

# Prilagodbe običnog trpa *Holothuria tubulosa* (Gmelin 1791) na okolišne uvjete ispod i u blizini kaveza za uzgoj ribe

---

Zrilić, Mateo

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zadar / Sveučilište u Zadru**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:162:061593>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-27**



Sveučilište u Zadru  
Universitas Studiorum  
Jadertina | 1396 | 2002 |

Repository / Repozitorij:

[University of Zadar Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Sveučilište u Zadru

Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu

Sveučilišni diplomski studij

Održivo upravljanje vodenim ekosustavima



**Mateo Zrilić**

**Prilagodbe običnog trpa *Holothuria tubulosa*  
(Gmelin 1791) na okolišne uvjete ispod i u blizini  
kaveza za uzgoj ribe**

**Diplomski rad**

Zadar, 2024.

Sveučilište u Zadru  
Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu  
Sveučilišni diplomski studij  
Održivo upravljanje vodenim ekosustavima

Prilagodbe običnog trpa *Holothuria tubulosa* (Gmelin, 1791) na okolišne uvjete ispod i u blizini kaveza za uzgoj ribe

Diplomski rad

Student/ica:  
Mateo Zrilić

Mentor/ica:  
Izv.prof.dr.sc. Ivan Župan

Komentor/ica:  
Doc.dr.sc. Slavica Čolak

Zadar, 2024.



## Izjava o akademskoj čestitosti

Ja, **Mateo Zrilić**, ovime izjavljujem da je moj **diplomski** rad pod naslovom **Prilagodbe običnog trpa *Holothuria tubulosa* (Gmelin, 1791) na okolišne uvjete ispod i u blizini kaveza za uzgoj ribe** rezultat mojega vlastitog rada, da se temelji na mojim istraživanjima te da se oslanja na izvore i radove navedene u bilješkama i popisu literature. Ni jedan dio mojega rada nije napisan na nedopušten način, odnosno nije prepisan iz necitiranih radova i ne krši bilo čija autorska prava.

Izjavljujem da ni jedan dio ovoga rada nije iskorišten u kojem drugom radu pri bilo kojoj drugoj visokoškolskoj, znanstvenoj, obrazovnoj ili inoj ustanovi.

Sadržaj mojega rada u potpunosti odgovara sadržaju obranjenoga i nakon obrane uređenoga rada.

Zadar, 15. ožujka 2024.

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. PREGLED LITERATURE .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. BIOLOGIJA TRPOVA .....</b>	<b>3</b>
2.1.1. <i>BODLIKAŠI</i> .....	3
2.1.2. <i>TRPOVI</i> .....	4
<b>2.2. AKVAKULTURA I INTERAKCIJA S OKOLIŠEM .....</b>	<b>6</b>
<b>2.3. PREGLED UPOTREBE TRPOVA U AKVAKULTURI I RIBARSTVU .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4. STABILNI IZOTOPI DUŠIKA .....</b>	<b>12</b>
<b>3. CILJEVI I SVRHA ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>13</b>
<b>4. MATERIJALI I METODE .....</b>	<b>14</b>
<b>4.1. TERENSKO ISTRAŽIVANJE .....</b>	<b>14</b>
4.1.1. <i>UZORKOVANJE U SRPNJU</i> .....	17
4.1.2. <i>UZORKOVANJE U STUDENOM</i> .....	19
<b>4.2. LABORATORIJSKO ISTRAŽIVANJE .....</b>	<b>20</b>
4.2.1. <i>TRPOVI</i> .....	20
4.2.2. <i>SEDIMENT</i> .....	27
<b>5. REZULTATI .....</b>	<b>37</b>
<b>5.1. TERENSKI REZULTATI .....</b>	<b>37</b>
<b>5.2. REZULTATI ANALIZA .....</b>	<b>40</b>
5.2.1. <i>TRPOVI</i> .....	40
5.2.2. <i>SEDIMENT</i> .....	43
<b>6. RASPRAVA .....</b>	<b>48</b>
<b>6.1. ANALIZA REZULTATA TRPOVA .....</b>	<b>48</b>
<b>6.2. ANALIZA REZULTATA SEDIMENTA .....</b>	<b>51</b>
<b>7. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>53</b>
<b>8. LITERATURA.....</b>	<b>54</b>

## **Prilagodba običnog trpa *Holothuria tubulosa* (Gmelin, 1791.) na okolišne uvjete ispod i u blizini kaveza za uzgoj ribe**

Sažetak:

Trpovi imaju važnu ulogu u morskom ekosustavu pročišćavanjem sedimenta, stabiliziranjem bakterijske zajednice i doprinosom primarnoj proizvodnji putem konverzije detritusa u dušikove spojeve. Ovo istraživanje fokusiralo se na prilagodbe trpova *Holothuria tubulosa* (Gmelin 1791.) na uvjete okoliša pod utjecajem intenzivne akvakulture, s posebnim naglaskom na područje ispod farme za uzgoj ribe u uvali Lamjana na otoku Ugljanu. Kao metoda istraživanja odabran je kružni transekt promjera 20 metara, u kojem su se brojale i mjerile jedinke, a iz svakog transekta uzeti su uzorci za daljnja kemijska testiranja. Istraživanje se provodilo u dva navrata, jednom u srpnju, prije intenzivnog hranjenja ribe i jednom u studenom, nakon hranjenja. Usporedila se struktura populacije u zoni lokalnog i prijelaznog utjecaja organske tvari s referentnom točkom izvan zone utjecaja. Gustoća populacije bila je značajno veća na referentnoj točki u usporedbi s lokacijama ispod i pored kaveza. Međutim, prosječna veličina trpova ispod i pored kaveza bila je 38-45 % veća nego na referentnoj točki. Rezultati ukazuju da je gustoća populacije obrnuto proporcionalna od duljine jedinki (manja duljina rezultira većom gustoćom i obrnuto). Ovo istraživanje postavlja osnovu za daljnja istraživanja životnog ciklusa trpova *H. tubulosa*, posebno u kontekstu razvoja integrirane multi-trofičke akvakulture.

Ključne riječi: *Holothuria tubulosa*, trpovi, struktura populacije, sediment, integrirana multi-trofička akvakultura

## **Adaptations of sea cucumber *Holothuria tubulosa* (Gmelin, 1791.) to environmental conditions under and near cages for fish farming**

### Abstract:

Sea cucumbers have an important role in the marine ecosystem by filtering sediment, stabilizing the bacterial community, and contributing to primary production through the conversion of detritus into nitrogen compounds. This research was focused on the adaptations of *Holothuria tubulosa* (Gmelin 1791.) to environmental conditions under the influence of intensive aquaculture, with special emphasis on the area below the fish farm in Lamjana bay on the island of Ugljan. As a research method, a circular transect with a diameter of 20 meters was chosen, in which individuals were counted and measured, and samples were taken from each transect for further chemical testing. The research was conducted on two occasions, once in July, before the intensive feeding of the fish, and once in November, after the feeding. The structure of the population in the zone of local and transitional influence of organic matter was compared with a reference point outside the zone of influence. Population density was significantly higher at the reference point compared to locations below and next to the cage. However, the average size of sea cucumbers under and next to the cage was 38-45 % larger than at the reference point. The results indicate that population density depends on the length of individuals (shorter length results in higher density and vice versa). This research lays the foundation for further analyzes of the life cycle of sea cucumbers *H. tubulosa*, especially in the context of the development of integrated multi-trophic aquaculture.

Key words: *Holothuria tubulosa*, sea cucumbers, population structure, sediment, integrated multitrophic aquaculture

## **ZAHVALA**

Veliko hvala svome mentoru Izv.prof.dr.sc. Ivanu Županu i komentorici Doc.dr.sc. Slavici Čolak na pomoći u pisanju diplomskog rada. Hvala na strpljenju, vodstvu i savjetima kroz proces pisanja diplomskog rada. Također zahvalio bih Izv. prof. dr. sc. Tomislavu Šariću i Doc.dr. sc. Lavu Bavčeviću na pomoći pri pisanju diplomskog rada.

Veliko hvala kolegici Mariji Jurici koja je sudjelovala u terenskom istraživanju. Hvala tvrtki Cromaris d.d. na mogućnosti da istraživanje provedemo na njihovom uzgajalištu. Zahvalio bih Ministarstvu poljoprivrede Republike Hrvatske, odnosno Upravi ribarstva na svim potrebnim dozvolama da se provede ovo istraživanje.

Neizmjerne hvala mojoj obitelji i mojoj curi Ivani Dušković na podršci tijekom pisanja. Također, zahvalio bih ravnatelju Parka prirode Vransko jezero Šimi Mršiću dipl.ing.agr. na pomoći u izradi diplomskog rada, kao i cijelom kolektivu PP VJ na konstantnoj podršci.

Veliko hvala prof. dr. Mateju Dolencu na gostoprimstvu i mentorstvu na Prirodoslovo-tehničkom sveučilištu (Odjel za geologiju) u Ljubljani, Slovenija. Hvala za XRD, XRF analize. Ispričavam se zbog mirisa u laboratoriju.

Hvala prof. dr. Sonja Lojen s Instituta Jožef Stefan, Jamova 39, 1000 Ljubljana na izotopskoj analizi ( $\delta^{15}\text{N}$ ).

Hvala prof. dr. Željki Fiket s Instituta Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb na HR-ICPMS analizi uzorka.



## 1. UVOD

Prve pisane tragove o trpovima kao namirnici nalazimo u Kini prije više od 1000 godina (Mao i sur., 2015.). Od tada su neizostavan dio kineske prehrane i medicine. Danas su trpovi cijjenjena namirnica diljem svijeta, ali ponajviše u Kini i drugim azijskim zemljama i konzumiraju se kao „beche-de-mer“, odnosno kao sušeni trp (Sicuro i Levine, 2011.). Potražnja je velika. Kina je najveći proizvođač trpova u cijelom svijetu, te je uzgoj trpova bitan dio njihove akvakulture (Sicuro i Levine, 2011.). Svjetsku trgovinu trpovima kontroliraju morske luke u Kini, Hong Kongu, Singapuru i Tajvanu, sve što se u svijetu proizvede većinom prolazi kroz ove luke (Sicuro i Levine, 2011.). Velika većina trpova koja se u svijetu proizvede, najviše se i konzumiraju u navedenim zemljama (Zhong i sur., 2007.). Uzgoj i ribolov trpova u svijetu se uglavnom temelji na 60 vrsta i koriste se različite metode ribolova i uzgoja. Najveći proizvođači u svijetu su Kina, Japan, Australija, Indonezija, Tajvan, Brazil, SAD i Kanada (Sicuro i Levine, 2011.). U Europi za sad nema značajnih uzgajivača, no ribolov je na visokoj razini, ponajviše u Turskoj, Islandu, Rusiji i Norveškoj, koje većinu svog ulova plasiraju uglavnom na Kinesko tržište (Sicuro i Levine, 2011.). U Kineskoj provinciji Lianoning se godišnje proizvede od 135 000 do 202 500 tona svježih trpova, uglavnom uzgojem temeljenim na ribolovu (Sicuro i Levine, 2011.). U Španjolskoj se kraljevski trp *Stichopus regalis* (Cuvier, 1817.) smatra delikatesom i trenutno je najcjjenjenija morska hrana na španjolskom tržištu. U Italiji se trpovi također smatraju delikatesom, te potražnja u zadnje vrijeme neprestano raste (Sicuro i Levine, 2011.). Najčešće vrste koje se konzumiraju su *Holothuria tubulosa* (Gmelin, 1788.), *Holothuria forskalii* (Delle Chiaje, 1823.) i *Holothuria poli* (Delle Chiaje, 1824.).

Prehrambenu vrijednost trpa odlikuje visoka razina proteina, niska razina masti, također sadrži visok postotak vitamina, minerala i aminokiselina (Chen, 2004; Mao i sur., 2015; Sicuro i Levine, 2011.). Gotovo sve identificirane vrste trpova sadrže u sebi glicin u velikim količinama (Chen, 2004.). Glicin je aminokiselina koja je izuzetno važna za funkcioniranje ljudskog organizma jer sudjeluje u proizvodnji proteina, hormona i enzima (Chen, 2004.). Uz visoku nutritivnu vrijednost, trpovi imaju i mnoštvo zdravstvenih benefita koji se već odavno koriste u kineskoj narodnoj medicini (Wen i sur., 2010.). Dokazano je antikancerogeno i antikoagulatивно

djelovanje i poboljšanje imunoloških funkcija redovnim konzumiranjem trpova, te mnoštvo drugih zdravstvenih benefita zbog kojih je „beche de mer“ iznimno popularan na azijskom tržištu (Bordbar i sur., 2011; Sicuro i Levine, 2011.).

Porast potražnje potaknuo je zabrinutost za populaciju trpova na globalnoj razini. U Republici Hrvatskoj 1998. godine posebnim Pravilnikom o zaštiti trpova (NN 76/98) i Pravilnikom o lovostaju trpova (NN 29/2018) zabranjeno je sakupljanje (u bilo koje svrhe), lov, prerada i prodaja svih 36 vrsta koje se nalaze u Jadranu i time su zaštićene svi trpovi porodice *Holothuriidae*. U svrhu poboljšanja upravljanja prirodnim resursima, u ovom slučaju trpovima, potrebno je prije svega izraditi plan upravljanja i plan monitoringa. Prema Purcell i sur., (2010.), postizanje održivog izlova trpova zahtijeva ekološki pristup ribarstvu, mjere predostrožnosti, poboljšanu provedbu mjera i veću predanost nadležnih ministarstava i tijela za upravljanje ribolovom. Obavezna je suradnja između vladajućih, ribarskih tvrtki i znanstvene zajednice da zajedno izrade i implementiraju zakonske regulative koje će biti ključno važne za održivo gospodarenje populacijom trpova za sadašnje i buduće generacije. Izlov prirodnih zaliha na komercijalnoj razini mogao bi dovesti do brze prekomjerne eksploatacije ove iznimno važne životinje. Stoga bi uzgoj bio alternativno održivo rješenje da se zaustavi prekomjerni ulov i sačuva prirodna populacija diljem svijeta (Purcell i sur., 2010; Rakaj i sur., 2017.).

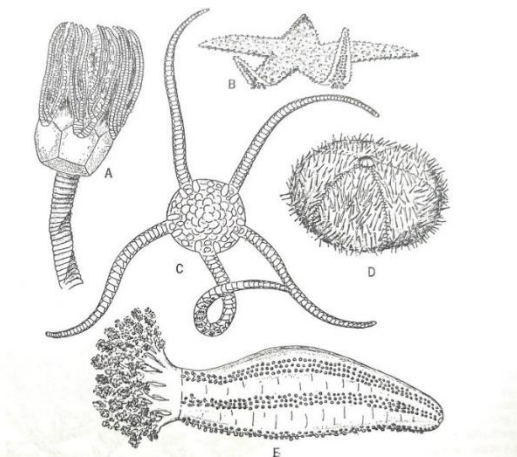
Trpovi spadaju u zajednicu bentičkih organizama i imaju važnu ulogu u ekološkim procesima na morskom dnu. Svojim hranjenjem sudjeluju u bioturbaciji i pročišćavanju sedimenta (Rakaj i sur., 2017.). Trpovi, kao i drugi organizmi koji se hrane detritusom, često se nalaze u većim količinama ispod ili u blizini kaveza za uzgoj ribe (Sicuro i Levine, 2011.). Integrirana multi-trofička akvakultura mogla bi pomoći u ublažavanju antropogenog utjecaja akvakulture na okoliš i samim time u povećanju ekonomske učinkovitosti. Brojna su istraživanja u kojima se pokazalo da su rast i razvoj trpova u integriranoj akvakulturi znatno brži nego u prirodnoj okolini (Sicuro i Levine, 2011.). Iako takav tip akvakulture i dalje nije uobičajena praksa u svijetu i zahtijeva brojna istraživanja i uvođenje novih tehnologija kako bi se uspješno mogla primjeniti u stvarnosti, trpovi bi mogli imati ključnu ulogu u razvoju integrirane multi-trofičke akvakulture (Sicuro i Levine, 2011.).

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. BIOLOGIJA TRPOVA

#### 2.1.1. BODLIKAŠI

Bodljikaši se ističu kao posebno definiran oblik životinjske organizacije. Svi bodljikaši su morske životinje, a ističu se po tome što su najčešće bentička vrsta, što znači da pužu, kopaju ili su pričvršćeni za morsko dno. Ima ih raznih veličina i oblika, od 1 mm do čak i većih od 1 m. Najpoznatiji bodljikaši su: stapčari (*Crinoidea*), ježinci (*Echinoidea*), trpovi (*Holothuroidea*), zvjezdače (*Asteroidea*) i zmijače (*Ophiuroidea*) (Slika 1.). Nemaju glavu ni srce, krvotok je otvorenog tipa. Živčani sustav je jednostavan s jakim kružnim zadebljanjima iz kojih prolaze radijalni živci. Oplodnja je većinom vanjska i odvija se u vodenom stupcu (Matoničkin i sur., 1999.). Prilagodba na bentički način života učinila je zvjezdače, ježince i zmijače pantaradijarno simetričnima, a trpove bilateralno simetričnima. Kožni skelet čini značajnu karakteristiku ove skupine morskih organizama. Umjesto tradicionalnog koštanog skeleta, bodljikaši posjeduju endoskelet koji se sastoji od kalcijevog karbonata i mekih tkiva. Ovaj kožni skelet pruža podršku tijelu i omogućuje im održavanje oblika. Vapnene pločice mogu sadržavati i znatan udio drugih anorganskih iona. Kod trpova je skelet izgrađen od sitnih izbušenih pločica, kolutića ili sidrašca koja su raspršena u koži (Matoničkin i sur., 1999.).



Slika 1. Bodljikaši: A. *Crinoidea*, stapčari, B. *Asteroidea*, zvjezdače, C. *Ophiuroidea*, Zmijače, D. *Echinoidea*, ježinci, E. *Holothuroidea*, trpovi. (izvor: Matoničkin i sur., 1999.)

### 2.1.2. TRPOVI

Trpovi roda *Holothuria* spadaju pod bodljikaše, te pripadaju porodici *Holothuridea*, redu *Aspidochirotida*, razredu *Holothuroidea*, koljenu *Echinodermata*, te carstvu *Animalia*. Do sad je zabilježeno više od 1250 vrsta trpova u svijetu. Od toga 37 vrsta, uglavnom *Holothuroidea* živi u Sredozemlju, te se dijele u 9 porodica i pet rodova (Aydn i Erkan, 2015.). *Holothuria tubulosa* je široko rasprostranjena vrsta u Sredozemlju, istočnom Atlantiku, te Jadranu. Od literalne zone pa do abisalne zone trpovi su široko rasprostranjeni u svim morima svijeta. Trpovi imaju jednu od najvažnijih uloga u morskom ekosustavu i zauzimaju važno mjesto u hranidbenom lancu. Ova bentička vrsta svojim načinom ishrane stabilizira bakterijsku zajednicu, filtriranjem sedimenta odvajaju sebi hranu, a detritus pretvaraju u anorganske dušikove spojeve i na taj način doprinose primarnoj proizvodnji (Djillali i sur., 2017; Rakaj i sur., 2017.). Zbog svoje specifične ishrane spadaju u važne organizme u moru koji sudjeluju u bioturbaciji i pročišćavanju morskog sedimenta (Georgios i sur., 2013; Rakaj i sur., 2017.).

Trpovi su morske životinje koje većinom žive polusjedilački, pužući ili zakopavajući se u sediment. Neki su slobodno plivajući. Kod trpova je tercijalno razvijena bilatelarna simetrija zbog bentičkog načina života. Strana tijela kojom leže na podlozi obično su drugačije razvijena, spljoštena i svjetlije boje. Pojedinačno živeći na morskom dnu, gustoća populacije je obično 1-2 primjerka/m<sup>2</sup> (Mušin i Marukić, 2007.). Slabo se kreću, ali mogu postići brzinu od 1 m za 10 minuta. Često su oblijepljeni zrnima pijeska i sitnim ljušturama školjkaša. Izluče utrobu kada su izloženi stresu, a mogu je regenerirati u oko 4 mjeseca. Imaju radijalnu simetriju oko usnog otvora, okruženog vijencem od 10-30 tentakula (Matoničkin i sur., 1999.). Imaju dobro razvijen mišićni sustav pružaju im visoku savitljivost i dobru pokretljivost. U njihovoj koži nalaze se vapnene pločice različitog oblika (Purcell i sur., 2012).

Usta na prednjem kraju tijela imaju tentakule kojima love hranu, uglavnom zrnaste organske tvari suspendirane u vodi. Neki trpovi se hrane organskim česticama iz sedimenta. Anus se nalazi na stražnjem kraju tijela, a može biti okružen analnim zubima. Ima ih različitih boja, što varira među vrstama, ponekad i u pojedincima iste vrste (Matoničkin i sur., 1999.). Osim kože, za disanje im služe i vodena pluća. Većinom su građena od slijepih i razgranatih izraslina crijeva, zbog čega se pretpostavlja da im pluća ujedno služe kao i sustav za izlučivanje izmeta (Matoničkin i sur., 1999.).

Često ih se nalazi na dubinama i do 100 m na različitim podlogama, ali uglavnom preferiraju pjeskovito i muljevito dno (Despalatović i sur, 2004.). Mrijeste se gotovo cijelu godinu, najviše ljeti, a tijekom izbacivanja spolnih produkata ispruže oko dvije trećine svog tijela uvis. Većina vrsta su dvodomne i oplodnja se odvija u vodenom stupcu, gdje mužjaci izbacuju sjemenu tekućinu, a ženke jajašca. Spolni dimorfizam kod trpova ne postoji, mužjaci i ženke nemaju vidljive tjelesne razlike (Sicuro i Levine, 2011.). Nakon što se jajašce oplodi razvija se pelagična ličinka zvana auricularia koja se brzo preobrazi u drugi ličinački stadij doliolariu, te naposljetku nastaje sitni trp, koji je otprilike 3 mm dug i prilagođen na bentonski način života (Ramofafia i sur., 1995.). Prema istraživanju Despalatović i sur. (2004.) u Kaštelanskom zaljevu, ustanovljeno je da se istraživana vrsta *H. tubulosa* mrijesti samo u jasnim godišnjim intervalima od srpnja do rujna kada je temperatura mora najviša. Dokazano je da je temperatura jedan od, ako ne i najvažniji faktor u pokretanju mrijesta (Despalatović i sur, 2004.).

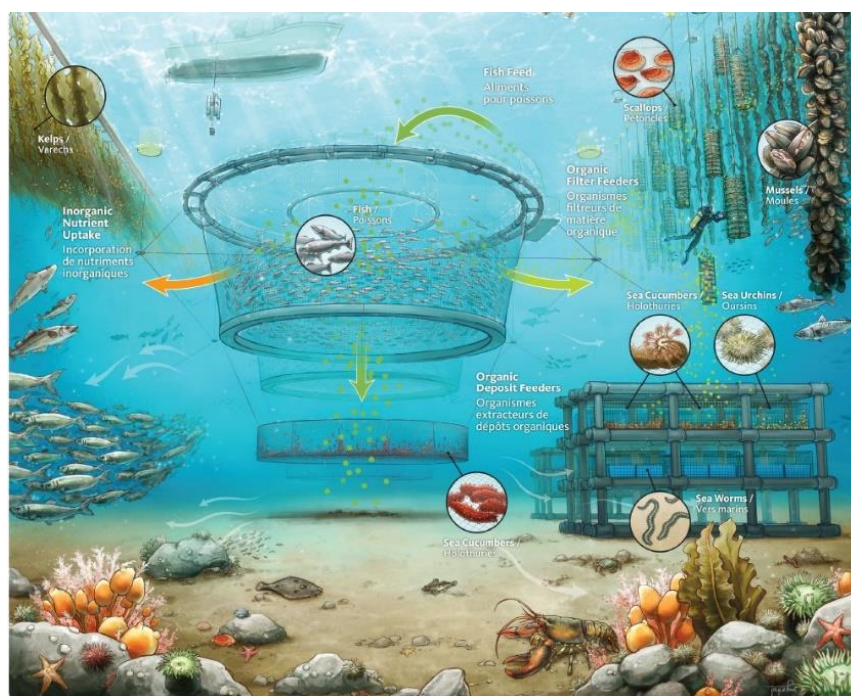
## 2.2. AKVAKULTURA I INTERAKCIJA S OKOLIŠEM

Akvakultura je trenutno jedan od najbrže rastućih sustava proizvodnje hrane u svijetu. Prema definiciji Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda (FAO), akvakultura je "uzgoj vodenih organizama uključujući ribu, mekušce, rakove i vodene biljke". S obzirom na sve veću potražnju za ribom i ribljim proizvodima u svijetu, akvakultura se čini kao moguće održivo rješenje da zadovolji te potrebe. Očekuje se da bi akvakultura trebala povećati svoj doprinos svjetskoj proizvodnji hrane i na taj način ojačati svoju ulogu u doprinosu u sigurnosti hrane i smanjenju siromaštva u mnogim zemljama u razvoju. Akvakultura obuhvaća vrlo širok raspon različitih praksi akvatičnog uzgoja s obzirom na vrste (morske alge, mekušce, rakove, ribe, trpove i druge skupine vodenih organizama), okoliš i tehnologije koji se koriste. Akvakultura nudi širok raspon mogućnosti za poboljšanu proizvodnju hrane i stvaranje prihoda u mnogim ruralnim područjima. Takav jedan primjer dobre prakse uzgoja u ruralnom području dolazi iz Madagaskara. Udruženje lokalne zajednice u zadrugu kako bih svi zajedno na održiv način utrostručili svoju ekonomiju uzgajanjem trpova (Eeckhaut i sur. 2008.). Iako su prirodni resursi samoobnovljivi, potrebno ih je racionalno koristiti na održivoj osnovi u skladu s okolišem. Održivi razvoj je upravljanje i očuvanje baze prirodnih resursa te usmjeravanje tehnoloških i institucionalnih promjena na takav način da se osigura postizanje i kontinuirano zadovoljenje ljudskih potreba za sadašnje i buduće generacije. Takav održivi razvoj (u sektorima poljoprivrede, šumarstva i ribarstva) čuva zemljište, vodu, biljne i životinjske genetske resurse, tehnički je prikladan, ekonomski isplativ i društveno prihvatljiv (Lay, 2007.).

Akvakultura već sada čini otprilike jednu trećinu ukupne svjetske ponude akvatične hrane i iz godine u godinu raste. Svijest o ekološkim problemima u svijetu je značajno porasla i akvakultura, kao i ostale industrije konstantno rade na održivom načinu proizvodnje (FAO, 2022.). Važno je da akvakultura postane održiva praksa koja može nadopuniti ribarstvo i nadomjestiti ga, te na taj način doprinijeti prehrani rastuće svjetske populacije.

Neodrživa akvakultura može imati negativne posljedice na morski okoliš i ekološku ravnotežu unutar istog. Jedna od tih posljedica može biti eutrofikacija, koja vrlo brzo može dovesti do hipoksije, pa čak i anoksije ispod farmi za uzgoj ribe. Rješenja ovog problema mogu se pronaći u integriranoj multi-trofičkoj akvakulturi, gdje trpovi mogu biti ciljani organizam za uzgoj, ali i za rješenje potencijalnih ekoloških problema (Zamora i sur., 2016.).

U tehnološki naprednoj akvakulturi uvode se inovacije, kao što su: formulacija hrane, kontrolirano unošenje hrane, odabiranje povoljnih lokacija i mijenjanje istih, gustoća nasada, itd. s ciljem da se minimaliziraju negativni utjecaji na okoliš i ujedno postigne dugoročna ekološka, ali i ekonomska održivost akvakulture kao industrije. Jedno od inovativnih rješenja je integrirana multi-trofička akvakultura. Polikultura i integrirana akvakultura su metode uzgoja u kojima se uzgajaju više organizama odjednom unutar jedne farme. Svaka uzgajana vrsta unutar farme ima posebno mjesto u hranidbenom lancu i koristi različite resurse unutar uzgoja (Zamora i sur., 2016; Rakaj i sur., 2017.), (Slika 2.).



Slika 2. Shematski prikaz integrirane multi-trofičke akvakulture.

(izvor: <https://www.dfo-mpo.gc.ca/aquaculture/sci-res/imta-amti/index-eng.htm>)

Integrirana multi-trofička akvakultura može povećati ekonomsku učinkovitost kroz poboljšanu stopu konverzije ulaznih materijala, tj. hrane. Otpad jednog organizma postaje hrana drugom organizmu, što rezultira optimalnim korištenjem resursa i manjim ukupnim onečišćenjem (Župan i sur., 2012.). Trpovi su bentički organizmi i hrane se metodom filtriranja sedimenta (Matoničkin i sur., 1999.). Ovi organizmi mogu otpadne nusprodukte kaveznog uzgoja pretvoriti sebi u hranu i na taj način postati ekonomski iskoristiva biomasa, koja ujedno čisti nutrijentima zasićen vodeni stupac. Dio hrane se ne iskoristi i završi na dnu stvarajući tako debeli sloj detritusa i izmeta, pogodan za detritivorne organizme (Neori i sur., 2004.), (Slika 3.). Na taj način trpovi bi se mogli uzgajati ispod već postojećih farmi ribe. No za sad na Sredozemlju ne postoji takav slučaj. Smanjenje negativnog utjecaja akvakulture po okoliš rezultira povećanjem produktivnosti po jedinici unesene hrane i povećanjem profita (Župan i sur., 2012.).



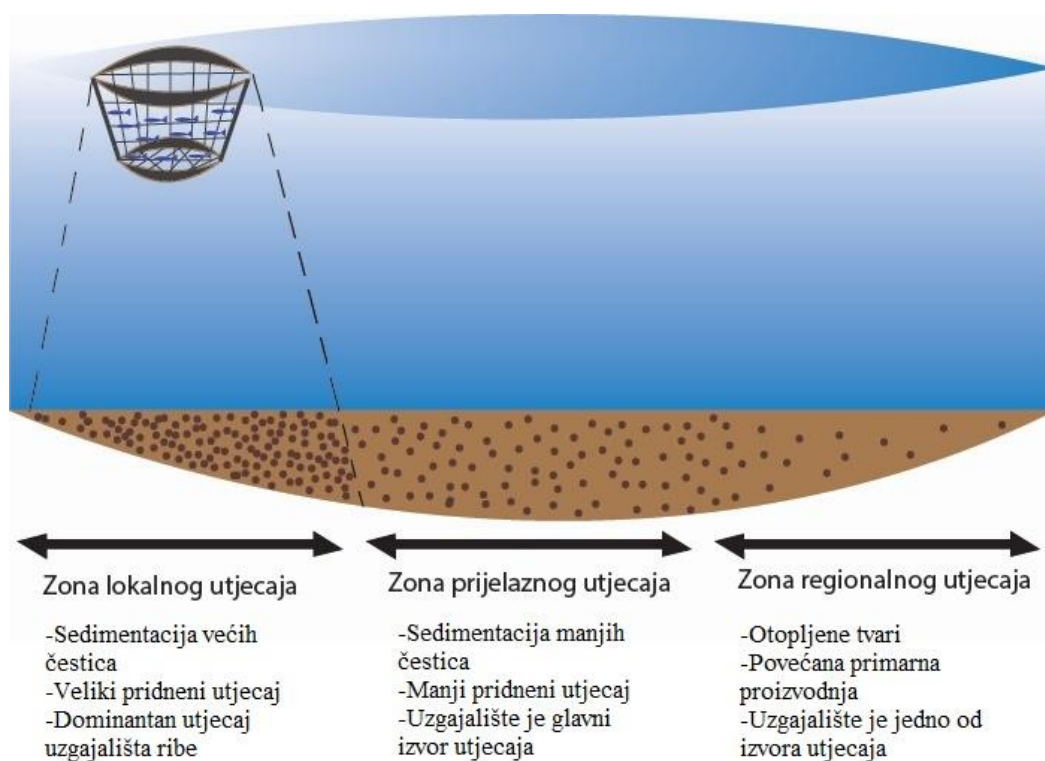
Slika 3. Morsko dno ispod kaveza za uzgoj ribe.

(izvor: Izv.prof.dr.sc. Ivan Župan)



Ovakvim načinom uzgoja, nusprodukti kaveznog uzgoja (izmet), postaju direktan izvor hrane trpovima i/ili drugim organizmima (alge, ježinci i sl.). Pravilnim načinom uzgoja ribe, njihov otpadni materijal postaje direktan izvor hrane za trpove, koji pritom uklanjaju veliki dio organskog i anorganskog dušika, ugljika i fosfora. Na taj način ova vrsta može riješiti dva najveća problema s kojima se akvakultura današnjice suočava, ekološka održivost i ekonomska isplativost (Neori i sur., 2004.).

Da bi se ovakva metoda uzgoja provela potrebno je provesti znanstvena i tehnološka istraživanja, kako bi se u praksu primijenila najbolja rješenja. Iskorištavanje nutrijenata na otvorenom moru ispod kaveza otežano je zbog trodimenzionalnosti otvorenih voda, te zahtijeva tehnološki precizne i suvremene zahvate (Župan i sur., 2012.). Jedan od glavnih razloga kompleksnosti uzgoja je raspršenost otopljenih tvari u vodenom stupcu, nad kojim je nemoguće imati kontrolu. Također prevelika količina hrane koja se unese u vrlo kratkom vremenu, može dovesti do eutrofikacije u zoni lokalnog utjecaja, odnosno na morskom dnu (Slika 4.).



Slika 4. Shematski prikaz zona utjecaja ispod kaveza za uzgoj ribe. (izvor: autor, prema Katavić (2006.))

### 2.3. PREGLED UPOTREBE TRPOVA U AKVAKULTURI I RIBARSTVU

Trpovi u polikulturi predmet su istraživanja većinom u azijskim zemljama. U eksperimentalnom istraživanju Setiawati i sur. (2023.) potvrdilo se da su trpovi pogodni kandidati za integriranu multi-trofičku akvakulturu. Istraživanje je bilo usmjereno na rast i preživljavanje trpova *Holothuria scabra* (Jaeger, 1833.) u polikulturi s ribama *Chanos chanos* (Fabricius, 1775.) u kontroliranim uvjetima, kako bi se saznalo mogu li trpovi koristiti izmet *C. chanos* kao izvor hrane. Korišteno je 12 polietilenskih spremnika od 500 litara kako bi se osiguralo da nema drugih izvora hrane osim izmeta riba. Početne veličine juvenilnih trpova kretale su se između 3,4 i 5,4 cm, dok su ribe bile u rasponu od 19,0 do 22,5 cm. Težina trpova na početku bila je 3–4,9 g, a *C. chanos* 56–91 g. Napravljeni su 4 eksperimenta: (A) monokultura trpova (28,6 g/m<sup>2</sup>), (B) polikultura trpova (28,6 g/m<sup>2</sup>) i *C. chanos* (0,28 g/l), (C) polikultura trpova (28,6 g/m<sup>2</sup>) i *C. chanos* (0,56 g/l) i (D) monokultura *C. chanos* (0,56 g/l). Unatoč tome što polikultura trpova nije pokazala značajne razlike u rastu, polikultura s *C. chanos* (C) pokazala je tendenciju ka većoj konačnoj težini trpova ( $6,55 \pm 2,36$  g/m<sup>2</sup>) u usporedbi s ostalim eksperimentima A ( $3,78 \pm 0,59$  g/m<sup>2</sup>) i B ( $3,3 \pm 0,38$  g/m<sup>2</sup>). Rezultati ukazuju na to da trpovi mogu iskoristiti izmet *C. chanos* kao izvor hrane, što dodatno potiče rast trpova. Stopa preživljavanja je nakon 30 dana bila čak 100 % i u monokulturi i u polikulturi. Rezultati dušika u izmetu ukazuju na smanjenje istog u spremnicima s trpovima (B i C) za visokih 70 %.

U znanstvenom radu Hannah i sur. (2012.) provedeno je 12 mjesечно eksperimentalno istraživanje u Kanadi u kojem su se ispitali rast i preživljavanje kalifornijskih trpova *Parastichopus californicus* (Stimpson, 1857.) ispod kaveza za uzgoj ribe, odnosno crnog bakalara *Anoplopoma fimbria* (Pallas, 1814.). Ispitivao se rast i preživljavanje trpova različitih veličina (mali: 7-99 g i veliki: 100-565 g težine) i gustoća uzgoja (12, 17 i 21 jedinka po m<sup>2</sup>) u eksperimentalnoj multi-trofičkoj akvakulturi. Što su također usporedili s kontrolnim uzgojem trpova 250 m od kaveza za uzgoj ribe. Mali trpovi su rasli značajno brže od velikih i to za 27-56 % tijekom 12 mjeseci, a dok su se veliki smanjili za 10-33 % u istom razdoblju. Zaključeno je da je gustoća populacije kod velikih trpova previsoka da bi proizvela neto pozitivan rast. Gustoća uzgoja imala je značajan učinak na rast obje veličinske grupe, niža gustoća proizvodila je veće stope rasta kod malih trpova, odnosno negativne stope rasta kod velikih trpova. Mali trpovi obješeni neposredno ispod kaveza za uzgoj crnog bakalara rasli su znatno brže od kontrolnih

jedinki koje su uzgajane 250 m od uzgajališta. Mali trpovi uzgojeni ispod kaveza imali su visoku stopu preživljavanja (SD: 99,5 %), a njihovo hranjenje smanjilo je ukupni sadržaj organskog ugljika i ukupni sadržaj dušika u fecesu crnog bakalara u prosjeku za 60,3 %,.

U istraživanju Wen-a i Hu-a (2010.) na 11 različitih ulovljenih komercijalnih vrsta trpova utvrđeni su toksični i kemijski elementi i uspoređeni su s preporukama za dnevni unos i maksimalno dopuštenim razinama. Sadržaj makro elemenata u uzorcima sušenog trpa iznosio je: Na (25 000–152 000 mg/kg<sup>-1</sup>), Mg (4000–8600 mg/kg<sup>-1</sup>), K (1100–5200 mg/kg<sup>-1</sup>), i za Cl (15 000–68 000 mg/kg<sup>-1</sup> i 36 300–251 000 mg/kg<sup>-1</sup>). Utvrđeno je da su koncentracije elemenata u tragovima u osušenim uzorcima trpova iznosile (11–100 mg/kg<sup>-1</sup>) za Zn, (41–660 mg/kg<sup>-1</sup>) za Fe, (3–74 mg/kg<sup>-1</sup>) za Cu, (1,1–16 mg/kg<sup>-1</sup>) za Mn, (1,4–3,7 mg/kg<sup>-1</sup>) za Se, (1,1–9,6 mg/kg<sup>-1</sup>) za Cr i (0,3–5,1 mg/kg<sup>-1</sup>) za Ni. Svih 11 vrsta trpova bile su bogate Na, Cl, Mg, Ca, Fe, Cu, Se i Cr za ljudsku prehranu. Što se tiče toksičnih elemenata: As, Cd i Pb, njihove koncentracije u osušenim trpovima bile su u rasponu od (1,1–6 mg/kg<sup>-1</sup>) za As, (0,03–0,06 mg/kg<sup>-1</sup>) za Cd i (0,11–0,69 mg/kg<sup>-1</sup>) za Pb. Hg vrijednosti svih 11 uzoraka bile su ispod granice detekcije (0,01 mg/kg<sup>-1</sup>).

Istraživanje Dae Kim i sur. (2017.) imalo je za cilj razviti novu tehnologiju polikulture u uzgoju trpova. Istraživanje se provodilo na morskom dnu ispod visećih farmi za uzgoj japanskih kamenica *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793.) i mješčičnica (*Ascidiaeae*) *Halocynthia roretzi* (Drasche, 1884.). Istraživanje je bilo usmjereno na preživljavanje, rast i stopu zaštićenosti trpova. Stopa naseljenosti trpova iznosila 20 %, s pojedinačnim skloništima koje je naseljavalo između 20,8 i 31,0 jedinki. Gustoća je bila 3 trpa po kvadratnom metru ( $m^2 \times 3 \times 900 = 2700$  trpova), sugerirajući da se unutar 1 ha može proizvesti otprilike 2000 kg trpova ( $10,000 m^2 \times 200 g$ , kada jedna jedinka raste na svakom  $m^2$ ). Iako je morsko dno ispod visećih farmi muljevito i inače neprikladno za uzgoj trpova, rezultati ovog istraživanja ukazuju na mogućnost polikulture trpova uz kobiniranje uzgoja kamenica i uzgoja mješčičnica. Stoga se u istraživanju predlaže nova metoda akvakulture za uzgoj trpova, koja uključuje iskorištavanje površine dna u područjima uzgoja kamenica. Ovi rezultati mogu značajno pridonijeti unapređenju okoliša za uzgoj trpova, te potencijalno povećati proizvodnju i ekonomske prihode u sektoru akvakulture.

## 2.4. STABILNI IZOTOPI DUŠIKA

Glavninu svih živih bića u svijetu čine ugljik, vodik, kisik, sumpor i dušik. Svi navedeni elementi imaju više od jednog stabilnog izotopa. Dušik ima dva stabilna izotopa  $^{14}\text{N}$  i  $^{15}\text{N}$ , od ta dva  $^{14}\text{N}$  je zastupljeniji u prirodi (99,63 %), (DES, 2018.). Absolutna vrijednost omjera dvaju izotopa  $R(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})$  u atmosferi je 0.003678. Vrijednost izotopa  $^{15}\text{N}$  u atmosferi je 0 ‰ (DES, 2018.). Oba izotopa su bitna jer se primjenjuju u praćenju ciklusa dušika u različitim ekosustavima na zemlji. Metodama stabilnih izotopa dušika moguće je odrediti količinu organske tvari otopljene u morskom ekosustavu. Analizom stabilnih izotopa dušika mogu se dobiti dvije vrste informacija: podaci o frakcioniranju i podaci o podrijetlu uzroka. Stoga se stabilni izotopi dušika mogu koristiti u proučavanju morskih ekosustava za dobivanje informacija o: biljnim i životinjskim fiziologijama, trofičkim strukturama, interakcijama između različitih ekosustava, hidrologiji i hidrogeologiji (Yan i sur., 2018.). Svi dušikovi spojevi sadrže i  $^{14}\text{N}$  izotope i  $^{15}\text{N}$  izotope, no zbog izotopske frakcionacije izotopi se ugrađuju u spojeve u različitim omjerima, ovisno o prirodnoj relaciji koje proizvode spojeve. Ako se dušikovi spojevi prenose kroz prehrambeni lanac, lakši izotopi ( $^{14}\text{N}$ ) se izlučuju urinom, a teži ( $^{15}\text{N}$ ) se zadržavaju. U životinjskom otpadu dušik se prvo pretvara u amonijak, zatim u nitrat, gdje se onda koncentrira dio težeg izotopa. Razlika između ova dva izotopa je korisna za praćenje dušika u vodenim ekosustavima i za traženje izvora dušika u moru (DES, 2018.).

Glavni izvor dušika u većini ekosustava je atmosfera, jer ga tamo ima najviše (78 % od ukupno svih elemenata u atmosferi). U oceane i mora biološki dušik primarno dolazi fiksacijom, za koju su zaslužni  $\text{N}_2$  fiksatori, odnosno cijanobakterije (ponajviše *Trichodesmium*) i drugi mikroorganizmi koji atmosferski dušik pretvaraju u amonijak ili druge srodne spojeve dušika (Yan i sur., 2018.). Dušik također može dospjeti u oceane putem rijeka i atmosferskih oborina. Antropogeni ulazi dušika često povećavaju  $\delta^{15}\text{N}$  sustava jer potiču denitrifikaciju. Vrijednost  $\delta^{15}\text{N}$  u oceanima varira između 1 i 20 ‰ zbog efekata  $\text{N}_2$  fiksacije, asimilacije nitrata i denitrifikacije (Sigman i Casciotti, 2001.). Omjer izotopa uzorka u odnosu na standard može se izmjeriti masenom spektrometrijom, gdje se odvoje ioni elemenata ( $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ ) na temelju njihove razlike u masi i pretvaranja krutog ili tekućeg uzorka u plin ( $\text{N}_2$ ) i izoliranja plina koji se analizira (DES, 2018.). Stabilni izotopski sastav dušika izražava se oznakom delta ( $\delta$ ) i jedinicom promil (‰), (Yan i sur., 2018.).

### 3. CILJEVI I SVRHA ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja je ustanoviti kako jedan antropogeni utjecaj, u ovom slučaju akvakultura, utječe na strukturu populacije trpova *H. tubulosa*. Utvrditi će se gustoća populacije i duljina jedinki na svim lokacijama koje su pod različitim intenzitetom utjecaja uzgajališta riba i usporediti iste kroz dva različita istraživanja, jedno u srpnju, jedno u studenom. Kao i ustanoviti koncentraciju kemijskih elemenata (minerala i metala) u samom sastavu trpova i sedimenta.

Svrha ovog istraživanja je razumjeti utjecaj akvakulture na populaciju trpova *H. tubulosa*. Proučavanjem gustoće populacije, duljine jedinki te koncentracije kemijskih elemenata u trpovima i sedimentu, istraživanje će pridonijeti boljem razumijevanju ekosustava pod utjecajem akvakulture. Također, usporedba rezultata između različitih lokacija i različitih vremenskih perioda omogućuje analizu dugoročnih promjena i dinamike ekosustava. Sve u svrhu postavljanja temelja za daljnja istraživanja uzgoja trpova.

## 4. MATERIJALI I METODE

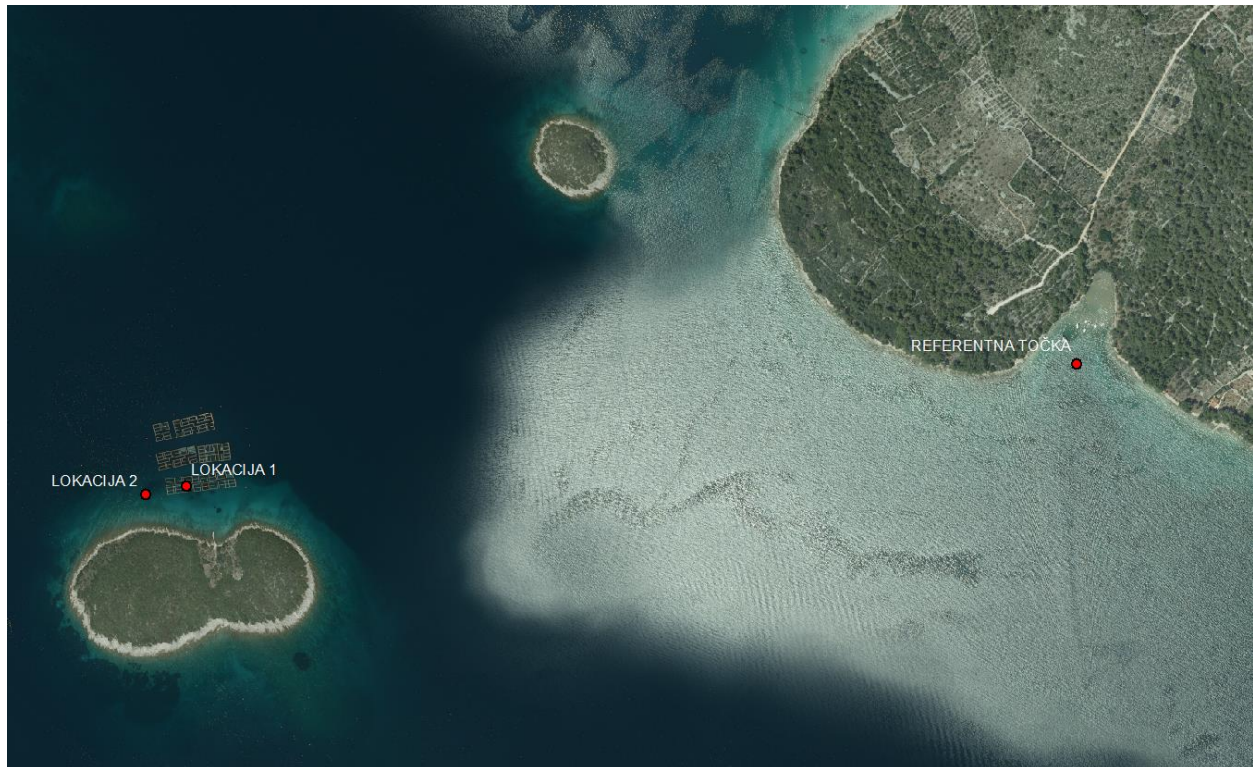
### 4.1. TERENSKO ISTRAŽIVANJE

Terensko istraživanje se obavljalo u uvali Lamjana na otoku Ugljanu. U neposrednoj blizini dviju uvala Velika i Mala Lamjana, nalazi se otočić Bisage (Slika 5.). Uz sami otočić postavljeni su kvadratni kavezi (9×9 m) za uzgoj ribe. Uzgajalište je odabrano zbog relativno male dubine koja ne prelazi 20 metara ispod samih kaveza.



Slika 5. Uvala Lamjana. (izvor: Google maps)

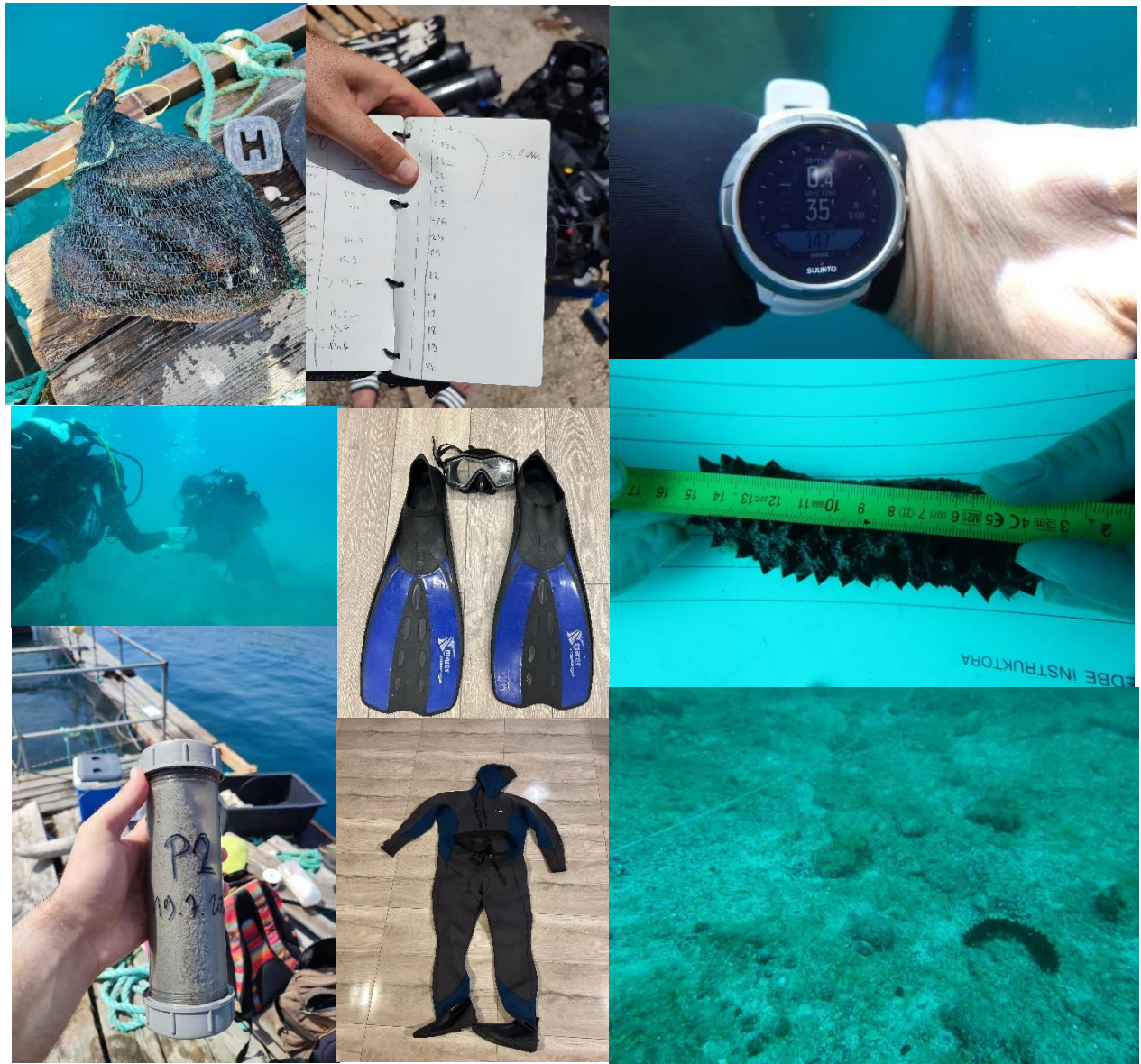
Odabrane su tri lokacije istraživanja: ispod uzgajališta, na samoj granici uzgajališta (100 m od početne lokacije) i referentna točka, otprilike 1.200 metara od uzgajališta u uvali Mala Sabuša, označene redom: L1, L2 i REF (Slika 6.).



Slika 6. Lokacije istraživanja u mjerilu 1:6000. (izvor: GIS software: ArcMap)

Uzorkovanje se vršilo u dva navrata. Prvo u mjesecu srpnju (ljetno), a drugo u studenom (jesen), označeni A (ljetno) i B (jesen).

Uzorkovanje trpova i sedimenta, brojanje i mjerenje duljina su obavljena ronjenjem s autonomnim ronilačkim aparatom (Slika 7.). Za prikupljanje uzoraka sedimenta koristio se tuljak duljine 30 cm i promjera 6 cm.



Slika 7. Materijali korišteni u istraživanju. (izvor: autor)



#### 4.1.1. UZORKOVANJE U SRPNJU

Na svakoj lokaciji prikupljeno je tri uzorka sedimenta, ukupno 9 uzoraka (Slika 8.). Za potrebe prikupljanja podataka o brojnosti postavljen je transekt unutar kojeg se vršilo istraživanje (Slika 9.). Za svrhu ovog istraživanja odabran je kružni transekt promjera 20 metara. Transekt se podijelio na kvadrante i brojale su se sve jedinice unutar jednog kvadranta, istovremeno se mjerila duljina svakog organizma pojedinačno i nasumično su se uzimali uzorci za daljnja testiranja (10 uzoraka po lokaciji). Uzorci su zaleđeni na  $-20^{\circ}\text{C}$  do daljnje analize.



Slika 8. Tuljci s prikupljenim sedimentom za uzorkovanje (L2). (izvor: autor)



Slika 9. Postavljanje transekta na referentnoj točki. (izvor: autor)

Na L1 dubina zarona je bila 18 m, na L2 dubina je bila 16 m, dok je na REF dubina mora iznosila 7 m. Temperatura mora na L1 i L2 bila je 22 °C, dok je na REF iznosila 27 °C. Područje istraživanja obuhvaća četvrtinu transekta promjera 20 m, odnosno jedan kvadrant površine 78,54 m<sup>2</sup>. Transekt i područje istraživanja bili su isti na sve 3 lokacije. Dobiveni rezultati množeni su s faktorom 4.

#### 4.1.2. UZORKOVANJE U STUDENOM

Na isti način kao i u srpnju, istraživanje u studenom vršilo se istom metodologijom i materijalima. Uzorkovanje se opet vršilo na istim lokacijama: L1, L2 i REF. Na L1 izmjerena je dubina od 19 m, na L2 dubina je bila 15 m, dok je na REF dubina mora iznosila 16 m. Temperatura mora na sve tri lokacije bila je 19 °C. Područje istraživanja isto je obuhvatilo jednu četvrtinu transekta promjera 20 m, odnosno jedan kvadrant površine 78,54 m<sup>2</sup>. Dobiveni rezultati su množeni s faktorom 4.

S obzirom da su se istraživanja vršila unutar kružnog transekta promjera 20 m, gustoću populacije je vrlo jednostavno izračunati. Prvo se izračunala površina kružnog transekta, formulom za površinu kruga:

$$P = \pi r^2$$

Zatim se broj jedinki na svakoj lokaciji zasebno podjelio s površinom transekta i dobila se gustoća populacije po kvadratnom metru:

$$GP = \frac{n}{P} m^2$$

## 4.2. LABORATORIJSKO ISTRAŽIVANJE

### 4.2.1. TRPOVI

Uzorci sedimenta i trpova su odmah nakon terenskog istraživanja zamrznuti na  $-20^{\circ}\text{C}$ . Prije analize, uzorci su odleđeni toplom vodom, a trpovi su secirani. Koža je uklonjena kako bi ostalo samo mišićno tkivo za daljnju obradu. Mišićno tkivo je rezano na komade od  $2\text{ cm}^2$  i pakirano u označene vrećice (Slika 10.), (Slika 11.). Secirani uzorci su spremljeni u zamrzivač za daljnju analizu.



Slika 10. Postupak pripremanja uzoraka za obradu (vađenje utrobe, odvajanje kože i usitnjavanje).(izvor: autor)



Slika 11. Secirani uzorci u studenom. S lijeva na desno: uzorak ispod kaveza, uzorak pored kaveza i uzorak s referentne točke. (izvor: autor)

Svaki uzorak sastoji se od 10 individualnih organizama usitnjenih na sitne komade koji je daljnjom obradom homogeniziran (Slika 12.).



Slika 12. Uzorak L1-A prije obrade u industrijskom mikseru (nehomogena smjesa). (izvor: autor)



Slika 13. Uzorak L1-A nakon obrade (potpuno homogena smjesa). (izvor: autor)

Korištenjem industrijskog miksera (Fritsch PULVERISETTE 11, Weimar , Njemačka) uzorci su pretvoreni u gustu homogenu pastu (Slika 13.). Zbog svoje žilave strukture meso je miješano s običnom vodom u omjeru 2:1, radi lakšeg postupka mljevenja. Ukupan sadržaj materijala unutar volumena posude (ukupno 1300 ml) u mikseru je bio 1/3 (Slika 14.). Mljevenje je trajalo 130 sekundi uz povremeno povećavanje po potrebi. Broj okretaja u minuti postepeno se povećavao s minimalnih 2000 na 6000 i zatim na 8000 okretaja u minuti.



Slika 14. Uzorak L2-B u industrijskom mikseru. (izvor: autor)

Homogenizirani uzorci su postavljeni u crne plastične vreće i razvučeni na drvenoj ploči dimenzija 60x40 cm, stvarajući tanji sloj smjese za brže isušivanje (Slika 15.). Nakon 10 dana u zamrzivaču radi lakše obrade, uzorci su nasumično odabrani, podvrgnuti isušivanju pomoću liofilizatora (HETO Freeze-Dryer) na  $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Slika 16.).





Slika 15. Uzorci razvučeni na drvenim pločama u zamrzivaču. (izvor: autor)



Slika 16. Liofilizator (HETO Freeze-Dryer) (lijevo) spojen na vakuumsku pumpu (desno).  
(izvor: autor)

Za analizu kemijskih elementa, poduzorci (0,07 g) podvrgnuti su totalnoj digestiji u mikrovalnoj pećnici (Multiwave 3000, Anton Paar, Graz, Austrija) u postupku u jednom koraku koji se sastojao od digestije sa smjesom 6 mL dušične kiseline (HNO<sub>3</sub>) i 0,1 mL fluorovodične kiseline (HF). Prije analize, digestije su samo zakiseljene s 2 % (v/v) HNO<sub>3</sub> (65 %, supra pur, Fluka, Steinheim, Švicarska) bez daljnjeg razrjeđivanja i In (1 mg/L) je dodan kao interni standard. Multielementalna analiza pripremljenih uzoraka provedena je trostruko kvadrupolnim masenim spektrometrom induktivno spregnute plazme (ICP-QQQ, model 8900, Agilent, SAD). Svi uzorci su analizirani na ukupnu koncentraciju od 53 elementa, poredani abecednim redom i označeni simbolima, elementi su sljedeći: Ag, Al, As, Ba, Bi, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ge, Ho, K, La, Li, Lu, Mg, Mn, Mo, Na, Nb, Nd, Ni, P, Pb, Pr, Rb, S, Sb, Se, Sm, Sn, Sr, Tb, Te, Th, Ti, Tl, Tm, U, V, W, Y, Yb, i Zn. Kontrola kvalitete analitičkog postupka provedena je istovremenom analizom slijepog uzorka i certificiranog referentnog materijala za Citrus leave (NCS ZC73018, China National Analysis Center for Iron & Steel, Peking, Kina). U certificiranom referentnom materijalu postignuto je dobro slaganje između analiziranih i certificiranih koncentracija unutar analitičke nesigurnosti (<10 %).

Učinjene su analize izotopskog sastava dušika ( $\delta^{15}\text{N}$ ) kod svih 6 uzoraka trpova. Analize su provedene uporabom masenog spektrometra stabilnog izotopa Europa 20 – 20 s preparativnim modulom ANCA-SL. Količine analiziranih uzoraka kretale su se između 8 i 30 mg. Provedena su tri paralelna mjerenja za svaki uzorak, iz kojih se koristila prosječna vrijednost za daljnje razmatranje. Mjerna nesigurnost određena je na temelju ponovljenih analiza uzoraka i iznosila je  $\pm 0,15$  %. Izotopski sastav uzoraka izračunat je pomoću jednadžbe:

$$\delta \text{ [‰]} = \frac{R_{uzorak} - R_{standard}}{R_{standard}} \times 1000$$

gdje je:

$\delta$  relativno odstupanje od međunarodnog standarda;

$R_{(uzorak)}$  omjer težih i lakših izotopa u uzorku ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ );

$R_{(standard)}$  omjer težih i lakših izotopa u standardu ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ).

#### 4.2.2. SEDIMENT

Uzorci sedimenta pripremani su za analizu u nekoliko koraka. Sediment se prvo prosijavao na čeličnom situ za čestice manje od 2 mm. Postupak se olakšavao miješanjem i struganjem uz pomoć vode i plastične lopatice (Slika 17.). Početnih 18 uzoraka udvostručeno je na 36 primjenom ovog postupka (uzorci manji od 2 mm i uzorci veći od 2 mm).



Slika 17. Prosijavanje uzorka sedimenta na čestice manje od 2 mm. (izvor: autor)

Nakon prosijavanja uzorci su ostavljeni u komore za konvekcijsko sušenje (Binder FD 23, Tuttlingen, Njemačka i Memmert UF 75, Büchenbach, Njemačka) na minimalno 12 sati (Slika 18.), (Slika 19.).

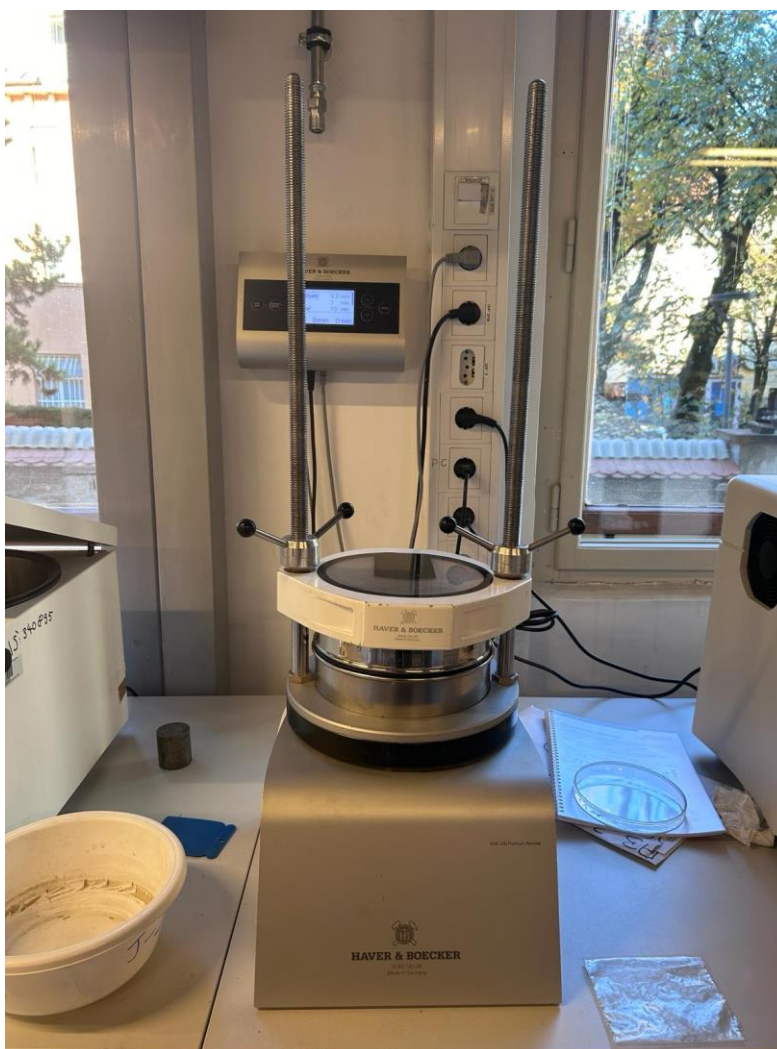


Slika 18. Komore za konvekcijsko sušenje. (izvor: autor)



Slika 19. Uzorci unutar komore Memmert UF 75. (izvor: autor)

Nakon sušenja, uzorci su ponovno prosijavani na čestice manje od 1 mm koristeći analitičko sito (Haver & Boecker EML 200 premium, Oelde, Njemačka). Postupak je trajao 2 minute s amplitudom titranja od 3 mm i intervalima stajanja svakih 10 sekundi (Slika 20.). Rezultat su tri različite veličine uzorka (sediment manji od 1 mm, sediment veličine od 1 mm do 2 mm i sediment veći od 2 mm), povećavši broj uzoraka s 36 na 54 (Slika 21.).



Slika 20. Stroj za analitičko sito Haver & Boecker EML 200 premium. (izvor: autor)



Slika 21. Uzorak od 1 mm do 2 mm (gore), uzorak manji od 1 mm (lijevo) i uzorak veći od 2 mm (desno). (izvor: autor)

Sve tri skupine uzoraka su se zatim vagale na digitalnoj vagi (Slika 22.), kako bi detaljnije vidjeli raspodjelu istih skupina sedimenta po lokacijama i kroz dva različita perioda uzorkovanja. U svrhu detaljne XRD I XRF analize uzeti su samo uzorci manji od 1 mm (Slika 23.).

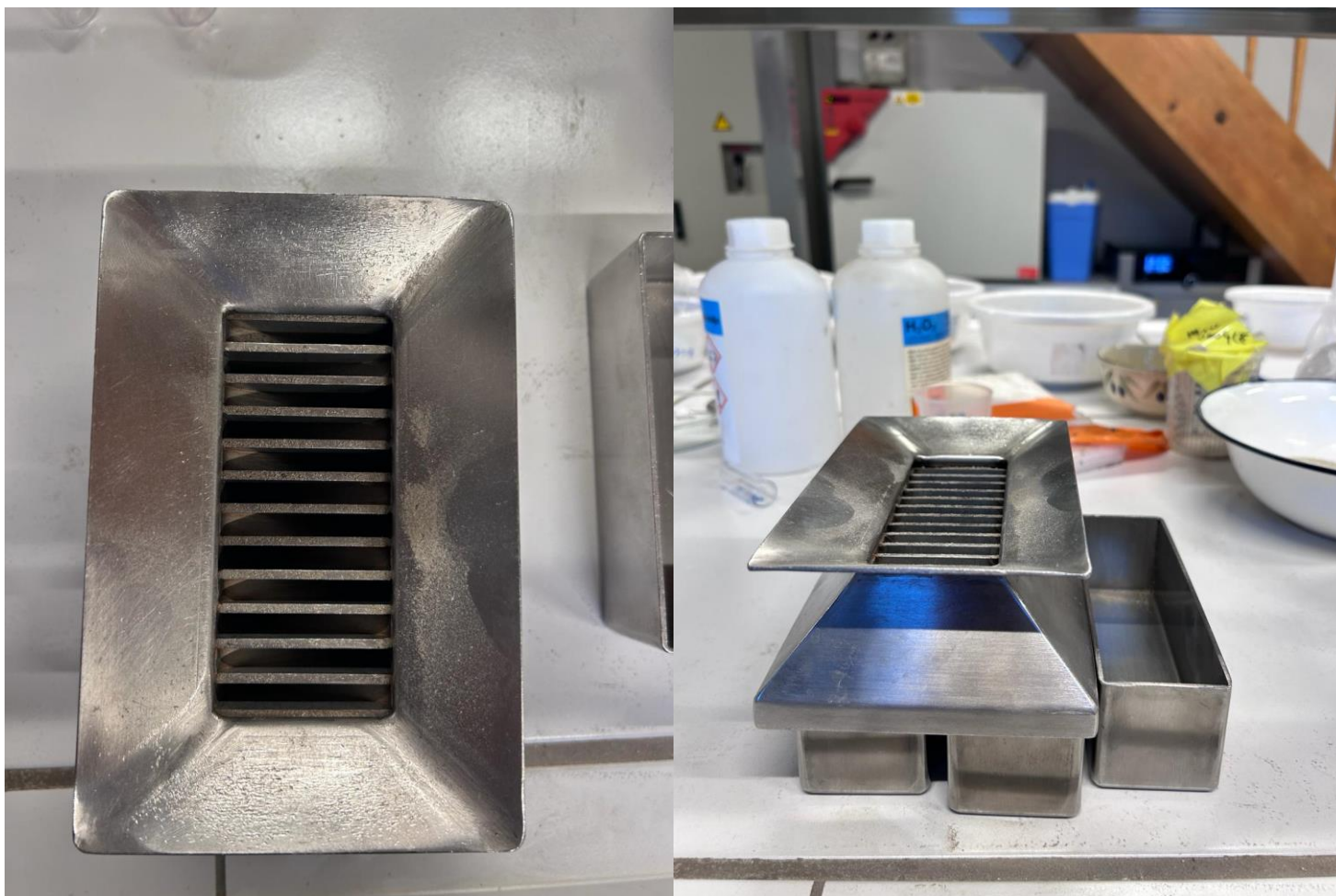


Slika 22. Vaganje sedimenta. (izvor: autor)



Slika 23. Uzorci < 1mm. (izvor: autor)

Svih 18 uzoraka  $< 1\text{mm}$  homogenizirano je pojedinačno koristeći jednostavan alat (Slika 24.). Alat za homogenizaciju (četvrtanje) raspoređuje uzorak u dvije jednake polovine putem 12 suprotno položenih ulaza. Rasipanjem uzorka kroz svih 12 ulaza postiže se potpuno homogen uzorak sačinjen od čestica sedimenta različitih veličina (Slika 25.). Svaki uzorak je prošao kroz alat minimalno 4 puta kako bi se dobio dovoljno malen uzorak za rentgensku difrakciju (XRD), (Slika 26.).



Slika 24. Alat za homogenizaciju (četvrtanje) sedimentnih čestica. (izvor: autor)





Slika 25. Homogenizacija uzorka vršila se uvijek nasumičnim odabiranjem posuda. (izvor: autor)



Slika 26. Potpuno homogen uzorak. (izvor: autor)

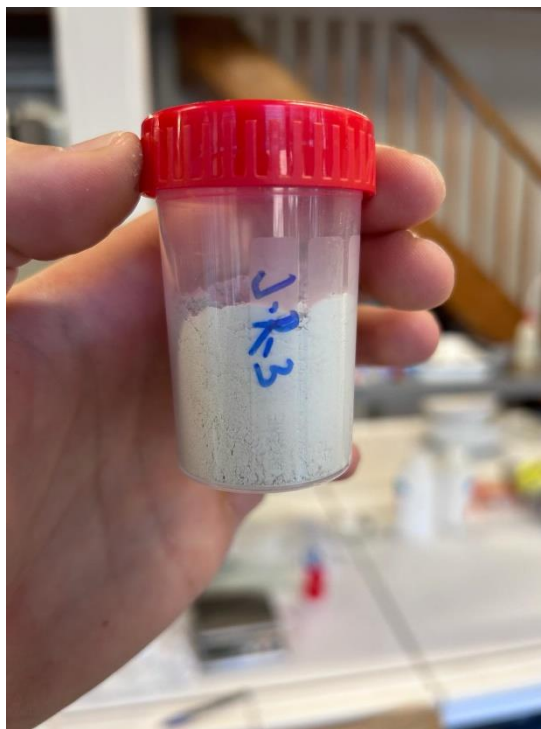
Kako bi se odredio kemijski sastav uzoraka, potrebno je bilo pretvoriti ih u prah. Devet uzoraka smljeveno je u prah s pomoću planetarnog mono mlina (Fritsch PULVERISETTE 6, Weimar, Njemačka), (Slika 27.). U čeličnu posudu stavio se sediment zajedno s 9 čeličnih kuglica, rotacija je namještena na 650 okretaja u minuti, a vrijeme trajanja na 40 sekundi. Čelične kuglice pod utjecajem centrifugalne i Coriolisove sile, proizvedene unutar mlina, udaraju u unutarnji zid čelične posude i na taj način melju sediment u fini prah (Slika 28.). Nakon mljevenja uzorci su stavljeni u male plastične čašice i poslani su na X-ray fluorescentnu analizu (Slika 29.).



Slika 27. Planetarni mono mlin Fritsch PULVERISETTE 6. (izvor: autor)



Slika 28. Uzorak prije i nakon mljevenja (izvor: autor)



Slika 29. Uzorak spreman za XRF analizu. (izvor: autor)

Pomoću rendgenskog difraktometra praha (XRD Phillips Panalytical, PW 3830/40, 2003, Cu anoda PW2773/20) odredio se mineralni sastav sedimenta po dubini. XRD mjerenja su provedena pod sljedećim uvjetima: snaga izvora rendgenskih zraka 1,2 kW, napon 40 kV, jakost struje 30 mA, valna duljina rendgenske svjetlosti korištene s bakrenom cijevi  $K\alpha$  zrake  $1,5460 \text{ \AA}$ . Mjerilo se u rasponu kontinuiranog snimanja  $2\theta$  —  $7^\circ$   $2\theta$ , pri brzini od  $30^\circ$   $2\theta$  min, s granicom detekcije minerala od 1-5 %. Metoda koja je korištena za određivanje količine minerala u uzorku je Rietveldova metoda - metoda polinomskog prilagođavanja.

Pomoću rendgenske fluorescentne spektroskopije (XRF, ThermoFisher Niton XL5 plus) određen je udio glavnih elemenata u uzorcima prosijanim ispod 1 mm. U svrhu analize, oko 3 g uzoraka sedimenta u prahu komprimirano je u pelete pomoću plastičnih kapsula i preše za pelete. Kako bi se zaštitila i zagladila površina komprimirane pelete, na dno peletizera stavljena je polietilenska folija i utisnut je talog u pelet momentom od 20 Nm. Za mjerenje je korišten integrirani "Mining" modul koji omogućuje detekciju glavnih elemenata (Si, Al, Fe, Mg, Ca, K, Ti, S, P) s vremenom mjerenja od 210 s. Za određivanje točnosti i preciznosti ispitivanih uzoraka korišteni su standardi certificiranih referentnih materijala (NIST, USGS), NIST-1d (vapnenac) i NIST-88b (dolomitni vapnenac). Pogreška mjerenja je manja od 10 %.

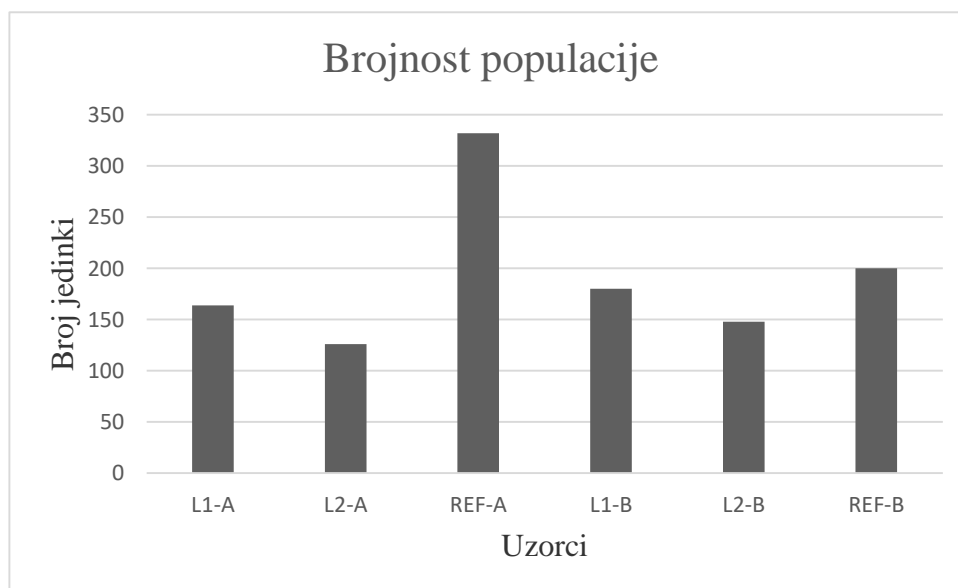
## 5. REZULTATI

### 5.1. TERENSKI REZULTATI

Rezultati terenskog istraživanja u srpnju (A) i studenom (B) prikazani su u Tablici 1. U oba istraživanja, lokacija REF pokazuje najveću brojnost populacije. Grafički prikaz brojnosti populacija za oba perioda dostupan je na Slici 30.

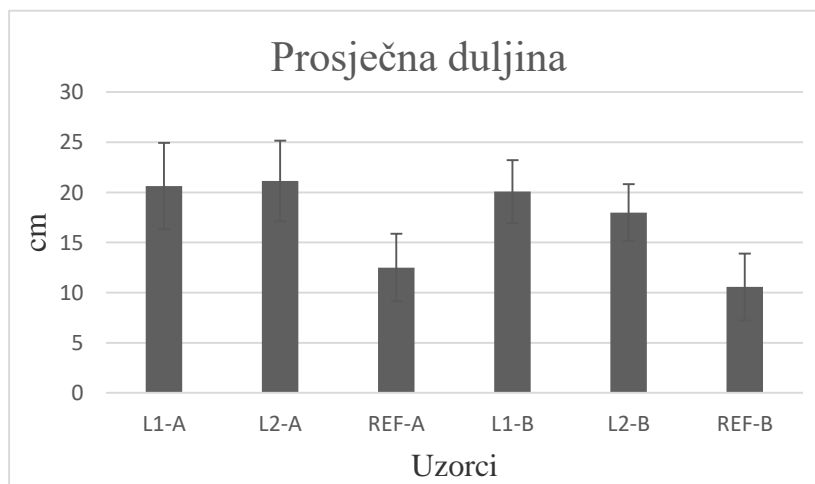
Tablica 1. Tablični prikaz terenskog istraživanja za svih 6 uzoraka. (izvor: autor)

Uzorak	L1-A	L2-A	REF-A	L1-B	L2-B	REF-B
Prosječna duljina (cm)	20,62	21,15	12,5	20,07	17,97	10,56
Maksimalna duljina (cm)	32	30	23	26	24	20
Minimalna duljina (cm)	14	13	6	14	13	4
Brojnost populacije	164	126	332	180	148	200
Gustoća populacije (m <sup>2</sup> )	0,52	0,40	1,06	0,57	0,47	0,64

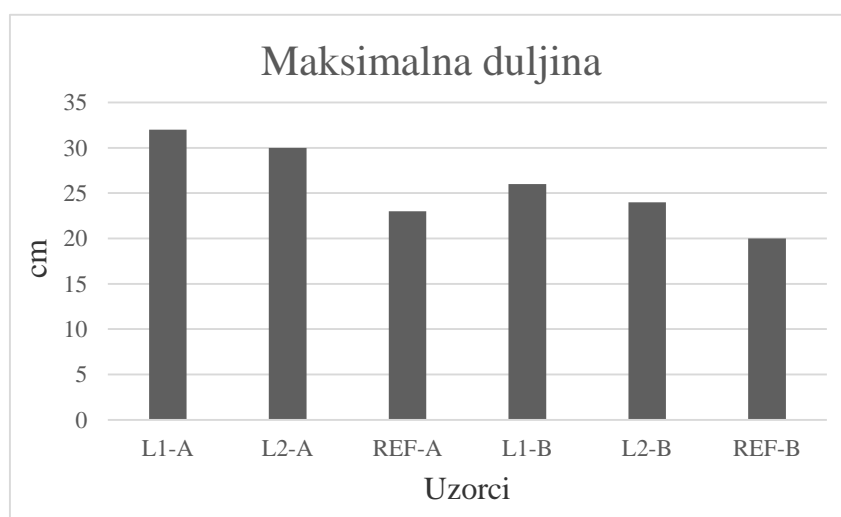


Slika 30. Prikaz brojnosti populacije trpova na različitim lokacijama i u različitim periodima uzorkovanja. (izvor: autor)

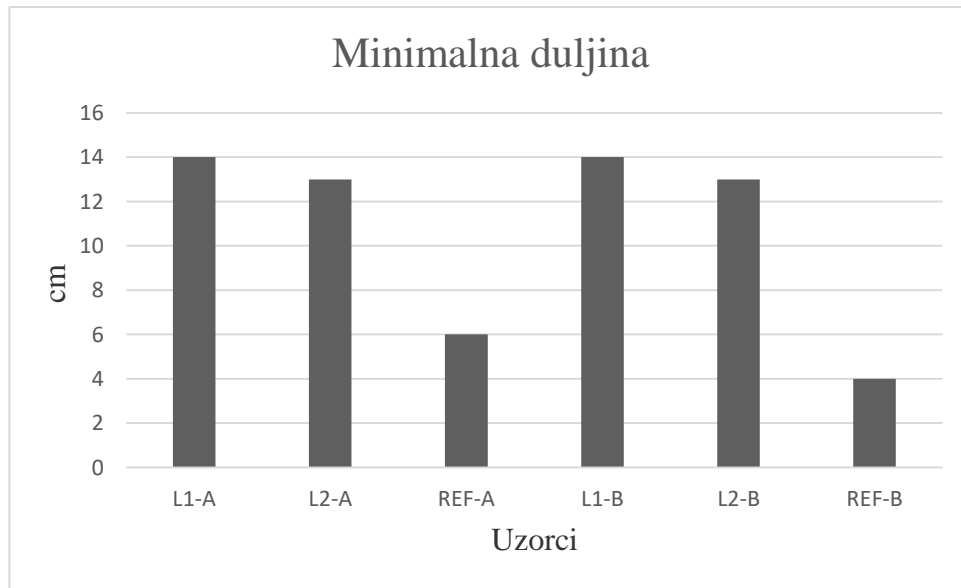
Uspoređujući duljinu trpova, uočene su varijacije između lokacija i perioda istraživanja. Na primjer, prosječna duljina u srpnju bila je najviša na L2-A (21,15 cm), prosječna duljina u studenom je bila najviša u L1-A (20,07 cm). Najmanja prosječna duljina je bila u uzorku REF-A (12,5 cm) i REF-B (10,56 cm) (Slika 31.). Valja napomenuti da su razlike između maksimalnih duljina kod L1-A i L1-B veće od razlika kod REF-A i REF-B, dok su minimalne duljine ostale iste, osim malog smanjenja na REF-B (Slika 32.), (Slika 33.).



Slika 31. Prikaz prosječne duljine trpova na različitim lokacijama i u različitim periodima uzorkovanja. (izvor: autor)

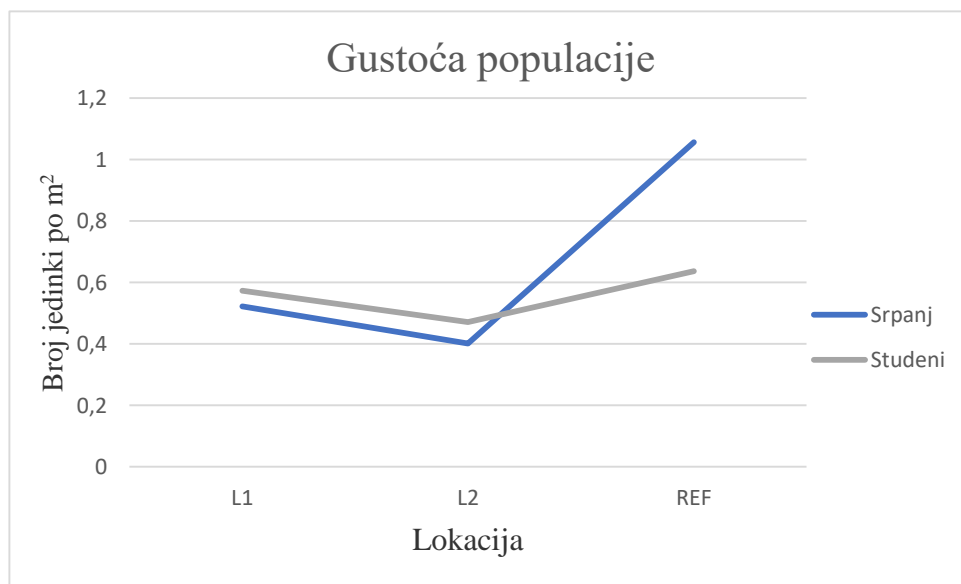


Slika 32. Prikaz maksimalne duljine trpova na različitim lokacijama i u različitim periodima uzorkovanja. (izvor: autor)



Slika 33. Prikaz minimalne duljine trpova na različitim lokacijama i u različitim periodima uzorkovanja.

Brojnost populacije na lokaciji REF bila je najveća u oba perioda, dok su se varijacije u brojnosti događale na L1 i L2. Gustoća populacije pokazuje slične trendove, s REF-A kao najgušćim uzorkom (Slika 34.).



Slika 34. Odnos gustoće populacije jedinki *H. tubulosa* po lokacijama i periodu uzorkovanja.

(izvor: autor)

## 5.2. REZULTATI ANALIZA

### 5.2.1. TRPOVI

Uzorci trpova uzeti s terenskog istraživanja podvrgnuti su kemijskoj analizi (ukupno 53 elementa). Tablica 2. prikazuje udio glavnih elemenata u uzorcima koji nisu štetni. Iz tablice je vidljivo da je udio elemenata Mg, Ca, K i Na, izuzetno veći na L1-A u odnosu na druge uzorke, dok je sastav sumpora podjednaka kod svih uzoraka. Najmanje ima željeza i stroncija u usporedbi s drugim elementima.

Tablica 2. Udio glavnih esencijalnih elemenata u uzorcima (kalcij, kalij, magnezij, natrij, fosfor, sumpor, željezo i stroncij). (izraženo u mg/kg). (izvor: autor)

<b>Uzorak</b>	<b>Ca</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Na</b>	<b>P</b>	<b>S</b>	<b>Fe</b>	<b>Sr</b>
<b>L1-A</b>	86703	9362	22428	90086	942	14856	79	275
<b>L2-A</b>	38108	3957	10297	41391	854	14892	103	247
<b>REF-A</b>	45496	4352	12565	46482	772	14873	110	278
<b>L1-B</b>	32646	8942	13771	77884	998	16086	51	179
<b>L2-B</b>	22544	7376	10076	60247	1066	15990	78	159
<b>REF-B</b>	31043	6675	11074	63578	788	14278	293	216



Nadalje, u uzorcima su pronađeni i elementi koji mogu biti štetni u velikim količina. U Tablici 3. prikazani su elementi: srebro, aluminij, arsen, bizmut, kadmij, kobalt, krom, bakar, nikal, olovo, antimon, selenij, kositar i cink). Od istaknutih elemenata vidljiv je visok sadržaj aluminijsa i cinka kod svih uzoraka.

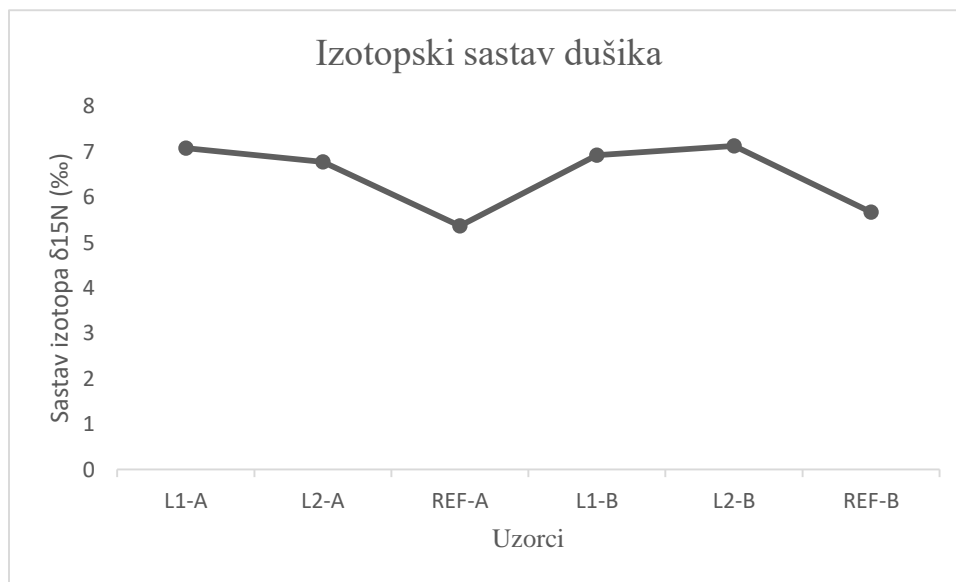
Tablica 3. Udio toksičnih elemenata u uzorcima, (izraženo u mg/kg). (izvor: autor)

<b>Elementi</b>	<b>L1-A</b>	<b>L2-A</b>	<b>REF-A</b>	<b>L1-B</b>	<b>L2-B</b>	<b>REF-B</b>
<b>Ag</b>	0,016	0,023	0,023	0,028	0,019	0,021
<b>Al</b>	39,7	37,9	61,9	19,7	36,6	214
<b>As</b>	15,4	12,8	18,4	16,7	22,9	26,7
<b>Bi</b>	0,005	0,009	0,007	0,004	0,005	0,006
<b>Cd</b>	0,06	0,05	0,06	0,05	0,07	0,08
<b>Co</b>	0,18	0,15	0,09	0,06	0,08	0,34
<b>Cr</b>	4,31	11,3	7,86	2,09	6,48	31,3
<b>Cu</b>	5,49	3,06	1,73	1,31	1,46	2,07
<b>Ni</b>	1,11	3,77	1,66	0,48	1,39	9,95
<b>Pb</b>	1,2	1,27	2,55	0,83	0,68	1,98
<b>Rb</b>	1,77	1,55	1,70	2,41	2,56	2,76
<b>Sb</b>	0,032	0,032	0,03	0,031	0,025	0,035
<b>Se</b>	3,37	3,1	3,31	4,84	3,86	2,68
<b>Sn</b>	0,26	0,12	0,09	0,08	0,07	0,09
<b>Zn</b>	20,3	21,5	17,6	17,9	19,6	18,3

Analizom izotopskog sastava dušika u tkivu trpova željelo se provjeriti razlikuje li se izotopski sastav dušika od uzorka do uzorka, odnosno jesu li trpovi ispod kaveza obogaćeni teškim dušikom  $^{15}\text{N}$  u odnosu na uzorke s referentne točke. Rezultati su prikazani u Tablici 4. gdje je vidljivo da su vrijednosti  $\delta^{15}\text{N}$  više na L1 i L2 u oba istraživanja u odnosu na REF (Slika 35.).

Tablica 4. Rezultati izotopskih analiza dušika dani su s vrijednostima  $\delta^{15}\text{N}$  za sve uzorke, (izraženi u promilima (‰)). (Izvor: autor)

Uzorak	$\delta^{15}\text{N}$	Standardna Devijacija
<b>L1-A</b>	7,08 ‰	$\pm 0,01$
<b>L2-A</b>	6,78 ‰	$\pm 0,07$
<b>REF-A</b>	5,37 ‰	$\pm 0,03$
<b>L1-B</b>	6,93 ‰	$\pm 0,04$
<b>L2-B</b>	7,13 ‰	$\pm 0,01$
<b>REF-B</b>	5,67 ‰	$\pm 0,01$



Slika 35. Izotopni sastav  $\delta^{15}\text{N}$  u trpovima na različitim lokacijama i u različitim periodima uzorkovanja. (izvor: autor)

### 5.2.2. SEDIMENT

Rezultati vaganja koji prikazuju detaljnu raspodjelu veličine čestica sedimenta i njihove mase kroz 3 različite lokacije u razmaku od 3 mjeseca prikazani su u tablici (Tablica 5.). Već iz same tablice vidljivo je da najveći maseni udio imaju čestice manje od 1 mm.

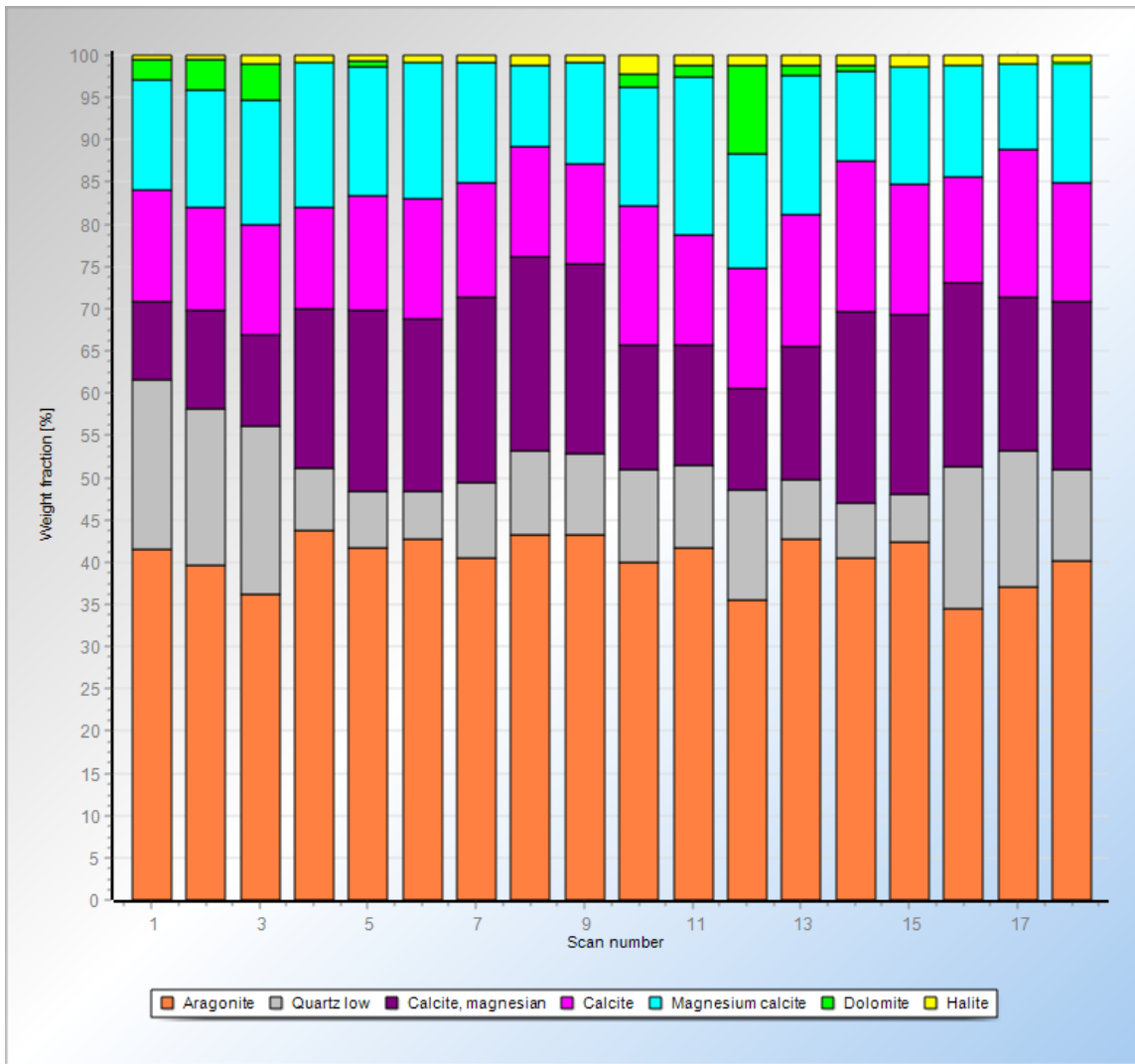
Tablica 5. Granulometrijska tablica sušenih uzoraka sedimenta (manje od 1 mm, od 1-2 mm i veće od 2 mm), (izraženo u g). (izvor: autor)

Uzorak	Masa (g)		
	< 1 mm	1 -2 mm	> 2 mm
A-1-1	225,5	41,1	96,4
A-1-2	218,9	33,8	58,5
A-1-3	225,6	35,8	105,8
A-2-1	388	68,8	65,9
A-2-2	308,8	56,3	89,2
A-2-3	309,7	65,2	191,5
A-R-1	249	89,7	53,8
A-R-2	227,5	74,6	147,7
A-R-3	224,2	66,9	146,5
B-1-1	196,2	61,4	194,1
B-1-2	172,0	72,5	184,3
B-1-3	169,4	52,5	172,4
B-2-1	367,8	74,1	41,3
B-2-2	357,9	61,1	67,6
B-2-3	442,5	76,9	40,2
B-R-1	292,1	63,3	27,1
B-R-2	332,1	84,9	66,3
B-R-3	332,5	74,2	46,5

XRD analiza sedimenta koja se vršila na uzorcima manjim od 1 mm pokazala je sastav uzorka i ukupan postotak minerala u uzorku (Tablica 6.). U uzorcima su pronađeni sljedeći minerali: aragonit, kvarc, kalcit-Mg, kalcit, Mg-kalcit, dolomit i halit. Svi minerali su često zastupljeni u Jadranu. Mineral koji se najviše ističe je aragonit, s obzirom da je aragonit uz kalcit (Mg-kalcit i kalcit-Mg) sastavni dio kalcijevog karbonata ( $\text{CaCO}_3$ ) kojeg nalazimo u ljušturama morskih organizmima nije neobično da čini trećinu sastava svih uzoraka (Slika 36.). GOF – „Goodness of fit“ u tablici 6. označava: usklađivanje rentgenograma s polinomom na temelju kojeg je izračunata površina ispod svakog uklanjanja minerala na radiografiji. Ako je  $\text{GOF}=1$ , to znači da je izračunati polinom jednak stvarnoj difrakciji rendgenskih zraka uzorka.

Tablica 6. Udio mineralnih elemenata u uzorcima manjim od 1 mm (izraženo u %). (izvor: autor)

<b>Redni broj</b>	<b>GOF</b>	<b>Uzorak</b>	<b>Aragonit</b>	<b>Kvarc</b>	<b>Kalcit-Mg</b>	<b>Kalcit</b>	<b>Mg-kalcit</b>	<b>Dolomit</b>	<b>Halit</b>
1	1,4645	A-1-1	41,6	20,0	9,3	13,1	13,1	2,4	0,4
2	1,3167	A-1-2	39,7	18,5	11,6	12,2	13,9	3,6	0,6
3	1,3282	A-1-3	36,1	20,0	10,8	13,1	14,7	4,2	1,1
4	1,2438	A-2-1	43,8	7,4	18,8	12,0	17,1	0,1	0,8
5	1,2278	A-2-2	41,6	6,8	21,3	13,6	15,4	0,6	0,7
6	1,26	A-2-3	42,7	5,8	20,4	14,2	16,0	-	0,9
7	1,3635	A-R-1	40,5	8,9	21,9	13,7	14,2	-	0,9
8	1,2298	A-R-2	43,3	9,9	23,0	13,0	9,6	-	1,1
9	1,1983	A-R-3	43,3	9,6	22,4	11,9	12,1	-	0,8
10	1,2998	B-1-1	39,9	11,0	14,8	16,4	14,1	1,5	2,3
11	1,2526	B-1-2	41,6	9,8	14,3	13,0	18,7	1,3	1,3
12	1,3964	B-1-3	35,5	13,1	12,0	14,3	13,6	10,4	1,2
13	1,2252	B-2-1	42,7	7,0	15,7	15,5	16,6	1,2	1,1
14	1,2173	B-2-2	40,5	6,5	22,6	17,8	10,6	0,7	1,2
15	1,2493	B-2-3	42,3	5,8	21,1	15,5	13,9	0,1	1,3
16	1,285	B-R-1	34,5	16,7	21,8	12,6	13,1	0,1	1,2
17	1,2677	B-R-2	37,0	16,1	18,3	17,5	10,2	-	0,9
18	1,1895	B-R-3	40,2	10,7	20,0	14,1	14,0	0,1	0,9



Slika 36. Prikaz mineralnog sastava kod svih 18 uzoraka sedimenta. (izvor: autor).

Rentgenska fluorescentna spektroskopija, odnosno XRF analiza uzoraka koji su smljeveni donijela je detaljniji uvid u elementni sastav uzoraka. Detektirani su glavni elementi (Si, Al, Fe, Mg, Ca, K, Ti, P i Mn), čija je vrijednost prikazana u obliku oksida u Tablici 7. Kao i elementi u tragovima (Cr, As, Ba, Cu, Mo, Nb, Pb, Rb, Sr, Zn i Zr), prikazani u Tablici 8. Najveći udio oksida u svim uzorcima ima Kalcij-oksidi (CaO), koji je sastavni dio kalcita u ljušturama morskih organizama.

Tablica 7. Udio oksida glavnih elemenata u sameljenim uzorcima manjim od 1 mm (izraženo u %). (izvor: autor)

Uzorak	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MgO	CaO	K <sub>2</sub> O	TiO <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	MnO
A-1-1	16,66	0,66	0,34	1,14	43,17	0,18	0,08	0,44	0,01
A-1-2	12,90	0,58	0,40	1,04	42,21	0,22	0,06	0,28	0,01
A-1-3	17,53	0,89	0,38	1,32	41,72	0,27	0,08	0,40	0,01
A-2-1	7,19	0,42	0,23	1,48	48,23	0,14	0,05	0,22	0,01
A-2-2	8,70	0,43	0,26	1,49	47,43	0,13	0,06	0,23	0,01
A-2-3	7,23	0,41	0,22	1,44	48,65	0,12	0,05	0,25	0,01
A-R-1	7,99	0,44	0,31	1,13	47,32	0,13	0,09	0,06	0,01
A-R-2	10,40	0,44	0,31	1,20	45,52	0,16	0,07	0,07	0,02
A-R-3	9,89	0,44	0,31	1,32	46,92	0,14	0,06	0,05	0,01
B-1-1	9,70	0,67	0,50	1,29	44,39	0,23	0,05	0,44	0,01
B-1-2	9,61	0,48	0,42	1,26	46,13	0,18	0,07	0,43	0,01
B-1-3	9,85	0,60	0,40	1,21	46,35	0,18	0,06	0,42	0,01
B-2-1	7,56	0,54	0,31	1,61	47,63	0,16	0,05	0,32	0,01
B-2-2	7,15	0,59	0,26	1,44	46,88	0,15	0,05	0,30	0,01
B-2-3	7,30	0,60	0,31	1,35	47,09	0,19	0,07	0,34	0,01
B-R-1	17,17	1,13	0,55	1,35	41,51	0,30	0,11	0,08	0,01
B-R-2	16,32	1,14	0,51	1,28	43,26	0,28	0,11	0,08	0,01
B-R-3	11,90	0,83	0,39	1,22	44,95	0,21	0,11	0,04	0,01

Tablica 8. Sastav elemenata u tragovima u uzorcima manjim od 1 mm. Kao i kod uzoraka trpova, vidljiv je visok sadržaj stroncija kod svih 18 uzoraka (izraženo u mg/kg).

Uzorak	Cr	As	Ba	Cu	Mo	Nb	Pb	Rb	Sr	Zn	Zr
A-1-1	110	-	349	29	7	5	32	12	1774	12	58
A-1-2	98	-	345	29	5	5	23	14	2026	-	117
A-1-3	47	-	319	62	6	5	29	10	1799	437	33
A-2-1	107	-	343	37	6	6	24	21	1894	-	97
A-2-2	34	-	340	163	5	3	24	12	2041	113	16
A-2-3	52	-	306	31	6	5	20	9	1979	-	42
A-R-1	83	-	328	105	5	4	21	7	1959	27	44
A-R-2	71	7	331	50	6	4	24	8	2272	-	34
A-R-3	37	4	346	35	7	7	18	7	1926	-	15
B-1-1	28	7	333	174	5	4	30	13	1831	1841	39
B-1-2	46	8	343	39	6	4	22	7	2217	-	42
B-1-3	193	6	329	21	6	6	22	18	1978	-	79
B-2-1	99	9	341	31	6	4	21	7	2243	-	23
B-2-2	63	-	314	40	6	5	24	10	1815	294	35
B-2-3	28	-	299	29	5	4	20	11	2016	37	30
B-R-1	70	-	324	28	6	5	22	8	1801	14	48
B-R-2	62	-	337	69	6	4	22	10	1987	78	23
B-R-3	59	-	309	145	5	5	22	12	1778	33	52

(izvor: autor)

Povišen sadržaj Zn u uzorku B-1-1 uzrokovan je antropogenim utjecajem. Pretpostavka je da se radi o komadu mesinga s propelera broda ili nekog drugog pocinčanog metala. Također je povišen i Cu, ponajviše u istom uzorku. Element Mo je vezan na organsku tvar većinom: Nb, Rb, Sr i Zr koje nastaju pod utjecajem vremenskih prilika i okolnih stijena.

## 6. RASPRAVA

U radu su prikazani rezultati karakterizacije populacije trpova *H. tubulosa* i njihovog okoliša u uvali Lamjana na otoku Ugljanu ispod i pored kaveza za uzgoj ribe i na referentnoj točki u uvali Mala Sabuša 1200 m od kaveza za uzgoj. Također je napravljena detaljna analiza i utvrđena koncentracija minerala i metala samog mesa trpova, kao i izotopski sastav dušika. Rezultati su međusobno uspoređeni kroz sve tri lokacije, kao i kroz dva različita perioda istraživanja između kojih se riba u kavezima intenzivno hranila. XRD i XRF analizama je utvrđen sastav sedimenta na svim lokacijama i također međusobno uspoređen kroz istraživanje u srpnju i u studenom.

### 6.1. ANALIZA REZULTATA TRPOVA

Rezultati brojnosti trpova u istraživanju A jasno pokazuju da je populacija trpova i više nego dvostruko brojnija na REF nego li na ostale dvije lokacije. Gustoća populacije u A istraživanju na L1 iznosila je  $0,52/m^2$ , na L2 iznosila je  $0,40/m^2$  i gustoća na REF je  $1,06/m^2$ , što je čak za 28 % više trpova po metru kvadratnom na referentnoj točki nego na L1 i 24 % više od L2. Gustoća populacije u B istraživanju na L1, iznosila je  $0,57/m^2$ , na L2 iznosila je  $0,47/m^2$  i gustoća na REF iznosila je  $0,64/m^2$ . Gustoća populacije je najviša na referentnoj točki (za 4 % veća od L1 i za 10 % veća od L2). Gustoća po  $m^2$  na REF-B je manja od REF-A za čak 24 %, ali je veća na L1-B za 10 % u odnosu na L1-A, odnosno za 18 % na L2-B u odnosu na L2-A.

Pretpostavlja se da je veliki broj trpova na REF-A uvjetovan mrijestom koji se odvija baš u to vrijeme 7. i 8. mjeseca (Despalatović i sur, 2004.). Temperatura mora igra veliku ulogu u mrijestu trpa, te zbog relativno male dubine od 7 m temperatura je bila  $27\text{ }^\circ\text{C}$ , za razliku od prve dvije lokacije gdje je temperatura bila  $22\text{ }^\circ\text{C}$  zbog veće dubine istraživanja. No, to ne objašnjava i dalje visoku brojnost u istraživanju B. U istraživanju B je veći broj jedinki na L1 i L2, a manji na REF u odnosu na A istraživanje. Porast populacije na prve dvije lokacije može se povezati s povećanim unosom organske tvari nakon intenzivnog hranjenja ribe u rujnu, a smanjenje na REF sa smanjenjem temperature i završetkom mrijesta. Povećana gustoća populacije na REF, odnosno manja gustoća na L1 i L2 direktno su povezani s veličinom jedinki.



Referirajući se na istraživanje Hannah i sur. (2012.) u uzgojnom eksperimentu. Ako su trpovi manji imaju više mjesta za razvoj, onda će ih biti i više na promatranom području, ako su trpovi veći, imaju manje mjesta za razvoj, onda će ih biti manje na promatranom području. Također u radu Mušin i Marukić (2007.), navodi se kako je gustoća populacije trpova u prirodi obično 1-2 primjerka/m<sup>2</sup>, što je približno točno i u ovom istraživanju.

Istraživanjem ustanovljeno je da je visoka gustoća populacije na referentnoj točki uvjetovana samom dužinom jedinki koja je u prosjeku iznosila 12,5 cm za REF-A i 10,56 cm za REF-B, dok su na L1 i L2 te brojke bile znatno veće (L1-A= 20,62 cm, L2-A= 21,15 cm, L1-B= 20,07 cm i L2-B= 17,97 cm). Dakle, pretpostavlja se da su trpovi na L1 i L2, koji su pod direktnim antropogenim utjecajem, znatno veći u odnosu na REF zbog visoke koncentracije hrane u okolišu. Samim time pretpostavka je da je veličina jedinki obrnuto proporcionalna od gustoće populacije. Maksimalne veličine jedinki u istraživanju A su čak za 6 cm veće kod L1-A i L2-A u odnosu na L1-B i L2-B, dok je na REF ta razlika 3 cm. U uzorkovanju A razlika između L1 i L2 je 2 cm, a između L1 i REF je 6 cm. U istraživanju B razlika u maksimalnoj duljini između L1 i L2 je 2 cm, te kod L1 i REF je 6 cm. Za razliku od maksimalne, minimalna duljina u istraživanju A na L1 je 14 cm što je više nego dvostruko veće od REF (6 cm). U B istraživanju je minimalna duljina na L1 (14 cm) i više nego trostruko veća nego na REF (4 cm) . Dok je razlika između L1 i L2 u oba istraživanja samo 1 cm i iznosi 14 cm za L1 i 13 cm za L2.

Nadalje u istraživanju Žgeča (2018.), vršeno je istraživanje s tri različite razine antropogenog utjecaja na školjke *Pinna nobilis* (Linne, 1758.) i morske trave *Posidonia oceanica* (Linne, 1758.) iz odabranih lokacija u Nacionalnom parku Kornati. Svrha istraživanja bila je utvrditi geokemijska i izotopska svojstva plemenite periske *P. nobilis*, morske cvjetnice *P. oceanica* i kvrgavog volka *Hexaplex trunculus* (Linnaeus, 1758.) kao i sedimenta na lokacijama uzorkovanja. Potvrđeni su visoki sadržaji toksičnih elemenata Zn, Mn, As, Cu, Se, Mo, Ni, Cr, Cd, Co, Pb, Sn u tkivu plemenite periske, kvrgavom volku i u sedimentu na svim lokacijama osim referente točke koja je pod strogom zaštitom NP Kornati. Ustanovljeno je da su uzroci za povišene toksične tvari prekomjeran pomorski promet, neriješena infrastruktura na obali, razne kemikalije s brodova i pesticidi koji se koriste u poljoprivredi.

U laboratorijskom istraživanju sadržaj esencijalnih elemenata u uzorcima se razlikuje po lokacijama. Rezultati su pokazali da je udio Ca, K, Mg, Na, P i S veći u uzorcima L1 u odnosu na ostale dvije lokacije. Gledajući uzorke po A i B istraživanjima zaključuje se da nema prevelikih odstupanja u udjelima između istih. Najveća razlika je u padu kalcija u uzorcima iz B istraživanja u odnosu na A. Vidljiv je pad magnezija i natrija na L1-B u odnosu na L1-A, ali i porast natrija na L2-B i REF-B u odnosu na L2-A i REF-A. Također potvrđen je udio toksičnih elemenata (Ag, Al, As, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb, Se, Sn i Zn) u trpovima, koji je u usporedbi s esencijalnim znatno manji, ali itekako bitan. Sadržaj teških metala znatno se razlikuje između A i B istraživanja. Visok sadržaj Zn u uzorcima vjerojatno ima biogeno podrijetlo iz aragonita (skelet i ljuštore morskih organizama). Rb, Cr i Pb vezani su za dolomit u sedimentu. Mg-kalciti (biogeni karbonati – školjke) imaju veći udio Zn u sedimentu, što je normalno. Čisti kalcit i Sr u sedimentu idu zajedno zbog sličnog kemijskog afiniteta. Rb u uzorcima vjerojatno je posljedica Rb u kalcitu, koji je terigen. Teški metali u sedimentima (Cr, Pb) vezani su za organsku tvar u sedimentu koju predstavljaju elementi (Mo, Nb, Ba) i to je, uglavnom na lokaciji REF. Kvarc, terigeno (s otoka) kao i Cu u sedimentima koji su primili Cu zbog terigenog unosa s otoka. Teški metali u uzorcima rezultat su terigenog materijala koji se razlikuje između lokacija L1, L2 i REF. U odnosu na slično istraživanje J.Wen-a i C.Hu-a (2010.) Sadržaj esencijalnih elemenata u svim uzorcima je čak i veći u ovom istraživanju, dok su vrijednosti teških metala sličnih koncentracija kod svih uzoraka.

Podaci o utjecaju akvakulture na okoliš na Jadranu nisu brojna. U istraživanju Dolenc i sur. (2007.) provedeno u Murterskom moru i u poluzatvorenom Pirovačkom zaljevu istraživao se utjecaj uzgajališta za uzgoj ribe i drugih antropogenih utjecaja (kanalizacija), mjerenjem stabilnog izotopskog sastava dušika ( $\delta^{15}\text{N}$ ) u morskoj spužvi *Aplysina aerophoba* (Nardo, 1833.), školjkašu *Balanus perforatus* (Bruguière, 1789.) i u smeđoj vlasulji *Anemonia sulcata* (Pennant, 1777.). Vrijednost  $\delta^{15}\text{N}$  odabranih organizama bila je viša oko kaveza s ribama, kao i na mjestima zagađenim otpadnim vodama, u usporedbi s referentnim mjestom i nekim drugim netaknutim lokacijama na moru, slično kao i ovo istraživanje koje pokazuje jasnu razliku između sve tri lokacije (L1, L2 i REF) u vrijednosti  $\delta^{15}\text{N}$  u oba perioda istraživanja, ali i „povišene“ vrijednosti izotopskog sastava dušika nakon intenzivnog hranjenja ribe u blizini kaveza (L2-B). Rezultati Dolenc i sur. (2007.) sugeriraju da su povećane vrijednosti  $\delta^{15}\text{N}$  u česticama organskih tvari i u bioti u pogođenim područjima uglavnom posljedica gubitaka dušika rasipanjem hrane za životinje

i izlučivanjem riba (izmet), ali također i zbog ispuštanja otpadnih voda u morske obalne ekosustave. Sastav  $\delta^{15}\text{N}$  u organizmima *A. aerophoba*, *A. sulcata* i *B. perforatus* prikupljenim ispod i oko kaveza je bio 6,8, 6,5 i 5,2 ‰. U ovom istraživanju te vrijednosti za *H. tubulosa* su nešto veće, a iznose 7,08 ‰ za L1-A, 6,78 ‰ za L2-A i 6,93 ‰ za L1-B, 7,13 ‰ za L2-B. U uzorcima s referentne točke, ta vrijednost je vidljivo niža (REF-A= 5,37 ‰ i REF-B= 5,67 ‰).

Izotopi dušika pokazuju jasnu razliku između uzoraka, odnosno između lokacija. Mogući uzrok tome je veća količina nutrijenata na L1 i L2.

## 6.2. ANALIZA REZULTATA SEDIMENTA

Brojna su istraživanja koja obuhvaćaju antropogeni utjecaj na morski okoliš. U istraživanju Župan i sur. (2017.) proučavao se antropogeni utjecaj između lokacija s različitim režimom upravljanja u NP Kornati na vrstu morskog puža kvrgavi volak *H. trunculus*. Istraživanje se provodilo na 5 različitih lokacija s tri različite jačine antropogenog utjecaja i različitim stupnjem zaštite. Ispitane su geokemijske, mineralne i izotopne karakteristike sedimenta i mesa morskog puža *H. trunculus*. Razine onečišćenja, faktor obogaćenja (EF) i indeks geoakumulacije (IGEO) za određene toksične elemente izračunati su na svakoj lokaciji uzorkovanja. Usporedba lokacija s različitim stupnjem antropogenog utjecaja temelji se na vrijednostima za elemente: Al, As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb, Sn, Ti, Zn i Si. Mineralna analiza potvrdila je podudaranje mineralnog sastava sedimenta s kornatskom geološkom strukturom. Izračunavanjem EF i IGEO otkriveno je povećano zagađenje s kadmijem (Cd), kromom (Cr), bakrom (Cu) i cinkom (Zn) na određenim uzorkovanim lokacijama. U usporedbi s prethodnim istraživanjima u Hrvatskoj, koncentracije toksičnih elemenata bile su slične ili niže, što je rezultiralo ocjenom niske razine antropogenog onečišćenja u NP Kornati (Mihelčić i sur., 2010.; Komar i sur., 2016.). Područja s strogim režimom upravljanja (zona stroge zaštite i zona usmjerene zaštite) pokazuju karakteristike dugoročno održivog upravljanja u usporedbi s područjima korištenja.

XRD analiza sedimenta pokazala je visok sadržaj minerala aragonita, kvarca, kalcita-Mg, kalcita, Mg-kalcita, dolomita i halita. Osobito se ističe aragonit kojeg ima znatno više kod svih 18 uzoraka nego li drugih minerala, što naravno nije ni neobično jer je sastavni element ljuštura kod morskih organizama. Najviše ga ima ispod i u blizini kaveza, ponajviše zbog povećane brojnosti organizama na tim lokacijama. Primjećuje se blagi porast kalcit-Mg što se više udaljavamo od kaveza u oba istraživanja, ali i smanjenje kvarca u A istraživanju, odnosno povećanje u B istraživanju na referentnoj točki u odnosu na lokaciju 1 i 2. XRD analiza potvrdila je sličan sastav minerala u sedimentu i u ostalim istraživanjima na Jadranu, Župan i sur. (2017.).

XRF analizom dobio se detaljniji elementni sastav sedimenta. Od pronađenih glavnih esencijalnih elemenata najviše se ističe kalcij-oksidi, čiji je udio kod svih uzoraka sedimenta minimalno 40 %. Najviše koncentracije zabilježene su na 2. lokaciji kod svih uzoraka sedimenta. CaO je vezan na minerale, koji se u većim količinama nalaze u sedimentu (kalcit i dolomit) i kao takav nalazi se u osikulama raspoređenima u kožno mišićnoj mješini trpova. Drugi najzastupljeniji spoj je silicijev oksid kojeg najviše ima u uzorcima A-1-1, A-1-2 i A-1-3 i u uzorcima B-R-1, B-R-2 i B-R-3. SiO<sub>2</sub> je sustavni dio kvarca, i isto je zastupljen u sedimentima. U usporedbi s SiO<sub>2</sub> i CaO ostali spojevi su nižih koncentracija. MgO je vezan na Mg-kalcit i dolomit, a Al nastaje vjerojatno trošenjem okolnih stijena, gdje nastaju aluminijevi oksidi i hidroksidi (boksit) kao netopljivi ostatak. Sadržaj metala u sedimentu sličnog je sadržaja kao i u trpovima, ali različitih količina. Ponajviše se ističe stroncij kao i kod trpova, kojeg ima dosta u svim uzorcima. Zanimljiv je visok sadržaj cinka u uzorku B-1-1, koji se izrazito ističe u odnosu na druge uzorke (mesing ili pocinčani metal).

## 7. ZAKLJUČAK

Prosječna veličina jedinki, gustoća populacije i sastav mesa trpa i sastav sedimenta ispod kaveza ukazuju na to da postoji potencijal za uzgoj. Naravno, ovo istraživanje nije provedeno u kontroliranim uvjetima kroz duži vremenski period u kojem bi se ustanovila brzina rasta i razvoja jedinki, kao i optimalna gustoća populacije potrebna za uspješan uzgoj. Akvakultura, kao antropogeni čimbenik ima utjecaj na okoliš. U nekim slučajevima i na neke organizme, taj utjecaj može biti negativan. U ovom istraživanju na trpovima *H. tubulosa* pokazalo se da je taj utjecaj pozitivan i da trpovi mogu uspješno preživljavati ispod kaveza, pod utjecajem organske tvari. Ne samo preživljavati već uspješno čistiti okoliš i na taj način činiti da akvakultura, kao jedna od vodećih prehrambenih industrija, postane ekološki, a i ekonomski još više razvijena. U konačnici potrebna su dodatna istraživanja o životnom ciklusu trpova i utjecaju akvakulture na njih. Kako bi se u budućnosti omogućilo potencijalno uvođenje nove komercijalno zanimljive vrste u uzgoj na Jadranu, ali i ostatku Sredozemlja.

## 8. LITERATURA

- Bordbar S., Anwar F., Saari N. (2011.). High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods. *Mar. Drugs*. 9(10): 1761–1805.
- Chen J. (2004.). Present status and prospects of sea cucumber industry in China. In *Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management* (A. Lovatelli, C. Chantal, S. Purcell, S. Uthicke, J.F. Hamel, A. Mercier, eds). Food and agriculture organization of the united nations, Rome, Italy. 25-38.
- Dae Kim Y., Kyung Shin Y., Seon Park M., Jung Lee H., Wook Hur J., Ae Park M., Hyun Do Y., Khawaja M. I. B., Jae-Suk C. (2017.). A Study on Polyculture of Oyster (*Crassostrea gigas*), Sea Squirt (*Halocynthia roretzi*) and Sea Cucumber (*Apostichopus japonicus*) under a Hanging Culture System. *Turk. J. Fish. & Aquat. Sci.* 20(5), 387-400, Republic of Korea.
- DES (2018.). *Monitoring and Sampling Manual: Environmental Protection (Water) Policy*. Brisbane: Department of Environment and Science Government.
- Despalatović M., Grubelić I., Šimunović A., Antolić B., Žuljević A. (2004.). Reproductive biology of the holothurian *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) in the Adriatic Sea. *J Mar Biol Assoc UK* 84: 409– 414.
- Djillali B., Saliha D., Fayçal C., Yamina T., Mohamed B., (2017.). Study of the Physiological Indices of Sea Cucumber *Holothuria tubulosa* (Gmelin, 1788) of the Oranaise Coast (Algeria) *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR)* ISSN 2307-4531.
- Dolenec T., Lojen S., Kniewald G., Dolenec M., Rogan N., (2007.). Nitrogen stable isotope composition as a tracer of fish farming in invertebrates *Aplysina aerophoba*, *Balanus perforatus* and *Anemonia sulcata* in central Adriatic. *Aquaculture* Volume 262, Issues 2–4, 237-249.

- Eeckhaut I., Lavitra T., Rasoforinina R., Rabenevanana M., Gildas P. i Jangoux M. (2008.). Madagascar Holothurie SA: The first trade company based on sea cucumber aquaculture in Madagascar. SPC Beche de Mer Information Bulletin #28.
- FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture (2022.). Towards Blue Transformation. Rome, Italy, FAO.
- Georgios K., Alexios L., Dimitris V., (2014.). Reproductive cycle of the traditionally exploited sea cucumber *Holothuria tubulosa* (Holothuroidea: Aspidochirotida) in Pagasitikos Gulf, western Aegean Sea, Greece. *Turkish Journal of Zoology* 38: 306-315.
- Hannah L., Pearce C.M., Cross S.F. (2012.). Growth and survival of California sea cucumbers (*Parastichopus californicus*) cultivated with sablefish (*Anoplopoma fimbria*) at an integrated multi-trophic aquaculture site. Fisheries and Oceans Canada, Pacific Biological Station, Nanaimo, British Columbia V9T 6N7, University of Victoria, Department of Geography and Coastal Aquaculture Research & Training Network, Victoria, British Columbia V8P 5C2, SEA Vision Group Inc., Courtenay, British Columbia V9N 9N8, Canada.
- Komar, D. (2016.). Bioavailability and geochemical characteristics of recent marine sediment of Makirina Bay (Northern Dalmatia, Republic of Croatia). Doktorska disertacija, Sveučilište u Ljubljani. Str. 2-4.
- Lay V. (2007.). Održivi razvoj i vođenje, Institut društvenih znanosti Ivo Pilar, Zagreb UDK: 316.43
- Mao Y., Huang Y., Liu Q., (2015.). Chapter 20 – Processing and Cuisine. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, Volume 39, 2015, 367-382.
- Matoničkin I., Habdija I., Primc-Habdija B., (1999.). *Beskralješnjaci - Biologija viših avvertebrata*, Školska knjiga. Zagreb, Hrvatska.
- Mihelčić, G., Barišić, D., Vidović, N., Legović, T., Mihelčić, V. (2010.). Impact of Tourism on trace metal concentrations (Pb, Cr, Ni, Cu and Zn) in sediments of Telašćica Bay (East Adriatic – Croatia). *Croatica Chemica Acta*, vol. 83, str. 333-339.

- Motokawa T. (2019.). Skin of sea cucumbers: the smart connective tissue that alters mechanical properties in response to external stimuli. Department of Biological Sciences, Tokyo Institute of Technology, Japan
- Mušin D., Marukić M. (2007.). Iz morskih dubina, vlast. Nakl., Korčula, Hrvatska.
- Neori A., Chopin T., Troell M., Buschmann A. H., Kraemer G. P. Halling C., Shpigel M., Yarish C., (2004.). Integrated aquaculture: rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture*, 231, 361-391.
- Purcell S. W., Samyn Y., Conand C. (2012.). Commercially important sea cucumbers of the world. food and Agriculture organization of the united nations, Rome, 1-84.
- Purcell W. S., Lovatelli A., Vasconcellos M., Ye Y. (2010.). Managing sea cucumber fisheries with an ecosystem approach. Division FAO Fisheries and Aquaculture Department Rome, Italy.
- Rakaj A., Fianchini A., Boncagni P., Lovatelli A., Scardi M., Cataudella S., (2017.) Spawning and rearing of *Holothuria tubulosa*: A new candidate for aquaculture in the Mediterranean region. *Aquaculture Research* Volume 49, Issue 1: 557-568.
- Ramofafia C., Gervis M., Bell J., (1995.). Spawning and early larval rearing of *Holothuria atra*. *SPC Beche-de-mer Inf. Bull.*7: 2– 7.
- Setiawati N. K. M., Sembiring S. B. M., Sudewi S., Giri I. N. A. (2023.). Polyculture of sea cucumber (*Holothuria scabra*) and milkfish (*Chanos chanos*) in controlled tanks. Research Center for Fishery, National Research and Innovation Agency (BRIN), Cibinong, Bogor, Indonesia.
- Sicuro B., Levine J. (2011.) Sea cucumber in the Mediterranean: A potential species for aquaculture in the Mediterranean, *Reviews in Fisheries Science*, 19:3, 299-304.
- Sigman D.M., Casciotti K.L., (2001.). Nitrogen isotopes in the ocean, Princeton University, Princeton, NJ, SAD.



- Zamora L. N., Yuan X., Carton G. A., Slater J. M. (2016.). Role of deposit-feeding sea cucumbers in integrated multitrophic aquaculture: progress, problems, potential and future challenges. *Reviews in Aquaculture* (2016) 0, 1-18.
- Zhong Y., Khan M. A., Shahidi F. (2007.). Compositional Characteristics and Antioxidant Properties of Fresh and Processed Sea Cucumber (*Cucumaria frondosa*). *J. Agric. Food Chem.* 1188-1192.
- Žgeč B. (2018.) Geochemical and isotopic study of sediments, fan mussel (*Pinna nobilis*) and seagrass (*Posidonia oceanica*) from selected locations in the National park Kornati (Croatia). Faculty of Natural Sciences and Engineering, Department of Geology, University of Ljubljana, Slovenija
- Župan I. Peharda M. Bavčević L. Šarić T. Kanski D. (2012.). Mogućnost razvoja integrirane multi-trofičke akvakulture na Jadranu. *Croatian Journal of Fisheries* 70, Supplement 1, S125-S137.
- Župan I., Šarić T., Šikić Z., Dolenc M., Dolenc T., Lojen S., Kanski D., (2017.) Usporedba jakosti antropogenog utjecaja između lokacija s različitim režimom upravljanja u NP Kornati. Odjel za Ekologiju, Agronomiju i Akvakulturu, Sveučilište u Zadru, Hrvatska.
- Wen J., Hu C. (2010.) Elemental composition of commercial sea cucumbers (holothurians). *Food Additives & Contaminants* 3(4):246-52.
- Wen J., Hu C., Fan S. (2010.). Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. *J. Sci. Food Agric.*90: 2469–2474.
- Yan Z., Peng S., Jinxi S., Qu L., (2018.). Application of Nitrogen and Oxygen Isotopes for Source and Fate Identification of Nitrate Pollution in Surface Water: A Review, *Applied Sciences*, MDPI, Basel, Švicarska.