

SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU
ODJEL ZA AKVAKULTURU
DIPLOMSKI STUDIJ MARIKULTURA

Vlaho Račić

Toksične vrste dinoflagelata i njihov potencijalni utjecaj na
školjkarstvo u Malostonskom zaljevu

DIPLOMSKI RAD

Mentor:

dr.sc. Jakša Bolotin

Dubrovnik, 2013.

Ovaj diplomski rad je izrađen u Institutu za more i priobalje Sveučilišta u Dubrovniku, pod stručnim vodstvom dr.sc. Jakše Bolotina i dr.sc. Marijete Čalić u sklopu diplomskog studija Marikultura na Odjelu za akvakulturu Sveučilišta u Dubrovniku.

Zahvale

Zahvaljujem se mojoj obitelji na pruženoj potpori tijekom studiranja.

Zahvaljujem se dr.sc. Jakši Bolotinu i dr.sc. Marijeti Čalić na svim stručnim savjetima i vodstvu pri pisanju ovog rada.

Također se zahvaljujem i dragim prijateljima i kolegama koji su mi pomagali i poticali kroz studiranje.

Kazalo

1.Uvod.....	1
1.1. Komercijalno najznačajniji školjkaši u Malostonskom zaljevu.....	2
1.1.1. Europska plosnata kamenica.....	2
1.1.2. Mediteranska dagnja	3
1.2. Fitoplantkon	4
1.2.1.Dinoflagelati.....	4
1.2.2 Dijatomeje	7
1.3. Štetni učinci pojedinih vrsta fitoplanktona na žive organizme.....	9
1.3.1. DSP (Diarrhetic Shellfish Poisoning – Diaretičko trovanje školjkašima)	11
1.3.2. PSP (Parathythic Shellfish Poisoning – Paralitičko trovanje školjkašima)	11
1.3.3. NSP (Neurotoxic Shellfish Poisoning – Neurotoksično trovanje školjkašima).....	12
1.3.4. ASP (Amnestic Shellfish Poisoning – Amnezijsko trovanje školjkašima).....	12
1.3.5. AZP (Azaspiracid poisoning – Azaspiracidno trovanje školjkašima).....	12
1.3.6. VSP (Venerupin Shellfish Poisoning – Venerupinsko trovanje školjkašima)	13
1.4. Kontrola zdrastvene ispravnosti školjkaša.....	13
1.5. Štetni učinci pojedinih vrsta fitoplanktona.....	15
1.6. Svrha rada.....	15
2. Područije istraživanja.....	16
3. Metodika rada.....	19
3.1. Uzorkovanje.....	19
3.2. Obrada uzoraka.....	19
4. Rezultati.....	21
4.1. Toksični taksoni dinoflagelata.....	21
4.1.1. <i>Alexandrium</i> spp.....	23

4.1.2. <i>Dinophysis acuminata</i> (Claparède & Lachmann).....	24
4.1.3. <i>Dinophysis mitra</i> (Schütt) Abè.....	25
4.1.4. <i>Gonyaulax spinifera</i> (Claparéde & Lachmann) Diesing.....	26
4.1.5. <i>Gonyaulax</i> spp.....	27
4.1.6. <i>Gymnodinium</i> spp. Stein.....	27
4.1.7. <i>Lingulodinium polyedra</i> (F.Stein) J.D.Dodge.....	28
4.1.8. <i>Phalacroma rotundatum</i> (Claparéde & Lachmann), Kofoid & Michener.....	29
4.1.9. <i>Prorocentrum micans</i> Ehrenberg.....	30
4.1.10. <i>Prorocentrum minimum</i> (Pavillard) J. Schiller.....	31
4.1.11. <i>Proroceratium reticulatum</i> (Faust).....	32
4.1.12. <i>Protoperidinium crassipes</i> (Kofoid) Balech.....	33
4.2. Toksična dijatomeja.....	34
4.2.1. <i>Pseudo-nitzschia</i> spp.....	34
4.3. Potencijalno štetne vrste fitoplanktona za školjkaše.....	35
4.3.1. <i>Akashiwo sanguinea</i> (K.Hirasaka) G.Hansen & Ø.Moestrup.....	36
4.3.2. <i>Gonyaulax polygramma</i> (Stein).....	37
4.3.3. <i>Prorocentrum triestinum</i> Schiller.....	38
4.3.4. <i>Scrippsiella trochoidea</i> (Stein) Balech ex Loeblich III.....	39
5. Rasprava.....	40
6. Zaključak.....	48
7. Izvori.....	49

Sažetak

Toksične vrste dinoflagelata i njihov potencijalni utjecaj na školjkarstvo u Malostonskom zaljevu

Tijekom 2010. i 2011. godine u uvali Bistrina u Malostonskom zaljevu sakupljeni su uzorci morske vode s različitih dubina kako bi se utvrdila prostorno-vremenska raspodjela toksičnih i za školjkaše potencijalno štetnih fitoplanktonskih vrsta. Uzorci su sakupljeni Niskinovim crpcem, a fitoplanktonske vrste određene metodom po Utermöhlu. U 17 obrađenih uzoraka determinirano je 12 toksičnih vrsta dinoflagelata, jedna toksična dijatomeja iz roda *Pseudo-nitzschia*, te četiri potencijalno štetne vrste dinoflagelata. Rezultati istraživanja pokazuju da je Malostonski zaljev prilično pogodno područje za uzgoj školjkaša, gdje abudancije toksičnih fitoplanktonskih vrsta nisu velike dok je njihova raznolikost veća nego na drugim lokalitetima uzduž jadranske obale.

Ključne riječi:

dijatomeje, dinoflagelati, fitoplankton, Malostonski zaljev, uvala Bistrina, školjkaši, toksičnost

Abstract

Toxic dinoflagellate species and their potential effect on shellfish in the Mali Ston bay

During 2010 and 2011 the samples were collected in the bay Bistrina (Mali Ston Bay) on different depths in order to determine the spatial and temporal distribution of toxic and for shellfish potentially harmful phytoplankton species. Samples were collected with Niskin sampler and the phytoplankton taxa were determined using the method of *Uthermöhl*. In the result of 17 treated samples were found: 12 species of toxic dinoflagellates, one toxic diatoms of the genus *Pseudo-nitzschia*, and four types of potentially harmful dinoflagellates species. In this study, Mali Ston Bay proved to be a quite safe area for the cultivation of shellfish where the abundances of toxic phytoplankton is small but their diversity is more significant than in the other areas along the Adriatic coast.

Keywords:

diatoms, dinoflagellates, phytoplankton, Mali Ston Bay, bay Bistrina, shellfish, toxicity

1. Uvod

Malostonski zaljev poznato je uzugajalište školjkaša još od Rimskog doba. Školjkarstvo omogućava znatan izvor prihoda za lokalno stanovništvo, a kvaliteta uzgojenih vrsta prepoznatljiva je i izvan hrvatskih granica. Zbog duge tradicije uzgoja prvenstveno europske plosnate kamenice, izuzetnih prirodnih karakteristika te značaja cijelog područja za suvremeni uzgoj školjkaša, tadašnje općine Dubrovnik i Metković 1983. godine proglašile su akvatorij Malostonskog zaljeva zaštićenim, a Državna uprava za zaštitu prirode, temeljem odredbi čl.20 Zakona o zaštiti prirode SR Hrvatske (NN 54/76), potvrdila kategoriju "Specijalni rezervat u moru". Odlukom Skupštine Dubrovačko-neretvanske županije 1998. godine promjenjen je status zaštite Malostonskog zaljeva u kategoriju „Strogog rezervata u moru“, a odlukom od 23. prosinca 2002. god. ista instanca proglašava ovo područje "Posebnim rezervatom u moru". Posebni rezervat u moru je definiran kao područje u kojem je izražen jedan ili više elemenata prirode, a od posebnog je značaja i namjene (Benović i sur., 2003).

Školjkaši su organizmi koji se hrane filtrirajući morsku vodu, pri čemu izdvajaju iz nje sve nutrijente potrebne za rast i razvoj. Njihovu hranu predstavljaju različite u vodi suspendirane čestice (najvećim dijelom fitoplankton, potom zooplankton, bakterije i detritus), od onih bezopasnih, do patogenih ili onih koji sadrže različite toksične tvari (teški metali, pesticidi, derivati nafte, dioksin, biotoksini i sl.) koje se u mekom tkivu školjkaša mogu akumulirati u visokim koncentracijama. Takvi školjkaši predstavljaju prijetnju za ljudsko zdravlje (tzv food borne diseases; bolesti uzrokovane hranom). Većina ovih toksičnih tvari potječe od antropogenog onečišćenje morske vode, dok su biotoksini (fito- ili fikotoksini) posljedica prisutnosti toksičnih vrsta fitoplanktona u uzgojnom okolišu. Koncentracija biotoksina u mesu (jestivom dijelu) školjkaša ovisi o abundanciji toksičnih fitoplanktonskih vrsta u morskoj vodi (Gosling, 2003; Huss i sur. 2004).

Pored toksičnih fitoplanktonskih vrsta koje mogu uzrokovati zdravstvenu neispravnost školjkaša, štetni utjecaj određenih vrsta fitoplanktona može se odraziti negativno i na preživljavanje i zdravstveno stanje samih školjkaša (Gosling, 2003;). Naime, povećana

abudancija takvih fitoplanktonskih vrsta može uzrokovati anoksiju ili hipoksiju i posljedična uginuća ili lošu fiziološku kondiciju školjkaša. Kako bi se doznalo o kojim se vrstama i brojnosti toksičnog ili pak za školjaše potencijalno štetnog fitoplanktona radi, potrebno je kvalitativno i kvantitativno analizirati uzorke morske vode prikupljene na uzgajalištima. Malostonski zaljev je od iznimne gospodarske važnosti za uzgoj školjkaša, stoga će rezultati istraživanja prostorne i vremenske raspodjele fitoplanktona doprinjeti kvalitetnijem održavanju i razvoju marikulture, kao i zaštiti samog zaljeva.

1.1. Komercijalno najznačajniji školjkaši u Malostonskom zaljevu

1.1.1. Europska plosnata kamenica

Europska plosnata kamenica *Ostrea edulis* (Linnaeus, 1758) bentoski je sesilni organizam koji uglavnom naseljava kamenite podloge. Tijelo školjkaša smješteno je unutar dviju asimetričnih ljuštura. Za podlogu se prihvata lijevom ljušturom, hrani se filtrirajući morskou vodu škrigama koje obavljaju i funkciju osmoregulacije te respiracije (Matoničkin i sur., 1998).

Optimalna slanost morske vode za rast kamenica je 30 – 33 psu, dok je ona ispod 20 psu kritična pa čak i letalna (Meštrov i Požar – Domac, 1981). Kamenica je protandrični hermafrodit s ritmičkom izmjenom spola. Za vrijeme svog razvijanja jedinke najprije bivaju mužjacima, potom ženkama, a nadalje redovno mijenjaju spol ovisno o temperaturi morske vode. Oplodnja je unutrašnja – morska voda koja sadrži spermu ulazi u plaštano šupljinu, gdje se oplodena jajna stanica razvija do tzv. “faze crnog sjemena”, odnosno veliger ličinke veličine 184 - 188 µm. Za vrijeme ženske faze, jedinka proizvodi od 10 000 do nekoliko milijuna jajašaca. Prema Korringi (1947), inkubacija oplodenih jaja u ženki, ovisno o temperaturi morske vode traje 8 do 10 dana. Nakon izbacivanja iz plaštane šupljine majke, veliger ličinke s već formiranom ljušturom slobodno plivaju. Ta planktonska faza traje 14 dana. U tom razdoblju ljuštura ličinki raste, povećava masu i pada prema dnu gdje se prihvata za podlogu. U prvih šest mjeseci života jedinke narastu oko 1 cm (Matoničkin i sur., 1998).

1.1.2. Mediteranska dagnja

Mediteranska dagnja *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), najčešće naseljava zonu plime i oseke i uobičajen je školjkaš duž cijele obale Jadranskog mora. Ograničena dubinska rasprostanjenost uvjetovana je biološkim čimbenicima predacije i kompeticije, a ne nemogućnošću preživljavanja u uvjetima koji vladaju u dubljim slojevima infralitoralne zone (Gosling, 1992). Često naseljava čvrstu podlogu u bočatim vodama na ušćima rijeka. Mediteranska dagnja ima tamnomodre asimetrične ljuštute. Stopalo je smanjeno i prstasto. U njemu se nalaze žljezde koje izlučuju sluz. Izlučena sluz u morskoj vodi otvrđne u dugačka i žilava vlakna, tzv. bisus, pomoću kojega se školjkaš prihvata na podlogu (Matoničkin i sur., 1998).

Temperatura i slanost morske vode te količina otopljenih hranjivih soli značajno utječu na životni ciklus dagnje. Stopa rasta viša je u područjima sa stalnim dotokom slatke vode, s optimumom između 25 i 30 psu, dok niske vrijednosti saliniteta uzrokuju znatno usporavanje i prestanak rasta (Gosling, 1992; Marušić i sur., 2010). Dagnja može preživjeti i slanost morske vode manju od 18 psu. Na rast dagnji važan utjecaj ima i gustoća nasada. Ukoliko su dagnje pregusto nasaćene, uglavnom manje jedinke ostaju „zarobljene“ između većih jedinki i ne mogu dobiti dovoljne količine hrane te dosta sporije rastu ili uginju (Gosling, 1992).

Dagnje su gonohoristi s vanjskom oplodnjom. Spolno sazrijevaju u prvoj godini života. U Malostonskom zaljevu proces mrješćenja traje od kraja studenog do kraja ožujka, pa čak do početka svibnja, kada dagnja ispušta 5 – 25 milijuna jaja u vodenim stupcima (Hrs-Brenko i Legac, 2006). Ako dagnja ima povoljne životne uvjete, postiže tržišnu veličinu (60-80 mm) već u drugoj godini života (Teskeredžić i sur., 2004).

1.2. Fitoplankton

Fitoplankton čine jednostanični i kolonijalni mikroorganizmi iz carstva Protista. Prema veličini se dijele na piko(fito)plankton (stanice 0.2 do 2 μm), nano(fito)plankton (stanice 2 do 20 μm) i mikro(fito)plankton (stanice veće od 20 μm). Najbrojniji su u osvijetljenoj, eufotičkoj zoni, gdje uz pomoć sunčeve svjetlosti provode proces fotosinteze, odnosno izgradnje nove organske tvari uz oslobođanje elementarnog kisika. Riječ je o primarnim proizvodčima organske tvari, čija ukupna godišnja neto proizvodnja iznosi između 15×10^9 i 18×10^9 tona ugljika (Viličić, 2002).

Fitoplankton Jadrana se po svojim morfološkim i fiziološkim karakteristikama može svrstati u nekoliko najzastupljenijih skupina: dijatomeje, dinoflagelati, kokolitoforidi, silikoflagelati i mikroflagelati. U Jadranskom moru najveći broj fitoplanktonskih organizama (više od 80 %) je iz skupine dijatomeja (Viličić, 2003), dok toksične fitoplanktonske vrste uglavnom pripadaju skupini dinoflagelata (Taylor , 1976).

1.2.1. Dinoflagelati

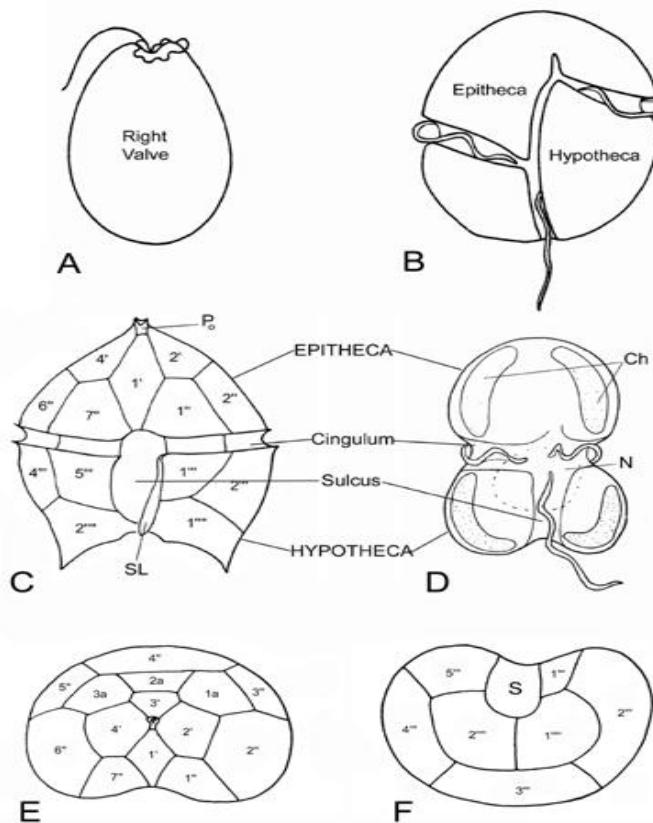
Carstvo PROTOCTISTA

Odjel DINOPHYTA

Dinoflagelati su uz dijatomeje najvažniji predstavnici mikrofitoplanktona i nanoplanktona. Poznato je oko 2000 recentnih vrsta koje su svedene u jedan razred i osam redova. Naseljavaju morske, slatke i bočate vode. Pretežno su planktonski, iako su poznati i bentoski predstavnici. Stanice dinoflagelata nemaju staničnu stijenku, nego se na površini stanice nalazi omotač karakterističan samo za ovu skupinu - amfifinezma. Ako je amfifinezma tvrda često se naziva oklopom ili tekom, a takvi dinofiti nazivaju se tekatnim (Viličić, 2002).

Površina mladih stanica s vanjske strane sastoji se od plazmaleme i s unutrašnje strane od vezikula u kojima se kod oklopljenih vrsta stvaraju celulozne ploče. Vrste čije stanice nemaju celulozne ploče nazivaju se netekatnim ili golid, a kod njih su vezikule prazne. Najveći dio organizama ima gornju i donju polovicu (epitheca i hypotheca) koje razdvaja poprečna brazda ili pojas (cingulum). Na ventralnoj strani on se siječe s uzdužnom brazdom ili žlijebom (sulcus). Iz sjecišta izlaze bičevi i to transverzalni koji se pokreće unutar poprečne brazde i rotira stanicu, te uzdužni bič koji stanicu pokreće naprijed. Oklopljeni dinoflagelati međusobno se razlikuju po broju i rasporedu pločica u oklopu, te se na taj način određuje rod i vrsta. Za razliku od njih, gole dinoflagelate je neophodno određivati u živom stanju, jer se međusobno razlikuju po obliku, načinu kretanja i po obliku i broju kromatofora. Za dinoflagelate je karakteristična velika jezgra (dinokarion) s trajno kondenziranim kromosomima. Stanice imaju vakuoliziranu jezgru. Kao rezervnu hranu proizvode škrob ili lipidne kapljice. Veličina dinoflagelata se kreće u rasponu od 5 μm do 2 mm. Od pigmenata važni su klorofil a i klorofil c, a od karotenoida najvažniji su peridinin, dinoksantin i diadinoksantin. Oni dinoflagelati koji sadrže kromatofore ne moraju biti samo autotrofni, već mogu činiti prijelaz prema heterotrofnim dinoflagelatima, odnosno mogu imati bezbojne plastide. Ti organizmi su nazvani miksotrofi. Dinoflagelati imaju mogućnost brze reprodukcije, i u određenim uvjetima, mogu stvoriti veliku gustoću jedinki pa njihova crvenkasto-smeđa boja postane vidljiva na moru. Razmnožavaju se uzdužnom diobom stanice. Često je vegetativno razmnožavanje pomoću nepokretnih spora, tako da stanični protoplast stvorи pojedinačnu aplanosporu. Oklopljeni dinoflagelati koriste dva načina pri diobi: 1) roditeljska stanica odbaci oklop, nakon čega se podijeli i svaki dio stvara novu teku, 2) dijeljenje roditeljske teke u dva dijela, te svaka nova stanica zadrži polovicu teke, sintetizirajući izgubljenu polovicu. Potvrđeno je da mnogi dinoflagelati imaju mogućnost spolnog načina reprodukcije, češće izogamije, a rjeđe anizogamije. Spolno razmnožavanje gametama obično završava stadijem cista. Za mnoge vrste (*Noctiluca scintillans*, *Lingulodinium polyedrum*), značajna je bioluminiscencija stoga se ova skupina često naziva svijetlećim bičašima. Dinoflagelati su većinom jako dobri plivači kojima su svojstvene dnevne vertikalne migracije. Danju su stanice blizu površine, gdje se koriste svjetlosnom energijom za fotosintezu. Noću stanice migriraju u dublje slojeve, gdje upijaju i skladište višak nutrijenata. Ovi organizmi zauzimaju važno mjesto u evoluciji, jer postoje pretpostavke da su jedan od prijelaznih stadija biljnog svijeta prema životinjskom. U

svijetu je zabilježeno 16 rodova toksičnih dinoflagelata: *Alexandrium*, *Amphidinium*, *Cochlodinium*, *Coolia*, *Dinophysis*, *Gambierdiscus*, *Gonyaulax*, *Gymnodinium*, *Gyrodinium*, *Lingulodinium*, *Noctiluca*, *Ostreopsis*, *Pfiesteria*, *Prorocentrum*, *Protoperidinium* i *Scrippsiella* (Taylor , 1976).



Slika 1. Identificiranje dinoflagelata:. bočni pogled na desmokont stanice, b. ventralni pogled na dinokont stanice, c. ventralni pogled na teka peridiniod stanice, d. ventralni pogled na atekatne gimnodiniod stanice, e. apikalni pogled na epitekalnu ploču, f. antapikalni pogled na hipotekalnu ploču. Ch = kloroplast; N = jezgra; Po = apikalna ploča; SL = žlijeb
(a-b preuzeto iz Steidinger & Tangen 1996; - c-f preuzeto iz Taylor 1987).

1.2.2. Dijatomeje

Carstvo PROTOCTISTA

Odjel CHYSOPHYTA

Razred BACILLARIOPHYCEAE (sin. Diatomeae)

Dijatomeje (alge kremenjašice) su jednostanični autotrofni organizmi koji žive pojedinačno ili u kolonijama. Postoje planktonski oblici i oni koji žive na supstratu ili su za njega pričvršćeni. Dijatomeje nemaju bičeve, lebde u vodi i u potpunosti ovise o horizontalnom i vertikalnom gibanju vodenih masa. Stanica dijatomeja nema staničnu stijenu, već je nakon stanične diobe obavijena periplastom. Ispod plazmaleme nalaze se vezikule u kojima se sintetizira amorfni i netopljivi opal ($\text{SiO}_2 \times \text{H}_2\text{O}$) iz netopljivog silicija, koji je u moru prisutan u obliku ortosilicijeve kiseline (H_2SiO_4) i njegovih topljivih polimera. Ljušturica (frustula) se sastoji od dva dijela (valve), od kojih veći dio, kao poklopac kutije, pokriva manji dio. Valve mogu biti različitih oblika (okrugle, eliptične, stožaste ili valovite), a bočno su položene u pleure. Pleure gornjeg i donjeg dijela ljušturice stvaraju pojase. Imaju velike vakuole koje zapremaju 90% staničnog prostora. S obzirom na strukturu ljušturice dijele se na *Centrae* koje imaju radikalnu strukturu u odnosu na centralnu točku i pretežno su planktonski oblici, i *Pennatae* koje su izdužene i prevladavaju u bentosu. Pigmenti dijatomeja su klorofili a i c, te karotenoidi (beta karoten i fukoksantin). Klorofil c omogućuje im korištenje svjetlosnih zraka valnih duljina koje prodiru dublje u more, a time uvjetuje i njihovu vertikalnu raspodjelu. Pigmenti su smješteni u kloroplastima koji su obično mali i brojni. Proizvodi asimilacije su lipidi, dok škrob nikada ne stvaraju (Mann i Droop, 1996).

Dijatomeje se razmnožavaju vegetativno i spolno. Kod vegetativnog se načina valve razmaknu, a protoplazma se podijeli te nastupi mitoza jezgre. Obje nove stanice dobiju po jednu valvu od roditeljske stanice koja postaje gornja odnosno veća valva, dok manju stvaraju same. Na ovaj način postupno dolazi do smanjivanja veličine stanice. Kada stanica dođe do veličine

kod koje se ne može dalje dijeliti, dolazi do posebnog načina diobe poznatog kao proces auksosporulacije kod kojeg je često uključen i spolni proces. Osnovni princip auksosporulacije je stvaranje velike auksospore koja zatim izlučivanjem formira veću ljuštu. Uočeno je spolno razmnožavanje mikrosporama koje imaju dva biča; spajaju se male stanice bez silicijeve membrane te stvaraju zigotu koja daje normalnu stanicu (Mann, 1989).

U nepovoljnim uvjetima dijatomeje mogu stvarati trajne ciste (spore) s tvrdom silificiranom ljušturicom koja ima karakteristične nastavke kod različitih vrsta. Trajne spore padnu na dno gdje mogu preživjeti nepovoljnu godišnju sezonu i ponovno se aktivirati kada nastupe povoljni uvjeti. Neki od toksičnih rodova dijatomeja su: *Halimphora*, *Nitzschia navis*, *Pseudo-nitzschia* (Hasle i sur., 1996).

1.3. Štetni učinci pojedinih vrsta fitoplanktona na žive organizme

Štetno cvjetanje fitoplanktona uzrokuju najvećim dijelom organizmi iz skupine dinoflagelata. Određene vrste sadrže biotoksine koji se mogu akumulirati do toksičnih koncentracija u jestivom dijelu (mekom tkivu) školjkaša i pri tome uzrokovati trovanja organizama na višim razinama hraničnog lanca. Smatra se da biotoksi nisu štetni za same školjkaše, ali njihove visoke koncentracije u tkivu školjkaša povremeno dovode do pomora predatorskih riba i ribojednih ptica, a često su uzrokom trovanja ljudi, odnosno zdravstvene neispravnosti školjkaša za tržište (Steidinger i Tangen, 1996).

Do danas je poznato oko 60 vrsta štetnih fitoplanktonskih organizama (Smayda, 1997) koji:

- sintetiziraju biotoksine,
- uzrokuju fizička oštećenja kod životinja,
- sudjeluju u stvaranju hipoksije i anoksije u okolnoj vodi, bilo morskoj, boćatoj ili slatkoj
- smanjuju prođor svjetlosti,
- ili su nepovoljan izvor hrane herbivorima zbog niske nutritivne vrijednosti

U Jadranu obitava 18 toksičnih (sadrže biotoksine te mogu uzrokovati zdravstvenu neispravnost školjkaša) ili za školjkaše potencijalno štetnih vrsta dinoflagelata (pri visokoj abundanciji uzrokuju hipoksiju ili anoksiju): *Alexandrium minutum*, *A. tamarense*, *A. fundyense*, *A. lusitanicum*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta*, *D. caudata*, *D. fortii*, *D. norvegica*, *D. mitra*, *D. rotundata*, *D. sacculus*, *D. tripos*, *Protocentrum micans*, *P. minimum*, *P. lima*, *Gymnodinium catenatum* i *Lingulodinium polyedrum* (Honsell, 1993):

Skupine biotoksina dijele se prema vrstama intoksikacija (trovanja; food borne diseases) koje uzrokuju kod ljudi, odnosno prema simptomima koje izazivaju:

DSP (Diarrhetic Shellfish Poisoning - Dijaretičko trovanje školjkašima),

PSP (Paralytic Shellfish Poisoning - Paralitičko travnje školjkašima),

NSP (Neurotoxic Shellfish Poisoning - Neurotoksično trovanje školjkašima),

ASP (Amnestic Shellfish Poisoning - Amnezijsko trovanje školjkašima),

AZP (Azaspiracid Poisoning - Azaspiracidno trovanje školjkašima),

VSP (Venerupin Shellfish Poisoning - Venerupinsko trovanje školjkašima).

U svijetu je trovanje fitotoksinima uslijed konzumacije školjkaša poznato već stoljećima. Ipak se mora naglasiti da prisutnost toksičnog fitoplanktona ili male koncentracije ovih toksina u tkivu školjkaša ne znači nužno da će doći do intoksikacije ljudi nakon konzumacije školjkaša. Visina njihove akumulacije u mekom tkivu školjkaša ovisi o abundanciji toksičnog fitoplanktona, kao i biotskim i abiotskim čimbenicima koji utječu na razinu filtracijske aktivnosti školjkaša (Huss i sur., 2004; Gosling, 2003).

Cvjetanje toksičnih vrsta fitoplanktona u Jadranu prvi put je zabilježeno 1989. godine uz sjeverozapadnu obalu (područje Emilia-Romagna), kada je visoka koncentracija DSP toksina u mekom tkivu školjkaša prouzročila trovanja velikih razmjera kod ljudi (Boni i sur., 1992; 1993). Prisutnost PSP toksina u školjkašima također je zabilježena u sjevernom Jadranu (Honsell i sur., 1996), ali bez utjecaja na zdravlje ljudi koji su ih konzumirali. Prisustvo fitotoksina u školjkašima srednjeg Jadrana prvi put je zabilježeno u ljeto 1994. god., iako su koncentracije bile znatno ispod graničnih vrijednosti dozvoljenih zakonom (Orhanović i sur., 1996).

1.3.1. DSP (Diarrhetic Shellfish Poisoning- Dijaretičko trovanje školjkašima)

Trovanje se kod ljudi najčešće manifestira u obliku gastrointestinalnih smetnji, zbog čega se često zamjenjuje s bakterijskom infekcijom. Simptomi uključuju mučninu, povraćanje i proljev. Ovu vrstu intoksikacije uzrokuje cijeli niz toksina od kojih je najznačajnija okadaična kiselina (OA), te dinophysitoxin 1 (DTX1) i dinophysitoxin 2 (DTX 2) koji su topivi u lipidima. Novija istraživanja pokazuju da okadaična kiselina ima i kancerogena svojstva. Dijaretički toksini su prisutni kod dinoflagelata iz rodova *Prorocentrum* i *Dinophysis*. (Yasumoto i Murata, 1993).

1.3.2. PSP (Paralytic Shellfish Poisoning – Paralitičko travnje školjkašima)

Toksini skupine PSP topivi su u vodi i sastoje se od velikog broja komponenti različite toksičnosti. Osnovne komponente su saxitoksin, neosaksitoksin i gojulotoksin. Školjkaši ih akumuliraju u hepatopankreasu. PSP toksini djeluju na periferni živčani sustav i koštano-mišićni sustav, što može dovesti do paralize dišnih mišića. Simptomi se javljaju u roku od 30 minuta od konzumiranja školjkaša i uključuje utrnuće usta, jezika, mišićne obamrlosti, poremećanja u hodu i gubitaka ravnoteže. Ponekad se mogu javiti i gastrointerstinalni problemi. U ozbiljnim slučajevima javlja se mišićna paraliza koja počinje u nogama i može dovesti do smrti uslijed zatajenja respiratornog sustava. Smrtnost kod PSP trovanja je 9-10%. Od svih komponenti PSP toksina najotrovniji je saxitoksin koji je ujedno jedan od najotrovnijih ne-preoteinskih toksina. Letalna doza za čovjeka iznosi između 1 i 4 mg ovisno o starosti i fizičkom stanju čovjeka, čime se po smrtonosnom učinku približava toksinu vrste *Clostridium botulinum*. Najčešće vrste koje u Sredozemlju izazivaju PSP toksičnost su *Alexandrium minutum* i rjeđe *A. catanella*. (Anderson, 2000).

1.3.3. NSP (Neurotoxic Shellfish Poisoning – Neurotoksično trovanje školjkašima)

Ovu vrstu intoksikacije ljudi uzrokuju brevetoksini koje proizvodi dinoflagelat *Gymnodinium breve*. Brevetoksini se razlikuju od većine drugih toksina koje proizvode dinoflagelati po tome što mogu preći u aerosol. Simptomi trovanja su pareza usana i jezika, gubitak okusa, usporen puls, osjećaj hladnoće i topline, proširenje zjenice i proljev. Koji će se od ovih simptoma očitovati ovisi o količini unesenog toksina, no svi oboljeli se oporave u roku nekoliko dana. Prije desetak godina ovaj tip toksičnosti bio je isključivo vezan za područje Meksičkog zaljeva, no kasnije je prijavljen i u Novom Zelandu, Japanu te u Europi (Španjolska, Portugal) (Novelli i sur., 1993).

1.3.4. ASP (Amnestic Shellfish Poisoning – Amnezijsko trovanje školjkašima)

Ovaj tip trovanja ljudi uzrokuju dijatomeje *Pseudo-nitzschia pungens*, *P. australis*, i *P. seriata* koje sintetiziraju domoičnu kiselinu, neurotoksin koji se akumulira u školjkašima-filtratorima. U roku od 24 sata nakon konzumacije javljaju se glavobolja, smetenost, gubitak pamćenja, mučnina, povraćanje, drugim riječima dolazi do oštećenja neurona u hipotalamusu. Zabilježeni su i slučajevi ugibanja ptica koje su se otrovale posredstvom riba koje su akumulirale određenu količinu toksičnih alga (Novelli i sur., 1993).

1.3.5. AZP (Azaspiracid poisoning – Azaspiracidno trovanje školjkašima)

Tip toksičnosti otkriven nakon trovanja dagnjom *Mytilus edulis* u Irskoj (Ofuji i sur., 1999). Prvi slučajevi AZP trovanja kod ljudi pojavili se u Nizozemskoj 1995. god. Glavni simptomi trovanja su proljev, grčevi u stomku, mučnina i povraćanje, tipični su za DSP trovanje,

ali kemijske analize su pokazale da prilikom ispitivanja uzoraka nisu bile prisutne značajne koncentracije DSP toksina. Izolirani toksin nazvan azaspiracid čini novu skupinu polieterskih komponenata specifičnih karakteristika. Azaspiracidi su nedavno izolirani u Norveškoj i Engleskoj, no pretpostavlja se da su rašireni diljem Europe. Razlike u djelovanju DSP toksina i azaspiracida su velike; azaspiracidi oštećuju jetru, gušteraču, slezenu i probavni trakt, te T i B limfocite. Uzročnik tog trovanja je dinoflagelat *Protoperidinium crassipes* koji je do ovog otkrića smatrana bezopasnim. Za otkrivanje ove vrste toksina se pored testa na miševima koriste i analitičke metode (James i sur., 2003).

1.3.6. VSP (Venerupin Shellfish Poisoning – Venerupinsko trovanje školjkašima)

Venerupin je ne-paralitički biotoksin. Povezan je s cvjetanjem vrste *Prorocentrum minimum* u obalnim vodama Japana, Norveške i Portugala. Primjećeno je da cvjetanje vrste *P. minimum* vrlo često uslijedi nakon velikih kiša, te nakon povećanja količine fosfora, nitrata i amonijaka u morskoj vodi. Kemijski sastav venerupina još nije poznat (Sammy i Satyanarayana, 1984).

1.4. Kontrola zdravstvene ispravnosti školjkaša

Sigurnost hrane glavna je preokupacija i proizvođača i potrošača. Kako bi se maksimalno zaštitilo zdravlje potrošača, svaka zemlja poštjujući preporuke Codex Alimentarius FAO-a, donosi zakonske propise vezane za stavljanje školjkaša na tržište (Pećarević i Bratoš, 2004; Huss sur., 2004). Hrvatski propisi su uskladjeni s propisima EU, a dva su osnovna zakona koja reguliraju ovo područje: Zakon o hrani (NN 41/13) i Zakon o veterinarstvu (NN 82/13). Iz ovih propisa proizišli su sljedeći najvažniji podzakonski akti koji se odnose na kontrolu zdravstvene

ispravnosti školjkaša glede koncentracija biotoksina u njihovom mekom tkivu (mesu ili jestivom dijelu):

1. Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN 99/07; NN 28/10, NN 45/11)
2. Pravilnik o uvjetima za izlov/sakupljanje i preradu određenih vrsta živih školjkaša iz područja u kojima razina biotoksina koji uzrokuju paralizu prelazi vrijednost određenu Pravilnikom o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN 152/09)
3. Pravilnik o posebnim zdravstvenim uvjetima za izlov i preradu određenih vrsta školjkaša u kojima razina biotoksina koji uzrokuje gubitak pamćenja (Amnesic Shellfish Poison - ASP) prelazi vrijednost određenu Pravilnikom o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN 152/09).

Pravilnikom o higijeni hrani životinjskog podrijetla, propisane su maksimalno dozvoljene koncentracije biotoksina u mesu školjkaša. Sukladno tome, živi školjkaši ne smiju sadržavati morske biotoksine u ukupnim količinama (mjereno u cijelom tijelu ili pojedinačnim jestivim dijelovima) koje prekoračuju sljedeće granice:

- za biotoksin koji uzrokuje paralizu (Paralytic Shellfish Poison – PSP): 800 mikrograma na kilogram;
- za biotoksin koji uzrokuje gubitak pamćenja (Amnesic Shellfish Poison – ASP): 20 milistema domoične kiseline na kilogram;
- za okadaičnu kiselinu, dinofizistoksine i pektenotoksine zajedno: 160 mikrograma ekvivalenta okadaične kiseline na kilogram;
- za yesotoksine: 1 miligram ekvivalenta yesotoksina na kilogram;
- za azaspiracide: 160 mikrograma ekvivalenta azaspiracida na kilogram (NN 99/07).

Pored navedenih pravilnika, Uprava za veterinarstvo Ministarstva poljoprivrede donosi godišnji Plan praćenja kakvoće mora i školjkaša na proizvodnim područjima i područjima za ponovno polaganje živih školjkaša (NN 37/10, NN 31/09, NN 13/13). Cilj ovog monitoringa je neprekidna kontrola svih čimbenika koji mogu uzrokovati zdravstvenu neispravnosti školjkaša, pa tako i koncentracije biotoksina u mekom tkivu školjkaša. Ovim Planom propisuju se svi

parametri monitoringa, precizna područja uzorkovanja, te obvezne vrste analiza kojima se utvrđuje koncentracija pojedinih toksina u jestivom dijelu školjkaša. S obzirom na činjenicu da su biotoksini termostabilni kao i da se ne mogu učinkovito ukloniti depuracijom iz tkiva školjkaša, osnovna mjera za sprečavanje stavljanja na tržište ovakvih školjkaša je zatvaranje uzgojnog područja. Ova se mjera provodi u cijelom svijetu i područje ostaje zatvorene dok koncentracija biotoksina u tkivu školjkaša ne padne ispod zakonom maksimalno dozvoljene (Huss i sur., 2004).

1.5. Štetni učinci pojedinih vrsta fitoplanktona

Osim toksičnih fitoplanktonskih vrsta, tj vrsta koje proizvode biotoksine i na taj način mogu uzrokovati zdravstvenu neispravnost školjkaša, važno je za školjkarstvo spomenuti i potencijalno štetne vrste koje ne proizvode navedene biotoksine već svojom povremenom visokom abundancijom mogu prouzročiti anoksiju ili hipoksiju. Do ovog nepoželjnog učinka dovode najčešće metabolički produkti algi koji djeluju kao surfaktanti ili visoka potrošnja kisika najčešće uzrokovana raspadanjem organske tvari. Takvo stanje u akvatoriju uzgajališta može prozročiti stres, lošu fiziološku kondiciju školjkaša i visoke mortalitete te je također važno kvantitativno i kvalitativno pratiti i ove fitoplanktonske vrste (Agencija za zaštitu okoliša, 2010; Gaydos, 2012; Taylor i Trainer, 2002; Pitcher i sur., 2008; Koizumi i sur., 1996).

1.6. Svrha rada

Svrha ovog rada bila je podrobnije istražiti prostorno-vremensku raspodjelu toksičnih vrsta fitoplanktona koje mogu uzrokovati zdravstvenu neispravnost školjkaša, kao i onih vrsta čija povećana abundancija može uzrokovati hipoksiju ili anoksiju i pri tome se negativno odraziti na zdravlje i preživljavanje samih školjkaša. Stoga su rezultati istraživanja provedenog u uvali

Bistrina kvalitetan prilog karakterizaciji pojedinih područja u cilju budućeg razvoja akvakulture na cijeloj jugoistočnoj obali Jadrana.

2. Područje istraživanja

Malostonski zaljev obuhvaća područje od uvale Kuta do spojnice rta Rat na Pelješcu i rta Rivine na kopnu (Slika 2). Dugačak je 28 km i širok u prosjeku oko 5.2 km. Najveća dubina je 29 m, međutim više od 80% dna zaljeva je na dubini između 20 i 29 m. Ukupna dužina obale je oko 102 km, od kojih 6,5 km pripada otocima. Prema Köppenovoj klasifikaciji, klima u području Malostonskog zaljeva, kao i šireg dubrovačkog područja, tipičnog je mediteranskog tipa s izrazitim zimskim maksimumom oborina te vrućim, vedrim i suhim ljetom. Zbog izrazite zatvorenosti i relativno male dubine na većem dijelu zaljeva kemijske i biološke karakteristike morske vode znatno osciliraju s obzirom na godišnje doba. Zimi je, pogotovo u unutrašnjem dijelu zaljeva, veliki utjecaj podzemnih voda koje se najvećim dijelom slijevaju iz Popovog polja, a manifestiraju se kao vrulje, što uzrokuje smanjenje slanosti morske vode, a samim tim i promjenu u ekosustavu unutrašnjeg dijela zaljeva. Vrulje su poznate kao termoregulatori, zimi s nešto toplijom vodom zagrijavaju, a ljeti hладе akvatorij unutrašnjeg dijela zaljeva. Poznato je da je temperatura morske vode u uvali Bistrini tijekom ljeta manja, a tijekom zime viša od okolnog mora. Prema koncentraciji hranjivih soli i distribuciji frekvencije količine fitoplanktona, Malostonski zaljev može se klasificirati kao prirodno-umjereno eutroficiran ekosustav (Benović i sur., 2003).

Od meteoroloških čimbenika najvažniji su vjetrovi. Utjecaj najvažnijih vjetrova juga i bure na Malostonski zaljev je indirektan. Oni induciraju specifično strujanje vodenih masa. Zbog svoje uvučenosti u kopno zaljev nije pod direktnim udarom valova. Utjecaj rijeke Neretve povremeno je vrlo jak samo u vanjskom i središnjem dijelu, dok je u dnu zaljeva gotovo zanemariv. Vode Neretve nakon ulijevanja u more zakreću prema makarskom primorju, što je osnovni razlog za relativno slab utjecaj na krajnji unutrašnji dio zaljeva. Međutim nakon jakih

sjeverozapadnih vjetrova, zaslađeni površinski sloj dospije i do tog dijela akvatorija (Benović i sur., 2003).

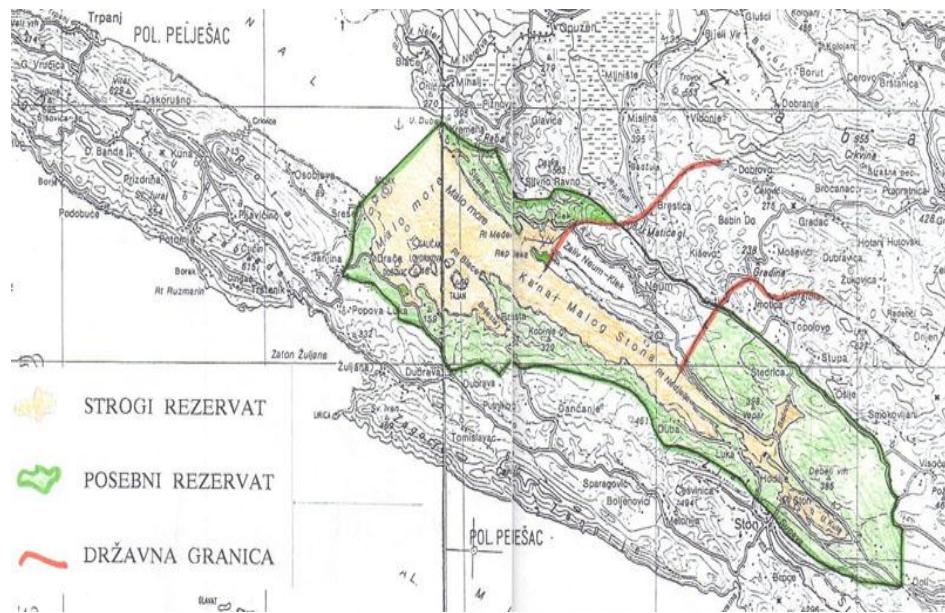
Malostonski zaljev je relativno plitko područje koje karakteriziraju velike sezonske razlike u temperaturi morske vode. Maksimum dosegne u srpnju i iznosi oko 26 °C dok prosječna siječanska temperatura iznosi 9.5 °C. U plitkim dijelovima unutrašnjeg dijela zaljeva površinska temperatura može pasti blizu 0 °C. Vrijednosti saliniteta znatno variraju. Otvoreni dio zaljeva je pod većim utjecajem slatke vode iz Neretve dok slanost u uvali Bistrina i unutrašnjem dijelu ovisi o vruljama. Strujanje morske vode može se podijeliti na zimski i ljetni ciklus. Zimi je najčešće prisutan estuarijski tip cirkulacije, tj. u površinskom sloju postoji izlazna, a u pridnenom ulazna struja. Moguća odstupanja pojavljuju se jedino kao posljedica utjecaja vjetra iz sjevernog kvadranta. Ljeti je podjednaka vjerojatnost ulazne i izlazne struje u oba sloja. Izvori slatke vode u unutrašnjem dijelu zaljeva su uzročnik estuarijske cirkulacije zimi, a vjetrovi ljeti (Benović i sur., 2003).

Koncentracija hranjivih soli u Malostonskom zaljevu kontrolira visinu fitoplanktonske proizvodnje. Hranjive soli dospijevaju u more na dva osnovna načina:

1. donosom s kopna, - za Malostonski zaljev važno je oborinsko ispiranje strmih litica oko zaljeva, donos vruljama i izvorima te rijekom Neretvom.
2. biološkom razgradnjom organske tvari - aktivnošću bakterija, heterotrofnih flagelata i cilijata i mikrometazoa. Razgradnjom organske tvari oslobađaju se dušikovi i fosforni spojevi.

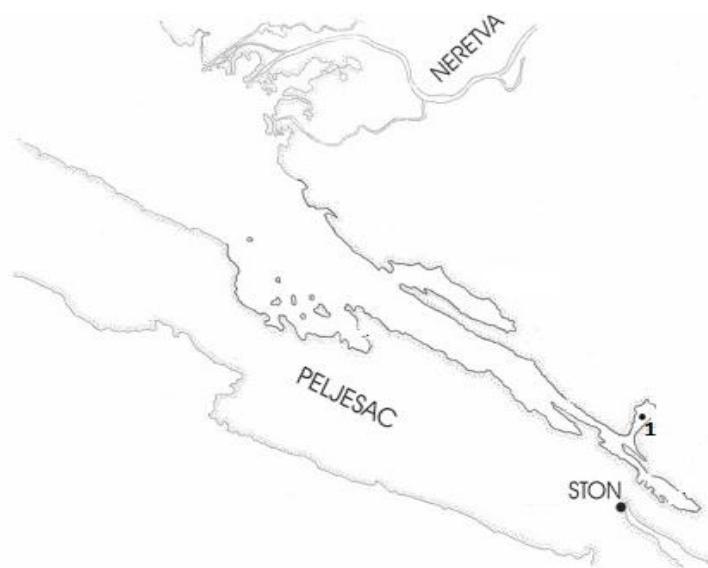
U Malostonskom zaljevu determinirano je ukupno 195 svojti (vrsta i nižih taksonomskih kategorija) mikrofitoplanktona (stanice veće od 20 µm). Od toga dvije svojte pripadaju silikoflagelatima, sedam kokolitoforidima, 101 dijatomejama, 84 dinoflagelatima i jedna euglenofitima. Na osnovi analize raspodjele učestalosti gustoće populacija i biomase mikrofitoplanktona, nanofitoplanktona i ukupnog fitoplanktona, akvatorij Malostonskog zaljeva je i ovom pogledu umjereno eutroficirani ekosustav. Biomasa fitoplanktona (izražena kao fitovolumen) nije jednakoraspoređena u svim dijelovima zaljeva, kao i dubinama. Povećana biomasa utvrđena je ljeti i zimi u unutrašnjem dijelu, u jesen u vanjskom, a u proljeće u

središnjem dijelu zaljeva. Srednja godišnja biomasa fitoplanktona raste od vanjskog prema unutrašnjem dijelu zaljeva (Benović i sur., 2003).



Slika 2. Malostonski zaljev

Izvor: (http://web.hamradio.hr/9aff/9AFF-029_Malostonski_MaloMore/malostonski_mm.htm)



Slika 3. Postaja Bistrina (br. 1) Sjever $42^{\circ} 52' 28,9''$, Istok $17^{\circ} 42' 18,6''$

3. Metodika rada

3.1 Uzorkovanje

Vertikalna raspodjela toksičnih fitoplanktonskih vrsta u uvali Bistrina u Malostonskom zaljevu praćena je tijekom 2010. i 2011. godine. Prikupljeno je ukupno u oba dvije godine 17 uzoraka i to u srpnju., rujnu, i prosincu 2010. god., te, srpnju, listopadu i prosincu 2011. god. na 0, 5 i 9 metara dubine.

Uzorci su uzimani Niskin crpcem, cilindričnim uređajem koji se preko prijenosnog mehanizma na krajevima zatvara poklopcem. Crpac se pričvrsti na čelično uže (opterećeno utegom) i spušta u otvorenom položaju na određenu dubinu. Pomoću metalnog utega (“messenger ili glasnik”) koji se spušta po čeličnom užetu zatvaraju se poklopci na željenoj dubini.

Uzorak od 200 ml konzervira se 2%-tnom otopinom formaldehida ili kalijeva jodida. Formaldehid se predhodno neutralizira kalcijevim karbonatom, heksametilen tetraminom ili boratom, jer s vremenom reagira kiselo, što uzorkuje oštećenja stanica (Viličić, 2002).

3.2 Obrada uzoraka

Količina fitoplanktona u jedinici volumena izražava se abundancijom (brojem stanica). Abundancija se određuje brojenjem stanica pomoću inverznog mikroskopa, metodom prema Utermöhlu (1958). Fitoplanktonski uzorak stavlja se komorice za sedimentaciju na 24, 48 ili 72 sata što ovisi o volumenu uzorka, odnosno o visini stupca suspenzije u komorici. Točnost brojenja ovom metodom iznosi $\pm 10\%$ (Viličić, 2002).

Od 200 militarskih uzoraka iz crpca, 48 sati su sedimentirani poduzorci volumena 50 ml, nakon čega se uklonila suvišna tekućina smicanjem uspravnog cilindra pomoću kvadratne staklene pločice. Potom su pod mikroskopom na povećanju od 20x u posebnoj komorici

izbrojene fitoplanktonske stanice i to tako da se prvo brojala jedna strana komorice, a zatim druga. Prebrojane stanice množile su se s 20 kako bi se dobio broj svake vrste u jednom dm^3 .

Ukupan broj stanica u jednom dm^3 = broj stanica u volumenu poduzorka (50ml) x 20.

4. Rezultati

4.1. Toksični taksoni dinoflagelata

U obrađenim uzorcima pronađeno je tijekom 2010. i 2011. godine ukupno 12 toksičnih vrsta dinoflagelata iz rodova *Alexandrium*, *Dinophysis*, *Gonyaulax*, *Gymnodinium*, *Lingulodinium*, *Prorocentrum* i *Protoperidinium*. Osim navedenih dinoflagelata tijekom istraživanja je također zabilježen i jedan predstavnik toksičnih dijatomeja iz roda *Pseudonitzschia* (Tablica 1 i 2).

Tablica 1. Prostorno-vremenska raspodjela toksičnog fitoplanktona na postaji Bistrina u 2010. god. Abundancija je izražena kao broj stanica u dm³

Toksični fitoplankton	DATUM DUBINA	2010.						
		29.7. 0m	29.7. 9m	24.9. 0m	24.9. 5m	24.9. 9m	11.12. 0m	11.12. 5m
Dinoflagelati								
<i>Dinophysis acuminata</i> (Claparède & Lachmann)				40			20	
<i>Dinophysis mitra</i> (Schütt) Ab è				40				
<i>Lingulodinium polyedra</i> (Stein) Dodge			20					
<i>Phalacroma rotundatum</i> (Claparède & Lachmann)				40				
<i>Prorocentrum micans</i> (Ehrenberg)		60	40	1080	400	20	60	20
<i>Prorocentrum minimum</i> (Pavillard) J. Schiller				540				20
<i>Protoperidinium reticulatum</i> (Faust)			20					
Dijatomeje								
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.			1620		1080			

Tablica 2. Prostorno-vremenska raspodjela toksičnog fitoplanktona na postaji Bistrina u 2011.

Abudancija je izražena kao broj stanica u dm³

Toksični fitoplankton	DATUM DUBINA	2011.								
		28.7. 0m	28.7. 5m	28.7. 9m	27.10. 0m	27.10. 5m	27.10. 9m	9.12. 0m	9.12. 5m	9.12. 9m
		Dinoflaglati								
<i>Alexandrium</i> spp.			540	60				60		
<i>Gonyaulax</i> sp. <i>inijera</i> (Claparéde & Lachmann) Diesing		540								
<i>Gonyaulax</i> spp.		280								
<i>Gymnodinium</i> spp.		40			120					
<i>Procentrum micans</i> (Ehrenberg)		620		40	120	20		20		20
<i>Procentrum minimum</i> (Pavillard) J. Schiller								20		
<i>Proterodinium crassipes</i> (Kofoid) Balech			20		60					
Dijatomeja										
<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.		4320	1620	5400	6480		2700	120	1620	

4.1.1. *Alexandrium* spp.

Vrste iz roda *Alexandrium* nisu zabilježene u 2010. godini dok je u 2011. maksimalna abudancija bila 28.7. na pet metara dubine i iznosila je 540 stanica/dm³ (Slika 4).



Slika 4. *Alexandrium* spp.

4.1.2. *Dinophysis acuminata* (Claparède & Lachmann)

Vrsta je u Bistrini zabilježena samo 24.9.2010. god. i to na površini s abudnacijom od 40 stanica/dm³ (Slika 5).



Slika 5. *Dinophysis acuminata*

4.1.3. *Dinophysis mitra* (Schütt) Abè

Kao i prethodna i ova vrsta iz roda *Dinophysis* zabilježena je u samo 24.9.2010. god. na površini s abudnacijom od 40 stanica/dm³ (Slika 6).



Slika 6. *Dinophysis mitra*

4.1.4. *Gonyaulax spinifera* (Claparéde & Lachmann) Diesing

Ovaj dinoflagelat zabilježen je 28.7.2011. god. na površini u količni od 540 stanica/dm³., godinu prije nije opažen (Slika 7).



Slika 7. *Gonyaulax spinifera*

4.1.5. *Gonyaulax* spp.

Ostali predstavnici roda *Gonyaulax* pronađeni su jedino u uzorku od 28.7.2011 god. na površini, s abudancijom od 280 stanica/dm³, ali se nisu mogli determinirati do vrste.

4.1.6. *Gymnodinium* spp. Stein

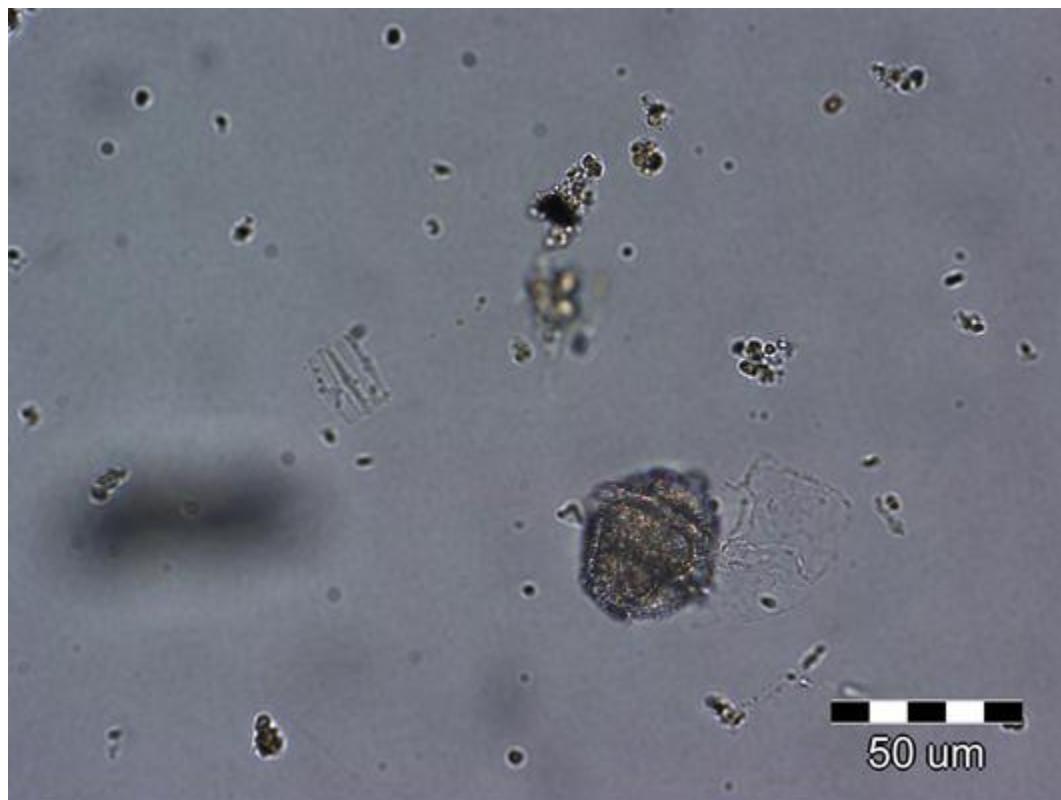
Vrste ovog roda pronađene su u Bistrini 2011. godine s. maksimalnom abudnacijom od 120 stanica/dm³ zabilježenom na površini krajem listopada (Slika 8).



Slika 8. Primjerak vrste iz roda *Gymnodinium*

4.1.7. *Lingulodinium polyedra* (F. Stein) J. D. Dodge

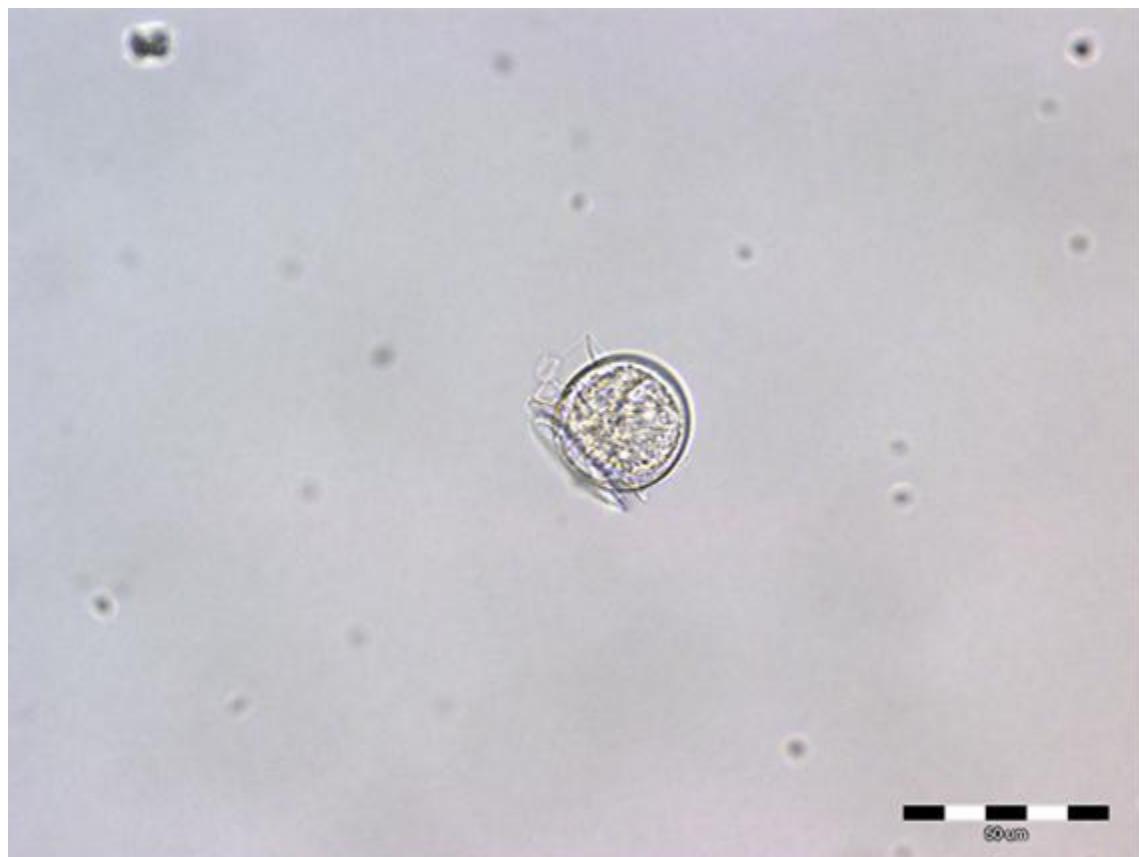
Ova vrsta pronađena je u samo jednom uzorku (29.7.2010. god.) na devet metara dubine u vrlo malom broju od 20 stanica/dm³ (Slika 9).



Slika 9. *Lingulodinium polyedra*

4.1.8. *Phalacroma rotundatum* (Claparéde & Lachmann), Kofoid & Michener

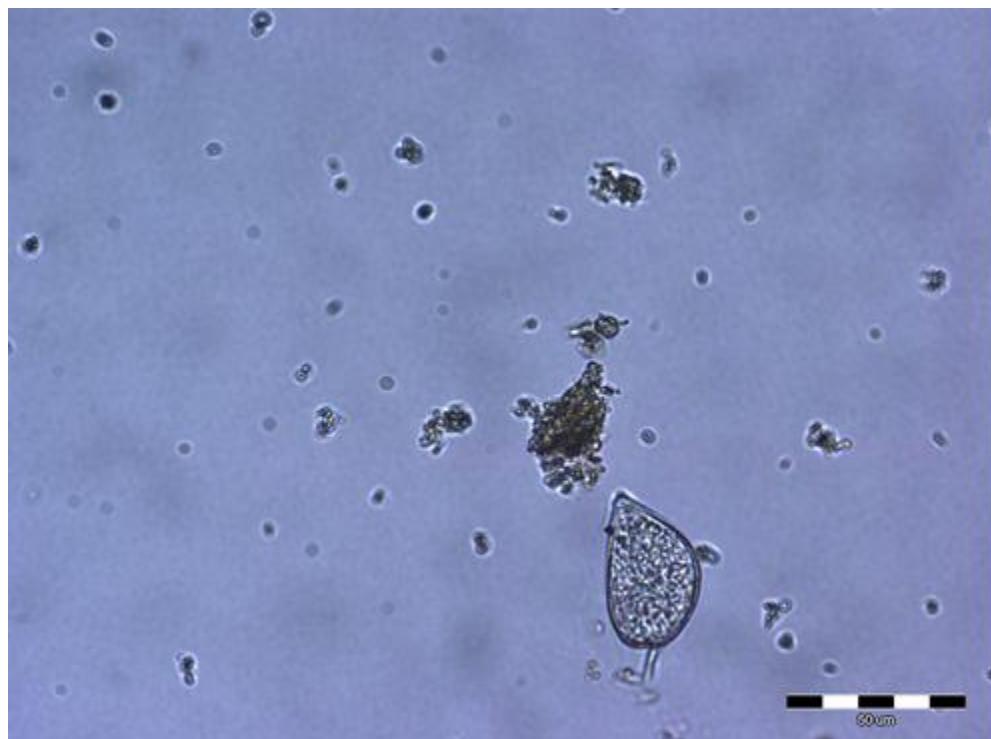
U Bistrini je zabilježena 24.9.2010. god. u površinskom uzorku, s abudancijom od 40 stanica/dm³ (Slika 10).



Slika 10. *Phalacroma rotundatum*

4.1.9. *Prorocentrum micans* Ehrenberg

Izrazito rasprostranjena vrsta u uvali Bistrina, zabilježena je u skoro svim uzorcima, s najvećom abudancijom na samoj površini od 1080 stanica/dm³ (24.9.2010. god.) (Slika 11).



Slika 11. *Prorocentrum micans*

4.1.10. *Prorocentrum minimum* (Pavillard) J. Schiller

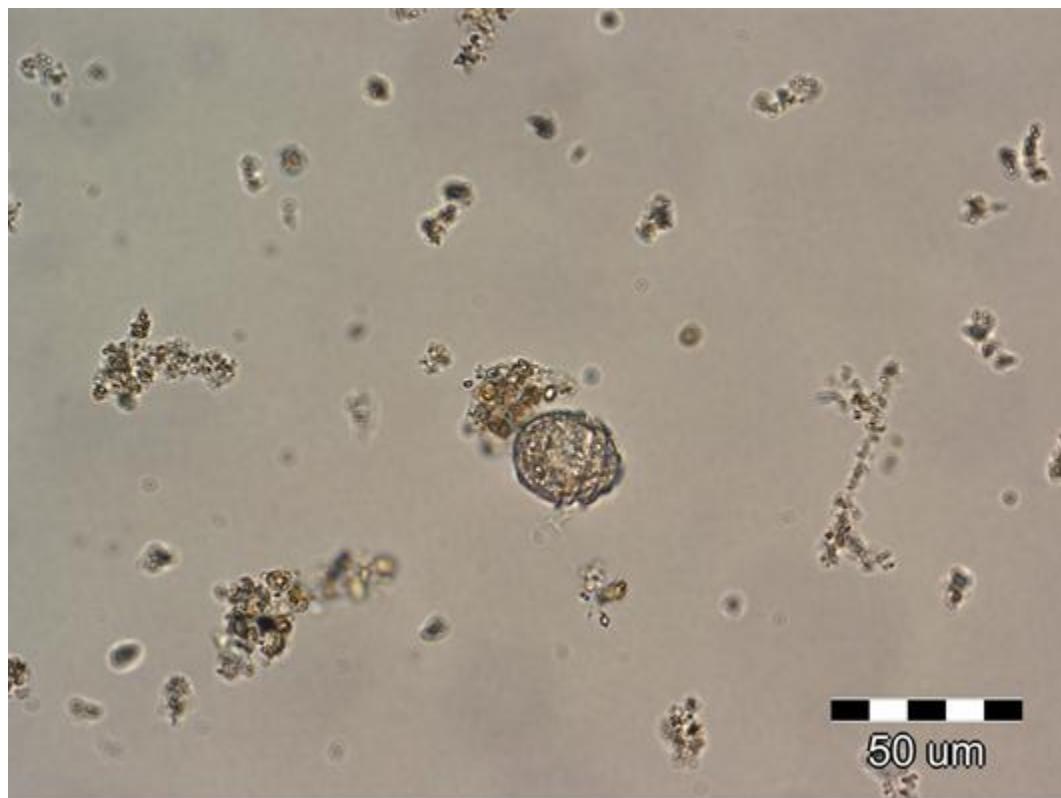
Maksimalna abudancija ove vrste u uvali Bistrina je 40 stanica/dm³, a zabilježena je 24. 9.2010. god. na površini. Opažena je također 11.12.2010. na pet metara dubine i 9.12.2011. god. na površini, s abundancijom od 20 stanica/dm³ (Slika 12).



Slika 12. *Prorocentrum minimum*

4.1.11. *Proroceratium reticulatum* (Faust)

U Bistrini je pronađena 29.7.2010. god. na devet metara dubine s abudancijom od 20 stanica/dm³ (Slika 13).



Slika 13. *Protoceratium reticulatum*

4.1.12. *Protoperidinium crassipes* (Kofoid) Balech

Zabilježena je samo u 2011. godini, krajem srpnja na pet metara dubine i 27.10. na površini (Slika 14).

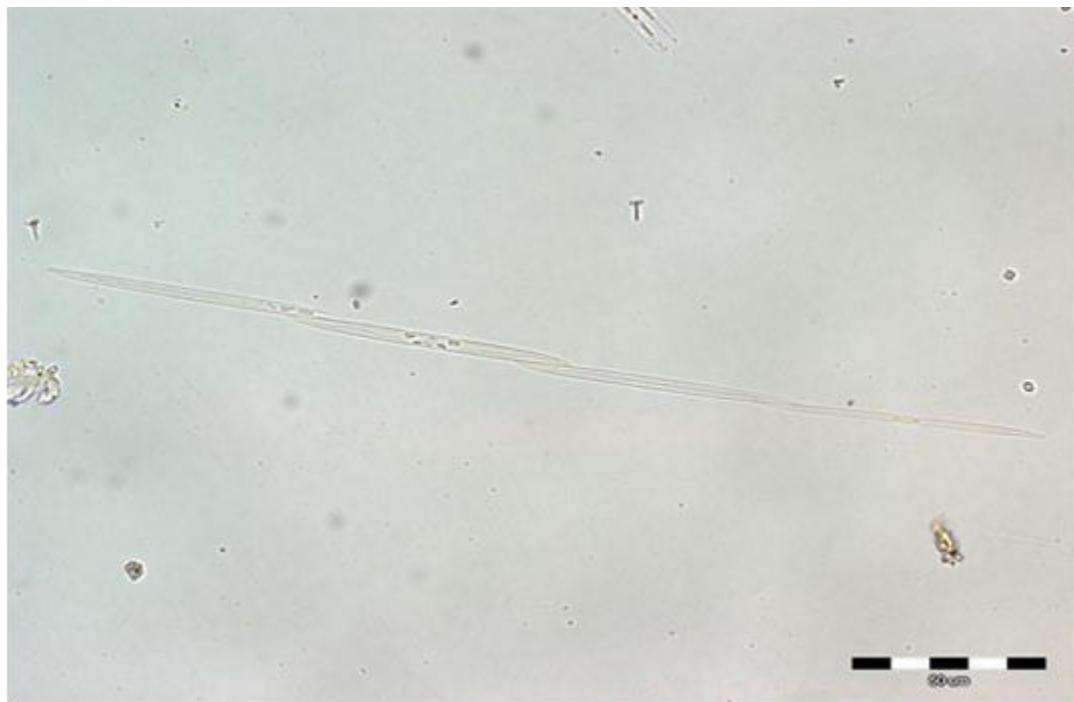


Slika 14. *Protoperidinium crassipes*

4.2. Toksična dijatomeja

4.2.1. *Pseudo-nitzschia* spp.

Maksimalna abudancija predstavnika ovog roda zabilježena je na površini 27. 10. 2011. god. i iznosila je 6480 stanica/dm³. Godinu ranije maksimalna abudancija od 1620 stanica/dm³ zabilježena je također na površini, ali krajem srpnja (Slika 15).



Slika 15. *Pseudo-nitzschia* spp.

4.3. Potencijalno štetne vrste fitoplanktona za školjkaše

U Bistrini su su tijekom 2010. i 2011. godine pronađene ukupno četiri potencijalno štetne vrste za školjkaše s visokim abundancijama: *Akashiwo sanguinea*, *Gonyaulax polygramma*, *Prorocentrum triestinum*, *Scrippsiella trochoidea* (Tablica 3 ,4).

Tablica 3. Prostorno-vremenska raspodjela potencijalno štetnog fitoplanktona za školjkaše pri povećanoj abundanciji na postaji Bistrina u 2010. god. Abudancija je izražena kao broj stanica u dm³.

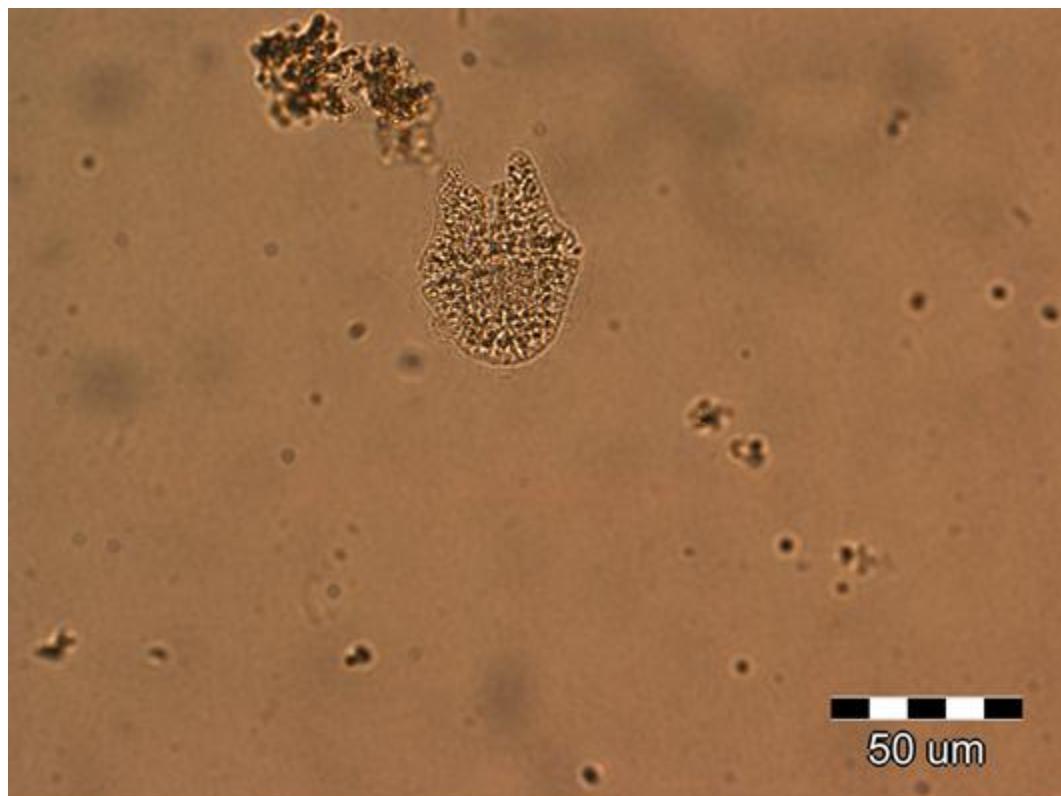
Potencijalno štetan fitoplankton	DATUM DUBINA	2010.							
		29.7.	29.7.	24.9.	24.9.	24.9.	11.12.	11.12.	11.12.
		0m	9m	0m	5m	9m	0m	5m	9m
Dinoflagelati									
<i>Akashiwo sanguinea</i> (K.Hirasaka) G.Hansen & Ø.Moestrup		1080							
<i>Gonyaulax polygramma</i> (Stein)			40						
<i>Prorocentrum triestinum</i> J. Schiller				540					
<i>Scrippsiella trochoidea</i> (Stein) Balech ex Loeblich III					270				

Tablica 4. Prostorno-vremenska raspodjela i potencijalno štetnog fitoplanktona za školjkaše pri povećanoj abundanciji na postaji Bistrina u 2011. god. Abudancija je izražena kao broj stanica u dm³.

Potencijalno štetan fitoplankton	DATUM DUBINA	2011.								
		28.7.	28.7.	28.7.	27.10.	27.10.	27.10.	9.12.	9.12.	9.12.
		0m	5m	9m	0m	5m	9m	0m	5m	9m
Dinoflagelati										
<i>Akashiwo sanguinea</i> (K.Hirasaka) G.Hansen & Ø.Moestrup		60	60	60						
<i>Gonyaulax polygramma</i> (Stein)			20							
<i>Scrippsiella trochoidea</i> (Stein) Balech ex Loeblich III		540	1620	820						

4.3.1. *Akashiwo sanguinea* (K.Hirasaka) G.Hansen & Ø.Moestrup

Ova vrsta pronađena je u obje istraživane godine. Maksimalna abundancija od 1080 stanica/dm³ zabilježena je 29.7. 2010. na površini (Slika 16).



Slika 16. *Akashiwo sanguinea*

4.3.2. *Gonyaulax polygramma* (Stein)

Tijekom istraživanja ova vrsta je pronađena u izrazito malom broju. U 2010. godini abudancija je iznosila 40, a u 2011. godini 20 stanica/dm³. U akvatoriju je isključivo prisutna krajem srpnja (Slika 17).



Slika 17. *Gonyaulax polygramma*

4.3.3. *Prorocentrum triestinum* Schiller

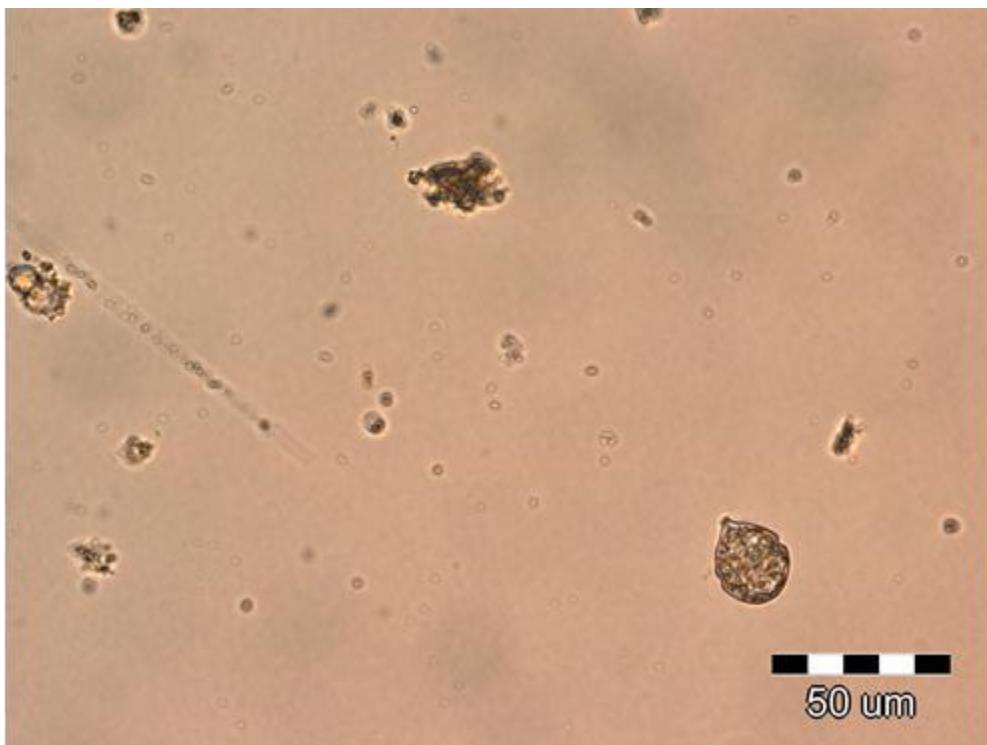
Vrsta je u Bistrini je zabilježena 24.9.2010. god. na površini s abudancijom od 540 stanica/dm³ (Slika 18).



Slika 18. *Prorocentrum triestinum*

4.3.4. *Scrippsiella trochoidea* (Stein) Balech ex Loeblich III

U Bistrini je pronađena u relativno visokom broju s obzirom na prisutnost drugih opisanih vrsta. Maksimum je zabilježen 28.7.2011. god. na pet metara dubine i iznosio je 1620 stanica/dm³. U 2010. god. zabilježena je samo krajem rujna na površini s abudancijom od 270 stanica/dm³ (Slika 19).



Slika 19. *Scrippsiella trochoidea*

5. Rasprava

U radu je prikazana vremenska i prostorna raspodjela toksičnog (onog koji sadrži biotoksine i može uzrokovati zdravstvenu neispravnost školjkaša) i potencijalno štetnog (pri povećanoj abundanciji štetno djeluje na školjkaše) fitoplanktona u uvali Bistrina u Malostonskom zaljevu. Analizirajući rezultate može se zaključiti da je toksični fitoplankton najabudantniji na samoj površini vodenog stupca. Najveći broj vrsta zabilježen je u toplijem dijelu godine. Uspoređujući 2010. i 2011. godinu, nešto veća raznolikost vrsta zabilježena je u 2011. godini.

Vrste roda *Alexandrium* u uvali Bistrina zabilježene su samo tijekom 2011. god., pri čemu je maksimalna abundancija bila u srpnju na pet metara dubine. Prema Faustu i Gulledgeu (2002) ovi vrlo maleni oklopni dinoflagelati koji proizvode izrazito jaki saksitoksin i derivate - uzročnike PSP trovanja ljudi, rasprostranjeni su diljem svijeta na dubinama od 0 do 500 m. Temperaturni raspon u unutar kojeg se može uočiti njihova prisutnost kreće se od 2 do 27 °C, a slanosti od 24 do 39 psu. Marasović i sur. (1995) zabilježili su uzduž obale istočnog Jadrana vrste roda *Alexandrium*, i to u Kaštelankom zaljevu kad su uz druge vrste prouzročile cvatnju mora. Giacobbe i sur. (1996) u početnim istraživanjima ističu da je ovaj takson rijetko zastupljen u Mediteranu. Za razliku od Mediterana *Alexandrium minutum* vrsta je koja najčešće obitava uzduž istočne obale Jadrana. U travnju 2008. godine, na zapadnoj obali Istre, zabilježeno je 160 stanica/dm³, a u rujnu i listopadu pronađeno je 80 stanica/dm³. Druga vrsta *Alexandrium tamarense* zabilježena je u Šibenskom zaljevu u svibnju 2008. god. s abudancijom od $1,7 \times 10^3$ do $5,0 \times 10^3$ stanica/dm³ (Agencija za zaštitu okoliša, 2010).

Rod *Dinophysis* široko je rasprostranjen uzduž Jadrana (Marasović, 2005). Tijekom ovog istraživanja u uvali Bistrina utvrđene su samo dvije vrste: *Dinophysis acuminata* i *Dinophysis mitra*. Vrsta *Dinophysis acuminata* uzrokuje crvenu cvatnju mora i to najčešće za vrijeme ljeta ili rane jeseni. Rasprostranjena je od površine do 270 m dubine, na temperaturi od -1 do 21 °C, slanosti od 27 do 37 psu, te otopljenom kisiku od 5 do 8 ml/dm³. Ova vrsta proizvodi okadičnu

kiselinu (OA) koja uzrokuju DSP trovanje. Za razliku od prethodne vrste, *Dinophysis mitra* ne uzrokuje crvenu cvatnju mora. Nalazi se u otvorenim vodama oceana ali i u priobalju. Pored okadaične kiseline proizvodi i drugi toksin iz DSP skupine dinophysistoxin-1 (DTX1) (Faust i Gullidge, 2002).

Tijekom istraživanja u Bistrini navedene su vrste iz roda *Dinophysis* pronađene u malom broju u uzorcima krajem rujna 2010 god. Rezultati drugih istraživanjima istočnog Jadrana ukazuju na prisutnost ove vrste uglavnom u proljeće ili u kasno ljeto (Ninčević-Gladan, 2008), što odgovara podacima iz Bistrine. Uspoređujući dobivene rezultate s rezultatima istraživanja iz drugih područja Jadrana rod *Dinophysis* u Malostonskom zaljevu je vrlo rijedak te ima malu abudanciju, za razliku od sjevernog Jadrana, gdje je zabilježena veća raznolikost i abundancija. U razdoblju od 2001. do 2005. godine na sjevernom Jadranu pronađeno je 13 vrsta iz roda *Dinophysis* koje su prouzročile visoke koncentracije toksina iz DSP skupine u mesu školjkaša. Također 2005 god. zabilježena je prisutnost visokih koncentracija DSP toksina u mesu školjkaša i u Malostonkom zaljevu prouzročena vrstama *D. caudata*, *D. fortii*, *D. rotundata*, *D. sacculus* i *D. tripos*. (Marasović, 2005). Kao razlog češće pojave toksičnosti na sjevernom Jadranu veća je abudanciju ovih vrsta, zbog utjecaja rijeke Po koja pridonosi većoj nutrifikaciji cijelog tog područja (Ninčević-Gladan i sur., 2008).

Vrste iz roda *Gymnodinium* pripadaju „golom“ planktonu tj. planktonu koji nema oklop. Postoji 6 toksičnih vrsta iz ovog roda: *G. breve*, *G. catenatum*, *G. mikimotoi*, *G. pulchellum*, *G. sanguineum*, *G. veneficum*. Imaju mogućnost uzrokovanja NSP, PSP toksičnosti i crvene cvatnje mora (Faust i Gullidge, 2002.). U Bistrini je utvrđena njihova niska abudancija samo u površinskim uzorcima iz srpnja i listopada 2011 god.

Dinoflagelat *Phalacroma rotundatum* u visokim abudancijama izaziva DSP trovanje (dinophysistoxin-1, DTX1), proširena je od hladnih mora do subtropskog pojasa. Zanimljivo je da ova ista vrsta pronađena u vodama Sjeverne Amerike nije toksična za razliku od stanica pronađenih u japanskim vodama (Faust i Gullidge, 2002.). U Bistrini je niska abudancija ove vrste utvrđena je samo u površinskim uzorcima iz srpnja 2010 god.

Toksična vrsta *Protoceratium reticulatum* ima mogućnost stvaranja jesotoksina i uzrokuje DSP trovanje. Većinom se ova vrsta nalazi uz priobalje ili u estuarijima toplijih mora. (Faust i Gullidge, 2002.) U Bistrini je zabilježena samo u jednom uzorku iz rujna 2010. god. na dubini od devet metara.

Kao i abundancija prethodno navedenih vrsta, abundancija dinoflagelata *Protoperidinium crassipes* koji ima mogućnost stvaranja azaspiracida – AZP toksina (AZP1, AZP2, AZP3) (Faust i Gullidge, 2002) bila je vrlo niska u 2011 godini. Tijekom 2010 njezina prisutnost nije niti utvrđena na istraživanom području..

Najviši i najniži indeks raznolikosti unutar fitoplatonske zajednice, zabilježeni su na krajnjem jugu i sjeveru Jadrana. Marasović (2002) tako bilježi da je na istarskim uzgajalištima navedeni indeks najniži, dok je najviši zabilježen u Malostonskom zaljevu. Na tom području pronađene su vrste *Lingulodinium polyedra*, *Phalacroma rotundatum*, *Protoperidinium crassipes* te taksoni roda *Gymnodinium*, iako njihov broj nije bio velik, navedene vrste ipak svjedoče o izrazitoj raznolikosti fitoplanktona u Malostonskom zaljevu. Abudancije vrsta koje su utvrđili navedeni autori su male i time nisu mogle prouzročiti štetno cvjetanje mora, također ni pojava toksičnosti koju uzrokuju ovi taksoni među školjkašima nije zabilježena.

Alga *Lingulodinium polyedra* je oklopljena planktonska vrsta koja ima mogućnost bioluminiscencije. Uzrokuje PSP trovanje i crvenu cvatnju mora koja je povezana s uginućem riba i školjkaša. Na kraju cvatnje ima mogućnost proizvodnje trajnih cista koje se ponovo aktiviraju pri odgovarajućim ekološkim čimbenicima. Rasprostranjenst se kreće od površine do 100 metara dubine. Podnosi temperaturni raspon od 12 do 28 °C, raspon slanosti od 33 do 39 psu, a otopljenog kisika 3 - 6 ml/dm³ (Faust i Gullidge, 2002.). U Bistrini je utvrđena samo u srpnju 2010. godine, pri čemu je njezina abundancija bila izuzetno niska (20 stanica /dm³). Nešto višu abundanciju (320 stanica/dm³) u Malostonskom zaljevu utvrđili su Jasprica i Car (2003). Drugi podaci govore o pojavi jake crvene cvatnje mora u ljeto 1994. god. u Kaštelanskom zaljevu, prouzročene vrstom *L. Polyedra*, što je imalo za posljedicu masovno uginuće riba. Cvatnja mora ponovila se i ljeti 1995. god., gdje su uz vrstu *L. polyedra* zabilježene i vrste *A. minutum* i vrste iz roda *Gymnodinium* (Marasović i sur., 1995).

Tijekom istraživanja u Bistrini najveću su abudanciju imale vrste iz roda *Prorocentrum* (*P.micans*, *P. minimum*, *P.reticulatum* i *P.triestinum*). Značajnu zastupljenost vrsta iz roda *Prorocentrum* bilježe Čalić i sur. (2013), koji navode da su vrste iz roda *Prorocentrum* u travnju i svibnju 2002. god. imale udio od 95% u ukupoj abundanciji fitoplanktona. Prema ovim autorima dominirajuće vrste su: *Prorocentrum minimum*, *Prorocentrum micans* te *Prorocentrum triestinum*. Abudancija *P. minimum* je iznosila oko 3×10^5 stanica/dm³. U Bistrini je dominirao toksični dinoflagelat *Prorocentrum micans* koji je zabilježen skoro u svim uzorcima. Faust i Gullidge (2002.) navode da je vrsta *P. micans* široko rasprostranjena u priobalju, ali ju je moguće naći i u otovorenom oceanu od površine do 470 metara dubine. Prema ovim autorima podnosi temperaturni raspon od 2 do 26 °C, tolerancija slanosti kreće se od 31 do 37 psu, a otopljenog kisika od 4 do 7 ml/dm³. Izrazito je toksična vrsta koja je zabilježena 2004. godine na sjevernom Jadranu, gdje je uz druge toksične dinoflagelate izazvala cvatnju mora i pojavu DSP i OA toksičnosti među školjkašima (Marasović, 2004). Također o velikoj rasprostranjenosti ove vrste potetke navode i Vrančić-Pavela i sur. (2006) koji su proveli istraživanje 2001. god. u Kaštelanskom zaljevu. Oni su početkom kolovoza zabilježili maksimalnu abudanciju *Prorocentrum micans* od 8.9×10^3 stanica/dm³.

Vrsta *Prorocentrum minimum*, koja je u Bistrini bila značajno manje brojna u usporedbi s *P. Micans*, proizvodi hepatotoksin koji uzrokuje VSP i DSP trovanje. Podnosi temperaturni raspon od -1 do 25 °C, raspon slanosti od 32 do 35 psu, a otopljenog kisika od 4 do 8 ml/dm³. Prisutna je od priobalja hladnih mora do suptropskog pojasa od površine do 270 m dubine (Faust i Gullidge, 2002.). Tijekom lipnja 1998. god. spominje se crvena cvatnja mora prouzročena vrstom *Prorocentrum minimum* u Šibenskom zaljevu, koja se smatrala normalnom pojавom u tom razdoblju. Iste cvatnje zabilježene su 1999. i 2000. godine. Od svibnja do kolovoza 2002. i 2003. u Šibenskom zaljevu spominje se uobičajena pojava cvatnje mora prouzročena dinoflagelatom *Prorocentrum minimu*, ali s manjim intenzitetom nego ranijih godina (Marasović, 1998-2000). U Malostoskom zaljevu Jasprica i Car (2003) bilježe pronalazak ove vrste s abudancijom od 80 stanica/dm³.

Rod *Pseudo-nitzschia* rasprostranjen je diljem svijeta od obalnih voda pa do otvorenog oceana. Dubina rasprostranjenosti se kreće od 0 do čak 3300 m. Temperaturni raspon je od -2 do 29 °C, a slanost od 17 do 38 psu. Postoji mogućnost proizvodnje domocične kiseline koja djeluje kao neurotoksik. Uzrokuje ASP trovanje od kojeg može nastupiti i smrt (Faust i Gulledge, 2002.). Dijatomejen iz ovog roda predstavljale su tijekom našeg istraživanja dominantni toksični takson. Nihova je abudancija u 2011. godini bila znatno veća nego godinu prije. Viličić i sur. (1998) u Malostonskom zaljevu također pronalaze povećani broj ovih dijetomeja (prosječno 6800 stanica/dm³), što potvrđuje veliku prisutnost ovog roda na ovom području. Veći broj dijetomeje iz roda *Pseudo-nitzschia* zabilježen je u 2001. godini u sjevernom Jadranu u veljači (Marasović, 2001), čime se može zaključiti da ova vrsta dobro podnosi i niže temperature. Veliki broj taksona u ranom dijelu godine imao je za posljedicu daljni rast kroz godinu koji je rezultirao cvatnjom mora u kolovozu u Limskom kanalu (Marasović, 2001). Abudancija zabilježena u Bistrini nije bila dovoljna da izazove cvatnju. Istraživanje koje je provedeno tijekom 2006., 2007., i 2008. godine na tri različite lokacije na Jadranu (sjeverni Jadran, Šibenski zaljev i Malostonski zaljev) potvrđuju veliku raspostranjenost ove vrste i u hladnjem dijelu godine gdje je 2006. god. (u veljači) zabilježen bloom od ($>10^6$ stanica/dm³) i pojavu ASP toksičnosti u Šibenskom zaljevu. U Malostonskom zaljevu najveća abudancija ovih taksona zabilježena je u toplijem dijelu 2006. godine, što je pokazalo istraživanje. Za sljedeće dvije godine (2007. i 2008.) prisutnost ovog taksona gotovo je izostala u toplijem, a zabilježena u hladnjem dijelu godine u Malostonskom zaljevu, što potvrđuje činjenicu o njezinoj toleranciji na niže temperature (Ujević i sur., 2010). Također zabilježena je veća prisutnost ovog roda i u veljači 2008. godine u Malostonskom zaljevu kad je iznosila 81×10^6 stanica /dm³. Što se tiče trovanja ovom vrstom, prvi takvi slučajevi su zabilježeni 1987. god. na Kanadskoj obali Atlanskog oceana (Faust i Gulledge, 2002.).

Alga *Akashiwo sanguinea* tipična je planktonska vrsta obalnog područja i estuarija. Temperaturni raspon je od 13 do 24 °C i salinitet od 15 do 35 psu (Faust i Gulledge, 2002). Njezino štetno djelovanje na živi svijet u moru i ptice pri povišenoj abundanciji opisalo je nekoliko autora. Gaydos (2012) bilježi masovno uginuće ptica u studenom i prosincu 2007. Godine uzrokovano ovom vrstom zbog mogućnosti stvaranja surfaktanta koji je onemogućio

pticama hidroizolaciju što je dovelo do hipotermije istih. Taylor i Trainer (2002) bilježe nastank crvene cvatnje mora u Esquimalt laguni u rujnu i listopadu 2010. godine prouzročene vrstom *Akashiwo sanguinea* što je imalo za posljedicu uginućem riba zbog nastanka anoksičnih uvjeta.

Dinoflagelat *Akashiwo sanguinea* u Bistrini je zabilježen u 2010. i 2011. godini. S obzirom na druge taksone, abudancija u 2010. je bila relativno velika i iznosila je 1080 stanica/dm³. Carić i sur. (2011) spominju učestalost ove vrste u južnom i srednjem dijelu istočne obale Jadrana, no nasuprot tome, Viličić i sur. (2002) je devet godina prije ne pronalaze i stoga i ne uvrštavaju u listu fitoplanktona Jadrana. Ta činjenica vodi do zaključka kako se radi o novoj vrsti za Jadran čija se učestalost tijekom godina povećava. Zabilješke o pronalasku navedene vrste može se naći i u drugim studijama. Tako su je primjerice Bužančić i sur. (2012) zabilježili u Malostonskom i Šibenskom zaljevu. U Malostonskom zaljevu pronađena je u osmom mjesecu što je usporedivo s rezultatima ovog istraživanja kada je pronađena isključivo krajem srpnja.

Alga *Prorocentrum triestinum* u visokim abudancijama izaziva cvatnju mora koja može dovesti do nastanka anoksije, a samim tim i uginućem riba i školjkaša (Faust i Gulledge, 2002.). Iako je ova vrsta zabilježena u Bistrini 24.9.2010. god. s gustoćom od 540 stanica/dm³, cvatnja mora nije utvrđena. Nasuprot navedenom, u Kaštelanskom zaljevu zabilježena je cvatnja mora prouzročena dinoflagelatom *P. triestinum* u svibnju 2003. godine te se također ponovila u kolovozu iste godine (Marasović, 2002-2003). U Bistrini vjerojatno abudancija vrsta roda *Prorocentrum* nije bila dosta da izazove bilo kakvu pojавu toksičnosti ili cvatnje.

Vrsta *Scrippsiella trochoidea* uobičajeno se nalazi u priobalju i estuarijima. Podnosi temperaturni raspon od -2 do 27 °C, a slanost od 21 do 39 psu. Iako ne proizvodi biotoksine UNESCO je uvrstio ovu vrstu u opasne dinoflagelate zbog mogućnosti izazivanja štetne cvatnje mora koja može prouzročiti anoksiju te time štetno djelovati na školjkaše (Faust i Gulledge, 2002.). Ova je vrsta tijekom istraživanja u Bistrini pronađena u relativno velikom broju u usporedbi s drugim vrstama. Međutim, njezina brojnost nije bila dovoljna da zrokuje cvatnju mora. Za razliku od rezultata ovog istraživanja, u srpnju 2004. god. u Kaštelanskom zaljevu zabilježeno je štetno cvjetanje mora prouzročeno intenzivnim razvojem vrste *Scrippsiella trochoidea* kad je abudnacijia bila 5×10^5 stanica/dm³.

Alga *Gonyaulax polygramma*, za razliku od vrste *Gonyaulax spinifera* koja prema novijim istraživanjima ima mogućnost stvaranja jesotoksina, predstavlja potencijalno štetnu vrstu za školjkaše s obzirom da pri visokim abundancijama može prouzročiti crvenu cvatnju mora. Nekoliko autora cvatnju ove vrste povezuje s masovnim uginućima riba i školjkaša zbog nastanka anoksije i povećane razine amonijaka i sulfata zbog raspada stanica (Faust i Gullidge, 2002; Koizumi i sur., 1996; Gaydos, 2012; Taylor i Trainer, 2002; Pitcher i sur., 2008). Pitcher i sur. (2008) bilježe u kasno ljeto i jesen 2007 u zaljevu Fasle pojavu anoksije uzrokovanu *Gonyaulax polygramma* kada je abudancija iznosila 20×10^6 stanica/dm³.

Vrste roda *Gonyaulax* (*G. polygramma*, *G. spinifera*) i još neke nedeterminirani taksoni iz spomenutog roda, u Bistrini su zabilježene u isključivo u srpanju 2010. i 2011. godine. Njihova zastupljenost tipična je za sjeverni Jadran, gdje uz ostale toksične vrste može prouzročiti pojavu toksičnosti školjkaša, s tim da je njihova abudnacija pretežno manja od vrsta iz roda *Prorocentrum* ili *Dinophysis* njihov stvaran utjecaj na ekosustav ostaje nepoznat (Marasović, 2004). Na području sjevernog Jadrana 2004. god. analiza uzorka tkiva školjkaša pokazala je DSP i OA toksičnost. Prevladavale su vrste *Dinophysis caudata*, *Dinophysis fortii*, *Prorocentrum micans*, *Peridinium crassipes*. Također su zabilježene i vrste *Gonyaulax polygramma* i *Gonyaulax fragilis* (Marasović, 2004)

Uvala Bistrina u Malostonskom zaljevu pokazala se kao izrazito stabilan ekosustav bez većih oscilacija u prisutnosti toksičnog fitoplanktona. Svake godine se zabilježi prisutnost različitih vrsta toksičnog fitoplanktona ali njihova abudancija je mala uspoređujući s Limskim kanalom ili Šibenskim zaljevom. Ove lokacije su uspoređene zbog mnogobrojnih sličnosti s Malostonskim zaljevom. Sve tri lokacije na kojima se užgajaju školjkaši izrazito su zatvorene, relativno plitke s većim utjecem slatkih voda. Prisutnost većeg broja toksičnih vrsta u Šibenskom zaljevu može se pripisati velikim utjecajem rijeke Krke, kao i samim morfološko geološkim osobinama područja. Osim Krke sve veći utjecaj na to područje imaju otpadne vode grada Šibenika, koje to područje još više eutrofificiraju (Agencija za zaštitu okoliša 2010.).

Akvatorij sjevernog Jadrana pod stalnim je utjecajem rijeke Po, čije struje duboko prodiru prema hrvatskoj obali donoseći hranjive tvari potrebne fitoplanktonu za brži rast i razvoj.

Sama obala je također razvijena i tu otpadne vode dopridonose njenoj eutrofikaciji (Agencija za zaštitu okoliša 2010).

Malostonski zaljev pokazao se izrazito pogodnom lokacijom za uzgoj školjkaša. Rijeka Neretva je zasigurno jedan od važnijih čimbenika koje imaju utjecaj na Malostonski zaljev. Njezin utjecaj oscilira ovisno o dobu godine, tako je primjerice u jesenskim mjesecima, kada ima više oborina i njezin utjecaj veći. Geološko-morfološka obilježja su također iznimno važan faktor, ona utječu na tok podvodnih struja koja stoje u izravnoj vezi s preraspodijelom nutrijenata. Utjecaj na Malostonski zaljev imaju zasigurno i domaćinstva koja jednim dijelom ispuštaju svoje otpadne vode izravno u zaljev. O kojoj se količini otpadne vode radi i koliki je točno njezin utjecaj, treba se još detaljno ispitati (Benović i sur., 2003).

6.Zaključak

Tijekom istraživanja zabilježeno je 17 taksona fitoplanktona, od toga 12 toksičnih dinoflagelata, četiri potencijalno štetna taksona dinoflagelata i jedan toksičan takson dijatomeje.

Uz dinoflagelate s najabundantnijom vrstom *Prorocentrum micans*, zabilježena je i jedna toksična dijatomeja je iz roda *Pseudo-nitzschia*.

Abudancija potencijalno štetnih vrsta za školjkaše bila je mala i kao takva nije prouzročila negativan utjecan na uzgoj školjkaša. Kao vrsta s navećom brojnošću može se izdvojiti *Scrippsiella trochoide*.

Sukladno rezultatima ovog istraživanja, Malostonski zaljev je stabilan ekosustav u kojem se visoka abudancija toksičnih fitoplanktonskih vrsta rijetko javlja, te se stoga rijetko može očekivati da će koncentracije biotoksina u mesu školjkaša biti iznad zakonom maksimalno dozvoljene.

Sukladno usporedbi s podacima o raznovrsnosti toksičnih fitoplanktonskih zajednica na drugim lokacijama u Jadranu, moglo bi se zaključiti da je na području Malostonskog zaljeva ova raznovrsnost izraženija.

7. Izvori

Agencija za zaštitu okoliša. 2010. Konačni nacrt izvješća o stanju okoliša u Republici Hrvatskoj za razdoblje 2005. – 2008.

Anderson, D. 2000. The Harmful Algae Page. www.redtide.whoi.edu/hab/

Boni, L., Mancini, L., Milandri, A., Poletti, R., Pompei, M., Viviani, R. 1992. First cases of diarrhoeic shellfish poisoning in the northern Adriatic sea. U: Vollenwaider, R. A., Marchetti, R., Viviani, R. (ur.), *Marine Coastal Eutrophication*. Elsevier Press, Amsterdam, 419-426.

Boni, L., Milandri, A., Poletti, R., Pompei, M. 1993. DSP cases along the coasts of Emilia-Romagna (Northwestern Adriatic Sea). U: Smayda, T. J., Shimizu, Y. (ur.), *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. Elsevier, Amsterdam, 475-481.

Benović, A., Marasović, I., Skaramuca, B., Bolotin, J., Kožul, V., Lučić, D., Carić, M., Jasprica, N., Onofri, V., Tutman, P., Glavić, N. 2003. Studija utjecaja na okoliš zahvata marikulture na području malostonskog zaljeva i malog mora (strateška procjena utjecaja na okoliš). Županija Dubrovačko-neretvanska. Dubrovnik, str. 173.

Bužančić, M., Ninčević Gladan, Ž., Marasović, I., Kušpilić, G., Grbec, B., Matijević, S. 2012. Struktura populacije i brojnost fitoplanktonske zajednice u tri zaljeva na istočnoj obali Jadrana, Šibenskom zaljevu, Kaštelskom zaljevu i Malostonskom zaljevu. *Acta Adriatica* 53(3): 413 – 435.

Carić, M., Jasprica, N., Čalić, M., Batistić, M. 2011. Phytoplankton response to high salinity and nutrient limitation in the eastern Adriatic marine lakes. *Scientia Marina* 75(3): 493– 505.

Čalić, M., Carić, M., Kršinić, F., Jasprida, N., Pećarević, M. 2013. Controlling factors of phytoplankton seasonal succession in oligotrophic Mali Ston Bay (south-eastern Adriatic). *Environ. Monit. Assess.* 185(3). str.23.

Faust, M. A., Gulledge, R. A. 2002. Identifying Harmful Marine Dinoflagellates. <http://botany.si.edu/references/dinoflag/>

Gaydos, J., K. 2012. Deadly diatoms: the latest on harmful algal blooms. Proceedings of the 2012 North American Veterinary Conference, Orlando, Florida.

Giacobbe, M. G., Oliva, F. D., Maimone, G. 1996. Environmental factors and seasonal occurrence of the dinoflagellate *Alexandrium minutum*, a PSP potential producer, in a Mediterranean lagoon. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 42: 539-49.

Gosling, E. M. 1992. Systematics and geographic distribution of *Mytilus*. U: Gosling, E. M. (ur.) The Mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture Developments in Aquaculture and Fisheries. Elsevier. Amsterdam, 1 - 20.

Gosling, E., 2003. Bivalve Moluscs - biology, ecology and culture. Fishing News Books, Blackwell Publishing, Oxford, 443 str.

Hasle, R. G., Syvertsen, E. E., Steidinger A. K., Tangen, K, Tomas, R. C. 1996. Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates. Academic Press Inc. San Diego, California, str. 385.

Honsell, G. 1993. First report of *Alexandrium minutum* in Northen Adriatic waters (Mediterranean Sea). U: Dmayda, T., Shmitzu, Y. (ur.), Toxic phytoplankton blooms in the sea. Eslvier Sci. Pub. 127-132.

Honsell, G., Poletti, R., Pompei, M., Sidari, L., Milandri, A., Casadei, C., Viviani, R. 1996. *Alexandrium minutum* Halim and PSP contamination in the northern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). In: Yasumoto, T., Oshima, Y., Fukuyo, Y. (Eds.), Harmful and Toxic Algal Blooms. Intergovernmental Oceanographic Commission of Unesco. Paris.77–80.

Hrs-Brenko, M., Legac, M. 2006. Inter- and intra- species relationships of sessile bivalves on the eastern coast of the Adriatic sea. *Nat. Croat.* 15: 203 – 230.

Huss, H.H., Ababouch, L., Gram, L. 2004. Assessment and management of seafood safety and quality. Food and agriculture organization of the united nations. Rome, str. 444.

James, K. J., Moroney, C., Roden, C., Satake, M., Yasumoto, T., Lehane, M., Furey, A. 2003. Ubiquitous „benign“ alga emerges as the cause of shellfish contamination responsible for the human syndrome, azaspiracid poisoning. Toxicon 43: 143-151.

Jasprica, N., Car, A. 2003. Toxic and potentially toxic phytoplankton species in the Mali Ston bay (Eastern Adriatic). "Naše more" 50(1-2).

Karleskint, G. Jr., Turner, R., Small, W. J. Jr. 2010. Introduction to Marine Biology, Third Edition. Brooks/Cole, Cengage Learning. 584.

Koizumi, Y., Kohno, J., Matsuyama, N., Uchida, T. and T. Honjo. 1996. Environmental features and the mass mortality of fish and shellfish during the *Gonyaulax polygramma* red tide occurred in and round Uwajima Bay, Japan, in 1994. Nip. Suis. Gakk. 62: 217-224.

Korringa, P. 1947. Relations between the moon and the periodicity in breeding throughout the geographical ranges of *Ostrea edulis*. Ann Bio 33: 1 - 17.

Mann, D. G. 1989. The species concept in diatoms, Evolution 24: 1-22.

Mann, D. G., Droop, S.J.M. 1996. Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms. Hydrobiologia 336: 19–32.

Marasović, I., Ninčević, Ž., Odžak, N. 1995. The effect of temperature on blooms of *Lingulodinium polyedra* and *Alexandrium minutum* in Kaštela Bay. U: Harmful Marine Algal Blooms (P. Lassus i sur., ur.), Intercept Ltd, Lavoisier.187-92.

Marasović, I. 1998-2000. Projekt Jadran. Godišnji izvještaj za 2000. godinu. Institut za oceanografiju i ribarstvo. Split, str. 120.

Marasović, I. 2002. Projekt Jadran. Godišnji izvještaj za 2001. godinu. Institut za oceanografiju i ribarstvo. Split, str. 102.

Marasović, I. 2002-2003. Projekt Jadran. Godišnji izvještaj za 2002-2003. godinu. Institut za oceanografiju i ribarstvo. Split, str. 140.

Marasović, I. 2004. Projekt Jadran. Godišnji izvještaj za 2004. godinu. Institut za oceanografiju i ribarstvo. Split, str. 198.

Marasović, I. 2005. Projekt Jadran. Godišnji izvještaj za 2005. godinu. Institut za oceanografiju i ribarstvo. Split, str. 198.

Marušić, N., Vidaček, S., Medić, H., Petrak, T. 2010. Rast dagnji (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) na istočnoj obali Istre. Ribarstvo, 68 (1): 19 – 25.

Matoničkin, I., Habdija, I., Habdija B. 1998: Beskralješnjaci – biologija nižih avertebrata. 3rd end. Školska knjiga. Zagreb, 593 – 621.

Meštrov, M. i Požar - Domac, A., 1981. Bitna svojstva ekosistema Malostonskog zaljeva i zaštita. Zbornik radova Savjetovanja „Malostonski zaljev prirodna podloga i društveno valoriziranje“. Dubrovnik 370-376.

Ninčević-Gladan, Ž., Sanda Skejic, S., Bužančić, M., Marasović, I., Arapov, J., Ujević, I., Bojanić, N., Grbec, B., Kušpilić, G., Vidjak, O. 2008. Seasonal variability in *Dinophysis* spp. abundances and diarrhetic shellfish poisoning outbreaks along the eastern Adriatic coast. Botanica Marina 51: 449–463.

Novelli, A., Fernandez-Sanchez, T., Tereblanca, A. 1993. Neurotoxicity by domoic acid and ocadaic acid. Harmful Algae News 6: 3-4.

Ofuji, K., Satake, M., McMahon, T., Silke, J., James, K. J., Naoki, H., Oshima, Y., Yasumoto, T. 1999. Two analogs of azaspiracid isolated from mussels, *Mytilus edulis*, involved in human intoxications in Ireland. Nat. Toxins 7: 99-102.

Orhanović, S., Ninčević, Ž., Marasović, I., Pavela-Vrančić, M. 1996. Phytoplankton toxins in the Central Adriatic Sea. Croat. Chem. Acta. 69: 291-303.

Pećarević, M., i Bratoš, A, 2004. Standardi kakvoće, prerada i pakiranje kamenica. "Naše more" 51(1-2).

Pitcher, G., C., Bernard, S., Ntuli, J. 2008. Contrasting bays and red tides in the southern Benguela upwelling system. Oceanografy, Vol. 21, No 3.

Sammy, M., R., Satyanarayana, R., K. (1984) Manual on marine toxins in bivalve molluscs and general consideration of shellfish sanitation. Cmfri special publication. Number 16. Cochin, str. 104.

Smayda, T. J. 1997. Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. Limnol. Oceanogr. 42: 1137-1153.

Steidinger, K.A. Tangen, K. 1996. Dinoflagellates. U: Tomas, C.R. (ur.) Identifying marine diatoms and dinoflagellates. Academic Press. str. 598.

Taylor, F. J. R. 1976. Dinoflagellates from the International Indian Ocean Expedition. Biblioteca Botanica 132:1-234.

Taylor, F. J. R. 1987. Ecology of dinoflagellates: A. General and marine ecosystems. U: Taylor, F. J. R. (ur.) The biology of dinoflagellates. Blackwell Scientific Publ. Oxford, 399-501.

Taylor, F. J. R., Trainer, V. L. 2002. Harmful algal blooms in the PICES region of the North Pacific. PICES Scientific Report No. 23.

Teskeredžić, E., Teskeredžić Z., Legović, T., Branica, M., Tomec, M., Kwokal, Ž., Picer, M., Raspor, B., Picer, N., Klarić, D., Ahel, M., Terzić, S., Josović, B. 2004. Studija utjecaja na okoliš za objekte akvakulture u zoni ušća rijeke Krke. Zagreb, 114- 136.

Thierstein, R. H., Young, R. J. 2004. Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg. str. 569.

Ujević, I., Ninčević-Gladan, Ž., Roje R., Skejić S., Arapov J., Marasović, I., 2010. Domoic acid - a new toxin in the Croatian Adriatic shellfish toxin profile. Molecules. 15: 6835-6849.

Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitt. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol. 9:1-38.

Viličić, D., Jasprica, N., Carić, M., Burić, Z. 1998. Taxonomic composition and seasonal distribution of microphytoplankton in Mali Ston Bay. Acta Bot. Croat. 57: 29-48.

Viličić, D. 2002. Fitoplankton Jadranskog mora, Biologija i taksonomija. Školska knjiga. Zagreb, str. 198.

Viličić, D., Marasović, I., Mioković, D. 2002. Checklist of phytoplankton in the eastern Adriatic Sea. Acta Bot. Croat. 61: 57-91.

Viličić, D., 2003. Fitoplankton u ekološkom sustavu mora, (Matekalo Draganović, J., ur.). Školska knjiga, Zagreb, str. 195.

Vrančić-Pavela, M., Ujević, I., Ninčević-Gladan, Ž., Gladan, Furey, A. 2006. Accumulation of Phycotoxins in the Mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Central Adriatic Sea. Croat. Chem. Acta. 79: 291-297.

Yasumoto, T., Murata M. 1993. Marine Toxins. Chem. Rev. 93: 1897-1909.