

---

## 9. Opredeleitev razporeditve cist dinoflagelatov na peščeni plitvini pri Križu (Tržaški zaliv)

### Delovna skupina

Odgovorna oseba: dr. Guido BRESSAN

Sodelavka: univ. dipl. Elena TONZAR

### Uvod

Dinoflagelati so evkariotni, enocelični organizmi in sestavljajo tako morski kot sladkovodni fitoplankton. Obsegajo približno 2000 živečih vrst, razvrščenih v 130 rodov (Taylor, 1987), pretežno pa se nahajajo v umerjenih obalnih vodah, kjer so ustaljeni pogoji. Njihova velikost niha med 10  $\mu\text{m}$  in 200  $\mu\text{m}$ .

Dinoflagelati lahko v neugodnih življenjskih razmerah razvijejo t.i. *ciste* (Matsuoka *et al.*, 1989), da lahko tudi dalj časa preživijo na sedimentu (Jux, 1968).

V ugodnih razmerah lahko ciste preživijo v sedimentu 5-10 let in več, dokler se ne ustvarijo pogoji, primerni za klitje.

### Cilji

Binder in Anderson (1987) trdita, da je na podlagi ciste mogoče ugotoviti spremembe okoljskih pogojev, potek vodotoka in spremembe stopnje sedimentacije. Na tej osnovi skuša ta raziskava pojasniti povezavo med razporeditvijo cist dinoflagelatov in abiotičnimi ter biotičnimi dejavniki, ki nastajajo zaradi umetnih grebenov, potopljenih na peščeni plitvini blizu Križa (Tržaški zaliv); vodno kroženje se lahko spreminja zaradi drugačnih hidrodinamičnih razmer energije na dnu morja, ki povzročajo turbulence ali nalaganje delcev.

**Metodološki oris**

Vzorčenje je potekalo v juliju in decembru 2005, torej v vitalnem ciklu rodu Dinoflagelati. mesta vzorčenja so bile piramide na peščeni plitvini pri Križu (Sl. 9.1).

Datum: 26/07/2005

Postaja	Meritev GPS	Globina	Temperatura (C°)	Vodni tok
D1	45°42.092' N 13°37.381' E	12,4	20	NE
D2	45°42.087' N 13°37.396' E	11,8	20	NE
D3	45°42.068' N 13°37.399' E	12,5	20	NE
D4	45°42.110' N 13°37.382' E	11,8	20	NE
D5	45°42.098' N 13°37.412' E	11,9	20	NE
D6	45°42.077' N 13°37.420' E	12,6	20	NE

Datum: 22/12/2005

Postaja	Meritev GPS	Globina	Temperatura (C°)	Vodni tok
D1	45°42.092' N 13°37.381' E	12,9	10	NE
D2	45°42.087' N 13°37.396' E	12,1	8	NE
D3	45°42.068' N 13°37.399' E	13,0	10	NE
D4	45°42.110' N 13°37.382' E	13,0	10	NE
D5	45°42.098' N 13°37.412' E	12,0	10	NE
D6	45°42.077' N 13°37.420' E	13,0	10	NE

Uporabljene tehnike vzorčenja morskega sedimenta so: neposredno jemanje vzorca med potapljanjem s kisikom (12 potopitev).

Pričujoča raziskava obravnava najbolj površinske dele valjastih vzorcev kamnin, ker so prve plasti substrata najbolj povezane s pojavi ponovnega dvigovanja in razporeditve, ki nastanejo zaradi talnih tokov. Uporabljeni valjasti vzorci kamnin so

označene cevi iz "plexiglassa", notranjega premera 4cm in dolžine 30cm. Vzorci kamnin se vstavijo v substrat s pomočjo kladivca do globine približno 20-25cm (Sl. 9.2) in se na obeh straneh zamašijo z gumijastim pokrovčkom. Zatam se izvlečejo iz substrata in skupaj z morsko vodo položijo v hladilnik. Vzorčenje se na vsakem mestu trikrat ponovi, da se omogoči izbira najbolj kompaktnih vzorcev kamnin, ki se najbolje ohranijo med prevozom v laboratorij.

Vzorec se shrani v hladilnik pri temperaturi približno 4°C, da ne zamre. Vzorec se ekstrudira s pomočjo ročnega bata, ki drsi od spodnjega dela cevi do zgornjega; nato se z lopatico razreže na centimetrške dele, ki se vstavijo v plastične posode, v katere se doda filtrirana morska voda, da se zagotovi zadostna vlažnost. Tudi deli sedimentnega vzorca se shranijo na temnem pri temperaturi približno 4°C, da se prepreči poseganje v vitalnost cist dinoflagelatov (Anderson, 1980). Potem ko se vzorci ekstrudirajo in shranijo, se opravi kvalitativna analiza z mikroskopom.

Izvedla se je metoda za pripravo vzorcev vitalnih cist dinoflagelatov z najmanjšo vsebnostjo sedimenta. Slednji namreč ovira tako ugotavljanje organizmov kot njihovo določitev. Pri tem se je uporabil naslednji metodološki postopek:

1. homogenizacija vzorca z rahlim stresanjem;
2. jemanje homogenega podvzorca sedimenta (1gr.), ki se razredči s filtrirano morsko vodo;
3. enominutna obdelava podvzorca z ultrazvokom, tako da so se ciste ločile od sedimenta, kar je omogočilo lažje opazovanje. Obdelava z ultrazvokom lahko povzroči težave, kajti vpliv ultrazvoka in toplote, ki jo ta oddaja, na fiziologijo cist še ni v celoti raziskan (predvideva se, da ultrazvok lahko pospeši postopek 'excitament' – E. Erard, ustno poročilo). Trenutno je ta tehnika edina poznana za pridobitev cist brez detritov;
4. filtracija podvzorca na najlonskih filtrih z različnimi širinami rež (100µm, 60µm, 40µm, 20µm) so nameščeni na filtrirni stolp "Millipore". Za vzorce, v katerih prevladuje pelitna komponenta, se filtracija olajša tako, da se sistem poveže s črpalko in nastavi na nizek pritisk 10mBar. Rešeta 100 in 60µm se odstranijo, ker se uporabljajo za del sedimenta z večjo granulometrijo v primerjavi z granulometrijo cist. Deli, ki se pridobijo s filtri z režami 40µm, vsebujejo večino vrst cist; za tisto, ki se je pridobila s filtri z režami 20µm, je značilno, da ima ciste, ki pripadajo vrsti manjših velikosti (npr. *Alexandrium* in *Scrippsiella* );
5. obdelava filtrov 40 in 20µm z ultrazvokom (2 minuti), ki so položeni v kozarec s 10 ml filtrirane morske vode, in stresanje s krožnimi gibi, tako da se ustvari vrtelec, ki omogoči, da se delci sedimenta ločijo, prosti in težji material vzorca (peščene komponente) pa nakopiči v sredini posode, kar omogoča, da ciste in lažji material ostanejo na vrhu;

6. jemanje vzorcev s suspenzije, ki se položi v sedimentacijsko komoro, in opazovanje negativa vzorca z optičnim mikroskopom (mikroskop "Leica" model DM IL).

### **Določitev vrst**

Določitev vrst je logični proces, ki vključuje ugotavljanje, ali se objektivna (osebek, ki se ugotavlja) in subjektivna realnost (abstraktna podoba vrste, ki jo vidi raziskovalec) ujemata. Pri spoznavnih, logičnih procesih, ki se uporabljajo pri proučevanju narave, je bila objektivna analiza racionalizirana, da bi se dala prednost spoznavnim raziskovalnim metodam. Logični procesi, kot so denimo ključi za določanje vrst, ki pomagajo pri vzpostavitvi povezave med deloma: objektivnim in subjektivnim, tako da izločijo osebek določene vrste iz širše skupnosti. Najti način, kako opredeliti vrsto, pomeni optimizirati objektivno opazovanje in čim bolj zmanjšati subjektivno mnenje (Bressan, 1986). Ta logični proces pri premagovanju težav, ki so veliko bolj zapletene kot sama vsebina, predstavlja število določevalnih znakov, kot velja v primeru cist (npr.: *Lingulodinium polyedrum* (Stein) Dodge (Sl. 3).

V tej študiji so bili pri določevanju uporabljeni logični procesi, opisani v nadaljevanju, ki so pomagali pri določitvi vrst, kakor je poenostavljeno v izvirnem "šifrantu", ki se je namenoma oblikoval na podlagi ključa za določanje, osnovanega v predhodno izvedenih raziskavah (Tonzar, 2005).

### **Ključ za določanje**

Celična organiziranost:

1A. FLAGELLATA 2.

Habitat:

2A. MORSKE VRSTE 3.

2B. SLADKOVODNE VRSTE 3.

Oblika telesa:

3A. OKROGLA 4.

3B. NEENAKOMERNA KROGLASTA 4.

3C. OVALNA 4.

3D. POLIEDRIČNA 4.

3E. PIRIFORMNA 4.

3F. KAPLJASTA 4.

Obseg telesa (bibliografski podatki):

4A. 20-45 $\mu\text{m}$	5.
4B. 46-55 $\mu\text{m}$	5.
4C. 56-65 $\mu\text{m}$	5.
4D. 66-75 $\mu\text{m}$	5.
4F. 76-90 $\mu\text{m}$	5.

Podaljški:

5A. BODIČASTO	6.
5B. BREZ BODIC	

Morfologija podaljškov:

6A. BODICE, KI SO NA KONCU RAVNE IN OSTRE	7.
6B. BODICE, KI SO NA KONCU ZAOKROŽENE IN RAVNE	7.
6C. BODICE, KI SO NA KONCU LIJAKASTE	7.
6D. BODICE, KI SO NA KONCU ODESKANE	7.
6E. KONICE NEPRAVILNIH OBLIK	7.

Obseg podaljškov:

7A. 1-5 $\mu\text{m}$
7B. 6-15 $\mu\text{m}$
7C. 16-25 $\mu\text{m}$

**Šifrant**

Šifre							Rod in vrsta
1A	2A	3A	4C	5B			<i>Alexandrium pseudogonyaulax</i>
1A	2A	3A	4A	5A	6B	7B	<i>Gonyaulax grindleyi</i>
1A	2A	3F	4B	5A	6C	7B	<i>Gonyaulax spinifera</i>
1A	2A	3A	4A	5A	6A	7B	<i>Lingulodinium polyedrum</i>
1A	2A	3C	4B	5A	6A	7C	<i>Protoperidinium conicum</i>
1A	2A	3A	4A	5B			<i>Scrippsiella trochoidea</i>
1A	2A	3C	4B	5A	6C	7C	<i>Spiniferites</i> sp.

## Rezultati

### Značilnosti sedimentov

Opravljala se je makroskopska ocenitev s pomočjo izračuna granulometrije sedimenta po metodi Udden-Wentworth (U.S. Standard) (Tab. 9.1). Makroskopska ocenitev sedimentov je omogočila razvrstitev vzorčenih mest v skupine:

- zelo pelitni sediment svetlo sive barve in homogen vzdolž celotnega valjastega vzorca (piramida D2);
- temen pelitni sediment, homogen vzdolž celotnega valjastega vzorca (piramida D4);
- debelejši sediment na zgornjem delu valjastega vzorca, kjer so prisotne klapavice in školjke; drobnejši sediment temno sive barve na spodnjem delu valjastega vzorca (piramide D1, D3, D5 in D6).

### Floristični seznam

Določenih je bilo 7 taksonov, vendar samo eden z vidika rodu.

Rod in vrsta	Bibliografija
<i>Alexandrium pseudogonyaulax</i> (Biecheler)	Montresor, 1993
<i>Gonyaulax grindleyi</i> Reinecke	Bolch & Hallegraeff, 1990; Blanco, 1989
<i>Gonyaulax spinifera</i> (Claparide & Lachman)	Bolch & Hallegraeff, 1990
<i>Lingulodinium polyedrum</i> (Stein) Dodge	Ruth, 1987
<i>Protoperidinium conicum</i> (Gran) Balech	Bolch & Hallegraeff, 1990; Ruth, 1987
<i>Scrippsiella trochoidea</i> (Stein) Loeblich III	Bolch & Hallegraeff, 1990; Montresor <i>et al.</i> , 1994
<i>Spiniferites</i> sp.	Blanco, 1989

Podatki so bili pridobljeni na osnovi navpične kvalitativne razporeditve cist v sedimentu in razporejeni v tabele (Tab. 9.2 – 9.3) na podlagi vrste in postaj (podatki o prisotnosti/odsotnosti), poleg tega pa obdelani z vidika enovrstne statistike. Pri primerjavi so bile uporabljene odstotne vrednosti, da bi se zagotovila pravilnost podatkov.

Analizirali so se podatki za mesec december, ker je pojav ovijanja v ciste pri dinoflagelatih v tem času najbolj izrazit.

Tako je bilo na podlagi empirične analize histogramov (Sl. 9.4 – 9.5) mogoče pridobiti različne razrede pogostnosti, na podlagi katerih se je določila prisotnost posameznih osebkov. Ugotovljene so bili štiri razredi pogostnosti:

- I prisotnost osebkov je večja kot 25,00% (=“prevladujoče” ciste);
- II prisotnost osebkov med 24,99% in več kot 10,00% (=“manj prisotne” ciste);
- III prisotnost osebkov med 9,99% in več kot 0,00% (=± “redke” ciste);
- IV “odsotnost” cist (prisotnost osebkov je enaka 0,00%).

Obdelava vzorcev je omogočila analizo treh predelov, od katerih je vsak na posameznem valjastem vzorcu obsegal 1 cm :

- predel 0,0-1,0cm;
- predel 1,0-2,0cm;
- predel 2,0-3,0cm;

Podatki so se pridobili tudi ob upoštevanju parametra (Tab. 9.4 -9.5):

“vitalnost” (prisotnost t.i. ”eye spot” in/ali prisotnost celične vsebine);

“nevitalnost” (odsotnost t.i. “eye spot” ali počena/pretrgana teka).

### **Analiza florističnih variacij (julij)**

V mesecu juliju se je na podlagi vzorčenja sedimentov na različnih postajah analizirala pristnost cist dinoflagelatov:

- razred I (ciste, ki so zelo pogoste ali celo “prevladujoče”): *Lingulodinium polyedrum* (4), ki so prisotni 53,30%;
- razred II (“manj prisotne” ciste): *Alexandrium pseudogonyaulax* (1), ki so prisotne 20,00%, in *Spiniferites* sp. (7), ki so prisotne 13,30%;
- razred III ( $\pm$  “redke” ciste): *Gonyaulax spinifera* (3) in *Scrippsiella trochoidea* (6), ki sta prisotni 6,67%;
- razred IV (“odsotne” ciste v primerjavi z decembrom), kateremu pripadata: *Gonyaulax grindleyi* (2) in *Protoperidinium conicum* (5) s prisotnostjo 0,00%.

### **Analiza floristične variacije (december)**

Analizirala se je odstotna prisotnost cist dinoflagelatov, odkritih v sedimentih različnih postaj v mesecu decembru:

- razred I (ciste, ki so zelo pogoste ali celo “prevladujoče”): *Lingulodinium polyedrum* (4) s prisotnostjo 31,00%;
- razred II (“manj prisotne” ciste): *Alexandrium pseudogonyaulax* (1) s prisotnostjo 20,70%, *Spiniferites* sp. (7) s prisotnostjo 13,80%, *Gonyaulax grindleyi* (2) in *Gonyaulax spinifera* (3) s prisotnostjo 10,30%;
- razred III ( $\pm$  “redke” ciste): *Protoperidinium conicum* (5) in *Scrippsiella trochoidea* (6) s prisotnostjo 6,90%;
- razred IV (“odsotne” ciste): nobena vrsta.

### **Primerjava analize floristične variacije v predelih (julij)**

#### **Analiza floristične variacije (julij-december)**

Analizirala se je primerjava odstotka prisotnosti cist dinoflagelatov, odkritih v sedimentih različnih postaj v mesecih julij in december (Sl. 9.6).

Iz analize histograma je razvidna razlika v razporeditvi vrst v dveh različnih vzorčenjih. Opaziti je bilo tri značilnosti:

vrste, ki so junija bolj prisotne kot novembra: *Lingulodinium polyedrum* (4);

vrste, ki so decembra bolj prisotne kot julija: *Gonyaulax spinifera* (3), *Gonyaulax grindleyi* (2) in *Protoberidinium conicum* (5);

vrste, ki so v obeh letnih časih enako prisotne: *Alexandrium pseudogonyaulax* (1), *Spiniferites* sp. (7) in *Scrippsiella trochoidea* (6).

Analiziral se je odstotek prisotnosti cist dinoflagelatov, odkritih v sedimentih različnih predelov (0,0-1,0cm, 1,0-2,0cm in 2,0-3,0cm) 6. postaj v mesecu juliju (Sl. 9.7):

D1 prikazuje večjo razporeditev cist v predelih 1,0-2,0cm in 2,0-3,0cm;

D3, D4 in D6 prikazujejo večjo razporeditev cist v predelu 1,0-2,0cm;

D2 in D5 prikazujeta večjo razporeditev cist v predelu 0,0-1,0cm.

### **Primerjava analize floristične variacije v predelih (december)**

Analiziral se je odstotek prisotnosti cist dinoflagelatov, odkritih v sedimentih različnih predelov (0,0-1,0cm, 1,0-2,0cm e 2,0-3,0cm) 6. postaj v mesecu decembru (Sl. 9.8): na vseh postajah je bila zabeležena večja razporeditev cist v predelih 0,0-1,0cm in 1,0-2,0cm, ki se je v nadaljnjem predelu postopoma manjšala. Samo na postaji D1 je opaziti razporeditev, ki je podobna vsem ostalim predelom.

### **Razporeditev cist dinoflagelatov na različnih postajah (julij-december)**

Analizirala se je primerjava odstotne prisotnosti cist dinoflagelatov, odkritih v sedimentih različnih postaj v juliju in decembru (Sl. 9.9).

Analiza histograma je pokazala, da so ciste bolj prisotne na postajah D1, D2 in D6. Na postaji D6 je bila ugotovljena največja koncentracija cist, in sicer tako julija kot decembra.

### **Zaključek**

Analiza razporeditve cist v dveh mesecih na 6. postajah vzorčenja posamezne prisotne vrste je pokazala:

- *Lingulodinium polyedrum* (4) je ubikvitarna vrsta, ki je najbolj prisotna tako julija kot avgusta;
- vrste *Alexandrium pseudogonyaulax* (1), *Spiniferites* sp. (7), *Gonyaulax grindleyi* (2), *Gonyaulax spinifera* (3), *Protoberidinium conicum* (5) in *Scrippsiella trochoidea* (6) so bolj prisotne decembra.



Glede na postaje:

na postajah D6 in D1 je bil zabeležen največji odstotek cist brez bistvenih razlik v letnih časih;

na postaji D2 so ciste bolj prisotne julija kot decembra;

na postajah D3, D4 in D5 pa so bolj prisotne decembra kot julija.

Glede na dele:

decembra so bile ciste najbolj prisotne na predelih 0,0-1,0cm in 1,0-2,0cm;

julija je bilo opaziti manjši odstotek cist na predelu 0,1-1,0cm;

na predelu 2,0-3,0cm je bil odstotek cist zelo majhen v obeh mesecih vzorčenja.

V dveh analiziranih mesecih je bilo opaziti razliko v prisotnosti cist, zato se lahko domneva, da je prišlo do 'excistament' populacije po juliju. Ta domneva izhaja iz različne razporeditve cist v istem mesecu juliju in decembru.

Na postajah, kjer so se opravljale raziskave, je analiza različnih ravni valjastega vzorca kamnin pokazala, da se prisotnost cist manjša sorazmerno z večanjem globine substrata. Ta analiza, ki temelji na začetnih zgoraj omenjenih ugotovitvah, bi lahko bila skladna z domnevo, da je lebdenje alg manjše zaradi prisotnosti umetnih grebenov, ki lahko spremenijo hidrodinamične pogoje talne energije.

Pridobljene rezultate je potrebno pretehtati glede na prisotnost vrst, ki so lahko strupene za človekovo zdravje (kot npr. *Gonyaulax grindleyi*, ki skoraj ni prisotna oziroma je zelo redka) in lahko ogrozijo ribje vire ter spremenijo izvorno bentonsko komponento.

Kar zadeva analize dosedanjih rezultatov, velja omeniti, da se izvaja ocenjevanje okoljskega vpliva, glede na to, da je kraj analize potrebno nenehno spremljati. Raziskavo se zdi smiselno razširiti še na druga območja.