilus galloprovincialis* during long-term acclimation at increasing ambient temperature. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. **293(2)**: 911-921.
- Allenbach, M. (2011): Fluctuating asymmetry and exogenous stress in fishes: A review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. **21(3)**: 355-376.
- Aral, O. (1999): Growth of The Mediterranean Mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lam., 1819) on Ropers in The Black Sea. Turkey, *Journal of Veterinary and Animal Sciences*. **23**: 183-189.
- Beaumont, A., Gjedrem, T., Moran, P. (2006): Blue Mussel – *M. edulis* and Mediterranean mussel – *M. galloprovincialis*. u „Genetic effects of domestication, culture and breeding of fish and shellfish, and their impacts on wild populations“: radionica „Genetics of domestication, breeding and enhancement of performance of fish and shellfish“. Viterbo, Italy.
- Braby, C., Somero, G. (2006): Following the heart: Temperature and salinity effects on heart rate in native and invasive species of blue mussels (genus *Mytilus*). *Journal of Experimental Biology*. **209(13)**: 2554-2566.
- Breno, M., Leirs, H., Van Dongen, S. (2011): Traditional and geometric morphometrics for studying skull morphology during growth in *Mastomys natalensis* (Rodentia Muridae). *Journal of Mammalogy*. **92(6)**: 1395-1406.
- Brown, K. M., Aronhime, B., Wang, X. (2011): Predatory blue crabs induce byssal thread production in hooked mussels. *Invertebrate Biology*. **130(1)**: 43-48.
- Caro, A., Escobar, J., Bozinovic, F., Navarrete, S. and Castilla, J. (2008): Phenotypic variability in byssus thread production of intertidal mussels induced by predators with different feeding strategies. *Marine Ecology Progress Series*. **372**: 127-134.

- Clark, G. M. (1998): The genetic basis of developmental stability. IV. Individual and population asymmetry parameters. *Heredity*. **80**: 553-561.
- Deelia, C. (2015): Population structure and recruitment patterns of the indigenous Mussel *Perna perna* and the Alien Mussel *Mytilus galloprovincialis* on the central coast of Namibia. UNAM Scholarly Repository. Master Degree.
- de Villemereuil, P., Gaggiotti, O. E., Mouterde, M., Till-Bottraud, I. (2016): Common Garden Experiments in the Genomic Era: New Perspectives and Opportunities. *Heredity (Edinb)*. **116(3)**: 249-254.
- de Zwaan, A., i Eertman, R. H. M. (1996): Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology. **113(2)**: 299-312.
- Eertman, R. H. M., Wagenvoort, A. J., Hummel, H., Smaal, A.C. (1993): "Survival in air" of the blue mussel *Mytilus edulis* L. as a sensitive response to pollution-induced environmental stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **170(2)**:179-195.
- Enderlein, P., Moorthi, S., Röhrscheidt, H., Wahl, M. (2003): Optimal foraging versus shared doom effects: interactive influence of mussel size and epibiosis on predator preference. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **292(2)**: 231-242.
- Fréchette, M., Daigle, G. (2002): Growth, survival and fluctuating asymmetry of Iceland scallops in a test of density-dependent growth in a natural bed. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **270(1)**: 73-91.
- Fréchette, M., Gouletquer, P., Daigle, G. (2003): Fluctuating asymmetry and mortality in cultured oysters (*Crassostrea gigas*) in Marennes-Oleron basin. *Aquatic Living Resources*. **16(4)**: 339-346.
- Freeman, S. A. (2007): Specificity of induced defenses in *Mytilus edulis* and asymmetrical predator deterrence. *Marine Ecology Progress Series*. **334**: 145-153.
- Gardner, J. P. A. (1994): The *Mytilus edulis* species complex in Southwest England: Multi-locus heterozygosity, background genotype and a fitness correlate. *Biochemical Systematics and Ecology*. **22(1)**: 1-11.

- Gardner, J. P. A., Skibinski, D. O. F. (1990): Genotype-dependent fecundity and temporal variation of spawning in hybrid mussel (*Mytilus*) populations. *Marine Biology*. **105**: 153-162.
- Gardner, J. P. A., Skibinski, D. O. F., Bajdik, C. D. (1993): Shell Growth and Viability Differences Between the Marine Mussels *Mytilus edulis* (L.), *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.), and Their Hybrids From Two Sympatric Populations in S.W. England. *The Biological Bulletin*. **185**.
- Gavrilović A., Jug-Dujaković, J., Conides, A., Kunica, V., Ljubičić, A. (2014): Rast i preživljavanje dagnje, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) u dva različita uzgojna sustava. Lončarić, Z. i Marić, S., ur. Zbornik radova 49. Hrvatskog i 9. međunarodnog simpozija agronoma. Osijek: Poljoprivredni fakultet.
- Gazeau, F., Alliouane, S., Bock, C., Bramanti, L., López Correa, M., Gentile, M., Hirse, T., Pörtner, H. O. and Ziveri, P. (2014): Impact of ocean acidification and warming on the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*). *Frontiers in Marine Science* **1(62)**: 1-12.
- Graham, J. H. (1992): Genomic coadaptation and developmental stability in hybrid zones. *Acta Zoologica Fennica*. **191**:121-131.
- Graham, J. H., Raz, S., Hel-Or, H., Nevo, A. (2010): Fluctuating Asymmetry: Methods, Theory, and Applications. *Symmetry*. **2(2)**: 466-540.
- Hamer, B., Pavičić-Hamer, D., Müller, Batel, R. (2004): Stress-70 proteins in marine mussel *Mytilus galloprovincialis* as biomarkers of environmental pollution: a field study. *Environment International*. **30(7)**: 873-872.
- Hamer, B., Jakšić Ž., Pavičić-Hamer, D., Perić, L., Medak, D., Ivanković D., Pavičić, J., Zilberberg, C., Schröder, H. C., Müller, W., Smolaka, N., Batel, R. (2008): Effect of hypoosmotic stress by low salinity acclimation of Mediterranean mussels *Mytilus galloprovincialis* on biological parameters used for pollution assessment. *Aquatic Toxicology*. **89**: 137–151.
- Hewitt, J. E., Thrush, S. F. (2009): Do Species' Abundances become More Spatially Variable with Stress?. *The Open Ecology Journal*. **10**: 111-118.

- Hochwender, C. G., Fritz, R. S. (1999): Fluctuating Asymmetry in a Salix Hybrid System: The Importance of Genetic versus Environmental Causes. *Evolution*. **53(2)**: 408-416.
- Holland, E. (2009): Limitations of traditional morphometrics in research on the attractiveness of faces. *Psychonomic Bulletin & Review*. **16(3)**: 613-615.
- Kautsky, N., Johannesson, K., Tedengren, M. (1990): Genotypic and phenotypic differences between Baltic and North Sea populations of *Mytilus edulis* evaluated through reciprocal transplantations. I. Growth and morphology. *Marine Ecology Progress Series*. **59**:203-210.
- Klingenberg, C. P. (2015): Analyzing Fluctuating Asymmetry with Geometric Morphometrics: Concepts, Methods, and Applications. *Symmetry*. **7(2)**: 843-934.
- Klobučar, G. I. V., Štambuk, A., Hylland, K., Pavlica, M. (2008): Detection of DNA damage in haemocytes of *Mytilus galloprovincialis* in the coastal ecosystems of Kaštela and Trogir bays, Croatia. *Science of The Total Environment*. **405(1-3)**: 330-337.
- Koukouzika, N., & Dimitriadis, V. K. (2004): Multiple Biomarker Comparison in *Mytilus galloprovincialis* from the Greece Coast: “Lysosomal Membrane Stability, Neutral Red Retention, Micronucleus Frequency and Stress on Stress”. *Ecotoxicology*. **14(4)**: 449- 63.
- Kristan, U., Kanduč, T., Osterc, A., Šlejkovec, Z., Ramšak, A., Stibilj, V. (2014): Assessment of pollution level using *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator species: The case of the Gulf of Trieste. *Marine Pollution Bulletin*. **89**:455–463.
- Kurihara, H., Asai, T., Kato, S., Ishimatsu, A. (2008): Effects of elevated pCO<sub>2</sub> on early development in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Biology*. **4**: 225-233.
- Lajus, D., Katolikova, M., Strelkov, P., Hummel, H. (2015): Fluctuating and Directional Asymmetry of the Blue Mussel (*Mytilus edulis*): Improving Methods of Morphological Analysis to Explore Species Performance at the Northern Border of Its Range. *Symmetry*. **7**: 488-514.
- Leary, R. F., Allendorf F. W. (1989): Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: Implications for conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution*. **4(7)**: 214-217.



- Lazić, M. M., Kaliontzopoulou, A., Carretero, M. A., Crnobrnja-Isailović, J. (2013): Lizards from Urban Areas Are More Asymmetric: Using Fluctuating Asymmetry to Evaluate Environmental Disturbance. PLoS ONE. **8(12)**.
- Livingstone, D. R. (1991): Organic Xenobiotic Metabolism in Marine Invertebrates. *Advances in Comparative and Environmental Physiology*. **7**: 45- 185.
- Mallet, A. L., Carver, A. E. C.(1989): Growth, Mortality, and Secondary Production in Natural Populations of the Blue Mussel, *Mytilus edulis*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **46(7)**: 1154-1159.
- Mzighani, S. (2005): Fecundity and Population Structure of Cockles, *Anadara antiquata* L. 1758 (Bivalvia: Arcidae) from a Sandy/Muddy Beach near Dar es Salaam, Tanzania. *Western Indian Ocean Journal of Marine Science*. **4(1)**: 77-84.
- Newell, C. R., Wildish, D. J., McDonald, B. A. (2001): The effects of velocity and seston concentration on the exhalant siphon area, valve gape and filtration rate of the mussel *Mytilus edulis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **262(1)**: 91-111.
- Parsons, P. A. (1990): Fluctuating Assymetry: An Epigenetic Measure of Stress. *Biological Reviews*. **65(2)**: 131-145.
- Petrović, S., Semenčić, B., Ozretić, B., Ozretić, M. (2004): Seasonal variations of physiological and cellular biomarkers and their use in the biomonitoring of north adriatic coastal waters (Croatia). *Marine Pollution Bulletin*. **49(9-10)**: 713-720.
- Pelini, L. S., Diamond, S. E., MacLean, H., Ellison, M. A., Gotelli, N. J., Sanders, N. J., Dunn, R. R. (2012): Common garden experiments reveal uncommon responses across temperatures, locations, and species of ants. *Ecology and Evolution*. **2(12)**: 3009-3015.
- Portner, H. O., Knust, R. (2007): Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. *Science*. **315**: 95-97.
- Rawson, P. D., Agrawal, V., Hilbish, T. J. (1999): Hybridization between the blue mussels *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* along the Pacific coast of North America: evidence for limited introgression. *Marine Biology*. **134**:201-11.

- Reimer, O., Tadengren, M. (1996): Phenotypical Improvement of Morphological Defences in the Mussel *Mytilus edulis* Induced by Exposure to the Predator *Asterias rubens*. *Oikos*. **75(3)**: 383-390.
- Riginos, C., Cunningham, C. W. (2005): Local adaptation and species segregation in two mussel (*Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus*) hybrid zones. *Molecular Ecology*. **14**: 381–400.
- Rodhouse, P. G., McDonald, J. H., Newell, R. I. E., Koehn, R. K. (1986): Gamete production, somatic growth and multiple locus enzyme heterozygosity in *Mytilus edulis*. *Marine Biology*. **90**: 209–214.
- Rožmarič Mačefat, M.; Rogić, M., Barišić, D., Benedik, Lj., Štrok, M. i sur. (2013): Sustavno praćenje radioaktivnosti priobalnih voda Jadrana korištenjem dagnji (*Mytilus galloprovincialis*) kao bioindikatora. Simpozij hrvatskog društva za zaštitu od zračenja. Zagreb. **361-366**.
- Sanford, E. (1999): Regulation of keystone Predation by small changes in ocean temperature. *Science*. **283(5410)**: 2095- 2097.
- Smodlaka, Mirta (2015): Učinkovitost popravka DNA u prirodnim populacijama dagnje *Mytilus galloprovincialis* (DNA repair capacity in natural mussel *Mytilus galloprovincialis* population). Doktorska disertacija. Prirodoslovno-matematički fakultet-Geološki odsjek. Sveučilište u Zagrebu. Zagreb.
- Steffani C. N., Branch G. M. (2003): Growth rate, condition, and shell shape of *Mytilus galloprovincialis*: responses to wave exposure. *Marine Ecology Progress Series*. **246**: 197– 209.
- Stirling, P. H., Okumus, I. (1994): Growth, mortality and shell morphology of cultivated mussel (*Mytilus edulis*) stocks cross-planted between two Scottish sea lochs. *Marine Biology*. **119(1)**: 115-123.
- Suchanek, T. H., Geller, J. B., Kreiser, B. R., Mitton, J. B. (1997): Zoogeographic Distributions of the Sibling Species *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* (Bivalvia: Mytilidae) and Their Hybrids in the North Pacific. *The Biological Bulletin*. **193(2)**: 187-194.

- Štambuk, A., Šrut, M., Šatović, Z., Tkalec, M., Klobučar, G. I. V. (2013): Gene flow vs. pollution pressure: Genetic diversity of *Mytilus galloprovincialis* in eastern Adriatic. **136-137**: 22-31.
- Trush, S. F., Hewitt, J. E., Hickey, W. C., Kelly, S. (2008): Multiple stressor effects identified from species abundance distributions: Interactions between urban contaminants and species habitat relationships. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **366(1-2)**: 160-168.
- Van Valen, L. (1962): A Study of Fluctuating Asymmetry. *Evolution*. **16(2)**: 125-142.
- Valladares, A., Manríquez, G., Suárez-Isla, B. A. (2010): Shell shape variation in populations of *Mytilus chilensis* (Hupé 1854) from southern Chile: a geometric morphometric approach. *Marine Biology*. **157**: 2731–2738.
- Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, D., Koehler, A. (2007): The use of biomarkers in biomonitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. **146(3)**: 281-300.
- Viarengo, A. et al. (1995): Stress on stress response: A simple monitoring tool in the assessment of a general stress syndrome in mussels. *Mar. Environ.* **39**:245-8.
- Whitman, D. W., Agrawal, A. A. (2009): What is phenotypic plasticity and why is it important? U: Whitman D. W., Ananthakrishnan T. N. (ur.) *Phenotypic plasticity of insects: Mechanisms and Consequences*. Science Publishers: Enfield, str. 1–63.
- Zardi, G. I., McQuaid, C. D., Nicastro, K. R. (2007): Balancing survival and reproduction: seasonality of wave action, attachment strength and reproductive output in indigenous *Perna perna* and invasive *Mytilus galloprovincialis* mussels. *Marine Ecology Progress Series*. **334**: 155-163.
- Župan, I. (2012): Integralni uzgoj dagnje (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) i kunjke (*Arca noae* Linnaeus, 1758) na uzgajalištima riba ( Integrated aquaculture of Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) and Noah's ark shell (*Arca noae* Linnaeus, 1758) on fish farms). Doktorska disertacija, Sveučilište u Splitu. Sveučilište u Dubrovniku, Institut za oceanografiju i ribarstvo. Sveučilišni studijski centar za studije mora, Split.

## **Ostali izvori**

1. Morphometrics

<https://en.wikipedia.org/wiki/Morphometrics> (26.1.2017)

2. Transplant experiment

[https://en.wikipedia.org/wiki/Transplant\\_experiment](https://en.wikipedia.org/wiki/Transplant_experiment) (8.2.2017)

## ŽIVOTOPIS

Ivona Vidović

Osobni podaci

- Datum i mjesto rođenja: 11. siječnja 1992. godine, Zenica, BiH
- Adresa prebivališta: Krušiča b.b., Vitez, BiH
- Email: [ivona.vtz@gmail.com](mailto:ivona.vtz@gmail.com)

Završeno obrazovanje:

- Sveučilište u Mostaru, Prirodoslovno-matematički fakultet, preddiplomski studij Znanosti o okolišu
- Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno–matematički fakultet, Biološki odsjek, diplomski studij, smjer: Ekologija i zaštita prirode, modul: Kopnene vode
- Srednja škola „Vitez“ u Vitezu, Opća gimnazija
- Osnovna škola „Vitez“ u Vitezu