Preživljavanje na zraku i hepatosomatski indeks dagnji izloženi antropogenim pritiscima

Nedeljković, Amanda

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Pula / Sveučilište Jurja Dobrile u Puli**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:137:935837

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Image not found or type unknown

Repository / Repozitorij:

Digital Repository Juraj Dobrila University of Pula

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JURJA DOBRILE U PULI
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ ZNANOST O MORU

AMANDA NEDELJKOVIĆ

Preživljavanje na zraku i hepatosomatski indeks dagnji izloženi antropogenim pritiscima

ZAVRŠNI RAD

Pula, 2020.

ZAHVALA

Zahvaljujem prof.dr.sc. Nevenka Bihari na predloženoj temi, te na savjetima i pomoći tijekom izrade završnog rada.

Zahvaljujem Centru za istraživanje mora Institut Ruđer Bošković u Rovinju na ustupljenom prostoru i laboratorijskoj opremi.

SADRŽAJ

1. UVOD.....1
1.1. Mediteranska dagnja *Mytilus galloprovincialis*.....1
1.2. Dagnja *Mytilus galloprovincialis* kao bioindikatorska vrsta.....3
1.2.1. Indeks kondicije (IK).....4
1.2.2. Hepatosomatski indeks (HSI).....4
1.2.3. Preživljavanje na zraku (SOS test).....5
2. CILJ RADA.....6
3. MATERIJALI I METODE.....7
3.1. Područja uzorkovanja.....7
3.2. Indeks kondicije (IK).....9
3.3. Hepatosomatski indeks (HSI).....9
3.4. Preživljavanje na zraku (SOS test).....10
3.5. Obrada podataka.....10
4. REZULTATI.....11
4.1. Indeks kondicije (IK).....12
4.2. Hepatosomatski indeks (HSI).....15
4.3. Preživljavanje na zraku (SOS test).....18
4.4. Međusobna ovisnost indeksa kondicije, hepatosomatskog indeksa i preživljavanja na zraku.....19
5. RASPRAVA.....22
6. ZAKLJUČCI.....25
7. TEMELJNA DOKUMANTACIJSKA KARTICA.....26
8. BASIC DOKUMENTATION CARD.....27
9. LITERATURA.....28

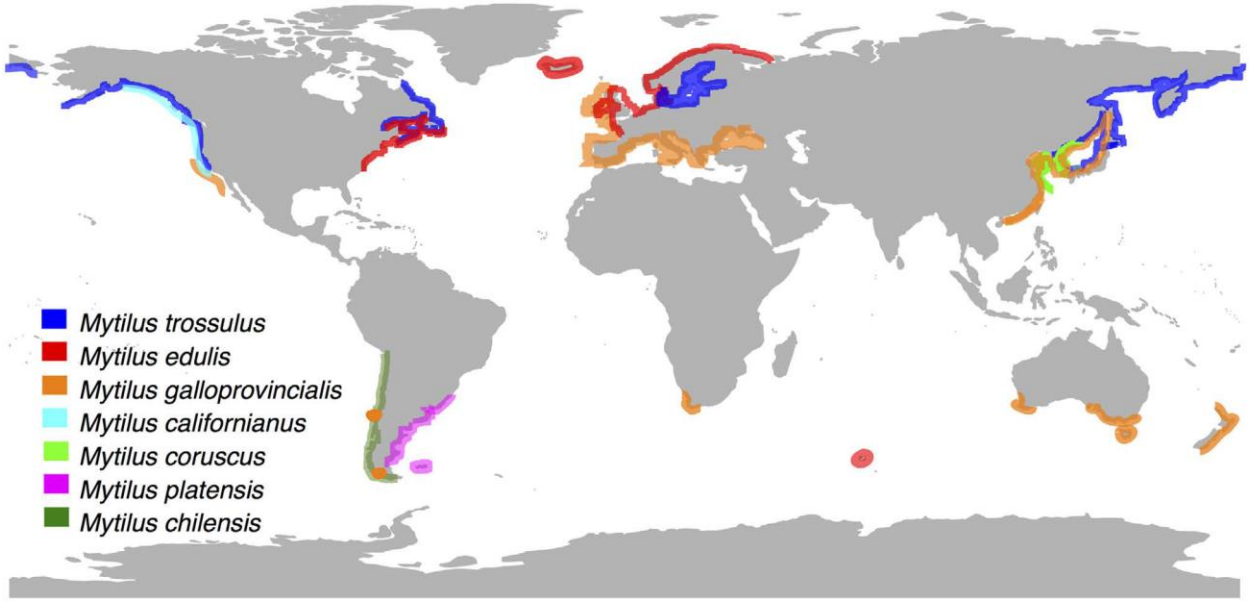
1. UVOD

Mediteranska dagnja *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) je široko rasprostranjena vrsta u Jadranskom moru koja se nastanuje u obalnim područjima i umjereno toplim morima. Dagnja *Mytilus galloprovincialis* su fakultativni anaerobi koji sniženu koncentracije kisika reguliraju prijelazom s aerobnog na anaerobni način života (de Zwann, 1992). U zoni mediolitorala njihov način života prilagođen je na velika kolebanja kisika, temperature, saliniteta, pH i drugih čimbenika u morskoj vodi. Školjkaši su filtratori, pa akumulliraju značajne količine toksikanata iz okolne vode (Cajaraville i sur. 2000), a često su vrlo brojni i na onečišćenim postajama zbog njihove visoke tolerancije na zagađenje (Lindarić, 2014).

1.1. Mediteranska dagnja *Mytilus galloprovincialis*

Vrsta *Mytilus galloprovincialis* se taksonomski svrstava u:
Koljeno: *Mollusca*
Razred: *Bivalvia*
Red: *Mytiloida*
Porodica: *Mytilidae*
Rod: *Mytilus*
Vrsta: *Mytilus galloprovincialis*

Dagnja *Mytilus galloprovincialis* pripada rodu *Mytilus*, te su rasprostranjena širom hladnih voda duž južne i sjeverne hemisfere. Dagnja se dokazala kao pogodni organizm za različita fiziološka, biokemijska i genetička istraživanja. Od ekonomske je važnosti zbog njene konzumne vrijednosti i kao organizmi služe za biomonitoring kvalitete obalnih voda (Gossling, 1992). Dagnja je sastavljena od dvije potpuno iste duguljaste ljušture čvrsto povezane aduktorom. Ljušture su u obliku izduženog trokuta, s jednim ovalnim i drugim zašiljenim krajem. Izvana je crno – modre ili modro – ljubičaste boje, dok joj je unutrašnjost sedefasta. Naraste do 15 cm te postiže masu do 200 g. (Mašić, 2004).



Slika 1. Geografska rasprostranjenost morskih školjkaša roda *Mytilus* (Gaitán-Espitia i sur., 2016)

U Europi su rasprostranjene tri vrste dagnje: plava dagnja *M. edulis*, mediteranska dagnja *M. galloprovincialis* i *M. trossulus* (Slika 1.), koja jedina nije akvakulturna vrsta. U Mediteranu je rasprostranjena *M. galloprovincialis* obitava duž cijelog Sredozemlja, u Crnom moru i uz atlantsku obalu Nizozemske, Francuske sve do Sjeverne Irske. U Jadranskom moru je dominantno autohtona vrsta. Uzduž istočne obale Jadrana, dagnju nalazimo na brojnim mjestima osobito na područjima Pulskog i Malostonskog zaljeva. Staništa su čvrsti i hrapavi supstrati u kojemu su dagnje pomoću bisusnih niti pričvrsti na stijenama (Slika 2.) i pristaništima, unutar zaklonjenih luka i ušća i na stjenovitim obalama otvorene obale unutar plime do 40 m dubine (Ramasamy, 2018).

Stopa rasta u *Mytilus* varira prema veličini, dobi i ekološkim uvjetima. Jedan od najvažnijih čimbenika koja determinira stopu rasta je opskrba hrane jer pruža potrebnu energiju za održavanje rasta (Gosling, 1992).



Slika 2. Mediteranska dagnja, *Mytilus galloprovincialis* (The Marine Observatory of Esposende 2017).

U zimskoj sezoni na područjima s niskom količinom hranjivih tvari dagnje ne mogu unijeti u organizam dovoljne količine hrane za održavanje konstantnoga prirasta. Unesena se hrana iskorištava za podmirenje metaboličkih potreba, a prirast stagnira. Ako količina apsorbirane hrane nije dovoljna ni za podmirenje metabolizma, dagnja iskorištava vlastite rezerve. U ljetnoj sezoni, kada količina apsorbirane hrane prelazi metaboličke potrebe, višak se hrane upotrebljava za prirast i reprodukciju (Dardignac – Corbel, 1990).

1.2. Dagnja *Mytilus galloprovincialis* kao bioindikatorska vrsta

Biološki indikatori daju intregriranu informaciju o zagađenom okolišu čiji utjecaji ne mogu biti definirani samo sa kemijskom analizom uzoraka vode (Salazar, M.A. i Salazar, S., 1996). Dagnja se koristi kao bioindikatorski organizam jer često naseljavaj zagađena i nezagađena područja, lako je dostupna i prati se utjecaj onečišćenja na organizme u vodenom okolišu.

Široko je rasprostranjena i sesilna, hrani se planktonom procesom filtriranja te tako može u sebi akumulirati razne tvari kao što su toksini iz planktona ili zagađivala i na taj način održavaju lokalno zagađenje. U slučaju kod lokalnog zagađenja provodi se stalni monitoring i ″mussel watch″ program zbog velikog antropogenog utjecaja i stresa na morski ekosustav. U zatvorenim okolišima kao što je Pulski zaljev antropogeni utjecaji su izraženi jer se na području Pule u more izlijevaju

ispusti postrojenja Uljanik Pula, Uljanik Strojogradnja i Luka Pula. Iako se komunalne otpadne vode pročišćavaju u uređajima za pročišćavanje otpadnih voda (UPOV) Peroj i Valkane, njima se vrši samo pročišćavanje prethodnog stupnja. Lučki promet također uvelike pridonosi zagađenju (Lindarić, 2014). Stalnim monitoringom i analizom okoliša mogu se utvrditi stanje okoliša i kvaliteta morske vode, te je također od velike važnosti za ljudsko zdravlje. Kako bi se utvrdilo stanje okoliša koriste se biološki pokazatelji, od kojih su i: indeks kondicije (IK), hepatosomatski indeks (HSI), vrijeme preživljavanja na zraku (SOS test) i toksičnost tkiva dagnje.

1.2.1. Indeks kondicije (IK)

Indeks kondicije je mjera koja prikazuje odnos količine mesa i ljušture školjkaša te također se koristi u različite znanstvene ili komercijalne svrhe (Gosling, 1992). Veličina indeksa kondicije ovisi o sezoni mriješćenja dagnji, o količini odgovarajućih planktonskih vrsta za prehranu i o promjenama ekoloških čimbenika sredine (slanost morske vode, temperature i otopljenog kisika) (Marušić i sur., 2009). Mjerenje indeksa kondicije može se provoditi individualno ili skupno, koji se mora sastojati od jedinki približne veličine i starosti (Župan i Šarić., 2014).
Prema Davenportu i Chen (1987) postoji 7 metoda izračunavanja indeksa kondicije

1. IK = masa prokuhanog mesa / ukupna masa ljušture x 100
2. IK = masa prokuhanog mesa/ masa prokuhanog mesa + masa ljušture x 100
3. IK = masa mokrog mesa / ukupni volumen – volumen ljušture x 100
4. IK = masa sušenog mesa / ukupni volumen – volumen ljušture x 100
5. IK = masa sušenog mesa / masa ljušture x 100
6. IK = masa mokrog mesa / masa ljušture x 100
7. IK = volumen mokrog mesa / ukupni volumen – volumen ljušture x 100

1.2.2. Hepatosomatski indeks (HSI)

Indeks probavne žlijezde je izražen kao omjer težine suhe probavne žlijezde do ukupne težine ukupnog plašta koji je ustanovljen u pokusu gladovanja u kojem je uočena razlika između indeksa probavne žlijezde uhranjenih i izgladnjelih dagnji (Thompson i sur., 1974). Zapravo, indeks probavne žlijezde služi kao pokazatelj ishranjenosti odnosno izgladnjelosti školjkaša. Probavna

žlijezda *Mytilus* spp. ima tri glavne uloge, a to je unutarstanična probava i asimilacija ugljika te također ima ulogu u skladištenju metaboličkih rezervi koje se koriste tijekom razdoblja visokog metabolizma i stresa te treća i krajnja uloga probavne žlijezde je da se koristi kao područje za transferiranje metaboličkih rezervi na druge organe. Stres na probavnoj žlijezdi utjecati će na njegov biokemijski sastav zbog iskorištavanja metaboličkih rezervi tijekom tog razdoblja. Mnogi fiziološki procesi usko su povezani i mogli bi djelovati sinergijski na daljnji stres dagnji koji se suočava s izazovima. Ovakvi procesi će odrediti i utjecati na vrijednost ovog indeksa (Cartier i sur., 2004).

1.2.3. Preživljavanje na zraku (SOS test)

Vrijeme preživljavanja na zraku „Stres na stres“ (eng. *Stress on stress* – SOS) je fiziološki biomarker koji se koristi za mjerenje sposobnosti dagnji da prežive izlaganje zraku. U testu se na zraku izlažu jedinke školjkaša koje su već iskusile posljedice stresora, kao što su teški metali i organski spojevi koji utječu na energetsku ravnotežu u organizmu. Naime, jedan stresor može inducirati promjene u ponašanju i metaboličkoj reakciji koji dovode do rezistencije na drugi stresor, alternativno stresor može smanjiti zdravlje ili stanje do te mjere da je zajednica više osjetljiva na utjecaj drugog stresora (Trush i sur., 2008). Posljedično, mišić aduktor nije učinkovit u uvjetima izlaženosti zraku te zbog nemogućnosti zatvaranja ljuštura dagnja brže ugiba. Ovim se testom može doprinijeti poznavanju opće kondicije dagnji, ustanoviti utjecaj različitih stresora na metabolizam i konačno vrijeme preživljavanja dodatno opterećenih jedinki (Malivuković, 2015). Za mediteransku dagnju s raznih pet područja je ustanovljena smanjena sposobnost preživljavanja na zraku koja je povezana s akumulacijom toksičnih tvari u tkivima organizma (Hellou i Law, 2003).

2. CILJ RADA

1. Odrediti indeks kondicije, hepatosomatski indeks i vrijeme preživljavanja na zraku za dagnju vrste *Mytilus galloprovincialis* s područja pod antropogenim pritiscima kao što su luke (Luka Pula, Muzil i Luka Rijeka) i marikultura (Budava, Limski kanal i Štinjan).

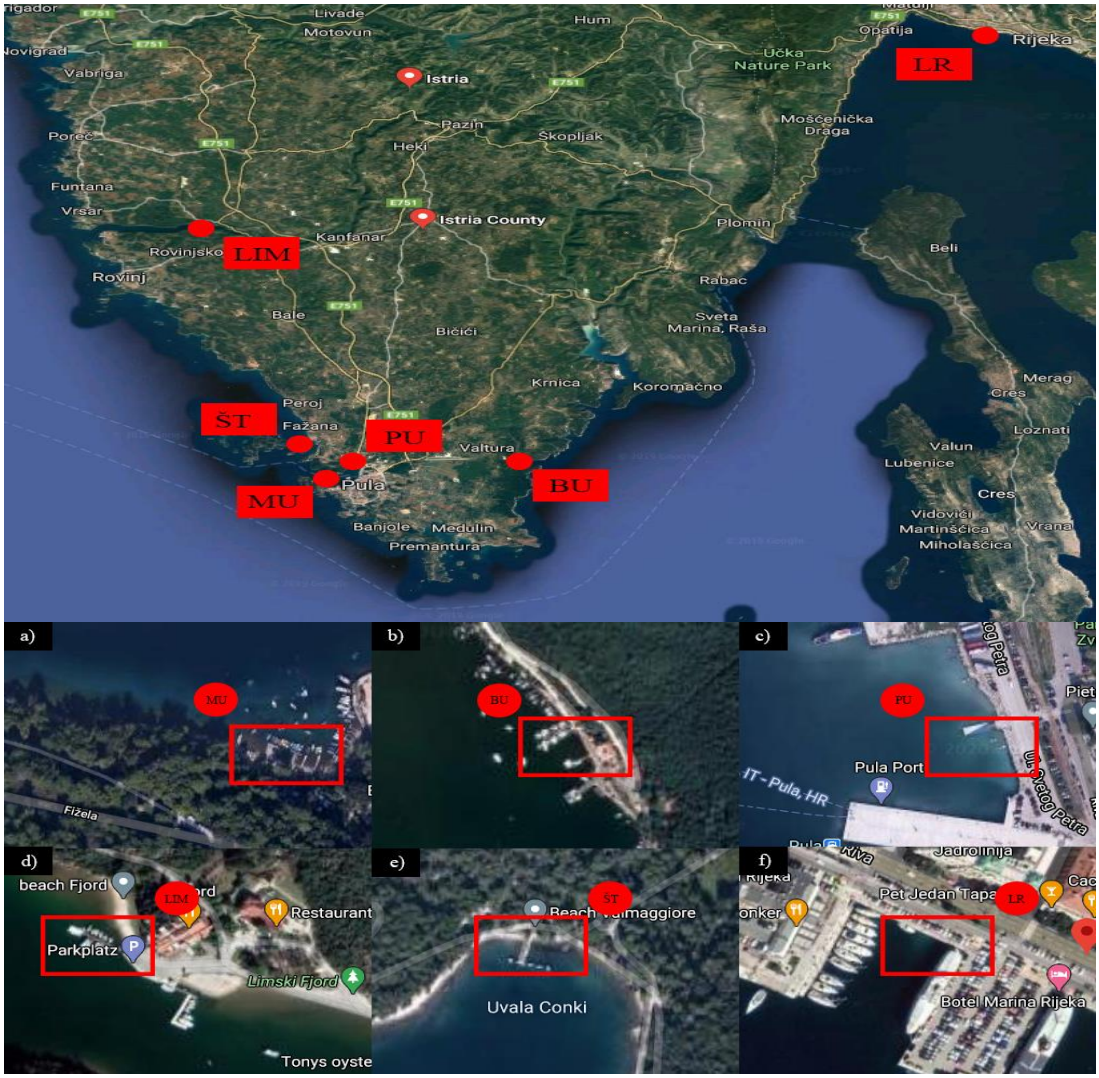
2. Ustanoviti kakav je međuodnos između odabranih parametara (indeks kondicije, hepatosomatski indeks i preživljavanje na zraku).

3. Utvrditi da li izabrani parametri mogu poslužiti u razlikovanju antropogenih pritisaka.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Područja uzorkovanja

Uzorci mediteranske dagnje *Mytilus galloprovincialis* nasumično su odabrani i uzorkovani na šest različitih lokacija Sjevernog Jadrana (slika 3.) od sjevera prem jugu: Rijeka (LR), Limski kanal (LIM), Budava (BU), Štinjan (ŠT), Luka Pula (PU), Muzil (MU).



Slika 3. Lokacije uzorkovanja dagnje vrste *Mytilus galloprovincialis* na području Sjevernog Jadrana: a) Muzil – MU a), b) Budava – BU, c) Luka Pula – PU, d) Limski kanal – LIM, e) Štinjan – ŠT, f) Rijeka – LR.

Na svakoj lokaciji uzorkovano je 40 jedinki nasumičnih veličina i to 30 jedinki za testiranje preživljavanja na zraku i po 10 jedinki za nalizu indeksa kondicije (IK) i hepatosomatskog indeksa (HSI). Tri lokacije su luke: Luka Pula, Muzil i Luka Rijeka, a preostale tri lokacije su malikulturna područja: Budava, Limski kanal i Štinjan.

Na području Luke Pule u more se izljevaju ispusti prostrojenja Uljanik Pula, Uljanik Starogradnja i Luka Pula, dok u Rijeci se nalazi najveća hrvatska luka (Luka Rijeka) s iznenadnim onečišćenjem mora, najviše zbog prometa brodova i samih industrijskih ispusta u more (INA Mlaka i Proizvodnja maziva i bitumena). Na poluotoku Muzil se nalazi bivša vojna luka te na ovom području su uočeni antropogeni pritsci koji su uzrokovani od strane brodogradilišta Tehnomont, male ribarske lučice te pomorske policije i ratne mornarice koji dijele zajdeničku zonu. Lokacija Limski kanal ima status posebnog rezervata u moru od 1979. godine. Razvojem turizma Limski kanal bilježi sve veću posvećenost i time uvjetuje povećanje broja turističkih usluga što dovodi do povećanja antropogenih pritisaka na ovom području.. Na lokaciji Štinjan nalazi se mala uvala koja u sebi ima pristalište za ribarske i turističke brodove. Dok uvala Budava je udaljena od naseljenih mjesta te samim dotokom vode i zaklonjenosti područja od vjetra čini idealnu lokaciju za uzgoj školjkaša i riba.

3.2. Indeks kondicije (IK)

Za određivanje indeksa kondicije odabrano je 10 jedinki dagnji za svaku lokaciju. Vagana je ukupna masa dagnje, zatim masa mekog tkiva i ljuštura. Omjerom ukupne mase dagnje m(cijela), mase mekog tkiva m(tkiva) i mase same ljušture m(ljuštura) dobili smo indeks kondicije (IK) prema formuli (Crosby i Gale, 1990):

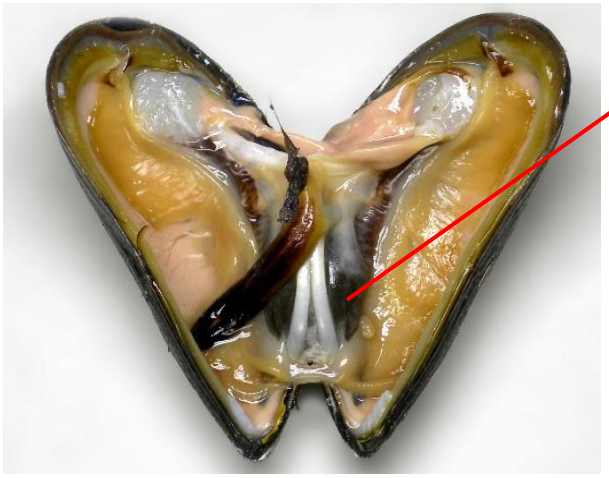
.

$$IK = \frac{m(tkiva)}{m(cijela) - m(ljuštura)}$$

3.3. Hepatosomatski indeks (HSI)

Za analizu hepatosomatskog indeksa odabrano je 10 jedinki dagnji za svaku lokaciju. Vagana je ukupna masa dagnje, zatim je odstranjeno tkivo i hepatopankreas (Slika 4.) iz dagnje, te se zasebno vagala masa tkiva i masa hepatopankreasa. Omjerom ukupne mase hepatopankreasa m(HEP) i mase tkiva m(tkivo) dobiva se hepatosomatski indeks prema sljedećoj formuli:

$$HSI = \frac{m(HEP)}{m(tkivo)} x100$$



Slika 4. Probavna žlijezda / hepatopankreas dagnje (Blue growth, 2020).

3.4. Preživljavanje na zraku (SOS test)

SOS test je izveden po 30 jedinki dagnji uzrokovanih sa šest lokacija. Dagnje su postavljene u kadice i prekrivene aluminijskom folijom pri konstantnoj sobnoj temperature u vlažnoj atmosferi (Slika 5.). Dagnje su se svakodnevno provjeravale i brojale su se uginule jedinke. Dagnje se smatraju mrtvima ako ne reagiraju na dodir. Broj mrtvih uzorka zabilježen je kako bi se izračunao LT_{50} (srednje prosječno vrijeme smrtnosti za 50% uzoraka životinja). Rezultat SOS testa je prikazan kao LT_{50} odnosno vrijeme potrebno da ugine 50% jedinki.



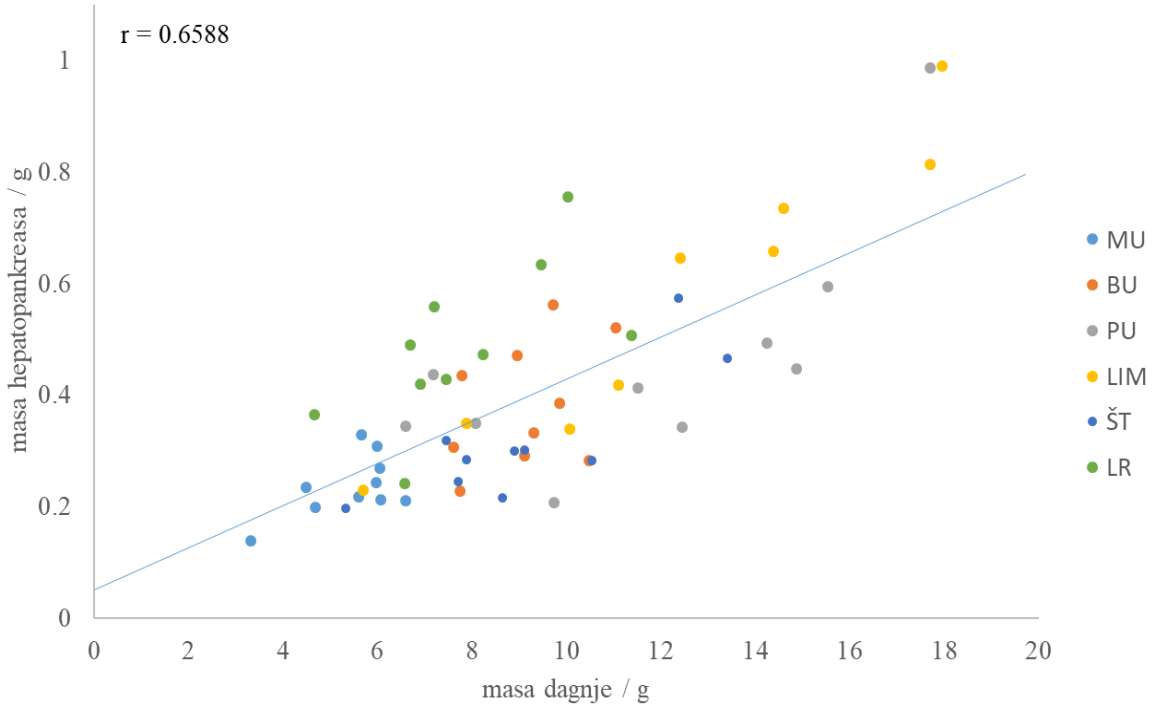
Slika 5. Određivanje vremena preživljavanja na zraku (SOS test) dagnje.

3.5. Obrada podataka

Za obradu podataka korištene su osnovne statističke metode u programu Microsoft Office Excell, a razlike između uzoraka testirane su ANOVA (Fischer-post hoc) testom (softverski program Statistica, USA).

4. REZULTATI

Rezultati ovisnosti mase hepatopankreasa o masi dagnje uzorkovanih sa šest lokacija prikazani su u Slici 6.



Slika 6. Ovisnost mase hepatopankreasa o masi dagnje za dagnje uzorkovane na 6 lokacija.

Rezultati prikazani u Slici 6. ukazju na linearnu ovisnost mase hepatopankreasa o masi dagnje tj. masa hepatopankreasa u svim testiranim dagnjama bez obzira na lokaciju raste s masom dagnje.

4.1. Indeks kondicije (IK)

U Tablici 1. su prikazani rezultati indeksa kondicije dagnji uzrokovanih sa 6 lokacija.

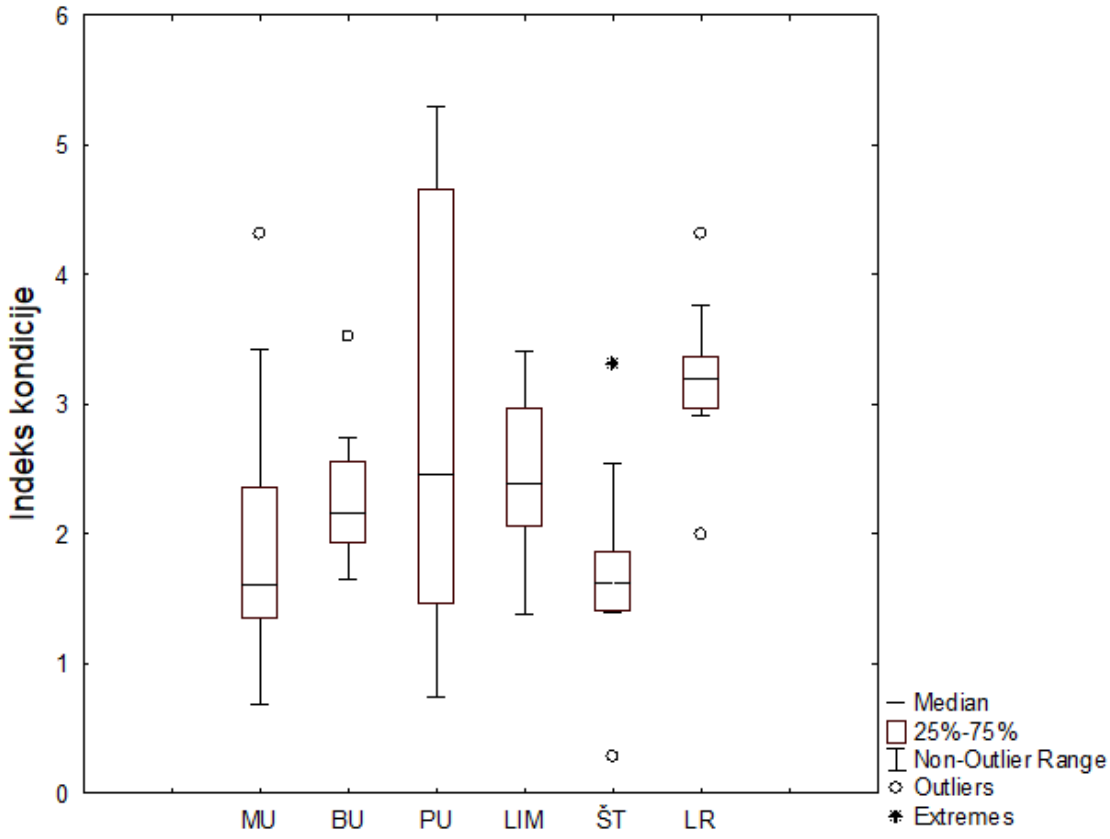
Tablica 1. Deskriptivna statistika indeksa kondicije dagnje uzrokovane na 6 lokacija.

Lokacija	**N**	**SV ± SD**	**MIN**	**MAX**	**CV**
MU	10	1.9 ± 1.3	0.7	4.3	57.4
BU	10	2.3 ± 0.6	1.6	3.5	25.1
PU	10	2.7 ± 1.7	0.7	5.3	61.3
LIM	10	2.4 ± 0.7	1.4	3.4	29.1
ŠT	10	1.7 ± 0.8	0.3	3.3	45.4
LR	10	3.2 ± 0.6	2.0	4.3	18.7

Rezultati u Tablici 1. pokazuju značajnu statističku razliku indeksa kondicije na lokaciji LR u odnosu na lokacije MU, BU, LIM i ŠT, dok lokacija PU pokazuje značajnu statističku razliku indeksa kondicije u odnosu na lokaciju ŠT. Najveći indeks kondicije zamjećujemo na lokacijama LR i PU, a najmanji indeks kondicije je na lokaciji ŠT.

Usporedba koeficijenta varijacije indeksa kondicije na lokaciji LR (18.7) i lokaciji PU (61.3) pokazuje da je varijabilnost indeksa kondicije iz lokacije PU veća u odnosu na varijabilnosti indeksa kondicije lokacije LR. Može se reći da je varijabilnost indeksa kondicije s lokacije PU 3.3 puta veća od varijabilnosti indeksa kondicije s lokacije LR što ukazuje na veće interindividualne razlike u odgovoru na okolišne uvjete.

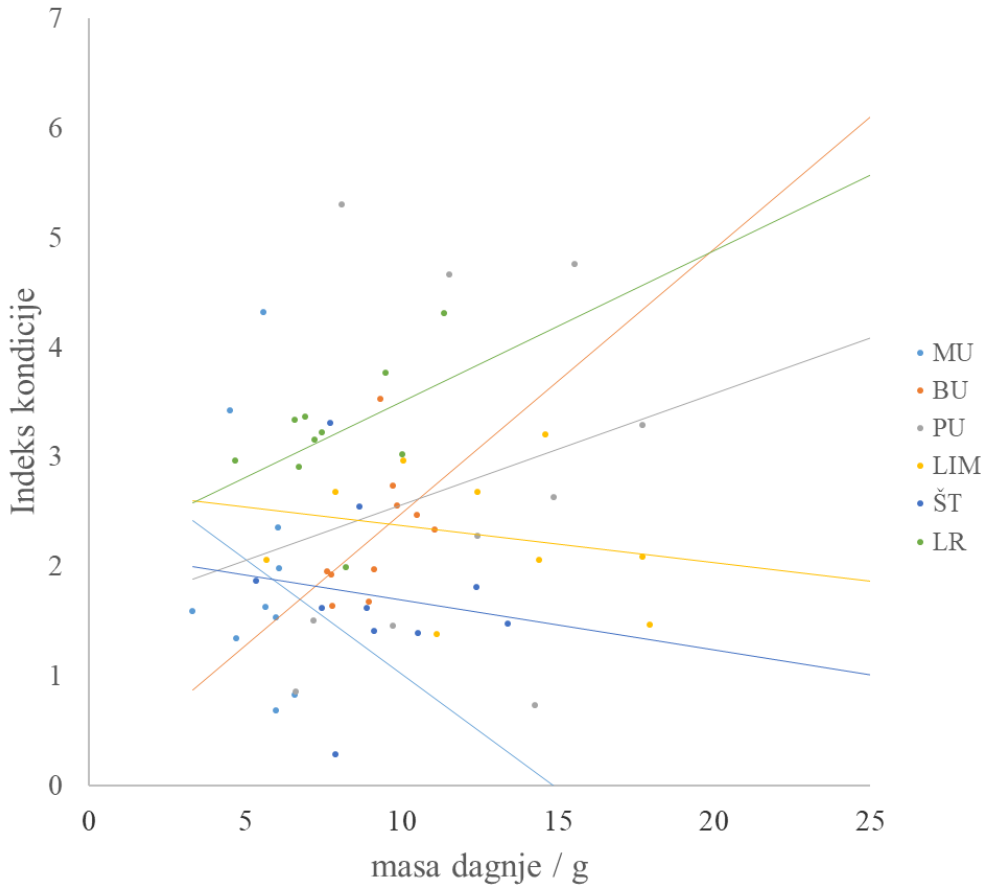
Distribucija vrijednosti indeksa kondicije uzrokovanih dagnji za sve lokacije prikazana je u Slici 7.



Slika 7. Indeks kondicije jedinki dagnje uzrokovanih sa 6 lokacija.

Distribucija vrijednosti indeksa kondicije za sve lokacije prikazane su u Slici 7. Najveći indeks kondicije je uočen na lokacijama PU i LR, a najmanji indeks kondicije je uočen na lokaciji ŠT. U ostalim lokacijama MU, BU i LIM, nije uočena statistički značajna razlika u indeksu kondicije. Statistička analiza (ANOVA/Fischer) je pokazala da se indeks kondicije lokacije PU se statistički značajno razlikuje od lokacije ŠT ($p<0.05$), dok se lokacija LR statistički značajno razlikuje od lokacija ($p<0.05$) MU, BU, ŠT i LIM.

Rezultati u Slici 8. prikazuju linearni odnos između indeksa kondicije i mase dagnje uzrokovanih s šest lokacija.



Slika 8. Odnos između indeksa kondicije i mase dagnje uzrokovane s 6 lokacija

S obzirom na dobivene rezultate, sa Slike 8. može se zaključiti kako se linearni trend povećanja, odnosno smanjenja indeksa kondicije i mase dagnje razlikuje s obzirom na lokacije. Indeks kondicije raste s masom dagnje uzrokovane na lokacijama BU, PU i LR, a opada u lokacijama MU, ŠT i LIM. Kod lokacija MU, ŠT i LIM, indeks kondicije opada, tj. energija rasta je usmjerena na povećanje mase ljušture.

4.2. Hepatosomatski indeks (HSI)

U tablici 2. su prikazani rezultati hepatosomatskog indeksa dagnji uzorkovanih sa šest lokacija.

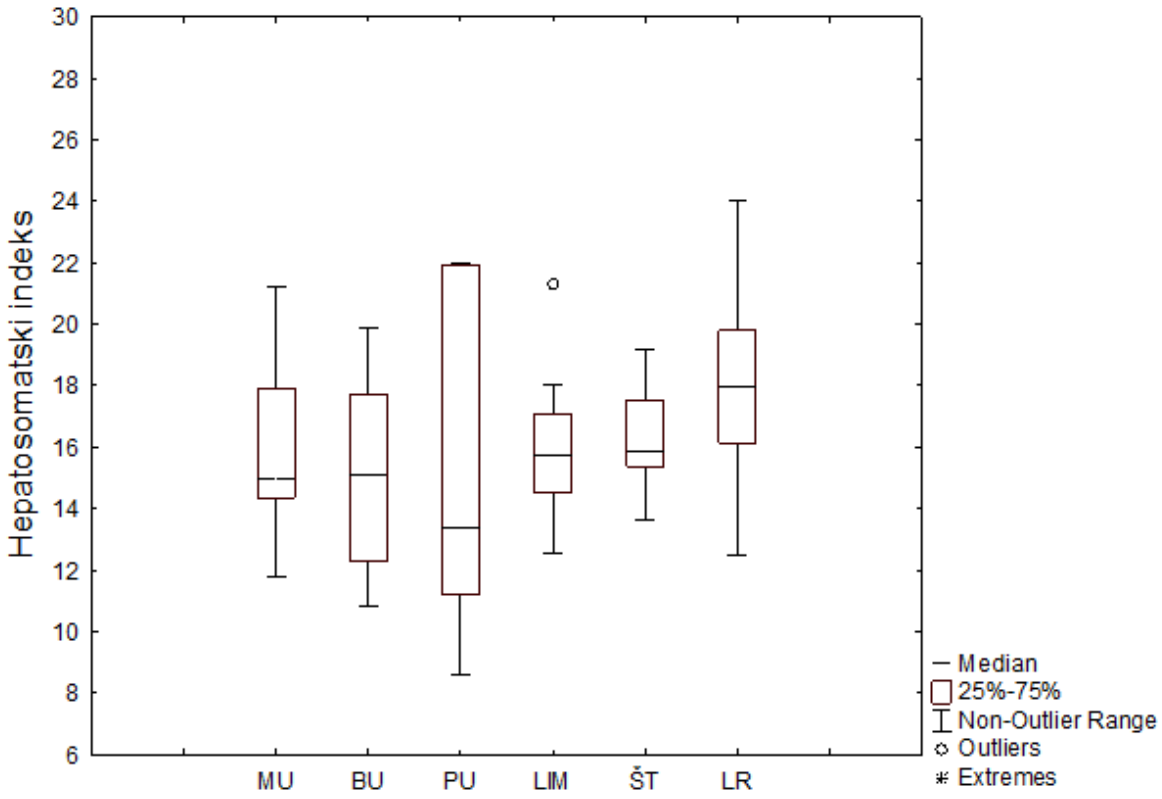
Tablica 2. Deskriptivna statistika hepatosomatskog indeksa dagnji uzorkovanih sa 6 lokacija.

Lokacija	**N**	**SV ± SD**	**MIN**	**MAX**	**CV**
MU	10	16.0 ± 2.8	12.0	21.2	17.4
BU	10	15.1 ± 3.7	11.0	19.9	20.9
PU	10	17.5 ± 11.0	8.6	45.5	62.1
LIM	10	16.1 ± 2.4	12.6	21.3	15.1
ŠT	10	17.2 ± 4.2	13.6	28.1	24.2
LR	10	18.0 ± 3.5	12.5	24.0	19.3

Rezultati u tablici 2. prikazuju značajnu statističku razliku hepatosomatskog indeksa na lokaciji LR u odnosu na lokacije MU, BU, PU, LIM i ŠT. Dok lokacije MU, BU, PU, LIM i ŠT ne pokazuju statističku značajnu razliku hepatosomatskog indeksa.

Uspoređujući koeficijent varijacije svih lokacija pokazuje nam da je varijabilnost indeksa kondicije iz lokacije PU je veća u odnosu na varijabilnosti indeksa kondicije lokacije LR. Može se reći da je varijabilnost indeksa kondicije s lokacije PU 3.2 puta veća od varijabilnosti indeksa kondicije s lokacije LR.

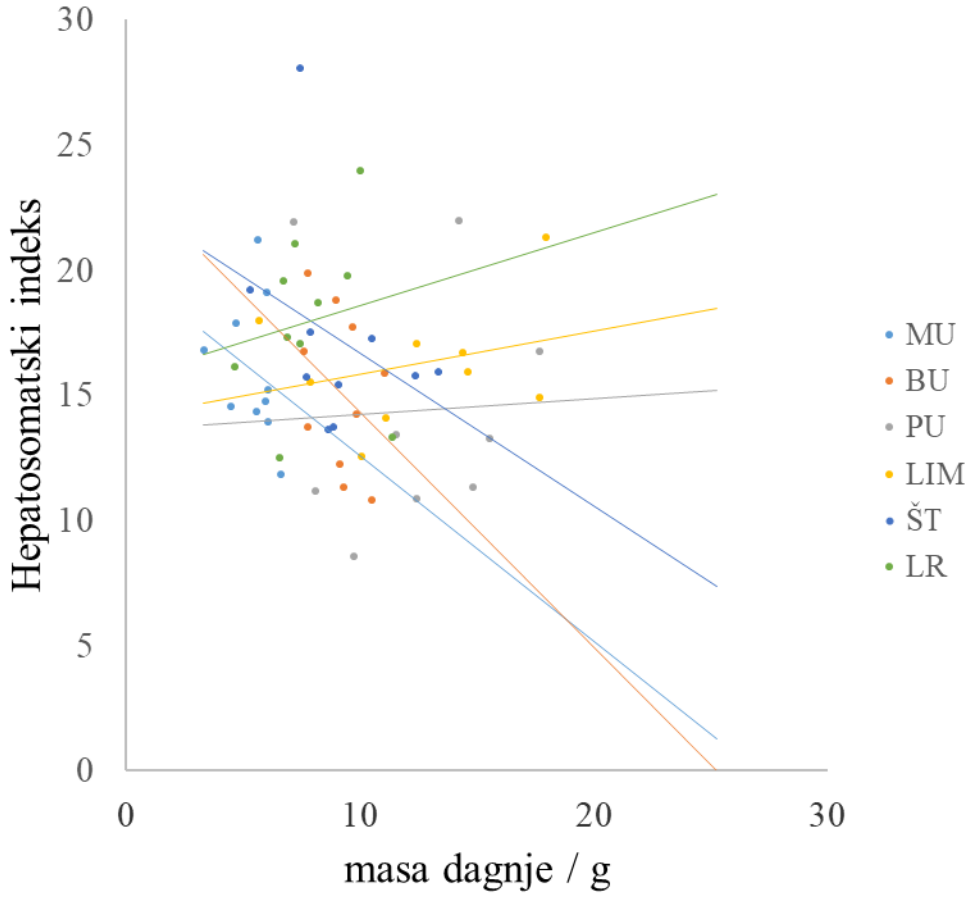
Distribucija vrijednosti hepatosomatskog indeksa dagnje uzorkovane na šest lokacija prikazani su u Slici 9.



Slika 9. Hepatosomatski indeks jedinki dagnje uzrokovanih sa 6 lokacija.

Distribucija vrijednosti hepatosomatskog indeksa za sve lokacije prikazane su u Slici 9. Najveći hepatosomatski indeks je uočen na lokaciji LR, a kod ostalih lokacija MU, BU, PU, LIM i ŠT, nije uočena statistička značajna razlika u hepatosomatskom indeksu. Statistička analiza (ANOVA/Fischer) je pokazala da se hepatosomatski indeks iz lokacije LR statistički značajno razlikuje od lokacija ($p<0.05$) MU, BU, PU, LIM i ŠT.

Linearni odnos između hepatosomatkog indeksa i mase dagnje je prikazan na Slici 10.

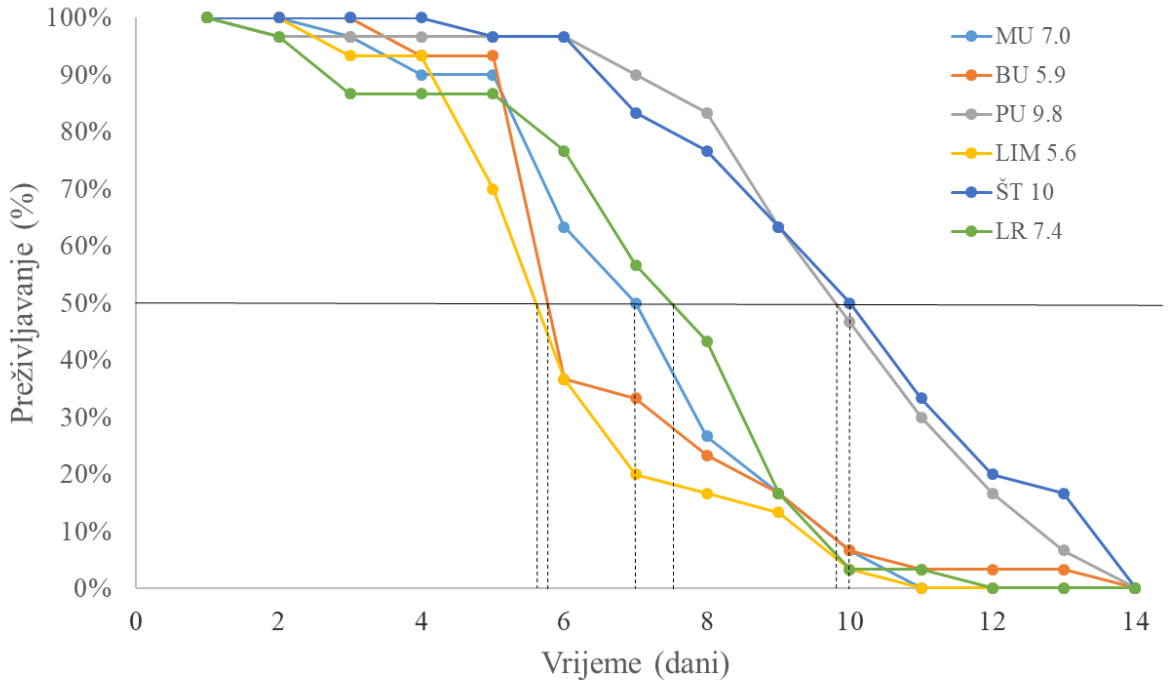


Slika 10. Odnos između hepatosomatskog ineksa i mase cijele dagnje uzrokovani s 6 lokacija.

Linearni odnos između hepatosomatskog indeksa i mase dagnje sa Slike 10. pokazuje da pod antropogenim utjecajima se povećava hepatosomatski indeks paralelno s rastom mase dagnje na lokacijama PU, LIM i LR. Dok kod lokacija MU, BU i ŠT hepatosomatski indeks opada, tj. svoje metaboličke rezerve će usmjeriti na povećanje mase ljušture.

4.3. Preživljavanje na zraku (SOS) test:

Na Slici 11. prikazano je fiziološko stanje dagnji, određivano kao preživljavanja na zraku jedinki dagnje uzozrokovanih s šest lokacija, te vrijeme potrebno da 50% jedinki ugine (LT_{50}). U prva 2 – 4 dana, većina jedinki preživljava, ali ugibaju nakon 12 dana. Za jedinke na lokaciji LIM LT50 se kreće od 5.6 (LIM) dana preko 5.9 (BU), 7.0 (MU), 7.4 (LR), 9.8 (PU) do 10 (ŠT). Iz krivulja je vidljiva razlika u ponašanju dagnji uzorkovanih s različitih lokacija.

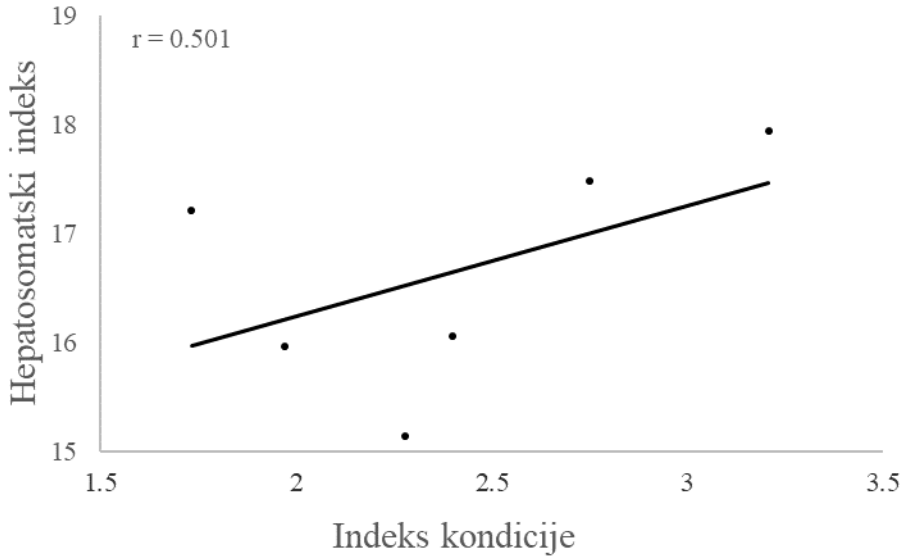


Slika 11. Preživljavanje dagnji u anaerobnim uvjetima uzrokovanih s 6 lokacija.

Uzorci s postaja PU, ŠT i LR pokazuju da imaju bolju mogućnost preživljavanja na zraku u odnosu na dagnje s lokacije BU, MU i LIM koji ne slijede takav trend, već se njihova sposobnost preživljavanja na zraku smanjuje.

4.4. Međusobna ovisnost indeksa kondicije, hepatosomatskog indeksa i preživljavanja na zraku

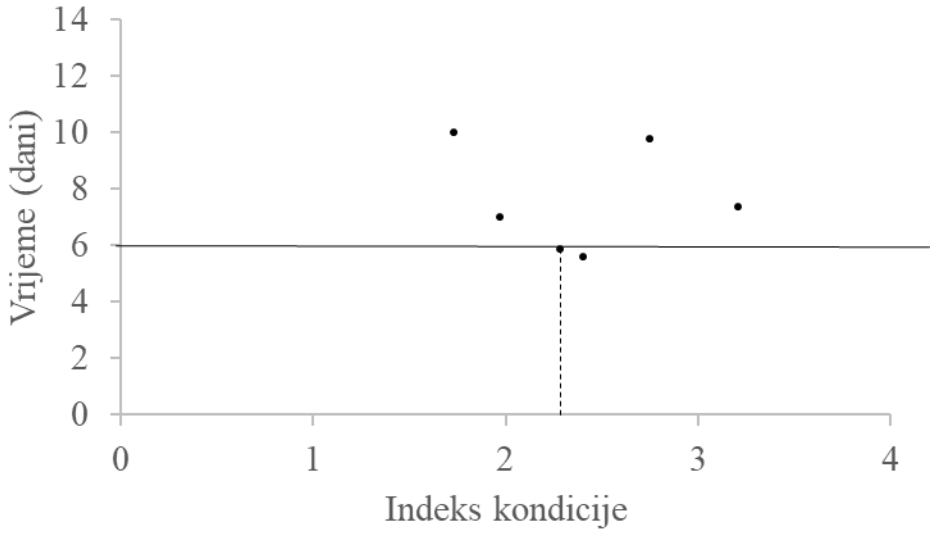
Odnos hepatosomatskog indeksa i indeksa kondicije jedinki dagnje uzrokovanih sa šest lokacija prikazane su u Slici 12.



Slika 12. Odnos hepatosomatskog indeksa i indeksa kondicije jedinki dagnje uzrokovanih s 6 lokacija.

Rezultati sa Slike 12. pokazuju linearni trend povećanja hepatosomatskog indeksa u odnosu na indkesu kondicije uzrokovanih dagnji na šest lokacija. Za razinu značajnosti $p<0.05$ faktor korelacije $r = 0,576$ za $n = 10$. Vrijednost $r = 0.501$ pokazuje da nije uočena korelacija na svim lokacijama između hepatosomatkog indeksa i indeksa kondicije.

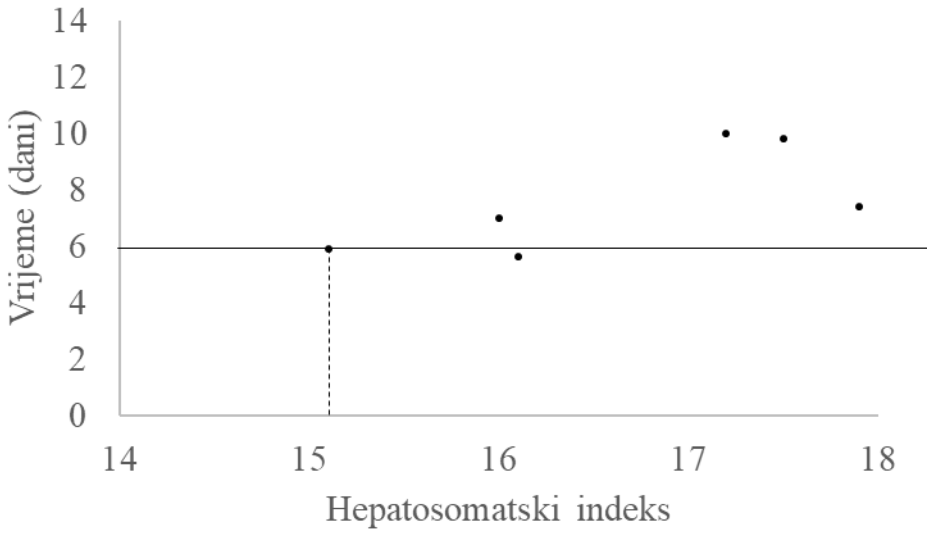
Vrijednost LT_{50} za fiziološko stanje dagnji mjereno preživljavanjem na zraku u odnosu na indeks kondicije prikazani su u Slici 13.



Slika 13. Ovisnost vremena preživljavanja na zraku o indeksu kondicije sa 6 lokacija.

Rezultati sa Slike 13. pokazuju da vrijednost LT_{50} za fiziološko stanje dagnji mjerene preživljavanjem na zraku uzrokovane sa 6 lokacija ne ovise o indeksu kondicije.

Odnos hepatosomatskog indeksa i vremena preživljavanja na zraku je prikazan na Slici 14.



Slika 14. Ovisnost hepatosomatskog indeksa o preživljavanju jedinki uzrokovanih sa 6 lokacija.

Rezultati sa Slike 14. pokazuju odnos dagnje mjerene preživljavanjem na zraku uzrokovane sa 6 lokacija i hepatosomatskog indeksa. Hepatosomatski indeks dagnje s lokacija PU, MU, ŠT i LR je veći u odnosu na preživljavanje na zraku, dok najniži hepatosomatski indeks u odnosu na preživljavanje na zraku je uočen na lokacijama BU i LIM.

5. RASPRAVA

Dagnja *Mytilus galloprovincialis* je jedna od najboljih bioloških indikatora za biomonitoring morskih ekosustava. Koristi se za procjenu onečišćenja u priobalnom području zbog svoje sesilne prirode i filtrirajućeg hranjenja te akumulacije kemijskih kontaminanata iz morske vode (Hamer i sur., 2008). Kontinuirani antropogeni pritisak duž obala svih, pa tako i Jadranskog mora, rezultira u stalnom unosu širokog obima različitih kemijskih tvari u morski okoliš (Lindarić, 2014). Te kemijske tvari utječu na zdravlje morskih ekosustava. Izravnim ispuštanjem, putem padalina ili ispiranjem tla, većina otpadnih tvari antropogenog porijekla najčešće dospijeva u kopnene vode i more, koji tako postaju krajnji primaoci većine onečišćenja i time su posebno ugroženi. Kemijske tvari akumuliraju se u organizmima te imaju potencijal da induciraju promjene na razini molekula, stanica i tkiva, pružajući razne signale upozorenja na događaje koji bi se mogli dogoditi na razini populacija, zajednica te ekosistema (Ohe i sur., 2004). Zbog sve veće potrebe za utvrđivanje razlike između antropogenih područja i praćenja onečišćenja, važno je utrditi kakav je međuodnos odabranih parametra i da li se ovi parametri mogu poslužiti u razlikovanju antropogenih pritiska. U ovom radu analizirane su jedinke dagnji nasumično uzorkovanih sa 6 različitih lokacija s različitim pritiscima stanja okoliša. Istraživani biološki pokazatelji (indeks kondicije, hepatosomatski indeks i vrijeme preživljavanja na zraku) temelje se na fiziološkim ili morfološkim karakteristikama dagnji (Bihari i sur., 2007).

Dobiveni rezultati nam pokazuju da masa hepatopankreasa u svim testiranim dagnjama bez obzira na lokacije raste s masom dagnje. Međutim dobiveni rezultati pokazuju da indeks kondicije se najviše razlikuje na lokacijama PU i LR u odnosu na lokacije MU, BU, LIM i ŠT. Lokacije PU i LR su velike luke te su se pokazali kao najonečišćenije postaje. Bez obzira na veliki dotok hrane i količine nutrijenata tu nalazimo i povišene vrijednosti pojedinih metala koji se mogu objasniti onečišćenjem vezanim za pomorski promet. Povećane koncentracije mogu se pripisati onečišćenju od brodskih premaza i nafte kao i drugim aktivnostima (brodogradnja, nautički turizam) te blizini gradova i industrijskih postrojenja (Ronta, 2016). Takvi rezultati se slažu sa zaključkom Lindarić M. (2014) koja opisuje da povišene vrijednosti koncentracija većine teških metala su zabilježene u područjima velikih lučkih aktivnosti kao i u blizini ispusta industrijskih i urbanih otpadnih voda. Dagnje s lokacija MU, BU i LIM pokazuju sličnu vrijednost indeksa kondicije iz razloga jer su

ova područja bogate nutrijentima, imaju stalan dotok hrane te nisu jako kontaminirane. Dagnje s lokacije ŠT pokazuju najnižu vrijednost indeksa kondicije u odnosu na ostale lokacije što ukazuje na smanjenu količinu nutrijenata i dotoka hrane. Međutim rezultati s Slike 8. nam pokazuju da indeks kondicije u odnosu na masu dagnje se razlikuju s obzirom na lokacije što ukazuje na različite antropogene utjecaje.

Istraživanjem hepatosomatskog indeksa dagnje ustanovljeno je da dagnje sa lokacije LR pokazuju da imaju najveću razliku hepatosomatskog indeksa u odnosu na ostale lokacije. Dagnje s lokacije LR ukazuju na visoki metabolizam zbog velike količine zagađivala u ovom području tj. ukazuje na povišenu koncentraciju određenih metala. Bitan izvor metala u probavnoj žlijezdi je fitoplankton jer primarni producenti pokazuju jednu od najviših razina akumulacije metala u hranidbenim lancima. Zbog povećanog izvora hrane, povećava se i koncentracija metala (Redžović, 2015). Rezultati sa Slike 10. nam pokazuju da pod antropogenim utjecajima se povećava hepatosomatski indeks paralelno s rastom mase dagnje na lokacijama PU i LR. U istraživanju Projekta Jadran 2008. na osnovu rezultata analiza toksikanata iz dagnji, uočeno je da su industrijska područja ona koja su najviše zagađena različitim teškim metalima te PCB spojevima kao posljedica dugotrajnog ispuštanja industrijskih i urbanih otpadnih voda u područja priobalnog mora. Ta se područja odnose na Rijeku i Luke Pula. Dok u lokaciji LIM, hepatosomatski indeks se također povećava te ovakvo povećanje hepatosomatskog indeksa mogu se pripisati zbog velikog dotoka hrane i količine nutrijenata. Limski kanal (LIM) je postaja koja je pokazala da nema povišene vrijednosti niti jednog od analiziranih metala (Sn, Ni, Cr, Pb, Cu te Bi) u tkivu školjkaša što dokazuje neopterećenost onečišćenjem teškim metalima te se smatra referentnom postajom, kao i u prošlim istraživanjima rađenim na istom području (Projekt Jadran 2008, Redžović Z., 2015, Štambuk i sur., 2013). Dok kod lokacija MU, BU i ŠT hepatosomatski indeks opada u odnosu na mase dagnje što nam govori da ove lokacije su manje kontaminirane.

Uzimajući u obzir varijabilnost indeksa kondicije i varijabilnost hepatosomatskog indeksa iz svih lokacija, dagnje s lokacije PU su najviše prilagođene stresnim uvjetima i ukazuju najbolje fiziološko stanje.

Testom preživljavanja na zraku utvrđeno je da dagnje sa 6 različith lokacija se razlikuju na način da dagnje s lokacije PU, LR i ŠT imaju duže vrijeme preživljavanja na zraku u odnosu na dagnje s lokacija MU, BU i LIM. Preživljavanjem na zraku se utvrdilo da jedinke iz manje zagađenih područja su živjele kraće u odnosu na dagnje s zagađenih područja. 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 su stavljene na zrak lakše su tolerirale taj dodatni stres nego one koje se nalaze u čistim postajama (Ronta, 2016). Izloženost dagnje zagađivalima kroz dugo vremensko razdoblje može dovesti do neke razine prilagodbe onečišćenju. Dagnje uzorkovane iz zagađenih lokacija mogu biti fiziološki tolerantnije na onečišćenje od jedinki prikupljenih na ne zagađenim područjima, a kao rezultat toga one pokazuju povišene vrijednosti LT_{50} (Koukouzika i Dimitriadis, 2004). Ova činjenica podupire hipotezu da dagnje koje su izložene većem onečišćenju okolišu mogu razviti neki stupanj prilagodbe, povećanu fizičku toleranciju i dugotrajni opstanak na zraku.

Uzimajuću u obzir rezultate dobivene za korelaciju, zaključuje se da u svim lokacijama ne postoji međusobna ovisnost između indeksa kondicije i hepatosomatskog indeksa dagnji mjerenih preživljavanjem na zraku. Već iz dobivenih rezultata za vrijednost LT_{50} sa Slika 13. i 14. potvrđujemo da dagnje mjerene preživljavanjem na zraku ne ovise o indeksu kondicije, ali zato na lokacijama PU, MU, ŠT i LR hepatosomatski indeks je veći u odnosu na preživljavanje na zraku, dok najniži hepatosomatski indeks u odnosu na preživljavanje na zraku je uočen na lokacijama BU i LIM.

6. ZAKLJUČCI

1. Indeks kondicije, hepatosomatski indeks i preživljavanje na zraku odražavaju antropogene pritiske na pojedinim lokacijama te je najveći utjecaj antropogenog pritiska na lokacijama Luka Pula i Luka Rijeka.

2. Nije uočena uočena međusobna ovisnost selektiranih parametra (indeks kondicije, hepatosomatski indeks i preživljavanje na zraku).

3. Zbog prilagodbe dagnje na specifične stresne uvjete, prvenstveno dostupnost hrane na pojedinim lokacijama, izabrani parametri se ne mogu poslužiti u razlikovanju specifičnog antropogenog pritiska.

7. TEMELJNA DOKUMANTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Jurja Dobrile u Puli Završni rad

Sveučilišni preddiplomski studij Znanost o moru

Preživljavanje na zraku i hepatosomatski indeks dagnji izloženi antropogenim pritiscima

Amanda Nedeljković

Institut Ruđer Bošković, Centar za istraživanje mora, G. Paliaga 5, 52210 Rovinj

SAŽETAK:

Kako bi se odredilo da li je neko područje pod prirodnim ili antropogenim utjecajem koji utječe na promjenu fiziološkog stanja dagnji uzrokovanog stresom, potrebno je analizirati: indeks kondicije, hepatosomatski indeks i preživljavanje na zraku. Dagnje vrste *Mytilus galloprovincialis* uzorkovane su sa 6 lokacija kako bi se ustanovilo na kojim lokacijama najviše utječu antropogeni pritisci te kako bi se opisalo i utvrdilo da li postoji međusobna ovisnost selektiranih parametra i da li se ovi parametri mogu poslužiti u razlikovanju antropogenih pritisaka. Ustanovilo se da indeks kondicije, hepatosomatski indeks i preživljavanje na zraku održavaju antropogene pritiske na pojedinim lokacijama, a najveći antropogeni pritisak je uočen na lokacijama Luka Pula i Luka Rijeka. Pošto nije uočena međusobna ovisnost selektiranih parametra te zbog prilagodbe dagnje na specifične stresne uvjete može se zaključiti da se izabrani parametri ne mogu poslužiti u razlikovanju specifičnog antropogenog pritiska.

Rad je pohranjen u knjižnicama Sveučilišta Jurja Dobrile u Puli i Instituta Ruđer Bošković u Rovinju. Izvornik je na hrvatskom jeziku (30 stranica, 14 slika, 2 tablice, 29 literaturnih navoda).

Ključne riječi: dagnja *Mytilus galloprovincialis,* indeks kondicije, hepatosomatski indeks, preživljavanje na zraku, antropogeni pritisci

Mentor: prof. dr. sc. Nevenka Bihari, znanstveni savjetnik, IRB

Ocjenjivači: prof. dr. sc. Nevenka Bihari, znanstveni savjetnik, IRB

Izv. prof. dr. sc. Maja Fafanđel, viša znanstvena suradnica, IRB

Izv. doc. dr. sc. Paolo Paliaga, viši znanstveni suradnik, IRB

Datum obrane: 25. rujna 2020.

8. BASIC DOKUMENTATION CARD

Juraj Dobrila University of Pula Bachelor thesis

University Undergraduate Study Programme – Marine Sciences

Survival on air and hepatosomatic index of mussels exposed to anthropogenic pressure

Amanda Nedeljković

Ruđer Bošković Institute, Center for Marine Research, G. Paliaga 5, 52210 Rovinj

ABSTRACT:

In order to determine whether an area is under natural or anthropogenic influence that affects the change in the physiological state of mussels caused by stress, it is necessary to analyze: fitness index, hepatosomatic index and survival in the air. Mussels of the species *Mytilus galloprovincialis* were sampled from 6 locations to determine which locations are most affected by anthropogenic pressures and to describe and determine whether there is an interdependence of selected parameters and whether these parameters can be used to differentiate anthropogenic pressures. It was established that the fitness index, hepatosomatic index and air survival maintain anthropogenic pressures at certain locations, and the highest anthropogenic pressure was observed at the locations of the Port of Pula and the Port of Rijeka. Since no interdependence of the selected parameters was observed and due to the adaptation of mussels to specific stress conditions, it can be concluded that the selected parameters cannot be used to differentiate the specific anthropogenic pressure.

This thesis is deposited in the Library of Juraj Dobrile University of Pula and Ruđer Bošković Institute in Rovinj. Original in Croatian (30 pages, 14 figures, 2 tables, 29 references).

Key words: mussel *Mytilus galloprovincialis*, fitness index, hepatosomatic index, survival in air, anthropogenic pressure

Supervisor: Nevenka Bihari, PhD, IRB

Reviewers: Nevenka Bihari, PhD, IRB

Maja Fafanđel, PhD, IRB

Paolo Paliaga, PhD, IRB

Thesis defence: 25.09.2020.

9. LITERATURA

Bihari, N., Fafanđel, M., Piškur V., (2007) Polycyclic aromatic hydrocarbons and ecotoxicological characterization of seawater, sediment, and mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Gulf of Rijeka, the Adriatic Sea, Croatia. Arch, Environ. Contam. Toxicol., 52: 379-387.

Blue growth (2020): Mussel. Preuzeto sa: https://www.blue-growth.org/Fishing_Over_By_Catch/Mussels.htm (10.09.2020.).

Cajaraville MP, Bebianno MJ, Blasco J, Porte C, Sarasquete C, Viarengo A (2000) The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula:a practical approach. Sci. Total Environ. 247:295-311.

Cartier, S., Pellerin, J., Fournier, M., Tamigneaux, E., Girault, L., Lemaire, N. (2004) Use of index based on the blue mussel (*Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus*) digestive gland weight to assess the nutritional quality of mussel farm sites. Aquaculture 241: 634-647.

Dardignac – Corbel, M. J. (1990) Traditional mussel culture. Aquaculture, 1, D. G. Barnabe, (Ed.), Ellis Horwood Chichester, str. 284–341.

Davenport, J., Chen, X. (1987) A comparison of methods for the assessment of condition in the mussel (*Mytilus edulis* L.). J. Moll. Stud. (1987), 53, 293-297.

de Zwann, A.M., M., 1992. Cellular biochemistry and andocrinology, in: G. E.M. (Ed.), The Mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and culture Elsevier Sci. Pub. B.V, str. 223-307.

Gaitán-Espitia, J. D., Quintero-Galvis, J. F., Mesas, A., D'Elía, G. (2016) Mitogenomics of southern hemisphere blue mussels (Bivalvia: *Pteriomorphia*): Insights into the evolutionary characteristics of the *Mytilus edulis* complex. Sci. Rep. 6, 26853, 1-10.

Gosling, E. (1992) The mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture. In Gosling, E. (Ed.), The mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture. Developments in aquaculture and fisheries science, 25., Amsterdam, Elsevier, str. 87-589.

Hamer, B., Jakšić, Ž., Pavičić-Hamer, D., Perić, L., Medaković, D., Ivanković, D., Pavičić, J., Zilberberg, C., Schröder, C.H., 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 Toxicol. 89, 137-157.

Hellou, J., Law, R. J., (2003) Stress on stress response of wild mussel, *Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus*, as an indicator of ecosystem health. Environ. Poll. 126: 407-416.

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’’. Ecotoxicol. 14(4): 449-63.

Lindarić M. (2014) Procjena prilagodbe dagnje (*Mytilus galloprovincialis Lamarck*, 1819) na genotoksični stres. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 41.

Malivuković, T. (2015) Učinak akutno povišenih koncentracija amonijaka na parametre hemolimfe mediteranske dagnje *Mytilus galloprovincialis*. Diplomski rad, Sveučilište u Dubrovniku, Dubrovnik, 44.

Marušić, N., Vidaček, S., Medić, H., Petrak, T. (2009) Indeks kondicije dagnji (*Mytilus galloprovincialis*) u uvali Budava i u zaljevu Raša. Ribarstvo, 67 (3): 91-99.

Mašić, M. (2004) Higijena i tehnologija prerade školjaka. MESO, VI, str. 40-45

Ohe T, Watanabe T, Wakabayashi K (2004) Mutagens in surface waters: a review. Mutat Res – Rev Mutat. 567:109-149.

Projekt Jadran (2008) Završno izvješće. Program za procjenu i kontrolu zagađenja u području Mediteran. Nacionalni monitoring program, Republika Hrvatska, Izvješće za 2007. godinu. Zagreb. Ministarstvo zaštite okoliša, prostornog uređenja i graditeljstva.

Ramasamy, S. (2018): Profile in edible marine bivalve molluscs. In: Ramasamy S. (Ed.), Biology and ecology of edible marine bivalve molluscs. Apple Academic Press Inc., str. 102-103.

Redžović Z. (2015) Metalotioneini kao biomarkeri izloženosti metalima u školjkaša. Seminarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 32.

Ronta, T. (2016) Povezanost morfoloških obilježja i okolišem uvjetovanog fitnesa dagnje (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819). Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 56.

Salazar, M.A. i Salazar, S.M. (1996): Mussels as bioindicators: Effects of TBT on survival, bioaccumulation and growth under natural conditions. In: M. A. Champ and P. F. Seligman (Ed.), Organotin: Environmental Fate and Effects. Chapman & Hall., str. 306.

Štambuk A, Pavlica M, Malovic L, Klobucar GIV (2008) Persistence of DNA damage in the freshwater mussel *Unio pictorum* upon exposure to ethyl methanesulphonate and hydrogen peroxide. Environ. Mol. Mutagen 49:217-225.

Thain, J., Fernández, B., Martínez – Gómez, C. (2019) Biological effects of contaminants: Stress on stress (SoS) response in mussels. Ices Techniq. in Mar. Environ. Sci. no. 59, 1-2.

The Marine Observatory of Esposende (2017): *Mytilus galloprovincialis* Lamarck 1819. Preuzeto sa: http://www.omare.pt/en/especie/mytilus-galloprovincialis-2/ (10.09.2019.).

Thompson, R.J, Ratcliffe, N.A., Bayne, B.L., 1974. Effects of starvation on structure and function in the digestive gland of the mussel (*Mytilus edulis* L.). J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 54, 699-712.

Trush, S. F, Hewitt, J. E., Hickey, W. C., Kelly, S. (2008): Multiple stressor effects identified from species abundance distributions: Interactions between urban contaminants and species habitat relationships. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 366 (1-2): 160-168.

Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Marcinelli, G., Accomando, R., Smaal, A.C., Orunesu, M., (1995) Stress on stress response: a simple monitoring tool in the assessment of a general stress syndrome in mussels. Mar. Environ. Res. 39, 245-248.

Župan, I., Šarić, T. (2014) Prirast i indeks kondicije – dva važna čimbenika u uzgoju dagnji. MESO, XVI, 255-259.