

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE
IN INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

MAGISTRSKO DELO

VELIKOSTNA IN KEMOTAKSONOMSKA SESTAVA
FITOPLANKTONSKE ZDRUŽBE V OBALNEM MORJU
(TRŽAŠKI ZALIV)

MAŠA PANJAN

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Magistrsko delo

**Velikostna in kemotaksonomska sestava fitoplanktonske združbe v
obalnem morju (Tržaški zaliv)**

(The size and chemotaxonomic structure of the phytoplankton community in coastal
sea (Gulf of Trieste))

Ime in priimek: Maša Panjan

Študijski program: Varstvo narave, 2. stopnja

Mentorica: izr. prof. dr. Patricija Mozetič

Delovni somentorici: dr. Vesna Flander Putrle, dr. Janja Francé

Koper, julij 2018

Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Maša PANJAN

Naslov magistrskega dela: Velikostna in kemotaksonomska sestava fitoplanktonske združbe v obalnem morju (Tržaški zaliv)

Kraj: Koper

Leto: 2018

Število listov: 70

Število slik: 17

Število tabel: 5

Število referenc: 124

Mentorica: izr. prof. dr. Patricija Mozetič

Delovni somentorici: dr. Vesna Flander Putrle, dr. Janja Francé

UDK: 582.261/.279(497.472)(043.2)

Ključne besede: Fitoplankton, klorofil *a*, fotosintezna barvila, HPLC, velikostna sestava, mikrop plankton, nanop plankton, pikoplankton, Tržaški zaliv

Izvleček:

Velikostna sestava fitoplanktonske združbe je odvisna od fizikalnih, kemičnih in bioloških dejavnikov. Ti so v obalnih morjih zelo spremenljivi, zato so tudi za fitoplanktonsko združbo značilna velika letna in medletna nihanja. Namen naloge je bil prikazati spremenljivost fitoplanktona Tržaškega zaliva v enem letu in določiti vpliv okoljskih dejavnikov na spremenljivost biomase treh velikostnih razredov fitoplanktona ter glavnih taksonomskih skupin. V preučevanem letu 2015 smo opazili precejšnje razlike v fitoplanktonski združbi med površinskim (1 in 10 m) in pridnenim slojem (21 m). Razpon koncentracij klorofila *a* ($0,19\text{--}2,12\ \mu\text{g l}^{-1}$) je pokazal prostorsko in časovno spremenljivost biomase fitoplanktona. V površinskem sloju smo zabeležili dva viška biomase, spomladanskega in jesenskega, pri dnu pa je bila biomasa visoka od konca pomladi do jeseni. Celo leto je prevladoval nanop planktonski velikostni razred ($51 \pm 11\%$), ki mu je sledil pikoplanktonski ($31 \pm 11\%$). Le ob jesenskem višku biomase je v vseh vodnih slojih prevladal mikrop plankton ($47\text{--}54\%$). Med fotosinteznimi barvili sta bili najpomembnejši fukoksantin, značilen za diatomeje, ki je prevladoval zlasti ob jesenskem višku biomase, in 19'-heksanoiloksifukoksantin, značilen za haptofite, ki je prevladoval ob spomladanskem višku. V metodološkem delu naloge smo ugotovili, da so koncentracije klorofila *a* pri steklenih GF/F filtrih nekoliko višje kot pri polikarbonatnih (PC). Primerjava fluorimetrične in HPLC metode za določanje velikostno frakcionirane biomase pa je pokazala, da so izmerjene vrednosti nekoliko višje od izračunanih.

Key words documentation

Name and SURNAME: Maša PANJAN

Title of the Master thesis: The size and chemotaxonomic structure of the phytoplankton community in coastal sea (Gulf of Trieste)

Place: Koper

Year: 2018

Number of pages: 70

Number of figures: 17

Number of tables: 5

Number of references: 124

Mentor: Assoc. Prof. Patricija Mozetič, PhD

Co-Mentor: Vesna Flander Putrle, PhD, Janja Francé, PhD

UDK: 582.261/.279(497.472)(043.2)

Keywords: Phytoplankton, Chlorophyll *a*, photosynthetic pigments, HPLC, size structure, microplankton, nanoplankton, picoplankton, gulf of Trieste

Abstract:

The size structure of phytoplankton community depends on physical, chemical and biological factors. In coastal seas, these factors are highly variable, which is then reflected in annual and interannual fluctuations of phytoplankton communities. The aim of this study was to show the variability of phytoplankton in the Gulf of Trieste in one year and to determine the effect of environmental factors on biomass of three phytoplankton size classes and main taxonomic groups. During the year 2015, we noticed considerable differences between the upper (1 and 10 m) and the bottom layer (21 m). The range of chlorophyll *a* concentrations ($0.19\text{--}2.12\ \mu\text{g l}^{-1}$) showed temporal and spatial variability of phytoplankton biomass. In the upper layer, we detected two annual peaks of phytoplankton biomass, in spring and in autumn, whereas in the bottom layer the biomass was high from the end of the spring until autumn. Nanoplankton was the dominated size class ($51 \pm 11\%$) throughout the year, followed by picoplankton ($31 \pm 11\%$). In all the layers microplankton size class dominated only during autumn peak (47-54 %). Prevalent photosynthetic pigments were fucoxanthin, which is the main pigment of diatoms and dominated mainly in the autumn peak, and 19'-hexanoyloxyfucoxanthin, characteristic of haptophytes, which dominated during spring. Different methodological approach in determining chlorophyll *a* concentrations gave little higher results using glass microfiber filters (GF/F) in contrast to polycarbonate (PC). Comparison between fluorimetric and HPLC method for determining the size-fraction biomass showed that the measured values were slightly higher than calculated.

ZAHVALA

Najlepše se zavaljujem mentorici izr. prof. dr. Patriciji Mozetič za njeno strokovno pomoč in svetovanje pri pisanju magistrskega dela. Iskreno se ji zahvaljujem za vse deljene izkušnje in znanje ter za vloženo delo, trud, vzpodbude in potrpežljivost skozi nastajanje tega dela. Prav tako bi se ji rada zahvalila, da mi je omogočila raziskovalno delo na Morski biološki postaji v Piranu in izdelavo diplomskega ter tudi magistrskega dela pod svojim okriljem. Predvsem pa sem ji zelo hvaležna, da mi je kot mentorica omogočila nabiranje znanj in izkušenj s področja morske biologije.

Posebna zahvala gre tudi somentoricama dr. Vesni Flander Putrle in dr. Janji Francé za pomoč pri pisanju, kritične pripombe ter nasvete ob nastanku tega dela. Prav tako se zahvaljujem za možnost uporabe podatkov in rezultatov, ki smo jih potrebovali. Najlepša hvala za pomoč in vložen trud.

Zahvaljujem se tudi Morski biološki postaji Piran Nacionalnega inštituta za biologijo za omogočeno raziskovalno in laboratorijsko delo, ki sem ga izvajala med nastankom magistrskega dela.

Priložnost bi izkoristila tudi, da se zahvalim še svojim bližnjim, za njihove spodbudne besede in potrpežljivost, saj je bilo pisanje naloge z njihovo pomočjo precej lažje.

To delo pa bi rada posvetila majhni zvezdici, ki je zasijala v mojem življenju in ga naredila veliko razburljivejšega in čudovitega.

KAZALO VSEBINE

1	UVOD	1
1.1	SPLOŠNE EKOLOŠKE ZNAČILNOSTI FITOPLANKTONA.....	1
1.2	SEZONSKA DINAMIKA FITOPLANKTONSKE ZDRUŽBE OBALNEGA MORJA	4
1.3	METODE DOLOČANJA BIOMASE IN TAKSONOMSKE SESTAVE FITOPLANKTONA.....	5
1.4	RAZISKOVALNE HIPOTEZE IN CILJI	6
2	MATERIALI IN METODE.....	7
2.1	OPIS OBRAVNAVANEGA OBMOČJA.....	7
2.2	VZORČENJE IN TERENSKE MERITVE.....	9
2.3	LABORATORIJSKE ANALIZE.....	10
2.3.1	Hranilne snovi	10
2.3.2	Določanje koncentracije klorofila <i>a</i>	10
2.3.3	Določanje fotosinteznih barvil	12
2.4	STATISTIČNE ANALIZE	15
3	REZULTATI	16
3.1	ABIOTSKE ZNAČILNOSTI TRŽAŠKEGA ZALIVA	16
3.1.1	Temperatura, slanost, stabilnost vodnega stolpa in prosojnost morske vode.....	16
3.1.2	Hranila.....	19
3.2	BIOMASA IN VELIKOSTNA SESTAVA FITOPLANKTONA.....	21
3.2.1	Primerjava metod določanja koncentracije klorofila <i>a</i>	21
3.2.2	Koncentracije klorofila <i>a</i> in feopigmentov	23
3.2.3	Časovna porazdelitev velikostnih razredov fitoplanktona	25
3.3	KEMOTAKSONOMSKA SESTAVA FITOPLANKTONA	29
3.3.1	Koncentracije fotosinteznih barvil	29
3.3.2	Časovna dinamika taksonomskih skupin fitoplanktona	31
3.3.3	Primerjava metod določanja velikostnih razredov fitoplanktona.....	35
3.4	VPLIV ABIOTSKIH DEJAVNIKOV NA FITOPLANKTONSKO ZDRUŽBO	36

4	DISKUSIJA	39
4.1	METODOLOGIJA DOLOČANJA EKOLOŠKIH ZNAČILNOSTI FITOPLANKTONA.....	39
4.1.1	Fluorimetrično določanje koncentracije klorofila <i>a</i> z uporabo različnih filtrov	39
4.1.2	Določanje velikostno frakcionirane biomase fitoplanktona po dveh metodah.....	40
4.1.3	Uporaba HPLC metode v kemotaksonomiji	41
4.2	EKOLOŠKE ZNAČILNOSTI FITOPLANKTONA V SLOVENSKEM MORJU	42
4.2.1	Dinamika klorofila <i>a</i>	43
4.2.2	Dinamika velikostne in taksonomske sestave fitoplanktona	44
4.2.3	Dejavniki, ki vplivajo na sestavo fitoplanktonske združbe	48
5	SKLEPI	50
6	LITERATURA	52

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Taksonomske skupine fitoplanktona, njihova značilna barvila oz. biomarkerji ter eksperimentalno določene vrednosti faktorja K za posamezno barvilo	13
Preglednica 2: Primerjava dveh metod za določanje koncentracij klorofila <i>a</i> v treh velikostnih razredih.	35
Preglednica 3: Kendallov korelacijski koeficient na globini 1 m	37
Preglednica 4: Kendallov korelacijski koeficient na globini 10 m	37
Preglednica 5: Kendallov korelacijski koeficient na globini 21 m	38

KAZALO SLIK

Slika 1: Nekateri fitoplanktonski predstavniki	1
Slika 2: Tržaški zaliv (Jadransko morje) in vzorčevalna postaja 00BF.....	7
Slika 3: Sistem zaporedne filtracije, uporabljeni filtri z različno velikostjo por in filtracija morske vode na GF/F ter PC filtrih.....	11
Slika 4: Primer rezultata HPLC analize za prepoznavanje fotosinteznih barvil: kromatogram naravnega vzorca morske vode.....	12
Slika 5: Porazdelitev temperature morske vode na posameznih globinah vodnega stolpa.	17
Slika 6: Porazdelitev slanosti morske vode na posameznih globinah vodnega stolpa	17
Slika 7: Prikaz gostotnega gradienta morske vode	18
Slika 8: Prikaz prosojnosti morske vode.....	18
Slika 9: Koncentracije hranilnih snovi na posameznih globinah vodnega stolpa.....	20
Slika 10: Primerjava dveh metod določanja koncentracije Chl <i>a</i>	22
Slika 11: Koncentracije klorofila <i>a</i> in feopigmentov na posameznih globinah vodnega stolpa	24
Slika 12: Relativni deleži posameznih velikostnih razredov fitoplanktona in celotna koncentracija klorofilne biomase na različnih globinah vodnega stolpa	26
Slika 13: nMDS diagram, ki prikazuje razvrstitev vzorcev na prvih dveh ordinacijskih oseh glede na koncentracije Chl <i>a</i> v treh velikostnih razredih	28
Slika 14: Sezonska dinamika fotosinteznih barvil na različnih globinah vodnega stolpa ..	30
Slika 15: Relativni deleži posameznih taksonomskih skupin fitoplanktona in celotna koncentracija klorofilne biomase na treh različnih globinah	32
Slika 16: nMDS diagram, ki prikazuje razvrstitev vzorcev na prvih dveh ordinatnih oseh glede na sestavo fitoplanktonskih skupin.....	34
Slika 17: Mikroskopski posnetek senescentne fitoplanktonske združbe v Tržaškem zalivu 16. julija 2015 s prevladujočim diatomejskim rodом <i>Chaetoceros</i>	46

1 UVOD

1.1 SPLOŠNE EKOLOŠKE ZNAČILNOSTI FITOPLANKTONA

Fitoplankton predstavljajo majhne, v vodi lebdeče, večinoma enocelične alge, ki za svoj obstoj potrebujejo sončno svetlobo. Predstavnike najdemo tako med prokarioti in evkarioti (Graham in sod. 2009). Velikost fitoplanktona se giblje od 1 μm do v povprečju največ 70 μm , nekaj predstavnikov pa je lahko velikih tudi do 1 mm (Miller 2004). V morju najdemo približno 5000 fitoplanktonskih vrst (Tett in Barton 1995). Poleg svetlobe imajo pomembno vlogo še drugi abiotiski in biotski dejavniki, kot so zaloga hranil, razslojenost vodnega stolpa ter turbulenca, temperatura vode, slanost, paša idr. (Andersson in sod. 1994).

Čeprav tvorijo isto ekološko skupino – fitoplankton, pa se njegovi predstavniki močno razlikujejo med seboj. Kriteriji, uporabljeni pri razvrstitvi fitoplanktona v skupine, vključujejo morfološke, fiziološke in ekološke značilnosti, prav tako pa tudi taksonomijo (Salmaso in sod. 2015). Glede na taksonomijo najdemo predstavnike fitoplanktona v dveh domenah (*sensu* Woese in sod. 1990) – v domeni bakterij in domeni evkariotov. V prvo sodijo fotosintetske bakterije iz debela cianobakterij (*Cyanobacteria*), evkariotski predstavniki fitoplanktona pa zasedajo različna debela in razrede alg (klasifikacija višjih taksonov je povzeta po internetni podatkovni bazi AlgaeBase; <http://www.algaebase.org/>). Najpomembnejše taksonomske skupine morskega fitoplanktona, tako po številu vrst kot po abundanci, so diatomeje (deblo Bacillariophyta), dinoflagelati (nadržred Dinoflagellata), kokolitoforidi in ostali haptofiti (deblo Haptophyta, razred Coccolithophyceae), kriptofiti (deblo Cryptophyta), enocelične zelene alge (deblo Chlorophyta) ter enocelične cianobakterije (Slika 1).



Slika 1: Nekateri fitoplanktonski predstavniki (cianobakterije, diatomeje, dinoflagelati, zelene alge in kokolitoforide) (Vir: www.earthobservatory.nasa.gov/Features/Phytoplankton/).

Zelo pogosta je delitev fitoplanktona glede na velikost celic. Glavni velikostni razredi fitoplanktona so mikrop plankton, nanoplankton in pikoplankton. V mikrop planktonski razred uvrščamo fitoplankton, katerega velikost se giblje od 20 do 200 μm (Morris 1980, Fogg in Thake 1987, Uitz in sod. 2006), kjer najdemo predstavnike diatomej ter dinoflagelatov. V nanoplanktonsko skupino spadajo fitoplanktonske celice, velike od 2 do 20 μm (različni taksoni bičkastih enoceličnih alg, imenovani tudi nanoflagelati) (Dawes 1997, Uitz in sod. 2006). V pikoplanktonski razred pa se uvrščajo celice, manjše od 2 μm , med katere spadajo predvsem cianobakterije in drugi manjši evkarionti (Herbland in sod. 1985, Uitz in sod. 2006).

Fitoplankton predstavlja prvo trofično raven pelaških prehranjevalnih verig in je zaradi svoje vloge kot primarni producent precej preučevan (Dawes 1997, Miller 2004). Biomasa planktonskih alg je osnova, ki podpira zooplankton na drugi trofični ravni in s tem tudi vse višje člene prehranjevalnih verig, ki jih zasedajo karnivorni zooplankton, pelaške ribe, hrustančnice ter sesalci. Fitoplankton ima pomembno vlogo pri globalnem kroženju ogljika, saj fitoplanktonska produkcija v oceanih predstavlja približno polovico globalne primarne produkcije (Geider in sod. 2001, Graham in sod. 2009). Fotosinteza fitoplanktona pripomore k zmanjševanju visokih koncentracij CO_2 v ozračju, ki nastaja pri prekomernem izgorevanju fosilnih goriv in kot posledica krčenja gozdov ter izsuševanja travnikov zaradi kmetijskih aktivnosti (Behrenfeld in sod. 2002). Te človeške aktivnosti so tudi eden od vzrokov za povečano število hranil v rekah, jezerih in obalnih morjih, kjer lahko pride do škodljivih cvetenj alg (Graham in sod. 2009).

Fitoplankton za izgradnjo biomase v procesu fotosinteze potrebuje vodo, svetlobo, anorganska (spojine ogljika, fosforja, dušika, silicija, žvepla, železa itd.) ter tudi organska hranila (vitamini) (Liebig 1840, Dawes 1997). Če v okolju primanjkuje katerega koli od teh rastnih dejavnikov, govorimo o omejujočem oziroma limitirajočem dejavniku (Liebig, 1840). Prostorska in časovna dinamika fitoplanktona v nekem okolju je povezana predvsem z razpoložljivostjo glavnih hranil. Redfieldovo razmerje določa, da je elementna (C, N, P) sestava organske snovi v morju, vključno z algami, praviloma stalna in povečini enaka razmerju teh elementov v anorganskih hranilih, in sicer: $\text{C} : \text{N} : \text{P} = 106 : 16 : 1$ (Redfield 1934). Takšno atomsko razmerje elementov naj bi veljalo tudi za fitoplankton, ki raste blizu svojega maksimuma in ki ni hranilno limitiran (Graham in sod. 2009). Redfieldovo razmerje je pogosto uporabljeno za določanje hranila, ki omejuje rast fitoplanktona. V morskem okolju sta najpogostejše limitirajoči hranili nitrat in fosfat. (Geider in sod. 2001). Njuno pomanjkanje lahko vpliva na rast fitoplanktonskih celic (Dawes 1997). V Sredozemskem morju in Jadranu se pojavljata tako limitativnost fosforja kot dušika (Owens in sod. 1989, Krom in sod. 1991). Pri diatomejah in drugih algah, ki za uspevanje nujno potrebujejo silicij, se Redfieldovo razmerje dopolni: $\text{C} : \text{N} : \text{Si} : \text{P} = 106 : 16 : 15 : 1$. Diatomeje potrebujejo silicij za izgradnjo celične stene, prav tako pa je vključen tudi pri nekaterih metabolnih procesih. Pomanjkanje silicija lahko zavira sintezo

proteinov, DNA, klorofila in karotenoidov ter zmanjša fotosintezo in glikolizo (Round in sod. 1990). Vitamini se pojavljajo v zelo nizkih koncentracijah, vendar so pomemben dejavnik pri rasti in raznolikosti fitoplanktona. Večina fitoplanktona je avksotrofična, kar pomeni, da je odvisna od enega ali več vitaminov (predvsem B12, tiamin in biotin) (Swift 1980).

Velikost celic je ena izmed pomembnejših ekoloških značilnosti fitoplanktona. Ko fitoplankton postaja večji, njegov volumen narašča na tretjo potenco glede na polmer, površina pa na drugo. Tako imajo majhne celice dvakrat večjo površino glede na volumen (Miller 2004). Ko celice rastejo, se torej razmerje med površino in prostornino manjša ("surface area/volume" razmerje – SA/V). To je še posebej izrazito pri okroglih oblikah celic (Graham in sod. 2009). Ker je fitoplanktonska rast povezana z izmenjavo snovi na celični površini, se oblika večjih vrst oddaljuje od krogle zato, da je zagotovljena čim večja relativna površina za privzem hranil (Miller 2004, Graham in sod. 2009). Vendar je nujno, da celice vzdržujejo optimalno razmerje. Majhne fitoplanktonske celice imajo navadno preproste geometrične oblike in visoko SA/V razmerje (Miller 2004). Prav zaradi manjšega SA/V razmerja so velike celice praviloma bolj nagnjene k tonjenju kakor manjše (Graham in sod. 2009). Velikost in oblika celic sta namreč pomembni za vzdrževanje plovnosti v vodnem stolpu, ki je ključna značilnost fitoplanktona, saj omogoča celicam, da ostanejo v evfotski coni in vršijo fotosintezo. Po drugi strani pa tonjenje celicam omogoča dostop do globljih, hranilno bogatih voda, prav tako pa se izognejo paši ali poškodbam zaradi prevelike svetlobe na površini (Round 1981, Fogg in Thake 1987, Dawes 1997). Da bi zmanjšal izgube zaradi tonjenja, je fitoplankton razvil širok spekter prilagoditev za povečanje plovnosti, ki so usmerjene bodisi v zmanjševanje gostote citoplazme ali večanje razmerja SA/V s spreminjanjem oblike.

Velikostna sestava fitoplanktonske združbe v določenem morskem okolju je odvisna od fizikalnih (hidrodinamični procesi, npr. nestabilne fronte, stabilnost vodnega stolpa), kemičnih (koncentracija hranilnih snovi) in bioloških (velikostno selektivna paša zooplanktona) dejavnikov, ki so povezani med seboj (Rodriguez in sod. 2001, Irwin in sod. 2006). V hranilno osiromašenih – oligotrofnih vodah, ki so gostotno razslojene in kjer je amonij glavna oblika anorganskega dušika, prevladujejo majhne celice (Decembrini in sod. 2009). Ko pa pride do povečanega vnosa nitrata v evfotsko cono (območja upwelling-a, gostotno premešan vodni stolp, rečni vnosi s kopnega v obalnih morjih), to izkoristijo večje celice, ki lahko privzamejo in shranijo večje koncentracije hranil zaradi svoje fiziološke sposobnosti za »luksuzno porabo« (t. i. *luxury consumption*) hranilnih snovi (Sakshaug in Olsen 1986). Različne velikosti in oblike fitoplanktonskih celic so tako rezultat širokega spektra kompetitivnih prilagoditev med fitoplanktonskimi vrstami – od majhnih, hitro rastočih celic, do velikih, počasi rastočih celic, ki lahko shranijo večje koncentracije hranil ter preživijo obdobja pomanjkanja (Graham in sod. 2009).

1.2 SEZONSKA DINAMIKA FITOPLANKTONSKE ZDRUŽBE OBALNEGA MORJA

Oceani in morja pokrivajo 71 % Zemljinega površja ter predstavljajo njen največji ekosistem. Medsebojni vplivi vetra, sončevega sevanja, plimovanja in vrtenja Zemlje ustvarjajo različne oblike vodnega gibanja, ki vplivajo na porazdelitev fizikalnih ter kemičnih količin morske vode, posledično pa na lastnosti planktonskih združb (Graham in sod. 2009). Interakcije med različno dostopnostjo do svetlobe in hranil ter izgubami zaradi tonjenja in paše zooplanktona izoblikujejo značilno sezonsko dinamiko fitoplanktonskih združb pelaških ekosistemov (Miller 2004).

V obalnih morjih so za fitoplanktonsko združbo (taksonomska sestava in številčnost) značilne velike letne ter medletne variacije (Harding Jr. in sod. 1999, Li in sod. 2000, Totti in sod. 2000, Gomez in Gorsky 2003, Mcquatters-Gollop in sod. 2007). Kljub temu pa pri časovnem razvoju združbe veljajo določena pravila (Smayda in Reynolds 2001, Reynolds 2006, France 2009). Časovni potek fitoplanktonske združbe v obalnih morjih zmernege pasu je močno povezan s sezonskimi spremembami vertikalne stabilnosti vodnega stolpa. Ta določa količino razpoložljive svetlobe in hranil, ki jih fitoplakton potrebuje za rast (Margalef 1978, Legendre 1981, Tett in Edwards 1984). V splošnem se pojavljata dva letna viška fitoplanktonske biomase in abundance: prvi se pojavi spomladi, drugi jeseni. V spomladanski fazi sezonske sukcesije prevladujejo diatomeje, ki dobro uspevajo v premešanem vodnem stolpu. Tega zaznamujejo visoke koncentracije hranil, ki pa se hitro porabijo predvsem zaradi hitre rasti diatomej (Margalef 1978, Smayda 1980). Diatomeje po porabi hranil potonejo na dno, izgube pa so tudi zaradi paše zooplanktona. Nasledijo jih dinoflagelati, ki so sposobni migracij vzdolž vodnega stolpa, kar pomeni, da jim je omogočeno privzemanje hranil pod termoklino (Cullen 1985, Kamykowski in Yamazaki 1997). Jeseni se začnejo vodni sloji ohlajati in mešati, kar povzroči ponovni razcvet diatomej. V zimskih mesecih prevladujejo predvsem kokolitoforidi (Smayda 1980, Reynolds 2006).

Velikostna struktura fitoplanktona, na katero se navezujejo višje trofične ravni, je pod vplivom hidrodinamičnih procesov (Cushing 1989). Ko je v obalnem morju razslojeni vodni stolp, se več kot 50 % novo nastalega organskega ogljika in dušika usmeri v mikrobno prehranjevalno verigo, v kateri prevladujejo majhne celice (piko- in nanoplankton). Ko pa pride do premešanja vodnih slojev in vnosa hranil, prevladuje klasična prehranjevalna veriga, kjer primarna produkcija sloni zlasti na mikrop planktonu (Cushing 1989, Hagström in sod. 1988, Kiørbe in sod. 1990).

Opisana sezonska dinamika fitoplanktonske združbe je načeloma značilna tudi za Tržaški zaliv (Malej in sod. 1995, Mozetič in sod. 2012), vendar je podvržena velikim nihanjem, predvsem zaradi geomorfoloških ter hidroloških lastnosti zaliva in vremenskih razmer.

1.3 METODE DOLOČANJA BIOMASE IN TAKSONOMSKE SESTAVE FITOPLANKTONA

V morski ekologiji je uporaba vakuumske filtracije pri merjenju biomase in produkcije pogosta metoda. Za določanje biomase fitoplanktona se uporablja metoda določanja koncentracije glavnega fotosinteznega barvila – klorofila *a*, ki ga najdemo pri vseh avtotrofnih organizmih. Do danes je znanih veliko metod, s pomočjo katerih določamo koncentracijo klorofila *a* in njegovih razgradnih produktov – feopigmentov. Metode se razlikujejo po času trajanja analize, enostavnosti metode in zanesljivosti dobljenih podatkov (Millie in sod. 1993). Najenostavnejši sta spektrofotometrična in fluorimetrična metoda (Yentsch in Menzel 1963, Holms-Hansen in sod. 1965, Strickland in Parsons 1972), pri čemer je druga natančnejša in občutljivejša ter jo zato pogosteje uporabljajo. Za analizo potrebujemo fitoplanktonske celice, skoncentrirane na filtru z majhno velikostjo por (ponavadi se uporabljajo velikosti med 0,2 in 0,7 μm). Filtri so lahko narejeni iz različnih organskih ali anorganskih materialov. Najpogosteje uporabljeni so filtri iz steklenih vlaken (GF/F filtri), polikarbonatni (PC filtri) in iz mešanih celuloznih estrov (CE filtri) (Moran in sod. 1999). Zahtevnejše metode določanja pa so kromatografske metode, ki se prav tako razlikujejo med seboj. Znale so tankoslojna kromatografija (TLC) (Jeffrey 1981), tankoslojna kromatografija visoke ločljivosti (HPTLC) (Wright in Jeffrey 1987) ter tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC) (Mantoura in Llewellyn 1983). S pomočjo kromatografskih metod se poleg glavnega fotosinteznega barvila ločijo še preostala, pomožna fotosintezna barvila v mešanem vzorcu iz skupine karotenoidov in klorofilov. Izmed naštetih kromatografskih metod je HPLC metoda najbolj uporabljena v kemotaksonomiji. Fotosintezna barvila so se pokazala kot uporabni biomarkerji abundance, sestave in fiziološkega stanja fitoplanktonske združbe v morskem okolju (Jeffrey in sod. 1997). Posamezna pomožna barvila, ki so specifična za določene taksonomske skupine alg (višji taksoni: deblo, razred, red), imenujemo biomarkerji. Ti so uporabni v kemotaksonomiji za določanje taksonomske sestave, kvantitativne in kvalitativne, fitoplanktona v morju (Terzić 1996; Jeffrey in sod. 1997; Flander Putrle in sod. 2000; Flander Putrle 2009). Vendar je potrebno biti pazljiv pri uporabi biomarkerskih barvil, saj niso 100 % specifični diagnostični marker za posamezne taksonomske skupine. Z nekaj previdnosti lahko biomarkerska barvila razdelimo v tri velikostne razrede fitoplanktona in tako ocenjujemo prispevek posameznega velikostnega razreda k celokupni fitoplanktonski biomasi (Vidussi in sod. 2001; Uitz in sod. 2006). HPLC metoda se je pokazala za hitro, natančno in ponovljivo metodo pri morskih ekoloških študijah (Flander Putrle 2009), kjer ni potrebno natančno poznati vrstne sestave fitoplanktona. Za to so namreč še vedno potrebne mikroskopske analize. Pri ekoloških raziskavah se zato priporoča kombiniranje kemotaksonomskih metod s klasičnimi mikroskopskimi (Terzić

1996) ali drugimi naprednejšimi metodami, kot so molekularno genetske metode za prepoznavanje vrst fitoplanktona.

1.4 RAZISKOVALNE HIPOTEZE IN CILJI

Namen naloge je bil prikazati variabilnost fitoplanktona obalnega morja v enem letu (januar–december 2015) in določiti vpliv okoljskih dejavnikov, kot so hranila ter fizikalne lastnosti vodnega stolpa, na spremenljivost biomase treh velikostnih razredov fitoplanktona (mikroplankton, nanoplankton in pikoplankton) ter glavnih taksonomskih skupin, določenih z biomarkerskimi barvili.

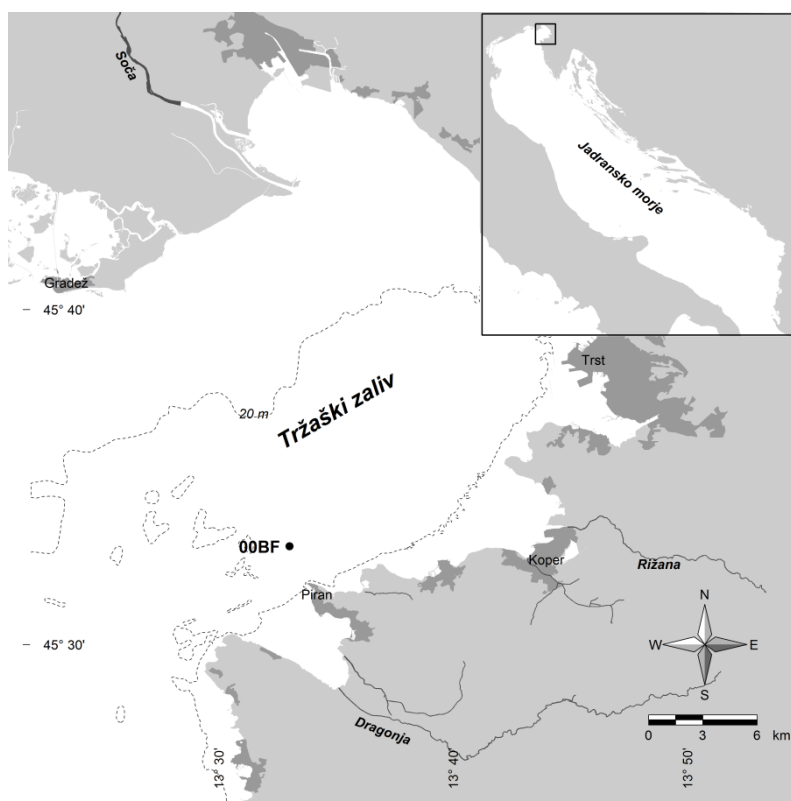
Zastavili smo si naslednje raziskovalne hipoteze:

1. Združba fitoplanktona v Tržaškem zalivu sledi pričakovani sezonski dinamiki fitoplanktona v obalnih morjih zmernege pasu: prepoznamo dva letna viška – pomladanski in jesenski.
2. Količina hranil in stabilnost vodnega stolpa sta glavna abiotiska dejavnika, ki narekujeta dinamiko fitoplanktonske združbe.
3. V obdobju razslojenega vodnega stolpa prevladujejo velikostni razredi nano- in pikoplanktona, v obdobju premešanega pa mikroplankton.
4. Taksonomska sestava fitoplanktona, določena s fotosinteznimi barvili, se razlikuje v hranilno obogatenem in hranilno osiromašenem okolju.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 OPIS OBRAVNAVANEGA OBMOČJA

Obravnavano območje predstavlja Tržaški zaliv, ki je najsevernejši del Jadranskega morja (slika 2). Na jugu ga omejuje rt Savudrija, na zahodu pa Gradež. Tržaški zaliv si delijo tri države: Italija, Hrvaška in Slovenija (Orožen Adamič 2002). Slovenski del predstavljajo vode jugovzhodnega dela zaliva. Tržaški zaliv obsega površino približno 600 km² in je plitvo območje, saj največja globina v osrednjem delu ne presega 30 m, medtem ko v dobri petini zaliva voda ni globlja od 10 m (Malej in sod. 1995).



Slika 2: Tržaški zaliv (Jadransko morje) in vzorčevalna postaja 00BF.

Tržaški zaliv ima predvsem kontinentalne značilnosti, kar se kaže v velikih temperaturnih nihanjih morske vode: poletne temperature dosega 26 °C ali več, medtem ko lahko zimske padejo do 6 °C (Malačič in sod. 2006). Značilna so tudi visoka nihanja slanosti, vendar le v površinskem sloju (med 28,0 in 38,5). Stabilnost vodnega stolpa se spreminja sezonsko: spomladi se zaradi segrevanja površinskega sloja in povečanih sladkovodnih pritokov začne vzpostavljati piknoklina, ki je intenzivnejša čez poletje. Jeseni se zaradi ohlajanja ozračja in intenzivnejših vetrov začnejo vodni sloji mešati in razslojenost

vodnega stolpa se prekine (Malačič 1991). Lokalne meteorološke razmere, prevladujoči tokovi in izmenjave vodne mase s severnim Jadrantom ter sladkovodni vnosi hranilnih snovi oblikujejo fizikalne in kemične značilnosti Tržaškega zaliva (Malačič in Petelin 2001).

Sredozemsko morje je v splošnem oligotrofno, vendar so nekatera obalna območja, kot je severni Jadran, vključno s Tržaškim zalivom, pod velikim vplivom rečnih pritokov, kar se odraža v večji produktivnosti obalnih morij (Sournia 1973), in tudi veliki variabilnosti oceanografskih parametrov (Degobbis in sod. 2000). Veliko vlogo ima tudi plitvost bazena, ki omogoča intenzivno bentoško remineralizacijo organske snovi in ponovno vračanje hranil v kroženje (Faganeli in Ogrinc 2009).

Največji vnos sladke vode in hranilnih snovi s kopnega v Tržaški zaliv predstavlja reka Soča, dolga 136 km, s porečjem 3452 km² in povprečnim pretokom 82 m³ s⁻¹ (Cozzi in sod. 2012). Reka Soča ima pozimi in poleti nizek pretok, ki se poveča jeseni ter spomladi, občasno pa zaradi močnih neviht tudi v poletnih mesecih (Malej in sod. 1997). K celokupnemu vnosu hranil rečnega izvora v Tržaški zaliv prispevajo tudi lokalne reke s slovenske obale, kot so Rižana, Badaševica, Drnica in Dragonja, a z mnogo manjšimi pretoki (0,25–4 m³ s⁻¹) (Cozzi in sod. 2012). Reke prinašajo naravne (spiranje mineralne podlage) in antropogene vire hranil, med katerimi so najpomembnejše dušikove spojine iz kmetijske rabe. Drugi antropogeni izvori hranil so komunalne in industrijske odplake, ki prinašajo v morje tudi patogene fekalne bakterije ter številna onesnažila, med drugim težke kovine.

Zaradi plitvosti in zaprtosti zaliva ter velike količine hranil so bila v preteklosti (od 70. do 90. leta prejšnjega stoletja) na severni Jadranski kontinentalni polici in v Tržaškem zalivu pogosta cvetenja dinoflagelatov ter hipoksije in anoksije (Turk in sod. 2007; Cozzi in sod. 2012). Te in druge oblike eutrofikacije v zadnjih petnajstih letih niso več tako pogoste in obsežne, kot so bile poprej (Mozetič in sod. 2010), kar nekateri povezujejo z manjšimi sladkovodnimi pretoki ter posledično manjšim vnosom hranil (Comici in Bussani 2007; Cozzi in sod. 2012) v severnojadranski ekosistem, kot odraz lokalnih klimatskih sprememb.

Vse naštetе naravne značilnosti Tržaškega zaliva se skupaj z negativnimi posledicami človekove rabe prostora (intenzivno ribištvo, marikultura, pomorski promet, turizem ...) odražajo na sezonski in medletni spremenljivosti fitoplanktonske združbe (Malej in sod. 1995, Mozetič in sod. 2012).

2.2 VZORČENJE IN TERENSKE MERITVE

Vzorčenje je potekalo eno leto, in sicer od januarja do decembra 2015, enkrat do dvakrat mesečno. Začetek predstavlja datum 13. 1. 2015, konec pa 16. 12. 2015. Vzorci morske vode za analize so bili pobrani v jugovzhodnem delu Tržaškega zaliva na vzorčnem mestu 00BF (45° 32,928' N, 13° 33,032' E), kjer se nahaja tudi oceanografska boja Vida (www.nib.si/mbp/sl/oceanografski-podatki) (Slika 2). Postaja 00BF z globino 22 m in oddaljenostjo približno 1 NM od obale predstavlja odprte vode Tržaškega zaliva.

Vzorci morske vode smo zajemali s 5-litrskimi Niskinovimi posodami, ki so pripete na vzorčevalno rozeto (model SBE 32, Sea-Bird Electronics). To je standardna oceanografska oprema za vzorčenje vode, s katero lahko ob enem spustu v morje naekrat zajamemo do 12 vzorcev morske vode, globino zajema vzorcev pa vnaprej računalniško določimo. Vzorce za analize parametrov, ki jih prikazujemo v tej nalogi, smo zajeli na treh globinah vodnega stolpa: 1, 10 in 21 m. Do prihoda v laboratorij smo vzorce hranili v hladilniku. Uporabili smo jih za analize hranilnih snovi, določanje koncentracije klorofila *a* in fotosinteznih barvil.

Ob vsakokratnem vzorčenju smo opravili tudi meritve parametrov *in situ*, za katere niso potrebne analitske metode. Vertikalne profile temperature in električne prevodnosti vode, iz katere se izračuna slanost, smo izmerili z uporabo CTD sonde ("Conductivity, Temperature, Depth probe"; Sea & Sun Technology GmbH). Gostoto vode (σ_T) smo izračunali iz temperature in slanosti ter jo uporabili v enačbi za določanje gostotnega gradienta vodnega stolpa (*c*):

$$c = (\sigma_{Td} - \sigma_{Tp})/h,$$

kjer je σ_{Td} (kg m^{-3}) gostota vode pri dnu, σ_{Tp} gostota vode na površini in *h* (m) globina vodnega stolpa. Vrednosti $c > 0,05 \text{ kg m}^{-4}$ se v Tržaškem zalivu uporabljajo kot kriterij za določanje razslojenosti vodnega stolpa (Malej in sod. 1995; Mozetič in sod. 1998).

Prosojnost vode smo določali po standardnem postopku s ploščo Secchi – okroglo belo ploščo s premerom 30 cm.

2.3 LABORATORIJSKE ANALIZE

2.3.1 Hranilne snovi

Vodne raztopine dušikovih, fosforjevih in silicijevih soli nastopajo v ionski obliki kot nitrit (NO_2^-), nitrat (NO_3^-), amonij (NH_4^+), anorganski fosfat (PO_4^{3-}) ter silikat (SiO_4^{4-}). Za analizo anorganskih hranilnih snovi smo vzorec morske vode prefiltrirali z brizgo preko filtra z velikostjo por $0,45 \mu\text{m}$ (MCE, Millipore) in shranili v zamrzovalnik na -20°C . Analize hranil smo opravili s pretočnim segmentnim analizatorjem (model QuAAtro 39, SEAL Analytical Ltd.) z uporabo standardnih spektrofotometričnih metod (Grasshoff, 1999; Yu in sod., 1994).

2.3.2 Določanje koncentracije klorofila *a*

Koncentracijo glavnega fotosinteznega barvila klorofila *a* (Chl *a*), ki je pokazatelj fitoplanktonske biomase, smo določali s fluorescenčno metodo (Holm-Hansen in sod. 1965), ki jo pogosto uporabljajo v biološki oceanografiji. Koncentracijo Chl *a* smo določali na dva načina:

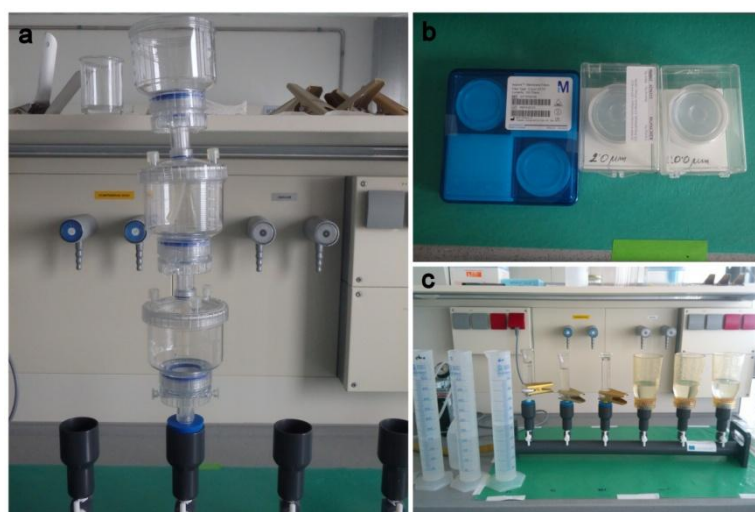
1) določanje celotne koncentracije Chl *a* v vzorcih vode, filtriranih skozi GF/F filter

Vzorci morske vode (400 ml) smo prefiltrirali skozi GF/F Whatman filter iz steklenih vlaken, s premerom 25 mm (nominalna velikost por $0,7 \mu\text{m}$), in zamrznili do obdelave.

Po odmrznitvi smo vsak filter posebej dali v stekleno epruveto za homogeniziranje, dodali nekaj ml 90 % acetona in jih nato homogenizirali 1 minuto pri 30 rpm. Homogenizirane vzorce smo nato prelili v plastične centrifugirke in dolili 90 % aceton do končnega volumna 10 ml. Vzorce smo 2 uri ekstrahirali v hladilniku. Po končani ekstrakciji smo vzorce 10 minut centrifugirali pri 5000 rpm. Koncentracijo Chl *a* in feopigmentov, razgradnih produktov Chl *a*, smo izmerili s pomočjo laboratorijskega fluorimetra Trilogy® (Turner Designs). Steklene kivete z zamaškom smo napolnili s 1800 μl supernatanta in merili fluorescenco pred zakisanjem ter po njem. Vzorce smo zakisali tako, da smo dodali 60 μl 0,1 M HCl, dobro premešali in po 90 sekundah ponovno izmerili fluorescenco. Z zakisanjem molekule Chl *a* razpadejo (izguba Mg atoma v tetrapirolovem obroču), novo nastale spojine – feopigmenti pa fluorescirajo pri enaki valovni dolžini kot Chl *a* in jih lahko izmerimo po isti metodi. Koncentracije Chl *a* in feopigmentov ($\mu\text{g l}^{-1}$) smo vpisali v tabelo.

2) določanje koncentracije Chl *a* v treh velikostnih razredih fitoplanktona z uporabo zaporedne filtracije in polikarbonatnih filtrov

Polikarbonatne filtre z velikostjo por 20, 2,0 in 0,2 μm in s premerom 47 mm (Isopore Membrane Filters, EMD Millipore) smo uporabili za določanje koncentracije Chl *a* v treh velikostnih razredih fitoplanktona: pikoplankton (0,2–2 μm), nanoplakton (2–20 μm) in mikrop plankton (> 20 μm). Hkrati smo določali tudi celotno koncentracijo Chl *a* z uporabo polikarbonatnega filtra z velikostjo por 0,2 μm . V obeh primerih smo filtrirali 200 ml morske vode. Za velikostno ločevanje smo uporabili sistem zaporedne filtracije (Slika 3), ki smo ga namestili tako, da so si filtri po velikosti por sledili od največjega do najmanjšega. Vse polikarbonatne filtre smo takoj dali v plastične centrifugirke in zamrznili do nadaljnje obdelave. Po odmrznitvi smo v centrifugirke nalili 7 ml 90 % acetona in filtre brez predhodnega homogeniziranja 24 ur ekstrahirali v hladilniku. V času ekstrakcije in tik pred meritvijo fluorescence smo vzorce večkrat premešali. Fluorescenco Chl *a* in feopigmentov smo izmerili po enakem postopku kakor pri GF/F filterih ter rezultate ($\mu\text{g l}^{-1}$) vpisali v tabelo.

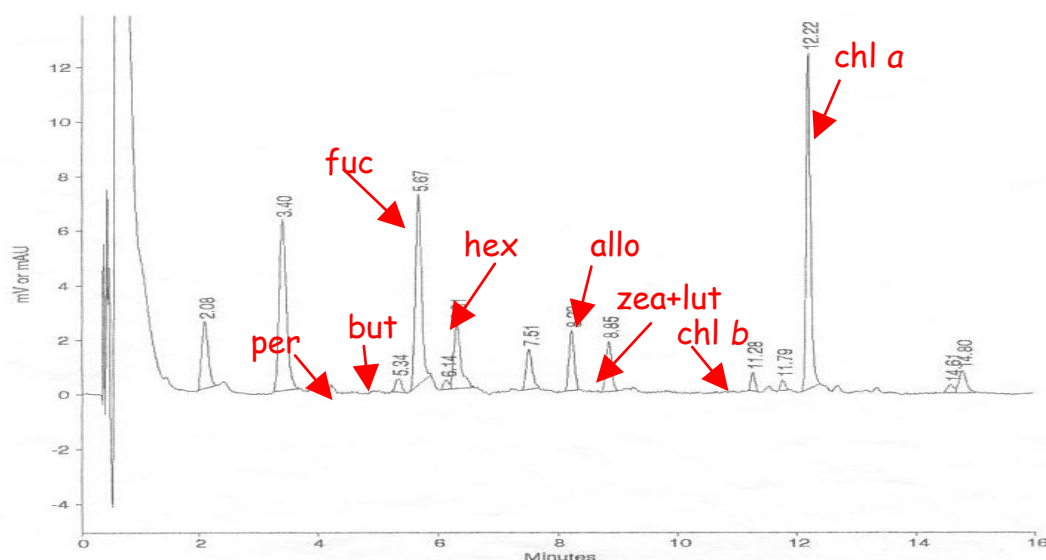


Slika 3: (a) Sistem zaporedne filtracije, (b) uporabljeni filtri z različno velikostjo por (0,2, 2,0 in 20,0 μm) in (c) filtracija morske vode na GF/F (majhni filtracijski nastavki) ter PC filterih (veliki filtracijski nastavki).

Iz koncentracij Chl *a* posameznih velikostnih frakcij in celotne koncentracije Chl *a* smo izračunali deleže (%) Chl *a* za tri velikostne razrede fitoplanktona. Celotno koncentracijo Chl *a* je predstavljala vsota koncentracij treh velikostnih frakcij. Dodatno smo celotno koncentracijo Chl *a* izmerili še na 0,2 μm polikarbonatnem filtru za primerjavo z meritvami Chl *a* na GF/F filtru. To smo naredili zato, da smo se prepričali, ali dajeta oba filtra podobne rezultate in ali je upravičena uporaba polikarbonatnih filtrov, poleg tega pa smo preverili tudi delovanje sistema zaporedne filtracije.

2.3.3 Določanje fotosinteznih barvil

Določanje vsebnosti in koncentracije fotosinteznih barvil je potekalo z uporabo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) po metodi, ki je opisana v delih Barlow in sod. (1993) ter Mantoura in Llewellyn (1983). Kromatografija je analitična metoda, ki se uporablja za ločevanje in/ali določanje posameznih kemijskih spojin, kjer se komponente razporedijo med dve fazi. Ena izmed faz je stacionarna (trdna, tekoča ali gel), medtem ko je druga mobilna (lahko je tekočina ali plin). Kromatogram je grafični prikaz rezultatov, kjer je na osi x prikazan retencijski čas (čas zadrževanja komponente na koloni), na osi y pa signal (pridobljen z detektorjem), kar pomeni, da lahko iz kromatograma razberemo določeno barvilo (Slika 4) (Ettre 1993). HPLC metoda se uporablja za kvalitativne in kvantitativne analize barvil v vodnem stolpu. Natančen opis metode dela je opisan v članku Flander Putrle (2009).



Slika 4: Primer rezultata HPLC analize za prepoznavanje fotosinteznih barvil: kromatogram naravnega vzorca morske vode (okrajšave barvil so podane v Preglednici 1).

Fotosintezna barvila so specifična za posamezne taksonomske skupine fitoplanktona (na ravni taksona debla, razreda ali reda) in zato uporabna za določanje le-teh (Jeffrey 1974) (Preglednica 1). Za določanje najpogostejših fitoplanktonskih skupin se uporablja sedem biomarkerskih barvil ali biomarkerjev: fukoksantin, peridinin, 19'-heksanoiloksifukoksantin, 19'-butanoiloksifukoksantin, aloksantin, zeaksantin + lutein in klorofil *b* (okrajšave biomarkerskih barvil so v Preglednici 1).

Preglednica 1: Taksonomske skupine fitoplanktona, njihova značilna barvila oz. biomarkerji z okrajšavo v oklepaju in eksperimentalno določene vrednosti faktorja K (Chl *a*/biomarker) za posamezno barvilo. Avtorji, ki so eksperimentalno določili faktor K: ^a Terzić 1996, ^b Stransky in Hager 1970, ^c Everitt in sod. 1990, ^d Hager in Stransky 1970, ^e generično ime za red Dictyochales.

SKUPINA FITOPLANKTONA (deblo/razred/red)	BIOMARKERJI	K
diatomeje	fucoxanthin (fuc)	1.2 ^a
haptofiti	19'-hexanoyloxyfucoxanthin (hex)	1.1 ^a
dinoflagelati	peridinin (per)	1.5 ^a
cianobakterije	zeaxanthin + lutein (zea + lut)	1.7 ^b
silikoflagelati ^e	19'-butanoyloxyfucoxanthin (but)	1.6 ^c
kriptofiti	alloxanthin (allo)	1.85 ^d
zelene alge	chlorophyll <i>b</i> (Chl <i>b</i>)	0.9 ^a

Koncentracije posameznih barvil smo izračunali po enačbi:

$$c = \left(\frac{A}{RF} \right) \times 2 \times \left(\frac{V_e}{V_i} \right) \times \left(\frac{1}{V_v} \right)$$

c – izmerjena koncentracija pigmenta v vzorcu (ng l⁻¹)

A – površina vrha (integracijske enote)

RF – faktor odziva posameznega pigmenta (integracijske enote ng⁻¹)

V_e – volumen ekstrakta (ml)

V_i – volumen, injiciran na HPLC kolono (ml)

V_v – volumen vzorca, ki smo ga prefiltrirali (l)

Koncentracijo vsakega barvila smo pomnožili s faktorjem K, ki je eksperimentalno določeno razmerje med Chl *a* in značilnim biomarkerjem. Tako smo dobili prispevek posameznega biomarkerskega barvila oz. njemu pripadajoče taksonomske skupine fitoplanktona.

Relativni prispevek posamezne fitoplanktonske skupine k celokupni biomasi smo izračunali po enačbi (Hager in Stransky 1970, Stransky in Hager 1970, Everitt in sod. 1990, Terzić 1996):

$$X = K \left(\frac{C_{pig}}{C_{Chl a}} \right)$$

X = relativni prispevek posamezne fitoplanktonske skupine k celokupni biomasi

K = faktor K; eksperimentalno določeno razmerje Chl *a*/biomarker

C_{pig} = koncentracija biomarkerskega barvila posamezne fitoplanktonske skupine

C_{Chl *a*} = koncentracija klorofila *a* v vzorcu

Koncentracije biomarkerskih barvil smo uporabili tudi za računanje koncentracije Chl *a* posameznih velikostnih razredov, ki jih glede na njihovo velikost prispevajo vnaprej določene taksonomske skupine. Ta izračun smo naredili za primerjavo izračunanih koncentracij Chl *a* posameznih velikostnih razredov iz HPLC analize z izmerjenimi koncentracijami Chl *a* v posameznih velikostnih razredih (poglavje 2.3.2). Če bi se izkazalo, da se izračunane koncentracije oz. deleži Chl *a* posameznih velikostnih razredov ujemajo z izmerjenimi koncentracijami, bi lahko rezultate HPLC analize uporabili v dva namena: za določanje taksonomske in velikostne sestave.

Za računanje koncentracij klorofila *a* v povezavi s tremi velikostnimi razredi smo morali najprej izračunati deleže barvil (*f*), ki jih prispevajo vnaprej določene taksonomske skupine za posamezni velikostni razred. Uporabili smo naslednje enačbe (Claustre in sod. 1994, Vidussi in sod. 2001):

$$f_{micro} = (1,41[fuc] + 1,41[per]) / \sum DP_w,$$

$$f_{nano} = (1,27[hex] + 0,35[but] + 0,60[allo]) / \sum DP_w,$$

$$f_{pico} = (1,01[Chl b] + 0,86[zea + lut]) / \sum DP_w,$$

kjer *f_{micro}* predstavlja delež barvil, ki jih prispeva mikrop plankton (diatomeje, dinoflagelati), *f_{nano}* delež barvil, ki jih prispeva nanoplankton (haptofiti, silikoflagelati, kriptofiti), in *f_{pico}* delež barvil, ki jih prispeva pikoplankton (zelene alge, cianobakterije).

Nato pa smo izračunali še koncentracijo klorofila *a* za posamezni velikostni razred po enačbah (Claustre H. 1994, Vidussi in sod. 2001):

$$micro - [Chl\ a] = f_{micro} \times Chl\ a$$

$$nano - [Chl\ a] = f_{nano} \times Chl\ a$$

$$pico - [Chl\ a] = f_{pico} \times Chl\ a$$

micro – [Chl *a*] = koncentracija Chl *a* v mikrop planktonski velikostni frakciji

nano – [Chl *a*] = koncentracija Chl *a* v nanoplanktonski velikostni frakciji

pico – [Chl *a*] = koncentracija Chl *a* v pikoplanktonski velikostni frakciji

2.4 STATISTIČNE ANALIZE

Za primerjavo različnih metod določanja Chl *a* smo uporabili linearno regresijo. Enako statistično analizo smo uporabili tudi za primerjavo ocene deležev velikostnih razredov fitoplanktona, določenih po dveh metodah.

Soodvisnost med velikostno sestavo fitoplanktona in nekaterimi fizikalnimi ter kemijskimi dejavniki smo testirali s korelacijsko analizo. Ker pri nekaterih spremenljivkah z različnimi transformacijami nismo mogli doseči normalne porazdelitve podatkov, smo korelacije izračunali z neparametričnim Kendallovim koeficientom (Dytham 2003). Kendallove T koeficiente in pripadajoče statistične verjetnosti smo izračunali s pomočjo računalniškega programa OriginPro 8 SR4. Mejo statistične značilnosti smo postavili na $p < 0,05$.

Razlike oziroma podobnosti med vzorci, glede na taksonomsko in velikostno sestavo fitoplanktonske združbe, smo upodobili s pomočjo nemetričnega multidimenzionalnega skaliranja (nMDS). Pri tem smo podatke transformirali s kvadratnim korenom in različnost med vzorci izračunali s pomočjo Bray-Curtisove razdalje. nMDS analize smo opravili s statističnim programom R, verzija 2.15.0 (R Development Core Team, 2012).

3 REZULTATI

3.1 ABIOTSKE ZNAČILNOSTI TRŽAŠKEGA ZALIVA

3.1.1 Temperatura, slanost, stabilnost vodnega stolpa in prosojnost morske vode

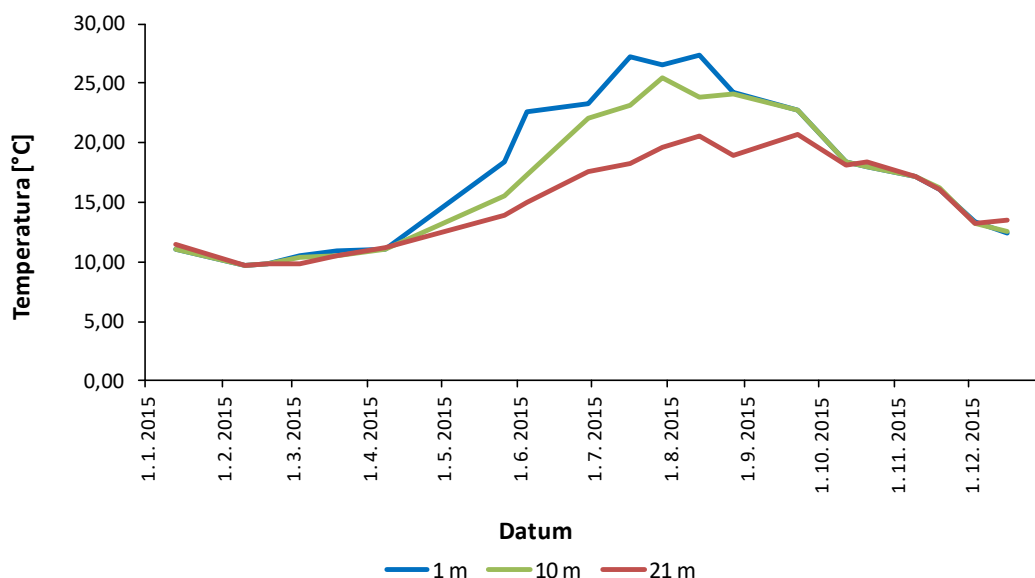
Temperature površinskega sloja morske vode (1 m) so bile med 9,71 °C (januar) in 27,34 °C (avgust), sloja na 10 m globine med 9,70 °C (januar) in 25,46 °C (julij) ter sloja pri dnu (21 m) med 9,64 °C (januar) in 20,70 °C (september) (Slika 5). V zimsko-spomladanskem času je bil vodni stolp večinoma temperaturno izenačen, z majhnimi razlikami v temperaturi morske vode med posameznimi globinami. Sredi aprila se je začel površinski sloj hitreje segrevati kot spodnji sloji. Razlike so bile najbolj opazne poleti, ko je bila največja temperaturna razlika med površinskim slojem (1 m) in dnom (21 m) 9,03 °C (16. 7. 2015). Jeseni se je temperatura vode po vodnem stolpu ponovno izenačila.

V površinskem sloju (1 m), kjer so bile razlike med sezonami največje, je slanost nihala od 35,05 (4. 6. 2015) do 37,68 PSU (10. 2. 2015) (Slika 6). V zimskih mesecih so bila nihanja površinske slanosti dokaj majhna, medtem ko smo prvi večji padec slanosti opazili konec maja. V poletnih mesecih so bile vrednosti površinske slanosti najnižje. Nato je septembra slanost narasla in v jesenskih mesecih ponovno dosegla visoke vrednosti. Na globini 10 m je slanost nihala od 36,65 (29. 7. 2015) do 37,89 PSU (13. 8. 2015) in je v grobem sledila časovnemu poteku slanosti v površinskem sloju, vendar z manjšimi razlikami v izmerjenih vrednostih. Tako smo vpliv sladke vode od maja do konca julija zabeležili tudi na globini 10 m, v avgustu pa tega vpliva na tej globini ni bilo več zaznati in je bila ostra haloklina na globini 6 m (vir: Baza podatkov NIB-MBP). V pridnenem sloju (21 m) je bila razlika med najnižjo (37,40 PSU; 13. 1. 2015) in najvišjo slanostjo (37,83 PSU; 16. 12. 2015) najmanjša, saj je bila slanost pri dnu bolj ali manj izenačena skozi celo leto.

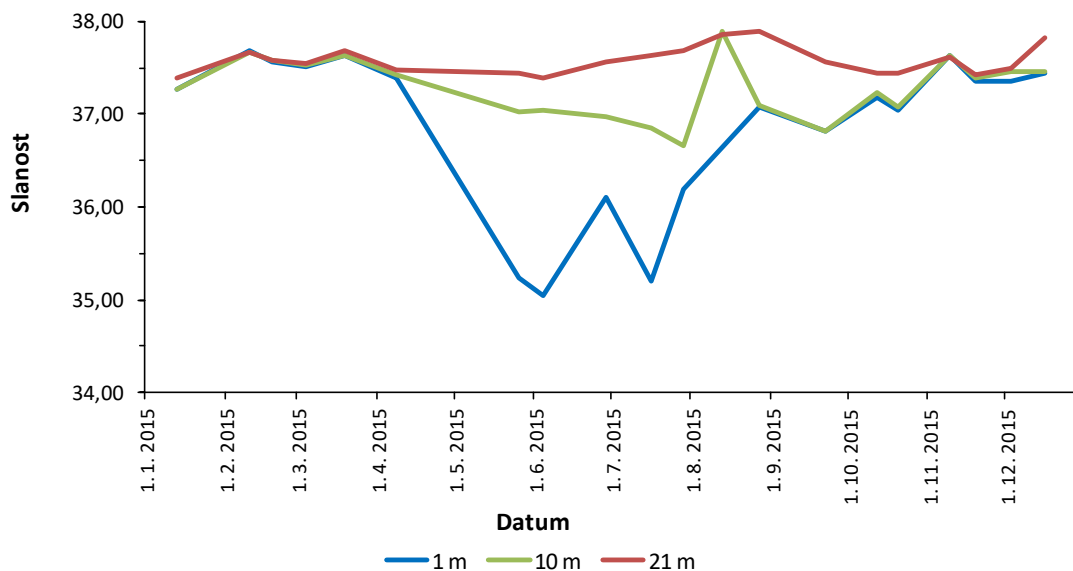
Z gostotnim gradientom (c), ki ga izračunamo iz razlike v gostoti pridnenega in površinskega vodnega sloja, smo določili, ali je bil vodni stolp razslojen ali premešan. Mejo med obema predstavlja vrednost $0,05 \text{ kg m}^{-4}$. Vodni stolp je bil leta 2015 razslojen od maja do septembra, v ostalih mesecih pa močno premešan (Slika 7). Razslojenost je bila najizrazitejša v začetku junija in sredi julija ($0,215 \text{ kg m}^{-4}$), kar povezujemo z visokimi temperaturami in še posebej z nizkimi slanostmi v površinskem sloju.

Prosojnost, ki jo določimo z globino Secchi plošče, je pokazatelj prodiranja svetlobe v globino. Največja izmerjena prosojnost vode je bila 17 m (4. 3. 2015 in 29. 6. 2015), najmanjša pa 5 m (16. 12. 2015) (Slika 8). Nasploh je bila za zgodnje spomladansko (marec, april) in poletno obdobje (junij–september), z izjemo obdobja s povečanimi

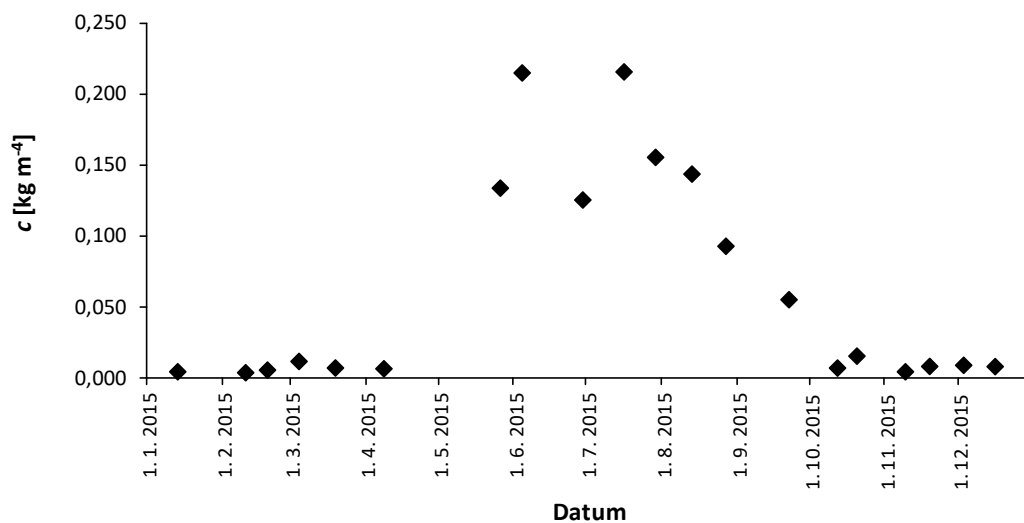
sladkovodnimi vnosi, značilna velika prosojnost vode. Nizke vrednosti prosojnosti kažejo na to, da je v morju velika količina lebdečih delcev, ki preprečujejo prodor svetlobe v globino zaradi absorpcije ali odboja svetlobe.



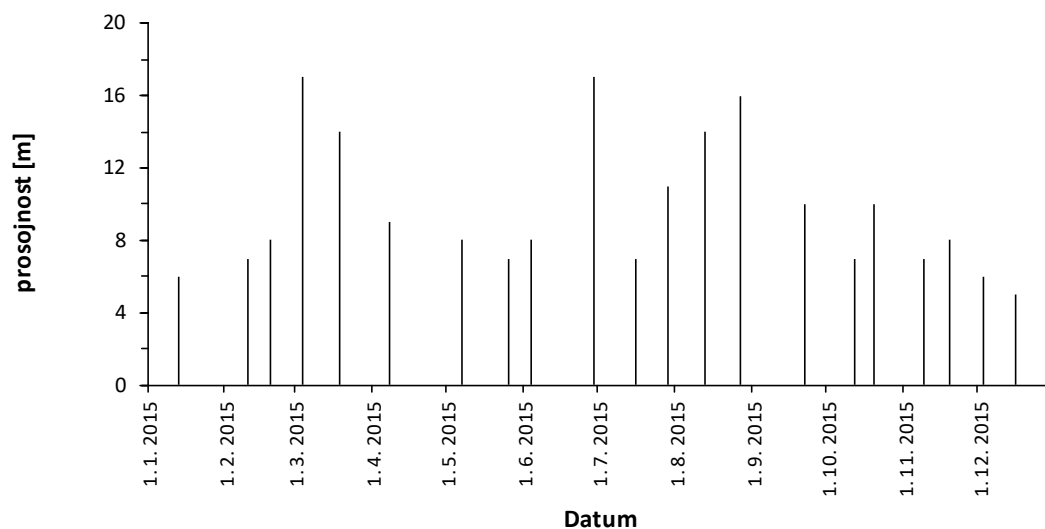
Slika 5: Porazdelitev temperature morske vode na posameznih globinah vodnega stolpa v letu 2015 na postaji 00BF.



Slika 6: Porazdelitev slanosti morske vode na posameznih globinah vodnega stolpa v letu 2015 na postaji 00BF.



Slika 7: Prikaz gostotnega gradienta morske vode v letu 2015 na postaji 00BF



Slika 8: Prikaz prosojnosti morske vode v letu 2015 na postaji 00BF.

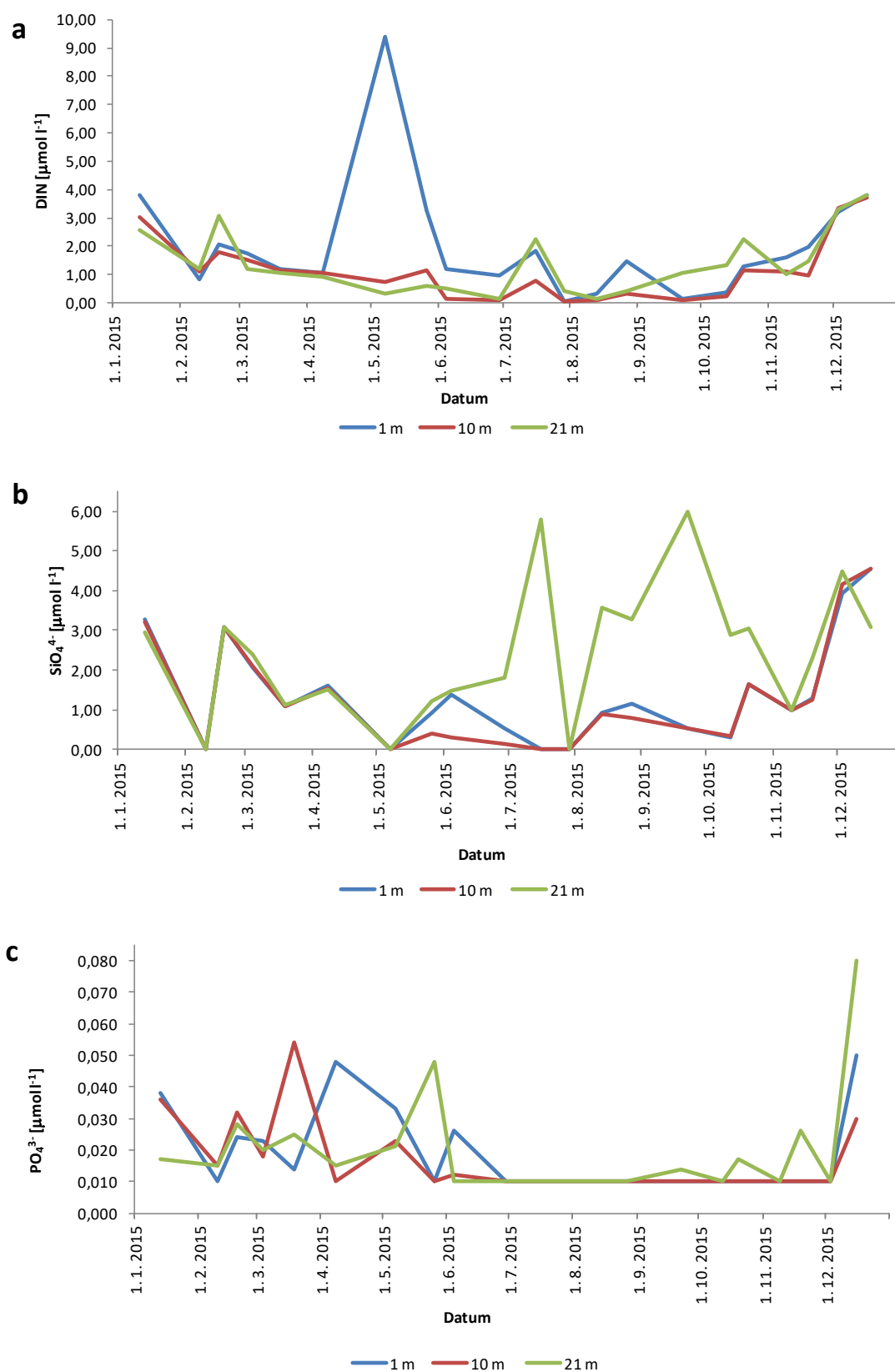
3.1.2 Hranila

Vodne raztopine dušikovih, fosforjevih in silicijevih soli nastopajo v ionski obliki kot nitrit (NO_2^-), nitrat (NO_3^-), amonij (NH_4^+), anorganski fosfat (PO_4^{3-}) ter silikat (SiO_4^{4-}). Tri anorganske oblike dušikovih spojin predstavljamo kot vsoto, tj. raztopljen anorganski dušik (DIN, angl. *dissolved inorganic nitrogen*), pri čemer je bila prevladujoča dušikova spojina v tem kompleksu nitrat (v povprečju 70 ± 18 % celotnega anorganskega dušika).

Letno spreminjanje koncentracij hranilnih snovi v vodnem stolpu kaže velika nihanja z več sezonskimi viški (Slika 9). Koncentracije DIN in silikata so bile v prvih štirih do petih mesecih leta med posameznimi vodnimi sloji dokaj izenačene, nato pa so v različnih obdobjih posamezni vodni sloji izstopali s povišanimi koncentracijami. Pri anorganskem dušiku (Slika 9 a) je najbolj izstopal površinski sloj v spomladansko-zgodnje poletnih mesecih, ko smo izmerili tudi najvišjo absolutno koncentracijo DIN, in sicer $9,38 \mu\text{mol l}^{-1}$ (7. 5. 2015). Po drugem manjšem višku poleti ($1,85 \mu\text{mol l}^{-1}$; 16. 7. 2015) so površinske koncentracije DIN padle, nato pa so bile koncentracije DIN vse do konca leta bolj ali manj enake vzdolž celotnega vodnega stolpa. Najnižja absolutna izmerjena koncentracija je bila $0,06 \mu\text{mol l}^{-1}$ na globini 10 m (29. 7. 2015). Ta sloj je bil v povprečju tudi najrevnejši z DIN ($1,13 \pm 1,07 \mu\text{mol l}^{-1}$), najbogatejši pa je bil površinski sloj ($1,98 \pm 2,03 \mu\text{mol l}^{-1}$).

Pri silikatu je bila dinamika ravno nasprotna (Slika 9 b), saj smo od julija do novembra opazili izrazito povečanje koncentracij v pridnenem sloju, medtem ko so bile koncentracije v zgornjih 10 m preko celega leta dokaj izenačene. Najvišja koncentracija silikata je bila $5,99 \mu\text{mol l}^{-1}$ (22. 9. 2015). Ob treh vzorčenjih smo na vseh globinah izmerili koncentracije silikata, ki so bile na meji detekcije metode ($0,01 \mu\text{mol l}^{-1}$), in sicer februarja, maja ter konec julija. Ta julijski nižek je nekoliko »popačil« sliki visokih poletno-jesenskih koncentracij silikata v pridnenem sloju. V povprečju so bile, obratno kot pri anorganskem dušiku, pridnene koncentracije silikata najvišje ($2,43 \pm 1,69 \mu\text{mol l}^{-1}$), 10-metrski vodni sloj pa je bil ponovno najsiromašnejši ($1,29 \pm 1,38 \mu\text{mol l}^{-1}$).

Od vseh hranil so najbolj nihale koncentracije fosfata ($0,01\text{--}0,054 \mu\text{mol l}^{-1}$), kar je bilo še posebej značilno za prvih šest mesecev leta (Slika 9 c). Od srede junija do začetka decembra pa smo na vseh globinah zabeležili najnižje koncentracije; le v treh primerih so bile koncentracije nad mejo detekcije metode – $0,01 \mu\text{mol l}^{-1}$. Najvišjo koncentracijo fosfata smo izmerili decembra na globini 21 m ($0,08 \mu\text{mol l}^{-1}$).

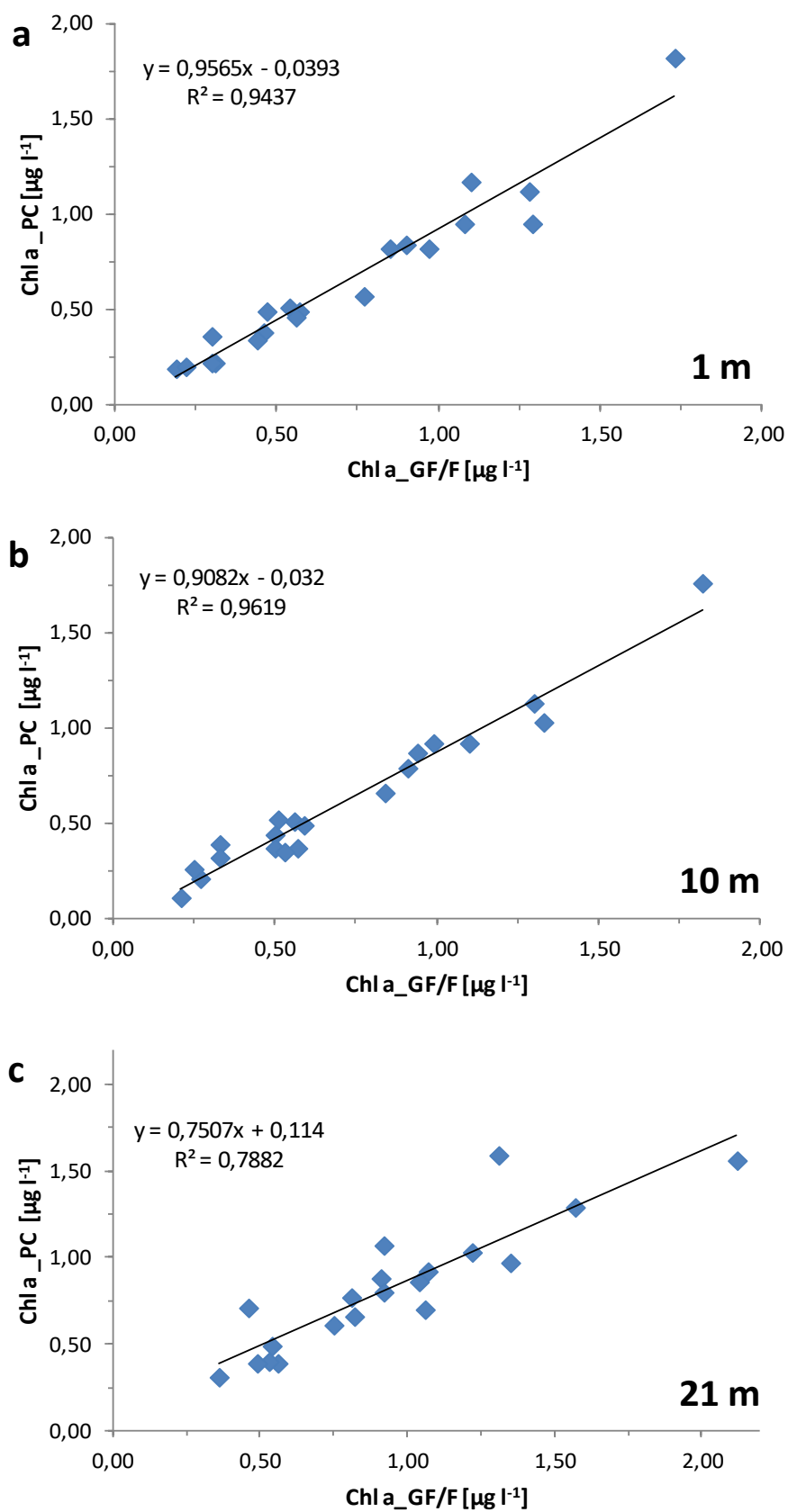


Slika 9: Koncentracije hranilnih snovi na posameznih globinah vodnega stolpa; raztopljen anorganski dušik (a), silikat (b) in fosfat (c), v letu 2015 na postaji 00BF.

3.2 BIOMASA IN VELIKOSTNA SESTAVA FITOPLANKTONA

3.2.1 Primerjava metod določanja koncentracije klorofila *a*

Celotno koncentracijo Chl *a* smo določali v vzorcih vode, prefiltriranih skozi filtre s steklenimi vlakni (GF/F) in polikarbonatne filtre (PC). Primerjavo teh dveh metod smo uporabili, da smo se prepričali, da obe dajeta podobne rezultate in da je zato upravičena uporaba PC filtrov pri frakcionirani filtraciji. Za primerjavo smo uporabili linearno regresijo, ki kaže zelo dobro ujemanje podatkov, dobljenih z dvema metodama (Slika 10). Visoki koeficienti determinacije (R^2) razložijo od 79 do 96 % ujemanja obeh spremenljivk, tj. filtrov. To pomeni, da lahko v 79 do 96 % primerov varianco *y* spremenljivke napovemo z *x* spremenljivko. Ujemanje obeh metodoloških načinov je večje v vzorcih iz zgornjih 10 m vodnega stolpa, na globini 21 m pa je sipanje podatkov okoli regresijske premice večje pri nizkih in visokih koncentracijah. Na vseh globinah je uporaba GF/F filtrov dala nekoliko višje koncentracije kot PC filtri.

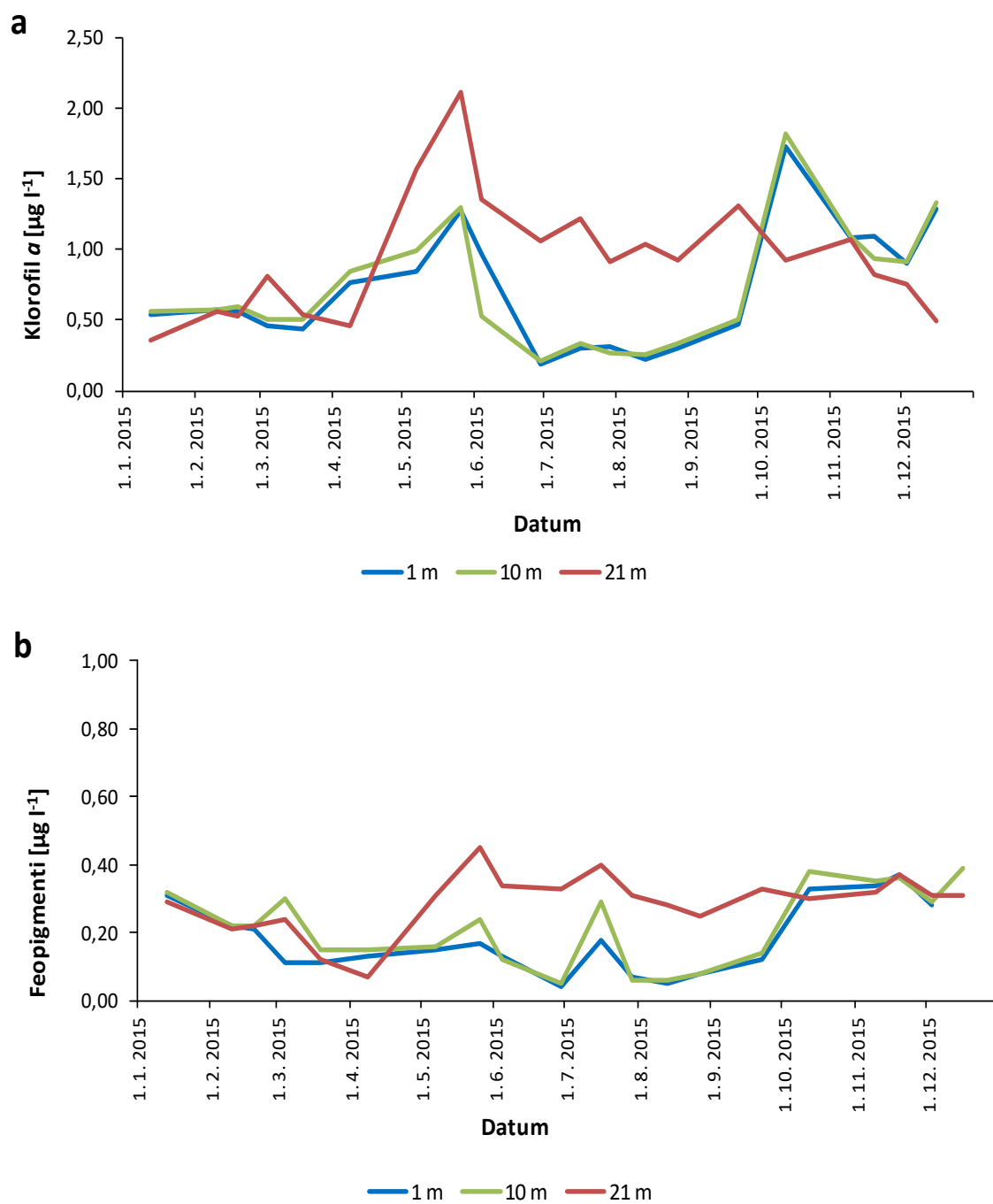


Slika 10: Primerjava dveh metod določanja koncentracije Chl a: filtri s steklenimi vlakni (GF/F) vs. polikarbonatni (PC) filtri na različnih globinah vodnega stolpa; 1 m (a), 10 m (b) in 21 m (c).

3.2.2 Koncentracije klorofila *a* in feopigmentov

Najvišja koncentracija Chl *a* (Slika 11 a) je bila izmerjena 26. 5. 2015 v pridnenem sloju ($2,12 \mu\text{g l}^{-1}$), najnižja pa 29. 6. 2015 v površinskem sloju ($0,19 \mu\text{g l}^{-1}$). Porazdelitev koncentracij Chl *a* na globinah 1 m in 10 m je bila zelo podobna, kar potrjujeta tudi enaki letni povprečni koncentraciji ($0,72 \mu\text{g l}^{-1}$). Pridneni sloj se je od zgornjih dveh razlikoval tako po višjih povprečnih vrednostih ($0,94 \pm 0,43 \mu\text{g l}^{-1}$) kot po letni dinamiki. Na globinah 1 m in 10 m smo zabeležili dva značilna sezonska viška – konec maja ($1,28$ in $1,30 \mu\text{g l}^{-1}$) ter sredi oktobra ($1,73$ in $1,82 \mu\text{g l}^{-1}$). V preostalih mesecih, še posebej poleti, so bile koncentracije na globinah 1 m in 10 m nizke ($< 0,5 \mu\text{g l}^{-1}$). V pridnenem sloju so nizke zimsko-spomladanske koncentracije maja močno narasle in dosegle letni višek; v nasprotju z zgornjim 10-metrskim slojem pa so bile čez poletje in vse do novembra razmeroma visoke ($> 1 \mu\text{g l}^{-1}$).

Koncentracije razgradnih produktov Chl *a* ali feopigmentov so bile zmeraj nižje od koncentracij Chl *a* (Slika 11 b). Najvišja vrednost je bila izmerjena 26. 5. 2015 pri dnu ($0,45 \mu\text{g l}^{-1}$), najnižja pa 29. 6. 2015 v površinskem sloju ($0,04 \mu\text{g l}^{-1}$). Časovni potek koncentracije feopigmentov je sovpadal z dinamiko koncentracij Chl *a*: na začetku in koncu leta so si bile koncentracije feopigmentov na posameznih globinah precej podobne, z vzpostavitvijo razslojenega vodnega stolpa pa so pridnene koncentracije narasle ter tako v obdobju od maja do septembra precej odstopale od vrednosti v zgornjih 10 m.



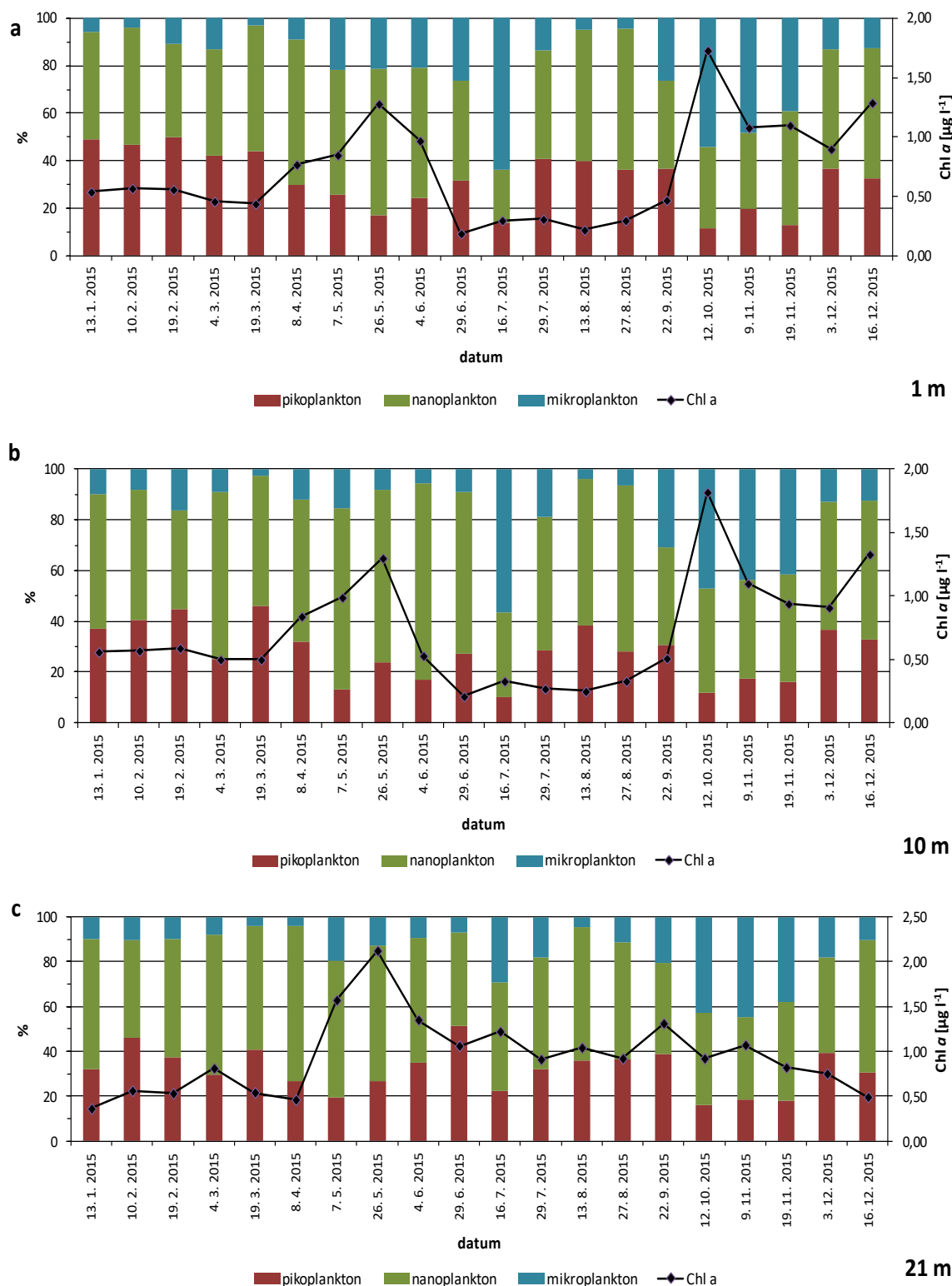
Slika 11: Koncentracije klorofila a (a) in feopigmentov (b) na posameznih globinah vodnega stolpa v letu 2015 na postaji 00BF.

3.2.3 Časovna porazdelitev velikostnih razredov fitoplanktona

Časovna porazdelitev deležev velikostnih razredov je bila z manjšimi odstopanji podobna na vseh treh globinah (Slika 12). Iz prikazanih grafov lahko razberemo, da je nanoplanktonska velikostna frakcija (2–20 μm) v večjem delu leta največ prispevala k obsegu celotne fitoplanktonske biomase (v povprečju $51 \pm 11 \%$). Le v nekaterih mesecih in na določenih globinah sta prevladovali mikrop planktonska ($> 20 \mu\text{m}$) in pikoplanktonska (0,2–2 μm) velikostna frakcija. Najmanjši velikostni razred, pikoplankton, je največ doprinesel k celotni biomasi v zimskih mesecih (januar–februar) v površinskem sloju ter sredi poletja v pridnenem sloju. Deleži pikoplanktona so variirali od 10 (16. 7. 2015) do 51 % (29. 6. 2015), v povprečju pa je bil to drugi najbolj zastopan velikostni razred ($31 \pm 11 \%$). Obdobja prevlade mikrop planktona so bili jesenski meseci (oktober–november) in sredina julija, a le v zgornjih 10 m. Deleži mikrop planktona so bili med 3 (19. 3. 2015) in 64 % (16. 7. 2015), v povprečju pa je to bil najmanj zastopan velikostni razred ($19 \pm 15 \%$). V vseh ostalih mesecih, pa je k biomasi fitoplanktona največ prispeval nanoplankton z relativnimi deleži od 22 do 77 % (4. 6. 2015).

Ob prvem sezonskem višku klorofilne biomase v maju (Slika 12, črna črta) je prevladoval nanoplankton, in to na vseh globinah (60–68 %). K oktoborskemu višku Chl *a*, ki je bil še posebej izrazit v prvih 10 m vodnega stolpa, je največ prispeval mikrop plankton (47–54 %).

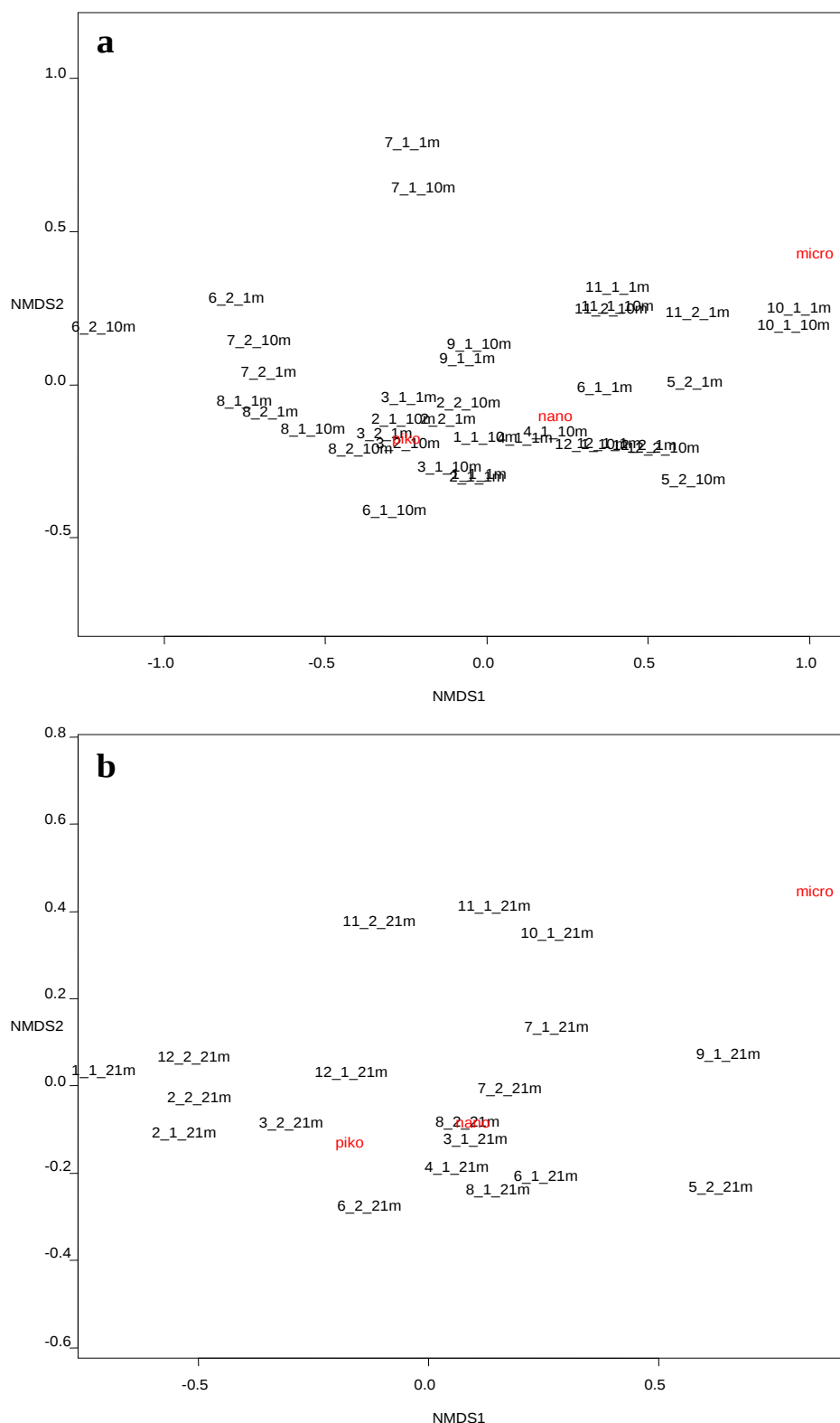
V površinskem vodnem sloju je večino časa dominiral nanoplankton, razen januarja, konec februarja in konec septembra, ko je dominiral pikoplankton, ter v sredini julija, oktobra in v začetku novembra, ko je prevladoval mikrop plankton. Na globini 10 m je skozi celo leto prevladoval nanoplankton, razen konec februarja, ko so bili največji deleži pikoplanktona, ter v sredini julija, oktobra in v začetku novembra, ko je prevladoval mikrop plankton. Na globini 21 m je, tako kot na ostalih dveh globinah, skozi celo leto prevladoval nanoplankton, razen v začetku februarja in konec junija, ko je dominiral pikoplankton, ter oktobra in v začetku novembra, ko je prevladoval mikrop plankton. Deleži mikrop planktona so bili vedno najnižji.



Slika 12: Relativni deleži (%) posameznih velikostnih razredov fitoplanktona (stolpci) in celotna koncentracija klorofilne biomase (črta) na različnih globinah vodnega stolpa v letu 2015 na postaji 00BF; 1 m (a), 10 m (b) ter 21 m (c).

Na sliki 13 je prikazan ordinacijski diagram nemetričnega multidimenzionalnega skaliranja (nMDS), ki prikazuje razvrstitev vzorcev na prvih dveh ordinacijskih oseh, glede na velikostno sestavo fitoplanktona (koncentracije klorofila *a* po velikostnih frakcijah). Rezultate nMDS analize prikazujemo ločeno za zgornji 10-metrski vodni sloj, kjer imajo vse tri frakcije zelo podobno dinamiko, in za sloj pri dnu, kjer se razlikujeta predvsem dinamiki pikoplanktona ter nanoplanktona. V zgornjem sloju se od drugih najboljše ločijo jesenski in poletni vzorci (Slika 13 a). Najbližje jesenskim, to je oktobrskim in novembrskim vzorcem, se je razvrstil mikrop plankton, ki je prispeval največji delež k jesenskemu višku. Tudi biomasa mikrop planktona je bila na letni skali najvišja jeseni (do $0,99 \mu\text{g Chl } a \text{ l}^{-1}$). Hkrati je mikrop plankton razvrščen najdlje od poletnih, pa tudi od zimskih vzorcev, ko sta bili biomasa mikrop planktona in njen delež zelo majhna. Izjema sta le prva julijska vzorca, ki sta na diagramu povsem ločena, vendar je takrat mikrop plankton k sicer nizki biomasi prispeval največ (do $0,23 \mu\text{g Chl } a \text{ l}^{-1}$). Zimski in pomladni vzorci so na nMDS diagramu premešano razporejeni med poletno ter jesensko skupino. Takrat sta v vzorcih približno enakomerno zastopani skupini nanoplanktona in pikoplanktona, medtem ko ima mikrop plankton najmanjšo biomaso. Nanoplankton na diagramu bolj gravitira k pomladnim vzorcem, saj je maja dosegel svoj letni višek z do $0,77 \mu\text{g Chl } a \text{ l}^{-1}$, blizu pa je tudi jesenskim mesecem, ko je imel svoj drugi letni višek. Nasprotno pikoplankton ni imel tako očitnega majskega viška in je bila njegova biomasa podobna skozi celo zimo ter pomlad (okoli $0,20 \mu\text{g Chl } a \text{ l}^{-1}$).

V pridnenem sloju je razvrstitev vzorcev nekoliko drugačna (Slika 13 b), saj se najbolj ločijo jesenski in zimski vzorci, medtem ko so pomladni ter poletni premešani. Skupina mikrop planktona je razvrščena daleč od vseh vzorcev, vendar je na pozitivni strani druge nMDS osi skupaj z jesenskimi vzorci, saj je imel takrat mikrop plankton najvišjo biomaso tudi v pridnenem sloju (do $0,46 \mu\text{g Chl } a \text{ l}^{-1}$). Skupini nanoplanktona in pikoplanktona sta razvrščeni med pomladne ter poletne vzorce, saj sta v pridnenem sloju v teh mesecih prevladovali. Pikoplankton je dosegel svoj višek septembra z $0,62 \mu\text{g Chl } a \text{ l}^{-1}$, medtem ko je imel nanoplankton svoj višek maja z $0,94 \mu\text{g Chl } a \text{ l}^{-1}$, podobno kot v zgornjem sloju.



Slika 13: nMDS diagram, ki prikazuje razvrstitev vzorcev z 1 m in 10 m globine (a) ter 21 m globine (b) na prvih dveh ordinacijskih oseh glede na – koncentracije Chl a v treh velikostnih razredih: piko – pikoplankton, nano – nanoplankton, micro – mikroplankton. Oznake vzorcev: mesec_zaporedna št.vzorca_globina (npr. 12_2_1m). Stres: 0,07.

3.3 KEMOTAKSONOMSKA SESTAVA FITOPLANKTONA

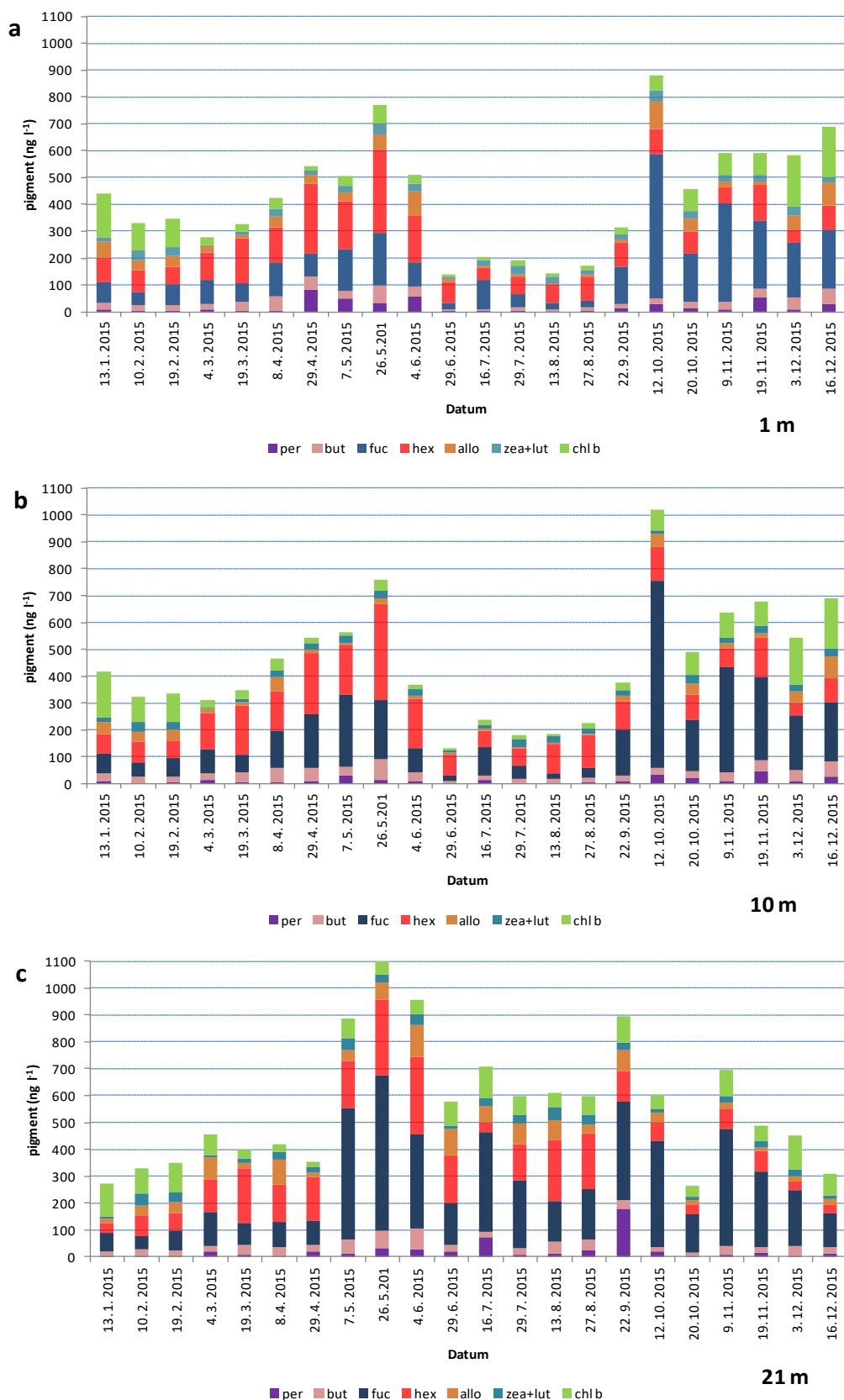
3.3.1 Koncentracije fotosinteznih barvil

Na sliki 14 je prikazana sezonska razporeditev sedmih najznačilnejših fotosinteznih barvil v letu 2015 na treh vzorčevalnih globinah (fukoksantin – fuc, 19'-butanoiloksifukoksantin – but, 19'-heksanoiloksifukoksantin – hex, peridinin – per, zeaksantin + lutein – zea + lut, aloksantin – allo, klorofil *b* – Chl *b*). Skoraj celo leto sta na vseh globinah prevladovala fuc (letno povprečje: $180 \pm 147 \text{ ng l}^{-1}$) in hex (letno povprečje: $122 \pm 17 \text{ ng l}^{-1}$). Tretje v povprečju najbolj zastopano barvilo Chl *b* ($66 \pm 49 \text{ ng l}^{-1}$) je imelo najvišje koncentracije v zimskih mesecih (januar, februar, december). Koncentracije per so bile vedno najnižje in tudi zelo spreminjajoče, kar se je odrazilo v letnem povprečju in visoki standardni deviaciji ($19 \pm 26 \text{ ng l}^{-1}$). Izmed vseh barvil smo najvišjo koncentracijo izmerili pri fuc na globini 10 m v času jesenskega viška fitoplanktonske biomase (699 ng l^{-1} ; 12. 10. 2015), najnižjo pa pri but v površinskem sloju poleti (1 ng l^{-1} ; 16. 7. 2015).

Sezonski potek koncentracij vseh barvil je pričakovano odražal potek celotne biomase na treh globinah (Slika 14). Koncentracije barvil na globinah 1 in 10 m so bile precej podobne, medtem ko smo na 21 m opazili večje razlike.

Na prvih dveh globinah vodnega stolpa smo od marca do avgusta, vključno s prvim sezonskim viškom v drugi polovici maja ($306\text{--}356 \text{ ng l}^{-1}$), najvišje koncentracije izmerili pri hex. Izjema je bila prva polovica julija, ko so bile koncentracije fuc višje od koncentracij hex. Od septembra do decembra, vključno z drugim viškom oktobra ($539\text{--}699 \text{ ng l}^{-1}$), smo najvišje koncentracije izmerili pri fuc. Zimski meseci (januar in februar) so bili najbogatejši s Chl *b* ($104\text{--}171 \text{ ng l}^{-1}$). Ostala barvila so se pojavljala v mnogo nižjih koncentracijah; omeniti velja porast površinskih koncentracij per aprila in maja ter allo oktobra in decembra.

V pridnenem sloju sta med vsemi barvili po absolutnih koncentracijah in deležih prav tako prevladovala fuc in hex. Najbolj očitni razliki z zgornjim 10-metrskim slojem smo opazili v poletnih mesecih in ob prvem sezonskem višku Chl *a* v maju. V nasprotju z osiromašenimi zgornjimi sloji smo poleti na globini 21 m izmerili razmeroma visoke koncentracije vseh barvil. Ob majskem višku, ko je imel na globinah 1 in 10 m najvišjo koncentracijo hex, smo v sloju pri dnu izmerili največjo koncentracijo fuc (577 ng l^{-1}). Na globini 21 m je izstopal tudi septembrski in hkrati letni višek per (176 ng l^{-1}) ter v povprečju višje koncentracije barvil zea + lut, še posebej v obdobju razslojenega vodnega stolpa.

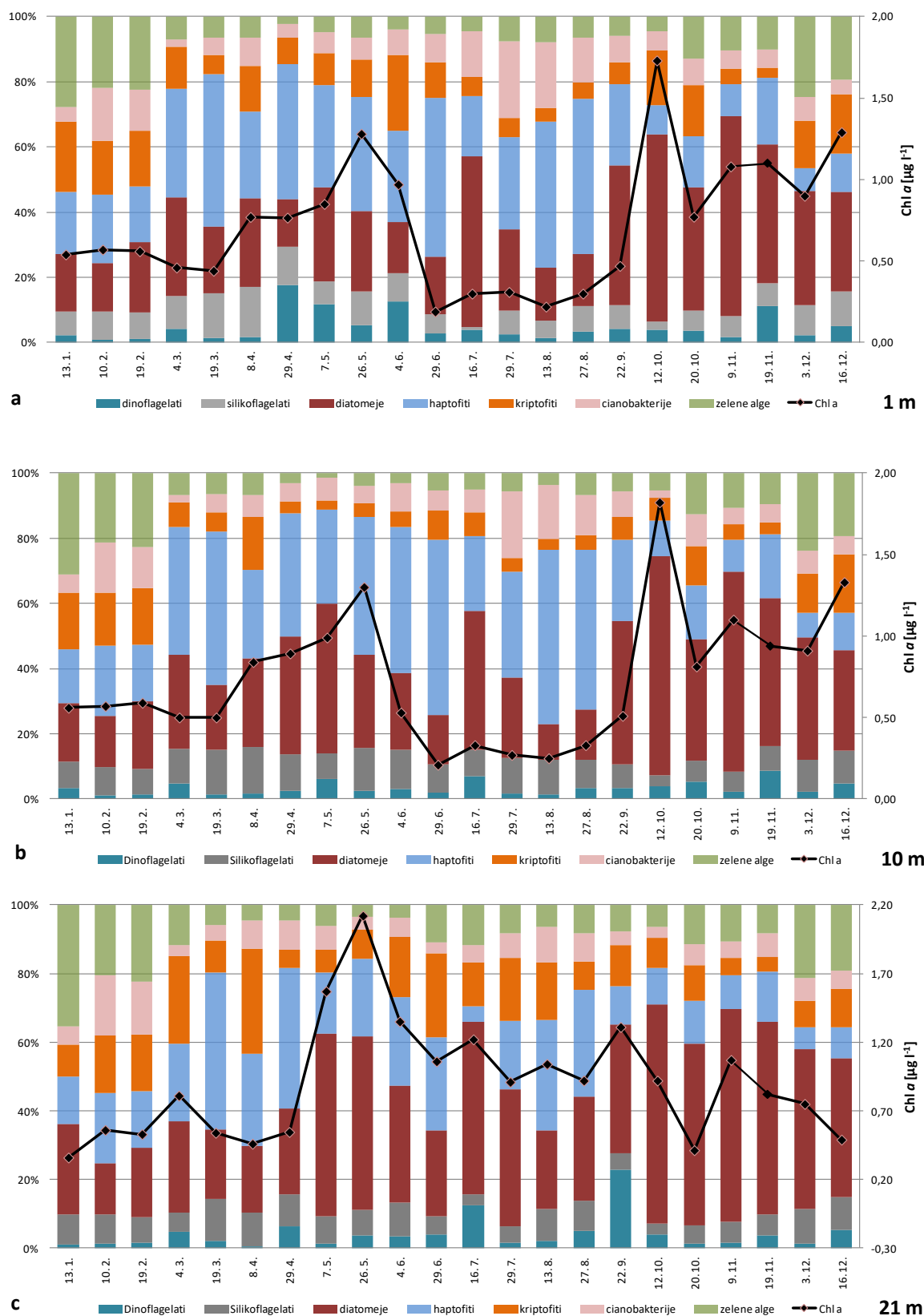


Slika 14: Sezonska dinamika fotosinteznih barvil na različnih globinah vodnega stolpa v letu 2015 na postaji 00BF; 1 m (a), 10 m (b) in 21 m (c). Okrajšave barvil so podane v Preglednici 1.

3.3.2 Časovna dinamika taksonomskih skupin fitoplanktona

Taksonomsko sestavo fitoplanktonske združbe smo določili s pomočjo fitoplanktonskih barvil, ki so značilna za višje taksone enoceličnih alg, in sicer za diatomeje, dinoflagelate, silikoflagelate, haptofite, kriptofite, zelene alge ter cianobakterije. Na Sliki 15 prikazujemo sestavo fitoplanktonske združbe, ki jo zaradi boljše preglednosti podajamo z relativnimi deleži taksonomskih skupin pri celotni biomasi, izraženi s koncentracijo Chl *a*.

Skozi celo leto sta se v fitoplanktonski združbi izmenjevali prevladujoči vlogi diatomej (letno povprečje: 33 ± 15 %) in haptofitov (letno povprečje: 25 ± 13 %). Na splošno lahko rečemo, da so ob visokih koncentracijah Chl *a* prevladovali diatomeje, kar je še posebej izrazito ob jesenskem višku biomase na vseh globinah (57–67 %), in tudi ob visokih pridnenih koncentracijah Chl *a* v poletnih mesecih (50 %). K spomladanskemu višku biomase na globinah 1 in 10 m so največ prispevali haptofiti (35–42 %), na dnu pa spet diatomeje (50 %). V zimskem času (januar, februar) nobena od taksonomskih skupin ni prevladovala; še največji delež je odpadel na zelene alge (20–35 %), najmanjši pa na dinoflagelate (do 3 %), ki so nasploh najmanj prispevali k skupni biomasi (letno povprečje: 4 ± 4 %). Delež dinoflagelatov je bil največji spomladi v površinskem sloju (18 %) in septembra v pridnenem sloju (23 %). Porazdelitev kriptofitov je bila podobna porazdelitvi zelenih alg v zimskih mesecih. Opazno več jih je bilo v pridnenem sloju skoraj skozi celo leto (do 30 %; 8. 4. 2015). Delež silikoflagelatov je bil majhen in se skozi leto ni veliko spreminjal (letno povprečje: 8 ± 3 %). Za cianobakterije je bil značilen poletni vzorec, ko smo izračunali večje deleže zlasti v zgornjih 10 m vodnega stolpa (12–24 %). V ostalih mesecih pa so, z izjemo februarja, cianobakterije le malo prispevale k skupni biomasi (< 10 %).

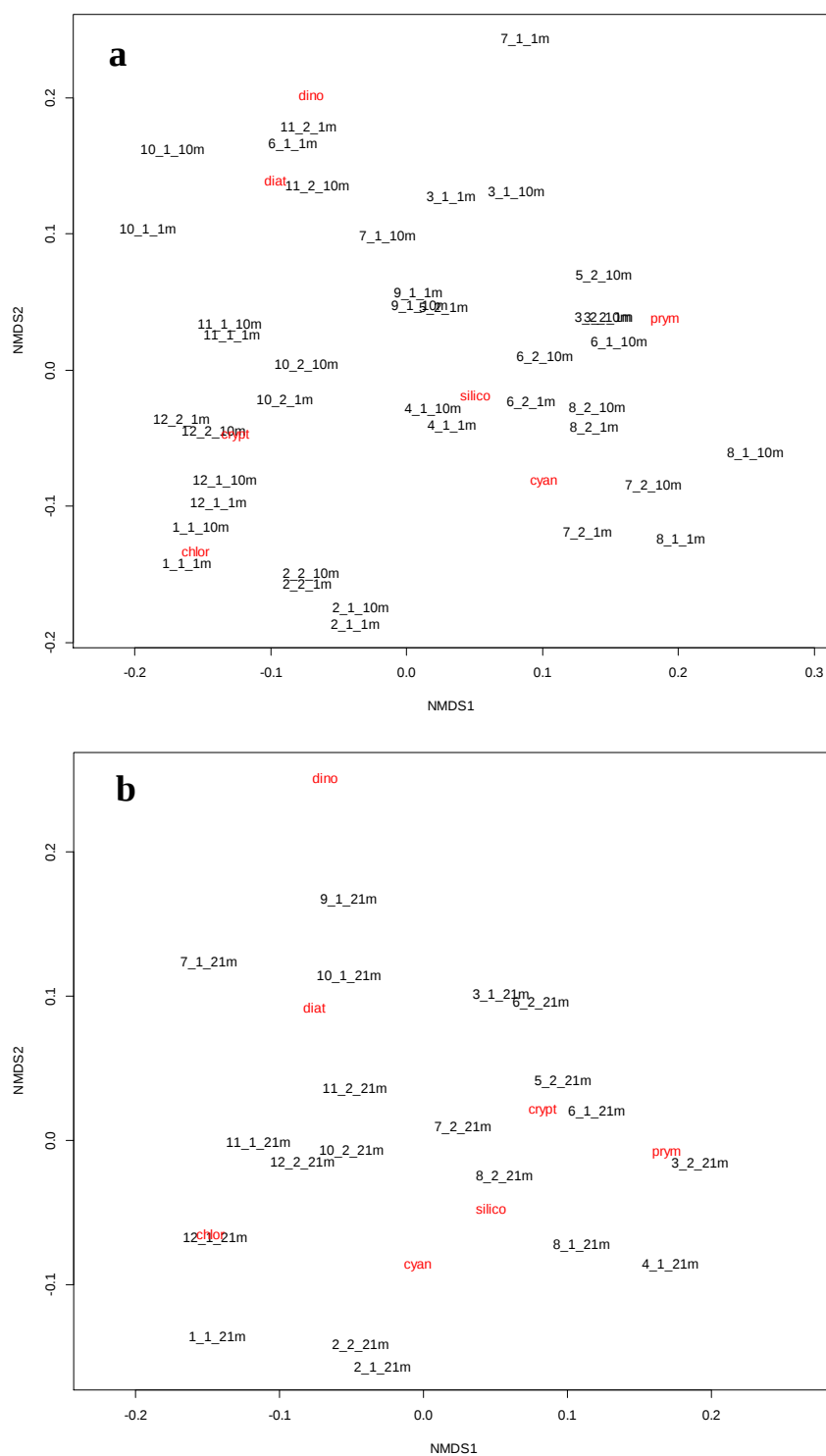


Slika 15: Relativni deleži (%) posameznih taksonomskih skupin fitoplanktona (stolpci) in celotna koncentracija klorofilne biomase (črta) na treh različnih globinah v letu 2015 na postaji 00BF; 1 m (a), 10 m (b) ter 21 m (c).

Na sliki 16 je prikazan ordinatni diagram nemetričnega multidimenzionalnega skaliranja (nMDS), ki prikazuje razvrstitev vzorcev na prvih dveh ordinatnih oseh, glede na sestavo fitoplanktonskih skupin, ocenjeno s koncentracijami značilnih barvil. nMDS diagram še dodatno potrjuje dinamiko taksonomskih skupin, prikazano na Sliki 15.

Slika 16 a združuje vzorce zgornjih vodnih slojev (1 in 10 m). Kriptofiti in zelene alge so razvrščeni med zimske vzorce, saj imajo takrat najvišjo biomaso. Haptofiti (na diagramu označeni s »prym« za primneziofite, ki je sinonim za haptofite) so umeščeni najbližje pomladnim mesecem, pa tudi avgustovskim vzorcem, ko ponovno prevladajo nad drugimi skupinami. Diatomeje gravitirajo k jesenskim vzorcem, ko so absolutno prevladale in največ doprinesle k jesenskemu višku fitoplanktonske biomase. Cianobakterije so v zgornjem sloju značilne za poletno obdobje. Silikoflagelati zavzemajo na diagramu središčno pozicijo, saj ne prevladujejo v nobenem obdobju, dinoflagelatom pa biomasa nekoliko naraste le spomladi in jeseni.

Razvrstitev vzorcev in taksonomskih skupin v pridnenem sloju (Slika 16 b) je manj jasna kot v zgornjem delu vodnega stolpa. Čeprav je dinamika zelenih alg v pridnenem sloju (le-te imajo povišano biomaso na dnu tudi v toplem delu leta) v primerjavi z zgornjima dvema nekoliko drugačna, je razvrstitev na diagramu podobna (gravitira k zimskim mesecem). Nasprotno pa imajo kriptofiti drugačno pozicijo in se uvrščajo med pomladne ter poletne vzorce, ko imajo pri dnu najvišjo biomaso. Podobno dinamiko so imeli tudi haptofiti. Diatomeje so imele v pridnenem sloju več letnih viškov, med katerimi je bil najvišji majski, zato so uvrščene nekoliko stran od jesenskih vzorcev. Cianobakterije so imele pri dnu višjo biomaso kakor v površinskem sloju, vendar niso imele za površino značilnega povišanega poletnega deleža, zato so uvrščene med zimo, pomlad in poletje. Dinoflagelatni višek se je v sloju pri dnu pojavil septembra, zato so dinoflagelati najbližje septembrskemu vzorcu.



Slika 16: nMDS diagram, ki prikazuje razvrstitev vzorcev z 1 m in 10 m globine (a) ter 21 m globine (b) na prvih dveh ordinatnih oseh glede na sestavo fitoplanktonskih skupin (dino – dinoflagelati, diat – diatomeje, prym – haptofiti, cyan – cianobakterije, crypt – kriptofiti, chlor – zelene alge in silico – silikoflagelati), ocenjeno s koncentracijami biomarkerskih barvil. Oznake vzorcev: mesec_zaporedna št. vzorca_globina (npr. 12_2_1m). Stres: 0,18 (a) in 0,16 (b).

3.3.3 Primerjava metod določanja velikostnih razredov fitoplanktona

V Preglednici 2 so prikazani rezultati primerjave dveh metod določanja biomase fitoplanktona v treh velikostnih razredih. Primerjali smo dejansko izmerjene vrednosti Chl *a* po metodi frakcionirane filtracije in izračunane vrednosti Chl *a*, ki jih prispevajo fotosintezna barvila (HPLC metoda), značilna za določeno taksonomsko skupino oz. posredno za določen velikostni razred fitoplanktona. To primerjavo smo naredili, ker smo želeli preveriti, ali bi lahko koncentracije barvil, ustrezno transformirane, uporabili tudi za oceno koncentracije Chl *a* posameznih velikostnih razredov. Za primerjavo rezultatov dveh metodoloških pristopov smo uporabili linearno regresijo.

Ujemanje med izmerjenimi in izračunanimi vrednostmi Chl *a* je bilo najboljše pri mikroplanktonu, še posebej v zgornjih 10 m vodnega stolpa ($R^2 = 0,88$ in $0,79$). Tudi pri ostalih dveh velikostnih razredih lahko razložimo varianco v več kot 60 % primerov, razen pri pikoplanktonu na globini 21 m, ko ni bilo nobenega ujemanja med obema metodama ($R^2 = 0,02$). Koeficienti determinacije v splošnem kažejo, da je bilo ujemanje vrednosti Chl *a* večje v vzorcih iz zgornjih 10 m vodnega stolpa kot pa v pridnenem sloju.

V večini primerov izmerjene vrednosti Chl *a* v posameznih velikostnih frakcijah presegajo izračunane, razen v primeru mikroplanktona (naklon premice $k > 1$) na globinah 10 in 21 m, kjer izračunane koncentracije Chl *a* močno presegajo izmerjene.

Preglednica 2: Primerjava dveh metod za določanje koncentracij klorofila *a* v treh velikostnih razredih: izmerjene vrednosti vs. izračunane vrednosti; k = naklon premice, R^2 = koeficient determinacije.

	Mikroplankton		Nanoplankton		Pikoplankton	
GLOBALNA	R^2	k	R^2	k	R^2	k
1 m	0,79	0,83	0,65	0,73	0,75	1,05
10 m	0,88	1,51	0,64	0,60	0,64	0,84
21 m	0,62	1,80	0,43	0,72	0,02	0,05

3.4 VPLIV ABIOTSKIH DEJAVNIKOV NA FITOPLANKTONSKO ZDRUŽBO

Vpliv abiotских dejavnikov na značilnosti fitoplanktonske združbe (celotna in velikostno frakcionirana biomasa) smo ovrednotili s Kendallov korelacijsko analizo (Preglednice 3, 4 ter 5). Večja kot je vrednost korelacijskega koeficienta (τ), bodisi s pozitivnim ali z negativnim predznakom, večja je soodvisnost primerjanih dejavnikov. Pri opisu rezultatov smo se osredotočili samo na tiste korelacije med abiotскими dejavniki in koncentracijami Chl *a*, ki so bile statistično značilne ($p < 0,05$). Korelacijski koeficienti kažejo, da je bilo več soodvisnih povezav med abiotскими in biotскими dejavniki na vzorcih z 10 ter 21m globine. Pikoplanktonski velikostni razred je bil tisti, ki se je najbolj odzival na abiotske dejavnike, kot so temperatura, različne oblike anorganskega dušika in silikat. Pikoplankton je negativno koreliral s temperaturo na površini in na globini 10 m ($\tau = -0,42$ in $-0,38$), pozitivno pa v pridnenem sloju ($\tau = 0,35$). Pozitivno soodvisnost smo v pridnenem sloju našli tudi med temperaturo in ostalima dvema velikostnima frakcijama ter celotno koncentracijo Chl *a*. Manj značilnih povezav smo izračunali za nanoplanktonski velikostni razred, medtem ko mikrop plankton, razen v pridnenem sloju, ni kazal značilnih povezav z abiotскими dejavniki.

Drugačno sliko kažejo korelacijski koeficienti med celotno biomaso (Chl*a*_tot) in biomaso posameznih velikostnih razredov, kar je bilo tudi pričakovano. Največjo korelacijo smo izračunali med biomaso nanoplanktona in celotno biomaso v površinskem sloju ($\tau = 0,85$), kar potrjuje velik doprinos te frakcije k skupni biomas.

Preglednica 3: Kendallov korelacijski koeficient (τ) s pripadajočimi statističnimi verjetnostmi (p) med pari spremenljivk (abiotiki dejavniki, koncentracija Chl a) na globini 1 m; Chla_piko, Chla_nano, Chla_mikro: koncentracije Chl a v treh velikostnih razredih, Chla_tot: celotna koncentracija Chl a .

		Temp	Slanost	PO ₄	NO ₂	NO ₃	NH ₄	SiO ₄	Chla_piko	Chla_nano	Chla_mikro	Chla_tot
Temp	τ	1										
	p											
Slanost	τ	-0.6385	1									
	p	0.0001										
PO ₄	τ	-0.2410	0.0483	1								
	p	0.1796	0.7883									
NO ₂	τ	-0.6597	0.4934	0.2849	1							
	p	0.0001	0.0029	0.1071								
NO ₃	τ	-0.1684	0.0053	0.3678	0.3278	1						
	p	0.2992	0.9741	0.0339	0.0414							
NH ₄	τ	0.0079	0.0158	0.0426	0.1660	0.1953	1					
	p	0.9657	0.9315	0.8270	0.3568	0.2690						
SiO ₄	τ	-0.3936	0.2293	0.4538	0.5075	0.3245	0.0137	1				
	p	0.0167	0.1640	0.0098	0.0018	0.0421	0.9390					
Chla_piko	τ	-0.4155	0.3036	0.2892	0.6423	0.2255	-0.0573	0.4084	1			
	p	0.0140	0.0733	0.1257	0.0002	0.1824	0.7661	0.0174				
Chla_nano	τ	-0.1953	0.1662	0.1821	0.3293	0.2190	0.0476	0.2575	0.5165	1		
	p	0.2469	0.3256	0.3335	0.0562	0.1942	0.8042	0.1326	0.0025			
Chla_mikro	τ	0.0967	-0.1516	0.0078	0.0935	0.1572	0.3114	-0.0367	0.1718	0.4405	1	
	p	0.5723	0.3773	0.9677	0.5937	0.3588	0.1108	0.8328	0.3216	0.0108		
Chla_tot	τ	-0.2229	0.1824	0.1902	0.3578	0.2058	0.1420	0.1613	0.5536	0.8546	0.5396	1
	p	0.1834	0.2775	0.2907	0.0310	0.2055	0.4391	0.3277	0.0011	0.0000	0.0017	

Preglednica 4: Kendallov korelacijski koeficient (τ) s pripadajočimi statističnimi verjetnostmi (p) med pari spremenljivk (abiotiki dejavniki, koncentracija Chl a) na globini 10 m; Chla_piko, Chla_nano, Chla_mikro: koncentracije Chl a v treh velikostnih razredih, Chla_tot: celotna koncentracija Chl a .

		Temp	Slanost	PO ₄	NO ₂	NO ₃	NH ₄	SiO ₄	Chla_piko	Chla_nano	Chla_mikro	Chla_tot
Temp	τ	1										
	p											
Slanost	τ	-0.5158	1									
	p	0.0015										
PO ₄	τ	-0.4888	0.2758	1								
	p	0.0055	0.1172									
NO ₂	τ	-0.4840	0.4180	0.5005	1							
	p	0.0038	0.0125	0.0043								
NO ₃	τ	-0.5474	0.3158	0.3579	0.5776	1						
	p	0.0008	0.0521	0.0357	0.0004							
NH ₄	τ	0.3800	-0.3325	-0.2695	-0.1553	-0.0746	1					
	p	0.0390	0.0709	0.1604	0.3954	0.6747						
SiO ₄	τ	-0.3767	0.3342	0.1925	0.5443	0.5812	0.1785	1				
	p	0.0217	0.0417	0.2631	0.0009	0.0003	0.3197					
Chla_piko	τ	-0.3776	0.2242	0.1380	0.4462	0.6018	-0.2584	0.5298	1			
	p	0.0249	0.1829	0.4531	0.0104	0.0004	0.1805	0.0019				
Chla_nano	τ	-0.1781	0.0356	-0.0903	0.1870	0.4511	-0.0193	0.3653	0.5569	1		
	p	0.2922	0.8332	0.6253	0.2848	0.0078	0.9209	0.0329	0.0011			
Chla_mikro	τ	0.0893	-0.1131	-0.1323	0.1813	0.2084	0.2124	0.0961	0.3484	0.4351	1	
	p	0.5982	0.5045	0.4751	0.3009	0.2200	0.2743	0.5755	0.0412	0.0112		
Chla_tot	τ	-0.2545	0.1479	0.1962	0.4293	0.5067	0.0640	0.3135	0.4418	0.5225	0.5964	1
	p	0.1315	0.3806	0.2692	0.0110	0.0020	0.7304	0.0582	0.0093	0.0022	0.0005	

Preglednica 5: Kendallov korelacijski koeficient (τ) s pripadajočimi statističnimi verjetnostmi (p) med pari spremenljivk (abiotiki dejavniki, koncentracija Chl *a*) na globini 21 m; Chl_{a_piko}, Chl_{a_nano}, Chl_{a_mikro}: koncentracije Chl *a* v treh velikostnih razredih, Chl_{a_tot}: celotna koncentracija Chl *a*.

		Temp	Slanost	PO ₄	NO ₂	NO ₃	NH ₄	SiO ₄	Chl _{a_piko}	Chl _{a_nano}	Chl _{a_mikro}	Chl _{a_tot}
Temp	τ	1										
	p											
Slanost	τ	0.1158	1									
	p	0.4754										
PO₄	τ	-0.3673	-0.0592	1								
	p	0.0351	0.7339									
NO₂	τ	-0.4380	-0.0581	0.2958	1							
	p	0.0073	0.7221	0.0808								
NO₃	τ	-0.4591	-0.0792	0.3372	0.6827	1						
	p	0.0047	0.6263	0.0457	0.0000							
NH₄	τ	0.2997	0.0000	0.1161	0.0637	0.1441	1					
	p	0.0903	1.0000	0.5260	0.7110	0.4003						
SiO₄	τ	0.2797	0.0686	-0.1183	0.0966	0.2308	0.1796	1				
	p	0.0866	0.6742	0.4849	0.5445	0.1464	0.2964					
Chl_{a_piko}	τ	0.3540	0.1062	-0.3813	-0.5858	-0.4083	-0.2108	0.0414	1			
	p	0.0355	0.5281	0.0363	0.0005	0.0155	0.2540	0.8069				
Chl_{a_nano}	τ	0.4530	-0.1000	-0.2401	-0.5310	-0.3658	0.1126	0.0826	0.5341	1		
	p	0.0070	0.5515	0.1862	0.0017	0.0298	0.5413	0.6251	0.0016			
Chl_{a_mikro}	τ	0.4373	-0.1497	-0.3328	-0.1202	-0.0841	0.3975	0.1322	0.1692	0.3314	1	
	p	0.0102	0.3786	0.0706	0.4829	0.6218	0.0334	0.4402	0.3233	0.0525		
Chl_{a_tot}	τ	0.3988	-0.0587	-0.3326	-0.5532	-0.4444	0.0719	-0.0532	0.5858	0.5782	0.5166	1
	p	0.0173	0.7263	0.0569	0.0007	0.0064	0.6853	0.7450	0.0005	0.0006	0.0024	

4 DISKUSIJA

4.1 METODOLOGIJA DOLOČANJA EKOLOŠKIH ZNAČILNOSTI FITOPLANKTONA

Za določanje ekoloških značilnosti fitoplanktona se uporablja različna metodologija. Ena izmed najpogostejših metod je metoda določanja glavnega fotosinteznega barvila. V poglavju 4.1.1 bomo razpravljali o primerjavi metode določanja koncentracije klorofila *a* (Chl *a*), kjer smo primerjali vzorce vode, filtrirane skozi GF/F in PC filtre. Naredili smo tudi primerjavo med izmerjenimi in izračunanimi vrednostmi Chl *a*, ki smo jih dobili tako, da smo izračunali relativni delež posamezne fitoplanktonske skupine v celotni biomasi (poglavje 4.1.2). Uporabili smo tudi kromatografsko metodo, zato v poglavju 4.1.3 razpravljamo o uporabi tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) v ekoloških raziskavah.

4.1.1 Fluorimetrično določanje koncentracije klorofila *a* z uporabo različnih filtrov

Preučevanje izbranih parametrov fitoplanktona pogosto vključuje filtracijo vodnega vzorca skozi filtre, ki se nato uporabljajo za različne mikroskopske in kromatografske študije. Kateri filter bomo uporabili, je večinoma odvisno od velikosti por, kar pa je povezano z velikostjo organizmov, ki jih želimo koncentrirati, cene filtra in njegove kemične lastnosti (velja predvsem za HPLC analize) (Knefelkamp in sod. 2007). Večinoma se za določanje celotne biomase fitoplanktona uporabljajo filtri z majhno velikostjo por (med 0,2 in 0,7 μm ; slednja je ocenjena velikost por GF/F filtrov), še posebej v zadnjih desetletjih zaradi dokazano pomembne vloge pikoplanktona kot najmanjšega velikostnega razreda fotoavtotrofnih mikroorganizmov (Agawin in sod. 2004, Not in sod. 2004, Rodriguez in sod. 2006, Knefelkamp in sod. 2007).

Primerjavo metod določanja koncentracij Chl *a* smo uporabili, da se prepričamo, ali dajeta primerljive rezultate in ali je zato upravičena uporaba PC filtrov pri frakcionirani filtraciji. Pri filtraciji za določanje celotne koncentracije Chl *a* se po navadi uporabljajo GF/F filtri s steklenimi vlakni, pri frakcionirani filtraciji pa polikarbonatni (PC) filtri z različno velikostjo por. Ker imajo filtri različne lastnosti, smo želeli preveriti upravičenost uporabe polikarbonatnih filtrov, zato smo filtrirali morsko vodo za določanje celotne koncentracije Chl *a* še skozi PC filtre. Različna filtra sta dala podobne rezultate v zgornjih dveh vodnih slojih (1 in 10 m), medtem ko so bile razlike na globini 21 m večje (Slika 10). Ugotavljamo, da daje uporaba GF/F filtrov nekoliko višje rezultate kakor uporaba PC filtrov. V povprečju so bile koncentracije Chl *a*, izmerjene na GF/F filtrihi za 0,07 (1 m), 0,10 (10 m) in 0,12 $\mu\text{g/l}$ (21 m) višje od koncentracij izmerjenih na PC filtrihi, vendar

razlike niso statistično značilne (t test, $P > 0,05$). Pri primerjavi uporabe različnih filtrov (GF/F, GF/C in PC) za določanje celotnega Chl a so v raziskavi Moran in sod. (1999) pokazali, da med njimi ne prihaja do bistvenih razlik oziroma so te minimalne, kar so v svoji raziskavi ugotovili tudi Knefelkamp in sod. (2007). Vendar pa opozarjajo, da bi do večjih razlik lahko prišlo, če bi večji del celotne klorofilne biomase predstavljal pikoplankton (Moran in sod. 1999, Knefelkamp in sod. 2007), še posebej cianobakterijski rod *Prochlorococcus*, ki velja za najmanjšega predstavnika fitoplanktona (velikost med 0,5 in 0,7 μm ; Partensky in sod. 1999) ter lahko prehaja skozi GF/F filtre z velikostjo por 0,7 μm . Rod *Prochlorococcus* sicer ni številčen v zmerno-hladnih morjih, kot je Tržaški zaliv, kjer med cianobakterijami, zlasti v poletnih mesecih, prevladuje rod *Synechococcus* (Tinta in sod. 2015), ki je tudi večji (0,8–1,2 μm). V naši raziskavi so se največje razlike v uporabi različnih filtrov pojavljale predvsem med vzorci z globine 21 m. V površinskem sloju so bile te razlike majhne; še največje so bile pozimi. Na dnu se razlike med filtri precej povečajo in so najbolj opazne maja, junija ter septembra. Sheldon (1972) je prepoznal, da lahko na filtracijsko učinkovitost različnih filtrov vplivata tudi oblika in število delcev v vodnem vzorcu. Seveda je potrebno vzeti v zakup tudi dejstvo, da so planktonski organizmi v vodnem vzorcu razporejeni zelo neenakomerno, kar pomeni, da tudi pri vzporednih filtracijah na filtru ne dobimo enake razporeditve (Knefelkamp in sod. 2007).

4.1.2 Določanje velikostno frakcionirane biomase fitoplanktona po dveh metodah

S primerjavo dveh metod (fluorimetrična vs. HPLC) in postopkov (izmerjeno vs. izračunano) določanja biomase različnih velikostnih razredov fitoplanktona smo želeli preveriti, ali bi lahko koncentracije fotosinteznih barvil posredno uporabili tudi za oceno koncentracije Chl a posameznih velikostnih razredov. Koncentracije Chl a treh velikostnih razredov smo izmerili fluorimetrično. Te vrednosti smo potem primerjali z izračunanimi koncentracijami Chl a , ki smo jih izpeljali iz koncentracij določenih fotosinteznih barvil (oz. njihovih deležev v celotni biomasi), pridobljenih s HPLC metodo, in ki so značilni za taksone določenih velikosti. Naše ugotovitve kažejo, da so izmerjene vrednosti večinoma višje od izračunanih (Preglednica 2).

Pričakovali smo razlike, ki izhajajo že iz različnih metod določanja Chl a . Mnoge raziskave so pokazale, da so bile koncentracije Chl a in njegovih razgradnih produktov feopigmentov, izmerjene s standardno fluorimetrično ali spektrofotometrično metodo, višje v primerjavi s koncentracijami, izmerjenimi s kromatografskimi metodami, kamor sodi tudi HPLC metoda (Mantoura in Llewellyn 1983, Trees in sod 1985, Jacobsen in sod. 1988, Neveux in sod. 1990, Hurley in Watras 1991). Podobno so ugotovili Rodriguez in sod. (2006) v raziskavi, v kateri je dala fluorimetrična metoda v povprečju 2-krat višje rezultate kakor HPLC metoda. V naši raziskavi smo ugotovili ravno nasprotno (ne prikazujemo rezultatov), in sicer, da so bile koncentracije Chl a , izmerjene fluorimetrično,

nižje od tistih, izmerjenih s HPLC metodo. Vendar so bile te razlike zelo majhne. HPLC vrednosti so bile v povprečju za 7 % višje od fluorimetrično določenih.

S kromatografskimi metodami lahko dobimo natančnejše ocene Chl *a*, ker razlikujejo njegove različne oblike. Celotni klorofil, izmerjen fluorimetrično, predstavlja vsoto Chl *a*, divinil Chl *a* in klorofilida *a* (Uitz in sod. 2006). Kromatografske metode na primer razlikujejo med Chl *a* in klorofilidom *a* (Rai 1980), ne pa tudi fluorimetrična, zaradi česar lahko pride do napačnih ocen klorofilne biomase (Terzić 1996). V nekaterih raziskavah so ugotovili tudi, da daje fluorimetrična metoda nižje koncentracije Chl *a* in višje koncentracije feopigmentov, ko je prisoten Chl *b* (Gibbs 1979, Mantoura in sod. 1997, Uitz in sod. 2006).

Druge razlike pa so lahko zaradi vnaprejšnjega razporejanja taksonomskih skupin, določenih z biomarkerskimi barvili, v določen velikostni razred (npr. diatomeje z biomarkerjem fukoksantinom so razporejene v mikroplanktonski velikostni razred), kar pa v naravi ni vedno tako.

4.1.3 Uporaba HPLC metode v kemotaksonomiji

HPLC metoda nam poleg določanja koncentracije Chl *a* omogoča tudi določanje koncentracij pomožnih fotosinteznih barvil (Uitz in sod. 2006). Večina teh barvil je značilna za posamezne taksonomske skupine fitoplanktona (Jeffrey in Vesk 1997), zaradi česar jih lahko uporabljamo kot biomarkerje teh skupin (Prezelin in sod. 2000, Vidussi in sod. 2001). Poleg kemotaksonomije, tj. določanja sestave fitoplanktonske združbe v morskem okolju s pomočjo kemijskih metod, se HPLC analiza barvil uporablja za oceno abundance taksonomskih skupin in za določanje fiziološkega stanja fitoplanktona (Terzić 1996, Jeffrey in sod. 1997). Redno spremljanje fotosinteznih barvil nam tako omogoča vpogled v sezonsko dinamiko fitoplanktonske združbe (Flander Putrle 2009). Kot navaja Terzić (1996), lahko dinamiko taksonomskih skupin v severnem Jadranu dokaj zanesljivo opišemo s sedmimi biomarkerskimi barvili (Preglednica 1), ki lahko pojasnijo več kot 90 % celotne klorofilne biomase severnega Jadrana.

Treba je vedeti, da veliko taksonomskih skupin ne vsebuje samo enega značilnega barvila. Ker temelji izračun deleža taksonomskih skupin pri skupni biomasi na določenem barvilu, lahko pride do precenjevanja deležev določenih skupin. Npr. delež dinoflagelatov je izračunan izključno iz koncentracij peridinina. Ker pa dinoflagelati vsebujejo tudi barvilo fukoksantin, lahko pride do precenjenega prispevka diatomej, ki se računa na podlagi barvila fukoksantin (Terzić 1996). Na splošno smo opazili, da je ob visokih koncentracijah Chl *a*, prevladovala združba diatomej. Kot navajajo Ansotegui in sod. (2003), spada večina diatomej v mikroplanktonski velikostni razred, vendar se nekatere vrste pojavljajo tudi v nanoplanktonskem. Fukoksantin se je v njihovi raziskavi v prvi polovici leta pojavljal predvsem v mikroplanktonski velikostni frakciji, v ostalem delu letu pa v nanoplanktonski, kjer je izviral predvsem iz kriptofitov in haptofitov. Pojasnjujejo, da se to lahko zgodi, ker

ima veliko alg v obalnih predelih visoke vrednosti fukoksantina, ki pa ne izvira iz diatomejskih vrst (Barlow in sod. 1998). Sočasno pa so Ansotegui in sod. (2003) zabeležili zelo majhne koncentracije barvila 19'-heksanoiloksifukoksantin (hex), kljub temu da je bilo v vzorcih zelo veliko haptofitov. Izmed haptofitov je bila najpogostejša vrsta *Emiliania huxleyi*, ki je kozmopolitska vrsta, široko razširjena tako v oceanskih kot v obalnih območjih. Vrsta *Emiliania huxleyi* je najbolj abundantna med kokolitoforidi tudi v Tržaškem zalivu in je pogosta predvsem v zimskih mesecih (Tinta in sod. 2015).

Podoben primer, ko biomarker fukoksantin ni označeval diatomej, ampak druge skupine fitoplanktona (npr. haptofite ali silikoflagelate), je opazila tudi Flander Putrle (2000).

Tem odstopanjem se je mogoče izogniti tudi z uporabo mikroskopskih metod, ki omogočajo še natančnejši vpogled v fitoplanktonsko združbo. Pomanjkljivost teh metod je, da lahko z njimi zelo natančno (odvisno seveda od taksonomskega znanja tistega, ki pregleduje vzorec) prepoznamo do vrste ali vsaj roda veliko večino diatomej, dinoflagelatov, kokolitoforidov in silikoflagelatov, ne moremo pa razločiti med številnimi predstavniki različnih razredov/debel golih nanoflagelatov ali celo pikoflagelatov oz. pikoplanktona. Kombinacija kromatografskih in mikroskopskih metod ter pretočne citometrije za taksonomsko določanje in štetje najmanjših celic bi bila v ekoloških študijah fitoplanktona idealna.

4.2 EKOLOŠKE ZNAČILNOSTI FITOPLANKTONA V SLOVENSKEM MORJU

Fitoplankton, kot glavni primarni producent, igra pomembno vlogo v oceanih in morjih. Fitoplanktonske združbe zaznamujejo velika nihanja v njihovi abundanci, taksonomski sestavi in velikosti, zaradi dinamike okolja, v katerem živijo (Pelegrini in sod. 2005). Velikostna struktura fitoplanktonske združbe določa velikostno strukturo prehranjevalnih verig v tako imenovani »bottom-up« kontrolni (Heilmann in Richardson, 1999). Obalna območja so zelo dinamična okolja, ker so pod vplivom različnih fizikalnih in kemičnih dejavnikov, kot so temperatura, hranila ter slanost (Barlow in sod. 2002, Lali in Parson 2002, Kniefelkamp in sod. 2007, Tinta in sod. 2015). V različnih raziskavah, kakor sta na primer Celussi in sod. (2010) ter Mozetič in sod. (2012), lahko zasledimo, da so planktonske združbe obalnih območij močno odvisne od rečnih pritokov, ki oblikujejo hidrološke ter trofične značilnosti obalnih morij, nanje pa vplivajo tudi meteorološki procesi (Tinta in sod. 2015). V poglavju 4.2.1 bomo opisali dinamiko glavnega fotosinteznega barvila v letu 2015, medtem ko se bomo v poglavju 4.2.2 osredotočili na velikostno sestavo fitoplanktonske združbe, ki jo bomo povezali s taksonomsko sestavo na podlagi biomarkerskih barvil.

4.2.1 Dinamika klorofila *a*

V polzaprtem Tržaškem zalivu smo, kljub plitkosti, opazili precejšnje razlike v fitoplanktonski združbi med površinskim slojem in dnom. Rezultati kažejo, da je bil površinski sloj izpostavljen velikim nihanjem slanosti, temperature in hranil, medtem ko so bile razmere pri dnu veliko stabilnejše (Sliki 5, 6 in 9). Pri primerjavi klorofilne dinamike je razlika med sloji najbolj opazna v toplem delu leta, ko se pojavi razslojen vodni stolp (od maja do septembra). Značilnost stratificiranih ali razslojenih vodnih okolij je, da se v površinskih slojih hranila hitro porabijo zaradi hitre rasti fitoplanktona, rezultat pa so nizke koncentracije Chl *a* v površinskih slojih, ki so tudi posledica paše zooplanktona. Obratno so koncentracije Chl *a* pri dnu v obdobju stratificiranega vodnega stolpa visoke (Estrada 1985, Morel in Andre 1991, Barlow in sod. 1997). Takšne rezultate smo opazili tudi v naši raziskavi. Visoke pridnene koncentracije Chl *a* v obdobju razslojenega vodnega sloja so lahko rezultat dejanske sinteze biomase pri dnu, kjer je dovolj hranil, pa tudi svetlobe (zlasti v plitvem morju), usedanja celic iz površinskega sloja v globino in kopičenja pri dnu (Malej in sod. 1995, Harding in sod. 1999) ali pa fotoaklimacijskih procesov (ko so celice v okolju z zmanjšano svetlobo, se poveča sinteza Chl *a* na celico) (Talaber in sod., 2014). Yentsch (1980) in Valiela (1984) sta našla podobne razloge za razliko v koncentracijah Chl *a* na površini ter pri dnu, omenila pa sta tudi fotoinhibicijo v površinskem sloju zaradi prevelikih svetlobnih intenzitet.

Spomladi je značilen porast sladkovodnih pritokov, ki vplivajo na fitoplanktonsko biomaso predvsem z doprinosom novega vira hranil v morsko okolje. Fitoplanktonske celice se na hranila odzovejo z bujno rastjo, ki se odraža v sezonskem višku biomase (Francé 2009). K temu pripomorejo tudi ugodne svetlobne in temperaturne razmere (Malej in sod. 1997). Prvi sezonski višek smo na vseh treh globinah zabeležili maja (Slika 11). Po prvotnem višku so nato koncentracije Chl *a* upadle, kar je posledica poletne stratifikacije vodnega stolpa, omejenega dotoka sladke vode in drugih zgoraj omenjenih dejavnikov. Občasno lahko poleti fitoplanktonska biomasa tudi naraste, predvsem zaradi poletnih padavin in neviht z močnimi vetrovi. To omogoči premešanje vodnega stolpa (vpliv plitkosti zaliva) in ponovni dostop do hranil tudi v površinskem sloju (Malej in sod. 1997). Jeseni se vodni stolp obalnih morij zmerne pasu premeša (podre se razslojenost), kar se kaže v drugem sezonskem višku (Mozetič in sod. 1998). Ta višek smo zabeležili oktobra (Slika 11). Ponovno je na voljo dovolj hranil (remineralizacija v sedimentu) (Faganeli in Ogrinc 2009), ki so s premešanjem vodnega stolpa vnesena v zgornje sloje, ob tem pa so tudi še ugodne svetlobne razmere, ki omogočajo razrast fitoplanktonskih celic (Solidoro in sod. 2007). Temu višku nato ob prehodu v zimski čas sledi upad biomase (nižje temperature, premalo svetlobe, manj hranil) in rezultat je majhna fitoplanktonska produkcija ter posledično manjša biomasa na vseh globinah, ker so abiotске razmere skozi zimski čas bolj

ali manj izenačene (Francé, 2009). Takšno fitoplanktonsko dinamiko so pokazali tudi naši rezultati.

V različnih virih lahko zasledimo, da so časovna in prostorska razporeditev fitoplanktonske biomase, abundance, sestave in primarne produkcije v obalnih vodah zmerne pasu v glavnem kontrolirane s količino hranil, ki pridejo v morje s sladkovodnimi pritoki ter delujejo v kombinaciji z ostalimi okoljskimi spremenljivkami, kot so temperatura, svetloba, struktura vodnega stolpa in kroženje vodnih mas (Malej in sod. 1995, Mozetič in sod. 1998, Celussi in sod. 2010; Mozetič in sod. 2012). Razpon koncentracij Chl *a*, ki smo ga izmerili v letu 2015, kaže na prostorsko in časovno spremenljivost biomase fitoplanktona, kar so pokazale tudi že pretekle raziskave v Tržaškem zalivu (Malej in sod. 1995, Terzić 1996, Mozetič in sod. 1998, Francé, 2009, Mozetič in sod. 2012, Ozod-Seradj 2014), kot tudi v severnem Jadranu (Mangoni in sod. 2008). V Tržaškem zalivu predstavlja glavni zunanji vir hranil reka Soča (Olivotti in sod. 1986, Cantoni in sod. 2003, Comici in Bussani, 2007, Cozzi in sod. 2012, Mozetič in sod. 2012, Tinta in sod. 2015) ter ima podobno pomembno vlogo kakor reka Pad v severnem delu Jadranskega morja (Malačič in Petelin 2001, Querin in sod. 2006). V zadnjem desetletju v Tržaškem zalivu beležimo spremembo režima v dinamiki fitoplanktonske biomase, med drugim tudi zaradi pogostejšega pojavljanja visokih abundanc fitoplanktona v poletnih mesecih (Mozetič in sod. 2012). Vendar to ni bil primer leta 2015, za katerega je bila značilna dokaj »konzervativna« letna dinamika Chl *a* obalnih morij – časovna variabilnost z dvema sezonskima viškoma in prostorska variabilnost vzdolž vodnih slojev.

4.2.2 Dinamika velikostne in taksonomske sestave fitoplanktona

Tako kakor celotna fitoplanktonska biomasa je tudi fitoplanktonska velikostna sestava odvisna od fizikalnih in kemičnih parametrov ter odnosov znotraj same združbe (Riegman in sod. 1993).

Časovna porazdelitev fitoplanktona v Tržaškem zalivu v letu 2015 je bila na posameznih globinah, z določenimi odstopanji, dokaj podobna. Skozi celo leto smo opazili prevlado nanoplanktona (Slika 12). Deleži mikrop planktona in pikoplanktona so se povečali le v določenih mesecih ter na določenih globinah. To sovпада z različnimi raziskavami Tržaškega zaliva, kjer je bilo ugotovljeno, da je nanoplanktonska velikostna frakcija oz. nanoflagelati po abundanci in biomasi najpomembnejša skupina fitoplanktona (Mozetič 1993, Malej in sod. 1995, Mozetič in sod. 2012, Ozod-Seradj 2014, Tinta in sod. 2015).

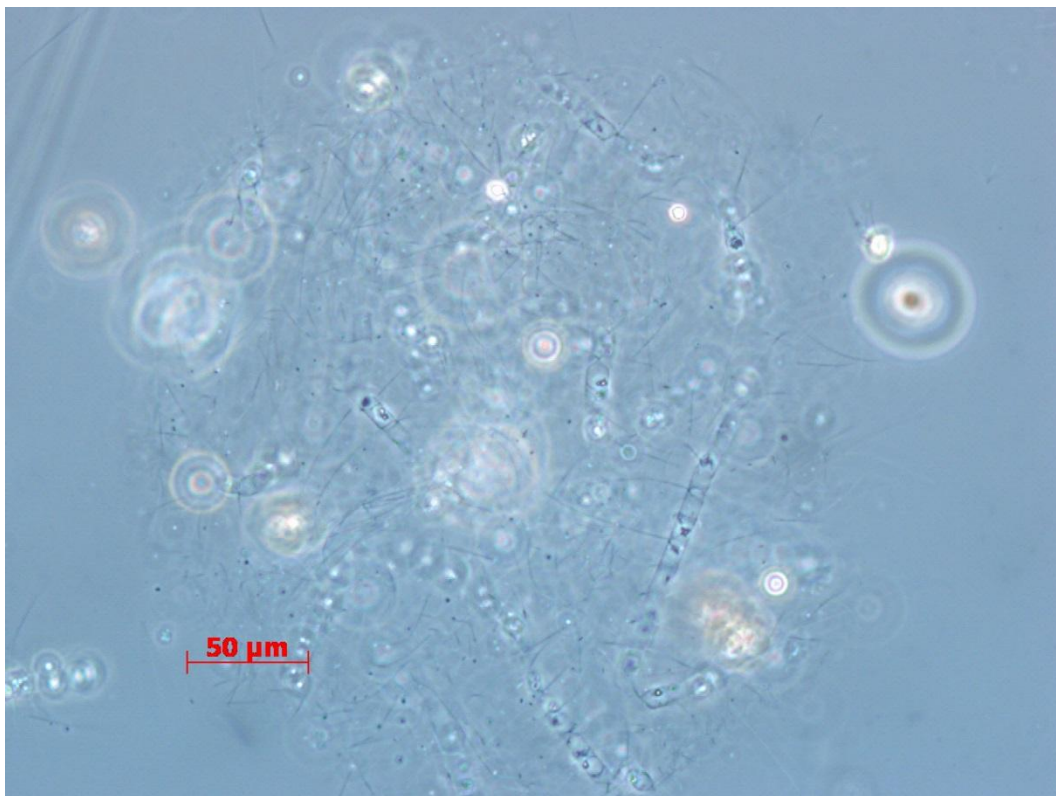
Pikoplankton je bil v povprečju drugi najbolj zastopan velikostni razred fitoplanktona. Prevladoval je pozimi (december–marec), predvsem v zgornjih 10 m, in zgodaj poleti, ko je v pridnenem sloju predstavljal tudi do 51 % celotne biomase. Primerjava velikostne sestave s kemotaksonomsko, tj. z deleži taksonomskih skupin fitoplanktona glede na biomarkerska barvila (Slika 15), pokaže, da se je v zimskih mesecih v pikoplanktonu

povečala biomasa zelenih alg, delno pa tudi cianobakterij. Andersson in sod. (1994) ugotavljajo, da je zaradi nizkih temperatur zgodaj spomladi rast cianobakterij omejena, kar se odraža v njihovi nizki biomasi. Delež cianobakterij pri pikoplanktonski biomasi je bil v naši raziskavi največji v poletnih mesecih (julij–avgust), vendar le v zgornjih 10 m vodnega stolpa. V pridnenem sloju pa relativni višek pikoplanktonske frakcije (še posebej 29. 6. 2015) ni bil na račun cianobakterij ali zelenih alg, ampak so k velikemu deležu pikoplanktonske biomase verjetno prispevale še nekatere druge alge (Preglednica 2). Podobno porazdelitev cianobakterij so opazili tudi Šantić in sod. (2011) v obalnih in odprtih vodah srednjega Jadrana, vendar so razlikovali med prevladujočima rodovima cianobakterij, tj. *Synechococcus* ter *Prochlorococcus*. Za prvega so opazili, da se pojavlja preko večjega temperaturnega razpona in da je najštevilčnejši pozimi v priobalnih evtrofnih vodah. *Prochlorococcus* pa je bil bolj abundanten pri višjih temperaturah, našli so ga tudi na globini 200 m. Predvidevamo, da bi lahko pridneni junijski višek pikoplanktona nastal zaradi povečanega števila celic iz rodu *Prochlorococcus*. Za potrditev bi bilo potrebno določiti prisotnost teh celic z uporabo pretočne citometrije. S to metodo so v 80. letih prejšnjega stoletja tudi prvič odkrili do tedaj neznane prostoživeče prokloroficeje v evfotski coni oceanov (Chisholm in sod. 1988).

Rodriguez in sod. (2006) so v primerljivem okolju s Tržaškim zalivom (estuarij Ria de Vigo, Španija) prav tako ugotovili, da so v pikoplanktonu prevladovali klorofiti ter cianobakterije rodu *Synechococcus*; barvili Chl *b* in *zea* sta prispevali kar 85 % celotne klorofilne biomase pikoplanktona. Ta rod je bil prevladujoč tudi med cianobakterijami iz Tržaškega zaliva (Tinta in sod. 2015). Vrsta je opisana kot generalist, ki izkoristi hitre spremembe okoljskih dejavnikov (Palenik in sod. 2003).

Prispevek mikropilanktona je bil na letnem povprečju najmanjši, največje deleže pa smo zabeležili ob letnem višku klorofilne biomase v jesenskih mesecih (oktober–november) vzdolž celotnega vodnega stolpa in sredi julija (16. 7. 2015), zlasti v zgornjem 10-m sloju (do 64 %). Tedaj je bila koncentracija Chl *a* zelo nizka, koncentracija razgradnih produktov pa relativno visoka ($[\text{feopigm.}]/[\text{Chl } a] = 0,88$), kar kaže, da je bila fitoplanktonska združba v fazi razgradnje. V tej starajoči združbi je bilo največ diatomej (Slika 14). To sovпада s situacijo, ki jo zadnjih 10 let dokaj pogosto opažamo v Tržaškem zalivu in v severnem Jadranu, ko se prav sredi julija v morju nakopiči veliko število majhnih celic ene ali nekaj vrst rodu *Chaetoceros* (Monitoring ekološkega stanja morja ARSO 2015, Bosak in sod. 2016). Zaradi svoje majhnosti ne prispevajo veliko k skupni biomasi, ker pa je bila združba že v fazi razgradnje in ker ob predhodnem vzorčenju (29. 6. 2015) nismo zabeležili diatomejskega cvetenja, predpostavljamo, da so celice v Tržaški zaliv prinesli vodni tokovi (Slika 17). O vnosu vodnih mas iz severnega Jadrana v poletnem času in njihovem vplivu na združbo mikroorganizmov v Tržaškem zalivu so pisali tudi Tinta in sod. (2015). Tudi drugi avtorji (npr. Rodriguez in sod. 2006) navajajo, da na splošno v mikropilanktonu prevladujejo diatomeje, ki dajejo največji prispevek k

biomasi v poletnem času, potem pa jih jeseni nasledijo dinoflagelati ter kriptofiti, značilen pa je tudi porast cianobakterij (pikoplankton). V naši raziskavi so dinoflagelati k celotni biomasi mikropilanktona prispevali zelo malo.



Slika 17: Mikroskopski posnetek senescentne fitoplanktonske združbe v Tržaškem zalivu 16. julija 2015, s prevladujočim diatomejskim rodом *Chaetoceros* (Fotografija: J. Francé).

Kot smo že omenili, pa je v ostalih mesecih prevladoval nanoplankton, ki je tudi največ prispeval k prvemu sezonskemu višku v spomladanskih mesecih (april in zlasti maj). Taksonomska sestava tega viška je bila dokaj pestra in nismo opazili prevlade določene taksonomske skupine, zlasti v zgornjih 10 m, kot na primer v jesenskem višku mikropilanktona oz. diatomej. Največji delež je odpadel na haptofite, relativno pomembni so bili tudi kriptofiti, dinoflagelati in silikoflagelati (predvsem na površini) ter zlasti diatomeje. Biomasa in delež slednjih (biomarker fuc, Sliki 14 in 15) sta se močno povečala v pridnenem sloju, kjer so verjetno predstavljale pomemben delež v nanoplanktonskem velikostnem razredu (Slika 12). Do tega je lahko prišlo, ker so bile prisotne diatomejske vrste, manjše od 20 µm, in so tako prehajale skozi ta velikostni filter. Podobno je zasledila v raziskavi Ozod-Seradj (2014), ki opisuje, da spomladanski sladkovodni pritoki sprožijo prvo letno cvetenje, v katerem prevladujejo majhne do srednje velike diatomeje, ki pripadajo nano- in mikropilanktonskemu velikostnemu razredu. To potrjuje tudi rezultati dolgoletnega spremljanja fitoplanktonske združbe z mikroskopskimi pregledi (Monitoring

ekološkega stanja morja ARSO, 2007–2015). Med diatomejami se najbolj namnoži ena ali več vrst iz rodu *Cyclotella*, ki so zelo majhne (premer in dolžina celice $< 10 \mu\text{m}$). Prav tako je Francé (2009) s fenološko analizo fitoplanktona (brez nanoflagelatov, z izjemo kokolitoforidov in silikoflagelatov) potrdila, da je bila *Cyclotella* spp. značilna predstavница spomladanskega obdobja, bodisi v skupini z nekaterimi dinoflagelati (v 90. letih prejšnjega stoletja) bodisi z eno kokolitoforidno vrsto (prejšnje desetletje). V več raziskavah je omenjeno, da v Tržaškem zalivu ob spomladanskih viških prevladujejo nanoflagelati in majhne do srednje velike diatomejske vrste, medtem ko v jesenskem višku večje diatomeje (Malej in sod. 1995, Mozetič in sod. 2010). Podobno poročajo tudi Rodriguez in sod. (2006) iz estuarija Ria de Vigo, kjer je v spomladansko-poletnem razslojenem vodnem stolpu prevladoval nanoplankton (predvsem haptofiti in manjše diatomeje).

Raziskave v Sredozemskem morju iz preteklih let so pokazale, da je za obdobje visokih koncentracij Chl *a* značilen porast velikih celic (diatomeje), medtem ko pri nizkih koncentracijah prevladujejo predvsem majhne celice (pikoplankton in nanoplankton) (Rimabault in sod., 1988, Delgado in sod. 1992, Malej in sod. 1995, Terzić 1996, Flander Putrle in Malej 2008, Mangoni in sod. 2008, Ozod-Seraj 2014). V zimskih mesecih je na voljo dovolj hranil, vendar pomanjkanje svetlobe in nizke temperature zavirajo rast fitoplanktonskih celic. Ko se v spomladanskem obdobju ponovno pojavi nov vir hranil (npr. rečni vnosi), večje celice hitreje reagirajo in zaradi tega tudi hitreje »vzcvetijo«[»] kakor manjše (Maita in Odate 1988, Heilmann in Richardson 1999). To lahko opazimo tudi v naši raziskavi, ko je pri nizkih koncentracijah Chl *a* v zimskih mesecih prevladoval pikoplankton, in sicer zelene alge, ki so predstavljale 35 % celotne biomase. Tako navaja tudi Terzić (1996), poudarja pa tudi, da se količina Chl *b* v celici lahko poveča ob nižjih svetlobnih intenzitetah, značilnih za zimske mesece (Sournia 1982).

Velikostna struktura primarnih producentov je pomembna tudi zato, ker določa smer energijskega pretoka v pelaškem prehranjevalnem spletu, ki gre bodisi skozi klasične ali pa mikrobne prehranjevalne verige (Rodriguez in sod. 2001). V oligotrofnih sistemih, kot so odprte vode Sredozemskega morja, v fitoplanktonskih združbah prevladujejo majhne celice in prehranjevalna veriga temelji predvsem na nanoplanktonski ter pikoplanktonski velikostni frakciji (Magazzu in Decembrini 1995, Cermenio 2006, Decembrini 2009). V takih območjih ima pomembno vlogo pri primarni produkciji in biomasi ravno pikoplankton, kot je na primer povsod navzoč, pogost ter zelo majhen *Prochlorococcus* spp., ki doseže tudi $0,1 \times 10^{-6}$ celic na ml^{-1} (Zubkov in sod. 1998, Irwin in sod. 2006). Decembrini in sod. (2009) navajajo, da v odprtih vodah klasična veriga temelji na velikem fitoplanktonu, herbivornem zooplanktonu ter ribah, mikrobno zanko pa sestavljajo avtotrofni in heterotrofni piko- ter nanoplanktonski mikroorganizmi ($< 20 \mu\text{m}$) in mikrozooplankton.

4.2.3 Dejavniki, ki vplivajo na sestavo fitoplanktonske združbe

Mozetič in sod. (2012) navajajo, da se fitoplanktonska združba Tržaškega zaliva vedno bolj nagiba k prevladi manjših fitoplanktonskih celic (nanoplankton). Domnevno zaradi manjših sladkovodnih vnosov v zadnjih letih. Dušik in fosfor sta glavni hranili, ki sta nujno potrebni za rast fitoplanktonskih organizmov (Geider in sod. 2001). V morskih okoljih je ponavadi tako, da ko je na voljo dovolj hranil, postane omejujoč kakšen drugi dejavnik, kot sta na primer svetloba ali temperatura, ki nato zavirata rast fitoplanktona. Vaolut (2001) navaja, da če se pomanjkanje katerega hranila pojavlja v daljšem časovnem obdobju, lahko to sproži spremembe v velikostni strukturi združbe (npr. v okolju, kjer dominirajo diatomeje, začnejo prevladovati manjše celice). Raziskave kažejo, da velike celice zaradi počasne rasti slabše tekmujejo za omejena hranila z manjšimi celicami (Grover 1989). Nasprotno pa so manjše celice, ki imajo večje razmerje med površino in prostornino, v takem okolju uspešnejše, ker lahko hitreje ter učinkoviteje privzemajo hranila, ki jih ni veliko na razpolago (Aksnes in Egge 1991, Hein in sod. 1995, Irwin in sod. 2006). Majhne celice imajo tudi nižje metabolne potrebe, kar jim selektivno omogoča, da preživijo v okolju z nizkimi koncentracijami hranil (Grover 1991). Spremembe v velikostni strukturi združbe v smeri prevlade manjših celic se nato poznajo na celotni biomasi. Ta se zmanjša zaradi nižje vsebnosti Chl *a* v majhnih celicah in tudi zaradi večjega pritiska paše (»grazing«) manjšega herbivornega zooplanktona (Mousseau in sod. 1996, Ansotegui 2003). Mozetič in sod. (2010) so v letih od 1998 do 2007 opazili znaten upad koncentracij Chl *a* na območju severnega Jadrana. Pojasnjujejo, da so lahko takšne razmere posledica kulturne oligotrofikacije obalnih območij, predvsem zaradi boljšega ravnanja s komunalnimi odplakami, zmanjšanih sladkovodnih pritokov ter prepovedi uporabe fosforja v detergentih) (de Wit in Bendoricchio, 2001), medtem ko vpliva paše zooplanktona (»top-down« kontrola) niso preučevali. Zmanjšani sladkovodni pritoki vplivajo predvsem na manj dušika in silicija v morskem okolju (Mozetič in sod. 2012).

Vidussi in sod. (2000) navajajo, da v različnih območjih Sredozemskega morja sezonskost fitoplanktonske združbe definirajo haptofiti. V SZ obalnem delu Sredozemskega morja so opazili, da ob mezotrofičnih pogojih in visokih svetlobnih intenzitetah prevladujejo diatomeje, medtem ko haptofiti prevladujejo v okolju z manj hranil ter nižjimi svetlobnimi intenzitetami (Bustillos-Guzman in sod. 1995, Vidussi in sod. 2000). V oligotrofnih razmerah prevladujejo cianobakterije in proklorofiti. Cianobakterijska biomasa raste zelo počasi in nikoli ne prispeva veliko h koncentracijam celotnega klorofila *a* (Bustillos-Guzman in sod. 1995), saj igra veliko vlogo paša mikrozooplanktona (Perez in sod. 1999).

Tudi v globalnem, oceanskem merilu podobni dejavniki vplivajo na sestavo fitoplanktonske združbe kot v majhnem obalnem morju. Tudi tu okoljski dejavniki, medvrstni odnosi in razširjanje oblikujejo značilne biogeografske vzorce, kot so na primeru Atlantskega oceana opisali Acevedo-Trejos in sod. (2013). Ugotovili so, da na velikostno

sestavo fitoplanktona vzdolž Atlantskega meridionalnega transekta najbolj vplivata temperatura in koncentracije nitrata + nitrita ter da lahko s poznavanjem teh abiotских parametrov modelsko napovemo globalno fitoplanktonsko velikostno strukturo. V območjih med 45° N in 45° S prevladuje pikoplankton, pri višjih geografskih širinah pa večje diatomeje (Južni ocean) ali mešana velikostna struktura (severna polobla). Čeprav smo tudi v naši raziskavi našli določene povezave med abiotскими parametri in biomaso (Preglednice 3–5), tako celotno kot velikostno frakcionirano biomaso fitoplanktona, bi te »oceanske zakonitosti« težko preslikali na naš primer. Menimo, da je eno leto meritev premalo za ugotavljanje vzročnih povezav, še posebej v dinamičnem obalnem ekosistemu, kot je Tržaški zaliv.

5 SKLEPI

1. V enoletnem obdobju (januar–december 2015) smo v jugovzhodnem delu Tržaškega zaliva spremljali spremenljivost fitoplanktona obalnega morja. Opisali smo letno dinamiko velikostnih skupin fitoplanktona in taksonomsko sestavo fitoplanktona na podlagi biomarkerskih barvil. Primerjali smo dve metodi določanja velikostno frakcionirane biomase in preverili upravičenost uporabe različnih filtrov za določanje koncentracije Chl *a*.
2. Pri primerjavi različnih filtrov za fluorimetrično določanje koncentracij klorofila *a* smo prišli do ugotovitev, da dajeta različna filtra podobne rezultate v zgornjih dveh vodnih slojih (1 in 10 m), medtem ko so te razlike na dnu (21 m) večje. Uporaba GF/F filtrov je dajala v povprečju nekoliko višje rezultate kakor uporaba PC filtrov. Vendar pa razlike niso bile statistično značilne.
Pomembno je omeniti, da bi lahko prišlo do večjih razlik, če bi v vzorcu morske vode prevladoval predvsem pikoplanktonski velikostni razred, saj lahko manjši predstavniki prehajajo skozi GF/F filtre. Poleg velikosti organizmov pa na filtracijsko učinkovitost vplivajo tudi oblika in število delcev v vzorcu ter njihova neenakomerna razporeditev.
3. Primerjava dveh metod in postopkov za določanje velikostno frakcionirane biomase fitoplanktona je pokazala, da so izmerjene biomase večinoma višje od izračunanih. Vzrok za razlike je najverjetneje metodološki, saj lahko s kromatografskimi metodami dobimo natančnejše ocene biomase kot s široko uporabljeno fluorimetrično metodo za določanje Chl *a*.
4. Biomasa fitoplanktona (koncentracija Chl *a*) kaže na precejšnje razlike v fitoplanktonski združbi med površinskim slojem in dnom – kljub plitkosti Tržaškega zaliva. Razlike v dinamiki Chl *a* so najbolj opazne v toplem delu leta, ko je vodni stolp razslojen. Površina je izpostavljena večjim nihanjem v temperaturi, slanosti in hranilni zalogi, medtem ko je dno stabilnejše in verjetno pod vplivom predvsem remineralizacije hranilnih snovi.
Sezonska dinamika fitoplanktona v letu 2015 je v splošnem sledila pričakovanim vzorcem: v površinskem 10-metrskem sloju smo prepoznali dva letna viška – spomladanskega ($1,30 \mu\text{g l}^{-1}$) in jesenskega ($1,82 \mu\text{g l}^{-1}$), ki sta značilna za obalna morja zmernega pasu. Na dnu je bila dinamika drugačna, višje pa so bile tudi koncentracije Chl *a* (do $2,12 \mu\text{g l}^{-1}$).
Ti rezultati potrjujejo prvo hipotezo (H1), da združba fitoplanktona v Tržaškem zalivu sledi pričakovani sezonski dinamiki obalnih morij zmernega pasu.

5. Vpliv abiotских dejavnikov na biomaso in sestavo fitoplanktonske združbe je težko določljiv zaradi prekratkega obdobja raziskave. Najznačilnejša je bila povezava nekaterih parametrov fitoplanktonske združbe s temperaturo, kar kaže na prevladujoči vpliv sezone. To posredno vpliva na stabilnost vodnega stolpa in časovni ter prostorski razvoj združbe. S tem smo delno potrdili drugo hipotezo (H2) o vplivu abiotских dejavnikov.
6. Velikostno frakcionirane meritve klorofilne biomase so pokazale prevlado nanoplanktonskega razreda skozi celo leto ($51 \pm 11 \%$), največji delež pa smo izračunali ob prvem, spomladanskem višku biomase (do 68 %). Pikoplankton in mikrop plankton sta se povečala le ob določenih mesecih ter na določenih globinah. Pikoplankton je bil drugi najbolj zastopani razred, z najvišjim deležem v juniju v pridnem sloju (51 %). Mikrop plankton je v vseh vodnih slojih prevladal le ob jesenskem višku biomase (47–54 %).
Tako smo delno potrdili tretjo hipotezo (H3), da v obdobju premešanega vodnega stolpa, a le v jesenskih mesecih, prevladuje mikrop plankton. V obdobju razslojenega vodnega stolpa in tudi v zimskih mesecih prevladujeta najmanjši velikostni frakciji fitoplanktona.
7. Taksonomsko sestavo fitoplanktonske združbe smo določili s pomočjo koncentracij fotosinteznih barvil – biomarkerjev. Skozi celo leto sta prevladovali skupini haptofitov, za katere je značilen 19'-heksanoiloksifukoksantin, in diatomej, za katere je značilen fukoksantin. Ob visokih koncentracijah Chl *a* so v večini primerov prevladovale diatomeje, ki pa so glede na svojo velikost pripadale tako mikrop planktonu kot nanoplanktonu. Delež cianobakterij je bil največji v površinskem sloju v poletnih mesecih, delež zelenih alg pa pozimi. Delež dinoflagelatov se je v površinskem sloju povečal spomladi, pri dnu pa jeseni. Taka sezonska dinamika taksonomskih skupin fitoplanktona delno potrjuje zadnjo hipotezo (H4) o spremenljivosti fitoplanktonske združbe skozi sezono zaradi stabilnosti vodnega stolpa.

6 LITERATURA

Agawin N.S.R., Duarte C.M., Agustí S., Vaqué D. 2004. Effect of N:P ratios on response of Mediterranean picophytoplankton to experimental nutrient inputs. *Aquatic Microbiology. Ecology* 34: 57–67.

Aksnes D.L., Egge J.K. 1991. A theoretical model for nutrient uptake in phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 70: 65–72.

Algae base. www.algaebase.org (Datum dostopa: 15. 9. 2017).

Andersson A., Haecky P., Hagström Å. 1994. Effect of temperature and light on the growth of micro- nano- and pico-plankton: impact on algal succession. *Marine Biology* 120: 511–520.

Ansotegui A., Sarobe A., Trigueros J.M., Urrutxurtu I., Orive E. Size distribution of algal pigments and phytoplankton assemblages in a coastal-estuarine environment: contribution of small eukaryotic algae. *Journal of Plankton Research* 25: 341–355.

ARSO (Agencija Republike Slovenije za okolje) 2007–2015. Monitoring ekološkega stanja morja. <http://www.arso.gov.si/vode/podatki/> (datum dostopa: 7. 5. 2018)

Barlow R.G., Mantoura R.F.C., Gough M.A., Fileman T.W. 1993. Pigment signatures of the phytoplankton composition in the northeastern Atlantic during the 1990 spring bloom. *Deep-Sea Research* 40: 459–477.

Barlow R.G., Mantoura R.F.C., Cummings D.G., Fileman T.W. 1997. Pigment chemotaxonomic distributions of phytoplankton during summer in the western Mediterranean. *Deep-Sea Research* 44: 833–850.

Barlow R.G., Mantoura R.F.C., Cummings D.G., Pond D.W., Harris P.R. 1998. Evolution of phytoplankton pigments in mesocosm experiments. *Estuarine Coastal Shelf Science*, 46: 15–22.

Behrenfeld M.J., Marañón E., Siegel D.A., Hooker S.B. 2002. A photoacclimation and nutrient based model of light-saturated photosynthesis for quantifying oceanic primary production. *Marine Ecology Progress Series* 228: 103–117.

Bustillos-Guzman J., Claustre H., Marty J.C. 1995. Specific phytoplankton signatures and their relationship to hydrographic conditions in the coastal northwestern Mediterranean sea. *Marine Ecology Progress Series* 124: 247–258.

Cantoni C., Cozzi S., Pecchiar I., Cabrini M., Mozetič P., Catalano G., Fonda Umani S. 2003. Short-term variability of primary production and inorganic nitrogen uptake related to

the environmental conditions in a shallow coastal area (Gulf of Trieste, N Adriatic Sea). *Oceanol Acta* 26: 565–575.

Cellusi M., Bussani A., Cataletto B., Del Negro P. 2010. Assemblages' structure and activity of bacterioplankton in northern Adriatic Sea surface waters: a 3-year case study. *FEMS Microbiology Ecology* 75: 77–88.

Cermeño P., Marañón E., Pérez V., Serret P., Fernandez E., Castro C.G. 2006. Phytoplankton size structure and primary production in a highly dynamical coastal ecosystem (Rí de Vigo, NW Spain): seasonal and short-time scale variability. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 67: 251–266.

Claustre H., Kerhervé P., Maty J.C., Pricur L., Videau C., Hecq J.H. 1994. Phytoplankton dynamics associated with a geostrophic front: Ecological and biogeochemical implications. *Journal of Marine research* 52: 711–742.

Comici C., Bussani A. 2007. Analysis of the River Isonzo discharge (1998–2005). *Bolletino di Oceanologia Teorica ed Applicata* 48: 435–454.

Cozzi S., Falconi C., Comici C., Čermelj C., Kovač N., Turk V., Giani M. 2012. Recent evolution of river discharges in the Gulf of Trieste and their potential response to climate changes and anthropogenic pressure. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 115: 14–24.

Cullen J.J. 1985. Diel vertical migration by dinoflagellates: roles of carbohydrate metabolism and behavioral flexibility. V: Raukin M.A., Checkley D., Cullen J.J., Kitting C., Thomas P. (Ur.). *Migration: mechanisms and adaptive significance*, Austin: 135–152.

Cushing D.H. 1989. A difference in structure between ecosystem in strongly stratified waters and those that are only weakly stratified. *J. Plankton Res.* 11: 1–13.

Dawes C.J. 1997. *Marine botany* (2nd edition). New York, John Wiley and Sons, Inc. 191–203 pp.

de Wit M., Bendoricchio G. 2001. Nutrient fluxes in the Po basin. *Science of the Total Environment* 273: 147–161.

Decembrini F., Caroppo C., Azzaro M. 2009. Size structure and production of phytoplankton community and carbon pathways channelling in the Southern Tyrrhenian Sea (Western Mediterranean). *Deep-Sea Research* 56: 687–699.

Degobbi D., Precali R., Ivančić I., Smolaka N., Fuks D., Kveder S. 2000. Longterm changes in the northern Adriatic ecosystem related to anthropogenic eutrophication. *International Journal of Environment and Pollution* 13: 495–533.

Delgado M., Latasa M., Estrada M. 1992. Variability in the size-fractionated distribution of the phytoplankton across the Catalan front of the north-west Mediterranean. *J. Plankton Research* 14: 753–771.

Dytham C. 2003. *Choosing and using statistics: A biologist's guide*. Second edition. Blackwell Science, Oxford, 248 pp.

Estrada M. 1985. Deep phytoplankton and chlorophyll maxima in the Western Mediterranean, 32 p. V: Moraitou-Apostopoulou M., Klortsis V (eds.). *Mediterranean Marine Ecosystem*. Plenum Press.

Ettre L.S. 1993. Nomenclature for chromatography (IUPAC Recommendations 1993). *Pure and Applied Chemistry* 65: 819–872.

Faganeli J., Ogrinc N. 2009. Oxic anoxic transition of benthic fluxes from the coastal marine environment (Gulf of Trieste, northern Adriatic Sea). *Mar Freshw Res* 60: 700–711.

Flander Putrle V. 2009. Examples of high performance liquid chromatography (HPLC) application in marine ecology studies in the northern Adriatic. *Natura Sloveniae* 12(1): 6–23.

Flander Putrle V., Malej A. 2008. The evolution and phytoplankton composition of mucilaginous aggregates in the northern Adriatic Sea. *Harmful Algae* 7: 752–761.

Flander Putrle V., Terzić S., Malej A., Ahel M. 2000. Effects of mucilage event on the distribution of summer phytoplankton as reflected by phytoplankton pigments. *Periodicum Biologorum* 102: 169–177.

Fogg G.E., Thake B. 1987. *Algal cultures and phytoplankton community*. London, The University of Wisconsin Press, Ltd.

Francé J. 2009. Long-term structural changes of the phytoplankton community of the Gulf of Trieste. Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani.

Geider R.J., Delucia E.H., Falkowski P.G., Finzi A.C., Grime J.P., Grace J. Kana T.M., La Roche J., Long J.P., Osborne B.A., Platt T., Prentice C., Raven J.A., Schlesinger W.H., Smetacek V., Stuart V., Sathyendranath S., Thomas R.B., Vogelmann T.C., Williams P., Woodward F.I. 2001. Primary productivity of planet earth: biological determinants and physical constraints in terrestrial and aquatic habitats. *Global Change Biology* 7: 849–882.

Gibbs R.J. 1979. Chlorophyll b interference in the fluorometric determination of chlorophyll a and phaeo-pigments, *Aust. J. Marine and Freshwater Research* 30: 597–606.

Gomez F., Gorsky G. 2003. Annual microplankton cycles in Villefranche Bay, Ligurian Sea, NW Mediterranean. *Journal of Plankton Research* 25: 323–339.

Graham L. Wilcox L.W., Graham J. 2009. *Algae* (2nd edition). San Francisco, Pearson Educations, Inc. 486–542 pp.

Grover J.P. 1989. Influence of cell shape and size on algal competitive ability. *J. Phycol* 25: 402–405.

Grover J.P. 1991. Resource competition in a variable environment: phytoplankton growing according to the variable-internal-stores model. *Am. Nat.* 138: 811–835.

Hagström A., Azam F., Andersson A., Wikner J., Rassoulzadegan F. 1988. Microbial loop in an oligotrophic pelagic marine ecosystem: possible roles of cyanobacteria and nanoflagellates in the organic fluxes. *Marine Ecology Progress Series* 49: 171–178.

Harding Jr. L.W., Degobbi D. in Precali R. 1999. Production and fate of phytoplankton: annual cycles and interannual variability. V: Malone T.C., Malej A., Harding Jr. L.W., Smolaka N., Turer R.E. (Ur.). *Ecosystems at the land-sea margin: drainage basin to coastal sea*. American Geophysical Union: 131–172.

Heilmann J.P., Richardson K. 1999. The cell-size structure of the phytoplankton community related to hydrographic and chemical properties of the Northern Adriatic Sea. V: Hopkins T.S., Artegiani A., Cauwet G., Degobbi D., Malej A. (Ed.). *Ecosystems research report, The Adriatic Sea* 32: 331–345.

Hein M., Folager Pedersen M., Sand-Jensen K. 1995. Size dependent nitrogen uptake in micro- and macroalgae. *Marine Ecology Progress Series* 118: 247–253.

Herbland A., Leboutteiller A., Raimbault P. 1985. Size structure of phytoplankton in the Equatorial Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research* 32: 819–836.

Holm-Hansen O., Lorenz C.J., Holmes R.W., Strickland J.D.H. 1965. Fluorimetric determination of chlorophyll. *J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer.* 30: 3–15.

Hurley J.P., Watras C.J. 1991. Identification of bacteriochlorophylls in lakes via reverse-phase HPLC. *Limnology and Oceanography* 36: 307–315.

Irwin A.J., Finkel Z.V., Oscar M., Schofield E., Falkowski P.G. 2006. Scaling-up from nutrient physiology to the size-structure of phytoplankton communities. *Journal of Plankton Research* 28: 459–471.

Jacobsen T.R., Rai H., Nusch E.A. 1988. The measurements of phytoplankton pigments in freshwater: Where do we go from here? *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 23: 952–956.

Jeffrey S.W. 1981. An improved thin-layer chromatographic technique for marine phytoplankton pigments. *Limnol. Oceanogr.* 26: 191–197.

Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Wright S.W. (Eds.) (1997): *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods*. UNESCO Publishing, Paris, 661 pp.

Jeffrey S.W., Vesik M. 1997. Introduction to marine phytoplankton and their pigment signatures. V Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C, Wright S.W. (ed.). *Phytoplankton Pigments in Oceanography*. Educ. Sci. And Cult. Org. 407–428.

Kamykowski D., Yamazaki H. 1997. A study of metabolism-influenced orientation in diel vertical migration of marine dinoflagellates. *Limnology and oceanography* 42: 1189–1202.

Kjørbe I., Andersen K.P., Dam H.G. 1990. Coagulation efficiency and aggregate formation in marine phytoplankton. *Hydrobiologia* 107: 235–245.

Knefelkamp B., Carstens K., Wiltshire K.H. 2007. Comparison of different filter types on *chlorophyll-a* retention and nutrient measurements. *Journal of experimental marine biology and ecology* 345: 61–70.

Krom M. D., Kress N., Brenner S., Gordon L.I. 1991. Phosphorus limitation of primary productivity in the eastern Mediterranean Sea. *Limnology and oceanography* 36: 424–432.

Legendre L., Ingram R.G., Poulin M. 1981. Physical control of phytoplankton production under sea ice (Manitounuk Sound, Hudson Bay). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 1385–1392.

Li M., Gargett A., Denman K. 2000. What determines seasonal and interannual variability of phytoplankton and zooplankton in strongly estuarine systems? Application to the semi-enclosed estuary of Strait of Georgia and Juan de Fuca Strait. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 50: 467–488.

Liebig J. 1840. Organic chemistry in its application to vegetable physiology and agriculture. In: Kormondy E.J. (Ed.), *Readings in ecology*. Prentice Hall, New York.

Magazzú G., Decembrini F. 1995. Primary production, biomass and abundance of phototrophic picoplankton in the Mediterranean Sea. *Aquatic Microbial Ecology* 9: 97–104.

Maita Y., Odata T. 1988. Seasonal changes in size-fractionated primary production and nutrient concentrations in the temperate neritic water of Funka bay, Japan. *Journal of the Oceanographical Society of Japan* 44: 268–279.

Malačič V. 1991. Estimation of the vertical eddy diffusion coefficient of heat in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic). *Oceanologica Acta* 14: 23–32.

Malačič V., Celio M., Čermelj B., Bussani A., Comici C. 2006. Interannual evolution of seasonal thermohaline properties in the Gulf of Trieste (northern Adriatic) 1991–2003. *J. Geophys. Res.* 111 (C08009), doi:10.1029/2005JC003267.

Malačič V., Petelin B. 2001. Gulf of Trieste. In *Physical oceanography of the Adriatic Sea: Past, present and future*, ed. Cushman-Roisin B., Gačić M., Poulain P.M., Artegiani A. 167–181.

Malej A., Mozetič P., Malačič V., Terzić S., Ahel M. 1995. Phytoplankton responses to freshwater inputs in a small semi-enclosed gulf (Gulf of Trieste, Adriatic Sea). *Marine Ecology Progress Series* 120: 111–121.

Malej A., Mozetič P., Malačič V., Turk V. 1997. Response of summer phytoplankton to episodic meteorological events (Gulf of Trieste, Adriatic Sea). *Marine Ecology* 18: 273–288.

Mangoni O., Modigh M., Mozetič P., Bergamasco A., Rivo P., Saggiomo V. 2008. Structure and photosynthetic properties of phytoplankton assemblages in a highly dynamic system the Northern Adriatic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Sciences* 77: 633–644.

Mantoura R.F.C., Llewellyn C.V. 1983. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse-phase HPLC. *Analytica Chimica Acta* 151: 297–314.

Mantoura R.F.C., Wright S.W., Jeffrey S.W., Barlow R.G., Cunnings D.E. 1997. Filtration and storage of pigments from microalgae. V: Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Wright S.W. (Eds.), *Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Methods*. UNESCO, 283–305.

Margalef R. 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives on an unstable environment. *Oceanologica Acta* 1: 493–509.

McQuatters-Gollop A., Raitos D.E., Edwards M., Attrill M.J. 2007. Spatial patterns of diatom and dinoflagellate seasonal cycles in the NE Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 339: 301–306.

Miller C.B. 2004. *Biological oceanography*. Blackwell Publishing, Oxford, 1–70 pp.

Millie D.F., Paerl H.W., Hurley J.P. 1993. Microalgal pigment assessments using high-performance liquid chromatography: A synopsis of organismal and ecological applications. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50: 2513–2527.

Morán X.A.G., Gasol J.M., Arin L., Estrada M. 1999. A comparison between glass fibre and membrane filters for the estimation of phytoplankton POC and DOC production. *Marine Ecology Progress Series* 187: 31–41.

Morel A., André J.M. 1991. Pigment distribution and primary production in the western Mediterranean as derived and modelled from Coastal Zone Colour Scanner observations. *Journal of Geophysical Research* 96: 12685–12698.

Morris I. 1980. *The physiological ecology of phytoplankton*. Oxford, Blackwell.

Mousseau L., Legendre L., Fortier L. 1996. Dynamics of size-fractionated phytoplankton and trophic pathways on the Scotian Shelf and at the shelf break, Northwest Atlantic. *Aquat. Microb. Ecol.* 10: 149–163.

Mozetič P., Fonda Umani S., Cataletto B., Malej A. 1998. Seasonal and inter-annual plankton variability in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic). *ICES Journal of Marine Sciences* 55: 711–722.

Mozetič P., Francé J., Kogovšek T., Talaber I., Malej A. 2012. Plankton trends and community changes in a coastal sea (northern Adriatic): Bottom-up vs. top-down control in relation to environmental drivers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 115: 138–148.

Mozetič P., Solidoro C., Cossarini G., Socal G., Precali R., Francé J., Bianchi F., De Vittor C., Smodlaka N., Fonda Umani S., 2010. Recent trends towards oligotrophication of the Northern Adriatic: evidence from Chlorophyll a time series. *Estuaries and Coasts* 33: 362–375.

Nacionalni inštitut za biologijo-NIB. www.nib.si/mbp/sl/oceanografski-podatki (Datum dostopa 15. 9. 2017).

Neveux J., Delmas D., Romano J.C., Alagara P., Ignatiades L., Herbland A., Morand P., Neori A., Bonin D., Sukenik A., Berman T. 1990. Comparison of chlorophyll and phaeopigment determinations by spectrophotometric, fluorimetric, spectrofluorimetric and HPLC methods. *Mar. Microb. Food Webs* 4: 217–238.

Not F., Latasa M., Maric D., Cariou T., Vaultot D., Simon N. 2004. A single species *Micromonas pusilla* (Prymnesiophyceae), dominates the eukaryotic picoplankton in the Western English Channel. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 4064–4072.

Olivotti R., Faganeli J., Malej A. 1986. Impact of organic pollutants on coastal waters, Gulf of Trieste. *Water, Science and Technology* 18: 57–68.

Orožen Adamič M. 2002. Geomorfološke značilnosti Tržaškega zaliva in obrobja. *Dela* 18: 143–155.

Owens N.P.J., Rees A.P., Woodward E.M.S., Mantoura R.F.C. 1989. Size-fractionated primary production and nitrogen assimilation in the Northwestern Mediterranean Sea during January 1989. V: Martin J.M., Barth H. (Ur.) EROS 2000, Project Workshop. Comm Eur Communities Water Pollut Res Rep, Paris, 126–134 pp.

Ozod-Seradj D. 2014. Determination of the size structure of the phytoplankton community in the Gulf of Trieste by means of size fractionated chlorophyll biomass. Term paper, Zurich university of applied Science.

Palenik B., Brahamsha B., Larimer F.W., Land M., Hauser L., Chain P., Lamerdin J., Regala W., Allen E.E., McCarren J., Paulsen I., Dufresne A., Partensky F., Webb E.A., Watebury J. 2003. The genome of a motile marine *Synechococcus*. Nature 424: 1037–1042.

Perez M., Dolan J., Vidussi F., Fukai E. 1999. Diel vertical distribution of planktonic ciliates within the surface layers of the NW Mediterranean (May 1995). Deep-Sea research 47: 507–533.

Prezelin B.B., Hofmann E.E., Mengelt C., Klinck J.M. 2000. The Linkage Between Upper Circumpolar Deep Water (UCDW) and Phytoplankton Assemblages on the West Antarctic Peninsula Continental Shelf. Journal of Marine Research 58: 165–202.

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 112: C03S16.1–C03S16.19. doi:10.1029/2006JC003611.

Rai H. 1980. Some problems in determination of photosynthetic plankton pigments and their decomposition products. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergbn. Limnol. 14: 3–13.

Redfield A.C. 1934. On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. V Daniel R.J. (Ed.) James Johnstone Memorial Volume. University Press of Liverpool, 177–92 pp.

Reynolds C.S. 2006. The Ecology of Phytoplankton. New York, Cambridge University Press.

Riegman R., Bouwe R., Kuipers R., Noordeloos A.A.M., Witte H.J. 1993. Size-differential control of phytoplankton and the structure of plankton communities. Netherlands Journal of Sea Research 31: 255–265.

Rimbault P., Taupir-Letage I., Rodier M. 1988. Vertical size distribution of phytoplankton in the western Mediterranean sea during early summer. Marine Ecology Progress Series 45: 153–158.

Rodriguez F., Garrido J.L., Crespo B.G., Arbones B., Figueiras F.G. 2006. Size-fractionated phytoplankton pigment groups in the NW Iberian upwelling system: impact of the Iberian Poleward Current. *Marine Ecology Progress Series* 323: 59–73.

Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. 1990. The diatoms: biology and morphology of the genera. New York, Cambridge university press.

Salmaso N., Naselli-Flores L., Padisák J. 2015. Functional classifications and their application in phytoplankton ecology. *Freshw Biol.* doi:10.1111/fwb.12520.

Sheldon R.W., 1972. Size separation of marine seston by membrane and glass-fiber filters. *Limnol. Oceanogr.* 17: 494–498.

Smayda T.J. 1980. Phytoplankton species succession. V Morris, I. (ed.), *The Physiological Ecology of Phytoplankton*. Blackwell Scientific Publ., United Kingdom, 493–570 pp.

Smayda T.J., Reynolds C.S. 2001. Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. *J. Plankton Res.* 23: 447–461.

Solidoro C., Bandelj V., Barbieri P., Cossarini G., Fonda Umani S. 2007. Understanding dynamic of biogeochemical properties in the northern Adriatic Sea by using self-organizing maps and k-means clustering. *Journal of Geophysical Research* 112: C07S90.1–C07S90.13.

Sournia A. 1973. La production primaire planctonique en Méditerranée. Essai de mise à jour. *Bull. Etud. commun Médit* 5: 128.

Sournia A. 1982. Is there a shade flora in the marine phytoplankton? *J. Plankton Research* 4: 391–399.

Strickland J.D.H., Parsons T.R. 1972. A practical handbook of seawater analysis, 2nd edn. *Bull. Fish. Res. Bd Can.* 167.

Šantić D., Krstulović N., Šolić M., Kušpilić G. 2011. Distribution of *Synechococcus* and *Prochlorococcus* in the central Adriatic Sea. *Acta Adriat.* 52: 101–114.

Terzić S. 1996. Biogeokemija autohtone organske tvari u neritičkim područjima Sredozemlja: fotosintetski pigmenti i ugljikohidrati. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

Talaber I., Francé J., Mozetič P. 2014. How phytoplankton physiology and community structure adjust to physical forcing in a coastal ecosystem (northern Adriatic Sea). *Phycologia* 53: 74–85.

Tett P., Barton E.D. 1995. Why are there about 5000 species of phytoplankton in the sea? *Journal of Plankton Research* 17: 1693–1704.

Tett P., Edwards A. 1984. Mixing and Plankton: an interdisciplinary theme in oceanography. *Oceanography and Marine Biology, An annual Review* 22: 99–123.

Tinta T., Vojvoda J., Mozetič P., Talaber I., Vodopivec M., Malfatti F., Turk V. 2015. Bacterial community shift is induced by dynamic environmental parameters in changing coastal ecosystem (northern Adriatic, northeastern Mediterranean Sea) – a 2-year time-series study. *Environmental Microbiology* 17 (10): 3581–3596.

Totti C., Civitarese G., Acri F., Barletta D., Candelari G., Paschini E., Solazzi A. 2000. Seasonal variability of phytoplankton populations in the middle Adriatic sub-basin. *Journal of Plankton Research* 22: 1735–1756.

Trees C.C., Kennicutt M.C., Brooks J.M. 1985. Errors associated with standard fluorimetric determination of chlorophylls and phaeopigments. *Mar. Chem.* 17: 1–12.

Turk V., Mozetič P., Malej A. 2007. Overview of eutrophication-related events and other irregular episodes in Slovenian sea (Gulf of Trieste, Adriatic sea). *Ann Ser Hist Nat* 17: 197–216.

Uitz J., Claustre H., Morel A., Hooker S.B. 2006. Vertical distribution of phytoplankton communities in open ocean: An assessment based on surface chlorophyll. *Journal of Geophysical Research* 111: C08005.

Valiela I. 1984. *Marine Ecological Processes*. Springer Verlag, 546 pp.

Vaulot D. 2001. Phytoplankton. *Encyclopedia of Life Sciences*: 1–7.

Vidussi F., Claustre H., Manca B.B., Luchetta A., Marty J.C. 2001. Phytoplankton pigment distribution in relation to upper thermocline circulation in the eastern Mediterranean sea during winter. *Journal of Geophysical Research* 106: 19 939–19 956.

Vidussi F., Marty J.C., Chiavérini J. 2000. Phytoplankton pigment variations during the transition from spring bloom to oligotrophy in the northwestern Mediterranean sea. *Deep-Sea Research* 47: 423–445.

Woese C.R., Kandler O., Wheelis M.L. 1990. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87: 4576–4579.

Wright S.W., Jeffrey S.W. 1987. Fucoxanthin pigment markers of marine phytoplankton analysed by HPLC and HPTLC. *Marine Ecology Progress Series* 38: 259–266.

Yentsch C.S. 1980. Light attenuation and phytoplankton photosynthetis, V: Morris I. (ed.), The physiological ecology of phytoplankton. Blackwell Scientific Publications, 95–129 pp.

Yentsch C.S., Menzel D.W. 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. Deep-Sea Research 10: 221–31.

Zubkov M.V., Sleigh M.A., Tarran G.A. Burkill P.H., Leakey R.J.G. 1998. Picoplanktonic community structure on an Atlantic transect from 50°N to 50°S. Deep-Sea Res. 45: 1339–1355.