

# Utjecaj različitih izvora otopljenog organskog ugljika na kolnjake (Rotifera) plitkih jezera

---

Žavrljan, Anamarija

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:217:902680>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Anamarija Žavrljan

**Utjecaj različitih izvora otopljenog  
organskog ugljika na kolnjake (Rotifera)  
plitkih jezera**

Diplomski rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Anamarija Žavrljan

**Impact of different sources of dissolved  
organic carbon on rotifers in shallow lakes**

Master thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj rad je izrađen u Laboratoriju za beskralježnjake na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod voditeljstvom prof. dr. sc. Marie Špoljar. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra struke znanosti o okolišu.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Diplomski rad

## Utjecaj različitih izvora otopljenog organskog ugljika na kolnjake (Rotifera) plitkih jezera

Anamarija Žavrljan

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Klimatske promjene uzrokuju povećan unos otopljenog organskog ugljika (eng. *Dissolved Organic Carbon*, DOC) u jezerske ekosustave što dovodi do promjene fizikalno-kemijskih čimbenika, sastava zooplanktona te odnosa u hranidbenim mrežama. Kolnjaci, kao važna komponenta zooplanktona slatkovodnih stajaćica, značajno doprinose prijenosu ugljika s nižih na više trofičke razine. U sklopu ovog rada razmatran je utjecaj labilnijeg i teže razgradivog organskog ugljika na jezerske ekosustave koristeći mezokozmose (konstruirane *in situ* pokuse). Stoga su ciljevi ovog rada bili utvrditi i procijeniti: (i) utjecaj različitih izvora DOC-a na strukturalna i funkcionalna obilježja kolnjaka; (ii) utjecaj abiotičkih i biotičkih čimbenika na sastav kolnjaka; te (iii) oporavak ekosustava. Veća raznolikost, abundancija i biomasa kolnjaka zabilježene su u mezokozmosu s dodatkom labilnijeg ugljika u odnosu na mezokozmos s dodatkom teže razgradivog ugljika. Tijekom pokusa došlo je do izmjene funkcionalnih hranidbenih i ekoloških skupina kolnjaka, gdje su planktonske nanoalgivorne vrste kolnjaka (*Keratella cochlearis*), dominantne na početku, zamijenjene sa semiplanktonskim detritivornim vrstama (*Lecane* spp. i *Lepadella patella*) dominantnim na kraju pokusa. Nastale biocenološke promjene odgovor su na veće koncentracije klorofila *a* na početku te većih koncentracija DOC-a i hranjivih tvari na kraju pokusa. Rezultati ovog rada ukazuju na mogućnost oporavka ekosustava i važnost kolnjaka kao indikatora u procjeni promjena ekološkog stanja plitkih vodenih tijela.

(60 stranica, 16 slika, 5 tablica, 108 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: zooplankton, alohtoni izvori otopljenog organskog ugljika, klimatske promjene, mezokozmos, oporavak ekosustava

Voditelj: prof. dr. sc. Maria Špoljar

Ocjenitelji: prof. dr. sc. Maria Špoljar

prof. dr. sc. Sanja Gottstein

prof. dr. sc. Vlasta Čosović

doc. dr. sc. Kristina Pikelj

Rad prihvaćen: 18. veljače 2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Master Thesis

### Impact of different sources of dissolved organic carbon on rotifers in shallow lakes

Anamarija Žavrljan

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Climate changes cause increased input of dissolved organic carbon (DOC) in shallow lake ecosystems, leading to alterations in physico-chemical factors, composition of zooplankton and food web interactions. Rotifers as an important component of freshwater plankton significantly contribute to the carbon transfer from lower to higher trophic levels. In this study *in situ* mesocosms were used to determine the impact of labile and recalcitrant carbon on lake ecosystems. The main objectives of this study were to determine and assess: (i) the impact of different sources of DOC on the structural and functional traits of rotifers; (ii) the influence of abiotic and biotic factors on composition of rotifers; and (iii) ecosystem recovery. Higher diversity, abundance and biomass of rotifers were observed in the mesocosm with labile carbon compared to the mesocosm with recalcitrant carbon. During the experiment, planktonic nanoalga species of rotifers (*Keratella cochlearis*), dominant at the beginning, were replaced by semiplankton detritivore species (*Lecane* spp. and *Lepadella patella*) dominant at the end of the experiment. The biocenological changes were caused by higher concentrations of chlorophyll *a* at the beginning and higher concentrations of DOC and nutrients at the end of the experiment. The results of this study indicate the possibility of ecosystem recovery and the importance of rotifers as indicators in assessing changes in the ecological status of shallow water bodies.

(60 pages, 16 figures, 5 tables, 108 references, original in: croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Keywords: zooplankton, allochthonous sources of dissolved organic carbon, climate changes, mesocosm, ecosystem recovery

Supervisor: prof. dr. sc. Maria Špoljar

Reviewers: prof. dr. sc. Maria Špoljar

prof. dr. sc. Sanja Gottstein

prof. dr. sc. Vlasta Čosović

doc. dr. sc. Kristina Pikelj

Thesis accepted: 18<sup>th</sup> February, 2022

*Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Mariji Špoljar na pomoći pri radu u laboratoriju i tijekom pisanja ovog diplomskog rada te prof. dr. sc. Sanji Gottstein koja je zajedno s mojom mentoricom sudjelovala u postavljanju mezokozmosa i uzimanju uzoraka.*

*Također zahvaljujem mag. prot. nat. et amb. Mariji Purgar na pomoći pri analizi i obradi podataka.*

*Hvala mojoj obitelji i zaručniku na neizmjerljivoj potpori tijekom cijelog studija.*

## **Lista kratica**

C – mezokozmos bez dodatka ugljika

Chl *a* – klorofil *a*

DIN – (eng. *Dissolved Inorganic Nitrogen*) otopljeni anorganski dušik

DM – (eng. *Dry Mass*) suha masa

DO – (eng. *Dissolved Oxygen*) otopljeni kisik

DOC – (eng. *Dissolved Organic Carbon*) otopljeni organski ugljik

DOC-L – mezokozmos s dodatkom labilnijeg ugljika

DOC-M – mezokozmos s kombinacijom labilnijeg i teže razgradivog ugljika

DOC-R – mezokozmos s dodatkom teže razgradivog izvora ugljika

DOM – (eng. *Dissolved Organic Matter*) otopljene organske tvari

PAR – (eng. *Photosynthetically Active Radiation*) fotosintetski aktivno zračenje

POM – (eng. *Particulate Organic Matter*) suspendirane organske tvari

SRP – (eng. *Soluble Reactive Phosphorus*) topljivi reaktivni fosfor

TC – (eng. *Total Carbon*) ukupni ugljik

TN – (eng. *Total Nitrogen*) ukupni dušik

TP – (eng. *Total Phosphorus*) ukupni fosfor

WM – (eng. *Wet Mass*) mokra masa



# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Zooplankton plitkih jezera.....	2
1.2. Mezokozmos – eksperimentalni sustavi.....	4
1.2.1. Obilježja mezokozmosa.....	5
1.3. Otopljeni organski ugljik u vodenim ekosustavima.....	7
1.4. Ciljevi istraživanja.....	10
2. MATERIJALI I METODE.....	11
2.1. Postavljanje mezokozmosa.....	11
2.2. Sakupljanje i analiza uzoraka zooplanktona.....	13
2.3. Analiza limnoloških čimbenika.....	14
2.4. Obrada podataka.....	15
3. REZULTATI.....	17
3.1. Fizikalno-kemijski čimbenici u istraživanim mezokozmosima.....	17
3.2. Obilježja kolnjaka u istraživanim mezokozmosima.....	24
3.3. Interakcije kolnjaka s fizikalno-kemijskim čimbenicima u mezokozmosima.....	30
4. RASPRAVA.....	34
5. ZAKLJUČAK.....	40
6. LITERATURA.....	41
7. ŽIVOTOPIS.....	52

## 1. UVOD

Većinu lentičkih ekosustava u svijetu predstavljaju plitka vodena tijela (jezera, bare, močvare), relativne dubine  $\leq 3$  metara (Kalff 2002). Ekosustavi plitkih vodenih tijela imaju veliku ekološku važnost: biokemijski ciklusi, bioraznolikost, specifični makroklimatski i mikroklimatski uvjeti, razmnožavanje ptica i riba (Céréghino i sur. 2008). Plitka vodena tijela jedna su od najugroženijih antropogenim utjecajima i klimatskim promjenama koje smanjuju raznolikost staništa i vrsta te narušavaju funkcioniranje cjelokupnog ekosustava (Špoljar i sur. 2018). Osim toga, plitki slatkovodni ekosustavi značajni su u obnašanju usluga ekosustava kao izvori pitke vode, koriste se za poljoprivredne aktivnosti, npr. navodnjavanje, važni su za akvakulturu te su odredišta brojnih sportskih i rekreacijskih aktivnosti (Beklioglu i sur. 2016; Špoljar i sur. 2018).

Antropogeni utjecaji, osim klimatskih promjena, često uzrokuju eutrofikaciju (povećanje koncentracije hranjivih tvari ili nutrijenata), onečišćenje toksičnim tvarima (pesticidima, teškim metalima, poliaromatskim ugljikovodicima, lijekovima, mikroplastikom) i zakiseljavanje plitkih jezera. Također i unošenje invazivnih biljaka i životinja koje uzrokuju smanjenje biološke raznolikosti (Beklioglu i sur. 2016). Klimatske promjene, uključujući i globalano zagrijavanje, povećavaju pojavu ekstremnih vremenskih prilika poput toplinskih valova, oluja, iznenadnih i intenzivnih oborina te suša koje utječu na plitka jezera (Jeppesen i sur. 2021). U dubokim jezerima toplinski valovi i mirna razdoblja bez vjetra dovode do izraženije stratifikacije, dok u jezerima s većim koncentracijama hranjivih tvari (nutrijentima: fosfatima i nitratima), više temperature pogoduju povećanju biomase cijanobakterija (Bartosiewicz i sur. 2019). Slični uvjeti u plitkim jezerima mogu dovesti do privremene stratifikacije te povećane koncentracije fosfora u jezeru, a time i do eutrofikacije (Deng i sur. 2018). Oluje mogu povećati dubinu sloja miješanja vode i u kombinaciji s kišom mogu dovesti do povećanog unosa otopljene organske tvari ispiranjem s okolnog tla i unosom iz slivova s povećanim protokom otopljenog organskog ugljika što također može dovesti do eutrofikacije (Beklioglu i sur. 2017). Učinci navedenih ekstremnih vremenskih uvjeta mogu biti kratkotrajni, no ako se češće pojavljuju, posljedice na plitka jezera mogu biti i dugotrajne, posebno u jezerima s duljim vremenom zadržavanja vode (Jennings i sur. 2012).

Prema teoriji alternativnih stabilnih stanja, plitka jezera mogu biti u stanju prozirne ili mutne vode (Sceffer i sur. 1993). Plitka jezera mogu naglo prijeći iz prozirnog u mutno stanje npr. povećanjem koncentracija hranjivih tvari, posebno fosfora, no povratak u prozirno stanje

najčešće zahtjeva velike napore i provođenje restauracijskih metoda (drenaža sedimenta, biomanipulacija ribama ili uspostava submerznih makrofita) (Scheffer i sur. 1993; Beklioglu i sur. 2003). Mutno stanje jezera obilježavaju veće koncentracije ukupnog fosfora, biomase fitoplanktona, porast biomase planktivornih i bentivornih riba te redukcija algivornog zooplanktona. Prozirno stanje obilježava veća biomasa submerznih makrofita i algivornog zooplanktona. Makrofiti (makroskopski autotrofni vodeni organizmi), posebno submerzni, mogu značajno promijeniti abiotičke (koncentraciju kisika i nutrijenata, intenzitet svjetlosti) i biotičke čimbenike (dostupnost i raznolikost hrane, predacija) u jezerima (Špoljar i sur. 2017, 2021).

Plitka jezera predstavljaju žarišta biološke raznolikosti, staništa su mnogim vrstama fitoplanktona, zooplanktona, makrofita, beskralježnjaka, riba, vodozemaca, gmazova i ptica vodarica (Beklioglu i sur. 2016). Na raznolikost, brojnost i biomasu slatkovodnih organizama, npr. zooplanktona te na njihove životne funkcije: prehranu, rast, razmnožavanje, migraciju, utječu brojni abiotički (temperatura, koncentracija kisika) i biotički (dostupnost hrane, predacija, kompeticija) čimbenici. U malim plitkim jezerima često su biotičke interakcije značajnije u strukturiranju i određivanju prostornog rasporeda zooplanktona, dok je utjecaj abiotičkih čimbenika manje izražen (Lévésque i sur. 2010). Brze promjene u okolišu zahtjevaju brze prilagodbe slatkovodnih organizama na novonastale uvjete.

### **1.1. Zooplankton plitkih jezera**

U planktonu jezera od autotrofnih organizama prevladavaju alge ili fitoplankton, a od heterotrofnih organizama jednostanični protozooplankton i višestanični, metazooplankton, čije dominantne skupine su kolnjaci (Rotifera) te rakovi, rašljoticalci (Cladocera) i veslonošci (Copepoda) (Špoljar i Ternjej 2017). Zooplankton pokazuje brze odgovore na promjene u okolišu, a time i klimatske promjene, a njegov sastav značajno određuje dostupnost izvora hrane, prvenstveno fitoplanktona i suspendiranih organskih čestica (detritusa i bakterija) ili sestona (0,5 - 50  $\mu\text{m}$ ) (Špoljar i sur. 2018; Calderó-Pascual i sur. 2021). Uslijed eutrofikacije povećava se predacijski pritisak na zooplankton jer se povećanjem koncentracije hranjivih tvari mijenja sastav ribljih zajednica. Naime, smanjuje se brojnost piscivornih riba koje su predatori planktivornim ribama što znači da u takvim uvjetima dominiraju planktivorne ribe koje se hrane većim zooplanktonima (Jeppesen i sur. 2010). Osim toga, zooplankton ima vrlo važnu ulogu u vodenim hranidbenim mrežama jer koristi ugljik kao izvor hrane i prenosi ga od primarnih

producenata na više trofičke razine do planktivornih i predatorskih riba (Cole i sur. 2011; Špoljar i sur. 2018).

Kvalitativni i kvantitativni sastav zooplanktona određen je mehanizmima „*bottom-up*“ (dostupost hrane i nutrijenata) i „*top-down*“ (predacijski pritisak) regulacije (Jeppesen 2011). Predatori zooplanktona su planktivorne ribe (vizualni predatori), makrobekralježnjaci (taktilni predatori) i predatorske vrste unutar zooplanktona, npr. kolnjak *Asplanchna*, rašljoticalac *Leptodora kindti*, kopepoditi i adultni stadij veslonožaca iz skupine Cyclopoida (Špoljar i sur. 2011b, 2018). Intenzivna predacija planktivornih riba može promijeniti strukturu zajednice zooplanktona smanjujući brojnost efikasnih algivornih rašljoticalaca većeg tijela čime se povećava brojnost fitoplanktona te jezero postaje mutno, što ujedno smanjuje učinkovitost vizualnih predatora (planktivornih riba) (Jeppesen i sur. 2011; Špoljar i sur. 2018). „*Top-down*“ kontrola najčešće je izraženija u plitkim jezerima osim u jezerima s visokim udjelom submerznih makrofita (Špoljar i sur. 2017). Litoralna zona sa submerznim makrofitima smanjuje predaciju riba i predstavlja sklonište za potencijalni plijen, npr. veće algivorne rašljoticalce (Špoljar i sur. 2017, 2021). Fitoplankton (primarni producent) utječe na produkciju cjelokupne hranidbene mreže jezera, a direktno na algivore (primarne konzumente) kao višu trofičku razinu kojima služi kao izvor hrane (*bottom-up* kontrola), a količina i kvaliteta njegove biomase ovise o dostupnosti hranjivih tvari (Du i sur. 2015). Veličina tijela zooplanktona bitno utječe na preživljavanje, metabolizam i razmnožavanje (Hart i Byчек 2011). Veći organizmi lakše se prilagode stresnom okruženju zbog veće sposobnosti kompeticije, otpornosti na gladovanje i većih zaliha energije (Hart i Byчек 2011). Međutim, u određenim slučajevima, npr. eutrofnim uvjetima s dominacijom fitoplanktona, manje vrste rašljoticalaca uspješnije su u kompeticiji od velikih jer mogu promijeniti način hranjenja (Onandia i sur. 2015).

Zooplankton pripada najrasprostranjenijim vodenim organizmima, smatra se dobrim pokazateljem kvalitete vode, a poznavanje strukture i funkcioniranja ove biocenološke komponente bitno je za razumijevanje lentičkih vodenih ekosustava (Litchman i sur. 2013). Njegova raznolikost, brojnost te veličinske i trofičke (hranidbene) kategorije doprinose tumačenju stupnja trofije i kvalitete vode pojedinog sustava (Špoljar i sur. 2021). Planktonski organizmi izvrstan su indikator promjena uvjeta u vodenim ekosustavima zbog kratkog reproduktivnog ciklusa koji omogućuje istraživanje kroz nekoliko generacija u relativno kratkom vremenskom razdoblju i brže reakcije na promjene u okolišu što omogućava prikupljanje velikog broja uzoraka (Scheffer i sur. 2000). Promjenom, odnosno povećanjem, stupnja trofije zooplankton najprije povećava brojnost populacija, zatim smanjuje raznolikost,

mijenja se omjer hranidbenih skupina, povećavaju se detritivori u odnosu na algivore, i veličinskih kategorija te se povećava brojnost jedinki manjih dimenzija (Špoljar i sur. 2011a, 2021).

Kolnjaci su često najzastupljenija skupina metazooplanktona plitkih jezera (Špoljar i sur. 2011b; Ejsmont-Karabin 2019; Kuczyńska-Kippen i sur. 2021). Većina poznatih vrsta kolnjaka živi u slatkim vodama i predstavlja važnu sastavnicu slatkovodnog zooplanktona te ima značajnu ulogu u slatkovodnim hranidbenim mrežama (Ejsmont-Karabin i Karpowicz 2021; Wallace i sur. 2021). Mogu biti planktonski i semiplanktonski do bentoski oblici od kojih je, većina vrsta vezana uz obraštaj i bentos. Smatraju se organizmima širokog areala, a njihova rasprostranjenost više je ograničena ekološkim nego geografskim barijerama (Ejsmont-Karabin 2019). Kolnjaci često mogu biti u kompeticiji za hranu s drugim zooplanktonima, npr. rašljoticalcima koji koriste slične izvore hrane (Špoljar i sur. 2018). Iako su rašljoticalci učinkovitiji u filtriranju, kolnjaci postižu veću brojnost populacija zbog manjih energetskehtjeva i velikog reprodukciskog potencijala (Špoljar i Ternjej 2017).

## **1.2. Mezokozmos - eksperimentalni sustavi**

Mezokozmos je eksperimentalni sustav koji simulira uvjete stvarnog okoliša, ali istodobno omogućava manipulaciju okolišnih čimbenika pa se često smatra eksperimentalnim ekosustavom najbližijim stvarnom okolišu (Lampert i Sommer 2007). Tijekom posljednjih tridesetak godina mezokozmosi se sve češće koriste za lakše razumijevanje vodenih ekosustava (Robidoux i sur. 2015; Solomon i sur. 2015; Lebret i sur. 2018). Za razliku od laboratorijskih pokusa, mezokozmos istraživanja omogućavaju održavanje prirodnih zajednica u prirodnim uvjetima uzimajući u obzir relevantne aspekte iz stvarnog okoliša poput razgradnje tvari, oporavka i otpornosti ekosustava (Hillebrand i sur. 2017). Mezokozmosi su manjeg opsega i postavljeni su u pretežno kontroliranim uvjetima u odnosu na istraživanja prirodnih ekosustava te su opsežniji i sličniji prirodnim uvjetima u odnosu na laboratorijske pokuse (Lampert i Sommer 2007). *In situ* mezokozmosi koriste se za proučavanje funkcioniranja vodenih ekosustava te vjerojatnosti uspjeha restauracijskih ili biomanipulacijskih zahvata. Osim *in situ* mezokozmosa često se koriste i *ex situ* pokusi, odnosno umjetne simulacije vodenih ekosustava na otvorenom i zatvorenom prostoru (Šorf i sur. 2015).

### 1.2.1. Obilježja mezokozmosa

Obilježja mezokozmosa su veličina eksperimentalnih bazena, vrijeme trajanja pokusa i biocenološka složenost. Mezokozmosi mogu biti manje plastične posude ili bazeni, veći spremnici od polietilena, potpuno ili djelomično izolirani dijelovi jezera ili bazeni i spremnici na kopnu (McKee i sur. 2000, 2002; Lacerot i sur. 2013). Veličina eksperimentalnih bazena ovisi o cilju istraživanja, može biti stotine ili tisuće litara što je povezano i s brojem organizama u mezokozmosu. Srednji i veliki mezokozmosi često sadrže veće organizme s duljim životnim vijekom poput riba dok su u manjim mezokozmosima organizmi veličine tijela svega nekoliko mikrometara s kraćim životnim vijekom, kao npr. zooplankton (Stewart i sur. 2013). Trajanje mezokozmos istraživanja ima širok raspon, od nekoliko dana, mjeseci do godina. Najduži svjetski mezokozmos postavljen je 2003. godine na Sveučilištu Aarhus u Danskoj, a aktivan je još i danas (Slika 1; <https://www.aquacosm.eu>).



Slika 1. Slatkovodni mezokozmos u Danskoj izgrađen 2003. godine (preuzeto iz <https://www.aquacosm.eu>)

Kao i sve ostale metode, mezokozmos sustavi imaju prednosti i nedostatke (Tablica 1, Coelho i sur. 2013). Glavne prednosti su kontrola i mogućnost regulacije abiotičkih i biotičkih čimbenika kao i mogućnost ponavljanja pokusa (Petchey i sur. 2002; Coelho i sur. 2013). Iako neki smatraju da su prostorno i vremenski premali, sve češće se koriste i ključni su u donošenju bitnih zaključaka o funkcioniranju vodenih ekosustava (Jessup i sur. 2004).

Tablica 1. Glavne prednosti i nedostaci mezokozmosa u odnosu na jezerski ekosustav (prilagođeno na temelju Coelho i sur. 2013)

	Jezero	Mezokozmos
Mogućnost ponavljanja	+	++
Precizna kontrola okolišnih čimbenika	+	++
Kontrola tretmana koji se koriste	+	++
Prostorna i vremenska skala	+++	++
Višestruke trofičke interakcije	+++	+++
Oponašanje ekosustava	+++	++
Složenost sustava	+++	++

+, ograničeno; ++ umjereno; +++ potpuna kontrola.

Razumijevanje i predviđanje ekoloških posljedica klimatskih promjena zahtjeva upotrebu složenih metoda u uspostavi mezokozmosa (Stewart i sur. 2013). Iako se na početku relativno sporo prihvaćao pristup mezokozmosa u istraživanju klimatskih promjena, u današnje vrijeme sve više resursa koristi se za duga i opsežna istraživanja zbog sve veće potrebe za realnim, terenskim testiranjem teorija i modela (Stewart i sur. 2013). Za istraživanje klimatskih promjena najbolje je koristiti velike i dugotrajne mezokozmose jer se smatra da su rezultati pouzdaniji s obzirom na razumijevanje odgovora ekosustava na klimatske promjene (Chave 2013).

U recentnim istraživanjima, najčešće se postavljaju mezokozmosi koji imaju za cilj istražiti odgovore ekosustava na globalne klimatske promjene i probleme. Koriste se za proučavanje izravnih i neizravnih posljedica klimatskih promjena na vodene ekosustave poput povećanja protoka vode, zaslanjivanja i zamućenja vode uzrokovano povećanim koncentracijama hranjivih tvari, kao i krajnje posljedice klimatskih promjena poput kruženja dušika i ugljika (Yvon-Durocher i sur. 2010; Nicolle i sur. 2012). Yvon-Durocher i suradnici (2010) koristili su mezokozmose za istraživanje utjecaja temperature na ciklus ugljika i zaključili da bi se temperaturna ovisnost primarne proizvodnje i disanja u vodenim ekosustavima mogla razlikovati od onih u kopnenim ekosustavima, a to bi moglo biti ključno u predviđanju budućeg odgovora ciklusa ugljika na globalno zagrijavanje. Rezultati istraživanja ukazuju na to da je temperaturna ovisnost primarne proizvodnje u vodenim ekosustavima izraženija nego u kopnenim ekosustavima što sugerira da bi fotosinteza u vodi mogla biti učinkovitija na višim

temperaturama nego fotosinteza kopnenih biljaka. Nicolle i suradnici (2012) u mezokozmosima su istraživali utjecaj temperature i zamućenja vode na planktonske zajednice te zaključili da je povećana temperatura dovela do ranijeg maksimuma rasta fitoplanktona i zooplanktona, a zamućenje vode dovelo je i do smanjenja koncentracije klorofila *a*.

S obzirom da omogućuju kontrolirane uvjete mezokozmosi služe za jednostavnije istraživanje promjena vodenih zajednica (planktona, mikroorganizama, makrofita, makrobeskralježnjaka i riba) s ciljem smanjenja negativnih utjecaja (antropogenih i klimatskih promjena) u lentičkim ekosustavima (McKee i sur. 2002; Moss 2003; Nicolle i sur. 2012; Shurin i sur. 2012). Feuchtmayr i suradnici (2010) u mezokozmosima su istraživali utjecaj porasta temperature i povećanja hranjivih tvari u jezerskim ekosustavima, kao okolišne uvjete u narednim desetljećima zahvaćenim klimatskim promjenama. Porast temperature uzrokovao je očekivano raniji maksimum razvoja zooplanktona, a dodavanje hranjivih tvari (dušika i fosfora) uzrokovalo je kasniju pojavu maksimuma razvoja fitoplanktona i zooplanktona što je bilo suprotno prethodnim pretpostavkama. Shurin i suradnici (2012) istraživali su utjecaj povišene temperature na „*bottom-up*“ i „*top-down*“ mehanizme u jezerskim ekosustavima i zaključili da zagrijavanje ima niz neizravnih učinaka na vodene hranidbene mreže. Zaključili su da se porastom temperature biomasa bentoskih i pelagičkih autotrofa smanjila, dok se biomasa zooplanktona nije promijenila.

### **1.3. Otopljeni organski ugljik u vodenim ekosustavima**

Kopnene vode ključne su sastavnice globalnog ciklusa ugljika jer transportiraju, transformiraju i pohranjuju veliki dio otopljenih organskih tvari (eng. *Dissolved Organic Matter*, DOM), uključujući i otopljeni organski ugljik (eng. *Dissolved Organic Carbon*, DOC) porijeklom iz kopnenih ekosustava (Weyhenmeyer i sur. 2015; Holgerson i Raymond 2016). DOM je složena smjesa topljivih organskih spojeva koji se razlikuju po reaktivnosti i ekološkoj ulozi (Fellman i sur. 2010). Smatra se jednim od najvećih izvora biološki dostupnog organskog ugljika (Battin i sur. 2009). U kopnenim vodama potječe od organskih tvari koje se nalaze u sedimentu, okolnom tlu, priobalnoj vegetaciji, planktonu i makrofitima (Paerl i Otten 2013).

DOM je supstrat u mikrobnoj i fotokemijskoj razgradnji, a nastale organske i anorganske hranjive tvari oslobođene tim reakcijama mogu uzrokovati eutrofikaciju vodenog ekosustava (Kellerman i sur. 2015). Smatra se da korištenje zemljišta, hidrologija, temperatura i hranjive tvari utječu na kemijski sastav, a time i kvalitetu DOM-a što može promijeniti funkcioniranje ekosustava (Findlay i Sinsabaugh 2003; Kellerman i sur. 2015). Autohtoni ugljik koji nastaje



kao rezultat *in situ* bioloških procesa smatra se labilnijim od alohtonog ugljika porijeklom iz kopnenih ekosustava (Søndergaard i Middelboe 1995; Solomon 2015).

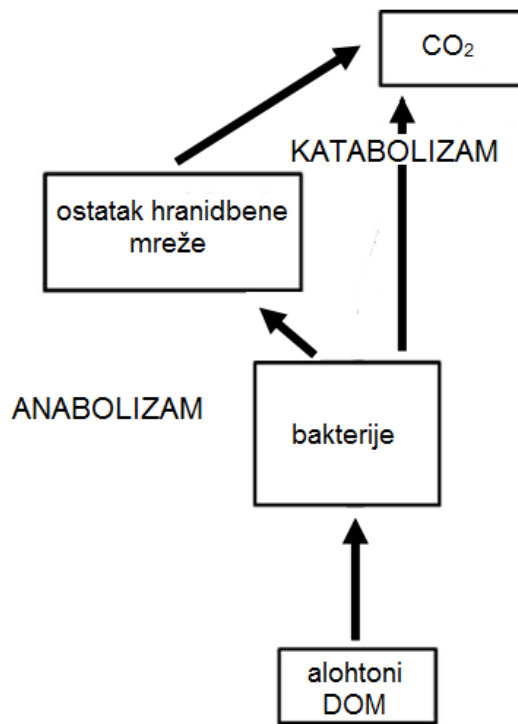
Smatra se da povećane koncentracije hranjivih tvari i klimatske promjene pogoduju dominaciji cijanobakterija i dovode do povećanja njihove biomase što može povećati nakupljanje autohtonog DOM-a u kopnenim vodama (Paerl i Otten 2013; Rosemond i sur. 2015). Osim toga, obogaćivanje hranjivim tvarima i globalno zagrijavanje mogu dodatno potaknuti mikrobnu razgradnju suspendirane organske tvari (eng. *Particulate Organic Matter*, POM) čime se povećava oslobađanje autohtonog DOM-a (Rosemond i sur. 2015). Svježi DOM podložniji je mikrobnoj razgradnji i fotooksidaciji te služi kao glavni izvor ispuštanja CO<sub>2</sub> iz slatkovodnih ekosustava u atmosferu (Mayorga i sur. 2005).

DOC kao sastavni dio DOM-a ima vrlo važnu ulogu u funkcioniranju vodenih ekosustava. Intenzivnije oborine i promjene temperature uzrokovane klimatskim promjenama kao i promjene u hidrologiji sliva i korištenju zemljišta uzrok su povećanog unosa otopljenog organskog ugljika u vodene ekosustave (Evans i sur. 2005; Monteith i sur. 2007). Povećanje alohtonih organskih tvari, otpornijih na mineralizaciju koje potječu od priobalnog drveća i priobalne flore u jezerskim ekosustavima kao i klimatske promjene koje mijenjaju kvalitetu i količinu ugljika u jezerima mogu uzrokovati zamućenje vode i dovode do promjena sastava zajednica vodenih ekosustava (Forsström i sur. 2013; Solomon i sur. 2015; Špoljar i sur. 2017; Lebret i sur. 2018; Minguez i sur. 2019).

Zamućenje vode uzrokovano porastom alohtonog DOM-a u slatkovodnim ekosustavima dovodi do neizravnih negativnih učinaka, npr. stvaranja hipolimnijske anoksije te smanjenja učinkovitosti planktivornih riba u hvatanju plijena (Karlsson i sur. 2015; Creed i sur. 2018). Pozitivan učinak povećanja koncentracije DOM-a je zaštita organizama od štetnog UV zračenja (Rautio i Korhola 2002). Unos alohtonog DOM-a utječe na produkciju jezera. Kelly i suradnici (2014) te Craig i suradnici (2017) smatraju da zamućenje vode smanjuje produktivnost na primarnoj, ali i višim trofičkim razinama dok su Zwart i suradnici (2017) utvrdili pozitivan utjecaj na produktivnost fitoplanktona i zooplanktona. Pace i suradnici (2004), Berggren i suradnici (2010) te Cole i suradnici (2011) zaključili su da alohtoni ugljik pomaže zooplanktonu nadopunjujući autohtone izvore, dok Francis i suradnici (2011) smatraju da alohtoni ugljik ima samo mali doprinos biomasi zooplanktona.

Alohtoni DOM ima važnu ulogu u hranidbenim mrežama jezerskih ekosustava i emisiji ugljika u atmosferu te služi kao supstrat za anabolički i katabolički metabolizam (Pace i sur. 2004;

Solomon i sur. 2015). Heterotrofne bakterije koriste dostupan DOM u jezerskim ekosustavima kao izvor hrane te se ugljik preko njih dalje prenosi i anaboličkim procesima ugrađuje u više trofičke razine, npr. zooplankton i ribe ili se kataboličkim procesima oslobađa u obliku CO<sub>2</sub> (Slika 2; Pace i sur. 2004; Berggren i sur. 2010; Cole i sur. 2011).



Slika 2. Ciklus alohtonih izvora DOM-a u jezerskim ekosustavima (prilagođeno prema Solomon i sur. 2015)

DOC se preko organizama mikrobnog ciklusa, bakterija, bičica i trepetljikaša značajno unosi u planktonsku hranidbenu mrežu (Cole i sur. 2006; Hitchcock i sur. 2015). Vodene zajednice različito su prilagođene na zamućenje jezera uzrokovano povećanim unosom DOC-a što dovodi do povećanja biomase bakterija, usporavanja rasta algi i submerznih makrofita, smanjene dostupnosti hrane zooplanktonu te krajnje do promjene metaboličkih procesa izazivajući oksidativni fiziološki stres (Blomqvist i sur. 2001; Saebelfeld i sur. 2017; Špoljar i sur. 2018).

Degerman i suradnici (2018) koristili su mezokozmose za istraživanje utjecaja DOC-a na dvije hranidbene mreže koje su se razlikovale u najvišoj trofičkoj razini: u jednom pokusu krajnji predator bio je zooplankton i njegova produkcija se povećala, dok su u drugom pokusu krajnji predatori bile planktivorne ribe te se njihova produkcija smanjila. Lebet i suradnici (2018) zaključili su da povećana koncentracija humusne kiseline na vodene ekosustave smanjuje prozirnost, dok se biomasa i sastav zooplanktona nisu značajno promijenili. Cottingham i

suradnici (2013) utvrdili su da jesenski pad lišća mijenja prozirnost vode, pH i ukupan fosfor u jezeru, a odgovor fitoplanktona i zooplanktona na promjene u hranjivim tvarima i količini svjetlosti ovisi o količini dodanog lišća.

#### 1.4. Ciljevi istraživanja

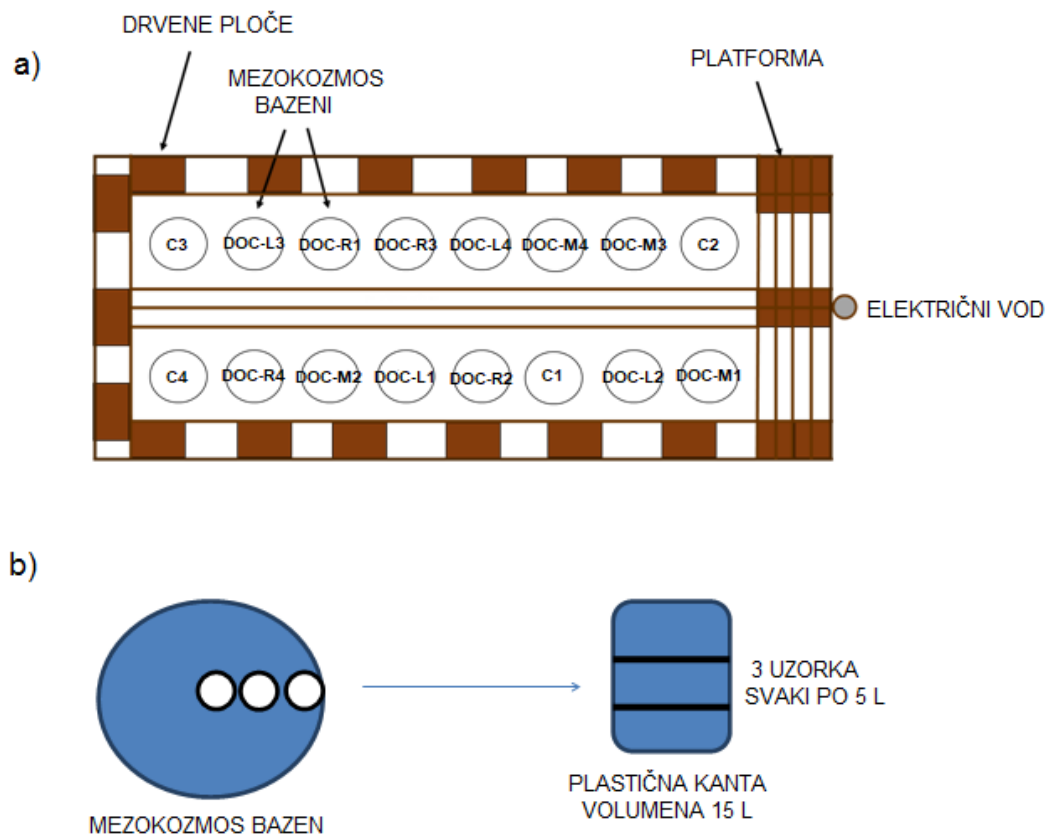
Plitka vodena tijela kao najrasprostranjeniji slatkovodni ekosustavi imaju značajnu ekološku važnost u biokemijskom ciklusu ugljika (Céréghino i sur. 2008). Klimatske promjene, kojima su izloženi ovi ekosustavi, mijenjaju količinu i kvalitetu jezerskog ugljika uslijed povećanog unosa alohtonog DOC-a, što može dovesti do zamucenja vode i promjena strukturalnih (raznolikosti, brojnosti i biomase) i funkcionalnih obilježja (hrandibene kategorije, izbor staništa) zooplanktona i ostalih vodenih organizama (Forsström i sur. 2013; Robidoux i sur. 2015; Solomon i sur. 2015; Lebret i sur. 2018; Minguez i sur. 2019). Iako u brojnim plitkim stajaćicama kolnjaci najviše doprinose raznolikosti i abundanciji zooplanktona, većina dosadašnjih istraživanja usmjerena je na proučavanju planktonskih rakova (Brett i sur. 2009; McMeans i sur. 2015; Robidoux i sur. 2015; Tang i sur. 2017; Minguez i sur. 2019). Ovo istraživanje jedno je od malobrojnih (Hitchcock i sur. 2015) u kojem se razmatra odgovor kolnjaka na izvore DOC-a, a dobiveni rezultati koristit će se za lakše razumijevanje odgovora jezerskog ekosustava na povećan unos alohtonog DOC-a. Sve više radova ukazuje da prijenos DOC-a na više trofičke razine ovisi o količini i kvaliteti njegovih izvora (Blomqvist i sur. 2001; Marcarelli i sur. 2011; Hitchcock i sur. 2015). Pretpostavka je da će izvori DOC-a: labilniji, DOC-L (eng. *Dissolved Organic Carbon - Labile*), te postojaniji i teže razgradivi, DOC-R (eng. *Dissolved Organic Matter - Recalcitrant*) različito utjecati na stres i oporavak kolnjaka kao i ekosustava u cjelini. Stoga su ciljevi ovog istraživanja bili sljedeći:

1. utvrditi utjecaj pojedinog izvora DOC-a na strukturalna (raznolikost vrsta, abundancija, biomasa) i funkcionalna (hrandibene skupine, ekološke skupine) obilježja kolnjaka;
2. odrediti abiotičke i biotičke čimbenike koji utječu na promjene sastava kolnjaka u mezokozmosima s različitim izvorima DOC-a;
3. procijeniti oporavak jezerskih ekosustava izloženih različitim izvorima DOC-a.

## 2. MATERIJALI I METODE

### 2.1. Postavljanje mezokozmosa

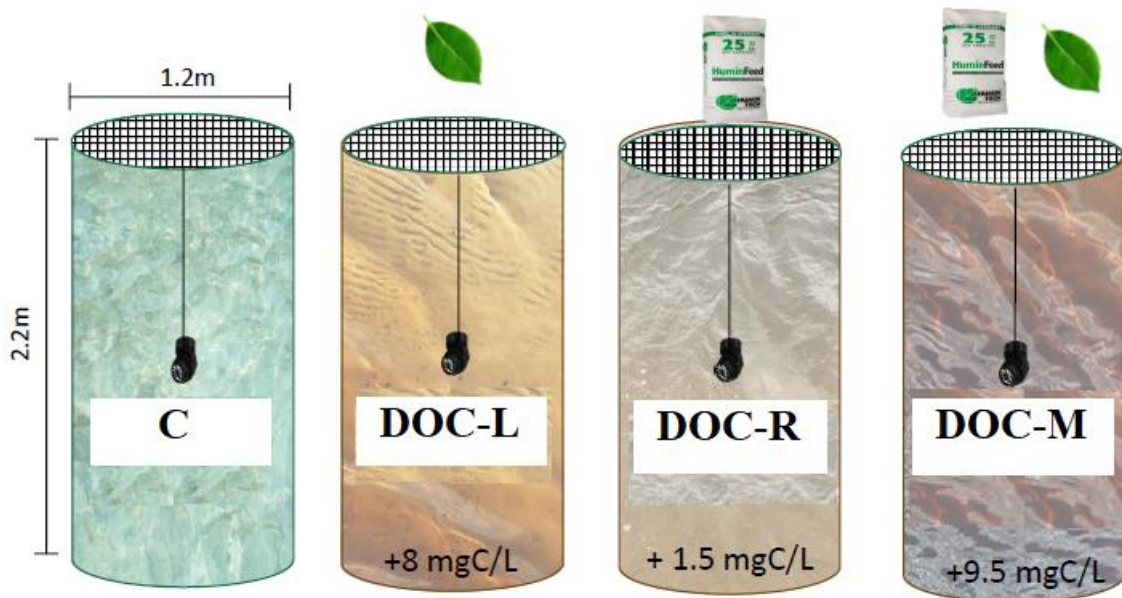
Istraživanje utjecaja otopljenog organskog ugljika (DOC) na zooplankton plitkih jezera provedeno je 2019. godine u Turskoj na *in situ* mezokozmos platformi koja se nalazi u sklopu jezera Goleti sveučilišnog kampusa METU (*Middle East Technical University*), Ankara, Turska. Postavljanje pokusa i analiza uzoraka provedeni su u nekoliko faza: 1. sakupljanje zooplanktona iz plitkih oligotrofnih do eutrofnih jezera; 2. priprema određenih koncentracija ugljika iz alohtonih izvora DOC-a, humusne kiseline i listinca te postavljanje mezokozmosa (zooplankton, voda, DOC); 3. uzimanje uzoraka vode za praćenje osnovnih limnoloških čimbenika i sastava zooplanktona; 4. kemijska i biocenološka laboratorijska analiza. Postavljeno je 16 plastičnih bazena (4 kombinacije  $\times$  4 replikata) promjera 1,2 metra i visine 2,2 metra, volumen bazena 2480 L (Slika 3a). Bazeni su napunjeni vodom iz eksperimentalnog jezera procijeđenom kroz mrežu promjera oka 500  $\mu$ m kako bi se osigurala prirodna kemijska svojstva vode jednaka kao i ona u eksperimentalnom jezeru. Vodene pumpe (3 W, Sobo wp-50M) koje su omogućavale kontinuiranu cirkulaciju vode postavljene su u sredinu bazena (150 cm ispod površine vode) kako bi se simuliralo neprestano miješanje vode karakteristično za plitka jezera te kako ne bi došlo do stratifikacije i sedimentacijskih procesa. Mreža za zaštitu ptica (promjera oka 3  $\times$  3 cm) postavljena je na vrh svakog bazena kako bi se spriječio ulazak većih organizama. Uzorci fitoplanktona i zooplanktona sakupljeni su u pet obližnjih oligotrofnih do eutrofnih jezera, udruženi zajedno te u volumenu od 2 L dodani u svaki od 16 mezokozmosa. Uzorci su u mezokozmos bazene dodani 11. lipnja 2019. godine te su 9 dana aklimatizirani na uvjete u mezokozmosu kako bi se omogućio potencijalni razvoj raznolike planktonske zajednice sa sličnim početnim uvjetima. Pokus je trajao 36 dana, od 20. lipnja do 26. srpnja.



Slika 3. Shema: a) *in situ* mezokozmos platforme sa 16 bazena u 4 kombinacije  $\times$  4 replikata; b) uzimanje po 3 uzorka zooplanktona i vode za kemijsku analizu iz svakog mezokozmos bazena (prilagođeno prema Yildiz i sur. 2021)

Mezokozmos bazeni bili su nasumično raspoređeni u plutajućoj platformi te nisu bili u interakciji s jezerskom vodom. Četiri mezokozmosa predstavljali su kontrolu (C1, C2, C3, C4), bez dodatka DOC-a. U četiri mezokozmosa dodan je listinac (DOC-L1, DOC-L2, DOC-L3, DOC-L4), pripremljen od lišća joha (*Alnus* sp.) kao labilniji DOC koncentracije 8 mg C/L. Sakupljeno je otprilike 12 kg svježih listova joha te su ravnomjerno raspoređeni u prozračenom stakleniku kako bi se brže osušili. Sušeni su 48 sati kroz pet dana prije dodavanja u mezokozmos bazene. Nakon sušenja, listovi su u destiliranoj vodi (30 g osušenog lišća po svakoj dodanoj litri destilirane vode) stavljeni u tamnu i hladnu sobu (4 °C na 48 h), u skladu s Hitchcock i suradnicima (2015). Zatim je lišće procijeđeno kroz mrežu promjera oka 45  $\mu$ m kako bi se uklonili veći dijelovi listova. Korištena je procjedna voda listova joha jer se joha nalazila u obližnjem šumskom području METU kampusa te je odabrana za dobivanje temeljne otopine potrebne DOC koncentracije u relativno kratkom vremenskom razdoblju (Mutschlecner i sur.

2018). U sljedeća četiri mezokozmosa dodan je teže razgradivi DOC, tekuće humusne kiseline „Humin Feed“ (DOC-R1, DOC-R2, DOC-R3, DOC-R4) proizvođača Humintech, koncentracije 1,5 mg C/L. Temeljna otopina „Humin Feed“ svježe je pripremljena nekoliko sati prije dodavanja u mezokozmos bazene ručnim miješanjem otprilike 30 minuta na sobnoj temperaturi 99,2 g „Humin Feed“ praha (pohranjenog u hladnjaku na temperaturi od 4 °C) u 40 L destilirane vode (sobne temperature). U preostala četiri mezokozmosa dodana je kombinacija labilnijeg i teže razgradivog ugljika (DOC-M1, DOC-M2, DOC-M3, DOC-M4), ukupne koncentracije 9,5 mg C/L (Slika 4).



Slika 4. Dimenzije mezokozmos bazena i 3 različite koncentracije izvora DOC-a razmatrane tijekom 36 dana pokusa (prilagođeno prema Yildiz i sur. 2021)

## 2.2. Sakupljanje i analiza uzoraka zooplanktona

Tijekom trajanja pokusa (36 dana) uzorci zooplanktona sakupljeni su  $7 \times (0., 1., 8., 12., 20., 28.$  i 36. dan) iz svakog od 16 mezokozmos bazena (ukupno 112 uzoraka). Mezokozmos bazeni uzorkovani su od površine do dna koristeći tubusne uzorkivače (za svaku od 4 kombinacije koristile su se različite cijevi kako bi se izbjegla kontaminacija uzoraka). Uzorci za analizu zooplanktona dobiveni su filtracijom vode iz mezokozmos bazena kroz planktonsku mrežu promjera oka 45  $\mu\text{m}$ . Uzorci su koncentrirani na volumen od 50 mL i fiksirani Lugolovom otopinom. Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu, svaki od 112 uzoraka pregledan je u Petrijevoj zdjelici korištenjem mikroskopa Carl Zeiss JenaVal (povećanje 100 do 400  $\times$ ).

Provedena je determinacija vrsta kolnjaka koristeći determinacijski ključ Voigt i Koste (1978). Brojnost jedinki izražena je brojem jedinki po litri (jed./L). Tijekom mikroskopiranja u svakom uzorku za 20 jedinki svake vrste izmjerene su dimenzije (duljina i širina). Dobiveni podaci korišteni su za određivanje biomase kolnjaka prema Ruttner-Kolisko (1977) na temelju jednadžbi baziranih na geometrijskim tijelima koja odgovaraju obliku tijela pojedinih vrsta. Dobivena vrijednost biovolumena uzeta je kao mokra biomasa, WM (eng. *Wet Mass*) te je iz nje izračunata suha biomasa, DM (eng. *Dry Mass*), kao 10% vrijednosti od mokre biomase (Radwan 2004). S obzirom na način ishrane i ekološka obilježja *Keratella cochlearis* (Gosse, 1851) promatrana je kao planktonska nanoalgivorna vrsta, a vrste roda *Lecane* i vrsta *Lepadella patella* (Müller, 1773) kao semiplanktonske detritivorne vrste.

### 2.3. Analiza limnoloških čimbenika

U 16 istraživanih mezokozmos bazena analizirano je 12 fizikalno-kemijskih (limnoloških) čimbenika. Osnovni limnološki čimbenici: temperatura (°C), otopljeni kisik (eng. *Dissolved Oxygen*, DO, %) i pH vrijednost mjereni su svaki dan koristeći sondu YSI 556 MPS. Prozirnost (m) je također mjerena svaki dan koristeći Secchi disk. Otopljeni organski ugljik (DOC), ukupni ugljik (eng. *Total Carbon*, TC, µg C/L), ukupni dušik (eng. *Total Nitrogen*, TN, µg N/L) i ukupni fosfor (eng. *Total Phosphorus*, TP, µg P/L) te klorofil *a* (Chl *a*, µg/L) izmjereni su prije dodavanja DOC-a (0. dan), nakon dodavanja DOC-a (1. dan) te nakon toga svaka četiri dana. Iz svakog mezokozmosa, tubusnim uzorkivačima, sakupljena su 3 uzorka vode te prebačena u plastične kante volumena 15 L, a poduzorak vode korišten je za kemijske analize vode (Slika 3b). Koncentracije otopljenog organskog ugljika (DOC, mg C/L) analizirane su koristeći Shimadzu TOC-L/CPN analizator (Shimadzu Scientific Instruments, Japan). Ukupni dušik (TN), amonijev ion (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) te nitriti i nitrati (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) određivani su pomoću automatiziranog analizatora mokre kemije (San++, Skalar Analytical, Nizozemska) (Baird i Bridgewater 2017). Koncentracije amonijaka, nitrita i nitrata zbrojene su te zajedno prikazane kao otopljeni anorganski dušik (eng. *Dissolved Inorganic Nitrogen*, DIN, µg N/L). Koncentracije ukupnog fosfora (TP) i topljivog reaktivnog fosfora (eng. *Soluble Reactive Phosphorus*, SRP, µg P/L) mjerene su spektrofotometrijski metodom stvaranja molibdenskog plavila (Mackerth 1978). Koncentracije klorofila *a* (Chl *a*) određivane su spektrofotometrom Perkin Elmer Lambda35 (Jespersen i Christoffersen 1987), dok je za određivanje boje (AU/cm, eng. *Absorbance Unit*, AU) mjerena absorbancija uzoraka na 420 nm korištenjem UV-Vis spektrofotometra (UV-1800, Shimadzu, Njemačka) kako bi se dobili podaci o zamućenju vode

(Weyhenmeyer i sur. 2016). Fotosintetski aktivno zračenje (eng. *Photosynthetically Active Radiation*, PAR,  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ ) mjereno je koristeći LI-COR LI-250A luksometar.

## 2.4. Obrada podataka

U prikazu podataka fizikalno-kemijskih čimbenika te strukturalnih (raznolikost vrsta, abundancija, biomasa) i funkcionalnih (hranidbene skupine, ekološke skupine) obilježja kolnjaka korištene su osnovne statističke mjere kao što su srednja vrijednost (SV) i standardna devijacija (SD). Podaci za fizikalno-kemijske čimbenike, raznolikost, brojnost (abundanciju) i biomasu kolnjaka u određenom mezokozmosu dobiveni su kao srednja vrijednost četiri replikata. Za analizu podataka te izradu grafičkih i tabelarnih prikaza korišteni su programi Statistika v.13.5, RStudio (RStudio Team), Canoco v.5 i Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, 2007).

Provjera raspodjele podataka provedena je Shapiro Wilksom testom koji je ukazao na odstupanje od normalne raspodjele ( $p < 0,05$ ) i nužnost korištenja neparametrijskih statističkih metoda. Za usporedbu okolišnih i biocenoloških čimbenika između 4 različite kombinacije mezokozmosa s obzirom na koncentraciju DOC-a, kao i vremenskih razlika, korišten je Kruskal-Wallis test ( $p < 0,05$ ) te je proveden *post hoc* Tukey test (Statistica v.13.5).

Korelacijska matrica dobivena je R funkcijom „*cor*“ uz primjenu Spearmanovog testa ( $p < 0,05$ ), dok je korelogram izrađen primjenom paketa „*corrplot*“ (RStudio). PCA multivarijatna analiza (eng. *Principal Components Analysis*) temeljem fizikalno-kemijskih čimbenika: DO (%), pH, TN ( $\mu\text{g N/L}$ ), SRP ( $\mu\text{g P/L}$ ), DOC (mg C/L), T:P, C:P, boje vode (AU/cm), Chl *a* ( $\mu\text{g/L}$ ) i PAR-a ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ ) provedena je zbog utvrđivanja ključnih čimbenika u svakoj od četiri kombinacije mezokozmosa. Analiza je provedena u programu RStudio korištenjem paketa „*factoextra*“ i funkcije „*procomp*“ pri čemu su podaci skalirani zbog točnije analize parametara različitih mjernih jedinica. Grafički prikaz PCA analize dobiven je funkcijom „*fviz\_pca\_biplot*“ uz definiran uvjet ispisa elipsi pouzdanosti CI = 95% (eng. *Confidence Intervals*, CI). U programu RStudio proveden je i generalizirani aditivni model, GAM (eng. *Generalized Additive Model*) s Gaussovom raspodjelom podataka logaritamski transformirane ukupne biomase kolnjaka te biomase vrste *K. cochlearis* kao dominantnog predstavnika funkcionalne skupine planktonskih nanoalgivora i sume biomasa vrsta *Lecane* spp. i *L. patella* kao dominantnih predstavnika funkcionalne skupine semiplanktonskih detritivora tijekom 36 dana eksperimenta (Wood 2017). Za GAM modele korišten je paket



„mgcv“ i funkcija „gam“. Modeli su uspoređivani prema Akaike informacijskom kriteriju (eng. *Akaike Information Criterion*, AIC) za procjenu pogreške predviđanja, te su izabrani modeli s najnižom AIC vrijednošću, jer niže AIC vrijednosti ukazuju na prikladniji model (Wood 2017). U modelima je korišten parametar za izravnavanje „REML“ (eng. *Restricted Maximum Likelihood*) koji označava ograničenu maksimalnu vjerojatnost (Zuur i sur. 2009). Opis GAM modela dobiven je funkcijom „summary.gam“ (Bayes matrica kovarijance,  $p < 0,05$ ).

Kanonička analiza korespondencije (eng. *Canonical Correlation Analysis*, CCA, programski paket Canoco 5; ter Braak and Smilauer, 2002) korištena je za utvrđivanje interakcija limnoloških čimbenika: temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ), DO (%), pH, TN ( $\mu\text{g N/L}$ ), DOC (mg C/L), C:P, boje vode (AU/cm), Chl *a* ( $\mu\text{g/L}$ ) i PAR-a ( $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$ ) te biomase dominantnih vrsta kolnjaka (*K. cochlearis*, *Lecane* spp. i *L. patella*). Statistički značaj analiziranih korelacija testiran je Monte Carlo testom (499 permutacija,  $p < 0,05$ ).

### 3. REZULTATI

#### 3.1. Fizikalno-kemijski čimbenici u istraživanim mezokozmosima

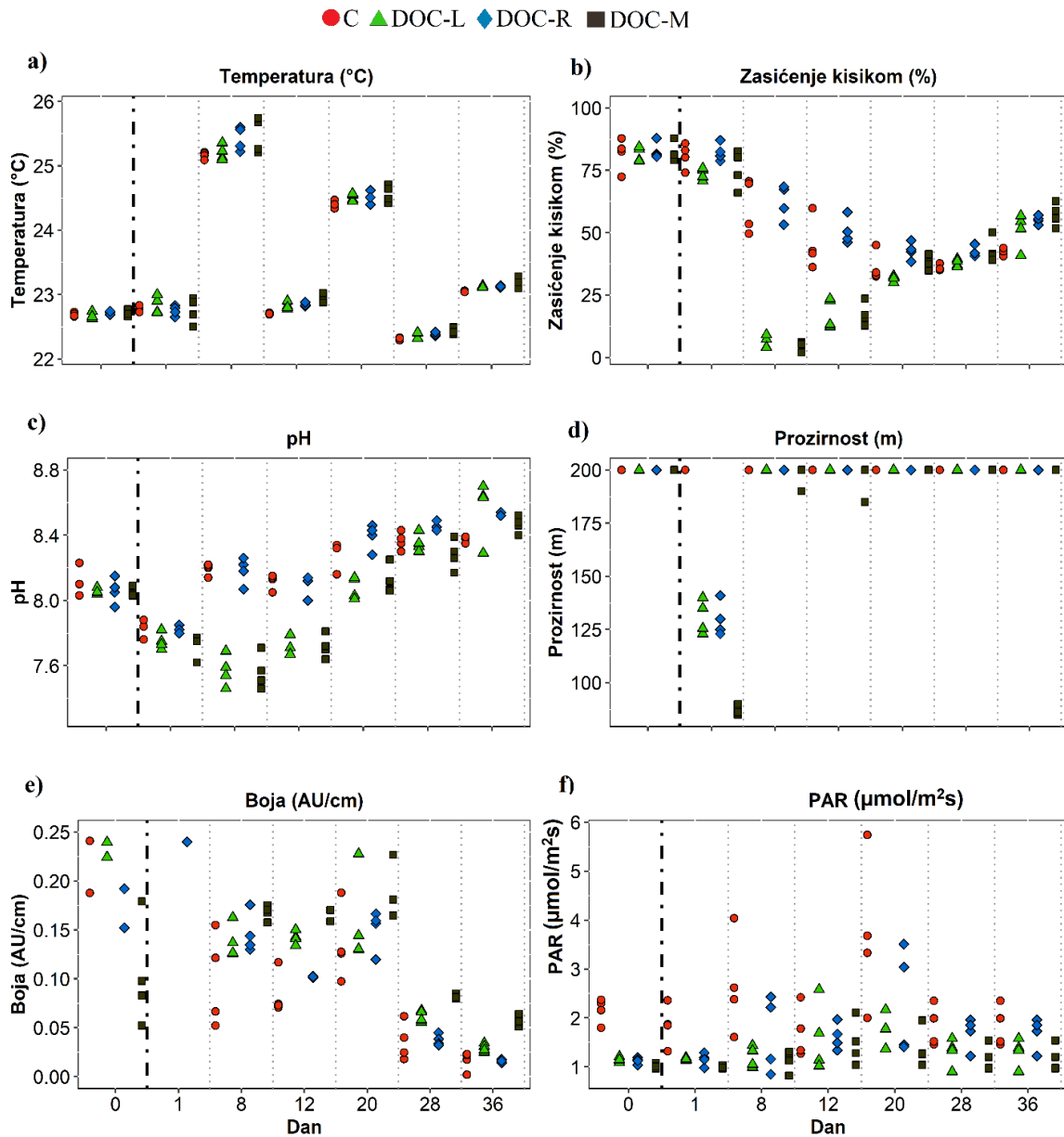
Oscilacije mjerenja 12 fizikalno-kemijskih, odnosno limnoloških čimbenika: temperatura (°C), zasićenje kisikom (%), pH, prozirnost ( $SD_m$ ), boja (AU/cm), PAR ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ ), hranjive tvari DIN ( $\mu\text{g N/L}$ ), SRP ( $\mu\text{g P/L}$ ), TN ( $\mu\text{g N/L}$ ), TP ( $\mu\text{g P/L}$ ), DOC (mg C/L) te Chl *a* ( $\mu\text{g/L}$ ) u 4 različita mezokozmosa (C, DOC-L, DOC-R, DOC-M) prikazane su na Slici 5, a značajnost razlika između mezokozmosa, kao i vremenskih, tijekom 36 dana pokusa, prikazana je u Tablicama 2 i 3.

Tablica 2. Razlike limnoloških čimbenika između četiri DOC-kombinacije mezokozmosa (Kruskal-Wallis test i *post hoc* Tukey test,  $p < 0,05$ ; *ns* – nije statistički značajno  $p > 0,05$ )

Čimbenici	H	p	Post hoc test
Temperatura (°C)	1,23	<i>ns</i>	
Zasićenje kisikom (%)	10,76	0,0131	DOC-L < DOC-R
pH	13,49	0,0037	DOC-L, DOC-M < DOC-R
ProzirnostSD (m)	6,30	<i>ns</i>	
Boja (AU/cm)	3,22	<i>ns</i>	
PAR ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ )	42,63	0,0001	DOC-L, DOC-R, DOC-M < C
DIN ( $\mu\text{g N/L}$ )	6,10	<i>ns</i>	
TN ( $\mu\text{g N/L}$ )	4,93	<i>ns</i>	
SRP ( $\mu\text{g P/L}$ )	34,81	0,0001	C, DOC-R < DOC-L, DOC-M
TP ( $\mu\text{g P/L}$ )	44,79	0,0001	C, DOC-R < DOC-L, DOC-M
DOC (mg C/L)	41,42	0,0001	C, DOC-R < DOC-L, DOC-M
Chl <i>a</i> ( $\mu\text{g/L}$ )	11,67	0,0086	DOC-R < DOC-M

Između 4 DOC-kombinacije mezokozmosa nisu utvrđene statistički značajne razlike za temperaturu, boju, TN i DIN (Kruskal-Wallis,  $p > 0,05$ ), dok su se ostali čimbenici statistički značajno razlikovali (Kruskal-Wallis test,  $p < 0,05$ ; Tablica 2). Postotak zasićenja kisikom i pH vrijednost bili su statistički značajno veći u DOC-R (DO:  $59,84 \pm 16,84$  %; pH:  $8,22 \pm 0,26$ ) u odnosu na DOC-L mezokozmos (DO:  $42,79 \pm 27,72$  %; pH:  $8,02 \pm 0,36$ ). Najveće PAR vrijednosti zabilježene su u C ( $2,15 \pm 0,71$   $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ ) i značajno su se razlikovale u odnosu na mezokozmose s dodatkom DOC-a. Značajno manje koncentracije SRP, TP i DOC-a zabilježene su u C (SRP:  $3,45 \pm 1,62$   $\mu\text{g P/L}$ ; TP:  $18,45 \pm 13,60$   $\mu\text{g P/L}$ ; DOC:  $4,11 \pm 0,95$  mg C/L) i DOC-R mezokozmosima (SRP:  $3,58 \pm 2,04$   $\mu\text{g P/L}$ ; TP:  $13,59 \pm 6,50$   $\mu\text{g P/L}$ ; DOC:  $4,86 \pm 1,26$  mg C/L) u odnosu na DOC-L (SRP:  $16,28 \pm 11,18$   $\mu\text{g P/L}$ ; TP:  $41,64 \pm 14,45$   $\mu\text{g P/L}$ ; DOC:  $7,13 \pm 2,10$  mg C/L) i DOC-M mezokozmose (SRP:  $16,19 \pm 7,09$   $\mu\text{g P/L}$ ; TP:  $38,67 \pm 18,06$   $\mu\text{g P/L}$ ;

DOC:  $7,43 \pm 2,18$  mg C/L). Koncentracija klorofila *a* bila je dvostruko veća u DOC-M mezokozmosu ( $1,23 \pm 0,64$   $\mu\text{g/L}$ ) što je dovelo do značajne razlike u usporedbi s DOC-R mezokozmosom ( $0,61 \pm 0,60$   $\mu\text{g/L}$ ).



Slika 5. Fizikalno-kemijski čimbenici u četiri kombinacije mezokozmosa tijekom 36 dana pokusa. Kratice: C – kontrola (bez dodatka DOC-a); DOC-L – labilniji DOC; DOC-R – teže razgradivi DOC; DOC-M – kombinacija labilnijeg i teže razgradivog DOC-a. Crna okomita isprekidana linija označava poremećaj sustava uzrokovan dodatkom DOC-a.

Oscilacije 12 analiziranih limnoloških čimbenika također su se vremenski značajno razlikovale tijekom 36 dana pokusa u pojedinim mezokozmosima (Kruskal-Wallis test,  $p < 0,05$ ; Tablica

3). Temperatura vode se u svim mezokozmosima tijekom eksperimenta kretala oko 23 °C, a povećane vrijednosti (za 2 °C) 8. i 20. dana bile su značajne (Slika 5a). Najveći postotak zasićenja kisikom (DO), u sve četiri kombinacije mezokozmosa, zabilježen je na početku eksperimenta, 0. dan ( $82,0 \pm 4,0 \%$ ) nakon čega se počeo smanjivati te su vrijednosti  $< 50 \%$  od 20. i 28. dana bile značajno manje (Slika 5b). Suprotno tome, pH vrijednosti bile su niže na početku eksperimenta (7,6), a nakon dodatka DOC-a su se konstantno povećavale te su zadnji, 36. dan vrijednosti od 8,5 bile značajno veće u odnosu na početne dane eksperimenta (Slika 5c). Prozirnost je 1. dan, nakon dodatka DOC-a, u sve tri DOC-kombinacije mezokozmosa (DOC-L i DOC-R:  $1,3 \pm 0,1$ ; DOC-M:  $0,9 \pm 0,02$  m) bila statistički značajno manja u odnosu na ostale dane u eksperimentu ( $\approx 2$  m) (Slika 5d).

Najveći intenzitet boje vode zabilježen je 1. dan u sve četiri kombinacije mezokozmosa (C:  $0,41 \pm 0,28$  AU/cm; DOC-L:  $0,51 \pm 0,07$ , DOC-R:  $0,35 \pm 0,10$  AU/cm; DOC-M:  $0,63 \pm 0,1$  AU/cm) s tendencijom daljnjeg smanjenja te su zadnji, 36. dan eksperimenta zabilježene značajno manje vrijednosti u usporedbi s početnim danima (C:  $0,02 \pm 0,01$  AU/cm; DOC-L:  $0,03 \pm 0,01$ , DOC-R:  $0,02 \pm 0,001$  AU/cm; DOC-M:  $0,06 \pm 0,01$  AU/cm; Slika 5e). Vrijednosti fotosintetski aktivnog zračenja (PAR) nisu značajno oscilirale tijekom trajanja pokusa, iako su bile manje na početku eksperimenta, a veće na kraju eksperimenta, a te razlike bile su izrazite u DOC-R mezokozmosu (Slika 5f).

Veće koncentracije otopljenog anorganskog dušika (DIN) zabilježene su u razdoblju od 20. do 28. dana u sve četiri kombinacije mezokozmosa (C:  $109,97 \pm 23,59$   $\mu\text{g N/L}$ ; DOC-L:  $93,75 \pm 47,04$   $\mu\text{g N/L}$ ; DOC-R:  $86,32 \pm 11,09$   $\mu\text{g N/L}$ ; DOC-M:  $88,81 \pm 35,21$   $\mu\text{g N/L}$ ), a značajno su bile veće u odnosu na 36. dan u DOC-R mezokozmosu (Slika 6a). Koncentracija ukupnog dušika (TN) zabilježena 20. dan u DOC-L bila je značajno veća u odnosu na početni 0. dan ( $487,77 \pm 136,58$   $\mu\text{g N/L}$ ; Slika 6c).

Značajno veće koncentracije topljivog reaktivnog fosfora (SRP) zabilježene su sredinom eksperimenta (od 8. do 20. dana) u odnosu na početni dan nakon čega su se vrijednosti počele smanjivati u svim mezokozmosima osim u DOC-R (Slika 6b). Koncentracije ukupnog fosfora (TP) značajno su se povećale 1. dan u odnosu na 0. dan u DOC-L i DOC-M mezokozmosima, dok su se značajno smanjile zadnji 36. dan eksperimenta u odnosu na početne dane u DOC-R i DOC-M mezokozmosima (Slika 6d).

Tablica 3. Statistički značajne razlike limnoloških čimbenika u četiri kombinacije mezokozmosa tijekom 36 dana eksperimenta (Kruskal-Wallis test i *post hoc* Tukey test,  $p < 0,05$ )

<b>C</b>			
<b>Čimbenici</b>	<b>H</b>	<b>p</b>	<b>Post hoc test (dani u eksperimentu)</b>
Temperatura (°C)	26	0,0002	0 < 8; 28 < 8, 20
Zasićenje kisikom (%)	22,28	0,0008	20 < 0, 1; 28 < 0, 1
pH	23,65	0,0006	1 < 28, 36
Boja (AU/cm)	24,22	0,0005	36 < 0, 1; 28 < 1
SRP (µg P/L)	14,25	0,0269	1 < 8
TP (µg P/L)	23,91	0,0005	36 < 0; 36 < 28
DOC (mg C/L)	21,07	0,018	0 < 12, 20

<b>DOC-L</b>			
<b>Čimbenici</b>	<b>H</b>	<b>p</b>	<b>Post hoc test (dani u eksperimentu)</b>
Temperatura (°C)	25,72	0,0003	0 < 8; 28 < 8, 20
Zasićenje kisikom (%)	26,48	0,0002	8 < 0, 1; 12 < 0
pH	25,04	0,0003	8 < 28, 36
ProzimosťSD (m)	26,80	0,0002	1 < 0, 8, 12, 20, 28, 36
Boja (AU/cm)	24,58	0,0004	28 < 1; 36 < 0, 1
TN (µg N/L)	17,17	0,0087	0 < 20
SRP (µg P/L)	21,33	0,0016	0 < 12; 36 < 12
TP (µg P/L)	17,34	0,0081	0 < 1
DOC (mg C/L)	20,50	0,0023	0 < 1
Chl <i>a</i> (µg/L)	13,50	0,0358	8 < 0

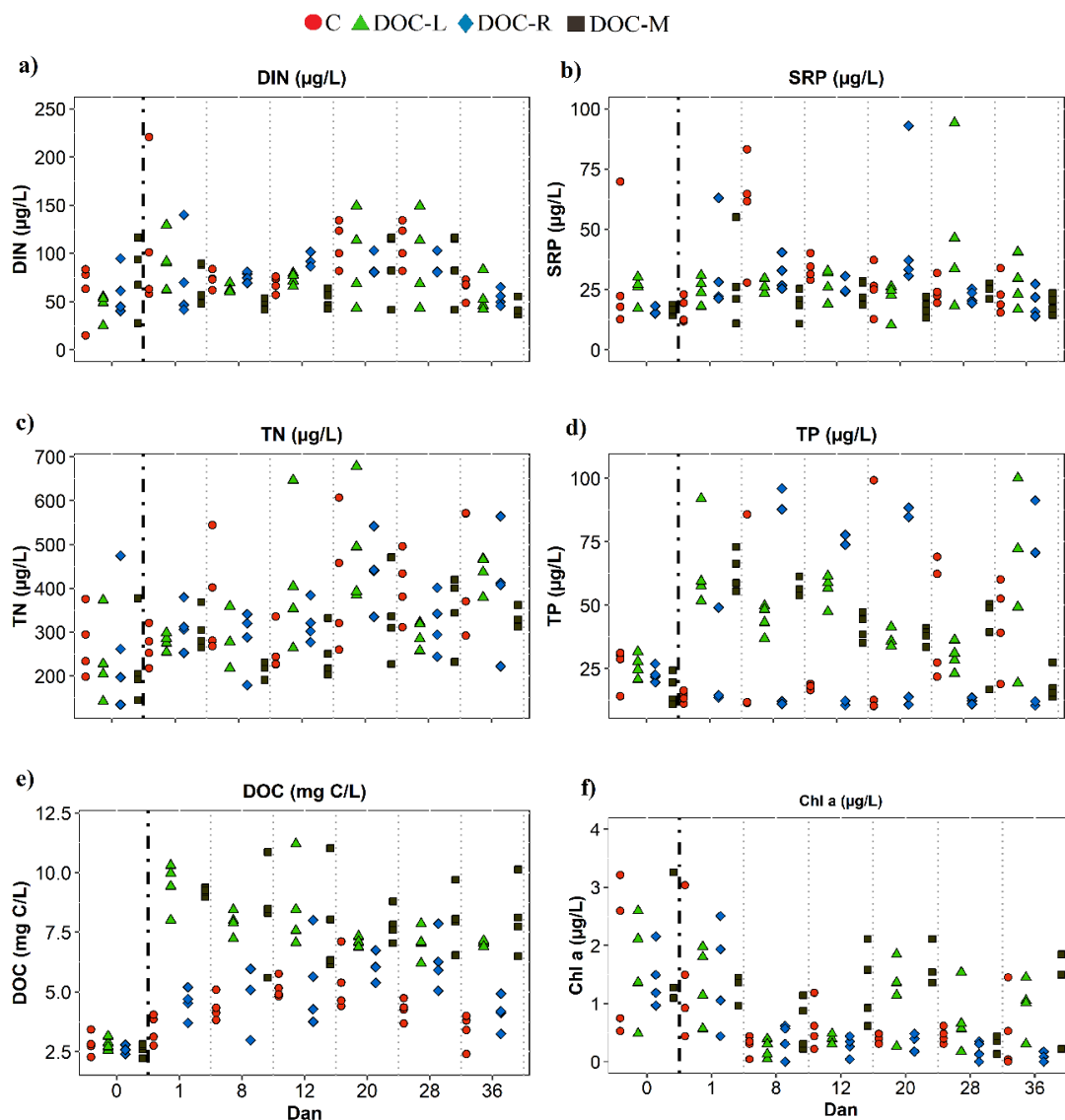
  

<b>DOC-R</b>			
<b>Čimbenici</b>	<b>H</b>	<b>p</b>	<b>Post hoc test (dani u eksperimentu)</b>
Temperatura (°C)	25,86	0,0002	0 < 8; 28 < 8, 20
Zasićenje kisikom (%)	24,43	0,0004	20 < 0, 1; 28 < 0, 1
pH	25,11	0,0003	0 < 36; 1 < 28, 36
ProzimosťSD (m)	26,8	0,0002	1 < 0, 8, 12, 20, 28, 36
Boja (AU/cm)	24,95	0,0003	36 < 0, 1; 28 < 1
PAR (µmol/m <sup>2</sup> s)	12,90	0,0445	0 < 20
DIN (µg N/L)	12,90	0,0446	36 < 12
SRP (µg P/L)	15,99	0,0138	0 < 20
TP (µg P/L)	19,98	0,0028	36 < 0, 1
DOC (mg C/L)	17,65	0,0072	0 < 20, 28
Chl <i>a</i> (µg/L)	18,84	0,0044	36 < 0, 1

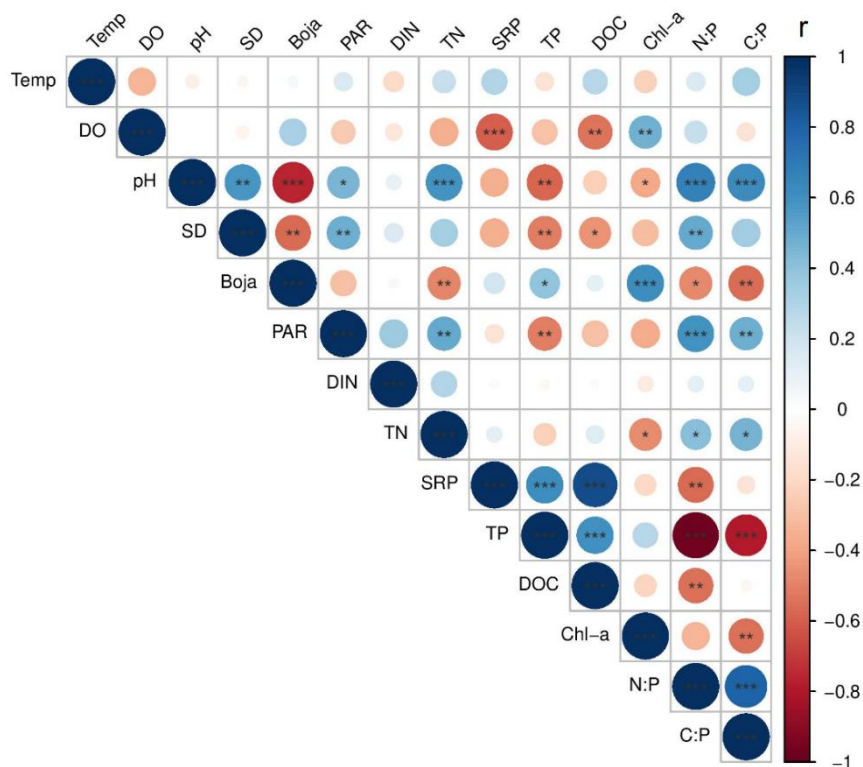
<b>DOC-M</b>			
<b>Čimbenici</b>	<b>H</b>	<b>p</b>	<b>Post hoc test (dani u eksperimentu)</b>
Temperatura (°C)	25,66	0,0003	0 < 8; 28 < 8, 20
Zasićenje kisikom (%)	25,92	0,0002	8 < 0, 1; 12 < 0
pH	25,21	0,0003	1 < 36; 8 < 28, 36, 12 < 36
ProzimosťSD (m)	20,65	0,0021	1 < 0, 20, 28, 36
Boja (AU/cm)	22,12	0,0012	28 < 1; 36 < 1
SRP (µg P/L)	13,23	0,0395	0 < 12
TP (µg P/L)	22,82	0,0009	0 < 1, 8; 36 < 1, 8
DOC (mg C/L)	13,04	0,0424	0 < 1
Chl <i>a</i> (µg/L)	14,37	0,0258	28 < 0

Nakon poremećaja dodavanja DOC-a 1. dan koncentracije DOC-a značajno su se povećale u DOC-L ( $9,43 \pm 1,01$  mg C/L) i DOC-M ( $9,20 \pm 0,16$ ) mezokozmosima te su tijekom cijelog eksperimenta ostale visoke (Slika 6e). U sve četiri kombinacije mezokozmosa koncentracija Chl *a* bila je najveća na početku eksperimenta, 0. i 1. dan (C:  $1,77 \pm 1,33$   $\mu$ g/L; DOC-L:  $1,64 \pm 0,92$   $\mu$ g/L; DOC-R:  $1,45 \pm 0,52$   $\mu$ g/L; DOC-M:  $2,22 \pm 1,20$   $\mu$ g/L) nakon čega se počela smanjivati te su krajem eksperimenta (od 28. do 36. dana) zabilježene značajno niže vrijednosti u DOC-R i DOC-M mezokozmosima u odnosu na početne dane (Slika 6f).



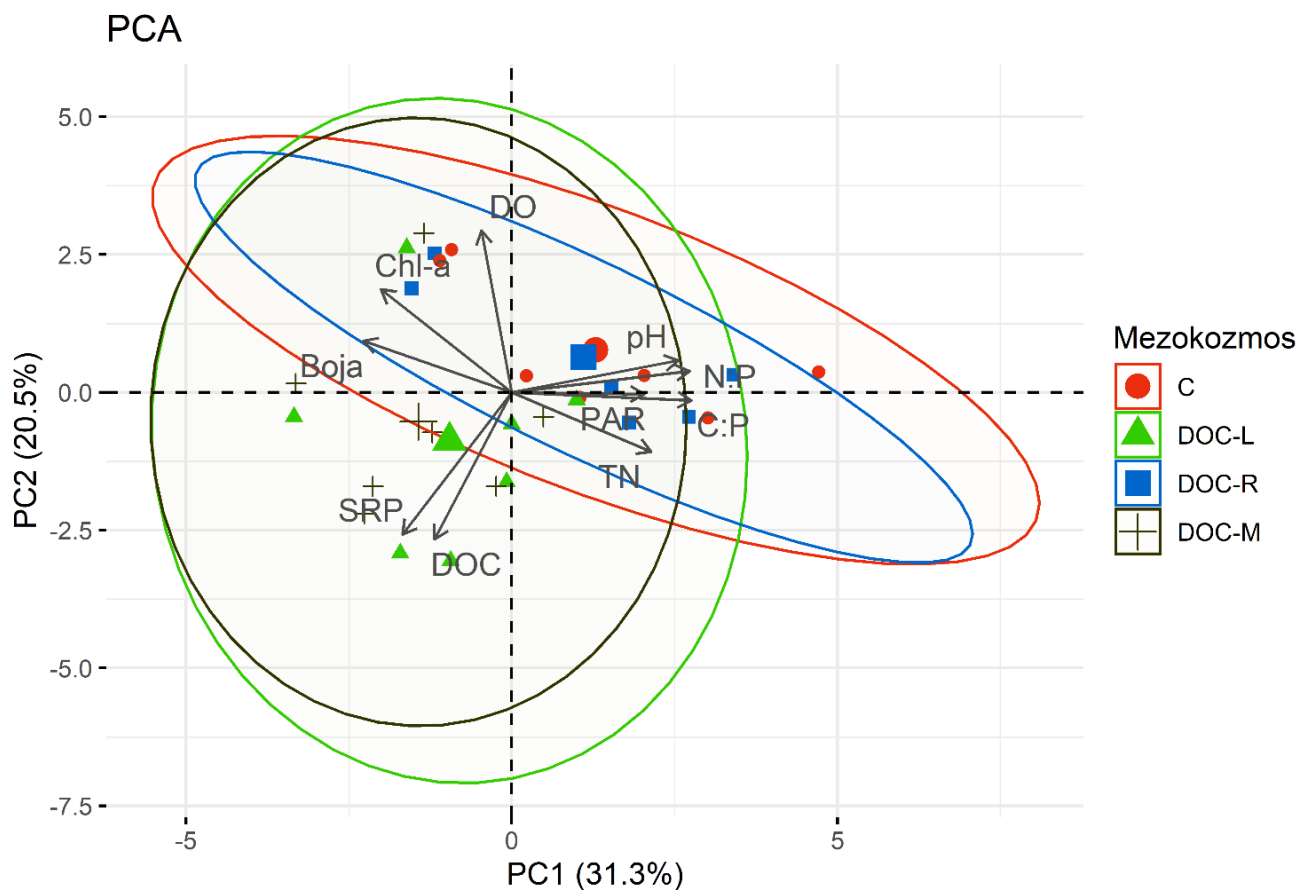
Slika 6. Koncentracije hranjivih tvari i klorofila *a* u četiri kombinacije mezokozmosa tijekom 36 dana pokusa. Kratice: C – kontrola (bez dodatka DOC-a); DOC-L – labilniji DOC; DOC-R – teže razgradivi DOC; DOC-M – kombinacija labilnijeg i teže razgradivog DOC-a. Crna okomita isprekidana linija označava poremećaj sustava uzrokovan dodatkom DOC-a.

Međusobne interakcije analiziranih limnoloških čimbenika prikazane su na Slici 7 (Spearmanov test,  $p < 0,05$ ). Najznačajnije negativne korelacije zabilježene su očekivano između koncentracije ukupnog fosfora (TP) i izvedenih omjera dušika i fosfora (N:P) ( $r = -0,96$ ) te omjera ugljika i fosfora (C:P) i TP ( $r = -0,78$ ). Intenzivnija boja ( $r = -0,56$ ) te veće koncentracije ukupnog dušika ( $r = -0,51$ ) i otopljenog organskog ugljika ( $r = -0,45$ ) značajno su smanjivale prozirnost vode. Osim toga, veće koncentracije SRP-a ( $r = -0,60$ ) i DOC-a ( $r = -0,53$ ) značajno su smanjivale zasićenje kisikom (DO), dok su povećane koncentracije Chl *a* ( $r = 0,48$ ) doprinijele značajnom porastu DO, ali i povećanju intenziteta boje ( $r = 0,61$ ). Rezultati ukazuju da su veće vrijednosti TN ( $r = 0,60$ ), N:P ( $r = 0,67$ ) i C:P ( $r = 0,63$ ) povećale pH vrijednost, dok su suprotan učinak imale veće vrijednosti TP ( $r = -0,58$ ) i intenzivnija boja ( $r = -0,76$ ). Povećanjem koncentracije DOC-a značajno se povećala koncentracija SRP ( $r = 0,89$ ).



Slika 7. Međusobne interakcije limnoloških čimbenika. Pozitivne korelacije prikazane su plavom bojom, a negativne crvenom bojom. Intezitet boje proporcionalan je koeficijentu korelacije ( $r$ ) i značajnosti. Statistički značajne vrijednosti označene su s \* (\*\*\*) -  $p < 0,001$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \* -  $p < 0,05$ ).

Rezultati PCA analize objašnjavaju 52% interakcija limnoloških čimbenika (os PC1 31%, os PC2 21%) u 4 kombinacije mezokozmosa. Elipse koje predstavljaju područje distribucije pojedinog mezokozmosa ukazuju na razdvajanje utjecaja limnoloških čimbenika u DOC-L i DOC-M mezokozmosima u odnosu na C i DOC-R mezokozmose (Slika 8). U odnosu na os PC1 najveća pozitivna korelacija zabilježena je s omjerom C:P ( $r = 0,42$ ), dok je najveća negativna korelacija utvrđena s bojom vode ( $r = -0,35$ ). Os PC2 je u najvećoj pozitivnoj korelaciji sa zasićenjem kisika ( $r = 0,55$ ), dok je najveća negativna korelacija utvrđena s koncentracijom DOC-a ( $r = -0,50$ ). Rezultati analize ukazuju na značajniji i pozitivan utjecaj koncentracija DOC-a i SRP-a na uvjete u DOC-L i DOC-M mezokozmosima te značajniji utjecaj čimbenika pH, PAR te omjera N:P i C:P na okolišne uvjete u C i DOC-R mezokozmosima.

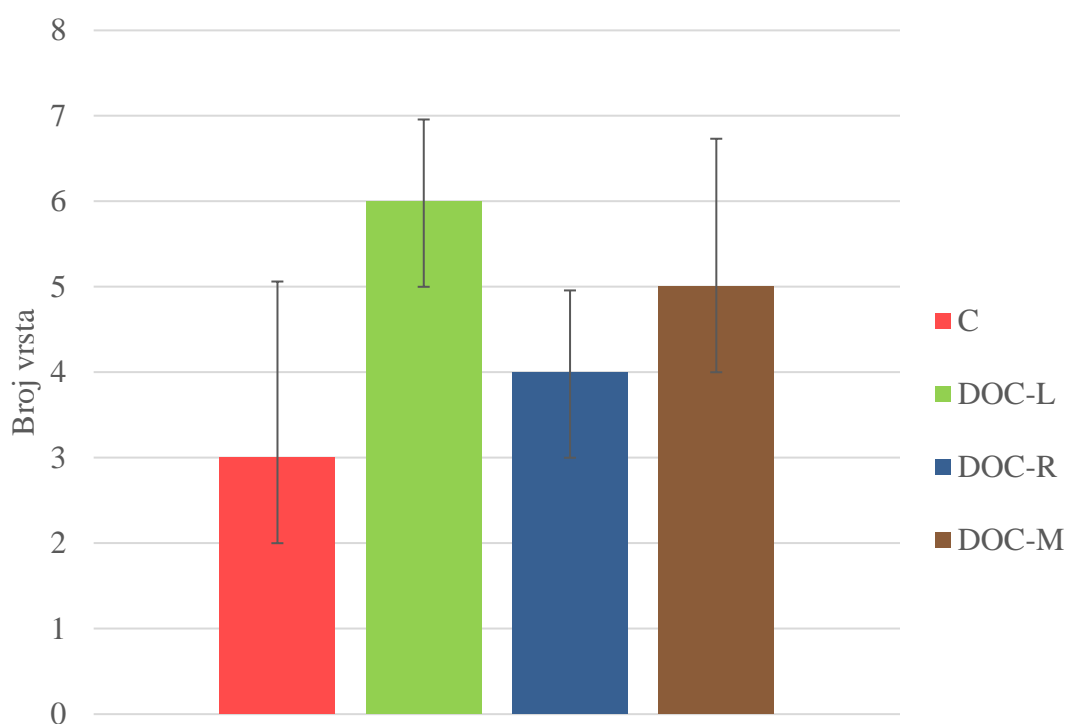


Slika 8. PCA analiza limnoloških čimbenika u četiri kombinacije mezokozmosa tijekom 36 dana pokusa. Kratice: C – kontrola (bez dodatka DOC-a); DOC-L – labilniji DOC; DOC-R – teže razgradivi DOC; DOC-M – kombinacija labilnijeg i teže razgradivog DOC-a. Elipse predstavljaju područje distribucije mezokozmosa s obzirom na osi PC1 i PC2 uz interval pouzdanosti 0,95 (CI = 0,95).



### 3.2. Obilježja kolnjaka u istraživanim mezokozmosima

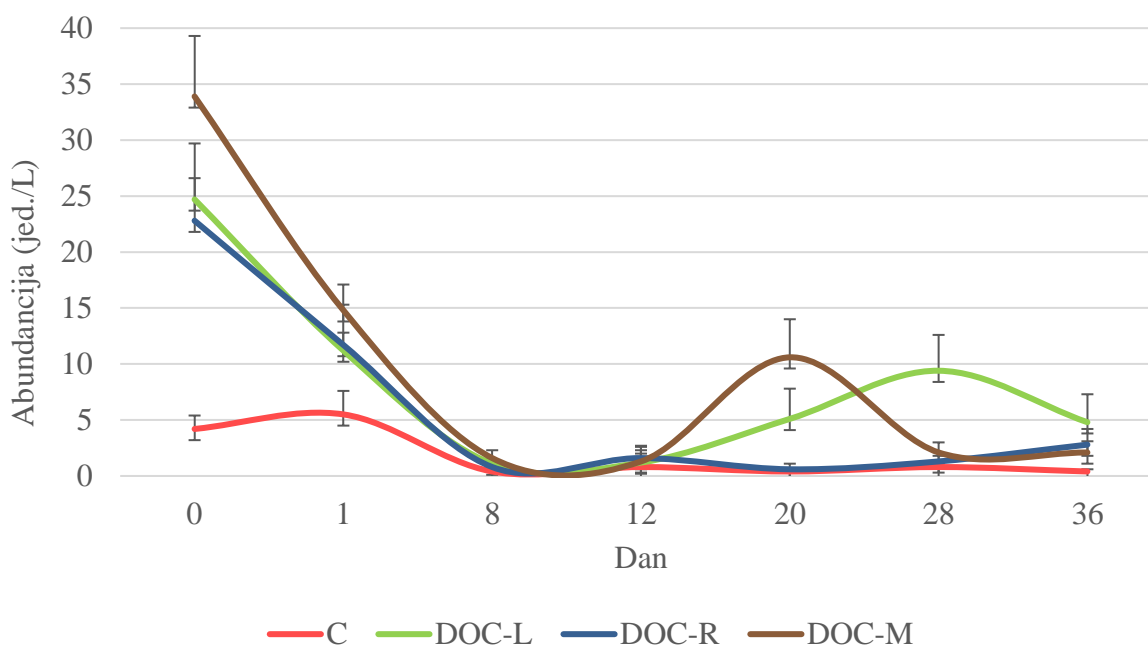
Vrijednosti razmatranih strukturalnih (raznolikost vrsta, abundancija, biomasa) i funkcionalnih (hranidbene skupine, ekološke skupine) obilježja kolnjaka varirale su tijekom pokusa između različitih kombinacija mezokozmosa. Raznolikost kolnjaka u 4 različite kombinacije mezokozmosa iznosila je ukupno 14 vrsta. Značajno veće vrijednosti raznolikosti zabilježene su u DOC-L mezokozmosu ( $6 \pm 2$  vrste; Kruskal-Wallis test,  $H = 7,93$ ,  $p < 0,05$ ), manje u DOC-M i DOC-R mezokozmosima  $5 \pm 1$  vrsta, a u C mezokozmosu bez dodatka DOC-a svega  $3 \pm 2$  vrste (Slika 9). Rod *Lecane* bio je najraznolikiji sa 6 vrsta. *K. cochlearis* bila je konstantna i dominantna vrsta u svim mezokozmosima.



Slika 9. Raznolikost kolnjaka ( $SV \pm SD$ ) u četiri kombinacije mezokozmosa. Kratice: C – kontrola (bez dodatka DOC-a); DOC-L – labilniji DOC; DOC-R – teže razgradivi DOC; DOC-M – kombinacija labilnijeg i teže razgradivog DOC-a.

Analizom abundancije kolnjaka između četiri kombinacije mezokozmosa utvrđene su značajno niže vrijednosti u C mezokozmosu u odnosu na DOC-L i DOC-M mezokozmose (Kruskal-Wallis test,  $p < 0,05$ ; Tablica 4). U tri kombinacije s dodatkom DOC-a najveća abundancija kolnjaka zabilježena je 0. dan (DOC-L:  $25 \pm 5$ ; DOC-R:  $23 \pm 4$  jed./L; DOC-M:  $34 \pm 5$  jed./L; Slika 10). Nakon dodatka DOC-a, abundancija se dvostruko smanjila već nakon 24 h (DOC-L:  $11 \pm 4$ ; DOC-R:  $12 \pm 1$  jed./L; DOC-M:  $15 \pm 2$  jed./L), da bi od 8. do 12. dana pokusa

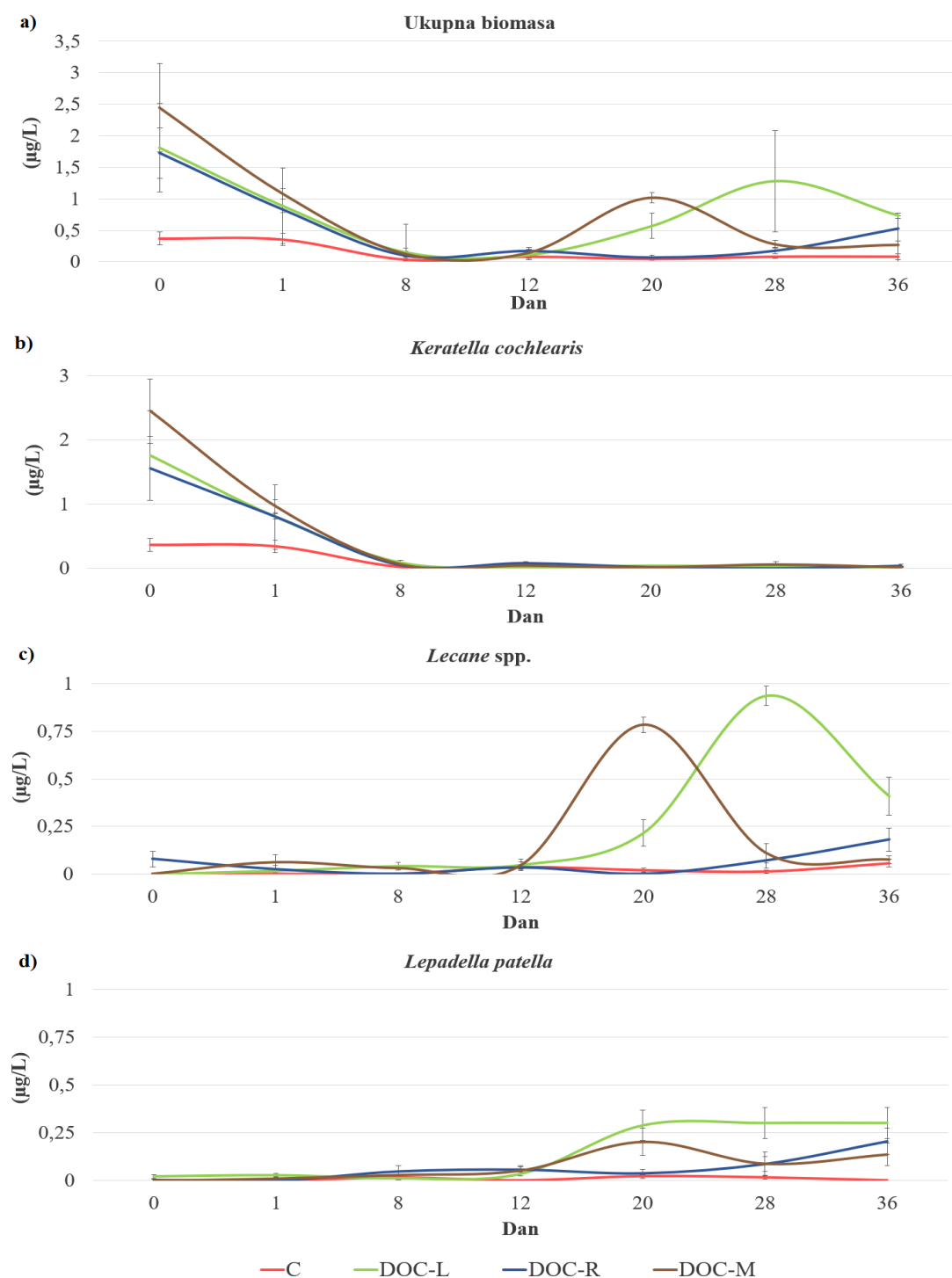
abundancija u svim mezokozmosima bila najniža i kretala se od 1 do 3 jed./L. U kontrolnom (C) mezokozmosu, bez dodatka DOC-a, početna abundancija od  $6 \pm 2$  jed./L zabilježena je 1. dana i te su vrijednosti ostale niske do kraja pokusa. Od 20. dana pokusa u DOC-M je zabilježeno znatno povećanje abundancije ( $11 \pm 3$  jed./L), a nakon toga ponovni pad vrijednosti. Međutim, također je došlo do blagog porasta abundancije u razdoblju od 28. do 36. dana ( $2 \pm 1$  jed./L) u odnosu na tjedan do dva nakon stresa izazvanog dodatkom DOC-a. U DOC-L je također zabilježen porast abundancije 20. dana ( $5 \pm 3$  jed./L), koji je nastavljen do 28. dana ( $9 \pm 3$  jed./L) te je do kraja eksperimenta abundancija bila veća u odnosu na preostale tri kombinacije ( $5 \pm 3$  jed./L). Iako su u DOC-R zabilježene vrijednosti bile niže u odnosu na DOC-L i DOC-M mezokozmose, 36. dana zabilježena je dvostruko veća abundancija ( $3 \pm 1$  jed./L) u odnosu na prethodne dane.



Slika 10. Abundancija kolnjaka ( $SV \pm SD$ ) u četiri kombinacije mezokozmosa tijekom 36 dana pokusa. Kratice: C – kontrola (bez dodatka DOC-a); DOC-L – labilniji DOC; DOC-R – teže razgradivi DOC; DOC-M – kombinacija labilnijeg i teže razgradivog DOC-a.

Ukupna biomasa kolnjaka bila je najveća u DOC-L mezokozmosu s dodatkom labilnijeg ugljika ( $0,79 \pm 0,64 \mu\text{g/L}$ ), nešto manja u DOC-M mezokozmosu s kombinacijom labilnijeg i teže razgradivog ugljika ( $0,76 \pm 0,39 \mu\text{g/L}$ ), još manja u DOC-R mezokozmosu s dodatkom teže razgradivog ugljika ( $0,52 \pm 0,07 \mu\text{g/L}$ ), dok je najmanja ukupna biomasa zabilježena u C mezokozmosu bez dodatka DOC-a ( $0,15 \pm 0,07 \mu\text{g/L}$ ). Vrijednosti biomase kolnjaka ukazuju

na statistički značajne razlike (Kruskal-Wallis test i *post hoc* test,  $p < 0,05$ ) između C i ostale tri kombinacije mezokozmosa u koje je dodan DOC: DOC-L, DOC-R i DOC-M (Tablica 4).



Slika 11. Vrijednosti a) ukupne biomase kolnjaka te biomase vrsta b) *Keratella cochlearis*, c) *Lecane spp.* i d) *Lepadella patella* u četiri kombinacije mezokozmosa tijekom 36 dana pokusa. Kratice: C – kontrola (bez dodatka DOC-a); DOC-L – labilniji DOC; DOC-R – teže razgradivi DOC; DOC-M – kombinacija labilnijeg i teže razgradivog DOC-a.

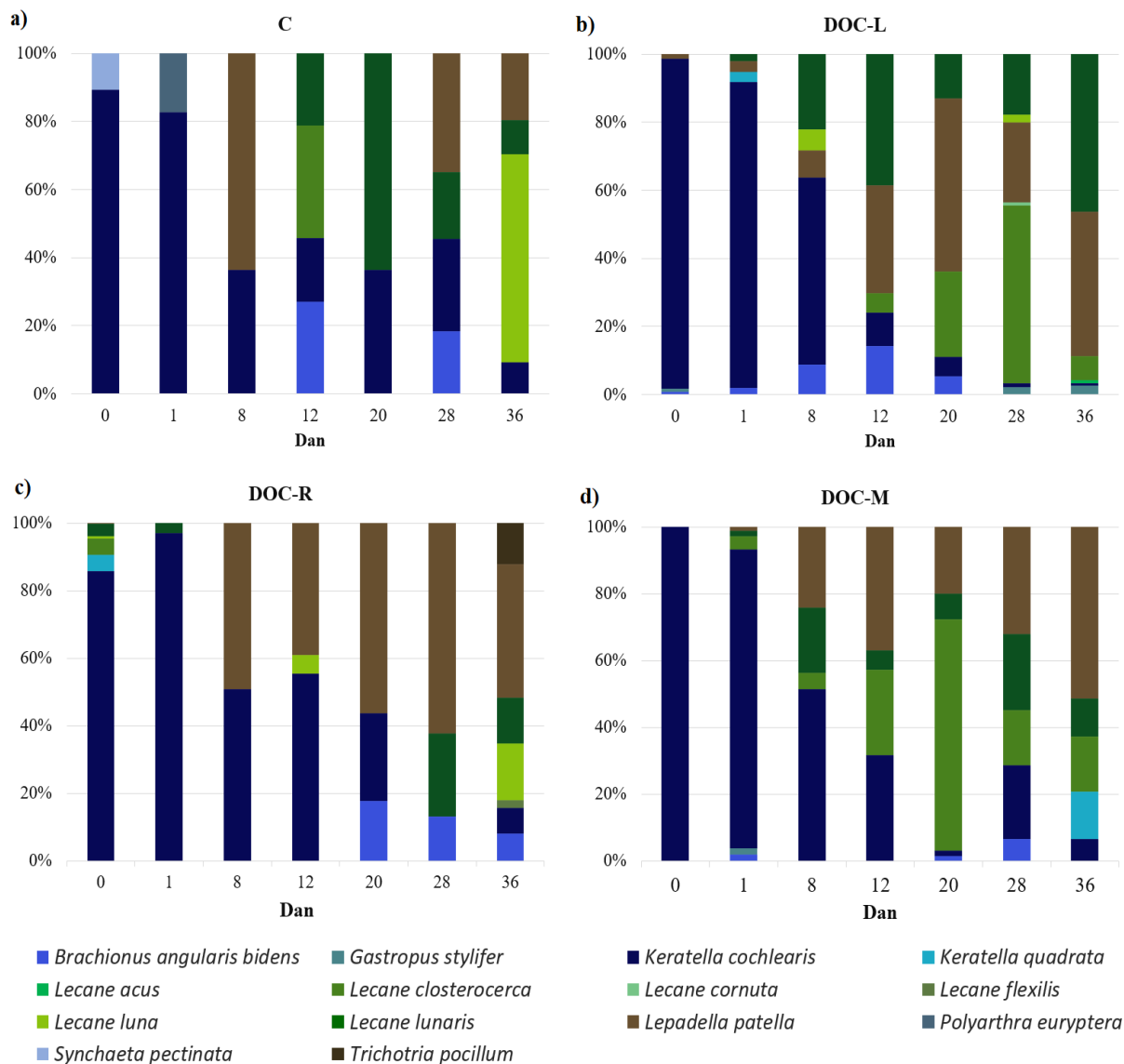
Promjene ukupne biomase kolnjaka bilježile su značajne razlike tijekom 36 dana trajanja pokusa (Kruskal-Wallis test,  $H = 39,03$ ,  $p = 0,0001$ ). *Post hoc* analiza ukazuje na značajno veće vrijednosti ukupne biomase ( $2 \mu\text{g/L}$ ) na početku eksperimenta (0., 1. dan) u odnosu na vrijednosti  $< 0,2 \mu\text{g/L}$  od 8. do 12. dana te vrijednosti  $< 0,5 \mu\text{g/L}$  zabilježenih krajem eksperimenta, od 20. do 36. dana (Slika 11).

Tablica 4. Razlike biocenoloških obilježja kolnjaka između četiri kombinacije mezokozmosa (Kruskal-Wallis test i *post hoc* test višestruke usporedbe,  $p < 0,05$ ;  $df^* = 3$ , *ns* – nije statistički značajno  $p > 0,05$ )

<b>Biocenološka obilježja</b>	<b>H</b>	<b>p</b>	<b>Post hoc test</b>
Abundancija (jed./L)	14,28	0,0025	C < DOC-L, DOC-M
Ukupna biomasa ( $\mu\text{g/L}$ )	17,55	0,0005	C < DOC-L, DOC-R, DOC-M
Biomasa <i>Keratella cochlearis</i> ( $\mu\text{g/L}$ )	4,73	<i>ns</i>	
Biomasa <i>Lecane</i> spp. ( $\mu\text{g/L}$ )	11,61	0,0089	C < DOC-L, DOC-M
Biomasa <i>Lepadella patella</i> ( $\mu\text{g/L}$ )	10,72	0,0134	C < DOC-L
Biomasa <i>Lecane</i> + <i>Lepadella</i> ( $\mu\text{g/L}$ )	17,50	0,0006	C < DOC-L, DOC-R, DOC-M
Ukupna duljina ( $\mu\text{m}$ )	5,83	<i>ns</i>	
Duljina <i>Keratella cochlearis</i> ( $\mu\text{m}$ )	4,53	<i>ns</i>	

*df*\* (eng. *degree of freedom* – stupanj slobode)

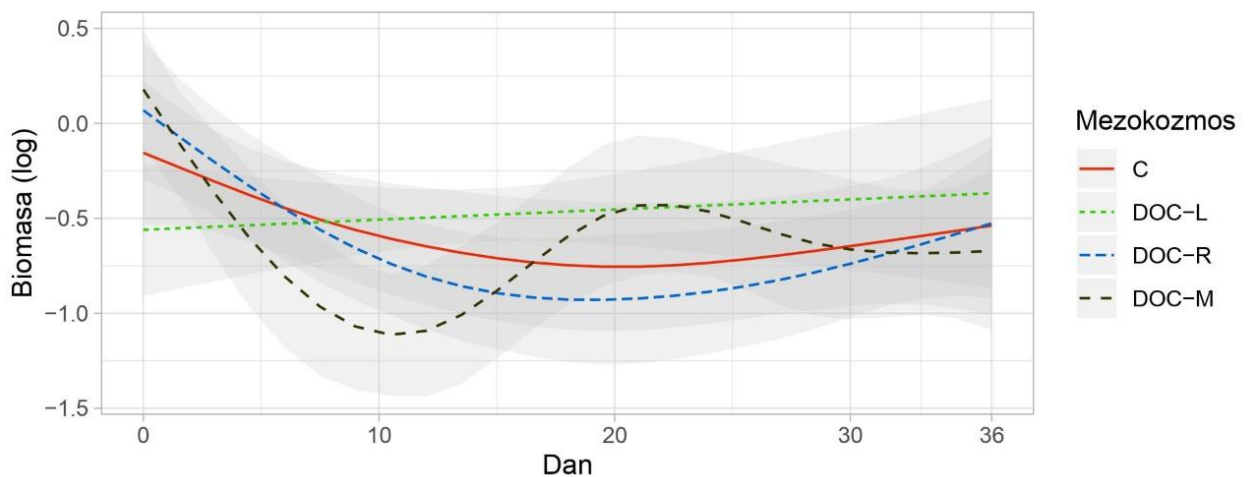
Udio hranidbenih i ekoloških skupina kolnjaka s obzirom na izbor staništa ukazuje da je ukupna biomasa nanoalgivornih planktonskih kolnjaka, s dominantnom vrstom *K. cochlearis* bila najveća u DOC-M mezokozmosu, ali se nije značajno razlikovala u odnosu na preostale tri kombinacije (Slika 11, Tablica 4). Ukupna biomasa detritivornih semiplanktonskih kolnjaka, s dominacijom vrsta rodova *Lecane* i *Lepadella* bila je značajno manja u C mezokozmosu u usporedbi s DOC-L, DOC-R i DOC-M mezokozmosima (Kruskal-Wallis test,  $p < 0,05$ ; Tablica 4).



Slika 12. Udio vrsta kolnjaka u ukupnoj biomasi tijekom 36 dana eksperimenta u četiri kombinacije mezokozmosa: a) C – kontrola (bez dodatka DOC-a), b) DOC-L – labilniji DOC, c) DOC-R – teže razgradivi DOC i d) DOC-M – kombinacija labilnijeg i teže razgradivog DOC-a. Nijansama plave boje označene su algivorne, planktonske vrste, a nijansama zeleno-smeđe boje detritivorne, semiplanktonske vrste.

U analizi udjela pojedinih vrsta kolnjaka u ukupnoj biomasi uočene su značajne razlike između udjela planktonskih (Kruskal-Wallis test,  $df = 6$ ,  $H = 65,24$ ,  $p = 0,0001$ ) i semiplanktonskih (Kruskal-Wallis test,  $df = 6$ ,  $H = 26,58$ ,  $p = 0,0002$ ) vrsta na početku (0. i 1. dan) te na kraju (od 20. do 36. dana) eksperimenta. Ovaj trend se podudara s vremenskim oscilacijama biomase vrste *K. cochlearis* kao planktonske vrste te vrsta rodova *Lecane* i vrste *L. patella* kao semiplanktonskih. Na početku pokusa (0. i 1. dan) dominirale su planktonske vrste, od kojih je

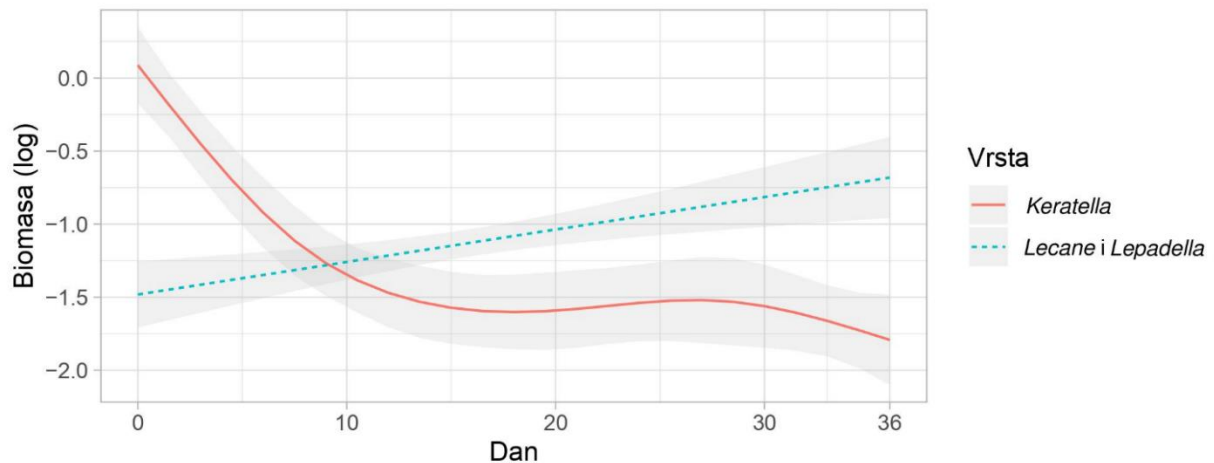
najzastupljenija bila *K. cochlearis* s udjelom 83 – 100 % (Slika 12). Krajem pokusa (od 20. do 36. dana) prevladale su semiplanktonske vrste s udjelom 55 – 96 %. Najveća vrijednost biomase vrste *K. cochlearis* zabilježena je 0. dan u DOC-M mezokozmosu ( $2,45 \pm 0,61 \mu\text{g/L}$ ), a najmanja 36. dan u DOC-L mezokozmosu ( $0,01 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$ ). Suprotno tome, najveće i najmanje vrijednosti biomase vrsta roda *Lecane* zabilježene su u DOC-L mezokozmosu, najmanje 1. dan ( $0,02 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$ ), a najveće 28. dan eksperimenta ( $0,93 \pm 0,05 \mu\text{g/L}$ ). Najveće vrijednosti biomase vrste *L. patella* zabilježene su 36. dan u DOC-L mezokozmosu ( $0,30 \pm 0,08 \mu\text{g/L}$ ), a najmanje 0. dan u DOC-R mezokozmosu ( $0,01 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$ ). Iako se krajem eksperimenta biomasa vrsta *Lecane* spp. i *L. patella* počela povećavati, zabilježene vrijednosti bile su manje u odnosu na biomasu vrste *K. cochlearis*.



Slika 13. GAM model promjene biomase u četiri kombinacije mezokozmosa tijekom 36 dana pokusa. Kratice: C – kontrola (bez dodatka DOC-a); DOC-L – labilniji DOC; DOC-R – teže razgradivi DOC; DOC-M – kombinacija labilnijeg i teže razgradivog DOC-a.

GAM modeli koji analiziraju promjene biomase s obzirom na koncentraciju DOC-a i vrijeme trajanja pokusa u četiri mezokozmosa ukazuju na značajne vremenske oscilacije ukupne biomase kolnjaka u DOC-R ( $p < 0,01$ ) i DOC-M ( $p < 0,001$ ) tijekom 36 dana pokusa (Slika 13). U C i DOC-L mezokozmosima za oscilacije biomase tijekom trajanja pokusa nisu zabilježena značajna odstupanja (Slika 13). Koncentracija DOC-a značajno je utjecala na promjenu biomase kolnjaka u C ( $p < 0,01$ ) i DOC-L ( $p < 0,01$ ) mezokozmosima.

Rezultati GAM analize funkcionalnih skupina nanoalgivornih planktonskih i detritivornih semiplanktonskih skupina kolnjaka ukazuju na značajno smanjenje vrijednosti biomase planktonske vrste *K. cochlearis* tijekom pokusa, od 0. do 36. dana, ( $p < 0,001$ ) te značajan linearan rast biomase semiplanktonskih vrsta *Lecane* spp. i *L. patella* ( $p < 0,01$ ; Slika 14). Koncentracija DOC-a značajno je utjecala na promjene biomase semiplanktonskih vrsta kolnjaka (GAM,  $p < 0,05$ ).

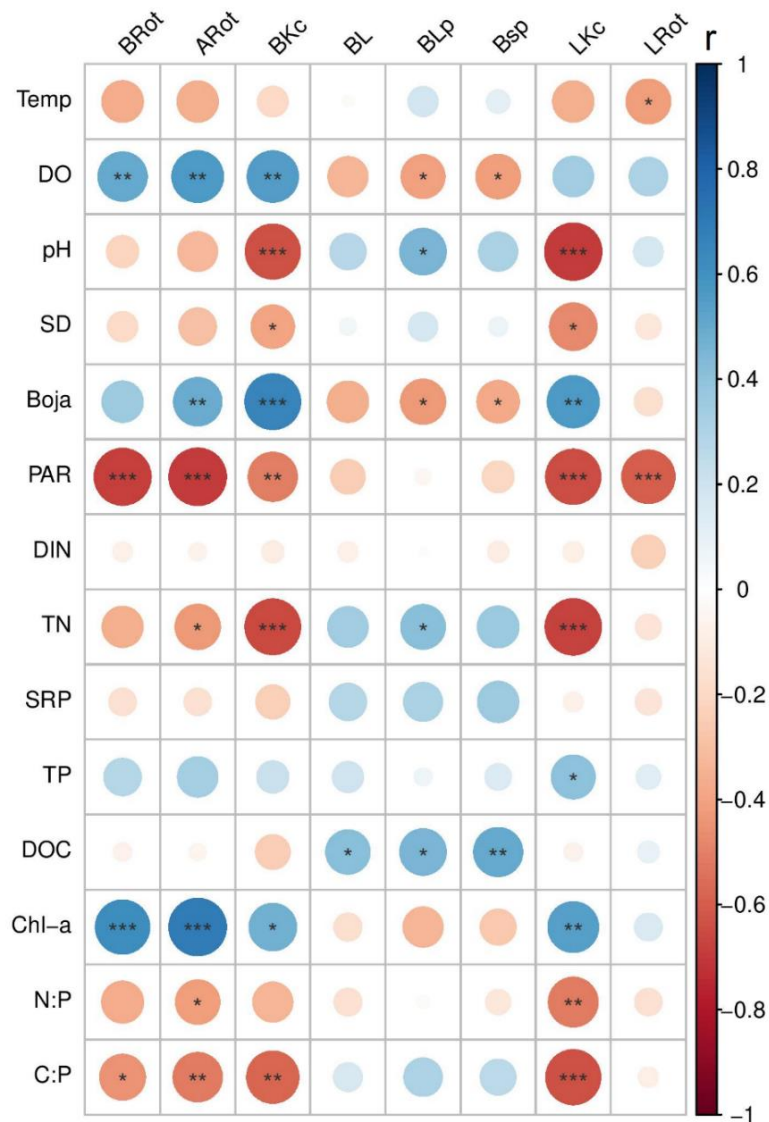


Slika 14. GAM model promjene biomase vrsta *K. cochlearis* te *Lecane* spp. + *L. patella* u četiri kombinacije mezokozmosa tijekom 36 dana pokusa. Kratice: C – kontrola (bez dodatka DOC-a); DOC-L – labilniji DOC; DOC-R – teže razgradivi DOC; DOC-M – kombinacija labilnijeg i teže razgradivog DOC-a.

### 3.3. Interakcije kolnjaka s fizikalno-kemijskim čimbenicima u mezokozmosima

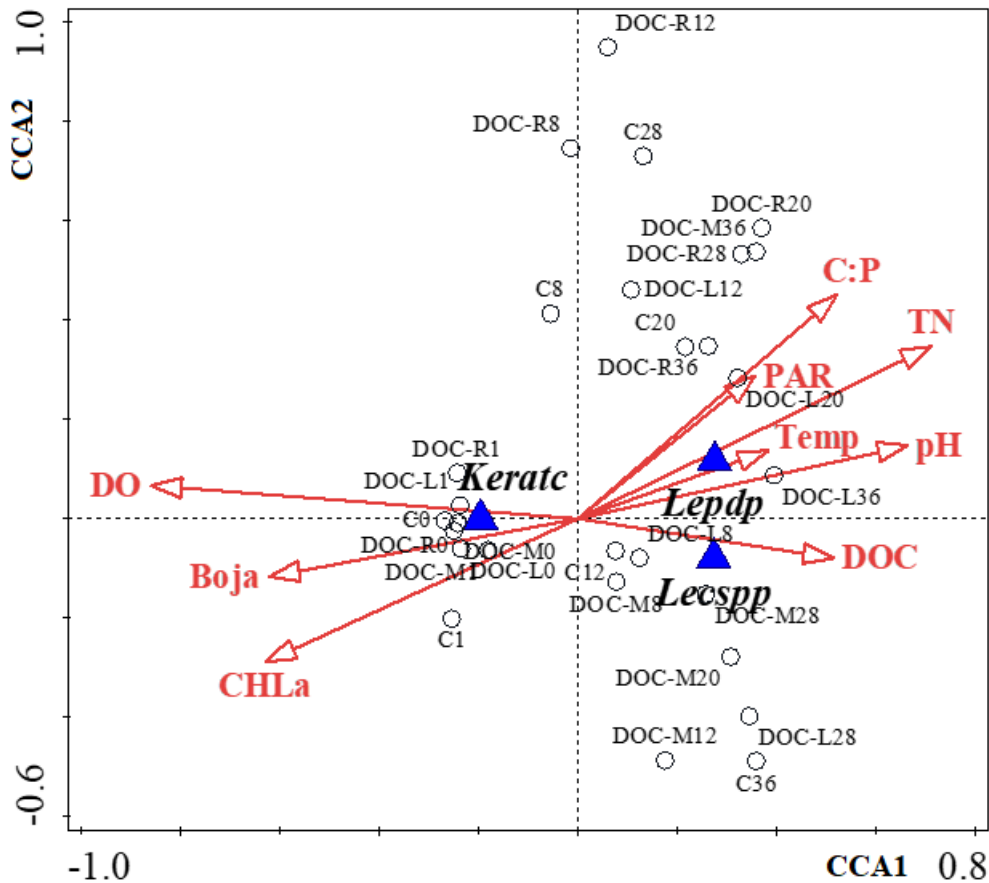
Interakcije limnoloških čimbenika i biocenoških obilježja kolnjaka (biomasa, abundancija, duljina jedinki) prikazane su na Slici 15 (Spearmanov test,  $p < 0,05$ ). Rezultati korelograma ukazuju da je pH vrijednost negativno utjecala na duljinu jedinki vrste *K. cochlearis* ( $r = -0,69$ ), a time i njezinu biomasu ( $r = -0,64$ ), dok je zasićenje kisikom pozitivno utjecalo na ukupnu biomasu ( $r = 0,51$ ) i abundanciju kolnjaka ( $r = 0,56$ ) te biomasu vrste *K. cochlearis* ( $r = 0,55$ ). Intenzivnija boja vode utjecala je na povećanje duljine jedinki vrste *K. cochlearis* ( $r = 0,57$ ) i njenu biomasu ( $r = 0,66$ ) te ukupnu abundanciju kolnjaka ( $r = 0,49$ ), dok su veće PAR vrijednosti utjecale na smanjenje abundancije ( $r = -0,70$ ) i duljine jedinki kolnjaka ( $r = -0,60$ ), a time i ukupne biomase ( $r = -0,68$ ). Veće koncentracije Chl *a* povećale su biomasu ( $r = 0,62$ ) i abundanciju kolnjaka ( $r = 0,70$ ), dok je omjer C:P negativno utjecao na duljinu jedinki vrste *K. cochlearis* ( $r = -0,64$ ) i njezinu biomasu ( $r = -0,58$ ). Koncentracija DOC-a pozitivno je utjecala

( $r = 0,51$ ), a zasićenje kisikom ( $r = -0,41$ ) i intenzivnija boja negativno ( $r = -0,38$ ) na biomasu semiplanktonskih kolnjaka.



Slika 15. Interakcije limnoloških čimbenika i biocelonoških obilježja kolnjaka. Pozitivne korelacije prikazane su plavom bojom, a negativne crvenom bojom. Intezitet boje proporcionalan je koeficijentu korelacije ( $r$ ) i značajnosti. Statistički značajne vrijednosti označene su s \* (\*\*\*) -  $p < 0,001$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \* -  $p < 0,05$ ). Kratice: BROt – biomasa kolnjaka ( $\mu\text{g/L}$ ); ARot – abundancija kolnjaka (jed./L); BKc – biomasa vrste *K. cochlearis* ( $\mu\text{g/L}$ ); BL – biomasa vrste *Lecane* spp. ( $\mu\text{g/L}$ ); BLp – biomasa vrste *L. patella* ( $\mu\text{g/L}$ ); Bsp – biomasa semiplanktonskih kolnjaka ( $\mu\text{g/L}$ ); LKc – duljina jedinki vrste *K. cochlearis* ( $\mu\text{m}$ ); LROt – duljina jedinki kolnjaka (eng. *Length*, L;  $\mu\text{m}$ ).





Slika 16. CCA analiza limnoloških čimbenika i biomase vrsta kolnjaka: *K. cochlearis*, *Lecane* spp. i *L. patella* u četiri kombinacije mezokozmosa: C – kontrola (bez dodatka DOC-a); DOC-L – labilniji DOC; DOC-R – teže razgradivi DOC; DOC-M – kombinacija labilnijeg i teže razgradivog DOC-a. Kratice: DO – zasićenje kisikom (%); Chl *a* – klorofil *a* ( $\mu\text{g/L}$ ); PAR – fotosintetski aktivno zračenje ( $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$ ); TN – ukupni dušik ( $\mu\text{g N/L}$ ); Temp – temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ); DOC – otopljeni organski ugljik ( $\text{mg C/L}$ ); *Keratsc* – *K. cochlearis*; *Lecsp* – *Lecane* spp.; *Lepdp* – *L. patella*.

Rezultati CCA analize interakcija biomase dominantnih kolnjaka: *K. cochlearis*, *Lecane* spp. i *L. patella* te limnoloških čimbenika u četiri različite kombinacije mezokozmosa objašnjavali su 94% interakcija (Os 1 88%, Os 2 6%; Slika 16). Od 9 analiziranih limnoloških čimbenika svi su značajno utjecali na biomasu dominantnih kolnjaka, a izrazit utjecaj indicirali su DO, TN i pH (Tablica 5). Rezultati CCA analize ukazuju da su veće vrijednosti DO, intenzivnija boja vode i veće koncentracije Chl *a* na početku pokusa utjecale na veće vrijednosti biomase vrste *K. cochlearis* u tom razdoblju, dok su veće koncentracije hranjivih tvari (TN, DOC) i njihovih omjera (C:P) te veće pH vrijednosti na kraju pokusa utjecale na povećanje biomase vrsta roda *Lecane* i vrste *L. patella* (Slika 16).

Tablica 5. Statistički značajne (Monte Carlo test,  $p < 0,05$ ) interakcije limnoloških čimbenika i biomase vrsta kolnjaka: *K. cochlearis*, *Lecane* spp. i *L. patella*.  $\lambda$  – udio objašnjenih interakcija pojedinog čimbenika.

Čimbenici	$\lambda$	F	p
DO (%)	0,65	48,1	0,002
TN ( $\mu\text{g N/L}$ )	0,45	21,3	0,002
pH	0,39	16,5	0,002
Chl <i>a</i> ( $\mu\text{g/L}$ )	0,35	14,1	0,002
Boja (AU/cm)	0,34	13,4	0,002
C:P	0,25	8,7	0,002
DOC (mg C/L)	0,23	7,9	0,002
Temp ( $^{\circ}\text{C}$ )	0,13	3,9	0,052
PAR ( $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$ )	0,12	3,4	0,044

#### 4. RASPRAVA

Povećan unos otopljenog organskog ugljika (DOC-a) izazvan klimatskim promjenama predstavlja globalni problem te se sve češće provode istraživanja s ciljem pronalaska i ublažavanja njegovih negativnih učinaka na jezerske zajednice i ekosustave (Hitchcock i sur. 2015; Robidoux i sur. 2015; Lebret i sur. 2018; Calderó-Pascual i sur. 2021). Rezultati ovog rada ukazuju da unos DOC-a u jezerske ekosustave značajno utječe na abiotičke i biotičke čimbenike u ekosustavu, funkcioniranje ekosustava te zajednicu zooplanktona, odnosno kolnjaka koji su razmatrani u ovom istraživanju. Osim toga, rezultati ukazuju da se ekosustav može oporaviti od poremećaja uzrokovanog unosom DOC-a, ali je za to potrebno vrijeme koje se razlikuje s obzirom na kvalitetu i kvantitetu izvora DOC-a.

Rezultati analiziranih limnoloških čimbenika i strukturalnih obilježja kolnjaka (raznolikost, abundancija, biomasa) jasno ukazuju da razlike između četiri kombinacije DOC-mezokozmosa ovise o izvoru dodanog ugljika. U ovom istraživanju to su bili „*Humin Feed*“ i listinac. Naime, humusna kiselina „*Humin Feed*“ predstavlja izvor postojanog, teže razgradivog ugljika u DOC-R mezokozmosu, dok lišće johe (*Alnus* sp.) predstavlja izvor labilnijeg i lakše razgradivog ugljika u DOC-L mezokozmosu. Calderó-Pascual i suradnici (2021) utvrdili su da se dodavanjem humusne kiseline „*Humin Feed*“ u DOC-R mezokozmosu povećao udio teže razgradivog DOM-a, dok se u DOC-L mezokozmosu povećao udio lakše razgradivih komponenti. U prilog tome idu i rezultati Mutschlecner i suradnika (2018) koji su također utvrdili povećanje udjela labilnijih DOM molekula u filtratu listova johe. Sukladno tome, u DOC-M mezokozmosu, s kombinacijom humusne kiseline i lišća johe, pronađene su ujednačene komponente kao i u DOC-L i DOC-M mezokozmosima (Calderó-Pascual i sur. 2021). U kontrolnom, C mezokozmosu bez dodatka alohtonog DOC-a, povećanje njegove koncentracije sugerira da su tome doprinijeli *in situ* biološki procesi i povećanje koncentracije labilnije proteinske komponente, odnosno povećanje autohtonog DOC-a uslijed raspadanja algi, metabolizma i razgradnje zooplanktona što je u skladu s rezultatima sličnih istraživanja (Geddes 2015; Calderó-Pascual i sur. 2021).

Različita svojstva DOC-a dodanog u DOC-L i DOC-R mezokozmose vjerojatno su uzrok veće raznolikosti, abundancije i većih vrijednosti biomase kolnjaka zabilježenih u DOC-L mezokozmosu u odnosu na DOC-R mezokozmos. Najveće vrijednosti biomase kolnjaka zabilježene su u DOC-L mezokozmosu s dodatkom labilnijeg i lakše razgradivog ugljika kojeg bakterije lakše koriste kao izvor hrane, kao i daljnju mineralizaciju, a preko njih se ugljik

prenosi u hranidbenoj mreži i anaboličkim procesima ugrađuje u organizme viših trofičkih razina, npr. kolnjake kao primarne konzumente (Cole i sur. 2006; Hitchcock i sur. 2015). Suprotno tome, najniže vrijednosti biomase kolnjaka zabilježene su u DOC-R mezokozmosu, pretpostavlja se, zbog prisutnosti teže razgradivog ugljika kojeg vodeni organizmi, odnosno bakterije, nisu mogli lako iskoristiti. Prema podacima Yalçin i suradnika (2021) utvrđeno je povećanje biomase bakterija u DOC-L i DOC-M mezokozmosima tijekom pokusa što ukazuje na intenzivniju biološku razgradnju uslijed labilnijeg izvora DOC-a (lišće + autohtoni DOC) u navedenim mezokozmosima. Sukladno tome, Kritzberg i suradnici (2004) u svojim su istraživanjima zaključili da je labilniji DOC važniji za produkciju bakterija u odnosu na postojani DOC, a Calderó-Pascual i suradnici (2021) utvrdili su da teže razgradive komponente u DOC-R mezokozmosu planktonske zajednice nisu konzumirale od strane bakterija niti se abiotički razgradio tijekom pokusa, dok je dodavanje lišća u DOC-L mezokozmosu povećalo mikrobnju razgradnju. To je u skladu s većim vrijednostima abundancije i biomase kolnjaka u ovom istraživanju u DOC-L i DOC-M mezokozmosima u odnosu na C i DOC-R mezokozmose.

Analizom limnoloških čimbenika utvrđene su razlike između četiri kombinacije DOC-analiziranih mezokozmosa, kao i njihove vremenske razlike tijekom 36 dana trajanja pokusa. Temperature su bile očekivano relativno visoke (22 – 26 °C) tijekom cijelog pokusa pošto se odvijao u ljetnom razdoblju (od 20. lipnja do 26. srpnja). Smanjenje zasićenja kisikom nakon dodavanja DOC-a, ukazuje na potrošnju kisika u bakterijskoj razgradnji organskih tvari (Robarts i Carr, 2009). Manje pH vrijednosti na početku eksperimenta također su uzrokovane intenzivnijom razgradnjom organske tvari pri čemu se oslobađa ugljikov dioksid i stvara slabu ugljičnu kiselinu i brzo disocira, čime se smanjuje pH vrijednost (Tomec, 1997). Uspoređujući mezokozmose s dodatkom DOC-a, manje zasićenje kisikom i niže pH vrijednosti u DOC-L u odnosu na DOC-R mezokozmos uzrokovane su intenzivnijom bakterijskom razgradnjom labilnijeg ugljika u DOC-L mezokozmosu. Dodavanjem alohtonog DOC-a 1. dan pokusa u DOC-L, DOC-R i DOC-M mezokozmosima povećao se intenzitet boje vode, dok se naglo smanjila prozirnost, jer veće koncentracije otopljenih tvari negativno utječu na prozirnost i pridonose prelasku vode u mutno stanje (Monteith i sur. 2007; Minguez i sur. 2019). Tijekom eksperimenta, intenzitet boje vode počeo se smanjivati, a prozirnost se vratila na početne vrijednosti što je ukazivalo na oporavak ekosustava. Veće koncentracije Chl *a* u DOC-M i DOC-L mezokozmosima u odnosu na C i DOC-R mezokozmose mogu se objasniti sljedećim argumentima: prvo, povećanje inteziteta boje vode, odnosno замуćenje jezera uzrokovano dodavanjem humusne kiseline nije imalo značajan utjecaj na ukupnu biomasu fitoplanktona u

mezokozmosima što je u skladu s prethodnim istraživanjima utjecaja dodataka humusne kiseline u jezerske ekosustave (Urrutia-Cordero i sur. 2017; Lebret i sur. 2018); drugo, rezultati sugeriraju da su primarni producenti uglavnom bili stimulirani fosforom iz listova johe u DOC-L mezokozmosu, odnosno, dodavanje hranjivih tvari više je utjecalo na biomasu fitoplanktona nego smanjenje svjetlosti uzrokovano замуćenjem vode (Degerman i sur. 2018; Tonetta i sur. 2018).

Koncentracije hranjivih tvari (TP, SRP, DOC) u DOC-L i DOC-M mezokozmosima bile su značajno veće u odnosu na C i DOC-R mezokozmos. Početna koncentracija ugljika porijeklom iz različitih izvora dodanog u mezokozmose određena je na temelju prethodno objavljenih istraživanja u kojima su korišteni isti alohtoni izvori u sličnim dizajnim mezokozmosa (Geddes 2015; Hitchcock i sur. 2015; Urrutia-Cordero i sur. 2017). Povećanje koncentracije fosfora u DOC-L i DOC-M mezokozmosima uzrokovano je dodavanjem filtrata listova johe bogate fosforom što je dokazano u sličnim istraživanjima (Mutschlecner i sur. 2018; Navarro i sur. 2019). Veća topljivost fosfora u odnosu na dušik i ugljik razlog je većeg utjecaja fosfora iz filtrata listova johe te izravnog utjecaja na omjere hranjivih tvari (Schreeg i sur. 2013). U skladu s time veći omjeri C:P i T:P zabilježeni su u C i DOC-R mezokozmosima u odnosu na DOC-L i DOC-R mezokozmose zbog prisutnosti manjih koncentracija fosfora u C i DOC-R mezokozmosima. Također, tijekom eksperimenta fosfor u sustavu korišten je od strane fitoplanktona kao izvor hrane pa se vjerojatno zato njegova koncentracija postepeno smanjivala, dok su se povećavale vrijednosti omjera C:P i N:P.

Utjecaj alohtonih izvora DOC-a na strukturalna i funkcionalna obilježja kolnjaka te biotičke interakcije s drugim organizmima u navedenim uvjetima slabo su istraženi i s pojedinačnim literaturnim nalazima (Hitchcock i sur. 2015), a češće je istraživao odgovor zooplanktonskih rakova (Brett i sur. 2009; Roubidoux i sur. 2015). U ovom radu, dodavanje DOC-a 1. dan u DOC-L, DOC-R i DOC-M mezokozmose utjecalo je na stvaranje stresnih uvjeta za kolnjake što je rezultiralo smanjenjem njihove abundancije i biomase (Saebelfeld i sur. 2017). Iako se ukupna biomasa kolnjaka u navedenim mezokozmosima smanjivala tijekom eksperimenta, zabilježene vrijednosti bile su značajno veće u odnosu na C mezokozmos bez dodatka DOC-a. Prethodna istraživanja utjecaja DOC-a na jezerske ekosustave, variraju u rezultatima. Suprotno rezultatima dobivenim u ovom istraživanju, Hitchcock i suradnici (2015) nakon dodavanja DOC-a u obliku listinca utvrdili su povećanje brojnosti kolnjaka na kraju eksperimenta, nakon 22 dana, praćeno smanjenjem brojnosti odraslih jedinki veslonožaca, dok su Lebret i suradnici (2018) zaključili da dodavanje DOC-a u obliku humusne kiseline „*Humin Feed*“ nije imalo

značajan utjecaj na ukupnu biomasu zooplanktona. Robidoux i suradnici (2015) zaključili su da humusne tvari negativno utječu na raznolikost, abundanciju i biomasu zooplanktonskih rakova, a Brett i suradnici (2009) zaključili su da ugljik porijeklom iz fitoplanktona ima veći utjecaj na rast i reprodukciju rašljoticalca roda *Daphnia* u odnosu na alohtoni ugljik.

Konstruirane planktonske mezokozmos biocenoze, bez utjecaja riba i makrozoobentoskih predatora, omogućili su većim zooplanktontima, npr. rašljoticalcima rodova *Daphnia* i *Ceriodaphnia*, lakše preživljavanje te zauzimanje vrha hranidbene mreže (Yildiz i sur. 2021). Njihova prisutnost u mezokozmosima rezultirala je smanjenjem ukupne biomase kolnjaka te promjene sastava i udjela pojedinih vrsta kolnjaka, kao i njihovih funkcionalnih skupina. Pretpostavka je da su rakovi (rašljoticalci i veslonošci) koji često dolaze u kompeticiju za hranu, ali i prostor s kolnjacima, bolje iskoristili novonastale uvjete te potisnuli kolnjake. Na početku eksperimenta dominirale su planktonske nanoalgivorne vrste od kojih je najzastupljenija bila vrsta *K. cochlearis* koja se hrani nanofitoplanktonom, npr. algama iz skupine Cryptophyta (Weisse i sur. 2002) čija prisutnost je zabilježena i u ovim mezokozmosima. Smanjenje vrijednosti biomase vrste *K. cochlearis* u svim mezokozmosima objašnjava se eksploatacijskom kompeticijom (u borbi za iste izvore hrane) s većim zooplanktonskim algivornim rakovima u mezokozmosima, npr. velikim rašljoticalcima poput vrsta *Daphnia* sp. i *Ceriodaphnia* sp. što su potvrdili podaci Špoljar i suradnika (2018) te Yildiz i suradnika (2021). Naime, *Daphnia* sp. i *Ceriodaphnia* sp. kao algivorne planktonske vrste su efikasniji filtratori, a time i kompetitivnije te su potisnule planktonske vrste kolnjaka što je rezultiralo naglim smanjenjem njihove biomase, dok su vrijednosti biomase planktonskih algivornih rašljoticalaca (*Daphnia* sp. i *Ceriodaphnia* sp.) ostale veće i na kraju eksperimenta (Yildiz i sur. 2021). Tome u prilog idu i rezultati istraživanja MacIsaac i Gilbert (1989) koji su zaključili da populacije vrsta kolnjaka *K. cochlearis* mogu nestati za manje od 8 dana u prisutnosti vrsta *Daphnia pulex* (Leydig, 1860) i *Daphnia magna* (Straus, 1820). Uz to, *Daphnia* sp. i *Ceriodaphnia* sp. kao algivorne vrste, potisnule su algivorne vrste kolnjaka: *Synchaeta pectinata* (Ehrenberg, 1832), *Polyarthra euryptera* (Wierzejski, 1891) i *Gastropus stylifer* (Imhof, 1891) te je njihova prisutnost u ovom istraživanju zabilježena u svega nekoliko uzoraka u vrlo niskoj abundanciji i biomasi na početku pokusa. Nasuprot tome, biomasa semiplanktonskih detritivornih kolnjaka, npr. *Lecane* spp. i *L. patella* koji se hrane česticama, primarno detritusa i bakterijama, odnosno suspendirane organske tvari, povećala se tijekom eksperimenta. Razlog navedenih promjena uzrokovan je većim koncentracijama suspendiranih organskih tvari uslijed raspadanja labilnijeg DOC-a u DOC-L i DOC-M mezokozmosima. Tome u prilog idu rezultati GAM analize koji su

ukazali da promjene biomase semiplanktonskih detritivornih vrsta kolnjaka ovise o DOC-u, dok za planktonske nanoalgivorne vrste kolnjaka nije utvrđen značajan utjecaj DOC-a na promjenu biomase. Semiplanktonske vrste kolnjaka također su bile u kompeticiji za hranu s detritivornim planktonskim rašljoticalcima, npr. *Bosmina* sp. čija prisutnost je zabilježena u mezokozmosima (Yildiz i sur. 2021). Učinkovitost zooplanktonskih filtratora u uzimanju čestica hrane povezana je s veličinom tijela stoga su i u ovom pokusu veći detritivorni rašljoticalci bili u prednosti i potisnuli kolnjake te se njihova biomasa smanjila (Fonseca da Silva i sur. 2019). Uz sve navedeno, u uzorcima su pronađene i predatorske vrste veslonožaca Cyclopoida koje su moguće utjecale na smanjenje ukupne biomase kolnjaka (Yildiz i sur. 2021). Smanjenje biomase planktonskih kolnjaka u C mezokozmosu bilo je zanemarivo u odnosu na mezokozmose s dodatkom DOC-a. Semiplanktonske vrste kolnjaka u C mezokozmosu zabilježene su tek 8. dan i njihove biomase nisu značajno varirale tijekom eksperimenta, no bile su niže u odnosu na vrijednosti biomasa u DOC-L, DOC-R i DOC-M mezokozmosima.

Usporedbom fizikalno-kemijskih čimbenika te ukupne biomase kolnjaka na početku i na kraju pokusa može se procijeniti i utvrditi da je došlo do oporavka ekosustava izloženih DOC stresu. Manji intezitet boje vode, ponovno postizanje stanja prozirnosti vode te smanjene koncentracije Chl *a* na kraju eksperimenta u DOC-L, DOC-R i DOC-M mezokozmosima ukazuju na oporavak ekosustava i ponovno postizanje stanja ravnoteže nakon poremećaja uzrokovanog dodavanjem DOC-a (Hillebrand i sur. 2017). Osim toga, kod procjene oporavka ekosustava razmatra se biomasa, stoga povećanje vrijednosti ukupne biomase, ali i abundancije kolnjaka na kraju eksperimenta (od 20. dana) u DOC-L mezokozmosu također ukazuju na oporavak ekosustava i vraćanje na početne uvjete. Ranije povećanje biomase u DOC-L u odnosu na DOC-R mezokozmos te sličnije vrijednosti biomase na kraju eksperimenta u usporedbi s početnim vrijednostima u DOC-L mezokozmosu ukazuju na potpuni oporavak ekosustava u DOC-L mezokozmosu. Na povećanje biomase utjecao je labilniji DOC koji je omogućio brži transfer i ugradnju tvari u kolnjake. Za razliku od toga, povećanje biomase u DOC-R mezokozmosu zabilježeno je kasnije, 36. dan zbog teže razgradivog DOC-a, odnosno sporijeg transfera i slabije ugradnje DOC-a u više trofičke razine. Iako je povećanje bilo manje izraženo u odnosu na DOC-L mezokozmos može se zaključiti da se i u DOC-R mezokozmosu ekosustav počeo oporavljati, no pretpostavka je da je za potpuni oporavak trebalo dulje vremensko razdoblje. Također, navedeni pokusi nisu uključivali konstantne ili povremene unose alohtonog DOC-a, što

se u okolišu najčešće događa. Stoga sustavima pod stalnim antropogenim utjecajem i unosom DOC-a vjerojatno treba dulje razdoblje za potpuni oporavak.



## 5. ZAKLJUČAK

Prema rezultatima istraživanja utjecaja različitih izvora DOC-a na abiotičke i biotičke čimbenike, a to su strukturalna (raznolikost, brojnost, biomasa) te funkcionalna (hranidbene skupine, ekološke skupine) obilježja kolnjaka u mezokozmosima s četiri različite kombinacije DOC izvora, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Dodavanje DOC-a u mezokozmose povećalo je intenzitet boje vode i smanjilo prozirnost vode, odnosno uzrokovalo замуćenje vode te promjene ostalih fizikalno-kemijskih čimbenika i izvora hrane.
- U DOC-L mezokozmosu s labilnijim organskim ugljikom i DOC-M mezokozmosu s kombinacijom labilnijeg i teže razgradivog organskog ugljika zabilježene su veće vrijednosti abundancije i biomase kolnjaka, jer labilniji ugljik potiče intenzivniju razgradnju i ugradnju u bakterijsku biomasu te se na taj način dalje prenosi do viših trofičkih razina uključujući i kolnjake.
- Tijekom trajanja pokusa došlo je do izmjene funkcionalnih hranidbenih i ekoloških skupina kolnjaka gdje su planktonske nanoalgivorne vrste kolnjaka (*K. cochlearis*) zamijenjene sa semiplanktonskim detritivornim vrsta kolnjaka (*Lecane* spp. i *L. patella*).
- Veće vrijednosti zasićenja kisikom i veće koncentracije Chl *a* na početku pokusa utjecale su na veće vrijednosti biomase planktonskih nanoalgivornih vrsta kolnjaka, dok su veće koncentracije hranjivih tvari (TN, DOC) na kraju eksperimenta utjecale na povećanje biomase semiplanktonskih detritivornih vrsta kolnjaka.
- Uvjeti bez prisutnosti riba u mezokozmosima utjecali su na smanjenje abundancije i biomase kolnjaka jer su omogućili planktonskim rakovima koji su u kompeticiji za hranu i prostor s kolnjacima zauzimanje vrha hranidbene mreže i dominaciju nad kolnjacima.
- Smanjenje inteziteta boje vode i vraćanje vode u prozirno stanje na kraju eksperimenta, kao i ponovno povećanje biomase kolnjaka ukazuju na potpuni oporavak ekosustava u DOC-L mezokozmosu s dodatkom labilnijeg ugljika. U DOC-R mezokozmosu s dodatkom postojanog ugljika te DOC-M mezokozmosu s kombinacijom labilnijeg i teže razgradivog ugljika započeo je oporavak ekosustava, no za potpuni oporavak ekosustava potrebno je dulje vremensko razdoblje.

## 6. LITERATURA

Baird R., Bridgewater L. (2017): *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association, Washington DC.

Bartosiewicz M., Przytulska A., Deshpande B. N., Antoniadou D., Cortes A., MacIntyre S., Lehmann M. F., Laurion I. (2019): Effects of climate change and episodic heat events on cyanobacteria in a eutrophic polymictic lake. *Science of the Total Environment* 693: 1-12.

Battin Y. J., Luysaert S., Kaplan L., Aufdenkampe A. K., Richter A., Tranvik L. J. (2009): The boundless carbon cycle. *Nature Geoscience* 2: 598-600.

Beisner B. E., Peres Neto P. E., Lindstrom E. S., Barnett A., Longhi M. L. B. (2006): The role of environmental and spatial processes in structuring lake communities from bacteria to fish. *Ecology* 87: 2985-2991.

Beklioğlu M., Ince O., Tuzun I. (2003): Restoration of the eutrophic lake Eymir, Turkey, by biomanipulation after a major external nutrient control I. *Hydrobiologia* 490: 93-105.

Beklioğlu M., Meerhoff M., Davidson T. A., Ger K. A., Havens K. E., Moss B. (2016): Preface: Shallow lakes in a fast changing world. U: *Proceedings, 8th International Shallow Lakes Conference*. *Hydrobiologia* 778: 9-11.

Beklioğlu M., Bucak T., Coppens J., Bezirci G., Tavşanoğlu Ü. N., Çakiroğlu A. I., Levi E. E., Erdoğan Ş., Filiz N., Özkan K., Özen A. (2017): Restoration of Eutrophic Lakes with Fluctuating Water Levels: A 20-Year Monitoring Study of Two Inter-Connected Lakes. *Water* 9 (2): 127.

Berggren M., Strom L., Laudon H., Karlsson J., Jonsson A., Giesler R., Bergstrom A. K., Jansson M. (2010): Lake secondary production fueled by rapid transfer of low molecular weight organic carbon from terrestrial sources to aquatic consumers. *Ecology Letters* 13: 870-880.

Blomqvist P., Jansson M., Drakare S., Brydsten L. (2001): Effects of Additions of DOC on Pelagic Biota in a Clearwater System: Results from a Whole Lake Experiment in Northern Sweden. *Microbial Ecology* 42: 383-394.

Brett M. T., Kainz M. J., Taipale S. J., Seshan H. (2009): Phytoplankton, not allochthonous, carbon, sustains herbivorous zooplankton production. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (50): 21197-21201.

Calderó-Pascual M., Yildiz D., Yalçın G., Metin M., Yetim S., Fiorentin C., Andersen M. R., Jennings E., Jeppesen E., Ger K. A., Beklioğlu M., McCarthy V. (2021): The importance of allochthonous organic matter quality when investigating pulse disturbance event sin freshwater lakes: a mesocosm experiment. *Hydrobiologia* 1-25.

Céréghino R., Biggs J., Oertli B., Declerck S. (2008): The ecology of European ponds: defining the characteristics of a neglected freshwater habitat. *Hydrobiologia* 597: 1-6.

Chave J. (2013): The problem of pattern and scale in ecology: what we have learned in 20 years? *Ecology Letter* 16: 4-16.

Coelho F. J. R. C., Santos A. L., Coimbra J., Almeida A., Cunha Â., Cleary D. F. R., Calado R., Gomes N. C. M. (2013): Interactive effects of global climate change and pollution on marine microbes: the way ahead. *Ecology and Evolution* 3 (6): 1808-1818.

Cole J. J., Carpenter S. R., Pace M. L., Van de Borget M. C., Kitchell J. L., Hodgson J. R. (2006): Differential support of lake food webs by three types of terrestrial organic carbon. *Ecology Letters* 9: 558-568.

Cole J. J., Carpenter S. R., Kitchell J., Pace M. L., Solomon C. T., Weidel B. (2011): Strong evidence for terrestrial support of zooplankton in small lakes based on stable isotopes of carbon, nitrogen and hydrogen. *Proccedings of the National Academy of Sciences of United States of America* 108: 1975-1980.

Cottingham K. L., Narayan L. (2013): Subsidy, quantity and recipient community structure mediate plankton responses to autmn leaf drop. *Ecosphere* 4 (7): 1-18.

Craig N., Jones S. E., Weidel B. C., Solomon C. T. (2017): Life history constraints explain negative relationship between fish productivity and dissolved organic carbon in lakes. *Ecology and Evolution* 7: 6201-6209.

Creed I. F., Bergström A. K., Trick C. G., Grimm N. B., Hessen D. O., Karlsson J., Kidd K.A., Kritzberg E., McKnight D. M., Freeman E. C., Senar O. E., Andersson A., Aks J., Berggren M., Cherif M., Giesler R., Hotchkiss E. R., Kortelainen P., Palta M. M., Vrede T., Weyhenmeyer G. A. (2018): Global change-driven effects on dissolved organic matter composition: Implications for food webs of northern lakes. *Global Change Biology* 2018: 1-23.

- Degerman R., Lefébure R., Byström P., Båmstedt U., Larsson S., Andersson A. (2018): Food web interactions determine energy transfer efficiency and top consumers responses to inputs of dissolved organic carbon. *Hydrobiologia* 805: 131-146.
- Deng J., Paerl H. W., Qin B., Zhang Y., Zhu G., Jeppesen E., Cai Y., Xu H. (2018): Climatically-modulated decline in wind speed may strongly affect eutrophication in shallow lakes. *Science of the Total Environment* 645: 1361-1370.
- Derry A. M., Arnott S. E., Shead J. A., Hebert P. D. N., Boag P. T. (2009): Ecological linkages between community and diversity in zooplankton among boreal shield lakes. *Ecology* 90: 2275-2286.
- Du X., García-Berthou E., Wang Q., Liu J., Zhang T. (2015): Analyzing the importance of top-down and bottom-up controls in food webs of Chinese lakes through structural equation modeling. *Aquatic Ecology* 49: 199-210.
- Ejsmont-Karabin J. (2019): Does the world need faunists? Based on rotifer (Rotifera) occurrence reflections on the role of faunistic research in ecology. *International Review of Hydrobiology* 104: 49-56.
- Ejsmont-Karabin J., Karpowicz M. (2021): Rotifera in lakes subhabitats. *Aquatic Ecology* 55 (5): 1-12.
- Evans C. D., Monteith D. T., Cooper D. M. (2005): Long-term increases in surface water dissolved organic carbon: Observations, possible causes and environmental impacts. *Environmental pollution* 137: 55-71.
- Fellman J. B., Hood E., Spencer R. G. M (2010): Fluorescence spectroscopy opens new windows into dissolved organic matter dynamics in freshwater ecosystems: A review. *Limnology and Oceanography* 55 (6): 2452-2462.
- Feuchtmayr H., Moss B., Harvey I., Moran R., Hatton K., Connor L., Atkinson D. (2010): Differential effects of warming and nutrient loading on the timing and size of the spring zooplankton peak: an experimental approach with hypertrophic freshwater mesocosm. *Journal of Plankton Research* 32: 1715-1725.
- Findlay S. E. G., Sinsabaugh R. L. (2003): *Aquatic ecosystems: interactivity of dissolved organic matter*. Academic Press, New York, NY.

- Fonseca da Silva J. V., Baumgartner M. T., Miracle M. R., Déo Dias J., Rodrigues L. C., Claudia B. (2019): Can zooplankton grazing affect the functional features of phytoplankton in subtropical shallow lakes? – Experiment in situ in the south of Brazil. *Limnetica* 38: 773-785.
- Forsström L., Roiha T., Rautio M. (2013): Responses of microbial food web to increased allochthonous DOM in an oligotrophic subarctic lake. *Aquatic Microbial Ecology* 68: 171-184.
- Francis T. B., Schindler D. E., Holtgrieve G. W., Larson E. R., Scheuerell M. D., Semmens B. X., Ward E. J. (2011): Habitat structure determines resource use by zooplankton in temperate lakes. *Ecology Letters* 14: 364-372.
- Geddes P. (2015): Experimental evidence that subsidy quality affects the temporal variability of recipient zooplankton communities. *Aquatic Sciences* 77: 609–621.
- Hart R. C., Bychek E. A. (2011): Body size in freshwater planctonic crustaceans: an overview of extrinsic determinants and modifying influences of biotic interactions. *Hydrobiologia* 668: 61-108.
- Hillebrand H., Langenheder S., Lebret K., Lindström E., Östman Ö., Striebel M. (2017): Decomposing multiple dimensions of stability in global change experiments. *Ecology Letters* 1-10.
- Hitchcock J. N., Mitrovic S. M., Hadwen W. L., Roelke D. L., Growns O. L., Rohlf A. (2015): Terrestrial dissolved organic carbon subsidizes estuarine zooplankton: An in situ mesocosm study. *Limnology and Oceanography* 1-14.
- Holgerson M. A., Raymond P. A. (2015): Large contribution to inland water CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> emissions from very small ponds. *Nature Geoscience* 9 (3): 222-226.
- Jennings E., Jones S., Arvola L., Staehr P. A., Gaiser E., Jones I. D., Weathers K. C., Weyhenmeyer G. A., Chiu C. Y., De Eyto E. (2012): Effects of weather-related episodic events in lakes: An analysis based on high-frequency data. *Freshwater Biology* 57: 589-601.
- Jeppesen E., Meerhoff M., Holmgren K., González-Bergonzoni I., Teixeira-de Mello F., Declerck S. A. J., De Meester L., Søndergaard M., Lauridsen T. L., Bjerring R. (2010): Impacts of climate warming on lake fish community structure and potential effects on ecosystem function. *Hydrobiologia* 646: 73-90.

- Jeppesen E., Nõges P., Davidson T. A., Heberman J., Nõges T., Blank K., Lauridsen T. L., Søndergaard M., Sayer C., Laugaste R., Johansson L. S., Bjerring R., Amsinck S. L. (2011): Zooplankton as indicators in lakes: a scientific-based plea for including zooplankton in the ecological quality assesment of lakes according to the European Water Framework Directive (WFD). *Hydrobiologia* 676 (1): 279-297.
- Jeppesen E., Pierson D., Jennings E. (2021): Effect of Extreme Climate Events on Lake Ecosystems. *Water* 13: 282: 1-6.
- Jespersen A. M., Christoffersen K. (1987): Measurements of chlorophyll-a from phytoplankton using ethanol as extraction solvent. *Archiv Für Hydrobiologie* 109: 445-454.
- Jessup C. M., Kassen R., Forde S. E., Kerr B., Buckling A., Rainey P. B., Bohannon B. J. M. (2004): Big questions, small worlds: microbial model systems in ecology. *Trends in Ecology & Evolution* 19: 189-197.
- Kalff J. (2002): *Limnology*. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Karlsson J., Bergström A. K., Byström P., Gudasz C., Rodríguez P., Hein C. L. (2015): Terrestrial organic matter input suppresses biomass production in lake ecosystems. *Ecology* 96: 2870-2876.
- Kellerman A. M., Kothawala D. N., Dittmar T., Tranvik L. J. (2015): Persistence of dissolved organic matter in lakes related to its molecular characteristics. *Nature Geoscience* 8 (6): 454-457.
- Kelly P. T., Solomon C. T., Weidel B. C., Jones S. E. (2014): Terrestrial carbon is a resource, but not a subsidy, for lake zooplankton. *Ecology* 95: 1236-1242.
- Kritzberg E. S., Cole J. J., Pace M. L., Granéli W., Bade D. L. (2004): Autochthonous versus allochthonous carbon sources of bacteria: results from whole-lake <sup>13</sup>C addition experiments. *Limnol Oceanogr* 49: 588–596.
- Kuczyńska-Kippen N., Špoljar M., Mleczek M., Zhang C. (2021): Elodeids, but not helophytes, increase community diversity and reduce trophic state: Case study with rotifer indices in field ponds. *Ecological Indicators* 128: 107829.
- Lacerot G., Kruk C., Lürling M., Scheffer M. (2013): The role of subtropical zooplankton as grazers of phytoplankton under different predation levels. *Freshwater Biology* 58: 494-503.

- Lampert W., Sommer U. (2007): Limnoecology: The ecology of lakes and streams (Second Edition). Oxford University Press, Oxford.
- Lebret K., Langenheder S., Colinas N., Östman Ö., Lindström E. S. (2018): Increased water colour affects freshwater plankton communities in a mesocosm study. *Aquatic Microbial Ecology* 18 (1): 1-17.
- Lévésque S., Beisner B. E., Peres-Neto P. R. (2010): Meso-scale distributions of lake zooplankton reveal spatially and temporally varying trophic cascades. *Journal of Plankton Research* 32: 1369-1384.
- Litchman E., Ohman M D., Kiørboe T. (2013): Trait-based approaches to zooplankton communities. *Journal of Plankton Research* 35 (3): 473-484.
- MacIsaac H. J., Gilbert J. J. (1989): Competition between rotifers and cladocerans of different body sizes. *Oecologia* 81: 295-301
- Mackerth F. (1978): Water analysis: some revised methods for limnologists. *Freshwater Biological Association* 36: 117.
- Marcarelli A. M., Baxter C. V., Mineau M. M., Hall Jr. R. O. (2011): Quantity and quality: unifying food web and ecosystem perspective on the role of resources subsidies in freshwaters. *Ecology* 92: 1215-1225.
- Mayorga E., Aufdenkampe A. K., Masiello C. A., Krusche A. V., Hedges J. I., Quay P. D., Richey E. D., Brown T. A. (2005): Young organic matter as a source of carbon dioxide outgassing from Amazonian rivers. *Nature* 436: 538-541.
- McKee D., Atkinson D., Collings S. E., Eaton J. W., Gill A. B., Harvey I., Hatton K., Heyes H., Moss B. (2000): Heated aquatic microcosms for climate change experiments. *Freshwater Forum* 14: 51-58.
- McKee D., Atkinson D., Collings S. E., Eaton J. W., Harvey I., Heyes T., Hatton K., Wilson D., Moss B. (2002a): Macro-zooplankter responses to simulated climate warming in experimental freshwater microcosms. *Freshwater Biology* 47: 1557-1570.
- McMeans B. C., Koussoroplis A. M., Arts M. T., Kainz M. J. (2015): Terrestrial dissolved organic matter supports growth and reproduction of *Daphnia magna* when algae are limiting. *Journal of Plankton Research* 1-9.

Minguez L., Sperfeld E., Berger S. A., Nejstgaard J. C., Gessner M. O. (2019): Changes in food characteristics reveal indirect effects of lake browning on zooplankton performance. *Limnology and Oceanography* 1-13.

Monteith D. T., Stoddard J. L., Evans C. D., de Wit H. A., Forsius M., Høgåsen T., Wilander A., Skjelkvåle B. L., Jeffries D. S., Vuorenmaa J., Keller B., Kopáček J., Vesely J. (2007): Dissolved organic carbon trends resulting from changes in atmospheric deposition chemistry. *Nature* 450: 537-539.

Moss B., McKee D., Atkinson D., Collings S. E., Eaton J. W., Gill A. B., Hatton K., Heyes T., Wilson D. (2003): How important is climate? Effects of warming, nutrient in shallow lake addition and fish on phytoplankton microcosm. *Journal of Applied Ecology* 40: 782-792.

Mutschlecner E., Guerard J. J., Jones J. B., Harms T. K. (2018): Phosphorus enhances uptake of dissolved organic matter in Boreal streams. *Ecosystems* 21: 675-688.

Navarro M. B., Villanueva V. D., Modenutti B. (2019): High phosphorus content in leachates of the austral beech *Nothofagus pumilio* stimulates bacterioplankton C-consumption. *Freshwater Science the University of Chicago Press* 38: 435-447.

Nicolle A., Hallgren P., Von Einem J., Kritzberg E. S., Granéli W., Persson A., Brönmark C., Hansson L. A. (2012): Predicted warming and browning affect timing and magnitude of plankton phenological events in lakes: a mesocosm study. *Freshwater Biology* 57: 684-695.

Onandia G., Dias J. D., Miracle M. R. (2015): Zooplankton grazing on natural algae and bacteria under hypertrophic conditions. *Limnetica* 34: 541-560.

Pace M. L., Cole J. J., Carpenter S. R., Kitchell J. F., Hodgson J. R., Van de Bogert M. C., Bade D. L., Kritzberg E. S., Bastviken D. (2004): Whole-lake carbon – 13 additions reveal terrestrial support of aquatic food webs. *Nature* 427: 240-243.

Paerl H. W., Otten T.G. (2013): *Environmental Science*. Blooms bite the hand that feeds them. *Science* 342 (6157): 433-434.

Petchey O. L., Morin P. J., Hulot F. D. (2002): Contributions of aquatic model systems to our understanding of biodiversity and ecosystem functioning. U: Loreau M., Naeem S., Inchausti P. (ur.) *Biodiversity and ecosystem functioning: synthesis and perspectives*. Oxford University Press, Oxford U.K., str. 127-138.



- Radwan S. (2004): Rotifers (Rotifera). The Freshwater Fauna of Poland. 32. Polish hydrobiological Society, University of Łódź.
- Rautio M., Korhola A. (2002): Effects of ultraviolet radiation and dissolved organic carbon on the survival of subarctic zooplankton. *Polar Biology* 25: 469-473.
- Robarts R. D., Carr G. M. (2009): Bacterioplankton. U: Encyclopedia of Inland Waters. Elsevier, 193-200.
- Robidoux M., del Giorgio P., Derry A. (2015): Effects of humic stress on the zooplankton from clear and DOC-rich lakes. *Freshwater Biology* 60: 1263-1278.
- Rosemond A. D., Benstead J. P., Bumpers P. M., Gulis V., Kominoski J. S., Manning D. W. P., Suberkropp K., Bruce W. J. (2015): Experimental nutrient additions accelerate terrestrial carbon loss from stream ecosystems. *Science* 347: 1142-1145.
- Ruttner-Kolisko A. (1977): Sugestions for biomass calculations of plankton rotifers. *Archiv für Hydriobiologie – Beiheft Ergebnisse der Limnologie* 8: 71-76.
- Saebelfeld M., Minguez L., Griebel J., Gessner M. O., Wolinska J. O. (2017): Humic dissolved organic carbon drives oxidative stress and severe fitness impairments in *Daphnia*. *Aquatic Toxicology* 182: 31-38.
- Scheffer M., Hosper S. H., Meijer M. L., Moss B., Jeppesen E. (1993): Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology & Evolution* 8: 275-279.
- Scheffer M., Rinaldi S., Kuznetsov Y. A. (2000): Effects of fish on plankton dynamics: a theoretical analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57 (6): 1208-1219.
- Schreeg L. A., Mack M. C., Turner B. L. (2013): Nutrient - specific solubility patterns of leaf litter across 41 lowland tropical woody species. *Ecology* 94: 94–105.
- Shurin J. B., Clasen J. L., Greig H. S., Kratina P., Thompson P. L. (2012): Warming shifts top-down and bottom-up control of pond food web structure and function. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 367: 3008-3017.
- Solomon C. T., Jones S. E., Weidel B. C., Buffam I., Fork M. L., Karlsson J., Larsen S., Lennon J. T., Read J. S., Sadro S., Saros J. E. (2015): Ecosystem Consequences of Changing Inputs of

Terrestrial Dissolved Organic Matter to Lakes: Current Knowledge and Future Challenges. *Ecosystems* 1-15.

Søndergaard M., Middelboe M. A. (1995): A cross-system analysis of labile dissolved organic carbon. *Marine Ecology Progress Series* 118: 283-294.

Stewart R. I. A., Dossena M., Bohan D. A., Jeppesen E., Kordas R. L., Ledger L. E., Meerhoff M., Moss B., Mulder C., Shurin J. B., Suttle B., Thompson R., Trimmer R., Woodward G. (2013): Mesocosm Experiments as a Tool for Ecological Climate-Change Research. U: Woodard G., O'Gorman E. J. (ur.) *Advances In Ecological Research: Global Change in Multispecies Systems: Part III*. Elsevier, Amsterdam, str. 71-181.

Šorf M., Davidson T. A., Brucet S., Menezes R. F., Søndergaard M., Lauridsen T. L., Landkildehus F., Liboriussen L., Jeppesen E. (2015): Zooplankton response to climate warming: a mesocosm experiment at contrasting temperatures and nutrient levels. *Hydrobiologia* 742: 185-203.

Špoljar M., Tomljanović T., Lalić I. (2011a): Eutrophication impact on zooplankton communities: a shallow lake approach. *The Holistic Approach of Environment* 1 (4): 131-142.

Špoljar M., Dražina T., Habdija I., Meseljević M., Grčić Z. (2011b): Contrasting zooplankton assemblages in two oxbow lakes with low transparencies and narrow emergent macrophyte belts (Krapina River, Croatia). *International Review of Hydrobiology* 96: 157-190.

Špoljar M., Dražina T., Šargač J., Kralj-Borojević K., Žutinić P. (2012): Submerged macrophytes as a habitat for zooplankton development in two reservoirs of a flow-through system (Papuk Nature Park, Croatia). *Annales de Limnologie – International Journal of Limnology* 48: 161-175.

Špoljar M., Lajtner J., Dražina T., Malekzadeh-Viayeh R., Radanović I., Zrinščak I., Fressl J., Matijašec D. (2017): Disentangling food webs interactions in the littoral of temperate shallow lakes. *Natura Croatica* 26: 145-166.

Špoljar M., Ternjej I. (2017): Zooplankton: slabo poznat, ali značajan indikator stupnja trofije. *Znanstveno-stručni skup: Vizija i izazovi upravljanja zaštićenim područjima prirode u Republici Hrvatskoj* 765-774.

Špoljar M., Dražina T., Lajtner J., Kovačević G., Pestić A., Matijašec D., Tomljanović T. (2018): Impact of water level fluctuation in the shaping of zooplankton assemblage in a shallow lake. *Croatian Journal of Fisheries* 76: 27-34.

Špoljar M., Sertić Perić M., Wnag H., Zhang C., Kuczyńska-Kippen N., Fressl J., Ercegovac Z. (2021): Does the size structure of the littoral community reflect water level fluctuations in shallow waterbodies? *Ecological Indicators* 132: 1-15.

Tang Y., Su Y, Sun H., Liu Z., Dumont H. J., Hu J., Zhang Y., Yu J. (2017): Carbon transfer from dissolved organic carbon to the cladoceran *Bosmina*: a mesocosm study. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 418 (24): 1-4.

ter Braak C. F. J., Smilauer P. (2002): Canoco, Reference Manual and CanoDraw for Windows user's guide: Software for Canonical Community Ordination.

Tomec M. (1997): Fizikalno-kemijske i biološke karakteristike šaranskih ribnjaka. *Ribarstvo* 55: 167-173

Tonetta D., Staehr P. A., Obrador B., Brandão L. P. M., Brighenti L. S., Petrucio M. M., Barbosa F. A. R., Bezzera-Neto J. F. (2018): Effects of nutrients and organic matter input in the gasses CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub>: A mesocosm study in a tropical lake. *Limnologia* 69: 1-9.

Urrutia-Cordero P., Ekvall M. K., Ratcovich J., Soares M., Wilken S., Zhang H., Hansson L. A. (2017): Phytoplankton diversity loss along a gradient of future warming and brownification in freshwater mesocosms. *Freshwater Biology* 62: 1869-1878.

Voigt M., Koste W. (1987): Die Rädertiere Mitteleuropas. Gebrüder Borntraeger, Berlin Stuttgart.

Wallace R. I., Walsh E. J., Nandini S., Sarma S. S. S. (2021): A meta-analysis of benthic rotifer community structure as a function of lake trophic state. *Aquatic Ecology* 55 (4): 1297-1304.

Weyhenmeyer G. A., Kosten S., Wallin M. B., Tranvik L. J., Jeppesen E., Roland F. (2015): Significant fraction of CO<sub>2</sub> emissions from boreal lakes derived from hydrologic inorganic carbon inputs. *Nature Geoscience* 8: 933-936.

Weyhenmeyer G. A., Müller R. A., Norman M., Tranvik L. J. (2016): Sensitivity of freshwaters to brownification in response to future climate changes. *Climatic Change* 134: 225-139.

Yalçın G., Yildiz D., Metin M., Yetim S., Calderó-Pascual M., Andersen M. R., Karakaya N., Ger K. A., McCarthy V., Jeppesen E., Beklioğlu M. (2021): Response of Microbial Loop to Different Quality of Dissolved Organic Carbon (DOC) Pulse Disturbance. 10<sup>th</sup> International Shallow Lakes Conference, Natal, Brazil, 2021.

Yildiz D., Calderó-Pascual M., Yalçın G., Metin M., Yetim S., Kavak P., Filiz N., Özgencil. I. K., Špoljar M., Gottstein S., McCarthy V., Jeppesen E., Ger K. A., Beklioğlu M. (2021): Effects of Different Sources of DOC Pulse on Zooplankton Community Structure: a mesocosm study. 10<sup>th</sup> International Shallow Lakes Conference, Natal, Brazil, 2021, str. 94.

Yvon-Durocher G., Allen A. P., Montoya J. M., Trimmer M., Woodward G. (2010): The temperature dependence of the carbon cycle in aquatic ecosystems. *Advances in Ecological Research* 43: 267-313.

Zwart J. A., Sebestyen S. D., Solomon C. T., Jones S. E. (2017): The influence of hydrologic residence time on carbon cycling dynamics following extreme precipitation events. *Ecosystems* 20: 1000-1014.

[https://www.aquacosm.eu/download/Post-graduates-lecture-on-mesocosmdeliv5-V1\\_5.5.2020.pdf](https://www.aquacosm.eu/download/Post-graduates-lecture-on-mesocosmdeliv5-V1_5.5.2020.pdf) (pristupljeno 5.10.2021.)

## 7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 6. kolovoza 1997. godine u Zagrebu. Osnovnu i srednju školu (I. gimnazija Zagreb) završila sam u Zagrebu te sam 2016. godine upisala preddiplomski studij Znanosti o okolišu na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu koji sam završila 2019. godine te sam stekla akademsko zvanje sveučilišnog prvostupnika (univ. bacc). Te iste godine upisala sam diplomski studij Znanosti o okolišu na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu.

Tijekom studija na PMF-u u Zagrebu sudjelovala sam na predstavljanju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta na Smotri Sveučilišta 2018. godine te sam dvije godine (2018. i 2019.) sudjelovala na manifestaciji Dan i noć na PMF-u u sklopu Sekcije za edukaciju provodeći radionice za djecu. U lipnju 2021. godine dobila sam Dekanovu nagradu.

Aktivno se koristim engleskim jezikom u govoru i pismu te posjedujem osnovno poznavanje francuskog jezika (imam položen stupanj Delf B1). Također, aktivna sam u korištenju Microsoft Office programa te posjedujem osnovno poznavanje QGIS programa.