

Povezanost morfoloških obilježja i okolišem uvjetovanog fitnesa dagnje (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819)

Ronta, Tea

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:217:093177>

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

Tea Ronta

Povezanost morfoloških obilježja i okolišem
uvjetovanog fitnesa dagnje (*Mytilus galloprovincialis*
Lamarck, 1819)

Diplomski rad

Zagreb, 2016.

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

Zahvaljujem svima koji su sudjelovali na prethodnom terenskom radu, na terenskom dnevniku i pomoći oko snalaženja u laboratoriju, a osobito zahvaljujem mag. Dorotei Polović na ogromnoj pomoći u statističkoj obradi podataka i pisanju završnog rada.

Zahvaljujem se također svim volonterima Laboratorija za ekotoksikologiju koji su izdvojili vrijeme za zapisivanje podataka, osobito Mireli Uzelac.

Zahvaljujem studentu Marcusu A. Lee sa Sveučilišta u Sheffieldu koji mi je pomogao s analizom morfoloških podataka za izradu ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem svim svojim prijateljima i obitelji koji su pomogli pri upisivanju podataka, bili prvi recenzenti, slušali moje žalopojke i bili uvijek uz mene, a naročito roditeljima i baki koji su bili moj oslonac i najveća potpora!

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno–matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

Povezanost morfoloških obilježja i okolišem uvjetovanog fitnesa dagnje (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819)

Tea Ronta

Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb

Morfologija školjkaša je uvjetovana genetskim i okolišnim čimbenicima. Glavni cilj ovog rada bio je utvrditi fitnes populacije dagnji vrste *Mytilus galloprovincialis*, izložene 4 tjedna na 6 lokacija u okolišima različitog stupnja onečišćenja i njegovu uvjetovanost morfološkim obilježjima i fluktuirajućom asimetrijom. Tijekom stres na stres testa dagnje izložene na postajama nižeg stupnja onečišćenja su preživljavale kraće nego one izložene na postajama višeg stupnja onečišćenja. Prikupljeni su podaci za 13 morfometrijskih obilježja mjerenih na ljušturama 900 jedinki. Utvrđena je korelacija širine i fitnesa, pri čemu su uže dagnje preživljavale dulje, neovisno o stupnju zagađenja okoliša. Utvrđeno je da su dagnje prethodno izložene čistim postajama preživljavale dulje ukoliko su imale manji volumen i veću duljinu otiska stražnjeg mišića aduktora, a preživljavanje dagnje izloženih onečišćenim postajama koreliralo je s pozicijom stražnjeg mišića retraktora. Najmanja fluktuirajuća asimetrija zabilježena je za visinu ljušture, a najveća za svojstva vezana uz stražnji mišić retraktor. Veća asimetrija udaljenosti od trbušnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljušture korelirala je s boljim fitnessom dagnji izloženih na čistim postajama. Ovo istraživanje pokazalo je povezanost fitnesa i određenih morfoloških obilježja dagnje, kao i njenu okolišnu uvjetovanost.

Ključne riječi: morfometrija, ekološki čimbenici, stres na stres test, fluktuirajuća asimetrija

(56 stranica, 24 slike, 117 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Voditelj: Doc. dr. sc. Anamaria Štambuk

Ocjenitelji: 1. Doc. dr. sc. Anamaria Štambuk
2. Doc. dr. sc. Zrinka Ljubešić
3. Doc. dr. sc. Duje Lisičić
4. Izv. prof. dr. sc. Ivana Maguire

Rad je prihvaćen: 04. 02. 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology

Graduation Thesis

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

Tea Ronta

Rooseveltovo trg 6, 10 000 Zagreb

The morphology of bivalves is a combined result of genetic and environmental factors. The main objective of this study was to determine the relationship between fitness and morphometric traits in a *Mytilus galloprovincialis* population, exposed at 6 locations in the environments of differing degrees of pollution. Mussels exposed to polluted environments survived longer in stress on stress response test. Data were collected on 13 shell morphological traits for 900 individuals. Shell width correlated with better survival irrespective of the environment the mussels were exposed to. Smaller volume and longer posterior adductor muscle scar increased the survival of mussels that were preexposed to environments of lower anthropogenic pollution, and position of the posterior retractor muscle correlated with the survival of the mussels exposed in polluted environments. Shell height exhibited lowest degree of fluctuating asymmetry, and the traits related to posterior retractor muscle the highest. Higher asymmetry of VPR – a trait related to posterior retractor position correlated with longer survival in mussels exposed to the environments of lower anthropogenic pollution. This study showed correlation between particular morphological traits and fitness of the Mediterranean mussel that was also environmentally conditioned.

Key words: morphometry, environmental factors, stress on stress test, fluctuating asymmetry

(56 pages, 24 figures, 117 references, original in: Croatian)

Thesis deposited in the Central Biological Library.

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

Reviewers: 1. Dr. sc. Anamaria Štambuk, Asst. Prof.

2. Dr. sc. Zrinka Ljubešić, Asst. Prof.

3. Dr. sc. Duje Lisičić, Asst. Prof.

4. Dr. sc. Ivana Maguire Assoc. Prof.

Thesis accepted: 04. 02. 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Osnovna obilježja Mediteranske dagnje.....	1
1.2. Sestrinske vrste i hibridizacija.....	2
1.3. Uloga morfometrije u biološkim istraživanjima.....	3
1.3.1.Tradicionalna morfometrija	3
1.3.2.Geometrična morfometrija.....	4
1.3.3.Fluktuirajuća asimetrija (FA).....	4
1.4. Utjecaj okolišnih faktora na morfologiju dagnje.....	5
1.4.1.Stanište	6
1.4.2.Salinitet i temperatura	7
1.4.3.Prehrana i gustoća populacije	8
1.4.4.Utjecaj predatora	8
1.4.5.Klimatske promijene	10
1.4.6.Onečišćenje	10
1.4.7.Valovi	11
1.5. Rast	12
1.6. Reprodukcijska i stres	13
1.6.1.Stres na stres metoda (SOS).....	14
1.7. Cilj istraživanja.....	16
2. MATERIJALI I METODE.....	17
2.1. Istraživani organizam.....	17
2.2. Područje istraživanja.....	17
2.3. Prikupljanje jedinki i postavljanje kaveza	18
2.4. Metoda stres na stres.....	19
2.5. Fotografiranje ljuštura	19
2.6. Morfometrijska analiza ljuštura.....	20
2.7. Fluktuirajuća asimetrija	22
2.8. Obrada rezultata.....	22

2.8.1. Formula za izračun volumena ljuštore za logaritamski standardizirane podatke.....	23
3. REZULTATI.....	24
3.1. Morfometrijska obilježja	24
3.2. Korelacija između pojedinih morfometrijskih obilježja.....	27
3.3. Preživljavanje tijekom „Stres na stres“ testa	30
3.4. Korelacija morfometrijskih obilježja i preživljavanja (fitnesa) dagnji ..	31
3.5. Fluktuirajuća asimetrija	35
3.6. Korelacija fluktuirajuće asimetrije između 10 morfometrijskih obilježja dagnje	36
3.7. Korelacija fluktuirajuće asimetrije 10 morfometrijskih obilježja i preživljavanja (fitnesa) dagnji.....	39
4. RASPRAVA	40
5. ZAKLJUČAK	45
6. LITERATURA.....	47
ŽIVOTOPIS	56

1. UVOD

1.1. Osnovna obilježja Mediteranske dagnje

Mediteranska dagnja, *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 (Slika 1) je vrsta morskih školjkaša koja pripada porodici Mytilidae. Vrste iz ove porodice formiraju zajednice na stjenovitim obalama u zoni plime i oseke gdje su na dnevnoj bazi izložene kopnenim i morskim uvjetima (Denny i Paine 1998). S obzirom na sposobnost tolerancije okolišnih čimbenika, visoko su tolerantni školjkaši i mogu podnijeti široki raspon okolišnih uvjeta. Odrasle jedinke su sesilne dok su ličinke u planktonu te u tom stadiju mogu provesti i do 10 tjedana (Steffani i Branch 2003) što povećava protok gena i široku rasprostranjenost jedinki (Štambuk i sur. 2013). Tome doprinosi i visoka proizvodnja gameta koja poboljšava sposobnost *M. galloprovincialis* da kolonizira slobodni prostor. Vrlo je kompetitivna i oportunistička vrsta što uključuje brzi rast u širokom rasponu temperature mora (Griffiths i sur. 1992, Hockey i van Erkom Schurink 1992), te otpornost na isušivanje (Hockey i van Erkom Schurink 1992) i parazite (Calvo-Ugarteburu i McQuaid 1998). Rasprostranjivanju, a i utjecaju na autohtone zajednice pridonijeli su prijevoz balastnim vodama te obraštaj trupova brodova (Geller 1999, Robinson i Griffiths 2002). Budući su filtratori, dagnje osiguravaju ekološke niše za druge organizme povećavajući kompleksnost staništa, a time i ukupnu bioraznolikost (Zardi i sur. 2007).

Razni endogeni (genetski i fiziološki) i egzogeni (biotički i abiotički) čimbenici kao na primjer količina hrane, temperatura, pa čak i CO₂ utječu na morfologiju dagnje u vidu visine i širine ljuštura, brzine rasta i sl. (<http://eol.org/pages/449961/details>). Boja ljuštura *M. galloprovincialis* varira od tamno plave ili smeđe do gotovo crne. Dvije ljuštura su gotovo jednake, i glatke su površine. Anteriorno rub ljuštura završava šiljatim i malo savijenim umbom, dok je s posteriorne strane zaobljena (iako oblik ljuštura varira od regije

1.UVOD

do regije). Uobičajena duljina ljuštura iznosi od 5 do 8 cm no mogu narasti do 15 cm.



Slika 1. Mediteranska dagnja *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) (izvor: <https://hr.wikipedia.org/>).

1.2. Sestrinske vrste i hibridizacija

U kompleksu vrsta plavih školjkaša *Mytilus edulis* razlikuju se tri vrste; *M. galloprovincialis* Lamarck, 1819, *Mytilus edulis* Linne, 1758, i *Mytilus trossulus* Gould, 1850. Sve tri vrste su široko rasprostranjene na umjerenim obalama sjeverne i južne polutke, a često su dominantni stanovnici u zonama priobalnih područja. Široki varijetet oblika, kao i uobičajena pojava izmjene genetičkog materijala među populacijama pokazuje da determinacija ovih vrsta nije jednostavna (Shields i sur. 1992). *M. galloprovincialis* se često križa sa sestrinskim vrstama kada se nalaze na istom području (Groenberg i sur. 2011) te su stabilne hibridne zone uspostavljene u područjima gdje su te vrste došle u kontakt (Innes i Bates 1999). Simpatrične populacije pokazuju sličnu morfologiju ljuštura koja može biti posljedica hibridizacije i/ili učinka zajedničkih uvjeta okoliša. Prethodno je dokumentirano za *M. edulis* i *M.*

1.UVOD

galloprovincialis da izloženost zajedničkim okolišnim uvjetima ima veći učinak na morfometriju nego hibridizacija (Gardner 1992) pri čemu su se temperatura mora, salinitet i izloženost valovima ispostavili kao najvažniji okolišni čimbenici koji utječu na razlike u fitnessu hibridnih zona roda *Mytilus* (Riginos i Cunningham 2005). Alopatrijske populacije vrsta roda *Mytilus* pokazuju različitu morfologiju ljuštura što također može biti zbog genetskih i/ili ekoloških čimbenika. Primjerice, oblik ljuštura *M. edulis* je ekscentričan u odnosu na *M. trossulus* koja je više izdužena (Innes i Bates 1999).

1.3. Uloga morfometrije u biološkim istraživanjima

Morfometrija se odnosi na kvantitativnu analizu forme tj. koncepta koji obuhvaća veličinu i oblik. Glavni cilj morfometrijskih istraživanja je statistički ispitati hipotezu o čimbenicima koji utječu na oblik, kovarijancu između ekoloških čimbenika i oblika, razvojnih promjena u obliku, utjecaj mutacija na oblik i slično (<https://en.wikipedia.org/wiki/Morphometrics>). Morfometrijske metode analize ljuštura školjkaša se mogu podijeliti na tradicionalne i geometrijske.

1.3.1. Tradicionalna morfometrija

Tradicionalna morfometrija analizira duljinu, širinu, masu, kut, omjer. Stoga su tradicionalni morfometrijski podaci općenito mjere veličine. Korisni su kada su bilo apsolutne ili relativne veličine od posebnog značaja, kao što je istraživanje rasta, te kada su mjerenja veličine od teorijskog značaja u istraživanjima funkcionalne morfologije. Također su korisni kod utvrđivanja u kojoj mjeri pojedini zagađivači imaju utjecaja na jedinke (Innes i Bates 1999). Mjere se obično uzimaju pomičnom mjerkom ili kaliperom, ručnim mjernim

1.UVOD

instrumentom s preciznošću manjom od milimetra (https://hr.wikipedia.org/wiki/Pomična_mjerka).

1.3.2. Geometrijska morfometrija

Zbog svojih tvrdih i stabilnih ljuštura, školjkaši su izvrsna grupa za primjenu geometrijske morfometrijske metode (Rufino i sur. 2006) koje održavaju glavna geometrijska svojstva bioloških uzoraka (Morais i sur. 2013). Geometrijska morfometrijska analiza je koristan alat za rješavanje obrazaca varijabilnosti morfoloških mjerenja (Reyment i sur. 1984) ako su dimenzije visine i širine ljuštura standardizirane i uspoređene s nekim osnovnim kriterijima mjera. Klasična morfometrijska mjerenja, duljina školjke, visina i debljina, odnosno njihovi omjeri, općenito nisu dovoljni za razlikovanje populacija i/ili vrste. Ova pitanja mogu se prevladati pomoću geometrijske morfometrijske metode, koja omogućuje analizu cjelokupnog oblika jedinke, neovisno o svojoj veličini (Klingenberg 2015).

1.3.3. Fluktuirajuća asimetrija (FA)

Simetrija bioloških struktura može se definirati kao ponavljanje dijelova (tijela) u različitim položajima i međusobnoj orijentaciji. Takva simetrija je temeljno obilježje planova građe tijela većine organizama (Klingenberg 2015). U novije vrijeme razvijeni su alati u području geometrijske morfometrije koji uključuju i metode za proučavanje asimetrije oblika. Asimetrija oblika je gotovo sveprisutna i potvrđena u brojnim, velikim istraživanjima (Klingenberg 2015). Tradicionalno se razlikuju tri vrste asimetrije: direktna (asimetrija smjera ili pravca), fluktuirajuća i antisimetrija.

Fluktuirajuća asimetrija označava male razlike između lijeve i desne strane tijela zbog nepreciznosti u razvojnim procesima. Odstupanja neke osobine, koja se pojavljuje na obje strane tijela, od ciljanog fenotipa, dovode do asimetrije (Klingenberg 2015). Budući da lijeva i desna strana istog organizma dijele isti genom i isti okoliš, znači da dijele istu metu fenotipa i stoga se razlikuju samo u razvojnoj nestabilnosti. Obično se smatra da je razvojna nestabilnost povezana s nižim fitnessom (Handy i sur. 2004). Prema tome zaključak je da fluktuirajuća asimetrija (FA) potječe od slučajnih varijacija u razvojnim procesima.

Prethodna istraživanja također govore o velikom porastu razine FA u hibrida u odnosu na njihove roditeljske linije (Graham 1992, Handy i sur. 2004), a procijenjene razine FA su korištene kao pokazatelj niskog hibridnog fitnessa (Handy i sur. 2004).

1.4. Utjecaj okolišnih faktora na morfologiju dagnje

Morski beskralježnjaci mogu pokazati širok spektar morfoloških varijacija u njihovom prirodnom okruženju. Razvoj fenotipa ovisi o brojnim okolišnim čimbenicima, a njihov utjecaj na fenotip (poput temperature ili predatora) može proizići iz fenotipske plastičnosti (sposobnost genotipa da producira više različitih fenotipa) i/ili selekcije (Whitman i Suchanek 1984). Kao odgovor na utjecaj okolišnih čimbenika organizmi pokazuju varijacije u nizu morfoloških, biokemijskih i fizioloških karakteristika te promjenama u ponašanju. Varijacije u obilježjima ljuštore mogu biti uzrokovane povećanim zakiseljavanjem oceana (Hüning i sur. 2013), prisutnošću predatora (Freeman 2007), valovima (Alunno-Bruscia i sur. 2001), pozicijom u zajednici (Steffani i Branch 2003), količinom dostupne hrane (Reimer i Tedengren 1996), onečišćenjem (Blythe i sur. 2008) i brojnim drugim faktorima. Neka od obilježja ljuštore su čest predmet interesa znanstvenika (McDonald i sur. 1991), poput debljine ljuštore (Zieritz i sur.

1.UVOD

2010), širine, duljine, visine te elemenata unutarnje anatomije poput položaja i veličine mišića aduktora i retraktora (McDonald i sur. 1991, Innes i Bates 1999, Blythe i sur. 2008, Zieritz i sur. 2010).

Varijacije u obliku ljuštore pripisane su dobi (Seed 1968, Brown i sur. 1976 Alunno-Bruscia i sur. 2001, Lauzon-Guay i sur. 2005), a pokazano je i da mali školjkaši rastu brže od velikih (Lauzon-Guay i sur. 2005).

1.4.1. Stanište

Organizmi obično pokazuju morfološke varijacije kao odgovor na svoje okruženje (Lauzon-Guay i sur. 2005). Dagnje iz porodice Mytilidae su najčešći stanovnici kamenitih zona plime i oseke (Seed i Suchanek 1992) te uz to osiguravaju ekološke niše za druge organizme. Iz tog je razloga saznanje odnosa između morfologije školjkaša i svojstava staništa ključno za konzervaciju. Zona plime i oseke (Slika 2) je promjenjiv okoliš u kojem organizmi žive blizu ruba svoje fiziološke tolerancije (Tsuchiya 1983). Čak i slab porast temperature zraka i vode za njih može imati ozbiljne subletalne i letalne posljedice i dovesti do promjena u sastavu zajednica. Dagnje su na dnevnoj bazi izložene i kopnenim i morskim uvjetima, a period izloženosti zraku mijenja se s ciklusom plime i oseke (Denny i Paine 1998). Gornja granica naseljenosti prvenstveno je određena sušom i temperaturnim promjenama, a donje granice uspostavljene su odnosima između vrsta (Connell 1961).



Slika 2. Dagnje u svom prirodnom okolišu (Izvor: <https://www.google.hr/>).

1.4.2. Salinitet i temperatura

Salinitet morske vode i temperatura su najvažnije odrednice distribucije organizama u stjenovitim pojasevima morskih mijena (Hiebenthal i sur. 2012). Varijacije u salinitetu imaju značajne učinke na organizme koji žive u vodi te mogu utjecati na njihovu genetsku strukturu i zemljopisnu raspodjelu (Young 1941).

Istraživanja pokazuju da snižavanje saliniteta (ispod određenog praga) utječe na smanjenu stabilnost ljušture (Blythe i Lea 2008), što je vjerojatno posljedica manje dostupnosti kalcija (Bayne 1976) i karbonata za biomineralizaciju ili energetskih problema zbog hipoosmotičnog stresa (Shields i sur. 2008). Nadalje, analiza morfometrijske varijabilnosti ljušture je pokazala korelaciju s gradijentom saliniteta, prema kojoj se izduženiji primjerci nalaze u području nižeg saliniteta (Valladares 2010). *M. galloprovincialis* se teže prilagođava varijacijama saliniteta dok se s druge strane smatra vrstom najviše tolerantnom na povišenje temperature mora (Thomas i sur. 2010). No, u poikilotermičkih organizama, kao što su školjkaši, temperatura okoline je jedan od glavnih

čimbenika koji utječu na fiziološke i biokemijske procese (Petes i sur. 2007). Sezonski pad populacije može stoga biti povezan s temperaturom tj. toplinskim stresom kao uzrokom smrtnosti u dagnji (Shields i sur. 1992).

1.4.3. Prehrana i gustoća populacije

Dagnje su filtratori koji se hrane širokim spektrom planktonskih organizama; fitoplanktonom, zooplanktonom, bakterijama, i otopljenom organskom tvari (Gavrilović i sur. 2011). Kapacitet rasta dagnje *Mytilus galloprovincialis* ovisi o intra-specifičnoj kompeticiji uzrokovanoj gustoćom uzgoja jedinki. Pokazano je da je uzgojna gustoća važan okolišni faktor za oblik ljuštura roda *Mytilus* (Seed 1968, 1973, Brown i sur. 1976), pri čemu veća gustoća populacije i manja količina dostupne hrane dovode do užih i izduženijih dagnji u odnosu na one koje rastu u uvjetima niske gustoće. Produljenje ljuštura također može omogućiti povoljniji položaj sifona s obzirom na pristup hrani (Senechal i sur. 2008) što se smatra adaptacijom na prehranbenu kompeticiju pri visokim gustoćama populacija (Alunno-Bruscia i sur. 2001). Dagnje uzgojene na visokim gustoćama također se mogu istisnuti na rub populacije gdje su manja ograničenja za otvaranje valvi (Lauzon-Guay i sur. 2005).

1.4.4. Utjecaj predatora

Prisutnost predatora poput rakova, zvijezdača i puževa je važan čimbenik povezan s morfološkom plastičnošću školjkaša (Beadman i sur. 2004, Valladares 2010). Vrste roda *Mytilus* odgovaraju na utjecaj predatora specifičnim morfološkim obilježjima od kojih su neka detaljno istražena, uključujući debljinu ljuštura, povećanje mase mišića aduktora, rast gustoće populacije te povećana produkcija bisusnih niti (Valladares 2010).

1.UVOD

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

U nativnim populacijama dagnje se lakše suočavaju s većim pritiscima grabežljivaca i ostalim čimbenicima okoliša jer mogu koristiti više energije za jačanje ljušture i promicanje rasta mišića aduktora na račun somatskog rasta, dok jedinke koje se nalaze u mirnom akvakulturnom okruženju relativno zaštićenom od grabežljivaca usmjeravaju većinu asimilirane energije za somatski rast. *M. edulis* ubrzava razvoj gonada i/ili povećava reproduktivni napor u prisutnosti predatora (Reimer i sur. 1995). Također, prisutnost predatora ima i druga inducibilna svojstva, kao što su smanjenje disanja i izlučivanja te stope filtriranja (Reimer i sur. 1995), agregacijsko ponašanje i jačanje bisusnih niti (Cote 1995, Reimer i Tedengren 1997).

1.4.5. Klimatske promjene

Povećano antropogeno oslobađanje ugljikovog dioksida (CO₂) u atmosferu uzrokuje zakiseljavanje oceana (Caldeira i Wickett 2003, Hiebenthal i sur.

1.UVOD

2011), što može izravno imati utjecaj na reprodukciju, snagu i formiranje ljuštore kalcificirajućih morskih organizama. Prethodna su istraživanja pokazala značajne učinke zakiseljavanja morske vode na ekspresiju gena, promjene fizioloških odgovora kao i smrtnost ličinki i odraslih te stopu metabolizma (Hiebenthal i sur. 2011, Byne 2011, Melzner i sur. 2012).

Unutrašnja strana ljuštore je osjetljivija na zakiseljavanje. Primjerice, visoki $p\text{CO}_2$ u tjelesnoj tekućini uzrokuje niski pH i niske koncentracije karbonata u izvanplaštanoj tekućini plave dagnje *Mytilus edulis*, koja je u izravnom kontaktu s unutarnjom površinom ljuštore. Otkriveno je da smanjena koncentracija hrane i visoke $p\text{CO}_2$ vrijednosti kod svake jedinke značajno smanjuju rast ljuštore u duljinu (Melzner i sur. 2011).

M. galloprovincialis je osmokonformer i održava svoje tkivne tekućine izoosmotskim s okolnim medijem mobilizacijom i prilagodbom koncentracija tekućine tkiva (Bayne 1986). Iako su stanovnici zone plime i oseke vrlo tolerantni na promjenjive uvjete, abnormalni oceanografski i vremenski uvjeti ponekad prelaze njihove fiziološke tolerancije što rezultira masovnom smrtnosti (Gosling 1992).

1.4.6. Onečišćenje

M. galloprovincialis je indikatorski organizam za biomonitoring morskih ekosustava te procjenu onečišćenja u priobalnom području zbog svoje sesilne prirode i filtrirajućeg hranjenja te akumulacije kemijskih kontaminanata iz morske vode (Hamer i sur. 2008). Skup ekoloških čimbenika varira u zoni plime i oseke, a opstanak i rast populacije školjkaša uglavnom ovisi o sposobnosti tolerancije na snažne fluktuacije okolišnih uvjeta, dodatna zagađenja i stres. Izloženost školjkaša zagađivačima tijekom dužeg vremena može dovesti do neke razine prilagodbe pa su jedinke u zagađenijem okolišu fiziološki

1.UVOD

tolerantnije od jedinki prikupljenih na ne zagađenim područjima pokazujući povišene vrijednosti LT50¹ (Koukouzika i Dimitriadis 2004, Hiebenthal i sur. 2012). Ova činjenica podupire pretpostavku da neki stupanj prilagodbe na zagađenje može biti razvijen u dagnji iz zagađenih područja koje pokazuju povećanu fizičku toleranciju i dugotrajniji opstanak na zraku (Koukouzika i Dimitriadis 2004). Fluktuacije u okolišu mogu dakle uzrokovati širok spektar staničnih odgovora i adaptacije (Shurova 2001).

Veličina i oblik daju različite podatke o fenotipskoj varijabilnosti između populacija dagnji. Morfološke mjere/morfologija dagnji može se povezati sa okolišnim faktorima. Analize morfološke varijabilnosti omogućuju saznanja o funkcionalnoj ulozi visine i širine školjkaša i koliki se udio fenotipske varijabilnosti može pripisati čimbenicima okoliša. Na primjer, visina i širina ljuštura *M. californianus* varirale su u različitim mjestima duž obraštaja školjki što odgovara visini plime. Morfologija ljuštura dagnji relativno sporo odgovara na varijacije okolišnih čimbenika, a promjenjivi okolišni čimbenici posrednik su između izvora varijabilnosti u okolišu i dugoročno, vremenski integriranog odgovora školjkaša očitog iz morfoloških mjerenja. Postoji nekoliko bioloških zapisa u kojima je dokazan učinak antropogeno induciranih promjena u okolišu (kao što je globalno zatopljenje) koje utječu na morfološku varijabilnost populacija izazvanu gradijentima okoliša (Blythe i Lea 2008).

1.4.7. Valovi

Sposobnost organizma da se odupre gibanju vode (valovima) je preduvjet za

¹LT50 je letalno vrijeme (vrijeme do smrti) nakon izlaganja organizma otrovnim tvarima ili stresnom stanju (<https://en.wikipedia.org/wiki/LT50>)

1.UVOD

život u zoni zapljuskivanja valova. Osim što pomiču organizme, valovi reguliraju opskrbu hranom i donos patogena te imaju ključnu ulogu u oblikovanju strukture i dinamike životnih zajednica (Paine i Levin 1981). Oblik ljuštore omogućuje različitu prilagodbu *M. galloprovincialis* na izloženost valovima (Zardi i sur. 2007). Steffani i Branch (2003) su utvrdili da dagnje pokazuju najveći rast i veći kondicijski indeks na obalama umjereno izloženim valovima. Na obalama s visokom izloženosti valovima *M. galloprovincialis* povećava visinu ljuštore te snagu prihvaćanja za podlogu (Gosling 1984, Shields 2008 i sur. 1983). Za podlogu i druge jedinice čvrsto su prihvaćene bisusom, vanstaničnim skupom bjelančevinastih niti koje se luče u ventralnom žlijebu stopala (Waite 1992). Bisusna nit sastoji se od korijena koji je ugrađen u stopalo i povezan s bisusnim retraktornim mišićem, i debla koje se proteže iz korijena i podržava svaku od bisusnih niti koje se uz njega šire u raznim smjerovima te se za supstrat prihvaćaju pomoću ljepljivog plaka (Brown 1952). Proizvodnja niti čini 8–15 % mjesečnog energetskeg troška (Griffiths i King 1979). Okolišni čimbenici kao što su izloženost valovima predvidljivo se mijenjaju što omogućuje analizu različitih izvora varijabilnosti morfologije ljuštore.

1.5. Rast

Prema Gosling (1992, 2003), duljina ljuštore ili težina mesa mogu se koristiti kao pokazatelji rasta školjkaša. Rast i kvaliteta mesa dagnji pokazuju sezonske varijacije na koje prvenstveno utječe sezona mrijesta kao i relevantni lokalni okolišni čimbenici kao što su hidrografski parametri i dostupnost hrane (Hrs-Brenko 1978, Seed 1980, Yildiz i sur. 2006, Karayucel i sur. 2010, Gavrilović i sur. 2011). Smatra se da sezonalne promjene zbog složene interakcije lokalnih okolišnih čimbenika kao što su temperatura, salinitet i zalihe hrane utječu na somatski rast i reproduktivni ciklus (Gosling 1992).

1.UVOD

Dimenzije visine i širine ljuštura se mijenjaju zbog inkrementalnog rasta ljuštura taloženjem. Ljuštura se formira kroz taloženje iona, uglavnom kalcija iz morske vode (Wilbur i Saleuddin 1983). Rast ljuštura može samo djelomično ovisiti o metaboličkom ugljiku (Tanaka i sur. 1986), a može biti i manje osjetljiv na varijabilnosti u dostupnosti hrane od rasta tkiva zbog stalne prisutnosti otopljenog kalcija u morskoj vodi.

1.6. Reprodukcijska i stres

Rast spolnih žlijezda kod školjkaša, a time i mrijest, je potaknut temperaturom mora (mrijeste se uglavnom u doba godine s najvišom temperaturom (Bayne 1976) i vrhuncem fitoplanktonske proizvodnje ljeti. Reproductivno razdoblje u dagnji može varirati od jednog masivnog mrijesta, do nekoliko ponovljenih ciklusa, s više ili manje kontinuiranim oslobađanjem gameta tijekom godine (Seed 1976, Suchanek 1985, Seed i Suchanek 1992). Razdvojena su spola, a mužjaci i ženke mrijeste istovremeno. Reproductivni ciklus *M. edulis* je fenotipski plastičan, odgovarajući na nekoliko okolišnih uvjeta (temperatura, salinitet, sezona, količina hrane itd.) i endogenih signala (Seed 1976, Seed i Suchanek 1992). Na rast i stabilnost populacija neposredno utječe stres uzrokovan okolišem (Hiebenthal i sur. 2012).

Stres je u visokoj plimnoj zoni rezultat smanjenja dostupnosti hrane i povećane izloženosti temperaturi zraka i sušenja za vrijeme oseke. Organizmi koji žive u ovakvom okolišu pokazuju fiziološke posljedice izloženosti stresu, kao što su smanjenje rasta (Petes i sur. 2007), povećana proizvodnja proteina toplinskog šoka (heat shock protein, HSP) (Halpin i sur. 2004), i smrtnost (Tsuchiya 1983, Petes i sur. 2007). Dagnje kao sjedilački organizmi nemaju sposobnost izbjegavanja stresa te usmjeravaju energiju s reprodukcije i rasta prema skupoj

1.UVOD

fiziološkoj obrani (Petes i sur. 2008). U školjkaša koji su pod stresom, energija mora biti raspodijeljena na proizvodnju ljušture i procese odgovora na stres.

Izlaganje zraku u zoni plime i oseke može izazvati oksidativni stres, jer se metabolizam kisika povećava pod visokom temperaturom i sušenjem, što dovodi do povećane proizvodnje ROS-a (reaktivne vrste kisika) (Livingstone 2003). Oksidativni stres može uzrokovati oštećenja DNA, proteina, ugljikohidrata, te lipida (Petes i sur. 2007).

Karotenoidni pigmenti su poznati po svojoj kritičnoj ulozi u obrani od oksidativnog stresa, jer mogu vezati štetne radikale kisika (O_2) i pretvoriti ih u manje štetni vodikov peroksid (H_2O_2) (Petes i sur. 2007). Sve životinje dobivaju karotenoidne pigmente kroz prehranu (Petes i sur. 2007). Dagnje selektivno unose i asimiliraju određene karotenoidne pigmente iz fitoplanktona, u gonade i somatska tkiva (Campbell 1969, 1970). Kombinacija dostupnosti hrane i fizičkog stresa utječe na sadržaj karotenoida u školjkama (Petes i sur. 2008) koji se mijenja s promjenama u gustoći fitoplanktona, ali ovisi o spolu i stupnju zrelosti (Jensen i Sakshaug 1970).

1.6.1. Stres na stres metoda (SOS)

'Stres na stres' (eng. 'Stress on stress' – SOS) test je fiziološki biomarker koji se koristi za procjenu otpornosti dagnji na izlaganje zraku (Kamel i sur. 2014); odnosno mjeri sposobnost dagnji da prežive razdoblje izvan vode.

" Stres na stres " odgovor se smatra još jednim mogućim indeksom općeg stresa, izraženog smanjenim vremenom preživljavanja na zraku zbog onečišćenja mora (Hamer i sur. 2008). Zraku se izlažu jedinke školjkaša koje su već iskusile posljedice nekoliko stresora, kao što su teški metali i organske kemikalije. Jedan stresor može inducirati promjene u ponašanju i metaboličkoj reakciji koji

1.UVOD

dovode do rezistencije na drugi stresor; alternativno stresor može smanjiti zdravlje ili stanje do te mjere da je zajednica više osjetljiva na utjecaj drugog stresora (Trush i sur. 2012). Ovaj biomarker se pokazao učinkovit i u laboratorijskim i u terenskim istraživanjima (Hamer i sur. 2008) jer vrijeme opstanka na zraku može ukazati na opće zdravlje organizma (Hamer i sur. 2008).

1.7. Cilj istraživanja

Ovim istraživanjem želi se dobiti uvid u značaj pojedinih morfoloških obilježja za fitnes u različitim uvjetima okoliša. Specifični ciljevi ovog diplomskog rada su:

- 1) analizom velikog broja jedinki iz iste populacije utvrditi intrapopulacijsku varijabilnost pojedinih morfometrijskih obilježja dagnje, kao i fluktuirajuću asimetriju pojedinih obilježja;
- 2) utvrditi na koji način kratkotrajno izlaganje različitim okolišnim uvjetima utječe na fitnes dagnje;
- 3) istražiti utječu li pojedina fenotipska obilježja na fitnes dagnji i da li je ta povezanost ovisna o specifičnim uvjetima okoliša.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Istraživani organizam

vrsta: *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819)

porodica: Mytilidae

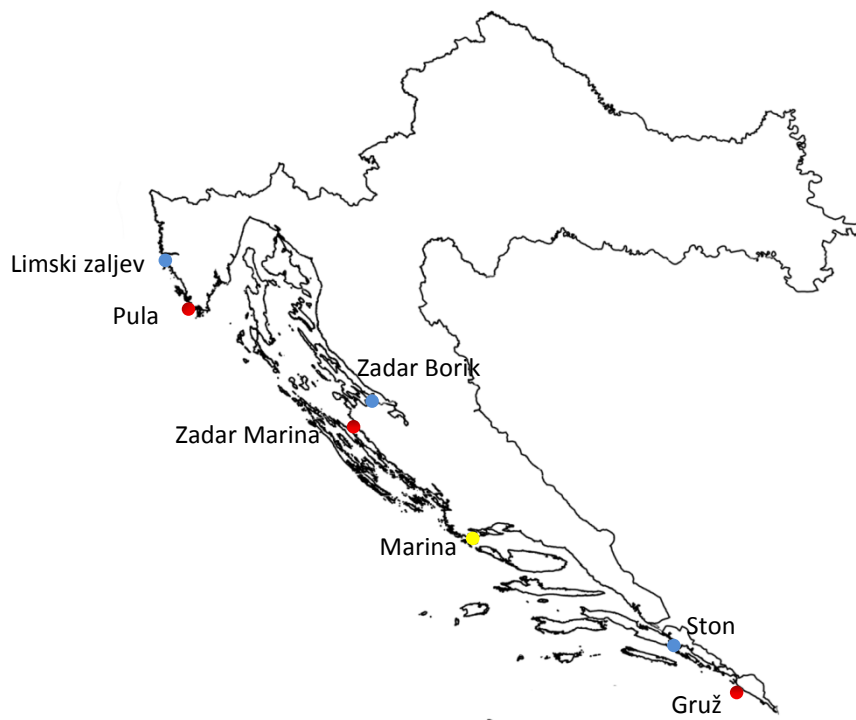
red: Mytilioida

koljeno: Mollusca

2.2. Područje istraživanja

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

Iz uzgajališta Marina (uzgajalište dagnji blizu Trogira) prikupljeno je s postaje niskog stupnja antropogenog onečišćenja 900 jedinki jedne populacije dagnji. Kako bi istražili povezanost morfoloških obilježja dagnji i fitnesa u određenom okolišu izložili smo u skupinama od 150 jedinki na šest prirodnih lokacija (onečišćene i čiste postaje) u 3 geografske regije duž hrvatskog dijela jadranske obale (Slika 3): od sjevernog (PLT - Pula, LBT - Limski zaljev), srednjeg (ZBT - Zadar Borik, ZMT - Zadar Marina), do južnog Jadrana (GZT – Gruž, luka, SUT - Ston); od čega su tri postaje niskog stupnja onečišćenja (LBT - Limski zaljev, ZBT – Borik, SUT - Ston, uzgajališta dagnji), a tri visokog stupnja onečišćenja (PLT - Pula, prometna luka, izložena slabo pročišćenim komunalnim, industrijskim i brodogradilišnim otpadnim vodama, ZMT - Zadar Marina, i GZT - Gruž, sidrište kruzera, u koje dospjeva i mehanički obrađena komunalna otpadna voda iz Dubrovnika).



Slika 3. Geografski smještaj promatranih lokaliteta.

2.3. Prikupljanje jedinki i postavljanje kaveza

Nativne dagnje skupljene su na području uzgajališta Marina u proljeće 2014. godine na dubini od 0,5 do 1 m.

Jedinke su poslagane u ručno rađene kaveze (Slike 4 i 5), dimenzija 100 cm x 100 cm. Za izradu smo koristili drvene daskice i mrežu od polipropilena, koja je držala dagnje gotovo nepomično u kavezu kako bi sve jedinke bile jednako

2. MATERIJALI I METODE

izložene vanjskim čimbenicima, te zaštićene od predatora. Kaveze smo spustili na dubinu od prosječno jednog metra, te usidrili. Dagnje iz Marine postavljene su u dvije replike na svakoj postaji. Eksperiment je trajao četiri tjedna.



Slika 4. Izrada kaveza za eksperiment.



Slika 5. Ručno rađen kavez (dimenzija 100x100cm) s dagnjama.

2.4. Metoda stres na stres

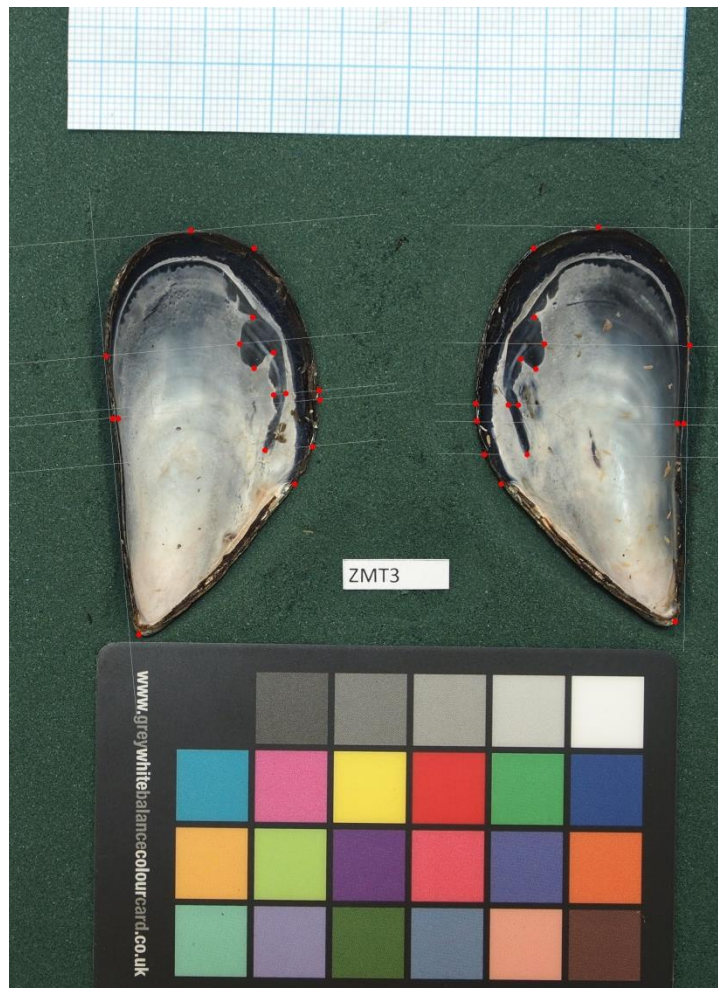
Nakon 4 tjedna izlaganja dagnje smo izvadili iz kaveza, očistili od obraštaja, te smo ih podvrgnuli „stres na stres“ (eng. "stress on stress", SOS) metodi kako bi utvrdili njihov fitness. Dagnje su ostavljene na zraku na vlažnom filter papiru te je svaki dan u isto vrijeme zabilježen broj preživjelih, odnosno uginulih jedinki. Nakon uginuća ljuštura smo očistili od tkiva, te se svaka ljuštura prethodno oprana u etanolu spremala u papirnate košuljice s oznakom jedinke.

2.5. Fotografiranje ljuštura

Pomoću fotoaparata Olympus digital camera 7.2V (model NO. E-PL1, leća M. ZUIKO DIGITAL 14-22mm) ljušturu svake jedinke smo fotografirali u laboratoriju (Slika 6). Ljuštura su stavljane na tamnu podlogu s milimetarskim papirom i trakicom oznake, te im je fotografirana unutrašnja strana (Slika 6). Uvjeti osvjetljenja bili su standardizirani. Na fotografijama ljuštura su vidljivi

2. MATERIJALI I METODE

ožiljci gdje su za ljušturu bili prihvaćeni stražnji mišić aduktor i retraktor, te rub plašta.



Slika 6. Unutrašnja strana ljušture fotografirana pod standardiziranim svjetlosnim uvjetima i analizirana u programu ImageJ.

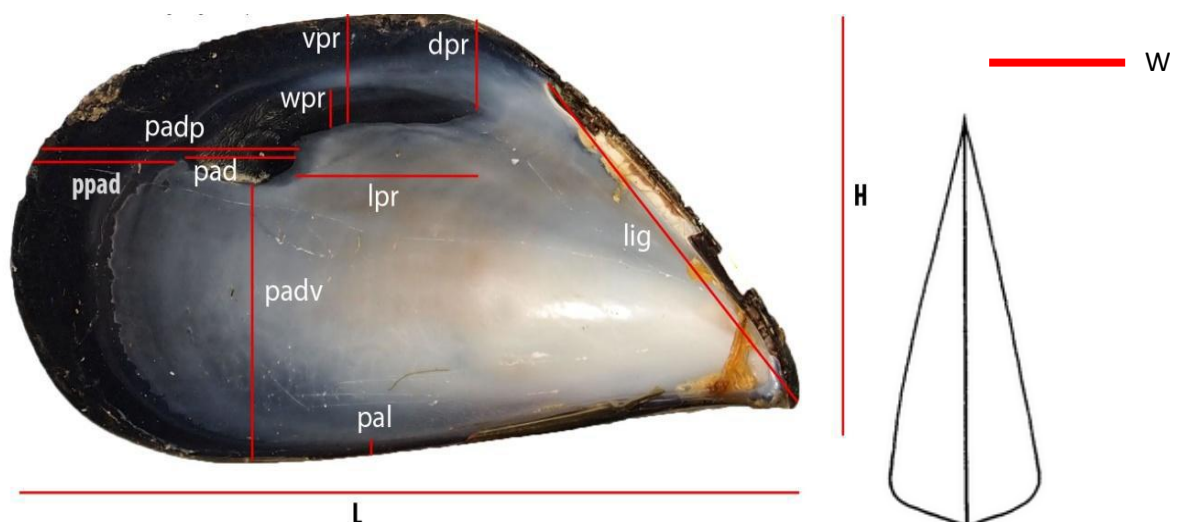
2.6. Morfometrijska analiza ljuštura

Pomoću ImageJ programa izmjerili smo 13 morfometrijskih obilježja (Slika 7) na obje ljuštore svake jedinice (duljina, širina i visina ljuštore, duljina otiska stražnjeg mišića aduktora – PAD, duljina otiska stražnjeg mišića retraktora – LPR, širina otiska stražnjeg mišića retraktora – WPR, udaljenost od ventralnog

2. MATERIJALI I METODE

rubu stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore – VPR, udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore – DPR, udaljenost od stražnjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PPAD, udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PADP, udaljenost od ventralnog ruba stražnjeg mišića aduktora do ventralnog ruba ljuštore – PADV, udaljenost od plaštene linije do ventralnog ruba ljuštore – PAL, i duljina ligamenta - LIG). Izvagali smo lijevu i desnu ljušturu svake jedinke kako bi dobili masu, a s podacima visine, duljine i širine ljuštura izračunali smo volumen.

Tako prikupljene podatke statistički smo obradili da se utvrdi povezanost morfoloških obilježja i fitnesa u ovisnosti o okolišu u kojem su jedinke izlagane. S obzirom da se većina obilježja mjerila na obje ljuštore, na osnovi morfometrijskih podataka utvrdit će se fluktuirajuća asimetrija i poveznica s fitnessom.



Slika 7. Morfometrijski parametri ljuštore dagnje *M. galloprovincialis* mjereni u ovom istraživanju.

2. MATERIJALI I METODE

2.7. Fluktuirajuća asimetrija

U svrhu određivanja fluktuirajuće asimetrije između lijeve i desne ljuštore, na manjem pod uzorku od 150 jedinki analizirali smo 10 fenotipskih karakteristika ljuštore; masa ljuštore - MASS, visina ljuštore – H, duljina ligamenta – LIG, duljina otiska stražnjeg mišića retraktora – LPR, širina otiska stražnjeg mišića retraktora – WPR, udaljenost od ventralnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore – VPR, udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore – DPR, udaljenost od stražnjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PPAD, udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PADP, udaljenost od ventralnog ruba stražnjeg mišića aduktora do trbušnog ruba ljuštore – PADV. Kako bi procijenili asimetriju izračunali smo apsolutnu vrijednost razlike između lijeve i desne ljuštore za svako obilježje.

2.8. Obrada rezultata

Morfometrijska su obilježja analizirana na 900 jedinki jedne populacije. Svi izmjereni morfometrijski parametri standardizirani su logaritamski i na duljinu ljuštore. Rezultati su statistički obrađeni korištenjem programa Microsoft Excel (Microsoft 2007), STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc. 2007) i R (R Core Team 2012). Statistički značajne razlike između postaja prema morfometrijskim obilježjima utvrđene su analizom varijance ANOVA i post hoc TukeyHSD testom u programu STATISTICA 8.0. Rezultati su prikazani grafovima, na kojima svaki stupac predstavlja jednu postaju te su iznad svake postaje prikazana slova koja označavaju statistički značajnu različitost. Ukoliko postaja ima barem jedno isto slovo kao i neka druga, znači da između te dvije postaje nije utvrđena statistički značajna razlika. Korelacije između morfoloških

2. MATERIJALI I METODE

karakteristika kao i fluktuirajuće asimetrije s fitnessom dobivene su pomoću statističkog programa R.

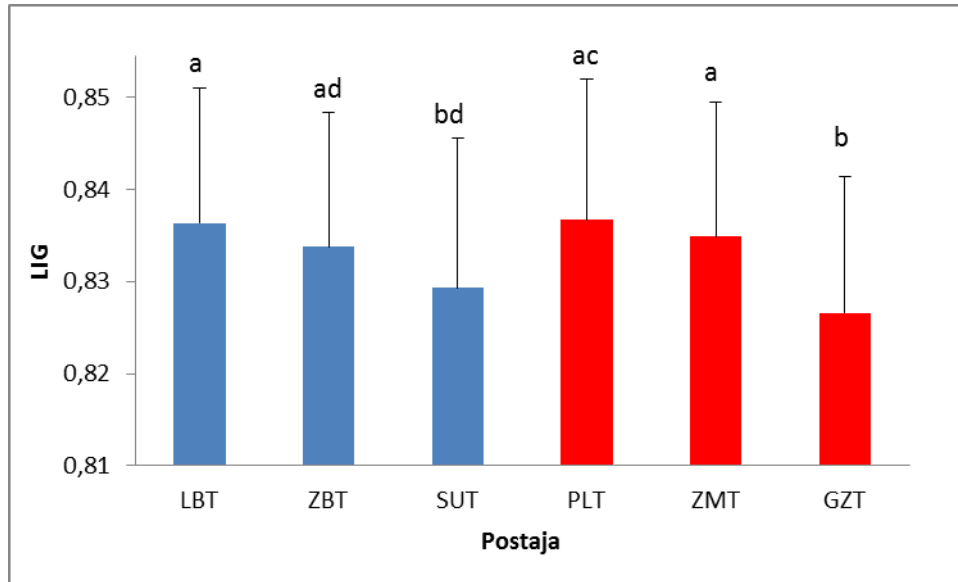
2.8.1. Formula za izračun volumena ljuštore za logaritamski standardizirane podatke

$V = \log((4/3 * \pi) * \text{visina} * \text{širina} * \text{duljina ljuštore}) / \log(\text{duljina ljuštore})$ (Shields i sur. 2008).

3. REZULTATI

3.1. Morfometrijska obilježja

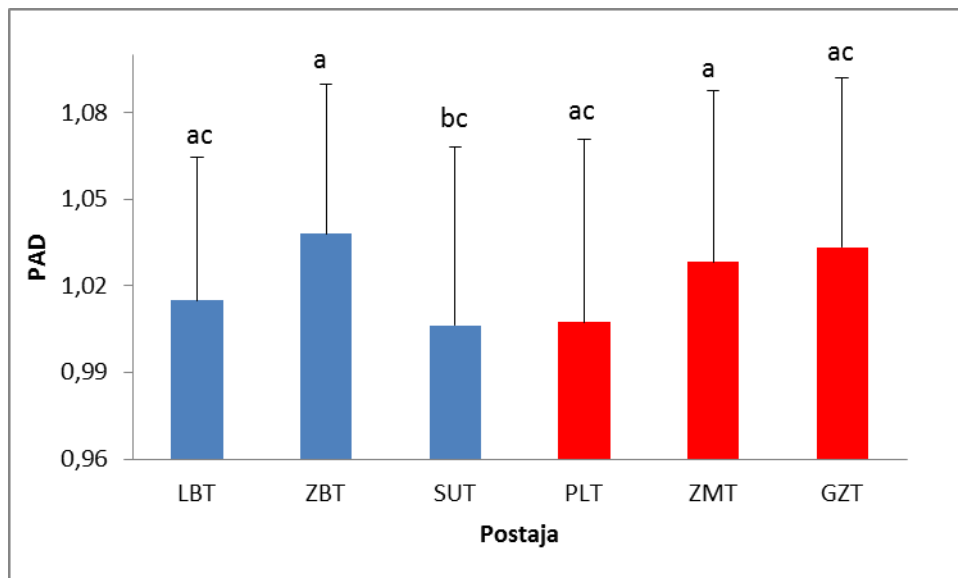
Kako bismo utvrdili intraspecijsku morfološku varijabilnost analizirali smo 13 morfoloških karakteristika 900 jedinki unutar jedne populacije. Rezultate smo kategorizirali s obzirom na postaje kojima smo dagnje izlagali u transplant eksperimentu. Unutar populacije jedinke su se najviše razlikovale prema duljini ligamenta (Slika 8) te obilježjima koja su povezana sa stražnjim mišićem aduktorom - duljina otiska stražnjeg mišića aduktora – PAD, udaljenost od ventralnog ruba stražnjeg mišića aduktora do ventralnog ruba ljuštore – PADV, udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PADP (Slika 9).



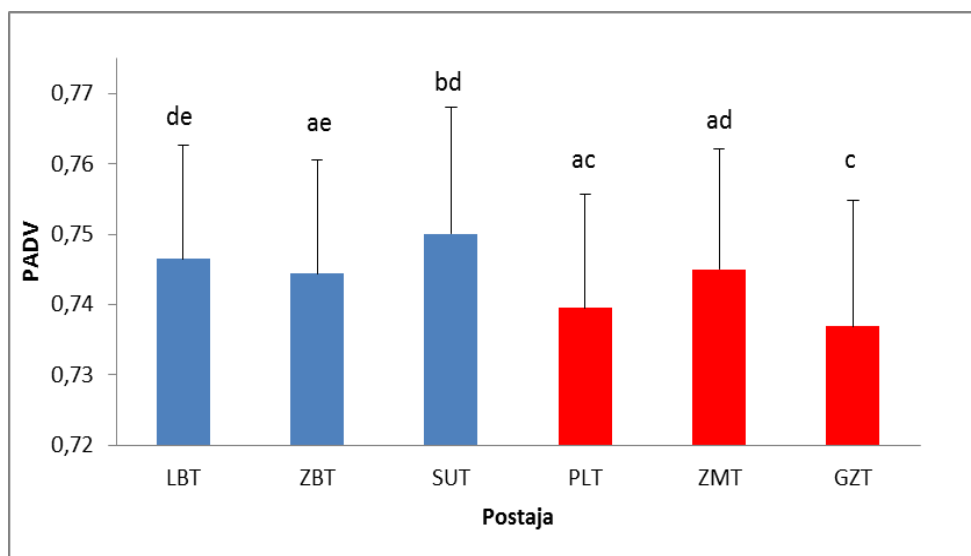
Slika 8. Morfometrijska obilježja (sr. vr \pm st. dev) native populacije dagnji *M. galloprovincialis* uzorkovanih u proljeće 2014. godine određena ImageJ programom. Sve mjere izražene su u mm. Podaci za duljinu ligamenta logaritamski su transformirani i standardizirani na duljinu ljuštore. Različita slova označavaju statistički značajno različite postaje ($p < 0,05$). Plava boja predstavlja postaje s niskim stupnjem onečišćenja, a crvena

3. REZULTATI

postaje s visokim stupnjem onečišćenja. (LBT = Limski zaljev, ZBT = Zadar Borik, SUT = Ston, PLT = Pula, ZMT = Zadar Marina, GZT = Gruž).



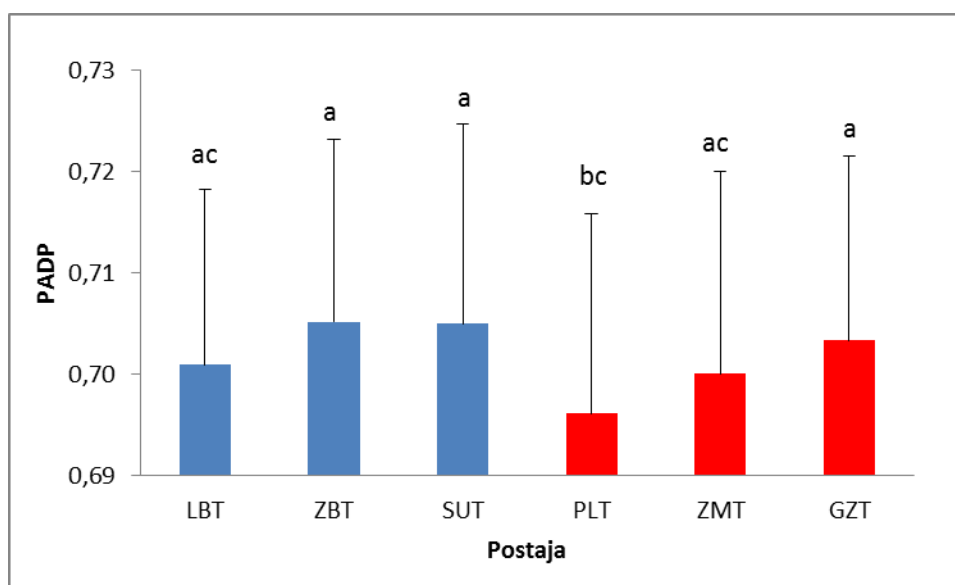
Slika 9. Morfometrijska obilježja (sr. vr ± st. dev) native populacije dagnji *M. galloprovincialis* uzorkovanih u proljeće 2014. godine određena ImageJ programom. Sve mjere izražene su u mm. Podaci za duljinu otiska stražnjeg mišića aduktora – PAD su transformirani i standardizirani na duljinu ljušture. Različita slova označavaju statistički značajno različite postaje ($p < 0,05$). Plava boja predstavlja postaje s niskim stupnjem onečišćenja, a crvena postaje s visokim stupnjem onečišćenja. (LBT = Limski zaljev, ZBT = Zadar Borik, SUT = Ston, PLT = Pula, ZMT = Zadar Marina, GZT = Gruž).



Slika 10. Morfometrijska obilježja (sr. vr ± st. dev) native populacije dagnji *M. galloprovincialis* uzorkovanih u proljeće 2014. godine određena ImageJ programom. Sve

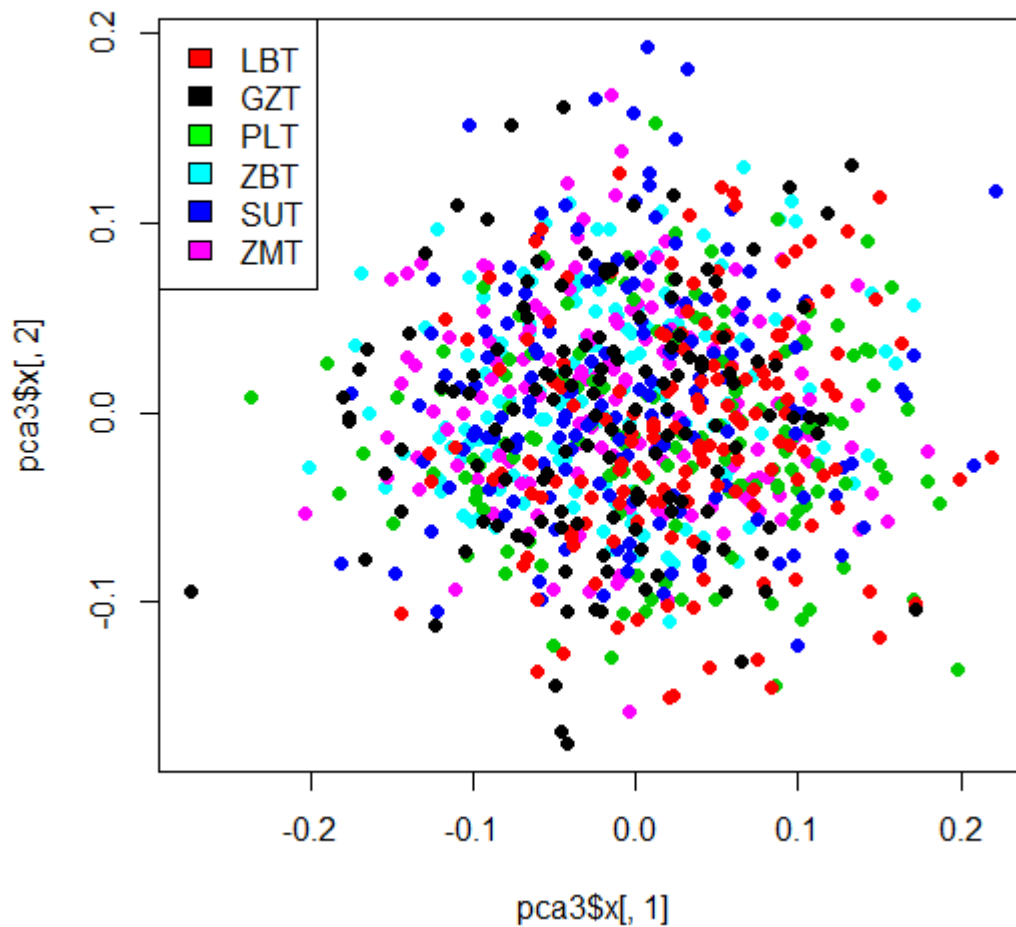
3. REZULTATI

mjere izražene su u mm. Podaci za udaljenost od ventralnog ruba stražnjeg mišića aduktora do ventralnog ruba ljuštore – PADV su transformirani i standardizirani na duljinu ljuštore. Različita slova označavaju statistički značajno različite postaje ($p < 0,05$). Plava boja predstavlja postaje s niskim stupnjem onečišćenja, a crvena postaje s visokim stupnjem onečišćenja. (LBT = Limski zaljev, ZBT = Zadar Borik, SUT = Ston, PLT = Pula, ZMT = Zadar Marina, GZT = Gruž).



Slika 11. Morfometrijska obilježja (sr. vr \pm st. dev) native populacije dagnji *M. galloprovincialis* uzorkovanih u proljeće 2014. godine određena ImageJ programom. Sve mjere izražene su u mm. Podaci za udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PADP su transformirani i standardizirani na duljinu ljuštore. Različita slova označavaju statistički značajno različite postaje ($p < 0,05$). Plava boja predstavlja postaje s niskim stupnjem onečišćenja, a crvena postaje s visokim stupnjem onečišćenja. (LBT = Limski zaljev, ZBT = Zadar Borik, SUT = Ston, PLT = Pula, ZMT = Zadar Marina, GZT = Gruž).

Za analizu glavnih komponenti (eng. Principal component analysis - PCA) uzeti su svi morfometrijski podaci (13 morfoloških karakteristika) za sve subpopulacije uzorkovane u proljeće 2014. godine. Analiza je pokazala da se subpopulacije nisu značajno razlikovale (odvajale) na osnovu seta morfometrijskih obilježja (Slika 12).



Slika 12. Analiza glavnih komponenti provedena na 13 morfometrijskih obilježja 6 subpopulacija jedne populacije dagnje *M. galloprovincialis* izloženih u proljeće 2014. godine duž sjeverne, srednje i južne obale Jadrana. (LBT = Limski zaljev, GZT = Gruž, PLT = Pula, ZBT = Zadar Borik, SUT = Ston, ZMT = Zadar Marina).

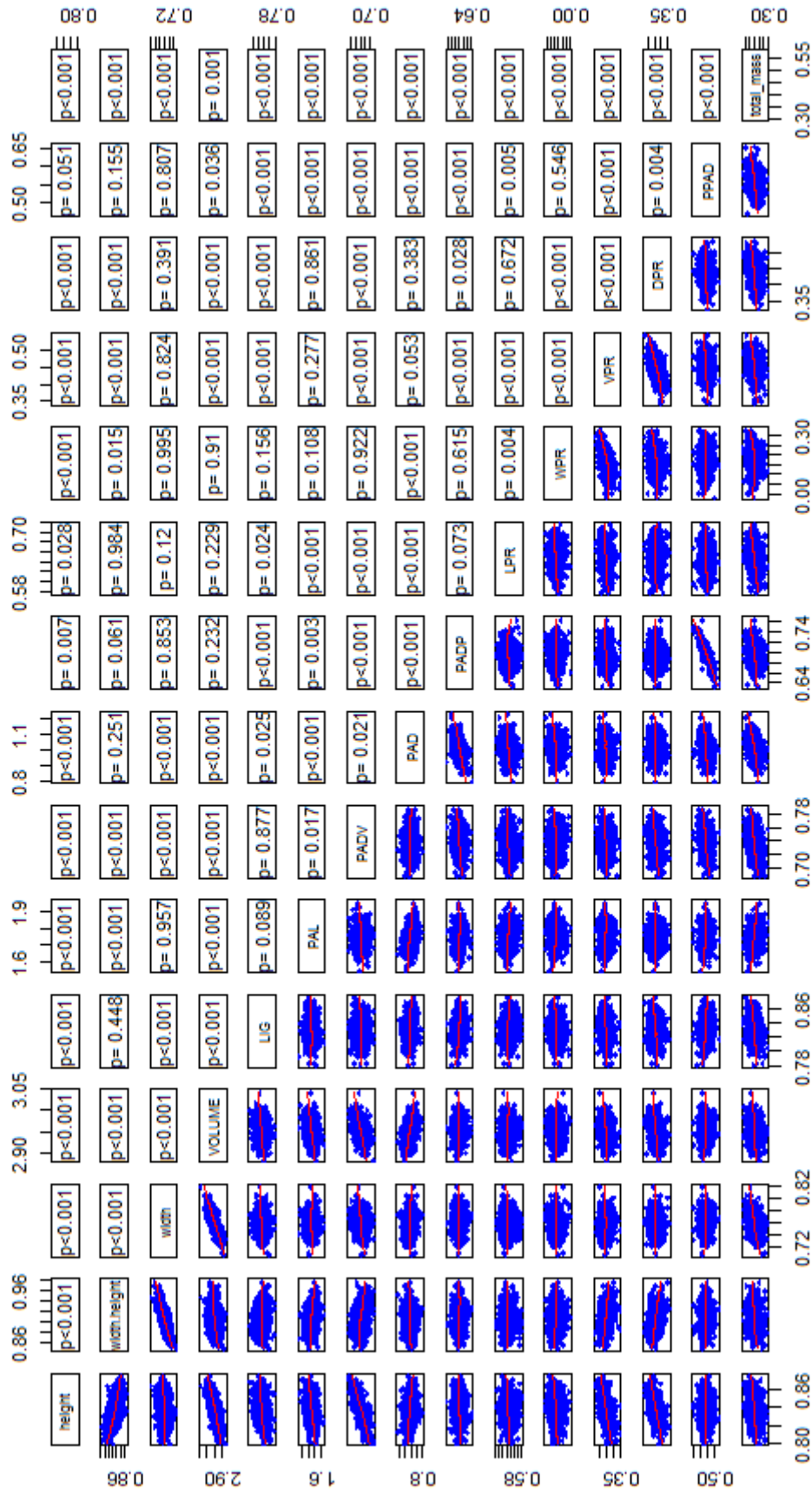
3.2. Korelacija između pojedinih morfometrijskih obilježja

Rezultati pokazuju niz značajnih korelacija ($p < 0.05$) među pojedinim fenotipskim obilježjima dagnji te su prikazani u obliku korelacijske tablice pojedinih morfometrijskih obilježja (Slika 13). Zanimljivo je da masa ljuštore korelira pozitivno sa svim promatranim obilježjima. Najveća korelacija ($p \leq 0,001$) je zabilježena između visine ljuštore i volumena, a visina također korelira

3. REZULTATI

još s udaljenosti od ventralnog ruba stražnjeg mišića aduktora do ventralnog ruba ljuštore – PADV te udaljenosti od ventralnog ruba stražnjeg mišića retraktora do lednog ruba ljuštore – VPR. Širina ljuštore normirana na duljinu visoko je pozitivno korelirana sa širinom normiranom na visinu te s volumenom. Značajnu korelaciju su pokazala obilježja povezana sa stražnjim mišićem retraktorom pa tako VPR osim sa visinom još korelira sa širinom otiska stražnjeg mišića retraktora – WPR i udaljenosti od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do lednog ruba ljuštore – DPR. Pozitivne korelacije su zabilježene i među obilježjima vezanim uz stražnji mišić aduktor gdje udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PADP korelira s udaljenosti od stražnjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PPAD i duljinom otiska stražnjeg mišića aduktora – PAD. PADP pokazuje pozitivnu korelaciju i s duljinom ligamenta – LIG.

3. REZULTATI

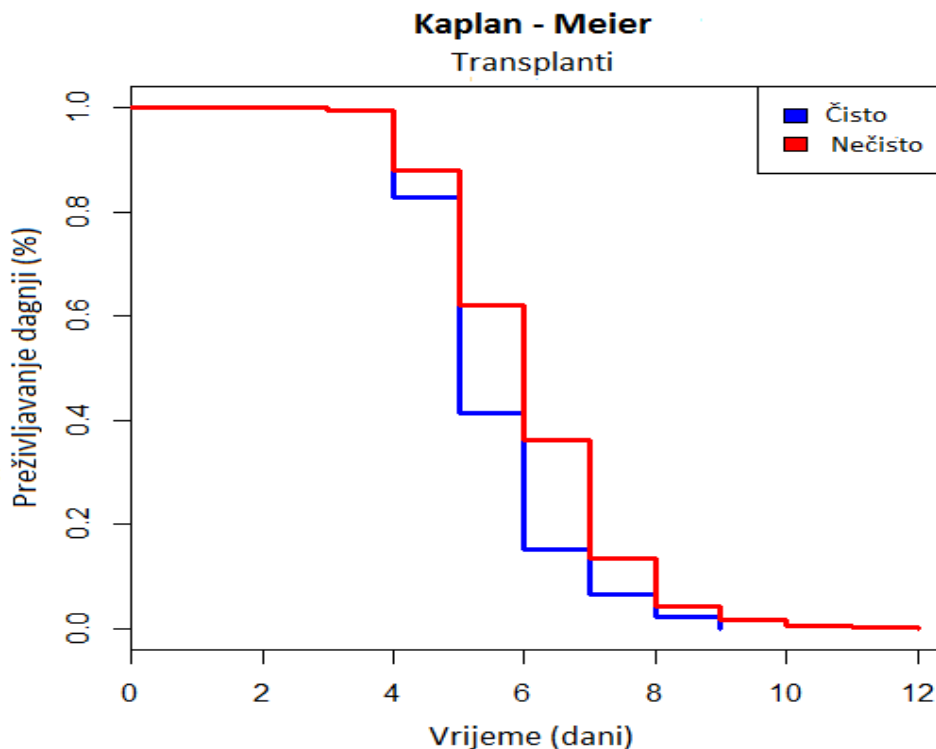


Slika 13. Korelacija između morfometrijskih obilježja dagnji u proljeće 2014. Statistički značajne korelacije pokazuju vrijednosti $p < 0.001$. Svi podaci standardizirani su logaritamski i na duljinu ljuštare.

3. REZULTATI

3.3. „Stres na stres“

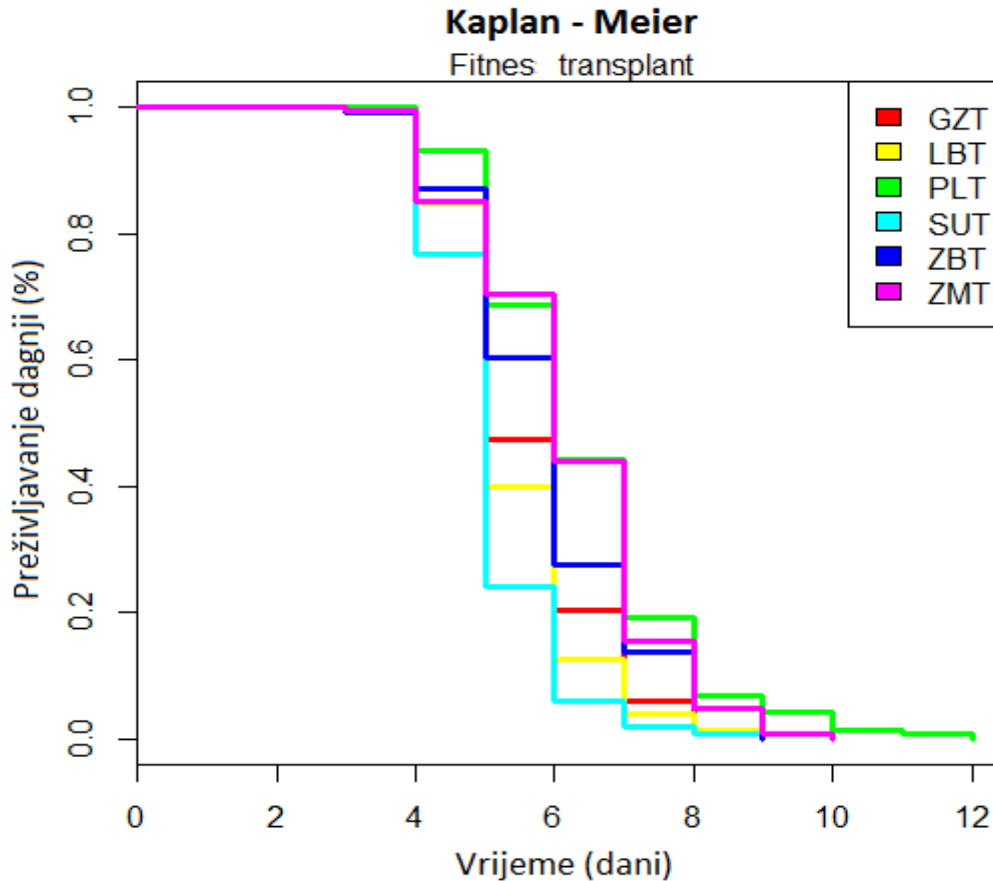
Nakon 4 tjedna aklimatizacije u okolišima različitog stupnja antropogenog utjecaja (6 subpopulacija), iste smo jedinice dagnji izložili stresnim uvjetima, ostavljajući ih na zraku s visokom količinom vlage. Preživljavanje jedinki je variralo od subpopulacije do subpopulacije te se s vremenom ubrzano smanjivalo. SOS metoda je pokazala da su dagnje koje su bile izložene na postajama nižeg stupnja onečišćenja (LBT = Limski zaljev, ZBT = Zadar Seline, SUT = Ston) imale manji fitness (Slika 14). Maksimalni broj dana preživljavanja je za ove jedinice bio 9, dok su jedinice izložene postajama višeg stupnja onečišćenja (GZT = Gruž, PLT = Pula, ZMT = Zadar Marina) preživjele do 12 dana na zraku. Najdulje su živjele dagnje s postaje PLT (Pula), dok su najbrži mortalitet pokazale jedinice s čiste postaje SUT (Ston) (Slika 15).



Slika 14. Mortalitet dagnji u eksperimentu „Stres na stres“ koje su predhodno bile izložene postajama s nižim stupnjem onečišćenja (plava linija; LBT = Limski zaljev, ZBT = Zadar

3. REZULTATI

Borik, SUT = Ston), u odnosu na one izložene postajama s višim stupnjem onečišćenja (crvena linija; GZT = Gruž, PLT = Pula, ZMT = Zadar Marina).

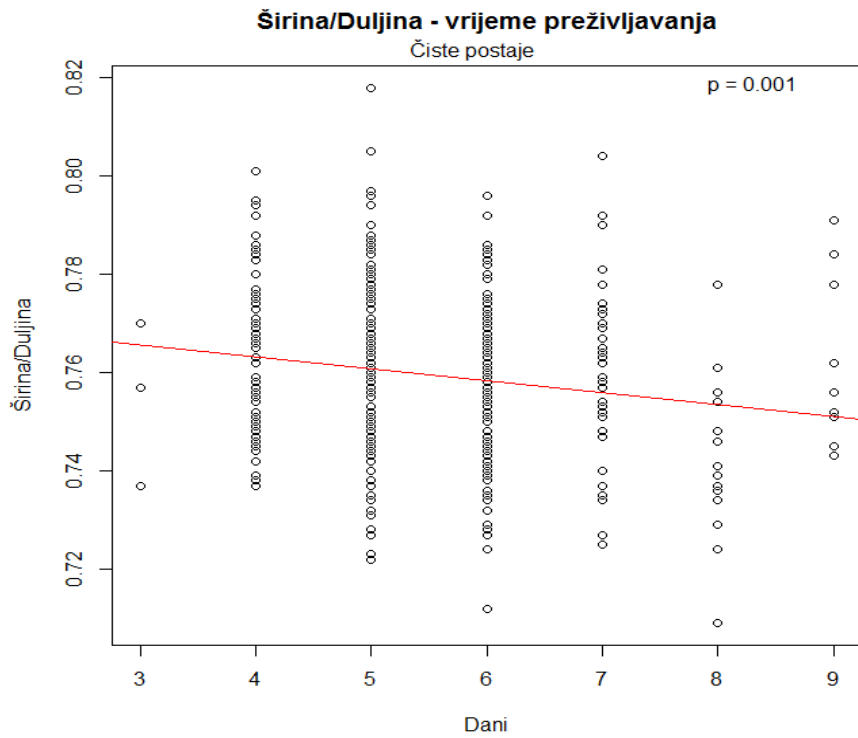


Slika 15. Vrijeme preživljavanja dagnji u eksperimentu „Stres na stres“ sa svake pojedine postaje.

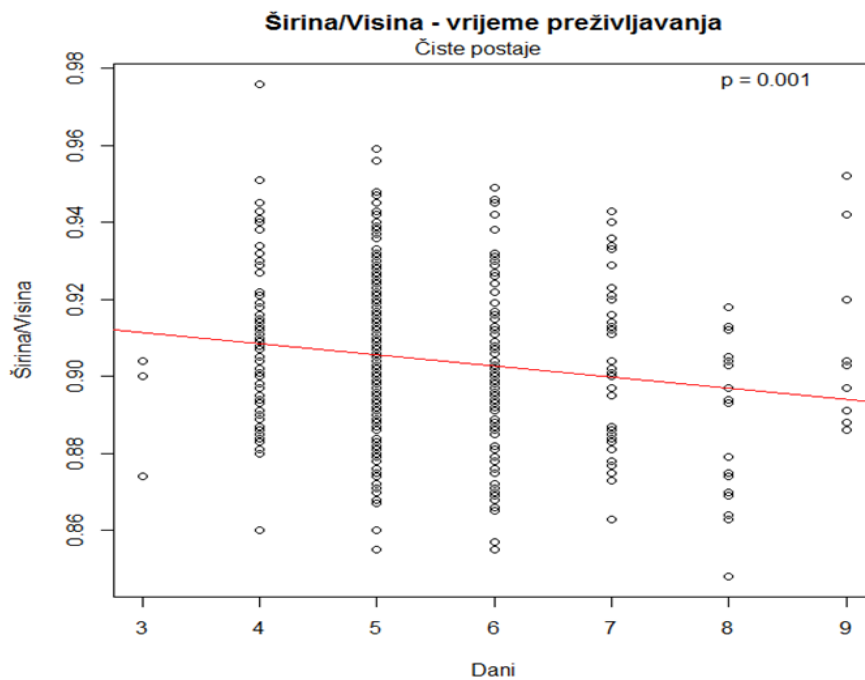
3.4. Korelacija morfometrijskih obilježja i preživljavanja (fitnesa) dagnji

Rezultati 'Stres na stres' eksperimenta provedenog u laboratoriju nakon transplant eksperimenta u prirodi pokazuju negativnu korelaciju između fitnesa dagnji (preživljavanje) prethodno izloženih na čistim postajama i širine ljuštore standardizirane na duljinu i visinu (Slike 16 i 17), dok je preživljavanje dagnji prethodno izloženih onečišćenim postajama značajno negativno korelirano sa širinom standardiziranom na visinu (Slika 18).

3. REZULTATI

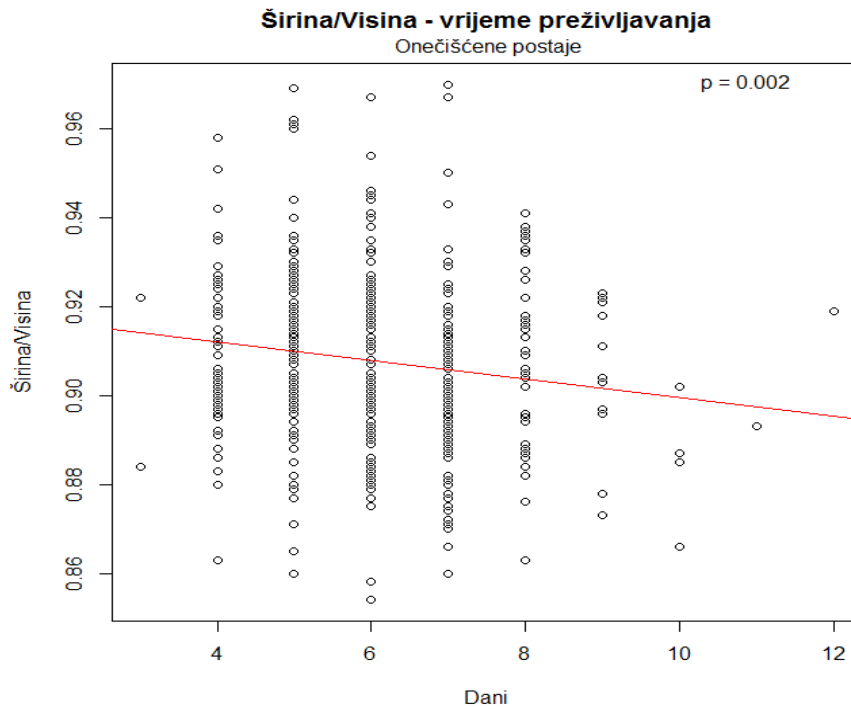


Slika 16. Korelacija fitnessa dagnji (preživljavanje) prethodno izloženih čistim postajama i širine standardizirane na duljinu.



Slika 17. Korelacija fitnessa dagnji (preživljavanje) prethodno izloženih čistim postajama i širine standardizirane na visinu.

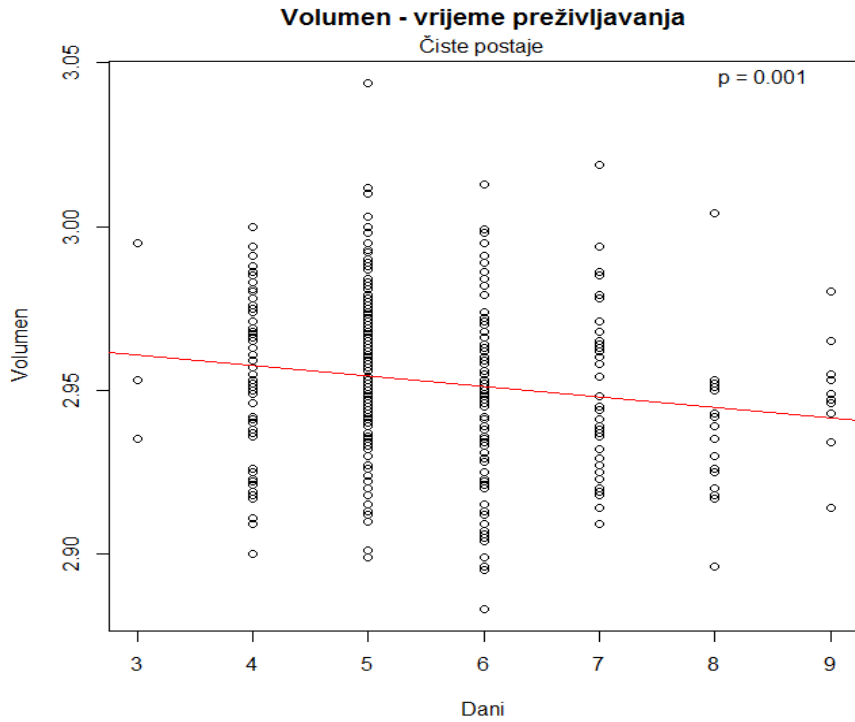
3. REZULTATI



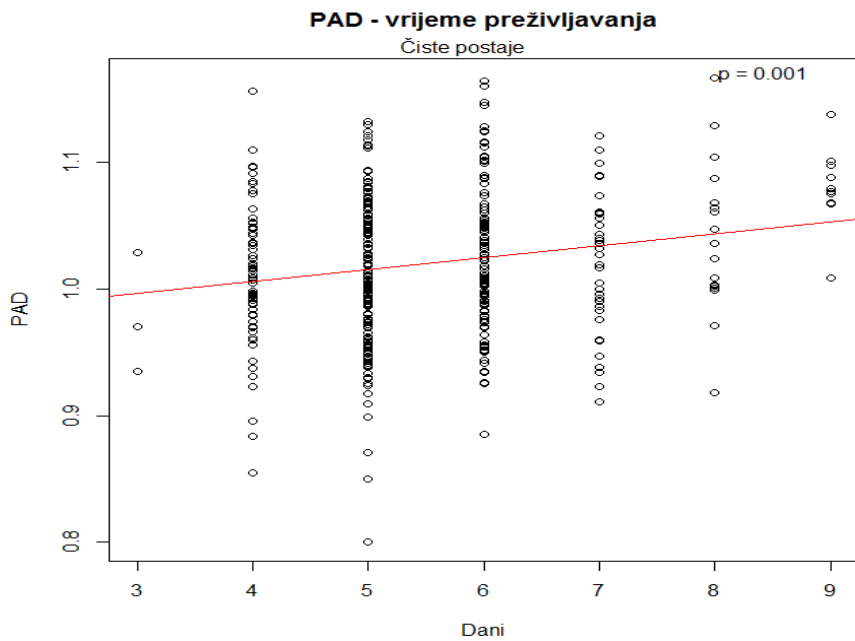
Slika 18. Korelacija fitnesa dagnji (preživljavanje) prethodno izloženih onečišćenim postajama i širine standardizirane na visinu.

Rezultati su također pokazali da su dagnje prethodno izložene čistim postajama preživljavale dulje ukoliko su imale manji volumen i veću duljinu otiska stražnjeg mišića aduktora – PAD (Slike 19 i 20). Dagnje izložene onečišćenim postajama nisu pokazale korelaciju između preživljavanja i navedenih morfoloških karakteristika, no zabilježena je pozitivna korelacija između preživljavanja tih dagnji i udaljenosti od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore – DPR (Slika 21). Konačno, rezultati su pokazali korelaciju između širine i fitnesa, pri čemu su uže dagnje preživljavale dulje, prethodno izložene i čistom i onečišćenom okolišu.

3. REZULTATI

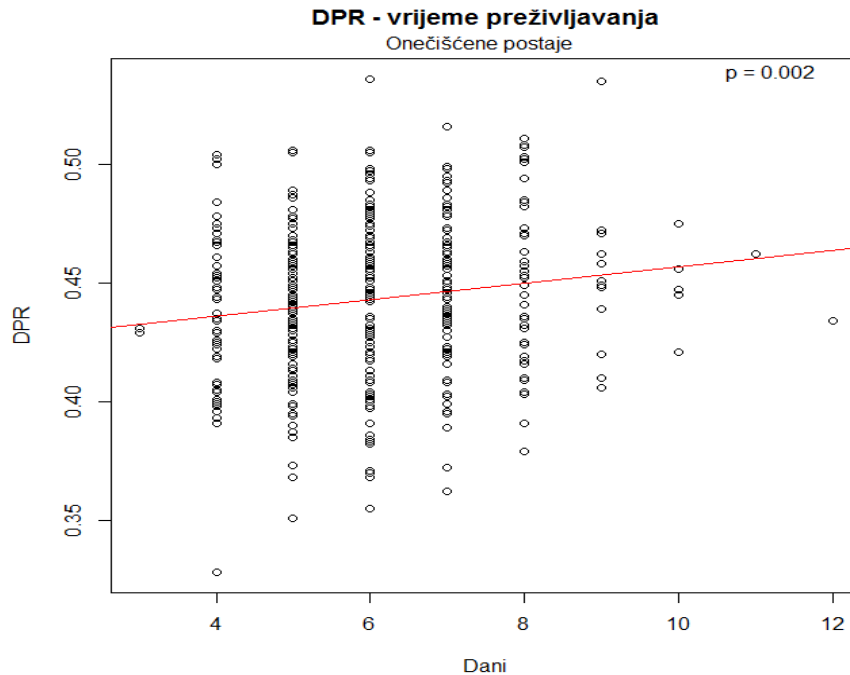


Slika 19. Korelacija fitnessa dagnji (preživljavanje) prethodno izloženih čistim postajama i volumena.



Slika 20. Korelacija fitnessa dagnji (preživljavanje) prethodno izloženih čistim postajama i duljine otiska stražnjeg mišića aduktora – PAD.

3. REZULTATI



Slika 21. Korelacija fitnesa dagnji (preživljavanje) prethodno izloženih onečišćenim postajama i udaljenosti od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore – DPR.

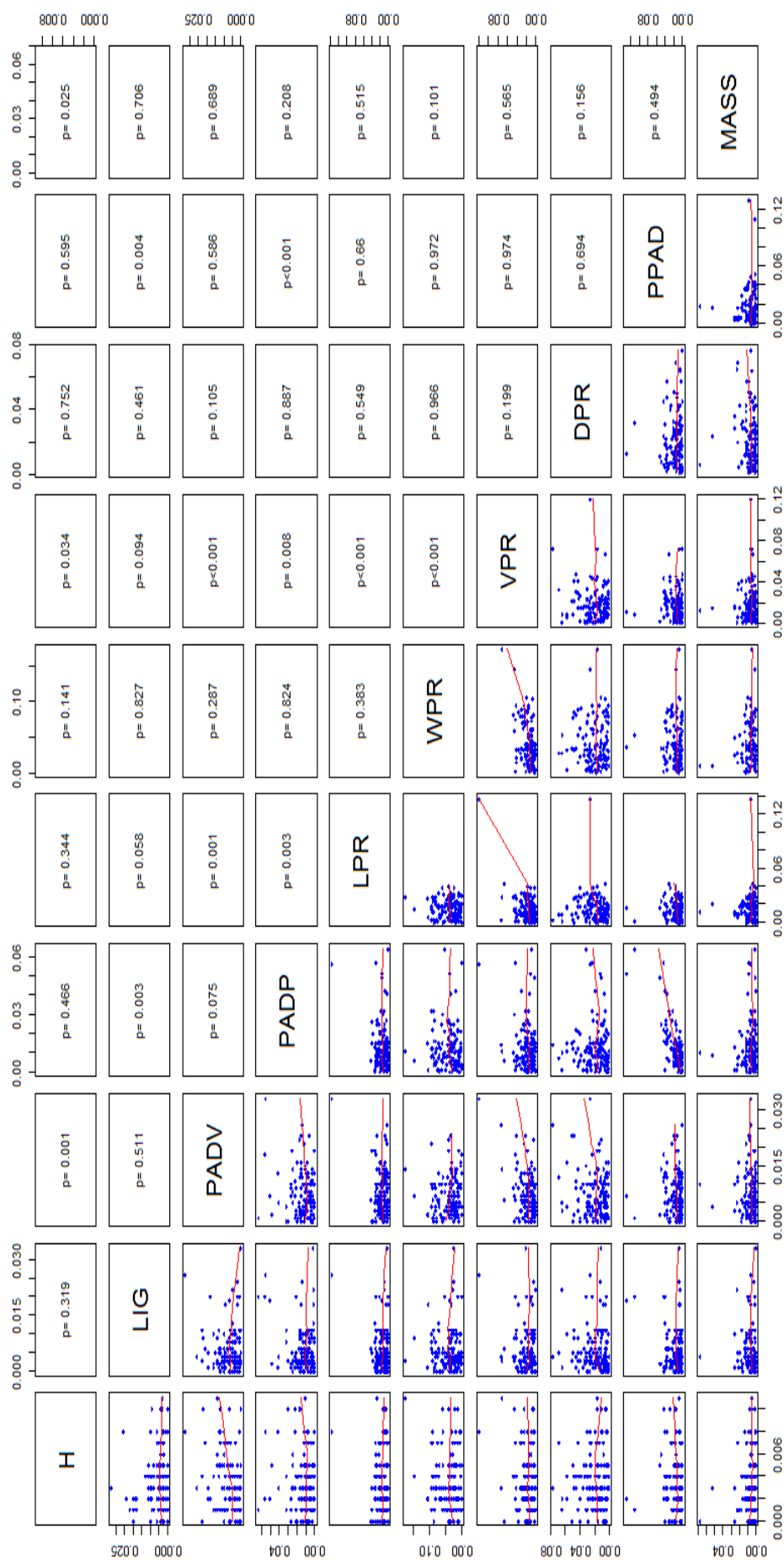
3.5. Fluktuirajuća asimetrija

Rezultati su pokazali da postoji fluktuirajuća asimetrija između lijeve i desne ljuštore za 10 izmjerenih fenotipskih obilježja 150 jedinki dagnje (Slika 22). Asimetrija je bila najmanja za visinu ljuštore - H, a najveća za obilježja povezana s otiskom stražnjeg mišića retraktora (duljina otiska - LPR, širina otiska - WPR, udaljenost od ventralnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore - VPR i udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore - DPR), pri čemu je obilježje širine otiska stražnjeg mišića retraktora – WPR pokazalo najveću asimetriju te najveću standardnu devijaciju podataka.

3. REZULTATI

koreliraju LPR, visina ljuštore, širina otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR i udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PADP. PADP još korelira s LPR i ligamentom koji je također u korelaciji s LPR, ali i sa udaljenosti od stražnjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljuštore – PPAD. Zabilježena je i korelacija fluktuirajuće asimetrije i visine ljuštore.

3. REZULTATI

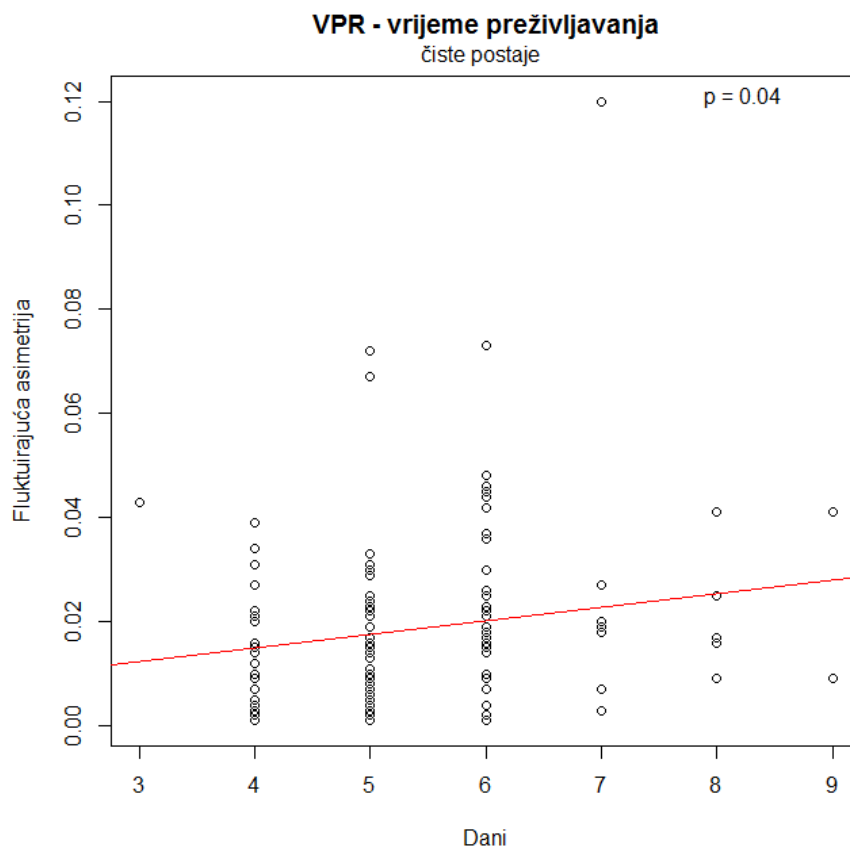


Slika 23. Korelacija fluktuirajuće asimetrije 10 analiziranih morfoloških obilježja (masa ljušture - MASS, visina ljušture - H, duljina ligamenta - LIG, duljina otiska stražnjeg mišića retraktora - LPR, širina otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR, udaljenost od ventralnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljušture - VPR, udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljušture - PADP, udaljenost od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića aduktora do stražnjeg ruba ljušture - PADP, udaljenost od ventralnog ruba stražnjeg mišića aduktora do ventralnog ruba ljušture - PADV). Donji dio grafa prikazuje grafičke rezultate dok gornji dio prikazuje p vrijednost pri čemu se $p \leq 0,001$ smatra statistički značajnom korelacijom.

3. REZULTATI

3.7. Korelacija fluktuirajuće asimetrije 10 morfometrijskih obilježja i preživljavanja (fitnessa) dagnji

Utvrđena je pozitivna korelacija između duljine preživljavanja i udaljenosti od ventralnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljušture – VPR kod dagnji koje su prethodno bile izložene čistim postajama (Slika 24). Dagnje s većom asimetrijom između lijeve i desne ljušture za ovo obilježje su preživljavale dulje ($p = 0.04$). Za ostala morfometrijska obilježja nisu zabilježene značajne korelacije s fitnessom.



Slika 24. Korelacija fitnessa dagnji (preživljavanje) i udaljenosti od ventralnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljušture – VPR.

4. RASPRAVA

Morfometrijska obilježja

Rezultati pokazuju da su se jedinke dagnji unutar jedne populacije najviše razlikovale prema duljini ligamenta i obilježjima vezanim uz stražnji mišić aduktor. Stražnji mišić aduktor povezan je s obzirom na utjecaj predatora, pri čemu se u prisustvu morskih zvijezdača povećava masa tog mišića (Freeman i sur. 2007, Valladares i sur. 2010, Christensen i sur. 2012). Kao sesilni organizmi školjkaši ovise o kombinaciji utjecaja mnogo različitih čimbenika (Gosling 1992), te se odlikuju visokom morfološkom plastičnošću, što je odgovor na varijacije lokalnih uvjeta okoliša (Cubillo i sur. 2012). Morfološka plastičnost je strategija za ublažavanje posljedica intraspecijske kompeticije na individualnoj razini. Kao i većina organizama, dagnje pokazuju postupne promjene u relativnim omjerima kao što su povećanje visine i širine ljušture. Iz fiziološke perspektive, te promjene mogu služiti održavanju optimalnih proporcija (Banavar i sur. 1999) ili odražavaju adaptivni odgovor na promjene u okolišu (Seed 1980, Seed i Suchanek 1992, Reimer i sur. 1995, Akester i Martel 2000, Steffani i Branch 2003). Općenito, ovi učinci su pripisani ograničenjima u dostupnosti hrane, prisutnosti predatora, dostupnosti supstrata ili interakcije navedenih čimbenika (Frechette i Lefaivre 1990, Frechette i sur. 1992). Melzner i sur. (2011) su pokazali da jaka varijabilnost okoliša odabire više fenotipova, dok se u stalnim i ekstremnim uvjetima (npr. nizak salinitet, nedostatak predatora) pojavljuje samo jedan morfotip ljušture.

Iako su jedinke pokazale morfološku raznolikost unutar jedne populacije, nakon mjesec dana transplant eksperimenta gdje su bile izložene novim okolišnim uvjetima, one su ostale populacijski specifične te se nisu morfološki značajno promijenile, što je potvrdila PCA analiza.

4. RASPRAVA

Rezultati korelacija između pojedinih morfoloških karakteristika pokazuju široki spektar korelacija pri čemu su najjače korelirala svojstva povezana sa stražnjim mišićem aduktorom, svojstva povezana sa stražnjim mišićem retraktorom te svojstva koja određuju volumen. Zanimljivo je da masa ljušture korelira pozitivno sa svim promatranim obilježjima.

'Stres na stres' (SOS) - fitness

Iako fitness obično označava preživljavanje i reproduktivni uspjeh, on se kod dagnji ne može izravno mjeriti. Mjerimo ga kroz rast i opstanak (Shields i sur. 1992, Gardner i sur. 1993) budući veličina tijela (obično mjerena kao duljina ljušture ili volumen) pozitivno korelira s plodnosti - fekunditetom (Shields i sur. 1992).

Test odgovor „stres na stres“ (SOS) - test tolerancije na izloženost zraku je proveden kako bi se postigli uvjeti općenitog stresa u izloženih školjkaša. SOS metoda je pokazala da su dagnje koje su bile izložene na postajama nižeg stupnja onečišćenja živjele kraće nego one izložene na postajama višeg stupnja onečišćenja, pri čemu su najduže živjele dagnje s onečišćene postaje Pula (PLT), koja je prometna luka, izložena slabo pročišćenim komunalnim, industrijskim i brodogradilišnim otpadnim vodama, a najkraće dagnje sa postaje Ston (SUT) koja je uzgajalište. Pretpostavka je da su dagnje na onečišćenim postajama živjele duže zbog toga što su njihovi enzimi bili konstantno inducirani u onečišćenom staništu, te su se kad smo ih stavili na zrak lakše borile s tim (još jednim novim) stresom nego one izložene čistim postajama.

Nekoliko istraživanja vrsta *Mytilus* spp. su pokazala da učinci okoliša uvelike određuju preživljavanje (Shields i sur. 1992). Okolišno ovisan učinak na organizme i njihov fitness utječe i na fiziološke promjene, kao što su reproduktivno ulaganje, plodnost (fekunditet), snagu vezivanja za podlogu i

4. RASPRAVA

osjetljivost na parazitske infekcije što je pokazano na dagnjama u radovima Gardner (1994), Rawson i sur. (1999), Riginos i Cunningham (2005).

U radu Hamera i sur. (2008) su utvrdili da metabolički arrest, što je važan mehanizam uključen u opstanak pod anoksičnim uvjetima, može biti ugrožen kada su organizmi ujedno izloženi i teretu onečišćenja. Radovi Eertman i sur. (1993) i Viarengo i sur. (1995) su pokazali da dagnje izložene zagađivačima koriste veliku količinu energije za proces detoksikacije i imaju manje tolerancije na anoksične uvjete.

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

Korelacija morfoloških obilježja dagnje i fitnesa

Rezultati su pokazali korelaciju između širine i fitnesa, pri čemu su uže dagnje preživljavale dulje, prethodno izložene i čistom i onečišćenom okolišu. Alunno-Bruscia i sur. (2001) su u svojem istraživanju pokazali da je odnos širine i duljine te širine i visine povezan s hranom i gustoćom populacije pri čemu su dagnje u gustim zajednicama i sa slabijom dostupnosti hrane bile uže (Alunno-Bruscia i sur. 2001).

4. RASPRAVA

Rezultati su pokazali korelaciju volumena i preživljavanja dagnji u SOS eksperimentu, pri čemu su dagnje s manjim volumenom, prethodno izložene čistom okolišu, preživljavale dulje. U prijašnjim je istraživanjima potvrđeno da je volumen ljuštore važna varijabla povezana s fitnessom budući je to obilježje ljuštore kod morskih školjkaša usko vezano uz fekunditet (Jablonski 1996, 1998).

Naši rezultati također pokazuju korelaciju između duljine otiska stražnjeg mišića aduktora – PAD i fitnesa, pri čemu su dagnje, prethodno izložene čistom okolišu, s većim PAD preživljavale značajno dulje. Valladares i suradnici (2010) objašnjavaju da native populacije školjkaša koje se suočavaju s većim pritiskom predatora obično izdvajaju manje energije na somatski rast. Takve jedinke veći dio energije ulažu u jačanje ljuštura te promiču rast mišića aduktora što se odnosi na povećanje individualnog fitnesa te je direktno povezano s boljim preživljavanjem. No budući da su naše subpopulacije bile stavljene u kaveze (100x100cm) s mrežom od polipropilena, ujedno su sve jedinke jednako bile zaštićene i od predatora. Također je zabilježena pozitivna korelacija između preživljavanja dagnji i udaljenosti od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore – DPR. Gardner i Thompson (2009) su pokazali da geografija može imati snažan utjecaj na morfometrijske varijacije unutar vrste. Razlike u dobivanju na masi i raspodjeli resursa između tijela i ljuštore se pripisuju razlikama u staništu (Rao 1953, Seed 1973, Brown i Seed 1977), ekosustavu, (Barkati i Choudhry 1988), ili varijacijama u uvjetima okoliša, kao što su dostupnost hrane, stupanj zagađenja, temperature vode, slanost i izloženost valovima (Raubenheimer i Cook 1990, Akester i Martel 1999), što neposredno utječe i na fitness. Morfološka varijabilnost može biti i funkcija jake fenotipske plastičnosti, koja je često adaptivna u fluktuirajućem okruženju (Whitman 2009).

4. RASPRAVA

Što se tiče korelacije morfometrijskih obilježja i dužine preživljavanja (fitnessa), neka obilježja dagnji nisu ovisila o stupnju onečišćenja okoliša, no veći dio obilježja imao je značajniju korelaciju s fitnessom u čistim postajama.

Fluktuirajuća asimetrija

Dobivenim rezultatima potvrđena je fluktuirajuća asimetriju za gotovo sva ispitana morfološka svojstva. Najveću fluktuirajuću asimetriju pokazuju svojstva vezana uz stražnji mišić retraktor, pri čemu se posebno ističe širina otiska tog mišića – WPR. Treba napomenuti da su ta obilježja bila često teško jasno razlučiva na ljušturi te da postoji mogućnost da je ovakva izražena asimetrija rezultat subjektivnosti prilikom mjerenja.

Fluktuirajuća asimetrija je korištena u nizu istraživanja kao mjera razvojne nestabilnosti te se povezuje s mjerama izloženosti stresu ili drugim nepovoljnim uvjetima, hibridizacijom ili fitnessom (Graham 1992, Hockey 1992).

Slučajna odstupanja od simetrične morfologije su pripisana nizu uzroka. Primjerice, Leary i Allendorf (1989) ukazuju da stres uzrokovan okolišnim čimbenicima može smanjiti energiju utrošenu na razvoj, što dovodi do razlika u rastu podudarajućih strana bilateralnih struktura. Zbog smanjene razvojne stabilnosti općenito se pretpostavlja da je simptom niskog fitnessa (Handy i sur. 2004, Hamer i sur. 2008). Naši rezultati su pokazali korelaciju fluktuirajuće asimetrije i udaljenosti od ventralnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljušture – VPR, gdje su jedinice s većom asimetrijom preživljavale dulje.

5. ZAKLJUČAK

Analizom velikog broja jedinki (devet stotina) dagnje *Mytilus galloprovincialis* utvrdili smo da postoji intraspecijska morfološka varijabilnost s obzirom na 13 morfoloških osobina jedne populacije.

Nakon kratkog izlaganja od mjesec dana u transplant eksperimentu uvjetima različitih okolišnih čimbenika (čiste i nečiste postaje) subpopulacije dagnje se nisu značajno razlikovale na osnovu seta morfometrijskih obilježja.

'Stres na stres' metoda izlaganja dagnji na zraku je pokazala da su dagnje prethodno izložene na postajama nižeg stupnja onečišćenja imale manji fitnes, tj. preživljavale su kraće, dok su jedinke izložene postajama višeg stupnja onečišćenja preživljavale dulje. Moguće objašnjenje je indukcija enzima vezanih uz antioksidativnu obranu, biotransformaciju ili održanje stanične homeostaze u onečišćenom staništu, te su se kad smo ih stavili na zrak lakše borile s tim stresom nego one izložene čistim postajama.

Rezultati su pokazali korelaciju između širine i fitnesa, pri čemu su uže dagnje preživljavale dulje, prethodno izložene i čistom i onečišćenom okolišu. Dagnje u čistom okolišu su preživljavale dulje i ukoliko su imale manji volumen i veću duljinu otiska stražnjeg mišića aduktora – PAD. Dagnje izložene onečišćenim postajama su pokazale pozitivnu korelaciju između preživljavanja i udaljenosti od prednjeg kraja otiska stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštore – DPR.

Fluktuirajuća asimetrija postoji između lijeve i desne ljuštore za 10 izmjerenih fenotipskih obilježja, te je najmanja za visinu ljuštore - H, a najveća za obilježja povezana s otiskom stražnjeg mišića retraktora (LPR, VPR, DPR i WPR), pri čemu je za obilježje širine otiska stražnjeg mišića retraktora - WPR utvrđena najveća asimetrija i najveća standardna devijacija podataka. Također je s boljim

5. ZAKLJUČAK

fitnesom korelirana veća asimetrija udaljenosti od ventralnog ruba stražnjeg mišića retraktora do leđnog ruba ljuštire – VPR.

6. LITERATURA

1. Aguirre M. L., Perez S. I., Sirch Y. N. (2006): Morphological variability of *Brachidontes Swainson* (Bivalvia, Mytilidae) in the marine Quaternary of Argentina (SW Atlantic). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. **239**: 100–125.
2. Akester, R. J. & Martel, A. L. (2000): Shell shape, dysodont tooth morphology, and hinge-ligament thickness in the bay mussel *Mytilus trossulus* correlate with wave exposure. *Canadian Journal of Zoology*. **78**: 240–253.
3. Alcapán A. C., Nespolo R. F., Toro J. E. (2007): Heritability of body size in the Chilean blue mussel (*Mytilus chilensis* Hupé 1854): effects of environment and ageing. *Aquaculture Research*. **38**: 313–320.
4. Alunno-Bruscia M., Bourget, E., Fréchette M. (2001): Shell allometry and length–mass–density relationship for *Mytilus edulis* in an experimental food–regulated situation. *Marine Ecology Progress Series*. **219**: 177–188.
5. Banavar J. R., Maritan A., Rinaldo A. (1999): Size and form in efficient transportation networks. *Nature*. **399**: 130–132
6. Barber B. J., Blake N. J. (2006): Reproductive physiology U: (Shumway S. E., Parsons G. J. (ur.) *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*, Second Edition, Elsevier Science Publishers, str. 357–416.
7. Barkati S., Choudhry Y. (1988): Effect of tidal height on growth of mussels. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*. **31**: 415–422.
8. Bayne B. L., Worrall C. M. (1980): Growth and production of mussels *Mytilus edulis* from two populations. *Marine Ecology Progress Series*. **Cell 3**: 317–328.
9. Bayne B. L., (1976): *Marine mussels: their ecology and physiology*. Institute for Marine Environmental Research, str. 411.
10. Beadman H. A., Kaiser M. J., Galanidi M., Shucksmith R., Willows R. I. (2004): Changes in species richness with stocking density of marine bivalves. *School of Ocean Sciences, Journal of Applied Ecology*. **41**: 464–475
11. Bell C. M., Gosline J. M. (1997): Strategies for life in flow: tenacity, morphometry, and probability of dislodgement of 2 *Mytilus* species. *Marine Ecology Progress Series*. **159**: 197–208.
12. Blythe J. N. & Lea D. W. (2008): Functions of height and width dimensions in the intertidal mussel *Mytilus californianus*. *Journal of Shellfish Research*. **27**(2), str. 385–392

6. LITERATURA

13. Branch, G.M. and Steffani, C.N. 2004. Can we predict the effects of alien species? A case-history of the invasion of South Africa by *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **300**:189-215.
14. Brown, K. M., Aronhime B. and Wang X. (2011): Predatory blue crabs induce byssal thread production in hooked mussels. *Invertebrate Biology*. **130**: 43-48.
15. Bulnheim H. P., Gosling E. (1988): Population genetic structure of mussels from the Baltic Sea. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*. **42**: 113–129.
16. Byrne M. (2011): Impact of ocean warming and ocean acidification on marine invertebrate life history stages: vulnerabilities and potential for persistence in a changing ocean. *Oceanography and Marine Biology—An Annual Review*. **49**: 1–42.
17. Caldeira K., Wickett M. E. (2003): Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* **425(6956)**: 365.
18. Calvo–Ugarteburu G., McQuaid C. D. (1998): Parasitism and invasive species: effects of digenetic trematode on mussels. *Marine Ecology Progress Series*. **169**: 149–163.
19. Campbell, S. A. (1969): Seasonal cycles in the carotenoid content in *Mytilus edulis*. *Marine Biology*. **4**: 227–232.
20. Campbell, S. A. (1970): The carotenoid pigments of *Mytilus edulis* and *Mytilus californianus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. **32**: 97–115.
21. Carić, H., Klobučar, G. I. V., Štambuk, A. (2014): Ecotoxicological risk assessment of antifouling emissions in a cruise ship port. *Journal of Cleaner Production*, str. 1–10.
22. Carrington E. (2002): Seasonal variation in the attachment strength of the blue mussel: causes and consequences. *Limnology and Oceanography*. **47**: 1723–1733.
23. Christensen H. T., Dolmer P., Petersen J. K., Tørring D. (2012): Comparative study of predatory responses in blue mussels (*Mytilus edulis* L.) produced in suspended long line cultures or collected from natural bottom mussel beds. *Helgol Mar Res*. **66(1)**:1-9.
24. Connell, J. H. (1961): The influence of interspecific competition and other factors on the distribution of the barnacle *Chthamalus stellatus*. *Ecology*. **42**: 710–723.
25. Cote I. M. (1995): Effects of predatory crab effluents on byssus production in mussels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **188**: 233–241.
26. Cubillo, A. M., Peteiro, L. G., José Fernández-Reiriz, M., Labarta, U. (2012): Density-dependent effects on morphological plasticity of *Mytilus galloprovincialis* in suspended culture. *Aquaculture*. **338–341**: 246–252.
27. Denny M. W., Paine R. T. (1998): Celestial mechanics, sea-level changes, and intertidal ecology. *Biology Bulletin*. **194**: 108–115.

6. LITERATURA

28. Eertman R. H. M., Wagenvoort A. J., Hummel H., Smaal A.C. (1993): "Survival in air" of the blue mussel *Mytilus edulis* L. as a sensitive response to pollution-induced environmental stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **170(2)**:179-195.
29. Enderlein P., Moorthi S., Rohrscheidt H., Wahl M. (2003): Optimal foraging versus shared doom effects: interactive influence of mussel size and epibiosis on predator preference. *J Exp Mar Biol Ecol* **292(2)**:231–242.
30. Fassatoui C., Rejeb A. B., Salah Romdhane J. i M. (2014): Geographic pattern of shell morphology in the endemic freshwater mussel *Unio ravoisieri* (Bivalvia: Unionidae) from northern Tunisia. *Journal of Molluscan Studies*, str. 1–9.
31. Fréchette M., Lefavre D. (1990): Discriminating between food and space limitation in benthic suspension feeders using self-thinning relationships. *Mar Ecol Prog Ser*. **65**:15–23.
32. Freeman A. S. (2007): Specificity of induced defences in *Mytilus edulis* and asymmetrical predator deterrence. *Marine Ecology Progress Series*. **334**: 145-153
33. Gabbott P. A. (1976): Energy metabolism. U: Bayne B. L. (ur.) *Marine mussels: their ecology and physiology*. Cambridge, Cambridge University Press, str. 293–355.
34. Gardner J. P. A. (1992): *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) (Bivalvia, Mollusca): the taxonomic status of the Mediterranean mussel. *Ophelia*. **35**: 219–243.
35. Gardner, J. P. A. (2004): A historical perspective of the genus *Mytilus* (Bivalvia: Mollusca) in New Zealand: multivariate morphometric analyses of fossil, midden and contemporary blue mussels. *Biological Journal of the Linnean Society*. **82**: 329–344.
36. Gardner J. P. A., Thompson R., J. (2009): Influence of genotype and geography on shell shape and morphometric trait variation among North Atlantic blue mussel (*Mytilus* spp.) populations. *Biological Journal of the Linnean Society*. **96**: 875–897.
37. Gavrilovic, A., Jug–Dujakovic, J., Marinovic Bonacic A., Conides, A., Bonacic, K., Ljubicic, A., Van Gorder, S. (2011): The influence of environmental parameters on the growth and meat quality of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca: Bivalvia). *AAACL Bioflux*. **4**: 573–583.
38. Geller J. B. (1999): Decline of a native mussel masked by sibling species invasion. *Conservation Biology*, str. 661-664.
39. Gosling E. M. (1984): The systematic status of *Mytilus galloprovincialis* in western Europe. *Malacologia*. **25**: 551–568.
40. Graham J. H. (1992): Genomic coadaptation and developmental stability in hybrid zones. *Acta Zoologica Fennica* **191**:121?-31.
41. Griffiths C. L., Hockey P. A. R., van Erkom Schurink C., Le Roux P. J. (1992): Marine invasive aliens on South African shores: Implications for community structure and trophic functioning. *South African Journal of Marine Science*. **12**: 713–722.

6. LITERATURA

42. Griffiths C. L., King J. A. (1979): Energy expended on growth and gonad output in the ribbed mussel *Aulacomya ater*. *Marine Biology*. **53**: 217–222.
43. Groenenberg D. S. J., Wesselingh F. P., Rajagopal S., Jansen J. M., Bos M. M., Van der Velde G., Gittenberger E., Hoeksema B. W., Raad H., Hummel H. (2011): On the identity of broad-shelled mussels (Mollusca, Bivalvia, *Mytilus*) from the Dutch delta region. *Contributions to Zoology*. **80**: 95–106.
44. Halpin, P. M., Menge B. A., and Hofmann G. E. (2004): Experimental demonstration of plasticity in the heat shock response of the intertidal mussel *Mytilus californianus*. *Marine Ecology Progress Series* 276:137–145.
45. Hamer B., Jak Z., Pavici D., Perić A., Medaković D., Ivanković D., Jasenka Pavić J., Zilberberg C., Schröde H. C., Müller W. E. G., Smodlaka N., Batel R. (2008): Effect of hypoosmotic stress by low salinity acclimation of Mediterranean mussels *Mytilus galloprovincialis* on biological parameters used for pollution assessment. *Aquatic Toxicology* **89(3)**: 137-151.
46. Handy S. M., McBreen K., and Cruzan M. B. (2004): Patterns of fitness and fluctuating asymmetry across a broad hybrid zone. *Int. J. Plant Sci.* **165(6)**: 973–981.
47. Hiebenthal C., Philipp E. E. R., Eisenhauer A., Wahl, M. (2012): Effects of seawater pCO₂ and temperature on shell growth, shell stability, condition and cellular stress of Western Baltic Sea *Mytilus edulis* (L.) and *Arctica islandica* (L.). *Marine Biology*. **160**: 2073–2087.
48. Hiebenthal C., Philipp E. E. R., Eisenhauer A., Wahl M. (2011): Effects of seawater pCO₂ and temperature on shell growth, shell stability, condition and cellular stress of Western Baltic Sea *Mytilus edulis* (L.) and *Arctica islandica* (L.). *Marine Biology*. 159: **197–208**.
49. Hockey C. L., van Erkom Schurink C. (1992): The invasive biology of the mussel *Mytilus galloprovincialis* on the southern African coast. *Transactions of the Royal Society of South Africa*. **48**: 123–139.
50. Hrs–Brenko M. (1973): The relationship between reproductive cycle and index of condition of the mussel, *Mytilus galloprovincialis*, in the northern Adriatic sea. *General Fisheries Commission for the Mediterranean*. **52**: 47–52
51. <http://www.researchgate.net/publication/>, datum pristupa: 20. rujna 2015. godine
52. <http://eol.org/pages/449961/details>, datum pristupa: 18. travnja 2015. godine
53. <http://en.wikipedia.org/wiki/Morphometrics>, datum pristupa 20. lipnja 2015. godine
54. http://hr.wikipedia.org/wiki/Pomična_mjerka, datum pristupa 15. Listopada 2015. Godine
55. Hüning, A. K., Melzner, F., Thomsen, J., Gutowska, M. A., Krämer, L., Frickenhaus, S., Rosenstiel, P., Pörtner, H. O., Philipp, E. E. R. and Lucassen, M. (2013): Impacts of seawater acidification on mantle gene expression patterns of the Baltic Sea blue mussel: implications for shell formation and energy metabolism. *Marine Biology*. **160**: 1845-1861.

6. LITERATURA

56. Hunt H. L., Scheibling R. E. (2001): Predicting wave dislodgement of mussels: variation in attachment strength with body size, habitat, and season. *Marine Ecology Progress Series*. **213**: 157–164.
57. Innes D. J., Bates J. A. (1999): Morphological variation of *Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus* in eastern Newfoundland. *Marine Biology*. **133**: 691–699.
58. Jablonski A. Z., Berke S. K., Krug D., Roy K., Tomasovych A. (2013): Size-latitude relationships in marine Bivalvia worldwide: Beyond Bergmann's Rule. *Global Ecology and Biogeography* **22**: 173-183.
59. Ivanković D., Pavičić J., Erk M., Filipović–Marijić V., Raspor, B. (2005): Evaluation of the *Mytilus galloprovincialis* Lam. digestive gland metallothionein as a biomarker in a long-term field study: seasonal and spatial variability. *Marine Pollution Bulletin*. **50**: 1303–1313.
60. Jensen, A., and Sakshaug E. (1970): Producer–consumer relationships in the sea. II. Correlation between *Mytilus* pigmentation and the density and composition of phytoplanktonic populations in inshore waters. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **5**:246–253.
61. Jody L., Shields A. E., Barnes P., Heath D. D. (2008). Growth and survival differences among native, introduced and hybrid blue mussels (*Mytilus* spp.): genotype, environment and interaction effects. *Marine Biology*. **154**: 919–928.
62. Jorgensen C. B. (1976): Growth efficiencies and factors controlling size in some mytilid bivalves, especially *Mytilus edulis* L.: review and interpretation. *Ophelia*. **15**: 175–192.
63. Kamel N., Burgeot T., Banni M., Chalghaf M., Devin S., Minier C., Boussetta H. (2014): Effects of increasing temperatures on biomarker responses and accumulation of hazardous substances in rope mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Bizerte lagoon. *Environ Sci Pollut Res Int*. **21(9)**: 6108-23.
64. Karayucel S., Celik M. Y., Karayucel I., Erik G. (2010): Growth and Production of Raft Cultivated Mediterranean Mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) in Sinop, Black Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **10**: 9–17.
65. Klingenberg C. P. (2015): Analyzing Fluctuating Asymmetry with Geometric Morphometrics: Concepts, Methods, and Applications. *Symmetry* 2015. **7**: 843-934.
66. Koukouzika N., & Dimitriadis V. K. (2004): Multiple Biomarker Comparison in *Mytilus galloprovincialis* from the Greece Coast: “Lysosomal Membrane Stability, Neutral Red Retention, Micronucleus Frequency and Stress on Stress”. *Ecotoxicology*. **14(4)**:449-63.
67. Lauzon-Guay J. S., Hamilton D. J., Barbeau M. A.. (2005): Effect of mussel density and size on the morphology of blue mussels (*Mytilus edulis*) grown in suspended culture in Prince Edward Island, Canada. *Aquaculture*. **249**: 265–274.

6. LITERATURA

68. Leary R. F., Allendorf F. W. (1989): Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: Implications for conservation biology. *Trends Ecol Evol.* **4(7)**:214-7.
69. Livingstone, D. R. (2003): Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue de Médecine Vétérinaire.* **154**:427–430.
70. Márquez F., Amoroso R., Sainz M. F. G., Van der Molen S. (2010): Shell morphology changes in the scallop *Aequipecten tehuelchus* during its life span: a geometric morphometric approach. *Aquatic Biology.* **11**: 149–155.
71. McDonald J. H., Seed R., Koehn R. K. (1991): Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres. *Marine Biology.* **111**: 323–333.
72. Melzner F., Stange P., Trübenbach K., Thomsen J., Casties I., Panknin U., Gorb S. N., Gutowska M. (2011): Food Supply and Seawater pCO₂ Impact Calcification and Internal Shell Dissolution in the Blue Mussel *Mytilus edulis*. *Journal of Marine Biology.* **6(9)**: 242-223.
73. Morais P., Rufino M. M., Reis J., Dias E., Sousa R. (2013): Assessing the morphological variability of *Unio delphinus* Spengler, 1783 (Bivalvia: Unionidae) using geometric morphometry. *Journal of Molluscan Studies.* **80**: 17–23.
74. Paine R. T., Levin S. A. (1981): Intertidal landscapes: disturbance and the dynamics of pattern. *Ecol Monogr.* **51**:145–178
75. Petes L. E., Menge, B. A., Murphy G. D. (2007): Environmental stress decreases survival, growth, and reproduction in New Zealand mussels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* **351**: 83–91.
76. Phillips D. J. H., Rainbow P. S. (1993): Biomonitoring of trace aquatic contaminants. Elsevier Science Publishers LTD. Barking, Essex. **27**: 2, 201-207.
77. Quesada H., Beynon C. M., Skibinski D. O. F. (1995): A mitochondrial DNA discontinuity in the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lmk: Pleistocene vicariance biogeography and secondary intergradation. *Molecular Biology and Evolution* **12**: 521–524.
78. Rao K. P. (1953): Shell weight as a function of intertidal height in a littoral population of pelecypods. *Experientia* **9**: 465–466.
79. Raubenheimer D., Cook P. (1990): Effects of exposure to wave action on allocation of resources to shell and meat growth by the subtidal mussel, *Mytilus californianus*. *Journal of Shellfish Research.* **9**: 87–93.
80. Rawson P. D., Agrawal V., Hilbish T. J. (1999): Hybridization between the blue mussels *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* along the Pacific coast of North America: evidence for limited introgression. *Marine Biology.* **134**:201-11.

6. LITERATURA

81. Reimer O. (1999): Increased gonad ratio in the blue mussel, *Mytilus edulis*, exposed to starfish predators. *Aquatic Ecology*. **33**: 185–192.
82. Reimer O., Olsson B., Tedengren M. (1995): Growth, physiological rates and behaviour of *Mytilus edulis* exposed to the predator *Asterias rubens*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*. **25**: 233–244.
83. Reimer O., Tedengren M. (1996): Phenotypical improvements of morphological defences in the mussel *Mytilus edulis* induced by exposure to the predator *Asterias rubens*. *Oikos*. **75**:383–390.
84. Reyment, R. A., R. E. Blackith & N. A. Campbell. (1984): *Multivariate Morphometrics*. London, Academic Press Inc.
85. Riginos C., Cunningham C. W. (2005): Local adaptation and species segregation in two mussel (*Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus*) hybrid zones. *Molecular Ecology*. **14**: 381–400.
86. Robinson T. B., Griffiths C. L. (2002): Invasion of Langebaan Lagoon, South Africa, by *Mytilus galloprovincialis* – effects on natural communities. *African Zoology*. **37**: 151-158.
87. Rodhouse P. G., McDonald J. H., Newell R. I. E., Koehn R. K. (1986): Gamete production, somatic growth and multiple locus enzyme heterozygosity in *Mytilus edulis*. *Marine Biology*. **90**: 209–214.
88. Rufino M. M., Gaspar M. B., Pereira A. M., Vasconcelos (2006): Use of shape to distinguish *Chamelea gallina* and *Chamelea striatula* (Bivalvia: Veneridae): linear and geometric morphometric methods. *Journal of morphology*. **267**: 1433–1440.
89. Seed R. (1968): Factors in influencing shell shape in the mussel *Mytilus edulis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. **48**: 561–584.
90. Seed R. and Suchanek T. H. (1992): Population and community ecology of *Mytilus*. U: Gosling E. (ed.) *The Mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture*. Amsterdam, Elsevier, str. 87– 169.
91. Sénéchal, J., Grant, J., Archambault, M. C. (2008): Experimental manipulation of suspended culture socks: Growth and behavior of juvenile mussels (*Mytilus* spp.). *Journal of Shellfish Research*. **27**: 811– 826.
92. Shields J. L., Barnes P. i Heath. D. D. (2008): Growth and survival differences among native, introduced and hybrid blue mussels (*Mytilus* spp.) genotype, environment and interaction effects. *Marine Biology*. **154**: 919–928.
93. Shurova N. (2001): Influence of salinity on the structure and the state of bivalve *Mytilus galloprovincialis* populations. *Russian Journal of Marine Biology*. **27**: 151–155.
94. Skibinski, D. O. F., Beardmore, J.A. & Cross, T. F. (1983): Aspects of the population genetics of *Mytilus* (Mytilidae; Mollusca) in the British Isles. *Biol. J. Linn. Soc.* **19**: 137–183.

6. LITERATURA

95. Steffani C. N., Branch G. M. (2003): Growth rate, condition, and shell shape of *Mytilus galloprovincialis*: responses to wave exposure. *Marine Ecology Progress Series*. **246**: 197–209.
96. Štambuk A., Šrut M., Šatović, Z., Tkalec M., Klojučar G. I. V. (2013): Gene flow vs. Pollution pressure: Genetic diversity of *Mytilus galloprovincialis* in eastern Adriatic. *Aquatic Toxicology*. **136–137**: 22–31.
97. Tanaka N., Monaghan M., Rye D. M. (1986): Contribution of metabolic carbon to mollusc and barnacle shell carbonate. *Nature*. **320**: 520–523.
98. Thomsen J., Melzner F. (2010): Seawater acidification does not elicit metabolic depression in the blue mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*. **157**: 2667–2676.
99. Toro J. E., Alcapałn A. C., Vergara A. M., Ojeda J. A. (2004): Heritability estimates of larval and spat height in the Chilean blue mussel (*Mytilus chilensis* Hupe 1854) produced under controlled laboratory conditions. *Aquaculture Research*. **35**: 56–61.
100. Trush S. F., Lohrer A. M., Townsend M., Rodil I. F., Hewitt J. E. (2012): Detecting shifts in ecosystem functioning: The decoupling of fundamental relationships with increased pollutant stress on sandflats. *Plos One*. **10(7)**: 133-914
101. Tsuchiya M. (1983): Mass mortality in a population of the mussel *Mytilus edulis* L. caused by high temperature on rocky shores. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **66**: 101–111.
102. Tyberghein L., Verbruggen H., Pauly K., Troupin C., Mineur F., De Clerck, O. (2012): Bio- ORACLE: a global environmental dataset for marine species distribution modelling. *Global Ecology and Biogeography*. **21**: 272–281.
103. Valladares A., Manríquez G., Suárez-Isla B. A. (2010): Shell shape variation in populations of *Mytilus chilensis* (Hupé 1854) from southern Chile: a geometric morphometric approach. *Marine Biology*. **157**: 2731–2738.
104. Via S., Gomulkiewicz R., Scheiner S. M., Schlichting C. D., Van Tienderen P. H. (1995): Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends in Ecology & Evolution*. **10**: 212–217.
105. Viarengo A. et al. (1995): Stress on stress response: A simple monitoring tool in the assessment of a general stress syndrom in mussels. *Mar. Environ*. **39**:245-8.
106. Waite J. H. (1992): The formation of mussel byssus: anatomy of a natural manufacturing process. U: Case S.T. (ur.) Results and problems in cell differentiation: Biopolymers. Berlin, Springer-Verlag, Berlin, str. 27–54.
107. Weeks A. R., Sgro C. M., Young A. G., Frankham R., Mitchell N. J., Miller K. A., Byrne M., Coates D. J., Eldridge M. D. B., Sunnucks P., Breed M. F., James E. A., Hoffmann

6. LITERATURA

- A. A. (2011): Assessing the benefits and risks of translocations in changing environments: a genetic perspective. *Evolutionary Applications*. **4**: 709–725.
108. Wilbur K. M., Saleuddin A. S. M. (1983): Shell formation. U: Saleuddin A. S. M., Wilbur K. M. (ur.) *The Mollusca: Physiology*. New York, Academic Press, str. 235–287.
109. Willis G. L., Skibinski D. O. E. (1992): Marine Biology and *M. edulis* populations. *Electrophoresis*. **1992;408**:403-408.
110. Witman J., Suchanek T. (1984): Mussels in flow: drag and dislodgement by epizoans. *Marine Ecology Progress Series*. **16**: 259–268.
111. www.mdpi.com/journal/symmetry.com, datum pristupa: 03. rujna 2015. Godine
112. www.plosone.org, datum pristupa 10. listopada 2014. Godine
113. Yildiz H., Palaz M., Bulut M. (2006): Condition Indices of Mediterranean Mussels (*Mytilus galloprovincialis* L. 1819) Growing on Suspended Ropes in Dardanelles. *Journal of Food Technology*. **4**: 221–224.
114. Young R. (1941): The distribution of the mussel (*Mytilus californianus*) in relation to the salinity of its environment. *Ecology*. **22**: 379–386.
115. Zardi G. I., McQuaid C. D., Nicastro K. R. (2007): Balancing survival and reproduction: seasonality of wave action, attachment strength and reproductive output in indigenous *Perna perna* and invasive *Mytilus galloprovincialis* mussels. *Marine Ecology Progress Series*. **334**: 155–163.
116. Zieritz A., Aldridge D. C. (2009): Identification of ecophenotypic trends within three European freshwater mussel species (Bivalvia: Unionoida) using traditional and modern morphometric techniques. Article in *Biological journal of the linnean society*. **4**: 709–725
117. Zieritz A., Clucas G., Axtmann L., Aldridge D. C. (2012): Shell ecophenotype in the blue mussel (*Mytilus edulis*) determines the spatial pattern in foraging behaviour of an oystercatcher (*Haematopus ostralegus*) population. *Marine Biology*. **159**: 863–872.

ŽIVOTOPIS

Tea Ronta

Osobni podaci

- Datum i mjesto rođenja: 02.07.1991. godine, Osijek, Republika Hrvatska
- Adresa prebivališta: Paška 45, 31000 Osijek
- Email: tea.ronta@gmail.com

Završeno obrazovanje:

- Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju, preddiplomski
- Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno–matematički fakultet, Biološki odsjek, diplomski studij, smjer: Eksperimentalna biologija, usmjerenje: zoologija
- Medicinska škola Osijek, u Osijeku, smjer: farmaceut
- Osnovna škola „Tin Ujević“, Osijek

Dodatne aktivnosti:

- Volonter Udruge Donkijhot, terapijsko jahanje
- Sudionik u EU projektima, razmjena mladih (ERASMUS)