

# Taksonomija i prostorna raspodjela kokolitoforida u južnom Jadranu

---

**Vugrin, Mirta**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2016**

*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:217:948464>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-12**



*Repository / Repozitorij:*

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



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Mirta Vugrin

TAKSONOMIJA I PROSTORNA RASPODJELA  
KOKOLITOFORIDA U JUŽNOM JADRANU

Diplomski rad

Zagreb, 2016.

*Ovaj rad je izrađen na Botaničkom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu pod vodstvom doc. dr. sc. Zrinke Ljubešić. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra edukacije biologije i kemije.*

*Ovaj rad u potpunosti je financiran od Hrvatske zaklade za znanost sa projekta „Bio-indikatori vodenih masa u Jadranu“ UIP-11-2013-6433.*

*Veliko hvala mojoj mentorici doc. dr. sc. Zrinki Ljubešić na poklonjenom vremenu, potpori i povjerenju.*

*Zahvaljujem Maji Mejdandžić za svu pomoć u laboratoriju i velikoj podršci, također, zahvaljujem Sunčici Bosak za obradu fitoplanktona, pomoći pri obradi podataka i svim korisnim savjetima.*

*Hvala Jeleni Godrijan za detaljnu analizu kokolitoforida pod SEMom te Iris Dupčić Radić za obradu hranjivih soli.*

*Zahvaljujem se i svim svojim prijateljima, posebice Anji, na svim kavama, najboljim savjetima i velikoj podršci, te Loreni i Mariji s kojima sam provela mnoge lijepo studentske dane uz kave, kolače i nezaobilazne Štamparove stand-up komedije.*

*Veliko hvala i mojoj obitelji, najviše mami, sestri Morani i dečku Hrvoju koji su me voljeli kada je to bilo najteže.*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Diplomski rad

## Taksonomija i prostorna raspodjela kokolitoforida u južnom Jadranu

Mirta Vugrin  
Rooseveltove trg 6, 10 000 Zagreb

Kokolitoforidi, fotosintetski jednostanični organizmi, jedna su od najvažnijih skupina morskog fitoplanktona. Od izuzetne su važnosti u kruženju elemenata u prirodi jer osim što obavljaju proces fotosinteze sudjeluju i u kruženju ugljika i sumpora u prirodi. Taksonomija kokolitoforida je izuzetno zahtjevna zbog malih dimenzija stanica, ultrastrukturnih obilježja vidljivih samo skenirajućim elektronskim mikroskopom te kompleksnog životnog ciklusa koji se sastoji od dvije morfološki različite faze. Provedeno je terensko istraživanje 2015. i 2016. godine na 15 postaja u južnom Jadranu, raspoređenih u tri transekta (P, M, V-transekt) te su sakupljena 183 uzorka. Skenirajućim elektronskim mikroskopom determinirane su 42 vrste kokolitoforida te je napravljena detaljna taksonomska lista. Dominantna vrste bile su *Emiliana huxleyi*, *Syracosphaera* sp. i *Syracosphaera molischii*. Karakteristične vrste za ovo područje su *Syracosphaera pulchra*, *Syracosphaera ossa* i *Calcidiscus leptoporus*. Uočena je i različita raspodjela fitoplanktona, ali i kokolitoforida i to ne samo između dva terena, nego i na području istih postaja u razmaku od nekoliko dana. Ova činjenica potvrđuje da je južni Jadran izuzetno hidrografski dinamično područje. Dinamičnost južnog Jadrana utječe na fitoplankton, kokolitoforide i primarnu produkciju, čime neizravno utječe i na više trofičke razine.

(76 stranica, 48 slika, 9 tablica, 77 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Ključne riječi: kokolitoforidi, južni Jadran, fitoplankton, prostorna raspodjela, taksonomija

Voditelj: Dr. sc. Zrinka Ljubešić, doc.

Ocjenitelji: 1. Dr. sc. Zrinka Ljubešić, doc.

2. Dr. sc. Ines Radanović, izv. prof.

3. Dr. sc. Marijana Đaković, doc.

Rad je prihvaćen: 1. prosinca 2016.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Biološki odsjek  
Department of Biology

Graduation Thesis

### Taxonomy and spatial distribution of coccolithophores in the southern Adriatic

Mirta Vugrin  
Rooseveltova trg 6, 10 000 Zagreb

Coccolithophores, photosynthetic unicellular organisms, are one of the most important groups of marine phytoplankton. Not only that they photosynthesize, they also play a big role in the carbon and sulfur cycle in nature. Taxonomy of coccolithophores is extremely challenging due to the small size of cells, ultrastructural features visible only by scanning electron microscope and a complex life cycle that consists of two morphologically different phases. Field research in 2015 and 2016 at 15 stations was conducted in the southern Adriatic, it was arranged in three transects (P, M, V-transect) and we have collected 183 samples. 42 different species of coccolithophores were determined with scanning electron microscope and detailed taxonomic list was created. The dominant species were *Emiliana huxley*, *Syracosphaera* sp. and *Syracosphaera molischii*. The characteristic species of this area are *Syracosphaera pulchra*, *Syracosphaera ossa* and *Calcidiscus leptoporus*. There was a visible difference in distribution of phytoplankton and coccolithophores not only between the two field researches, but also in the field of the same station but in the space of a few days. This fact confirms that the southern Adriatic is a very hydrographic dynamic area. The dynamism of the southern Adriatic affects phytoplankton, Coccolithophorids and primary production, which indirectly affects the higher trophic levels.

(76 pages, 48 figures, 9 tables, 77 references, original in: Croatian)

Thesis deposited in the Central Biological Library.

Key words: coccolithophores, southern Adriatic, phytoplankton, spatial distribution, taxonomy

Supervisor: Dr. sc. Zrinka Ljubešić, doc.

Reviewers: 1. Dr. sc. Zrinka Ljubešić, doc.

2. Dr. sc. Ines Radanović, izv. prof.

3. Dr. sc. Marijana Đaković, doc.

Thesis accepted: 1<sup>st</sup> of December 2016.

## SADRŽAJ

1. Uvod .....	1
1.1. Fitoplankton .....	1
1.2. Jadransko more .....	2
1.3. Kokolitoforidi .....	3
1.3.1. Morfološke karakteristike kokolitoforida .....	5
1.3.2. Ekologija kokolitoforida .....	7
1.3.3. Životni ciklus kokolitoforida .....	9
1.3.4. Nomenklatura kokolitoforida .....	11
1.3.5. Klasifikacija kokolitoforida .....	13
1.4. Prethodna istraživanja .....	14
1.5. Cilj istraživanja .....	16
2. Materijali i metode .....	17
2.1. Opis istraživanih postaja i dinamika istraživanja .....	17
2.2. Uzorkovanje na terenu .....	18
2.3. Analiza u laboratoriju .....	20
2.3.1. Fitoplankton .....	20
2.3.2. Hranjive soli .....	21
2.3.3. Tekuća kromatografija visokog učinka (HPLC) .....	21
2.3.4. Kvalitativna analiza kokolitoforida .....	22
2.4. Izolacija i uzgoj stanica u kulturi .....	22
2.5. Numerička i grafička obrada podataka .....	23
3. Rezultati .....	24
3.1. Rezultati BIOTA I .....	24
3.1.1. Fizikalno-kemijski čimbenici .....	24
3.1.2. Prozirnost .....	29
3.1.3. Pigment 19'-heksanoiloksifukoksantin .....	29
3.1.4. Prostorna raspodjela fitoplanktona .....	29
3.1.5. Sastav fitoplanktona .....	38
3.1.6. SEM analiza .....	40
3.1.7. Vertikalni profili .....	45
3.1.8. PCA .....	54
3.2. Rezultati BIOTA II .....	55

3.2.1. Fizikalno-kemijski čimbenici .....	55
3.2.2. Prozirnost .....	57
3.2.3. Prostorna raspodjela fitoplanktona .....	57
3.2.4. Sastav fitoplanktona .....	60
3.2.5. PCA .....	61
4. Rasprava .....	63
5. Zaključak .....	69
6. Literatura .....	70



# 1. UVOD

## 1.1. Fitoplankton

Plankton su organizmi koji lebde u stupcu vode, ne mogu se aktivno pokretati već su nošeni strujama. Takve organizme nalazimo u oceanima, morima, slatkim vodama stajaćicama te donjim dijelovima toka velikih tekućica. U planktonske organizme ubrajamo fitoplankton i zooplankton, bakterioplankton, neke gljive i viruse.

Fitoplankton dolazi od grčke riječi fiton što znači biljka i riječi planktos što znači lualica. Riječ lualica opisuje način života planktona, pa tako i fitoplanktona, jer stanice koje čine plankton lutaju tj. pasivno su nošene strujama. Riječ biljka otkriva nam da fitoplankton ima nešto zajedničko s biljkama. Naime, fitoplankton, kao i biljke, ima sposobnost provođenja procesa fotosinteza, a izuzetno je važan jer je odgovoran za 42% ukupne svjetske neto primarne proizvodnje (Field i sur. 1998). Fitoplankton čine jednostanične i kolonijalne autotrofne i miksotrofne alge. Većinu morskog fitoplanktona čine vrste unutar odjela Haptophyta, Dinophyta, Cryptophyta i Chlorophyta, a opisano je 4000 morskih vrsta fitoplanktonskih organizama raspoređenih u 500 rodova (Sournia i sur. 1991).

Postoje tri veličinske frakcije fitoplanktona: pikoplankton (0,2 – 2  $\mu\text{m}$ ), nanoplankton (2 – 20  $\mu\text{m}$ ) i mikrop plankton (20 – 200  $\mu\text{m}$ ), a veći planktonski organizmi dijele se na mezoplankton (0,2 – 20 mm), makrop plankton (2 – 20 cm) i megaplankton (> 20 cm) (Sieburth i sur. 1978).

Fitoplankton obitava u eutrofičkom sloju tj. površinskom sloju vode gdje je dostupna dovoljna količina svjetlosti za obavljanje fotosinteze. Najvažniji pigment za proces fotosinteze je klorofil *a* koji je prisutan u svim algama. Klorofil *a* te ostali pigmenti nalaze se raspoređeni u plastidima kod eukariota, a kod cijanobakterija se nalaze uz tilakoide u fikobilisomima.

Osim svjetlosti i klorofila za uspješan razvoj fitoplanktona važna je i dovoljna koncentracija glavnih nutrijenata i mikronutrijenata, stabilnost vodenog stupca, kritična gustoća populacije i mala količina herbivora. Kada su navedeni uvjeti povoljni dolazi do razvoja i jačanja populacije fitoplanktona što za posljedicu ima povećanje broja herbivora. Povećanjem broja herbivora smanjuje se broj fitoplanktona. Smanjenje broja fitoplanktona utječe na populaciju herbivora tj. dolazi do uginuća herbivora zbog nedostatka hrane. Uginule herbivore razgrađuju bakterije te tako dolazi do ponovnog vraćanja nutrijenata u sustav. Regeneracija

nutrijenata omogućava ponovni razvoj fitoplanktona. Taj kružni proces stalno se ponavlja i ključan je za život u morima pa tako i za život na Zemlji.

## 1.2. Jadransko more

Jadransko more je sjeverni izdanak Sredozemnog mora (Meditera), a čini samo 4,6% od njegove ukupne površine (Riđanović i sur. 1999). Od Jonskog mora razdvajaju ga Otrantska vrata (širine 70 km) i Otrantski prag (dubine 789 m). Površina Jadranskog mora bez otoka iznosi 135418 km<sup>2</sup>, a volumen mu je 34836 km<sup>3</sup>. Površina hrvatskog dijela Jadrana iznosi 40984 km<sup>2</sup>. Najveća je dubina izmjerena u Južnojadranskoj kotlini i iznosi 1243 m, ali većina Jadrana, oko 73%, je plića od 200 m. Jadransko more longitudinalno se dijeli na sjeverni, srednji i južni dio, a fizikalna, biološka i kemijska svojstva tih dijelova se razlikuju. Područje istraživanja u ovom je slučaju bio južni dio Jadrana pa će se dalje u tekstu detaljnije govoriti o svojstvima tog dijela Jadrana.

U najširem južnom dijelu Jadranskog mora, točnije u području Južnojadranske kotline čija dubina dostiže 1243 m nalazimo tipičan ekosustav otvorenog mora. Južnojadranska kotlina površinom zauzima petinu čitavog Jadrana, a sadrži četiri puta veći volumen vode nego sjeverni i srednji Jadran zajedno.

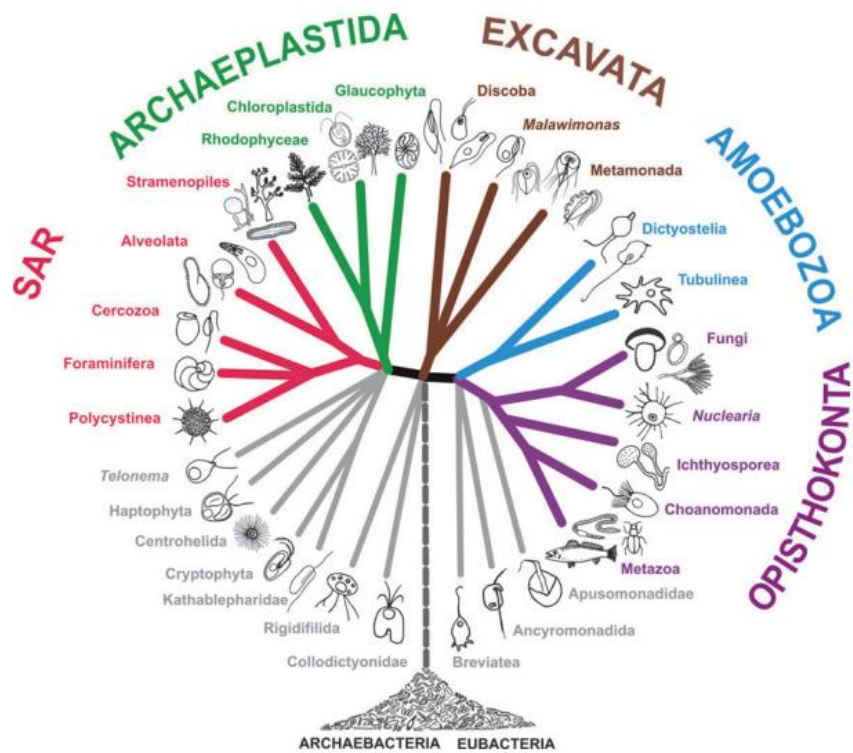
Iz Jonskog mora kroz Otrantska vrata ulazi voda povećanog saliniteta, a 25% te vode odlazi preko Palagruškog praga prema srednjem i sjevernom Jadranu, dok se 75% zadržava u južnojadranskom ciklonalnom vrtlogu (Gačić i sur. 1999). Voda iz Sredozemlja ne ulazi u Jadran jednako tijekom čitave godine i na to utječu mnogi čimbenici, kao npr. vjetrovi koji su u Egejskom moru snažni tijekom zime te uzrokuju smanjen dotok vode iz Sredozemlja u Jadran što pak uzrokuje smanjenje saliniteta u južnom Jadranu.

Palagruški prag je granica između plićeg i produktivnijeg srednjeg Jadrana i dubljeg i siromašnijeg južnog Jadrana. Upravo je to mjesto kontakta vodenih masa različitog porijekla te je zato na tom području povećana primarna produkcija (Zore-Armanda 1984, 1996; Vukadin i Stojanoski 1996; Leder i sur. 1996). Također, iznad Južnojadranske kotline stvara se već spomenuti ciklonalni vrtlog koji je najjači zimi i u rano proljeće, a tada u njegovu središtu dolazi do uzdizanja dubinske vode prema površini (Viličić i sur. 1994; Viličić i sur. 1989). Upravo tim uzdizanjem dubinske vode autohtone hranjive soli dolaze na površinu te se na taj način obogaćuje površinski sloj južno od Palagruškog praga (Marasović i sur. 1999). Hranjive soli dolaze u Jadransko more i ulaznim strujama iz Jonskog mora te je tako prisutan utjecaj albanskih rijeka u južnom Jadranu (Artegiani i sur. 1993). Kao što je spomenuto, u

proljeće dolazi do obogaćivanja eufotičkog sloja hranjivim tvarima, a upravo zbog toga dolazi do cvjetanja fitoplanktona. Cvjetanje fitoplanktona uzrokuje povećanu potrošnju hranjivih soli. Osim metaboličke aktivnosti i termička stratifikacija i održavanje kružne struje uzrokuju iscrpljivanje hranjivih soli u eufotičnom sloju te dolazi do pada biomase fitoplanktona koja onda ostaje niska do idućeg proljeća. Redukcija koncentracije nutrijenata nakon cvjetanja, pučinsko cvjetanje fitoplanktona od travnja do svibnja te zimsko obogaćivanje eufotičkog sloja nutrijentima su tipični procesi prisutni u toplim oligotrofnim morima, a nazivaju se još i oligotrofna faza u razvojnom ciklusu fitoplanktona i ekosustava (Mann i Lazier 1996). Upravo taj ciklus postoji i u Južnojadranskoj kotlini i vrlo je važan za život fitoplanktona. Na sastav fitoplanktona u južnom Jadranu utječu ulazne vode iz istočnog Sredozemlja (Viličić 1998), a u njemu su prisutne mnoge suprotropske i termofilne vrste. U istočnom dijelu Južnojadranske kotline tako je pomoću svjetlosnog mikroskopa određena velika raznolikost vrsta mikrofitoplanktona, najviše dijatomeja (95 vrsta) i dinoflagelata (119 vrsta) (Viličić 1998). Ako uzmemo u obzir da je Jadran umjereno područje, nije niti čudno da na području cijelog Jadranskog mora postoji snažna sezonska varijabilnost fitoplanktona koja svoj maksimum doseže u proljeće (Antoine i sur. 1995). Južnim Jadranom dominira pikofitoplankton, koji je i najvažnija komponenta za primarnu proizvodnju tog područja (Najdek i sur. 2014). Primarna proizvodnja za koju je zaslužan mikrofitoplankton ograničena je na površinske slojeve obalne vode nižeg saliniteta, ali bogatije nutrijentima, dublje vode sa visokim maksimumom klorofila te periode tijekom i nakon zimske konvekcije (Gačić i sur. 2002; Batistić i sur. 2012; Cerino i sur. 2012).

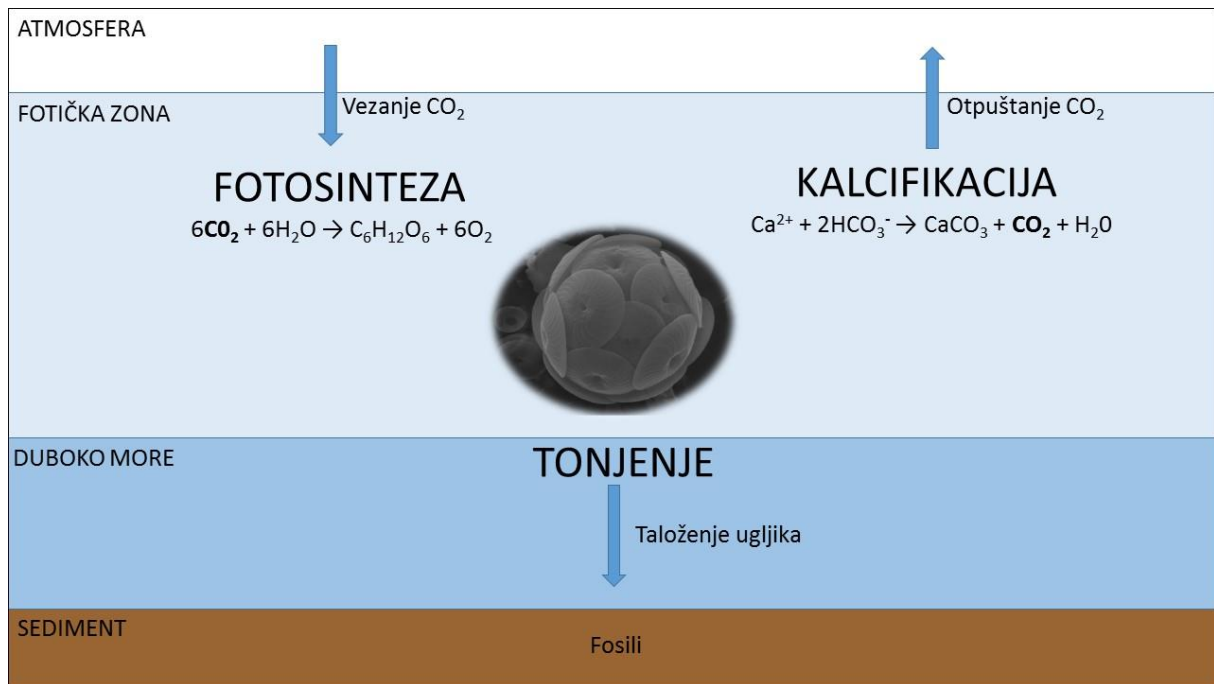
### 1.3. Kokolitoforidi

Kokolitoforidi su alge čije su stanice prekrivene kalcitnim pločicama, kokolitima. Pripadaju odjelu Haptophyta, razredu Coccolithophyceae, porodicama Isochrysidales i Coccolithales (Slika 1.).



Slika 1. Prikaz filogenije eukariota (preuzeto iz: Adl. 2012)

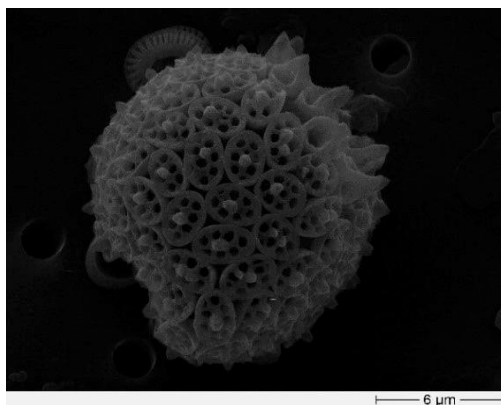
U zadnje vrijeme, vrijeme sve intenzivnijih klimatskih promjena, sve više znanstvenika počelo je proučavati kokolitoforide, najviše zbog njihove uloge u biogeokemijskim ciklusima. Naime, kokolitoforidi otpuštaju dimetilsulfid, jedan od glavnih spojeva jezgre kondenzacijskih oblaka, te tako imaju indirektan utjecaj na refleksiju sunčevog zračenja. Što je refleksija sunčevog zračenja veća to se površina oceana manje zagrijava, a to je izuzetno važno i za bića koja u njemu žive, ali i za živa bića ostalih ekosustava jer povećanjem temperature oceana dolazi do topljenja ledenjaka što za posljedicu ima niz klimatskih promjena u svim ekosustavima, ne samo u oceanima. Osim toga, kokolitoforidi su vrlo značajni za ciklus ugljika jer, osim fotosinteze i pretvaranja anorganskog ugljika u organski, sintetiziranjem kalcijevog karbonata za izgradnju kokolita utječu na ravnotežu ugljika u moru (Slika 2.).



Slika 2. Ilustracija uloge kokolitoforida u biogeokemijskom ciklusu kruženja ugljika (prilagođeno iz: Šupraha 2016, doktorska disertacija)

### 1.3.1. Morfološke karakteristike kokolitoforida

Glavno determinacijsko svojstvo stanica kokolitoforida je vanjski skelet. Skelet stanica kokolitoforida sastoji se od pločica građenih od kalcijevog karbonata koje zovemo kokoliti (Slika 4.). Kokolitoforidi proizvode dvije različite vrste kokolita, heterokokolite i holokokolite. Heterokokoliti su građeni od radijalno položenih kompleksnih kristalnih jedinica, a holokokoliti od mnogo jednakih sitnih kristala. I heterokokoliti i holokokoliti vezani su uz životni ciklus kokolitoforida, a kokolitoforidi ih proizvode različitim biomineralizacijskim procesima (Young i sur. 1999). Otkriveno je da kokolitoforidi u haploidnoj fazi životnog ciklusa proizvode holokokolite, dok u diploidnoj heterokokolite. Neke strukture pronađene na stanicama kokolitoforida nisu u skladu s hetero/holo podjelom, a i smatra se da su stvorene drugačijim biomineralizacijskim procesima, te takve kokolite zovemo nanoliti.



Slika 4. *Coronosphaera mediterranea wettsteini* s holokokolitima slikana SEM-om

Heterokokoliti se većinom sastoje od središnjeg dijela i ruba. Takva građa odraz je procesa stvaranja kokolita, naime, iz proto-kokolitnog prstena rastom na van i u vis se stvara rubni dio, dok rastom prema unutra središnji dio. Središnji dio je unutarnji dio kokolita i on je okružen rubom. Središnji dio može imati otvor ili može biti zatvoren te su za njega karakteristični manje pravilni kružni elementi. Rub je, već spomenuti, vanjski dio kokolita, a karakteriziraju ga redoviti kružni elementi, od kojih su neki vertikalno usmjereni.

Heterokokolite, po obliku, bez obzira na strukturu, dijelimo na murolite, planolite i plakolite. Postoji mnogo oblika heterokokolita, ali ta su tri navedena tipa najčešća u različitim klasifikacijskim grupama (Young i sur. 1992). Različiti tipovi su vjerojatno homeomorfne prilagodbe nastale tijekom organizacije kokolita na površini stanice. Postoje i prijelazni oblici između tipova, a svaki od njih može biti s ili bez nastavaka.

Muroliti (lat. murus = zid) su heterokokoliti koji imaju podignut rub, vertikalni zid, ali nemaju dobro razvijene štitove. Primjer murolita nalazimo kod roda *Pontosphaera*. Planoliti (lat. Planus = ravno) su heterokokoliti oblika diska i bez značajno podignutog ruba, a nalazimo ih kod, na primjer, roda *Rhabdosphaera*. Plakoliti su pak heterokokoliti sa dva ili više dobro razvijena štita te su s baznom pločom povezani preko cijevi. Plakoliti dobro su vidljivi kod roda *Emiliana*.

Heterokokoliti i nanoliti građeni su od složeno oblikovanih kalcitnih kristala, a njihova se ultrastruktura opisuje prema Young i Bown (1991).

Strukturalna obilježja rubnog dijela važna su u klasifikaciji kokolitoforida (Perch-Nielsen 1971), no opis i interpretacija tih obilježja mogu biti zbunjujući ako ne poznajemo rast tih rubnih komponenata tijekom ontogeneze kokolita (Young i Bown 1991). Rast rubnih dijelova započinje nukleacijom proto-kokolitnog prstena koji je sastavljen iz niza jednostavnih

kristalnih jedinica. Jednostavne jedinice protokokolitnog prstena rastu u raznim smjerovima te tako proizvode rub sačinjen od kristalnih jedinica složenije morfologije. Kokolitni se prsten tada sastoji od dva tipa kristalnih jedinica. Jedan je tip s otprilike vertikalnom orijentacijom c-osi (V-jedinica), dok drugi ima otprilike radijalno orijentiranom c-osi (R-jedinica). Obje kristalne jedinice potječu iz istog proto-kokolitnog prstena, unutar kojeg su naizmjenice posložene. Brojni heterokokoliti imaju strukture koje uključuju dva seta kristalnih jedinica s dvije različite kristalne orijentacije, što je uočljivo svjetlosnim mikroskopom (Young i sur. 1999). Ovaj je model naizmjenice položenih kristalnih jedinica u proto-kokolitnom prstenu objasnio strukturu kokolita i njihovu kristalografiju.

U spomenutom je modelu zapravo nekoliko povezanih hipoteza: (i) rubovi heterokokolita oblikuju se iz jednog protokokolitnog prstena pomoću dva seta jezgara čiji rast rezultira jasnim kristalnim jedinicama; (ii) orijentacija tih jedinica je posljedično vertikalna i radijalna u odnosu na rub bazne ploče; (iii) model je sačuvan kroz evoluciju heterokokolita, tako da su sve V-jedinice homologne jedne s drugima, a isto vrijedi i za R-jedinice.

Unutar porodica struktura i kristalografija kokolita je najčešće konstantna, te je to značajka koja se može ignorirati pri identifikaciji na razini vrsta, osobito na elektronskom mikroskopu. Međutim, treba napomenuti da ovaj kristalografski aspekt klasifikacije znači da se bazira na varijacijama u prilično stabilnom biomineralizacijskom procesu koji je tako mnogo čvršći nego što bi se površno moglo pomisliti.

### 1.3.2. Ekologija kokolitoforida

Postoji nekoliko čimbenika koji utječu na život planktona, fitoplanktona pa tako i na život kokolitoforida.

Jedan od najvažnijih čimbenika jest temperatura. Temperatura utječe na rasprostranjenost kokolitoforida na globalnoj razini, ona određuje zone po geografskoj širini (Baumann i sur. 2005). Lokalno se važnost temperature gubi jer niti jedno vodeno tijelo nema ekstremno velika temperaturna gibanja tijekom godine. Za suptropske populacije temperaturne promjene su manje važne, dok su za subpolarne puno važnije zbog stvaranja i rastavljanje sezonske termokline (Andruleit i sur. 2003). Osim na rasprostranjenost, temperatura utječe i na životni ciklus kokolitoforida, tj. veću zastupljenost haploidne ili diploidne faze (Šupraha i sur. 2016).

Drugi važan čimbenik za život kokolitoforida je salinitet. Većina kokolitoforida žive u otvorenom oceanu te su prilagođene na raspon saliniteta 32–37 (Brand 1994). Vrste koje

podnose puno šire raspone saliniteta su zabilježene u vodama niskog saliniteta, kao što su fjordovi (Brand 1994). U područjima niskog saliniteta, primjerice obalnim područjima, raznolikost kokolitoforida je relativno mala. Vrste u takvim područjima mogu biti visoko specijalizirane, na primjer mogu biti bentičke ili pak slabo kalcificirane. Samo jedna vrsta kokolitoforida nađena je u slatkovodnom okolišu: *Hymenomonas roseola* (Tomas 1997). Najveća raznolikost vrsta je u toplim, stratificiranim i oligotrofnim vodama gdje je salinitet relativno visok. Tako je na primjer 51 vrsta zabilježena u zaljevu Eliat (poznatom još kao i zaljev Aqaba) gdje je medijan saliniteta 41 (Winter i sur. 1979).

Također važan čimbenik za opstanak kokolitoforida su hranjive soli. Za biokemijske reakcije i rast kokolitoforida najvažniji su fosfor i dušik. Dušik je u obliku nitrata esencijalan za rast i kalcifikaciju, međutim, ako je koncentracija previsoka, kalcifikacija je inhibirana. Fosfor je kontrolni čimbenik kalcifikacije. Van der Wall i sur. (1995) u svom su istraživanju zamijetili niske koncentracije fosfora u vodama u kojima su cvjetali kokolitoforidi, i to uglavnom *Emiliana huxleyi*. Upravo vrsta *Emiliana huxleyi* ima visoku kinetiku unosa fosfata, stoga je uspješna u okolišima s niskim koncentracijama fosfata (Townsend i sur. 1994). Šupraha i sur. (2015) objavili su rad u kojem se opisuje istraživanje na dva nanoplanktonska roda, *Hyalolithus* i *Petasaria*, a donesen je zaključak da nedostatak fosfora najviše utječe na morfologiju kokolita i količinu kalcifikacije. Naime, ograničenjem koncentracije fosfora dolazi do preusmjeravanja resursa za potrebe fotosinteze, kao najvažnijeg procesa, čime dolazi do zanemarivanja kalcifikacije i regulacije morfologije kokolita. Također, ako se smanjenje koncentracije fosfora kombinira sa temperaturnim stresom negativne posljedice drastično se povećaju, što je značajno za predviđanje mogućih posljedica klimatskih promjena.

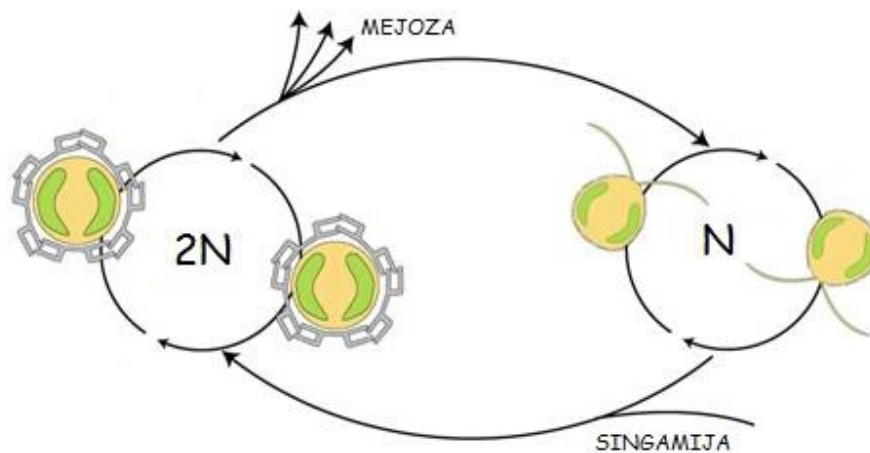
U slučaju eutrofnog okoliša kokolitoforidi čine samo maleni dio zajednice jer ih nadjačavaju dijatomeje. Ipak, određeni kokolitoforidi (plakolitni) su prilagođeni upravo na takve uvjete, dok su drugi suprotno tome češći u oligotrofiji (Kinkel i sur. 2000).

Većina vrsta kokolitoforida živi u gornjem fotičkom sloju (<50–80 m) jer im je za fiksaciju ugljika potrebna svjetlost. Postoje vrste koje nisu inhibirane svjetlošću: *Emiliana huxleyi* (Tyrell i Merico 2004) i *Florisphaera profunda*, pa one nastanjuju donji fotički sloj (Baumann i Boeckel 2013).



### 1.3.3. Životni ciklus kokolitoforida

Životni ciklus kokolitoforida je složen, a u njemu dolazi do izmjene haploidne i diploidne faze (Slika 3.). Tijekom obje faze kokolitoforidi se nespolno razmnožavaju binarnom diobom tj. mitozom, prilikom koje od stanice majke nastaju dvije stanice kćeri. Nakon što se stanice podijele jedna ostaje unutar kokosfere, a druga izlazi iz nje i stvara nove kokolite (Fresnel i Probert 2005).



Slika 3. Životni ciklus kokolitoforida u kojem dolazi do izmjene diploidne ( $2n$ ) i haploidne faze ( $n$ ) (modificirano i preuzeto sa:

<http://pelagicaassignment1.weebly.com/coccolithophores.html>)

Unutar životnog ciklusa primijećena je i izmjena pokretne i nepokretne faze kod oceanskih oblika (nepokretna *Emiliana* se izmjenjuje s pokretnim stadijem koji je pokriven ljuskama, nepokretna *Coccolithus* se izmjenjuje s pokretnom fazom *Crystallolithus*) i bentičkih oblika (pokretni *Pleurochrysis* koji se izmjenjuje s bentičkim stadijem pokriven ljuskama), a oba se oblika razmnožavaju vegetativno. Iz dostupnih podataka Billard (1994) je pretpostavio da svi kokolitoforidi imaju heterotrofan životni ciklus. Također, primijećeno je da su holokokoliti karakteristični za haploidnu, a heterokokoliti za diploidnu fazu. Tijekom vremena sakupljeno je mnogo dokaza koji potvrđuju Billardovu hipotezu. Dokazi su prikupljeni iz raznih izvora: (a) opažanjem faznih prijelaza u čistim kulturama stanica (Parke i Adams 1960), (b) rijetka zapažanja iz prirodnih populacija kombinacijskih kokosfera s različitim tipovima kokolita koje su interpretirane kao trenutak tranzicije faza životnog ciklusa (Geisen i sur. 2002), (c) pregledavanjem ljusaka koje pokrivaju stanice elektronskim mikroskopom, (d) bojanjem

jezgara te brojanjem kromosoma (Fresnel 1994), (e) analize razine ploidnosti protočnom citometrijom, (f) promatranjam singamije i mejoze (Gayral i Fresnel 1983).

Potvrđena su tri tipa životnih ciklusa kokolitoforida, to su: tip gdje se izmjenjuje diploidna faza s heterokokolitima i nekalcificirajuća haploidna faza, zatim tip s diploidnom fazom s heterokokolitima i haploidnom fazom s holokokolitima te tip životnog ciklusa gdje je diploidna faza s heterokokolitima, a haploidna faza s nanolitima. Opis svakog tipa slijedi u nastavku.

### 1. *Diploidna faza s heterokokolitima/nekalcificirajuća haploidna faza*

Ova je faza karakteristična za porodicu Noelaerhabdaceae, u koje spadaju rodovi *Emiliana* i *Gephyrocapsa*. Nepokretne stanice su prekrivene heterokokolitima i izmjenjuju se s pokretnim stanicama koje su prekrivene ljuskama. Haplo-diploidni ciklus tih stanica potvrđen je analizama kultura protočnom citometrijom (Green i sur. 1996). Zabilježene su i potpuno gole nepokretne stanice, za koje se smatra da su mutanti diploidne faze (Paasche 2001). Frada i sur. (2008) su iznijeli „Cheshire Cat“ teoriju, kojom daju objašnjenje alternacije životnih ciklusa kao obranu od virusa.

### 2. *Diploidna faza s heterokokolitima/haploidna faza s holokokolitima*

Porodice povezane s hetero/holo životnim ciklusom su: Helicosphaeraceae, Syracosphaeraceae, Rhabdosphaeraceae, Coccolithaceae, Calcidiscaceae i Papposphaeraceae. Ova je faza osobito dobro dokumentirana kod rodova *Coccolithus*, *Calcidiscus* i *Coronosphaera* (Geisen i sur. 2002). Iako nisu razriješeni svi odnosi, prihvaćeno je mišljenje da su svi holokokolitoforidi (smješteni u porodicu Calyptosphaeraceae) zapravo haploidni stadij heterokokolitoforida. U literaturi pronađeno je preko 70 holokokolitoforidnih vrsta što znači da nedostaje dosta „parova“. Dio tih holokokolitoforida predstavljaju ekofenotipske varijacije u haploidnoj fazi (primjer *Helicosphaera carteri*) (Geisen i sur. 2002) ili pak kriptičnu specijaciju (primjer rodova *Cooccolithus* i *Calcidiscus*) (Sáez i sur. 2003). U radu Geisen i sur. (2002) ilustriran je životni ciklus vrste *Coccolithus pelagicus*, u kojem se diploidni stadij izmjenjuje s haploidnim koji je opisan kao vrsta *Crystallolithus braarudii*. To je dokazano i analizom 18S rDNA sekvenci iz monoklonalnih kultura stanica vrste *Crystallolithus braarudii* koja je identična onoj istog gena *Coccolithus* faze.

### 3. *Diploidna faza s heterokokolitima/haploidna faza s nanolitima*

Ova je faza povezana s vrstom *Ceratolithus cristatus*, koja osim heterokokolita (planolita: Neosphaera-tip) ima i nanolit u obliku potkove, ceratolit, te još jedan tip jednostavnijeg

planolita u obliku prstena. Young i sur. (1998) iznose teoriju da je ceratolit homologan holokokolitima te se javlja u haploidnoj fazi. Neosphaera-tip planolita je karakterističan za diploidnu fazu, dok je treći oblik kokolita prstenastog oblika alternativni morfotip koji se stvara istim mehanizmom kao i planoliti. No daljnja istraživanja koja bi razotkrila detalje ove izmjene faza su prijeko potrebna.

U svakoj generaciji kokoitoforida heteromorfija je izražena na dva različita načina. Prvi način je morfologija organizma tj. pokretni i nepokretni stadij, a drugi je priroda vanjskog skeleta organizma tj. heterokokolita i holokokolita.

Često su se holokokolitne i heterokokolitne faze opisivale kao različite vrste, međutim, priznavanjem kombinacije različitih faza u jednom životnom ciklusu došlo je do revizije taksonomske nomenklature. Jednom kad se poveznice između različitih faza ustroje, jedno jedino znanstveno ime trebalo bi biti usvojeno za sve faze. Slijedeći pravila botaničke nomenklature, neformalnom se terminologijom može indicirati na određenu fazu. Za sada se holokokolitoforidna faza naznačuje dodavanjem oznake HOL heterokokolitoforidnom imenu.

Za alternativne životne stadije životnog ciklusa predloženi su taksonomski statusi, tzv. „forme“. Daljnja istraživanja otkrivaju sve više vrsta s izmjenjujućim životnim stadijima, ne samo holokokolitoforida i heterokokolitoforida, nego i kombinacija s nekalcificiranim haptofitima (Frada i sur. 2009).

Potrebno je dobro poznavanje izmjena životnog ciklusa pojedinih vrsta, upravo zbog razlika u životnim strategijama koje imaju pojedine faze, a što je iznimno značajno u ekologiji cijele grupe.

#### 1.3.4. Nomenklatura kokolitoforida

Ehrenberg (1836) je iz fosilnih nalaza prvi opisao kalcitne pločice kokolitoforida, ali im naziv "kokoliti" (eng. coccoliths) po prvi put daje Huxley (1868), koji je slične pločice pronašao u dubokomorskim naslagama Sjeverne Amerike. Wallich (1861) je u istim tim naslagama pronašao sferične stanice s kokolitima pravilno razmještenima po površini te ih je kasnije nazvao kokosfere (eng. coccospheres), odnosno stanice pokrivene kokolitima. Huxley (1868) je kokolite jednostavnog, diskoidalnog oblika imenovao *Discolithi* (eng. discoliths), dok je one kompliciranije, odnosno sastavljene od dva diska, nazvao *Cyatholithi* (eng. cyatholiths).

Schmidt (1870) je pregledavao sediment iz Jadranskog mora te zaključio da su kokoliti neovisni organizmi uklopljeni u dubokomorske naslage. On je, uz kokolite diskoidalnog oblika, pronašao i opisao i kokolite u obliku prutića, te ih nazvao „Rhabdolithen“ (eng. rhabdoliths), i predložio rod *Rhabdolithes*. Opažanja i zaključke objavljene o kokolitima revidirao je Wallich (1877) te je naglasio ispravnost svoje tvrdnje da su kokoliti tek dio pokrova jednostaničnih kokosfera i oformio je rod *Coccosphaera*. Međutim, to je ime prije već upotrijebio Perty (1852) za rod organizama nejasnog identiteta, te je stoga bilo i ostalo nevažće.

Planktonske organizme pokrivene kokolitima (njem. einzelligen Kalkalgen) Haeckel (1889) je smjestio u skupinu Calcocyteae, koju je rangirao kao red unutar razreda Paimellariae u koljenu Protophyta (*Protista vegetaiia*). Haeckel je unutar skupine Calcocyteae priznao dva tipa stanica, "Coccosphaeren" (one koje su pokrivene diskolitima ili ciatolitima), te "Rhabdosphaeren" (one koje su pokrivene poligonalnim pločicama s radijalnim šiljcima (eng. rhabdoliths)). Navodno nesvjestan Schmit-ove publikacije Haeckel je posljednji tip kokolita smjestio u rod *Rhabdosphaera*. Schwarz (1894) je objavio kratak rad u kojem objašnjava da su različiti oblici kokolita ontogenetski povezani te se stoga smještaju u isti rod, kojeg je nazvao *Coccolithus*. Zbog malih dimenzija stanica Schwarz nije uspio identificirati pojedine vrste pa je opisao samo jednu *C. oceanicus*.

Prvi pregled sistematike kokolitoforida publicirao je Lohmann (1902) te je predložio zamjenu imena *Coccosphaera* Wallich s imenom *Coccolithophora* (gr. kokkos = zrno, lithos kamen, phoras = nositi). Zaključilo se da je to ime nelegitimno zbog citiranja dva legitimna imena roda kao sinonima *Coceolithus* E.H.L. Schwarz (1894) i *Cyathosphaera* Haeckel (1894). Lohmann je također predložio i ime porodice Coccolithophoraceae (s zoološkom formom Coccolithophoridae), ali to je ime također nevažće u botaničkoj nomenklaturi, jer ime porodice mora biti temeljeno na važećem imenu roda. Lohmann je smjestio kokolitoforide u razred Mastigophora, red Flagellata, podred Chrysomonadina. Te je naveo dvije potporodice Syracosphaeroideae ("Syracosphaerinae") i Coccolithophoroideae ("Coccolithophorinae") (posljednje ime također je nevažće).

Do sredine 20. stoljeća autori su ipak uvelike slijedili Lohmanovu (1902) klasifikaciju kokolitoforida i njihovo povezivanje s krizofitima. U to vrijeme počelo je jačanje nomenklaturne važnosti haptoneme, koje je bilo popraćeno padanjem nomenklaturne važnosti kokolita. Christensen (1962) formira razred Haptophyceae u koji smješta i porodicu Coccolithophoraceae, unutar Prymnesiaceae zajedno s Phaeocystaceae te u red Prymnesiales.

Silva i sur. (2007) predložili su razrješenje nomenklaturne problematike kokolitoforida predlažući ime razreda Coccolithophyceae. To su obrazložili sljedećim argumentima: (i) broj taksona kokolitoforida daleko nadmašuje broj haptofita, (ii) filogenetski dokazi grupiraju kokolitoforide u jednu skupinu. Fujiwara i sur. (2001) potvrdili su podjelu Haptophyta na dva razreda analizirajući sekvence gena koji kodiraju veliku jedinicu RuBisCo enzima (uključenog u prvi korak fiksacije ugljika). Temeljem njihovih analiza svi kokolitoforidi unutar Prymnesiophyceae spadaju u jednu monofiletsku granu (koja sadrži i Coccochaerales i Isochrysidales). To upućuje na njihovo zajedničko porijeklo i pojavljivanje mogućnosti formiranja kokolita samo jednom u povijesti haptofita. Također, Silva i sur. (2007) zaključuju da haptofite treba tretirati kao razred Coccolithophyceae, koji je u istom rangu s razredom Pavlovophyceae u odjelu Haptophyta.

### 1.3.5. Klasifikacija kokolitoforida

Glavna uloga klasifikacije je sistematiziranje i organizacija postojećeg znanja. Problem klasifikacije je sortiranjem osigurati dojam znanja gdje znanje zapravo ne postoji. Nedostaci klasifikacije mogu su loša definicija kategorija te mogućnosti da jedinka pripada u više kategorija ili pak niti jednoj.

Viša klasifikacija kokolitoforida temelji se na strukturi i kristalografiji kokolita, ali i na drugim svojstvima, sakupljenim biološkim i paleontološkim istraživanjima (Young i Bown 1997) te uključuje tri razine: red, porodica, rod. U svrhu prirodnije grupacije, metodologija klasifikacije kokolitoforida zasniva se na *bottom-up* grupiranju (Young i sur. 2003), gdje se vrste združuju u rodove, rodovi u porodice, a porodice u redove i to je temeljeno na ponavljanju morfoloških sličnosti, postojanju prijelaznih stadija te stratigrafskoj rasprostranjenosti. *Top-down* podjela na skupine koristi se za taksone nejasnih odnosa s drugim vrstama.

U klasifikaciji kokolitoforida korišteni su redovi, radije nego podjela na porodice, s ciljem da se što više taksona očuva na svojoj postojećoj razini, s obzirom da bi se inače moralo ponovno klasificirati mnoge dobro utvrđene porodice kao potporodice.

Moderna klasifikacija haptofita priznaje četiri reda: Coccolithales (prisutni kokoliti), Prymnesiales (tipični haptofiti bez kokolita s dobro razvijenom haptoneom), Isochrysidales (smanjena haptonea, uključeni su i neki rodovi s kokolitima) i Pavlovaales (bičevi nejednakih dužina, duži bičevi imaju dlačice i ljuščice, haptonea je mala). Citološka istraživanja, molekularna genetika i biokemija pripomogla su nedvosmislenom uspostavljanju reda

Pavlovaes koji se sada smatra odvojenim razredom ili podrazredom (Green i Jordan 1994). Fujiwara i sur. (2001) potvrdili su monofiletsko porijeklo kokolitoforida. Nadovezujući se na to istraživanje i činjenicu da je broj taksona kokolitoforida daleko veća od ostalih haptofita Silva i sur. (2007) su predložili razred Coccolithophyceae, u istom rangu s razredom Pavlovophyceae u odjelu Haptophyta. Zbog navedenog, ne bi trebalo biti problema u korištenju nove klasifikacije koja se u prvom redu zasniva na morfologiji kokolita.

#### 1.4. Prethodna istraživanja

Zbog malih proporcija stanica, zahtjevne morfologije i složenog životnog ciklusa istraživanja kokolitoforida u prošlosti nisu bila česta, međutim, to se zadnjih godina promijenilo zbog svjesnosti o važnosti kokolitoforida kao i zbog novijih metoda i tehnika analize.

Prvi znanstvenik koji se bavio istraživanjem kokolitoforida u Jadranu bio je Erwin Kamptner. Kamptner (1939) je istraživao kokolitoforide jugozapadne obale Istre te zabilježio 44 vrste kokolitoforida na tom području.

B. S. C. Leadbeater (1974) pisao je o vrstama nanoplanktona alžirskog zaljeva i obale Jugoslavije. U ovom radu nalazi se popis svih pronađenih vrsta nanoplanktona tijekom tog istraživanja pa tako i 18 vrsta kokolitoforida.

Michael Knappertsbusch (1992) istraživao je rasprostranjenost kokolitoforida u Mediteranu. Iako istraživanje nije uključivalo područje Jadrana važno je za razumijevanje ovisnosti rasprostranjenosti kokolitoforida o raznim ekološkim čimbenicima, odnosno, znanja stečena tijekom ovog istraživanja kasnije su se lako mogla primijeniti na rasprostranjenost kokolitoforida na drugim područjima.

Viličić i sur. (2002) objavili su taksonomsku listu fitoplanktona Jadrana. Dio liste odnosi se na kokolitoforide pa je tako na listi 19 vrsta kokolitoforida nađenih u južnom Jadranu. Problem ove liste je da se broj vrsta vrlo razlikuje za svaki dio Jadrana jer je u brojanju sudjelovalo više osoba. Ovaj rad nam tim problemom upravo prikazuje još jedan od problema zbog kojeg su istraživanja kokolitoforida toliko zahtjevna.

Daljnja istraživanja nastavila su se u zapadnom Mediteranu na području rubnog pojasa Krete. E. Malinverno (2009) istraživala je sezonsku i prostornu varijabilnost kokolitoforida na području jugozapadnih rubova mora Krete. Osim same produkcije, u radu su opisani i utjecaji raznih čimbenika na produkciju kokolitoforida, navedeno je koje su vrste s najvećom

abundancijom na tom području te nove informacije specifične za određene vrste čime je rad uvelike utjecao na sveopće poznavanje kokolitoforida.

F. Cerino (2011) istraživao je o prostornoj i vremenskoj varijabilnosti piko-, nano- i mikrofitoplanktona otvorenog mora južnog Jadrana. Ovaj rad je važan jer su u njemu opisani odnosi različitih fitoplanktonskih frakcija u različitim hidrografskim uvjetima. U radu su opisani utjecaji različitih ekoloških čimbenika na abundanciju fitoplanktona, ali i razlike između abundancije u južnom i sjevernom Jadranu.

Kao što je već spomenuto, kokolitoforidi imaju složen životni ciklus, a detaljno ga je opisao Luis Cros. L. Cros (2013) objasnio je ciklus, opisao faze ciklusa te njihovu učestalost u ovisnosti o različitim ekološkim čimbenicima. Osim spomenutog, u radu se nalazi i tablica s popisom proučavanih vrsta gdje je jasno vidljivo da se za neke vrste ranije smatralo da su heterokokolitna i holokokolitna faza dvije odvojene vrste, a razvojem mikroskopije otkrilo se da su to zapravo dvije faze ciklusa iste vrste i upravo je zato ovaj rad jedan od važnijih za razumijevanje života kokolitoforida.

Angela M. Oviedo (2014) opisuje eksperiment u kojem se proučavao utjecaj različitih koncentracija fosfora na morfologiju i razine drugih elemenata u stanicama mediteranskog soja vrste *Emiliana huxleyi*. Ovaj rad izuzetno je važan za budućnost oceana, time posljedično i za sav živi svijet na planeti Zemlji jer upravo globalnim zagrijavanjem oceana dolazi do povišenja koncentracije fosfora u oceanima te je upravo zbog toga važno istražiti kako će takve promjene utjecati na život kokolitoforida, važnih pripadnika fitoplanktonske zajednice. Angela M. Oviedo (2015) opisala je i eksperiment koji objašnjava ovisnost abundancija hetero- i holokokolitne faze o raznim čimbenicima, kao što su koncentracija karbonatnih iona, pH-vrijednost i salinitet. Globalnim promjenama klime mijenjaju se i spomenuti čimbenici pa nam je zato važno da znamo kako i u kojoj mjeri opstanak kokolitoforida ovisi o njima.

Šupraha i sur. (2015) zaključili su da ograničavanje količine fosfora najviše utječe na kalcifikaciju i morfologiju kokolita, ali i ako se uz ograničenje fosfora kokolitoforide stavi pod temperaturni stres dolazi do ekstremnog pojačavanja negativnih posljedica, što je važno područje za daljnja istraživanja ako se uzmu u obzir sve brže klimatske promjene. Osim navedenog Šupraha i sur. (2016) zaključili su da je temperatura jedan od glavnih faktora koji utječu na dinamiku životnog ciklusa zajednica kokolitoforida u Mediteranu, međutim, životni ciklus izuzetno je kompleksan pa se tako valja istražiti i s drugih aspekata. Taksonomska

istraživanja Šuprahe i sur. (2014) dala su i detaljan opis životnog ciklusa vrste *Acanthoica quattrospina*. U jednom od radova Šupraha i sur. promatrali su evoluciju roda *Helicosphaera*. Razvojem mikroskopije i sve većim znanjem o kokolitoforidima znanstvenici se sve više bave taksonomijom kokolitoforida pa su tako M. V. Triantaphyllou i sur. (2016) obradili taksonomiju kokolitoforida sjevernoistočnog Mediterana.

### 1.5. Cilj istraživanja

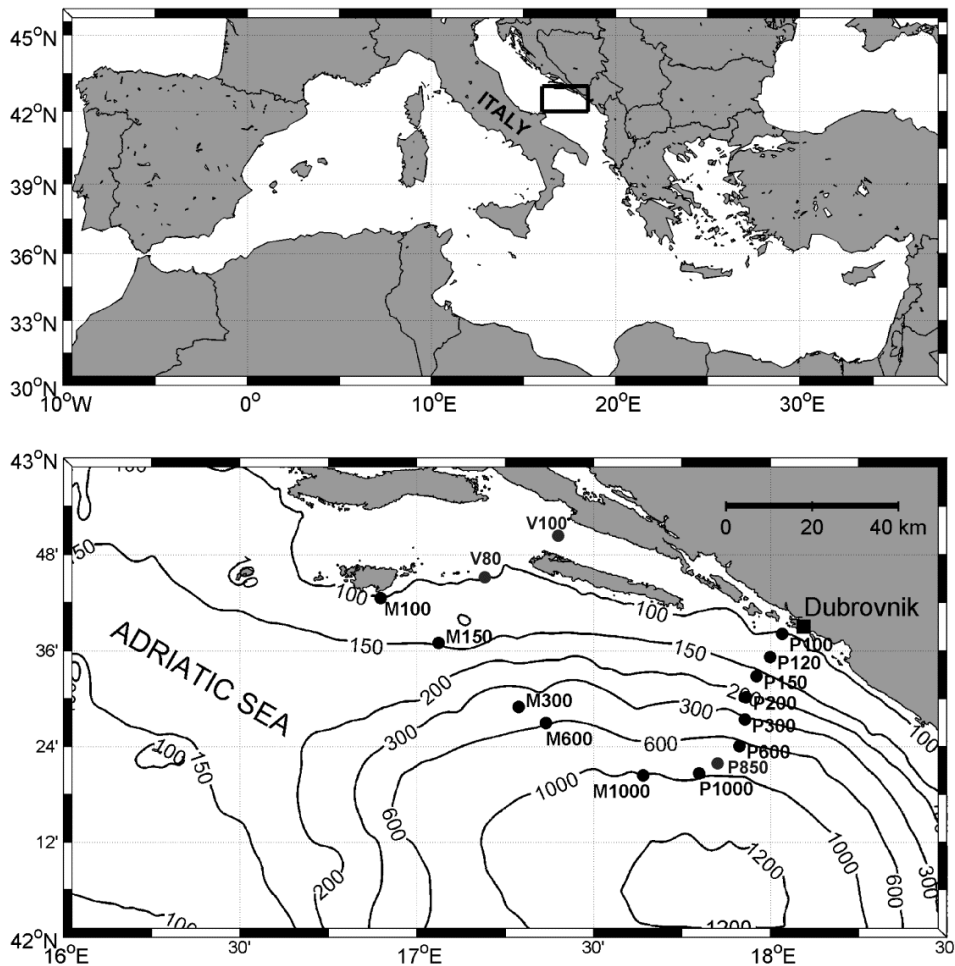
Cilj ovog istraživanja je detaljna analiza kokolitoforida južnog Jadrana. U istraživanju će se opisati taksonomski sastav kokolitoforida južnog Jadrana, prostorna raspodjela kokolitoforida tog područja te utjecaj raznih čimbenika na prostornu raspodjelu. Osim toga, iz dobivenih podataka zaključiti će se jesu li kokolitoforidi bio-indikatori određenih vodenih masa.



## 2. MATERIJALI I METODE

### 2.1. Opis istraživanih postaja i dinamika istraživanja

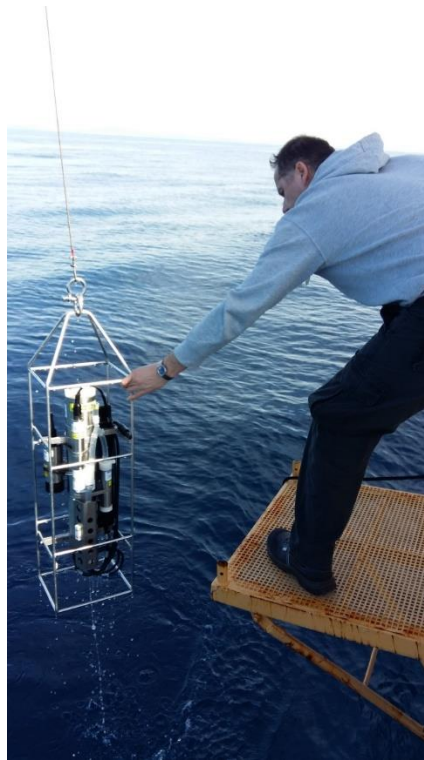
Istraživanje i uzorkovanje fitoplanktona provedeno je u južnom Jadranu tijekom dva terenska izlaska – BIOTA I (od 28. veljače do 3. ožujka 2015. godine) te BIOTA II (8. ožujka do 10. ožujka 2016. godine). Tijekom BIOTA I ukupno je uzorkovano na 14 postaja raspoređenih u tri transekt: P-transekt (P100-P1000), M-transekt (M100-M1000) te V-trasekt (V80-V100). Područje P-transektu uzorkovano je dva puta, u vremenskom intervalu od pet dana te će se radi lakšeg snalaženja dalje govoriti o P-transektu (prvo uzorkovanje) i P(A)-transektu (drugo uzorkovanje). Tijekom BIOTA II ukupno je uzorkovano na 8 postaja i to na P-transektu (P100-P1000). Relativni položaj postaja prema koordinatama uzorkovanja prikazan je na karti istraživanog područja (Slika 5.).



Slika 5. Karta istraživanog područja – južni Jadran (istraživane postaje označene su sa crnim kružićima)

## 2.2. Uzorkovanje na terenu

Dolaskom na određenu postaju prvo što se mora izmjeriti jesu prozirnost, temperatura, salinitet i dubina. Za mjerenje ovih parametara koristi se Secchi ploča i CTD sonda (Seabird SBE 19plus), prikazana na Slici 6.. Secchi ploča spusti se u more do zadnje dubine na kojoj je vidljiva te se tako izmjeri prozirnost. Skraćenica CTD dolazi od triju engleskih riječi: riječi "conductivity" koja označava konduktivitet, "temperature" koja označava temperaturu i "depth" koja označava dubinu. CTD sonda spusti se gotovo do dna i polako izvlači na površinu te tijekom izvlačenja ona mjeri konduktivitet, temperaturu, fluorescenciju i dubinu u pravilnim vremenskim razmacima kako bi se dobila što bolja rezolucija. Iz konduktiviteta se izračuna salinitet. Na prvom terenu uzeto je ukupno 117 uzoraka na 14 postaja, a na drugom terenu ukupno 64 uzorka na 8 postaja.



Slika 6. Podizanje CTD sonde iz mora

Na osnovu dobivenog CTD profila određene su dubine uzorkovanja na pojedinim postajama. Uzorci za analizu fitoplanktona, pigmentata i hranjivih soli uzorkovani su Niskinovom crpcem (Slika 7.). Poduzorci (250 mL) za analizu fitoplanktona fiksirani su sa neutraliziranim formalinom (2% konačna koncentracija) te tako konzervirani su dopremljeni u Laboratorij za algologiju, Biološki odsjek, PMF, Zagreb. Poduzorci (500mL) za analizu hranjivih soli na terenu su zaleđeni na  $-20^{\circ}\text{C}$ , te dopremljeni u laboratorij Instituta za more i priobalje u

Dubrovniku. Uzorci morske vode za analizu pigmenata volumena 1 L profiltrirani su preko filtera sa staklenim vlaknima veličine pora 0,7  $\mu\text{m}$  (GF/F Whatman). Važno je napomenuti da su uzorci sa drugog terena prefiltrirani preko filtera sa porama veličine 3  $\mu\text{m}$ . Do ekstrakcije, filteri su pohranjeni u tekućem dušiku.

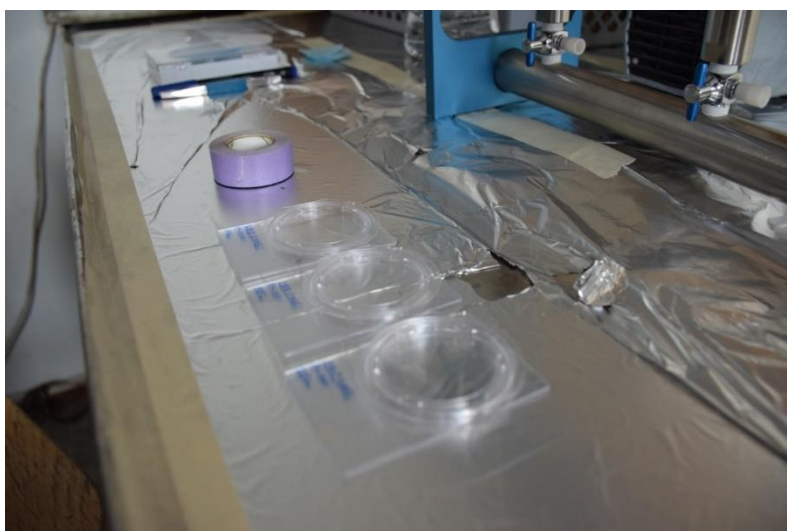


Slika 7. Spuštanje Niskin crpaca u more

Za dodatnu taksonomsku analizu kokolitoforida na izabranim postajama uzeti su dodatni uzorci od 2 L na prvom terenskom istraživanju i od 1 L na drugom terenskom istraživanju. Naime, analizom uzorka sa prvog terena, utvrđeno je da je volumen od 1 L dostatan za kvalitetnu analizu. Uzorak se odmah filtrirao na celuloznim i polikarbonatnim filterima veličina pora 2  $\mu\text{m}$  (Slika 8.). Filtri su postavljeni na držač tako da se ispod nalazio celulozni, a na njemu polikarbonatni filter. Filtri se postavljaju na taj način kako bi se osigurala ravnomjerna raspodjela stanica po polikarbonatnom filtru. Filtriranje se provelo pod niskim tlakom, konstantno se dolijevao uzorak i pazilo se da filter ne presuši prije vremena. Pred sam kraj filtracije dodala se izvorska voda Jana, koja ima optimalan pH, kako bi se isprala sol iz uzorka. Uzorci na filterima su se osušili u pećnici na otprilike 50°C i pohranili na sobnoj temperaturi u kutijice na kojima se označila dubina, datum i postaja na kojoj je pojedini uzorak sakupljen (Slika 9.).



Slika 8. Aparatura za filtraciju



Slika 9. Kutijice sa filterima

## 2.3. Analiza u laboratoriju

### 2.3.1. Fitoplankton

Konzervirani poduzorci prikupljeni na terenu dalje su analizirani na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu pomoću mikroskopa, nakon sedimentacije koja je trajala 48 sata. Za brojanje stanica fitoplanktona korišten je inverzni mikroskop Zeiss Axiowert, a korištena je metoda prema Utermöhl (1958). Stanice mikroplanktona, veće od 20  $\mu\text{m}$ , brojane su pod povećanjem od 400 puta na pola transekta kroz vidno polje. Na povećanjima od 100 i 200 puta brojani su transekci cijelom dužinom. Nanofitoplankton, veličine od 2 do 20  $\mu\text{m}$ , kao i guste nakupine fitoplanktona brojane su metodom nasumice

odabranih vidnih polja pod povećanjem 200 i 400 puta. Pogreška metode brojanja iznosi 10%. Vrijednosti dobivene brojanjem su zatim preračunate u broj stanica po litri.

### 2.3.2. Hranjive soli

Poduzorci za analizu hranjivih soli analizirani su u Institutu za more i priobalje u Dubrovniku. Za mjerenje koncentracija nutrijenata korištene su standardne metode (Strickland i Parsons 1972, Ivančić i Degobbis 1984).

### 2.3.3. Tekuća kromatografija visokog učinka (HPLC)

Koncentracija fitoplaktonskih pigmenata izmjerena je metodom tekuće kromatografije visokog učinka (HPLC, engl. High Performance Liquid Chromatography). Uzorci morske vode za analizu pigmenata volumena 1 L profiltrirani su preko filtera sa staklenim vlaknima veličine pora 0,7  $\mu\text{m}$  (GF/F Whatman). Važno je napomenuti da su uzorci sa drugog terena prefiltrirani preko filtera sa porama veličine 3  $\mu\text{m}$ . Do ekstrakcije, filteri su pohranjeni u tekućem dušiku. Sadržaj filtera je tijekom analize u laboratoriju ekstrahiran u 4 mL hladnog 90%-tnog acetona pomoću ultrazvučne šipke, u trajanju od 1 minute te centrifugiran 10 minuta na 4 000 okretaja. Supernatant je prebačen u čistu smeđu staklenu bočicu i pohranjen na  $-20^{\circ}\text{C}$  do kromatografske analize. Neposredno prije analize na instrumentu ekstrakt je pomiješan u omjeru 1:1 s 1 M amonijevim acetatom i 500  $\mu\text{L}$  pripremljene otopine injektirano je u HPLC sustav preko injektorske petlje volumena 200  $\mu\text{L}$ . Za samu analizu korištena je kolona Thermo Hypersil MOS2, C-8, sa 120 A porama, veličine 150 x 4,6 mm (Thermo Hypersil-Keystone). Pigmenti su razdvojeni pri brzini toka od 1 mL  $\text{min}^{-1}$  koristeći program linearnog gradijenta u trajanju od 40 minuta. Otopina A sastojala se od metanola i 1 M amonijevog acetata u omjeru 70:30, a otopina B od 100%-tnog metanola. Klorofili i karotenoidi detektirani su absorbancijom od 440 nm (Spectra System, Model UV 2 000). Kvantitativna i kvalitativna analiza pigmenata provedena je vanjskom standardnom kalibracijom pomoću autentičnih standarda (VKI, Danska).

Obrađeni su uzorci sakupljeni tijekom oba terenska izlaska, međutim, zbog toga što je 2016. godine rađena frakcionirana filtracija te je obrađena frakcija manja od 3  $\mu\text{m}$  ti rezultati nisu primjenjivi na zajednicu kokolitoforida i nisu uključeni u ova istraživanja. S prvog terenskog izlasko HPLC metodom obrađeni su uzorci sakupljeni na području P- i P(A)-transekta. Heksanoiloksifukoksantin, identifikacijski pigment kokolitforida, analiziran je u 55 uzoraka.

#### 2.3.4. Kvalitativna analiza kokolitoforida

Za kvalitativnu analizu kokolitoforida koristio se skenirajući elektronski mikroskop (SEM Philips 515 SEM, FEI Co.). Prije pregledavanja uzoraka po SEM-om uzorci su nanoseni na aluminijske nosače za SEM i ostavljeni preko noći da se osuše. Na nosače su zalijepljeni mali komadići pleksiglas pločice i sve skupa postavljeno je u uređaj za oblaganje zlatom S150A Sputter coater (Edwards Ltd., Crawley, UK).

#### 2.4. Izolacija i uzgoj stanica u kulturi

Za različita morfološka i molekularna istraživanja određenih rodova ili vrsta stanice fitoplanktona prvo treba izolirati u odgovarajući hranjivi medij kako bi se dobile monoklonalne kulture.

Odabir hranjivog medija jedan je od prvih problema sa kojim se susrećemo prilikom uzgoja kultura. Naime, medij treba imitirati uvijete što sličnije onima iz kojih je vrsta izolirana, mora sadržavati hranjive tvari i vitamine potrebne za rast i diobu stanica, ali i, prema potrebi, spojeve koji će spriječiti razvoj bakterija, virusa i/ili gljivica, a da pritom ne štete istraživanoj kulturi fitoplanktona. Osim samog sastava medija bitno je odlučiti i hoćemo li koristiti tekući medij ili agar. S obzirom na to da je promatrana vrsta u ovom istraživanju planktonska koristili smo tekući medij. Postoji nekoliko vrsta medija različitog sastava za uzgoj fitoplanktona, a razlikujemo i medije za slatkovodne i medije za morske vrste. Stanice u kulturama u ovom istraživanju pripadaju morskoj planktonskoj vrsti pa su uzgajane su u tekućem f/2 hranjivom mediju. 20 mL f/2 medija dodano je u 1000 mL vode, zatim je otopina dva puta filtrirana kroz filter papir pora veličine 0,2  $\mu\text{m}$  uz vakuum, a takva konačna otopina onda se koristila za uzgoj kultura.

Nakon odabira i pripreme medija slijedi izolacija stanica iz uzorka prikupljenih na terenu u čiste bočice sa hranjivim medijem. Izolacija stanica vrši se ispod mikroskopa uz pomoć staklenih pipeta. Pipete se obrade na plameniku tako da imaju što užu vrh kako bi izolacija bila preciznija. Na pipetu se natakne gumena cijev sa nastavkom za usta kako bi se stanice iz uzorka usisale u pipetu i tako prenijele u čisti medij. Kada se na pomoću mikroskopa pronađe željena stanica i usiše u pipetu prvo se nekoliko puta prenese u čistu komoricu sa medijem kako bismo bili sigurni da u pipeti imamo samo jednu stanicu. Kada smo sigurni da u pipeti imamo samo željenu stanicu prenesemo ju u čistu bočicu sa otprilike 10 mL medija.

Osim hranjivog medija još su dva uvijeta vrlo važna pri uzgoju kultura fitoplanktona, a to su svjetlost i temperatura.

Svjetlost je fitoplanktonu bitna za obavljanje fotosinteze. Iako fitoplankton ne može preživjeti bez svjetlosti, previše svjetlosti može na njega vrlo loše utjecati. Preosvijetljenost može uzrokovati lokalna pregrijavanja, ali i fotorespiracijski stres. Naime, pri prevelikom osvjetljenju i temperaturi u stanicama se nakuplja kisik i veže za enzim rubisko umjesto ugljikovog dioksida. To je moguće jer je enzim rubisko, enzim važan za proces fotosinteze, ujedno i karboksilaza i oksigenaza. Ako dođe do vezanja kisika umjesto ugljikovog dioksida enzim rubisko djeluje kao oksigenaza i dolazi do smanjenja stope fotosinteze, a povećanja stope fotorespiracije. Da do toga nebi došlo prilikom održavanja kultura trebalo bi izmjenjivati period mraka i svjetlosti. U ovom istraživanju kulture su bile izložene 12 sati mraku i 12 sati svjetlu.

Osim svjetlosti prilikom održavanja kultura fitoplanktona bitno je voditi računa i o temperaturi. Previsoke ili niske temperature mogu, osim prethodno navedenog poremećaja, uzrokovati i oštećenja fotosintetskog sustava, oštećenja stanica i poremećaje u diobi stanica. Temperatura komore može se lako promijeniti pa je treba redovito kontrolirati. Morski fitoplankton osjetljiviji je na promjene temperature od slatkovodnog pa prilikom uzgoja kultura trebamo biti vrlo oprezni i ne dopustiti da se temperatura promijeni za više od 2°C. Najpoželjnija temperatura za održavanje kultura promatranih u ovom istraživanju je između 15 i 20°C. Tijekom istraživanja temperatura komore u kojem su čuvane kulture bila je 18°C.

Ukupno je uspostavljeno 130 kultura. Od 130 kultura samo je 1 bila kultura kokolitoforida. Pokušalo se izolirati više kultura, međutim, zbog izuzetno malih promjera stanica bilo je vrlo teško dobiti čistu kulturu. Ustanovljeno je da i spomenuta jedna uspostavljena kultura nije dovoljno čista za daljnju analizu te se od toga odustalo i ti podaci više nisu korišteni u ovom istraživanju.

## 2.5. Numerička i grafička obrada podataka

Podaci su numerički obrađivani u programu Excel 2010. Grafički prikazi izrađeni su u programu Grapher 8.0 i ODV (engl. *Ocean Dana View*). Za obradu ekoloških čimbenika korištena je multivarijantna analiza glavnih komponenata (PCA, engl. *Principal Component Analysis*) u Primer 6 (Anderson i sur. 2008).

### 3. REZULTATI

#### 3.1. Rezultati BIOTA I

##### 3.1.1. Fizikalno-kemijski čimbenici

Koncentracija fosfata varirala je od 0,07  $\mu\text{M}$  izmjerenih na postaji P100 do maksimalnih 0,87  $\mu\text{M}$  izmjerenih na postaji P200A (Tablica 1.). Prosječna koncentracija fosfata iznosila je 0,28  $\mu\text{M}$ , sa standardnom devijacijom od 0,19. Maksimalna koncentracija silikata iznosila je 11,83  $\mu\text{M}$ , a izmjerena je na postaji M150, dok je minimalna koncentracija izmjerena na postaji P120A i iznosila je 1,18  $\mu\text{M}$ . Prosječna vrijednost koncentracije silikata iznosila je 2,76  $\mu\text{M}$ , sa standardnom devijacijom od 1,38. Koncentracija ukupnog anorganskog dušika (TIN) imala je prosječnu vrijednost 0,99  $\mu\text{M}$ , sa standardnom devijacijom od 0,45, a kretala se u rasponu od 0,44  $\mu\text{M}$  izmjerenih na postaji P600 do 3,65  $\mu\text{M}$  izmjerenih na postaji P100A (Tablica 1.).

Tablica 1. Maksimalna (MAX) i minimalna (MIN) vrijednost, srednjak (AVG) te standardna devijacija (STDEV) fizikalno-kemijskih parametara u južnom Jadranu 2015. godine, N – broj uzoraka

Parametar	MAX	MIN	AVG	STDEV	N
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	15,53	13,31	14,73	0,37	117
Salinitet (PSU)	38,81	36,67	38,62	0,28	117
$\text{NH}_4^+$ ( $\mu\text{M}$ )	3,21	0,07	0,30	0,38	115
$\text{NO}_2^-$ ( $\mu\text{M}$ )	0,28	0,02	0,10	0,04	117
$\text{NO}_3^-$ ( $\mu\text{M}$ )	1,73	0,22	0,58	0,30	117
$\text{PO}_4^{3-}$ ( $\mu\text{M}$ )	0,87	0,07	0,28	0,19	117
$\text{SiO}_4^{4-}$ ( $\mu\text{M}$ )	11,83	1,18	2,76	1,38	116
TIN ( $\mu\text{M}$ )	3,65	0,44	0,99	0,45	115



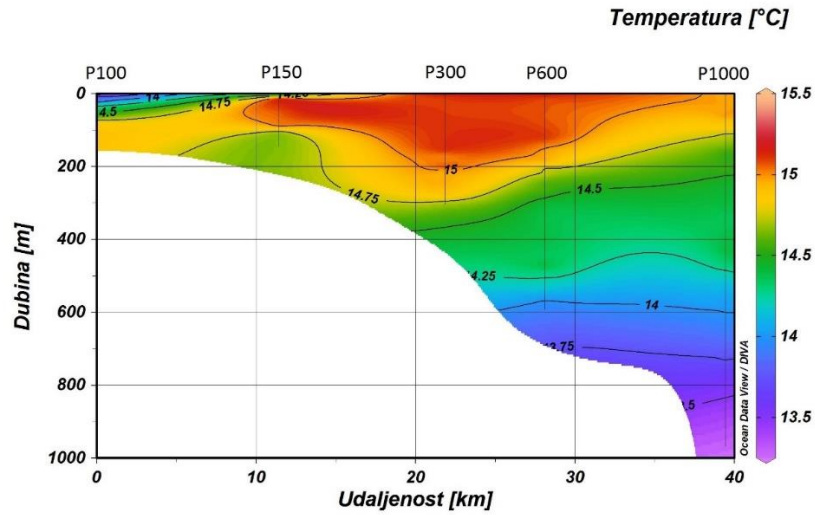
Prosječna temperatura bila je 14,73°C sa standardnom devijacijom u iznosu od 0,37 (Tablica 1.). Najviša temperatura (15,53°C) izmjerena je na postaji P200A u površinskom sloju, a najniža (13,31°C) na postaji P100, također na površini. Prosječna vrijednost saliniteta iznosila je 38,62 sa standardnom devijacijom u iznosu od 0,28 (Tablica 1.). Maksimum saliniteta (38,81) izmjeren je na površini postaje P200A, a minimum (36,67) na površini postaje P100A.

#### P-transekt

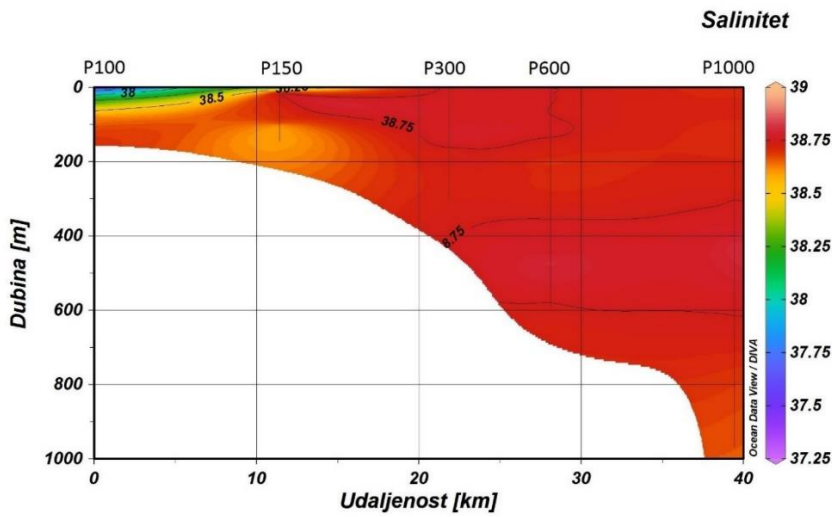
Na području P-transeкта maksimalna temperatura (15,31°C) izmjerena je u površinskom sloju na postaji P300, dok je minimum (13,31°C) izmjeren u površinskom sloju na postaji P100. Na području ovog transeкта vidljiva je izrazita stratifikacija vodenog stupca (Slika 10.). Salinitet na ovom području dosegnuo je maksimum (38,79) na dubini od 500 m na postaji P600 te minimum (36,68) na površini postaje P100 (Slika 11.). Klorofil *a* je svoj maksimum dosegnuo u površinskom sloju postaje P100 (0,11  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) te u podpovršinskom sloju, na dubini od 30 m, postaje P1000 (0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Na ovom području minimum klorofila *a* ( $0,13 \times 10^{-3} \mu\text{g L}^{-1}$ ) bio je također na postaji P1000, ali mnogo dublje, ispod 500 m (Slika 12.).

#### M-transekt

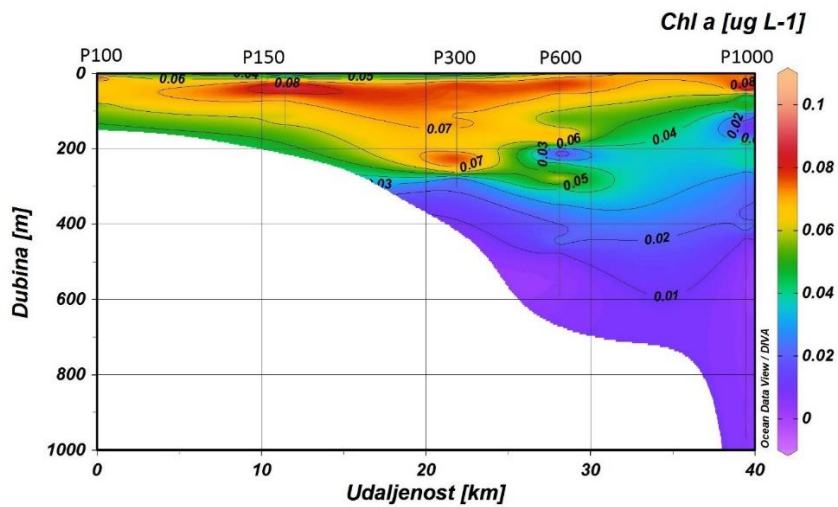
Na području M-transeкта maksimalna temperatura (15,12°C) izmjerena je u površinskom sloju na postaji M600, dok je minimum (14,34°C) izmjeren na dubini od 300 m na postaji M1000. Na području ovog transeкта također je vidljiva stratifikacija vodenog stupca (Slika 13.). Maksimalna vrijednost saliniteta (38,78) izmjerena je na dubini od 400 m na postaji M1000, a minimalna vrijednost (38,37) izmjerena je na površini postaje M150 (Slika 14.). Klorofil *a* je svoj maksimum dosegnuo u čitavom podpovršinskom sloju postaje M600 (0,13  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Na dubinama većim od 500 m na postaji M1000 zabilježeni su minimumi klorofila *a*, a u pojedinim uzorcima sa spomente postaje njegova je koncentracija bila jednaka 0 (Slika 15.).



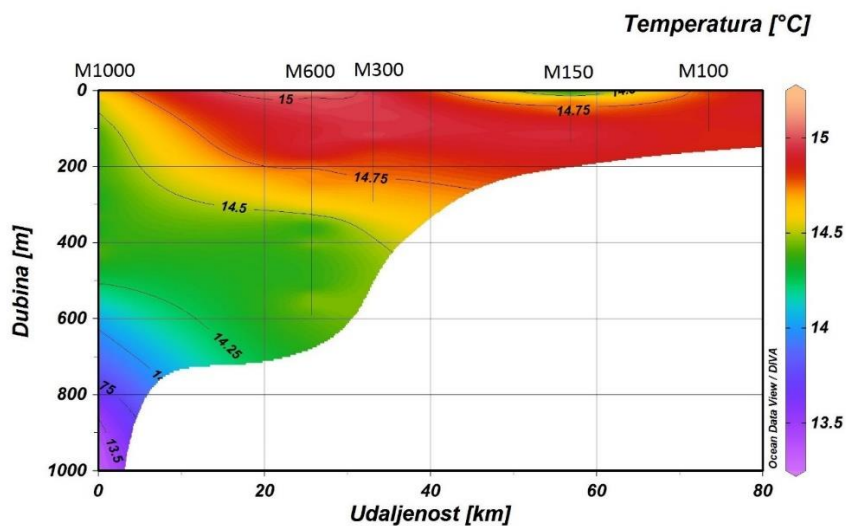
Slika 10. Prikaz raspodjele temperature na području P-transekta (postaje: P100-P1000)



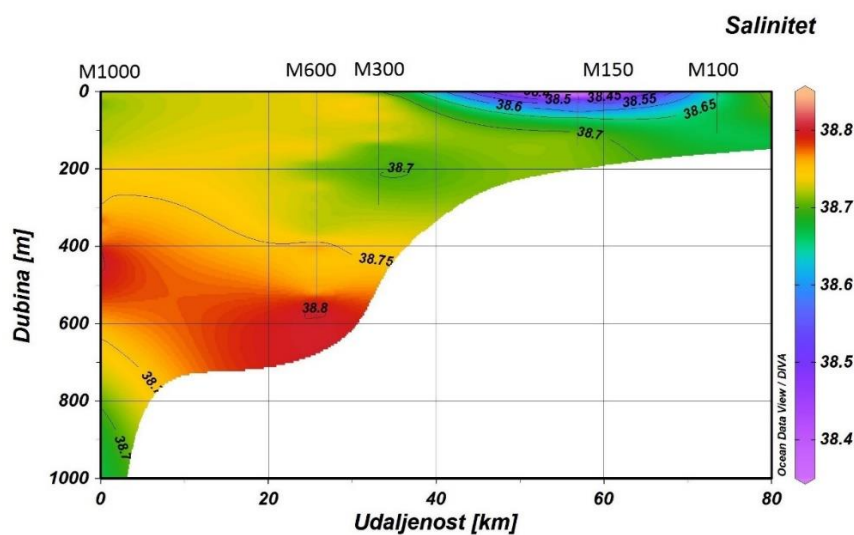
Slika 11. Prikaz raspodjele saliniteta na području P-transekta (postaje: P100-P1000)



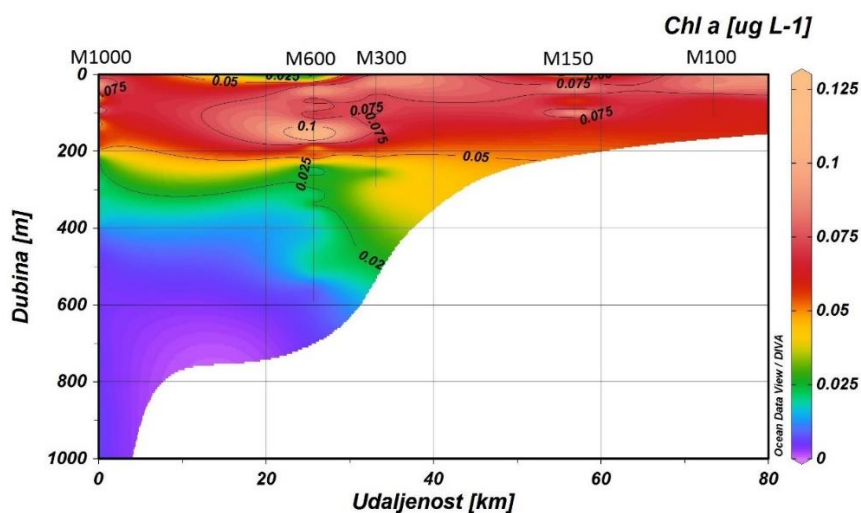
Slika 12. Prikaz raspodjele klorofila *a* na području P-transekta (postaje: P100-P1000)



Slika 13. Prikaz raspodjele temperature na području M-transekta (postaje: M1000-M100)



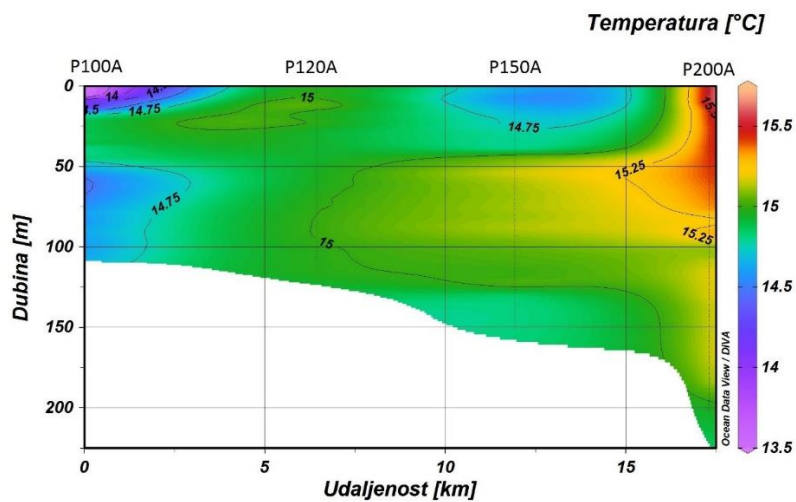
Slika 14. Prikaz raspodjele saliniteta na području M-transekta (postaje: M1000-M100)



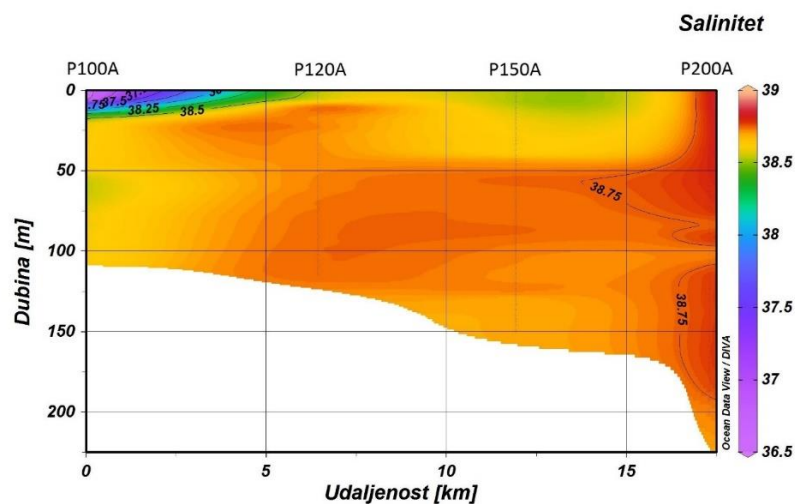
Slika 15. Prikaz raspodjele klorofila a na području M-transekta (postaje: M1000-M100)

## P(A)-transekt

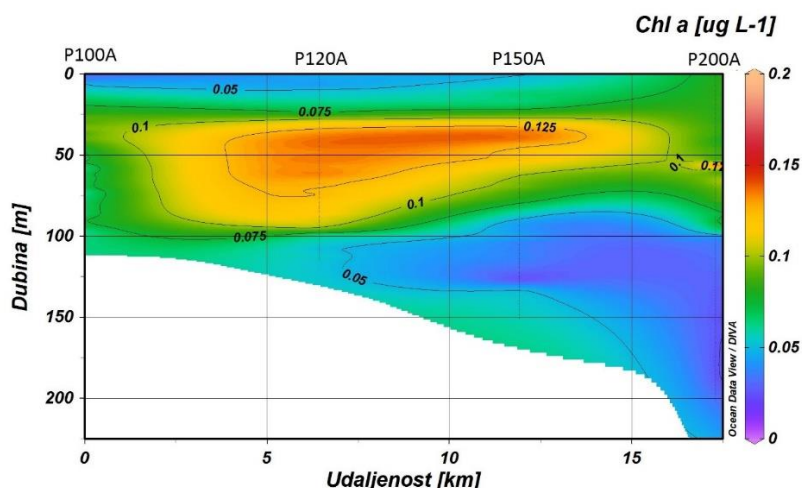
Na području P(A)-transekt maksimalna temperatura (15,53°C) izmjerena je u površinskom sloju na postaji P200A, dok je minimalna (13,50°C) izmjerena u površinskom sloju na postaji P100A. Na ovom području vidljiva je izotermija u vodenom stupcu (Slika 16.). Salinitet na ovom području nižih je vrijednosti od onih izmjerenih nekoliko dana ranije. Maksimum saliniteta (38,81) izmjeren je na površini postaje P200A, a minimum (36,68) je izmjeren na površini postaje P100A (Slika 17.). Maksimum klorofila *a* zabilježen je u podpovršinskom sloju postaje P200A (0,19  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Na ovom području minimum klorofila *a* (0,02  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) bio je na postaji P150A u sloju ispod 100 m (Slika 18.).



Slika 16. Prikaz raspodjele temperature na području P(A)-transekt (postaje: P100A-P200A)



Slika 17. Prikaz raspodjele saliniteta na području P(A)-transekt (postaje: P100A-P200A)



Slika 18. Prikaz raspodjele klorofila *a* na području P(A)-transekta (postaje: P100A-P200A)

### 3.1.2. Prozirnost

Vidljivost Secchijeve ploče bila je od 16 (izmjereno na postaji P100) do 27 m dubine (izmjereno na postaji M150).

### 3.1.3. Pigment 19'-heksanoiloksifukoksantin

Maksimalna koncentracija 19'-heksanoiloksifukoksantina, identifikacijskog pigmenta kokolitoforida, zabilježena je na području P(A)-transekta i to na postaji P120A na dubini od 30 m (52,8 µg/L), na postaji P100A na dubini od 10 m (46,9 µg/L) i na postaji P200A na dubini od 40 m (44,8 µg/L). Na području P-transekta maksimum je zabilježen na dubini od 100 m na postaji P300 (30,1 µg/L) te na postaji P1000, na dubini od 30 (29,6 µg/L) i 0 m (27,2 µg/L).

### 3.1.4. Prostorna raspodjela fitoplanktona

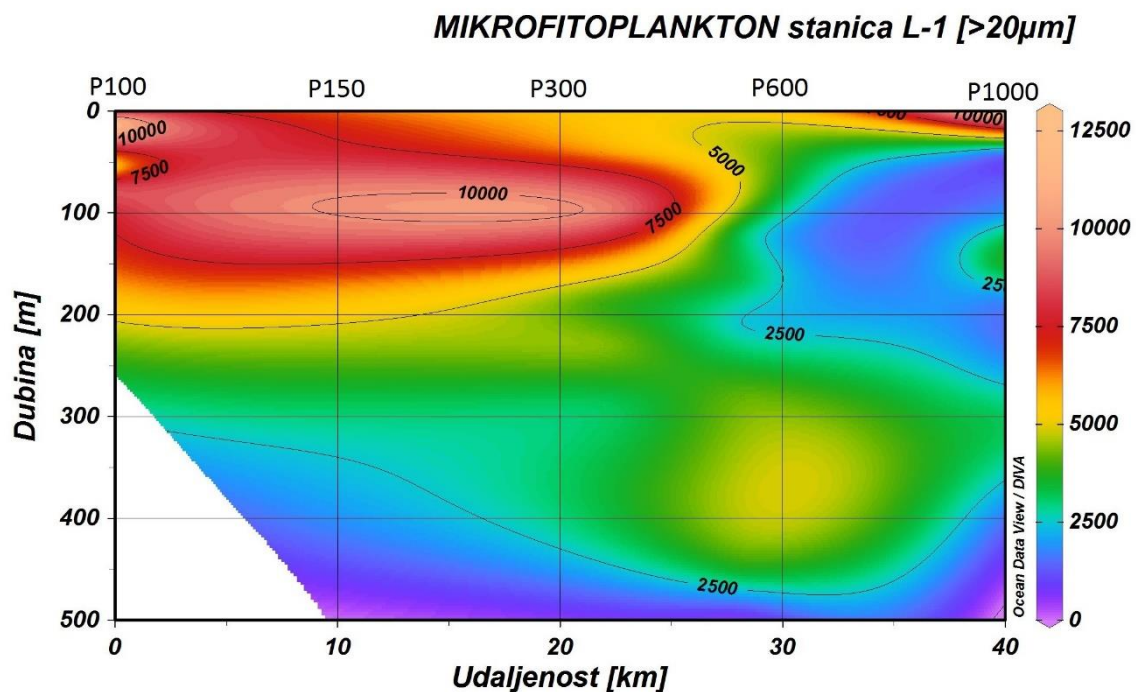
#### P-transekt

Maksimalna abundancija mikrofitoplanktona zabilježena je u površinskim uzorcima s postaja P100 ( $12,5 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) i P1000 ( $12,3 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) te u uzorku s postaje P300 ( $10,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) sakupljenog na 100 m dubine. Vidljiv je podpovršinski maksimum duž cijelog profila koji se na postaji P600 nalazi daleko ispod eufotičkog sloja (Slika 19.).

Maksimalna abundancija nanofitoplanktona zabilježena je bliže obali, točnije, na području postaje P100 ( $18,5 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) u podpovršinskom sloju od 55 do 75 m, ali je zabilježena i u slojevima ispod granice eufotičkog sloja na postaji P300 ( $10,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 20.).

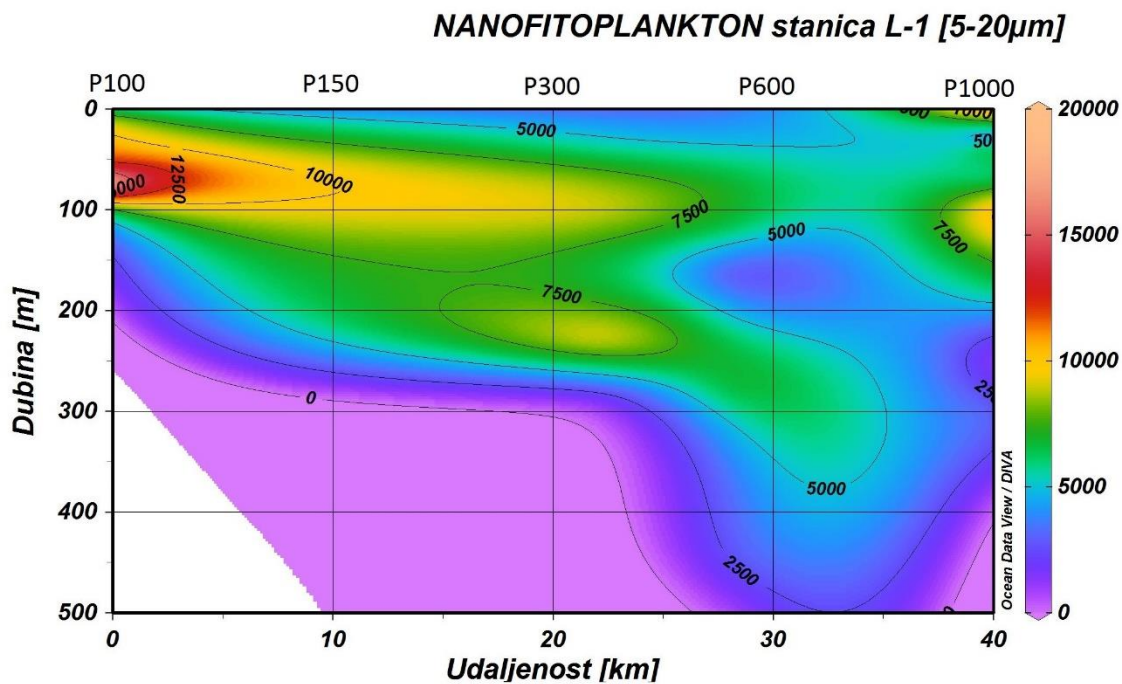
Kokolitoforidi su u mikrofitoplanktonu bili zastupljeni sa izrazito malim postotkom (0,27%) te je njihov maksimum ( $7,1 \times 10^2$  stanica  $L^{-1}$ ) zabilježen unutar maksimuma mikrofitoplanktona na P300 postaji, na dubini od 100 m (Slika 21.).

Oko 50% zajednice nanofitoplanktona bili su kokolitoforidi te su njihovi maksimumi zabilježeni na dubini od 75 i 55 m na postaji P100 ( $8,5 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ,  $7,8 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) te na dubini od 100 m na postaji P1000 ( $7,8 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 22.).

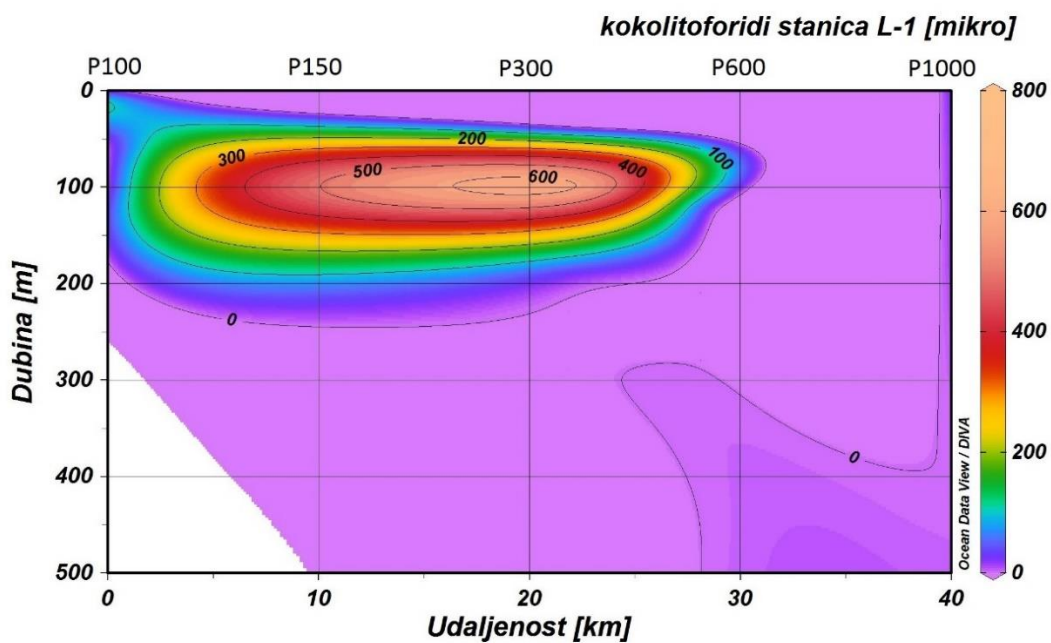


Slika 19. Prostorna raspodjela mikrofitoplanktona na području P-transekt (postaje: P100-P1000)

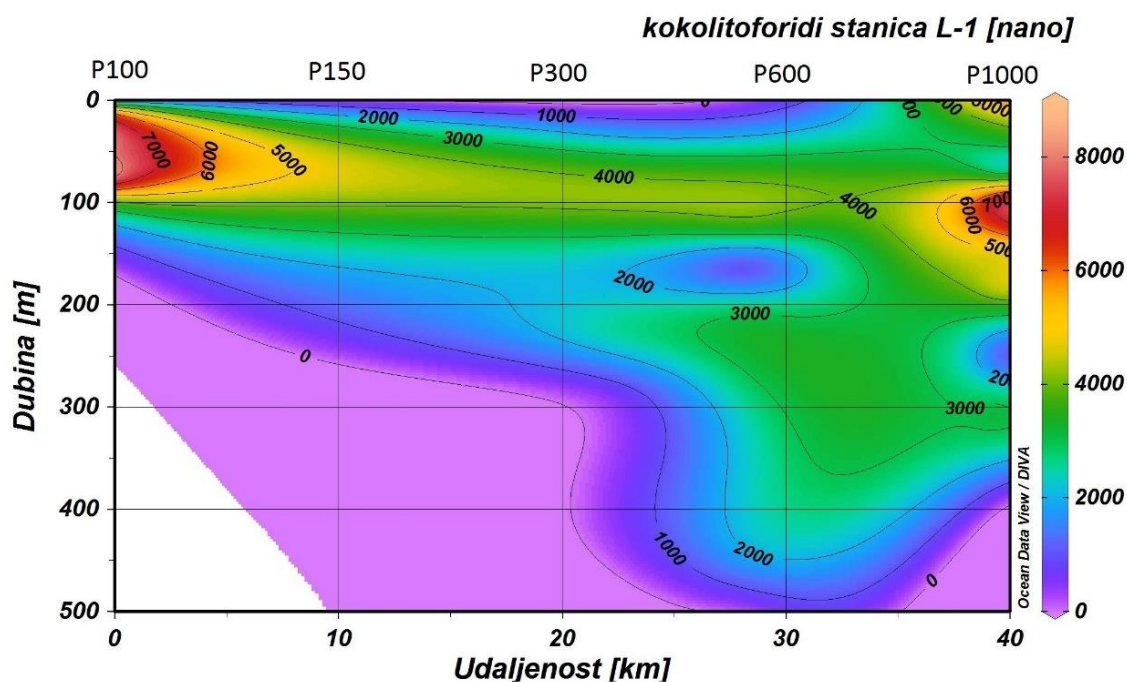




Slika 20. Prostorna raspodjela nanofitoplanktona na području P-transekta (postaje: P100-P1000)



Slika 21. Prostorna raspodjela kokolitoforida mikro frakcije na području P-transekta (postaje: P100-P1000)



Slika 22. Prostorna raspodjela kokolitoforida nano frakcije na području P-transeкта (postaje: P100-P1000)

#### M-transekt

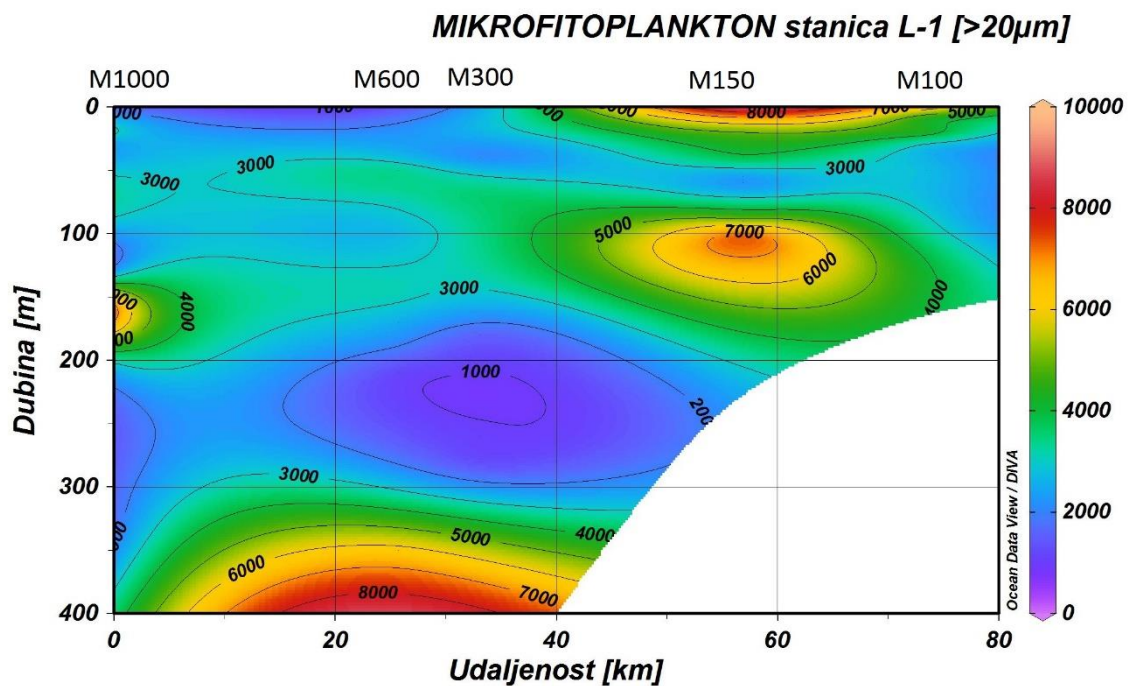
Na području M-transeкта maksimalne abundancije mikrofitoplanktona vidljive su na površini postaje M150 ( $9,4 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), ali i ispod eufotičkog sloja, na dubini od 100 i 110 m na postaji M150 ( $9,4 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ,  $6,9 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), na dubini od 160 m na postaji M1000 ( $8,2 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) te na dubini od čak 350 m na postaji M600 ( $6,4 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 23.). Također, možemo vidjeti i da je abundancija mikrofitoplanktona na području M-transeкта nešto manja od abundancije mikrofitoplanktona na području P-transeкта.

Abundancija nanofitoplanktona znatno je veća na području M-transeкта nego na području P-transeкта. Tako maksimum spomenute abundancije možemo vidjeti na površini postaje M100 ( $34,8 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), na dubini od 90 m na postaji M1000 ( $17,8 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) te na dubini od 20 m na postaji M300 ( $17,8 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 24.).

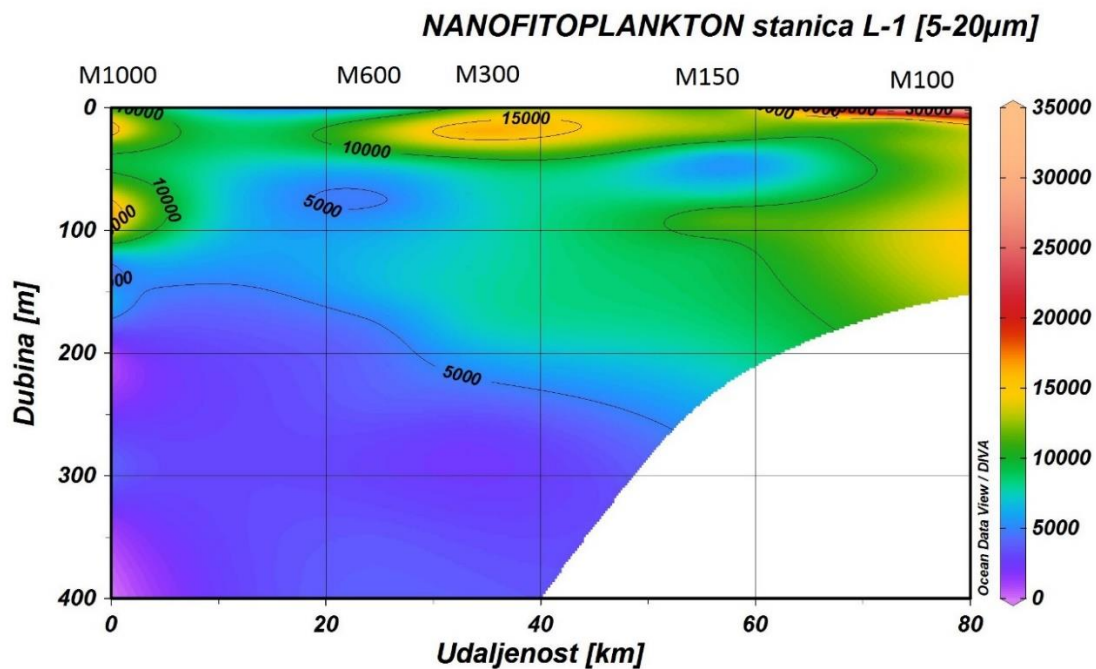
Kokolitoforida mikro frakcije na području M-transeкта gotovo da i nije bilo. Njihov maksimum zabilježen je na površini postaje M100 ( $1,9 \times 10^2$  stanica  $L^{-1}$ ) i M150 (20 stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 25.). Postaje M100 i M150 su ujedno i jedine postaje ovog transeкта na kojima su pronađeni kokolitoforidi mikro frakcije.



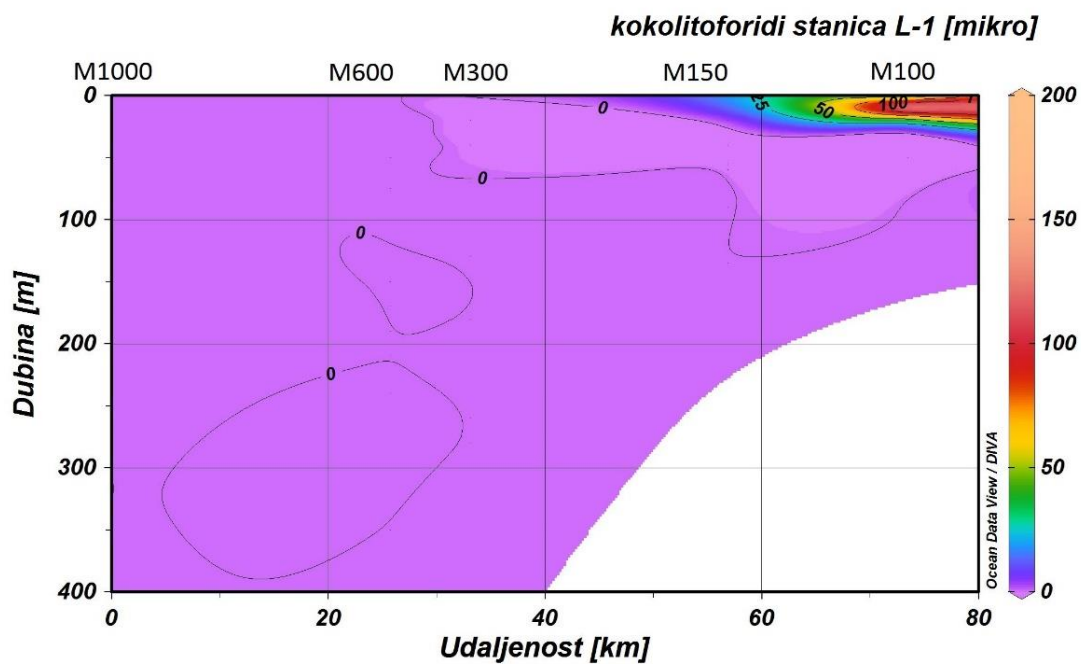
Kokolitoforidi nano frakcije bili su abundantniji nego oni mikro frakcije, naime, čak 42,3% zajednice nanofitoplanktona bili su kokolitoforidi. Maksimalna abundancija kokolitoforida nano frakcije vidljiva je u površinskom sloju postaje M100 ( $22,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) i M300 ( $12,1 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 26.).



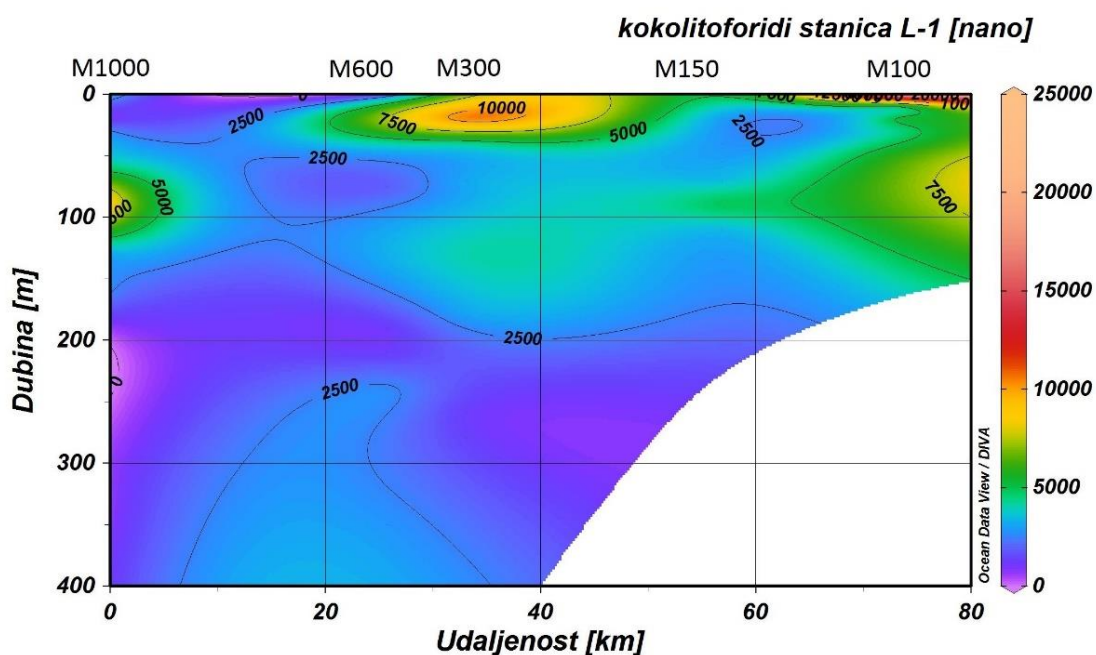
Slika 23. Prostorna raspodjela mikrofitoplanktona na području M-transekta (postaje: M1000-M100)



Slika 24. Prostorna raspodjela nanofitoplanktona na području M-transekta (postaje: M1000-M100)



Slika 25. Prostorna raspodjela kokolitoforida mikro frakcije na području M-transekta (postaje: M1000-M100)



Slika 26. Prostorna raspodjela kokolitoforida nano frakcije na području M-transeкта (postaje: M1000-M100)

#### P(A)-transekt

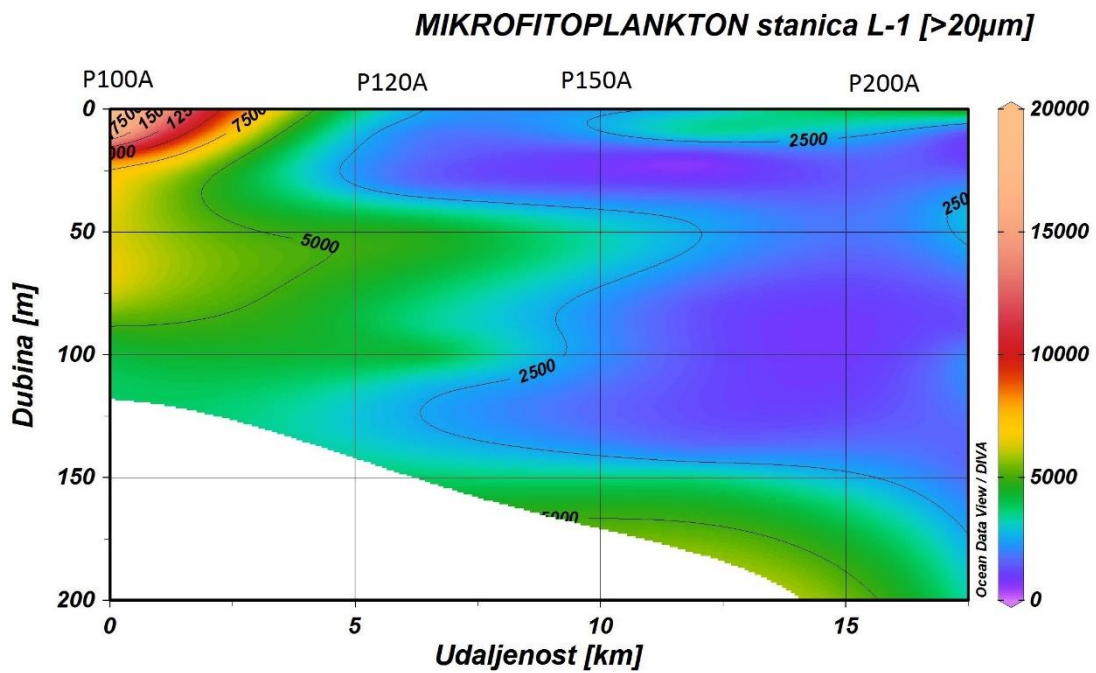
Na području P(A)-transeкта zabilježene su maksimalne abundancije i mikrofitoplanktona i nanofitoplanktona.

Maksimum abundancije mikrofitoplanktona ovog područja zabilježen je na postaji P100A, na površini ( $19,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) te na dubini od 10 ( $17,5 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) i 20 m ( $8,6 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 27.).

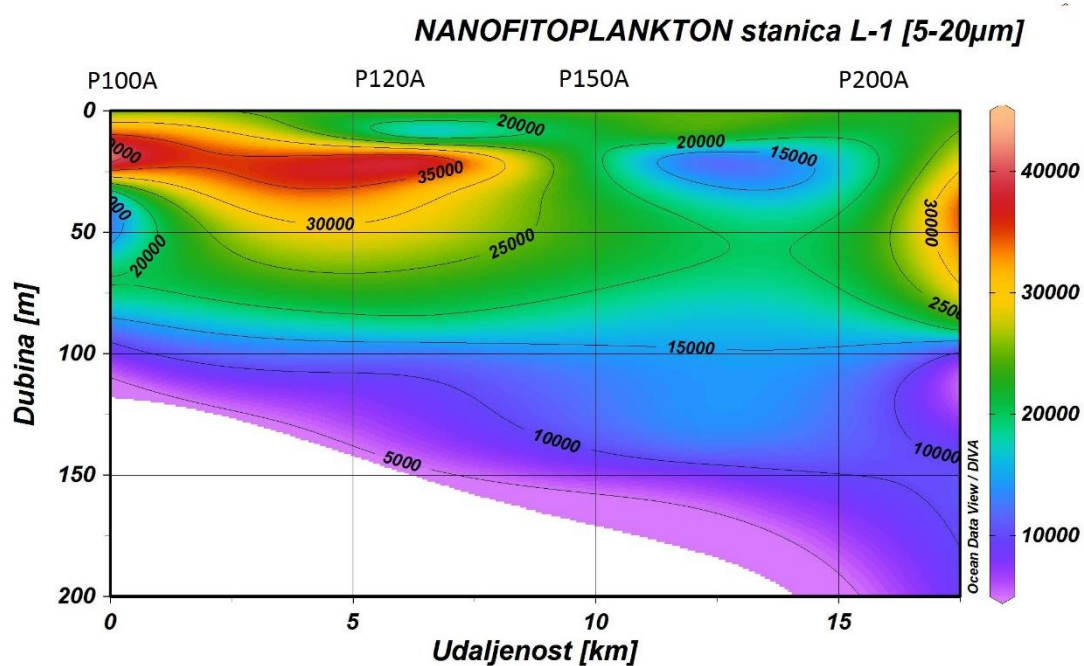
Nanofitoplankton na području ovog transeкта bio je abundantniji od mikrofitoplanktona. Maksimum abundancije zabilježen je u podpovršinskom sloju postaje P120A ( $44,0 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) i postaje P100A ( $42,8 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 28.).

Kokolitoforidi mikro frakcije i u području ovog transeкта bili su izuzetno malo zastupljeni, sa samo 4,1%. Njihova maksimalna abundancija zabilježena je u površinskom sloju postaje P100A postaje, točnije, na 10 ( $5,7 \times 10^2$  stanica  $L^{-1}$ ), 0 ( $5,0 \times 10^2$  stanica  $L^{-1}$ ) i 20 m dubine ( $3,8 \times 10^2$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 29.).

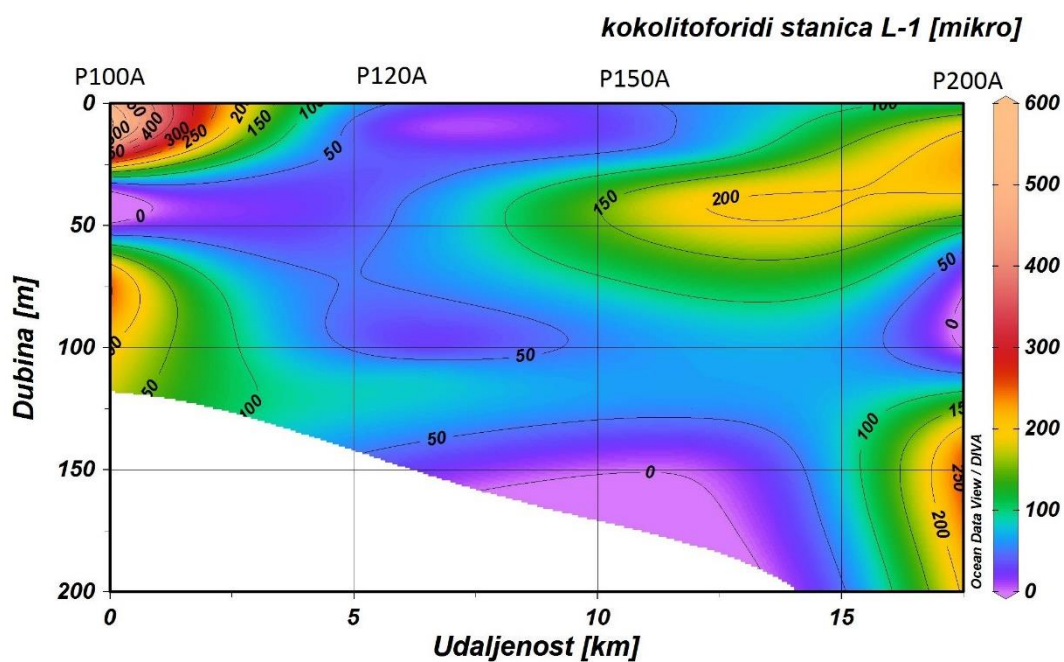
Kokolitoforidi su u nanofitoplanktonu ovog područja bili zastupljeni 66,6%. Maksimalna abundancija kokolitoforida nano frakcije zabilježena je na dubini od 20 m na postaji P100A ( $24,9 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) te na dubini od 40 ( $24,1 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) i 60 m ( $23,4 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) na postaji P200A (Slika 30.).



Slika 27. Prostorna raspodjela mikrofitoplanktona na području P(A)-transekta (postaje: P100A-P200A)

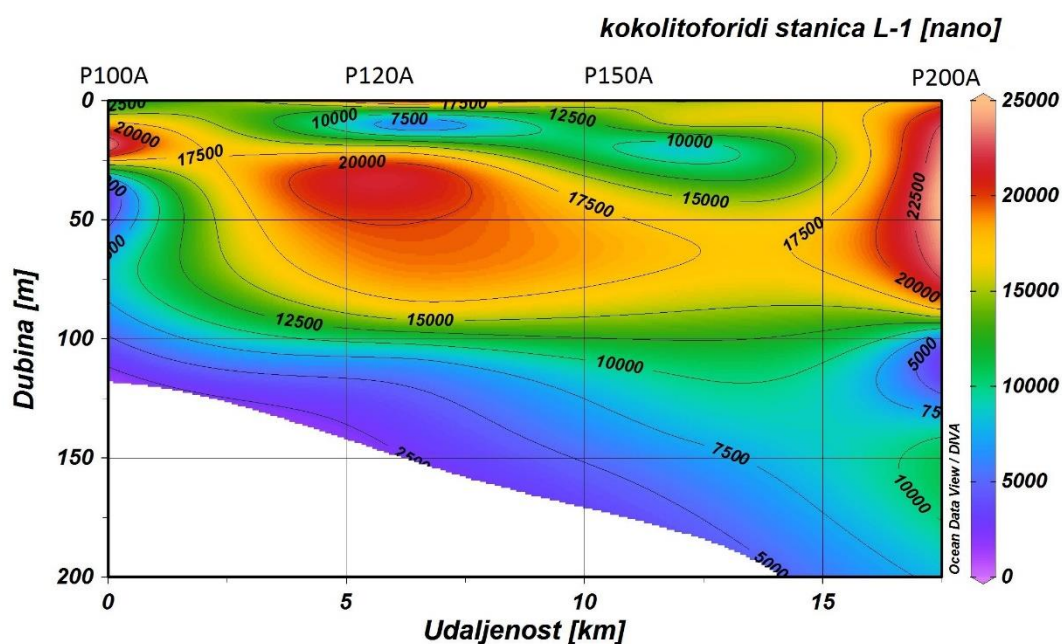


Slika 28. Prostorna raspodjela nanofitoplanktona na području P(A)-transekta (postaje: P100A-P200A)



Slika 29. Prostorna raspodjela kokolitoforida mikro frakcije na području P(A)-transekta (postaje: P100A-P200A)





Slika 30. Prostorna raspodjela kokolitoforida nano frakcije na području P(A)-transeкта (postaje: P100A-P200A)

### 3.1.5. Sastav fitoplanktona

U mikrofitoplanktnu južnog Jadrana najbrojnije su bile dijatomeje (Tablica 2.), a u nanofitoplanktonu kokolitoforidi (Tablica 3.). Najabundantnija vrsta dijatomeja bila je *Skeletonema marinoi* Sarno & Zingone (16,2%;  $7,8 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), dok je vrsta *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & Lewin (95,7%;  $1,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) bila najučestalija.

Svjetlosnim mikroskopom determinirano je 6 vrsta kokolitoforida: *Calciosolenia brasiliensis* (19,7%;  $0,2 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), *Calyptrosphaera oblonga* (7,7%;  $0,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), *Syracosphaera pulchra* (5,1%;  $0,4 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), *Umbilicosphaera sibogae* (5,1%;  $0,4 \times 10^2$  stanica  $L^{-1}$ ), *Ophiaster* sp. (2,6%;  $0,1 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) i *Rhabdosphaera stylifera* (0,9%;  $0,2 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ). Stanice kokolitoforida pronađene su u gotovo svi uzorcima, međutim, većina stanica ostala je nedeterminirana do upotrebe skenirajućeg elektronskog mikroskopa.

Tablica 2. Maksimalna (MAX) i minimalna (MIN) vrijednost, srednjak (AVG) te standardna devijacija (STDEV) abundancije mikrofitoplanktona u južnom Jadranu 2015. godine, N – broj uzoraka

Parametar	MAX	MIN	AVG	STDEV	N
Ukupan mikrofitoplankton (stanica L <sup>-1</sup> )	19700	100	4319	3366	117
Dijatomeje (stanica L <sup>-1</sup> )	17595	80	4039	3157	117
Dinoflagelati (stanica L <sup>-1</sup> )	1090	0	57	157	117
Kokolitoforidi (stanica L <sup>-1</sup> )	710	0	43	112	117

Tablica 3. Maksimalna (MAX) i minimalna (MIN) vrijednost, srednjak (AVG) te standardna devijacija (STDEV) abundancije nanofitoplanktona u južnom Jadranu 2015. godine, N – broj uzoraka

Parametar	MAX	MIN	AVG	STDEV	N
Ukupan nanofitoplankton (stanica L <sup>-1</sup> )	44020	0	11507	8817	117
Dijatomeje (stanica L <sup>-1</sup> )	6580	0	584	1032	117
Dinoflagelati (stanica L <sup>-1</sup> )	18460	0	1863	2029	117
Kokolitoforidi (stanica L <sup>-1</sup> )	24850	0	6305	6291	117

### 3.1.6. SEM analiza

Dodatnom analizom na skenirajućem elektronskom mikroskopu obrađen je sastav fitoplanktona te je nađeno 50 morfotipova, tj. 42 vrste kokolitoforida (Tablica 4.). Dominantna vrsta bila je *Emiliana huxleyi* koja je pronađena u svakom analiziranom uzorku, a njen maksimum zabilježen je na postaji P100A na dubini od 35 m ( $1,1 \times 10^5$  stanica  $L^{-1}$ ). Osim spomenute vrste veliku učestalost pokazale su vrsta *Syracosphaera* sp. i *Syracosphaera molischii*. Najveća abundancija vrste *Syracosphaera* sp. zabilježena je na postaji P100A na dubini od 35 m ( $1,7 \times 10^4$  stanica  $L^{-1}$ ), a vrste *Syracosphaera molischii* na postaji P600 na dubini od 120 m ( $1,1 \times 10^4$  stanica  $L^{-1}$ ). Zanimljivo je da su vrsta *Syracosphaera pulchra*, *Syracosphaera ossa* i *Calcidiscus leptoporus* bile vrlo učestale, međutim nisu pokazale velike abundancije.

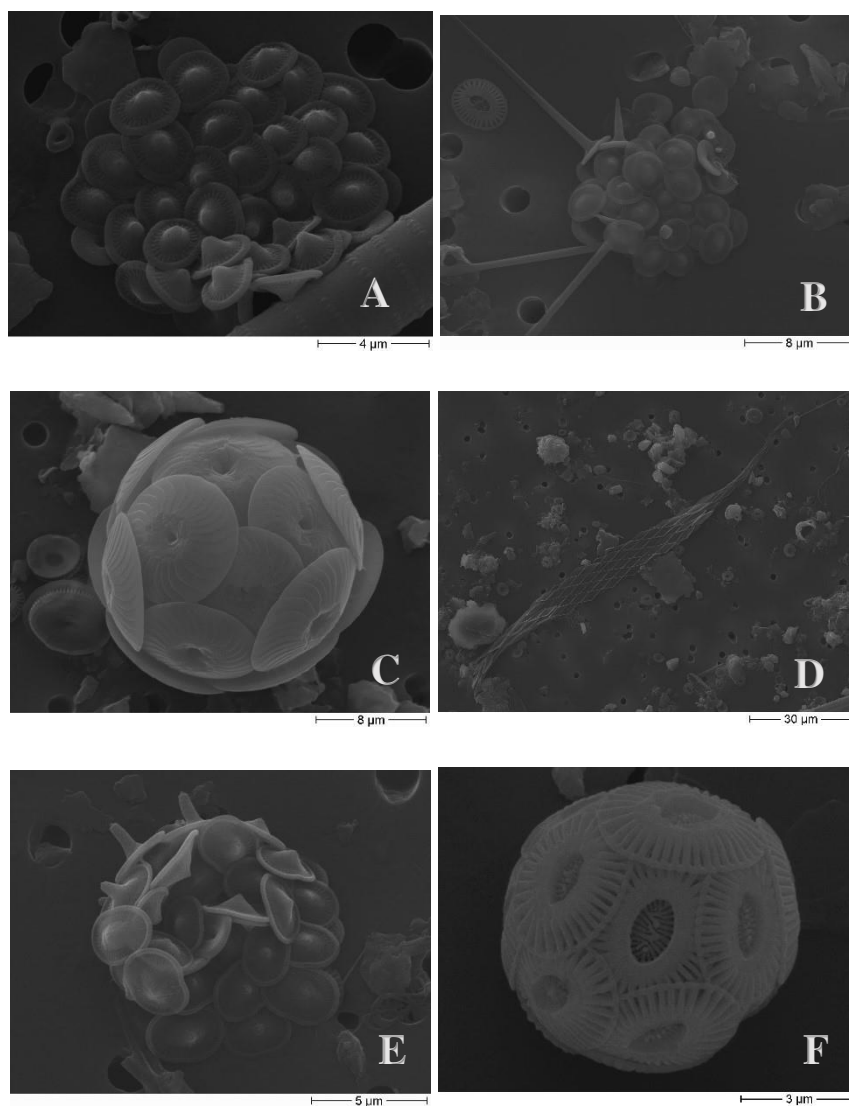
Tablica 4. Popis vrsta te njihova maksimalna abundancija i postotak učestalosti (N=18).

Vrsta	MAX	Fr(%)
<i>Acantoica quattrosipina</i> HOL Lohmann	593	6
<i>Acanthoica quattrosipina</i> Lohmann	1317	44
<i>Acanthoica acanthos</i> Schiller	658	17
<i>Alisphaera gaudii</i> Kleijne et al.	658	17
<i>Alisphaera gaudii</i> POL Kleijne et al.	658	6
<i>Anthosphaera periperforata</i> type 1 Cros & Fortuño	1106	6
<i>Anthosphaera periperforata</i> type 2 Cros & Fortuño	1316	22
<i>Anthosphaera fragaria</i> Kamptner	494	6
<i>Anthosphaera</i> sp. type C	658	22
<i>Algiosphaera robusta</i> (Lohmann) Norris	4608	72
<i>Calciosolenia brasiliensis</i> (Lohmann) Young in Young et al.	9875	72
<i>Calciosolenia corsellii</i> Malinverno	658	11
<i>Calciosolenia murrayi</i> Gran	658	6
<i>Calcidiscus leptoporus</i> ssp. leptoporus HET	2633	83
<i>Calyptrolithophora papillifera</i> (Halldal) Heimdal, in Heimdal & Gaarder	658	6
<i>Ceratolithus cristatus</i> HET nishidae type (Kleijne) Young et al.	494	6
<i>Cyrtosphaera lecaliae</i> Kleijne	3291	33
<i>Coronosphaera mediterranea</i> HOL gracillima type (Kamptner) Geisen et al.	658	11
<i>Coronosphaera mediterranea</i> HOL wettsteinii type (Kamptner) Geisen et al.	2370	17
<i>Coronosphaera mediterranea</i> HET/HOL wettsteinii type	658	11
<i>Coronosphaera mediterranea</i> (Lohmann) Gaarder, in Gaarder & Heimdal	1317	50
<i>Coronosphaera binodata</i> (Kamptner) Gaarder in Gaarder & Heimdal	1316	22
<i>Discosphaera tubifera</i> (Murray & Blackman) Ostenfeld	658	11

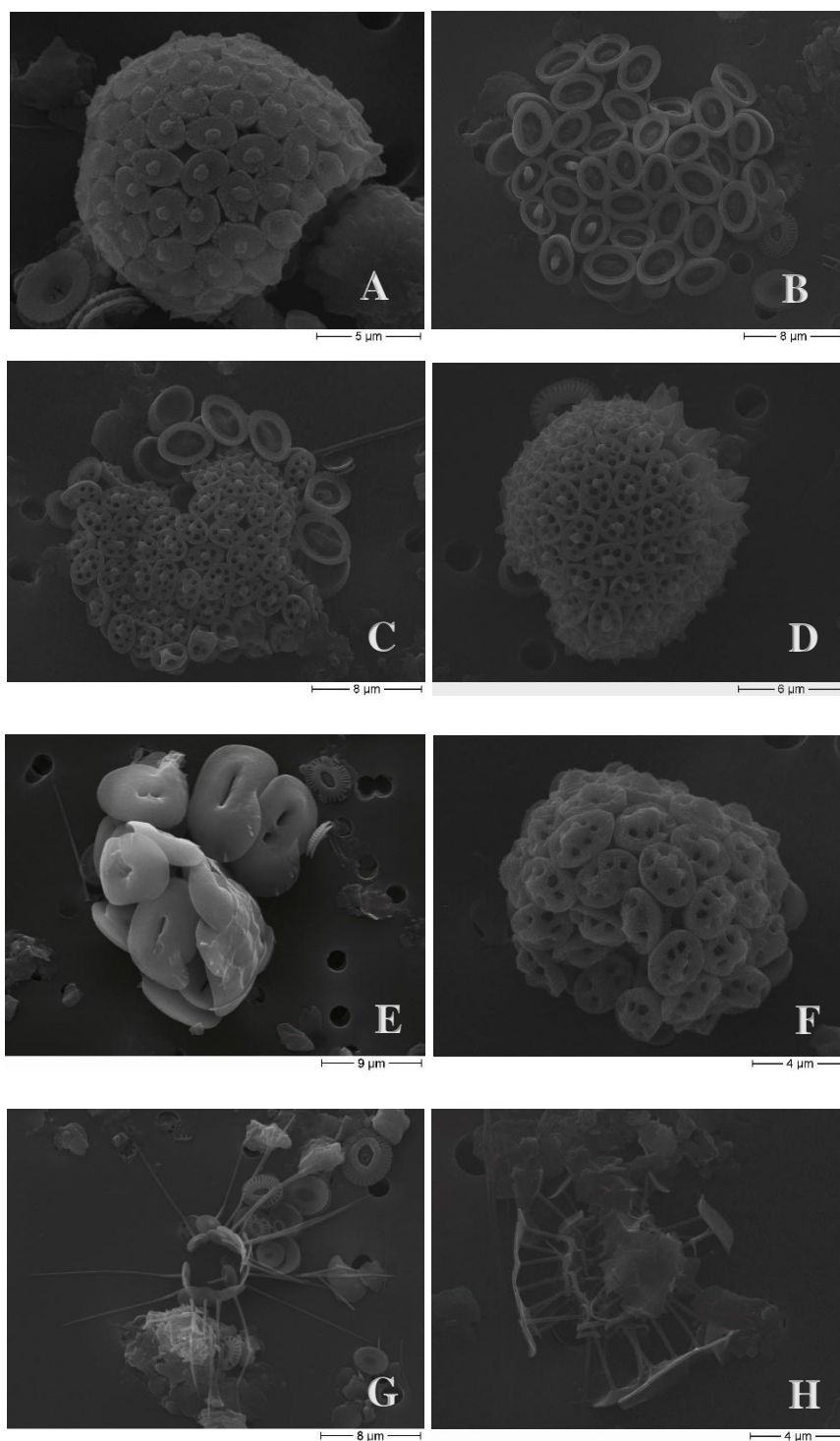


<i>Emiliania huxleyi</i> (Lohmann) Hay & Mohler, in Hay et al.	112575	100
<i>Homozygosphaera arethusae</i> (Kamptner) Kleijne	658	11
<i>Helicosphaera carteri</i> (Wallich) Kamptner	658	17
<i>Helicosphaera</i> HOL dalmaticus type Young & Bown	553	6
<i>Helicosphaera wallichii</i> (Lohmann) Okada & McIntyre	658	11
<i>Ophiaster hydroideus</i> (Lohmann) Lohmann	658	28
<i>Palusphaera vandellii</i> Lecal	2633	50
<i>Papposphaera lepida</i> Tangen	2633	56
<i>Papposphaera</i> sp. type 1 Cros & Fortuño	1316	6
<i>Papposphaera</i> sp. type 6 Cros & Fortuño	658	6
<i>Picarola margalefii</i> Cros & Estrada	658	6
<i>Rhabdosphaera clavigera</i> var. <i>stylifera</i> (Lohmann) Kleijne and Jordan	2633	50
<i>Syracosphaera protrudens</i> Okada & McIntyre	1316	33
<i>Syracosphaera pulchra</i> HOL oblonga type Young et al.	1317	6
<i>Syracosphaera pulchra</i> Lohmann	3949	94
<i>Syracosphaera dilatata</i> Jordan et al.	1185	11
<i>Syracosphaera anthos</i> (Lohmann) Janin	658	6
<i>Syracosphaera corolla</i> Lecal	658	17
<i>Syracosphaera ossa</i> type 2 of Young et al.	4608	83
<i>Syracosphaera didyma</i> Kleijne & Cros	658	17
<i>Syracosphaera bannockii</i> (Borsetti & Cati) Cros et al.	1316	17
<i>Syracosphaera molischii</i> type 3 sensu Young et al.	11190	100
<i>Syracosphaera nodosa</i> Kamptner	1316	11
<i>Syracosphaera rotula</i> Okada & McIntyre	1316	72
<i>Syracosphaera</i> sp.	17117	100
<i>Syracosphaera squamosa</i> Kleijne et Cros sp. nov.	1975	39
<i>Umbilicosphaera sibogae</i> (Weber - van Bosse) Gaarder	2798	61

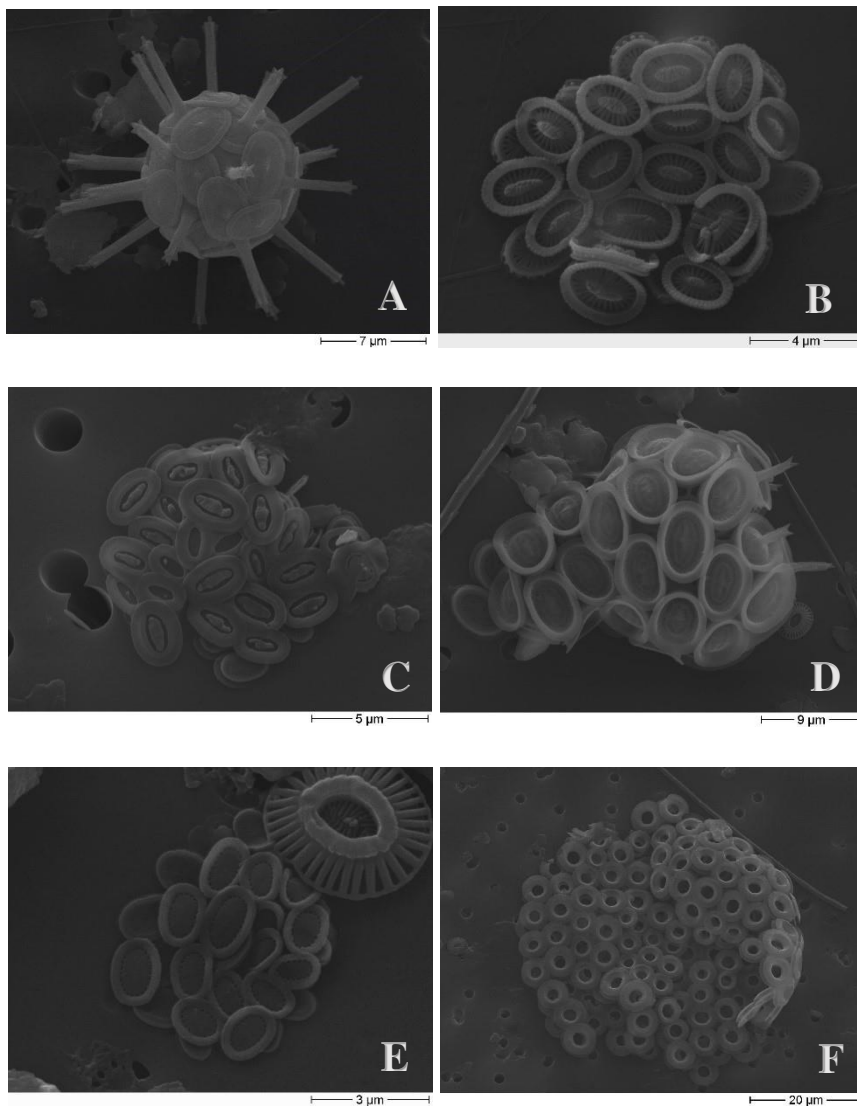
---



Slika 31. Slike kokolitoforida pod SEM-om: A - *Acanthoica acanthos*, B - *Acanthoica quattrospina*, C - *Calcidiscus leptoporus*, D - *Calciosolenia brasiliensis*, E - *Cyrtosphaera aculeata*, F - *Emiliana huxleyi*



Slika 32. Slike kokolitoforida pod SEM-om: A - *Coronosphaera mediterranea gracilima* HOL, B - *Coronosphaera mediterranea* HET, C - *Coronosphaera mediterranea* HET-HOL, D - *Coronosphaera mediterranea wettsteini* HOL, E - *Helicosphaera carteri*, F - *Helicosphaera* HOL *dalmaticus*, G - *Palusphaera vandellii*, H - *Papposphaera lepida*



Slika 33. Slike kokolitoforida pod SEM-om: A - *Rhabdosphaera clavigera* var *stylifera*,  
 B - *Syracosphaera dilatata*, C - *Syracosphaera ossa* type 2, D - *Syracosphaera pulchra*,  
 E - *Syracosphaera* sp., F - *Umbilicosphaera sibogae*

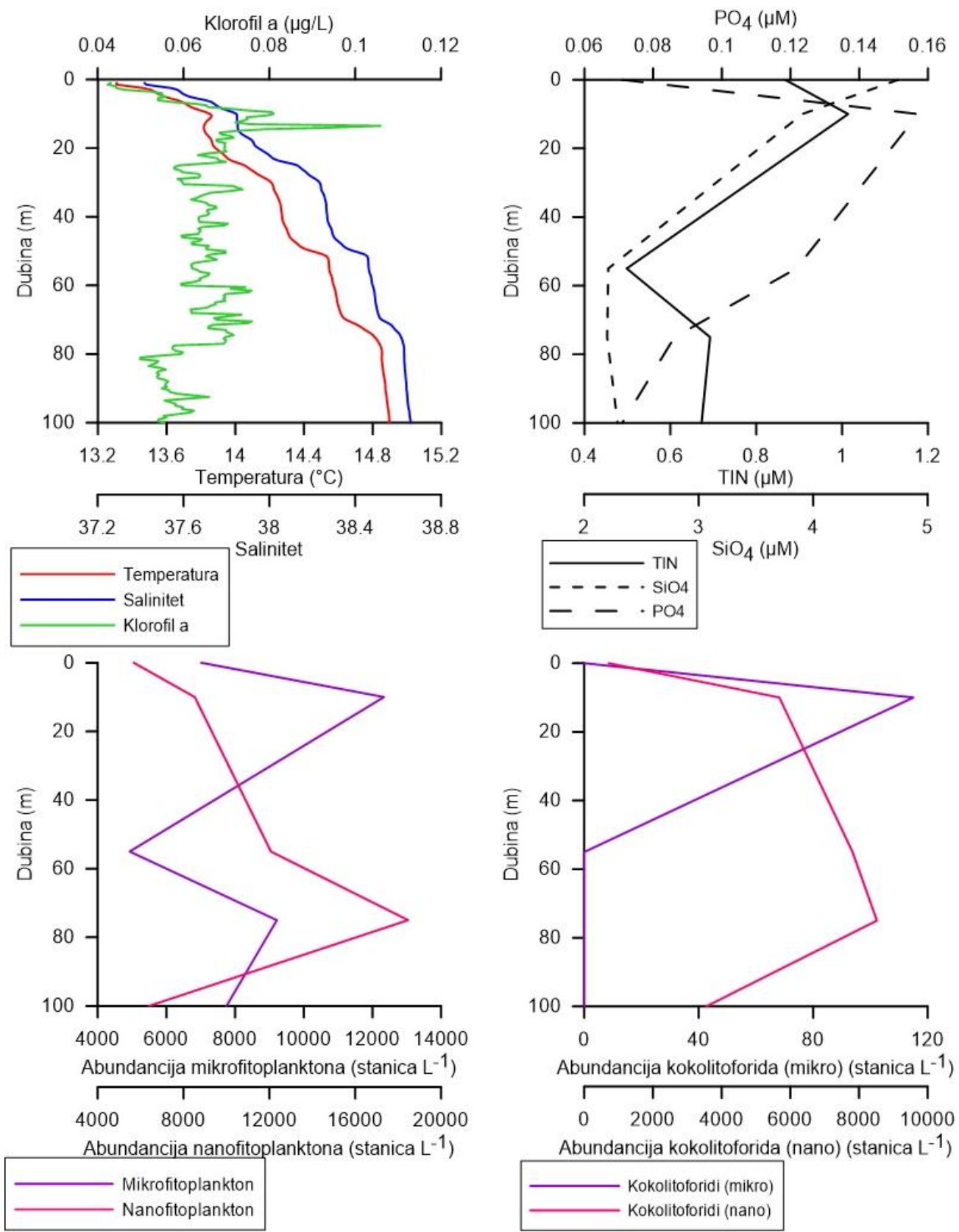
### 3.1.7. Vertikalni profili

#### Postaja P100

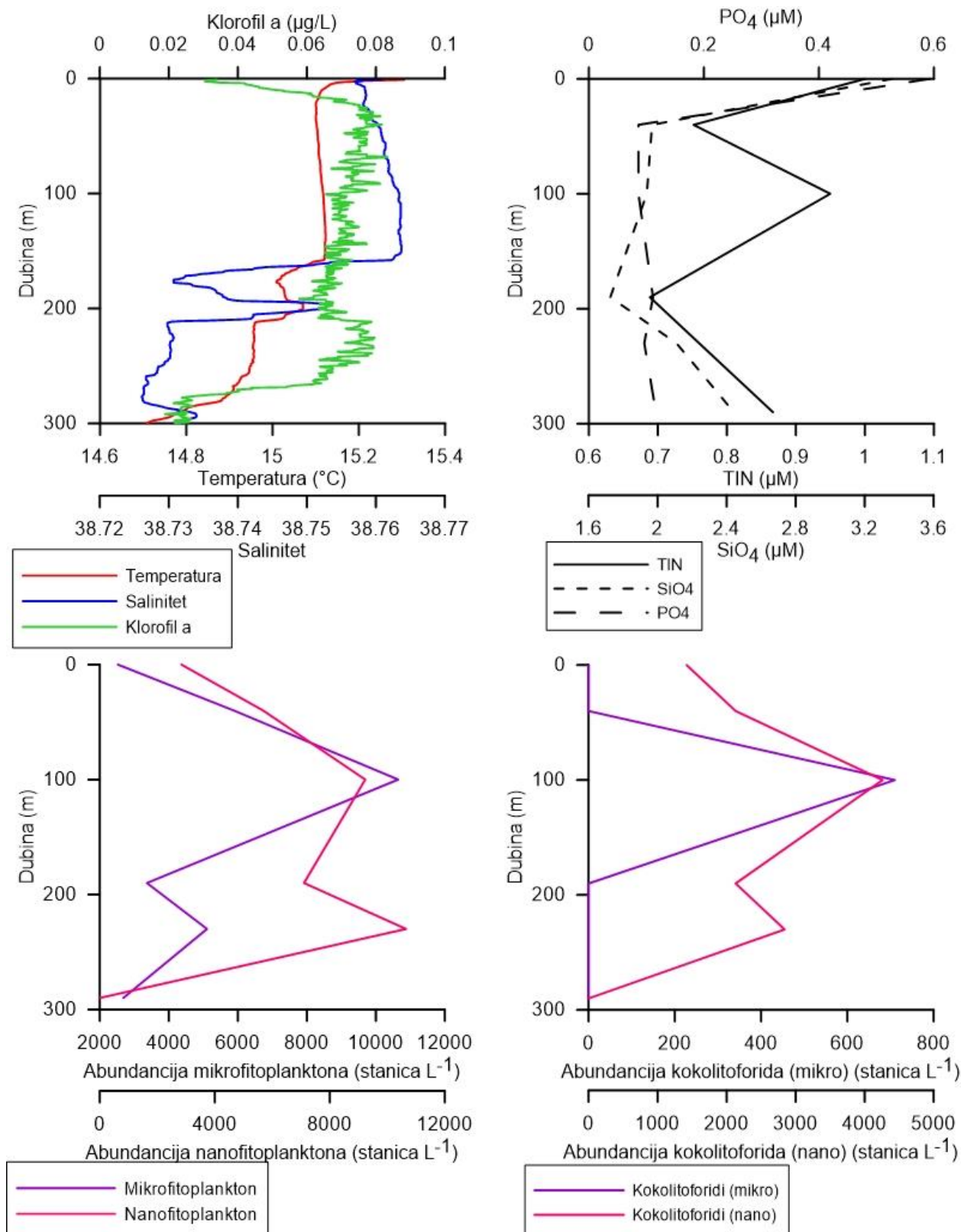
Na postaji P100 temperatura i salinitet rasli su s porastom dubine (Slika 34.). Najviša temperatura (14,90°C) i najviši maksimum saliniteta (38,66) izmjereni su na 100 m dubine. Koncentracija klorofila *a* bila je povišena u sloju od nekoliko metara ispod površine do 80 m dubine, a dosegla je maksimum (0,11  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) na 10 m dubine (Slika 34.). Maksimalna koncentracija fosfata (0,16  $\mu\text{M}$ ) i dušika (1,01  $\mu\text{M}$ ) zabilježena je u sloju maksimuma klorofila (Slika 34.). Mikrofitoplankton, pa tako i kokolitoforidi mikro frakcije, bio je najabundantniji u površinskom sloju do 20 m dubine gdje su zabilježeni i maksimumi fosfata i dušika (Slika 34.). Maksimum abundancije mikrofitoplanktona ( $12,3 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) zabilježen je na 10 m dubine, kao i maksimum kokolitoforida mikro frakcije ( $1,15 \times 10^2$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ). Nanofitoplankton i kokolitoforidi nano frakcije svoj su maksimum dosegli na većim dubinama između 60 i 80 m gdje su koncentracije nutrijenata bile niske (Slika 34.). Maksimalna abundancija nanofitoplanktona ( $18,5 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) i kokolitoforida nano frakcije ( $8,5 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) zabilježena je na 75 m dubine. Na ovoj postaji maksimalne abundancije, uz vrstu *Emiliana huxleyi*, pokazale su vrste roda *Syracosphaera*, točnije vrsta *Syracosphaera* sp. i *Syracosphaera molischii*.

#### Postaja P300

Termohalini profil postaje P300 bio je izrazito heterogen, ukazujući na različite vodene mase (Slika 35.). Promatrajući vertikalni profil ove postaje možemo vidjeti dva sloja. Prvi sloj je od površine pa do 160 m gdje je vidljiv nagli pad temperature (Slika 35.). Zanimljivo je da su u spomenutom prvom sloju, osim maksimuma temperature (15,31°C) i saliniteta (38,76), zabilježeni maksimumi fosfata (0,59  $\mu\text{M}$ ) i dušika (1,00  $\mu\text{M}$ ), mikrofitoplanktona ( $10,6 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) te kokolitoforida i mikro ( $7,1 \times 10^2$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ), ali i nano frakcije ( $4,3 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) (Slika 35.). Donji sloj ovog vodenog stupca karakterizira niža temperatura i salinitet, niže koncentracije nutrijenata te manje abundancije fitoplanktona. Međutim, na dubini od 230 m vidljiv je ponovni rast koncentracije klorofila *a* i fitoplanktona te upravo na toj dubini nanofitoplankton postiže svoj maksimum ( $10,7 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) (Slika 35.). Ovaj rast klorofila *a* u sloju ispod eufotičke zone ukazuje na moguće tonjenje vodene mase. Dominantne vrste kokolitoforida na ovoj postaji bile su također *Emiliana huxleyi*, *Syracosphaera* sp. i *Syracosphaera molischii*.



Slika 34. Vertikalni profili raspodjele fizikalno-kemijskih i bioloških čimbenika na postaji P100 (TIN – ukupan dušik,  $\text{SiO}_4$  – silikati,  $\text{PO}_4$  – fosfati)



Slika 35. Vertikalni profili raspodjele fizikalno-kemijskih i bioloških čimbenika na postaji P300 (TIN – ukupan dušik,  $\text{SiO}_4$  – silikati,  $\text{PO}_4$  – fosfati)



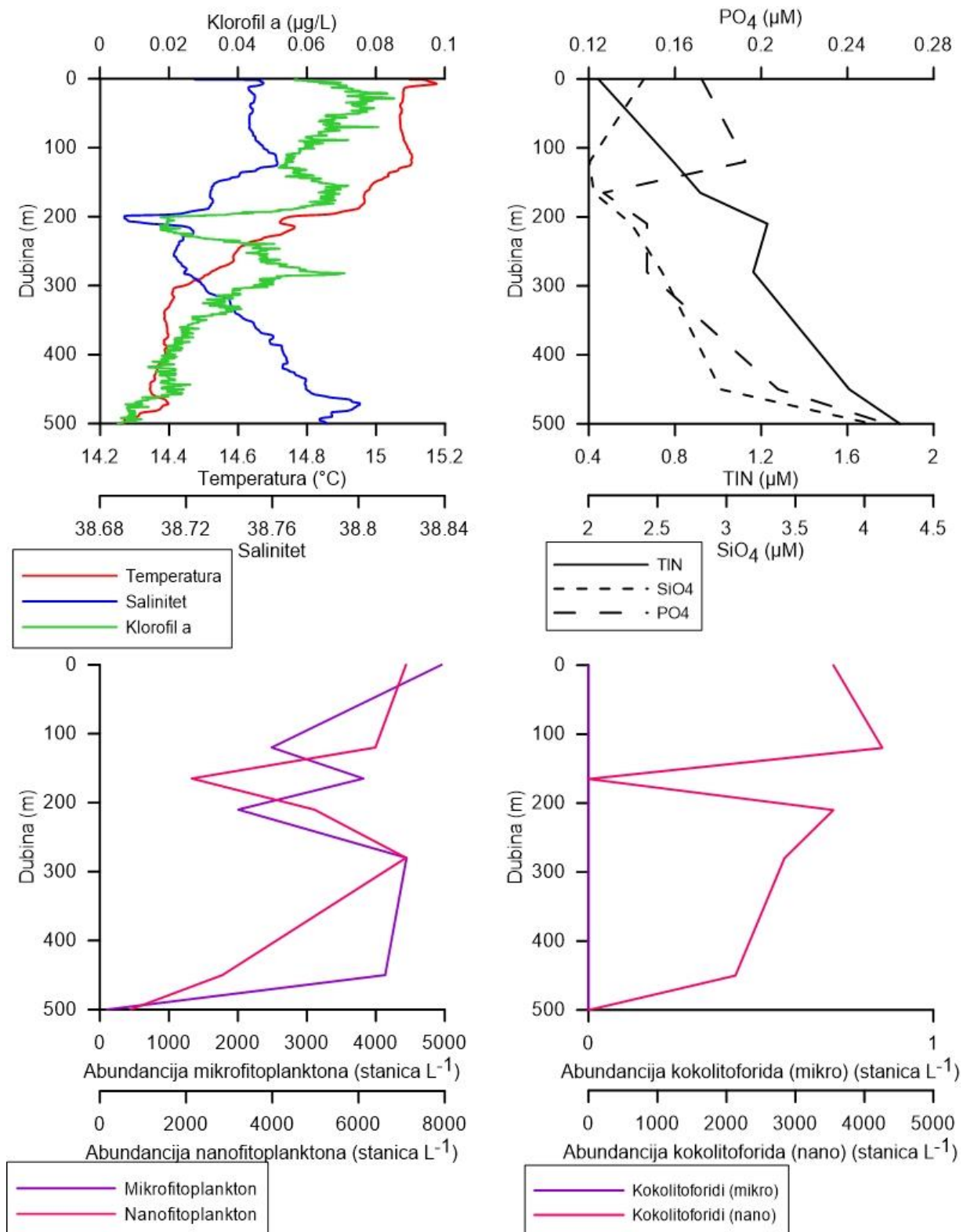
## Postaja P600

Na postaji P600 vidljiva je izrazita heterogenost vodenog stupca (Slika 36.). Vidljiva su tri maksimuma klorofila *a*, od kojih je najveći ( $0,09 \mu\text{g L}^{-1}$ ) zabilježen na 30 m dubine. Maksimum klorofila *a* vidljiv u sloju između 250 i 300 m, ispod eufotičke zone, ponovno ukazuje na moguće tonjenje vodene mase. Pad koncentracije klorofila *a* na 200 m dubine odvaja dva sloja ovog vodenog stupca (Slika 36.). U gornjem sloju zabilježen je maksimum temperature ( $15,18^{\circ}\text{C}$ ) i mikrofitoplanktona ( $5,0 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ), dok su u donjem sloju zabilježeni maksimumi saliniteta (38,80), fosfata ( $0,26 \mu\text{M}$ ), dušika ( $1,84 \mu\text{M}$ ), nanofitoplanktona ( $1,0 \times 10^2$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) i kokolitoforida nano frakcije ( $4,3 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) (Slika 36.). Dominantne vrste ove postaje bile su također *Emiliana huxleyi*, *Syracosphaera* sp. i *Syracosphaera molischii*, ali i *Algirosphaera robusta*.

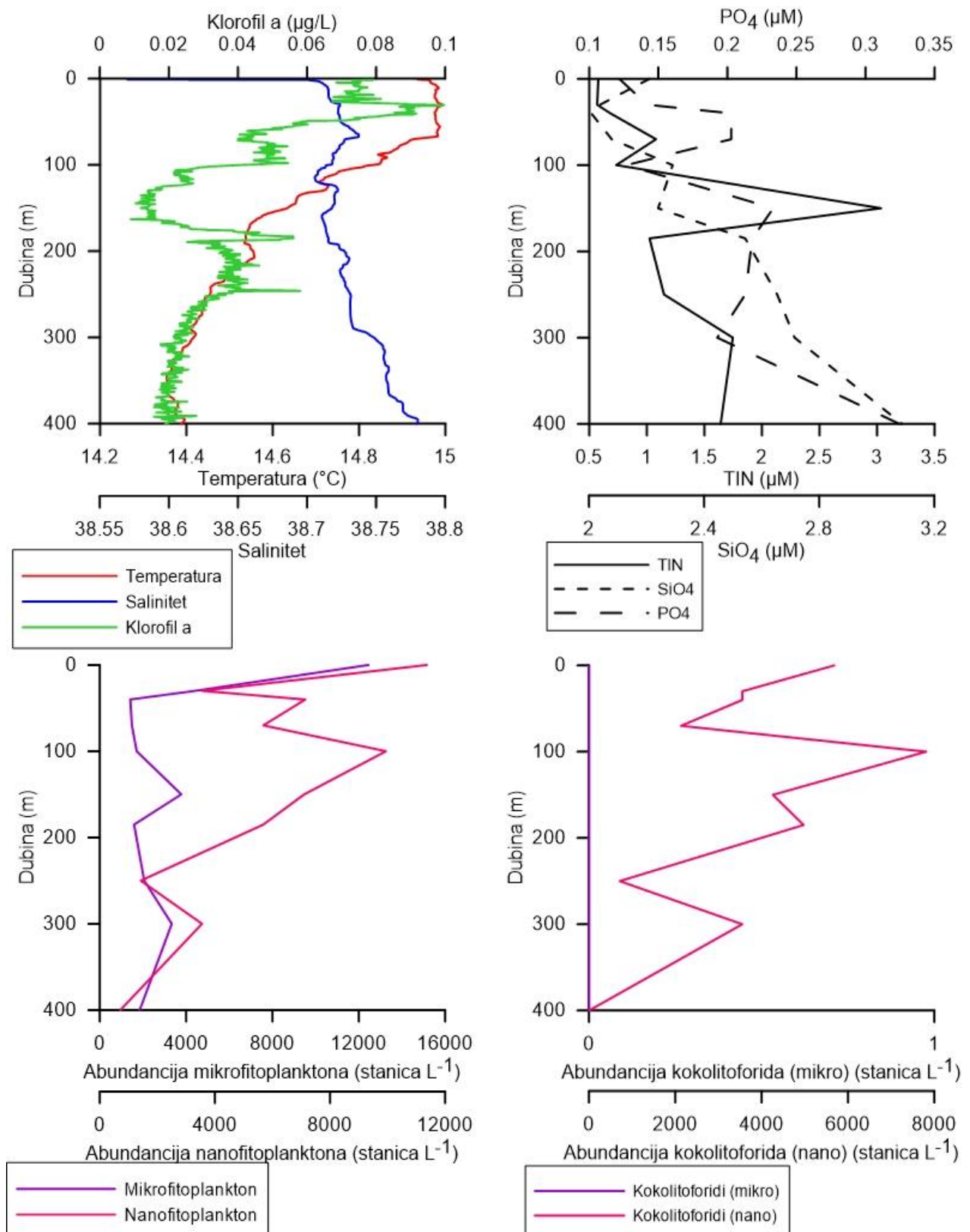
## Postaja P1000

Na postaji P1000 vidljiva su dva sloja (Slika 37.). Gornji sloj proteže se do otprilike 80 m dubine te je u njemu zabilježen maksimum klorofila *a* ( $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Vrijednosti temperature smanjivale su se s povećanjem dubine pa je tako maksimum temperature ( $14,99^{\circ}\text{C}$ ) zabilježen u gornjem sloju, a vrijednosti saliniteta rasle su s povećanjem dubine te je maksimum saliniteta (38,81) zabilježen na samom dnu postaje (Slika 37.). U donjem sloju zabilježene su maksimalne koncentracije fosfata ( $0,32 \mu\text{M}$ ) i dušika ( $3,04 \mu\text{M}$ ), dok su maksimalne abundancije mikrofitoplanktona ( $12,5 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) i nanofitoplanktona ( $11,4 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) zabilježene u gornjem sloju. Kokolitoforidi mikro frakcije i na ovoj postaji nisu pronađeni, a maksimum abundancije kokolitoforida nano frakcije ( $7,8 \times 10^3$  stanica  $\text{L}^{-1}$ ) zabilježen je na 100 m dubine (Slika 37.). Dominantne vrste kokolitoforida na ovoj postaji bile su *Emiliana huxleyi* i *Syracosphaera* sp. u cijelom vodenom stupcu, *Syracosphaera molischii* u gornjem sloju i *Syracosphaera pulchra* u donjem sloju.





Slika 36. Vertikalni profili raspodjele fizikalno-kemijskih i bioloških čimbenika na postaji P600 (TIN – ukupan dušik,  $\text{SiO}_4$  – silikati,  $\text{PO}_4$  – fosfati)



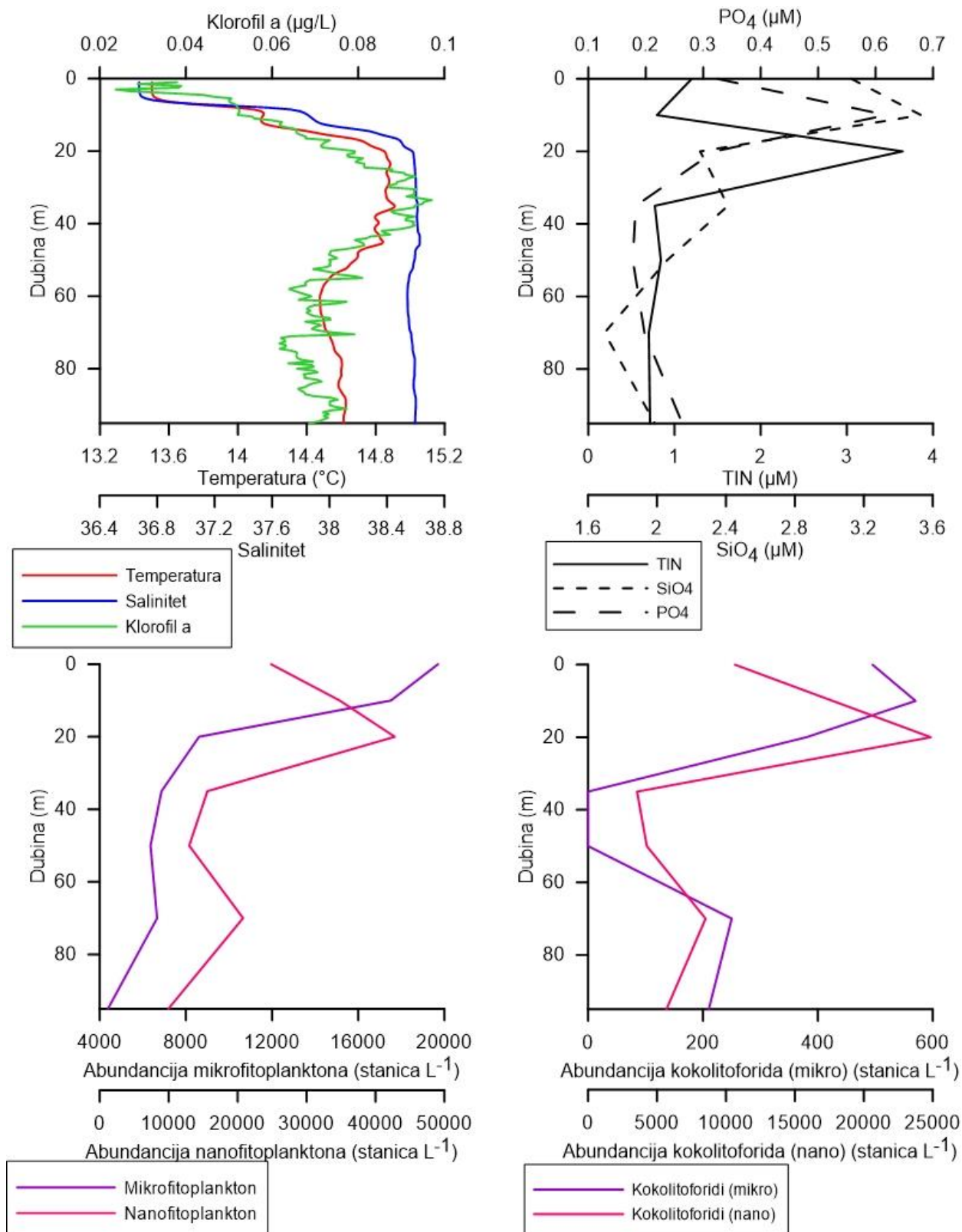
Slika 37. Vertikalni profili raspodjele fizikalno-kemijskih i bioloških čimbenika na postaji P1000 (TIN – ukupan dušik,  $\text{SiO}_4$  – silikati,  $\text{PO}_4$  – fosfati)

## Postaja P100A

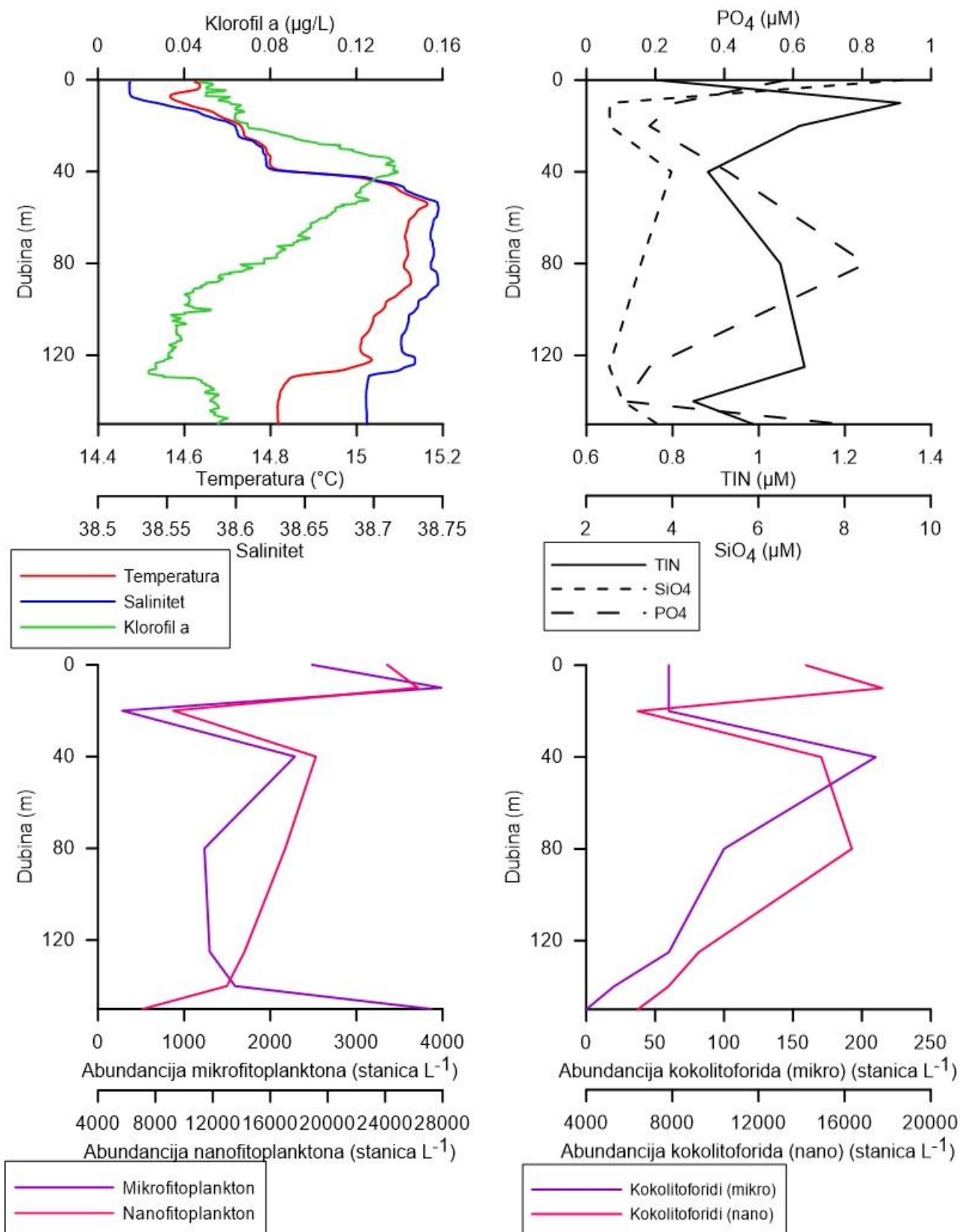
P100A postaja pokazuje potpuno drugačije vertikalne profile nego nekoliko dana ranije. Možemo vidjeti dva sloja, površinski gdje dolazi do porasta temperature, saliniteta i klorofila *a* s porastom dubine te drugi sloj, koji započinje na otprilike 20 m, u kojem su zabilježeni maksimumi temperature (14,91°C), saliniteta (38,63) i klorofila *a* (0,10 µg L<sup>-1</sup>) (Slika 38.). Maksimalna koncentracija fosfata (0,62 µM) zabilježena je također u gornjem sloju, dok je dušik svoj maksimum (3,65 µM) dosegno na granici slojeva, točnije, na 20 m dubine (Slika 38.). Abundancije mikro i nanofitoplanktona dosta su se preklapale kroz čitavi vodeni stupac. Maksimum abundancije mikrofitoplanktona (19,7 x 10<sup>3</sup> stanica L<sup>-1</sup>) i kokolitoforida mikro frakcije (5,7 x 10<sup>2</sup> stanica L<sup>-1</sup>) zabilježen je u površinskom sloju, sloju gdje je zabilježen i maksimum fosfata (Slika 38.). Na postaji P100A nanofitoplankton je bio izuzetno abundantan. Maksimalna abundancija nanofitoplanktona (42,8 x 10<sup>3</sup> stanica L<sup>-1</sup>) i kokolitoforida nano frakcije (24,9 x 10<sup>3</sup> stanica L<sup>-1</sup>) zabilježena je na 20 m dubine, gdje se nalazi i maksimum dušika (Slika 38.). Dominantne vrste bile su: *Emiliana huxleyi*, *Syracosphaera* sp., *Syracosphaera molischii*, *Calciosolenia brasiliensis*. U gornjem sloju vrlo zastupljena je bila i vrsta *Syracosphaera pulchra*, a u donjem *Umbilicosphaera sibogae*.

## Postaja P150A

Na postaji P150A vidljiva je heterogenost vodenog stupca (Slika 39.). Maksimumi temperature (15,16°C) i saliniteta (38,75) izmjereni su na 50 m dubine i pokazuju početak drugog sloja (Slika 39.). Maksimalna koncentracija fosfata (0,81 µM) zabilježena je upravo u tom drugom vodenom sloju, na 80 m dubine, dok je maksimalna koncentracija dušika (1,33 µM) zabilježena u prvom vodenom sloju, na 10 m, i poklapa se sa maksimum abundancije mikrofitoplanktona (4,0 x 10<sup>3</sup> stanica L<sup>-1</sup>) i nanofitoplanktona (26,3 x 10<sup>3</sup> stanica L<sup>-1</sup>) (Slika 39.). Maksimum abundancije kokolitoforida nano frakcije (17,8 x 10<sup>3</sup> stanica L<sup>-1</sup>) također se nalazi na 10 m dubine, dok je maksimum kokolitoforida mikro frakcije (2,1 x 10<sup>2</sup> stanica L<sup>-1</sup>) zabilježen na 40 m zajedno s maksimumom koncentracije klorofila *a* (0,14 µg L<sup>-1</sup>) (Slika 39.). Dominantne vrste su *Emiliana huxleyi* i *Syracosphaera* sp. u cijelom vodenom stupcu, *Cyrtosphaera lecaliae* u gornjem sloju te *Syracosphaera molischii* u donjem sloju.



Slika 38. Vertikalni profili raspodjele fizikalno-kemijskih i bioloških čimbenika na postaji P100A (TIN – ukupan dušik,  $\text{SiO}_4$  – silikati,  $\text{PO}_4$  – fosfati)



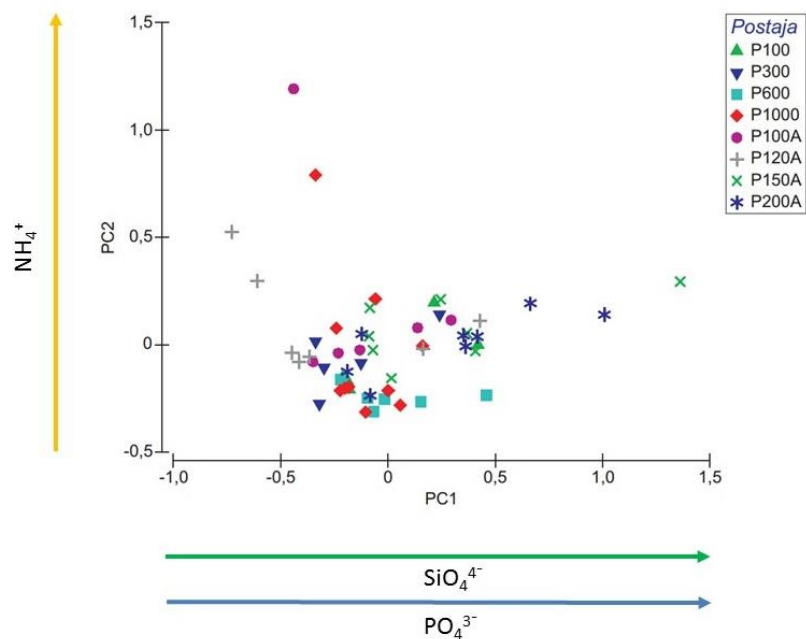
Slika 39. Vertikalni profili raspodjele fizikalno-kemijskih i bioloških čimbenika na postaji P150A (TIN – ukupan dušik,  $\text{SiO}_4$  – silikati,  $\text{PO}_4$  – fosfati)

### 3.1.8. PCA

Za analizu čimbenika koji su najviše utjecali na abundancije kokolitoforida provela se PC analiza kojom je utvrđeno da je na raspodjelu i abundanciju kokolitoforida najviše utjecala koncentracija nitrata, fosfata i amonija (Tablica 5.). Analizom dobivenog grafa (Slika 40.) može se vidjeti da kokolitoforidima odgovaraju niže koncentracije navedenih nutrijenata. Prema PC analizi vidi se izrazita heterogenost područja, što je vidljivo i na prethodno prikazanim vertikalnim profilima. Prva os ima svojstvenu vrijednost 0,14, a prve tri osi opisuju 89,3% kumulativne varijance.

Tablica 5. Parametri koji su utjecali na zajednicu kokolitoforida te koeficijenti njihovog utjecaja

Parametar	PC1	PC2	PC3
Temperatura (°C)	-0,016	-0,002	0,103
Salinitet	-0,011	-0,013	-0,014
Gustoća vode *1000	-0,008	-0,011	-0,029
Koncentracija otopljenog kisika (mg/L)	0,003	0,071	0,128
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (μM)	-0,240	0,949	-0,159
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (μM)	-0,017	0,053	0,212
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (μM)	0,108	-0,096	-0,934
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (μM)	0,324	0,219	0,173
SiO <sub>4</sub> <sup>4-</sup> (μM)	0,908	0,185	0,012



Slika 40. Grafički prikaz dobiven PC analizom (strelice označavaju porast koncentracije)



## 3.2. Rezultati BIOTA II

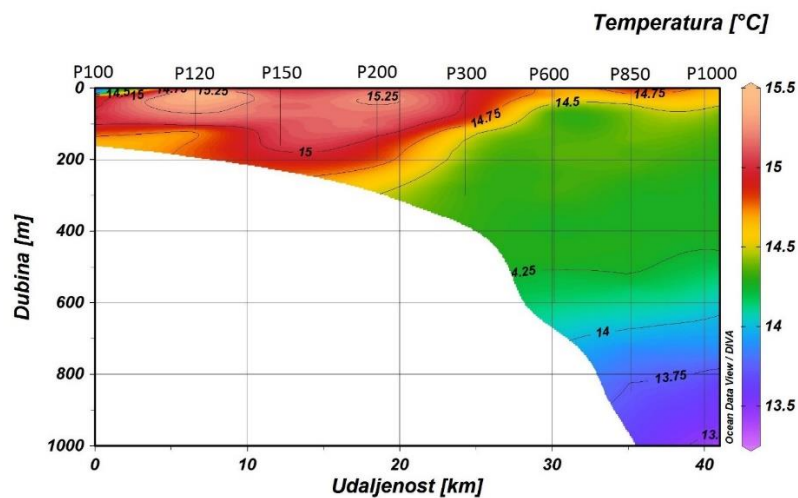
### 3.2.1. Fizikalno-kemijski parametri

Koncentracija fosfata varirala je od 0,02  $\mu\text{M}$  izmjerenih na postaji P120 do maksimalnih 1,11  $\mu\text{M}$  izmjerenih na postaji P150 (Tablica 6.). Prosječna koncentracija fosfata iznosila je 0,14  $\mu\text{M}$ , sa standardnom devijacijom od 0,20. Maksimalna koncentracija silikata iznosila je 9,65  $\mu\text{M}$ , a izmjerena je na postaji M150, dok je minimalna koncentracija izmjerena na postaji P100 i iznosila je 1,36  $\mu\text{M}$ . Prosječna vrijednost koncentracije silikata iznosila je 3,87  $\mu\text{M}$ , sa standardnom devijacijom od 1,53. Koncentracija ukupnog anorganskog dušika (TIN) imala je prosječnu vrijednost 1,41  $\mu\text{M}$ , sa standardnom devijacijom od 0,50, a kretala se u rasponu od 0,73  $\mu\text{M}$  izmjerenih na postaji P300 do 2,92  $\mu\text{M}$  izmjerenih na postaji P1000 (Tablica 6.).

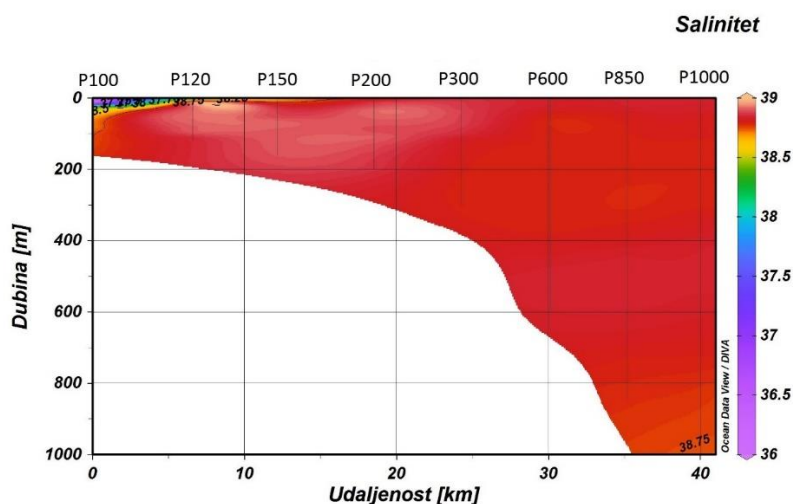
Tablica 6. Maksimalna (MAX) i minimalna (MIN) vrijednost, srednjak (AVG) te standardna devijacija (STDEV) fizikalno-kemijskih parametara u južnom Jadranu 2016. godine, N – broj uzoraka

Parametar	MAX	MIN	AVG	STDEV	N
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	15,41	13,57	14,61	0,43	64
Salinitet (PSU)	38,92	36,17	38,71	0,50	64
$\text{NH}_4^+$ ( $\mu\text{M}$ )	1,45	0,29	0,46	0,17	62
$\text{NO}_2^-$ ( $\mu\text{M}$ )	0,18	0,01	0,08	0,04	64
$\text{NO}_3^-$ ( $\mu\text{M}$ )	2,49	0,24	0,87	0,53	64
$\text{PO}_4^{3-}$ ( $\mu\text{M}$ )	1,11	0,02	0,14	0,20	64
$\text{SiO}_4^{4-}$ ( $\mu\text{M}$ )	9,65	1,36	3,87	1,53	64
TIN ( $\mu\text{M}$ )	2,92	0,73	1,41	0,50	62

Prosječna temperatura ovog područja bila je 14,61°C sa standardnom devijacijom od 0,43. Minimalna temperatura (13,57°C) izmjerena je na gotovo 1000 m dubine na području postaje P1000, a maksimalna (15,41°C) u površinskom sloju postaje P120 (Slika 41.). Prosječna vrijednost saliniteta iznosila je 38,71, sa standardnom devijacijom od 0,50. Najniži salinitet (36,17) izmjeren je u površinskom sloju postaje P100, dok je najviši salinitet (38,92) izmjeren na 55 m dubine na postaji P120 (Slika 42.). Klorofil a bio je najviših koncentracija u površinskom i podpovršinskom sloju, a njegov maksimum (0,41  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) zabilježen je u površinskom i podpovršinskom slju postaje P850 (Slika 43.).

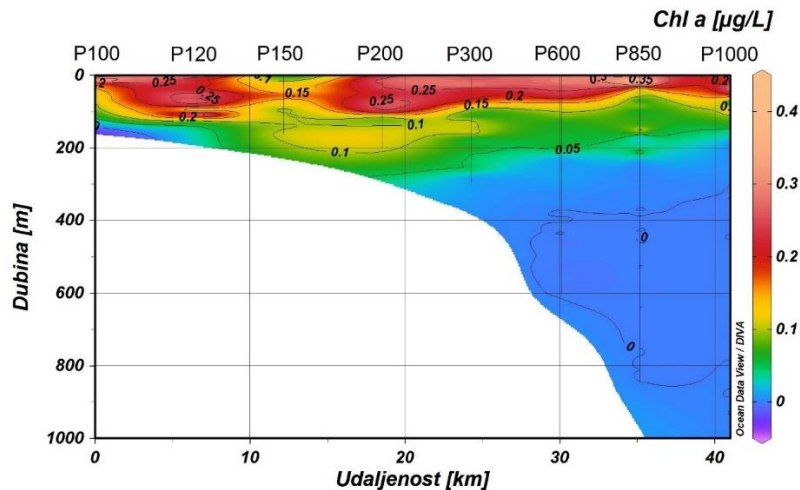


Slika 41. Prikaz raspodjele temperature na području P-transekta (postaje: P100-P1000)



Slika 42. Prikaz raspodjele saliniteta na području P-transekta (postaje: P100-P1000)





Slika 43. Prikaz raspodjele klorofila *a* na području P-transeкта (postaje: P100-P1000)

### 3.2.2. Prozirnost

Vidljivost Secchijeve ploče bila je od 8,5 (izmjereno na postaji P100) do 25,5 m dubine (izmjereno na postaji P1000).

### 3.2.3. Prostorna raspodjela fitoplanktona

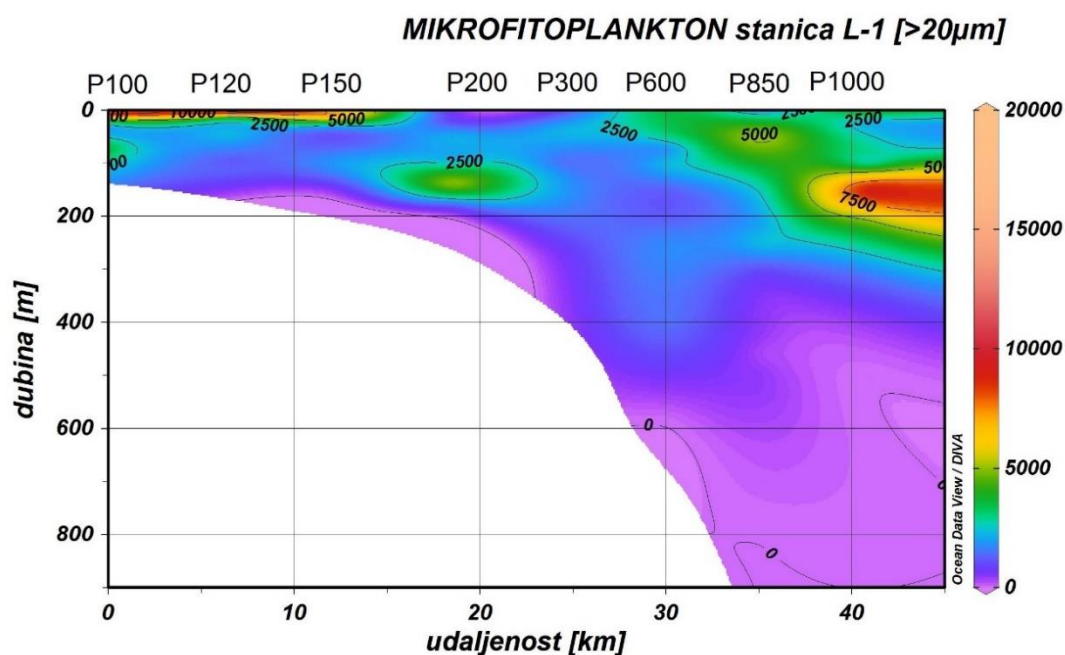
Maksimum abundancije mikrofitoplanktona ovog područja zabilježen je u površinskom sloju postaje P120 ( $17,9 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) i P100 ( $13,5 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) te na dubini od 150 m na postaji P1000 ( $10,4 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 44.).

Nanofitoplankton bio je mnogo abundantniji od mikrofitoplanktona i nalazio se većinom u površinskom sloju. Maksimum abundancije nanofitoplanktona zabilježen je u površinskom sloju postaje P100 ( $97,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) te na 20 m dubine ( $60,4 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) i na samoj površini ( $58,9 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) postaje P1000 (Slika 45.).

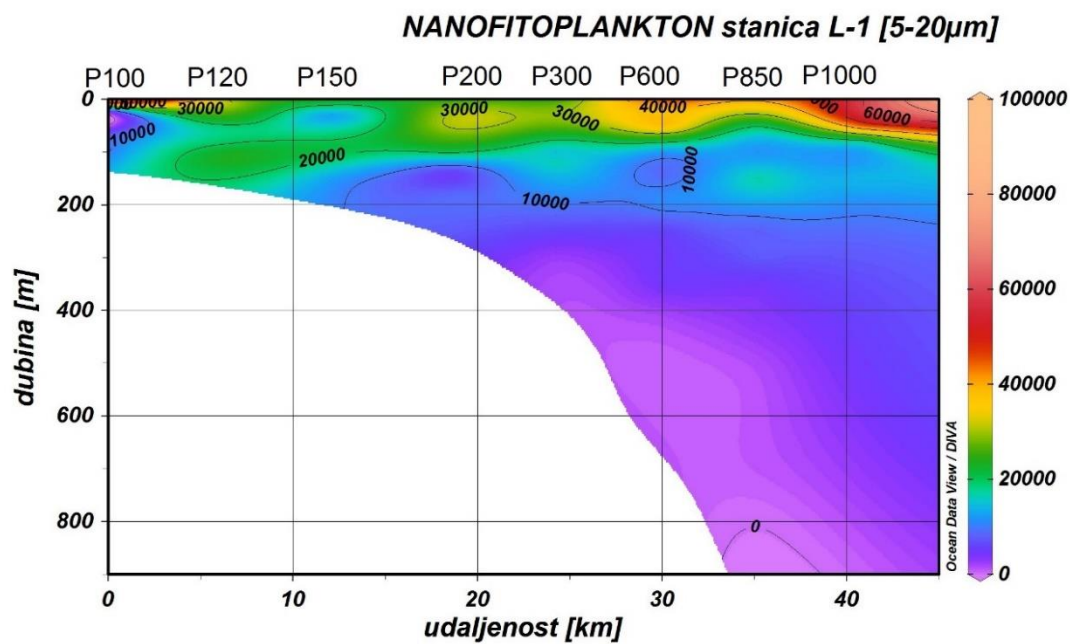
Kokolitoforidi mikro frakcije bili su zastupljeni sa samo 5,3%. Njihova maksimalna abundancija zabilježena je na 140 m na postaji P200 ( $5,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), na površini postaje P100 ( $2,9 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) te na 25 m dubine na postaji P600 ( $2,2 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 46.).

Kokolitoforidi su u nanofitoplanktonu ovog područja bili zastupljeni 81,9%. Zajednica kokolitoforida nano frakcije u ovom području bila je zastupljena u površinskom sloju. Maksimalna abundancija kokolitoforida nano frakcije zabilježena je na postaji P1000 na

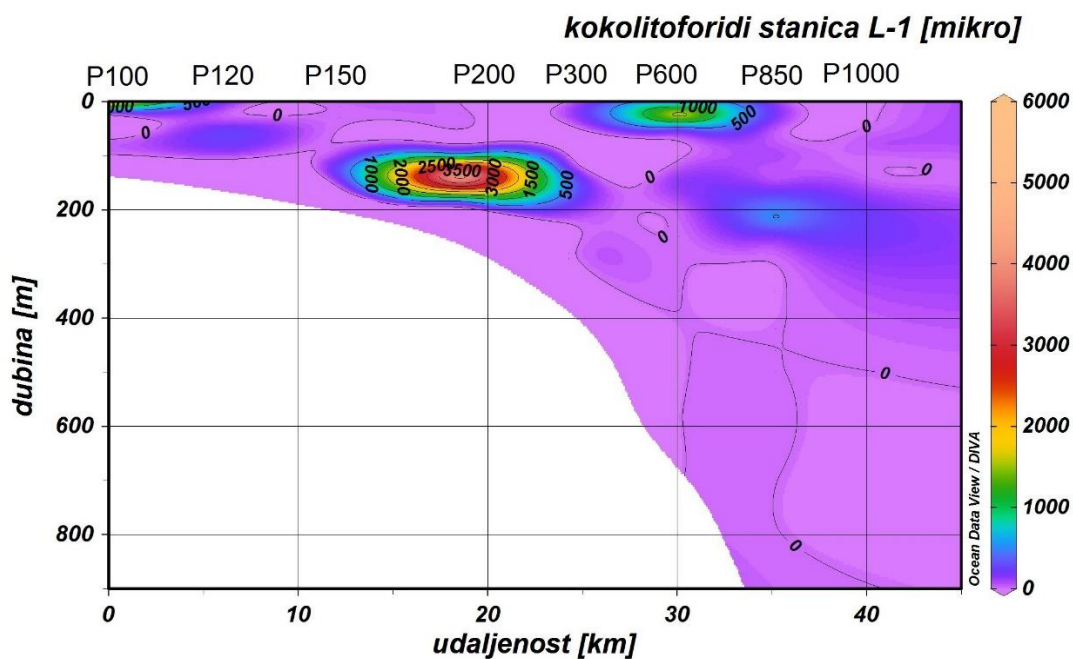
dubini od 20 m ( $51,8 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), na površini ( $44,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) i na dubini od 50 m ( $44,2 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) (Slika 47.)



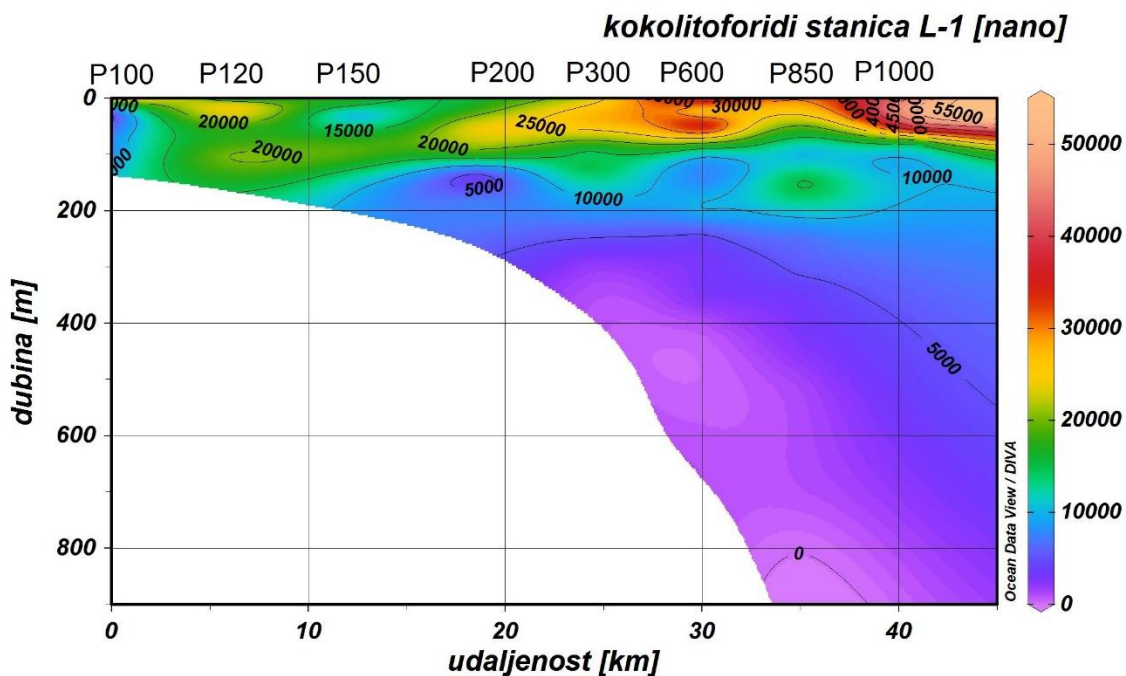
Slika 44. Prostorna raspodjela mikrofitoplanktona na području P-transekt (postaje: P100-P1000)



Slika 45. Prostorna raspodjela nanofitoplanktona na području P-transekt (postaje: P100-P1000)



Slika 46. Prostorna raspodjela kokolitoforida mikro frakcije na području P-transekta (postaje: P100-P1000)



Slika 47. Prostorna raspodjela kokolitoforida nano frakcije na području P-transekta (postaje: P100-P1000)

### 3.2.4. Sastav fitoplanktona

U mikrofitoplanktonu južnog Jadrana najbrojnije su bile dijatomeje (Tablica 7.), a u nanofitoplanktonu kokolitoforidi (Tablica 8.).

Najučestalija dijatomeja bila je *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & Lewin (81,2%;  $1,8 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), a najveću abundanciju pokazala je vrsta *Skeletonema* sp. (14,1%;  $12,5 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ).

Svjetlosnim mikroskopom identificirano je 8 vrsta kokolitoforida: *Emiliana huxleyi* (90,6%;  $22,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), *Calciosolenia brasiliensis* (42,2%;  $0,4 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), *Calciosolenia murrayi* (17,2%;  $0,2 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), *Ophiaster* sp. (12,5%;  $0,4 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), *Calyptrosphaera oblonga* (3,1%;  $5,7 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), *Syracosphaera pulchra* (3,1%;  $2,8 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ), *Acanthoica* sp. (3,1%;  $2,1 \times 10^3$  stanica  $L^{-1}$ ) i *Rhabdosphaera stylifer* (1,6%;  $0,1 \times 10^2$  stanica  $L^{-1}$ ).

Tablica 7. Maksimalna (MAX) i minimalna (MIN) vrijednost, srednjak (AVG) te standardna devijacija (STDEV) abundancije mikrofitoplanktona u južnom Jadranu 2016. godine, N – broj uzoraka

Parametar	MAX	MIN	AVG	STDEV	N
Ukupan mikrofitoplankton (stanica $L^{-1}$ )	17920	0	2681	3211	64
Dijatomeje (stanica $L^{-1}$ )	17615	0	2301	3002	64
Dinoflagelati (stanica $L^{-1}$ )	805	0	84	185	64
Kokolitoforidi (stanica $L^{-1}$ )	5680	0	217	827	64

Tablica 8. Maksimalna (MAX) i minimalna (MIN) vrijednost, srednjak (AVG) te standardna devijacija (STDEV) abundancije nanofitoplanktona u južnom Jadranu 2016. godine, N – broj uzoraka

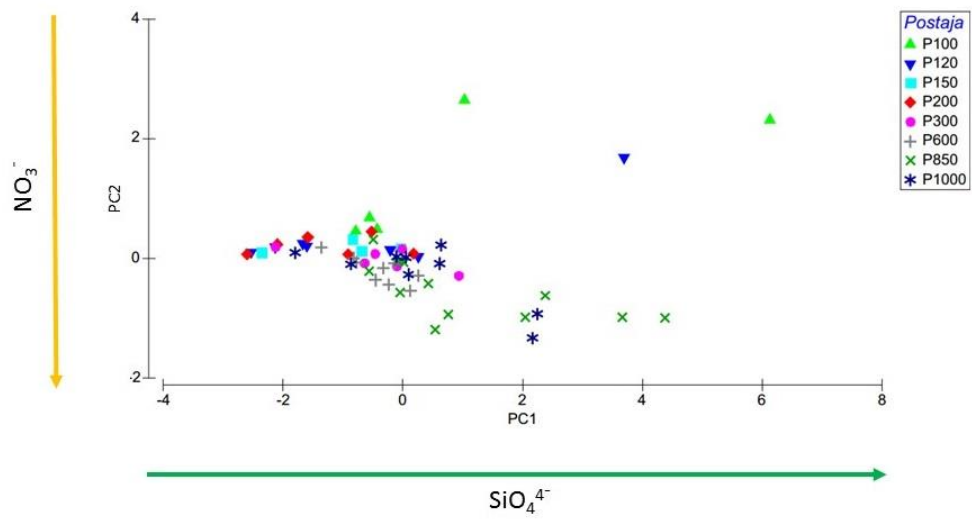
Parametar	MAX	MIN	AVG	STDEV	N
Ukupan nanofitoplankton (stanica L <sup>-1</sup> )	97740	0	18676	17435	64
Dijatomeje (stanica L <sup>-1</sup> )	13960	0	812	2463	64
Dinoflagelati (stanica L <sup>-1</sup> )	7100	0	815	1181	64
Kokolitoforidi (stanica L <sup>-1</sup> )	51830	0	14625	12135	64

### 3.2.5. PCA

Za analizu čimbenika koji su najviše utjecali na abundancije kokolitoforida proveda se PC analiza kojom je utvrđeno da je na raspodjelu i abundanciju kokolitoforida najviše utjecala koncentracija silikata i nitrata (Tablica 9.). Analizom dobivenog grafa (Slika 48.) može se vidjeti da kokolitoforidima odgovaraju niže koncentracije silikata, ali više koncentracije nitrata. Prema PC analizi vidi se izrazita heterogenost područja, što je vidljivo i na prethodno prikazanim prostornim raspodjelama fitoplanktona. Prva os ima svojstvenu vrijednost 2,75, a prve tri osi opisuju 95,9% kumulativne varijance.

Tablica 9. Parametri koji su utjecali na zajednicu kokolitoforida te koeficijenti njihovog utjecaja

Parametar	PC1	PC2	PC3
Temperatura (°C)	-0,181	0,146	0,587
Salinitet	-0,160	-0,587	0,470
Gustoća vode *1000	-0,084	-0,488	0,233
Koncentracija otopljenog kisika (mg/L)	-0,105	0,335	0,062
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (μM)	-0,006	0,053	0,109
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (μM)	-0,009	0,040	0,022
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (μM)	0,196	-0,521	-0,506
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (μM)	0,027	-0,078	-0,024
SiO <sub>4</sub> <sup>4-</sup> (μM)	0,940	0,034	0,328



Slika 48. Grafički prikaz dobiven PC analizom (strelice označavaju porast koncentracije)

## 4. RASPRAVA

Kokolitoforidi su važan dio zajednice fitoplanktona južnog Jadrana, što je pokazano u ovom istraživanju, time što čine veliki postotak ukupne fitoplanktonske zajednice. Kokolitoforidi mikro frakcije su zauzeli manje od 10% zajednice mikrofitoplanktona, ali su zato kokolitoforidi nano frakcije južnog Jadrana zauzeli 55% zajednice nanofitoplanktona 2015. godine, a čak 78% 2016. godine. Fitoplankton je izuzetno važan jer, kao i biljke, ima sposobnost provođenja procesa fotosinteza, a odgovoran je za čak 42% ukupne svjetske neto primarne proizvodnje (Field i sur. 1998). Osim što je važan za primarnu produkciju, fitoplankton, pa tako i kokolitoforidi, baza su trofičke piramide, što znači da abundancija i sastav fitoplanktona određuju razvoj svih organizama na višim trofičkim razinama. Kokolitoforidi imaju i jednu zanimljivu karakteristiku, naime, obloženi su kalcitnim pločicama, kokolitima. Prilikom stvaranja kokolita kalcifikacijom kokolitoforidi ugrađuju ugljik u kalcit te otpuštaju ugljikov dioksid u okoliš. Tako kokolitoforidi prilikom fotosinteze troše ugljikov dioksid iz okoliša te proizvode organski ugljik, a prilikom kalcifikacije otpuštaju ugljikov dioksid u okoliš te proizvode anorganski ugljik. Također, dugoročna sedimentacija stanica kokolitoforida na morskom dnu potpomaže stvaranju sedimentnih stijena, a tako i formiranju Zemlje kakvu danas poznajemo. Spomenuta tri procesa dio su kruženja ugljika u prirodi te je vidljivo koliko veliku ulogu zajednica kokolitoforida ima u tom biogeokemijskom ciklusu. Zanimljivo je da razni čimbenici poput temperature, koncentracije ugljikovog dioksida te nutrijenata uvelike utječu na proizvodnju organskog odnosno anorganskog ugljika u stanicama kokolitoforida. S obzirom da se svakodnevno na Zemlji događaju razne promjene koje uključuju povišenje koncentracije ugljikovog dioksida, zagrijavanje te zakiseljavanje oceana razumno je pretpostaviti da će se kokolitoforidi tome pokušati prilagoditi što će pak utjecati na stopu proizvodnje organskog odnosno anorganskog ugljika i općenito na biogeokemijski ciklus ugljika. Na temelju svega spomenutog, važnosti kokolitoforida, vidi se potreba za istraživanjem ove skupine, međutim, to nije toliko lagano kako se čini. Kokolitoforidi jesu spominjani u mnogim radovima i istraživanjima, ali rijetko kada su bili u prvom planu. U Jadranu je značajnije istraživanje kokolitoforida započeo Erwin Kamptner 1939. godine koji je istraživao kokolitoforide jugozapadne obale Istre te čak zabilježio postojanje 44 vrste kokolitoforida na tom području. Nakon Kamptnera, B. S. C. Leadbeater (1974) objavio je popis vrsta nanoplanktona alžirskog zaljeva i obale Jugoslavije koji je uključivao i 18 vrsta kokolitoforida nađenih u Jadranskom moru. Međutim, tek s razvojem skenirajućeg elektronskog mikroskopa kokolitoforidi su se počeli sve bolje

determinirati. Viličić i sur. (2002) objavili su listu vrsta fitoplanktona istočnog Jadrana na kojem se nalazi 95 vrsta kokolitoforida, od kojih je 19 tada zabilježenih u južnom Jadranu. Ova lista značajna je jer se velika pažnja pridala prethodno krivo determiniranim vrstama, odnosno vrstama koje su determinirane kao različite zbog nedovoljno dobre opreme i poznavanja morfologije, a kasnije je zaključeno da su morfološki različiti oblici iste vrste. Osim male veličine stanica te ultrastrukturnih razlika vidljivih samo skenirajućim elektronskim mikroskopom, prilikom određivanja vrsta kokolitoforida kroz povijest se javljao već spomenuti problem da su znanstvenici često dvije faze iste vrste determinirali kao dvije vrste. U estuariju rijeke Krke opisan je utjecaj raznih čimbenika na život i životni ciklus kokolitoforida, te je prikazan taksonomski pregled dobiven pomoću skenirajućeg elektronskog mikroskopa na kojem se našlo 111 morfotipova kokolitoforida (Šupraha i sur. 2014). Ovi rezultati su ujedno i jedini usporedivi rezultati sa rezultatima ovog istraživanja, budući da je korištena ista metodologija. U svim radovima osim ovog i spomenutog rada Šupraha i sur. (2014 i 2016) za određivanje brojnosti kokolitoforida korištena je samo svjetlosna mikroskopija.

Kao što je već spomenuto, kokolitoforidi su izuzetno važni za cijeli ekosustav, što je upravo jedan od razloga ovog istraživanja. U ovom diplomskom radu istraživali su se kokolitoforidi na području južnog Jadrana, koje je oligotrofno, što potvrđuje izmjerena prozirnost do 27 metara, rezultati PC analize te rasprostranjenost i brojnost kokolitoforida. Osim njihove prostorne raspodjele, detaljno je obrađena taksonomija kokolitoforida skenirajućim elektronskim mikroskopom. Iako je kroz godine napravljeno više lista s vrstama kokolitoforida, u ovom istraživanju prvi puta je detaljno, pomoću skenirajućeg elektronskog mikroskopa, obrađeno područje južnog Jadrana te se na listi našlo čak 50 različitih vrsta stanica (morfotipova), tj. 42 vrste kokolitoforida. Dominantna vrsta bila je *Emiliana huxleyi* koja je pronađena u svakom analiziranom uzorku, a njena maksimalna abundancija bila je  $1,1 \times 10^5$  stanica  $L^{-1}$ . Osim spomenute vrste veliku učestalost pokazale su vrsta *Syracosphaera* sp. i *Syracosphaera molischii*, što je također zabilježeno i u srednjem Jadranu zimi (Šupraha i sur. 2016). Vrste *Syracosphaera pulchra*, *Syracosphaera ossa* i *Calcidiscus leptoporus* pokazale su veliku učestalost, ali nisu bile izrazito abundantne, što znači da su sposobne živjeti u vrlo različitim uvjetima te da su karakteristične za uzorkovano područje. Dominacija *E. huxleyi* zimi je zabilježena također u srednjem Jadranu, estuariju rijeke Krke, a maksimalna abundancija dosegla je vrijednosti do  $3,4 \times 10^5$  stanica  $L^{-1}$  (Šupraha i sur. 2016), međutim na postajama van estuarija (obalne postaje srednjeg Jadrana) maksimalne abundancije nisu



bile veće od  $5 \times 10^4$  stanica  $L^{-1}$ , ali je *E. huxleyi* i dalje bila dominantna. Obzirom da je estuarij rijeke Krke izrazito produktivan sustav radi velike dostupnosti hranjivih soli, za očekivati je veće abundancije i pojedinih vrsta fitoplanktona. Radi izrazite oligotrofije južnog Jadrana, podaci o brojnosti i taksonomskom sastavu više su usporedivi sa obalnim postajama u srednjem Jadranu, nego sa onima iz produktivnog estuarija. Međutim, od tih podataka je ovo istraživanje pokazalo 10x veće maksimalne abundancije, potvrđujući južni Jadran kao izuzetno dobro stanište za kokolitoforide. Tijekom obrade uzoraka skenirajućim elektronskim mikroskopom pojavljivalo se nekoliko problema. Naime, razvojem mikroskopije stanice kokolitoforida te njihove ultrastrukturalne razlike sada su mnogo bolje vidljive nego u prošlosti pa se otkrilo da neke vrste zapravo nisu odvojene vrste već različiti tipovi stanica iste vrste. Zbog ovog problema, ali i problema uzrokovanog postojanjem heterokokolitne i holokokolitne faze kokolitoforida njihova je taksonomija izrazito kompleksna, nedovoljno poznata i u sveopćem kaosu. Popis vrsta u ovom istraživanju izrazito je detaljan, međutim, daljnjim razvojem mikroskopije i taksonomije kokolitoforida vjerojatno će se promijeniti nekoliko puta.

Osim SEM analize sastav fitoplanktona u uzorcima s oba terena analizirao se i svjetlosnim mikroskopom. U uzorcima 2015. i 2016. godine najabundantnije i najučestalije bile su dijatomeje, najučestalija vrsta dijatomeja bila je *Cylindrotheca closterium*, a najabundantnija vrsta dijatomeja 2015. godine bila je *Skeletonema marinoi*, a 2016. godine *Skeletonema* sp., što ukazuje na uobičajenu fitoplanktonsku zajednicu za zimu (Batistić i sur. 2012; Viličić 1984). Dok su mikro frakcijom dominirale dijatomeje, kokolitoforidi su bili dominantna skupina nano frakcije. Dominacija kokolitoforida odnosno dijatomeja vidljiva je i analizom pigmenata. U uzorcima u kojima su dominirale dijatomeje pronađena je veća koncentracija fukoksantina, a u uzorcima gdje su dominirali kokolitoforidi koncentraciju fukoksantina nadjačala je koncentracija 19'-heksanoiloksifukoksantina, identifikacijskog pigmenta kokolitoforida. Analize pigmenata su izrazito dobra metoda jer nude laku usporedivost istraživanja, te uključuju sve frakcije fitoplanktona. Mana tih analiza je nedovoljna specifičnost, tj specifičnost razdvajanja na razini skupina, a ne vrsta.

U uzorcima sakupljenim 2015. godine svjetlosnim mikroskopom je determinirano 6 vrsta, a u uzorcima sakupljenim 2016. godine 8 vrsta kokolitoforida. Vrsta *Emiliana huxleyi* bila je i najučestalija i najabundantnija u uzorcima sakupljenim 2015. godine, a nakon nje najučestalija je bila vrsta *Calciosolenia brasiliensis*, dok je najabundantnija bila vrsta *Calyptrosphaera oblonga*, što odgovara sastavu fitoplanktona u uzorcima sakupljenim 2016.

godine, gdje je *Calciosolenia brasiliensis* bila najučestalija, a *Calyptrosphaera oblonga* najabundantnija vrsta kokolitoforida, što je takođe u skladu sa prthodnim istraživanjima (Viličić 1984).

Kada uspoređujemo hidrografiju područja 2015. i 2016. godine primjećujemo velike razlike. Čak ne samo uspoređujući dvije godine, već su zamijećene velike razlike i unutar 2015. godine, budući da se dio P-transeкта ponovio 5 dana kasnije kao P(A)-transekt. 2015. godine na početku uzorkovanja zamijećena je stratifikacija vodenog stupca. Na P-transektu kao i na području M-transeкта vidljiv je utjecaj slatkih voda s kopna jer su temperatura i salinitet na površini postaje najbliže kopnu mnogo niži nego na drugim postajama. Na području oba transeкта nanofitoplankton je bio mnogo abundantniji od mikrofitoplanktona, što ukazuje na jaku oligotrofiju. Naime male stanice imaju veći omjer površine i volumena te time lakše preživljavaju u uvjetima sa manje hranjivih soli jer su u prednosti obzirom na procese difuzije. Kokolitoforidi mikro frakcije zauzimali su vrlo mali postotak mikrofitoplanktona, ali su zato kokolitoforidi nano frakcije zauzimali i do 50%. Abundancije mikrofitoplanktona veće su na području P-transeкта, a abundancije nanofitoplanktona na području M-transeкта, što je bilo i za očekivati jer je P-transekst bliže obali i pod većim utjecajem kopna. Primjećeno je i da abundancije mikrofitoplanktona i nanofitoplanktona međusobno alterniraju, što ukazuje na zauzimanje različitih ekoliških niša. Nekoliko dana nakon uzorkovanja na području P-transeкта su se uzorci ponovno sakupili. Situacija se u samo nekoliko dana izuzetno promijenila. Naime, sada na istom području više nije vidljiva stratifikacija vodenog stupca nego izotermija. Na području tzv. P(A)-transeкта zabilježeni su maksimumi i nanofitoplanktona i mikrofitoplanktona, a kokolitoforidi nano frakcije zauzeli su čak 66,6% nanofitoplanktona. Promjene koje su se očito dogodile u nekoliko dana utjecale su i na prostornu raspodjelu fitoplanktona pa tako i kokolitoforida. Osim što je abundancija mikrofitoplanktona, ali i nanofitoplanktona porasla, maksimumi abundancija vidljivi su na drugim postajama i dubinama. Osim toga, sastav fitoplanktona razlikuje se na postajama P- i P(A)-transeкта. Iz svega navedenog se može zaključiti da uzrok porasta biomase fitoplanktona nije razvoj već postojećeg fitoplanktona nego donos nove zajednice fitoplanktona dolaskom druge vodene mase. Ovu teoriju potvrđuju vertikalni profili postaja P- i P(A)-transeкта na kojima su vidljive razlike u fizikalnim svojstvima vodenog stupca postaja P100 i P100A. Analizom svih ovih promjena možemo doći do zaključka kako je sustav južnog Jadrana izrazito dinamičan, naime, u roku od nekoliko dana dogodili su se mnogi fizikalni procesi koji

su imali izravan utjecaj na zajednicu fitoplanktona i kokolitoforida, uslijed toga i na primarnu produkciju čime su pak neizravno utjecali i na više trofičke razine.

Procesi duboke konvekcije u južnom Jadranu i njen utjecaj na primarne producente i time na funkcioniranje ekosustava u cjelini su od nedavno u fokusu istraživanja (Batistić i sur. 2012, Najdek i sur.2014, Korlević i sur. 2015). Promatranjem vertikalnih profila područja P-transeкта, točnije postaja P300, P600 i P1000, možemo vidjeti da postoje maksimumi klorofila *a*, ali i fitoplanktona na dubinama ispod eufotičke zone. Do razvoja fitoplanktona nije moglo doći na tim dubinama zbog nedostatka svjetlosti te postoje tri hipoteze koje objašnjavaju ovu pojavu. Prva hipoteza je da je fitoplankton potonuo na dubinu ispod eufotičkog sloja zbog raznih fizikalnih procesa unutar vodenog stupca. Druga hipoteza pretpostavlja da je fitoplankton bio i ostao na toj dubini zahvaljujući mogućnosti miksotrofnog načina prehrane. Treća hipoteza je da je došlo do intruzije nove vodene mase koja je sa sobom donijela i fitoplankton. Važno je napomenuti da zbog mnogo faktora koje ne znamo, kao npr. koliko dugo je fitoplankton "zarobljen" u tom sloju postoji mogućnost da nije točna samo jedna hipoteza nego da su točne sve, ili da je došlo do događaja pretpostavljenih u dvije hipoteze. Vertikalni profili omogućavaju nam proučavanje slojevitosti vodenog stupca pa se tako može uočiti da se, kao što je već spomenuto, procesi ponavljaju na postajama P300, P600 i P1000, međutim, na različitim dubinama, što potvrđuje prisutnost vodenih vrtloga i jakih struja na području južnog Jadrana.

Usporedbom uzoraka s terena održanog 2016. godine i onog održanog 2015. vidljive su mnoge razlike. Prva uočena razlika je da je prosječna temperatura analiziranog područja niža od one zabilježene 2015. godine, dok je salinitet nešto viši. Iz sakupljenih podataka vidljivo je da je došlo do stratifikacije vodenog stupca kao i u prvom uzorkovanju P-transeкта 2015. godine. Prosječne koncentracije amonija, nitrata, silikata i dušika ove su godine bile nešto više, dok su prosječne koncentracije nitrita i fosfata bile niže nego u uzorcima prošle godine. Što se mikrofitoplanktona i nanofitoplanktona tiče, abundancije su mnogo veće nego prošlogodišnje. Kokolitoforidi i mikro i nano frakcije mnogo su brojniji ove godine. Iako brojniji nego 2015. godine kokolitoforidi mikro frakcije i dalje zauzimaju vrlo mali postotak mikrofitoplanktona, međutim kokolitoforidi nano frakcije ove su godine zauzeli čak 81,9% nanofitoplanktona. Maksimumi i mikrofitoplanktona i nanofitoplanktona nalazili su se u sloju do 200 m dubine. Kokolitoforidi mikro frakcije bili su abundantni samo na području postaja P100, P200 i P600, a kokolitoforidi nano frakcije bili su abundantni u vodenom sloju do 200 m duž svih postaja. Međutim, ako gledamo cijelo područje, glavna razlika je što 2016.

godine nije bila prisutna konvencija, tj. nije bilo procesa miješanja. Dok smo 2015. godine zabilježili primarne producente do 500 m dubine, 2016. godine je najdublje zabilježeno do 200 m. Obzirom na hidrografiju područja, baš procesi duboke konvekcije omogućuju primarnu proizvodnju te time određuju razvoj organizama na višim trofičkim razinama. Izostanak zimskog i rano proljetnog miješanja može imati katastrofične posljedice za primarne producente.

## 5. ZAKLJUČAK

Područje južnog Jadrana je oligotrofno, što potvrđuju niske koncentracije nutrijenata te visoka prozirnost. Upravo zbog oligotrofije ovo je područje značajno za istraživanje kokolitoforida jer kokolitoforidi preferiraju staništa siromašna nutrijentima. Osim niske koncentracije nutrijenata za ovo područje tipični su i snažne struje te ciklonalni vrtlozi koji su uzrok raspodjele fitoplanktona u vodenom stupcu te donosa nove biomase fitoplanktona, ali i raznih fizikalnih procesa koji utječu na fitoplankton, time na primarnu produkciju, a tako i na više trofičke razine.

Istraživanja kokolitoforida iznimno su zahtjevna zbog nedovoljnog poznavanja zajednice kokolitoforida. Mali promjer stanica, ultrastrukturalne značajke vidljive samo skenirajućim elektronskim mikroskopom te kompleksan životni ciklus problemi su prilikom determinacije i istraživanja kokolitoforida. Iako je zbog navedenih problema taksonomija kokolitoforida nedovršena i pod utjecajem konstantnih promjena u ovom istraživanju napravljena je detaljna analiza sastava kokolitoforida u južnom Jadranu prilikom koje je pronađeno 50 morfotipova, točnije 42 vrste kokolitoforida. Dominantna vrste bile su *Emiliana huxleyi*, *Syracosphaera* sp. i *Syracosphaera molischii*. Karakteristične vrste za ovo područje su *Syracosphaera pulchra*, *Syracosphaera ossa* i *Calcidiscus leptoporus*.

Bitno je reći da su istraživanja kokolitoforida rijetka, ali i nekontinuirana što je veliki problem, jer je južni Jadran, iako dobro područje za istraživanje kokolitoforida, iznimno dinamičan dio Jadrana te se zbog stalnih promjena u vodenom stupcu mijenja i raspodjela i sastav fitoplanktona pa tako i kokolitoforida što nam, ako uzorkovanja i istraživanja ne radimo često i kontinuirano, daje nejasnu i krivu sliku o ovoj iznimno zanimljivoj i neistraženoj zajednici. Međutim, ovim istraživanjem dokazano je da su kokolitoforidi dobar bio-indikator određenih vodenih masa te u budućim istraživanjima i to treba uzeti u obzir.

## 6. LITERATURA

Anderson M. J., Gorley R. N., Clarke K. R. (2008): PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E, Plymouth

Andruleit H., Stäger S., Rogalla U., Čepeck P. (2003): Living coccolithophores in the northern Arabian Sea: ecological tolerances and environmental control. *Marine Micropaleontology*, 49: 157-181

Batistić M., Jasprica N., Carić M., Čalić M., Kovačević V., Garić R., Njire J., Mikuš J., Bobanović-Čolić S. (2012): Biological evidence of a winter convection event in the South Adriatic: A phytoplankton maximum in the aphotic zone. *Elsevier, Continental Shelf Research*, 44: 57-71

Baumann K-H., Andruleit H., Boeckel B., Geisen M., Kinkel H. (2005): The significance of extant coccolithophores as indicators of ocean water masses, surface water temperature, and paleoproductivity: a review. *Paläontologische Zeitschrift*, 79: 93-112

Baumann K-H., Boeckel B. (2013): Spatial distribution of living coccolithophores in the southwestern Gulf of Mexico. *Journal of Micropalaeontology*, 32: 123-133

Brand L. E. (1984): The salinity tolerance of forty-six marine phytoplankton isolates. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 18: 543-556

Brand L. E. (1994): Physiological ecology of marine coccolithophores. U: Winter A., Siesser W. G., (ed.): *Coccolithophores*. Cambridge University Press, Cambridge, str. 39-49

Cerino F., Bernardi Aubry F., Coppola J., La Ferla R., Maimone G., Socal G., Totti C. (2012): Spatial and temporal variability of pico-, nano- and microphytoplankton in the offshore waters of the southern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). *Elsevier, Continental Shelf Research*, 44: 94-105

Christensen T. (1962): Alger. U: Bocher T. W., Lange M., Serensen T., (ed.): *Botanik*. Bind II. *Systematisk Botanik* Nr. 2., str. 178

Cros L., Estrada M. (2013): Holo-heterococcolithophore life cycles: ecological implications. *Marine Ecology Progress Series*, 492: 57-68

- Dimiza M. D., Triantaphyllou M. V., Malinverno E., Psarra S., Karatsolis B-T., Mara P., Lagaria A., Gogou A. (2016): The composition and distribution of living coccolithophores in the Aegean Sea (NE Mediterranean). *ResearchGate*, 61(6): 521-540
- Frada M., Probert I., Allen M. J., Wilson W. H., de Vargas C. (2008): The “Cheshire Cat” escape strategy of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* in response to viral infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 15944-15949
- Frada M., Percopo I., Young J. R., Zingone A., Vargas C., Probert I. (2009): First observations of heterococcolithophore–holococcolithophore life cycle combinations in the family Pontosphaeraceae (Calcihaptophycidae, Haptophyta). *Marine Micropaleontology*, 71: 20-27
- Fresnel J. (1994): A heteromorphic life cycle in two coastal coccolithophorids, *Hymenomonas lacuna* and *Hymenomonas coronata* (Prymnesiophyceae). *Canadian Journal of Botany*, 72: 1455-1462
- Fresnel J., Probert I. (2005): The ultrastructure and life cycle of the coastal coccolithophorid *Ochrosphaera neapolitana* (Prymnesiophyceae). *European Journal of Phycology*, 40: 105-122
- Fujiwara S., Tsuzuki M., Kawachi M., Minaka N., Inouye I. (2001): Molecular phylogeny of the Haptophyta based on the *rbcL* gene and sequence variation in the spacer region of the rubisco operon. *Journal of Phycology*, 37: 121-129
- Gačić M., Poulain P-M., Zore-Armanda M., Barale V. (2001): Overview. U: Cushman-Roisin B., Gačić M., Poulain P-M., Artegiani A., (ed.) *Physical oceanography of the Adriatic Sea: Past, present and future*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, str. 1–42
- Gayral P., Fresnel J. (1983): Description, sexualité et cycle de développement d’une nouvelle coccolithophoracée (Prymnesiophyceae): *Pleurochrysis pseudoroscoffensis* sp. nov. *Protistologica*. 19: 245-261
- Geisen M., Billard C., Broerse A., Cros L., Probert I., Young J. (2002): Life-cycle associations involving pairs of holococcolithophorid species: intraspecific variation or cryptic speciation?. *European Journal of Phycology*, 37: 531-550

- Gerecht A., Šupraha L., Edvardsen B., Probert I., Henderiks J. (2014): High temperature decreases the PIC/POC ratio and increases phosphorus requirements in *Coccolithus pelagicus* (Haptophyta). *Biogeosciences*, 11: 3531-3545
- Gerecht A., Šupraha L., Edvardsen B., Langer G., Henderiks J. (2015): Phosphorus availability modifies carbon production in *Coccolithus pelagicus* (Haptophyta). *Journal of Marine Biology and Ecology*, 472: 24-31
- Green J. C., Jordan R. W. (1994): Systematic history and taxonomy. U: Green J. C., Leadbeater B. S. C., (ed.): *The Haptophyte Algae*. Clarendon Press, str. 1-22
- Green J. C., Course P. A., Tarran G. A. (1996): The life-cycle of *Emiliania huxleyi*: A brief review and a study of relative ploidy levels analysed by flow cytometry. *Journal of Marine Systems*, 9: 33-44
- Haeckel E. (1889): *Naturliche Schöpfungs-Geschichte, Achte Auflage*. Georg Reimer
- Haeckel E. (1894): *Systematische Phylogenie der Protisten und Pflanzen, Erster Theil des Entwurfs einer systematischen Stammesgeschichte*. Georg Reimer, 400
- Huxley T. H. (1868): On some organisms living at great depths in the North Atlantic Ocean. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 32: 203-212
- Kamptner E. (1941): Die Coccolithineen der Südwestküste von Istrien. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 51: 54-149
- Kinkel H., Baumann K. H., Čepék M. (2000): Coccolithophores in the equatorial Atlantic Ocean: response to seasonal and Late Quaternary surface water variability. *Marine Micropaleontology*, 39: 87-112
- Korlević M., Pop Ristova P., Garić R., Amann R., Orlić S. (2015): Bacterial diversity in the South Adriatic Sea during a strong deep winter convection year. *Applied and environmental microbiology*, 81, 5: 1715-1726
- Leadbeater B. S. C. (1974): Ultrastructural observations on nanoplankton collected from the coast of Yugoslavia and the bay of Algiers. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 54: 179-196
- Lohmann H. (1902): *Die Coccolithophoridae, eine Monographie der Coccolithen bildenden Flagellaten, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis des Mittelmeeerauftriebs*. *Archiv für Protistenkunde*, 1: 89-165



- Malinverno E., Triantaphyllou M. V., Stavrakakis S., Ziveri P., Lykousis V. (2009): Seasonal and spatial variability of coccolithophore export production at the South-Western margin of Crete (Eastern Mediterranean). *Marine Micropaleontology*, 71:131-147
- Oviedo A., Ziveri P., Álvarez M., Tanhua T. (2015): Is coccolithophore distribution in the Mediterranean Sea related to seawater carbonate chemistry?. *Ocean Sci*, 11: 13-32
- Oviedo A., Langer G., Ziveri P. (2014): Effect of phosphorus limitation on coccolith morphology and element ratios in Mediterranean strains of the coccolithophore *Emiliana huxleyi*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 459: 105-113
- Parke M., Adams I. (1960): The motile (*Crystallolithus hyalinus* Gaarder & Markali) and non-motile phases in the life history of *Coccolithus pelagicus* (Wallich) Schiller. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 39: 263-274
- Paasche E. (2001): A review of the coccolithophorid *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae), with particular reference to growth, coccolith formation, and calcification-photosynthesis interactions. *Phycologia*, 40: 503-529
- Perch-Nielsen K. (1971): Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Coccolithen und verwandten Formen aus dem Eozän von Dänemark. *Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs, København*, 76
- Perty M. (1852): *Zur Kenntniss kleinster Lebensformen*. Jent & Reinart, 228
- Riđanović J., Rendulić I., Šimunović V. (1999): Hrvatski Jadran u sklopu novog teritorijalnog ustroja. *Zbornik radova 2. Hrvatske Konferencije o vodama, Dubrovnik*, str. 269-276
- Sáez A. G., Probert I., Geisen M., Quinn P., Young J. R., Medlin L. K. (2003): Pseudo-cryptic speciation in coccolithophores. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100: 7163-7168
- Schmidt O. (1870): Über Coccolithen und Rhabdolithen. *Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe, Abt. 1.*, 62: 669-682
- Schwarz E. H. L. (1894): Coccoliths. *Annals and Magazine of Natural History*, 14: 342-346

- Sieburth J. M., Smetacek V., Lenz J. (1978): Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography*, 23(6): 1256-163
- Silva P. C., Throndsen J., Eikrem W. (2007): Revisiting the nomenclature of Haptophytes. *Phycologia*, 46: 471-475
- Sournia A., Chrétiennot-Dinet M-J., Ricard M. (1991): Marine phytoplankton: how many species in the world ocean?. *Journal of Plankton Research*, 13: 1093-1099
- Šupraha L., Gerecht A., Probert I., Henderiks J. (2015): Eco-physiological adaptation shapes the response of calcifying algae to nutrient limitation. *Scientific Reports*, 5: 16499, doi: 10.1038/srep16499
- Šupraha L., Ljubešić Z., Mihanović H., Henderiks J., (2014): Observation on the life cycle and ecology of *Acanthoica quattropsina* Lohman from a Mediterranean estuary. *Journal of Nannoplankton Research*, 34(SI): 49-56
- Šupraha L., Ljubešić Z., Mihanović H., Henderiks J. (2016): Coccolithophore life-cycle dynamics in a coastal Mediterranean ecosystem: seasonality and species-specific patterns. *Journal of Plankton Research*, 38: 1178-1193
- Šupraha L. (2016): Phenotypic evolution and adaptive strategies in marine phytoplankton (Coccolithophores). *Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Tehnology 1427*, Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis, str. 54
- Tomas C. R. (1997): Identifying marine phytoplankton. Academic Press, 858
- Townsend D. W., Keller M. D., Holligan P. M., Ackleson S. G., Balch W. M. (1994): Blooms of the coccolithophore *Emiliana huxleyi* with respect to hydrography in the Gulf of Maine. *Continental Shelf Research*, 14: 979-1000
- Triantaphyllou M. V., Karatsolis B-T., Dimiza M. D., Malinverno E., Cerino F., Psarra S., Jordan R. W., Young J. R. (2015): Coccolithophore combination coccospheres from the NE Mediterranean Sea: new evidence and taxonomic revisions. *Micropaleontology*, 6: 457-472
- Tyrell T., Merico A. (2004a): *Emiliana huxleyi*: Bloom observations and the conditions that induce them. U: Theirstein H. R., Young J. R. (ed.): *Coccolithophores, from molecular processes to global impact*, str. 75-97

- Tyrell T., Merico A. (2004b): *Emiliana huxleyi*: Bloom observations and the conditions that induce them. U: Thierstein H. R., Young J. R. (ed.): Coccolithophores: from molecular processes to global impact. Springer-Verlag, str. 75-98
- Van der Wal P., Kempers R. S., Veldhuis M. J. W. (1995): Production and downward flux of organic matter and calcite in a North Sea bloom of the coccolithophore *Emiliana huxleyi*. Marine Ecology Progress Series, 126: 247-265
- Viličić D. (2003): Fitoplankton u ekološkom sustavu mora, Školska knjiga
- Viličić D. (1984): Phytoplankton communities of the south Adriatic in the greater vicinity of Dubrovnik. Acta Bot. Croat., 43: 175-180
- Viličić D., Marasović I., Mioković D. (2002): Checklist of phytoplankton in the eastern Adriatic Sea. Acta Botanica Croatica, 61: 57-91
- Viličić D., Djakovac T., Burić Z., Bosak S. (2009): Composition and annual cycle of phytoplankton assemblages in the northeastern Adriatic Sea. Botanica Marina, 52: 291-305
- Wallich G. C. (1861): Remarks on some novel phases of organic life, and on the boring powers of minute annelids, at great depths in the sea. Annals and Magazine of Natural History, 8: 52-58
- Wallich G. C. (1877): Observations on the coccosphere. Annals and Magazine of Natural History, 19: 342-350
- Winter A., Siesser W. G. (1994): Coccolithophores. Cambridge University Press, 242
- Winter A., Reiss Z., Luz B. (1979): Distribution of living coccolithophore assemblages in the Gulf of Elat ('Aqaba). Marine Micropaleontology, 4: 197-223
- Young J. R. (1994): Variation in *Emiliana huxleyi* coccolith morphology in samples from the Norwegian EHUX experiment. Sarsia, 79: 417-425
- Young J. R., Bown P.R. (1991): An ontogenetic sequence of coccoliths from the Late Jurassic Kimmeridge Clay of England. Palaeontology, 34: 843-850
- Young J. R., Westbroek P. (1991): Genotypic variation in the coccolithophorid species *Emiliana huxleyi*. Marine Micropaleontology, 18: 5-23
- Young J. R., Bown P.R. (1997): Cenozoic calcareous nannoplankton classification. Journal of Nannoplankton Research, 19: 36-47

- Young J. R., Jordan R.W., Cros L. (1998): Notes on nannoplankton systematics and life-cycles: *Ceratolithus cristatus*, *Neosphaera coccolithomorpha* and *Umbilicosphaera sibogae*. *Journal of Nannoplankton Research*, 20: 89-99
- Young J. R., Geisen M., Probert I. (2005): A review of selected aspects of coccolithophore biology with implications for paleobiodiversity estimation. *Micropaleontology*, 51: 267-288
- Young J. R., Davis S. A., Bown P. R., Mann S. (1999): Coccolith ultrastructure and biomineralisation. *Journal of Structural Biology*, 126: 195-215
- Young J. R., Didymus J. M., Brown P. R., Prins B., Mann S. (1992): Crystal assembly and phylogenetic evolution in heterococcoliths. *Nature*, 356: 516-518
- Young J. R., Geisen M., Cros L., Kleijne A., Probert I., Sprengel C., Ostergaard J. B. (2003): A guide to extant coccolithophore taxonomy. *Journal of Nannoplankton Research*, Special Issue, 1: 124

# ŽIVOTOPIS

## Mirta Vugrin

Datum i mjesto rođenja: 19.12.1992., Zagreb

Prebivalište: Augusta Šenoa 8a, 10430 Samobor

Mobitel: 095 906 6688

Mail: mirta.vugrin@gmail.com

### **Obrazovanje:**

Osnovna škola Samobor, Samobor

Gimnazija Lucijana Vranjanina, Zagreb

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilište u Zagrebu

### **Nagrade i priznanja:**

Priznanja za sudjelovanje na Noći biologije, 2013.- 2016.

Priznanje za sudjelovanje na 5. hrvatskom botaničkom kongresu u Primoštenu, 2016.

### **Udruge i organizacije:**

Član Udruge studenata biologije "BIUS" – Sekcija za sisavce, Sekcija za biologiju mora,  
Sekcija za edukaciju

Član Udruge za promicanje biologije i srodnih znanosti "Bioteka"