

RAZVOJ METODA ISTRAŽIVANJA FITOPLANKTONA U JADRANSKOM MORU

prof. emeritus Damir Viličić, dipl. ing. biol.

izv. prof. dr. sc. Zrinka Ljubešić, dipl. ing. biol.

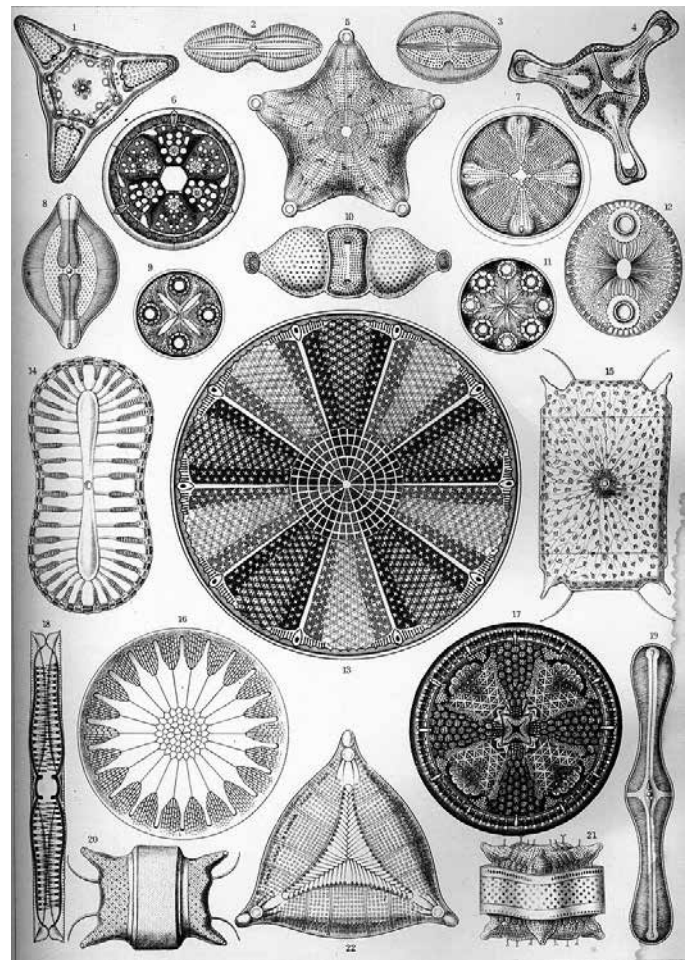
1. UVOD

Prirodne pojave na kopnu čovjek je ranije spoznao nego pojave u moru; zato je npr. meteorologija starija znanstvena disciplina nego oceanografija; također je botanika (znanost o fotosintetskim organizmima – biljkama na kopnu) starija znanstvena disciplina nego mikrobiologija mora. Danas znamo da je uloga mikroorganizama u oceanima koji fotosintezom stvaraju novu organsku tvar (primarnih proizvođača) i reguliraju kruženje ugljika na Zemlji isto toliko važna kao i biljaka na kontinentima. Fotosintetski mikroorganizmi u pelagijalu oceana (fitoplankton) odgovorni su za 46,2 % ukupne primarne proizvodnje u biosferi, iako je za njih vezano samo 2 % ugljika (Field et al., 1998.). Fitoplankton prenosi ugljik (ugljik dioksid) iz atmosfere u more stvarajući primarnu biomasu, isto kao što se ugljik nakuplja u biljkama na kopnu. Obrnuto, ugljik dioksid se vraća u površinski dio oceana respiracijom organizama i mikrobnom razgradnjom propale primarne biomase. Fitoplankton je prva trofička razina u piramidi biomase i energije u moru. Sve su to razlozi zašto je dobro upoznati povijest istraživanja tih važnih mikroorganizama. U Jadranu je ta povijest prisutna od ranih početaka, jer su istraživači mnoge od tih mikroorganizama tamo prvi put opisali.

2. PRVE SPOZNAJE

Spoznaja o važnosti fitoplanktona u Zemljinoj hidrosferi pojavila se tek nakon otkrića mikroskopa i mikroorganizama početkom 18. stoljeća (Van Leeuwenhoek, 1703.). U prvoj polovici 19. stoljeća Johannes Peter Müller je 1832. prvi opisao životinje u planktonu mora na tada britanskom otoku Helgolandu, gdje je kasnije, 1892., osnovan Kraljevski pruski Biološki institut, danas Biološki institut Helgoland. Prvi je izradio planktonsku svilu s promjerom pora određene veličine za filtriranje malih organizama iz mora. Carl Linne je ustanovio binomnu nomenklaturu po kojoj je klasificirao organizme (Linnaeus, 1758.), dok Adolf Engler (Engler, 1886.) odvaja alge u

posebnu taksonomsku kategoriju – niže biljke. Istraživači opisuju dotad nepoznat svijet mikroba (Ehrenberg, 1838., Rabenhorst, 1844.–1848., Kützing, 1849.), od kojih nas u ovom prikazu najviše zanimaju planktonske alge. Njihovi crteži su detaljni i u nekim publikacijama poprimaju umjetničku vrijednost (Haeckel, 1899., [slika 1](#)).



Slika 1: Alge kremenjašice (dijatomeje) u Haeckelovim litografijama (Haeckel 1899.). Dostupno online na (11.01.2017.) <http://algorithmic-worlds.net/Haeckel/haeckel.php>

3. DRUGA POLOVICA 19. STOLJEĆA

U drugoj polovici 19. stoljeća događaju se značajne političke promjene u Europi koje su se indirektno odražavale na razvoj znanosti u Europi i na istraživanja u Jadranskom moru. Godine 1862. nastaje ujedinjena Italija. U razdoblju 1862.-1871. dolazi do ujedinjenja Njemačke. Pruska je 1866. porazila Njemački savez, predvođen Austrijom te time prouzročila njegov raspad. Nastaje Sjevernonjemački savez koji na čelu s Pruskom započinje oružani sukob s Francuskom 1870.-1871. Godine 1867. utemeljena je Austro-Ugarska Monarhija sa čime i započinju organizirana istraživanja Jadranskog mora.

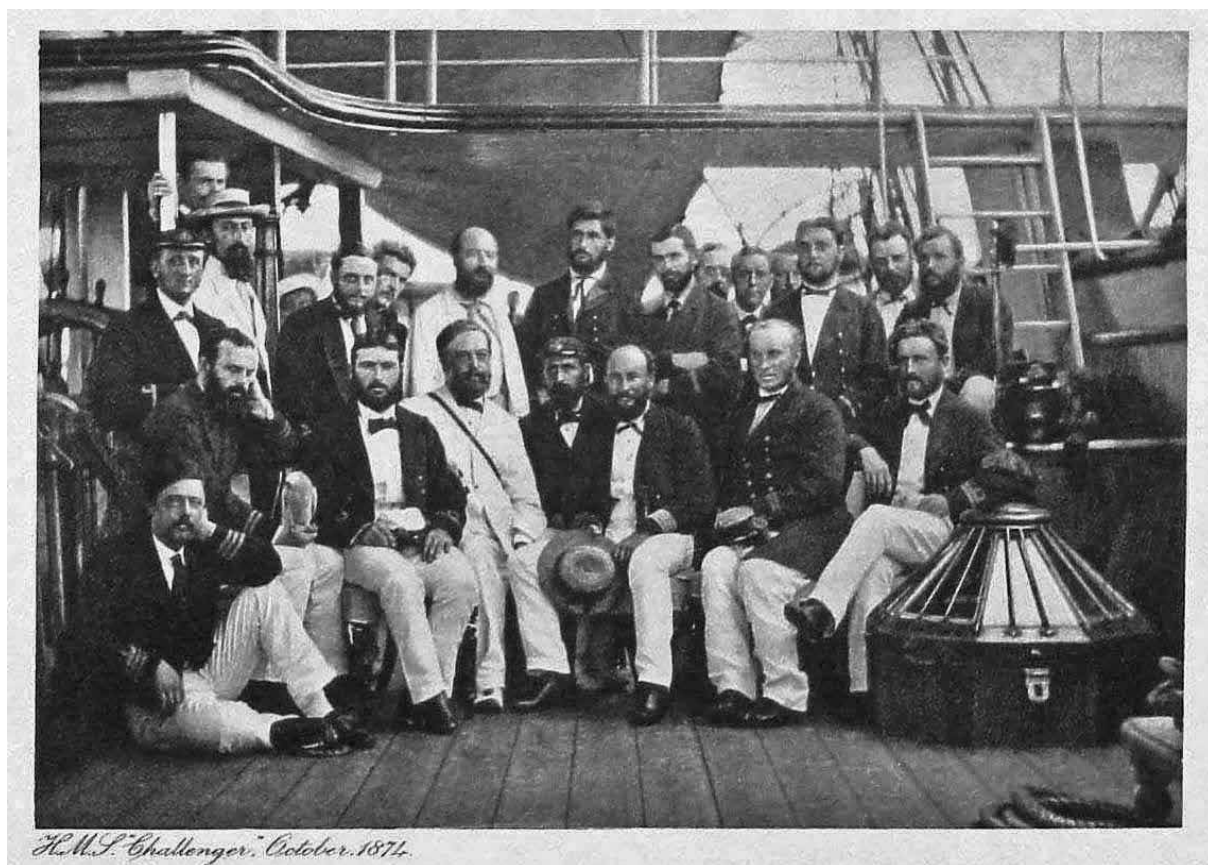
Istovremeno, u drugoj polovici 19. stoljeća više manjih ekspedicija usmjereno je istraživanju oceana. Njemački zoolog i profesor fiziologije na Sveučilištu u Kielu, Christijan Hensen, organizira pet ekspedicija za biološka istraživanja u Baltiku, Sjevernom moru i Atlantiku, između 1871. i 1891. Christian Hensen autor je pojma plankton (Hensen, 1887.) i postavlja temelje biološke oceanografije, jer objašnjava da su mali plutajući organizmi važni za kruženje hranjivih tvari u moru. Već 1867. utemeljio je istraživanja primarne i sekundarne produkcije jer je tvrdio da o planktonu ovisi količina ribe, odnosno razvoj ličinki riba u planktonu. Hensen konstruirao planktonsku mrežu koja omogućava upoznavanje sve više morskih planktonskih vrsta.

Oceanografija je mlada znanstvena disciplina koja se počela razvijati krajem 19. stoljeća, nakon što Amerikanci,

Englezi i Europljani organiziraju nekoliko ekspedicija u kojima mjere morske struje i prate život u oceanu. Prva znanstvena ekspedicija koja je obišla sve svjetske oceane (osim Arktičkog oceana) bila je ekspedicija britanskim ratnim brodom Challenger od 1872. do 1876. (slika 2). Rezultati analiza uzoraka vode trebali su pokazati čimbenike koji djeluju na raspodjelu organizama u moru. Otkrivene su mnoge vrste, ali također i Marijanska brazda – najdublji dio Pacifika i svjetskih mora.

Njemačka organizira ekspediciju na Atlantski i Indijski ocean 1898. godine, gdje George Karsten opisuje vrste mrežnog fitoplanktona (Karsten, 1899.a, Karsten, 1899.b).

Oceanografska opažanja na Jadranu počinju samo dvije godine nakon polaska oceanografske ekspedicije Challenger. Austrijska pomorska vlast organizira oceanografska mjerenja u cijelom Jadranu brodovima *Nautilus* (1874.), *Deli* (1875.-1877.) i *Hertha* (1880.). Početci istraživanja Jadrana vezani su za upoznavanje sastava morskih organizama u sjevernom Jadranu. Jadran je bio pod utjecajem Italije i Austro-Ugarske Monarhije, a prirodoslovci su dolazili iz različitih europskih zemalja (Casellato, 2008.). Najranija kvalitativna planktonološka istraživanja Jadranskog mora počinju u sjevernom Jadranu i vezana su za "Zoološku stanicu" u Trstu, osnovanu 1576. godine, te Zoološku stanicu berlinskog akvarija u Rovinju osnovanu 1891. godine. Prvi zapis o fitoplanktonu u Jadranu pronalazimo krajem 19. stoljeća i to je vijest o cvjetanju fitoplanktona u sjevernom Jadranu (Hauck, 1872.).



Slika 2: Posada i istraživači na prvoj znanstvenoj ekspediciji brodom Challenger u razdoblju od 1872. do 1876. Dostupno online na (4.12.2016.) <http://www.19thcenturyscience.org/HMSC/HMSC-INDEX/group.jpg>

4. KLASIČNE METODE U 20. STOLJEĆU

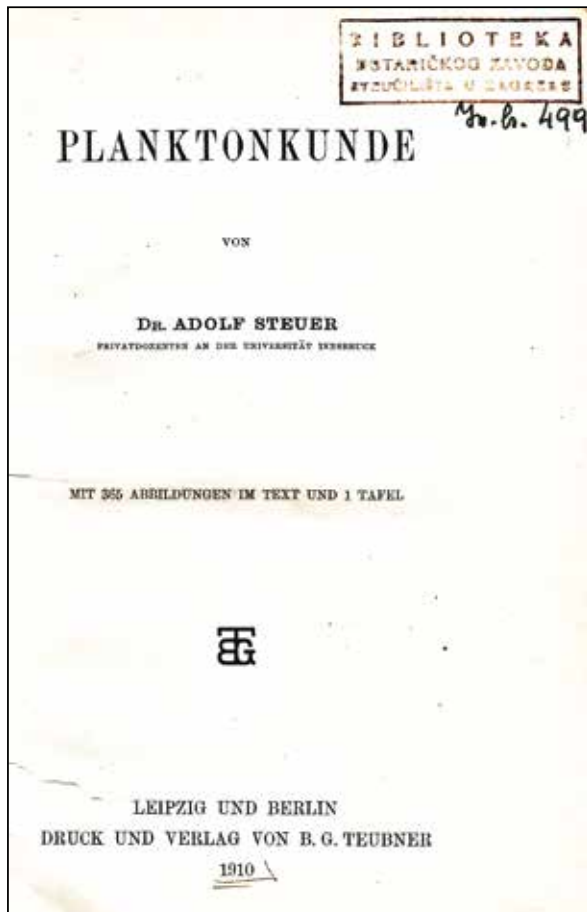
Lohmann otkriva planktonske stanice koje prolaze kroz planktonsku mrežu, veličine 1 do 20 um i naziva ih nanoplanktonom. Abundanciju nanoplanktona određuje centrifugiranjem. Pokazao je da more sadrži 5-100 puta više stanica nanoplanktona nego organizama što zadržava Hensenova mreža (Lohmann, 1909., 1911.) te je time uveo novi pristup istraživanju produkcije mora kasnije u 20. stoljeću (Mills, 2012.).

Spoznaja o postojanju nanoplanktona usmjerila je istraživače da količinu fitoplanktona određuju iz uzoraka uzetih crpcima, a ne mrežom. Prvobitna verzija crpca imala je termometar koji je mjerio temperaturu vode koju je crpac na određenoj dubini zatvorio, što nije dalo točna mjerenja. Prvu zadovoljavajuću verziju crpca konstruirao je Fridtjof Nansen 1894. godine tako da je obrtljivi termometar dodao crpcu s vanjske strane. Njegov crpac se pri zatvaranju na određenoj dubini okrenuo, prekinula se nit žive u obrtljivom termometru, što je omogućilo očitavanje temperatura vode na određenoj dubini.

Istraživanja jadranskog fitoplanktona započinju brodovima Talijanskoga kraljevskog komiteta za oceanografiju: Montebello i Ciclope 1909. i 1910. godine. Na značaj istraživanja planktona, kao najmlađe biološke discipline, ukazuje Adolf Steuer u knjizi u kojoj prikazuje

tadašnje spoznaje iz oceana, a također i iz Jadrana (Steuer, 1910., [slika 3](#)), a rukopis za knjigu recenziraju ravnatelji sjevernojadranskih instituta u Trstu (Karl Isidor Cori) i u Rovinju (Otto Hermes). Neposredno nakon objavljivanja toga djela organiziraju se istraživačke ekspedicije prema srednjem i južnom Jadranu. Najstariji radovi o sastavu fitoplanktona u Jadranu rezultat su istraživačkih ekspedicija "Rudolf Virchow" (Schröder, 1911.), "Najade" (Schiller, 1913.a, Schiller, 1913.b; 1925.a, 1925.b; 1933.; Schussnig, 1914.) i "Thor" (Jörgensen, 1920., 1923.), a po problematici su vezani gotovo isključivo za taksonomiju krupnije (mrežne) komponente fitoplanktona. Citirana djela su velikim dijelom i danas vrijedni ključevi za određivanje vrsta fitoplanktona. Schussnig (1914.) piše osvrt na prvu austro-ugarsku ekspediciju Najade u sjevernom Jadranu, a također opisuje cvjetanje mora - sluzave mase fitoplanktona koje začepe planktonsku mrežu.

Njemački botaničar Friedrich Hustedt bavi se algama kremenjašicama - dijatomejama; opisao je oko 2,000 novih vrsta i osnovao je jednu od najvažnijih zbirki dijatomeja na svijetu u Institutu za polarna istraživanja i istraživanja mora u Bremerhavenu. Uz trajne preparate tamo se nalaze uzorci materijala koje je istraživao i opsežna biblioteka s literaturom o dijatomejama. Objavio je ključ za određivanje planktonskih dijatomeja dijelom na osnovu analize uzoraka iz Jadrana; objavljena su mnoga izdanja tog djela koje je relevantno i danas (Hustedt, 1927.-1966.). Naš dijatomolog Anto Jurilj i Friedrich Hustedt surađuju ([slika 4](#)) i izmjenjuju publikacije, pa tako Hustedtovi ključevi za određivanje dijatomeja dolaze u Zagreb.



Slika 3: Kapitalno djelo Adolfa Steuera o metodama istraživanja planktona, velikim je dijelom inspirirano istraživanjima u Jadranu početkom 20. stoljeća (snimio D. Viličić).



Slika 4: Istraživanja dijatomeja monokularnim mikroskopom, kakvi su u Hrvatskoj u uporabi do 1970-ih godina. Hrvatski dijatomolog Ante Jurilj za vrijeme izrade disertacije.

Usavršavanje mikroskopa omogućilo je daljnji razvoj citomorfologije i fiziologije. Nakon 1893. August Köhler razvija princip osvjetljavanja uzorka i ograničavajuću ulogu valne dužine svjetlosti za postizanje oštine slike. Fritz Zernike otkriva fazni kontrast 1953. godine, a Georges Nomarski diferencijalni interferencijski kontrast 1955., godine.

Složenija istraživanja planktona srednjeg Jadrana započinju osnivanjem Oceanografskog instituta u Splitu 1930. godine. Ante Ercegović (1936.) započinje istraživanja u području biološke oceanografije u Jadranu (Alfirević, 1970.). Prati koncentraciju hranjivih soli i prvi određuje abundanciju fitoplanktona (Pucher-Petković usmeno priopćenje) sedimentacijom i brojenjem stanica pomoću invertnog mikroskopa (Utermöhl, 1931., Lund et al., 1958.) (slika 5). Uzorci vode se uzimaju Nansenovim crpcima do 1980-ih godina (slika 6).



Slika 5: Sedimentacija fitoplanktona metodom po Utermohlu (snimio D. Viličić).



Slika 6: Nansenov crpac rabio se u Jadranu 1980-ih godina (snimio D. Viličić).

Mjerenje biomase fitoplanktona (koncentracije klorofila a) i brzine primarne produkcije metodom inkubiranja uzoraka in-situ uvodi Tereza Pucher Petković (Pucher-Petković et al., 1969.), a mjerenja se kontinuirano nastavljaju (Marasović et al., 1995.), pa se podatci iz Kaštelanskog zaljeva ubrajaju u najbolje dugoročne nizove u svijetu. Biomasa fitoplanktona je indirektni pokazatelj obogaćivanja mora hranjivim tvarima i trofičkog stupnja mora.

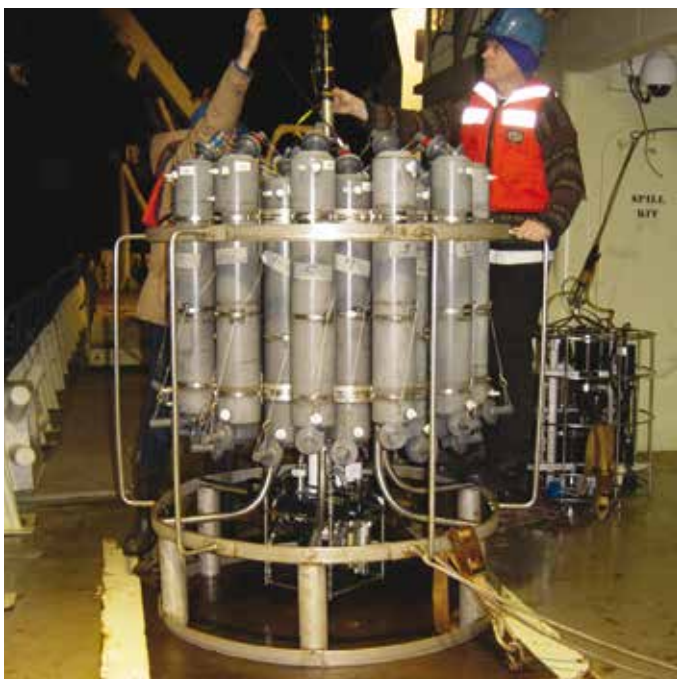
U Institutu Ruđer Bošković u Rovinju mjerenja abundancije i biomase fitoplanktona uvodi Noelia Revelante (Revelante i Gilmartin, 1976.). Koncentracija klorofila a se u to vrijeme mjeri spektrofotometrom, dok se 1970-ih uvodi spektrofluorimetrija (Degobbis et al., 2000.).

Mjerenja brzine primarne produkcije započinju Kveder i Kečkeš (1969.) te ih nastavlja Smodlaka (1986.) metodom inkubacije in-vitro.

Sedamdesetih godina 20. stoljeća u Hrvatskoj započinju interdisciplinarna istraživanja Jadrana istraživačkim brodovima *Vila Velebita* (Institut Ruđer Bošković, Rovinj), *Bios* (Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split), *Andrija Mohorovičić* (Hidrografski institut, Split) i *Baldo Kosić* (Institut za oceanografiju i ribarstvo, Dubrovnik). Za analizu brojnih parametara potrebni su veći uzorci, pa se uzorkovanje obavlja većim 5-litarskim crpcem - Niskinovim crpcem koji je konstruirao Niskin 1966. godine. Na određenoj dubini uređaj-glasnik zatvara crpac, ali se crpac ne okreće, nego se okreće nosač termometra. Niskinovi crpci se i danas koriste, ali bez termometara (slika 7), jer se temperatura mjeri sondama. Složenija analitika traži sve više uzorka na terenu pa se uvode rozete većih crpaca koje se postavljaju zajedno sa sondama na zajednički okvir (slika 8).



Slika 7: Uzimanje uzorka mora Niskinovim crpcem (snimio D. Viličić).



Slika 8: Suвременa rozeta crpaca sa sondama (snimio D. Viličić).

U obalnim vodama stupanj trofije se procjenjuje indeksom TRIX (Vollenveider, 1998., Kušpilić et al., 2011.). Limitirajuće hranjive tvari za primarnu produkciju mjere se direktno biotestovima (Pojed i Kveder, 1977., Vukić Lušić et al., 2008.) ili indirektno (Legović et al., 1994., Viličić et al., 2008.).

Primarna biomasa se može izraziti i volumenom stanica fitoplanktona (Smayda, 1965.) te preračunavanjem volumena stanica u količinu ugljika (Strathmann, 1967.), čime se otvara mogućnost procjene protoka tvari i energije u ekološkom sustavu. U Jadranu su obavljani tek prvi koraci prema takvim istraživanjima (Viličić, 1991.).

5. DRUGA POLOVICA 20. STOLJEĆA

5.1 Biomarkeri

Novija znanstvena istraživanja u svijetu su usmjerena prema kemotaksonomiji – određivanju pigmenta biomarkera tekućinskom kromatografijom s visokom moći razlučivanja (HPLC) (Jeffrey et al., 1997.) te procjeni udjela pojedinih taksonomskih kategorija fitoplanktona u ukupnoj primarnoj pelagičkoj biomasi analizirajući pigmente biomarkere, abundanciju i biovolumen fitoplanktona pomoću softvera CHEMTAX (Mackey et al., 1996.). Omjer između pojedinih pigmenta biomarkera i biovolumena kod pojedinih skupina algi značajno korelira u fotičkoj zoni (>1 % površinke svjetlosnog zračenja). Mjerenja koncentracija pigmenta biomarkera započinju u Hrvatskoj u Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu 1990-ih (Ahel et al., 1996.) i doprinose kvantificiranju taksonomskih kategorija fitoplanktona u Jadranu (Viličić et al., 2008.).

5.2 Elektronska mikroskopija

Tridesetak godina od otkrića elektronskog mikroskopa (TEM i SEM) u Njemačkoj, uz istočnu obalu Jadrana započinju istraživanja ultrastrukture i sastava nanoplanktona (Jerković, 1965., 1977.; Leadbeater, 1974.). Kasnije se istraživanja nastavljaju suvremenijim uređajima u Hrvatskoj; u Chromosu i Plivi (Viličić i Tudja, 1986.; Viličić, 2002.), na Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu (Burić et al., 2008.) i u inozemstvu (Bosak et al., 2015.; Šupraha et al., 2014.).

5.3 Elektrokemijske metode

Elektrokemijskim metodama određuje se raspodjela autohtone organske tvari (koju luči fitoplankton) u Jadranu (Gašparović i Čosović, 2003.). Mjerenje toksina koje sintetiziraju toksični i potencijalno toksični dinoflagelati važno je za kontrolu zdravstvenog stanja školjkaša (Orhanović et al., 1996.) kojima se hrane ljudi.

5.4 Fluorescencija, senzori, sateliti

1980-ih godina otkriven je fluorescentni mikroskop – optički mikroskop kojim fluorescencija i fosforescencija pokazuje pojedine organske i anorganske tvari u ili izvan stanice. Fluorescencija pigmenta može poslužiti za određivanje sastava fitoplanktonske zajednice (Smith et al., 1997.), a uskoro će se analize provoditi in-vivo (Chen et al., 2015.). Fluorescentni mikroskop u Jadranu služi za procjenu abundancije bakterija i drugih pikoheterotrofa i nanoheterotrofa direktnom metodom (Fuks, 1991., Šolić i Krstulović, 1991.). Florescentna mikroskopija doprinosi određivanju fotosintetskih pikoeukariota i pikoprokariota (cijanobakterija), a danas takve analize preuzima suvremenija i brža metoda protočne citometrije. Prvo korištenje protočne citometrije u analizama fitoplanktona započinju u drugoj polovici 20. stoljeća (Paau et al., 1978.; Yentsch et al., 1983.), ali tek otkrićem cijanobakterije *Prochlorococcus* dobiva pravi zamah i široko korištenje (Chisholm et al., 1992., Partensky et al., 1999.). Protočna citometrija omogućuje razlikovanje stanica na osnovi njihove veličine, granulacije površine i fluorescence. Spoznajom o važnosti pikofitoplanktona i optimizacijom njihove detekcije brzom metodom protočne citometrije došlo je do velike promjene u razumijevanju oceanskih sustava. Prva istraživanja pikofitoplanktona u Jadranu odvijaju se paralelno u sjevernom i srednjem Jadranu (Vilibić i Šantić, 2008., Radić et al., 2009.). Radi osjetljivosti detekcije cijanobakterije *Prochlorococcus*, te oprečnih rezultata, zajedno se koriste metode protočne citometrije i analize pigmenta (HPLC) te dobivaju prvi rezultati o pikoplanktonu sa Albanskog šelfa (Ljubešić u: Šilović et al., 2011.).

Satelitskim praćenjem brzo se određuje raspodjela i nakupljanje primarne pelagičke biomase u određenim područjima Jadrana, prema utjecaju morskih struja, položaju frontalnih sustava, izvoru hranjivih tvari i slično (Viličić et al., 2013.).

Buduća istraživanja mora usmjerena su prema biooptičkim mjerenjima pigmenata biomarkera u oceanu koja su započela krajem 20. stoljeća. Satelitima i algoritmima se procjenjuje primarna produkcija u oceanima (Bidigare et al., 1990.) i struktura zajednica fitoplanktona (Cetinić et al., 2015). Pojavu cvjetanja štetnih vrsta fitoplanktona u novije je vrijeme moguće odrediti brзом detekcijom molekula toksina u vodi senzorum i satelitskim prijenosom informacije u laboratorij na kopnu i uzgajivačima školjkaša (Cetinić, 2009.).

Kontinuirana mjerenja senzorum priključenim na plutače daju velik broj podataka koji se satelitima prenose u laboratorije te omogućuju modeliranje procesa u moru. U Jadranu se najprije koriste senzori za mjerenje temperature i saliniteta u svrhu modeliranja cirkulacije (Querín et al., 2006.; Lee et al., 2006. i pregled literature). Kasnije se dodaje i senzor za mjerenje koncentracije klorofila a (Mauri et al., 2007.).

Sofisticirani uređaji - undulatori koje vuče brodovi te uređaji što se autonomno kreću, mjere velik broj podataka senzorum i daju uvid u trodimenzionalnu raspodjelu fizičkih, kemijskih i bioloških svojstava oceana. Undulatorom je kvantificirana fluorescencija klorofila a u okviru istraživanja stvaranja Sjevernojadranske guste vode i Istarske fronte američkim brodom Knorr, 2003. godine (slika 9) (Lee et al., 2005.). Uređaji koji se programirano pokreću i mjere u moru (engl. glider),

u Jadranu mjere uz pomoć ugrađenih senzora za temperaturu, salinitet, dubinu (CTD-Sea-Bird), kisik (Aanderaa Optode 4330) i klorofil (WetLab BB2FL-VMT fluorometer) (Mauri et al., 2016.).

Razvoj metoda uključuje i potrebu za njihovom usporedbom i optimizacijom, kojim se međunarodnom suranjom i interdisciplinarno, metodama klasične taksonomije, biooptike, analize pigmenata i molekularnim metodama pokušavaju odrediti organizmi koji su indikatori određenih vodenih tipova (Ljubešić et al., 2016.; Bosak et al., 2016.; Bošnjak et al., 2016.).

5.5 Molekularne metode

Uz sve navedene metode, zadnjih desetljeća razvijaju se molekularne metode koje otkrivaju evolucijske odnose i testiraju klasičnu taksonomiju. Prve objavljene sekvence fitoplanktona iz Jadranskog mora su dijatomeje *Cylindrotheca closterium* (Pfannkuchen u: Pletikapić et al., 2011.), a prva novo opisana vrsta iz Jadranskog mora uz pomoć filogenetske analize je dijatomeja *Bacteriastrium jadrantum* (Godrić et al., 2012.). Iako je danas za određivanje vrsta još uvijek važna morfologija stanica, sve je važnija molekularna biologija koja daje dosad nedostupne informacije. U sklopu projekta BIOTA upravo je u tijeku revizija dijatomeje roda *Entomoneis* korištenjem klasične taksonomije, svjetlosne i elektronske mikroskopije i filogenetskih analiza (Mejdandžić et al., 2017.).



Slika 9: Undulator (engl. undulating sensor profiler) proizvođača SEASORE – uređaj kojeg vuče brod, a senzorum mjeri parametre kao što su temperatura, salinitet, kisik i fluorescencija klorofila a, u Jadranu 2003. godine (snimio D. Viličić).

6. SADAŠNJOST I BUDUĆNOST

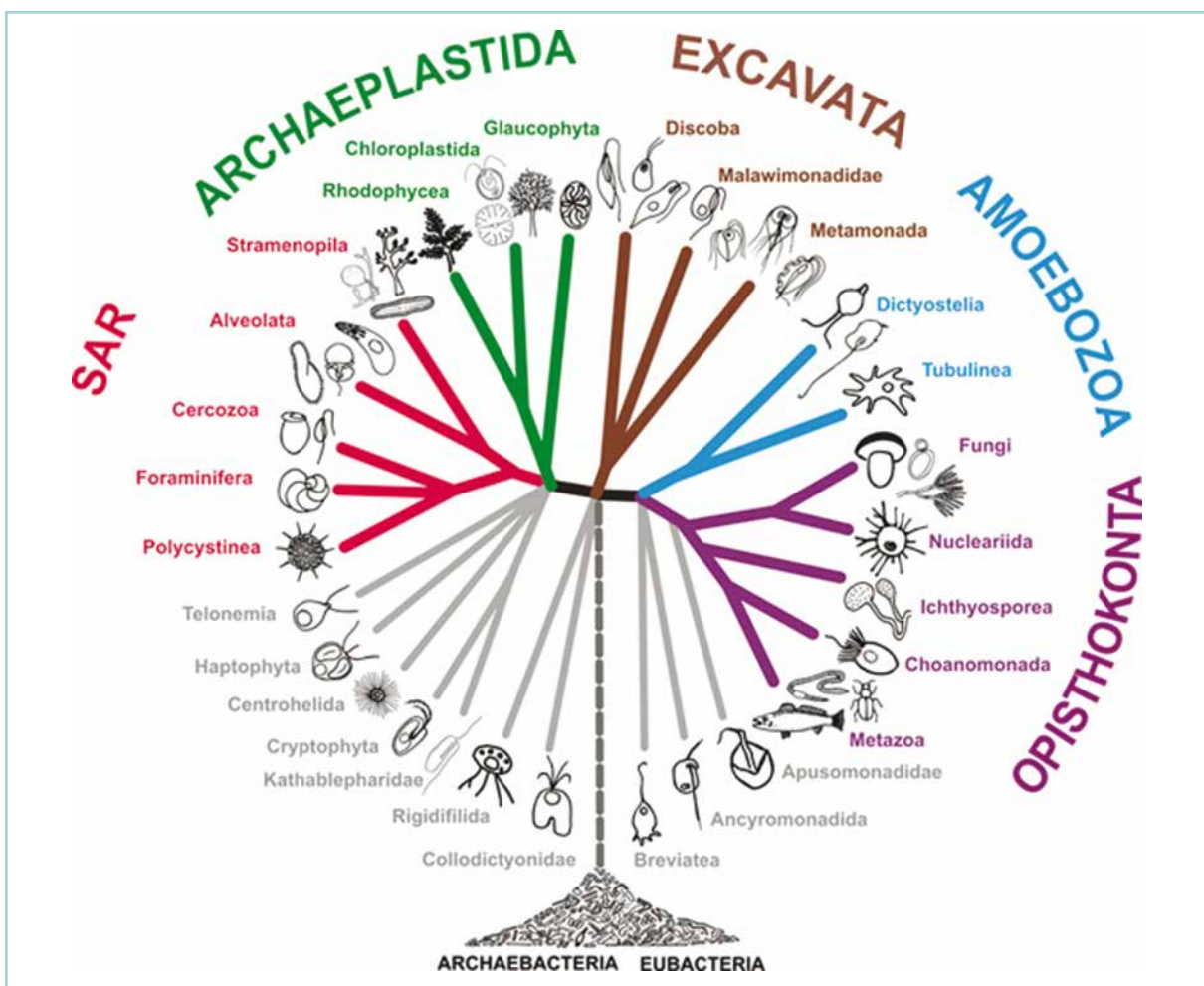
Povijest istraživanja fitoplanktona krenula je od mikroskopa koji je pružio informaciju o taksonomskoj klasifikaciji planktonskih algi na temelju morfologije stanica. Razvojem novih tehnologija i metoda, prvenstveno molekularne biologije, taksonomija koju danas poznajemo približava se prirodnom sustavu koji je nastao evolucijom (Adl et al., 2012., [slika 10](#)). Poimanje uloge fitoplanktona u globalnoj primarnoj produkciji je također promijenjeno, za što su odgovorni fotosintetski prokarioti koje također ubrajamo u fitoplankton; posebno cijanobakterija *Prochlorococcus*, otkrivena tek krajem 20. stoljeća (Johnson i Sieburth, 1979.; Chisholm et al., 1992.; Partensky et al., 1999.). *Prochlorococcus* je prvi predstavnik fitoplanktona kojem je sekvencioniran cijeli genom. Od određivanja vrsta mikroskopom do sekvenciranja genoma, te od pokušaja da se količina fitoplanktona odredi brojanjem stanica u jedinici volumena uzorka mora do uporabe autonomnih ronilica koje sensorima pretražuju dijelove oceana i satelita koji pretražuju prostranstva oceana ili prenose podatke od senzora in-situ do računala u laboratoriju, ispisana je povijest otkrića i razvoj

raznovrsnih znanstvenih metoda koje su do danas primijenjene za praćenje globalnih promjena koje se danas događaju u moru.

Metode istraživanja u oceanografiji danas se izjednačavaju s metodama istraživanja atmosfere, koja je starija znanstvena disciplina, jer je atmosfera vidljivija čovjeku nego što su skrivene dubine oceana. Dugi je niz godina mjerena sensorima. Velik broj podataka mjerenih sensorima i matematičke metode omogućavaju prognozu procesa u oceanu. Promjene u biosferi su se događale i u prošlosti naše planete, ali zapise iz prošlosti do danas bilježe paleontolozi i geolozi i svi koji odgonetavaju tragove iz prošlosti. Promjene koje danas zapisujemo bit će važna informacija budućim generacijama koje će na osnovu dužeg niza podataka moći sastaviti potpunije modele procesa u biosferi.

ZAHVALA

Ovaj rad je u potpunosti financiran iz projekta Hrvatske Zaklade za znanost BIOTA UIP-11-2013-6433 "Bio-indikatori vodenih masa u Jadranu". ■



Slika 10: Revidirano filogenetsko stablo eukariota (preuzeto iz Adl et al., 2012.)

LITERATURA

- Adl, S.M.; Simpson, A.G.; Lane, C.E.; Lukeš, J.; Basse, D.; Bowser, S.S.; Brown, M.; Burki, F.; Dunthorn, M.; Hampl, V.; Heiss, A.; Hoppenrath, M.; Lara, E.; leGall, L.; Lynn, D.H.; McManus, H.; Mitchell, E.A.D.; Mozley-Stanridge, S.E.; Parfrey, L.W.; Pawlowski, J.; Rueckert, S.; Shadwick, L.; Schoch, C.; Smirnov, A.; Spiegel, F.W. (2012.): The revised classification of eukaryotes. *Journal of eukaryotic microbiology*, 59, 429–493.
- Ahel, M.; Barlow, R. G.; Mantoura, R. F. C. (1996.): Effect of salinity gradients on the distribution of phytoplankton pigments. *Marine ecology progress series*, 143, 289–295.
- Alfirević, S. (1970): Dr. Ante Ercegović (1895.–1969.): život i djelo. *Acta adriatica*, 13, 1–23.
- Bidigare, R.R., Ondrusek, M.E., Morrow, J.H. and Kiefer, D.A. (1990.): In vivo absorption properties of algal pigments. *Ocean optics*, 1302, 290–302.
- Bosak, S.; Bošnjak, I.; Cetinić, I.; Mejdandžić, M.; Ljubešić, Z. (2016.): Diatom community in the depths of the South Adriatic: an injection of carbon by biological pump. *Rapport du Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Mediterranee* 41, 274–274.
- Bosak, S.; Šupraha, L.; Nanjappa, D.; Kooistra, W.H.C.F.; Sarno, D. (2015.): Morphology and phylogeny of four species from the genus *Bacteriastrium* (Bacillariophyta). *Phycologia*, 54, 130–148.
- Bošnjak, I.; Petrić, I.; Cetinić, I.; Bosak, S.; Mejdandžić, M.; Ljubešić, Z. (2016.): In depth characterization of marine cyanobacteria community: targeting of *Prochlorococcus* ecotypes. *Rapport du Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Mediterranee*, 41, 275–275.
- Burić, Z.; Viličić, D.; Caput Mihalić, K.; Carić, M.; Kralj, K.; Ljubešić, N. (2008.): *Pseudo-nitzschia* blooms in the Zrmanja River estuary. *Diatom research*, 23, 51–63.
- Casellato, S. (2008.): Marine biology in the Adriatic Sea: An historical review. *Proceedings of the California Academy of sciences*, 59, Supplement 1, 191–203.
- Cetinić, I. (2009.): Harmful algal blooms in the urbanized coastal ocean an application of remote sensing for understanding, characterization and prediction. PhD-Thesis, University of Southern California, Los Angeles.
- Cetinić, I.; Perry, M.J.; D'Asaro, E.; Briggs, N.; Poulton, N. (2015.): A simple optical indeks shows spatial and temporal heterogeneity in phytoplankton community composition during the 2008 North Atlantic bloom experiment. *Biogeosciences*, 12, 2179–2194.
- Chen, P.; Pan, D.; Mao, Z. (2015.): Application of a laser fluorometer for discriminating phytoplankton species. *Optics and laser technology*, 67, 50–56.
- Chisholm, S.W.; Frankel, S.L.; Goericke, R.; Olson, R.J.; Palenik, B.; Waterbury, J.B.; West-Johnsrud, L.; Zettler, E.R. (1992.): *Prochlorococcus marinus* nov. gen. nov. sp.: an oxyphototrophic marine prokaryote containing divinyl chlorophyll a and b. *Archives of microbiology*, 157, 297–300.
- Degobbis, D.; Precali, R.; Ivančić, I.; Smolaka, N.; Fuks, D.; Kveder, S. (2000.): Long-term changes in the northern Adriatic ecosystem related to anthropogenic eutrophication. *International journal of environment and pollution*, 13, 495–533.
- Ehrenberg, C.F. (1838.): *Die Infusionsthierchen als Vollkommene Organismen. Ein Blick in das Tiefere Organische Leben der Natur*. Leopold Voss, Leipzig.
- Engler, A. (1886.): *Führer durch den Königlich botanischen garten der Universität zu Breslau*. J.U. Kerns Verlag, Tübingen.
- Ercegović, A. (1936.): Études qualitative et quantitative du phytoplankton dans les eaux côtières de l'Adriatic oriental moyen au cours de l'année 1934. *Acta adriatica*, 1, 1–126.
- Field, C.B.; Behrenfeld, M.J.; Randerson, J.T.; Falkowski, P. (1998.): Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science* 281, 5374, 237–240.
- Fuks, D.; Devescovi, M.; Precali, R.; Krstulović, N.; Šolić, M. (1991.): Bacterial abundance and activity in the highly stratified estuary of the Krka River. *Marine chemistry*, 32, 333–346.
- Gašparović, B.; Čosović, B. (2003.): Surface-active properties of organic matter in the north Adriatic Sea. *Estuarine coastal and shelf science*, 58, 555–566.
- Godrijan, J.; Marić, D.; Imešek, M.; Janeković, I.; Schweikert, M.; Pfannkuchen, M. (2012.): Diversity, occurrence and habitats of the diatom genus *Bacteriastrium* (Bacillariophyta) in the northern Adriatic Sea, with the description of *B. jadrantum* sp. nov. *Botanica marina*, 55, 415–426.
- Haeckel, E. (1899.): *Kunstformen der Natur*. Verlag des Bibliografisches Institut, Leipzig.
- Hauck, T. (1872.): Ueber das Massenaufreten der *Nitzschia closterium* (Ehr.) Sm. in der Adria. *Oesterreichische Botanische Zeitschrift*, 37, 253–254.
- Hensen, V. (1887.): Ueber die Bestimmung des Planktons oder des im meere treibenden materials an Pflanzen und Thieren. *Bericht der Kommission zur wissenschaftlichen Untersuchung der deutschen Meere in Kiel 1882–1886*, 5, 1–108
- Hustedt, F. (1927–1966.): *Die Kieselalgen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz mit Berücksichtigung der übrigen Länder Europas sowie der angrenzenden Meeresgebiete*. In: Dr. L. Rabenhorsts Kryptogrammen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Band 7, 1–920, Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig.
- Jeffrey, S.W.; Mantoura, R.F.C.; Wright, S.W. (1997.): *Phytoplankton pigments in oceanography - Guidelines to modern methods*. UNESCO Publishing, Paris.
- Jerković, L. (1965.): Sur quelques silicoflagellides de Yougoslavie. *Revue de micropaléontologie*, 3, 121–130.
- Jerković, L. (1977.): Nannoplankton calcaire de la vase de l'Adriatique du sud. *Rapport du Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Mediterranee* 24, 167–168.
- Johnson, P.W.; Sieburth, J.M. (1979.): Chroococcoid cyanobacteria in the sea: a ubiquitous and diverse phototrophic biomass. *Limnology and Oceanography* 24, 928–935.

- Jørgensen, E. (1920.): *Mediterranean Ceratia. Report on the Danish oceanographical expeditions 1908-10 to the Mediterranean and adjacent seas. II Biology* J1, 1-110. Copenhagen.
- Jørgensen, E. (1923.): *Mediterranean Dinophysiaceae - Report on the Danish oceanographical expeditions 1908-1910 to the Mediterranean and adjacent seas. II Biology* 2., 1-48. Copenhagen.
- Karsten, G. (1999 a.): *Das Phytoplankton des Atlantischen Ozeans nach dem Material der deutschen Tiefsee-Expedition 1898-1899. Deutsche Tiefsee Expedition 1898-1899*. G. Fischer, Jena.
- Karsten, G. (1999 b.): *Das Indische Phytoplankton nach dem Material der Deutschen Tiefsee-Expedition 1898-1899. Deutsche Tiefsee Expedition 1898-1899*. G. Fischer, Jena.
- Kušpilić, G.; Precali, R.; Dadić, V.; Ninčević-Gladan, Ž.; Šurmanović, D.; Marijanović Rajčić, M. (2011.): Prijedlog granica klasa fizikalno-kemijskih parametara unutar pokazatelja fitoplankton za područje prijelaznih i priobalnih voda Republike Hrvatske. *Hrvatske vode*, 75, 101-110.
- Kützing, F.T. (1849.): *Species Algarum*, Leipzig.
- Kveder, S.; Kečkeš, S. (1969.): Hydrographic and biotical conditions in the north Adriatic. V. Primary phytoplankton productivity. *Thalassia jugoslavica*, 5, 185-191.
- Leadbeater, B.S.C. (1974.): Ultrastructural observations on nanoplankton collected from the coast of Yugoslavia and the Bay of Algiers. *Journal of the marine biological association of the United Kingdom* 54, 179-196.
- Lee, C.M.; Askari, F.; Book, J.; Camiel, S.; Cushman-Roisin, B.; Dorman, D.; Doyle, J.; Flament, P.; Harris, C.K.; Jones, B.H.; Kuzmić, M.; Martin, P.; Ogston, A.; Orlić, M.; Perkins, H.; Poulain, P.; Pullen, J.; Russo, A.; Sherwood, C.; Signell, R.P.; Thaler, D. (2005.): Transport pathways of the Adriatic: Multi-disciplinary perspectives on a wintertime bora wind event. *Eos Transactions American Geophysical Union*, 86, 157-165.
- Lee, C.M.; Orlić, M.; Poulain, P.-M.; Cushman-Roisin, B. (2006.): Introduction to special section: Recent advances in oceanography and marine meteorology of the Adriatic Sea. *Journal of geophysical research*, 112, C03S01.
- Legović, T.; Žutić V.; Gržetić, Z.; Cauwet, G.; Precali, R.; Viličić, D. (1994.): Eutrophication in the Krka estuary. *Marine chemistry*, 46, 203-215.
- Linnaeus, C. (1758.): *Systema naturae*. Salvius, Stockholm.
- Lohmann, H. (1909.): Die Gehäuse und Gallertblasen der Appendicularien und ihre Bedeutung für die Erforschung des Lebens im Meer. *Verhandlungen der Deutschen zoologischen gesellschaft*, 19, 200-239.
- Lohmann, H. (1911.): Über das Nannoplankton und die Zentrifugierung kleinster Wasserproben zur Gewinnung desselben in lebendem Zustande. *Internationale revue der gesamten hydrobiologie und hydrographie*, 4, 1-38.
- Lund, J.W.G.; LeCren, E.D.; Kipling, C. (1958.): The inverted microscopemethod of estimating algal numbers and the statistical basis of estimation by counting. *Hydrobiologia*, 11, 143-170.
- Ljubešić, Z.; Mejdandžić, M.; Bošnjak, I.; Bosak, S. (2016.): Comparing methods in picoplankton abundance estimation. *Rapport du Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Mediterranee*, 41, 278-278.
- Mackey, M.D.; Mackey, D.J.; Higgins, H.W.; Wright, S.W. (1996.): CHEMTAX—a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine ecology progress series*, 144, 265-283.
- Marasović, I.; Grbec, B.; Morović, M. (1995.): Long-term production changes in the Adriatic. *Netherlands journal of sea research*, 34, 267-273.
- Mauri, E.; Gerin, R.; Poulain, P.M. (2016.): Measurements of water-mass properties with a glider in the South-western Adriatic Sea. *Journal of operational oceanography*, 9, Supplement 1, s3-s9.
- Mauri, E.; Poulain, P.-M.; Južnić-Zonta, Z. (2007.): MODIS chlorophyll variability in the northern Adriatic Sea and relationship with forcing parameters. *Journal of geophysical research* 112, C03S11.
- Mejdandžić, M.; Bosak, S.; Orlić, S.; Gligora Udovič, M.; Peharec Štefanić, P.; Špoljarić, I.; Mršić, G.; Ljubešić, Z. (2017.): *Entomoneis tenera* sp. nov., a new marine planktonic diatom (Entomoneidaceae, Bacillariophyta) from the Adriatic Sea. *Phytotaxa*, 292, 1-18.
- Mills, E.L. (2012.): *Biological oceanography. an early history 1870-1960*. University of Toronto Press, Toronto.
- Orhanović, S.; Ninčević, Ž.; Marasović, I.; Pavela-Vrančić, M. (1996.): Phytoplankton toxins in the central Adriatic Sea. *Croatica chemica acta*, 69, 291-303.
- Paau, A.S.; Oro, J.; Cowles, J.R. (1978.): Application of microfluorometry to the study of algal cells and isolated chloroplasts. *Journal of experimental botany*, 29, 1011-1020.
- Partensky, F.; Hess, W. R.; Vaulot, D. (1999.): *Prochlorococcus*, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 63, 106-127.
- Pletikapić, G.; Mišić Radić, T.; Hozić Zimmermann, A.; Svetličić, V.; Pfannkuchen, M.; Marić, D.; Godrijan, J.; Žutić, V. (2011.): AFM imaging of extracellular polymer release by marine diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reiman & J.C. Lewin. *Journal of molecular recognition*, 24, 436-445.
- Pojed, I.; Kveder, S. (1977.): Investigation of nutrient limitation of phytoplankton production in the northern Adriatic by enrichment experiments. *Thalassia jugoslavica*, 13, 13 - 24.
- Pucher-Petković, T.; Vučetić, T.; Buljan, M. (1969.): Note préliminaire a l'étude de la production primaire dans l'Adriatique centrale. *FAO General fisheries council for the Mediterranean studies and reviews* 41, 1-39.
- Querin, S.; Crise, A.; Deponte, D.; Solidoro, C. (2006.): Numerical study of the role of wind forcing and freshwater buoyancy input on the circulation in a shallow embayment (Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea). *Journal of geophysical research*, 111, C03S16.
- Rabenhorst, L.G. (1844.-1848.): *Deutschlands Kryptogamen-Flora oder Handbuch zur Bestimmung der kryptogamischen Gewächse Deutschlands, der Schweiz, des Lombardisch-Venetianischen Königreich und Istriens*. E. Kummer, Leipzig.

- Radić, T.; Šilović, T.; Šantić, D.; Fuks, D.; Mičić, M. (2009.): Preliminary flow cytometric analyses of phototrophic pico- and nanoplankton communities in the northern Adriatic. *Fresenius environmental bulletin*, 18, 715–724.
- Revelante, N.; Gilmartin, M. (1976.): The effect of Po river discharge on the phytoplankton dynamics of the northern Adriatic Sea. *Marine biology*, 34, 259 – 271.
- Schiller, J. (1913a.): Bericht über die bot. Unters. und deren vorl. Ergebnisse der III. Kreuzung S. M. S. „Najade“ im Sommer 1911. *Glasnik hrvatskog prirodoslovnog društva za godinu 1913. I. Rasprave*, 216.– 217.
- Schiller, J. (1913b.): Vorläufige Ergebnisse der Phytoplankton Untersuchungen auf den Fahrten S.M.S. „Najade“ in der Adria 1911–1912. I Die Coccolithophoriden. *Sitzungsberichte der kaiserlichen akademie der wissenschaften mathematisch-naturwissenschaftliche klasse*, 122, 597–617.
- Schiller, J. (1925a.): Die planktischen Vegetationen des Adriatischen Meeres. A. Die Coccolithophoriden Vegetation in den Jahren 1911–14. *Archiv für protistenkunde*, 51, 1–130.
- Schiller, J. (1925b.): Die planktischen Vegetationen des Adriatischen Meeres. B. Chryomonadina, Heterokontae, Cryptomonadina, Eugleninae, Volvocales. 1. Systematischer Teil. *Archiv für protistenkunde*, 53, 59–124.
- Schiller, J. (1933.): Dinoflagellatae. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig.
- Schröder, B. (1911.): Adriatisches Phytoplankton. *Sitzungsberichte der Kaiserlichen akademie der wissenschaften mathematisch-naturwissenschaftliche klasse*, 120, 601–657.
- Schussnig, B. (1914.): Aus der Biologie des adriatischen Phytoplanktons. *Verhandlungen der zoologisch-botanischen gesellschaft in Wien*, 64, 299–309.
- Smayda, T.J. (1965.): A quantitative analysis of the phytoplankton of the Gulf of Panama. II On the relationship between C¹⁴ assimilation and the diatom standing crop. *Inter american tropical Tuna commission bulletin*, 9, 457–531.
- Smith, P.S.D.; Bowers, D.G.; Mitchelson-Jacob, E.G. (1997.): Optical determination of phytoplankton floristic composition. *Proceedings of the International society for optical engineering*, 2963, 532–537.
- Smoldaka, N. (1986.): Primary production of the organic matter as an indicator of the eutrophication in the northern Adriatic Sea. *Science of the total environment*, 56, 211 – 220.
- Steuer, A. (1910.): *Planktonkunde*. B.G. Teubner Verlag, Leipzig.
- Strathmann, R.R. (1967.): Estimating the organic carbon content of phytoplankton from cell volume or plasma volume. *Limnology and oceanography*, 12, 411–418.
- Šilović, T.; Ljubešić, Z.; Mihanović, H.; Olujić, G.; Terzić, S.; Jakšić, Ž.; Viličić, D. (2011.): Picoplankton composition related to mesoscale circulation on the Albanian boundary zone (Southern Adriatic) in late spring. *Estuarine coastal and shelf science*, 91, 519–525.
- Šolić, M.; Krstulović, N. (1991.): Distribution of heterotrophic bacteria as affected by eutrophication and fluctuations of environmental factors. *Kieler meeresforschungen* 8, 59–65.
- Šupraha, L.; Bosak, S.; Ljubešić, Z.; Mihanović, H.; Olujić, G.; Mikac, I.; Viličić, D. (2014.): Cryptophyte bloom in a Mediterranean estuary: High abundance of *Plagioselmis* cf. *prolonga* in the Krka River estuary (eastern Adriatic Sea). *Scientia marina*, 78, 329–338.
- Utermöhl, H. (1931.): Neue Wege in der quantitativen Erfassung des Planktons. *Verhandlungen der Internationalen vereinigung für theoretische und angewandte limnologie*, 5, 567–596.
- Van Leeuwenhoek, A. (1703.): Concerning green weeds growing in water, and some animalcula found about them. *Philosophical transactions of the Royal society*, 23, 1304–1311.
- Vilibić, I.; Šantić, D. (2008.): Deep water ventilation created by *Synechococcus* cyanobacteria. *Ocean dynamics*, 58, 2, 119–125.
- Viličić, D. (1991.): A study of phytoplankton in the Adriatic Sea after the July 1984 bloom. *Internationale revue der gesamten hydrobiologie*, 76, 197–211.
- Viličić, D. (2002.): *Fitoplankton Jadranskoga mora*. Biologija i taksonomija. Školska knjiga, Zagreb.
- Viličić, D.; Kuzmić, M.; Tomažić, I.; Ljubešić, Z.; Bosak, S.; Precali, R.; Djakovac, T.; Marić, D.; Godrijan, J. (2013.): Northern Adriatic phytoplankton response to short Po River discharge pulses during summer stratified conditions. *Marine ecology*, 34, 451–466.
- Viličić, D.; Terzić, S.; Ahel, M.; Burić, Z.; Jasprica, N.; Carić, M.; Caput-Mihalić K.; Olujić, G. (2008.): Phytoplankton abundance and pigment biomarkers in the oligotrophic, eastern Adriatic estuary. *Environmental monitoring and assessment*, 142, 199–218.
- Viličić, D.; Tudja, M. (1986.): Upotreba elektronskog mikroskopa u istraživanju fitoplanktona. *Zbornik radova 5. Jugoslavenskog simpozija iz elektronske mikroskopije*, Plitvička jezera, 213–214.
- Vollenweider, R.A.; Giovanardi, F.; Montanari, G.; Rinaldi, A. (1998.): Characterization of the trophic conditions of the marine coastal waters with special reference to the NW Adriatic Sea: proposal for a trophic scale, turbidity and generalized water quality index. *Environmetrics*, 9, 329–357, 1998.
- Vukić Lušić, D.; Peršić, V.; Horvatić, J.; Viličić, D.; Traven, L.; Djakovac T.; Mićović, V. (2008.): Assessment of nutrient limitation in Rijeka Bay, NE Adriatic Sea, using miniaturized bioassay. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 358, 46 – 56.
- Yentsch, C.M.; Horan, P.K.; Muirhead, K.M.; Dortch, Q.; Haugen, E.; Legendre, L.; Murphy, L.S.; Perry, M.J.; Phinney, D.A.; Pomponi, S.A.; Spinrad, R.W.; Wood, M.; Yentsch, C.S.; Zahuranec, B.J. (1983.): Flow cytometry and cell sorting: a technique for analysis and sorting of aquatic particles. *Limnology and oceanography*, 28, 1275–1280.