

Organosomatski indeksi invazivne vrste *Procambarus fallax* (Hagen, 1870) f. *virginalis* iz jezera Šoderica (Koprivnica)

Žižak, Anita

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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:217:810998>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-05**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno - matematički fakultet
Biološki odsjek

Anita Žižak

ORGANOSOMATSKI INDEKSI INVAZIVNE VRSTE
Procambarus fallax (Hagen, 1870) f. *virginalis* IZ JEZERA
ŠODERICA (KOPRIVNICA)

Diplomski rad

Zagreb, 2015.

Ovaj rad je izrađen u Laboratoriju za biologiju i ekologiju mekušaca i rakova te u laboratoriju za histologiju i histokemiju na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Ivane Maguire i neposrednim vodstvom dr. sc. Andreje Lucić. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra ekologije i zaštite prirode.

ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Ivani Maguire na svim preporukama, savjetima, ustupljenoj literaturi te vođenju ovog rada. Hvala dr. sc. Andreji Lucić što mi je omogućila i podržala moj diplomski rad te na stručnom vodstvu i pomoći tijekom rada. Zahvaljujem djelatnicima Zavoda za histologiju i histokemiju na gostoprimstvu tijekom izrade i mikroskopiranja preparata na uređajima Zavoda. Zahvaljujem i svim ostalima koji su me na bilo koji način podržali ili pomogli.

Veliko Hvala mojim roditeljima na pomoći, podršci i strpljenju. I svima ostalima koji su bili uz mene.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno - matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

ORGANOSOMATSKI INDEKSI INVAZIVNE VRSTE *Procambarus fallax* (Hagen, 1870) f. *virginalis* IZ JEZERA ŠODERICA (KOPRIVNICA)

Anita Žižak

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Strane invazivne vrste predstavljaju jedan od glavnih uzroka smanjenja biološke raznolikosti i degradacije ekosustava diljem svijeta. Jedan od glavnih čimbenika koji određuje invazivni uspjeh pojedinih vrsta je mogućnost brzog širenja areala. No, saznanja o mehanizmima i uvjetima potrebnim za brzo širenje još su uvijek nedostatna. Cilj ovog istraživanja bio je odrediti potencijalne prednosti invazivne vrste na primjeru mramornog raka iz jezera Šoderica. Navedeni cilj ostvarili smo istraživanjem potencijalnih razlika u kondiciji populacija mramornog raka s autohtonim vrstama. Laboratorijskim analizama organosomatskih indeksa (probavna žlijezda, spolna žlijezda, mišić) kondicije dokazali smo kako su ženke mramornog raka u boljoj kondiciji nego ženke autohtonih vrsta. Bolja kondicija spolnih žlijezda u ženki mramornog raka govori u prilog tezi da je reproduktivni potencijal invazivnih vrsta viši od reproduktivnog potencijala autohtonih vrsta. Razlike istraživanih kondicijskih indeksa između lipnja i srpnja nisu bile statistički značajne. Nisu uočene značajne histomorfološke razlike između jajnika uzorkovanih u lipnju i srpnju te su stoga ženke mramornih rakova sposobne ispuštati zrela jaja u oba istraživana mjeseca. Dobivene rezultate treba proširiti sveobuhvatnijim istraživanjima na većem broju ženki mramornih rakova tijekom duljeg vremenskog razdoblja.

(44 stranica, 23 slika, 7 tablica, 75 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: strane invazivne vrste, mramorni rak, kondicija, organosomatski indeksi, jajnici

Voditelj: Izv. prof. dr. Ivana Maguire

Neposredni voditelj: Dr. sc. Andreja Lucić, stručni savjetnik u znanosti i visokom obrazovanju

Ocjenitelji: Prof. dr. sc. Božena Mitić

Doc. dr. sc. Duje Lisičić

Rad prihvaćen: 5.11.2015.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Faculty of Science

Division of Biology

Graduation Thesis

ORGANOSOMATIC INDICES OF INVASIVE SPECIES *Procambarus fallax* (Hagen, 1870) f. *virginalis* FROM THE ŠODERICA LAKE (KOPRIVNICA)

Anita Žižak

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Invasive alien species are one of the main causes of biodiversity loss and degradation of ecosystem services around the world. The ability of rapid range expansion is one of the key determinants of invasive species success. However, our understanding of mechanisms and drivers of rapid range expansion is still limited. The aim of this research was to analyze the potential benefits of dispersal on fitness by using invasive marble crayfish from the Šoderica Lake. We explored this issue by analyzing potential differences between marble crayfish condition in populations with native species. Results of organosomatic condition indices analyses showed that marble crayfish females are in a better condition than the females of native crayfish species. The gonad condition was significantly higher in marble crayfish what explains its high reproductive potential compared to native crayfish species. There were no differences between condition indices between June and July. Further, there were no histomorphological differences between the two studied months, so the marble crayfish females are capable to produce mature eggs throughout a longer period compared to native crayfish species. Obtained results need to be expanded with comprehensive research on a larger number of marble crayfish females during a longer period of time.

(44 pages, 23 figures, 7 tables, 75 references, original in: hrvatski)

Thesis deposited in the Central Biological Library

Key words: invasive alien species, marble crayfish, condition, organosomatic indices, gonads

Supervisor: Dr. sc. Ivana Maguire, Assoc. Prof.

Dr. sc. Andreja Lucić, Expert Associate in Science and Higher Education

Reviewers: Dr. sc. Božena Mitić, Prof.

Dr. sc. Duje Lisičić, Asst. Prof.

Thesis accepted: 5.11.2015.

Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1. Globalne promjene u okolišu.....	1
1.2. Strane invazivne vrste i proces invazije.....	2
1.3. Invazivne strane vrste u slatkovodnim ekosustavima	3
1.4. Invazivne vrste u slatkovodnim ekosustavima	3
1.5. Deseteronožni rakovi u Hrvatskoj.....	4
1.6. Obilježja mramornog raka	4
1.7. Razmnožavanje mramornog raka-partenogeneza	6
1.8. Nepoznanice vezane za invazivni uspjeh mramornog raka (<i>Procambarus fallax</i> f. <i>virginalis</i>)	7
1.9. Probavni sustav	7
1.10. Jajnici, jajne stanice i vitelogeneza	8
1.11. Mišićni sustav	10
2. Ciljevi istraživanja	11
3. Područje istraživanja.....	12
4. Materijali i metode.....	14
4.1. Uzorkovanje jedinki.....	14
4.2. Laboratorijske analize.....	14
4.3. Žrtvovanje i histološka obrada jajnika mramornog raka	15
4.3.1. Fiksacija	16
4.3.2. Dehidriranje i uklapanje u paraplant.....	16
4.3.3. Bojanje histoloških prereza.....	17
4.3.4. Bojanje prereza hemalaun-eozinom	18
4.4. Statistička obrana podataka	18
5. Rezultati	19
5.1. Indeksi kondicije.....	19
5.1.1. Hepatosomatski indeksi.....	19
5.1.2. Gonadosomatski indeksi	20
5.1.3. Mišićni indeksi	22
5.1.4. „Crayfish Constant“ i Fultonov kondicijski indeks	24
5.1.5. Razlike u indeksima između dva mjeseca	25
5.2. Morfometrijska obilježja	28
5.3. Histološka obilježja spolnih žlijezda ženki vrste <i>Procambarus fallax</i> f. <i>virginalis</i> tijekom lipnja i srpnja	30
6. Rasprava	34
6.1. Indeksi kondicije	32
6.1.1. „Crayfish Constant“ i Fultonov indeks kondicije	35
6.1.2. Morfometrijska obilježja	36
7. Zaključci	37
8. Literatura	38
9. Životopis	44

1. UVOD

1.1. Globalne promjene u okolišu

Sve više staništa, pa tako i biocenoza, izloženo je različitim ljudskim djelovanjima. Pomiču se granice klimatskih zona, mijenjaju areali, a negativne sukcesije postaju svakodnevnica. Zbog takvog negativnog djelovanja čovjeka na prirodu nestanak pojedinih vrsta i širenje drugih vrsta teče brže no ikad. Ljudi su oduvijek uzgajali različite biljke i životinje, prvenstveno zbog prehrane, ali također i za brojne druge primjene poput liječenja, ili pomoći pri obrađivanju zemlje. Već prvim kultiviranjem biljaka i životinja započela je razmjena dobara među ljudima pa su tako neke svoje ljudskom djelatnošću povećavale svoj areal puno brže nego što bi se to odvijalo prirodnim putem. Razvojem trgovine i broskog prometa, a zatim i otkrićem novog svijeta, mnoge su vrste postale globalno raširene - kozmopolitske. Uz prenošenje ciljanih, za čovjeka korisnih svojti, zabilježeni su i slučajevi nenamjernog prenošenja mnogih drugih vrsta diljem planeta. Vrlo dobri primjeri su smeđi štakor (*Rattus norvegicus*) i istočni žohar (*Blatta orientalis*), koji su se trgovačkim brodovljem proširili u gotovo sve krajeve svijeta (Barnett, 1975; Princis, 1966). Budući da za svaku vrstu postoji određen broj i raspon ekoloških čimbenika na koje je prilagođena, što čini ekološku nišu vrste, ona na drugačije uvjete u novom staništu može reagirati na tri različita načina. Najprije, unesena ili alohtona vrsta može zauzeti slobodnu ekološku nišu te tako koegzistirati s vrstama koje su autohtone u ekosustavu. Primjerice, japanski svileni moljac (*Antheraea yamamai*) unesen je u Europu radi proizvodnje svile, kasnije je pobjegao u divljinu i zauzeo ekološku nišu koju prethodno nije zauzimala niti jedna europska vrsta te stoga nije postao prijetnja postojećem ekosustavu (Karsholt i Razowski, 1996). Ukoliko pak dolazi do preklapanja niša određene alohtone i autohtone vrste, moguća su dva ishoda: autohtona vrsta može biti biološki nadmoćnija te na taj način potisnuti alohtonu vrstu i uzrokovati njezino izumiranje ili pak obrnuto, alohtona vrsta može biti nadmoćnija te tako potisnuti autohtonu vrstu. Primjer nadmoćnije alohtone vrste je crvenouha kornjača (*Trachemys scripta elegans*), gmaz koji je vrlo popularan u teraristici i akvaristici, a lošom je brigom akvarista dospio u europska jezera te na taj način postao prijetnja autohtonim vrstama – barskoj kornjači (*Emys orbicularis*) i riječnoj kornjači (*Mauremys rivulata*) (Cadi i Joly, 2003, 2004). Ukoliko u ekosustavu dolazi do nestanka strane vrste ili zauzimanja nove ekološke niše tada neće biti štetnih posljedica za ekosustav. Ekosustav će biti narušen tek onda kada u njega dospije strana vrsta koja je nadmoćnija od autohtonih vrsta, a ukoliko ona narušava lokalnu bioraznolikost i ima negativan socio-ekonomski učinak, nazivamo je stranom invazivnom vrstom. Nakon uništavanja staništa, strane invazivne vrste smatraju se drugim vodećim čimbenikom gubitka biološke raznolikosti u svijetu (IUCN, 2012).

Kopneni ekosustavi su među najraznolikijim, ali ujedno i najosjetljivijim na svijetu, prvenstveno zbog svoje izoliranosti i ograničene veličine, što za posljedicu ima relativno slabu mogućnost rasprostranjenja vrsta koje obitavaju na takvim staništima (Dudgeon i sur., 2006). To rezultira velikim brojem endemičnih vrsta, od kojih su

mnoge specijalisti, odnosno pokazuju usku ekološku valenciju prema većem broju ekoloških čimbenika i izrazito su osjetljive na promjene u okolišu (Dudgeon i sur., 2006). U posljednjem je stoljeću ekonomski razvoj i nagli rast ljudske populacije doveo do jednako naglog povećanja potreba za ekološkim resursima koje slatkovodni ekosustavi pružaju ljudskom društvu poput vode za piće, navodnjavanja, proizvodnje električne energije ili transporta (Millennium Ecosystem Assessment, 2005). Među brojnim pritiscima koje ljudsko društvo čini na slatkovodne ekosustave upravo su onečišćenje, izgradnja brana, crpljenje vode i unos stranih invazivnih vrsta najviše doprinijeli degradaciji slatkovodnih ekosustava diljem svijeta (Dudgeon i sur., 2006; Strayer, 2006).

1.2. Strane invazivne vrste i proces invazije

Proces invazije alohtonih vrsta odvija se u nekoliko stadija. Najprije dolazi do unošenja strane vrste na novo stanište. Opstanak te vrste ovisi o tome koliko je jedinki uneseno, o njihovoj kondiciji te o samoj ekologiji vrste i prilagođenosti dotičnom staništu (Alpert i sur., 2000). Populacija se smatra zasnovanom tek kada se jedinke počnu razmnožavati, što je drugi stadij invazije. Naposljetku, zasnovana populacija se širi, a jednom kada se dovoljno proširi može postati prijetnja autohtonim populacijama. Tek kada se strana vrsta širi i ima negativan utjecaj smatramo je invazivnom vrstom. Prema Williamsonu (1996), od velikog broja unesenih stranih vrsta u prosjeku samo 10 % uspije zasnovati populaciju na novom staništu, a od svih zasnovanih populacija samo 10 % uspije povećati svoju gustoću i osvojiti novo područje u takvoj mjeri da počnu štetiti autohtonim populacijama. Negativni učinci stranih invazivnih vrsta mogu se podijeliti u tri skupine – ekološki, ekonomski i učinci na ljudsko zdravlje. Vrste s negativnim ekološkim učincima mogu biti prijetnja lokalnim vrstama i zajednicama jer kroz mehanizme kompeticije, predacije i hibridizacije s autohtonim vrstama (Perry i sur., 2001), te zbog parazitizma i indirektnog uništavanja staništa, često uzrokuju smanjenje ili nestanak populacija autohtonih vrsta te mijenjaju sastav i funkcioniranje zajednica (Baiser i Lockwood, 2011). Iako biološke invazije mogu lokalno povećati bioraznolikost, globalno gledajući one povećavaju sličnost u sastavu flore i faune među ranije vrlo različitim regijama te dovode do taksonomske, funkcionalne i genetičke homogenizacije živog svijeta na globalnoj razini (Baiser i Lockwood, 2011). Ekonomska šteta invazivnih vrsta mjeri se troškovima potrebnima za uravnoteživanje ekosustava, tj. za njegovo vraćanje izvornom sastavu i troškovima nadzora (monitoringa), istraživanja i upravljanja populacijama invazivnih vrsta. Troškovi upravljanja invazivnim vrstama u pravilu su daleko veći od prihoda koje te vrste donose društvu. Procjenjuje se da troškovi šteta koje invazivne vrste globalno uzrokuju iznose 5 % svjetskog bruto nacionalnog prihoda (Pimentel i sur., 2001), dok se u Europi ti troškovi procjenjuju na 12 milijardi eura godišnje (Keller i sur., 2011). Invazivne vrste smatraju se štetnima po ljudsko zdravlje ukoliko su prijenosnici zaraznih bolesti, kao što je to azijski tigrasti komarac (*Aedes (Stegomyia) albopictus*) – prijenosnik virusa zapadnog Nila, ili ako

izravno ugrožavaju ljudsko zdravlje, kao što je to slučaj s ambrozijom (*Ambrosia artemisiifolia*), čiji pelud uzrokuje teške alergijske reakcije i astmu.

1.3. Invazivne strane vrste u slatkovodnim ekosustavima

U posljednjih nekoliko desetljeća namjerni i slučajni unos organizama negativno je utjecao na slatkovodne ekosustave. Istraživanja pokazuju da invazivne vrste predstavljaju glavni razlog nestanka mnogih vrsta u jezerima i treći po redu razlog nestanka vrsta u rijekama (Sala i sur., 2000). Također, istraživanjima je dokazano kako je u slatkovodnim ekosustavima uspješnost invazivnih vrsta mnogo veća, a djelomičan razlog tome je stalno namjerno i/ili slučajno unošenje vrsta za potrebe trgovine mamcima, kućnim ljubimcima i hranom te unos vrsta balastnim vodama (Wright, 2007). Nadalje, u tekućicama se zbog struje vode strane vrste šire znatno brže nego u kopnenim ekosustavima, a njihovo se širenje može ubrzati i pasivnim transportom ukoliko su pričvršćene na brodove, ili foretički - ako su pričvršćene na tijela pokretnih organizama (Bilton i sur., 2001). Na kraju, jednom kada su ušle u slatkovodni ekosustav strane invazivne vrste vrlo je teško iskorijeniti, a i upravljanje njihovim populacijama teže je nego što je to slučaj u kopnenim ekosustavima (Genovesi, 2007).

1.4. Invazivne vrste slatkovodnih deseteronožnih rakova

Deseteronožni rakovi predstavljaju ključne vrste slatkovodnih ekosustava i značajnu komponentu hranidbenih mreža zbog omnivornog načina prehrane, veličine tijela koju mogu postići i dugog životnog vijeka (Usio i Townsend, 2002). Navedena obilježja uzrok su njihova značajnog utjecaja na ekosustav u kojem su prisutni te na raznolikost cijele životne zajednice. Pored toga, deseteronožni rakovi su i sami važan izvor hrane za više članove hranidbenih mreža (Garvey i sur., 1994). Deseteronožni rakovi su među najuspješnijim invazivnim vrstama slatkovodnih ekosustava. Jedna su od najčešće prenošenih skupina vodenih beskralježnjaka, prvenstveno zbog potreba akvakulture i akvaristike. Do danas su uspješno invadirali sve kontinente osim Antarktike, a u Europi svojom brojnošću dvostruko nadmašuju autohtone vrste (Holdich i sur., 2009). Invazivni deseteronožni rakovi velika su opasnost za autohtone vrste koje istiskuju putem kompeticije, jer često imaju obilježja poput bržeg rasta i ranijeg postizanja spolne zrelosti, većeg fekunditeta i agresivnosti (Souty-Grosset i sur., 2006). Osim kompeticijom, invazivne vrste rakova istiskuju autohtone vrste i prijenosom bolesti račje kuge. Račja kuga je gljivična bolest koja inficira isključivo rakove (Gherardi, 2007). U Europi, najveći broj stranih invazivnih vrsta deseteronožnih rakova potječe iz Sjeverne Amerike (Holdich i sur., 2009). Američke vrste rakova evoluirale su zajedno s uzročnikom račje kuge i razvile otpornost prema njemu, te tako postale prirodni domaćini i prijenosnici ove parazitske bolesti (Taugbøl i Johnsen, 2006). Za razliku od njih, autohtone europske vrste rakova osjetljive su na

račju kugu. Invazivni deseteronožni rakovi mogu imati znatan negativni učinak i na ostale vrste beskralježnjaka, kralježnjaka i vodenog bilja (Holdich i sur., 2009). Također, istraživanja su pokazala kako invazivne vrste rakova mogu značajno promijeniti sastav zajednica i funkcioniranje ekosustava. Primjerice, kopanjem zaklona (mehaničkim uništavanjem staništa) rakovi mogu utjecati na stabilnost obala, transport i karakteristike sedimenta, a udruženim djelovanjem bioturbacije, ekskrecije i mehaničkog uništavanja mogu značajno promijeniti kvalitetu vode u nekom području (Gherardi i Cioni, 2004). Iako su do danas korištene mnoge metode za uklanjanje deseteronožnih invazivnih rakova, među kojima i kemijske i mehaničke, još uvijek nije pronađen uspješan način kako ih ukloniti iz staništa. Pokušaji usporavanja rasta i ograničavanja širenja populacija invazivnih deseteronožnih slatkovodnih rakova također do danas nisu urodili plodom.

1.5. Deseteronožni rakovi u Hrvatskoj

Na području Hrvatske žive četiri autohtone vrste slatkovodnih desetonožnih rakova iz porodice Astacidae: riječni rak (*Astacus astacus*), uskoškari rak (*Astacus leptodactylus*), bjelonogi rak (*Austropotamobius pallipes*) i potočni rak (*Austropotamobius torrentium*), a do sada su uspostavljene populacije dviju stranih invazivnih vrsta rakova: signalnog raka (*Pacifastacus leniusculus*) i bodljibradog raka (*Orconectes limosus*). Obje invazivne vrste potječu iz Sjeverne Amerike i unesene su u Europu prije 1975. godine - signalni rak 1959., a bodljibradi rak 1890. godine (Holdich i sur., 2009). Obje su se vrste u posljednjih nekoliko desetljeća opsežno proširile po cijeloj Europi, te je signalni rak prisutan u 27 europskih zemalja, a bodljibradi rak u 21 zemlji (Holdich i sur., 2009). Nedavno je u Hrvatskoj potvrđena i treća strana invazivna vrsta raka – mramorni rak (*Procambarus fallax* f. *virginalis*).

1.6. Obilježja mramornog raka

Strana invazivna vrsta raka – mramorni rak (*Procambarus fallax* f. *virginalis*), kojoj je prirodno područje rasprostranjenosti Sjeverna Amerika, prvotno je otkrivena u Njemačkoj (Lukhaup, 2001), a nedavno je zabilježena u Hrvatskoj, u Šoderici kod Koprivnice (Samardžić i sur., 2014). Vrsta je dobila ime po karakterističnom uzorku obojenja tijela. Mramorni rak je zbog svog atraktivnog izgleda vrlo popularna akvarijska vrsta te je zbog toga unesen iz SAD-a u brojne zemlje diljem svijeta. Ljudi ga često, namjerno ili slučajno, iz kontroliranog uzgoja u akvariju puštaju u prirodna staništa gdje se brzo prilagođava i širi te predstavlja opasnost za lokalnu bioraznolikost. Ovu vrstu odlikuje rijetka sposobnost stvaranja potomaka iz neoplođenih jajnih stanica - partenogenezom. Upravo partenogeneza omogućava razvoj velikog broja potomaka ove vrste budući da je jedna ženka dovoljna za stvaranje nove populacije. Mramorni rak raste vrlo brzo (maksimalna ukupna duljina tijela je 13 cm), brzo spolno sazrijeva (već nakon 4 mjeseca života) i ima brojno

potomstvo (> 400 jaja) (Lukhaup, 2001). Prije nego što su se ovi rakovi proširili po Europi, njihova prisutnost je zabilježena na Madagaskaru (Jones i sur., 2009). Zapaženi su po upečatljivoj boji, nezahtjevnom načinu života i iznimnom načinu razmnožavanja. Ova vrsta je omnivorna, naseljava sve slatkovodne ekosustave (rijeke, jezera, bare, kanale za navodnjavanje, ribnjake) iako preferira vode stajaćice te može preživjeti u većini kopnenih voda stajaćica srednje Europe. Mramorni rak je invazivna vrsta koja predstavlja prijetnju zavičajnim vrstama rakova zbog kompeticije za hranu i stanište, ali i kao potencijalni prenositelj račje kuge koja je jedna od glavnih uzroka izumiranja zavičajnih rakova diljem Europe, a na koju su američke vrste otporne (Scholtz i sur., 2003). U Europi je do sada zabilježeno 15 populacija mramornog raka u prirodi. Većina ih je zabilježena nakon 2005. g., a neke su otkrivene tek nedavno. Od njih je većina zabilježena u Njemačkoj, te po jedna u Nizozemskoj, Italiji i Slovačkoj. Činjenica da su genetički identični rakovi (klonovi) relativno rijetki, priskrbila je mramornom raku veliku „popularnost“ u istraživačkim laboratorijima. Prva molekularna istraživanja su pokazala da ovi rakovi zaista proizvode genetički uniformirane klonove (Scholtz i sur., 2003). Mramorni rak pripada skupini rakova srednje veličine i nepoznatog je filogenetskog podrijetla (Scholtz i sur., 2003).

Kako bismo razumjeli i predvidjeli invazivni uspjeh neke vrste, potrebno je poznavati njezin životni ciklus (Scholtz i sur., 2003). Mramornim rakovima najbliži je rođak *Procambarus fallax*, koji je rasprostranjen u potocima i rijekama Sjeverne Amerike (Južna Georgija i Florida) te je stoga razumno pretpostaviti da je mramorni rak također podrijetlom iz Sjeverne Amerike. *Procambarus fallax* tijekom sušnih razdoblja može živjeti i u vlažnom tlu. Također, odgovaraju im više temperature okoliša, iako mogu preživjeti i hladnija razdoblja kad im je aktivnost smanjena. Premda je filogenetski položaj i status mramornog raka neriješen, na temelju sličnosti s vrstom *Procambarus fallax* svrstan je u rod *Procambarus* te je predloženo da se mramornog raka smatra partenogenetskim oblikom vrste *Procambarus fallax* te je imenovan *Procambarus fallax* f. *virginalis* (Martin i sur., 2010). Daljnja istraživanja su pokazala da im je za razmnožavanje, s obzirom da ženka ne treba partnera za stvaranje potomaka, ograničavajući čimbenik odgovarajuća temperatura. Srodna vrsta *Procambarus clarkii* također je smatrana toplovođnom vrstom, ali je nedavno dokazano da populacije mogu živjeti i u hladnijim klimatskim uvjetima (Bohl i sur., 1989). Za optimalni rast, razvoj i reprodukciju mramorni rakovi trebaju temperaturu između 20-25 °C što je značajno više od temperatura u većini europskih vodenih ekosustava, no takvi ekološki uvjeti se ipak nalaze u manjim/plićim staništima koji su se pokazala idealnim za ovu vrstu (Martin i sur., 2010). Suprotno zaključcima istraživanja Martin i sur. (2010), Vogt (2010) je na temelju molekularnih istraživanja pretpostavio da je mramorni rak vjerojatno vrsta *Procambarus alleni*, ali te analize nisu uključivale vrstu *Procambarus fallax*. Sva molekularna istraživanja koja su uslijedila ukazuju da mramorni rakovi ipak potječu od populacije vrste *Procambarus fallax* što potiče pitanje da li bi ih trebalo smatrati novom vrstom, podvrstom ili samo oblikom vrste *Procambarus fallax*.

Najnovijim istraživanjima (Pennisi, 2015) utvrđeno je da ovi klonovi predstavljaju novu vrstu, pri čemu je svaka jedinka genetski identična. Klonovi poznati kao mramorni rakovi zbog izgleda su slični vrsti *Procambarus fallax*, osim što imaju tri seta kromosoma umjesto tipična dva. Klonovi sadrže dovoljne genetičke razlike kako bi opravdali određivanje odvojene vrste. Nove vrste obično nastaju postupno tijekom dugog vremenskog razdoblja, ali genetička istraživanja pokazuju da je u ovom slučaju specijacija gotovo trenutna. Ovo je poznato samo u biljkama, a vrlo je rijetka pojava u životinjskom svijetu. Mramorni rak je samo jedan od 14.000 rakova s mogućnošću kloniranja. Postoje razlike u kemijskim modifikacijama DNA tih dviju vrsta. Istraživači su sada zbog detaljnije analize tih tzv. epigenetskih razlika predložili novu vrstu *Procambarus virginalis* - oblik roda *Procambarus* (Pennisi, 2015).



Slika 1. Mramorni rak, *Procambarus fallax* f. *virginalis* (preuzeto s <http://www.cabi.org/isc/datasheet/110477>)

1.7. Razmnožavanje mramornog raka – partenogeneza

Mramorni rakovi su isključivo ženke. Mužjaci nikada nisu pronađeni. Mramorni se rak reproducira apomiktičnom partenogenezom, što je razvoj jajnih stanica bez fertilizacije i mejoze (Scholtz i sur., 2003; Vogt i sur., 2004; Martin i sur., 2007). Tijekom svog života, mogu dovršiti do sedam reprodukcijских ciklusa (Vogt, 2010). Maksimalni, do sada utvrđeni broj juvenilnih jedinki po ženki jest 427. Baš kao i drugi slatkovodni rakovi, mramorni rakovi se razvijaju isključivo unutar jajašaca koja su pričvršćena za začane noge, pleopode. Embriogeneza traje između 17 i 28 dana, ovisno o temperaturi (Pawlos i sur., 2010) i obilježava je kratak razvoj zametka. Prvi dijelovi, koji čine moždano područje kasnijeg tijela, nastaju gotovo simultano. Svi se ostali dijelovi zatim razvijaju aktivnošću vanjskih i srednjih slojeva, koji se nalaze unutar preklapljenih prstenova u kaudalnoj papili embrija (Seitz i sur., 2005; Alwes i Scholtz, 2006). U prve dvije faze postembrionalnog razvoja mladi nisu potpuno razvijeni, ostaju pričvršćeni za majčine pleopode i tijekom tog razvoja se ne hrane, već žive od zaliha iz žumanjčane vreće (Vogt i Tolley, 2004). Tijekom treće faze razvoja u

potpunosti se razvijaju i presvuku u odraslu jedinku. Postaju nezavisni i počinju se samostalno hraniti, ali se povremeno vraćaju u majčin pleon. Ove tri faze razvoja mladih rakova zatim su popraćene s daljnjih 12 stadija razvitka i do 10 odraslih faza (Vogt, 2010). Odrasle jedinke karakterizira spolna zrelost i sposobnost reprodukcije. Juvenilni rakovi su nakon izlijeganja za „majku“ pričvršćeni pomoću tzv. telsonove niti koja sprječava da ih vodena struja odnese (Vogt i Tolley, 2004). Ova struktura nastaje iz izlučevina i unutarnjeg sloja ljuske jajeta te omogućava nepokretnim mladuncima da ostanu povezani s majkom pomoću ljuske jajeta koja je ujedno čvrsto povezana s majčinim pleopodama pomoću osnove jajeta (Vogt, 2008b). Juvenilni rakovi ubrzo postaju aktivni i drže se kliještima za pleopodne strukture majke. Ovakav oblik brige za potomstvo jedinstveno je u životinjskom svijetu i riječ je o samoapomorfiji slatkovodnih rakova (Scholtz, 2002). Također, uz telsonovu nit, juvenilni rakovi posjeduju i analnu nit, koja osigurava sigurno presvlačenje juvenilnih rakova iz faze 1 u fazu 2 (Vogt, 2008b). Ova nit potječe od odgođenog presvlačenja stražnjeg crijeva.

1.8. Nepoznanice vezane uz invazivni uspjeh mramornog raka (*Procambarus fallax f. virginalis*)

Usprkos velikom invazivnom uspjehu stranih slatkovodnih deseteronožnih rakova, malo podataka je dostupno o čimbenicima koji omogućuju invazivni uspjeh ovih vrsta u različitim stadijima invazije. To se ponajviše odnosi na stadije koji neposredno prethode ili se događaju istovremeno s negativnim učincima invazivne vrste.

Zbog neistraženosti i nepoznavanja ove invazivne vrste raka još uvijek nisu dobro razjašnjeni mehanizmi zaslužni za brzo širenje mramornog raka. Zbog ključne uloge rakova u slatkovodnim ekosustavima i velikom invazivnom uspjehu stranih vrsta, invazivne strane vrste deseteronožnih rakova predstavljaju dobar modelni organizam u eksperimentalnom i terenskom istraživanju mehanizama širenja invazivnih vrsta.

1.9. Probavni sustav

Probavni sustav ima ulogu uzimanja hrane, mehaničkog usitnjavanja, kemijske i biokemijske razgradnje, stanične apsorpcije i uklanjanja ekskreta. Probavni sustav odraslih deseteronožaca podijeljen je na tri glavna dijela:

a) Prednje crijevo (*stomodeum*) koje uključuje usta, jednjak i želudac. Probavilo rakova počinje ustima s donje strane glave i proteže se duž tijela do crijevnog otvora na telsonu. Gornje čeljusti su čvrste i služe za drobljenje i grizenje, a donje su slabije i služe za pridržavanje pri čemu se pomažu i s prednjim parovima prsnih nogu. Želudac zauzima prostor prednjeg dijela glavopršnjaka. Prednje crijevo

seže sve do kraja želuca. Stražnji dio kardijačnog prostora zajedno sa dijelom piloričkog čini mišićno-hitinozno područje koje se naziva i želučani mlin ili *proventriculus*. Stjenka ovog dijela želuca ojačana je čvrstim kalcificiranim dijelovima kutikule koji služi za mljevenje hrane. U želučanom mlinu hrana se miješa s probavnim sokom koji je smeđe boje. Djelovanjem enzima bjelančevine, ugljikohidrati i masti razgrade s na svoje sastavne dijelove.

b) Srednje crijevo (*mesenteron*) koje uključuje srednje crijevo, slijepo crijevo i probavnu žlijezdu (hepatopankreas). Samo najfinije čestice hrane ulaze u srednje crijevo gdje se odvija biokemijska probava hrane pomoću enzima koji se proizvode u stanicama kanalića probavne žlijezde. Oblaže ih jednoslojni cilindrični epitel. Probavna žlijezda je parna i zauzima velik dio volumena glavopršnjaka. Glavni kanal žlijezde grana se na sekundarne i tercijarne kanaliće koji slijepo završavaju. Boja probavne žlijezde može biti crvena, smeđa, zelena, žuta, plava ili kestenjasta i ovisi o količini i vrsti pohranjene hranjive tvari (Gibson i Barker, 1979). Njena masa iznosi 2-6 % ukupne tjelesne mase, a ovisi o količini pohranjenih hranjivih tvari i stupnju presvlačenja (Martin, 1973). Uloga probavne žlijezde je raznovrsna: apsorpcija hranjivih tvari, sekrecija enzima, osmoregulacija, detoksikacija, pohrana hranjivih tvari (Vonk, 1960).

c) Stražnje crijevo (*proktodeum*) koje uključuje rektum i anus. Završni dio probavila naziva se stražnje crijevo, duže je od srednjeg i ektodermalnog je podrijetla. Grube čestice i neprobavljene tvari usmjeravaju se prema njemu. Obložen je jednoslojnim cilindričnim epitelom i hitinskom kutikulom te slojem prstenastih i uzdužnih mišića izvana.

1.10. Jajnici, jajne stanice i vitelogeneza

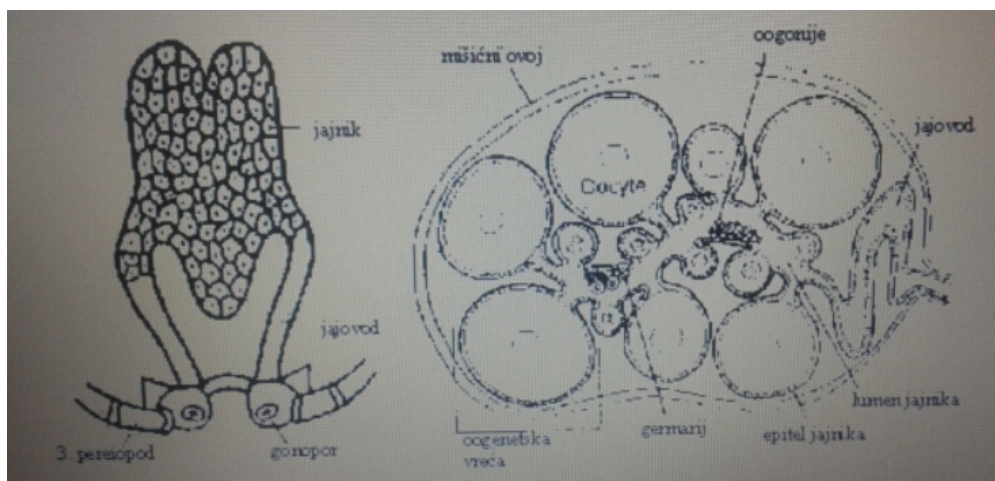
Jajnici su sastavljeni od tri režnja (dva anteriorna i jedan posteriorni) koji su obavijeni tankom mišićnom stjenkom. Po jedan ravan jajovod izlazi sa svake strane jajnika i otvara se na gonoporu u bazi trećeg para pereopodija (Slika 2).

Režnjevi jajnika građeni su od epitela koji je višestruko uvijen i stvara oogenetske vreće. Svaka vreća sadrži po jedno jaje. U središnjem dijelu režnjeva nalazi se germarij u kojem se tijekom reproduktivnog života mitotičkim dijeljenjem stvaraju oogonije. U germariju se uz oogonije nalaze previtelogene oocite i somatske intersticijske stanice (Kroll i sur., 1992). Previtelogene oocite razvijaju se iz oogonija, napuštaju germarij, migriraju lumenom jajnika i uzrokuju stvaranje nove oogenetske vreće iz epitela jajnika. Potom, u većine desetonožnih rakova započinje mejoza koja završava tek nakon ovulacije, ali ne i u mramornog raka gdje mejoza izostaje (Ando i Makioka, 1999). Utvrđeno je da hormoni presvlačenja (ekdisteroide) vežući se uz prekursore vitelogenina također reguliraju sazrijevanje oocita (Subramoniam, 2000). Epitel oko razvijenih jaja podsjeća na spljoštenu folikularni epitel jajnika kralježnjaka. Oocite rastu zbog pohranjivanja lipidnih čestica i rezerva proteina, a njihov razvoj

može se podijeliti u dvije faze: primarna i sekundarna vitelogeneza. Abdu i sur. (2000) razlikuju pet faza primarne i tri faze sekundarne vitalogeneze. U kasnim fazama primarne vitalogeneze pohranjuju se lipidne kapljice i sintetiziraju glikoproteini male molekularne mase (65-95 kDa). Tijekom sekundarne vitelogeneze odvija se sinkroni rast grupe oocita, akumulacija žumanjka i sinteza žumanjčanih proteina (vitelina) većih molekularnih masa (106-177 kDa). Proteini žumanjka se proizvode u oocitima u razdoblju od primarne vitalogeneze do ovulacije. Tijekom sekundarne vitelogeneze dobar dio previtelogenih prekursora unosi se iz hemolimfe. To je utvrdio Quackenbush (1989) koji je tijekom sazrijevanja jajnika u hemolimfi izmjerio 1 mg vitelogenina/mg hemolimfe. Istovremeno je utvrdio da 1 % ukupne mase probavne žlijezde otpada na proteine žumanjka što ukazuje na njihovu sintezu u žlijezdi. Nakon sinteze u probavnoj žlijezdi vitelogenini se hemolimfom transportiraju do jajnika, transcitozom prelaze barijere epitelnih stanica koje okružuju oocite, a potom se pinocitozom asorbiraju u oocite (Vogt, 2002). Vitelogenin pripada skupini karoteno-lipoproteina (Tsangi sur., 2003).

Reproduktivne faze mramornog raka do sada su istraživane različitim metodama, pri čemu je korišten veliki broj uzoraka te različite uzrasne strukture (juvenilni i odrasli) (Vogt i sur., 2004). Također, prikupljeni su podaci o njihovim glavnim životnim fazama (Vogt i sur., 2004). Rezultati istraživanja vanjskih spolnih obilježja pokazuju da su mramorni rakovi isključivo ženke, što ovu vrstu koja se brzo reproducira čini izvrsnim modelom za proučavanje ženskih reproduktivnih obilježja. Tkiva testisa, ovotestisi, muški gonodukti, gonospore ili gonopode nisu nikada pronađene, niti kod mladih, niti kod odraslih jedinki, što potvrđuje partenogenetsku prirodu ovoga raka (Vogt i sur., 2004). Vanjska spolna obilježja mramornog raka pronađena su u fazi 4 juvenilnih rakova, a njihova potpuna tjelesna izgrađenost je zabilježena otprilike dva mjeseca nakon izlijeganja (jedinke duge 2 cm) (Vogt i sur., 2004). U istoj životnoj fazi jajnik je također potpuno izmijenjen. Struktura zrelog jajnika te istovremeno sazrijevanje kohorti primarnih vitelogenih jajnih stanica te napredovanje prema sekundarnoj vitelogenezi odgovara obilježjima jajnika biseksualnih rakova.

Istraživanjem jezgri oocita u germariju i oogenetskih vreća nisu utvrđeni znakovi mejoze koja je uobičajena u ženki gonohorističkih deseteronožaca, a to upućuje na činjenicu da bi partenogeneza kod mramornih rakova mogla biti apomiktična telitokija (kada se iz neoplođenih jajašaca razvijaju samo ženke) (Vogt i sur., 2004).



Slika 2. Građa ženskog reproduktivnog sustava (preuzeto iz Holdich, 2002)

1.11. Mišićni sustav

Svi mišići u rakova su poprečno prugasti te su građeni od mišićnih vlakana. Učvršćeni su uz unutrašnju površinu egzoskeleta i endofragmalni unutrašnji skelet ili za njihove hitinozne tetive (apodeme). Glavni mišić, poznat po nazivu „meso repa“, smješten je u zatku. Građom su mišići rakova slični mišićima kralježnjaka, ali se razlikuju načinom inervacije (Atwood i Nguyen, 1995; Adelsberger i Dudel, 1996). Mišići su građeni od dva tipa vlakana: vlakana s dugim i vlakana s kratkim sarkomerama (Vogt, 2002). Presvlačenje (ekdisis) iziskuje prilagodbu mišićnog sustava. Prije presvlačenja potrebno je smanjiti mišićnu masu kliješta kako bi se ona uspješno provukla kroz uzak prolaz tijekom presvlačenja, a nakon presvlačenja potrebno se produljenjem mišićnih vlakana prilagoditi većem obujmu tijela (Vogt, 2002). Rast rakova odvija se skokovito i prati se porastom dužine glavopršnjaka (karapaksa) i povećanjem mase. Razlike u prehrani, temperaturi, svjetlosti, starosti, čimbenicima okoliša, a moguće i genetici, pridonose razlikama u učestalosti presvlačenja i brzini rasta. Nakon presvlačenja oklopi su mekani, rakovi teško hodaju i nesposobni su jesti. Najprije očvršne gornja čeljust i kliješta. Za to se vrijeme mineralne zalihe brzo troše. Presvlačenjem upravljaju neurohormoni.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Postoji široki spektar morfoloških, biokemijskih i fizioloških pokazatelja koji služe za procjenu zdravstvenog i energetskeg statusa životinja. Ti pokazatelji su korisni u proučavanju životnih ciklusa, ekologije i u upravljanju različitim životinjskim vrstama. Jedna od metoda utvrđivanja zalihe energije su kondicijski organosomatski indeksi koji indirektno ukazuju na energetske status pojedinih organa životinje koji su ključni u aktivnostima koje zahtijevaju puno „trošenja“ (kao što su npr. razmnožavanje ili preživljavanje razdoblja minimalnog hranjenja – zima). Za životinju koja je u dobroj kondiciji smatra se da ima više energetskeg zaliha nego životinja koja je u lošijoj kondiciji. Primjerice, jedinke s većim energetskeg zalihama imaju veću izdržljivost i veću stopu preživljavanja od jedinki s manjim energetskeg zalihama (Millar i Hickling, 1990). Uvjeti koji pozitivno utječu na kondiciju životinja mogu ubrzati rast populacije (Burton i sur., 2010; Phillips i sur., 2010), ubrzati stopu rasta jedinki (Gutowsky i Fox, 2012) ili povećati njihov reproduktivni uspjeh (Bøhn i sur., 2004; Lopez i sur., 2012). Kondicijski organosomatski indeksi posredno ukazuju i na kvalitetu staništa te na potencijalni reproduktivni ishod vrste, što pomaže u upravljanju i procjenama vezanim uz zaštitu i očuvanje vrste. S obzirom da je probavna žlijezda glavni organ za pohranu energije kod rakova (Lucić i sur., 2012) udio mase probavne žlijezde u ukupnoj masi tijela, ali i udio mase jajnika i mišića zatka, kao i udio vlage u tim organima upotrebljavaju se kao pokazatelji kondicije u rakova (Mannonen i sur., 1995; Jussila i Mannonen, 1997; Tsvetnenko i sur., 1995). Utvrđivanje organosomatskeg indeksa rakova može poslužiti kao pokazatelj promjena i stresa u okolišu, te pri procjeni nutritivnog statusa i energetskeg zaliha rakova (Mannonen i Henntonen, 1995). Sam reproduktivni ciklus rakova, kao i promjene koje se dešavaju u spolnim žlijezdama, moguće je pratiti i opisati metodologijom klasične deskriptivne histologije.

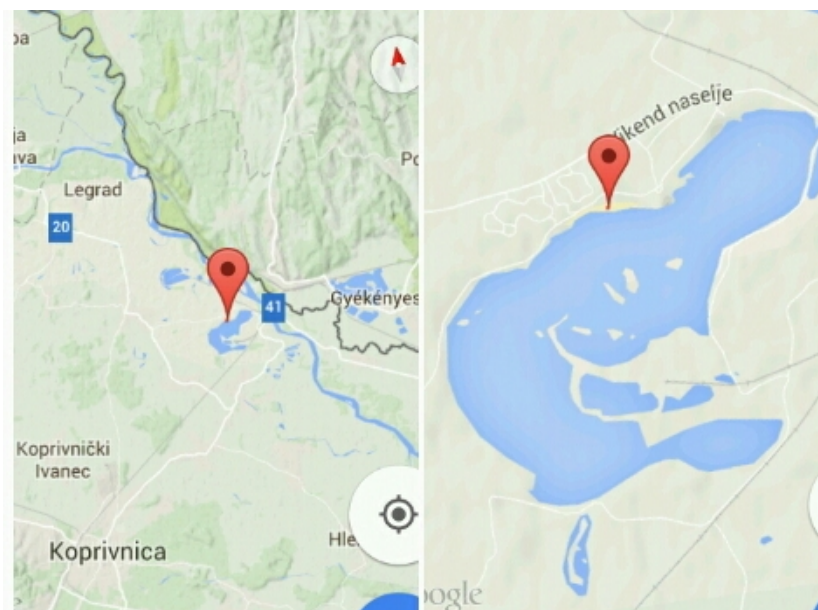
Ciljevi istraživanja bili su:

- utvrditi kondiciju i energetske status ženki mramornih rakova pomoću organosomatskeg indeksa tijekom ljetnih mjeseci kada su uvjeti za razmnožavanje najpovoljniji
- utvrditi kondiciju životinja pomoću „Crayfish Constant“ i Fultonova indeksa te njihovu korelaciju s organosomatskeg indeksima
- klasičnim histološkim tehnikama opisati promjene u jajniku tijekom ljetnih mjeseci i utvrditi njihovu korelaciju s gonadosomatskeg indeksom

3. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA

Jezero Šoderica udaljeno je od dravske obale oko 400-500 m. Smješteno je na prvoj dravskoj terasi i raspolaže sa šljunčanim slojem debljine oko 15 m. To je umjetno jezero nastalo ljudskom djelatnošću tijekom iskorištavanja prirodnih mineralnih sirovina šljunka i pijeska. Iskop šljunka ne utječe na razinu podzemnih voda kao niti na razinu vode u jezeru. Šodericu prihranjuje rijeka Drava, a tijek podzemnih voda u tom značajnom šljunčanom kolektoru paralelan je tijeku rijeke Drave. Vodostaji Šoderice korespondiraju s vodostajima Drave. Usporedno s oblikovanjem umjetnog jezera, od 20-tih godina, a naročito od 1960-ih godina počinje se širiti turistička aktivnost, koja danas stagnira. Najznačajnija je na najstarijem sjevernom dijelu jezera, a na približno 1500 m sjeverne obale jezera uređena je plaža. Obalni pojas je osrednje razvedenosti i nasut šljunkom. U zaleđu je smješteno vikend naselje od približno 400 objekata, nekoliko ugostiteljskih objekata, neophodne prometnice, nasadi zelenila (prevladava visoko raslinje) i zimzeleni šumarak. Uz ostale obalne površine jezera postoje poljoprivredna zemljišta, oranice i livade. Šodericu s istočne i sjeveroistočne strane ograničava asfaltirana prometnica i odvojak željezničke pruge (industrijski kolosijek). S južne i jugozapadne strane granica joj je u blizini željezničke pruge Koprivnica-Budimpešta. Nadmorska visina se kreće između 127,8 i 129,6 m. Voda je procjedom putem, filtrirajućim procesima zavisnim od režima rijeke Drave, ispunila jezersku depresiju prigodom vađenja šljunka. Izuzetne je čistoće i bistrine s malo suspendiranih čestica i velike providnosti. No, kvaliteta vode je narušena štetnim sastojcima ili nekim prirodnim primjesama u većim količinama. Prosječna dubina najstarijeg sjevernog dijela jezera, je oko 8 m, premda je veći dio središnjeg dijela jezera plićak s dubinama vode koje se kreću od 0,5 do 1 ili 2 m. Plitko područje se nalazi i na krajnjem sjeveroistočnom dijelu gdje u vrijeme vegetacije slobodne vode nema. U sjevernom dijelu oblikovano je nekoliko manjih ili većih otoka koji su obrasli autohtonom šikarom i šumskom vegetacijom. Dubina vode u južnom dijelu je znatno veća i mjestimično se kreće do 20 m. Površina jezera je oko 150 hektara, čime se već danas ubraja u najveće umjetno nastale vode stvorene iskopom mineralnih sirovina.

(Preuzeto s <https://hr.wikipedia.org/wiki/%C5%A0oderica>)



Slika 3. Karta jezera Šoderica i postaja s koje su uzorkovane jedinke mramornih rakova (GPS koordinate: N 46°14'40,3" E 16°55'23,4")

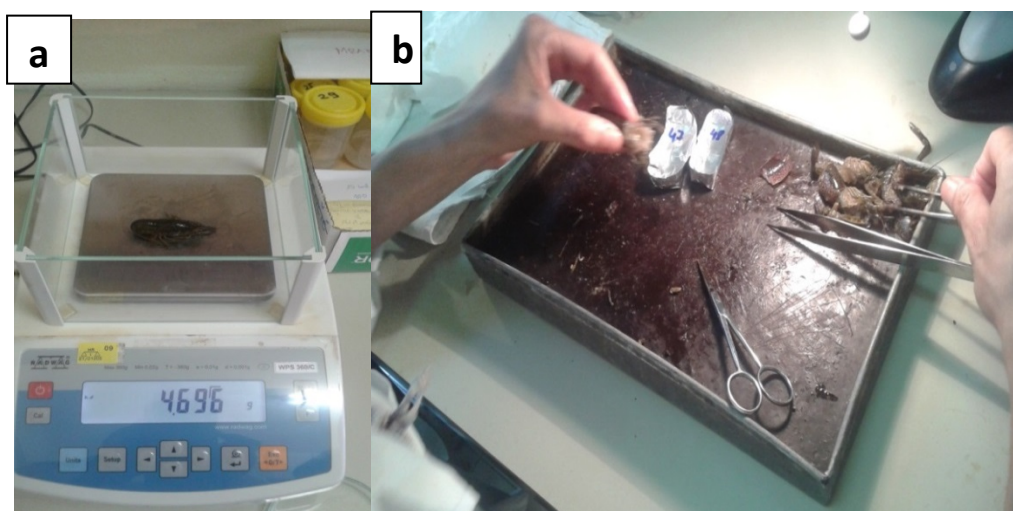
4. MATERIJALI I METODE

4.1. Uzorkovanje jedinki

Mramorni rakovi su na jezeru Šoderica lovljeni ručno u večernjim satima tijekom lipnja i srpnja 2015. g. izabrana postaja obuhvatila je cijelo poznato područje rasprostranjenosti mramornog raka u jezeru Šoderica. Na izabranim postajama ulovljeno je 10 ženki s vanjskim jajima i 46 ženki s unutarnjim jajima. Potom su rakovi dopremljeni na Zoologijski zavod Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu za potrebe provedbe laboratorijskih istraživanja.

4.2. Laboratorijske analize

Rakovi su u laboratoriju pothlađeni na način da su ostavljeni u ledenici na temperaturi od cca 20 °C tijekom 15 min kako bi unutarnji organi zadržali određenu razinu konzistencije koja omogućava uspješno izdvajanje organa i provođenje potrebnih analiza. Zatim su sve jedinke izvagane digitalnom vagom (ukupna mokra tjelesna masa) te su digitalnom pomičnom mjerkom izmjereni određeni morfometrijski parametri (ukupna dužina tijela, dužina i širina karapaksa) potrebni za izračunavanje „Crayfish Constant“ i Fultonova indeksa kondicije. Nakon toga je svaka jedinka secirana pri čemu su u prethodno označene i izvagane aluminijske ladice zasebno izdvojene: probavna žlijezda (hepatopankreas), spolne žlijezde (jajnici) te začani (abdominalni) mišić. Svaka ladica s organom je potom izvagana, prenesena u termostat na 80 °C i ostavljena na sušenju tijekom naredna 24 sata. Nakon sušenja ladice s organima su izvađene iz termostata i ponovno izvagane kako bi se utvrdila suha masa pojedinog organa. Dobiveni podaci uvršteni su u formulu za izračunavanje mokrih i suhih organosomatskih indeksa te udjela vlage u organu uz pomoću EXCEL programa.



Slika 4. Vaganje raka na analitičkoj vagi uz preciznost od 0.001g (a); mjerenje i sekcija raka (b)

Dobiveni podaci uvršteni su u formulu za izračun indeksa kondicije životinja.

Za sve organe:

$$a) \quad O_{i_{\text{wet}}} = W_{\text{wo}} \times 100 / W_t$$

gdje je $O_{i_{\text{wet}}}$ = mokri indeks organa; W_{wo} = mokra masa organa (g); W_t = ukupna masa raka (g)

$$b) \quad O_{i_{\text{dry}}} = W^{\text{dh}} \times 100 / W_t$$

gdje je $O_{i_{\text{dry}}}$ = suhi indeks organa; W^{dh} = suha masa organa (g); W_t = ukupna masa raka (g)

$$c) \quad OM = (W_{\text{wo}} - W^{\text{dh}}) \times 100 / W_{\text{wo}}$$

gdje je OM = organosomatski indeks; W_{wo} = mokra masa organa (g); W^{dh} = suha masa organa (g) (Jussila, 1997).

Dobivene vrijednosti vlažnosti organa obrnuto su proporcionalne njihovom energetske statusu – odnosno manje vrijednosti indeksa vlažnosti ukazuju na bolji energetski status organa (Lucić i sur., 2012). Kako se smatra da indeksi vlažnosti organa najtočnije ukazuju na energetske zalihe životinja, tj. njihov energetski status (Lucić i sur., 2012), indeksi vlažnosti probavne žlijezde, spolne žlijezde i abdominalnog mišića (HM, GM i MM) korišteni su u procjeni i usporedbi kondicije rakova.

Uz navedene organosomatske indekse izračunata su i dva morfometrijska indeksa kondicije rakova (prema Streissl i Hödl, 2002):

Fultonov kondicijski faktor prema jednadžbi:

$$FCF = W / TL^3$$

gdje je FCF = Fultonov kondicijski faktor (g mm^{-3}); W = masa raka (g); TL = ukupna duljina raka (mm) mjerena od rostruma do vrha telzona.

Konstanta dekapodnog raka (engl. Crayfish Constant) prema jednadžbi:

$$CC = W / (TL \times CL \times CW)$$

gdje je CC = konstanta dekapodnog raka (g mm^{-3}); W = masa raka (g); TL = ukupna duljina raka (mm); CL = duljina karapaksa (mm); CW = širina karapaksa (mm).

4.3. Žrtvovanje i histološka obrada jajnika mramornog raka

Za histološke analize tijekom sekcije rakova izdvojen je cijeli jajnik, a potom je otprilike pola organa stavljeno u Bouinov fiksativ.

4.3.1. Fiksacija

Kako bi se što bolje sačuvala morfologija tkiva i molekularni sastav jajnika, uzorci tkiva se odmah nakon izolacije prenose u fiksativ. Za fiksaciju je korišten Bouinov fiksativ koji je pripremljen na sljedeći način:

- 30 ml zasićene otopine pikrinske kiseline pomiješano je s
- 10 ml 40 %-tnog formaldehida i
- 2 ml koncentrirane octene kiseline

Fiksacija tkiva trajala je najmanje 24 sata i odvijala se na sobnoj temperaturi.

Nakon fiksacije, tkiva se postupno provode kroz niz rastućih koncentracija alkohola etanola radi uklanjanja vode (dehidracije).

4.3.2. Dehidriranje i uklapanje u paraplast

Nakon fiksacije tkiva su stavljena u niz rastućih koncentracija alkohola etanola radi uklanjanja vode:

- 70 %-tni etanol ----- 2 dana
(nakon toga tkiva su stavljena sat vremena u novi 70 %-tni etanol)
- 80 %-tni etanol ----- 1 sat
- 96 %-tni etanol ----- 1 sat
- 100 %-tni etanol ----- 2 puta po 1 sat

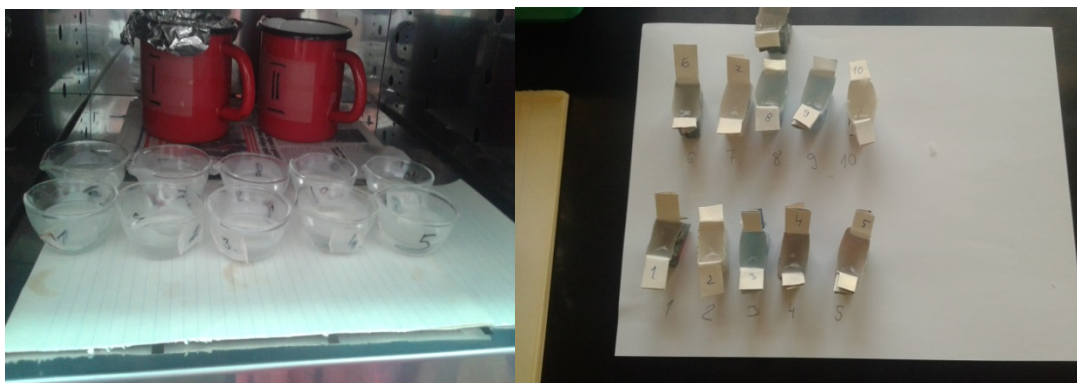
Kako paraplast u koji se uklapa tkivo nije topiv u etanolu u postupak uklopa umeće se i faza prožimanja tkiva s kloroformom. Kloroform istiskuje etanol iz tkiva i čini tkivo staklastim, prozirnim (Švob, 1974). Tkivo jajnika ostavlja se u kloroformu preko noći. Nakon "prosvjetljavanja" tkiva slijedi postupno uklapanje tkiva u paraplast (Sigma P-3683). Paraplast je sredstvo za uklapanje sastavljeno od parafina (mješavina ugljikovodika) i plastičnih materijala, a služi za podržavanje tkiva tijekom rezanja. Paraplast se dan prije uklopa stavlja u termostat na taljenje na temperaturu 60 °C. Sljedećeg dana nastavlja se uklapanje, a svi postupci odvijaju se u termostatu na temperaturi 60 °C što je moguće brže zbog hlađenja paraplasta. Pod utjecajem topline kloroform ispari, a otopljeni paraplast ispuni sve stanične i međustanične prostore tkiva.

Postupak uklapanja izvodi se postupnim prebacivanjem tkiva iz posuda s većim udjelom kloroforma u paraplastu u posude s manjim udjelom kloroforma u paraplastu da bi završio uklopom u čisti paraplast.

Priprema:

- kloroform – paraplast, omjer 1:1 ----- 30-60 minuta
- paraplast I ----- 30-60 minuta
- paraplast II ----- 30-60 minuta
- uklop u čisti paraplast

Na dno prethodno pripremljenih kalupa od papira, tzv. "lađica", stavlja se komadić jajnika koji se zalije paraplastom. Potom se lađice izvade van na sobnu temperaturu i označe se protokolskim brojem. Blokovi se hlade 24 sata na sobnoj temperaturi. Stvrdnuti blokovi se obrezuju i lijepe na nosač koji se učvrsti na mikrotom. Zatim se mikrotomom režu rezovi debljine 6-7 μm . Rezovi se prenose u parnu kupelj na "peglanje", a potom se lijepe na predmetnice prethodno premazane glicerom bjelanjkom. Tako izrađeni histološki preparati se suše na sobnoj temperaturi.



Slika 5. Uklapanje u paraplast

4.3.3. Bojanje histoloških prereza

Kako bi histološke preparate mogli promatrati svjetlosnim mikroskopom potrebno ih je obojiti odgovarajućom bojom koja će selektivno istaknuti pojedine sastojke tkiva. Prije bojanja iz rezova treba ukloniti paraplast postupkom deparafiniranja. Preparati se deparafiniraju, rehidriraju i boje u posebnim posudama s utorima koji omogućavaju uranjanje predmetnica s prerezima u različite otopine.

Postupak deparafiniranja:

- ksilol ----- 2 x 15 minuta
- 100 %-tni alkohol ----- 5 minuta
- 96 %-tni alkohol ----- 5 minuta
- 80 %-tni alkohol ----- 5 minuta
- 70 %-tni alkohol ----- 5 minuta
- destilirana voda ----- 2 x 5 minuta

4.3.4. Bojanje prereza hemalaun – eozinom

Hemalaun-eozin je polikromatska boja, mješavina bazične boje hemalaun (Mayerova otopina) i kiselog eozina.

Priprema boje 0.1 %-tni eozin:

0.1 g boje u prahu otopi se u 100 ml 75 %-tnog alkohola. Doda se 2-3 kapi ledene octene kiseline pri čemu boja fosforilira (pH oko 4.5). Ako ima taloga, boju je potrebno filtrirati.

Postupak bojanja:

- hemalaun (Mayerova otopina) ----- 6 -10 minuta
- tekuća voda ----- 2 x 5 minuta
(u drugoj vodi ostaviti i do 20 minuta jer tek u vodi dobro poplavi)
- eozin ----- 2 minute
- destilirana voda ----- 2 x 5 minuta

Za pripremu trajnih histoloških preparata potrebno je iz tkiva potpuno ukloniti vodu i razbistriti uzorke uranjanjem u ksilol.

Dehidriranje:

- 70 %-tni alkohol ----- 5 minuta
- 80 %-tni alkohol ----- 5 minuta
- 96 %-tni alkohol ----- 2 x 5 minuta
- 100 %-tni alkohol ----- 2 x 5 minuta
- ksilol III i IV ----- 2 x 5 minuta

Nakon bojanja preparati se uklapaju u kanadski balzam. Kanadski balzam je prirodna smola neutralnih sastojaka koja ne utječe na kemijski sastav tkiva niti na rezultate bojanja preparata. Na obojane histološke prereze tkiva na predmetnim stakalcima nakapa se kanadski balzam i potom se poklope pokrovnica. Tako pripremljeni histološki preparati spremni su za analizu svjetlosnim mikroskopom.

4.4. Statistička obrada podataka

Za grafičku i statističku obradu podataka korišteni su programi Statistica 7.0 (Statsoft Inc., 2000) i Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, 2010). Napravljena je deskriptivna statistika, testirana distribucija podataka. Za one podatke koji nisu bili normalno distribuirani korišten je neparametrijski Mann-Whitney U test, a za normalno distribuirane podatke korišten je parametrijski t-test. Za korelaciju između udjela mase pojedinih organa i ukupne mase tijela korišten je Spearman korelacijski test.

5. REZULTATI

5.1. Indeksi kondicije

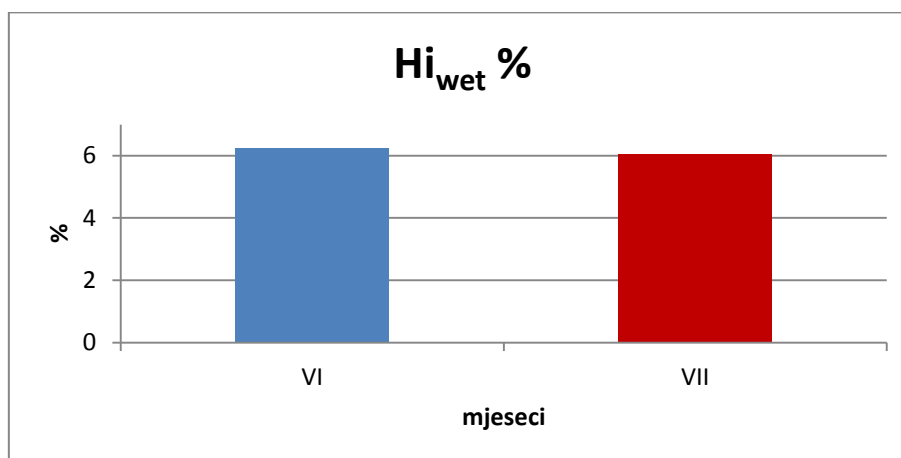
5.1.1. Hepatosomatski indeksi

U Tablici 1. prikazane su srednje vrijednosti i standardne devijacije udjela mokre mase probavne žlijezde u ukupnoj masi tijela (heptosomatski indeks, Hi_{wet} %), udjela suhe mase probavne žlijezde u ukupnoj masi tijela (suhi heptosomatski indeks, Hi_{dry} %) te udjela vlage u probavnoj žlijezdi (HM %) ženki mramornog raka uzorkovanih u lipnju i srpnju 2015. g (indeksi su izraženi u %). Udio probavne žlijezde Hi_{wet} bio je viši tijekom lipnja te iznosi 6,25 % dok u srpnju iznosi 6,04 %. Vrijednosti Hi_{dry} u ženki je niža u lipnju i iznosi 2,18 % a viša u srpnju (2,38 %). Viši udio vlage u probavnoj žlijezdi (64,45 %) utvrđen je tijekom lipnja dok je u srpnju udio niži i iznosi 60,7 %.

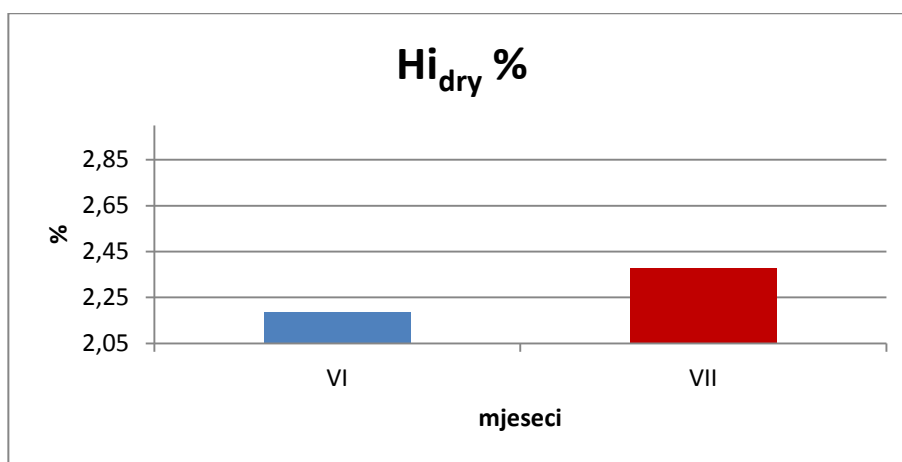
Tablica 1. Srednje vrijednosti i standardne devijacije mokrog heptosomatskog indeksa (Hi_{wet} %), suhog heptosomatskog indeksa (Hi_{dry} %) i udjela vlage u probavnoj žlijezdi (HM %) ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* po mjesecima (indeksi su prikazani u %)

Mjes.	N	Hi_{wet} %			Hi_{dry} %			HM %		
		mean±sd	min	max	mean±sd	min	max	mean±sd	min	max
VI.	23	6,25±1,86	3,27	11,78	2,18±0,84	0,77	3,70	64,45±11,41	37,69	83,90
VII.	23	6,04±0,88	4,32	7,73	2,38±0,57	1,54	3,74	60,74±6,48	42,36	71,42

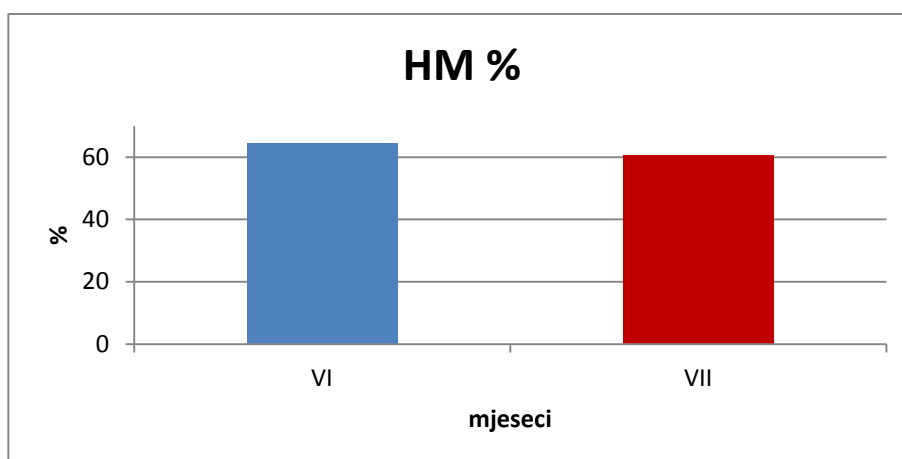
Srednje vrijednosti heptosomatskih indeksa u ženki po mjesecima prikazane su na Slikama 6-8.



Slika 6. Srednje vrijednosti mokrog heptosomatskog indeksa (Hi_{wet} %) ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* po mjesecima



Slika 7. Srednje vrijednosti suhog hepatosomatskog indeksa (Hi_{dry} %) ženki vrste *P. fallax f. virginalis* po mjesecima



Slika 8. Srednje vrijednosti udjela vlage u probavnoj žlijezdi (HM %) ženki vrste *P. fallax f. virginalis* po mjesecima

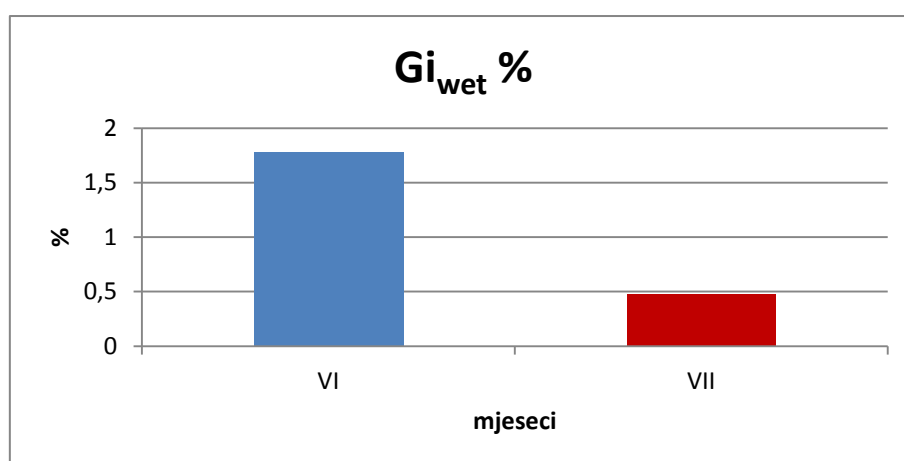
5.1.2. Gonadosomatski indeksi

U Tablici 2. prikazane su srednje vrijednosti i standardne devijacije tri gonadosomatska indeksa ženki po mjesecima. Mokri gonadosomatski indeks (Gi_{wet} %) predstavlja udio mokre mase spolnih žlijezda u ukupnoj masi tijela, suhi gonadosomatski indeks (Gi_{dry} %) predstavlja udio suhe mase spolnih žlijezda u ukupnoj masi tijela, a GM % vrijednost označava udio vlage u spolnim žlijezdama. U ženki je Gi_{wet} viši u lipnju (1,77 %) nego u srpnju (0,47 %). Vrijednosti Gi_{dry} viši je u lipnju (0,78 %) nego u srpnju (0,11 %). Udio vlage u spolnim žlijezdama (GM %) viši je u lipnju 76,35 % nego u srpnju 73,67 %.

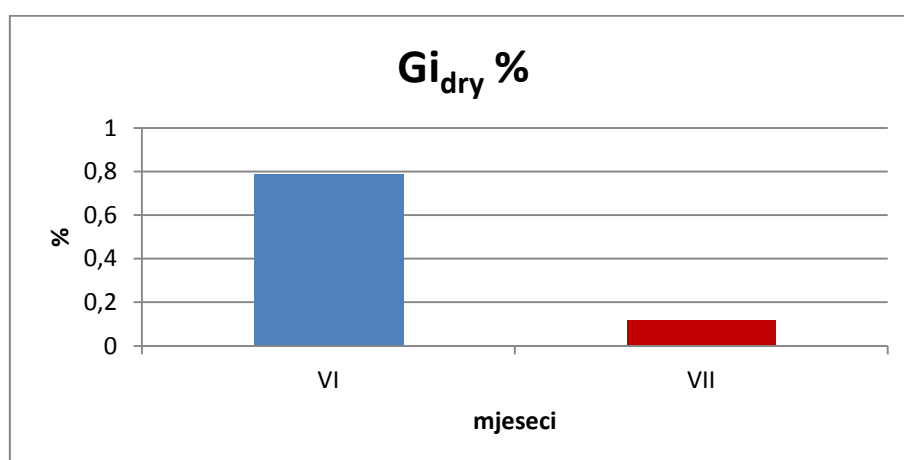
Tablica 2. Srednje vrijednosti i standardne devijacije mokrog gonadosomatskog indeksa ($G_{i_{wet}}$ %), suhog gonadosomatskog indeksa ($G_{i_{dry}}$ %) i udjela vlage u spolnoj žlijezdi (GM %) ženki *P. fallax* f. *virginalis* po mjesecima (indeksi su prikazani u %)

Mjes.	N	$G_{i_{wet}}$ %			$G_{i_{dry}}$ %			GM %		
		mean±sd	min	max	mean±sd	min	max	mean±sd	min	max
VI.	4	1,77±2,59	0,25	5,66	0,78±1,45	0,045	2,96	76,35±19,30	47,66	88,23
VII.	23	0,47±0,33	0,069	1,255	0,11±0,098	0,018	0,38	73,67±12,03	33,33	86,84

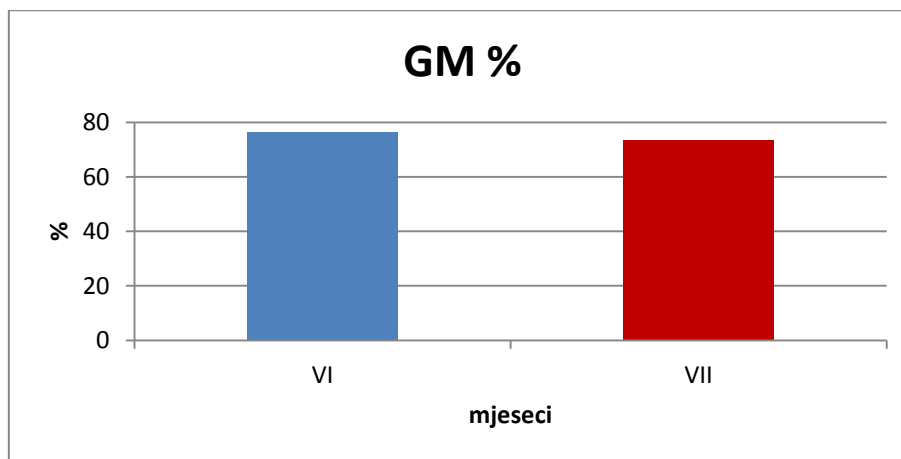
Srednje vrijednosti gonadosomatskog indeksa u ženki po mjesecima prikazane su na Slikama 9 do 11.



Slika 9. Srednje vrijednosti mokrog gonadosomatskog indeksa ($G_{i_{wet}}$ %) ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* po mjesecima



Slika 10. Srednje vrijednosti suhog gonadosomatskog indeksa ($G_{i_{dry}}$ %) ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* po mjesecima



Slika 11. Srednje vrijednosti udjela vlage u spolnoj žlijezdi (GM %) ženki vrste *P. fallax f. virginalis* po mjesecima

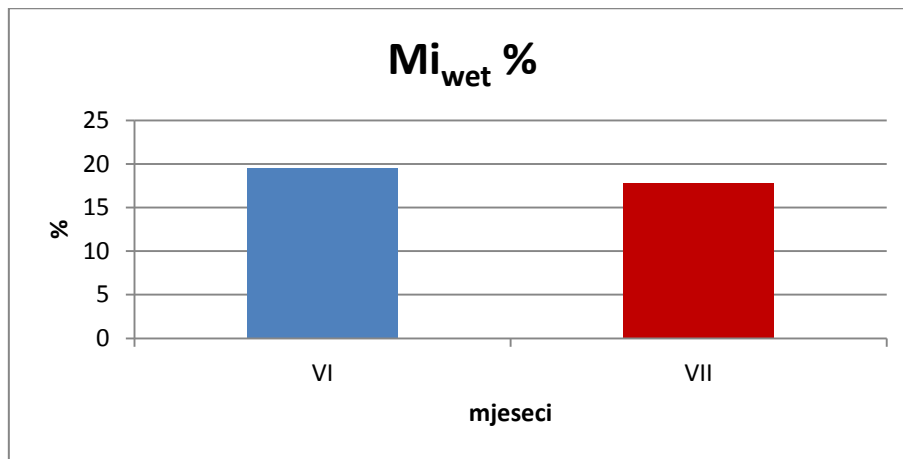
5.1.3. Mišićni indeksi

U Tablici 3. prikazane su srednje vrijednosti i standardne devijacije mišićnih indeksa ženki po mjesecima. Mokri mišićni indeks (Mi_{wet} %) predstavlja udio mokre mase mišića u ukupnoj masi tijela, suhi mišićni indeks (Mi_{dry} %) predstavlja udio suhe mase mišića u ukupnoj masi tijela, a MM % vrijednost označava udio vlage u mišiću. U ženki je Mi_{wet} viši u lipnju (19,53 %) nego u srpnju (17,80 %). Vrijednost Mi_{dry} je u lipnju niža (3,80 %) nego u srpnju (3,46 %). Udio vlage u repnom mišiću (MM) je u lipnju iznosio 79,23 % dok je u srpnju bio viši (80,50 %).

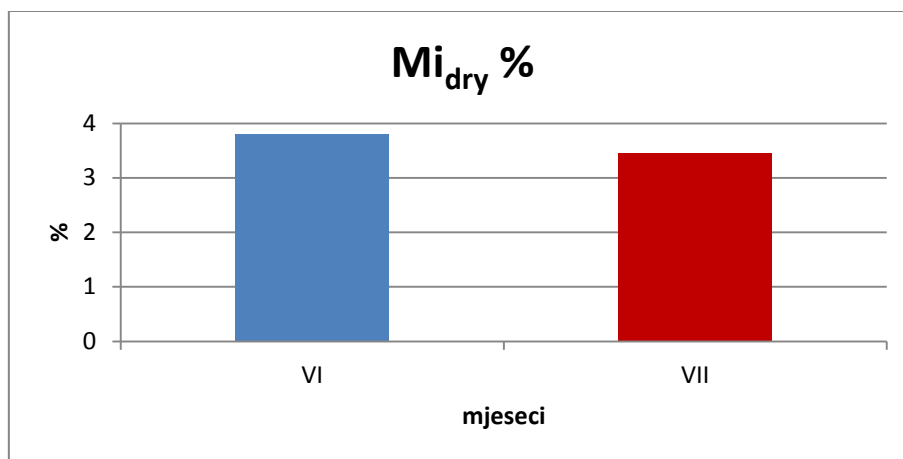
Tablica 3. Srednje vrijednosti i standardne devijacije mokrog mišićnog indeksa (Mi_{wet} %), suhog mišićnog indeksa (Mi_{dry} %) i udjela vlage u mišiću (MM %) ženki *P. fallax f. virginalis* po mjesecima

Mjes.	N	Mi_{wet} %			Mi_{dry} %			MM %		
		mean±sd	min	max	mean±sd	min	max	mean±sd	min	max
VI.	23	19,20±6,85	0,271	32,75	3,80±1,09	2,554	7,22	79,15±7,45	7,45	83,58
VII.	23	17,80±2,72	12,46	22,05	3,46±0,56	2,64	4,54	80,50±1,51	77,96	84,96

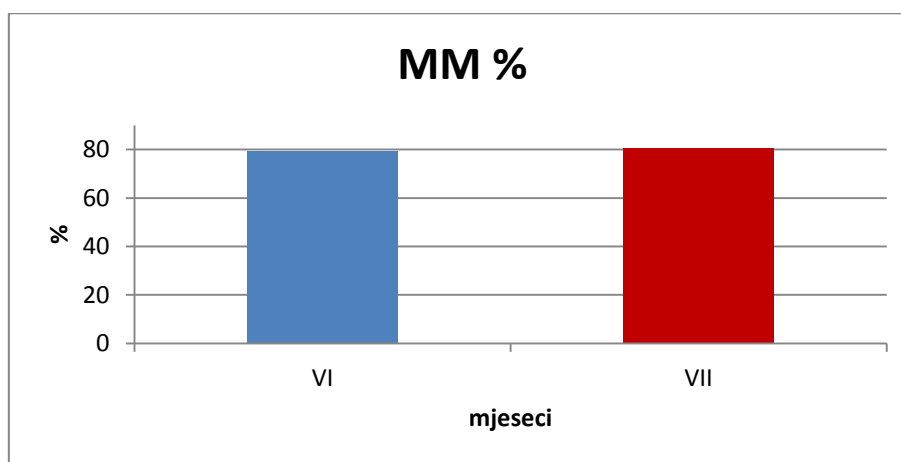
Srednje vrijednosti mišićnog indeksa u ženki po mjesecima prikazane su na Slikama 12 do 14.



Slika 12. Srednje vrijednosti mokrog mišićnog indeksa ($Mi_{wet} \%$) ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* po mjesecima



Slika 13. Srednje vrijednosti suhog mišićnog indeksa ($Mi_{dry} \%$) ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* po mjesecima



Slika 14. Srednje vrijednosti udjela vlage u repnom mišiću (MM %) ženki vrste *P. fallax f. virginalis* po mjesecima

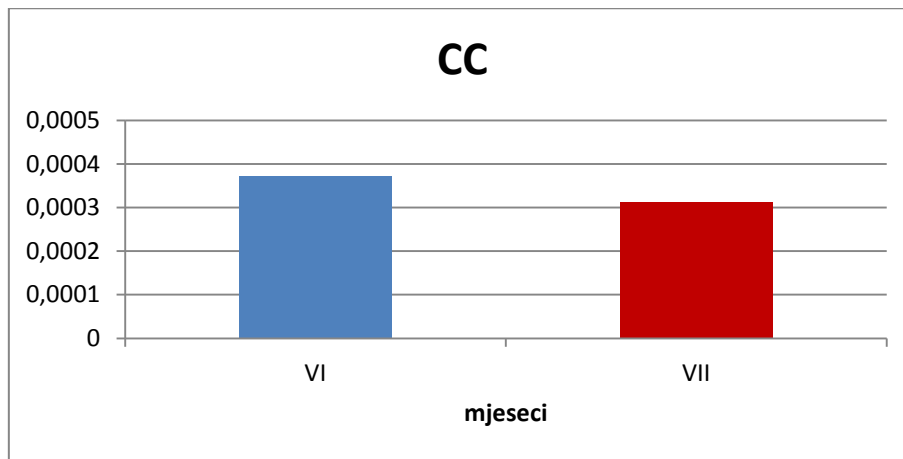
5.1.4. „Crayfish Constant“ i Fultonov kondicijski indeks

U Tablici 4. Prikazane su srednje vrijednosti i standardne devijacije kondicijskih indeksa CC i FCF. Vrijednost CC je u lipnju (0,0004) neznatno viša nego u srpnju (0,00031). Dok je vrijednost FCF neznatno niža u lipnju ($2,16 \times 10^{-5}$) nego u srpnju ($2,44 \times 10^{-5}$).

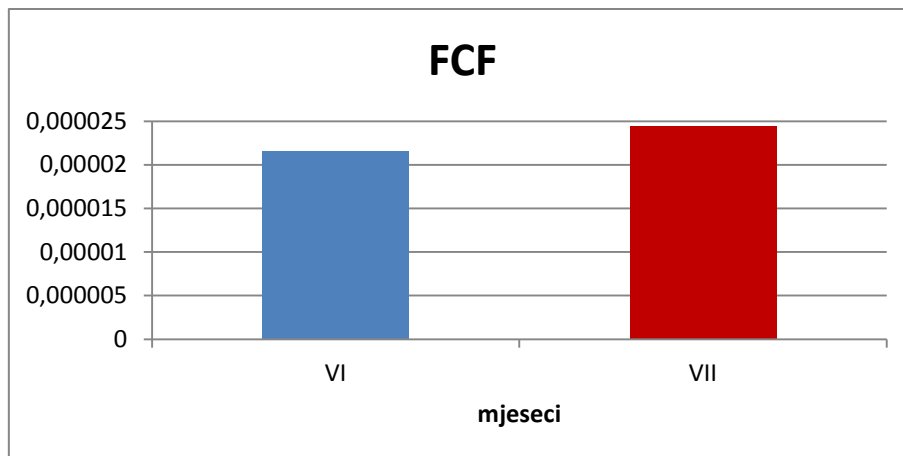
Tablica 4. Srednje vrijednosti i standardne derivacije „Crayfish Constant“ i Fultonovog kondicijskog indeksa ženki *P. fallax f. virginalis*

Mjes.	N	CC			FCF		
		mean±sd	min	max	mean±sd	min	max
VI.	23	0,0004±0,0004	0,00024	0,00201	$2,16 \times 10^{-5} \pm 2,09$	$1,82 \times 10^{-5}$	3×10^{-5}
VII.	23	0,00031±0,00002	0,0003	0,0004	$2,44 \times 10^{-5} \pm 1,94$	$2,15 \times 10^{-5}$	$2,84 \times 10^{-5}$

Srednje vrijednosti CC i FCF u ženki po mjesecima prikazane su na Slikama 15 do 16.



Slika 15. Srednje vrijednosti „Crayfish Constant“ indeksa ženki *P. fallax* f. *virginalis* po mjesecima

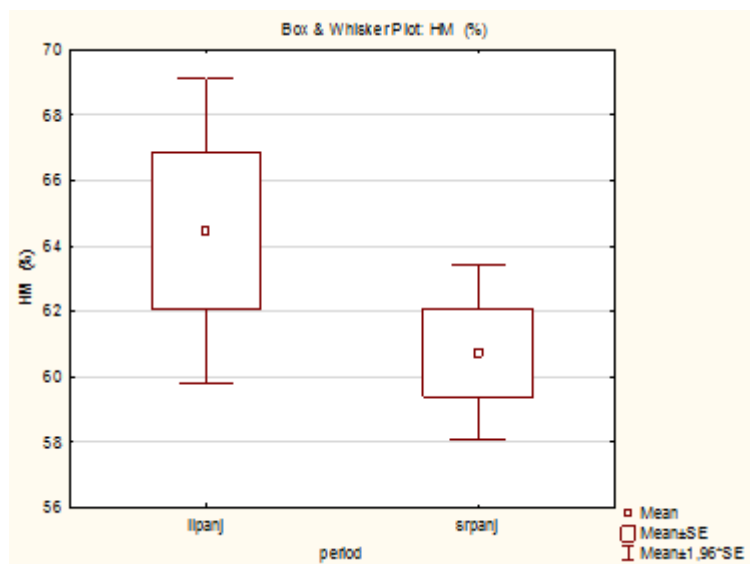


Slika 16. Srednje vrijednosti Fultonovog kondicijskog indeksa ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* po mjesecima

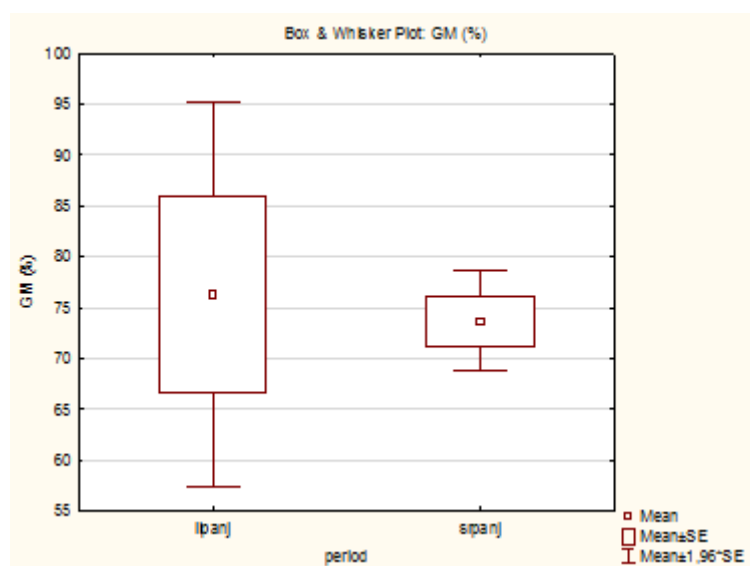
5.1.5. Razlike u indeksima kondicije između dva mjeseca

Kako bismo utvrdili postoje li statistički značajne razlike u kondicijskim indeksima ženki između lipnja i srpnja podaci su s obzirom da nisu normalno distribuirani, testirani neparametrijskim Mann-Whitney U testom. Testom je utvrđeno da ne postoji statistički značajna razlika u udjelu vlage u pojedinim organima između lipnja i srpnja za HM: ($p = 0,13$), GM: ($p = 0,23$), MM: ($p = 0,68$) kao niti za jedan od organosomatskih indeksa ($p > 0,05$). Za CC također ne postoje statistički značajne razlike ($p = 0,079$), dok je za FCF zabilježena statistički značajna razlika ($p < 0,01$).

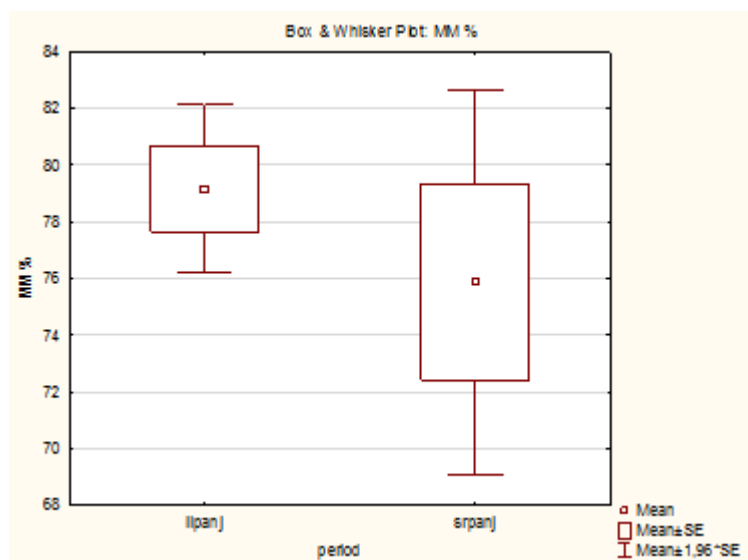
Na slikama 17 do 21 se nalaze grafički prikazi Mann-Whitney U testa za udjele vlage u probavnoj i spolnoj žlijezdi te repnom mišiću ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* kao i vrijednosti CC i FCF indeksa tijekom dva istraživana mjeseca.



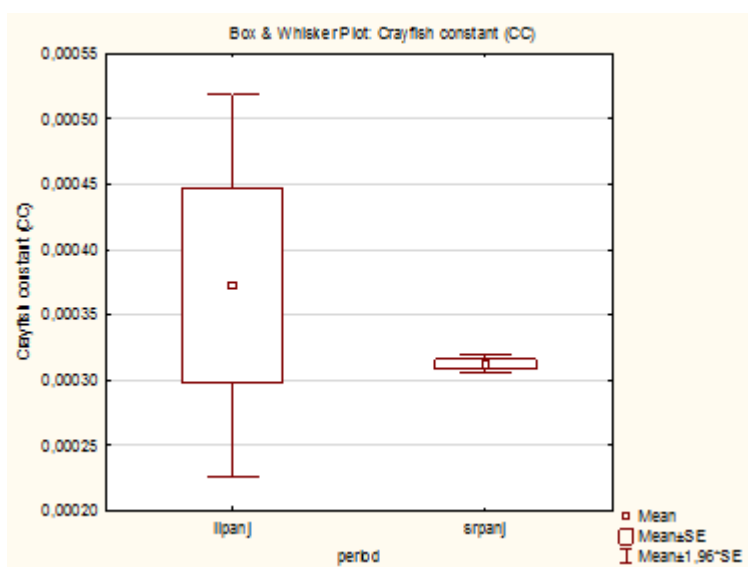
Slika 17. Vrijednosti udjela vlage u probavnoj žlijezdi (HM) ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* tijekom lipnja i srpnja



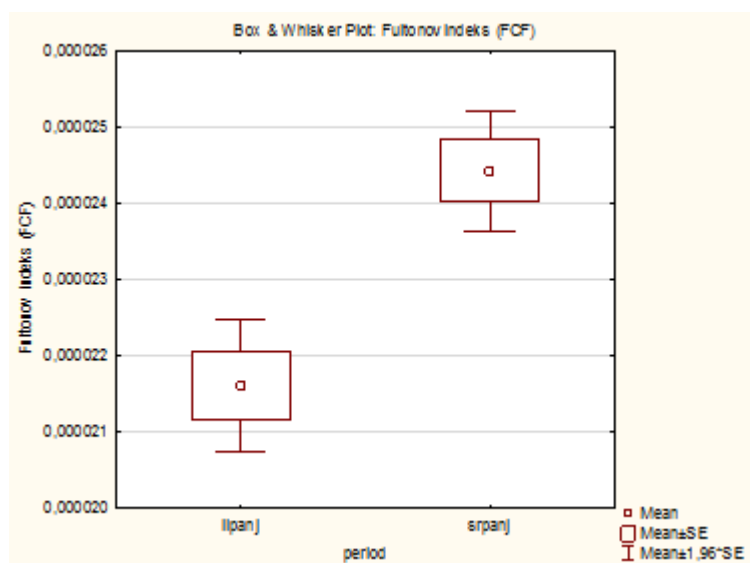
Slika 18. Vrijednosti udjela vlage u spolnoj žlijezdi (GM) ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* tijekom lipnja i srpnja



Slika 19. Vrijednosti udjela vlage u repnom mišiću (MM) ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* tijekom lipnja i srpnja



Slika 20. Vrijednosti „Crayfish Constant“ (CC) u ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* tijekom lipnja i srpnja



Slika 21. Vrijednosti Fultonovog kondicijskog indeksa (FCF) u ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* tijekom lipnja i srpnja

5.2. Morfometrijska obilježja

U Tablici 5. prikazane su srednje vrijednosti i standardne devijacije morfometrijskih obilježja ženki *P. fallax* f. *virginalis* u lipnju i srpnju.

Tablica 5. Srednje vrijednosti i standardne devijacije morfometrijskih obilježja ženki *P. fallax* f. *virginalis* u lipnju i srpnju

morfometrijsko obilježje	Lipanj			Srpanj			
	N	mean±sd	min	max	mean±sd	min	max
uk.m.raka (g)	23	7,95±3,80	1,09	17,36	8,08±2,64	3,38	14,57
duž.carp. (mm)	23	25,52±4,74	13,97	33,83	26,57±2,97	19,76	32,45
šir.carp. (mm)	23	13,56±3,74	1,03	18,95	13,77±1,55	10,28	16,87
uk.duž.raka (mm)	23	69,47±12,22	37,74	90,13	68,33±6,63	53,93	83,52

Kako bismo utvrdili postoje li statistički značajne razlike između morfometrijskih obilježja ženki između lipnja i srpnja podaci su testirani T-testom. T-testom je utvrđeno da ne postoji statistički značajna razlika između morfometrijskih obilježja u lipnju i srpnju. S obzirom da ne postoje statistički značajne razlike između mjerenih obilježja u lipnju i srpnju podaci su objedinjeni i provjereno je postoji li korelacija između svih parametara te je utvrđeno da je korelacija između svih morfometrijskih parametara statistički značajno pozitivna (Tablica 6).

Tablica 6. Korelacija između svim mjerenih morfometrijskih parametara ženki *P. fallax f. virginalis*

Morfometrijski parametri	Korelacije Označene korelacije značajne uz $p < 0,05$ N = 46			
	uk. m raka	duž. carp	šir. car	uk. duz. raka
uk. m. raka	1	0,95*	0,88*	0,94*
duž. carp	0,95*	1	0,94*	0,97*
šir. car	0,88*	0,94*	1	0,95*
uk. duz. raka	0,94*	0,97*	0,95*	1

*Označava statistički značajnu korelaciju

Također, izračunate su korelacije između udjela mase pojedinih organa ($H_{i_{wet}}$, $G_{i_{wet}}$ i $M_{i_{wet}}$) i ukupne mase tijela koje su prikazane u Tablici 7. Korelacije između $H_{i_{wet}}$, $G_{i_{wet}}$ i ukupne mase tijela su pozitivne, ali nisu statistički značajne, dok je korelacija između $M_{i_{wet}}$ i ukupne mase tijela negativna i statistički značajna (Tablica 7).

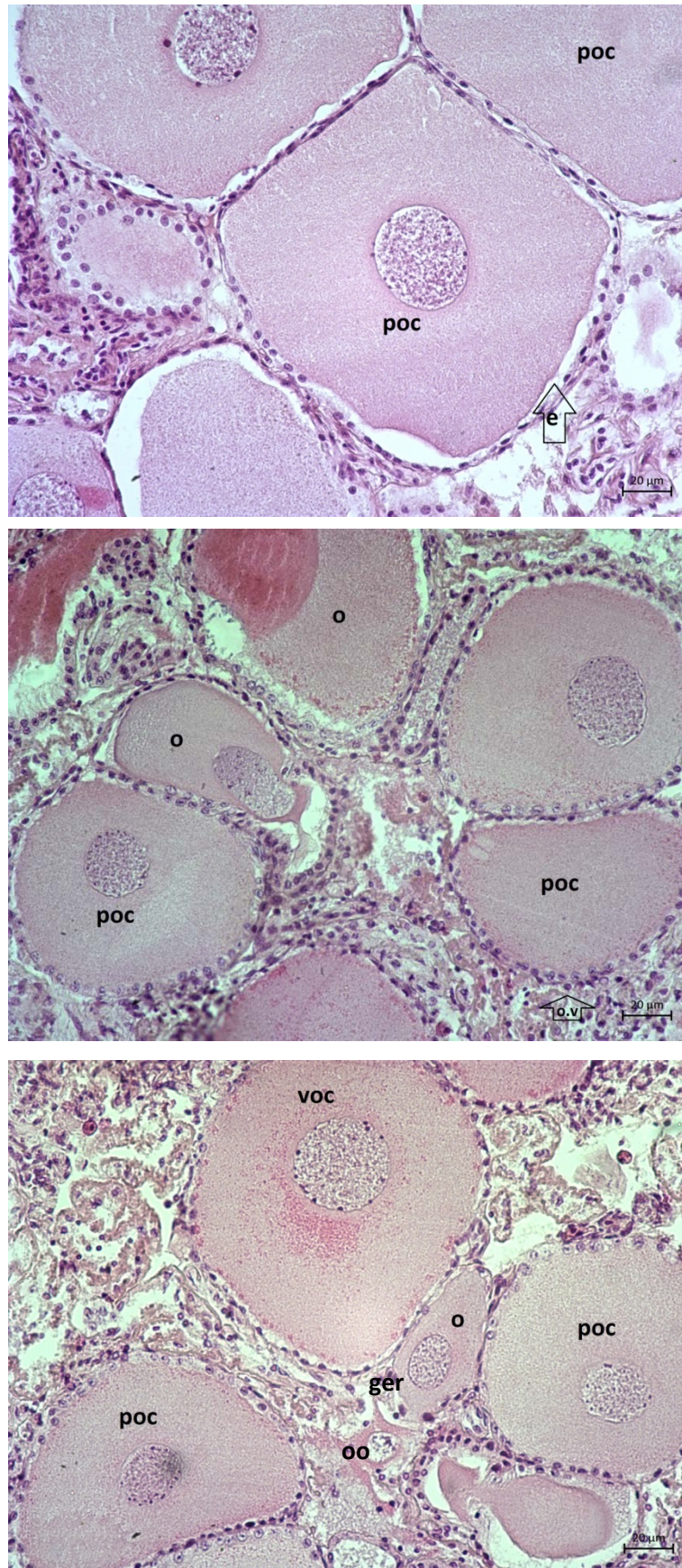
Tablica 7. Korelacija između mokrog hepatosomatskog indeksa ($H_{i_{wet}}$), mokrog gonadosomatskog indeksa ($G_{i_{wet}}$), mokrog mišićnog indeksa ($M_{i_{wet}}$) i ukupne mase tijela.

	$H_{i_{wet}}$	$G_{i_{wet}}$	$M_{i_{wet}}$
uk. m. raka (g)	0,032	0,22	- 0,5*

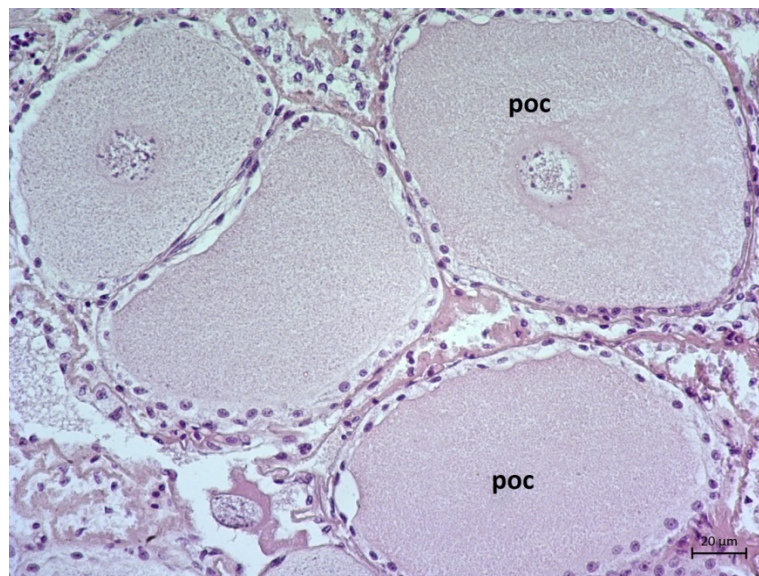
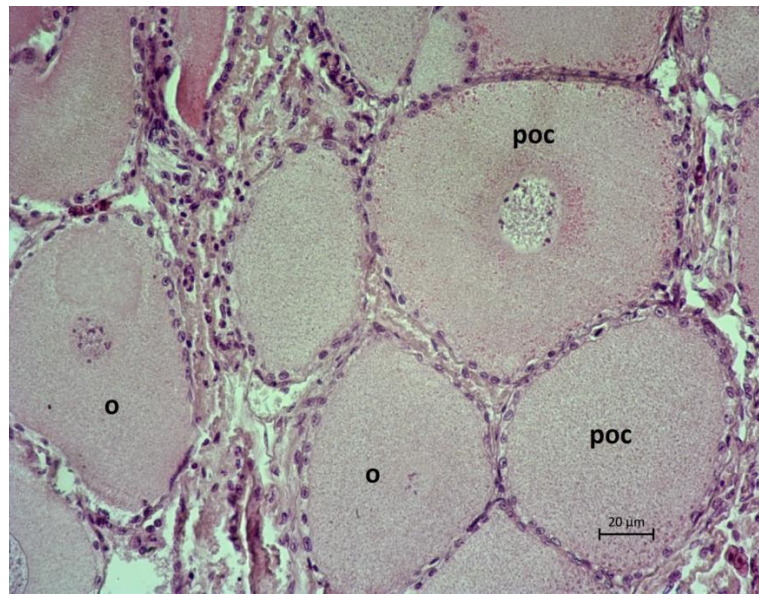
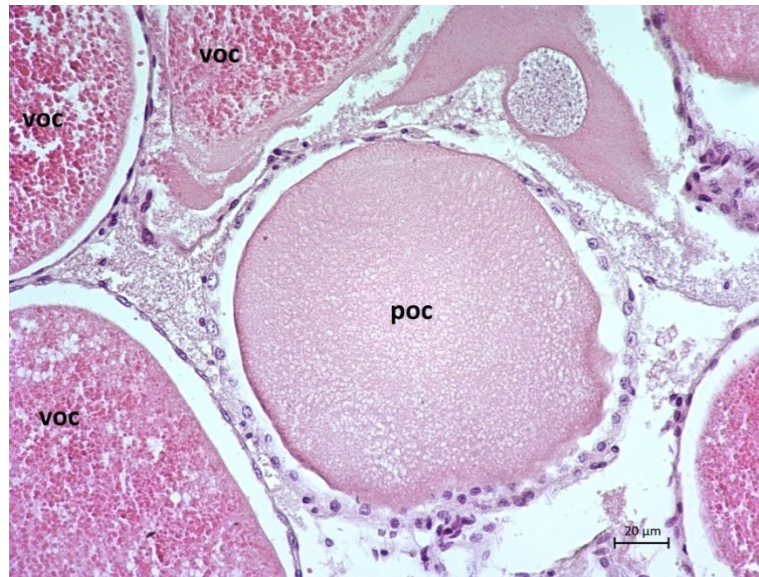
*Označava statistički značajnu korelaciju

5.3. Histološka obilježja spolnih žlijezda ženki vrste *P. fallax* f. *virginalis* tijekom lipnja i srpnja

U spolnim žlijezdama ženki dolazi do sazrijevanja spolnih stanica tijekom ljetnih mjeseci. U jajniku ženki mramornih rakova uzorkovanih u lipnju prisutan je veliki broj oogenetskih vreća s različitim razvojnim stadijima previtelogenih oocita različite veličine. Svaka oogenetska vreća sadrži po jednu jajnu stanicu okruženu jednoslojnim epitelom koji podsjeća na folikularni epitel jajnika kraljeznjaka. U središnjem dijelu režnjeva jajnika nalazi se germarij u kojem se mitotičkim diobama stvaraju oogonije, a uz njih se u tom dijelu jajnika mogu zamijetiti i previtelogene oocite i inetrsticijsko tkivo jajnika. Mjestimice se u jajniku unutar oocita može zamijetiti početak formiranja žumanjka unutar citoplazme i njihov postupni prelazak u vitelogene oocite.



Slika 22. Jajnik vrste *P. fallax* f. *virginalis* uzorkovan u lipnju. Obojano hemalaun-eozinom. Pov. 200 x. o - oocita; oo - oogonija; poc - previtelogene oocite; voc - vitelogene oocite; e - epitel oogenetskih vreća; ger - germarij.



Slika 23. Jajnik vrste *P. fallax* f. *virginalis* uzorkovan u srpnju. Obojano hemalaun-eozinom. Pov. 200 x. o - oocite; poc - previtelogene oocite; voc - vitelogene oocite; e - epitel oogenetskih vreća.

U jajniku ženki uzorkovanih u srpnju nalazimo veći broj zrelijih stadija sazrijevanja – vitelogenih oocita iako je još uvijek prisutan i velikih broj previtelogenih oocita. Stvaranje žumanjka odvija se pohranjivanjem lipidnih čestica i rezerva proteina, a na histološkim prerezima može se uočiti da se taj proces odvija od periferije prema središnjem dijelu oocita. Pri tom vitelogene oocite rastu te je njihov promjer na prerezima veći od promjera previtelogenih oocita.

6. RASPRAVA

6.1. Indeksi kondicije

Probavna žlijezda zauzima najveći dio prsne šupljine rakova i predstavlja glavni energetska izvor za rast i presvlačenje (Vogt, 2002). Ona ima različite uloge koje u kraljeznjaka obavljaju jetra, gušterača i tanko crijevo. Pohranjuje niz metabolita i minerala, luči sve potrebne probavne enzime te je primarno mjesto apsorpcije hranjivih tvari (Vonk 1960). S obzirom na te uloge probavna žlijezda je dobar pokazatelj kondicije prirodnih populacija (Mannonen i sur., 1995; Jussila i Mannonen, 1997; Tsvetnenko i sur., 1995).

U ženki vrste *Procambarus fallax f. virginalis* mokri hepatosomatski indeks (Hi_{wet}) kreće se između 6 i 6,25 % (Slika 6). Te vrijednosti Hi_{wet} su nešto više od vrijednosti koje je utvrdila Lucić (2004) za autohtone vrste *Astacus astacus* i *Austropotamobius torrentium* uzorkovane tijekom lipnja i srpnja te eventualno mogu ukazivati na komparativnu fiziološku prednost ove invazivne vrste pred autohtonim vrstama. U lipnju je u ženki mramornih rakova vrijednost Hi_{wet} viša što ukazuje na veći udio probavne žlijezde u ukupnoj masi tijela, a veća masa ukazivala bi na bolju kondiciju. Za suhi hepatosomatski indeks Hi_{dry} vrijednosti se kreću između 2,18 i 2,38 %, ali su niže u lipnju, a više u srpnju (Slika 7). Kako se radi o indeksu koji ukazuje na udio suhe mase u ukupnoj mokroj masi tijela njegove vrijednosti su jako varijabilne i nisu pouzdan pokazatelj kondicije. Kako su Jussila i Mannonen (1997) utvrdili visoku i statistički značajnu negativnu korelaciju između udjela vlage u probavnoj žlijezdi (HM) i energije određene kalorimetrom smatra se da HM vrijednosti upućuju na energetska sadržaj probavne žlijezde. Niži udio vlage upućuje na veće energetske zalihe (Mannonen i Henttonen 1995). U našem istraživanju vrijednosti HM se kreću između 60 i 65 % (Slika 8), više su u lipnju nego u srpnju što ukazuje na niži energetska status žlijezde u lipnju, a viši u srpnju. Taj rezultat je neočekivan, tim više što su GM vrijednosti također više u lipnju nego u srpnju, a s obzirom da se energetske zalihe iz probavne žlijezde tijekom reproduktivnog ciklusa preusmjeravaju prema spolnim žlijezdama, očekivali smo da će HM biti niži u razdoblju kada je GM viši. No, moguće je da zbog povoljnih životnih uvjeta tijekom ljeta i sposobnosti mramornih rakova da se razmnožavaju tijekom cijele godine kada su uvjeti povoljni, energetska status oba organa raste istovremeno neovisno o tome što sazrijevanje i diferencijacija oocita iziskuje dosta energetska zaliha.

U ženki vrste *Procambarus fallax f. virginalis* mokri gonadosomatski indeks (Gi_{wet}) kreće se između 0,47 i 1,77 % (Slika 9), što su također više vrijednosti nego što je utvrđeno za autohtone vrste u ljetnim mjesecima (Lucić, 2004) te potvrđuje tvrdnju da invazivne vrste u pravilu imaju viši fekunditet od autohtonih vrsta. U lipnju je vrijednost Gi_{wet} viša što ukazuje na veći udio gonada u ukupnoj masi tijela nego u srpnju iako se prema histološkim prerezima stječe dojam da je broj zrelih vitelogenih oocita veći u srpnju nego u lipnju pa bi očekivani Gi_{wet} za srpanj bio viši. Vjerojatno oocite u jajnicima ženki mramornih rakova jednako intenzivno sazrijevaju u lipnju i

srpnju što potvrđuje ulov ženki s vanjskim jajima i u lipnju i srpnju. U autohtonih vrsta sazrijevanje oocita u jajnicima odvija se postupno i sinhronizirano u cijelom jajniku, a ženke s vanjskim jajima moguće je uloviti tek tijekom listopada (Maguire, 2002; Lucić, 2004). Vrijednosti suhog gonadosomatskog indeksa $G_{i_{dry}}$ kreću se između 0,11 i 0,78 % (Slika 10) i očekivano su više u lipnju nego u srpnju, kao i vrijednosti $G_{i_{wet}}$. Vrijednosti GM se kreću između 76,35 i 73,67 % (Slika 11) više su nego u autohtonih vrsta tijekom istog razdoblja (Lucić, 2004) što također govori u prilog tezi o reproduktivnoj prednosti invazivnih vrsta nad autohtonim vrstama. Niži energetske status utvrđen je u lipnju nego u srpnju što je donekle u skladu s utvrđenim višim udjelom $H_{i_{wet}}$ utvrđenim u lipnju, pretpostavljamo da viši udio vlage u jajnicima koji proizlazi iz viših GM vrijednosti pridonosi većoj masi organa i time veće udjelu organa u ukupnoj masi tijela ($G_{i_{wet}}$).

Kako je korelacija između udjela probavne i spolne žlijezde pozitivna, iako ne i statistički značajna, to ukazuje na činjenicu da s porastom mase tijela rastu i udjeli ovih organa u ukupnoj masi što je u skladu s nalazima drugih autora (Lucić, 2004 i Nystrom, 2002).

U ženki vrste *Procambarus fallax* f. *virginalis* mokri mišićni indeks ($M_{i_{wet}}$) kreće se između 17,80 i 19,53 % (Slika 12) što je također više nego je utvrđeno u autohtonih vrsta (Lucić, 2004) i predstavlja komparativnu prednost ove invazivne vrste jer joj vjerojatno omogućava bolju pokretljivost. U lipnju je vrijednost $M_{i_{wet}}$ viša i to ukazuje na veći udio repnog mišića nego u srpnju, a u skladu s time su i nalazi suhog mišićnog indeksa ($M_{i_{dry}}$) čije vrijednosti su bile između 3,46 i 3,80 % (Slika 13), a također više u lipnju nego u srpnju. Vrijednosti MM se kreću između 79,23 i 80,50 % (Slika 14) i, kao i za prethodne indekse, niže su nego u autohtonih vrsta tijekom istog razdoblja (Lucić, 2004) što znači da je energetske status repnog mišića također bolji. Viši energetske status utvrđen je u lipnju, a niži u srpnju. Udio vlage u mišiću (MM) niži je u lipnju nego u srpnju.

Unatoč utvrđenim razlikama udjela pojedinih organa i vlage u njima između lipnja i srpnja neparametrijskim Mann Whitney U-testom utvrđeno je da te razlike među mjesecima nisu statistički značajne te stoga pretpostavljamo da one proizlaze iz relativno malog broja uzorkovanih životinja i individualnih razlika među jedinkama i ne proizlaze iz reproduktivnog ciklusa ženki mramornih rakova.

6.1.1. Crayfish Constant“ i Fultonov kondicijski indeks

U ženki vrste *Procambarus fallax* f. *virginalis* CC kreće se između 0,0004 i 0,00031 (Slika 15). U lipnju je vrijednost CC nešto viša što upućuje na bolju kondiciju ženki u tom mjesecu. FCF kreće se između $2,16 \times 10^{-5}$ i $2,44 \times 10^{-5}$ (Slika 16). Veća vrijednost tj. bolja kondicija je zabilježena u srpnju. I to je ujedno jedini indeks za koji Mann-Whitney U-testom utvrđeno da je razlika u vrijednosti indeksa među mjesecima statistički značajna. Te vrijednosti indeksa kondicije u autohtone vrste

Austropotamobius torrentium su znatno više tijekom ljetnih mjeseci (Maguire, 2002). To je vjerojatno stoga što je za mramornog raka provedeno kratkotrajno istraživanje, a za vrstu *A. torrentium* sveobuhvatno višegodišnje. Stoga su rezultati vjerojatno posljedica uzorkovanja i da bi se prikupili komparativni rezultati treba proširiti istraživanje na mramornim rakovima.

Bolja tjelesna kondicija ženki mramornih rakova potencijalno može dovesti do ubrzanog rasta jedinki i boljeg reproduktivnog uspjeha čime će ova vrsta uspješno nadvladati autohtone vrste na njihovu staništu. Ubrzani rast jedinki također može uzrokovati ranije dostizanje veličine pri kojoj nastupa spolna zrelost. Postojeća istraživanja na drugim invazivnim vrstama potvrdila su takve trendove (Gutowsky i Fox, 2012; Phillips, 2009).

6.1.2. Morfometrijska obilježja

U ženki vrste *Procambarus fallax* f. *virginalis* nisu utvrđene statistički značajne razlike između morfometrijskih obilježja između lipnja i srpnja, dok su ranijim istraživanjima dobivene izrazito statistički značajne razlike između vrste *A. astacus* i *A. torrentium* za različite mjesece (Lucić, 2004). Takvi su rezultati očekivani, s obzirom na to da su lovljene veće jedinke (iznad 9 cm) što je rezultat lova LiNa vršama čija je konstrukcija omogućila jedinkama manjim od 6 cm bijeg iz vrša (Skurdal i Taugbøl, 2002). Ženke su bile statistički značajno različite po težini, dužini i širini kliješta. U jedinki koje smo mi istraživali, a lovljene su ručno, najkraća ženka iznosila je 3,7 cm, a najduža oko 9 cm, tako da su u istraživanje uključene različite dužine ženki. Međutim, podatke bi trebalo dopuniti primjenom drugih metoda lova. S obzirom da ne postoje statistički značajne razlike između mjerenih obilježja u lipnju i srpnju podaci su objedinjeni i provjereno je postoji li korelacija između svih parametara te je utvrđeno da je korelacija između svih morfometrijskih parametara statistički značajno pozitivna (Tablica 6). Za autohtone vrste (Lucić, 2004) nisu provjerene korelacije između svih mjerenih morfometrijskih parametara.

Također, izračunate su korelacije između udjela mase pojedinih organa ($H_{i_{wet}}$, $G_{i_{wet}}$) i ukupne mase tijela koje su pozitivne ali nisu statistički značajne, dok je korelacija između $M_{i_{wet}}$ i ukupne mase tijela negativna i statistički značajna (Tablica 7). U slučaju $M_{i_{wet}}$ vrste *A. astacus* udio mase mišića repa u ukupnoj masi tijela kreće se oko 15 % (Lucić, 2004) dok je u našem istraživanju u ženki taj udio bio nešto viši (između 17 i 19 %). Kako je korelacija između $M_{i_{wet}}$ i ukupne mase tijela negativna (Huner i sur., 1988; Obradović i sur., 1988) za očekivati je kako će odrasle jedinke imati manji $M_{i_{wet}}$ jer se s porastom mase tijela $M_{i_{wet}}$ smanjuje.

7. ZAKLJUČCI

Ovim smo istraživanjem pokazali kako širenje strane invazivne vrste mramornog raka proizlazi iz određenih fizioloških prednosti za te vrste. Dokazali smo kako su jedinke mramornog raka u populacijama općenito u boljoj tjelesnoj kondiciji u usporedbi s kondicijom autohtonih vrsta utvrđenoj prethodnim istraživanjima drugih autora. Bolja kondicija može uvjetovati brži rast jedinki, veći energetske doprinos razmnožavanju te ranije dostizanje spolne zrelosti, što u konačnici može ubrzati daljnje širenje vrste i uspostavu novih populacija, odnosno povećati invazivni potencijal mramornog raka.

Ove zaključke temeljimo na:

Utvrđenim boljim pokazateljima tjelesne kondicije (Hi_{wet} , Gi_{wet} , Mi_{wet} , HM, GM, MM) u mramornih rakova u usporedbi s poznatim podacima za autohtone vrste, u pravilu su ženke mramornog raka bile u boljoj kondiciji od ženki autohtonih vrsta.

Nižim vrijednostima udjela vlage u probavnoj žlijezdi (HM) ženki mramornih rakova u usporedbi s poznatim vrijednostima u autohtonih rakova koje ukazuju na činjenicu da ženke mramornog raka vjerojatno akumuliraju veću količinu energije.

Utvrđenoj boljoj kondiciji spolnih žlijezda u ženki mramornog raka što govori u prilog tezi da je reproduktivni potencijal invazivnih vrsta viši od reproduktivnog potencijala autohtonih vrsta.

Većem udjelu repnog mišića u ukupnoj masi tijela (Mi_{wet}) i manjem udjelu vlage u repnom mišiću (MM) u usporedbi s poznatim podacima za autohtone vrste.

Nadalje, možemo zaključiti i sljedeće:

Vrijednosti suhih indeksa kondicije koji ukazuju na udio suhe mase u ukupnoj mokroj masi tijela (Hi_{dry} , Gi_{dry} , Mi_{dry}) su jako varijabilne i nisu pouzdan pokazatelj kondicije.

Razlike istraživanih kondicijskih indeksa između lipnja i srpnja nisu bile statistički značajne.

Nisu uočene značajne histomorfološke razlike između jajnika uzorkovanih u lipnju i srpnju te su stoga ženke mramornih rakova sposobne ispuštati zrela jaja u oba istraživana mjeseca.

Dobivene rezultate treba proširiti sveobuhvatnijim istraživanjima na većem broju ženki mramornih rakova tijekom duljeg vremenskog razdoblja.

8. LITERATURA

Abdu U., Yehezkel G., Sagi A. (2000): Oocyte development and polypeptide dynamics during ovarian maturation in the red-claw crayfish *Cerax quadricarinatus*. *Inv. Repr. Devp.* 37: 78-83.

Adelsberger H., Dudel J. (1996): Innervation pattern of the deep extensor abdominal muscle in the crayfish species *Astacus astacus*. *J. Comp. Physiol. A* (179): 207-211.

Alpert P., Bone E., Holzzapfel C. (2000): Invasiveness, invasibility and the role of environmental stress in the spread of non-native plants. *Perspect. Plant. Ecol.* 32: 159-181.

Alves F., Scholtz G. (2006): Stages and others aspects of the embryology of the parthenogenetic Marmorkrebs (Decapoda, Reptantia, Astacida). *Dev. Genes Evol.* 216: 169-184.

Ando H., Makioka T. (1999): Structure of the ovary and mode of oogenesis in a freshwater crab *Potamon dehaani*. *J. Morphol.* 239: 107-114.

Atwood H. L., Nguyen P. V. (1995): Neural adaption in crayfish. *Am. Zool.* 35: 28-36.

Baiser B., Lockwood J. L. (2011): The relationship between functional and taxonomic homogenization. *Global Ecol. Biogeogr.* 20: 134–144.

Barnett S. (1975): *The Rat: a study in behaviour*, Chicago. MI: The University of Chicago Press 52-115.

Bilton D., Freeland J., Okamura B. (2001): Dispersal in freshwater invertebrates. *Ecol. Ev. Env.* 32: 159-181.

Bohl E., Strohmeier W., Leuner E., Negele R. D., Pscheidl M., Heise J. (1989): *Untersuchungen an Flusskrebbsbeständen*. Bayrische Landesanstalt für Wasserforschung. Wielenbach, Bayern, 237 pp.

Bøhn T., Terje Sandlund O., Amundsen P. A., Primicerio R. (2004): Rapidly changing life histories during invasion. *Oikos* 106: 138-150.

Burton O. J., Phillips B. L., Travis J. M. J. (2010): Trade-offs and the evolution of life-histories during range expansion. *Ecol. lett.* 13: 1220-1221.

Cadi A., Joly P. (2003): Competition for basking places between the endangered European pond turtle (*Emys orbicularis galloitalica*) and the introduced red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*). *Can. J. Zool.* 81: 1392-1398.

Cadi A., Joly P. (2004): Impact of the introduction of the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) on survival rates of the European pond turtle (*Emys orbicularis*). *Biodives. Conserv.* 13: 2511-2518.

Dudgeon D., Arthington A. H., Gessner M. O., Kawabata Z. I., Knowler D. J., L  v  que C., Naiman R. J., Prieur-Richard A. H., Soto D., Stiassny M. L. J., Sullivan C. A. (2006): Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biol. Rev.* 81: 163–182.

Garvey J., Stein R., Thomas H. (1994): Assessing how fish predation and interspecific prey competition influence a crayfish assemblage. *Ecology* 75(2): 532-547.

Genovesi P. (2007): Towards a European strategy to halt biological invasions in inland waters. *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats.* Springer Netherlands 627-637.

Gherardi F., Cioni A. (2004): Agonism and interference competition in freshwater decapods. *Behaviour* 141: 1297-1324.

Gherardi F. (2007): Understanding the impact of invasive crayfish. *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats.* Springer, Netherlands 507-542.

Gibson R., Barker P. L. (1978): Observation on the structure of the mouthparts, histology of the alimentary tract, and digestive physiology of the mud crab *Scylla serrata* (Foskal) (Decapoda, Portunidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 32: 177-196.

Gutowsky L. F. G., Fox M. G. (2012): Occupation, body size and sex ratio of round goby (*Neogobius melanostomus*) in established and newly invaded areas of an Ontario river. *Hydrobiologia* 671: 27–37.

Holdich D., Reynolds J., Souty-Grosset C., Sibley P. (2009): A review of the ever increasing threat to European crayfish from non-indigenous crayfish species. *Knowl. Manag. Aquat. Ec.* 11: 394-395.

IUCN (2012): The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. <http://www.iucnredlist.org>, pristupljeno 15.10. 2015.

Jones J. P. G., Rasamy J. R., Harvey A., Toon A., Oidtmann B., Randrianarison M. H., Raminosoa N., Ravoahangimalala O. R. (2009): The perfect invader: a parthenogenic crayfish poses a new threat to Madagascar's freshwater biodiversity. *Biol. Invasions* 11: 1475–1482, <http://dx.doi.org/10.1007/s10530-008-9334-y>, pristupljeno 21.9.2015.

Jussila J., Mannonen A. (1997): Marron (*Cherax tenuimanus*) and noble crayfish (*Astacus astacus*) hepatopancreas energy and its relationship to moisture content. *Aquaculture* 149: 157-161.

Karsholt O., Razowski J. (1996): *The Lepidoptera of Europe - A Distributional Checklist.* Apollo Books Aps Stenstrup, Denmark 380 pp.

Keller R. P., Geist J., Jeschke J. M., K  hn I. (2011): Invasive species in Europe: Ecology, status, and policy. *Environ. Sci. Europe* 23: 23, 17 pp.

- Kroll R. M., Hawkins W. E., Overstreet R. M. (1992): Reproductive components. U: *Microscopic Anatomy of Invertebrates: Decapod Crustacea Vol. 10.*, Wiley-is Inc: 295-343.
- Lopez F., Princis K. (2012): U: Beier (ur.). *Blattariae: Suborbo Blattoidea. Fam; Blattidae, Nocticolidae. Orthopterorum Catalogus* 8: 475.
- Lucić A. (2004): Fiziološke osobitosti triju vrsta slatkovodnih rakova iz porodice Astacidae. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu: 122.
- Lukhaup I. (2001): *Procambarus* sp. – Der Marmorkrebs. *Aquaristik aktuell*. 8: 48-51.
- Maguire I. (2002): Porodica Astacidae u sjeverozapadnoj Hrvatskoj. Doktorska dizertacija, Prirodoslovno-matematički fakultet u Zagrebu: 12 -13.
- Mannonen A., Henttonen P., Novoseltcev G. E., Pepelyaev I. B. (1995): Some observations on the physiological condition of the crayfish *Astacus astacus* in middle Finland and *Astacus leptodactylus* in Petrozavodsk area, Russia. Biological resources of the White Sea and inland waters of the European North, Petrozavodsk, Abst. : 103-115.
- Mannonen A., Henttonen P. (1995): Some observations on the condition of crayfish (*Astacus astacus* (L.)) in a river affected by peat mining in central Finland. *Freshwater Crayfish* 10: 274-281.
- Martin J. L. M. (1973): Etude du metabolisme de l'e au et de l'azote dans l'hepatopancreas et l'ovaire de *Carcinus meanas* L. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 30: 41-44.
- Martin P., Shen H., Füller G., Scholtz G. (2010): The first record of the parthenogenetic Marmorkrebs (Decapoda, Astacida, Cambaridae) in the wild in Saxony (Germany) raises the question of its actual threat to European freshwater ecosystems. *Aquat. Invasions* 5, doi: 10.3391 / ai 2010.5.4.
- Millar J. S., Hickling G. J. (1990): Fasting endurance and the evolution of mammalian body size. *Func. Ecol.* 4: 5-12.
- Millennium Ecosystem Assessment (2005): *Ecosystems and Human Well-being: Biodiversity Synthesis*. World Resources Institute, Washington, D. C.
- Nystrom P. (2002): Ecology. U: (HOLDICH D. M.(ur.), *Biology of fresh water Crayfish*, Blackwell Science: 192-236.
- Pawlos D., Korzelecka-Orkisz A., Formicki K., Durkowski T., Winnicky A. (2010): Egg volume and membrane resistance during embryogenesis of the marbled crayfish (*Procambarus* sp.) *Freshwater Crayfish* 17: 239-243.
- Pennisi E. (2015): Crayfish create a new species of female „superclones. *Science* | DOI: 10.1126/science.aad1673.

- Perry W. L., Feder J. L., Lodge D. M. (2001): Implications of hybridization between introduced and resident *Orconectes* crayfishes. *Conserv. Biol.* 15: 1656-1666.
- Phillips B. (2009): The evolution of growth rates on the expanding range edge. *Biol. Lett.* 5: 802-804.
- Phillips B. L., Brown G. P., Shine R. (2010): Life-history evolution in range-shifting populations. *Ecology* 91(6): 1617-1627.
- Pimentel J., Cadi A., Joly P. (2001): Competition for basking places between the endangered European pond turtle (*Emys orbicularis galloitalica*) and the introduced red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*). *Can. J. Zoolog.* 81: 1392-1398.
- Princis K. (1966): U: Beier (ur.). Blattariae: Suborbo Blattoidea. Fam: Blattidae, Nocticolidae. *Orthopterorum Catalogus* 8: 475.
- Quackenbush L. S. (1989): Yolk protein production in the marine shrimp *Penaeus vannamei*. *J. Crustacean Biol.* 9(4): 509-516.
- Sala O. E., Chapin F. S., Armesto J. J., Berlow E., Bloomfield J., Dirzo R., Huber-Sanwald E., Huenneke L. F., Jackson R. B., Kinzig A., Leemans R., Lodge D. M., Mooney H. A., Oesterheld M., Poff N. L., Sykes M. T., Walkern B. H., Walker M., Wall D. H. (2000): Global biodiversity scenarios for the year 2010. *Science* 287: 1770-1774.
- Samardžić M., Lucić A., Maguire I., Hudina S. (2014): The First Record of the Marbled Crayfish (*Procambarus fallax* (Hagen, 1870) f. *virginalis*) in Croatia. *Crayfish news* 36 (4): 4.
- Scholtz G., Braband A., Tolley I., Reimann A. (2003): Partenogenesis in an outsider crayfish. *Nature* 421: 806-817.
- Scholtz G. (2002): Phylogeny and evolution; U: Holdich D. M. (ur.), *Biology of freshwater crayfish*, Oxford: Blackwell, pp. 30-52.
- Seitz R., Vilpoux K. (2005): Ontogeny of the Marmorkrebs (Marbled crayfish): a parthenogenetic crayfish with unknown origin and phylogenetic position. *J. Exp. Zool.* 303A: 393-405.
- Skurdal J., Taugbol T. (2002): *Astacus*. U: Holdich D. M (ur.), *Biology of Freshwater Crayfish*, Blackwell Science: 467-511.
- Souty-Grosset C., Holdich D. M., Noel P. Y., Reynolds J. D., Haffner P. (ur.) (2006): *Atlas of Crayfish in Europe*. Museum national d Histoire naturelle, Paris.
- Strayer, D. (2006): Challenges for freshwater invertebrate conservation *J. N. Am. Benthol. Soc.* 25: 271-185.

Streissl F., Hödl W. (2002): Growth, morphometrics, size at maturity, sexual dimorphism and condition index of *Austropotamobius torrentium* Schrank. *Hydrobiologia* 477: 201-208.

Subramoniam T. (2000): Crustacean ecdysteroids in reproduction and embryogenesis. *Comp. Biochem. Physiol. C* 125(2): 135-156.

Taugbøl T., Johnsen S. I. (2006): NOBANIS: Invasive Alien Species Fact Sheet: *Pacifastacus leniusculus*. Online Database of the North European and Baltic Network on Invasive Alien Species: NOBANIS www.nobanis.org/files/factsheets/Pacifastacus_leniusculus.pdf, pristupljeno 21.8.2015.

Tsangi W., Quackenbush L. S., Chow B. K. C., Tiu S. H. K., Chan S. (2003): Organization of the shrimp vitellogenin gene: evidence of multiple genes and tissue specific expression by the ovary and hepatopancreas. *Genesis* 303: 99-109.

Tsvetnenko E., Brown J., Glencross B. D., Evans L. H. (1995): Measures of condition in dietary studies on western rock lobster post – pueruli. *Proceedings, International symposium on Lobster Health Management, Adelaide*: 100-109.

Usio N., Townsend C. (2002): Functional significance of crayfish in stream food webs: roles of omnivory, substrate heterogeneity and sex. *Oikos* 98: 512-522.

Vogt G. (2002): Functional Anatomy. U: (Holdich D.M. (ur.), *Biology of Freshwater Crayfish*, Blackwell Science: 53-152.

Vogt G., Tolley L., Scholtz G. (2004): Life stages and reproductive components of the Marmorkrebs (Marbled Crayfish), the first parthenogenetic decapod crustacean *J. Morphol.* 261: 286-311.

Vogt G. (2008b): Investigation of hatching and early post-embryonik life of freshwater crayfish by in vitro culture, behavioral analysis, and light and electron microscopy. *J. Morphol.* 269: 790-81.

Vogt G. (2010): Suitability of the clonal marbled crayfish for biogerontological research: a review and perspective, with remarks on some further crustaceans. *Biogerontology*. 11: 643-669.

Vonk H. J. (1960): Digestion and metabolism, U: Waterman T. H. (ur.): *The Physiology of Crustacea*, Vol. 1. Academic Press, New York 230. Waterman T. H. (1969): *The Physiology of Crustacea*, Vol. 1. Academic Press, New York.

Williamson M. (1996): *Biological invasions*. Chapman & Hall, London.

Wright D. (2007): Logistics of shipboard and dockside testing of ballast water treatment systems in the United States, U: Gerhardi F. (ur.), *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats*. Springer Netherlands, 657-668.

Internetski izvori:

<http://www.cabi.org/isc/datasheet/110477>, pristupljeno 2.9.2015.

<https://hr.wikipedia.org/wiki/%C5%A0oderica>, pristupljeno 2.9.2015.

https://www.researchgate.net/publication/230584840_Population_ecology_of_an_alien_warm_water_crayfish_%28Procambarus_clarkii%29_in_a_new_cold_habitat, pristupljeno 12.7.2015

http://pub.epsilon.slu.se/11182/1/bohman_et_al_140609.pdf, pristupljeno 12.7.2015.

<http://www.ias.ac.in/jbiosci/jun2011/377.pdf>, pristupljeno 12.7.2015.

http://vts.uni-ulm.de/docs/2012/8204/vts_8204_11995.pdf, pristupljeno, pristupljeno 2.9.2015.

https://books.google.hr/books?id=GxQqCgAAQBAJ&pg=PA8&lpg=PA8&dq=marmorkrebs+reproduction&source=bl&ots=3YjguP_Qem&sig=r4TiXbgn4UyZ5qCL7fX0z4f0RrY&hl=hr&sa=X&ved=0CF8Q6AEwCGoVChMIz8v2i432xwIVBLsUCh2z5QtD#v=twopage&q=marmorkrebs%20reproduction&f=true, pristupljeno 21.10.2015.

9. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 08.01.1987. godine u Trogiru gdje sam završila osnovnu školu te nakon toga u Kaštel Štafilić-Nehaj srednju školu, smjer veterinarski tehničar. 2005. godine upisala sam preddiplomski studij Biologije i Kemije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Splitu. Tamo sam odslušala i položila sve pedagoške predmete i stručnu pedagošku praksu. Tijekom preddiplomskog studija sam bila članica udruge studenata biologije Lacerta, s kojom sam surađivala na brojnim terenskim istraživanjima. Bila sam uključena i u razne volonterske udruge vezane za zaštitu i uređenje park-šuma Marjan u Splitu, u zoološkom i botaničkom vrtu. 2014. godine upisala sam diplomski studij - Ekologija i zaštita prirode (modul Kopno) na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu, gdje sam bila uključena u udругu studenata Bius, na raznim sekcijama. U slobodno vrijeme bavim se planinarenjem, šetnjom u prirodu te aktivno sudjelujem u zaštiti i očuvanju prirode i okoliša.