



Hrvatsko biološko društvo
SOCIETAS BIOLOGORUM CROATICA
Croatian Biological Society

14. HRVATSKI BIOLOŠKI KONGRES

s međunarodnim sudjelovanjem

14th CROATIAN BIOLOGICAL CONGRESS

with International Participation

Pula, 12 - 16. 10. 2022.



ZBORNIK SAŽETAKA BOOK OF ABSTRACTS





Hrvatsko biološko društvo
SOCIETAS BIOLOGORUM CROATICA
Croatian Biological Society



14. HRVATSKI BIOLOŠKI KONGRES
s međunarodnim sudjelovanjem
12 - 16. listopada 2022.
Pula, Hrvatska

14th CROATIAN BIOLOGICAL CONGRESS
With International Participation
12nd - 16th October 2022
Pula, Croatia

**ZBORNIK SAŽETAKA
BOOK OF ABSTRACTS**

Zagreb, 2022.

**ZBORNIK SAŽETAKA
14. HRVATSKOG BIOLOŠKOG KONGRESA**

**BOOK OF ABSTRACTS
OF THE 14th CROATIAN BIOLOGICAL CONGRESS**

Urednici / Editors

Katarina Caput Mihalić
Vlatka Mičetić Stanković
Inga Urić
Armin Mešić
Petar Kružić

Odgovorni tehnički urednici / Technical Editor in Chief

Petar Kružić
Katarina Caput Mihalić
Vlatka Mičetić Stanković

Autor fotografija / Photo by

Petar Kružić

Hrvatsko biološko društvo
Croatian Biological Society

Zagreb, 2022.

ISSN 1848-5553

Ključni naslov: Zbornik sažetaka (Hrvatski biološki kongres s međunarodnim sudjelovanjem)

Skraćeni ključni naslov: Zb. sažet. (Hrvat. biol. kongr. međunar. sudjel.)

Organizator kongresa i izdavač zbornika /
Organiser of the Congress and Publisher of the Book of Abstracts
Hrvatsko biološko društvo
Croatian Biological Society
Rooseveltov trg 6, HR-10000 Zagreb, Hrvatska
Tel: +385 (0)1 4877733; Fax: +385 (0)1 4826260
e-mail: info@hbd-sbc.hr
URL: www.hbd-sbc.hr

Organizacioni i programske odbor kongresa /
Organising and Program Committee of the Congress:
Petar Kružić, predsjednik / President
Vlatka Mičetić Stanković, tajnica / Secretary
Katarina Caput Mihalić, blagajnica / Treasurer

Članovi / Members: Mladen Kučinić, Inga Urlić, Ivana Šola, Snježana Židovec Lepej, Valerija Begić, Sandi Orlić, Petra Korać, Petra Burić, Paolo Paliaga, Nediljko Landeka, Milena Mičić, Mauro Štifanić, Emina Pustijanac.

Znanstveni odbor / Scientific Committee:
Inga Urlić, predsjednica / President
Armin Mešić, dopredsjednik / Vice president

Članovi / Members: Andreja Ambriović-Ristov, Vesna Benković, Višnja Besendorfer, Branimir K. Hackenberger, Krunoslav Brčić-Kostić, Marko Ćaleta, Jelena Kralj, Jakov Dulčić, Hrvoje Fulgosi, Ivana Maguire, Zlatko Mihaljević, Marcelo Kovačić, Bojan Lazar, Zlatko Liber, Zrinka Ljubešić, Renata Matoničkin-Kepčija, Toni Nikolić, Mirjana Pavlica, Miroslav Plohl, Martina Podnar Lešić, Ines Radanović, Zdenko Tkalcec, Ivančica Ternjej, Željka Vidaković-Cifrek, Rosa Karlić, Irina Zupan, Zorana Grubić, Feodora Stipoljev, Mirela Sertić Perić, Zrinka Ponrac Štimac, Tanja Žuna Pfeiffer, Barbara Sladonja, Ante Žuljević, Irena Labak, Dubravko Pavoković, Vlatka Filipović Marijić, Ivana Kušan, Marija Zekušić, Irena Grbac, Martina Šašić Kljajo, Igor Stanković, Petar T. Mitrikeski, Bojan Hamer, Dijana Pavičić-Hamer.

Tehnička potpora / Technical support:
Ivan Šetin, Neven Iveša, Luca Privileggio, Lucia Nikolić, Matej Čief, Andreja Kokorović, Marko Orbović, Petra Peharec, Nicol Delcaro, Moris Šarić, Iris Matulja, Chiara Batelli, Pia Lasić, Ena Radić Manestar, Ivana Kirin, Mateo Jakac, Silvija Cukon.

Tehnički organizator kongresa / Technical support for registration, accommodation and excursions:
PRO PUTUJ d.o.o. putnička agencija / travel agency; Zapoljska 14, HR-10000 Zagreb, Croatia

Pokrovitelji / Patrons:

Istarska županija / Istra County

Grad Pula / City of Pula

Aquarium Pula d.o.o.

Biološki odsjek Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu / Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb

Suorganizator / Co-organizer:

Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Fakultet prirodnih znanosti / Juraj Dobrila University of Pula, Faculty of Natural Sciences



Suorganizator Simpozija „Okolišna DNA“ / Co-organizer of the Symposium

Environmental DNA:

Labena d.o.o.



Sponzori / Sponsors:

Labena d.o.o. – Zlatni sponzor / Gold sponsor

Fond za zaštitu okoliša i energetsku učinkovitost

INEL

Alfa d.d.

Kefo d.o.o.

Ru-ve d.o.o.

MEDIC d.o.o.

Biosistemi d.o.o.

Alpha Chrom d.o.o.

Turistička zajednica Pula

Wine Station - OPG Trapan Bruno

Nastavni zavod za javno zdravstvo Istarske županije / Istituto formativo di sanità pubblica della Regione Istriana

Predgovor / Foreword

Poštovane kolegice i kolege, sudionici 14. Hrvatskog biološkog kongresa,

Ovim putem posebno se zahvaljujem svima Vama koji ste našli vrijeme, radove, ideje, ali i financije da učestvujete na ovom Kongresu biologa Hrvatske i da ga na neki način i omogućite, jer bez Vas ne bi bilo ni samog Kongresa. Neplanirano, zbog situacije s pandemijom okupili smo se nešto kasnije nego je uobičajeno, ali vrlo je važno da je nastavljena tradicija i da je i ovaj kongres ipak održan i to u Puli od 12. do 16. listopada 2022. godine, u mjesecu kada liše već opada, kada je došla jesen i kada nastava ide punim tempom u osnovnim i srednjim školama te na veleučilištima i sveučilištima.

Kongres biologa sigurno je najveći skup biologa u Hrvatskoj, koji uz manje iznimke održavamo svake tri godine, i koji je na izuzetno „jak“ način simbol rada, aktivnosti i prepoznatljivosti Hrvatskog biološkog društva. Odluka za održavanje ovoga Kongresa nije bila nimalo laka, ali eto donijeli smo je zajednički i sada vidimo da nismo pogriješili. Četiri godine od kada se nismo vidjeli velika je stanka i zato smo i “riskirali” s tom odlukom ne znajući što nam donosi jesen, listopad i zdravstvena situacija u Hrvatskoj, ali i okruženju. I sada smo zbilja i zadovoljni i sretni zbog te odluke jer više od 300 prijavljenih sudionika Kongresa pokazuje da nismo pogriješili. Na ovome mjestu posebno bih se zahvalio i kolegicama i kolegama koji dolaze iz susjednih zemalja: Srbije, Slovenije, Bosne i Hercegovine, ali i Poljske, Švicarske i Ujedinjenog Kraljevstva. Ovaj kongres kao i svi dosadašnji, a održavaju se u kontinuitetu već 41 godinu, ima svrhu i cilj okupiti što veći broj kolegica i kolega iz Hrvatske i ostalih zemalja koji će u jednoj ljepoj, prijateljskoj i radnoj atmosferi prezentirati rezultate nekih od svojih istraživanja te u kontaktima s kolegicama i kolegama razmijeniti razmišljanja i stavove, ne samo o znanosti nego i o načinima kako se danas “jedan biolog” mora ponašati u svijetu u kome se puno razgovara o istraživanju i znanosti, ali i zaštiti biološke raznolikosti, koje principe bi morao zastupati, kojim primjerima bi morao pokazati sebi, ali još više svojim kolegicama i kolegama, učenicima i studentima kako u svijetu “konzumerizma” ipak je priroda i njezina zaštita najvažnija, uključujući i sve humane i etičke odnose koje uključuju i nas kao razumna, kreativna i inteligentna bića. Isto tako izuzetno nam je važan dolazak profesorica i profesora biologije, njihova prisutnost na Kongresu, razgovori, razmjena iskustava o radu u školama, rezultati istraživanja u nastavi kao jednog od najbitnijih segmenata obrazovanja mladih naraštaja u cilju stvaranja samosvesnog i odgovornog društva, kako prema sebi samima, tako i zajednici u kojoj djelujemo i živimo, prirodi koja nas okružuje i Planeti koja nas sve na najobuhvatnije načine objedinjuje i spaja. Nekada se govorili “kada staviš prst u more, dio si cijelog svijeta”, ali danas možemo reći da “Tvoja ruka na zemlji, u potoku, šumi ili oceanu također čini dio te cjeline”, i da nema lokalnog jer to lokalno samo je jedna točka u globalnom, izuzetno bitna i značajna, tvoreći spektar šarenila posebnosti na planeti koju zovemo Zemlja.

Na ovom Kongresu zastupljena su i tri manja simpozija, koja su integralni dio kongresa: 8. Simpozij Hrvatskog društva za biljnu biologiju, 4. Simpozij edukacije biologije i Simpozij „Okolišna DNA“. Kongres ukupno obuhvaća 8 plenarnih predavanja, 121 usmeno priopćenje, 121 postersko priopćenje i jednu radionicu.

Na kraju velika hvala i svim pokroviteljima i sponzorima, Organizacionom odboru, tehničkoj ekipi, Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli koji je suorganizator kongresa, kao i Znanstvenom odboru te svima koji su na bilo koji način pripomogli da se održi naš 14. Kongres biologa Hrvatske. Hvala studentima, kao i svima ostalima koji će posjetiti naš Kongres i napraviti ga mjestom događaja kojih ćemo se sjećati i pričati o njima još dugo poslije završetka „Pule“ i našeg druženja u njoj.

Predsjednik Hrvatskog biološkog društva

Prof. dr. sc. Mladen Kučinić

Dear colleagues, participants of the 14th Croatian Biological Congress,

I would like to express my gratitude to all of you who found the time, results, ideas, and finances to participate in the Congress of Croatian biologists, thus, making it possible, because without you there would not be the Congress. Postponed, due to the pandemic, we are gathering a little later than usual, but it is very important that the tradition continues and that this congress is being held in Pula from October 12 to 16, 2022, in the month when the leaves are falling, when autumn has arrived and classes are in full swing in primary and secondary schools and faculties and universities.

The congress of biologists is certainly the largest gathering of biologists in Croatia, which, with minor exceptions, is held every three years, and which in an extremely "powerful" symbol of the hard work, activities and recognition of the Croatian Biological Society. The decision to organize this Congress was not easy at all, but we did it together and now we can see that we were not mistaken. Four years since we haven't seen each other is a big intermission, and that's why we took a risk with that decision, not knowing what autumn, October and the health situation in Croatia and the region will bring to us. And now we are really satisfied and happy about that decision because more than 300 registered Congress participants are proving us that we were not mistaken. At this point, I would especially like to thank my colleagues who are coming from neighbouring countries: Serbia, Slovenia, Bosnia and Herzegovina, but also Poland, Switzerland and the United Kingdom. This congress, like all the previous ones, which have been held continuously for 41 years, has the purpose and goal of gathering as many colleagues as possible from Croatia and other countries who will present the results of their research in a nice, friendly and hardworking atmosphere. Through contacts with colleagues we will all exchange our thoughts and views, not only about science but also about the ways in which a "biologist" should behave today in a world where there is a lot of discussion about research and science, the protection of biological diversity, what principles should he represent, how to be an example to our colleagues, pupils and students, that in the world of "consumerism" nature and protection of nature are still the most important, including all humane and ethical issues that include us as reasonable, creative and intelligent beings. Also, the presence of biology professors is extremely important for us, their presence at the Congress, conversations, exchange of experiences about teaching in schools, results of research in teaching as one of the most important segments of the education of the young generation with the aim of creating a self-aware and responsible society, both towards themselves, as well as the community in which we work and live, the nature that surrounds us and the Planet that unites and unites us all in the most comprehensive ways. It used to be said that "when you immerse your finger in the ocean, you become a part of the whole world", but today we can say that "Your hand on the ground, in the stream, forest or ocean is also a part of that whole", and that there is no local because that local is only one dot in the global, extremely important and significant, forming a spectrum of colourful peculiarities on the planet we call Earth.

Three smaller symposia are also represented at this congress, which are an integral part of the congress: the 8th Symposium of the Croatian Society for Plant Biology, the 4th Symposium on Biology Education and the "Environmental DNA" Symposium. In total, the congress includes 8 plenary lectures, 121 oral presentations, 121 poster presentations and one workshop.

Finally, a big thank you to all patrons and sponsors, the Organizing Committee, the technical team, Juraj Dobrila University in Pula, which is the co-organizer of the congress, as well as the Scientific Committee and everyone who helped in any way to make our 14th Congress of Croatian Biologists happen. Thank you to the students, as well as to everyone else who will visit our Congress and make it a place of events that we will remember and talk about long after "Pula" and our gathering there are over.

President of the Croatian Biological Society
Prof. Ph. D. Mladen Kučinić



SADRŽAJ

CONTENTS

PLENARNA PREDAVANJA / PLENARY LECTURES

PL-1.....	2
Nataša Bauer, M. Tkalec, N. Major, A. I. Talanga Vasari, M. Tokić, S. Vitko, D. Ban, S. Goreta Ban, B. Salopek-Sondi	
MEHANIZMI TOLERANCIJE EKOPOPULACIJA RAŠTIKE (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Acephala</i>) NA SUŠU I TOPLINSKI STRES / TOLERANCE MECHANISMS OF KALE (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i>) ECOPOPULATIONS TO DROUGHT AND HEAT STRESS	
PL-2.....	3
Boris Jokić	
NOVI RITAM I MELODIJA OBRAZOVANJA – KAKO JE PANDEMIJA UTJECALA NA SUSTAV ODOGOJA I OBRAZOVANJA I KAKO BISMU IZ NJE MOGLI IZAĆI SNAŽNIJI?	
PL-3.....	3
Martin Kelly	
USE OF METABARCODING FOR ECOLOGICAL ASSESSMENT OF BENTHIC ALGAE IN THE UK	
PL-4.....	4
Zlatko Mihaljević, I. Pozojević	
KAKO ZNANSTVENI PRISTUP SLATKOVODNIH EKOLOGA UTJEČE NA INVESTICIJE U VODNOM GOSPODARSTVU? / HOW DOES SCIENTIFIC APPROACH OF FRESHWATER ECOLOGISTS INFLUENCE WATER MANAGEMENT INVESTMENTS	
PL-5.....	5
Dušan Petrić, A. Ignjatović Ćupina, M. Kavran	
STERILE INSECT TECHNIQUE - RELEASING STERILE MALE MOSQUITOES TO PROTECT PUBLIC HEALTH	
PL-6.....	5
Igor Stanković	
PER ASPERA AD ASTRA – IMPLEMENTACIJA eDNA METABARKODINGA U UPRAVLJANJU VODAMA / PER ASPERA AD ASTRA – IMPLEMENTATION OF eDNA METABARCODING INTO THE WATER	
PL-7.....	6
Thorsten Stoock, T. A. Wilding, V. Rubel	
EMPOWERING COASTAL AQUACULTURE IMPACT ASSESSMENT WITH eDNA AND SUPERVISED MACHINE LEARNING	
PL-8.....	7
Snježana Židovec Lepej	
MOLEKULARNA RAZNOLIKOST VIRUSA EPSTEIN-BARR / MOLECULAR DIVERSITY OF EPSTEIN-BARR VIRUS	

USMENA IZLAGANJA / ORAL PRESENTATIONS

Genetika, stanična i molekularna biologija Genetics, cell and molecular biology

O-1.....	10
I. Grgić, K. Cetinić, Z. Karačić, A. Previšić, M. Rožman	
METABOLIČKE PROMJENE U MUŽJAKA I ŽENKI TULARA IZLOŽENIH DUGOTRAJnim VIŠESTRUKIM STRESORIMA / METABOLIC CHANGES IN MALE AND FEMALE CADDISFLIES EXPOSED TO LONG-TERM MULTIPLE STRESSORS	
O-2.....	11
D. Mitić, I. Ivančić-Baće	
REGULACIJA AKTIVNOSTI SUSTAVA CRISPR-CAS U BAKTERIJI <i>Escherichia coli</i> : ULOGA ČETVRTOG PROMOTORA / REGULATION OF CRISPR-CAS ACTIVITY IN <i>Escherichia coli</i> : THE ROLE OF THE FOURTH PROMOTER	

O-3	12
P. T. Mitrikeski	
NISKA PRECIZNOST REKOMBINACIJE KRAJEVI-PREMA-VAN U PEKARSKOG KVASCA MOŽE SE IZBJEĆI PROMJENOM ORIJENTACIJE UNUTAR KASETE ZA CILJANJE / THE POOR ENDS-OUT RECOMBINATION FIDELITY IN BUDDING YEAST MAY BE RESCUED BY ALTERING THE ORIENTATION OF THE INSERTION WITHIN THE TARGETTING MODULE	
O-4	13
I. Svetličić, D. Konjević, M. Bujanić, D. Bugarski, J. Mirčeta, A. Galov	
VARIJABILNOST LOKUSA MHC-DRB U OBIČNOG JELENA (<i>Cervus elaphus</i>) IZ VOJVODINE, SRBIJA / VARIABILITY OF MHC-DRB LOCUS IN RED DEER (<i>Cervus elaphus</i>) FROM VOJVODINA, SERBIA	
Evolucija, sistematika, filogenija i biogeografija	
Evolution, systematics, phylogeny and biogeography	
O-5	15
Uvodno predavanje / Introductory lecture	
M. Pavlek	
NOVA OTKRIĆA U ISTRAŽIVANJU ŠPILJSKIH PAUKA DINARIDA / RECENT ADVANCES IN THE STUDY OF NATURAL HISTORY OF DINARIC CAVE SPIDERS	
O-6	16
J. Bedek, L. Lelas, L. Tomicić, M. Zugaj, H. Bilandžija	
RAKOVI PORODICE ASELLIDAE (CRUSTACEA: ISOPODA) NASELJAVAJU ŠPILJE – FENOTIPSKA PLASTIČNOST OMOGUĆUJE KOLONIZACIJU PODZEMLJA / ASELLIDS (CRUSTACEA: ISOPODA: ASELLIDAE) INVADING CAVES – ONGOING COLONIZATION ENABLED BY PHENOTYPIC PLASTICITY	
O-7	17
H. Bilandžija, M. Čupić, M. Lukić, M. Matković, S. A. Blažević, R. Gračan, Z. Marčić	
ADAPTIVNA EVOLUCIJA KAPELSE SVIJETLICE (<i>Telestes karsticus</i>) NA ŠPILJSKA STANIŠTA / ADAPTIVE EVOLUTION OF KARSTIC DACE (<i>Telestes karsticus</i>) TO CAVE HABITATS	
O-8	18
M. Grgić, R. G. Weck, G. Keresteš, H. Bilandžija	
PLEIOTROPNI UČINCI GUBITKA PIGMENTACIJE KOD ŠPILJSKOG PUŽA <i>Physella</i> sp. / PLEIOTROPY AS THE MECHANISM BEHIND MELANIN LOSS IN CAVE SNAIL <i>Physella</i> sp.	
O-9	19
M. Ivković, B. J. Sinclair, E. Wahlberg	
STOLJETNA TAKSONOMSKA ZBRKA OKO VRSTE <i>Wiedemannia zetterstedti</i> I SRODNIH VRSTA KONAČNO JE RAZRIJEŠENA (DIPTERA: EMPIDIDAE): REVIZIJA GRUPE <i>W. zetterstedti</i> / THE CENTURY OLD TAXONOMIC CONFUSION SURROUNDING <i>Wiedemannia zetterstedti</i> AND RELATED SPECIES IS FINALLY RESOLVED (DIPTERA: EMPIDIDAE): REVISION OF <i>W. zetterstedti</i> GROUP	
O-10	20
L. Jovović, F. Figon, H. Bilandžija	
ALBINIZAM JE POSLJEDICA GUBITKA OMOKROMA KOD ŠPILJSKIH JEDNAKONOŽNIH RAKOVA (ISOPODA, CRUSTACEA) / ALBINISM IS A CONSEQUENCE OF OMMOCHROME LOSS IN CAVE-ADAPTED ISOPODS (ISOPODA, CRUSTACEA)	
O-11	22
T. Koren	
PRIČA O JUŽNOM LASTINOM REPУ (<i>Papilio alexanor</i>) U HRVATSKOJ / THE STORY OF THE SOUTHERN SWALLOWTAIL (<i>Papilio alexanor</i>) IN CROATIA	
O-12	23
V. Lončar, I. Svetličić, J. Kralj, L. Jurinović, A. Galov	
USPOREDBA RAZNOLIKOSTI KONTROLNE REGIJE MITOHONDRIJSKE DNA KONTINENTALNIH I MORSKIH POPULACIJA CRVENOKLJUNE ČIGRE (<i>Sterna hirundo</i>) U HRVATSKOJ / COMPARISON OF DIVERSITY OF MITOCHONDRIAL DNA CONTROL REGION OF INLAND AND MARINE POPULATIONS OF COMMON TERN (<i>Sterna hirundo</i>)	

O-13.....	24
A. Mešić, Z. Tkaličec, I. Kušan, N. Matočec, A. Pošta, L. Pole, M. Jambrek, Ž. Zgrablić	
REZULTATI ZNANSTVENO-ISTRAŽIVAČKOG PROJEKTA UNAPREĐENJE USLUGA ŠUMSKIH EKOSUSTAVA HRVATSKE KROZ VREDNOVANJE BIORAZNOLIKOSTI GLJIVA TEMELJENOJ NA DNA BARKODIRANJU / RESULTS OF THE SCIENTIFIC RESEARCH PROJECT ENHANCEMENT OF CROATIAN FOREST ECOSYSTEM SERVICES THROUGH ASSESSMENT OF FUNGAL DIVERSITY BASED ON DNA BARCODING	
O-14.....	25
V. Mičetić Stanković, B. Brubo Mađarić, M. Kučinić	
DOMINANTAN, A NEPOZNAT VODENI KORNJAŠ (Insecta: Coleoptera) KRŠKIH IZVORA EUROPE / DOMINANT YET OVERLOOKED WATER BEETLE (Insecta: Coleoptera) IN KARST SPRINGS OF EUROPE	
O-15.....	26
M. Mirić	
PRVO MOLEKULARNO FILOGENETSKO STABLO NOĆNIH LEPTIRA IZ PORODICE ZYGAENIDAE / THE 83 MILLION YEAR OLD FAMILY TREE OF BURNET MOTHS	
O-16.....	27
D. Stermšek, T. Milat, N. Ževrnja	
ISTRAŽIVANJE GLJIVA NA PODRUČJU SREDNJE DALMACIJE / FUNGI RESEARCH IN THE AREA OF CENTRAL DALMATIA	
O-17.....	28
M. Temunović, A. Terlević, H. Luqman, S. Bogdanović, A. Widmer, S. Fior, I. Rešetnik	
GENOMSKA DIVERGENCIJA <i>Dianthus sylvestris</i> WULFEN S. L. NA BALKANSKOM POLUOTOKU / GENOMIC DIVERGENCE OF <i>Dianthus sylvestris</i> WULFEN S. L. IN THE BALKAN PENINSULA	
O-18.....	30
L. Zver, E. Bužan, S. Potušek, U. Geric, B. Toškan	
PHYLOGENY OF LATE PLEISTOCENE AND HOLOCENE BISON FROM SLOVENIA AND HUNGARY	

Mikrobiologija Microbiology

O-19.....	31
M. Drželić, A. Škiljaica, N. Bauer, M. Šeruga Musić	
POSTOJI LI INTERAKCIJA IZMEĐU FITOPLAZMATSKE PROTEINE STAMP I AKTINA KUKACA / IS THERE ANY INTERACTION BETWEEN PHYTOPLASMA MEMBRANE PROTEIN STAMP AND INSECT ACTIN?	
O-20.....	32
M. Šeruga Musić, J. Hrenović, M. Drmić, L. Pešorda, B. Bedenić	
Burkholderia cepacia KOMPLEKS – MOLEKULARNA KARATKERIZACIJA PATOGENIH BAKTERIJA KOJE PRELAZE GRANICU MEĐU CARSTVIMA / Burkholderia cepacia COMPLEX – MOLECULAR CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC BACTERIA CROSSING THE BORDER BETWEEN KINGDOMS	

Biologija mora Marine Biology

O-21.....	34
Uvodno predavanje / Introductory lecture	
P. Kružić, R. Gračan, P. Ankon, A. Kovacev	
STANJE POPULACIJA CRVENOG KORALJA U ISTOČNOM DIJELU JADRANSKOG MORA / STATE OF RED CORAL POPULATIONS IN THE EASTERN PART OF THE ADRIATIC SEA	
O-22.....	35
O. Barić, R. Filipas, I. Radetić, N. Iveša, A. Gavrilović, J. Jug-Dujaković	

ZASTUPLJENOST SPOLOVA KOD ŠKRPOČA (*Scorpaena porcus*, Linnaeus, 1758) U MEDULINSKOM ZALJEVU /
REPRESENTATION OF SEXES IN *Scorpaena porcus*, Linnaeus, 1758 IN THE BAY OF MEDULIN

O-23.....	36
S. Bosak, K. Filek, L. Kanjer, M. Žižek, R. Gračan, M. Mucko	
TURTLEBIOME PROJEKT: NOVA SAZNANJA O ZAJEDNICAMA BAKTERIJA, MIKROALGI I GLJIVA GLAVATIH ŽELVI / TURTLEBIOME PROJECT: NEW INSIGHTS INTO BACTERIAL, FUNGAL AND MICROALGAL ASSEMBLAGES OF MEDITERRANEAN LOGGERHEAD SEA TURTLES	
O-24.....	37
A. Castellichio, K. Mičić, M. Mičić	
UZGOJ REŽNJAKA (SCYPHOZOA) U AQUARIUMU PULA OD POLIPA DO ODRASLE JEDINKE / BREEDING SCYPHOZOA FROM POLYP TO ADULT MEDUSAE IN AQUARIUM PULA	
O-25.....	38
H. Čižmek, M. Sutlović, B. Čolić	
IGLIČASTI JEŽINAC I RAK KUKA - GDJE SU ONI ZAPRAVO? / HATPIN URCHIN & MEDITERRANEAN SLIPPER LOBSTER – WHERE ARE THEY REALLY?	
O-26.....	40
B. Čolić, H. Čižmek	
VERTIKALNA DISTRIBUCIJA HRIDINASTOG I CRNOG JEŽINCA DUŽ ISTOČNE OBALE JADRANA / VERTICAL DISTRIBUTION OF PURPLE AND BLACK SEA URCHINS ALONG THE EASTERN ADRIATIC COAST	
O-27.....	41
Lj. Iveša, A. Bilajac, E. Gljušić	
"UTOČIŠTA" ZA VRSTE REDA FUCALES U ZONI PLIME I OSEKE DUŽ ISTARSKE OBALE (SJEVERNI JADRAN) / REFUGIA FOR FUCALEAN SPECIES IN THE INTERTIDAL ZONE ALONG THE ISTRIAN COAST (NORTHERN ADRIATIC SEA)	
O-28.....	42
P. Kružić, R. Gračan, L. Lipje, B. Mavrić, P. Ankon, A. Čačković	
KLIMATSKE PROMJENE I STANJE CRVENE GORGONIJE (<i>Paramuricea clavata</i> (Risso, 1826)) U ZAŠTIĆENIM PODRUČJIMA ISTOČNOG JADRANA / CLIMATE CHANGE AND THE STATE OF RED GORGONIAN (<i>Paramuricea clavata</i> (Risso, 1826)) IN THE PROTECTED AREAS OF THE EASTERN ADRIATIC	
O-29.....	43
P. Kružić, R. Gračan, L. Lipje, B. Mavrić, P. Ankon, A. Čačković, A. Prohaska	
UTJECAJ MARIKULTURE NA BENTOS UZ OTOK RAVA. DVADESET GODINA ISTRAŽIVANJA / THE IMPACT OF MARICULTURE ON MARINE BENTHOS ALONG RAVA ISLAND. TWENTY YEARS OF RESEARCH	
O-30.....	44
P. Kružić, K. Pikelj, D. Bezik, P. Ankon, D. Carević	
PROCJENA UTJECAJA NADOPHRANE PLAŽA NA MORSKI OKOLIŠ / ASSESSING THE MARINE ENVIRONMENTAL IMPACTS OF BEACH NOURISHMENT	
O-31.....	46
D. Lučić, I. Vioilić, N. Bojanjić, B. Pestorić, B. Gangai Zovko, I. Onofri, M. Hure	
VIŠEGODIŠNJI MONITORING KARNIVORNOG ŽELATINOG MAKROZOOPLANKTONA U OBALNOM PODRUČJU JUŽNOG JADRANA (HRVATSKA) / LONG-TERM MONITORING OF CARNIVOROUS GELATINOUS MACROZOOPLANKTON IN THE COASTAL AREA OF SOUTHERN ADRIATIC SEA (CROATIA)	
O-32.....	47
A. Matek, D. Lučić, B. Pestorić, E. P. Achterberg, R. Casotti, A. C. Trano, H. Mihanović, H. Čižmek, B. Čolić, S. Bosak, M. Mucko, D. Viličić, Z. Ljubešić	
SUKCESIJA PLANKTONSKE ZAJEDNICE (BAKTERIOPLANKTON; FITOPLANKTON; ZOOPLANKTON) U FIZIKALNO DINAMIČNOM SUSTAVU JUŽNOG JADRANA / BACTERIAL, PHYTO-, AND ZOOPLANKTON COMMUNITY SUCCESSION IN HIGHLY DYNAMIC ECOSYSTEM OF THE SOUTHERN ADRIATIC	
O-33.....	49

I. Zubak Čižmek, H. Čižmek, M. Mokos

DONJI RUB NASELJA MORSKE CVJETNICE POSIDONIJE (*Posidonia oceanica*) U HRVATSKOM DJEJU JADRANSKOG MORA PRATI GRADIENT ZEMLJOPISNE ŠIRINE / *Posidonia oceanica* LOWER DEPTH LIMITS SHOWS A LATITUDINAL GRADIENT IN THE EASTERN ADRIATIC SEA

O-34 50

A. Žuljević, I. Cvitković, Z. Mesić, B. Radun, S. Miko, S. Tkalčec, T. Klanjšček, T. Bakran-Petricoli, I. Lampek Pavčnik, B. Pribičević, N. Vrgoč

KARTIRANJE MORSKIH STANIŠTA REPUBLIKE HRVATSKE / MARINE HABITAT MAPPING IN CROATIA

Biologija kopnenih voda i kopna**Biology of freshwater and terrestrial ecosystems**

O-35 52

Uvodno predavanje / Introductory lecture

J. Bujan, C. Bertelsmeier

UTJECAJ MIKROKLIMA NA EKTOTERME MEDITERANSKIH OTOKA / UNRAVELING THE EFFECTS OF MICROCLIMATE ON ECTOTHERMS IN MEDITERRANEAN ISLANDS

O-36 53

V. Dorić, V. Baranov, I. Pozojević, Z. Mihaljević, M. Ivković

ODREĐIVANJE UTJECAJA KLIMATSKEH PROMJENA NA ZAJEDNICU TRZALACA (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) U VIŠEGODIŠnjEM ISTRAŽIVANJU SEDRENE BARIJERE KOZJAK-MILANOVAC / DETECTING CLIMATE CHANGE IMPACT ON CHIRONOMID (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) COMMUNITY IN A LONG-TERM STUDY OF TUFA BARRIER KOZJAK-MILANOVAC

O-37 54

P. Dragičević, D. Grbin, I. Maguire, S. A. Blažević, L. Abramović, A. Tarandek, S. Hudina

IMUNOSNI ODGOVOR SLATKOVODNIH DESETERONOŽNIH RAKOVA: ŠTO GA OBLIKUJE? / IMMUNE RESPONSE IN FRESHWATER CRAYFISH: WHAT SHAPES IT?

O-38 55

M. Faller, A. Đanić, M. Kresonja, M. Sabolić

PROCJENA POSTOTKA LAŽNIH NEGATIVNIH NALAZA PRI ISTRAŽIVANJU POTOČNOG RAKA VRŠAMA / ASSESSMENT OF PERCENTAGE OF THE FALSE NEGATIVE FINDINGS IN STONE CRAYFISH TRAPPING

O-39 56

S. Hudina, A. Dobrović, S. Geček, T. Klanjšček, I. Haberle, P. Dragičević, D. Pavić, A. Petelinec, Lj. L. Boštančić, L. Bonassin, K. Theissinger

NEZAUSTAVLJIV: KRONIČNA INFKECIJA MARGINALNO UTJEĆE NA PREŽIVLJAVANJE I RAST INVAZIVNE STRANE VRSTE MRAMORNOG RAKA / THE UNSTOPPABLE EMERGING INVADER: RECURRING INFECTION ONLY MARGINALLY AFFECTS SURVIVAL AND GROWTH OF MARBLED CRAYFISH

O-40 58

T. Kralj, D. Valić, A. Martinović, K. Žganec

UTJECAJ INVAZIVNOG RAKUŠCA *Dikerogammarus villosus* NA RAZGRADNJU LISTINCA U RIJECI DRAVI / THE IMPACT OF INVASIVE AMPHIPOD *Dikerogammarus villosus* ON LEAF LITTER DECOMPOSITION IN THE DRAVA RIVER

O-41 59

T. Kristić, K. Peharda, M. Gligora Udovičić, N. Bek, T. Ž. Pfeiffer, D. D. Špoljarić Maronić, M. Šušnjara, F. Stević

ISTRAŽIVANJA FITOPLANKTONA I FITOBENTOSA ŠIREG PODRUČJA KOPAČKOG RITA U SKLOPU PROJEKTA NATURAVITA / PHYTOPLANKTON AND PHYTOBENTHOS STUDY IN THE WIDER AREA OF KOPAČKI RIT WITHIN THE NATURAVITA PROJECT

O-42 60

N. Kuhamić, A. Kirin, V. Sudar, J. Bedek

EKSPEDICIJE U ISTRAŽIVANJU ŠPILSKIH ŽIVOTINJA HRVATSKE / EXPEDITIONS IN FAUNA RESEARCH OF CROATIAN CAVES

O-43	61
L. Polović, P. Pařil, M. Miliša	
OSOBINE IMUNOSTI I OTPORNOSTI ORGANIZAMA NA PRESUŠIVANJE DILJEM POVREMENIH RIJEKA I BUJIČNIH POTOKA EUROPE / DRYING RESISTANCE AND RESILIENCE TRAITS IN INTERMITTENT RIVERS AND Ephemeral STREAMS OF EUROPE	
O-44	63
I. Pozojević, V. Dorić, M. Miliša, I. Ternjej, M. Ivković	
DEFINIRANJE OBRAZACA I STOPA PRIRODNE VARIJABILNOSTI ZAJEDNICE SLATKOVODNIH KUKACA U ODNOSU NA VARIJABILNOST UZROKOVANU SUŠOM UKAZUJU NA VAŽNOST DUGOROČNIH EKOLOŠKIH ISTRAŽIVANJA / DEFINING PATTERNS AND RATES OF NATURAL VS. DROUGHT DRIVEN AQUATIC COMMUNITY VARIABILITY PROVES WE STILL NEED LONG TERM ECOLOGICAL RESEARCH	
O-45	64
F. Rebrina, V. Šegota, A. Novak-Perjanec, A. Brigić	
ZAJEDNICE RAVNOKRILACA UKAZUJU NA VISOKI STUPANJ SUKCESIJE NA CRETU TRSTENIK (GORSKI KOTAR, HRVATSKA) / ORTHOPTERAN ASSEMBLAGES INDICATE AN ADVANCED LEVEL OF SUCCESSION IN THE TRSTENIK PEAT BOG (GORSKI KOTAR, CROATIA)	
O-46	65
Z. Redžović, S. Gottstein, M. Erk	
ZNAČAJKE REAGIRANJA STIGOFILNIH RAKUŠACA NA UVJETE U HIPOREIČKOJ ZONI U ULOZI STRATEGIJE RASTA / STYGOPHILOUS AMPHIPOD TRAITS RESPOND TO HYPERHEIC CONDITIONS AS A FUNCTION OF GROWTH STRATEGY	
O-47	66
L. Ružanović, F. Rebrina, K. Medak, M. Vilenica, A. Brigić	
OBRASCI DISPERZIJE LETEĆIH BESKRALJEŽNJAKA U SUHOM RIJEČNOM KORITU / DISPERSAL PATTERNS OF FLYING INVERTEBRATES IN A DRY RIVER BED	
O-48	67
M. Vilenica, F. Rebrina, L. Ružanović, M. Rumišek, A. Brigić	
KOLIKO SU MEDITERANSKE POVREMENE TEKUĆICE POGODNE KAO STANIŠTA VODENCVJETOVA? / HOW SUITABLE ARE MEDITERRANEAN INTERMITTENT RIVERS AS MAYFLY HABITATS?	
O-49	69
N. Vučković, I. Pozojević, M. Kerovec, Z. Mihaljević	
POTENCIJAL LITORALNE ZAJEDNICE MALOČETINAŠA U PROCJENI EKOLOŠKE KAKVOĆE VODE PRIRODNIH JEZERA / THE POTENTIAL OF THE LITTORAL OLIGOCHAETE COMMUNITY IN ASSESSING THE ECOLOGICAL QUALITY OF NATURAL LAKES	
Toksikologija i ekotoksikologija	
Toxicology and ecotoxicology	
O-50	71
Uvodno predavanje / Introductory lecture	
D. Pavičić-Hamer	
NUKLEARNE ELEKTRANE U RATNIM ZONAMA: PRIJETI LI NAM JOŠ JEDNA ČERNOBILSKA NESREĆA? / NUCLEAR POWER PLANTS IN WAR ZONES: ARE WE IN DANGER OF ANOTHER CHERNOBYL?	
O-51	72
O. Jovanović Glavaš, B. Bekić, B. Hackenberger Kutuzović	
UTJECAJ NANO I IONSKOG CINKA NA RAZVOJ SMEĐE KRASTAČE / EFFECTS OF NANO AND BULK ZINK ON COMMON TOAD DEVELOPMENT	
O-52	73
P. Korac, V. Begić , M. Sertić Perić, S. Hančić, I. Marchiotti, T. Gabud, I. Šestak Panižić, I. Radanović, S. Gašparov	
U POTRAZI ZA FORMALINSKOM ZAMJENOM / IN SEARCH FOR FORMALIN SUCCESSOR	

Konzervacijska biologija, zaštita prirode i okoliša Conservational biology, nature and environment protection

O-53.....	75
A. Bel Dajković, M. Mičić, J. Rafael Garcia-March	
DOPRINOS AQUARIUMA PULA U SPAŠAVANJU PLEMENITE PERISKE (<i>Pinna nobilis</i>) / CONTRIBUTION OF AQUARIUM PULA IN NOBLE PEN SHELL (<i>Pinna nobilis</i>) RESCUE	
O-54.....	76
I. Budinski, T. Sotinac	
VRTNA STRNADICA NA DINARI; STANIŠNI SPECIJALIST KOJI SE SUOČAVA SA PROMJENOM KLIME I KORIŠTENJA PROSTORA / ORTOLAN BUNTING ON DINARA MT; HABITAT SPECIALIST FACING CHANGES IN CLIMATE AND HABITAT USE	
O-55.....	77
M. Đuras, T. Gomerčić, K. Korpes, M. Kolenc, A. Galov	
RETROSPективНО ISTRAŽIVANJE INTERAKCIЈA KITOVA I LJUDI OD 1990. DO 2022. U HRVATSKOM DIJELU JADRANSKOGA MORA / A RETROSPECTIVE STUDY OF CETACEAN-HUMAN INTERACTIONS FROM 1990 TO 2022 IN THE CROATIAN PART OF THE ADRIATIC SEA	
O-56.....	78
M. Faller	
YouTube kao metoda uključivanja javnosti u zaštitu prirode i okoliša / YouTube as a method of public engagement in the protection of nature and the environment	
O-57.....	79
K. Gobić, S. Matas, M. Mičić	
20 GODINA OPORAVKA GLAVATIH ŽELVI (<i>Caretta caretta</i>) U AQUARIUMU PULA / 20 YEARS OF LOGGERHEAD TURTLES (<i>Caretta caretta</i>) IN AQUARIUM PULA	
O-58.....	80
T. Gomerčić, I. Topličanec, S. Blašković, V. Slijepčević, J. Tomaić, M. Sindičić	
KRETANJE DOMICILNIH I NASELJENIH RISOVA NA PODRUČJU VELEBITA / MOVEMENT OF RESIDENT AND TRANSLOCATED LYNX ON MOUNTAIN VELEBIT	
O-59.....	81
J. Jackson, I. Kovačić, K. Perković, B. Horvatić, M. Maslač Mikulec, E. Patčev	
WHAT MAKES FISHPONDS IMPORTANT SITES FOR BIRDS? COMPARING THREE FISHPONDS IN POKUPSKI BAZEN	
O-60.....	82
N. Jantol, M. Rubinić, T. Nikolić, A. Đanić, L. Perković, E. Bajramspahić, J. Mlinarec Novosel, Z. Mesić	
RAZVOJ METODOLOGIЈA ISTRAŽIVANJA STRUKTURE I FUNKCIЈA ODABRANIH NATURA 2000 STANIŠTA / DEVELOPMENT OF METHODOLOGIES FOR STRUCTURE AND FUNCTIONS RESEARCH OF SELECTED NATURA 2000 HABITATS	
O-61.....	83
A. Ješovnik, J. Bujan	
DRVEĆE U GRADSKIM PARKOVIMA POVEĆAVA BROJ VRSTA MRAVA / WOODED AREAS PROMOTE ANT SPECIES RICHNESS IN URBAN PARKS	
O-62.....	84
A. Ješovnik, I. Boršić	
DIVLJI OPRAŠIVAČI HRVATSKE / WILD POLLINATORS OF CROATIA	
O-63.....	85
S. Kapelj, A. Engelen, B. Jećmenica	
UTVRDIVANJE BROJA I VELIČINE KOLONIJA CJEVONOSNICA NA LASTOVSKOM OTOČJU / ASSESSING THE SIZE OF SHEARWATER COLONIES IN THE LASTOVO	

O-64	86
D. Kiš-Novak	
INTERKALIBRACIJSKI POSTUPAK I USPOREDIVOST REZULTATA OCJENE EKOLOŠKOGA STANJA ZA BIOLOŠKI ELEMENT MAKROZOOBENTOS NA AKUMULACIJAMA HE ČAKOVEC I HE DUBRAVA NA RIJECI DRAVI KORIŠTENJEM PODATAKA IZ GODINE 1999. I 2003. / INTERCALIBRATION PROCEDURE AND COMPARABILITY OF ECOLOGICAL STATUS ASSESSMENT RESULTS FOR THE BIOLOGICAL ELEMENT BENTHIC MACROINVERTEBRATES IN STORAGE LAKES ČAKOVEC AND DUBRAVA DURING THE REFERENCE YEARS 1999 AND 2003	
O-65	87
L. Lovrenčić, M. Temunović, M. Podnar, Lj. L. Boštjančić, L. Bonassini, I. Maguire	
INTEGRATIVNI PRISTUP U KONZERVACIJI POTOČNOG RAKA / INTEGRATIVE APPROACH TO CONSERVATION OF THE STONE CRAYFISH	
O-66	89
E. Lugić, M. Boljfećić, D. Čuljak, T. Huten, M. Kresonja, M. Mrakovčić, D. Lisičić, L. Bjedov, M. Kovačević, B. Kryštofek, A. Radović	
ANALIZA POPULACIJA STROGO ZAŠTIĆENIH VRSTA MALIH SISAVACA (RODENTIA: CRICETIDAE, GLIRIDAE) U REPUBLICI HRVATSKOJ – PRELIMINARNO IZVJEŠĆE / POPULATION ANALYSIS OF STRICTLY PROTECTED SPECIES OF SMALL MAMMALS (RODENTIA: CRICETIDAE, GLIRIDAE) IN CROATIA – PRELIMINARY REPORT	
O-67	90
I. Maguire, L. Lovrenčić, M. Temunović	
KOLIKO DOBRO ZAŠTIĆENA PODRUČJA ŠTITE UGROŽENE VRSTE SLATKOVODNIH RAKOVA PORODICE ASTACIDAE U HRVATSKOJ? / HOW WELL PROTECTED AREAS SAFEGUARD THREATENED FRESHWATER CRAYFISH IN CROATIA?	
O-68	91
M. Maslać Mikulec, E. Patčev	
ORNITOLOŠKA ISTRAŽIVANJA ZA ENERGETSKE PROJEKTE U HRVATSKOJ KAO RZNICE PODATAKA: PRIMJER SUROG ORLA / ORNITHOLOGICAL RESEARCH OF ENERGY PROJECTS IN CROATIA AS A TREASURE TROVE OF DATA: THE EXAMPLE OF THE GOLDEN EAGLE	
O-69	92
Z. Mesić, N. Jantol, M. Augustinović, B. Radun, S. Dujmović, V. Kušan	
UPOTREBA BESPILOTNIH LETJELICA U BIOLOŠKIM ISTRAŽIVANJIMA VRSTA I STANIŠTA / USE OF UNMANNED AERIAL VEHICLE IN BIOLOGICAL REASEARCH OF SPECIES AND HABITATS	
O-70	94
K. Miculinčić, S. Žalac, I. Špoljarić, A. Brozinčević	
KOMPLEKSNI PRISTUP RESTAURACIJI PRIRODNOG ICHTHYOLOŠKOG STANJA U NACIONALNOM PARKU PLITVIČKA JEZERA / A COMPLEX APPROACH TO THE RESTORATION OF THE NATURAL ICHTHYOLOGICAL CONDITION IN THE PLITVICE LAKES NATIONAL PARK	
O-71	95
T. Radočaj, O. Barić, R. Sarman, N. Ivesa, J. Jug-Dujaković, A. Gavrilović	
INFESTACIJA EUROPJSKE JEGULJE (<i>Anguilla anguilla</i>) NEMATODOM <i>Anguillicoloides crassus</i> U DELTI NERETVE / INFESTATION OF EUROPEAN EEL (<i>Anguilla anguilla</i>) WITH NEMATODE <i>Anguillicoloides crassus</i> IN THE NERETVA DELTA	
O-72	96
B. Schmidt, D. Kranželić, M. Jelić	
PROŠIRENJE POZNATOG AREALA VELIKIH VODENJAKA <i>Triturus</i> sp. U HRVATSKOJ / Expansion of the known range of crested newts <i>Triturus</i> sp. in Croatia	
O-73	97
M. Sindičić, T. Gomerčić, T. Skrbinšek, M. Krofel, I. Topličanec, U. Fležar, V. Slijepčević, S. Blasković, T. Sin, J. Kubala, R. Černe	
JESMO LI SPASILI DINARSku POPULACIJU RISA OD IZUMIRANJA? / HAVE WE SAVED THE DINARIC LYNX POPULATION FROM EXTINCTION?	
O-74	98

S. Srša, M. Mesarić, I. Rojko, V. Bašek

UPRAVLJAČKE AKTIVNOSTI ZA ZAŠTITU PTICA U MEDIMURSKOJ ŽUPANIJI / MANAGEMENT ACTIVITIES FOR BIRDS PROTECTION IN MEĐIMURJE COUNTY

O-75..... 100

M. Stankić, I. Sudulić

20 GODINA EKSPERIMENTALNOG EX SITU UZGOJA ORGANIZAMA U AQUARIUMU PULA / 20 YEARS OF EXPERIMENTAL EX SITU BREEDING IN AQUARIUM PULA

O-76..... 101

L. Škunca, T. Hudina

UTVRĐIVANJE TRENUTNOG STUPNJA OČUVANJA CILJNIH STANIŠTA SUHIH TRAVNJAKA DINARE / CURRENT CONSERVATION STATUS ASSESSMENT FOR TARGET DRY GRASSLAND HABITATS ON DINARA

O-77..... 102

M. Veljković

PRILOG POZNAVANJU FAUNE DANJIH I NOĆNIH LEPTIRA TE VRETE NACA BJELOVARSKO-BILOGORSKOG PODRUČJA TEMELJEN NA FOTOGRAFSKOM ISTRAŽIVANJU / CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF BUTTERFLY, MOTH AND DRAGONFLY FAUNA OF THE BJELOVAR-BILOGOR AREA BASED ON PHOTOGRAPHIC STUDY

O-78..... 103

M. Vucić, N. Bogutskaya, G. Klobučar, F. Lematt Ghrib, B. Andelić Dmitrović, D. Jelić

GENETIČKA I MORFOLOŠKA RAZNOLIKOST MASNICE, *Leucos aula* (BONAPARTE, 1841) / INSIGHT INTO THE GENETIC AND MORPHOLOGICAL DIVERSITY OF *Leucos aula* (BONAPARTE, 1841)

Komparativna fiziologija, imunobiologija i biologija čovjeka

Comparative physiology, immunobiology and human biology

O-79..... 105

D. Šikić, T. Gojak, M. Glogoški, S. A. Blažević, D. Lisičić

INTO THE WILD: ZNANSTVENA POZADINA LABORATORIJSKOG ISTRAŽIVANJA NA ŽIVOTINJAMA IZ DIVLJINE / THE SCIENCE BEHIND THE LABORATORY RESEARCH WITH WILD ANIMALS

O-80..... 106

T. Gojak, M. Glogoški, D. Lisičić, D. Šikić, S. A. Blažević

INTERAKCIJE SIMPATRIČKIH VRSTA GUŠTERICA *Podarcis siculus* I *Podarcis melsellensis* TIJEKOM INSCENIRANIH BORBI / INTERACTION OF SYMPATRIC LIZARD SPECIES *Podarcis siculus* AND *Podarcis melsellensis* IN STAGED ENCOUNTERS

Biomedicina

Biomedicine

O-81..... 108

Uvodno predavanje / Introductory lecture

P. Korać, I. Urlić

OD ISTRAŽIVANJA DO DIAGNOSTIKE – ISKUSTVO S PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKOG FAKULTETA / FROM ACADEMY TO DIAGNOSTICS – FACULTY OF SCIENCE'S EXPERIENCE

O-82..... 109

Uvodno predavanje / Introductory lecture

I. Urlić

IZVORI STANICA ZA REGENERACIJU HRSKAVICE – POTRAGA ZA NAJBOLJIM / CELL SOURCES FOR CARTILAGE REGENERATION – THE QUEST FOR THE BEST

O-83..... 110

V. Begić, P. Šimičić, M. Rozman, S. Gašparov, S. Hančić, S. Židovec Lepej, P. Korać

MOLEKULARNA KARAKTERIZACIJA VIRUSA EPSTEIN-BARR U HODGKINOVOM LIMFOMU I KARCINOMU NAZOFARINKSA / MOLECULAR CHARACTERIZATION OF EPSTEIN-BARR VIRUS IN HODGKIN'S LYMPHOMA AND NASOPHARINGEAL CARCINOMA

O-84 111

M. Burek Kamenarić, Z. Grubić, K. Štingl Janković, M. Maskalan, H. Vrčić, R. Žunec

TIPIZACIJA GENA KIR I HLA-C KAO DIJAGNOSTIČKA PRETRAGA U REPRODUKTIVNOJ IMUNOLOGIJI / THE KIR AND HLA-C TYPING AS DIAGNOSTIC TOOL IN REPRODUCTIVE IMMUNOLOGY

O-85 112

K. Ester, P. Spurny, T. Šumanovac, L. Uzelac, K. Majerski, J. Ludwig, M. Kralj

NARUŠAVANJA INTEGRITETA PLAZMATSKE MEMBRANE U STANICAMA RAKA DOJKE I STANIČNOM MODELU EPITELNO-MEZENHIMSKE TRANZICIJE POSREDSTVOM ADAMANTANSKOG KRUNASTOG ETERA / DISTURBANCE OF PLASMA MEMBRANE INTEGRITY IN BREAST CANCER CELLS AND BREAST EPITHELIAL TO MESENCHYMAL TRANSITION-MODEL CELLS BY ADAMANTYL CROWN ETHER COMPOUND

O-86 113

L. Jukić, M. Burek Kamenarić, R. Žunec

DONOR-SPECIFIČNA ANTITIJELA SUSTAVA HLA U TRANSPLANTACIJI BUBREGA / HLA DONOR SPECIFIC ANTIBODIES IN KIDNEY TRANSPLANTATION

O-87 114

M. Ledinski, K. Caput Mihalić, I. Marić, P. Peharec Štefanić, I. Ladan, M. Gotić, I. Urlić

UTJECAJ VITAMINA C NA TUMORSKE MATIČNE STANICE / TARGETING OF TUMOR STEM CELLS WITH VITAMIN C DERIVATIVES

O-88 116

N. Martinez, M. Batarelo, M. Burek Kamenarić, R. Žunec

IMUNIZACIJA HLA U TRANSPLANTACIJI BUBREGA – USPOREDBA REZULTATA DVJE METODE / HLA IMMUNIZATION IN KIDNEY TRANSPLANTATION – COMPARISON OF RESULTS OBTAINED BY TWO METHODS

O-89 117

M. Maskalan, Z. Grubić, K. Štingl Janković, M. Burek Kamenarić, R. Žunec

RAZNOLIKOST ALELA I HAPLOTOPOVA HLA U HRVATSKOJ / HLA ALLELE AND HAPLTYPE DIVERSITY IN CROATIA

O-90 118

K. Ostojić, I. Urlić, S. Kraljević-Pavelić

UTJECAJ LUTEOLINA I KRIZINA NA PROLIFERACIJU I OKSIDATIVNI STRES STANICA OSTEOSARKOMA, GLIOBLASTOMA I HUMANIH EMBRIONALNIH STANICA BUBREGA / LUTEOLIN AND CHRISIN EFFECT ON VIABILITY AND OXIDATIVE STRESS ON OSTESARCOMA, GLIOBLASTOMA AND HUMAN EMBRYONIC KIDNEY CELLS

O-91 119

M. Rozman, K. Bodulić, S. Židovec Lepej

RAZNOLIKOST GENA LMP-1 VIRUSA EPSTEIN-BARR / DIVERSITY OF LMP1 GENE IN EPSTEIN-BARR VIRUS

O-92 120

K. Štingl Janković, M. Maskalan, M. Burek Kamenarić, R. Serventi-Seiwerth, N. Duraković, R. Vrhovac, R. Žunec, Z. Grubić

ODREĐIVANJE STATUSA KIMERIZMA KOD BOLESNIKA S DVOSTRUKOM TRANSPLANTACIJOM KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA / SECOND HEMATOPIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION WITH A DIFFERENT DONOR: IMPLICATIONS FOR CHIMERISM ANALYSIS

4. SIMPOZIJ EDUKACIJE BIOLOGIJE

4th BIOLOGY EDUCATION SYMPOSIUM

O-93 123

V. Ančić, B. Davda Sirovina, M. Jarnević, Z. Ponigrac Štimac

BUBO MATERIJALI U POUČAVANJU UČENIKA 4. RAZREDA GIMNAZIJE / BUBO MATERIALS IN TEACHING 12th GRADE HIGH SCHOOL STUDENTS

O-94.....	124
F. Babić, K. Brčić Đapić, R. Halapir Franković	
PRIMJERI POUČAVANJA ODABRANIH KONCEPATA IZ EKOLOGIJE / EXAMPLES OF TEACHING SELECTED CONCEPTS FROM ECOLOGY	
O-95.....	125
V. Begić, P. Korać	
RADNA BILJEŽNICA KAO PODRŠKA OSTVARIVANJU ODOGOJNO-OBRAZOVNIH ISHODA / WORKBOOK AS A SUPPORT FOR ACHIEVING LEARNING OUTCOMES	
O-96.....	126
V. Bilogrević Gatolin, T. Pleić	
INTERDISCIPLINARNI PRISTUP OSVJEŠTAVANJU PREHRAMBENIH NAVIKA UČENIKA / INTERDISCIPLINARY APPROACH TO AWARENESS OF STUDENTS' EATING	
O-97.....	127
S. Cvitičanin	
MALA BIOLOŠKA KONFERENCIJA-PROJEKT ZA MALE I VELIKE BIOLOGE / MINI BIOLOGICAL CONFERENCE-PROJECT FOR JUNIOR AND SENIOR BIOLOGISTS	
O-98.....	128
A. Čaleta, M. Šundov, I. Porobija, I. Dominović, M. Bulić, I. Radanović	
UČENJE OTKRIVANJEM U NASTAVI PRIRODE I DRUŠTVA / DISCOVERY LEARNING IN CLASSES OF NATURE AND SOCIAL SCIENCES	
O-99.....	130
G. Kralj, M. Bulić, I. Radanović	
PRILAGODBA NASTAVNIH MATERIJALA I METODA DJECI S TEŠKOĆAMA / ADAPTING TEACHING MATERIALS AND METHODS TO CHILDREN WITH DISABILITIES	
O-100.....	131
I. Labak, O. Meštrović, J. Meštrović	
ANALIZA VIDEO ZAPISA NASTAVNIH SATI KAO NAČIN ZA UNAPRIJEĐENJE POUČAVANJA / ANALYSIS OF VIDEOS OF BIOLOGY CLASSES AS A WAY TO DETERMINE ASPECTS TO IMPROVE TEACHING	
O-101.....	132
M. Marceljak Ilić, D. Horvat, K. Trstenjak Šifković	
RAZVOJ PROCEDURALNOG I METAKOGNITIVNOG ZNANJA UČENIKA U VIRTUALNOM OKRUŽENJU / DEVELOPMENT OF PROCEDURAL AND METACOGNITIVE KNOWLEDGE IN VIRTUAL CLASSROOM	
O-102.....	133
M. Mesarić, M. Cindrić, I. Rojko	
ULOGA JAVNIH USTANOVА ZA UPRAVLJANJE ZAŠTIĆENIM DIJELOVIMA PRIRODE I EKOLOŠKOM MREŽOM U EDUKACIJI UČENIKA / THE ROLE OF PUBLIC INSTITUTIONS FOR THE MANAGEMENT OF PROTECTED AREAS OF NATURE AND THE NETWORK OF PROTECTED AREAS IN THE EDUCATION OF STUDENTS	
O-103.....	134
O. Meštrović, J. Meštrović	
UPORABA ISTRAŽIVAČKOG UČENJA TIJEKOM POUČAVANJA BIOLOGIJE U ONLINE OKRUŽENJU / USING INQUIRY-BASED LEARNING FOR ONLINE BIOLOGY TEACHING	
O-104.....	135
Ž. Moslavac, T. Sović, M. Mičić	
22 GODINE RAZVOJA EDUKACIJE U AQUARIUMU PULA (2000.–2022.) / 22 YEARS OF EDUCATION DEVELOPMENT IN AQUARIUM PULA (2000. - 2022.)	
O-105.....	136
V. Kuhar, S. Remenar	

RAZUMIJEVANJE KONCEPATA VEZANIH UZ USLOŽNJAVANJE PROBAVNOG SUSTAVA I ENERGETSKU UČINKOVITOST
U 2. RAZREDU GIMNAZIJE / UNDERSTANDING CONCEPTS RELATED TO THE INCREASING COMPLEXITIES OF THE
DIGESTIVE SYSTEM AND ENERGY EFFICIENCY IN THE 2ND GRADE OF GRAMMAR SCHOOL

O-106.....	138
M. Ruščić, B. Čorić, M. Katavić, A. Špernjak	
ISTRAŽIVANJE O PROVEDBI NASTAVE BIOLOGIJE NEKIH OSNOVNIH ŠKOLA U EPIDEMIOLOŠKIM UVJETIMA / RESEARCH ON THE TEACHING OF BIOLOGY IN SOME PRIMARY SCHOOLS IN EPIDEMIOLOGICAL CONDITIONS	
O-107.....	139
A. Skuhala	
KORIŠTENJE KARTICA ZA UČENJE PRIRODE U 5. RAZREDU OSNOVNE ŠKOLE / THE USE OF FLASHCARDS ELEVEN-YEAR-OLDS IN STUDYING NATURE	
O-108.....	140
M. Slatki, M. Vidović, M. Šafran	
BIOAKUSTIKA - RADIONICA ZA MOTIVIRANE UČENIKE CENTRA IZVRSNOSTI ZA BIOLOGIJU / BIOACOUSTICS - WORKSHOP FOR MOTIVATED STUDENTS OF THE CENTER OF EXCELLENCE FOR BIOLOGY	
O-109.....	141
M. Štargl, M. Švelec	
UČENJE O ENERGETSKIM UČINCIMA PREHRANE ŽIVIH BIĆA KROZ IG鲁 / LEARNING ABOUT THE ENERGY EFFECTS OF NUTRITION OF LIVING BEINGS THROUGH GAME	
O-110.....	142
M. Švelec, O. Meštrović, I. Radanović	
PRIJENOS TVARI PRILAGOĐEN UČENICIMA RAZLIČITOG INTERESA / SUBSTANCE TRANSFER LEARNING ADAPTED TO STUDENTS OF DIFFERENT INTERESTS	
O-111.....	144
K. Trstenjak Šifković, D. Horvat, M. Marceljak Ilić	
BUBO VIRTUALNA UČIONICA ZA 3. RAZRED GIMNAZIJE KAO PODRŠKA ZA RAZVOJ METAKOGNITIVNIH ZNANJA I VJEŠTINA / BUBO, A VIRTUAL CLASSROOM FOR 11TH GRAMMAR SCHOOL STUDENTS AS A SUPPORT IN THE DEVELOPMENT OF METACOGNITIVE KNOWLEDGE AND SKILLS	
O-112.....	145
H. Valečić, M. Bastić	
KAKO POUČAVATI O ZAŠTITI PRIRODE U KONTEKSTU GLOBALNIH KLIMATSKIH PROMJENA? / TEACHING ABOUT NATURE PROTECTION IN THE CONTEXT OF GLOBAL CLIMATE CHANGE	
O-113.....	146
D. Vrbanović Lisac, I. Radanović	
USPJEŠNOST ASIO MODELA UČENJA DAROVITIH UČENIKA NA NASTAVI PRIRODE U 6. RAZREDU / SUCCESS OF ASIO'S LEARNING MODEL FOR GIFTED TWELVE-YEAR OLD BIOLOGY STUDENTS	
O-114.....	147
D. Vrbanović-Lisac	
UČENJE BIOLOGIJE HIBRIDNIM MODEЛОM KOJI UVAŽAVA RAZLIČITE PROFILE UČENJA: DAROVITI UČENICI I DOMINANTNI TIP OSOBNOSTI UČENIKA / EARNING BIOLOGY BY A HYBRID MODEL THAT RESPECTS DIFFERENT LEARNING PROFILES: GIFTED STUDENTS AND THE DOMINANT PERSONALITY TYPE OF STUDENTS	

8. SIMPOZIJ HRVATSKOG DRUŠTVA ZA BILJNU BIOLOGIJU
8th SYMPOSIUM OF THE CROATIAN SOCIETY OF PLANT BIOLOGISTS

O-115.....	149
J. Godrijan, D. T. Drapeau, W. M. Balch	
OSMOTROFIJA KOKOLITOFORIDA I CIKLUS UGLJIKA U MORU / COCCOLITHOPHORE OSMOTROPHY AND THE OCEAN CARBON CYCLE	

SIMPOZIJ „OKOLIŠNA DNA“ SYMPOSIUM „ENVIRONMENTAL DNA“

O-116.....	151
Uvodno predavanje / Introductory lecture	
A. Bubić, T. Pokorn, S. Vrečko, I. Sabolić, L. Markulin, M. Dananić, T. P. Muha	
PROCJENA KAKVOĆE VODA DETEKCIJOM OKOLIŠNE DNA / WATER QUALITY ASSESSMENT UTILISING ENVIRONMENTAL DNA DETECTION TECHNIQUE	
O-117.....	152
A. Čačković, P. Ankon, P. Kružić, S. Orlić	
STATUS VEZE: KOMPLIKIRANO JE - LJUBAVNA PRIČA KORALJA I MIKROBA / RELATIONSHIP STATUS: IT'S COMPLICATED - THE LOVE STORY OF CORALS AND MICROBES	
O-118.....	153
A. Kulaš, P. Žutinić, V. Gulin, R. Matoničkin Kepčija, M. Sertić Perić, S. Orlić, I. Sviličić Petrić, T. Marković, M. Šušnjara, M. Gligora Udovič	
RAZNOLIKOST PROTISTA U PERIFITONU SEDRENIH BARIJERA / PROTIST DIVERSITY IN PERIPHYTON OF TUFA-DEPOSITING SYSTEM	
O-119.....	154
L. Selak, T. Marković, P. Pjevac, A. Čačković, M. Mitrović, K. Kajan, S. Orlić	
PRAĆENJE PROMJENA MIKROBNIH ZAJEDNICA TIJEKOM SALINIZACIJE KORIŠTENJEM E-DNA METABARKODIRANJA / TRACKING MICROBIAL RESPONSE TO SALINIZATION USING E-DNA METABARCODING	
O-120.....	155
L. Šerić Jelaska, B. Andelić Dmitrović, D. Gajski	
TROFIČKE INTERAKCIJE ČLANKONOŽACA U MEDITERANSKOJ POLJOPRIVREDI UTVRĐENE METODOM DNA METABARKODIRANJA / TROPHIC INTERACTIONS OF PREDATORY ARTHROPODS IN MEDITERRANEAN AGRICULTURE VIA DNA METABARCODING DIET ANALYSES	
O-121.....	157
M. Vucić, A. Galov, G. Klobočar, F. L. Ghrib, M. Jarak, Ž. Pavlinec, D. Jelić	
UPOTREBA OKOLIŠNE DNA ZA DETEKCIJU EUROPSKE JEGULJE (<i>Anguilla anguilla</i> , (LINNAEUS, 1758)) I NJENIH PRIKLADNIH STANIŠTA / USING ENVIRONMENTAL DNA FOR THE DETECTION OF EUROPEAN EEL (<i>Anguilla Anguilla</i> , (LINNAEUS, 1758)) AND SUITABLE HABITATS	

POSTERSKA PRIOPĆENJA / POSTER PRESENTATIONS

Genetika, stanična i molekularna biologija Genetics, cell and molecular biology

P-1.....	160
V. Beneš I. Lešić, B. Jarić, D. Bjedov, A. Mikuška, T. Mikuška, L. Begović	
METILIRANOST GENA ZA METALOTHIONEIN POKAZUJE PROSTORNU VARIJACIJU U KRVI PTIĆA BIJELE RODE (<i>Ciconia ciconia</i> L.) / METHYLATION OF METALLOTHIONEIN GENE SHOWS SPATIAL VARIATION IN THE BLOOD OF WHITE STORK NESTLINGS (<i>Ciconia ciconia</i> L.)	
P-2.....	161
N. Malenica, A. Jurković, J. Mlinarec, V. Besendorfer	
KROMOSOMSKO SPARIVANJE U MEJOZI, EKSPRESIJA MEJOTSKIH GENA I METILACIJA RIBOSOMSKIH GENA U TRIPLOIDNOM I TETRAPLOIDNOM DALMATINSKOM BUHAČU (<i>Tanacetum cinerariifolium</i> (Trevir.) Sch. Bip.) / MEIOTIC CHROMOSOME PAIRING, EXPRESSION OF MEIOTIC GENES AND METHYLATION PATTERN OF RIBOSOMAL GENES IN TRIPLOID AND TETRAPLOID DALMATIAN PYRETHRUM (<i>Tanacetum cinerariifolium</i> (Trevir.) Sch. Bip.)	
P-3.....	162
J. Mlinarec Novosel, Lj. L. Boštjančić, N. Malenica, A. Jurković, V. Besendorfer	

STRUKTURA I METILACIJA 35S RDNA U ALOPOLIPLOIDIMA *Anemone multifida* (2N=4X=32, BBDD) I *A. baldensis* (2N=6X=48, AABBDD) I NJIHOVIM RODITELJSKIM VRSTAMA OTKRIVAJU NUKLEOLARNU DOMINACIJU /
STRUCTURE AND METHYLATION OF 35S RDNA IN ALLOPOLYPLOIDS *Anemone multifida* (2N=4X=32, BBDD) AND
A. baldensis (2N=6X=48, AABBDD) AND THEIR PARENTAL SPECIES SHOW EVIDENCE OF NUCLEOLAR DOMINANCE

P-4 163

L. Morožin Pohovski, A.-M. Meašić, A. Bobinec, I. Sansović, K. Vulin, Lj. Odak

EVALUACIJA REKURRENTNIH CNV-a U 15q11.2 REGIJI U TOČKAMA LOMA 1-2 (BP1-BP2) / EVALUATION OF RECURRENT 15q11.2 CNVs OF THE REGION OF BREAKPOINTS 1-2 (BP1-BP2)

P-5 165

I. Pokrovac, Ž. Pezer Sakač

VARIJACIJE U BROJU KOPIJA GENA I NJIHOV DOPRINOS PRILAGODBI NA OKOLIŠ / GENE COPY NUMBER VARIATION CONTRIBUTES TO ENVIRONMENTAL ADAPTATION

P-6 166

N. Starčević Čizmarević, J. Vraneković, G. Kendel Jovanović, S. Pavičić Žeželj, S. Ristić

POLIMORFIZMI LCT-13910C>T I LCT-22018G>A POVEZANI S ADULTNIM TIPOM INTOLERANCIJE NA LAKTOZU U HRVATSKOJ POPULACIJI / LCT-13910C>T AND LCT-22018G>A POLYMORPHISMS ASSOCIATED WITH ADULT-TYPE LACTOSE INTOLERANCE IN CROATIAN POPULATION

P-7 167

I. Šamanić, T. Budimir, Ž. Fredotović, H. Kalinić, V. Besendorfer, J. Puizina

ANALIZA GENOMSKIH SPECIFIČNOSTI TRIJU SUBGENOMA U ALOTRIPOLOIDI *Allium x cornutum* MAPIRANjem MINISATELITA / ELUCIDATION OF THE GENOMIC SPECIFICITY OF THE THREE SUBGENOMES IN THE ALLOTRIPOLOID *Allium x cornutum* USING MINISATELLITES

P-8 168

S. Vitko, M. Tkalec, T. Vuk, N. Bauer, D. Leljak Levanić, Ž. Vidaković Cifrek

ODGOVOR NA TOPLINSKI STRES U UROČNJAKA S PROMIJENJENOM RAZINOM FUNKCIONALNOG PROTEINA DMS3 / HEAT STRESS RESPONSE IN *Arabidopsis* WITH MODIFIED DMS3 EXPRESSION

P-9 169

T. Vuk, L. Markulin, A. Škiljaica, M. Jagić, N. Bauer, D. Leljak-Levanić

ULOГA PROTEINA BPM1 U KONTROLI METILACIJSKIH OBРАЗАЦА GENA KONTROLIRANIH MEХANIZMOM RDDM U VRSTE *Arabidopsis thaliana* L. / ROLE OF BPM1 PROTEIN IN THE CONTROL OF METHYLATION PATTERNS OF RDDM TARGETED GENES IN *Arabidopsis thaliana* L.

Evolucija, sistematika, filogenija i biogeografija

Evolution, systematics, phylogeny and biogeography

P-10 171

B. Apostolska, M. Petrić, Ž. Trumbić, A. Paladin, T. Rađa, M. Šantić

FILOGENETSKI ODНОС IZMEĐU VRSTA *Troglaeopis mosorensis* (RIEDEL&RAĐA, 1983) i *Aegopis verticillus* LAMARCK, 1822 (GASTROPODA, ZONITIDAE) / PHYLOGENETIC RELATIONSHIP BETWEEN *Troglaeopis mosorensis* (RIEDEL & RAĐA, 1983) AND *Aegopis verticillus* LAMARCK, 1822 (GASTROPODA, ZONITIDAE) INFERRRED FORM MITOCHONDRIAL DNA

P-11 172

E. Bužan, F. Urzi, B. Pokorný, L. Duniš, A. Bončina, L. Iacolina, N. Šprem, S. Stipoljev, P. Mereu, G. Leoni, M. Pirastru, T. Safner

GENETIC CHARACTERISTICS OF INTRODUCED MOUFLONS IN CROATIA AND SLOVENIA

P-12 172

B. Ilić, M. Labudović Borović, B. Dudić, J. Milovanović, I. Novaković, L. Lučić, S. Makarov

INTEGUMENT IN *Apfelbeckia insculpta* (L. Koch, 1867) (DIPLOPODA, CALLIPODIDA) – MORPHOANATOMICAL AND ULTRASTRUCTURAL STUDY

P-13 173

B. Ilić, V. Vujić, J. Milovanović, Z. Jovanović, D. Stojanović, V. Tomić, S. Makarov	
MICROSTRUCTURAL ORGANIZATION OF ADHESIVE PADS IN <i>Apfelbeckia insculpta</i> (L. Koch, 1867) (DIPLOPODA, CALLIPODIDA)	
P-14	174
I. Kurtek, N. Turić, H. Bekina, M. Sikora, I. Vukušić	
MONITORING INVAZIVNE VRSTE <i>Aedes japonicus</i> (THEOBALD, 1901) NA PODRUČJU OSJEČKO- BARANSKE ŽUPANIJE OD 2016. DO 2021. GODINE / MONITORING OF THE INVASIVE SPECIES <i>Aedes japonicus</i> (THEOBALD, 1901) IN OSIEK-BARANYA COUNTY BETWEEN 2016 AND 2021	
P-15	175
M. Machata, M. Đulabić Chalfe, I. Maguire, Z. Pongrac Štimac	
IZRADA DIHOTOMSKOG KLJUČA ZA ODREĐIVANJE VRSTA DESETERONOŽNIH SLATKOVODNIH RAKOVA NA PODRUČJU REPUBLIKE HRVATSKE / KEY FOR DETERMINATION OF FRESHWATER CRAYFISH ON THE TERRITORY OF CROATIA	
P-16	176
T. Milat, N. Ževrnja	
PRVI IZVJEŠTAJ O JEDINSTVENOM NALAZU FOSILIZIRANIH ZVJEZDAČA Asteroidea DE BLAINVILLE, 1830 IZ ZASEOKA ČIĆIĆI U GORNJEM MUĆU / FIRST REPORT ON THE UNIQUE FINDINGS OF FOSSILIZED STARFISH Asteroidea DE BLAINVILLE, 1830 FROM THE HAMLET OF ČIĆIĆI IN GORNJI MUĆ	
P-17	177
J. Milovanović, V. Vujić, B. Dudić, V. Tomić, Z. Jovanović, S. Makarov, B. Ilić	
POSTEMBRYONIC DEVELOPMENT IN <i>Megaphyllum bosniense</i> (Verhoeff, 1897) (DIPLOPODA, JULIDA)	
P-18	177
D. Mirčić, B. Stojković, L. Ilijin, M. Mrdaković, M. Vlahović, D. Todorović, V. Perić Mataruga, J. Lazarević	
EFFECTS OF CADMIUM ON NATURAL SELECTION IN GYPSY MOTH (<i>Lymantria dispar</i> L.)	
P-19	178
M. Ruščić, B. Čorić, N. Marinović	
FLORA OTOČIĆA MAJSAN, MAJSANIĆ I GOJAK U KORČULANSKOM ARHIPELAGU (JUŽNA HRVATSKA) / THE FLORA OF THE ISLETS MAJSAN, MAJSANIĆ AND GOJAK IN THE KORČULA ARCHIPELAGO (SOUTHERN CROATIA)	
P-20	179
M. Štimac, J. Kralj, R. Halapir Franković	
USPOREDBA OBOJENOSTI PTICA POD VIDLJIVOM I ULTRALJUBIČASTOM SVJETLOSTI / COMPARISON OF BIRD COLORATION UNDER VISIBLE AND ULTRAVIOLET LIGHT	
P- 21	180
D. Vladović, D. Hruševan, N. Ževrnja, G. Piasevoli, S. Mekinić, B. Jukić, L. Vrtlar, M. Boban, T. Milat	
FLORA ZNAČAJNIH KRAJOBRAZA GRAB I RUDA (DALMACIJA, HRVATSKA) / FLORA OF SIGNIFICANT LANDSCAPES GRAB AND RUDA (DALMATIA, CROATIA)	
P-22	181
T. Vojvoda Zeljko, M. Pavlek, E. Wahlberg, B. Sinclair, M. Ivković	
PRVA MOLEKULARNA FILOGENIJA VODENIH MUHA PLESACICA (DIPTERA: EMPIDIDAE) / THE FIRST MOLECULAR PHYLOGENY OF CLINOCERINAЕ DANCE FLIES (DIPTERA: EMPIDIDAE)	
P-23	183
V. Vujić, Z. Jovanović, S. Pavković-Lučić, B. Petković, T. Savić, L. Lučić, B. Ilić	
LOCOMOTOR ACTIVITY AND RELATED MORPHOLOGICAL TRAITS IN THREE MILLIPEDE SPECIES (DIPLOPODA: JULIDA)	
P-24	184
V. Vujić, B. Ilić, S. Pavković-Lučić, Z. Jovanović, J. Milovanović, B. Dudić, D. Stojanović, L. Lučić	
TESTING MORPHOLOGICAL INTEGRATION OF THE FORCIPULAR APPARATUS IN CENTIPEDE <i>Lithobius melanops</i> NEWPORT, 1845 (CHILOPODA: LITHOBIOMORPHA: LITHOBIIDAE)	

Mikrobiologija Microbiology

P-25	185
A. Hud, H. Senko, A. Mešić S. Kajč, M. Petek, D. Šamec, L. Brkljačić, N. Udiković-Kolić, G. Palijan, I. Sviličić Petrić	
MOGU LI KLIMATSKE PROMJENE UTJECATI NA INTERAKCIJU IZMEĐU BAKTERIJA PROMOTORA BILNOG RASTA (PGBP) I FITOPATOGENIH GLIVA? / CAN CLIMATE CHANGE ALTER INTERACTION BETWEEN PLANT-GROWTH-PROMOTING-BACTERIA (PGBP) AND PHYTOPATHOGENIC FUNGI?	
P-26	186
L. Kanjer, K. Filek, S. Bosak	
CIJANOBAKTERIJSKA RAZNOLIKOST OKLOPA JADRANSKIH GLAVATIH ŽELVI / CYANOBACTERIAL DIVERSITY ASSOCIATED WITH ADRIATIC LOGGERHEAD SEA TURTLE CARAPACE	
P-27	187
S. Ranogajec Blažeka, D. Lisičić, M. Marceljak Ilić, M. Hajdarović, D. Bedenić, D. Pavoković	
PRISUTNOST BAKTERIJE <i>Wolbachia</i> sp. U MRAVIMA U HRVATSKOJ / THE PRESENCE OF BACTERIA <i>Wolbachia</i> sp. IN ANTS IN CROATIA	
P-28	188
S. Šovran, T. Tosti, A. Knežević, N. Unković, I. Đokić, M. Ljaljević Grbić	
ANTIOXIDANT AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF <i>Azolla filiculoides</i> EXTRACTS	

Biologija mora Marine Biology

P-29	190
P. Ankon, R. Guić, P. Kružić, R. Gračan	
SOS S MLJETA – HOĆEMO LI OSTATI BEZ NAJVEĆEG KORALJNOG GREBENA U SREDOZEMNOM MORU? / SOS MLJET - WILL WE CONTINUE TO LOSE MEDITERRANEAN'S THE LARGEST CORAL REEF?	
P-30	191
M. Batistić, R. Garić, M. Hure	
UTJECAJ ZIMSKOG VERTIKLNOG MIJEŠANJA NA POPULACIJU ČETINOČELJUSTA (CHAETOGNATHA) U JUŽNOM JADRANU / IMPACT OF THE WINTER CONVECTIVE EVENT ON CHAETOGNATHS IN THE OPEN SOUTHERN ADRIATIC	
P-31	192
A. Bilajac, E. Gljuščić, M. Najdek Dragić, Lj. Iveša	
ŠUMA SMEDE ALGE <i>Gongolaria barbata</i> U PLITKOJ LAGUNI NA JUŽNOJ OBALI ISTRE (SJEVERNI JADRAN) / <i>Gongolaria barbata</i> FOREST IN THE SHALLOW LAGOON ON THE SOUTHERN ISTRIAN COAST (NORTHERN ADRIATIC SEA)	
P-32	193
J. Boban, N. Ževrnja, S. Vrgoč, B. Kokan	
ANOMALIJA LEĐNIH PLOČA NA KARAPAKSU ZELENE ŽELVE <i>Chelonia mydas</i> U PRIRODOSLOVNOM MUZEJU U SPLITU / SCUTE ANOMALY IN GREEN SEA TURTLE <i>Chelonia mydas</i> IN THE NATURAL HISTORY MUSEUM IN SPLIT	
P-33	194
M. Buršić, Lj. Iveša, A. Jaklin, M. Arko Pijevac, B. Bruvo Mađarić, M. Kučinić	
SEZONSKA DINAMIKA BESKRALJEŽNIJAKA U NASELJU ALGE <i>Corallina officinalis</i> NA PODRUČJU JUŽNE ISTRE / SEASONAL DYNAMICS OF INVERTEBRATES ASSOCIATED WITH <i>Corallina officinalis</i> IN SOUTHERN ISTRIA	
P-34	195
M. Dénes, M. Hure, R. Garić	
SYSTEM INCONSISTENCIES: INVESTIGATING THE PHYLOGENY OF CALANOID COPEPODS	
P-35	196
M. Fafandēl, M. Žmarić	
ALOMETRIJA PRIRODNIH POPULACIJA DAGNJE <i>Mytilus galloprovincialis</i> U JADRANU / ALLOMETRY OF NATURAL ADRIATIC MUSSEL <i>Mytilus galloprovincialis</i> POPULATION	

P-36	197
B. Gangai Zovko, D. Lučić, M. Hure, I. Onofri, I. Violić	
NOVA SAZNANJA O RAZVOJNOM CIKLUSU EUFAUZIDA <i>Stylocheiron abbreviatum</i> G.O. SARS, 1883 / NEW FINDINGS ON THE DEVELOPMENTAL CYCLE OF THE EUPHAUSID <i>Stylocheiron abbreviatum</i> G.O. SARS, 1883	
P-37	198
R. Garić, M. Batistić, M. Dénes, M. Hure, A. Baričević, M. Smoljaka-Tanković	
ISTRAŽIVANJA ŽELATINOZNOG PLANKTONA U JADRANU U POSLJEDNJIH DESET GODINA / INVESTIGATIONS OF GELATINOUS ZOOPLANKTON IN THE ADRIATIC SEA IN THE LAST DECADE	
P-38	199
M. Hure, M. Batistić, R. Garić	
VERTIKALNA DISTRIBUCIJA BROJNOSTI I RAZNOLIKOSTI KOPEPODA POD RAZLIČITIM UVJETIMA OKOLIŠA U JUŽNOM JADRANU / VERTICAL DISTRIBUTION OF COPEPOD ABUNDANCES AND DIVERSITY UNDER THE DIFFERENT ENVIRONMENTAL CONDITIONS IN THE SOUTH ADRIATIC SEA	
P-39	200
N. Jasprica, M. Čalić, N. Pasković	
RASPOĐELA FITOPLANKTONA U RAZLIČITIM ZIMSKIM HIDROKLIMATSkim UVJETIMA 2016.-2017. I 2020. NA OTVORENOM MORU JUŽNOG JADRANA / PHYTOPLANKTON DISTRIBUTION RELATED TO DIFFERENT WINTER CONDITIONS IN 2016-2017 AND 2020 IN THE OPEN SOUTHERN ADRIATIC SEA (EASTERN MEDITERRANEAN)	
P-40	201
I. Kovačić, A. Žunec, M. Matešković, P. Burić, N. Iveša, M. Štifanić	
SEZONSKE PROMJENE MORFOMETRIJSKIH I FIZIOLOŠKIH PARAMETARA KOD ČEŠLJAČE <i>Aequipecten opercularis</i> (LINNAEUS, 1758) U ZATOČENIŠTVU / SEASONAL CHANGES IN MORPHOMETRIC AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF THE QUEEN SCALLOP <i>Aequipecten opercularis</i> (LINNAEUS, 1758) CULTURED IN CAPTIVITY	
P-41	203
V. Kožul, A. Kurtela, N. Glavić, N. Antolović	
<i>Pinctada radiata</i> NOVA VRSTA ŠKOLIKAŠA U JADRANU / <i>Pinctada radiata</i> NEW MUSSEL SPECIES FOR THE ADRIATIC SEA	
P-42	204
M. Marelja, D. Mark Lyons	
USPOREDBA UTJECAJA NANOČESTICA POLISTIRENA NA BIOMARKERE OKSIDATIVNOG STRESA NAKON IZLAGANJA I OPORAVKA U MEDITERANSKOJ DAGNUJ, <i>Mytilus galloprovincialis</i> / COMPARISON IN EFFECTS OF POLYSTYRENE NANOPARTICLES ON OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN MEDITERRANEAN MUSSEL <i>Mytilus galloprovincialis</i> AFTER EXPOSURE AND RECOVERY	
P-43	205
B. Petani, F. Ape, S. Mirto, I. Župan, T. Šarić, A. Baričević, B. Mustać	
UTJECAJ UZGOJA RIBE NA STRUKTURU ZAJEDNICA MEIOFAUNE NA PODRUČJU SREDnjeg JADRANA / IMPACT OF FISH FARMING ON THE STRUCTURE OF MEIOFAUNA COMMUNITIES IN THE MIDDLE EASTERN ADRIATIC SEA	
P-44	206
L. Schmidt, B. Zorica, I. Lepen Pleić, M. Šestanović	
IDENTIFIRANJE IHTIOPLANKTONSKIH ZAJEDNICA KAŠTELANSKOG ZALJEVA DNA BARKODIRANjem / IDENTIFYING THE ICHTHYOPLANKTON OF THE KAŠTELA BAY USING DNA BARCODES	
P-45	207
M. Šantić, B. Apostolska	
ISHRANA PIRKE, <i>Serranus scriba</i> (LINNAEUS, 1758) U PODRUČJU SREDnjeg JADRA / DIET COMPOSITION OF PAINTED COMBER, <i>Serranus scriba</i> (LINNAEUS, 1758) FROM THE CENTRAL EASTERN ADRIATIC SEA	
P-46	208
N. Žeđrnja, T. Milat	
SREDOZEMNA MEDVJEDICA <i>Monachus monachus</i> (HERMANN, 1779.) - RIJEDAK PRIMJERAK HRVATSKE I SVJETSKE FAUNE IZ BOGATOG FUNDUSA PRIRODOSLOVNOG MUZEJA U SPLITU / MEDITERRANEAN SEAL <i>Monachus</i>	

monachus (HERMANN, 1779) - A RARE SPECIMEN OF CROATIAN AND WORLD FAUNA FROM THE RICH FUND OF THE NATURAL MUSEUM OF SPLIT

P-47 209

A. Travizi, F. Bužleta

UTJECAJ GRADITELJSKIH VRSTA *Cymodocea nodosa* I *Pinna nobilis* NA STRUKTURU MEIOFAUNE SEDIMENTA / THE EFFECT OF ECOSYSTEM ENGINEER SPECIES *Cymodocea nodosa* AND *Pinna nobilis* ON MEIOFAUNAL COMMUNITY STRUCTURE

Biologija kopnenih voda i kopna

Biology of freshwater and terrestrial ecosystems

P-48 211

N. Zh. Akimbekova, S. V. Titov, D. Hlebec, M. Jelić, K. K. Akhmetov, M. Kučinić

PRLOG POZNAVANJU TULARA (INSECTA, TRICHOPTERA) REPUBLIKE KAZAKHSTAN S NOTICOM NA DNA BARKODIRANJE / CONTRIBUTION TO KNOWLEDGE OF CADDISFLIES (INSECTA, TRICHOPTERA) IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN WITH NOTE ON DNA BARCODING

P-49 212

A. Brigić, F. Rebrina, M. Rumišek, L. Ružanović, V. Gulin, R. Matoničkin Kepčija, Z. Mihaljević, M. Vilenica

PROSTORNO-VREMENSKA VARIJABILNOST OKOLIŠNIH ČIMBENIKA POVREMENIH TEKUĆICA DINARSKOG KRŠA / SPATIO-TEMPORAL VARIABILITY OF ENVIRONMENTAL PARAMETERS IN THE INTERMITTENT DINARIC KARST RIVERS

P-50 213

D. Bućan, V. Mičetić Stanković, M. Miliša

POVREMENA I STALNA LOTIČKA STANIŠTA: KOLIKO BRZO SE OBNAVLJAJU? / INTERMITTENT VS. PERENNIAL LOTIC HABITAT: HOW FAST DO THEY RECOVER?

P-51 215

M. Cvek, N. Landeka

HRANIDBENE NAVIKE CRNE UDOWICE - *Latrodectus tredecimguttatus* (ROSSI, 1790) U ISTARSKOJ ŽUPANIJI / FEEDING HABITS OF *Latrodectus tredecimguttatus* (ROSSI, 1790) IN COUNTY OF ISTRIA

P-52 216

U. Dajčman, U. Enríquez-Urzelai, A. Žagar

DYNAMIC ENERGY BUDGET MODELS FOR TWO COMPETING LACERTIDS

P-53 216

Z. Jovanović, D. Stojanović, J. Milovanović, B. Ilić, V. Vujić, B. Dudić, S. Makarov

A RECORD OF PHORETIC ASSOCIATION BETWEEN MITE *Trichouropoda querceti* HIRSCHMANN, 1972 (ACARI: MESOSTIGMATA: TREMATURIDAE) AND CENTIPEDE *Lithobius forficatus* (LINNAEUS, 1758) (CHILOPODA: LITHOBiomorpha: LITHobiidae) FROM NORTH MACEDONIA

P-54 217

A. Klarin, V. Mičetić Stanković, M. Ivković

EMERGENCIJA ROSANA I ŠUŠAKA (INSECTA: COLEOPTERA: SCIRTIDAE) U KRŠKIM VODENIM STANIŠTIMA / EMERGENCE OF SCIRTIDS (INSECTA: COLEOPTERA: SCIRTIDAE) IN KARST WATERBODIES

P-55 218

M. Kovačić, D. Đuričić, M. Sudarić Bogoević, S. Krčmar

UTJECAJ NEKIH KLIMATSKIH ČIMBENIKA NA REPRODUKTIVNI UČINAK ROMANOVSKE OVCE U BILOGORSKOM KRAJU / INFLUENCE OF SOME CLIMATE FACTORS ON THE REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF ROMANOV SHEEP IN BILOGORA REGION

P-56 219

N. Landeka, L. Katušić, I. Kirin

RASPROSTRANJENOST CRNE UDOWICE *Latrodectus tredecimguttatus* (ROSSI, 1790) (ARANEA: THERIDIIDAE) U REPUBLICI HRVATSKOJ I HERCEGOVINI (BiH) / DISTRIBUTION OF BLACK WIDOW *Latrodectus tredecimguttatus* (ROSSI, 1790) (ARANEA: THERIDIIDAE) IN CROATIA AND HERZEGOVINA (B&H)

P-57.....	221
M. Šimunović, A. Kulaš, P. Žutinić, G. Goreta, M. Šušnjara, M. Gligora Udovič	
USPOSTAVA POUZDANE METODE OCJENE EKOLOŠKOG STANJA KRŠKOG JEZERA NA TEMELJU FITOPLANKTONA / ESTABLISHING RELIABLE PHYTOPLANKTON METRICS FOR BIOASSESSMENT OF A KARSTIC LAKE	
P-58.....	222
B. Tubić, N. Popović, A. Atanacković, K. Zorić, J. Tomović, M. Raković, J. Đuknić, N. Marinković, S. Anduš, M. Paunović	
INDICATIVE STATUS ASSESSMENT OF SERBIAN PART OF THE DANUBE RIVER AND ITS TRIBUTARIES BASED ON AQUATIC MACROINVERTEBRATES–JDS4	
P-59.....	223
Y. Vidinova, L. Kladarić, M. Vilenica, R. Ćuk, A. Popijač	
NOVE VRSTE RODA <i>Baetis</i> LEACH, 1815 (EPHEMEROPTERA) ZA HRVATSku FAUNU / NEW <i>Baetis</i> LEACH, 1815 (EPHEMEROPTERA) SPECIES FOR CROATIA	
P-60.....	224
A. Žagar, K. Konc, V. Perc, U. Dajčman, R. Megia-Palma, M. Hočevar, D. Drobne, S. Novak	
MICROMORPHOLOGY OF SCALES OF FOUR SPECIES OF LIZARDS ACROSS DIFFERENT CLIMATIC ZONES	
P-61.....	225
M. Živković, A. Andelković, S. Popović, M. Pećarević, B. Miljanović	
THE EFFECTS OF HYDROMORPHOLOGICAL PARAMETERS ON INVASIVE SPECIES IN THE RIPARIAN ZONES ALONG THE RIVERS IN SERBIA	
Toksikologija i ekotoksikologija	
Toxicology and ecotoxicology	
P-62.....	226
V. Benković, I. Tkalčec, K. Jurica, A. Horvat Knežević	
UČINCI EKSTRAKTA OBIČNE PLANIKE (<i>Arbutus unedo</i> L.), ARBUTINA I HIDROKINONA NA PK-15 STANICE / THE EFFECTS OF WILD STRAWBERRY TREE (<i>Arbutus unedo</i> L.) LEAF EXTRACT, ARBUTIN AND HYDROQUINONE ON PK-15 CELLS	
P-63.....	227
D. Bjedov, M. Velki, T. Mikuska, L. Jurinović, N. Turić, L. Toth, S. Ećimović, Z. Lončarić, A. Mikuška	
KONCENTRACIJE METALA I METALOIDA U KRVU PTIĆA BIELE RODE (<i>Ciconia ciconia</i>) S PODRUČJA KONTINENTALNE HRVATSKE / METAL AND METALLOID CONCENTRATIONS IN THE BLOOD OF WHITE STORK (<i>Ciconia ciconia</i>) NESTLINGS FROM CONTINENTAL CROATIA	
P-64.....	228
I. Inkielewicz-Stępniać, E. Megiel	
FLUORIDE ENHANCES POLYSTYRENE NANOPARTICLES CYTOTOXICITY IN COLONOCYTES IN VITRO MODEL	
P-65.....	229
K. Jovičić, J. Vranković, M. Raković, V. Đikanović	
OCCURENCE OF MICROPLASTIC PARTICLES IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF FRESHWATER FISH SPECIES <i>Abramis brama</i> IN THE DANUBE RIVER, SERBIA / POJAVA ČESTICA MIKROPLASTIKE U GASTROINTESTINALNOM TRAKTU SLATKOVODNE VRSTE RIBA <i>Abramis brama</i> U RIJECI DUNAV, SRBIJA	
P-66.....	230
I. Karamatić, Ž. Cvetković, V. Mikulec, A. Brkić, S. Šariri, D. Valić, T. Kralj, T. Mijošek, Z. Redžović, D. Ivanković, V. Filipović Marijić	
PROCJENA TOKSIČNOSTI OTPADNIH VODA U KRŠKOM PODRUČJU PRIMJENOM TESTA INHIBICIJE RASTA ALGI / ASSESSMENT OF THE WASTEWATER TOXICITY IN THE KARST AREA USING ALGAL GROWTH INHIBITION TEST	
P-67.....	231
J. Marković Filipović, D. Kojić, M. Miler, J. Karan, I. Ivelja, M. Matavulj	

EFFECT OF ACRYLAMIDE TREATMENT ON THE ACTIVITY AND EXPRESSION OF GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE IN RAT HEPATOCYTES

- P-68 232
N. Mažuran, V. Hršak, G. Kovačević
UČINAK CaCl₂ I CaBr₂ NA RAZMNOŽAVANJE VRSTE *Daphnia magna* STRAUS / THE EFFECTS OF CaCl₂ AND CaBr₂ ON THE REPRODUCTION OF *Daphnia magna* STRAUS

- P-69 233
N. Mažuran, V. Hršak, G. Kovačević
OPORAVAK I FENOTIPSKA PLASTIČNOST KROZ DVije GENERACIJE U SLATKOVODNOG PUŽA *Planorbarius corneus* L. IZLOŽENOG HIPEROSMOTSKIM OTOPINAMA / FITNESS RECOVERY AND TWO-GENERATION PHENOTYPIC PLASTICITY IN THE FRESHWATER SNAIL *Planorbarius corneus* L. EXPOSED TO HYPEROSMOTIC SOLUTIONS

- P-70 234
N. Mažuran, G. Kovačević
APSORPCIJA KALCIJA U SLATKOVODNOG PUŽA *Planorbarius corneus* L. IZ VANJSKOG MEDIJA / CALCIUM UPTAKE BY FRESHWATER SNAIL *Planorbarius corneus* L. FROM THE EXTERNAL MEDIUM

- P-71 235
S. Novak, V. Kononenko, V. Perc, M. Hočevar, V. Kokol, V. Vivod, D. Drobne
ECOTOXICITY AND CYTOTOXICITY OF FUNCTIONALIZED NANOCELLULOSE

- P-72 236
V. Perc, S. Novak, V. Kononenko, S. Michelini, D. Drobne
BIOASSIMILATION AND EFFECTS OF MICROPLASTIC ON VIABILITY OF *Tetrahymena thermophila*

- P-73 237
D. Samardžija Nenadov, K. Pogrmić-Majkić, B. Tešić, N. Andrić
TRANSCRIPTOME CHANGES INDUCED BY LOW-DOSE AND LONG-TERM EXPOSURE TO DEHP IN HUMAN GRANULOSA CELLS

- P-74 237
B. Tešić, S. Fa Nedeljković, K. Pogrmić-Majkić, D. Samardžija Nenadov, B. Stanić, D. Kokai, N. Andrić
AN EMBRIONIC DI(2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE (DEHP) EXPOSURE DISTURBS REPRODUCTION IN ADULT FEMALE ZEBRAFISH

- P-75 238
M. Velki, C. Lackmann, A. Šimić, S. Ečimović, T.-B. Seiler, H. Hollert
ISPITIVANJE AKUTNE I KRONIČNE TOKSIČNOSTI PESTICIDA – ŠTO SMO NAUČILI I ZAŠTO JE OBOJE POTREBNO / ACUTE AND CHRONIC PESTICIDE TOXICITY TESTING – LESSONS LEARNED AND NECESSITY OF BOTH

Konzervacijska biologija, zaštita prirode i okoliša

Conservational biology, nature and environment protection

- P-76 240
M. Augustinović, K. Hocenski, M. Petković, Jelena Mlinarec Novosel
GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJA EUROAZIJSKE VIDRE (*Lutra lutra*) U NACIONALNOM PARKU PLITVIČKA JEZERA / POPULATION GENETIC STRUCTURE OF THE EURASIAN OTTER (*Lutra lutra*) IN THE PLITVICE LAKES NATIONAL PARK

- P-77 241
L. Buban, M. Škunca, I. Tomašin, M. Žiljak
USLUGE EKOSUSTAVA KAO ALAT U SLUŽBI OČUVANJA PRIRODE / ECOSYSTEM SERVICES AS A TOOL IN NATURE PROTECTION

- P-78 242
E. Gljuščić, A. Bilajac, Lj. Iveša

PRVI EKSPERIMENT OBNOVE NASELJA ENDEMSKE ALGE *Fucus virsoides* NA ZAPADNOJ OBALI ISTRE / FIRST RESTORATION EXPERIMENT FOR ENDEMIC *Fucus virsoides* ON WESTERN ISTRIAN COAST

P-79 243

B. Horvatić, E. Pačev, M. Maslač Mikulec

PREKOMORSKI PUTNICI – DOPRINOS POZNAVANJU GRABLJIVICA JADRANSKOG SEOBENOG PUTA / OVERSEAS TRAVELERS - CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF RAPTORS ON THE ADRIATIC FLYWAY

P-80 244

P. Kutleša, M. Cigrovski Mustafić, S. Slivar

MOBILNA APLIKACIJA „INVAZIVNE VRSTE U HRVATSKOJ“ / MOBILE APPLICATION „INVAZIVNE VRSTE U HRVATSKOJ“

P-81 245

J. Lajtner, N. Riccardi, M. Urbanska

PRVI NALAZ INVAZIVNIH VRSTA *Corbicula fluminea* (O. F. MÜLLER, 1774) I *Sinanodonta woodiana* (LEA, 1834) U RIJEKI MIRNI (ISTRICA, HRVATSKA) / FIRST FINDINGS OF THE INVASIVE SPECIES *Corbicula fluminea* (O. F. MÜLLER, 1774) AND *Sinanodonta woodiana* (LEA, 1834) IN THE MIRNA RIVER (ISTRICA, CROATIA)

P-82 246

A. Mikuska, T. Mikuska, V. Rožac, M. Vereš

PORAST GNIJEZDËĆE POPULACIJE ORLA ŠTEKAVCA (*Haliaeetus albicilla*) U PARKU PRIRODE KOPAČKI RIT / WHITE-TAILED EAGLE *Haliaeetus albicilla* BREEDING POPULATION INCREASE IN NATURE PARK KOPAČKI RIT

P-83 247

V. Parača, I. Novčić

DETERMINANTS OF ESCAPE BEHAVIOR IN THE URBAN HOODED CROW (*Corvus cornix*)

P-84 248

P. Pereković, M. Kamenečki, D. Tomić Reljić

EKOLOŠKI BAZIRANO UREĐENJE GRADSKIH KRAJOBRAZA / ECOLOGICALLY BASED URBAN LANDSCAPE DESIGN

P-85 249

L. Ružanović, V. Mičetić Stanković

BIORAZNOLIKOST U NESTAJANJU: KORNJAŠI (INSECTA: COLEOPTERA) GRADA ZAGREBA U ZBIRKAMA HRVATSKOG PRIRODOSLOVNOG MUZEJA / BIODIVERSITY LOSS: BEETLES (INSECTA: COLEOPTERA) OF CITY OF ZAGREB FROM COLLECTIONS OF THE CROATIAN NATURAL HISTORY MUSEUM

P-86 250

I. Tomašin, M. Škunca, L. Buban, M. Žiljak

KULTUROLOŠKE USLUGE EKOSUSTAVA DINARE/CULTURAL ECOSYSTEM SERVICES OF DINARA MOUNTAIN

P-87 251

D. Vlahović, D. Vladović, B. Mitić

INVAZIVNA STRANA BILJKA *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planchon U URBANIM PODRUČJIMA ZAGREBAČKE ŽUPANIJE / INVASIVE ALIEN PLANT *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planchon IN URBAN AREAS OF ZAGREB COUNTY

P-88 252

D. Zima, E. Štefanić, L. Zima

EKOLOŠKA ANALIZA INVAZIVNIH BILJAKA U POŽEŠKOJ KOTLINI I PROCJENA NJIHOVE INVAZIVNOSTI / ECOLOGICAL ANALYSIS OF INVASIVE PLANTS IN THE POŽEGA VALLEY, R. CROATIA AND ASSESSMENT OF THEIR INVASIVENESS

Komparativna fiziologija, imunobiologija i biologija čovjeka

Comparative physiology, immunobiology and human biology

P-89 255

B. Nikolić, S. Trnski, N. Jovanov Milošević, D. Hranilović

NEUROKEMIJSKA I MOLEKULARNO-GENETIČKA PODLOGA PROMJENA U EKSPLORATORNOM PONAŠANJU ŠTAKORA NAKON NEONATALNOG IZLAGANJA HIPOKSII / NEUROCHEMICAL AND MOLECULAR-GENETIC BACKGROUND OF CHANGES IN RAT EXPLORATORY BEHAVIOR AFTER EXPOSURE TO NEONATAL HYPOXIA

Biomedicina**Biomedicine**

- P-90 257
I. Arić, V. Buršić, B. Gidrić, K. M. Tupek, I. Sviben, Z. Mitrović, O. Jakšić, V. Pejša, R. Kušec MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA MUTACIJE L265P U GENU MYD88 / MOLECULAR DIAGNOSTICS OF THE L265P MUTATION IN THE MYD88 GENE

- P-91 258
L. Belužić, J. Marinac, M. Katić
PRVI LABORATORIJ ZA NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTIRANJE U HRVATSKOJ: SAZNANJA NA TEMELIU 3.5 GODINE NEPREKIDNOG RADA / FIRST LABORATORY FOR NON-INVASIVE PRENATAL TESTING IN CROATIA: INSIGHTS BASED ON 3.5 YEARS OF CONTINUOUS OPERATION

- P-92 259
D. Lukić, D. Beloša, M. Sudarić Bogojević, D. Švagelj
UTJECAJ PANDEMIJE BOLESTI COVID-19 NA BROJ DIJAGNOSTICIRANIH KARCINOMA DOJKE / THE IMPACT OF THE COVID-19 PANDEMIC ON THE NUMBER OF DIAGNOSED BREAST CANCER

- P-93 260
D. Puljić, M. Zekušić, T. Vučemilo, A. Jularić, M. Skoko, M. Bujić Mihica, I. Vrgoč Zimić, T. Dolenc, D. Vidović, S. Babić, I. Batarilo, S. Ramić, P. Sesar
TKIVNO BANKARSTVO: OBRADA SPONGIOZNOG KOŠTANOG TKIVA DOBIVENOG IZ GLAVE FEMURA ŽIVIH DARIVATELJA / TISSUE BANKING: PROCESSING OF SPONGY BONE OBTAINED FROM THE FEMORAL HEAD OF LIVING DONORS

- P-94 261
M. Sikora, N. Turić, H. Bekina, D. Čubrilo
PRISUTNOST VIRUSA ZAPADNOG NILA U UZORCIMA KOMARACA U PREKOGRANIČNOM PODRUČJU HRVATSKA – SRBIJA TIJEKOM 2018. I 2019. GODINE / PRESENCE OF WEST NILE VIRUS IN MOSQUITO SAMPLES IN CROATIA-SERBIA CROSS-BORDER AREA DURING YEAR 2018 AND 2019

- P-95 262
M. Vilaj, B. Golubić Ćepulić, D. Ježek
BANKA SJEMENIKA: 9 GODINA ISKUSTVA U KRIOPOHRANI TKIVA SJEMENIKA / TESTICULAR TISSUE BANK: 9 YEARS OF EXPERIENCE IN TESTICULAR TISSUE CRYOPRESERVATION

4. SIMPOZIJ EDUKACIJE BIOLOGIJE**4th BIOLOGY EDUCATION SYMPOSIUM**

- P-96 264
N. Kletečki, T. Jaćimović, A. Belančić
KAKO NAĆINI USVAJANJA NASTAVNIH SADRŽAJA UTJEĆU NA ISHOD UČENJA? / HOW DO THE WAYS OF ADOPTING TEACHING CONTENT AFFECT THE LEARNING OUTCOMES?

- P-97 265
N. Kletečki, M. Cvetković-Kižlin, K. Stepinac:
ISTRAŽIVAČKI RADOVI U SKLOPU PROJEKTA BIOSIGURNOST I BIOZAŠTITA U NASTAVI PRIRODE, BIOLOGIJE I KEMIJE U OSNOVNOJ I SREDNJOJ ŠKOLI / HOW DO THE WAYS OF ADOPTING TEACHING CONTENT AFFECT THE LEARNING OUTCOMES?

- P-98 266
T. Šalamon, L. Kralj, Ž. Lukša

PREDNOSTI ČETVEROSATA U PROVOĐENJU VJEŽBI PROGRAMA PRIRODOSLOVNE GIMNAZIJE / THE ADVANTAGES OF DOUBLE-BLOCK SCHEDULE IN PRACTICAL LESSONS WITHIN THE NATURAL SCIENCES PROGRAMME OF GRAMMAR SCHOOLS

P-99 267

D. Vlahović, M. Čiček, B. Mitić

RAZVOJ VJEŠTINE MIKROSKOPIRANJA I PREPOZNAVANJA RAZLIČITIH BIOLOŠKIH STRUKTURA KROZ eTWINNING PROJEKT „SVIJET POD MIKROSKOPOM“ / DEVELOPMENT OF MICROSCOPY SKILLS AND RECOGNITION OF DIFFERENT BIOLOGICAL STRUCTURES THROUGH THE eTWINNING PROJECT "THE WORLD UNDER THE MICROSCOPE

8. SIMPOZIJ HRVATSKOG DRUŠTVA ZA BILJNU BIOLOGIJU

8th SYMPOSIUM OF THE CROATIAN SOCIETY OF PLANT BIOLOGISTS

P-100 269

L. Begović, A. Blažević, M. Varga, S. Mlinarić, I. Abičić, A. Lalić

KRATKOTRAJNI TOPLOTNI STRES IZAZIVA BRZI ANTIOKSIDATIVNI ODGOVOR DJELOVANJEM PEROKSIDAZA KOD JEĆMA (*Hordeum vulgare* L.) / SHORT-TERM HEAT STRESS INDUCES QUICK ANTIOXIDATIVE RESPONSE BY PEROXIDASE ACTION IN BARLEY (*Hordeum vulgare* L.)

P-101 270

D. Davosir, I. Šola

PROMJENE ANTIOKSIDACIJSKOG POTENCIJALA EKSTRAKATA KLIJANACA BROKULE I RAŠTIKE TIJEKOM IN VITRO SIMULIRANE LIJUDSKE PROBAVE / CHANGES OF ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF BROCCOLI AND KALE SEEDLINGS EXTRACTS DURING IN VITRO SIMULATED HUMAN DIGESTION

P-102 271

D. Gmižić, I. Šola

VISOKA TEMPERATURA MIJENJA KONCENTRACIJU UKUPNIH FENOLNIH SPOJEVA, GLUKOZINOLATA, ŠEĆERA I PROTEINA U KLIJANCIMA BROKULE (*Brassica oleracea botrytis* var. *cymosa*) / HIGH TEMPERATURE CHANGES TOTAL PHENOLICS, GLUCOSINOLATES, SUGARS AND PROTEINS LEVEL IN BROCCOLI SPROUTS (*Brassica oleracea* L. *convar. botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.)

P-103 272

M. Jagić, T. Vuk, L. Markulin, S. Mihaljević, N. Bauer, D. Leljak-Levanić

PROTEIN BPM1 SUDJELUJE U REGULACIJI METILACIJE DNA DE NOVO I EKSPRESIJE GENA TIJEKOM EMBRIOGENE UROČNJAKA (*Arabidopsis thaliana*) / BPM1 PROTEIN IS INVOLVED IN THE REGULATION OF DE NOVO DNA METHYLATION AND GENE EXPRESSION DURING *Arabidopsis thaliana* EMBRYOGENESIS

P-104 273

D. Lazić, K. Živković, D. Horvat, M. Viljevac Vuletić, V. Česar, V. Peršić, J. Antunović Dunić AKUMULACIJA ŠKROBA U MAЛОJ VODENOJ LEĆI USLJED IZLAGANJA POVIŠENOM SALINITETU I 6- BENZILAMINOPURINU / STARCH ACCUMULATION IN COMMON DUCKWEED INDUCED BY INCREASED SALINITY AND 6-BENZYLAMINOPURINE

P-105 275

I. Marković, M. Jagić, J. Milanović, I. Habuš Jerčić, S. Kereša, D. Leljak-Levanić, S. Mihaljević

PROFIL EKSPRESIJE MARKER GENA UKLJUČENIH U OBRAMBENI ODGOVOR POSREDOVAN JASMONSKOM KISELINOM, U INTERAKCIJI VIROIDA VRETENASTOG GOMOLJA KROMPIRA (PSTV) i KRUMPIRA / EXPRESSION PROFILING OF MARKER GENES RESPONSIVE TO THE DEFENSE-ASSOCIATED PHYTOHORMONE JASMONIC ACID IN POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTV)-POTATO INTERACTION

P-106 276

S. Mlinarić, A. Vicić, M. Šrajer Gajdošik, V. Gvozdić, L. Begović

UTJECAJ PRODUŽENOG FOTOPERIODA NA POKRETAČKE SILE FOTOSINTEZE KONOPLJE / EFFECT OF PROLONGED PHOTOPERIOD ON DRIVING FORCES FOR PHOTOSYNTHESIS IN CANNABIS

P-107 277

G. Mirković, T. Gutić, R. Vuković, I. Štolfa Čamagajevac, A. Vuković, J. Duvnjak, K. Šunić, N. Sabo, A. Lučić, V. Španić

REDOKS STATUS OZIME PŠENICE IZLOŽENE SUŠI POČETKOM STADIJA VLATANJA / REDOX STATUS OF WINTER

WHEAT EXPOSED TO DROUGHT IN THE EARLY STEM ELONGATION PHASE

P-108	278
B. Salopek-Sondi, I. Orebovec, S. Vali, M. Ilakovac Kveder, S. Milošević, M. Rakić, B. Japundžić-Palenkić, N. Romanjek Fajdetić, T. Benković Lačić, R. Benković, S. Antunović, K. Miroslavljević PLAZMOM AKTIVIRANA VODA (PAV) KAO KORISTAN BIOSTIMULANS ZA KLIJANJE SJEMENA I RAST BILJAKA PAPRIKE (<i>Capsicum annuum</i> L.) / PLASMA ACTIVATED WATER (PAW) AS USEFUL BIOSTIMULANS FOR PEPPER (<i>Capsicum annuum</i> L.) SEED GERMINATION AND PLANT VIGOR	
P-109	280
D. Šamec, E. Karalija, B. Šarkanj SPECIJALIZIRANI METABOLITI U BILJKAMA "ŽIVIM FOSILIMA": VAŽAN FAKTOR ZA PREŽIVLJAVANJE U NEPOVOLJNIM OKOLOŠNJIM UVJETIMA / SPECIALIZED METABOLITES IN „LIVING FOSSIL“ PLANTS: IMPORTANT FACTORS FOR SURVIVAL IN A CHANGING ENVIRONMENT	
P-110	281
I. Šola, S. Gulin, V. Vujičić Bok, D. Pavoković, G. Rusak VODENI EKSTRAKTI KLIJANACA BROKULE MIJENJAJU STUPANJ GLIKACIJE PROTEINA I AKTIVNOST ENZIMA α -LIPAZE: UTJECAJ VISOKE TEMPERATURE UZGOJA / BROCCOLI SEEDLINGS WATER EXTRACTS CHANGE THE LEVEL OF PROTEIN GLYCATION AND ACTIVITY OF α -LIPASE: EFFECT OF HIGH GROWING TEMPERATURE	
P-111	282
I. Šola, M. Dujmović, V. Vujičić Bok, G. Rusak RAZVOJNO-SPECIFIČNE PROMJENE KONCENTRACIJE FENOLNIH SPOJEVA I VITAMINA C, TE ANTOOKSIDACIJSKOG POTENCIJALA KLIJANACA PEKINŠKOG KUPUSA / DEVELOPMENTALLY-RELATED CHANGES IN PHENOLIC AND L-ASCORBIC ACID CONTENT, AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF CHINESE CABBAGE SPROUTS	
P-112	283
I. Šola, D. Poljuha, M. Mikulić-Petkovsek, D. Davosir, M. Pinterić, J. Bilić, R. Veberic, M. Hudina, G. Rusak BIOPOTENCIJAL NEDOVOLJNO ISKORIŠTENIH CVJETNIH PUPOVA RUŽIČNAČA / BIOPOTENTIAL OF UNDERUTILIZED ROSACEAE INFLORESCENCES	
P-113	285
I. Šola, J. Ludwig-Müller, G. Rusak ODGOVOR MAHOVINE <i>Physcomitrium patens</i> NA INFJEKCIJU VIRUSOM MOZAIIKA KRASTAVCA S PRIDRUŽENOM SATELITNOM RNA / RESPONSE OF THE MOSS <i>Physcomitrium patens</i> TO SATELLITE-ASSOCIATED CUCUMBER MOSAIC VIRUS INFECTION	
P-114	286
I. Štolfa Čamagajevac, R. Vuković, A. Vuković, K. Šunić, N. Sabo, R. Sekulić, V. Španić ULOGA ASKORBAT-GLUTATIONSKOG CIKLUSA U TOLERANTNOSTI KLIJANACA OZIME PŠENICE NA OSMOTSKI STRES / THE ROLE OF THE ASCORBATE-GLUTATHIONE CYCLE IN THE TOLERANCE OF WINTER WHEAT SEEDLINGS TO OSMOTIC STRESS	
P-115	287
M. Tokić, D. Leljak-Levanić, N. Bauer UTJECAJ POVIŠENE TEMPERATURE NA GERMINACIJU SJEMENKI, BILJNI RAST I FIZIOLOGIJU RAJČICE / INCREASED TEMPERATURE EFFECTS ON TOMATO SEED GERMINATION, SEEDLING GROWTH AND PHYSIOLOGY	
P-116	288
R. Vuković, I. Štolfa Čamagajevac, A. Vuković, S. Šormaz, Z. Lončarić SORTNO-SPECIFIČNI UČINAK CADMIJA NA EKSPRESIJU GENA MT I PCS U SOJE / CULTIVAR-SPECIFIC IMPACT OF CADMIUM ON THE EXPRESSION OF GENES MT AND PCS IN SOYBEAN	
P-117	289
A. Vuković, R. Vuković, I. Štolfa Čamagajevac, K. Šunić, L. Begović, S. Mlinarć, N. Sabo, V. Španić MOLEKULARNI ODGOVOR KLIJANACA OZIME PŠENICE NA OSMOTSKI STRES / MOLECULAR RESPONSE OF WINTER WHEAT SEEDLINGS TO OSMOTIC STRESS	

DISTRIBUTION OF FRESHWATER SNAILS FROM THE SUPERFAMILY RISSOOIDEA IN CAVES AND SPRINGS OF OGULIN
AND THE SURROUNDING AREA

P-118 291

V. Vujičić Bok, I. Šola, G. Rusak

STABILNOST I BIODOSTUPNOST FITOKEMIKALIJA ŠPINATA I LIMUNOVOG SOKA U *IN VITRO* PROBAVI / STABILITY AND
DIGESTIVE AVAILABILITY OF SPINACH LEMON JUICE PHYTOCHEMICALS DURING *IN VITRO* DIGESTION

P-119 292

E. Vuko, V. Dunkić, M. Ruščić, M. Nazlić, N. Mandić, Ž. Fredotović

KEMIJSKI SASTAV I NOVE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI ETERIČNOG ULJA I HIDROLATA VRSTE *Hypericum perforatum* L. ssp.
veronense (SCHRANK) H. LINDB / CHEMICAL COMPOSITION AND NEW BIOLOGICAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OIL AND
HYDROSOL OF *Hypericum perforatum* L. ssp. *veronense* (Schrank) H. Lindb.

SIMPOZIJ „OKOLIŠNA DNA“

SYMPOSIUM „ENVIRONMENTAL DNA“

P-120 294

N. Hanžek, M. Gligora Udovič, K. Kajan, G. Borics, G. Várbíró, T. Stoeck, S. Orlić, I. Stanković

eDNA METABARKODING FITOPLANKTONA U USPOREDBI S KLASIČNOM MIKROSKOPSKOM ANALIZOM /
PHYTOPLANKTON eDNA METABARCODING VS. CLASSICAL MICROSCOPY

P-121 295

J. Kamberović, M. Gligora Udovič, A. Kulaš, P. Žutinić, M. Šušnjara, A. Ahmić, A. Jusufović, A. Gajić, B. Kalamujić

Stroil: ODREĐIVANJE EKOLOŠKOG STANJA SEDRENIH SLAPOVA RIJEKE UNE PUTEM eDNA METABARKODIRANJA
DIJATOMEJA / ECOLOGICAL STATUS OF THE TUFA-DEPOSITING UNA RIVER BASED ON DIATOM eDNA
METABARCODING APPROACH

Pokrovitelji / Patrons 298

Sponzori / Sponsors 299



PLENARNA PREDAVANJA

PLENARY LECTURES

MEHANIZMI TOLERANCIJE EKOPOPULACIJA RAŠTIKE (*Brassica oleracea* var. *acephala*) NA SUŠU I TOPLINSKI STRES

Nataša Bauer¹, M. Tkalec¹, N. Major², A. I. Talanga Vasari¹, M. Tokić¹, S. Vitko¹, D. Ban^{2,3}, S. Goreta Ban², B. Salopek-Sondi⁴

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (nbauer@biol.pmf.hr), ²Institut za poljoprivredu i turizam Poreč, Karla Huguesa 8, 52440 Poreč, Hrvatska ³Znanstveni centar izvrsnosti za bioraznolikost i molekularno oplemenjivanje bilja, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, ⁴Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska

Klimatske promjene ozbiljno utječe na biološku raznolikost i poljoprivrednu proizvodnju diljem svijeta. U nadolazećim godinama stres uzrokovan sušom i povišenom temperaturom postat će glavni problem u uzgoju mnogih poljoprivredno važnih biljaka, a odabir sorti tolerantnijih na sušu i povišenu temperaturu, te njihova šira uporaba u poljoprivrednoj proizvodnji mogli bi smanjiti rizike i gubitke koji se očekuju zbog nepovoljnih vremenskih uvjeta. Kako bi rasvjetlili molekularne mehanizme tolerancije raštike (*B. oleracea* var. *acephala*) na stres uzrokovan sušom i toplinom, 33 ekopopulacije iz Hrvatske i Bosne i Hercegovine bile su izložene spomenutim stresnim čimbenicima. Na temelju promjena u biomasi, prirasta korijena te sadržaja vode i prolina odabrana su dva tolerantnija i dva osjetljivija ekotipa za detaljnije analize. Nakon tretmana izmjerena je fotosintetska učinkovitost, te su analizirani markeri oksidacijskog stresa, šećeri, ukupni fenoli, flavonoidi i glukozinolati. Također, kvantificirana je ekspresija gena transkripcijskih faktora vezanih uz sušu/toplinski stres, te ekspresija proteina HSP. U osjetljivim ekopopulacijama stres je uzrokovao značajnije promjene mjerenih molekularnih biljega nego u tolerantnijim ekopopulacijama čiji je odgovor bio umjereniji.

TOLERANCE MECHANISMS OF KALE (*Brassica oleracea* var. *acephala*) ECOPOPULATIONS TO DROUGHT AND HEAT STRESS

Nataša Bauer¹, M. Tkalec¹, N. Major², A. I. Talanga Vasari¹, M. Tokić¹, S. Vitko¹, D. Ban^{2,3}, S. Goreta Ban², B. Salopek-Sondi⁴

¹Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb (nbauer@biol.pmf.hr),

²Institute of Agriculture and Tourism Poreč, Karla Huguesa 8, 52440 Poreč, ³Centre of Excellence for Biodiversity and Molecular Plant Breeding, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb,

⁴Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb

Current climate changes are significantly affecting biodiversity and agricultural production worldwide. In the coming years, drought and heat will become major abiotic stressors for many crop species. Selection of cultivars more tolerant to abiotic stress and their wider use in agricultural production could reduce the risks and losses expected due to adverse weather conditions. To explore the mechanisms of drought and heat tolerance in kale, 33 kale (*B. oleracea* var. *acephala*) ecopopulations from Croatia and Bosnia and Herzegovina were exposed to drought and heat stress. Based on biomass accumulation, root growth, proline and water content two more tolerant and two more susceptible ecopopulations were selected for further, more detailed analysis. Photosynthetic performance, oxidative stress markers, sugars, total phenolics, flavonoids, and glucosinolates were measured. Further, expression of transcription factor genes associated with drought/heat stress and HSP proteins were evaluated. In the sensitive ecopopulations, the applied stress factors resulted in a stronger

response and significantly greater change in measured molecular markers than in the resistant ecopopulations, whose response was more resilient.

PL-2

NOVI RITAM I MELODIJA OBRAZOVANJA – KAKO JE PANDEMIIA UTJECALA NA SUSTAV ODGOJA I OBRAZOVANJA I KAKO BISMO IZ NJE MOGLI IZAĆI SNAŽNIJI?

Boris Jokić

Institut za društvena istraživanja u Zagrebu, Amruševa 11/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Pandemija COVID-19, klimatske promjene i geopolitički odnosi trenutno predstavljaju velike globalne izazove, utječući na obrazovanje te osobni i društveni razvoj učenika i studenata na različitim obrazovnim razine. Negativni učinci pandemije na odgojno-obrazovne procese očitovali su se u značajnim 'rupama' u znanjima i vještinama, gubicima radnih navika i motivacije za učenje te poremećajima u aspiracijama mlađih ljudi. Ovi negativni učinci pandemije dodatno su pojačali već prisutni gubitak relevantnosti formalnog obrazovanja u životima djece i mlađih. Nadalje, pandemija i klimatske promjene pojačale su postojeće nejednakosti između i unutar obrazovnih sustava. Obrazovni sustavi zemalja s niskim i nižim srednjim dohotkom doživjeli su veći negativan utjecaj. U svim su sustavima mogućnosti i iskustva učenja za darovite učenike, one u riziku ili s posebnim obrazovnim potrebama značajno promijenjeni. No, odgovori obrazovnih vlasti, institucija i nastavnika rezultirali su i mnogim pozitivnim elementima otvarajući prostor za inovativnost i kreativnost. Nadalje, situacija je otkrila prijeko potrebnu fleksibilnost u obrazovnim strukturama, značajku koja se često ne povezuje s tako robusnim i inertnim sustavima. Uz prikaz empirijskih rezultata istraživanja o učincima pandemije na odgojno-obrazovni sustav u kojem je tijekom dvije godine sudjelovalo više od 45 000 učenika i 9000 odgojno-obrazovnih radnika, ovo predavanje će predstaviti neke ideje kako obrazovanju vratiti važnost za učenike, studente, nastavnike, profesore i društvo u cijelini.

PL-3

USE OF METABARCODING FOR ECOLOGICAL ASSESSMENT OF BENTHIC ALGAE IN THE UK

Martin Kelly

Bowburn Consultancy, 11 Monteigne Drive, Bowburn, Durham DH6 5QB, UK (MGKelly@bowburn-consultancy.co.uk)

There is considerable interest in the ecological applications of metabarcoding, including the possibility that this technology could be used for statutory ecological assessment. In this talk, I will describe how the UK has explored this possibility as a replacement for their current approach using light microscopy to analyse diatoms. Scientific challenges include the need to develop reference libraries that link metabarcoding outputs to the correct Linnaean species name, differences in quantification between metabarcoding and light microscopy and the design of bioinformatic pipelines. Experience in the UK is that there is a strong relationship between metrics calculated with light microscopy and metabarcoding data, but still enough scatter to result in different classifications in many streams. This poses significant challenges for regulators who were anticipating a smooth transition to the new technology. Equally important is the way that metabarcoding changes the role of ecologists in the organisations. Formerly, they were intimately involved in sample collection and analysis; now they receive data from high throughput

laboratories. Finally, as metabarcoding methods are still evolving, there is a need to find ways of ensuring stable regulation whilst not stifling innovation. Together, these stress the need to think of adoption of metabarcoding not as a modular change without implications for the rest of the organisation, but as a radical innovation with implications for the whole organisation.

PL-4

KAKO ZNANSTVENI PRISTUP SLATKOVODNIH EKOLOGA UTJEĆE NA INVESTICIJE U VODNOM GOSPODARSTVU?

Zlatko Mihaljević, I. Pozojević

Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (zlatko.mihaljevic@biol.pmf.hr)

Budući da su jezera i rijeke od iznimne važnosti za opstojnost ljudske populacije, Europska unija usvojila je 2000. godine Okvirnu direktivu o vodama (ODV) radi njihove zaštite i očuvanja. ODV stavlja ekologiju kopnenih voda kao osnovu u određivanju ekološkog stanja, što je baza za donošenje odluka u vodnom gospodarstvu. Svaka zemlja članica na znanstvenoj osnovi, razvija klasifikacijske sustave koji počivaju na referentnim uvjetima. U određivanju referentnih uvjeta primjenjuju se različiti pristupi. Prilikom razvoja klasifikacijskog sustava za prirodna jezera Hrvatske temeljem makrozoobentosa, korišten je model višestruke linearne regresije. Beskralježnjaci u litoralu jezera prikupljeni su pomoću ručne bentos mreže ovisno o postotnoj zastupljenosti mikrostaništa. Korišten je statistički model koji uključuje podatke o pritiscima (biomasa riba, neprirodan zemljinski pokrov, morfološke promjene, klorofil a) i okolišne podatke (volumen jezera, nadmorska visina, vrijeme zadržavanja vode, salinitet) za svako jezero. Konačni rezultat je multimetrički indeks koji se sastoji od 4 metrike: % Chironomini; Margalef indeks raznolikosti, EPT [%] te broj porodica. Navedene metrike korištene su za sve jezerske tipove, ali sa različitim referentnim vrijednostima. Razvijeni klasifikacijski sustav predstavlja pouzdanu metodu za ocjenu ekološkog stanja jezera jer pokazuje statistički značajan odnos ($p<0.05$) sa nekoliko pritisaka.

HOW DOES SCIENTIFIC APPROACH OF FRESHWATER ECOLOGISTS INFLUENCE WATER MANAGEMENT INVESTMENTS?

Zlatko Mihaljević, I. Pozojević

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (zlatko.mihaljevic@biol.pmf.hr, ivana.pozojevic@biol.pmf.hr)

Since lakes and rivers are extremely important for human survival, the European Union adopted the Water Framework Directive (WFD) in 2000 to protect them. The WFD presents freshwater ecology as a key element in determining ecological status, which is the basis for water management decisions. On a scientific basis, Member States develop classification systems for each biological quality element, based on reference conditions. Different approaches are used in determining the reference conditions, of which the multiple linear regression model was used in the development of classification system for Croatian natural lakes, based on macrozoobenthos. Littoral macroinvertebrates were collected with a hand net from available microhabitats, proportional to their coverage at sampling sites. Multiple linear regression of each macroinvertebrate metric against pressure data (fish biomass, non-natural land cover, morphological degradation, Chlorophyll a) and environmental data (lake volume,

altitude, retention time, salinity) was performed to ensure pressure-response relationships. The final assessment tool is a multimetric index composed of four metrics: % Chironomini, Margalef Index, EPT [%] (abundance classes) and number of families. The multimetric index uses the same metrics for all lake types, but with different reference values for each type. The developed method is a reliable tool and showed statistically significant relationships ($p<0.05$) with several pressures.

PL-5

STERILE INSECT TECHNIQUE - RELEASING STERILE MALE MOSQUITOES TO PROTECT PUBLIC HEALTH

Dušan Petrić, A. Ignjatović Čupina, M. Kavran

University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Center of Excellence One Health - Disease Vectors and Climate Change, Trg Dositeja Obradovića 8, 21101 Novi Sad, Serbia
(dusanp@polj.uns.ac.rs)

With increasing trade and travel, several *Aedes* mosquito species that can vector diseases to humans and animals have been introduced into Europe and are now rapidly spreading, becoming a widespread significant health risk that must be effectively addressed. The risk is testified by recent cases of autochthonous chikungunya and dengue transmissions.

Female mosquitoes bite people and transmit diseases. The sterile insect technique (SIT) is an environment-friendly and species-specific pest management method by which (male) insects are made infertile through irradiation (gamma- or X-rays) and mass released into a target area. When these sterile males mate with wild females, there are no offspring. The systematic and repeated release of sterile males reduces the target wild insect population over time. The irradiated insects do not become radioactive and do not pose a danger to people, animals and the environment.

The SIT was developed in the late 1950s and has been used in many countries to manage agricultural pests, such as the Mediterranean fruit fly, the New World screwworm and tsetse flies. The technique is now being refined for use against vector mosquitoes and is being tested in several countries, including Brazil, China, Cuba, Germany, Greece, Italy, Mexico, Spain and the USA.

Managing an invasive species of mosquito can also help to restore the ecosystem. So far, none of the SIT programmes over the past 70 years have been reported to impact the environment negatively.

PL-6

PER ASPERA AD ASTRA – IMPLEMENTACIJA eDNA METABARKODINGA U UPRAVLJANJU VODAMA

Igor Stanković

Institut za vode "Josip Juraj Strossmayer", Ulica grada Vukovara 220, 10000 Zagreb, Hrvatska
(igorstankovic1@gmail.com)

Okvirna direktiva od vodama (ODV) je objavljena 2000. godine, od kada je učinjeno mnogo pomaka kako bi se poboljšao cjelokupan proces postizanja dobrog stanja svih vodnih tijela. Napravljeni su standardi kakvoće vode za biološke elemente kakvoće (BEK) i njihove prateće

elemente. Nacionalni tipovi vodnih tijela su grupirani u zajedničke europske tipove, a BEK su interkalibrirani kako bi se uskladio sustav ocjene u zemljama članicama. Planovi upravljanja vodnim područjima postali su dokumenti s jasnim sadržajem, rezultatima i ciljevima, koji sadrže mjere za poboljšanje stanja vodnih tijela i implementaciju ODV u punom smislu riječi. Mnogo je poboljšanja tijekom godina postignuto zahvaljujući predanom radu znanstvenika. Najveća postignuća su napravljena popunjavanjem baza podataka s biološkim i ekološkim podacima što je dovelo do pouzdanijeg odnosa pritisaka i utjecaja. Također su testirane i nove metode, uključujući i eDNA metabarkoding. Ova se metoda pokazala jednostavnom, brzom i ekonomičnijom od tradicionalnih metoda za monitoring BEK, ali je sa sobom donijela i nove izazove. Jedan od glavnih izazova je proširenje referentne baze sa svojama kako bi se poboljšala pouzdanost metode te zadovoljavanje jednog od važnih zahtjeva ODV - brojnost zajedno s raznolikošću. Sektor upravljanja vodama podupire eDNA metabarkoding metodu i njenu implementaciju u svakodnevnoj primjeni, ali nakon savladavanja poteškoća kroz zajedničku suradnju i potpuno razumijevanje zahtjeva ODV.

PER ASPERA AD ASTRA - IMPLEMENTATION OF eDNA METABARCODING INTO THE WATER MANAGEMENT

Igor Stanković

Water Research Institute "Josip Juraj Strossmayer", Ulica grada Vukovara 220, 10000 Zagreb, Croatia (igorstankovic1@gmail.com)

Since the publication of the Water Framework Directive (WFD) in 2000, much work has been done to improve the process of achieving good status for all waterbodies. Water quality standards have been set for biological quality elements (BQEs) and their supporting elements. National water body types were grouped into common European types and BQEs were intercalibrated to harmonise assessment systems between member states. The river basin management plans have become documents with clear content, results, and objectives, containing measures to improve the status of water bodies and to implement the WFD in its full meaning. Over the years, many improvements have been achieved thanks to the dedicated work of scientists. The most important ones have been achieved by expanding the datasets with biological and ecological data, leading to a stronger and more reliable relationship between pressure and impact. New methods were tested, including eDNA metabarcoding. This method has proven to be simple, fast, and less costly than traditional methods for monitoring of BQEs, but it has also brought new challenges. The main one is to expand the reference library with taxa to increase reliability and meet important requirement of the WFD - quantity along with diversity. The water sector welcomes eDNA metabarcoding and supports its implementation and everyday use but overcoming the difficulties can only be achieved through full cooperation and understanding of the WFD requirements.

PL-7

EMPOWERING COASTAL AQUACULTURE IMPACT ASSESSMENT WITH eDNA AND SUPERVISED MACHINE LEARNING

Thorsten Stoeck¹, T. A. Wilding², V. Rubel¹

¹Technische Universität Kaiserslautern, Ecology Group, D-67663 Kaiserslautern, Germany (stoeck@rhrk.uni-kl.de), ²Scottish Association for Marine Science, Oban, PA37 1QA, Scotland

Traditionally, the backbone of environmental impact assessments in finfish aquaculture is the collection and identification of benthic macroinvertebrate bioindicators, which react predominantly to organic enrichment and oxygen (depletion). However, this monitoring strategy is very tedious and expensive. Therefore, concerted efforts are to develop alternative monitoring tools. One very promising approach is environmental DNA metabarcoding, which relies on the identification of short DNA fragments, which were amplified from bulk sediment samples. We have evaluated the indicator qualities of benthic bacteria along organic enrichment transects in the vicinity of salmon farms in Scotland and Norway. Remarkable changes in microbial community compositions were typical along these transects. These changes correlated significantly with organic enrichment and corroborated well with benchmark data obtained from traditional macrofauna monitoring of the same sampling sites. These obtained results were very promising to further develop benthic bacterial metabarcodes as a new backbone for biomonitoring. However, a major challenge was to translate bacterial indicator ASVs into an environmental quality index as known from traditional macroinvertebrate biomonitoring. The solution to this problem came from the field of Artificial Intelligence (AI), namely supervised machine learning (SML). Using the SML approach random Forest (RF) we successfully trained an algorithm that predicts a biotic index and environmental quality status using bacterial ASVs as features. These predictions had a high agreement with biotic indices and environmental quality assessments obtained from traditional macrofauna-based monitoring of the same sampling sites. In conclusion, benthic microbial communities are a powerful source of new biosensors for environmental impact assessment in aquaculture. Environmental metabarcoding of microbial communities is a rapid and accurate tool for environmental monitoring in finfish aquaculture. The costs of this technology are notably lower than for macrofauna-based monitoring and results are available within days rather than within months (as for macrofauna monitoring). Furthermore, this approach is automatable and up-scale and allows the processing of a high sample number at a time. Currently, this approach is being implemented in official regulations for the compliance monitoring of salmon farms in Scotland.

PL-8

MOLEKULARNA RAZNOLIKOST VIRUSA EPSTEIN-BARR

Snježana Židovec Lepej

Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Mirogojska 8, HR-10000 Zagreb, Hrvatska,
(szidovec@gmail.com)

Virus Epstein-Barr (EBV) ili ljudski gamaherpesvirus 4 ubikvitarni je virus iz porodice *Herpesviridae* i roda *Lymphocryptovirus* koji zaražava oko 90% populacije čovjeka. *In vitro*, EBV omogućuje transformaciju B-limfocita u limfoblastoidne stanice pomoću kompleksnih molekularnih mehanizama posredovanih onkogenim proteinima i mikroRNA. *In vivo*, akutna infekcija virusom EBV može uzrokovati infekcijsku mononukleozu, dok se latentna infekcija povezuje s nastankom malignih bolesti. Genom virusa sastoji se od dvolančane DNA molekule koja sadrži 172 kpb i kodira sintezu više od 80 proteina te 44 molekule mikroRNA. Klasifikacija ovog virusa na genotipove 1 i 2 temelji se na sekvencama gena *EBNA-1* i *EBNA-2*. Literaturni podatci o biološkoj i kliničkoj značajnosti genotipova ovog virusa kao i o njihovoj distribuciji u različitim geografskim područjima su ograničeni. Genotipovi EBV-a iskazuju različit stanični tropizam kao i varijacije u sposobnosti transformacije B-limfocita u staničnim kulturama *in*

vitro. Molekularna raznolikost EBV-a iznimno je kompleksna i virus se dodatno može klasificirati temeljem raznolikosti gena koji kodira sintezu proteina LMP-1. Predložena je i novija klasifikacija virusa koja se temelji na 12 filopopulacija EBV-a. Usprkos brojnim istraživanjima, antivirusni lijekovi te cjepiva protiv infekcije ovim virusom još uvijek nisu dostupni. Nove spoznaje o ovom virusu, posebno u području analize molekularne raznolikosti virusa, predstavljaju znanstveni temelj za razvoj novih generacija cjepiva, posebno onih koja se temelje na tehnologiji mRNA.

MOLECULAR DIVERSITY OF EPSTEIN-BARR VIRUS

Snježana Židovec Lepej

University Hospital for Infectious Diseases „Dr. Fran Mihaljević“, Mirogojska 8, 10000 Zagreb, Croatia (szidovec@gmail.com)

Epstein–Barr virus (EBV), also known as *Human gammaherpesvirus 4*, is an ubiquitous virus from the *Herpesviridae* family and *Lymphocryptovirus* genus that infects more than 90% of the human population. *In vitro*, the virus enables a transformation of B-cells into B-lymphoblastoid cell lines by complex molecular mechanisms mediated by oncogenic proteins and microRNAs. *In vivo*, acute EBV infection can be associated with development of infectious mononucleosis but latent infection may lead to the development of malignant diseases. EBV genome is a double-stranded DNA molecule consisting of 172 kbp coding for more than 80 proteins and 44 microRNAs. EBV is classified into two main genotypes (type 1 and 2 or type A and B) based mainly on the analysis of *EBNA-1* and *EBNA-2* genes. Literature data on the biological and clinical significance as well as distribution of EBV genotypes 1 and 2 are limited. The two genotypes exhibit different cellular tropism and different B-cell transforming abilities. Molecular diversity of EBV is exceptionally complex and the virus can be further classified into different viral strains based on the genetic diversity of the gene coding for LMP-1 oncoprotein. More recently, classification of the virus based on 12 EBV-phylogenotypes has been proposed. Despite decades of research, antiviral therapy or licensed vaccines are currently not available. Recent developments in EBV research with a particular focus on molecular diversity of the virus provide an opportunity for development of new generation vaccines, particularly those based on mRNA technology.



USMENA PRIOPĆENJA

ORAL PRESENTATIONS

O-1

METABOLIČKE PROMJENE U MUŽJAKA I ŽENKI TULARA IZLOŽENIH DUGOTRAJnim VIŠESTRUKIM STRESORIMA

I. Grgić¹, K. Cetinić¹, Z. Karačić², A. Previšić³, M. Rožman¹

Institut "Ruđer Bošković": ¹Zavod za fizičku kemiju, ²Zavod za organsku kemiju i biokemiju, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (igrgic@irb.hr, kcetinic@irb.hr, Marko.Rozman@irb.hr, Zrinka.Karacic@irb.hr), ³Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zoologiski zavod, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ana.previsic@biol.pmf.hr)

U vrijeme globalnih promjena, povećanja ljudske populacije i aktivnosti, vodenim ekosustavima izloženi su brojnim kombinacijama prirodnih i antropogenih pritisaka. Sve je učestalija primjena onečišćujućih tvari (farmaceutici, mikroplastika i dr.) te je većina vodenih ekosustava pod utjecajem istih. Stoga je stjecanje iskustava o ponašanju onečišćiva u vodenim ekosustavima postalo imperativ za znanost. U tom smislu ovo je istraživanje usmjereni na praćenje utjecaja onečišćiva na tulara (*Micropterna nycterobia* McLachlan, 1875), koji predstavljaju važnu komponentu slatkvodnih ekosustava. U tu svrhu provedeno je laboratorijsko istraživanje u kojem su jedinke tulara izlagane trima tretmanima: i) mikroplastika, ii) smjesa farmaceutika te iii) kombinacija farmaceutika i mikroplastike. Utjecaje stresa pratili smo analizom metaboličkih profila te identifikacijom promijenjenih metabolita kroz životne stadije tulara, pri čemu su mužjaci i ženke analizirani odvojeno. Najveće odstupanje od kontrole uočeno je u ličinkama tulara, vjerojatno kao posljedica unosa onečišćiva putem hranjenja, dok su u stadiju kukuljice odstupanja od kontrole minimalna. Međutim, dugoročne posljedice kronične izloženosti stresorima osobito su naglašene u odraslim ženkama, koje pokazuju razlike u koncentraciji masnih kiselina. Ovi rezultati ukazuju na razvoj različitih mehanizama obrane od stresa u mužjaka i ženki uslijed specifičnih evolucijskih uloga.

Ključne riječi: slatkvodni ekosustavi, vodenii kukci, farmaceutici, mikroplastika

METABOLIC CHANGES IN MALE AND FEMALE CADDISFLIES EXPOSED TO LONG-TERM MULTIPLE STRESSORS

I. Grgić¹, K. Cetinić¹, Z. Karačić², A. Previšić³, M. Rožman¹

¹"Ruđer Bošković" Institute, Division of Physical Chemistry, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (igrgic@irb.hr), (kcetinic@irb.hr), (Marko.Rozman@irb.hr), ²"Ruđer Bošković" Institute, Division of Organic Chemistry and Biochemistry, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (Zrinka.Karacic@irb.hr), ³University of Zagreb, Faculty of Science, Department of Biology, Division of Zoology, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (ana.previsic@biol.pmf.hr)

Due to global change, human population growth and anthropogenic impacts, aquatic ecosystems are exposed to a multitude of both natural and anthropogenic pressures. The use of pollutants (pharmaceuticals, microplastics, etc.) is becoming more frequent, affecting many aquatic ecosystems. Therefore, understanding the behavior of pollutants in aquatic ecosystems has become an imperative for science. This research focused on monitoring the impact of pollutants on caddisflies (*Micropterna nycterobia* McLachlan, 1875) as an important component of

freshwater ecosystems. For this purpose, a laboratory experiment was conducted in which caddisflies were exposed to three treatments: i) microplastics, ii) a mixture of pharmaceuticals and iii) a combination of pharmaceuticals and microplastics. The effects of stress were monitored through the analysis of metabolic profiles and the identification of altered metabolites through the life stages of caddisflies, with males and females analyzed separately. The largest deviation from the controls was observed in the larvae, probably due to pollutant intake through feeding, while in the pupae, deviations from the controls were minimal. However, the long-term consequences of chronic exposure to stressors were particularly pronounced in adult females, which showed differences in fatty acid concentrations. These results suggest the development of different stress defense mechanisms in males and females due to specific evolutionary roles.

Keywords: aquatic ecosystems, aquatic insects, pharmaceuticals, microplastics

O-2

REGULACIJA AKTIVNOSTI SUSTAVA CRISPR-CAS U BAKTERIJI *Escherichia coli*: ULOGA ČETVRTOG PROMOTORA

D. Mitić, I. Ivančić-Baće

Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska (damjan.mitic@biol.pmf.hr)

Adaptivni imunološki sustav CRISPR-Cas štiti mnoge bakterije i većinu arheja od strane DNA. Sustav CRISPR-Cas u bakteriji *Escherichia coli* pripada klasi 1, tipu I-E, a sastoji se od 8 gena cas i dva lokusa CRISPR. Tri promotora kontroliraju ekspresiju svih komponenti sustava CRISPR-Cas (gen cas3, operon casABCDE12 i lokus CRISPR), a četvrti, nazvan anti-Pcas, je divergentno orientiran i nepoznate je funkcije. Ovaj promotor kodira kratki transkript od 373 nukleotida koji se preklapa sa zadnjih 205 nukleotida gena cas3 i također je pod kontrolom proteina H-NS, kao i ostala tri promotora. Kako se ovaj transkript može smotati u složenu sekundarnu strukturu predloženo je da može potencijalno stupiti u interakciju s proteinom Cas3 kako bi inhibirao njegovu aktivnost, ili se vezati na RNK transkript gena cas3 i time inhibirati njegovu terminaciju transkripcije i/ili translaciju. U ovom radu smo testirali drugu mogućnost i pokazali metodom RT-qPCR kako transkript anti-cas smanjuje količine transkriptata gena cas3 ako se eksprimira u suvišku s plazmida, ali ne u mutantu Δhns. Nadalje, u suvišku transkripta anti-cas3 s plazmida, pripremljena adaptacija (ugradnja novih razmaka iz iste strane DNA) je efikasnija, dok je zaštita bakterija od napada fagima poništена. Iz svega navedenog, može se zaključiti da suvišak transkripta anti-cas utječe na transkripciju gena cas3 što dovodi do smanjene aktivnosti proteina Cas3, vjerojatno uslijed smanjenja njegovih količina u stanici.

Ključne riječi: CRISPR-Cas, cas3, anti-cas, *E. coli*

REGULATION OF CRISPR-CAS ACTIVITY IN *Escherichia coli*: THE ROLE OF THE FOURTH PROMOTER

D. Mitić, I. Ivančić-Baće

University of Zagreb, Faculty of Science, Department of Biology, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (damjan.mitic@biol.pmf.hr)

The CRISPR-Cas adaptive immune system protects many bacteria and most archaea from invading DNA and in *Escherichia coli* it belongs to Class 1, type I-E, and consists of 8 cas genes and two CRISPR arrays. Three promoters control the expression of all CRISPR-Cas components (cas3 gene, casABCDE12 operon and CRISPR locus) and the fourth, called anti-Pcas, is divergently oriented and has unknown functions. This promoter encodes a short transcript of 373 nt that overlaps with the last 205 nt of the cas3 gene and is controlled by the H-NS protein, like the other three promoters. As this transcript can fold into an intricate secondary structure, it was suggested that it could interact with the Cas3 protein to inhibit its activity, or anneal to the cas3 RNA transcript and thereby inhibit its transcription termination and/or translation. In this work, we tested the second possibility and demonstrated by RT-qPCR that the anti-cas transcript reduces the amount of cas3 transcripts if expressed in excess from plasmids, but not in the Δhns mutant. Furthermore, in higher anti-cas3 transcript levels from the plasmid, primed adaptation (incorporation of new spacers from the same invading DNA) is more efficient, while the protection of bacteria from phage attack is abolished. Taken together, it can be concluded that higher anti-cas transcript levels affect transcription of the cas3 gene, leading to reduced activity of the Cas3 protein, probably due to a decrease in its amounts in the cell.

Keywords: CRISPR-Cas, cas3, anti-cas, *E. coli*

O-3

NISKA PRECIZNOST REKOMBINACIJE KRAJEVI-PREMA-VAN U PEKARSKOG KVASCA MOŽE SE IZBJEĆI PROMJENOM ORIJENTACIJE INSERCIJE UNUTAR KASETE ZA CILJANJE

P. T. Mitrikeski

Sveučilište u Zagrebu, Fakultet filozofije i religijskih znanosti, Jordanovac ul. 110, 10000 Zagreb, Hrvatska (petar.tomev.mitrikeski@ffrz.unizg.hr)

Ciljanje gena najvažniji je molekularni alat za mijenjanje genoma. Međutim, uspješna proizvodnja genetički izmijenjenih organizama otežana je brojnim čimbenicima koji utječu na omjer alelne i ektopne rekombinacije o čemu ovisi uspješnost ciljanja. Poznata činjenica da je taj omjer obično nizak u kvasaca izvan roda *Saccharomyces* te, što je važnije, višestaničnih organizama čini razumijevanje mehanizama ciljanja jednim od ključnih ciljeva moderne genetike. Stoga, u ovom istraživanju sam usporedio propratne rezultate ranije molekularne proizvodnje kvaščevih sojeva sa sadašnjim spoznajama fokusirajući se na orientaciju insercije unutar kasete iz dva razloga: (i) istraživači obično orientaciju insercije biraju nasumično, i (ii) mogući utjecaj parametra nije do sada bio sistematski istraživan. Tako, ovdje pokazujem da su kasete koje su sadržavale divergentno orientirane insercije značajno smanjile udio promašaja uzrokovanih kasetama koje su nosile konvergentno orientirane insercije u dvama ciljanim lokusima (*URA3* i *LEU2*) i jednom alelu (*ura3-52*) u kvaščevim stanicama divljeg tipa. Primamljivo je sugerirati da bi ovaj učinak mogao biti povezan s transkripcijom. Ako se pretpostavka pokaže točnom, to bi potencijalno moglo otvoriti novo područje genetike.

Ključne riječi: kvasac *Saccharomyces cerevisiae*, rekombinacija krajevi-prema-van, prekidanje gena u jednom koraku, gensko ciljanje, orijentacija insercije, transkripcija

THE POOR ENDS-OUT RECOMBINATION FIDELITY IN BUDDING YEAST MAY BE RESCUED BY ALTERING THE ORIENTATION OF THE INSERTION WITHIN THE TARGETING MODULE

P. T. Mitrikeski

The University of Zagreb, Faculty of Philosophy and Religious Studies, Jordanovac ul. 110, 10000 Zagreb, Croatia (petar.tomev.mitrikeski@ffrz.unizg.hr)

Gene-targeting is the most important molecular tool for genome manipulations. However, the efforts for reliable genetically modified genomes are undermined by many factors influencing the ratio between the allelic and the ectopic recombination that controls the targeting fidelity. The known fact that this ratio is usually low in non-*Saccharomyces* yeasts and, most importantly, metazoans renders the understanding of the targeting mechanisms one of the key goals of contemporary genetics. Therefore, in this study I compared earlier side results of molecular construction of yeast strains with the contemporary knowledge focusing on the orientation of the insertion within the cassette for two reasons: (i) researchers usually choose the insertion orientation at random, and (ii) the possible influence of the parameter has never before been analyzed systematically. Thus, here I show that the cassettes bearing divergently oriented insertions significantly remedied mistargeting caused by their convergent counterparts in two loci (*URA3* and *LEU2*) and one allele (*ura3-52*) in wt yeast cells. It is tempting to suggest that the effect might be transcription-related. If so, this could potentially open a new area of genetics.

Keywords: yeast *Saccharomyces cerevisiae*, ends-out recombination, one-step gene disruption, gene targeting, insertion orientation, transcription

O-4

VARIJABILNOST LOKUSA MHC-DRB U OBIČNOG JELENA (*Cervus elaphus*) IZ VOJVODINE, SRBIJA

I. Svetličić¹, D. Konjević², M. Bujanić², D. Bugarski³, J. Mirčeta⁴, A. Galov¹

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ida.svetlicic@biol.pmf.hr, ana.galov@biol.pmf.hr), ²Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska (dean.konjevic@ef.unizg.hr, mbujanic@ef.unizg.hr), ³Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad" Remenački put 20, 21113 Novi Sad, Srbija (dejan@niv.ns.ac.rs), ⁴Vojvodina šume, Preradovićeva 2, 21000 Novi Sad – Petrovaradin, Srbija (jovan.mirceta@vojvodinasume.rs)

Geni glavnog sustava tkivne podudarnosti (engl. Major histocompatibility complex, MHC) prepoznati su kao važni lokusi za proučavanje adaptivne genetske raznolikosti u kralježnjaka. Ovi geni kodiraju za molekule koje limfocitima T predstavljaju antigene izvedene iz patogena, pokrećući tako odgovarajuću imunosnu reakciju. Pretpostavlja se da se visoki stupanj varijabilnosti gena MHC održava selekcijom posredovanom parazitima. Obični jelen (*Cervus elaphus*) pripada redu Cetartiodactyla, i jedan je od najvećih predstavnika porodice Cervidae. Nedavno širenje alohtonog parazita metilja *Fascioloides magna* predstavlja sve veću prijetnju evropskim populacijama jelena. Cilj ovog istraživanja bio je genotipizirati lokus MHC-DRB 81 jedinke jelena iz Vojvodine, područja zahvaćenog invazijom *F. magna*, kako bi se istražio stupanj varijabilnosti gena MHC-DRB i time dobio uvid u imunogenetičku kompetentnost ove populacije. Za to smo koristili Illumina sekvenciranje nove generacije i web alat AmpliSAT za analizu dobivenih podataka. Otkrili smo visoku razinu varijabilnosti, s ukupno 32 alela, od kojih je 10 bilo novih. Broj alela po jedinki bio je 1-6 (prosječno = 4,27), što ukazuje na postojanje najmanje tri lokusa DRB. Broj varijabilnih mesta bio je 90 (36,1%), a nukleotidna raznolikost po mjestu bila je 0,11. Najučestaliji alel bio je Ceel-

DRB*HR04, prisutan u 49,6% jedinki, što bi moglo ukazivati na njegovu zaštitnu ulogu protiv *F. magna*.

Ključne riječi: Glavni sustav tkivne podudarnosti, *Cervus elaphus*, genotipizacija, Cervidae, NGS

VARIABILITY OF MHC-DRB LOCUS IN RED DEER (*Cervus elaphus*) FROM VOJVODINA, SERBIA

I. Svetličić¹, D. Konjević², M. Bujanić², D. Bugarski³, J. Mirčeta⁴, A. Galov¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (ida.svetlicic@biol.pmf.hr, ana.galov@biol.pmf.hr), ²Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatia (dean.konjevic@ef.unizg.hr, mbujanic@ef.unizg.hr), ³Scientific Veterinary Institute Novi Sad, Remenacki put 20, 21113 Novi Sad, Serbia (dejan@niv.ns.ac.rs), ⁴Vojvodina šume, Preradovićeva 2, 21000 Novi Sad – Petrovaradin, Serbia (jovan.mirceta@vojvodinasume.rs)

Genes of the major histocompatibility complex (MHC) are widely recognized as important loci for studying adaptive genetic diversity in vertebrates. These genes code for molecules, which represent pathogen-derived antigens to the T-lymphocytes, thus initiating the appropriate immune reaction. The high degree of MHC variability is proposedly maintained by the pathogen-mediated selection. Red deer (*Cervus elaphus*) belongs to the order Cetartiodactyla, and is one of the largest representatives of the family Cervidae. The recent spread of the allochthonous fluke *Fascioloides magna* poses a growing threat to the European deer populations. The aim of this study was to genotype MHC-DRB locus of 81 red deer individuals from the area of Vojvodina, with established *F. magna* infection, in order to explore the degree of MHC variability and gain an insight into the immunogenetic competence of this population. For this, we used Illumina next generation sequencing and AmpliSAT web tool for subsequent data analysis. We detected high levels of variability, with 32 alleles in total, 10 of which were novel. Number of alleles per individual was 1-6 (mean = 4.27), suggesting the existence of at least three DRB loci. The number of variable sites was 90 (36.1%) and nucleotide diversity per site was 0.11. The most common allele was Ceel-DRB*HR04, present in 49.6% of individuals, possibly indicating its protective role against *F. magna*.

Keywords: Major histocompatibility complex, *Cervus elaphus*, genotypization, Cervidae, NGS

0-5

Uvodno predavanje / Introductory lecture

NOVA OTKRIĆA U ISTRAŽIVANJU ŠPILJSKIH PAUKA DINARIDA

M. Pavlek^{1,2}

¹Laboratorij za nekodirajuće DNA, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Hrvatsko biospeleološko društvo, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (martina.pavlek@irb.hr)

Još od otkrića prvog špiljskog pauka na svijetu, vrste *Stalita taenaria* opisane iz Slovenije 1847. godine, Dinaridi su prepoznati kao globalna vruća točka bioraznolikosti špiljskih pauka. Desetljećima su špiljske pauke Dinarida istraživali uglavnom strani istraživači značajno doprinijevši u područjima taksonomije, sistematike i biogeografije. Recentno, aktivnošću članova Hrvatskog biospeleološkog društva između ostalih, pojavljuju se domaći istraživači, te se uz klasičan pristup počinju primjenjivati i molekularno-genetičke metode. Trenutno špiljski pauci Dinarida čine čak 10% špiljskih pauka na svijetu i taj broj konstantno raste. Molekularne filogenije nekoliko najistraživаниjih grupa otkrile su postojanje mnogih novih vrsta i rodova, te ukazale na potrebu za temeljitim morfološkim i taksonomskim revizijama. Uzorkovanje u plitkim podzemnim staništima te u raznim zaklonjenim površinskim staništima, rezultiralo je pronalaskom potencijalnih nadzemnih srodnika špiljskih linija. Datiranjem molekularnih filogenija otkriveno je jako staro porijeklo nekih špiljskih linija, čak iz razdoblja Eocena. Sve u svemu, čini se da pravu raznolikost i evolucijsku prošlost dinarskih špiljskih pauka tek treba istražiti.

Ključne riječi: špiljski pauci, Dinaridi, vruća točka bioraznolikosti, špilje

RECENT ADVANCES IN THE STUDY OF NATURAL HISTORY OF DINARIC CAVE SPIDERS

M. Pavlek^{1,2}

¹Laboratory of non-coding DNA, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia,

²Croatian Biospeleological Society (CBSS), Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (martina.pavlek@irb.hr)

Ever since the description of the first cave spider in the world—*Stalita taenaria* from Slovenia in 1847—Dinaric caves have been considered as a global hot-spot of cave spider's diversity. For decades, many foreign researchers studied them, mostly from taxonomic, systematic, and biogeographical point of view. Only recently, with the activity of the Croatian Biospeleological Society among others, have local arachnologists appeared. Today molecular methods are used next to “classical” approaches to comprehensively study cave spider's diversity. Currently, 10% of the worlds cave spiders are found in the Dinarides, and this number keeps growing. Molecular phylogenies built for several most studied groups, revealed the existence of many new species and unrecognized genera, which calls for a thorough morphological and taxonomical revisions. Sampling in the shallow subterranean habitats and in various sheltered epigean localities, uncovered the existence of potential surface relatives of these highly adapted species. Time calibrated molecular phylogenies reveal very old origins for some cave-adapted clades, dating as far back as to Eocene. All in all, it seems that the true diversity and evolutionary history of Dinaric

cave spiders is yet to be fully discovered.

Keywords: cave spiders, Dinarides, biodiversity hot-spot, caves

O-6

RAKOVI PORODICE ASELLIDAE (CRUSTACEA: ISOPODA) NASELJAVAJU ŠPILJE - FENOTIPSKA PLASTIČNOST OMOGUĆUJE KOLONIZACIJU PODZEMLJA

J. Bedek^{1,2}, L. Lelas³, L. Tomić³, M. Žugaj³, H. Bilandžija^{1,2}

¹Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Hrvatsko biospeleološko društvo, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (jana.bedek@irb.hr, helena.bilandzija@irb.hr), ³Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (lukal.1398@gmail.com, lucijatomic43@gmail.com, mzugaj@stud.biol.pmf.hr)

Većina obligatnih špiljskih vrsta se značajno razlikuje od svojih nadzemnih srodnika zbog brojnih prilagodbi špiljskom okolišu. Preci većine špiljskih vrsta su izumrli ili nepoznati, što onemogućuje komparativno proučavanje. Svojte koje su nedavno kolonizirale špilje još uvijek imaju živuće pretke na površini pa predstavljaju modelne sustave za proučavanje procesa prilagodbe špiljama. Jednakočni rakovi porodice Asellidae su više puta neovisno naseljavali špilje i imaju brojne špiljske svojstva i populacije koje pokazuju različite razine prilagodbi. Odabrali smo dvije nadzemne vrste: *Asellus aquaticus* i *Proasellus coxalis* za svoja istraživanja, jer imaju nekoliko špiljskih populacija i blisko srodnih špiljskih vrsta. Potonje smo koristili da utvrđimo koje se prilagodbe razvijaju u podzemnim vrstama ovih rodova. Izložili smo jednu nasumično odabrano skupinu obje površinske vrste potpunom mruku (dark/dark - DD) kao glavnoj karakteristici svih podzemnih staništa. Kontrolne skupine smještene su na normalni svjetlo-tamni fotoperiod (light/dark - LD). Uočili smo razlike u ekspresiji gena između DD i LD grupe koje su dodatno podržane fenotipskim promjenama (pigmentacija tijela i očiju, stopa rasta, plodnost, preživljavanje, stopa metabolizma) u adaptivnom, ali i ne-adaptivnom smjeru. Naši rezultati sugeriraju da fenotipska plastičnost izazvana tamom omogućuje učestalu kolonizaciju špilja rakovima porodice Asellidae, kao što je prethodno pokazano za špiljsku ribu *Astyanax mexicanus*.

Ključne riječi: *Asellus aquaticus*, fenotipska plastičnost, naseljavanje špilja, *Proasellus coxalis*

ASELLIDS (CRUSTACEA: ISOPODA: ASELLIDAE) INVADING CAVES - ONGOING COLONIZATION ENABLED BY PHENOTYPIC PLASTICITY

J. Bedek^{1,2}, L. Lelas³, L. Tomić³, M. Žugaj³, H. Bilandžija^{1,2}

¹Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia, ²Croatian Biospeleological Society, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, (jana.bedek@irb.hr, helena.bilandzija@irb.hr), ³Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (lukal.1398@gmail.com, lucijatomic43@gmail.com, mzugaj@stud.biol.pmf.hr)

Most obligate cave species are strikingly different from their surface relatives because of their remarkable adaptations to the cave environment. The surface ancestor of most cave species is extinct or unknown, and therefore unavailable for comparative study. Taxa that have colonized

caves more recently have ancestors that live on the surface, allowing the study of the process of adaptation to caves. Asellids have invaded caves independently on multiple occasions and there are numerous cave taxa and populations with varying degrees of adaptation. We selected two surface species: *Asellus aquaticus* and *Proasellus coxalis* as our model organisms because they have multiple cave populations and closely related cave species. We used the latter to learn what adaptations evolve in subsurface species of these genera. We exposed a randomly selected group of each surface species to complete darkness (DD), which is the main characteristic of all subterranean environments. Control groups were kept in a normal light-dark photoperiod (LD). We observed differences in gene expression between the DD and LD cohorts, which were supported by changes at the phenotypic level (body and eye pigmentation, growth rate, fecundity, survival, metabolic rate) in adaptive but also non-adaptive directions. Our results suggest that persistent invasion of caves by asellids may be enabled by phenotypic plasticity in relation to darkness, as previously shown for the cavefish *Astyanax mexicanus*.

Keywords: *Asellus aquaticus*, cave colonization, phenotypic plasticity, *Proasellus coxalis*

O-7

ADAPTIVNA EVOLUCIJA KAPELSKE SVIJETLICE (*Telestes karsticus*) NA ŠPILJSKA STANIŠTA

H. Bilandžija^{1,2}, M. Čupić¹, M. Lukic^{1,2}, M. Matković³, S. A. Blažević³, R. Gračan³, Z. Marčić³

¹Zavod za molekularnu biologiju, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (hbilandz@irb.hr, Mateo.Cupic@irb.hr, marko.lukic@irb.hr), ²Hrvatsko biospeleološko društvo, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (mmatkovic@stud.biol.pmf.hr, blazevic@biol.pmf.hr, romana.gracan@biol.pmf.hr, zoran.marcic@biol.pmf.hr)

Ribe iz rođiva *Telestes*, *Phoxinellus* i *Delminichthys* pronalaze zaklon u špiljama u vrijeme kada krški vodotoci presuše, no nakon što povoljni uvjeti ponovno nastupe, vraćaju se na površinu. Zbog toga se smatra da obligatorno špiljskih riba u Hrvatskoj, ali i na Dinaridima, nema. Ipak, tijekom nedavnih speleoloških istraživanja ponora Sušik, polje Lug, Velika Kapela, primjećeno je da kapelske svjetlice (*Telestes karsticus*) obitavaju u špilji tijekom cijele godine. Populacija je iznenađujuće velika te se procjenjuje na više od 600 jedinki. Ribe u ponoru su u prosjeku veće i starije u usporedbi s onima u potoku, te pokazuju niz morfoloških i fizioloških razlika poput svjetlike pigmentacije, manjih očiju, povećanog sastava masti i promjena u razinama neurotransmitera. Također, analize transkriptoma su pokazale da je kod riba u ponoru između ostalog došlo i do promjena u ekspresiji gena odgovornih za cirkadijalni ritam, metabolizam masti i ugljikohidrata, sintezu steroida, transport neurotransmitera i gametogenezu. S obzirom na navedeno, svjetlice iz ponora Sušik pokazuju niz adaptivnih promjena unatoč mogućoj konstantnoj migraciji riba iz potoka u ponor. Spomenute promjene sliče prilagodbama obligatornih špiljskih riba, a morale su se dogoditi u relativno kratkom vremenskom razdoblju, što čini ovu vrstu zanimljivim modelnim organizmom za proučavanje specijacije, rapidne i adaptivne evolucije i slično.

Ključne riječi: adaptivna evolucija, špiljske životinje, fenotipska plastičnost, diferencijalno eksprimirani geni, migracija

ADAPTIVE EVOLUTION OF KARSTIC DACE (*Telestes karsticus*) TO CAVE HABITATS

H. Bilandžija^{1,2}, M. Čupić¹, M. Lukić^{1,2}, M. Matković³, S. A. Blažević³, R. Gračan³, Z. Marčić³

¹Division of Molecular Biology, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (hbilandz@irb.hr, Mateo.Cupic@irb.hr, marko.lukic@irb.hr), ²Croatian Biospeleological Society, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia, ³Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (mmatkovic@stud.biol.pmf.hr, blazevic@biol.pmf.hr, romana.gracan@biol.pmf.hr, zoran.marcic@biol.pmf.hr)

Fish from the genera *Telestes*, *Phoxinellus*, and *Delminichthys* seek shelter in caves during dry periods when karst streams dry up, but return to the surface when favourable conditions return. For this reason, it is assumed that there are no cave fish in Croatia or in the Dinaric Karst. However, during recent speleological surveys of Sušik Cave, Polje Lug, Velika Kapela Mt, it was found that the karstic dace (*Telestes karsticus*) lives in the cave all year round. The population is surprisingly large and is estimated at more than 600 individuals. In addition, fish in the cave are on average larger and older and exhibit a number of morphological and physiological changes compared to fish in the stream, including lighter pigmentation, smaller eyes, higher fat content, and changes in neurotransmitters. Transcriptome analyses also revealed altered expression of genes involved in circadian rhythm, lipid and carbohydrate metabolism, steroid synthesis, neurotransmitter transport, and gametogenesis, among others. In summary, despite the ongoing migration from the surface to the Sušik sinkhole, fish from the cave exhibit numerous changes. These changes are similar to adaptations of cave-dwelling fishes and must have occurred within a relatively short period of time, making this species a very interesting model system for studying speciation, rapid and adaptive evolution, and the like.

Keywords: adaptive evolution, cave-dwelling animals, phenotypic plasticity, differentially expressed genes, migration

O-8

PLEIOTROPNI UČINCI GUBITKA PIGMENTACIJE KOD ŠPILJSKOG PUŽA *Physella* sp.

M. Grgić¹, R. G. Weck², G. Kerestes³, H. Bilandžija¹

¹Zavod za molekularnu biologiju, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (mgrgic@irb.hr, hbilandz@irb.hr), ²Southwestern Illinois College, Belleville, Illinois 62221, USA (Bob.Weck@swic.edu), ³Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (gkerestes@stud.biol.pmf.hr)

Gubitak pigmentacije je evoluirao kod većine špiljskih životinja. Međutim, vrlo malo se zna o molekularnim mehanizmima i evolucijskim uzrocima ove adaptacije. Kako bi rasvjetlili ovaj problem, kao modelni organizam koristimo slatkovodnog puža *Physella* sp. Ova vrsta obitava u jednoj špilji u Illinoisu, SAD, a dolazi u nekoliko različitih morfotipova, od potpuno pigmentiranih do albino jedinki. Pomoću testa supstrata melanogeneze, utvrdili smo da je sinteza melanina blokirana u prvom koraku kod albino jedinki. Kako bismo testirali postoje li potencijalni pleiotropni učinci ove opstrukcije, puževe smo podvrgnuli testu otpornosti na anestetik (AR). Albino morfotip je pokazao veću razinu AR-a u usporedbi sa pigmentiranim morfotipom, a AR u oba tipa kontrolira noradrenergički sustav. Ovi rezultati se mogu objasniti potencijalnim preusmjerenjem zajedničkog prekursora L-tirozina, iz sinteze melanina prema sintezi

kateholamina, kao što je ranije utvrđeno na albino špiljskoj ribi *Astyanax mexicanus*. Ovakva izmjena resursa bi špiljskim životinjama omogućila bolju pozornost i dulju budnost koja bi pak bila korisna za traženje hrane i partnera, obično vrlo oskudnih u špiljama. Nadalje, sekvencirali smo transkriptome kako bi saznali postoje li razlike u ekspresiji gena uključenih u sintezu melanina, i drugih, potencijalno povezanih osobina, između ova dva morfotipa. Naši rezultati će pomoći u rasvjetljavanju konvergentne evolucije albinizma kod špiljskih životinja.

Ključne riječi: albinizam, gubitak pigmentacije, melanin, adaptacija na špilje, pleiotropija, adaptivna evolucija

PLEIOTROPY AS THE MECHANISM BEHIND MELANIN LOSS IN CAVE SNAIL *Physella* sp.

M. Grgić¹, R. G. Weck², G. Keresteš³, H. Bilandžija¹

¹Division of Molecular Biology, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (mrgvic@irb.hr, hbilandz@irb.hr), ²Southwestern Illinois College, 2500 Carlyle Ave., Belleville, Illinois 62221, USA (Bob.Weck@swic.edu), ³Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (gkerestes@stud.biol.pmf.hr)

Loss of pigmentation has evolved in the majority of cave species, but not much is known about the molecular mechanisms and underlying evolutionary causes for the prevalence of this trait. To shed more light on this problem, we are using the freshwater gastropod *Physella* sp. that occurs in several morphotypes including fully pigmented and albino, within the same cave in Illinois, US. Using melanogenic substrate assay, we found that melanin synthesis is blocked in the first step of its pathway. To test for the pleiotropic effects of this interruption, we used the anesthesia resistance assay (AR). The albino morph of *Physella* sp. shows higher resistance to the anesthetic compared to the pigmented morph. Noradrenergic signaling controls AR in both morphs. A possible redirection of the common precursor L-tyrosine, from melanin into catecholamine synthesis as previously shown in the albino cavefish *Astyanax mexicanus*, may explain these results. Such a resource shift may allow for higher alertness and longer periods of wakefulness, which could be beneficial for cave dwellers since food and mates are usually in short supply. In addition, we sequenced RNA to reveal differences in the expression of genes involved in melanin synthesis and other possibly related traits between the two *Physella* morphs. These results will help us understand the convergent evolution of albinism in cave animals.

Keywords: cave adaptation, albinism, loss of pigmentation, melanin, pleiotropy, adaptive evolution

O-9

STOLJETNA TAKSONOMSKA ZBRKA OKO VRSTE *Wiedemannia zetterstedti* I SRODNIH VRSTA KONAČNO JE RAZRIJEŠENA (DIPTERA: EMPIDIDAE): REVIZIJA GRUPE *W. zetterstedti*

M. Ivković¹, B. J. Sinclair², E. Wahlberg³

¹Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (mivkovic@biol.pmf.hr), ²Canadian National Collection of Insects, Ottawa Plant Laboratory – Entomology, CFIA, Ottawa, Kanada (bradley.sinclair@inspection.gc.ca), ³Department of Zoology, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Švedska (Emma.Wahlberg@nrm.se)

Rod *Wiedemannia* Zetterstedt vodenih muha plesačica (Empididae) jedan je od dominantnih rodova u potocima i malim rijekama Europe. Grupa *Wiedemannia zetterstedti* revidirana je nakon pregleda svih dostupnih tipskih primjeraka i uključuje jednu novu vrstu (*Wiedemannia ulrichi* Ivković & Sinclair sp. nov.) i četiri ponovno opisane vrste (*Wiedemannia czernyi* (Bezzi), *Wiedemannia longipennis* (Mik) rev., *Wiedemannia rufipes* (Oldenberg) stat. rev. i *Wiedemannia zetterstedti* (Fallén)). Predlažu se sljedeći novi sinonimi: *Wiedemannia (Roederella) ouedorum* Vaillant, 1952 = *Wiedemannia czernyi* (Bezzi, 1905); *Paramesia riparia* Robert, 1836 = *Wiedemannia zetterstedti* (Fallén, 1826). Lektotipovi su označeni za sljedeće vrste: *Atalanta hirtiloba* Speiser, *Brachystoma escheri* Zetterstedt, *Clinocera czernyi* Bezzi, *Clinocera longipennis* Mik, *Paramesia riparia* Robert i *Roederia czernyi rufipes* Oldenberg. Uz morfološke dokaze, koncepti molekularnih vrsta istraživani su korištenjem molekularne filogenetske divergencije temeljene na razgraničenju vrsta (bPTP) te su potvrđeni morfološki zaključci. Napravljen je ključ za tu skupinu vrsta i geografska rasprostranjenost svih vrsta u Europi je kartirana.

Ključne riječi: Clinocerinae, vodene muhe plesačice, nove vrste, rasprostranjenost, Europa

THE CENTURY OLD TAXONOMIC CONFUSION SURROUNDING *Wiedemannia zetterstedti* AND RELATED SPECIES IS FINALLY RESOLVED (DIPTERA: EMPIDIDAE): REVISION OF *W. zetterstedti* GROUP

M. Ivković¹, B. J. Sinclair², E. Wahlberg³

¹Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (mivkovic@biol.pmf.hr), ²Canadian National Collection of Insects, Ottawa Plant Laboratory – Entomology, CFIA, Ottawa, Canada (bradley.sinclair@inspection.gc.ca),

³Department of Zoology, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden (Emma.Wahlberg@nrm.se)

The aquatic dance fly genus *Wiedemannia* Zetterstedt is the one of the dominate dance flies (Empididae) in streams and small rivers of Europe. The *Wiedemannia zetterstedti* species group is revised after examination of all available type specimens and includes one new species (*Wiedemannia ulrichi* Ivković & Sinclair sp. nov.) and four re-described species (*Wiedemannia czernyi* (Bezzi), *Wiedemannia longipennis* (Mik) stat. rev., *Wiedemannia rufipes* (Oldenberg) stat. rev. and *Wiedemannia zetterstedti* (Fallén)). The following new synonyms are proposed: *Wiedemannia (Roederella) ouedorum* Vaillant, 1952 = *Wiedemannia czernyi* (Bezzi, 1905); *Paramesia riparia* Robert, 1836 = *Wiedemannia zetterstedti* (Fallén, 1826). Lectotypes are designated for the following species: *Atalanta hirtiloba* Speiser, *Brachystoma escheri* Zetterstedt, *Clinocera czernyi* Bezzi, *Clinocera longipennis* Mik, *Paramesia riparia* Robert, and *Roederia czernyi rufipes* Oldenberg. In addition to morphological evidence, molecular species concepts were investigated using a molecular phylogenetic divergence-based species delimitation (bPTP) and results confirmed the morphological conclusions. A key to species group is made and geographic distribution of all species in Europe is mapped.

Keywords: Clinocerinae, aquatic dance flies, new species, distribution, Europe

O-10

ALBINIZAM JE POSLJEDICA GUBITKA OMOKROMA KOD ŠPILJSKIH JEDNAKONOŽNIH RAKOVA (ISOPODA, CRUSTACEA)

L. Jovović¹, F. Figon², H. Bilandžija^{1,3}

¹Zavod za molekularnu biologiju, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (lada.jovovic@irb.hr, helena.bilandzija@irb.hr), ²Laboratoire d'écologie alpine (LECA), CNRS-Université Grenoble Alpes-Université Savoie Mont-Blanc, 2233 Rue de la Piscine, 38041 Grenoble, Francuska (florent.figon@univ-grenoble-alpes.fr), ³Croatian Biospeleological Society (CBSS), Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Špiljske životinje pokazuju mnoštvo konvergentnih prilagodbi, a jedna od najpoznatijih je albinizam ili gubitak pigmentacije. Do sada je proučavan uglavnom s aspekta gubitka melanina, dok je evolucija albinizma kao posljedica nestanka bilo kojeg drugog pigmenta, uključujući i omokrome, neistražena. Omokromi su derivati triptofana i česti pigmenti kod beskralježnjaka, uključujući i jednakonožne rakove. Da bi se razumjela evolucija albinizma kod špiljskih jednakonožnih raka, prvo je potrebno potvrditi prisustvo omokroma kod najbližih nadzemnih srodnika. Koristeći tekućinsku kromatografiju u kombinaciji s masenom spektrometrijom, prvi put smo, prema našim saznanjima, identificirali omokrome kod tri skupine nadzemnih raka: obitelji Sphaeromatidae (Flabellifera) i Trichoniscidae (Oniscidea) i rodu *Proasellus* (Asellota). Nadalje, kvantificirali smo prekursore sinteze omokroma u nadzemnim i špiljskim vrstama kako bismo odredili koji je korak biosinteze blokiran kod albino vrsta. Naši rezultati ukazuju da je blokada sinteze omokroma dominantno na početku ove anaboličke kaskade budući da smo primijetili nakupljanje triptofana kod špiljskih vrsta. Kako bismo otkrili gene i mutacije koje bi mogle biti odgovorne za gubitak omokroma, sastavili smo de novo transkriptome za nekoliko parova nadzemnih i špiljskih srodnika. Naši preliminarni rezultati pokazuju smanjenu ekspresiju glavnih gena uključenih u sintezu omokroma kod albino špiljskih vrsta iz roda *Proasellus*.

Ključne riječi: omokromi, špiljski jednakonožni raki, albinizam, adaptivna evolucija

ALBINISM IS A CONSEQUENCE OF OMMOCHROME LOSS IN CAVE-ADAPTED ISOPODS (ISOPODA, CRUSTACEA)

L. Jovović¹, F. Figon², H. Bilandžija^{1,3}

¹Division of Molecular Biology, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (lada.jovovic@irb.hr, helena.bilandzija@irb.hr), ²Laboratoire d'écologie alpine (LECA), CNRS-Université Grenoble Alpes-Université Savoie Mont-Blanc, 2233 Rue de la Piscine, FR-38041 Grenoble, France (florent.figon@univ-grenoble-alpes.fr), ³Croatian Biospeleological Society (CBSS), Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Cave-dwelling species exhibit a plethora of convergent adaptations. One of the hallmarks is albinism, or loss of pigmentation. To date, the loss of melanin has been studied primarily, while the evolution of albinism as a result of a lack of other pigments, including ommochromes, remains unexplored. Ommochromes are tryptophan derivatives and widely distributed pigments in invertebrates, including isopods. The presence of ommochromes in closest surface relatives is the first step that needs to be taken to understand the evolution of albinism in cave isopods. Using liquid chromatography coupled with mass spectrometry, we have identified ommochromes for the first time and to the best of our knowledge in three groups of surface isopods: the families Sphaeromatidae (Flabellifera) and Trichoniscidae (Oniscidea) and the genus *Proasellus* (Asellota). In addition, we quantified the precursors of ommochrome synthesis in both surface and cave

species to determine which step of the synthetic pathway may be malfunctioning in albino isopods. Our results suggest that the disruption of ommochrome synthesis is preferentially at the beginning of this anabolic cascade, as we observed an accumulation of tryptophan in cave dwellers. To detect genes and mutations that might be involved in the loss of ommochrome pigmentation, we assembled de novo transcriptomes for several pairs of surface-cave relatives. Our preliminary results show downregulation of key genes for ommochrome synthesis in albino cave dwellers of the genus *Proasellus*.

Keywords: ommochromes, cave isopods, albinism, adaptive evolution

O-11

PRIČA O JUŽNOM LASTINOM REPU (*Papilio alexanor*) U HRVATSKOJ

T. Koren

Udruga Hyla, Lipovac I, n. 7, 10000 Zagreb, Hrvatska (toni.koren@hhdhyla.hr)

Južni lastin rep (*Papilio alexanor*) jedna je od najrjeđih i najzagonetnijih vrsta leptira u Hrvatskoj. Povijesna opažanja vrste sežu od kraja 19. do sredine 20. stoljeća, no donedavno se o ovoj vrsti u Hrvatskoj nije znalo gotovo ništa. Nakon ponovnog otkrića u dalmatinskom primorju 2014. godine, provedeno je ciljano istraživanje na njegovom povijesnom području rasprostranjenja. To je uključivalo šira vremenska razdoblja, odabir odgovarajućih staništa i potragu za biljkama hraniteljicama. Istraživane su i odrasle jedinke i gusjenice, a *Opapanax chironium* je potvrđen kao jedina poznata biljka hraniteljica u Hrvatskoj. Prikupljeni su novi podaci o rasprostranjenosti, staništu, razdoblju leta i brojnosti ove vrste. Preliminarni rezultati ukazuju na to da su populacije male, udaljene i sklone lokalnom izumiranju. Međutim, većina staništa vrste, posebno strme litice okrenute prema jugu, nisu lako dostupna i sklona sukcesiji. Glavna prijetnja opstanku vrste je uništavanje rubova cesta i padina na kojima *O. chironium* raste u izobilju, kao i ilegalno sakupljanje. Kako bi se utvrdio status ugroženosti, potrebno je provesti dugotrajno praćenje populacija uzduž područja rasprostranjenosti vrste u Hrvatskoj. Budući da su odrasle jedinke obično malobrojne i vrlo pokretljive, za praćenje populacija ove vrste puno je primjerenije istraživanje gusjenica koje su lako vidljive i prepoznatljive.

Ključne riječi: Lepidoptera, Papilionidae, rasprostranjenost, Direktiva o staništu, Dodatak IV

THE STORY OF THE SOUTHERN SWALLOWTAIL (*Papilio alexanor*) IN CROATIA

T. Koren

Association Hyla, Lipovac I, n. 7, 10000 Zagreb, Croatia (toni.koren@hhdhyla.hr)

The southern swallowtail (*Papilio alexanor*) is one of the rarest and most enigmatic butterfly species in Croatia. Historical observations of the species stretch from the end of 19th century until the middle of the 20th century, but until recently, almost nothing about this species in Croatia was not known and the species. Following its rediscovery in the Dalmatian costal area in 2014, a targeted survey was conducted across its historical range. This included wider time periods, the selection of appropriate habitats and the search for its hostplants. Both the adults and caterpillars were surveyed, and *Opapanax chironium* was confirmed as the only known hostplant in Croatia. New data about its distribution, habitat, flight period and abundance have

been collected. The preliminary results show that the populations are small, far apart and prone to local extinctions. However, most of the species' habitat, especially steep southern-facing cliffs, are not easily accessible, and not prone to succession. The main threat to its survival is the destruction of road edges and slopes on which *O. chironium* grows in abundance, as well as illegal collecting. In order to assess its conservation status, a long-term monitoring should be implemented across its range in Croatia. Since adults are usually not numerous and very mobile, it is much more appropriate to monitor its populations using caterpillars that are easily visible and recognizable.

Keywords: Lepidoptera, Papilionidae, distribution, Habitats Directive, Annex IV

O-12

USPOREDBA RAZNOLIKOSTI KONTROLNE REGIJE MITOHONDRIJSKE DNA KONTINENTALNIH I MORSKIH POPULACIJA CRVENOKLJUNE ČIGRE (*Sterna hirundo*) U HRVATSKOJ

V. Lončar¹, I. Svetličić¹, J. Kralj², L. Jurinović³, A. Galov¹

¹Bioološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (veronika.loncar@biol.pmf.hr), ²Zavod za ornitologiju, Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, Gundulićeva 24, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Hrvatski veterinarski institut, Centar za peradarstvo, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska

Crvenokljuna čigra (*Sterna hirundo*) je kolonijalna ptica iz porodice galebova (Laridae) koja se uglavnom gniježdi na niskim morskim obalama, ali nastanjuje i slatkvodna staništa, poput šljunčanih otoka na rijeckama te umjetnih gnjezdilišta. U Hrvatskoj morske kolonije broje svega nekoliko desetaka parova, dok kontinentalne populacije uz rijeku Savu i Dravu mogu imati i do 130 parova. Procjena genetičke raznolikosti populacija važna je za uspostavu odgovarajućih koraka njihove zaštite. Cilj ovog istraživanja bio je odrediti haplotipove kontrolne regije mitohondrijske DNA kopnenih i morskih populacija crvenokljune čigre iz Hrvatske, te usporediti njihovu genetičku raznolikost. Analizirali smo 78 uzoraka s tri različite populacije (38 sa Save, 17 s Drave i 23 s jadranske obale) sekvenciranjem dijela kontrolne regije mtDNA duljine 709 pb. Pronašli smo 20 haplotipova s 13 polimorfni mesta, od kojih sedam haplotipova nije pronađeno u prethodnim istraživanjima. Najčešći haplotip je Stehi03 frekvencije iznad 43 %. Ukupna raznolikost haplotipova je relativno visoka (0,795), dok je nukleotidna raznolikost niska (0,00249). Populacija Save imala je najveći broj haplotipova (16). Indeksi raznolikosti najviši su za populaciju Drave te najniži za morskiju populaciju. Ovi rezultati ukazuju na potencijalno veću genetičku raznolikost slatkvodnih populacija, ali potrebna su dodatna istraživanja za planiranje budućih smjernica očuvanja čigri u Hrvatskoj.

Ključne riječi: crvenokljuna čigra, mitohondrijska DNA, kontrolna regija, genetička raznolikost, Hrvatska

COMPARISON OF DIVERSITY OF MITOCHONDRIAL DNA CONTROL REGION OF INLAND AND MARINE POPULATIONS OF COMMON TERN (*Sterna hirundo*) IN CROATIA

V. Lončar¹, I. Svetličić¹, J. Kralj², L. Jurinović³, A. Galov¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (veronika.loncar@biol.pmf.hr), ²Institute of Ornithology, Croatian Academy of

The common tern (*Sterna hirundo*) is a colonial bird from the family Laridae which breeds on low-lying marine coastal areas, but its habitats also include freshwater gravel islands and artificial nesting sites. Marine colonies in Croatia are less abundant, counting several dozens of breeding pairs, while inland colonies concentrated around the rivers Sava and Drava can have up to 130 breeding pairs. Assessing the genetic variability of populations is necessary for conservation efforts. Our goal was to determine mitochondrial DNA control region haplotypes of inland and marine populations of common tern from Croatia and to compare their genetic diversity. We analyzed 78 samples from three different populations (38 from the river Sava, 17 from the river Drava and 23 from the Adriatic coast), by sequencing 709 bp-long fragments of the mtDNA control region. We have found 20 haplotypes with 13 segregating sites, seven of which were not found in previous studies. The most common haplotype is Stehi03 with a frequency of over 43 %. Overall haplotype diversity is relatively high, while nucleotide diversity is low, with values estimated at 0.795 and 0.00249, respectively. The Sava population has the highest number of haplotypes (16). Diversity indices are highest for the Drava population and lowest for the marine population. The results indicate that freshwater populations might harbor more genetic diversity, but further studies are necessary for future conservation guidelines.

Keywords: common tern, mitochondrial DNA, control region, genetic diversity, Croatia

O-13

REZULTATI ZNANSTVENO-ISTRAŽIVAČKOG PROJEKTA UNAPREĐENJE USLUGA ŠUMSKIH EKOSUSTAVA HRVATSKE KROZ VREDNOVANJE BIORAZNOLIKOSTI GLJIVA TEMELJENOJ NA DNA BARKODIRANJU

A. Mešić, Z. Tkalčec, I. Kušan, N. Matočec, A. Pošta, L. Pole, M. Jambrek, Ž. Zgrablić
Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (amesic@irb.hr)

Hrvatsku karakterizira velika bioraznolikost jer se nalazi na sjecištu četiri biogeografske regije: Kontinentalne, Mediteranske, Panonske i Alpske. Gljive imaju niz važnih ekoloških uloga u šumama kojima doprinose zdravlju i stabilnosti šumskih ekosustava. Šume i šumsko zemljište pokrivaju oko 49% ukupne kopnene površine Hrvatske. Gljive su najmanje istražena velika skupina organizama u našoj zemlji jer je od očekivanih 20.000 vrsta zabilježeno samo oko 5.000 (25%). Glavni cilj ovog četveroipolgodишnjeg projekta (2018.–2023.) financiranog od Hrvatske zaklade za znanost je istražiti bioraznolikost gljiva u šumama Hrvatske uz pomoć metoda DNA barkodiranja te analizirati njihov utjecaj na usluge šumskih ekosustava. U prve tri i pol godine projekta objavljeno je 18 znanstvenih radova u međunarodno recenziranim časopisima u kojima su 14 vrsta i dva roda publicirani kao novi za znanost. Do danas je generirano otprilike 1.000 DNA barkod sekvenci iz uzoraka gljiva pohranjenih u Hrvatskom nacionalnom fungariju. Važan rezultat projekta je i kontinuirano usavršavanje mladih istraživača što je vezano uz tri doktorske disertacije koje su trenutno u izradi. Tijekom projekta pokrenute su i nove znanstvene suradnje hrvatskih istraživača s kolegama iz Kine, Švedske, Slovačke, Češke, SAD-a i Velike Britanije. Pokrenuti su novi znanstveni smjerovi na kojima će se u budućnosti intenzivnije raditi, kao što je istraživanje zajednica gljiva metodama eDNA metabarkodiranja okolišnih uzoraka.

Ključne riječi: gljive, DNA barkodiranje, šumski ekosustavi, bioraznolikost, taksonomija, novi taksoni

RESULTS OF THE SCIENTIFIC RESEARCH PROJECT ENHANCEMENT OF CROATIAN FOREST ECOSYSTEM SERVICES THROUGH ASSESSMENT OF FUNGAL DIVERSITY BASED ON DNA BARCODING

A. Mešić, Z. Tkalčec, I. Kušan, N. Matočec, A. Pošta, L. Pole, M. Jambrek, Ž. Zgrablić

Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (amesic@irb.hr)

Croatia is characterized by a great biodiversity, as it is located on the intersection between Continental, Mediterranean, Pannonian, and Alpine biogeographical regions. Fungi play a number of important ecological roles in forests and contribute to the health and stability of the forest ecosystems. Forests and forest land cover about 49% of the total land area of the Republic of Croatia. Fungi are the least studied major group of organisms in Croatia, as only about 5,000 of the expected 20,000 species have been recorded so far (25%). The main aim of this four and a half year project (2018–2023), funded by the Croatian Science Foundation, is to assess fungal species diversity in forests of Croatia using DNA barcoding methods and to analyze its impact on forest ecosystem services. In the first three and a half years of the project 18 scientific papers were published with 14 fungal species and two fungal genera described as new to science. Approximately 1,000 fungal DNA barcodes were obtained to date from voucher material deposited in the Croatian National Fungarium (CNF). An important outcome of the project is the ongoing training of young mycologists, especially three PhD students. New scientific collaborations of Croatian scientists have been established with researchers from China, Sweden, Slovakia, Czechia, USA, and the United Kingdom. New research directions for the future have been identified e.g. fungal eDNA metabarcoding.

Keywords: Fungi, DNA barcoding, forest ecosystems, biodiversity, taxonomy, new taxa

O-14

DOMINANTAN, A NEPOZNAT VODENI KORNJAŠ (INSECTA: COLEOPTERA) KRŠKIH IZVORA EUROPE

V. Mičetić Stanković¹, B. Brubo Mađarić², M. Kučinić³

¹Zoološki odjel, Hrvatski prirodoslovni muzej, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Hrvatska (vlatkams@hpm.hr), ²Institut „Ruđer Bošković“ Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (Branka.Brubo.Madjaric@irb.hr), ³Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (mkucinic@biol.pmf.hr)

Krški izvori su odavno prepoznati kao važna staništa i s antropogenog aspekta i aspekta očuvanja bioraznolikosti. Uz već poznate grupe kukaca i vodenih kornjaša, naročito slapoljubi (Insecta: Elmidae), pokazatelji kvalitete staništa prvenstveno zbog načina disanja i životnog ciklusa. No, za razliku od zapadne u jugoistočnoj Europi su vodeni kornjaši ujvejk ostajali van fokusa znanstvenih istraživanja. Stoga je i dominantna vrsta kornjaša u izvorima, izvorski slapoljub (*Elmis bosnica* (Zaitzev, 1908)), donedavno bio ignoriran, čemu su doprinijele i krive determinacije te vrste. Ovim je radom prikazano prvo sustavno istraživanje izvorskog slapoljuba na području jugoistočne Europe provedeno od 2004. do 2019. godine, uz analizu literaturnih podataka i muzejskih zbirki. Prikazane su: a) determinacijske značajke; b) rezultati prvog DNA barkodiranja; c) populacijske i

ekološke značajke vrste. Izvorski slapoljub je zabilježen u ukupno 46 izvora. Potvrđeno je usko filogenetsko srodstvo s vrstama *E. aenea* (Müller, 1806) i *E. rioloides* (Kuwert, 1870). Podaci ukazuju da je zbog svoje iznimne osjetljivosti izvorski slapoljub izvrstan pokazatelj uvjeta u staništu. Obzirom na nezahtjevnu determinaciju ova vrsta ima potencijal bioindikatora krških izvora jugoistočne Europe. Ovo istraživanje doprinosi budućoj neophodnoj zaštiti i monitoringu kako faune tako i samih krških vodenih ekosustava, čiji su neizostavan segment i vodeni kornjaši.

Ključne riječi: biondikator, ekologija, *Elmis bosnica* (Zaitzev, 1908), integrativna taksonomija, slatkvodno

DOMINANT YET OVERLOOKED WATER BEETLE (Insecta: Coleoptera) IN KARST SPRINGS OF EUROPE

V. Mičetić Stanković¹, B. Brubo Mađarić², M. Kučinić³

¹Department of Zoology, Croatian Natural History Museum, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Croatia (vlatkams@hpm.hr), ²Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (Branka.Brubo.Madjaric@irb.hr), ³Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (mkucinic@biol.pmf.hr)

Karst springs are areas of particular importance, both from an anthropogenic point of view and for biodiversity conservation. Besides well-known insect groups, water beetles, especially elmidids (Insecta: Elmidae), are used as biological indicators, mainly because of their life cycle and respiration mechanism. But unlike in Western Europe, they have always been overlooked in its southeastern part. Thus, the dominant spring species, the spring elmid (*Elmis bosnica* (Zaitzev, 1908)), has been ignored and previously misidentified. This study represents the first review of field data collected from southeastern Europe from 2004 until 2019, as well as the data from the literature and museum collections. Identification characters are presented and the first DNA barcoding is carried out. Both population and ecological traits are analyzed in detail. Spring elmid is recorded in 46 springs and other waterbodies. The close phylogenetic relationship of *E. bosnica* with *E. aenea* (Müller, 1806) and *E. rioloides* (Kuwert, 1870) is confirmed. The species showed as an environmental descriptor with high potential as a bioindicator of karst springs in Southeastern Europe. This study clearly contributes to the future conservation and monitoring of fauna and karst water ecosystems, which is particularly needed in this part of Europe.

Keywords: bioindicator, ecology, *Elmis bosnica* (Zaitzev, 1908), integrative taxonomy, freshwater

O-15

PRVO MOLEKULARNO FILOGENETSKO STABLO NOĆNIH LEPTIRA IZ PORODICE ZYGAENIDAE

M. Mirić

Department of Biology, Lund University, Sölvegatan 35, Hus I, 22362 Lund, Švedska (mirela.miric@biol.lu.se)

Ovim radom vam predstavljam prvo sveobuhvatno molekularno filogenetsko stablo Ivanjskih ptičica dobiveno analizom 30 gena od 189 vrsta iz 39 rodova porodice Zygaenidae. Osim što smo sekvencionirali osam novih gena, iskoristili smo sve javno dostupne sekvene. Metodom maksimalne vjerodostojnosti potvrđena je monofilija porodice, također za potporodice koje su bile

predstavljene sa više od jedne vrste. Potporodica Zyginae je monofiletska skupina te je srodnna svim ostalim potporodicama Zygaenidae (Callizygaeninae (Chalcosiinae, Procridinae)). Bayesovim zaključkom testirali smo podrijetlo porodice koristeći se sekundarnim kalibracijskim točkama. Dobivenim rezultatima predpostavljamo da podrijetlo Zygaenidae potiče iz kasne Krede (ca. 83 Ma), čak prije Kredno-paleogenskog (K-Pg) izumiranja (ca. 66 Ma). Prva divergencija se dogodila u kasnoj Kredi (ca. 75 Ma), kada je potporodica Zyginae divergirala od ostatka potporodica, i.e. Callizygaeninae, Chalcosiinae and Procridinae. Divergencija rodova potporodice Zygaeninae počela se odvijati u paleocenu, dok su rodovi Procridinae potporodice divergirali u eocenu. Naši rezultati su kamen temeljac za buduća istraživanja evolucije, biogeografije Ivanjskih pticica te su korak naprijed u razrješavanju filogenije reda Lepidoptera.

Ključne riječi: molekularna filogenija, Sanger sekvenciranje, metoda maksimalne vjeodostojnosti, podrijetlo, Ivanjske pticice, Zygaenidae, Lepidoptera

THE 83 MILLION YEAR OLD FAMILY TREE OF BURNET MOTHS

M. Mirić

Department of Biology, Lund University, Sölvegatan 35, Hus I, 223 62 Lund, Sweden
(mirela.miric@biol.lu.se)

Timing of divergence I present the first comprehensive molecular phylogenetic study of 189 species from 39 genera of zygaenid moths, represented by data from 30 gene fragments. In addition to eight newly sequenced genes, we gathered all publicly available sequences. I also carried out a timing of divergence analysis to infer the age of the different lineages. I recovered strong support for the monophyly of Zygaenidae. All subfamilies for which we sampled multiple species were recovered as monophyletic, except for the newly described Inouelinae for which we have only sampled one gene fragment. The subfamily Zyginae is strongly supported as monophyletic and is recovered as sister to the clade comprising of all the remaining subfamilies (Callizygaeninae (Chalcosiinae, Procridinae)). Our timing of divergence analysis suggests that the lineage leading to the extant Zygaenidae diverged in Late Cretaceous (ca. 83 Ma), which was before the Cretaceous–Paleogene (K-Pg) mass extinction event (ca. 66 Ma). The first split within the family happened in the Late Cretaceous (ca. 75 Ma), where Zyginae diverged from the rest of the family, i.e. Callizygaeninae, Chalcosiinae and Procridinae. The first splits within the subfamilies, i.e. divergence of genera, were in Zyginae in the Paleocene, followed by Procridinae in the Eocene. Our results form a strong basis for future studies of zygaenid evolutionary history, including historical biogeography and diversification dynamics.

Keywords: molecular phylogenetics, Sanger sequencing, Maximum likelihood analysis, burnet moths, Zygaenidae, Lepidoptera

O-16

ISTRAŽIVANJE GLJAVA NA PODRUČJU SREDNJE DALMACIJE

D. Stermšek, T. Milat, N. Ževrnja

Prirodoslovni muzej i zoološki vrt Split, Kolombatovićevo šetalište 2, 21000 Split, Hrvatska
(stermsek@prirodoslovni.hr, tino.milat@prirodoslovni.hr, nediljko@prirodoslovni.hr)

Prirodoslovni muzej Split započeo je projekt sustavnog istraživanja gljiva na području srednje Dalmacije tijekom 2019. godine vođen spoznjom da takvo istraživanje do tada nije obavljeno. Prva terenska istraživanja obavljena su na području kopnenog dijela Splitsko-dalmatinske županije (Zelovo, Dubrava, kanjon Cetine), da bi se kasnije istraživanja proširila na otok Brač (Nerežića), te Dubrovačko-neretvansku županiju (otok Lastovo, Duboke). Predmeti ovog istraživanja su organizmi iz dva odjeljka Eumycota (prave gljive) i to: Ascomycota (mješinarke) i Basidiomycota (stapčarke). Primarni cilj projekta je stjecanje znanja o vrstama gljiva koje obitavaju na području srednje Dalmacije, njihova brojnost, raznolikost i geografska rasprostranjenost. U sklopu projekta osnovane su stručna i edukativna zbirka gljiva, uspostavljena je metodologija prikupljanja, determinacije, obrade i očuvanja plodišta, vođenje podataka kroz bazu podataka i kartografski prikaz nalaza, te se stvara bogata fototeka. U protekle tri godine obavljeno je 127 terenskih istraživanja na 40 lokaliteta tijekom kojih je prikupljeno 1865 plodišta od 450 vrsta gljiva. U prvoj fazi projekta naglasak istraživanja je na vrstama (inventarizacija), a u drugoj fazi na lokalitetima (geografska rasprostranjenost i brojnost pojedinih vrsta).

Ključne riječi: gljive, srednja Dalmacija, Hrvatska

FUNGI RESEARCH IN THE AREA OF CENTRAL DALMATIA

D. Stermšek, T. Milat, N. Ževrnja

Natural History Museum and Zoo, Kolombatovićevo šetalište 2, 21000 Split, Croatia
(stermsek@prirodoslovni.hr, tino.milat@prirodoslovni.hr, nediljko@prirodoslovni.hr)

The Natural History Museum of Split started a project of systematic research of fungi in the area of central Dalmatia in 2019, guided by the realization that such a project was never made. The first field research was conducted in the mainland of Splitsko-dalmatinska County (Zelovo, Dubrava, Cetina canyon), and later research was extended to the island of Brac (Nerezisca) and Dubrovačko-neretvanska County (island of Lastovo, Duboke). The subject of this research are organisms from the kingdom of Fungi comprising two phyla - Ascomycota and Basidiomycota belonging to the group Eumycota (real mushrooms). The primary goal of the project is to acquire knowledge about the species of fungi that live in central Dalmatia, their number, diversity and geographical distribution. As part of the project, a professional and educational collection of fungi was established, and a methodology for collecting, determining, processing and preserving fruiting bodies, data management through a database and a cartographic presentation of findings, photo libraries were established. During the three years, 127 field surveys were conducted at 40 localities, and 1,865 fruiting bodies of 450 species were collected. In the first phase of the project, the emphasis of the research is on species (inventory), and in the second phase on localities (geographical distribution and number of individual species).

Keywords: fungi, central Dalmatia, Croatia

O-17

GENOMSKA DIVERGENCIJA *Dianthus sylvestris* WULFEN S.L. NA BALKANSKOM POLUOTOKU

M. Temunović¹, A. Terlević², H. Luqman³, S. Bogdanović⁴, A. Widmer³, S. Fior³, I. Rešetnik²

¹Zavod za šumarsku genetiku, dendrologiju i botaniku, Fakultet šumarstva i drvene tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Svetosimunska cesta 23, 10000 Zagreb, Hrvatska

(martina.temunovic@gmail.com), ²Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Trg Marka Marulića 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska (ana.terlevic@biol.pmf.hr, ivana.resetnik@biol.pmf.hr), ³Institute of Integrative Biology, ETH Zurich, Universitätstrasse 16, 8092 Zürich, Švicarska (hirzi.luqman@usys.ethz.ch, alex.widmer@usys.ethz.ch, simone.fior@usys.ethz.ch), ⁴Zavod za poljoprivrednu botaniku, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Svetosimunska cesta 25, 10000, Zagreb, Hrvatska (sbogdanovic@agr.hr)

Dianthus je jedan od najraznolikijih biljnih rodova na Mediteranu. *Dianthus sylvestris* s.l. obuhvaća niz morfološki izrazito varijabilnih taksona koji su rasprostranjeni diljem južne i jugoistočne Europe. S područja Apeninskog poluotoka opisane su brojne endemične vrste, dok je za područje Balkanskog poluotoka poznato šest taksona. Ovdje predstavljamo preliminarne rezultate genetske varijabilnosti populacija *D. sylvestris* s.l., sakupljenih na području Balkanskog i Apeninskog poluotoka te Alpa. Ovi rezultati dio su sveobuhvatnog istraživanja koje je u tijeku, a obuhvaća podatke o genomskoj divergenciji, veličini genoma, morfološkoj i ekološkoj varijabilnosti, s ciljem razjašnjavanja evolucijske povijesti i intraspecifičnih srodstvenih odnosa između balkanskih populacija *D. sylvestris*. Genetska struktura temeljem dobivenih RAD-seq SNP lokusa primjenjenih na 165 populacija ukazala je na postojanje Balkanske evolucijske linije koja je jasno odvojena od ostalih istraživanih populacija. Genetska diferencijacija između balkanskih populacija bila je relativno visoka, a izolacija uslijed udaljenosti izražena i značajna. Detaljnija analiza prostornog uzorka genomske varijabilnosti unutar balkanske linije ukazala je na postojanje dvije glavne grupe populacija na temelju Bayesovske klaster metode, dok je alternativna DAPC metoda sugerirala pet grupa kao optimalnu genetsku strukturu populacija. Analiza migracije gena ukazala je na najviši protok gena između dvije podgrupe sjeverno-zapadnog klastera, dok su relativno niže vrijednosti protoka gena detektirane između tri podgrupe jugo-istočnog klastera. Dobivene rezultate raspravljamo u svjetlu mogućih filogeografskih i povijesnih evolucijskih procesa koji su potencijalno oblikovali opaženi obrazac genomske divergencije istraživanih populacija ove kompleksne grupe biljaka.

Ključne riječi: genetska struktura, genetska varijabilnost, filogeografija, protok gena

GENOMIC DIVERGENCE OF *Dianthus sylvestris* WULFEN S.L. IN THE BALKAN PENINSULA

M. Temunović¹, A. Terlević², H. Luqman³, S. Bogdanović⁴, A. Widmer³, S. Fior³, I. Rešetnik²

¹Department of Forest Genetics, Dendrology and Botany, Faculty of Forestry and Wood Technology, University of Zagreb, Svetosimunska cesta 23, 10000 Zagreb, Croatia (martina.temunovic@gmail.com), ²Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Marko Marulić Square 20/II, 10000 Zagreb, Croatia (ana.terlevic@biol.pmf.hr, ivana.resetnik@biol.pmf.hr), ³Institute of Integrative Biology, ETH Zurich, Universitätstrasse 16, 8092 Zürich, Switzerland (hirzi.luqman@usys.ethz.ch, alex.widmer@usys.ethz.ch, simone.fior@usys.ethz.ch), ⁴Department of Agricultural Botany, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia (sbogdanovic@agr.hr)

Dianthus is one of the most diverse Mediterranean plant genera. *Dianthus sylvestris* s.l. comprises a number of morphologically highly variable taxa distributed across southern and south-eastern Europe, with numerous endemic taxa occurring in the Apennine Peninsula and six currently described subspecies distributed exclusively within the Balkan peninsula. We will here present the preliminary results of genetic divergence of *D. sylvestris* populations collected across the Balkan and Apennine Peninsulas, as well as the Alps. These results are a part of our ongoing research

combining genomic, genome size, morphometric and environmental data in attempt to resolve the evolutionary history and intraspecific relationships within the Balkan populations of *D. sylvestris*. The genetic structure based on RAD-seq SNP data applied to 165 populations suggested the existence of the Balkan lineage which was clearly separated from the rest of the investigated populations. Overall the genetic differentiation among the Balkan populations was relatively high, and isolation by distance was significant. More detailed spatial patterns of population genomic variation within the Balkan lineage suggested two major groups of populations based on Bayesian clustering, or five clusters based on model-free approach. Further migration analyses suggested highest rates of gene flow between two subgroups of the north-western cluster, while lower rates were inferred between the three subgroups of the south-eastern cluster. We discuss our results in the light of possible phylogeographic and historical processes leading to the observed population genomic divergence patterns in this complex plant group.

Keywords: genetic structure, genetic variation, genetic connectivity, phylogeography, gene flow

O-18

PHYLOGENY OF LATE PLEISTOCENE AND HOLOCENE BISON FROM SLOVENIA AND HUNGARY

L. Zver¹, E. Bužan^{2,3}, S. Potušek², U. Gerič², B. Toškan⁴

¹Research Centre of the Slovenian Academy of Sciences and Arts, Institute of Archaeology, Novi trg 2, 1000 Ljubljana, Slovenia (lars_zver@yahoo.de), ²University of Primorska, Faculty of Mathematics, Natural Sciences and Information Technologies, Department of Biodiversity, Glagoljaška 8, 6000 Koper, Slovenia, ³Faculty of Environmental Protection, Trg mladosti 7, 3320 Velenje, Slovenia, ⁴Research Centre of the Slovenian Academy of Sciences and Arts, Institute of Archaeology, Novi trg 2, 1000 Ljubljana, Slovenia

Based on morphological data, in the last 130.000 years two species of Bison were present in Europe: the extinct steppe bison (*Bison priscus*) during the Late Pleistocene and the extant European bison or wisent (*Bison bonasus*) during the Holocene. Phylogenetic inferences based on mitochondrial DNA revealed the existence of three clades, present in the last 50.000 years: Bp, Bb1 and Bb2. Since these studies included animals from Western Europe, the Caucasus and Poland, our aim was to analyse the ancient DNA (aDNA) of bison fossils from Slovenia and Hungary and assign them to the existing clades. We sampled the fossil remains and extracted the DNA from the obtained bone powder in a specialised aDNA laboratory. We used an amplicon-based approach with a maximum amplicon length of 198 base pairs, targeting selected regions of the mitochondrial DNA, and sequenced the amplicons on the Ion Torrent S5 next-generation sequencing system. We processed the sequencing results using an in-house developed bioinformatics pipeline. We constructed phylogenetic trees using BEAST and Paml. In the first aDNA study focusing on Bison from Slovenia and Hungary, we successfully amplified and sequenced 2087 bp long sequences of mitogenome and constructed concatenated consensus sequences. Our results show that Late Pleistocene Bison from the studied area belong to Bp, while the Holocene animals belong to Bb2. We did not detect the presence of Bb1.

Keywords: aDNA, bison, phylogeny, Slovenia, Hungary

O-19

POSTOJI LI INTERAKCIJA IZMEĐU FITOPLAZMATSKEGA PROTEINA STAMP I AKTINA KUKACA?

M. Drčelić, A. Škiljaica, N. Bauer, M. Šeruga Musić

Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, Marulićev trg 20, 10000 Zagreb, Hrvatska (marina.drcelic@biol.pmf.hr)

Fitoplazme (rod 'Candidatus Phytoplasma') su fitopatogene bakterije bez stanične stijenke, obligatni unutarstanični paraziti floema biljaka i kukaca. Uzročnici su bolesti i gubitaka prinosa inih usjeva u svijetu. Prijenos fitoplazmi kukcima-vektorima uglavnom ovisi o površinskim fitoplazmatskim proteinima. Za antigenski membranski protein (AMP) 'Ca. P. asteris' pokazano je da stupa u interakciju s proteinom aktinom, mikrofilamentom kukaca. Stamp je antigenski membranski protein pronađen samo u 'Ca. P. solani'. Njegova aminokiselinska sekvenca podudara se s proteinom AMP 'Ca. P. asteris' 26 – 40%, a sa sekvencom AMP 'Ca. P. japonicum' 40%. S obzirom na sličnosti i moguće uloge ovih proteina, cilj istraživanja bio je ispitati protein – protein interakciju fitoplazmatskog proteina Stamp porijeklom iz vinove loze (*V. vinifera*) i aktina (HoACT) porijeklom iz kukca-vektora *Hyalesthes obsoletus*. Dizajnirani su ekspresijski plazmidi s ugrađenim cjelebitim i mutiranim genima stamp ST6 i ST9, te plazmidi s genom HoACT kako bi se istražila njihova interakcija. Istraživanje je obuhvačalo korištenje bimolekularne fluorescencijske komplementacije (BIFC) in planta i metodu kopurifikacije proteina pull-down. Rezultati kopurifikacije proteina su dokazali interakciju hidrofilne regije proteina Stamp i HoACT. Metodom BIFC u listovima duhana *Nicotiana benthamiana* interakcija nije potvrđena te je metodu potrebno prilagoditi kako bi se razjasnili uvjeti interakcije proteina in planta.

Ključne riječi: fitoplazma, protein, interakcija, stamp, aktin, vektor

IS THERE ANY INTERACTION BETWEEN PHYTOPLASMA MEMBRANE PROTEIN STAMP AND INSECT ACTIN?

M. Drčelić, A. Škiljaica, N. Bauer, M. Šeruga Musić

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Marulićev trg 20, 10000 Zagreb, Hrvatska, Croatia (marina.drcelic@biol.pmf.hr)

Phytoplasmas, ('Candidatus Phytoplasma) are wall-less, uncultivable plant pathogenic bacteria, obligate inhabitants of the phloem sieve tubes of plants and insect gastrointestinal system. Phytoplasmas are associated with many diseases, devastating yield losses in diverse crops worldwide. The transmission of phytoplasmas by insect-vectors mostly rely on their surface proteins. The antigenic membrane protein (AMP) of 'Ca. P. asteris', has been shown to interact with the insect microfilament protein – actin. Stamp is antigen membrane protein found only in 'Ca. P. solani'. It shares 26–40% sequence ID to protein AMP of 'Ca. P. asteris' strains and 40% ID to AMP of 'Ca. P. japonicum'. Regarding these similarities, the aim of a study was to investigate protein-protein interaction of phytoplasma protein Stamp originating from *Vitis vinifera* samples and actin HoACT originating from insect vector *Hyalesthes obsoletus*. Therefore, we cloned two stamp variants (ST6 and ST9) and HoACT in order to express proteins and to study their interaction. Our approach involved the use of bimolecular fluorescence complementation (BIFC) assay in planta and

pull-down assay. The results of pull-down assay proved the interaction between hydrophilic part of Stamp protein and HoACT. We did not detect the interaction between Stamp and HoACT by BIFC assay in leaves of *Nicotiana benthamiana* and further modifications are necessary to understand the mechanism of protein – protein interaction in planta.

Keywords: phytoplasma, protein, interaction, Stamp, actin, vector

O-20

***Burkholderia cepacia* KOMPLEKS – MOLEKULARNA KARAKTERIZACIJA PATOGENIH BAKTERIJA KOJE PRELAZE GRANICU MEĐU CARSTVIMA**

M. Šeruga Musić¹, J. Hrenović¹, M. Drmić¹, L. Pešorda², B. Bedenić^{2,3}

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102A, 10000 Zagreb, Hrvatska (martina.seruga.music@biol.pmf.hr), ²Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Šalata 2, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Klinički zavoda za kliničku i molekularnu mikrobiologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb, Hrvatska

Burkholderia cepacia kompleks (BCC) skupina je Gram-negativnih bakterija koju čine 24 usko povezane vrste ranije smatrane jednom vrstom. Široko su rasprostranjene u okolišu gdje nastanjuju raznolike niše. Imaju kompleksne genome s višestrukim kromosomima i izuzetnom sposobnošću rekombinacije i adaptacije. Prvotno su opisane kao uzročnici truleži kožice luka, no smatraju se oportunističkim patogenima čovjeka povezanim s ozbiljnim respiratornim bolestima pacijenata sa cističnom fibrozom te imunokompromitiranih bolesnika. Prirodni okoliš predstavlja značajan izvor infekcija BCC-om, koji se otpuštanjem ljudskog otpada obogaćuje klinički relevantim sojevima. Zbog nedostatka podataka o vrstama BCC-a u Hrvatskoj, cilj ovog rada bio je provesti molekularnu identifikaciju i multigensku tipizaciju 7 prethodno prikupljenih okolišnih izolata te 1 kliničkog izolata. Rezultati analize 16S rRNA i r gena potvrdili su da izolati pripadaju vrstama *B. multivorans*, *B. cenocepacia* i *B. ambifaria*. Multigenska analiza pokazala je prisustvo novih alela i profila ST (sequence type). Ispitivanje osjetljivosti izolata na antibiotike pokazalo je raspon od osjetljivosti do multirezistentnosti. Potvrđeno je prisustvo blaTEM gena koji kodiraju β-laktamaze. Nadalje, pokazana je ekspresija faktora virulencije te prezivljjenje u riječnoj vodi. Dobiveni rezultati ukazuju na značaj BCC u prirodnom okolišu porijekлом iz ljudskog otpada kao klinički značajnog potencijalnog izvora sporadičnih infekcija.

Ključne riječi: *Burkholderia cepacia* kompleks, identifikacija, genotipizacija, 16S rRNA, blaTEM, filogenetska analiza.

***Burkholderia cepacia* COMPLEX – MOLECULAR CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC BACTERIA CROSSING THE BORDER BETWEEN KINGDOMS**

M. Šeruga Musić¹, J. Hrenović¹, M. Drmić¹, L. Pešorda², B. Bedenić^{2,3}

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102A, 10000 Zagreb, Croatia, ²School of Medicine, University of Zagreb, Šalata 2, 10000 Zagreb, Croatia, ³Department of Clinical and Molecular Microbiology, University Hospital Center Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb, Croatia

The *Burkholderia cepacia* complex (BCC) encompasses a group of 24 closely related species of Gram-negative bacteria previously considered as a single species. They are widely distributed in environment inhabiting diverse niches and possess complex genomes with multiple chromosomes and capacity for recombination and adaptability. Although it was first associated with the onion skin rot disease, it is an opportunistic human pathogen causing serious respiratory illnesses in cystic fibrosis (CF) and immunocompromised patients. Natural environment presents a significant source of infections caused by BCC, with the release of human waste constantly enriching it with clinically relevant BCC. Due to the lack of data in Croatia, the aim of this study was to perform molecular identification and multilocus sequence typing of 7 previously collected environmental isolates and 1 clinical isolate of BCC. The results of the 16S rDNA and recA gene analysis revealed that isolates belong to *B. multivorans*, *B. cenocepacia* and *B. ambifaria*. Moreover, novel alleles and sequence types (ST) were recorded. Antimicrobial susceptibility of isolates ranged from sensitive to multidrug-resistant. The presence of several blaTEM genes encoding β -lactamases was confirmed. Also, the expression of the virulence factors and survival in river water was shown. Our results suggest that BCC in natural environment influenced by the human waste are of clinical relevance as a potential source of sporadic infections.

Keywords: *Burkholderia cepacia* complex, molecular identification, genotyping, 16S rRNA, blaTEM, phylogenetic analysis.

O-21

Uvodno predavanje / Introductory lecture

STANJE POPULACIJA CRVENOG KORALJA U ISTOČNOM DIJELU JADRANSKOG MORA

P. Kružić¹, R. Gračan¹, P. Ankon¹, A. Kovačev²

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (pkruzic@biol.pmf.hr), ²JU Nacionalni park Kornati, Butina 2, 22243 Murter, Hrvatska

Sredozemni crveni koralj (*Corallium rubrum*, L. 1758) spororastuća je i dugoživuća vrsta čiji je crveni skelet od kalcijevog karbonata vrlo tražen u industriji nakita. Ova je vrsta koja je vrlo ugrožena, ali i zaštićena zakonom u Republici Hrvatskoj. Njegova duga povijest intenzivnog komercijalnog vađenja rezultirala je znatnim smanjenjem populacija diljem Sredozemnog mora, što je postalo posebno vidljivo tijekom posljednja dva desetljeća. Na temelju opsežnih ekoloških podataka iz područja istočnog dijela Jadrana, ova studija po prvi put razmatra utjecaj trenutne prakse vađenja na strukturu populacije crvenog koralja. Istraživanje populacije su očito na granici svog potencijala oporavka. Dobiveni podaci pokazuju kako se crveni koralj iskorištava na očito neodrživ i neučinkovit način, značajno mijenjajući podvodni krajolik u Jadranu. Pregled svih dostupnih podataka potvrđuje da su zalihe plitkih populacija iscrpljene. Istraživanja populacija crvenog koralja napravljena su na 20 postaja u istočnom dijelu Jadranskog mora. Po prvi put napravljeno je temeljito morfološko istraživanje populacija crvenog koralja, ne samo u zaštićenim područjima, s ciljem prikupljanja podataka o rasprostranjenosti i stanju crvenog koralja. Na svim postajama sa populacijama pličim od 50 metara dubine utvrđen je negativan utjecaj visokih temperatura mora tijekom ljetnih mjeseci zbog klimatskih promjena kroz pojавu nekroze tkiva kolonija. Utvrđene vrijednosti gustoće kolonija po kvadratnom metru na istraživanim postajama pripadaju relativno rijetkim gustoćama na staništima crvenog koralja u Sredozemnom moru što dokazuje intenzivno vađenje koralja. Nedavni trendovi u ilegalnom vađenju kolonija crvenog koralja i događaji masovne smrtnosti zbog zagrijavanja mora ugrožavaju opstanak populacija plitkog mora (do 50 metara dubine). Ukoliko se ne napravi ništa vezano uz kontrolu vađenja crvenog koralja, čini se da je zabrana vađenja jedina opcija za zaštitu populacija ove dragocjene vrste.

Ključne riječi: crveni koralj, *Corallium rubrum*, Jadransko more

STATE OF RED CORAL POPULATIONS IN THE EASTERN PART OF THE ADRIATIC SEA

P. Kružić¹, R. Gračan¹, P. Ankon¹, A. Kovačev²

¹Department of Biology, Faculty of Science, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (pkruzic@biol.pmf.hr), ²National Park Kornati, Butina 2, 22243 Murter, Croatia

The Mediterranean red coral (*Corallium rubrum*, L. 1758) is a slow-growing gorgonian that produces a red calcium carbonate skeleton, which is in high demand by the jewellery industry. This species is endangered, but also protected in the Republic of Croatia. Its long history of intensive commercial harvesting has resulted in a well-documented decline of its stocks throughout the Mediterranean, becoming especially apparent during the last two decades. Based on the extensive ecological data from the eastern Adriatic Sea, this study reviews, for the

first time the impact of current fishing practices on the red coral population structure. These populations are clearly at the limit of their recoverability potential. The presented data reveal how red coral is being exploited in a clearly non-sustainable and inefficient way, changing significantly the underwater landscape of the Adriatic Sea. The review of all available data suggests that the shallow water stocks are depleted. Surveys of red coral populations have been conducted at 20 stations in the eastern Adriatic Sea. For the first time, a thorough morphological study of red coral populations was made, not only in protected areas, to collect data on the distribution and condition of red coral. At all stations with populations shallower than 50 meters depth, the negative impact of high sea temperatures during the summer months due to climate change through the occurrence of tissue necrosis of colony tissue was found. The determined values of colony density per square meter at the investigated stations belong to relatively rare densities in red coral habitats in the Mediterranean Sea, which proves intensive coral harvesting. Recent trends in poaching of red coral colonies and mass mortality events threaten the survival of the shallow water populations (down to 50 meters). Unless anything is done to control the collecting of red coral, a ban on collecting seems to be the only option to protect the populations of this precious species.

Keywords: red coral, *Corallium rubrum*, Adriatic Sea

O-22

ZASTUPLJENOST SPOLOVA KOD ŠKRPOČA (*Scorpaena porcus*, Linnaeus, 1758) U MEDULINSKOM ZALJEVU

O. Barić¹, R. Filipas², I. Radetić³, N. Iveša⁴, A. Gavrilović¹, J. Jug-Dujaković⁵

¹Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska,

²Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel za studije mora, Ruđera Boškovića 37, 21000, Split, Hrvatska, ³Univerza na Primorskom, Titov trg 4, 6000 Koper, Slovenija, ⁴Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Fakultet prirodnih znanosti, Zagrebačka ul. 30, 52100, Pula, Hrvatska, ⁵Sustainable Aquaculture Systems Inc., 715 Pittstown Road, Frenchtown, NJ 08825, SAD

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi zastupljenost spolova kod škrpoča (*Scorpaena porcus* L.) u Medulinskom zaljevu. Uzorkovanja su provedena od ožujka 2020. do veljače 2021. godine dva puta mjesечно, osim u siječnju kada je obavljeno jedno. Za potrebe istraživanja korištene su mreže poponice oka 32 i 40mm. Prikupljeno je 163 riba, koje su vagane te im je izmjerena ukupna duljina. Nakon sekcije, gonade su pohranjene u 10% formaldehid do daljnje obrade. Kako ova vrsta ne pokazuje spolni dimorfizam, spol je određen mikroskopski pregledom razmaza tkiva gonada. Razmazi su napravljeni od tkiva na prednjoj trećini duljine gonade. Zabilježene su statistički značajne razlike u masi ženki i mužjaka, 161.95g i 80.36g ($t=3.42$, $p<0.05$) i ukupnoj duljin,i 20.31cm i 15.61cm ($t=7.79$, $p<0.05$). Utvrđena je izrazita dominantnost ženki naspram mužjaka u omjeru 1:17.1 ($\chi^2=128.99$, $p<0.05$). Mužjaci su bili prisutni u svibnju, lipnju, srpnju, rujnu i prosincu 2020. godine s brojčanim udjelima od 15, 4.17, 25, 13.33 i 12.5%. Dominacija ženki u populaciji je sukladna nalazima dosadašnjih istraživanja provedenih na području Sredozemlja i okružujućih mora, međutim ovim istraživanjem zabilježena je u najvećem razmjeru. Najveći broj mužjaka zabilježen je tijekom mrijesta koji se odvija u kasno proljeće i ljeto, no da bi se odredio točan obrazac pojavljivanja u cilju razumijevanja reproduktivne ekologije vrste potrebno je provesti daljnja istraživanja koja bi obuhvatila i jedinke manje veličine.

Ključne riječi: Škrpoč, zastupljenost spolova, Medulinski zaljev

REPRESENTATION OF SEXES IN *Scorpaena porcus*, Linnaeus, 1758 IN THE BAY OF MEDULIN

O. Barić¹, R. Filipas², I. Radetić³, N. Iveša⁴, A. Gavrilović⁴, J. Jug-Dujaković⁵

¹University of Zagreb Faculty of Agriculture, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia, ²

University of Split, Department of Marine Studies, Ruđera Boškovića 37, 21000, Split, Croatia,

³University of Primorska, Titov trg 4, 6000 Koper, Slovenia, ⁴Juraj Dobrila University of Pula, Department of natural and health sciences, Zagrebačka ul. 30, 52100, Pula, Croatia, ⁵Sustainable Aquaculture Systems Inc., 715 Pittstown Road, Frenchtown, NJ 08825, USA

This study aimed to determine the sex ratio of the black scorpionfish (*Scorpaena porcus* L.) in the Bay of Medulin. The sampling was conducted using two bottom trammel nets with mesh size of 32 and 40mm, from March 2020 to February 2021 twice a month, except in January when it was performed once. A total of 163 specimens were caught, weighed and measured in length. After dissection, the gonads were stored in 10% formaldehyde until further examination. Since this species does not shows sexual dimorphism, smears of gonadal tissue were examined microscopically. Tissue smears were made of tissue on one-third of the length from the anterior side of the gonad. Statistically significant differences were recorded between females and males in weight 161.95g and 80.36g ($t=3.42$, $p<0.05$), and length 20.31cm and 15.61cm ($t=7.79$, $p<0.05$). The prevalence of females in the population was determined in a ratio of 1:17.1 ($\chi^2=128.99$, $p<0.05$). Males were recorded in May, June, July, September and December 2020, and accounted for 15%, 4.17%, 25%, 13.33% and 12.5% of the total monthly sample. Female domination in the population is in line with previously published papers from the Mediterranean and adjacent seas, but it has been recorded to the greatest extent in this study. Most males were recorded during the spawning period, which takes place in late spring and summer. Understanding the reproductive ecology of *S. porcus* in the Bay of Medulin requires further research including smaller specimens.

Keywords: Black scorpionfish, sex ratio, Bay of Medulin

O-23

TURTLEBIOME PROJEKT: NOVA SAZNANJA O ZAJEDNICAMA BAKTERIJA, MIKROALGI I GLIVA GLAVATIH ŽELVI

S. Bosak, K. Filek, L. Kanjer, M. Žižek, R. Gračan, M. Mucko

Biološki odsjek, Prirodoslovno matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Morske kornjače su poznate po oklopu koji je često prekriven raznim makroepibiontima i šarenim biofilmom izgrađenim od specijaliziranih i oportunističkih mikroba. Neki od ovih epibionata zahtijevaju životinjski supstrat za život i razvoj te su stoga isključivo epizoički i u potpunosti ovise o svojim domaćinima. Glavni fokus naše istraživačke grupe bio je karakterizirati mikrobine zajednice koje se nalaze u vanjskim (koža i oklop) te unutarnjim (kloaka, usna šupljina) staništima kornjača. Prikupili smo mikrobine uzorce od +100 životinja s nekoliko lokacija u Sredozemnom moru (Pulski akvarij, Vis i Lošinj u Hrvatskoj, Bari u Italiji te zaljev Amvrakikos i

Rethymnos u Grčkoj). Izolirali smo, identificirali i održavali ca. 200 ne-aksieničkih sojeva dijatomeja, koji su potom korišteni u nekoliko eksperimenata koji su istraživali ekološke sklonosti samih dijatomeja i njihove pridružene bakterijske zajednice. Ova prezentacija će sažeti ove i druge rezultate koje smo dobili tijekom istraživanja prokariotske i mikroekariotske zajednice glavatih želvi. Naša multidisciplinarna istraživanja pružaju prvi popis endo- i epimikrobiote morskih kornjača, otkrivajući veliku raznolikost, različite razine vjernosti domaćina i lokalnu biogeografiju mikroba povezanih s divljim morskim kornjačama. Integracija ovog novog znanja s postojećim ekološkim podacima i podacima o ponašanju doprinijet će učinkovitijem očuvanju glavatih želvi i drugih morskih kornjača.

Ključne riječi: mikrobiom, mikrobiota, glavate želve, Jadransko more, morske kornjače

TURTLEBIOME PROJECT: NEW INSIGHTS INTO BACTERIAL, FUNGAL AND MICROALGAL ASSEMBLAGES OF MEDITERRANEAN LOGGERHEAD SEA TURTLES

S. Bosak, K. Filek, L. Kanjer, M. Žižek, R. Gračan, M. Mucko

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Sea turtles are famously known for their shells, often covered with various macroepibionts and colourful biofilms built by specialized and opportunistic microbes. Some of these epibionts require the animal substrate to live and develop. They are thus exclusively epizoic and depend entirely on their hosts. The main focus of our research group was to characterize the microbial communities found in both the external (skin and shell) and the internal (gut, cloaca, oral cavities) habitats provided by loggerheads. We collected microbial samples from +100 animals from several locations in the Mediterranean Sea (Pula aquarium, Vis, and Lošinj in Croatia, Bari in Italy, and Amvrakikos Bay and Rethymnos in Greece). We have isolated, identified, and maintained ca. 200 non-axenic diatom strains, which were then used in several experiments investigating the ecological preferences of diatoms themselves and their associated bacterial partners. This presentation will summarize these and other results we obtained while exploring the prokaryotic and microeukaryotic communities of loggerheads. Our multidisciplinary investigations provide the first inventory of loggerhead sea turtle endo- and epimicrobiota, revealing high diversity, different levels of host fidelity, and local biogeography of wild sea turtle-associated microbes. Integration of this new knowledge with existing ecological and behavioral data will contribute to more efficient conservation and preservation efforts of loggerheads and other sea turtles.

Keywords: microbiome, microbiota, Loggerhead sea turtle, Adriatic Sea, sea turtles

O-24

UZGOJ REŽNJAKA (SCYPHOZOA) U AQUARIUMU PULA OD POLIPA DO ODRASLE JEDINKE

A. Castelluccio, K. Mičić, M. Mičić

Aquarium Pula d.o.o, Verudella 33, 52100 Pula, Hrvatska (antoniocaste2463@gmail.com)

Zbog povećanog antropogenog utjecaja (eutrofikacija, translokacija vrsta, prelov i nasipavanje obale) sve je češće i periodično cvjetanje režnjaka (Scyphozoa) koje ometa ekološku ravnotežu

morskih sustava što u obalnim vodama Jadrana (naročito sjevernog Jadrana) značajno utječe na ekonomski sektore (turizam, ribarstvo, akvakultura). U svrhu edukacije i samoodrživosti izložbe, od 2014. godine u Aquariumu Pula je uspostavljen uzgoj nespolne generacije režnjaka od polipa do odrasle jedinke. Uzgajaju se jadranske vrste *Aurelia* sp., *Cotylorhiza tuberculata*, *Rhizostoma pulmo* i tropске vrste *Cassiopeia* sp., *Stomolophus meleagris*, *Chrysaora plocamia*. Polipi jadranskih vrsta režnjaka održavani su u optimalnim uvjetima (16°C , 34 psu, pH 7.7, O₂ 8mg/L i fotoperiod 10/14), a strobilacija je potaknuta snižavanjem temperature na 9°C u periodu od 25 dana. Efire su nakon strobilacije premještene u 50 L bazene (tzv. Kreisel) s uspješnošću preživljavanja jedinki do meduzoidnog oblika >70%. Za uzgoj tropskih vrsta režnjaka morska voda se tretira UVC dezinfekcijskim lampama (24°C , 34 psu, pH 7.9, O₂ 7.8mg/l i fotoperiod 10/14), uz uspješnost preživljavanja do odrasle jedinke >50%. Polipi i efire tropskih i jadranskih režnjaka hranjeni su jednom dnevno zooplanktonom *Artemia salina* i fitoplanktonom uz 100% izmjenu vode nakon hranjenja. Pokazali smo da je uzgoj različitih vrsta u kontroliranim uvjetima moguć, što doprinosi boljem poznавanju njihovog životnog ciklusa u prirodi.

Ključne riječi: uzgoj režnjaka, inducirana strobilacija, tropski režnjaci, jadranski režnjaci

BREEDING SCYPHOZOA FROM POLYP TO ADULT MEDUSAE IN AQUARIUM PULA

A. Castellicchio, K. Mičić, M. Mičić

Aquarium Pula d.o.o, Verudella 33, 52100 Pula, Croatia (antoniocaste2463@gmail.com)

The periodic blooming of Scyphozoa is more frequent due to the rise of anthropogenic impacts (eutrophication, species translocation, overfishing, beach embankments), which impedes the ecosystem. This affects coastal waters of the Adriatic (especially the northern Adriatic) and influences the economy (tourism, fisheries, aquaculture). Since 2014. Aquarium Pula has established breeding methods of Scyphozoa's asexual generation from polyps to adults for the purposes of education and a self-sustaining exhibition. The rearing includes Adriatic; *Aurelia* sp., *Cotylorhiza tuberculata*, *Rhizostoma pulmo*, as well as tropical species; *Cassiopeia* sp., *Stomolophus meleagris*, *Chrysaora plocamia*. Adriatic Scyphozoan polyps are kept in optimal conditions (16°C , 34psu, pH 7.7, O₂ 8mg/L, photoperiod 10/14h), while strobilation was induced by lowering the temperature to 9°C within 25 days. After strobilation, ephyrae were moved into 50L tanks (Kreisel), with a survival rate of >70%. To rear tropical species of polyps, Adriatic seawater was treated with UVC lamps, in addition to optimal conditions (24°C , 34 psu, pH 7.9, O₂ 7.8mg/L, photoperiod 10/14h), resulting in adult survival rate >50%. All stages of both tropical and Adriatic Scyphozoans were fed daily with zooplankton *Artemia* sp. and phytoplankton, with a 100% water exchange after feeding. Breeding of different Scyphozoan species in controlled conditions is possible, which contributes to a better understanding of their life cycle in nature.

Keywords: Scyphozoan breeding, induced strobilation, tropical Scyphozoa, Adriatic Scyphozoa

O-25

IGLIČASTI JEŽINAC I RAK KUKA - GDJE SU ONI ZAPRAVO?

H. Čižmek, M. Sutlović, B. Čolić

Društvo istraživača mora - 20000 milja; Janolus d.o.o., Put Bokanjca 26A, 23000 Zadar, Hrvatska

Modeliranje ekološke niše (ENM) predstavlja metodologiju koja se koristi kako bi se utvrdio odnos između rasprostranjenosti vrsta u nekom području i abiotičkih čimbenika. Oni predstavljaju kvantitativne i empiričke modelle odnosa između okoliša i vrsta. Temelje se na podatcima o pojavnosti i onim okolišnim parametrima za koje se smatra da utječu na rasprostranjenost vrste. U svrhu pripreme programa praćenja Natura 2000 morskih vrsta prikupljaju se podatci i o igličastom ježincu (*Centrostephanus longispinus* (Philippi, 1845)) i raku kuki (*Scyllarides latus* (Latreille, 1802)). Obje vrste smatraju se rijetkim te na njima nisu vršena sustavna istraživanja u Jadranu. Pojavljuju se pretežito na sličnom fizičkom okolišu – u prevjesima i rupama koraligenske ili zajednice polutamnih šipila. Uz opsežan pregled povijesnih podataka, istraženo je više od 50 lokaliteta diljem istočne obale Jadrana u svrhu prikupljanja novih podataka. Uz pomoć navedenih podataka izrađeni su preliminarni modeli ekološke niše za ove dvije vrste. ENM – ovi će služiti kao alat za upoznavanje s ekologijom i biologijom vrsta te uvelike olakšati buduća znanstvena istraživanja. Modeli su dobra podloga za buduće praćenje promjena u abiotičkim čimbenicima na rasprostranjenost vrsta, bilo da se ista mijenjanju pod utjecajem klimatskih promjena ili nekog drugog pritiska te su vrlo važan alat za razvoj znanja o moru i određivanje zakonskih parametara za zaštitu ranjivih područja.

Ključne riječi: ekološko modeliranje, igličasti ježinac, rak kuka, modeliranje ekološke niše, Natura2000

HATPIN URCHIN & MEDITERRANEAN SLIPPER LOBSTER – WHERE ARE THEY REALLY?

H. Čižmek, M. Sutlović, B. Čolić

Marine Explorers Society - 20000 Leagues; Janolus Ltd., Put Bokanjca 26A, 23000 Zadar, Croatia
(barbaracolicpmf@gmail.com)

Content Ecological niche modelling (ENM) is a methodology used to determine the relationship between species distribution and abiotic factors. They represent quantitative and empirical models of the relationship between the environment and species. They are based on species occurrence and environmental parameters that are considered to affect the species. In order to prepare a monitoring program for Natura 2000 marine species, data are also collected on the hatpin urchin (*Centrostephanus longispinus* (Philippi, 1845)) and Mediterranean slipper lobster (*Scyllarides latus* (Latreille, 1802)). Both species are considered rare and have not been systematically researched in the Adriatic. They occur predominantly in similar environment - overhangs and holes of coralligenous or semi-dark cave communities. With an extensive review of historical data, more than 50 sites along the eastern Adriatic coast were explored for the purpose of collecting new data. With the mentioned data, preliminary models of ecological niche for these two species were made. ENMs will serve as a tool for learning about the ecology and biology of species and greatly facilitate future research. Models are a good basis for future monitoring of changes in abiotic factors on the distribution of species, whether they change under the influence of climate change or some other pressure, and are a very important tool for growing marine knowledge and determining legal parameters for protecting vulnerable areas.

Keywords: ecological modelling, hatpin urchin, Mediterranean slipper lobster ecological niche modelling, Natura2000

VERTIKALNA DISTRIBUCIJA HRIDINASTOG I CRNOG JEŽINCA DUŽ ISTOČNE OBALE JADRANA

B. Čolić, H. Čižmek

Društvo istraživača mora - 20000 milja; Janolus d.o.o., Put Bokanjca 26A, 23000 Zadar, Hrvatska

Hridinasti ježinac, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), i crni ježinac, *Arbacia lixula* (Linnaeus, 1758), dvije su najčešće vrste morskih ježinaca u priobalnom dijelu hrvatske obale. Biologija i ekologija vrsta ježinaca usko su vezane uz fotofilne zajednice plitkog obalnog pojasa koja se razvija na dominantnoj krškoj podlozi. Na mjestima je poznato da ove dvije vrste mogu tvoriti gусте populacije uslijed čega stvaraju golobrste – degradiranu zajednicu infralitoralnih alga. U razdoblju od 2019. godine do 2021. godine izvršeno je prvo sustavno istraživanje priobalnih zajednica ovih dviju vrsti ježinaca na 13 lokaliteta duž istočne obale Jadranskog mora u suradnji s Ministarstvom poljoprivrede RH. Istraživanje je obuhvaćalo trogodišnje praćenje parametara staništa (odsutnost i prisutnost golobrsta) na kojima se vrste pojavljuju uz prikupljanje podataka o gustoći i veličini jedinki ove dvije interesne vrste te vezanim pritiscima i prijetnjama. Rezultati istraživanja ukazali su na određene pravilnosti u strukturi zajednice koje se pojavljuju ovisno o tome koja je dominantna vrsta na području te istaknuli važnost mikrostaništa i prilagođenost specifičnoj niši kod simpatrije ove dvije vrste. Posebice se ističu ponavljajuće pravilnosti u odnosu na dubinsku raspodjelu populacija, odnosno vertikalnu distribuciju ove dvije dominantne vrste plitkog priobalja.

Ključne riječi: *Paracentrotus lividus*, *Arbacia lixula*, simpatrija, mikrostanište, golobrst, infralitoralne alge

VERTICAL DISTRIBUTION OF PURPLE AND BLACK SEA URCHINS ALONG THE EASTERN ADRIATIC COAST

B. Čolić, H. Čižmek

Marine Explorers Society - 20000 Leagues; Janolus Ltd., Put Bokanjca 26A, 23000 Zadar, Croatia
(barbaracolicpmf@gmail.com)

Content Purple sea urchin, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), and the black sea urchin *Arbacia lixula* (Linnaeus, 1758), are the two most common species of sea urchins in the coast of Croatia. The biology and ecology of sea urchin species are closely related to the photophilous communities of the shallow coastal area that develops on the dominant karst substrate. In some places, it is known that these two species can form dense populations, resulting in the formation of a sea urchin barrens - degraded community of infralittoral algae. In the period from 2019 to 2021, the first systemic survey of the coastal communities of these two species of sea urchins was carried out at 13 localities along the eastern coast of the Adriatic in cooperation with the Croatian Ministry of Agriculture. The research included three-year monitoring of habitat parameters (presence of sea urchin barren) with collection of data on the density and size of individuals and related pressures and threats to their communities. The results of the research indicated certain regularities in the community structure that depend on which is the dominant species in the area thus highlighting the importance of microhabitats and adaptation to a specific ecological niche where sympatry of the two species occur. Recurring regularities in relation to the depth distribution of populations, ie the vertical distribution of these two dominant species of shallow coastal areas, stands out in particular.

Keywords: *Paracentrotus lividus*, *Arbacia lixula*, sympatry, microhabitat, sea urchin barren, infralittoral algae

O-27

"UTOČIŠTA" ZA VRSTE REDA FUCALES U ZONI PLIME I OSEKE DUŽ ISTARSKE OBALE (SJEVERNI JADRAN)

Lj. Iveša, A. Bilajac, E. Gljuščić

Institut Ruđer Bošković, Centar za istraživanje mora, G. Paliaga 5, 52210 Rovinj, Hrvatska

Vrste reda Fucales oduvijek su stvarale guste morske šume na hridinastom dnu duž zapadne obale Istre. Dok je tijekom 1970-ih na više mesta u rovinjskom području zabilježena regresija ovih vrsta, kasnih 1990-ih dogodila se njihova ponovna pojавa. Međutim, nestajanje vrsta reda Fucales ponovno je zabilježeno 2015. godine, i nastavlja se i danas. Cilj ovog istraživanja bio je kartirati vrste reda Fucales duž zapadne obale Istre u zoni plime i oseke do dubine od 1 m te istražiti biomasu i morfologiju vrsta koje formiraju morske šume: *Cystoseira compressa*, *C. foeniculacea*, *C. humilis*, *Gongolaria barbata*, *Ericaria crinita* i *E. amentacea*. Proučavane vrste bile su najzastupljenije u središnjem i južnom dijelu zapadne obale Istre, ali je njihova raznolikost i brojnost varirala lokalno. Dok su mjestimično ove vrste stvarale mozaična naselja ili prave morske šume, koje se protežu i u infralitoral, većina ih je pronađena u djelomično izoliranim staništima u mediolitoralu, kao što su lokvice i obalna laguna. Navedeno upućuje da su lokvice i laguna u mediolitoralu, unatoč ekstremnim okolišnim uvjetima, pogodna staništa za vrste reda Fucales, i kao takva mogu poslužiti kao „utočišta“ za ove vrste. Ovo istraživanje opisuje detaljnu strukturu i prostornu varijabilnost vrsta reda Fucales te predstavlja osnovu za razumijevanje mehanizma njihove regresije i ponovne rekolonizacije u sjevernom Jadranu.

Ključne riječi: Fucales, mediolitoralne lokvice, laguna, zona plime i oseke, zapadna obala Istre

REFUGIA FOR FUCALEAN SPECIES IN THE INTERTIDAL ZONE ALONG THE ISTRIAN COAST (NORTHERN ADRIATIC SEA)

Lj. Iveša, A. Bilajac, E. Gljuščić

Ruđer Bošković Institute, Center for Marine Research, G. Paliaga 5, 52210 Rovinj, Croatia

Fucalean species have always formed dense marine forests on the rocky bottom along the western Istrian Coast. While during the 1970's, a regression of fucalean species was noted at several places in the Rovinj area, a reoccurrence of these species happened in the late 1990's. However, the last decline of fucalean algae was noted in 2015 and continues to this day. The aim of this study was to map fucalean species along the western Istrian Coast in the intertidal zone to a depth of 1 m and to investigate the biomass and morphology of the species forming marine forests: *Cystoseira compressa*, *C. foeniculacea*, *C. humilis*, *Gongolaria barbata*, *Ericaria crinita* and *E. amentacea*. The species studied were most abundant in the central and southern parts of the western Istrian coast, but their diversity and abundance varied locally. While the species occasionally formed patches or true marine forests extending into the subtidal, most of them were found in rockpools, as well as in coastal lagoon, both of which were partially isolated from the rest of the littoral zone. This suggests that rockpools and lagoon in the intertidal zone are

suitable habitats for fucalean species despite extreme environmental conditions and as such may serve as refugia for these species. This study provides the detailed structure and spatial variability of intertidal fucalean algae and creates a background for understanding the mechanism of their regression and recolonisation in the northern Adriatic.

Keywords: Fucalean species, rockpools, lagoon, intertidal, western Istrian Coast

O-28

KLIMATSKE PROMJENE I STANJE CRVENE GORGONIJE (*Paramuricea clavata* (Risso, 1826)) U ZAŠTIĆENIM PODRUČJIMA ISTOČNOG JADRANA

P. Kružić¹, R. Gračan¹, L. Lipej², B. Mavrič², P. Ankon¹, A. Čačković³

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (pkruzic@biol.pmf.hr), ²Nacionalni inštitut za biologiju, Morska biološka postaja Piran, Fornače 41, 6330 Piran, Slovenija, ³Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska

Nedavne smrtnosti sesilnih morskih organizama povezane su s povišenim temperaturama mora kao posljedica globalnih klimatskih promjena. Ovi događaji su zahvatili tridesetak vrsta beskranježnjaka iz pet različitih skupina (spužve, žarnjaci, mekušci, mahovnjaci i mješićnici) duž istočne Jadranske obale. Najviše pogodjene vrste bile su spužve i žarnjaci. Zadnje dvije godine proučavan je utjecaj masovne smrtnosti na populacije crvene gorgonije *Paramuricea clavata* (Risso, 1826) u zaštićenim morskim područjima Jadrana (PP Telašćica i NP Kornati). Većina ispitanih populacija ima oko 50% zahvaćenih kolonija različitog stupnja oštećenja (uginulih, teških ili manjih oštećenja). Smanjenje populacija uglavnom je posljedica smrtnosti kolonija zbog većih ozljeda tkiva i zato što „novačenje“ (razvoj novih kolonija) nije nadoknadio smrtnost. Evidentna je velika varijabilnost u stopama smrtnosti i gubitka tkiva ovisno o lokacijama istraživanja. Utjecaj na smrtnost smanjivao se s dubinom, što podržava hipotezu da je temperatura mora ima ključnu ulogu u masovnoj smrtnosti. Istraživanja na populacijama za koje su podaci prije smrtnosti (gustoća i struktura veličine) potvrdili da je oporavak daleko od završetka tri godine nakon smrtnosti. Sveukupno, posljedica povišene temperature mora dovela je do gubitka od 70% biomase crvene gorgonije na istraživanim postajama. S obzirom na stopu rasta crvene gorgonije, za potpuni oporavak najugroženijih populacija bit će potrebno nekoliko desetljeća da se vrate na vrijednosti prije smrtnosti, ukoliko je to moguće. U kontekstu globalnih promjena, te uzimajući u obzir korelaciju s temperaturom, može se očekivati da će se učestalost ovakvih negativnih događaja povećati u sljedećim desetljećima. Mogu se očekivati dramatične posljedice za očuvanje ove vrste što bi bilo posebno loše za biološku raznolikost Sredozemnog mora.

Ključne riječi: klimatske promjene, crvena gorgonija, *Paramuricea clavata*, zaštićena područja, Jadransko more

CLIMATE CHANGE AND THE STATE OF RED GORGONIAN ((*Paramuricea clavata* (Risso, 1826)) IN THE PROTECTED AREAS OF THE EASTERN ADRIATIC

P. Kružić¹, R. Gračan¹, L. Lipej², B. Mavrič², P. Ankon¹, A. Čačković³

¹Department of Biology, Faculty of Science, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (pkruzic@biol.pmf.hr), ²National Institute of Biology, Marine Biology Station Piran, Fornače 41, 6330 Piran, Slovenia, ³„Ruđer Bošković“ Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia

Recent mortality outbreaks in sessile marine organisms have been linked to elevated seawater temperatures associated with global climate change. Those events affected 30 species of invertebrates from five different Phyla (sponges, cnidarians, molluscs, bryozoans and ascidians) in the eastern part of the Adriatic Sea. The most affected taxa were sponges and cnidarians. The impact of the mass mortality of populations of the gorgonian *Paramuricea clavata* (Risso, 1826) has been studied during the last two years in eastern Adriatic marine protected areas (Nature Park Telašćica and National Park Kornati). Most surveyed populations displayed about 50% of affected colonies at different degrees of damage (dead, severe and low damage). The observed decrease in population happened mainly due to the death of colonies subjected to extensive injury, and because the rate of recruitment was lower than mortality. Great variability in rates of mortality and tissue loss was evident between the investigated sites. The mortality impact decreased with depth, a pattern which supports the hypothesis that the sea temperature played a key role in this event. Overall, the increase in sea temperature led to a loss of 70% of red gorgonian biomass at the studied locations. Considering the growth rate of *P. clavata*, full recovery of the most affected local populations and return to pre-mortality values of the biomass would take several decades, if the recovery is even possible. In the context of the global change and taking into account the correlation with the temperature, the frequency of this kind of mortality event is expected to increase in the next decades. Dramatic consequences can be expected for the conservation of the affected red gorgonian, which will negatively affect the biodiversity of the Mediterranean Sea.

Keywords: climatic change, red gorgonian, *Paramuricea clavata*, marine protected areas, Adriatic Sea

O-29

UTJECAJ MARIKULTURE NA BENTOS UZ OTOK RAVA. DVADESET GODINA ISTRAŽIVANJA

P. Kružić¹, R. Gračan¹, L. Lipej², B. Mavrič², P. Ankon¹, A. Čačković³, A. Prohaska⁴

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (pkruzic@biol.pmf.hr), ²Nacionalni inštitut za biologiju, Morska biološka postaja Piran, Fornače 41, 6330 Piran, Slovenija, ³Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska,

⁴University of Copenhagen, Globe Institute, Øster Voldgade 5-7, 1350 Copenhagen, Danska

Uzgajališta riba otpuštaju velike količine organske tvari u okolno more, što negativno utječe na ekosustav. Te hranjive tvari pobuđuju cvjetanje fitoplanktona i makroalga, što smanjuje prodror svjetlosti u morski okoliš. U zadnjih nekoliko godina pojava ljepljivih agregata alga u bentosu postao je sve veći problem duž obale Jadrana. Najčešće vrste su nitaste, brzorastuće bentoske alge iz razreda Chrysophyceae, *Nematochrysopsis marina* (Feldmann) Billard i *Chrysonephos lewisi* (W.R. Taylor), te smeđa alga *Acinetospora crinata* (Carmichael) Sauvageau. Otok Ralu okružuje 5 većih uzgajališta riba. Istraživanja se na tom području provode 20 godina, primarno vezana uz utjecaj marikulrura na bentoske organizme. Zbog povišene temperature mora i cvjetanja alga, morski bentos prekriven je tijekom proljeća i ljeta, debelim slojem alga. Znatno povećanje temperature mora smatra se glavnim razlogom koji je doveo do cvjetanja mora i

stvaranja algalne sluzi. Od 2001. do 2021. više od 30% kolonija crvene gorgonije *Paramuricea clavata* na istraživanim postajama uginulo je od posljedica "gušenja" cvjetanjem alga. Znatno se smanjila gustoća livada morske cvjetnice *Posidonia oceanica*, a stradale su i ostale sesilne vrste poput spužvi i koralja zbog prekrivenosti obraštajem alga, nemogućnosti hranjenja i anoksije nastale bakterijskom razgradnjom. Istraživanje pokazuje da se kavezi za uzgoj nikako ne bi smjeli postavljati u kanale i uvale, što na žalost nije slučaj sa Jadranskim morem.

Ključne riječi: marikultura, bentos, Jadransko more

THE IMPACT OF MARICULTURE ON MARINE BENTHOS ALONG RAVA ISLAND. TWENTY YEARS OF RESEARCH

P. Kružić¹, R. Gračan¹, L. Lipej², B. Mavrič², P. Ankon¹, A. Čačković³, A. Prohaska⁴

¹Department of Biology, Faculty of Science, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

(pkruzic@biol.pmf.hr), ²National Institute of Biology, Marine Biology Station Piran, Fornače 41,

6330 Piran, Slovenia, ³„Ruđer Bošković“ Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia,

⁴University of Copenhagen, Globe Institute, Øster Voldgade 5-7, 1350 Copenhagen, Denmark

Fish farming induces high nutrient loading into the surrounding water that negatively affects the ecosystem. These nutrients enhance phytoplankton and macroalgal blooms that reduce the light penetration into the marine environment and increase the accumulation of organic matter on the sea bottom and adjacent organisms. In recent years, the occurrence of benthic algal mucilaginous aggregates has become an increasing problem along the Adriatic coastline. The most common algal species present are *Nematochrysopsis marina* (Feldmann) Billard and *Chrysonephros lewisii* (W.R. Taylor), two fast growing multicellular benthic chrysophytes, together with a free-living form of the brown alga *Acinetospora crinata* (Carmichael) Sauvageau. The island of Rava is surrounded by 5 large fish farms. Research in this area has been conducted for 20 years, primarily related to the impact of mariculture on benthic organisms. Because of the elevated sea temperatures and algal blooms, the marine benthos gets covered with a thick algal carpet every spring and summer. The anomalous temperature increase of seawater together with high nutrient input has to be regarded as the major contributing event that led to the algal bloom and the mucilage outbreak. From 2001 to 2021 more than 30% of red gorgonian *Paramuricea clavata* colonies on researched stations died because of smothering by algal blooms. The density of *Posidonia oceanica* meadows has decreased significantly and other sessile species such as sponges and corals have been damaged due to algae overgrowth, inability to feed and hypoxia and anoxia events caused by bacterial decomposition of algae. Research shows that fish cages should never be placed in channels and bays, which is unfortunately not the case in the Adriatic Sea.

Keywords: Mariculture, benthos, Adriatic Sea

O-30

PROCJENA UTJECAJA NADOHRANE PLAŽA NA MORSKI OKOLIŠ

P. Kružić¹, K. Pikelj², D. Bezik², P. Ankon¹, D. Carević³

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

(pkruzic@biol.pmf.hr), ²Geološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Horvatovac 102a,

10000 Zagreb, Hrvatska, ³Građevinski fakultet, Fra Andrije Kačića-Miošića 26, 10000 Zagreb, Hrvatska

Nadohrana plaža je široko korištena metoda za nadoknađivanje odnosa sedimenta. Relativno se malo zna o kumulativnim i dugoročnim učincima unesenog sedimenta na okoliš i aktivnosti nadohrane plaže. Nedavna nastojanja da se morski ekosustav održi stabilnim i rezultati istraživanja o utjecaju nadohrane plaže na morski okoliš, potaknuli su potrebu za cjelovitim pregledom takvih zahvata, te za procjenom ekološke održivosti tih aktivnosti. Nadohrana plaža često može negativno utjecati na priobalni ekosustav prekomjernim unosom suspendiranog materijala u stupac vode i prekrivanjem životnih zajednica. Na taj način dolazi do gubitka staništa u obalnim području, ako se nadohrana ne provede pravilno. Neke vrste, poput alga, morskih cvjetnica i beskralježnjaka vrlo su osjetljive na takve promjene. Istraživanja pokazuju da negativan utjecaj ovisi i o učestalosti nadohrane plaže ovisno o području. Oporavak prema izvornom stanju flore i faune bentosa ovisi o tome kakve su karakteristike korištenog materijala. Taloženje sitnih čestica može ugušiti bentos oko područja koje je nasipano. Nataložene čestice mogu se transportirati dalje od mjesta unosa i utjecati na udaljenija područja, osobito ako je uneseni sediment u suspenziji sitnozrnastiji od prirodnog. U ovom radu utvrđene su promjene na bentoskim biocenozama nakon prakse nasipavanja i dohranjivanja plaže na šest lokacija u istočnom Jadranu (Split (Žnjan), Omiš, Makarska (Osejava), Podgora, Bratuš i Promajna). Korištene su metode analiza veličine zrna sedimenta, određivanje udjela organske tvari u sedimentu te analiza sastava i stanja utvrđenih pridnenih biocenoza. Procijenjeno je stanje pridnenih biocenoza, ocijenjena je prikladnost materijala za nasipavanje, a predložene su i smjernice za korekciju budućih zahvata nasipavanja i dohranjivanja. Na 3 od ukupno 6 istraživanih plaža vidljiv je negativan utjecaj provedene nadohrane. U kombinaciji s velikim neizvjesnostima dugoročnih ekoloških i geomorfoloških utjecaja, ovi rezultati naglašavaju potrebu da se preispita održivost sadašnjeg modela nadohrane plaže kao mjere zaštite obale.

Ključne riječi: nadohrana plaža, bentos, Jadransko more

ASSESSING THE MARINE ENVIRONMENTAL IMPACTS OF BEACH NOURISHMENT

P. Kružić¹, K. Pikelj², D. Bezic², P. Ankon¹, D. Carević³

¹Department of Biology, Faculty of Science, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (pkruzic@biol.pmf.hr), ²Department of Geology, Faculty of Science, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia, ³Faculty of Civil Engineering, Fra Andrije Kačića-Miošića 26, 10000 Zagreb, Croatia

Beach nourishments are a widely used method to mitigate beach erosion. Relatively little is known about the cumulative and long-term environmental effects of nourishment activities. Recent efforts to keep the marine ecosystem stable and the research results on the impact of beach protection on the marine environment and prompted the need for a comprehensive review of such interventions and to assess the ecological sustainability of these activities. Beach nourishment can negatively affect the coastal ecosystem by excessively input of suspended material into the water column and burying living biota. In this way, habitat loss in the coastal area occurs if the nourishment is not carried out properly. Some species, such as algae, seagrasses and marine invertebrates are sensitive to such changes. Studies show that the negative impact also depends on the frequency of beach maintenance depending on the area. Recovery toward the original faunal state depends on the characteristics of the used material.

The deposition of fine-grained particles can suffocate the benthos in the area that is filled. The deposited fines can be transported away from the input site and affect more distant areas, particularly if the sediment introduced is finer-grained than that natural. This paper identified changes in benthic biocenoses after the practice of beach nourishment and replenishment at six locations in the eastern Adriatic Sea (Split (Žnjan), Omiš, Makarska (Osejava), Podgora, Bratuš and Promajna). Sediment grain size, organic matter content and composition and condition of benthic biocenoses were analysed. The condition of benthic biocenoses and the suitability of the material for the practice were assessed and guidelines for the corrections of future nourishment practices were proposed. On 3 out of the total of 6 surveyed beaches, the negative impact of the practice is visible. Combined with the large uncertainties of the long-term ecological and geomorphological impacts, these results highlight the need to review the viability of the current beach nourishment as a coastal protection measure.

Keywords: Beach nourishments, benthos, Adriatic Sea

O-31

VIŠEGODIŠNJI MONITORING KARNIVORNOG ŽELATINOZNOG MAKROZOOPLANKTONA U OBALNOM PODRUČJU JUŽNOG JADRANA (HRVATSKA)

D. Lučić¹, I. Violić¹, N. Bojanić², B. Pestorić³, B. Gangai Zovko¹, I. Onofri¹, M. Hure¹

¹Institut za more i priobalje, Sveučilište u Dubrovniku, Kneza Damjana Jude 12, 20000 Dubrovnik, Hrvatska, (davor.lucic@unidu.hr), ²Institut za oceanografiju i ribarstvo, 21000 Split, Hrvatska,

³Institut za biologiju mora, 85330 Kotor, Crna Gora

U južnom dijelu Jadranskog mora fauna želatinoznog makrozooplanktona je nedovoljno poznata u usporedbi s ostalim svojtama. Stoga, cilj ovih istraživanja bio je prikupiti i sistematizirati sve dostupne brojčane i fenološke podatke o planktonskim žarnjacima i rebrašima na temelju znanstvenih istraživanja od 1995. do 2021. godine i programa promatranja „građani u znanosti“. Ukupno je zabilježeno 16 vrsta. Od toga se 34% nalaza odnosi na skifomeduzu *Pelagia noctiluca*, a slijede ktenofora *Cestum veneris* (19%) i skifomedusa *Cothylorhiza tuberculata* (17%). Za ove vrste zabilježeni su česte masovne pojave. Jedna masovna pojava zabilježena je za slatkvodnu hidromeduzu *Craspedacusta sowerbii*, pronađenu u jezeru Kuti (ušće Neretve), te za skifomeduzu *Aurelia solidula*. Tijekom ljeta i jeseni 2021. godine u dubljim slojevima rijeke Neretve u većem broju jedinki pronađena je rijetka morska hidromedusa *Tima lucullana*, povezano s snažnim prodom slane vode duboko u vodotok Neretve. Tri zabilježene vrste nisu porijeklom iz europskih voda: *A. solidula*, *Mnemiopsis leidy* i *C. sowerbii*. S obzirom da strane vrste sve više nadiru u Jadransko more, a ljudski utjecaj i globalno zatopljenje su sve veći, ključno je pažljivo pratiti pojavu želatinoznih svojti zooplanktona te provoditi studije usmjerene na razumijevanju njihovog utjecaja na morske ekosustave. Stoga, naše analize 26-godišnjih promatranja pružaju bitne informacije o varijacijama pojave želatinoznog zooplanktona Jadranskom moru općenito.

Ključne riječi: Hydrozoa, Scyphozoa, Ctenophora, masovne pojave, Jadransko more

LONG-TERM MONITORING OF CARNIVOROUS GELATINOUS MACROZOOPLANKTON IN THE COASTAL AREA OF SOUTHERN ADRIATIC SEA (CROATIA)

D. Lučić¹, I. Violić¹, N. Bojanić², B. Pestorić³, B. Gangai Zovko¹, I. Onofri¹, M. Hure¹

¹Institute for Marine and Coastal Research, University of Dubrovnik, D. Jude 12, 20001, Dubrovnik, Croatia (davor.lucic@unidu.hr), ²Institute of Oceanography and Fisheries, 21000 Split, Croatia, ³Institute of Marine Biology, 85330 Kotor, Montenegro

In the southern part of the Adriatic Sea, the gelatinous macrozooplankton fauna is poorly known compared to the other taxa. Therefore, the aim of this study was to collect and systematize all available phenological data and abundances of planktonic Cnidaria and Ctenophora, based on scientific surveys from 1995–2021 and a Citizen Science sighting program. A total of 16 species were recorded. Of these, Scyphomedusa *Pelagia noctiluca* accounted for 34%, followed by Ctenophora *Cestum veneris* (19%) and Scyphomedusa *Cothylorhiza tuberculata* (17%). These species were also found to have frequent mass occurrence. Mass occurrences were noted for the freshwater Hydromedusa *Craspedacusta sowerbii*, which was found in Lake Kut (mouth of the Neretva River), and for the Scyphomedusa *Aurelia solida*. In the summer and autumn of 2021, a rarely observed marine hydromedusa *Tima lucullana* was found in the deeper layers of the Neretva River, which is related to the strong penetration of saltwater into the depths of the river. The three species detected are not native to European waters: *A. solida*, *Mnemiopsis leidyi* and *C. sowerbii*. Considering that alien species are increasingly invading the Adriatic Sea and human impact and global warming are increasing, it is crucial to carefully monitor the occurrence of gelatinous zooplankton taxa and conduct studies focused on deciphering their impact on marine ecosystems. Therefore, our analysis of 26 years of observations provides important information on the variations in the occurrence of gelatinous zooplankton in the Adriatic Sea.

Keywords: Hydrozoa, Scyphozoa, Ctenophora, blooms, Adriatic Sea

O-32

SUKCESIJA PLAKTONSKE ZAJEDNICE (BAKTERIOPLAKTON; FITOPLAKTON; ZOOPLAKTON) U FIZIKALNO DINAMIČNOM SUSTAVU JUŽNOG JADRANA

A. Matek¹, D. Lučić², B. Pestorić³, E. P. Achterberg⁴, R. Casotti⁵, A. C. Trano⁵, H. Mihanović⁶, H. Čižmek⁷, B. Čolić⁸, S. Bosak¹, M. Mucko¹, D. Viličić¹, Z. Ljubešić¹

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Roosveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Institut za more i priobalje, Sveučilište u Dubrovniku, D. Jude 12, 20001 Dubrovnik, Hrvatska, ³Institut za biologiju mora, 85330 Kotor, Crna Gora, ⁴GEOMAR Helmholtz centar za istraživanje mora, Kiel, Njemačka, ⁵Odsjek za ekologiju mora, Zoologiska stanica Anton Dohrn, Villa Comunale, 80121 Napulj, Italija, ⁶Institut za oceanografiju i ribarstvo, 21000 Split, Hrvatska, ⁷Društvo istraživača mora 20000 milja, Put Bokanjca 26A, 23000 Zadar, Hrvatska

Valovi vezani uz otok (eng. island trapped internal waves (ITWs) je fenomen koji generira otok Lastovo, te uzrokuje dnevne vertikalne pomake termokline. U svrhu povezivanja ITW učinka s NPP, odrađeno je vremenski gusto uzorkovanje pomoću Niskinovih crpaca i planktonskih mreža (12. – 21. 07. 2021). Raznolikost planktonske zajednice istražena je svjetlosnom mikroskopijom (fitoplankton i zooplankton), protočnom citometrijom (pikocijanobakterije, heterotrofne bakterije, i pikoeukarioti), te metodom sekvenciranja nove generacije ciljane na 16S i 18S rRNA gene (cijela zajednica). Statističkom analizom je testirana sličnost između uzoraka, te doprinosi dominantnih vrsta. Dinamika zajednice se promjenila nakon 16.07. Početno visoka brojnost mikrozooplanktona i koncentracija nutrijenata pada značajno, dok zabilježeni rast abundancije fitoplanktona nije bio značajan. Struktura bakterijske i eukariotske zajednice mijenjala se kroz

istraživano razdoblje, a dominantne ključne grupe su ostale stalne. Najveći doprinos prostornoj raznolikosti imali su Chlorophyceae, nano-frakcija kokolitoforida, mikro-frakcija dinoflagelata, i dijatomeje *L. danicus*, *P. delicatissima*, i *T. frauenfeldii*. Mikrofitoplankton i Prochlorococcus dominirali su u dubokom maksimum klorofila, a nanofitoplankton, Synechococcus i heterotrofne bakterije u sloju termokline. Zabilježena sukcesija zajednice ukazuje na brz odgovor na promjene u okolišu, te su dodatna istraživanja potrebna kako bi se povezala sa ITW učinkom.

Ključne riječi: prostorna distribucija, termoklina, ITW učinak, dinamika zajednice

BACTERIAL, PHYTO-, AND ZOOPLANKTON COMMUNITY SUCCESSION IN HIGHLY DYNAMIC ECOSYSTEM OF THE SOUTHERN ADRIATIC

A. Matek¹, D. Lučić², B. Pestorić³, E. P. Achterberg⁴, R. Casotti⁵, A. C. Trano⁵, H. Mihanović⁶, H. Čižmek⁷, B. Čolić⁸, S. Bosak¹, M. Mucko¹, D. Viličić¹, Z. Ljubešić¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Roosveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (antonija.matek@biol.pmf.hr, zrinka.ljubesic@biol.pmf.hr, suncica.bosak@biol.pmf.hr, maja.mucko@biol.pmf.hr), ²Institute for Marine and Coastal Research, University of Dubrovnik, D. Jude 12, 20001, Dubrovnik, Croatia (davor.lucic@unidu.hr), ³Institute of Marine Biology, University of Montenegro, 85330 Kotor, Montenegro (brankap@ucg.ac.me), ⁴GEOMAR Helmholtz Centre for Ocean Research Kiel, Kiel, Germany (eachterberg@geomar.de),

⁵Department of Integrative Marine Ecology, Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Comunale, 80121 Naples, Italy (raffaella.casotti@szn.it; annachiara.trano@szn.it), ⁶Institute of Oceanography and Fisheries, 21000 Split, Croatia (hrvoje.mihanovic@izor.hr), ⁷Marine Explorers Society 20.000 leagues, Put Bokanjca 26A, 23000 Zadar, Croatia (hrvoje@drustvo20000milja.hr, bcolic@drustvo20000milja.hr)

Island trapped internal waves (ITW) were observed at Lastovo island, with an effect of daily vertical thermocline movement. To link ITW effect with net primary production (NPP), dense temporal sampling was conducted using Niskin bottles and plankton nets (12th - 21st July 2021). Overall diversity was investigated with light microscopy (plankton communities), flow cytometry (picocyanobacteria, heterotrophic bacteria and picoeukaryotes), and next-generation sequencing (NGS) targeting 16S and 18S rRNA genes. Statistical analyses tested similarity between samples, and dominant taxa contribution. Community dynamics shifted after 16th July. Phytoplankton abundance increase was not significant, but initially high microzooplankton abundances and nutrient concentrations declined significantly. Bacterio-archaeal and eukaryotic assemblages composition also shifted, but the same oligotrophic key higher taxa dominated at both instances. Chlorophyceae, nano-scale coccolithophorids, micro-scale dinoflagellates, and diatoms *L. danicus*, *P. delicatissima*, and *T. frauenfeldii* contributed the most to distinct spatial distribution. Deep chlorophyll maximum (DCM), and the thermocline layer were dominated by micro-, and nanophytoplankton, so as Prochlorococcus and Synechococcus, respectively. Heterotrophic bacteria dominated the thermocline layer. Observed community succession indicates a fast response to changes in environment, and further research will observe its link to ITW effect.

Keywords: spatial distribution, thermocline movement, ITW effect, community dynamics

DONJI RUB NASELJA MORSKE CVJETNICE POSIDONIJE (*Posidonia oceanica*) U HRVATSKOM DIJELU JADRANSKOG MORA PRATI GRADIENT ZEMLJOPISNE ŠIRINE

I. Zubak Čižmek^{1,2,3}, H. Čižmek³, M. Mokos^{1,3}

¹Sveučilište u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu, Trg kneza Višeslava 9, 23000 Zadar, (izubak@unizd.hr), ²Udruga za očuvanje bioraznolikosti Aurelia, Put Bokanjca 26A, 23000 Zadar, Hrvatska, ³Društvo istraživača mora – 20000 milja, Put Bokanjca 26A, 23000 Zadar, Hrvatska

O fenološkim obilježjima, gustoći izdanaka, pokrovnosti i biomasi morske cvjetnice posidonije (*Posidonia oceanica*) te o životinjskim zajednicama (osobito zajednicama riba) vezanim uz njena naselja postoji značajna količina istraživanja i objavljenih rezultata. Smatra se da su vrsta i stanište koje stvara dobro istraženi. Ipak, relativno mala pozornost pridana je dubinskoj raspodjeli naselja posidonije u hrvatskom dijelu Jadranskog mora. U postojećoj dostupnoj literaturi nailazimo na različite informacije o najvećoj dubini do koje se pružaju naselja posidonije u Sredozemnom moru općenito, a posebno je to izraženo za istočni dio Jadranskog mora. Korištenjem ronjenja s autonomnom ronilačkom opremom te Secchi diska, pokazali smo da se dubina donjeg ruba naselja posidonije u hrvatskom Jadranu kreće od 24 m u sjevernom dijelu do 36 m na jugu, s vrlo izraženim gradijentom zemljopisne širine. Informacije o dubini donjeg ruba naselja posidonije vrlo su važne u kontekstu sve izraženijih antropogenih pritisaka i brzih okolišnih promjena kojima svjedočimo. Dubina (i tip) donjeg ruba naselja posidonije pokazatelj je stanja naselja te bi se trebala uzeti u obzir prilikom izrade budućih programa praćenja stanja i upravljanja ovom osjetljivom, sporoživućom morskom vrstom.

Ključne riječi: Jadransko more; dubinska raspodjela; donji rub; *Posidonia oceanica*; posidonija; morska cvjetnica

***Posidonia oceanica* LOWER DEPTH LIMITS SHOWS A LATITUDINAL GRADIENT IN THE EASTERN ADRIATIC SEA**

I. Zubak Čižmek^{1,2,3}, H. Čižmek³, M. Mokos^{1,3}

¹University of Zadar, Trg kneza Višeslava 9, 23000 Zadar, Croatia (izubak@unizd.hr), ²Aurelia - Association for Biodiversity Preservation, Put Bokanjca 26A, 23000 Zadar, Croatia, ³Marine Explorers Society - 20000 Leagues, Put Bokanjca 26A, 23000 Zadar, Croatia

Extensive information have been collected in terms of *Posidonia oceanica* phenological characteristics, shoot density, biomass, and associated faunal assemblages. Still, little attention has been given to the depth distribution of this species in the Adriatic Sea. There are inconsistencies in the available literature about the depth limits of this Mediterranean endemic seagrass in general, but especially for the meadows growing along the eastern coast of the Croatian Adriatic Sea. We used SCUBA diving and Secchi disk measurements to show that the lower depth limit of *P. oceanica* in the Croatian Adriatic Sea ranges from 24 m in the north to 36 m in the south, with a strong latitudinal gradient. The information on maximum depth distribution is an important asset when the increased human pressure and rapid environmental changes pose a threat to the survival of this slow-growing marine species, and should be taken into account in the future development of the monitoring guidelines.

Keywords: Adriatic Sea, depth range, lower limit, *Posidonia oceanica*, seagrass

O-34

KARTIRANJE MORSKIH STANIŠTA REPUBLIKE HRVATSKE

A. Žuljević¹, I. Cvitković¹, Z. Mesić², B. Radun³, S. Miko⁴, S. Tkalčec⁵, T. Klanjšček⁶, T. Bakran-Petrioli⁷, I. Lampek Pavčnik⁸, B. Pribičević⁹, N. Vrgoč¹

¹Institut za oceanografiju i ribarstvo, Šetalište Ivana Meštrovića 63, 21000 Split, Hrvatska, Hrvatska (zuljevic@izor.hr), ²Veleučilište u Karlovcu, Trg Josipa Jurja Strossmayera 9, 47000 Karlovac, Hrvatska (zrinka.mesic@vuka.hr), ³Oikon d.o.o. – Institut za primijenjenu ekologiju, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Hrvatski geološki institut, Milana Sachsa 2, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁵ECOTEHC d.o.o, Jasena 25, 10434 Strmec, Hrvatska, ⁶Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁷Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁸ILP rješenja, Medvečak 63 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁹Geodetski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 26, 10000 Zagreb, Hrvatska

2021. godine je započeo projekt kartiranja morskih staništa Republike Hrvatske na području obalnog i teritorijalnog mora te zaštićenog ekološko-ribolovnog pojasa (epikontinentalnog pojasa). U projekt je uključeno 5 vodećih hrvatskih institucija za istraživanje mora i okoliša te više od 30 stručnjaka različitih profila. Do kraja 2023. godine planirano je kariranje 51% morskih staništa direktnim metodama kartiranja i modeliranjem staništa. Direktne metode kartiranja obuhvaćaju akustične metode snimanja morskog dna (sonar), daljinska istraživanja (satelitske snimke i ortofoto) te 7 metoda in-situ uzorkovanja, odnosno određivanja stanišnih tipova (ronjenje, ROV, Drop-down kamera, CARLIT, uzorkovanja sa obale). Očekuje se da će u provedbi projekta sudjelovati više do 10 istraživačkih grupa različitih struka te je organizacija prikupljenih i obrađenih podataka napravljena kao integralna baza podataka na nivou projekta. Baza podataka omogućava pozicioniranje lokacija rijetkih i ugroženih stanišnih tipova te rijetkih i ugroženih vrsta. Razvijen je novi prijedlog Nacionalne klasifikacije staništa za klase F. Morske obale i G. Mora, koji će biti korišten prilikom izrade ove karte morskih staništa.

Cljučne riječi: more, bentos, kartiranje, tip staništa, klasifikacija staništa

MARINE HABITAT MAPPING IN CROATIA

A. Žuljević¹, I. Cvitković¹, Z. Mesić², B. Radun³, S. Miko⁴, S. Tkalčec⁵, T. Klanjšček⁶, T. Bakran-Petrioli⁷, I. Lampek Pavčnik⁸, B. Pribičević⁹, N. Vrgoč¹

¹Institute of Oceanography and Fisheries, Šetalište I. Meštrovića, Split, Croatia, ²Karlovac University of Applied Sciences, Trg Josipa Jurja Strossmayera 9, 47000 Karlovac, Croatia, ³Oikon Ltd. – Institute of Applied Ecology, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Croatia, ⁴Croatian Geological Survey, Milana Sachsa 2, 10000 Zagreb, Croatia, ⁵ECOTEHC Ltd., Jasena 25, 10434 Strmec, Croatia, ⁶Ruđer Bošković Institute, Division for Marine and Environmental Research, Bijenicka 54, 10000 Zagreb, Croatia, ⁷Faculty of Science University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia, ⁸ILP rješenja, Medvečak 63 10000 Zagreb, Croatia, ⁹Faculty of Geodesy University of Zagreb, Kačićeva 26, 10000 Zagreb, Croatia

The project of marine habitats mapping of the Republic of Croatia in the area of the coastal and territorial sea and the protected ecological-fishing zone (continental shelf) began in 2021. The project includes 5 leading Croatian institutions for marine and environmental research and more

than 30 experts with various specialities. By the end of 2023, it is planned to map 51% of marine habitats by direct mapping methods and by habitat modeling. Direct mapping methods include acoustic seabed imaging (sonar), remote sensing (satellite imagery and orthophoto) and 7 in-situ sampling methods, i.e. habitat type determination (diving, ROV, Drop-down camera, CARLIT, coastal sampling). It is expected that more than 10 research groups of different professions will participate in the implementation of the project. Therefore, the organization of collected and processed data is made as an integral database at the project level. The database enables positioning of locations of rare and endangered habitat types and rare and endangered species. A proposal of the new version of the National Classification of Habitats in the categories F. Sea Coast and G. Sea has been developed. The new proposal of the classification will be tested during the mapping in this project.

Keywords: sea, benthos, mapping, habitat type, habitat classification

BIOLOGIJA KOPNENIH VODA I KOPNA BIOLOGY OF FRESHWATER AND TERRESTRIAL ECOSYSTEMS

O-35

Uvodno predavanje / Introductory lecture

UTJECAJ MIKROKLIME NA EKTOTERME MEDITERANSKIH OTOKA

J. Bujan, C. Bertelsmeier

Department of Ecology and Evolution, University of Lausanne, 1015 Lausanne, Švicarska
(jelena.bujan@gmail.com)

Mali otoci su idealni prirodni eksperimenti termalne ekologije. Veličina otoka često je korelirana s temperaturom, pa su naizgled identična staništa izložena različitoj mikroklimi. Ta heterogenost mikroklima među otocima može imati značajan utjecaj na sposobnost otočnih zajednica da podnesu globalno zagrijavanje. Generalno, predviđa se da će globalni porast temperature najviše pogoditi ektoterme, koji nemaju sposobnost termoregulacije. Kako bi testirali da li temperatura otoka selektira termalno tolerantnije vrste i tako regulira sastav zajednica mediteranskih otoka koristili smo mrave, jer je njihova aktivnost direktno vezana za njihovu termalnu fiziologiju. Dodatno smo testirali da li mikroklima određuje termalne granice vrste kroz termalnu plastičnost. Na 8 otoka Elafitskog arhipelaga zabilježili smo sastav zajednica mrava, njihove „thermal limits“ te mikroklimatske uvjete tla. Dodatno smo kvantificirali stupanj termalne heterogenosti između otoka koristeći termalne snimke s drona. Prosječna temperatura tla među otocima je varirala i do 4°C unatoč ujednačenim makroklimatskim uvjetima koji su zabilježeni koristeći WorldClim. Raspon visokih temperatura koje su mravi mogli podnijeti bio je $41\text{--}49^{\circ}\text{C}$, a raspon niskih $1\text{--}7^{\circ}\text{C}$. Znanje o mikroklimatskoj heterogenosti otoka i termalnoj plastičnosti vrsta koje ih nastanjuju može nam dati bolji uvid u termalni stres kojim su izloženi. Naši rezultati pokazuju da makroklima otoka trenutno podcjenjuje izloženost ektotermu termalnom stresu.

Ključne riječi: mikroklima, otoci, Mediteran, mravi, toplinske granice, toplinska tolerancija

UNRAVELING THE EFFECTS OF MICROCLIMATE ON ECTOTHERMS IN MEDITERRANEAN ISLANDS

J. Bujan, C. Bertelsmeier

Department of Ecology and Evolution, University of Lausanne, 1015 Lausanne, Switzerland

Small islands are ideal natural thermal experiments. Island size often correlates with islands' thermal conditions, so that seemingly identical habitats experience different microclimates. Microclimatic heterogeneity between islands is likely to affect the ability of each island community to survive global warming. Generally, temperature raise is predicted to strongly affect small ectotherms that are unable to thermoregulate. We used ants-cursorial insects whose activity is directly governed by their thermal limits-to test if temperature selects for thermally tolerant species and thereby governs community composition on Mediterranean islands. Additionally, we tested if microclimate drives thermal tolerance within species by promoting thermal plasticity. We recorded ant community composition, thermal limits, and soil microclimates across 8 islands from the Elaphiti Archipelago. Additionally, we quantified the degree of thermal heterogeneity between islands using drone thermal imaging. Average soil temperatures varied by as much as 4°C despite apparently constant macroclimatic conditions observed using WorldClim. We found substantial variation in ant thermal limits: heat tolerance

ranged from 41–49°C and cold tolerance 1–7°C. Knowing the extent of islands' microclimatic heterogeneity and plasticity of species inhabiting them can give us a better estimate of the experienced thermal stress and availability of thermal relief. Our results suggest that island macroclimates currently underestimate heat stress experienced by small ectotherms.

Keywords: microclimate, islands, Mediterranean, ants, thermal limits, heat tolerance

O-36

ODREĐIVANJE UTJECAJA KLIMATSKIH PROMJENA NA ZAJEDNICU TRZALACA (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) U VIŠEGODIŠNJEM ISTRAŽIVANJU SEDRENE BARIJERE KOZJAK-MILANOVAC

V. Dorić¹, V. Baranov², I. Pozojević¹, Z. Mihaljević¹, M. Ivković¹

¹Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (valentina.doric@biol.pmf.hr), ²Ludwig Maximilian University Munich, Biocenter, Großhaderner Str. 2, 82152 Planegg-Martinsried, Njemačka

Trzalci (Chironomidae) su najraznolikija i često najbrojnija skupina makrozoobentosa u slatkim vodama. Cilj ovog istraživanja je odrediti utjecaj klimatskih promjena na sastav zajednice trzalaca sedrene barijere Kozjak–Milanovac. Istraživanje je provedeno u Nacionalnom parku Plitvička jezera koji se sastoji od 16 oligotrofnih protočnih jezera povezanih sedrenim barijerama. Odrasli trzalci su sakupljeni na sedrenoj barijeri Kozjak–Milanovac od 2007. do kraja 2020. godine emergencijskim piramidama. Temperatura vode je mjerena 2 puta dnevno „data logerima“. Podaci o protoku su dobiveni od Državnog hidrometeorološkog zavoda, a podaci o količini organske tvari od uprave parka. Brzina strujanja vode je mjerena mjesečno tijekom sakupljanja materijala. Tijekom 14 godina sakupljeno je više od 13 000 jedinki koje pripadaju unutar više od 80 taksona. Uočen je porast vrijednosti temperature vode, količine organskih tvari, protoka i brzine strujanja vode. Tijekom godina nije došlo do promjene u brojnosti i bogatstvu vrsta trzalaca, ali je došlo do promjena u sastavu zajednice i trofičke strukture. Brojnost aktivnih filtratora i detritivora kao što su *Polypedilum scalaenum* i *Tanytarsus signatus* se smanjila dok je brojnost reofilnih pasivnih filtratora poput *Rheotanytarsus reissi* i *R. curtistylus* porasla. Iako brojnost i bogatstvo vrsta nisu ukazali na promjenu, sastav zajednice jest, što upućuje na važnost taksonomije u otkrivanju najsuptilnijih odgovora zajednica na promjene u okolišu.

Ključne riječi: Chironomidae, klimatske promjene, temperatura vode, protok vode, sastav vrsta

Detecting climate change impact on chironomid (Diptera, Chironomidae) community in a long-term study of tufa barrier Kozjak–Milanovac

V. Dorić¹, V. Baranov², I. Pozojević¹, Z. Mihaljević¹, M. Ivković¹

¹Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (valentina.doric@biol.pmf.hr), ²Ludwig Maximilian University Munich, Biocenter, Großhaderner Str. 2, 82152 Planegg-Martinsried, Germany

Chironomids (Chironomidae) are the most diverse and usually most abundant macroinvertebrates in freshwater. The goal of this study is to determine effects of climate change on the chironomid composition of tufa barrier Kozjak–Milanovac. The study was conducted in Plitvice Lakes National Park which consist of 16 oligotrophic fluvial lakes divided by

tufa barriers. Adult chironomids were collected from 2007. until the end of 2020. using emergence traps at tufa barrier Kozjak-Milanovac. Water temperature was measured daily, 2 times a day using data loggers. Data on discharge was obtained from Croatian Meteorological and Hydrological Service, and data on organic material was obtained from Plitvice Lakes NP. Water velocity was measured monthly during field work. More than 13 000 individuals belonging to more than 80 taxa were collected through the 14 years. Increase in water temperature, velocity, discharge and amount of organic material was detected. Chironomid abundance and species richness did not change over the years but species composition and trophic structure did. Abundance of active filtrators and detritivores like *Polypedilum scalaenum* and *Tanytarsus signatus* declined and abundance of rheophilic passive filtrators like *Rheotanytarsus reissi* and *R. curtistylus* increased. Although species richness and abundance did not change over the years species composition did, directing us towards high-level taxonomy and its impact on fine resolution of community response.

Keywords: Chironomidae, climate change, water temperature, water discharge, species composition

O-37

IMUNOSNI ODGOVOR SLATKOvodnih DESETERONOŽNIH RAKOVA: ŠTO GA OBLIKUJE?

P. Dragičević, D. Grbin, I. Maguire, S. A. Blažević, L. Abramović, A. Tarandek, S. Hudina Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (paula.dragicevic@biol.pmf.hr)

Samo mali dio svih unesenih vrsta diljem svijeta postane invazivan. Međutim, ove vrste negativno utječu na funkcioniranje ekosustava i jedan su od vodećih uzroka gubitka bioraznolikosti, što čini identifikaciju i upravljanje uspješnim invazivnim vrstama prioritetom. Imunosni sustav invazivne vrste važna je komponenta invazivnog uspjeha jer omogućuje vrsti da se prilagodi uvjetima novog okoliša dok širi svoj areal. Usto, imunosni odgovor invazivne vrste može varirati duž invazivnog areala zbog raznih biotičkih i abiotičkih faktora. Ovdje smo analizirali koji faktori oblikuju imunosni odgovor jedne od najuspješnijih slatkovodnih invazivnih vrsta, signalnog raka, u rijeci Korani u Hrvatskoj, gdje je ova vrsta nedavno unesena. Koristili smo nekoliko standardnih imunosnih parametara (snaga reakcije inkapsulacije, broj hemocita, enzimska aktivnost fenoloksidaze i ukupna koncentracija profenoloksidaze) kako bi analizirali učinke specifičnih prediktora (temperatura vode, gustoća populacije i tjelesna kondicija) na imunosni odgovor raka. Nadalje, usporedili smo imunosne odgovore invazivnog signalnog raka i zavičajnog uskoškarog raka, koji također nastanjuje rijeku Koranu. Imunosni odgovor najviše je oblikovan temperaturom vode i gustoćom populacije te se značajno razlikovao između dviju vrsta. Dobiveni rezultati upućuju na to da se imunosni sustav mijenja tijekom širenja areala te ukazuju na to da bi imunitet mogao imati ulogu u invazivnom uspjehu invazivnih vrsta beskralježnjaka.

Ključne riječi: *Pacifastacus leniusculus*, invazivni uspjeh, imunosni odgovor, *Pontastacus leptodactylus*, gustoća populacije, temperatura vode, kondicijski parametri

IMMUNE RESPONSE IN FRESHWATER CRAYFISH: WHAT SHAPES IT?

P. Dragičević, D. Grbin, I. Maguire, S. A. Blažević, L. Abramović, A. Tarandek, S. Hudina
Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb,
Hrvatska (paula.dragicevic@biol.pmf.hr)

Only a small proportion of all introduced species worldwide become invasive. However, these species negatively affect ecosystem functioning and are one of the leading causes of biodiversity loss, which makes identification and management of successful invaders a priority. Invaders' immune system is an important component of invasion success, since it enables invaders to adapt to the conditions of the novel environment as they expand their range. Also, immune response of invaders may vary along the invasion range due to variety of biotic and abiotic factors. Here, we analyzed which factors shape the immune response of one of the most successful freshwater invaders, the signal crayfish, in the recently invaded Korana River, Croatia. We used several standard immune parameters (encapsulation response, hemocyte count, phenoloxidase activity, and total prophenoloxidase) to analyze effects of specific predictors (water temperature, crayfish abundance, and body condition) on crayfish immune response. Furthermore, we compared the immune response of the invasive signal crayfish to the immune response of its co-occurring species in the Korana River, native narrow-clawed crayfish. Immune response was mostly affected by water temperature and crayfish abundance, and significantly differed between native and invasive species. Obtained results indicate that immune system changes during range expansion, and imply that immunity could have a role in invasion success of invertebrate invaders.

Keywords: *Pacifastacus leniusculus*, invasion success, immune response, *Pontastacus leptodactylus*, population density, water temperature, body condition parameters

O-38

PROCJENA POSTOTKA LAŽNIH NEGATIVNIH NALAZA PRI ISTRAŽIVANJU POTOČNOG RAKA VRŠAMA

M. Faller¹, A. Đanić², M. Kresonja², M. Sabolić³

¹Iktus d.o.o., Franje Cirakija 10, 34000 Požega, Hrvatska (matejfaller@gmail.com), ²Oikon d.o.o., Trg Senjskih uskoka 1-2, 10020 Zagreb, Hrvatska (adanic@oikon.hr, mkresonja@oikon.hr),

³Zavod za zaštitu okoliša i prirode, Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja, Ul. Grada Vukovara 78, 10000 Zagreb Hrvatska (Marija.Sabolic@mingor.hr)

Potočni rak (*Austropotamobius torrentium*) je ugrožena vrsta na listi EU Direktive o staništima i na Crvenoj listi IUCN-a. Glavna metoda istraživanja njegove rasprostranjenosti i monitoringa znanih populacija su vrše za rukove. Pri provedbi standardnih protokola u Hrvatskoj uobičajeno se koristi pet ili deset vrša po lokaciji i rezultat je procjena relativne veličine populacije kroz ulov po jedinici lovne naprave. Ova analiza istražuje frekvenciju lažnih negativnih nalaza prilikom korištenja navedenih protokola. Korišteni su podaci iz aktivnosti "Usluga praćenja učinkovitosti mjera očuvanja slatkovodnih ekosustava i izrada Priručnika" u sklopu projekta "Razvoj okvira za upravljanje ekološkom mrežom Natura 2000 u Hrvatskoj". Istraživano je 11 lokaliteta, od kojih je na 8 (73%) zabilježen potočni rak. Tih 8 lokaliteta, s potvrđenom prisutnošću potočnog raka, praćeno je tijekom 6 sezona, rezultirajući s ukupno 48 terenskih izlazaka. Svaki put, korišteno je 20 vrša, ali podaci su analizirani na način da se vidi koji rezultati bi bili dobiveni da se koristio manji broj vrša. Pri korištenju 5 vrša, rukovi nisu zabilježeni na 21 (44%) lokacija. Pri korištenju

10 vrša rakovi nisu zabilježeni na 16 (33%) lokaliteta. Čak i pri korištenju 20 vrša, rakovi nisu zabilježeni na 5 (10%) lokaliteta. Ovi rezultati ukazuju na to da su populacije potočnog raka često malobrojne i to se mora uzeti u obzir pri interpretaciji negativnih nalaza.

Ključne riječi: lažni negativni nalaz, potočni rak, *Austropotamobius torrentium*, vrše

ASSESSMENT OF PERCENTAGE OF THE FALSE NEGATIVE FINDINGS IN STONE CRAYFISH TRAPPING

M. Faller¹, A. Đanić², M. Kresonja², M. Sabolić³

¹Iktus d.o.o., Franje Cirakija 10, 34000 Požega, Croatia (matejfaller@gmail.com), ²Oikon d.o.o., Trg Senjskih uskoka 1-2, 10020 Zagreb, Croatia (adanic@oikon.hr, mkresonja@oikon.hr),

³Institute for Environment and Nature, Ministry of Economy and Sustainable Development, Ul. Grada Vukovara 78, 10000 Zagreb, Croatia (Marija.Sabolic@mingor.hr)

Assessment of percentage of the false negative findings in stone crayfish trapping Stone crayfish (*Austropotamobius torrentium*) is an endangered species listed in the EU Habitats directive and IUCN Red List of Threatened Species. Crayfish traps are the main method of surveying its range and monitoring known populations. Standard national protocols in Croatia usually use five or ten traps per location and provide an assessment of relative abundance through catch per unit of effort. This analysis investigates the frequency of false-negative findings in that survey design. Data from the activity "Monitoring of the effectiveness of conservation measures in freshwater ecosystems and development of Handbook", within the project "Development of Natura 2000 management framework in Croatia" were used. Initially, 11 sites were surveyed, and 8 (73%) had stone crayfish present. Monitoring of 8 sites with confirmed presence of stone crayfish was undertaken during 6 seasons, resulting in 48 independent surveys. Each time, 20 traps were used on each site, but data are analysed to see which result would be obtained if lower number of traps were used. If only 5 traps were used, crayfish would not be detected at 21 (44%) sites. If only 10 traps were used, crayfish would not be recorded at 16 (33%) sites. Even the use of 20 traps did not record crayfish at 5 (10%) sites. These results indicate that stone crayfish population densities are frequently very rare, which must be considered when interpreting negative findings.

Keywords: false-negative finding, stone crayfish, *Austropotamobius torrentium*, traps

O-39

NEZAUSTAVLJIV: KRONIČNA INFKECIJA MARGINALNO UTJEĆE NA PREŽIVLJAVANJE I RAST INVAZIVNE STRANE VRSTE MRAMORNOG RAKA

S. Hudina¹, A. Dobrović¹, S. Geček², T. Klanjšček², I. Haberle², P. Dragičević¹, D. Pavić³, A. Petelinec^{1,4}, Lj. L. Boštjančić^{5,6}, L. Bonassin^{5,6}, K. Theissinger⁵

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (sandra.hudina@biol.pmf.hr), ²Zavod za istraživanje mora i okoliša, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Kačićeva 23, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Zavod za molekularnu biologiju, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska,

⁵LOEWE Centre for Translational Biodiversity Genomics (LOEWE-TBG), Senckenberg Biodiversity

and Climate Research Centre, Senckenbergenlage 25, D-60325 Frankfurt/Main, Njemačka,
⁶Department of Computer Science, ICube, UMR 7357, University of Strasbourg, CNRS, Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg, 67000 Strasbourg, Francuska

Invazivne strane vrste predstavljaju prijetnju raznolikosti slatkovodnih ekosustava i populacijama zavičajnih vrsta slatkovodnih rakova, primarno zbog prijenosa bolesti rače kuge. No, kronična infekcija račjom kugom može i kod tolerantne invazivne strane vrste dovesti do kompromisa u raspolijeli energije između ulaganja u imunosni odgovor i rasta i reprodukcije, što u kombinaciji s drugim nepovoljnim okolišnim uvjetima može utjecati na njezin invazivni uspjeh. U ovom smo istraživanju ispitali da li imunosni odgovor na infekciju patogenom rače kuge negativno utječe na rast i preživljavanje juvenilnih jedinki invazivne strane vrste mramornog raka (*Procambarus virginalis*). U sklopu eksperimentalnih istraživanja, jedinke su izložene različitim koncentracijama patogena (2) i različitim režimima hranjenja (2). U svim pokusima, ponavlajuća infekcija rezultirala je smanjenim prirastom jedinki. Značajan porast mortaliteta inficiranih jedinki zabilježen je tek pri uvjetima značajne limitacije hrane, u grupi koja je bila vrlo blizu izgladnjivanja. S obzirom da su infekcije bile česte, a koncentracije patogena visoke, rezultati pokazuju kako je mramorni rak otporan na patogen *Aphanomyces astaci* i kako dodatni stresori (izgladnjivanje) marginalno povećavaju mortalitet inficiranih jedinki. Stoga, kronična infekcija račjom kugom vjerojatno neće imati značajan utjecaj na invazivni uspjeh mramornog raka, čak niti u nepovoljnim uvjetima.

Ključne riječi: invazivne strane vrste, troškovi imunosnog odgovora, infekcija, limitacija hrane

THE UNSTOPPABLE EMERGING INVADER: RECURRING INFECTION ONLY MARGINALLY AFFECTS SURVIVAL AND GROWTH OF MARBLED CRAYFISH

S. Hudina¹, A. Dobrović¹, S. Geček², T. Klanjšček², I. Haberle², P. Dragičević¹, D. Pavić³, A. Petelinec^{1,4}, Lj. L. Boštjančić^{5,6}, L. Bonassin^{5,6}, K. Theissing⁵

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (sandra.hudina@biol.pmf.hr), ²Division for Marine and Environmental Research, Rudjer Boskovic Institute, 10000 Zagreb, Croatia, ³Department of Biochemical Engineering, Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10000 Zagreb, Croatia, ⁴Division of Molecular Biology, Rudjer Boskovic Institute, 10000 Zagreb, Croatia, ⁵LOEWE Centre for Translational Biodiversity Genomics (LOEWE-TBG), Senckenberg Biodiversity and Climate Research Centre, Frankfurt, Germany, ⁶Department of Computer Science, ICube, UMR 7357, University of Strasbourg, CNRS, Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg, 67000 Strasbourg, France

Invasive alien crayfish threaten the freshwater biodiversity and native crayfish fauna, largely due to transmission of crayfish plague to susceptible native crayfish. A chronic crayfish plague infection in an otherwise tolerant invader may lead to trade-offs between immune response maintenance and individual growth and reproduction. In combination with other unfavorable conditions, this could alter further invasion success of an otherwise successful crayfish invader. Here, we examined whether mounting an immune response to a repeated infection with crayfish plague agent (*Aphanomyces astaci*) incurs energetic costs in juvenile marbled crayfish (*Procambarus virginalis*) that trade off with growth (sublethal endpoint) and/or result in mortality (lethal endpoint). Juveniles were exposed to: i) two levels of pathogen concentrations, and ii) two different feeding regimes under the higher pathogen concentration. In all performed

trials, repeated infection resulted in reduction of growth rates. Significant increase in mortality of infected individuals occurred only under extreme food limitation, in a group that was at or very near starvation. Since infections were frequent and pathogen concentrations high, results suggest that marbled crayfish is resistant to *A. astaci* and only marginally affected by adding the stress of food limitation. Therefore, chronic infections most likely cannot significantly impede invasion success of this successful invader even under harsh conditions.

Keywords: invasive species, immunity cost, trade-off, infection, food limitation

O-40

UTJECAJ INVAZIVNOG RAKUŠCA *Dikerogammarus villosus* NA RAZGRADNJU LISTINCA U RIJECI DRAVI

T. Kralj¹, D. Valić¹, A. Martinović¹, K. Žganec²

¹Laboratorij za biološke učinke metala, Zavod za istraživanje mora i okoliša, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (tkralj@irb.hr, dvalic@irb.hr), ²Odjel za nastavničke studije u Gospiću, Sveučilište u Zadru, Ul. dr. Ante Starčevića 12, 53000 Gospić, Hrvatska (kzganec@unizd.hr)

Rakušci (Amphipoda) se smatraju ključnom skupinom u razgradnji krupnih čestica organske tvari u vodenim ekosustavima te često predstavljaju ključne vrste u hranidbenim mrežama i kruženju organske tvari. Cilj istraživanja bio je testirati razlike u stopama razgradnje listinca na postajama gdje je prisutan invazivni rakušac *Dikerogammarus villosus* i postaja gdje su prisutne samo autohtone vrste rakušaca. Eksperiment je proveden u listopadu 2021. godine na dvije lokacije na rijeci Dravi, sa dvije postaje na svakoj lokaciji (nizvodno je *D. villosus* prisutan zajedno s autohtonim rakušcima, uzvodno nije prisutan). Nakon kondicioniranja listinca u potočnoj vodi, na svaku postaju postavljeno je 30 vrećica s listincem (15 vrećica sa sitnim promjerom oka kao kontrola i 15 vrećica s krupnjim) uzorkovanih tri puta (nakon 3, 7 i 11 dana). Na početku eksperimenta u svakoj vrećici bilo je 2,5 g lišća vrbe prethodno osušenog 16 sati na 60°C. Stope razgradnje listinca bile su 1.1-6.9 puta manje na postajama gdje je bio prisutan *D. villosus*, a ova razlika bila je statistički značajna samo na jednoj lokaciji. Korelacija gubitka mase listinca i suhe mase autohtonih rakušaca bile su pozitivne i statistički značajne na obje lokacije ($r_s=0,44$ i $0,66$), dok su korelacije sa suhom masom vrste *D. villosus* bile negativne ($r_s=-0,55$ i $-0,33$). Ovi rezultati pokazuju da invazija rakušca *D. villosus* može značajno promijeniti važnu funkcionalnu ulogu autohtonih rakušaca u razgradnji listinca u rijeci Dravi.

Ključne riječi: zajednica makrozoobentosa, autohtoni, invazivni rakušci, usitnjivači, rijeka Drava

THE IMPACT OF INVASIVE AMPHIPOD *Dikerogammarus villosus* ON LEAF LITTER DECOMPOSITION IN THE DRAVA RIVER

T. Kralj¹, D. Valić¹, A. Martinović¹, K. Žganec²

¹Division for Marine and Environmental Research, Laboratory for Biological Effects of Metals, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (tkralj@irb.hr, dvalic@irb.hr),

²Department of Teacher Education Studies in Gospić, University of Zadar, dr. Ante Starčevića 12, 53000 Gospić, Croatia (kzganec@unizd.hr)

Freshwater amphipods have important role in decomposition of coarse particulate organic matter and often represent key species in aquatic food webs and organic matter cycling. The aim of this study was to test the differences in leaf litter decomposition rates between two pairs of sites, with and without invasive amphipod *Dikerogammarus villosus*. The experiment was conducted in October 2021 at two locations on the Drava River in Croatia; at each location at upstream site only native species were present, while at downstream site *D. villosus* co-occurred with native species. At each site 30 leaf bags (15 fine leaf bags for control and 15 coarse leaf bags) were placed into water containing 2.5 g of willow leaves dried for 16 hours at 60°C and sampled three times (after 3, 7 and 11 days). Leaves were conditioning in stream water for one week before the experiment. Leaf decomposition rates for coarse leaf bags were 1.1-6.9 times lower at sites where *D. villosus* was present, but significant difference between sites was established only at one location. The correlation between dry mass of native amphipods and leaf litter mass loss was significant at both sites ($r_s=0.44$ and 0.65), while negative correlations were established for dry mass of *D. villosus* ($r_s=-0.55$ and -0.33). These results indicate that invasion of *D. villosus* changes important functional role which native gammarids have in decomposition of leaf litter in the Drava River.

Keywords: benthic community, native, invasive Amphipoda, shredder, Drava River

O-41

ISTRAŽIVANJA FITOPLANKTONA I FITOBENTOSA ŠIREG PODRUČJA KOPAČKOG RITA U SKLOPU PROJEKTA NATURAVITA

T. Kristić¹, K. Peharda¹, M. Gligora Udovič², N. Bek¹, T. Ž. Pfeiffer¹, D. D. Špoljarić Maronić¹, M. Šušnjara², F. Stević¹

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (tea.kristic@biologija.unios.hr, kpeharda@biologija.unios.hr, nbek@biologija.unios.hr, tzuna@biologija.unios.hr, dspoljaric@biologija.unios.hr, fstevic@biologija.unios.hr), ²Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (marija.gligora.udovic@biol.pmf.hr, susnjara.mirela@biol.pmf.hr)

Monitoring fitoplanktona i fitobentosa na širem području Parka prirode Kopački rit započeo je 2020. godine u sklopu projekta Naturavita. Cilj ovog istraživanja je analizirati sastav fitoplanktona i fitobentosa te njihove interakcije s abiotičkim i biotičkim čimbenicima u svrhu revitalizacije te uspostave dugoročnog upravljanja vodenim ekosustavima na području Kopačkog rita. Fitoplankton je uzorkovan u jednomjesečnim intervalima od srpnja 2020. do lipnja 2021. godine, a fitobentos u srpnju i rujnu 2020., te svibnju 2021. godine na 15 postaja - 7 postaja koje se nalaze u štićenom području (izvan nasipa), 7 postaja u poplavnom području Dunava te Dunav. Fitoplanktonu zajednicu karakterizirala je velika bioraznolikost i mala sličnost između uzoraka i postaja. Ukupno je utvrđena 351 svojta, a najzastupljenije su bile iz koljena Bacillarophyta (28,05%) i Chlorophyta (27,76%). Biomasa fitoplanktona kretala se od 0,25 mg/L do 47,56 mg/L. Svoje fitoplanktona svrstane su u 31 funkcionalnu grupu, od kojih je grupa MP bila najzastupljenija. Analizom dijatomejskih uzoraka fitobentosa na 7 različitim supstrata utvrđeno je ukupno 169 svojti. Najveća raznolikost dijatomeja utvrđena je na postaji Bara Semenča (99 svojti). Na temelju sličnosti u sastavu fitobentosa na istraživanim postajama jasno se odjeljuju štićeno područje i rijeka Dunav te postaje u poplavnom području Dunava.

Ključne riječi: bioraznolikost, alge, cijanobakterije, poplavno područje

PHYTOPLANKTON AND PHYTOBENTHOS STUDY IN THE WIDER AREA OF KOPAČKI RIT WITHIN THE NATURAVITA PROJECT

T. Kristić¹, K. Peharda¹, M. Gligora Udovič², N. Bek¹, T. Ž. Pfeiffer¹, D. D. Špoljarić Maronić¹, M. Šušnjara², F. Stević¹

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer, University of Osijek, Ulica cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (tea.kristic@biologija.unios.hr, kpeharda@biologija.unios.hr, nbek@biologija.unios.hr, tzuna@biologija.unios.hr, dspoljaric@biologija.unios.hr, fstevic@biologija.unios.hr), ²Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (marija.gligora.udovic@biol.pmf.hr, susnjara.mirela@biol.pmf.hr)

Monitoring of the phytoplankton and phytobenthos in the wider area of the Kopački Rit Nature Park began in 2020 as part of the Naturavita project. The aim of this research is to analyze the composition of phytoplankton and phytobenthos and their interactions with abiotic and biotic factors for the purpose of revitalization, and to establish long-term management of aquatic ecosystems in the area of Kopački rit. Phytoplankton was sampled monthly from July 2020 to June 2021, while phytobenthos was collected in July and September 2020 and in May 2021 at 15 stations - 7 in the protected area (outside the embankment), 7 in the floodplain area of the Danube and the Danube River. Phytoplankton was characterized by high biodiversity and low similarity between samples and stations. A total of 351 taxa were identified, with Bacillariophyta (28.05%) and Chlorophyta (27.76%) being the most frequent. Phytoplankton biomass ranged from 0.25 mg/L to 47.56 mg/L. Phytoplankton species were classified into 31 functional groups, of which the MP group was the most common. Based on the phytobenthos diatom analysis a total of 169 taxa on 7 different substrates were determined. The highest diatom diversity was found at the Bara Semenča station (99 taxa). Due to the similarities in phytobenthos assemblages at the studied stations, the stations from the protected area and the Danube River, as well as the stations in the Danube floodplain are clearly separated from each other.

Keywords: biodiversity, algae, cyanobacteria, floodplain area

O-42

EKSPEDICIJE U ISTRAŽIVANJU ŠPILJSKIH ŽIVOTINJA HRVATSKE

N. Kuharić¹, A. Kirin^{1,2}, V. Sudar^{1,3}, J. Bedek^{1,4}

¹Hrvatsko biospeleološko društvo, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, (nina.kuharic@hbsd.hr), ²Udruga Breganja, Ul. Ljudevita Šmidhena 13/2, 10430 Samobor Hrvatska (kirinalon@gmail.com), ³Speleološki klub Ozren Lukić, Hercegovačka ul. 109, 10000 Zagreb, Hrvatska (vedran.sudar@gmail.com), ⁴Laboratorij za molekularnu genetiku, Zavod za molekularnu biologiju, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (jbedek@irb.hr)

Za provedbu biospeleoloških istraživanja u izuzetno zanimljivim i izazovnim krškim područjima Hrvatske, Hrvatsko biospeleološko društvo je, u suradnji s udrugom Breganja, odlučilo

organizirati biospeleološke ekspedicije. Rezultat suradnje su tri prilično različite ekspedicije: Biokovo 2017., Pelješac 2019. i Mali Šibenik 2021. Ekspedicija na Biokovu 2017. godine je bila fokusirana na duboke jame (>250 m) koje zahtijevaju i intenzivno speleološko istraživanje. Bogatstvo špilja i jama Biokova je dobro poznato, više od 400 ih je istraženo, a pretpostavlja se da ih postoji preko 1 000. Druga ekspedicija je održana 2019. na Pelješcu. Na tom su području speleološka istraživanja bila slaba, a biospeleološka sporadična. Mali Šibenik je planinsko područje u neposrednom zaleđu Biokova. Rezultati nekoliko biospeleoloških posjeta od 2017. su kulminirali ekspedicijom 2021. godine, te pokazali da područje krije jedinstvenu špiljsku faunu. U sve tri ekspedicije je ukupno sudjelovalo 80 ljudi, od kojih 43 speleologa bez izraženog interesa za biospeleologiju. Toliki broj speleologa za vrijeme terenskih istraživanja je omogućio i biologima i speleolozima da se usredotoče na svoje ciljeve. Fauna je sakupljana u 84 špilje i jame. Do sada je otkriven 1 novi rod kornjaša, te 19 novih vrsta iz skupina pijavica, pauka, lažipauka, jednakonožnih rakova, striga, skokuna, dvorepacu i kornjaša. Također je topografski snimljeno 47 speleoloških objekata od kojih su 2 duboke jame i 24 potpuno nova objekta.

Ključne riječi: biospeleologija, Biokovo, Pelješac, Mali Šibenik

EXPEDITIONS IN FAUNA RESEARCH OF CROATIAN CAVES

N. Kuharić¹, A. Kirin^{1,2}, V. Sudar^{1,3}, J. Bedek^{1,4}

¹Croatian Biospeleological Society, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (nina.kuharic@hbsd.hr), ²Breganja Association, Ul. Ljudevita Šmidhena 13/2, 10430 Samobor, Croatia (kirinalon@gmail.com), ³Speleological club Ozren Lukić, Hercegovačka ulica 109, 10000 Zagreb, Croatia (vedran.sudar@gmail.com), ⁴Laboratory for Molecular Genetics, Division of Molecular Biology, Ruđer Bošković Institute, Bijenička 54, 10000 Zagreb, Croatia (jbedek@irb.hr)

To conduct biospeleological research in highly interesting and challenging karst areas of Croatia, Croatian Biospeleological Society decided to organize biospeleological expeditions in collaboration with Breganja Association. This resulted in three rather different expeditions: Biokovo 2017, Pelješac 2019 and Mali Šibenik 2021. The Biokovo 2017 expedition was focused on deep pits (>250 m) which also require intense speleological research. Occurrences of caves and pits of Biokovo Mt are relatively well known; where over 400 of them are explored and cavers estimate that over 1000 exist. The second expedition was in 2019 at the Pelješac peninsula, where caves are poorly explored with only sporadic biospeleological research. Mali Šibenik is a mountain located in the immediate hinterland of Biokovo Mt. Several research visits since 2017 culminated in the expedition in 2021 and showed it hosts unique subterranean fauna. In all three expeditions, a total of 80 people participated, among which 43 were cavers without a special interest in biospeleology. Having so many cavers during field exploration allowed both biologists and cavers to focus on their research. Fauna was collected from 84 caves and pits. So far one new coleopteran genus and 19 new species from the groups Hirudinea, Araneae, Opiliones, Isopoda, Chilopoda, Collembola, Diplura and Coleoptera have been identified. Also, 24 new caves and pits were discovered, and 47 were surveyed (mapped), two of which were deep pits.

Keywords: biospeleology, Biokovo, Pelješac, Mali Šibenik

OSOBINE IMUNOSTI I OTPORNOSTI ORGANIZAMA NA PRESUŠIVANJE DILJEM POVREMENIH RIJEKA I BUJIČNIH POTOKA EUROPE

L. Polović¹ P. Pařil², M. Miliša¹

¹Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (luka.polovic@gmail.com), ²Department of Botany and Zoology, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2, 61137 Brno, Češka

Klimatske promjene sve su češći faktor stresa u okolišu, osobito u povremenim rijeckama i bujičnim potocima (IRES) koji su jedan od klimatski najosjetljivijih ekosustava. Suha i vlažna razdoblja IRES-a se mijenjaju, utječući na biološku raznolikost, ekološke funkcije i usluge ekosustava koje pružaju. Projekt DRYvER pokrenut je kako bi se napor usmjerili na razumijevanje i ublažavanje učinaka klimatskih promjena na IRES (www.dryver.eu). Stručnjaci s četiri kontinenta rade na sveobuhvatnom meta-sustavu kako bi poboljšali naše razumijevanje učinaka isušivanja riječne mreže na biološku raznolikost i ekološki integritet. To uključuje korištenje znanja stručnjaka, objavljene literature i postojećih baza podataka kako bi se stvorila baza podataka o imunosti (sposobnosti toleriranja) i otpornosti (sposobnosti izbjegavanja i/ili oporavka) na isušivanje diljem europskih IRES zajednica. Bakterije, gljive, dijatomeje, makrobeskralješnjaci i ribe su zastupljene u ovoj bazi podataka. Do sada smo sastavili popis potencijalnih osobina za svaku od spomenutih biota. Budući da se metoda za određivanje svojstava biote uvelike razlikuje, svaka osobina ima svoje objašnjenje ili obrazloženje, te svoju metodu kodiranja. Dok neke osobine dijele bakterije, gljive i dijatomeje (npr. proizvodnja biofilma), individualni pristup nam omogućuje da odredimo koje osobine imaju najveću pokrivenost skupine, a koje daju najpreciznije informacije o sposobnosti skupine da preživi presušivanje.

Ključne riječi: IRES, presušivanje, imunost, otpornost, osobine

DRYING RESISTANCE AND RESILIENCE TRAITS IN INTERMITTENT RIVERS AND EPHEMERAL STREAMS OF EUROPE

L. Polović¹ P. Pařil², M. Miliša¹

¹Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (luka.polovic@gmail.com), ²Department of Botany and Zoology, Masaryk University, Kotlářská 2, 61137 Brno, Czech Republic

Climate change is an increasingly prevalent environmental stressor, particularly in intermittent rivers and ephemeral streams (IRES) which are one of the most climate-sensitive ecosystems. Dry and wet periods of IRES are altering, affecting biodiversity, ecological functions, and ecosystem services that they provide. Project DRYvER was launched to focus efforts on understanding and mitigating the effects of climate change on IRES (www.dryver.eu). Experts from four continents are working on a comprehensive meta-system framework to improve our understanding of the effects of river network drying on biodiversity and ecological integrity. This includes utilizing experts' knowledge, published literature, and existing databases to create a database of resistance (ability to tolerate) and resilience (ability to avoid and/or recover) traits to cope with drying across European IRES communities. Bacteria, fungi, diatoms, macroinvertebrates, and fish are all represented in this database. So far, we've compiled a list of potential traits for each of the biota mentioned. Because the method for determining biota traits

varies greatly, each trait has its own explanation or rationale, and its own coding method. While some traits are shared by bacteria, fungi, and diatoms (e.g., biofilm production), individual approach allows us to determine which traits have the most coverage of the group and which ones provide the most precise information on the group's ability to survive drying events.

Keywords: IRES, drying, resistance, resilience, traits

O-44

DEFINIRANJE OBRAZACA I STOPA PRIRODNE VARIJABILNOSTI ZAJEDNICE SLATKOvodnih KUKACA U ODNOSU NA VARIJABILNOST UZROKOVANU SUŠOM UKAZUJU NA VAŽNOST DUGOROČNIH EKOLOŠKIH ISTRAŽIVANJA

I. Pozojević, V. Dorić, M. Miliša, I. Ternjej, M. Ivković

Zoologiski zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ivana.pozojevic@biol.pmf.hr)

Rijetko koji ekolog nije koristio klimatske promjene kako bi potkrijepio ili argumentirao svoje rezultate u istraživanju ranjivosti određenih svojti, zajednica ili ekosustava. Dugoročni biološki podaci na razini zajednica, s kojima se učinci klimatskih promjena na sastav zajednice mogu pratiti kroz dulje razdoblje od nekoliko godina, gotovo da i ne postoje. 13-godišnji istraživački program u dinarskom kršu Hrvatske s mjesечnim uzorkovanjem, imao je za cilj sveobuhvatno praćenje emergencije slatkovodnih kukaca (odnosno muha: Diptera) u netaknutom slatkovodnom ekosustavu. Istraživanje se poklopilo s velikom sušom koja se dogodila 2011./2012. Ovaj događaj izazvao je najveće razmjere suše (niske količine oborina u dužem vremenskom razdoblju) u regiji od početka dvadesetog stoljeća. Obrasci sezonske i godišnje dinamike zajednice dvokrilaca prikazani su kao mjere euklidske udaljenosti za sličnost u sastavu zajednice usporedno s povećanjem vremenske udaljenosti između uzoraka. To je učinjeno kako bi se utvrdila stopa prirodne vremenske varijabilnosti mijere sličnosti zajednice ili eventualno definirali obrasci sušom uvjetovane i usmjerene promjene sličnosti tijekom vremena. Otkriveno je da je oporavak zajednice od posljedice suše još uvek u tijeku čak i sedam godina nakon samog događaja. Rezultati također izazivaju i zabrinutost hoće li potpuni oporavak uopće biti moguć kada bi se u budućnosti dogodio sličan događaj pod utjecajem sveprisutnih klimatskih promjena.

Ključne riječi: oporavak zajednice, konvergencija, zajednica dvokrilaca, suša

DEFINING PATTERNS AND RATES OF NATURAL VS. DROUGHT DRIVEN AQUATIC COMMUNITY VARIABILITY PROVES WE STILL NEED LONG TERM ECOLOGICAL RESEARCH

I. Pozojević, V. Dorić, M. Miliša, I. Ternjej, M. Ivković

Division of Zoology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (ivana.pozojevic@biol.pmf.hr)

Few ecologists have not used climate change to support their findings in researching the vulnerability of specific taxa, communities or ecosystems. Long term biological/community data, with which the climate change effects on communities can be patterned over a longer period than a few years are almost non-existent. A 13-year research program with monthly sampling in the Dinaric karst region of Croatia, south Europe, aimed to comprehensively track freshwater

insect (namely true fly: Diptera) emergence patterns in a pristine aquatic environment. This coincided with a severe drought that occurred in 2011/2012. This event caused the highest magnitudes of drought (low precipitation rates for an extended period of time) in the region since the beginning of the twentieth century. We presented patterns of seasonal and yearly dynamics as Euclidian distance measures of similarity in true fly community composition compared at increasing temporal distance between samples. This was done in order to determine the degree of temporal variability of similarity within the community of a specific site and define patterns of similarity change over time. Community recovery was detected and shown to still be ongoing even seven years after the event itself. This indicated not only that the freshwater habitats have not yet fully recovered, but also raised concern whether a full recovery could even be possible if a similar climate-change-influenced event was to happen in the future.

Keywords: community recovery, convergence, Dipteran community, drought

O-45

ZAJEDNICE RAVNOKRILACA UKAZUJU NA VISOKI STUPANJ SUKCESIJE NA CRETU TRSTENIK (GORSKI KOTAR, HRVATSKA)

F. Rebrina¹, V. Šegota², A. Novak-Perjanec¹, A. Brigić¹

¹Zoologiski zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (fran.rebrina@biol.pmf.hr, anovak@stud.biol.pmf.hr, andreja.brigic@biol.pmf.hr), ²Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (vedran.segota@biol.pmf.hr)

Cretovi se ubrajaju među najugroženije stanišne tipove u svijetu, a osobito ih ugrožavaju promjene hidrološkog režima i smanjenje količine oborina uslijed klimatskih promjena. Napuštanjem tradicionalnog načina gospodarenja, na području Hrvatske dolazi do ubrzanog zarastanja uglavnom malih i fragmentiranih površina cretne vegetacije, koje je dodatno pospješeno klimatskim promjenama. Međutim, malo je istraživanja nastojalo kvantificirati ove promjene koristeći zajednice ravnokrilaca (Insecta: Orthoptera), usprkos njihovom indikatorskom potencijalu. Stoga je glavni cilj ovog istraživanja bio procijeniti stanje creta Trstenik u Gorskem kotaru (Hrvatska) uspoređujući brojnost, bogatstvo vrsta i raznolikost ravnokrilaca u središnjem dijelu creta, dijelu potpuno zaraslomu modru beskoljenku (*Molinia caerulea*) te na šumskom rubu. Ravnokrilci su uzorkovani lovnim posudama od lipnja do listopada te kečerom od srpnja do rujna, jednom mjesечно. Većina parametara zajednice pokazala je sličan obrazac, bez obzira na metodu uzorkovanja; zabilježene su statistički značajno niže vrijednosti na šumskom rubu nego na samom cretu, vjerojatno zbog zatvorenosti sklopa, no bez statistički značajnih razlika između središnjeg i zaraslog dijela creta. Ovaj rezultat ukazuje da je sukcesija prema livadama beskoljenke u uznapredovalom stadiju čak i u središnjem dijelu creta, no to bi trebalo potvrditi budućim istraživanjima na većem broju indikatorskih skupina.

Ključne riječi: klimatske promjene; bioindikatori; raznolikost; *Molinia caerulea*; lovne posude; kečer

ORTHOPTERAN ASSEMBLAGES INDICATE AN ADVANCED LEVEL OF SUCCESSION IN THE TRSTENIK PEAT BOG (GORSKI KOTAR, CROATIA)

F. Rebrina¹, V. Šegota², A. Novak-Perjanec¹, A. Brigić¹

¹Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (fran.rebrina@biol.pmf.hr, anovak@stud.biol.pmf.hr, andreja.brigic@biol.pmf.hr), ²Division of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (vedran.segota@biol.pmf.hr)

Peatlands are among the most endangered habitat types on a global scale, particularly vulnerable to changes in hydrological conditions and rainfall reduction due to climate change. In Croatia, small and fragmented areas covered by peatland vegetation are rapidly undergoing succession due to the abandonment of traditional land management practices, additionally facilitated by climate change. However, few studies have attempted to quantify these changes using grasshopper and cricket (Insecta: Orthoptera) assemblages, despite their indicator potential. Therefore, the main aim of this study was to assess the condition of the Trstenik peat bog (Gorski kotar region, Croatia) by comparing abundance, species richness and true diversity of Orthoptera among the central part of the bog, the part completely overgrown by *Molinia caerulea*, and forest edge. Orthopterans were sampled by pitfall traps from June to October and by sweep-net from July to September on a monthly basis. Most assemblage metrics exhibited similar patterns, regardless of the sampling method used; significantly lower values were recorded at the forest edge than in the peat bog, likely due to a low degree of canopy openness, but with no statistically significant differences between the central and successional parts of the bog. This finding suggests that succession to *Molinia* meadows is at an advanced stage even in the central part of the bog, but this should be confirmed with future studies on multiple indicator taxa.

Keywords: climate change, bioindicators, diversity, *Molinia caerulea*, pitfall traps, sweep-net

O-46

ZNAČAJKE REAGIRANJA STIGOFILNIH RAKUŠACA NA UVJETE U HIPOREIČKOJ ZONI U ULOZI STRATEGIJE RASTA

Z. Redžović¹, S. Gottstein², M. Erk¹

¹Zavod za molekularnu medicinu, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (zuzana.redzovic@irb.hr; marijana.erk@irb.hr), ²Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (sanja.gottstein@biol.pmf.hr)

Procjena rasta i starosti u rakova značajno je ograničena zbog izostanka rasta čvrstog egzoskeleta. Štoviše, odbacivanje starog egzoskeleta i nastanak novog praćen je gubitkom težine tijekom ciklusa presvlačenja. U nedostatku trajnih struktura i parametara rasta (poput otolita riba ili ljuštura školjkaša), razvijeni su indirektni pristupi za određivanje starosti. Koristeći metode temeljene na dužini i model rasta, cilj ovog istraživanja bio je odrediti: i) starost; ii) dobnu zastupljenost (parametre rasta - asimptotičku ukupnu duljinu tijela - $TBL\infty$) te iii) koeficijent rasta (K) u slatkvodnog stigofilnog rakušca *Synurella ambulans* iz hiporeičke zone rijeke Save (lokacije uzorkovanja: Medsave i Jarun) uzorkovanih sezonski od prosinca 2018. do listopada 2019. godine. Procijenjeni parametri von Bertalanffyjeve funkcije rasta na Jarunu bili su: $L\infty = 6,09$ mm, $K = 0,26$ y⁻¹ za ženke i: $L\infty = 4,46$ mm, $K = 1,30$ y⁻¹ za mužjake; dok su na lokaciji Medsave bili: $L\infty = 6,67$ mm, $K = 0,46$ y⁻¹ kod ženki i: $L\infty = 5,04$ mm, $K = 4,20$ y⁻¹ kod mužjaka. Parametri rasta

razlikovali su se između spolova na obje lokacije istraživanja, posebice u pogledu veće K vrijednosti kod mužjaka. Prikazani rezultati daju prvi uvid u zakonitosti rasta vrste *S. ambulans* koja živi u osjetljivom ekotonu, izloženom antropogenim utjecajima. Štoviše, temperatura vode, koncentracija otopljenog kisika i dostupnost hrane utječu na brzinu metabolizma i strategiju rasta.

Ključne riječi: podzemni rakušci, starost, stopa rasta, ekoton, slatkovodni okoliš

STYGOPOHILOUS AMPHIPOD TRAITS RESPOND TO HYDROHEIC CONDITIONS AS A FUNCTION OF GROWTH STRATEGY

Z. Redžović¹, S. Gottstein², M. Erk¹

¹Division of Molecular Medicine, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (zuzana.redzovic@irb.hr; marijana.erk@irb.hr), ²Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (sanja.gottstein@biol.pmf.hr)

The growth and age structure estimation in crustaceans is severely limited since their hard exoskeleton does not grow. Moreover, the loss of the old exoskeleton and appearance of the new one is followed by weight loss during the molt cycles. In the absence of permanent growth structures and parameters (such as the otoliths of fishes or shells of bivalves), indirect approaches have been developed to define age. Using the length-based methods and growth model, the aim of this study was to determine: i) age length; ii) age frequency (growth parameters - asymptotic total body length -TBL ∞), and iii) growth coefficient (K) of freshwater stygophilous amphipod *Synurella ambulans* from the hyporheic zone of the Sava River (sampling sites: Medsave and Jarun) sampled seasonally from December 2018 to October 2019. The estimated parameters of the von Bertalanffy growth function for Jarun were: L ∞ = 6.09 mm, K = 0.26 y $^{-1}$ in females and: L ∞ = 4.46 mm, K = 1.30 y $^{-1}$ for males; while for Medsave they were: L ∞ = 6.67 mm, K = 0.46 y $^{-1}$ in females and: L ∞ = 5.04 mm, K = 4.20 y $^{-1}$ in males. On both study sites the growth parameters were different between sexes, especially regarding to the higher value of K calculated for males. Our results give the first insight into the growth patterns of *S. ambulans* living in vulnerable ecotone, exposed to anthropogenic impacts. Moreover, the water temperature, dissolved O₂ concentration and food availability affected the metabolic rate and the growth strategy.

Keywords: subterranean amphipods, age, growth rate, ecotone, freshwater environment

O-47

OBRASCI DISPERZIJE LETEĆIH BESKRALJEŽNJAKA U SUHOM RIJEČNOM KORITU

L. Ružanović¹, F. Rebrina¹, K. Medak¹, M. Vilenica², A. Brigić¹

¹Zoologiski zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (lea.ruzanovic@biol.pmf.hr, fran.rebrina@biol.pmf.hr, kristian.medak@biol.pmf.hr, andreja.brigic@biol.pmf.hr), ²Učiteljski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Trg Matice hrvatske 12, 44250 Petrinja, Hrvatska (marina.vilenica@gmail.com)

Suha riječna korita su, uz lotička i lentička staništa, faza ciklusa povremenih tekućica. Ove

hidrološki dinamičke ekosustave definira nestalnost protoka i varijabilnost vodenih, poluvodenih i kopnenih zajednica. Cilj istraživanja bio je utvrđivanje obrazaca disperzije letećih beskralježnjaka tijekom kolonizacije suhog riječnog korita. Istraživanje je provedeno na povremenoj rijeci Krčić, smještenoj podno Dinare, metodom križnih zamki za presretanje leta u dva glavna tipa staništa: suhom riječnom koritu i riparijskom staništu. Uzorci su prikupljeni u srpnju kontinuirano tijekom osam dana, u vremenskom intervalu od 12 sati. S obzirom da vjetar potencijalno utječe na kolonizaciju suhog riječnog korita, kontinuirano su mjereni brzina i smjer vjetra. Red Diptera, ponajprije porodica Phoridae, je brojnošću jedinki dominirao u ulovu u oba tipa istraživanih staništa, potom slijede redovi Coleoptera, Thysanoptera i Hymenoptera. Obrasci aktivnosti letećih beskralježnjaka statistički se značajno razlikuju između dana i noći te je brojnost jedinki pozitivno korelirana s dnevnom brzinom vjetra. Nadalje, zabilježene su i statistički značajne razlike u brojnosti jedinki Coleoptera i Thysanoptera između istraživanih tipova staništa. Opažen je trend kolonizacije suhog riječnog korita iz riparijskog staništa tj. lateralni efekt, dok na temelju trenutnih podataka nije dokumentirano naseljavanje putem riječnog koridora tj. longitudinalni efekt.

Ključne riječi: povremene tekućice, suho riječno korito, disperzija, kolonizacija

DISPERSAL PATTERNS OF FLYING INVERTEBRATES IN A DRY RIVER BED

L. Ružanović¹, F. Rebrina¹, K. Medak¹, M. Vilenica², A. Brigić¹

¹Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (lea.ruzanovic@biol.pmf.hr, fran.rebrina@biol.pmf.hr, kristian.medak@biol.pmf.hr, andreja.brigic@biol.pmf.hr), ²Faculty of Teacher Education, University of Zagreb, Trg Matice hrvatske 12, 44250 Petrinja, Croatia (marina.vilenica@gmail.com)

Dry riverbeds are, in addition to lotic and lentic habitats, a phase of the intermittent river cycle. These hydrologically dynamic ecosystems are defined by flow intermittence and characterized by the variability of aquatic, semi-aquatic, and terrestrial communities. This study aimed to identify dispersal patterns of flying invertebrates during the dry riverbed colonisation. The study was conducted at the intermittent Krčić River, located at the foot of the Dinara Mountain, using cross-vaned windowtraps set in two main habitat types: dry riverbed and riparian habitats. Samples were collected continuously for eight days in July, every 12 hours. Since wind potentially affects the colonization of the dry riverbed, wind speed and direction were also measured continuously. The order Diptera, primarily Phoridae family, prevailed in abundance in both studied habitat types, followed by the orders Coleoptera, Thysanoptera, and Hymenoptera. The activity patterns of flying invertebrates differed significantly between day and night, abundance being positively correlated with wind speed during daytime. Furthermore, statistically significant differences were recorded for Coleoptera and Thysanoptera abundances between the studied habitat types. Dry riverbed colonization trend from the riparian habitat (lateral effect) was detected, while the colonization along the river corridor (longitudinal effect) has not been documented based on current data.

Keywords: intermittent rivers, dry riverbed, dispersal, colonisation

KOLIKO SU MEDITERANSKE POVREMENE TEKUĆICE POGODNE KAO STANIŠTA VODENCVJETOVA?

M. Vilenica¹, F. Rebrina², L. Ružanović², M. Rumišek², A. Brigić²

¹Učiteljski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Trg Matice hrvatske 12, 44250 Petrinja, Hrvatska (marina.vilenica@gmail.com), ²Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (fran.rebrina@biol.pmf.hr, lea.ruzanovic@biol.pmf.hr, mario.rumisek@biol.pmf.hr, andreja.brigic@biol.pmf.hr),

Povremene tekućice su dinamički ekosustavi koji povremeno prestaju teći, česti su u sušnim podnebljima gdje predstavljaju važan izvor vode. Vodencvjetovi (Ephemeroptera) su često jedna od najbrojnijih skupina vodenih makrobeskralješnjaka u slatkvodnim staništima. Zbog izrazite osjetljivosti na antropogene promjene u njihovim staništima, koriste se u programima biomonitoringa u cijelom svijetu. Unatoč tome, naše poznavanje njihove raznolikost i ekologije u povremenim tekućicama Mediterana je još uvijek relativno oskudno. Zbog toga smo istražili zajednice vodencvjetova lotičke faze četiri krške povremene tekućice mediteranske regije Hrvatske. Ukupno je pronađeno 12 vrsta, što možemo smatrati velikim bogatstvom vrsta za ovakva surova staništa. Kako su se istraživane rijeke razlikovale morfološki, strukturom vegetacije te razinom antropogenog utjecaja, sadržavale su i različite zajednice vodencvjetova. Naši rezultati također pokazuju koji abiotički čimbenici su najodgovorniji za stvaranje zajednica vodencvjetova u povremenim tekućicama Mediterana te mogu pridonijeti razvoju mjera za očuvanje staništa mediteranskih slatkvodnih staništa povremenih tekućica i njihovih zajednica vodencvjetova.

ključne riječi: Ephemeroptera, raznolikost, okolišni čimbenici, povremene tekućice

HOW SUITABLE ARE MEDITERRANEAN INTERMITTENT RIVERS AS MAYFLY HABITATS?

M. Vilenica¹, F. Rebrina², L. Ružanović², M. Rumišek², A. Brigić²

¹Faculty of Teacher Education, University of Zagreb, Trg Matice hrvatske 12, 44250 Petrinja, Croatia (marina.vilenica@ufzg.com), ²Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (fran.rebrina@biol.pmf.hr, lea.ruzanovic@biol.pmf.hr, mario.rumisek@biol.pmf.hr, andreja.brigic@biol.pmf.hr)

Intermittent rivers are dynamic habitats that periodically cease to flow. They are common in arid regions of the world, where they represent an important source of water. Mayflies (Ephemeroptera) are often among the most abundant groups of aquatic macroinvertebrates in freshwater habitats. Due to their high sensitivity to habitat alterations, they are used in bio-monitoring programs worldwide. Nevertheless, their diversity and ecology in the Mediterranean intermittent habitats are still poorly known. Therefore, we investigated mayfly assemblages in the lotic phase of four karst intermittent rivers in the Mediterranean region of Croatia. A total of 12 recorded species can be considered as relatively high species richness in such harsh environments. Since the studied rivers differed in morphology, vegetation structure, and the level of anthropogenic impact, they also supported different mayfly assemblages. Our results also show which abiotic factors are most responsible for shaping mayfly assemblages in intermittent rivers in the Mediterranean. Thus, they could contribute to the development of

conservation measures for Mediterranean intermittent freshwater habitats and the mayfly species they support.

Keywords: Ephemeroptera, diversity, environmental variables, intermittent lotic habitats

O-49

POTENCIJAL LITORALNE ZAJEDNICE MALOČETINAŠA U PROCJENI EKOLOŠKE KAKVOĆE VODE PRIRODNIH JEZERA

N. Vučković, I. Pozojević, M. Kerovec, Z. Mihaljević

Zoologiski zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (natalija.vuckovic@biol.pmf.hr, ivana.pozojevic@biol.pmf.hr, mladen.kerovec@biol.pmf.hr, zlatko.mihaljevic@biol.pmf.hr)

Slatkovodni maločetinaši su važni dijelovi prehrabnenih mreža jer služe kao pristupačan i hranjiv plijen za ribe i beskralježnjake. Prisutnost određenih maločetinaša može odražavati različite razine kakvoće vode, što je razlog njihove široke upotrebe u monitoringu. Cilj našeg istraživanja bio je ispitati kako različiti stresori povezani s eutrofikacijom, poput koncentracije fosfora i nitrata, utječu na sastav zajednice maločetinaša u litoralnoj zoni jezera. Uzorci makrobeskralježnjaka uzeti su u 7 prirodnih jezera u Dinarskoj ekoregiji Hrvatske u proljeće 2018. i 2019. Na svakom je jezeru odabранo 2-5 ostaja za uzorkovanje i uzeto 10 uzoraka. Ručna mreža korištena je za uzorkovanje različitih supstrata s obzirom na razinu heterogenosti mikrostaništa prisutne u litoralnoj zoni. Testirali smo sličnosti u zajednici maločetinaša između prirodnih jezera koristeći Bray - Curtisov indeks sličnosti. Jezero s najjedinstvenijim zajednicom bilo je oligotrofno Vransko jezero na otoku Cresu, što se može pripisati niskoj razini hranjivih tvari. To je u skladu s našom hipotezom koja je bila da većina vrsta maločetinaša pokazuje sklonosti prema okolišu bogatom hranjivim tvarima. Abundancije različitih vrsta u pozitivnoj su korelaciji s koncentracijama fosfora i nitrata te KPK. Iako su zajednice maločetinaša dio litoralne zone gdje nedostatak kisika obično nije problem, oni i dalje pokazuju potencijal kao dobri pokazatelji u procjeni kakvoće vode, posebno one obogaćene hranjivim tvarima.

Ključne riječi: nutrijenti, eutrofikacija

THE POTENTIAL OF THE LITTORAL OLIGOCHAETE COMMUNITY IN ASSESSING THE ECOLOGICAL QUALITY OF NATURAL LAKES

N. Vučković, I. Pozojević, M. Kerovec, Z. Mihaljević

Division of Zoology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (natalija.vuckovic@biol.pmf.hr, ivana.pozojevic@biol.pmf.hr, mladen.kerovec@biol.pmf.hr, zlatko.mihaljevic@biol.pmf.hr)

Freshwater oligochaetes are important parts of food webs because they serve as accessible and nutritious prey for fish and invertebrates. The presence of certain oligochaetes can reflect different levels of water quality, which is the reason for their widespread use in monitoring and bio assessments. The goal of our research was to test how different stressors related to eutrophication such as phosphorous and nitrate concentrations influence oligochaete assemblage composition in the littoral lake zones. Macroinvertebrate samples were taken in 7

natural lakes in Dinaric Ecoregion of Croatia in spring of 2018 and 2019. At each lake, 2-5 sampling sites were chosen, and 10 samples were taken. The hand net was used to sample different sediments given the high level of microhabitat heterogeneity present in the littoral zone. We tested similarities in the oligochaete assemblage between natural lakes using Bray - Curtis similarity index. The lake with the most unique assemblage was an ultraoligotrophic Lake Vrana on the Island Cres, which could be attributable to nutrient poor conditions. This is in concordance with our hypothesis which was that most oligochaete species show preferences towards nutrient rich environment. Different species abundances positively correlated with phosphorus, nitrate concentrations and the Chemical Oxygen Demand. Although the oligochaete assemblages are part of the littoral zone where O₂ shortage is usually not an issue, they still show potential to be good indicators in bio assessment, especially for nutrient enrichment.

Keywords: nutrients, eutrophication

O-50

Uvodno predavanje / Introductory lecture

NUKLEARNE ELEKTRANE U RATNIM ZONAMA: PRIJETI LI NAM JOŠ JEDNA ČERNOBILSKA NESREĆA?

D. Pavičić-Hamer

Institut „Ruđer Bošković“, Giordana Paliage 5, 52210 Rovinj, Hrvatska (dpavicic@irb.hr)

26. travnja 2022. godine obilježena je 36. godišnjica Černobilske nesreće. To je bila najgora nuklearna nesreća u povijesti, došlo je do radioekološke katastrofe u Europi čije su posljedice i danas prisutne. Nakon Černobilske nesreće velika količina biološki opasnih radionuklida ispuštena je u okoliš. Biološki najopasniji radionuklid je bio Cs-137 ($T_{1/2}$ 30g), bioakumulira i biomagnificira se u morskim organizmima ($B_{1/2}$ 70d). Gornja dopuštena granica koncentracijske aktivnosti Cs-137 je 1000 Bq/kg za hranu i vodu, dugotrajno praćenje u okolišu pokazalo je da su koncentracijske aktivnosti bile značajno niže i često ispod granice detekcije (<0.3 Bq/kg). Nadalje, brzine ukupne doze Cs-137 bile su mnogo niže od IAEA-e predložene granične vrijednosti od 400 $\mu\text{Gy}/\text{h}$ (<0.001 $\mu\text{Gy}/\text{h}$). Međutim, s obzirom na relativno malu veličinu NE Černobil u usporedbi s daleko većim reaktorskim postrojenjima koji se nalaze u ukrajinskoj ratnoj zoni Zaporizhzhia, postoji mogući rizik od ispuštanja velike količine radionuklida u okoliš. Takav scenarij ukazuje na važnost praćenja stanja radioaktivnosti u okolišu za moguću procjenu rizika ako se poveća unos fisijskih radionuklida u morski okoliš i moguće biološke štetnosti.

Ključne riječi: nuklearna nesreća, radionuklid Cs-137, radioekologija, morski okoliš, procjena doze

NUCLEAR POWER PLANTS IN WAR ZONES: ARE WE IN DANGER OF ANOTHER CHERNOBYL?

D. Pavičić-Hamer

Ruđer Bošković Institute, CMR, G. Paliage 5, 52210 Rovinj, Croatia (dpavicic@irb.hr)

The 26th of April 2022 marks the 36th anniversary of the accident at the Chernobyl NPP. It is known for being the worst nuclear accident in history and was a radioecological catastrophe in Europe, the consequences of which are still being felt today. After the Chernobyl accident, a large amount of biohazardous radionuclides were released into the environment. The most biohazardous of which was Cs-137 ($T_{1/2}$ 30y), which bioaccumulates and biomagnifies in marine organisms ($B_{1/2}$ 70d). While the upper permissible limit of Cs-137 activity concentration is 1000 Bq/kg for food and water, longterm monitoring indicated that activity concentrations were significantly lower and oftentimes below the detection limit (<0.3 Bq/kg). Furthermore, total Cs-137 dose rates were much lower than the IAEA proposed threshold value of 400 $\mu\text{Gy}/\text{h}$ (<0.001 $\mu\text{Gy}/\text{h}$). However, considering the relatively small size of Chernobyl compared to far larger reactor complex currently in the Ukraine war zone Zaporizhzhia, the risk of radionuclide release into the environment remains at a high level. Such a scenario indicates the continued importance of monitoring the state of radioactivity in the environment to enable assessment of any increased quantities of fission radionuclides entering the marine environment and eventually their biological damage.

Keywords: nuclear accident, radionuclide Cs-137, radioecology, marine environment, dose assessment

O-51

UTJECAJ NANO I IONSKOG CINKA NA RAZVOJ SMEĐE KRASTAČE

O. Jovanović Glavaš, B. Bekić, B. Hackenberger Kutuzović

Odjel za biologiju, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (ojovanovic@biologija.unios.hr)

Smeđa krastača, *Bufo bufo*, je jedna od najraširenijih evropskih vrsta vodozemaca, prisutna na različitim staništima. Iako nije ugrožena vrsta, brojnost nekih populacija je u opadanju. Jedan od uzroka je izloženost različitim xenobioticima koji završe u okolišu, poput nanočestica. U našem istraživanju ispitivali smo djelovanje tri koncentracije (1 mg/L, 10 mg/L and 30 mg/L) nano i ionskog oblika cinkovog oksida (ZnO) na embrionalni i ličinački razvoj jaja smeđe krastače (30 jaja; tri ponavljanja za svaki tretman) i usporedili smo ih s kontrolnom skupinom. Istražili smo djelovanje na nekoliko parametara vezanih uz veličinu (masa, duljina tijela, duljina repa), te neke biomarkere povezane s metaboličkim aktivnostima. Odredili smo količinu proteina, lipida i ugljikohidrata te aktivnosti acetilkolinesteraze (AChE) i laktat dehidrogenaze (LDH). Naši rezultati su pokazali da nano ZnO jače djeluje na parametre vezane uz veličinu jedinki. Oba oblika, i nano i ionski ZnO su slično djelovali na aktivnosti AChE i LDH, kao i na ukupnu količinu ugljikohidrata. Ionski oblik je jače djelovao na sadržaj proteina i lipida od nano oblika. Ovi podaci su u skladu s dosad zabilježenim rezultatima kod drugih istraživanih vrsta te potvrđuju različite mehanizme djelovanja ova dva oblika ZnO.

Ključne riječi: ZnO nanočestice, *Bufo bufo*, Anura, Amphibia, biomarkeri

EFFECTS OF NANO AND BULK ZINK ON COMMON TOAD DEVELOPMENT

O. Jovanović Glavaš, B. Bekić, B. Hackenberger Kutuzović

Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (ojovanovic@biologija.unios.hr)

Common toad, *Bufo bufo*, is a widespread European species of amphibians, occupying different habitat types. Although it is not considered threatened, some of its populations are declining. One of the reasons is exposure to various xenobiotics that end up in the environment, such as nanoparticles. Our research examines the effects of three concentrations (1 mg/L, 10 mg/L and 30 mg/L) of ZnO NPs and bulk form on embryonic and larval development of common toad eggs (30 eggs; three replicates per treatment) and compares it to the control group. We assessed several size-related variables (weight, snout-vent length, tail length) and other biomarkers that are influenced by metabolic activities. We determined protein content, total lipid, total carbohydrate content, acetylcholinesterase (AChE) and lactate dehydrogenase (LDH) activity. Our results suggest higher negative impact of nano ZnO on size-related variables. The activity of AChE and LDH was influenced similarly in both forms of ZnO, same as total carbohydrates content. Total protein and lipid content were influenced more by bulk than nano ZnO. Our data

imply that nano and bulk ZnO have different modes of action on our target species, which is in line with the available data on a few species that have already been studied.

Keywords: ZnO nanoparticles, *Bufo bufo*, Anura, Amphibia, biomarkers

O-52

U POTRAZI ZA FORMALINSKOM ZAMJENOM

P. Korać¹, V. Begić^{1,2}, M. Sertić Perić¹, S. Hančić³, I. Marchiotti⁴, T. Gabud⁴, I. Šestak Panižić⁴, I. Radanović¹, S. Gašparov³

¹Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Biološki odsjek, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (petra.korac@biol.pmf.hr, mirela.sertic.peric@biol.pmf.hr, ines.radanovic@biol.pmf.hr), ²OŠ "Sesvetski Kraljevec", Školska 10, 10361 Sesvetski Kraljevec, Hrvatska (valerija.begic@skole.hr), ³Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica Merkur, Zajčeva ul. 19, 10000 Zagreb, Hrvatska (suzana.hancic@kb-merkur.hr, slavko.gasparov@kb-merkur.hr), ⁴BioGnost d.o.o., Međugorska ulica 59, 10040 Zagreb, Hrvatska (ivan.marchiotti@biognost.hr, tea.gabud@gmail.com, ivana.sestak@biognost.hr)

Za istraživanja koja analiziraju životinjski materijal tijekom duljeg vremenskog perioda, važno je očuvati tkiva i makromolekule koje će se koristiti u kasnijim analizama. U većini biomedicinskih i ekoloških laboratorija, očuvanje materijala temelji se na upotrebi 10 %-nih otopina formalina. Međutim, formalinske otopine imaju značajan toksičan i kancerogeni učinak pa su Europski parlament i Vijeće Europske Unije donijeli direktive 2004/37/EC i 2019/983 kojima traže da se izloženost istraživača ovome agensu svede na minimum. Do sada su u tu svrhu istraživani razni manje toksični agensi koji imaju specifične nedostatke i prednosti. Najbolja svojstva nađena su kod otopina koje kao osnovu imaju glioksal. U ovom istraživanju procijenili smo efikasnost u očuvanju morfologije i molekula DNA i RNA ljudskih tkiva. U drugom dijelu istraživanja, djelovanje najboljeg fiksativa koji se temelji na glioksalu procijenili smo na uzorcima makrozoobentosa, kako bismo utvrdili kvalitetu očuvanja tkiva svojti najčešće korištenih u ekološkim istraživanjima potoka. Naši rezultati pokazuju da bi fiksativi temeljeni na glioksalu mogli zamijeniti formalin u biomedicini, ali da u ekološkim istraživanjima njihov učinak ovisi o vrsti tkiva, dimenziji i strukturi (npr. hitinu) organizama. Zaključno, smatramo da do sada još nije nađen fiksativ koji bi mogao biti novi "zlatni standard" za očuvanje svih vrsta uzoraka u biološkim istraživanjima.

Ključne riječi: formalin, fiksativi, glioksal, pohrana uzoraka

IN SEARCH FOR FORMALIN SUCCESSOR

P. Korać¹, V. Begić^{1,2}, M. Sertić Perić¹, S. Hančić³, I. Marchiotti⁴, T. Gabud⁴, I. Šestak Panižić⁴, I. Radanović¹, S. Gašparov³

¹Faculty of Science, Department of Biology, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (petra.korac@biol.pmf.hr, mirela.sertic.peric@biol.pmf.hr, ines.radanovic@biol.pmf.hr), ²Primary School "Sesvetski Kraljevec", Školska 10, 10361 Sesvetski Kraljevec, Croatia (valerija.begic@skole.hr), ³Department of Clinical Pathology and Cytology, Merkur University Hospital, Zajčeva ul. 19, 10000 Zagreb, Croatia (suzana.hancic@kb-merkur.hr),

slavko.gasparov@kb-merkur.hr), ⁴BioGnost d.o.o., Međugorska ulica 59, 10040 Zagreb, Croatia
(ivan.marchiotti@biognost.hr, tea.gabud@gmail.com, ivana.sestak@biognost.hr)

To conduct studies in which animal samples are analyzed over an extended period of time, tissues and macromolecules used in downstream analyses must be carefully preserved. In most biomedical and ecological laboratories, preservation is usually done with 10% formalin solutions. However, formalin has significant toxic and carcinogenic effects, which is why the European Parliament and the Council of the European Union adopted Directives 2004/37/EC and 2019/983 requiring that researchers' exposure to this agent be minimized. So far, several less toxic fixatives have been studied, each having certain advantages and disadvantages, but glyoxal-based options seem to be the most promising. In this study, we tested 6 different glyoxal-based solutions on human tissue. The aim was to find the solution that best preserves tissue morphology and DNA and RNA integrity. In the second part of the study, we applied the best glyoxal-based solution to macrozoobenthic samples to evaluate the preservation of the morphology of the main taxa usually studied in stream ecological research. Our results show that glyoxal-based fixatives could replace formalin in biomedical studies, but that their final effect depends on the tissue type and the dimensions and structure (e.g., chitin coverage) of the organisms studied in ecological studies. We conclude that there is no unique formalin successor that could serve as the new "gold standard" for preservation of all specimen types used in biological studies.

Keywords: formalin, fixatives, glyoxal, sample storage

O-53

DOPRINOS AQUARIUMA PULA U SPAŠAVANJU PLEMENITE PERISKE (*Pinna nobilis*)

A. Bel Dajković¹, M. Mičić¹, J. R. Garcia-March²

¹Aquarium Pula, Ulica Verudella 33, 52100 Pula, Hrvatska, ²Instituto de Investigación en Medio Ambiente y Ciencia Marina (IMEDMAR-UCV), Universidad Católica de Valencia, Avenida Puerto Pesquero s/n, 03710 Calpe, Španjolska (aleksandra.bel.dajkovic@aquarium.hr)

Masovna smrtnost populacije plemenitih periski započela je 2016. g. u Španjolskoj te se proširila diljem Sredozemlja. Uzrok pomora je najvjerojatnije sinergistično djelovanje dva patogena: *Haplosporidium pinnae* i *Mycobacterium sp.* U jesen 2019. izuzeli smo 34 zdrave, Haplo negativne, odrasle jedinke te započeli *ex-situ* skrb. U veljači 2020. dobili smo na skrb još njih 270 za koje se pokazalo da su Haplo pozitivne. Sve Haplo negativne jedinke uginule su od *Mycobacterium sp.* Iz skupine Haplo pozitivne, dvije su preživjele više od 25 mjeseci (25 i 28), ustanovljeno je da su bile Haplo negativne. Koliko je nama poznato, one su bile najdulje živuće periske u kontroliranim uvjetima, neovisno o zdravstvenom stanju. Nedavne analize su kod zadnje preživjele potvrđile prisutnost *Mycobacterium sp.*, nakon čega je proveden pokušaj antibiotske terapije. Nažalost, jedinka je uginula mjesec dana kasnije. U zimu 2020. pristiglo je 41 juvenilnih jedinki od kojih je 23 uginulo tijekom prvih dana. Pretrage su pokazale da su sve bile inficirane s *H. pinnae*. Sljedeća skupina juvenilnih jedinki pristigla je u jesen 2021. (33 jedinke) od kojih je još 10 živih. Nova neinvazivna molekularna metoda uspješno je provedena na juvenilnim jedinkama (eDNA) te je rezultirala u identifikaciji vrste i određivanju patogena. Zaključak je da se razvoj patogena, kao i rast te zdravstveno stanje periski u kontroliranim uvjetima mogu regulirati temperaturom vode zajedno s optimalnom ishranom i skrbi.

Ključne riječi: *Pinna nobilis*, *Haplosporidium pinnae*, *Mycobacterium sp.*, *ex-situ* aktivnosti zaštite, eDNA

CONTRIBUTION OF AQUARIUM PULA IN NOBLE PEN SHELL (*Pinna nobilis*) RESCUE

A. Bel Dajković¹, M. Mičić¹, J. R. Garcia-March²

¹Aquarium Pula, Ulica Verudella 33, 52100 Pula, Croatia, ²Instituto de Investigación en Medio Ambiente y Ciencia Marina (IMEDMAR-UCV), Universidad Católica de Valencia, Avenida Puerto Pesquero s/n, 03710 Calpe, Spain (aleksandra.bel.dajkovic@aquarium.hr)

Since 2016, a mass mortality event devastated populations of pen shells from Spain along the Mediterranean. Mortalities have been reported presumably due to a disease caused by synergistic act of two pathogens: *Haplosporidium pinnae* and *Mycobacterium sp.* In autumn 2019, Aquarium Pula conducted an *ex-situ* husbandry for 34 parasites-free adult pen shells, and 270 in February 2020, which resulted "Haplo positive". All "Haplo negative" individuals died from *Mycobacterium sp.* From "Haplo positive" group, two survived more than 25 months; first one 25, second 28; which were found to be "Haplo negative". As far as we know, they were the longest-lived pen shells in controlled conditions, regardless of health status. Recent analyses confirmed the presence of *Mycobacterium sp.* in the last surviving individual after which an attempt at antibiotic therapy was made. Unfortunately, this individual died a month later. In

winter 2020, 41 juveniles arrived, of which 23 died in the first days. Analyses showed that all were infected by *H. pinnae*. In autumn 2021, the second group of juveniles arrived (33), of which 10 are still alive. A new non-invasive molecular method was successfully conducted on juveniles (eDNA), resulting in the identification of species and determination of pathogens. Conclusion is that the development of parasite *H. pinnae*, but also the growth and condition of individuals can be controlled by regulating water temperature, along with optimal nutrition and husbandry.

Keywords: *Pinna nobilis*, *Haplosporidium pinnae*, *Mycobacterium sp.*, *ex-situ* conservation, eDNA

O-54

VRTNA STRNADICA NA DINARI; STANIŠNI SPECIJALIST KOJI SE SUOČAVA SA PROMJENOM KLIME I KORIŠTENJA PROSTORA

I. Budinski, T. Sotinac

Udruga Biom, Područni ured Sinj, Matića ulica 12, 21230 Sinj, Hrvatska (ivan.budinski@biom.hr)

Vrtna strnadica je migratorna pjevica koja se u Hrvatskoj gnijezdi na krškim planinama. Populacija na Dinari je precizno kartirana s ciljem boljeg poznavanja stanišnih zahtjeva i potencijalnih mjera upravljanja staništem. Teritorijalni (pjevajući) mužjaci su zabilježeni da dva staništa: linearno raspoređeni na "gornjoj granici šume" gdje šuma i šikara hrasta medunca i crnog graba postepeno prelazi u travnjake i gnjezdeće grupe tamo gdje je ta granica razbijena, odnosno prostorno povećana zbog djelovanja vatre. Gnjezdeće jedinke su skoro potpuno nestale sa područja nižih od 900 m.n.v. što upućuje na visinski pomak lokacija gniježdenja nakon nekoliko sušnih proljeća. Ukupno su zabilježena 44 pjevajuća mužjaka što nam, budući da su veliki dijelovi potencijalnih staništa ostali neistraženi zbog još uvijek prisutnih minskih sumnjičivih područja, daje procjenu od 70-100 parova na cijeloj Dinari. Ovo istraživanje je jedna od aktivnosti projekta Dinara back to LIFE – Management planning and restoration of Dinara dry grasslands to save biodiversity and support sustainable development (LIFE18 NAT/HR/000847). Aktivnost kartiranja pjevajućih mužjaka se planira uz jednak istraživački napor do kraja projekta u 2023.

Ključne riječi: vrtna strnadica, Dinara, klimatske promjene, vatra

ORTOLAN BUNTING ON DINARA MT; HABITAT SPECIALIST FACING CHANGES IN CLIMATE AND HABITAT USE

I. Budinski, T. Sotinac

Association Biom, Regional office Sinj, Matića ulica 12, 21230 Sinj, Croatia (ivan.budinski@biom.hr)

Ortolan Bunting is a migratory songbird, in Croatia present as a breeder along the karstic mountains. Population on Dinara Mt. was precisely mapped aiming better understanding of habitat requirements and potential habitat management measures. Territorial (singing) males were distributed on two habitat types: linear distribution along "upper tree line" where Pubescent oak and Hop-hornbeam forest/scrubland gradually into the grassland and breeding groups on locations where that boundary is broken and enlarged because of fire. Birds breeding on elevations below 900 m.a.s.l. have almost disappeared thus suggesting altitudinal shift of breeding grounds after several years of spring droughts. 44 singing males were recorded what

puts the estimate of breeding pairs on the mountain at 70-100 pairs because large proportion of potential habitat is present in unapproachable areas of potential minefields. The research is a part of activities under the project Dinara back to LIFE – Management planning and restoration of Dinara dry grasslands to save biodiversity and support sustainable development (LIFE18 NAT/HR/000847). The same singing males mapping activity is planned until the project end in 2023.

Keywords: Ortolan Bunting, Dinara Mt., Climate change, fire

O-55

RETROSPEKTIVNO ISTRAŽIVANJE INTERAKCIJA KITOVA I LJUDI OD 1990. DO 2022. U HRVATSKOM DIJELU JADRANSKOGA MORA

M. Đuras¹, T. Gomerčić², K. Korpes¹, M. Kolenc¹, A. Galov³

¹Zavod za anatomiju, histologiju i embriologiju, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Zavod za veterinarsku biologiju, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska(martina.duras@vef.unizg.hr)

Interakcije kitova i ljudi zabilježene su u svim svjetskim morima i mogu utjecati na stopu smrtnosti određene populacije kitova. Cilj ovog istraživanja bio je analizirati tipove i zastupljenost interakcija kitova i ljudi u hrvatskom dijelu Jadranskoga mora na temelju podataka prikupljenih u okviru dugogodišnjeg praćenja smrtnosti kitova koje od 1990. provodi Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Pregledali smo i analizirali podatke o uginulim kitovima sakupljene od listopada 1990. do travnja 2022., uključujući i podatke dobivene razudbom. U tom razdoblju pronađene su ukupno 522 uginule jedinke iz reda kitova. Utvrđene interakcije kitova i ljudi klasificirane su kao: sumnja na prilov (N=47), ingestija ribarskog alata (N=22), potvrđen prilov (N=21), strangulacija grkljana (N=18), namjerno ubijanje (N=11), ingestija otpada (N=4) i kronično zaplitanje u ribolovni alat (N=3). Od ukupnog broja uginulih kitova u njih 111 utvrđena je najmanje jedna interakcija, a najčešće pogođena vrsta bio je dobri dupin (*Tursiops truncatus*) (N=105). Ovo istraživanje potvrđuje da u hrvatskom dijelu Jadranu postoji znatan negativni utjecaj ljudskih čimbenika na jedinke iz porodice kitova te u prezentaciji raspravljamo i predlažemo mjere za zaštitu.

Ključne riječi: Cetacea, smrtnost, ljudski čimbenici, prilov, morski otpad

A RETROSPECTIVE STUDY OF CETACEAN-HUMAN INTERACTIONS FROM 1990 TO 2022 IN THE CROATIAN PART OF THE ADRIATIC SEA

M. Đuras¹, T. Gomerčić², K. Korpes¹, M. Kolenc¹, A. Galov³

¹Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatia, ²Department of Veterinary Biology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatia, ³Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (martina.duras@vef.unizg.hr)

Cetacean-human interactions have been reported from all world seas and may affect the mortality rate of a certain cetacean population. This study aimed to analyse the extent of cetacean-human interactions in the Croatian part of the Adriatic Sea based on data originating from a long-lasting study on cetacean mortality, which has been conducted by the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia since 1990. We reviewed and analysed records on cetaceans found dead from October 1990 to April 2022, including data on post-mortem examinations. In total, 522 dead cetaceans were recorded in that region. Cetacean-human interactions were classified as suspected bycatch (N=47), fishing gear ingestion (N=22), known bycatch (N=21), larynx strangulation (N=18), deliberate killing (N=11), marine debris ingestion (N=4) and long-term entanglement (N=3). In total, at least one cetacean-human interaction was determined in each of 111 dead cetaceans. The most affected species was the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) (N=105). We conclude that there is a considerable negative human impact on cetaceans in the Croatian part of the Adriatic Sea, moreover, we propose and discuss mitigation measurements.

Keywords: whales, mortality, human impact, fisheries bycatch, marine debris

O-56

YOUTUBE KAO METODA UKLJUČIVANJA JAVNOSTI U ZAŠTITU PRIRODE I OKOLIŠA

M. Faller

Iktus d.o.o., Franje Cirakija 10, 34000 Požega, Hrvatska (matejfaller@gmail.com)

Strategija i akcijski plan zaštite prirode Republike Hrvatske za razdoblje od 2017. do 2025. godine kao jedan od pet strateških ciljeva navodi: podizanje razine znanja, razumijevanja i podrške javnosti za zaštitu prirode. Taj cilj se u praksi provodi brojnim metodama, uključujući printane publikacije i radionice. Ali neizbjegno je reći da društvene mreže i Internet mediji u današnje doba postaju jedan od nezaobilaznih komunikacijskih kanala. U ovoj analizi sagledana su dva od samo nekoliko YouTube kanala u Hrvatskoj posvećenih prirodi i okolišu (Perspektive Okoliša i Environmental Perspectives). Ukupno 17 videa objavljeno je u razdoblju od četiri mjeseca koji se mogu podijeliti u dvije osnovne kategorije. Verzija kanala na hrvatskom jeziku, PerspektivE Okoliša je relevantnija, te su stoga sljedeći podaci navedeni za taj kanal. U kategoriji "vijesti" objavljeno je 13 videa, s relativno niskom gledanošću (medijan 58, maksimum 221 pregleda) i razinom uključivanjem publike (medijan 0, maksimum 5 komentara). U kategoriji "snimke prirode" objavljena su četiri videa s relativno visokom gledanošću (medijan 146, maksimum 8524 pregleda) i razinom uključivanjem publike (medijan 1,5, maksimum 20 komentara). Obadva YouTube kanala karakterizirani su s eksponencijalnim, a ne linearnim krivuljama rasta. Pristupi za daljnje korištenje YouTuba i društvenih mreža u zaštiti prirode i okoliša biti će raspravljeni.

Ključne riječi: zaštita prirode, zaštita okoliša, društvene mreže, Internet mediji, eksponencijalni rast

YOUTUBE AS A METHOD OF PUBLIC ENGAGEMENT IN THE PROTECTION OF NATURE AND THE ENVIRONMENT

M. Faller

Iktus d.o.o., Franje Cirakija 10, 34000 Požega, Croatia (matejfaller@gmail.com)

The strategy and action plan of nature protection in the Republic of Croatia for the period from 2017 to 2025 state as one of five strategic goals: increase in the level of knowledge, understanding and support of the public for nature protection. That goal is approached through many methods, including printed publications and workshops. However, it is unavoidable to say that social networks and Internet media today are unavoidable communication channels. In this analysis, two of only a few YouTube channels in Croatia dedicated to nature and the environment (Perspektive Okoliša and Environmental Perspectives) are analysed. A total of 17 videos was published over four months, and those can be divided into two main groups. The version of the channel in the Croatian language, PerspektivE Okoliša is more relevant, therefore data are given for that channel. In the category "news" 13 videos are published, with relatively low viewership (median 58, max 221 views) and level of public engagement (median 0, max 5 comments). In the category "recordings from nature", four videos are published with relatively high viewership (median 146, max 8524 views) and level of public engagement (median 1.5, max 20 comments). Both YouTube channels are characterised by exponential and not linear growth curves. Finally, the approach for further use of YouTube and social networks in protecting nature and the environment is discussed.

Key words: nature protection, environment protection, social networks, Internet media, exponential growth

O-57

20 GODINA OPORAVKA GLAVATIH ŽELVI (*Caretta caretta*) U AQUARIUMU PULA

K. Gobić, S. Matas, M. Mičić

Aquarium Pula, Ulica Verudella 33, 52100 Pula, Hrvatska (karin.gobic@gmail.com)

Kapaciteti i uvjeti oporavilišta za morske kornjače u Aquariumu Pula usavršavali su se tijekom 20 godina. Od jednog početnog bazena 2000. g., danas se oporavilište sastoji od karantenskog odjela, intenzivne njage i prostora za stjecanje kondicije jedinki (ukupno 19 bazena) koji su unaprijeđeni uz pomoć EU projekata (NETCET; 2012 - 2016. i Unapređenje oporavilišta za divlje životinje; 2020 -2023). Do danas je oporavljeni više od 180 glavatih želvi (*Carretta caretta*). Najčešći klinički slučajevi su pothlađenost jedinki (46%), trauma glave i oklopa (12%) te ingestija plastike i malaksalost (12%). Provodi se i podizanje svijesti javnosti, a do danas je informirano više od 1,5 milijuna ljudi o potrebi očuvanja morskih kornjača. Prijenos znanja i usavršavanje djelatnika provodi se sudjelovanjem na sastancima s oporavilištima diljem Sredozemlja te kroz EU stručne projekte za veterinarne i njihove studente (TurtleVet i Plavi projekt). Znanstvena suradnja s Veterinarskim fakultetom i Centrom za istraživanje mora IRB-a značajno je doprinijela boljoj skrbi i bržem liječenju jedinki. Uz djelovanje svih oporavilišta diljem Sredozemlja (više od 50), zaštitu gnjezdista i staništa te edukaciju lokalnih ribara i stanovništva, populacija glavate želve u Sredozemlju povećala se za 25%, a IUCN kategorija ugroženosti regionalno se smanjila na najmanje zabrinjavajuću (LC) te globalno na osjetljivu (VU) svojtu.

Ključne riječi: morska kornjača, oporavilište, rehabilitacija jedinki

20 YEARS OF LOGGERHEAD TURTLES (*Caretta caretta*) IN AQUARIUM PULA

K. Gobić, S. Matas, M. Mičić

Aquarium Pula, Ulica Verudella 33, 52100 Pula, Croatia (karin.gobic@gmail.com)

The capacity and conditions of the Sea Turtles Rescue Centre of Aquarium Pula improved over the last 20 years. From one starting tank in 2000, the centre today consists of a quarantine, intensive care unit and an area for gaining physical condition (19 tanks in total) that ameliorated with the help of EU projects (NETCET; 2012 - 2016 and Improvement of the Wildlife Rescue Centre in Aquarium Pula; 2020 - 2023). The Centre recovered more than 180 loggerhead turtles (*Caretta caretta*) until today. The most common clinical cases are hypothermia (46%), head and shell trauma (12%), plastic ingestion and weakness (12%). One of the tasks is to raise public awareness, and until today more than 1,5 million people have been informed about the need for sea turtle conservation. Rescue Centre meetings and EU projects specialized for veterinarians and students (TurtleVet and Blue Project) took place to share knowledge and improve employees' performances. Expert cooperation with Veterinary faculty and the Center for Marine Research IRB significantly contributed to better care and faster healing in an individual. With the action of all Mediterranean centres (more than 50), nest and habitat protection, fisherman community and public awareness, the Mediterranean loggerhead population increased by 25%, and the IUCN endangered category decreased regionally to least concern (LC) and globally to vulnerable (VU).

Keywords: sea turtle, rescue centre, individuals' rehabilitation

O-58

KRETANJE DOMICILNIH I NASELJENIH RISOVA NA PODRUČJU VELEBITA

T. Gomerčić¹, I. Topličanec¹, S. Blašković¹, V. Slijepčević², J. Tomaić³, M. Sindičić¹

¹Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Veleučilište u Karlovcu, Trg Josipa Jurja Strossmayera 9, 47000 Karlovac, Hrvatska, ³Javna ustanova Park prirode Velebit, Kaniža gospička 4b, 53000 Gospic, Hrvatska (tomislav.gomercic@gef.hr)

Ris (*Lynx lynx*) u Hrvatskoj nastanjuje područje Gorskog kotara, Like i južne Dalmacije, a populacija procijenjena na minimalnu brojnost od oko 80 jedinki je ugrožena zbog posljedica parenja u srodstvu. Stoga se, kako bi se povećala genska raznolikost i omogućio opstanak populacije, u sklopu LIFE Lynx projekta (LIFE16 NAT/SI/000634) provodi repopulacija. Cilj ovog istraživanja je bio usporediti korištenje prostora između naseljenih i domicilnih risova. GPS – GSM ili satelitskim telemetrijskim ogrlicama su praćeni aktivnost i kretanje dva odrasla mužjaka risa, preseljena iz Rumunjske 2020. godine i Slovačke 2021. godine na Velebit, te dva odrasla domicilna mužjaka uhvaćena na Velebitu 2022. godine. Naseljeni ris Alojzije je uspostavio teritorij 39. dana nakon ispuštanja, a ris Emil 169. dan, te razdoblje traženja teritorija nije uključeno u analizu. Teritorij naseljenog risa Emila te teritoriji domicilnih risova Josip i Pandor se djelomično preklapaju i sva tri mužjaka koriste ista markirališta, dok se naseljeni ris Alojzije smjestio južnije. Alojzije se kreće na teritoriju najveće površine (MCP95 iznosi 346 km²), dok prosječna veličina teritorija sva četiri mužjaka iznosi 188,5 km². Praćeni mužjaci u prosjeku dnevno prelaze 3,75 km, a najduže udaljenosti prijeđene u jednom danu se kreću od 12,9 do 18,6 km. Ovo istraživanje po prvi puta daje uvid u kretanje risova i njihovo korištenje staništa na području Velebita.

Ključne riječi: *Lynx lynx*, telemetrija, teritorij

MOVEMENT OF RESIDENT AND TRANSLOCATED LYNX ON MOUNTAIN VELEBIT

T. Gomerčić¹, I. Topličanec¹, S. Blašković¹, V. Slijepčević², J. Tomaić³, M. Sindičić¹

¹Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatia,

²Karlovac University of Applied Sciences, Trg Josipa Jurja Strossmayera 9, 47000 Karlovac, Croatia, ³Public Institution Nature park Velebit, Kaniža gospićka 4b, 53000 Gospic, Croatia (tomislav.gomercic@gef.hr)

Croatian Eurasian lynx (*Lynx lynx*) population, distributed in Gorski kotar, Lika and southern Dalmatia, is estimated at minimum of around 80 individuals and is endangered due to the inbreeding. So, to increase the genetic diversity and ensure population survival, reinforcement is implemented as a part of the LIFE Lynx (LIFE16 NAT/SI/000634) project. The goal of this research was to compare activity and movement of resident and translocated lynx. GPS-GSM or satellite telemetry collars were used to monitor two adult lynxes, translocated from Romania in 2020 and Slovakia in 2021 and released on mountain Velebit, with two resident lynx captured on Velebit in 2022. Translocated lynx established their territory 39 (Alojzije) and 169 (Emil) days after the release, and this period was not included in the analysis. Territory of translocated lynx Emil overlaps with the territories of two monitored resident males (Josip and Pandoru) and all three males use the same locations for marking their territories. Alojzije established his territory further south and occupies the largest area (MCP95 346 km²), while the average size of the territory of all four males was 188,5 km². On average males move 3,75 km daily, with the longest daily movements from 12,9 till 18,6 km. This research provides the first insight into habitat usage of lynxes on mountain Velebit.

Key words: *Lynx lynx*, telemetry, territory

O-59

WHAT MAKES FISHPONDS IMPORTANT SITES FOR BIRDS? COMPARING THREE FISHPONDS IN POKUPSKI BAZEN

J. Jackson, I. Kovačić, K. Perković, B. Horvatić, M. Maslač Mikulec, E. Patčev

Geonatura Ltd, Fallerovo šetalište 22, 10000 Zagreb, Hrvatska (jjackson@geonatura.hr)

Wetlands are an important and endangered habitat in Europe, making fishponds valuable areas for biodiversity, especially for birds. Crna Mlaka fishponds are protected as an ornithological reserve and Ramsar site, but there are also two other carp-producing fishponds in the same Special Protection Area Pokupski bazen (Draganić and Pisarovina), which are not as recognized. As part of a national monitoring project, these three fishponds were monitored almost every month during a one-year period. This research aims to show the yearly dynamic of birds at these sites (wintering, breeding, and migrating populations) but also to define through comparison which features of habitats, management practices or recorded threats and pressures impact species diversity and population sizes. We recorded 92 species in total, with over 13000 individuals in one month. While all fishponds showed high biodiversity and many interesting records, Draganić stands out as having the highest number of individual birds per month in most months. Reasons for this may relate to differences in water level management, causing high

quality habitat types such as bare mud to be available during key periods. We can conclude that Draganić is as relevant for birds as the more protected Crna Mlaka and should be considered for further protection. This research also consolidates that fishponds are essential for many bird species year-round and the co-existence of birds and humans should be nurtured in these areas.

Keywords: Migration, Ornithofauna, Biodiversity, Conservation, Aquaculture.

O-60

RAZVOJ METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA STRUKTURE I FUNKCIJA ODABRANIH NATURA 2000 STANIŠTA

N. Jantol¹, M. Rubinić¹, T. Nikolić², A. Đanić¹, L. Perković¹, E. Bajramspahić¹, J. Mlinarec Novosel¹, Z. Mesić³

¹Oikon d.o.o.- Institut za primijenjenu ekologiju, Zavod za zaštitu prirode i krajobraz, Trg senjskih uskoka 1-2, 1000 Zagreb, Hrvatska, ²Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Botanički zavod, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Veleučilište u Karlovcu, Trg Josipa Jurja Strossmayera 9, 47000 Karlovac, Hrvatska (njantol@oikon.hr)

Struktura i funkcije staništa bitna su za njihov dugoročan opstanak i omogućuju procjenu stanja i praćenje trendova očuvanja. Struktura staništa smatra se njegovom fizičkom komponentom (najčešće uključuje vrste), dok su funkcije ekološki procesi koji se odvijaju na brojnim vremenskim i prostornim razmjerima i uvelike variraju između tipova staništa. Kroz projekte istraživanja nedovoljno poznatih vrsta i staništa i projekt izrade programa praćenja razvijene su metodologije za ocjenu strukture i funkcija za 15 tipova staništa (obalna staništa i sipine, slatkvodna staništa, sklerofilne makije i travnjaci), odnosno za njih 52 (osim prethodno navedenih tipova uključene i šume i cretovi). Metodologije su uključivale razradu popisa tipičnih, indikatorskih i invazivnih vrsta, mogućih pritisaka i prijetnji, antropogene utjecaje i specifične parametre s obzirom na pojedini tip staništa (npr. prisutnost drvenastih vrsta koje ugrožavaju neka travnjačka i obalna staništa, vodni režim za slatkvodna staništa, površina obraštaja mahovinama za sedrene barijere itd.). Proveden je dio terenskih istraživanja na temelju metodologija za 15 tipova staništa i objašnjeno je kako se podaci koriste u dalnjim analizama stanja staništa unutar Natura 2000 područja, ali i na razini biogeografskih regija. Ovaj princip omogućuje daljnje razvijanje standardiziranih metodologija na projektima zaštite prirode i implementaciju kroz programe praćenja koje Hrvatska ima obvezu provoditi svakih šest godina.

Ključne riječi: programi praćenja, ekološka mreža, indikatorske vrste

DEVELOPMENT OF METHODOLOGIES FOR STRUCTURE AND FUNCTIONS RESEARCH OF SELECTED NATURA 2000 HABITATS

N. Jantol¹, M. Rubinić¹, T. Nikolić², A. Đanić¹, L. Perković¹, E. Bajramspahić¹, J. Mlinarec Novosel¹, Z. Mesić³

¹Oikon Ltd.- Institute of Applied Ecology, Department of Nature Protection and Landscape Architecture, Trg senjskih uskoka 1-2, 1000 Zagreb, Hrvatska, ²Faculty of Science, University of Zagreb, Division of Botany, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia, ³Karlovac University of Applied Sciences, Trg Josipa Jurja Strossmayera 9, 47000, Karlovac, Croatia (njantol@oikon.hr)

Structure and functions of habitats are important for their long-term survival and enable the assessment of their condition and monitoring of conservation trends. Habitat structure is considered to be a physical component (usually includes species), while functions are ecological processes that take place on a number of temporal and spatial scales and vary greatly between habitat types. Through projects of insufficiently known habitats research and monitoring programs development, methodologies for assessing the structure and function of 15 habitats (coastal habitats and dunes, freshwater habitats, sclerophyllous macchia and grasslands) and 52 habitats respectively (including forests and bogs additionally to the aforementioned), were developed. They included the elaboration of a list of typical, indicator and invasive species, possible pressures and threats, anthropogenic impacts, and specific parameters with respect to each habitat type (e.g. presence of woody species endangering grassland and coastal habitats, water regime for freshwater habitats, area covered by moss for travertine barriers, etc.). Part of the field research for 15 habitat types was conducted and it was explained how the data was used in further analyzes of their status within the Natura 2000 area and also at the level of biogeographical regions. This principle enables further development of standardized methodologies on nature protection projects and implementation through monitoring programs that Croatia has to implement every six years.

Keywords: monitoring programs, ecological network, indicator species

O-61

DRVEĆE U GRADSKIM PARKOVIMA POVEĆAVA BROJ VRSTA MRAVA

A. Ješovnik¹, J. Bujan²

¹Hrvatsko mirmekološko društvo, Gortanova 14, 10000 Zagreb, Hrvatska & Odjel za entomologiju, Institut Smithsonian, Nacionalni prirodoslovni muzej, 1000 Constitution Avenue NW, Washington, D.C., SAD, ²Hrvatsko mirmekološko društvo, Gortanova 14, 10000 Zagreb, Hrvatska & Odjel za ekologiju i evoluciju, Sveučilište Lausanne, Biophore, 1015 Lausanne, Švicarska (ana.jesovnik@mingor.hr)

Zelene gradske površine mogu imati važnu ulogu u očuvanju bioraznolikosti. Međutim, često nam nedostaju znanja o ekološkim uvjetima vrsta koje u njima žive, posebno beskralježnjaka. Kako bi odgovorili na ovo pitanje istražili smo utjecaj stanišnih karakteristika gradskih parkova na ekološki važnu skupinu kukaca, mrave (Hymenoptera: Formicidae). Testirali smo 3 pitanja: 1) da li broj vrsta pozitivno korelira sa veličinom gradskog parka i sa veličinom površina sa drvećem? 2) Da li je temperatura tla najbolji prediktor aktivnosti mrava? 3) Da li u gradskim parkovima dominiraju termofilni generalisti? Uzrokovali smo mrave na 8 lokaliteta u zaštićenim područjima grada Zagreba, jednom mjesечно od svibnja do kolovoza 2019. godine. Sakupili smo 7595 jedinki i 30 vrsta mrava. Lokaliteti s većim površinama sa drvećem su imali veći broj vrsta mrava, ali veličina parka nije bila dobar prediktor broja vrsta. Na aktivnost mrava najviše je utjecala temperatura. Pet od 8 lokaliteta je imalo sličan sastav zajednica mrava, u kojem su dominirali generalisti, ali preostali lokaliteti su imali jedinstvene zajednice. Osim tipičnih gradskih vrsta zabilježili smo i vrste od interesa za očuvanje. Naše istraživanje pokazuje da i male zelene gradske površine mogu podržati raznolike zajednice mrava, ali se njihove karakteristike moraju uzeti u obzir kod upravljanja i urbanističkog planiranja.

Keywords: mravi, zelene gradske površine, zaštita kukaca

WOODED AREAS PROMOTE ANT SPECIES RICHNESS IN URBAN PARKS

A. Ješovnik¹, J. Bujan²

¹Croatian myrmecological society, Gortanova 14, 10000 Zagreb, Croatia & Department of Entomology, Smithsonian Institution, National Museum of Natural History, 1000 Constitution Ave NW, Washington, DC, USA, ²Croatian myrmecological society, Gortanova 14, 10000 Zagreb, Croatia & Department of Ecology and Evolution, University of Lausanne, Biophore, 1015 Lausanne, Switzerland (ana.jesovnik@mingor.hr)

Urban green spaces can have an important role in biodiversity conservation. However, we often lack the data about the ecological requirement of species that inhabit them, especially invertebrates. To address this question we investigated the impact of habitat characteristics of urban green spaces on an ecologically important group of insects-ants (Hymenoptera: Formicidae). We tested 3 questions: 1) does ant species richness positively correlate with park size and the extent of wooded areas? 2) Is ground temperature the best predictor of ant activity? 3) Will communities be dominated by thermophilic, dry-tolerant, generalist species? We sampled ants at 8 localities in protected areas of Zagreb, monthly from May to August of 2019. We collected 7595 individuals belonging to 30 species. Localities with larger wooded areas had high ant species richness, but park size was not a good species richness predictor. Ant activity was largely influenced by temperature. Five out of 8 localities had similar ant community composition, but remaining localities each had unique ant communities. In addition to typical urban species, we recorded species of conservation interest. We demonstrated that small urban green spaces can support diverse ant communities, but their habitat characteristics need to be considered in management and in urban planning.

Keywords: ants, urban green spaces, insect conservation

O-62

DIVLJI OPRAŠIVAČI HRVATSKE

A. Ješovnik, I. Boršić

Zavod za zaštitu okoliša i prirode, Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja, Radnička cesta 80, 10000 Zagreb, Hrvatska (ana.jesovnik@mingor.hr)

Većina kopnenih biljaka ovisi o oprašivanju životinjama za reprodukciju i očuvanje svog adaptivnog potencijala, uključujući i 75 % najvažnijih poljoprivrednih vrsta. Dokazi o padu populacija oprašivača posljednjih godina potakli su povećan broj istraživanja i politika na ovu temu, te je prepoznata potreba za uspostavom standardiziranog monitoringa oprašivača na kontinentalnoj razini. U sklopu projekta "Cro Buzz Klima" (2021-2023) uzorkujemo divlje pčele (Hymenoptera: Anthophora) i muhe lebdjelice (Diptera: Syrphidae) na 5 projektnih područja kroz 3 biogeografske regije Hrvatske. Cilj nam je prikupiti prve sustavne podatke o najvažnijim skupinama divljih oprašivača Hrvatske, testirati metodologiju praćenja oprašivača predloženu na EU razini, te predložiti mjere prilagodbe klimatskim promjenama za oprašivače i ekosustave Hrvatske. U prvoj godini projekta prikupili smo 231 vrstu divljih pčela i muha lebdjelica, uključujući vrste pčela od interesa za očuvanje *Halictus carinithiacus* i *Andrena hattorfiana*, te potencijalno invazivnu stranu vrstu pčele *Megachile sculpturalis*. Uspostava monitoringa

opršivača u Hrvatskoj zahtijevat će ulaganja u stručne kapacitete za ključne taksonomske skupine. Provedba mjera prilagodbe klimi zahtijevat će pojačanu suradnju znanstvene zajednice, privatnog i javnog sektora zaštite prirode, poljoprivrednog sektora i lokalne samouprave.

Ključne riječi: pčele, muhe lebdjelice, klimatske promjene, EU POMS

WILD POLLINATORS OF CROATIA

A. Ješovnik, I. Boršić

Institute for Environment and Nature, Ministry of Economy and Sustainable Development,
Radnička cesta 80, 10000 Zagreb, Croatia (ana.jesovnik@mingor.hr)

Majority of terrestrial plants depend on animal pollination for reproduction and maintenance of their adaptive potential, including about 75 % of our major crop species. Evidence of pollinator decline in recent years spurred increased research efforts and policy development, both identifying the need for establishment of standardized, continental-scale monitoring of key pollinator taxa. Within the project "Cro Buzz Klima" (2021-2023) we are sampling wild bees (Hymenoptera: Anthophora) and hoverflies (Diptera: Syrphidae) at 5 project areas across 3 biogeographic regions of Croatia. Our aims are to collect the first systematic data on most important groups of wild pollinators, test the pollinator monitoring methodology proposed at the EU level, and propose climate adaptation measures for pollinators and ecosystems of Croatia. Within the first year of the project we collected 231 species of wild bees (Anthophila) and hoverflies (Syrphidae), including bee species of conservation interest such as *Halictus carinthiacus* and *Andrena hattorfiana*, as well as potentially invasive alien bee species, *Megachile sculpturalis*. The establishment of pollinators monitoring in Croatia will require investments into expert capacity for wild bees and hoverflies. The implementation of climate adaptation measures will require increased cooperation of scientific community, private and public nature protection sector, agriculture, and local governance.

Key words: bees, hoverflies, climate change, EU monitoring

O-63

UTVRĐIVANJE BROJA I VELIČINE KOLONIJA CJEVONOSNICA NA LASTOVSKOM OTOČJU

S. Kapelj¹, A. Engelen¹, B. Ječmenica²

¹Udruga Biom, Čazmanska 2, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Hrvatski Veterinarski Institut, Savska cesta 143, 10000 Zagreb, Hrvatska (sven.kapelj@biom.hr)

U sklopu projekta LIFE Artina provedeno je istraživanje gnijezdećih kolonija dvije vrste cjevonosnica, kaukala i gregule, na području Lastovskog otočja. kako bi se procijenila njihova brojnost te uspješnost gniježđenja. Istraživanje je provedeno na ukupno 14 otoka i obuhvaćalo je 3 terenska obilaska na svakom otoku kroz 3 godine od 2019. do 2021. U sklopu terenskih obilazaka su mapirana gnijezda kaukala i gregula te je bilježena aktivnost na gnijezdu. Istraživanje kolonija cjevonosnica se odvijalo sukladno fenologiji vrsta, od sredine veljače do početka srpnja za gregulu, te od lipnja do kraja rujna za kaukala. Ukupno je zabilježeno 14 kolonija kaukala sa maksimalno 295 zabilježenih aktivnih gnijezda u 2021. godini. Gregule su pronađene na 7 kolonija te je zabilježeno 424 aktivnih gnijezda što premašuje dosadašnju ukupnu procjenu

nacionalne populacije te vrste. Najveći broj gniazdećih parova gregule je zabilježen na Zaklopatici gdje je broj pronađenih gniazda porastao sa 54 na 284 u tri godine. Taj porast je najvjerojatnije rezultat povećanog radnog napora u pretraživanju područja i iskustva istraživača na terenu ali i uklanjanja štakora koje se redovito provodi na otoku od početka projekta.

Ključne riječi: cjevonosnice, Lastovsko otoče

ASSESSING THE SIZE OF SHEARWATER COLONIES IN THE LASTOVO ARCHIPELAGO, CROATIA

S. Kapelj¹, A. Engelen¹, B. Ječmenica²

¹Association Biom, Čazmanska 2, 10000 Zagreb, Croatia, ² Croatian Veterinary Institute, Savska cesta 143, Zagreb, Croatia (sven.kapelj@biom.hr)

In scope of the LIFE Artina project, we conducted research on nesting colonies of two marine bird species, Yelkouan and Scopoli's Shearwater, in the Lastovo Archipelago to assess their number of breeding pairs. The research was conducted on a total of 14 islands and included 3 field surveys per island during each season over the course of 3 years, between 2019 and 2021. It was carried out in accordance with the phenology of the species, from mid-February to early July for Yelkouan, and from June to the end of September for Scopoli's. A total of 14 Scopoli's shearwater colonies was recorded with a maximum of 295 active nests found in 2021. Yelkouan shearwaters were found in 7 colonies and a total of 424 active nests were recorded, which exceeds the current total estimate of the national population of this species. The largest number of nesting pairs of Yelkouans was recorded in Zaklopatica, where the number of nests found, increased from 54 to 284 in three years. This is most likely the result of increased search effort, as well as experience in searching the area, but also the removal of rats which was carried out regularly on the island since the start of the project.

Keywords: Yelkouan and Scopoli's Shearwater, Lastovo Island

O-64

INTERKALIBRACIJSKI POSTUPAK I USPOREDIVOST REZULTATA OCJENE EKOLOŠKOGA STANJA ZA BIOLOŠKI ELEMENT MAKROZOOBENTOS NA AKUMULACIJAMA HE ČAKOVEC I HE DUBRAVA NA RIJECI DRAVI KORIŠTENJEM PODATAKA IZ GODINE 1999. I 2003.

D. Kiš-Novak

Učiteljski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Odsjek u Čakovcu, Ul. dr. Ante Starčevića 55, 40000 Čakovec, Hrvatska (darinka.kis-novak@ufzg.hr)

U Planu upravljanja vodnim područjima 2016. - 2021., akumulacije su bile ocijenjene kao prirodna vodna tijela. Na taj je način ocijenjeno njihovo ekološko stanje. Time se sprovodi interkalibracijski postupak kojemu je cilj postizanje dosljednosti, usporedivosti rezultata i ocjene ekološkoga stanja na temelju biološkog elementa kakvoće makrozoobentosa. U radu su prikazani rezultati istraživanja akumulacija HE Čakovec i HE Dubrava na rijeci Dravi iz godine 1999. i 2003. Kompleksna istraživanja pojedinačnoga biološkog elementa makrozoobentosa su uključila sezonska praćenja i dio su ukupnoga stanja cenoza i kvalitete voda, a s ciljem određivanja trofičkih obilježja i kakvoće voda praćenjem kvantitativnoga i kvalitativnoga sastava populacije makrozoobentosa. Kao rezultat istraživanja dobivene su vrijednosti brojnosti pojedinih svojti

makrofaune dna po postajama akumulacija, ukupni broj jedinki, broj jedinki indikatora, saprobni indeks (SI), broj svojti i broj svojti indikatora. Dobiveni rezultati uspoređeni su sa starom i novom Uredbom o standardu kakvoće voda u propisanim indeksima i graničnim vrijednostima biološkog elementa makrozoobentosa. Dobiveni rezultati pokazuju loše ekološko stanje akumulacija (kao i ekološki potencijal). Godine 2021. taj je prostor i službeno postao dio Petodržavnoga rezervata biosfere (područje rezervata biosfere, regionalnoga parka, spomenika prirode, značajnoga krajobraza, park-šume i spomenika parkovne arhitekture).

Ključne riječi: akumulacije, bentički beskralješnjaci, biološki element, ekološko stanje, saprobni indeks, zaštita

INTERCALIBRATION PROCEDURE AND COMPARABILITY OF ECOLOGICAL STATUS ASSESSMENT RESULTS FOR THE BIOLOGICAL ELEMENT BENTHIC MACROINVERTEBRATES IN STORAGE LAKES ČAKOVEC AND DUBRAVA DURING THE REFERENCE YEARS 1999 AND 2003

D. Kiš-Novak

Faculty of Teacher Education, University of Zagreb – Department in Čakovec, Ul. dr. Ante Starčevića 55, 40000 Čakovec, Croatia (darinka.kis-novak@ufzg.hr)

In the River Basin Management Plan 2016-2021, reservoirs were assessed as natural water bodies. In this way, their ecological condition was assessed. This implements an intercalibration procedure aimed at achieving consistency, comparability of results and assessment of ecological status based on the biological quality element - macrozoobenthos. The paper presents the results of the years 1999 and 2003 in storage lakes Čakovec and Dubrava of river Drava. Complex research of the individual biological element of macrozoobenthos included seasonal monitoring of the overall state of cenoses and water quality, with the aim of determining trophic characteristics and water quality by monitoring the quantitative and qualitative composition of the macrozoobenthos population. As a result of the research, the values of the number of individual taxa of the bottom macrofauna by accumulation stations, total number of individuals, number of indicator units, saprobic index (SI), number of taxa and number of indicator taxa were obtained. The obtained results are compared with the old and the new Regulation on the water quality standard in the prescribed indices and limit values of the biological element macrozoobenthos. The obtained results show the poor ecological condition of the reservoirs (as well as the ecological potential). In 2021, this area officially became part of the Five-State Biosphere Reserve.

Keywords: benthic macroinvertebrates, biological element, ecological status, protection, saprobic index, storage lakes

O-65

INTEGRATIVNI PRISTUP U KONZERVACIJI POTOČNOG RAKA

L. Lovrenčić¹, M. Temunović², M. Podnar³, Lj. L. Boštjančić^{4,5}, L. Bonassin^{4,5}, I. Maguire¹

¹Zoološki zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Svetošimunska 23, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Hrvatski prirodoslovni muzej, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴LOEWE Centre for Translational Biodiversity Genomics, 60325

Frankfurt am Main, Germany, ⁵Department of Computer Science, ICube, UMR 7357, University of Strasbourg, CNRS, Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg, 67000 Strasbourg, Francuska (leona.lovrencic@biol.pmf.hr)

Potočni rak je nativna europska slatkvodna vrsta, ugrožena zbog antropogenih pritisaka na stanište, invazivnih stranih vrsta i klimatskih promjena. Ciljevi ovog istraživanja bili su istražiti njegovu genetsku raznolikost u Hrvatskoj na temelju molekularne filogenije i populacijske genetike te razviti modele povoljnosti staništa koji će predvidjeti kako klimatske promjene utječu na raznolikost potočnog raka. Filogenetska rekonstrukcija potvrdila je veliku genetsku raznolikost i postojanje sedam geografski i genetski izoliranih mtDNA linija koje predstavljaju evolucijski značajne jedinice (ESU). Populacijsko-genetičke analize ustanovile su umjerenu razinu genetske raznolikosti i visoku diferencijaciju populacija s ograničenim protokom gena. Osim snažnog genetskog strukturiranja u skladu s utvrđenim ESU, otkrivena je i visoka razina parenja u srodstvu u većini populacija. Modeli povoljnosti staništa predviđeli su veliko smanjenje povoljnih staništa za potočnog raka do 2070. godine; 80% trenutno pogodnih staništa bit će potencijalno izgubljeno. Nadalje, modeli su pokazali da je 44% istraživanih populacija s velikom i/ili jedinstvenom genetskom raznolikosti smješteno u područjima koja su predviđena kao nepovoljna u budućnosti, stoga imaju veliku vjerojatnost od izumiranja. Uzimajući u obzir predviđene klimatske promjene, potrebno je poduzeti brze konzervacijske akcije koje uključuju potpomognutu migraciju i obnovu populacija s ciljem očuvanja postojeće raznolikosti ove ugrožene vrste.

Ključne riječi: *Austropotamobius torrentium*, evolucijski značajne jedinice, modeli povoljnosti staništa, klimatske promjene

INTEGRATIVE APPROACH TO CONSERVATION OF THE STONE CRAYFISH

L. Lovrenčić¹, M. Temunović², M. Podnar³, Lj. L. Boštančić^{4,5}, L. Bonassini^{4,5}, I. Maguire¹

¹Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia, ²Faculty of Forestry and Wood Technology, University of Zagreb, Svetosimunska 23, 10000 Zagreb, Croatia, ³Croatian Natural History Museum, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Croatia, ⁴LOEWE Centre for Translational Biodiversity Genomics, 60325 Frankfurt am Main, Germany, ⁵Department of Computer Science, ICube, UMR 7357, University of Strasbourg, CNRS, Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg, 67000 Strasbourg, France (leona.lovrencic@biol.pmf.hr)

The stone crayfish is a native European freshwater species endangered due to anthropogenic pressure on its habitats, invasive alien crayfish species and climate change. Our aims were to assess its genetic diversity in Croatia using molecular phylogenetics and population genetics, and to reveal the impact of climate changes on its diversity using species distribution modelling (SDM). Phylogenetic reconstruction revealed the existence of high genetic diversity, maintained in seven geographically and genetically isolated mtDNA lineages which present distinct Evolutionary Significant Units (ESUs). Population genetic analyses based on microsatellites revealed moderate within-population genetic diversity and isolated populations with limited gene flow. Besides strong genetic structuring concordant with established ESUs, we discovered high level of inbreeding within the majority of populations. The SDM results predicted substantial decrease of suitable habitats for stone crayfish by 2070; 80% of its currently suitable habitats are predicted to be lost under high-warming climate change scenario. Moreover, 44%

of investigated populations with high and/or unique genetic diversity are located in areas predicted to become unsuitable, thus having a high probability of extinction in the future. Considering ongoing climate change predictions, prompt actions including assisted migration and repopulation should take place in order to preserve the existing diversity of this endangered species.

Key words: *Austropotamobius torrentium*, Evolutionary Significant Units, Species distribution modelling, climate change

O-66

ANALIZA POPULACIJA STROGO ZAŠTIĆENIH VRSTA MALIH SISAVACA (RODENTIA: CRICETIDAE, GLIRIDAE) U REPUBLICI HRVATSKOJ – PRELIMINARNO IZVJEŠĆE

E. Lugić¹, M. Boljftetić¹, D. Čuljak¹, T. Huten⁶, M. Kresonja¹, M. Mrakovčić¹, D. Lisičić², L. Bjedov³, M. Kovačević⁴, B. Kryštufek⁵, A. Radović¹

¹OIKON d.o.o. Institut za primijenjenu ekologiju, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Hrvatska (elugic@oikon.hr), ²Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Fakultet šumarstva i drvene tehnologije, Svetošimunska cesta 23, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Sveučilište u Osijeku, Odjel za biologiju, Cara Hadrijana 8A, 31000 Osijek, Hrvatska,

⁵Prirodoslovni muzej Slovenije, Prešernova 20, Ljubljana, Slovenija, ⁶Supernatural d.o.o., Koledinečka 3, 10000 Zagreb, Hrvatska (elugic@oikon.hr)

Stanje populacija strogo zaštićenih vrsta glodavaca *Dinaromys bogdanovi*, *Dryomys nitedula*, *Muscardinus avellanarius* i *Cricetus cricetus* u Hrvatskoj općenito je nedovoljno istraženo. Obradom postojećih podataka (modeliranje staništa) i prikupljanjem novih podataka na terenu, ustanovit će se nulto stanje populacija na području RH. To će značajno povećati razumijevanje ekologije ciljanih vrsta i tako olakšati razvoj upravljanja njihovim očuvanjem. Neke od dostupnih metoda prikupljanja podataka su zahtjevne i skupe te nisu dovoljno osjetljive za detekciju ciljanih vrsta, zbog čega se nastoji poboljšati postojeće protokole i razviti nove, inovativne metode. Konkretno, traže se metode koje će pružiti nepristrane podatke o rasprostranjenosti, gustoći populacije i stanišnim zahtjevima ovih vrsta. Također, cilj je procijeniti i antropogeni pritisak na ciljane vrste, kako bi se moglo procijeniti njihovo stanje očuvanja. Ukoliko bude potrebe, predložit će se uvođenje hitnih mjera očuvanja već za vrijeme trajanja ovog projekta. Metode koje su ovim istraživanjem testirane i poboljšane koristit će se i tijekom sljedećih perioda izvještavanja o stanju populacija ovih vrsta, stoga je od izrazite važnosti standardizirati protokole praćenja stanja i pružiti detaljne upute za terensko prikupljanje podataka, plan uzorkovanja, obradu podataka i dugoročnu pohranu primarnih podataka.

Ključne riječi: modeliranje staništa, bioraznolikost, populacija, mali sisavci, monitoring, upravljanje očuvanjem

POPULATION ANALYSIS OF STRICTLY PROTECTED SPECIES OF SMALL MAMMALS (RODENTIA: CRICETIDAE, GLIRIDAE) IN CROATIA – PRELIMINARY REPORT

E. Lugić¹, M. Boljftetić¹, D. Čuljak¹, T. Huten⁶, M. Kresonja¹, M. Mrakovčić¹, D. Lisičić², L. Bjedov³, M. Kovačević⁴, B. Kryštufek⁵, A. Radović¹

¹OIKON Ltd – Institute of Applied Ecology, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Croatia (elugic@oikon.hr), ²Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia, ³Faculty of Forestry and Wood Technology, Svetosimunska cesta 23, 10000 Zagreb, Croatia, ⁴University of Osijek, Department of Biology, Cara Hadrijana 8A, 31000 Osijek, Croatia, ⁵Slovenian Museum of Natural History, Prešernova 20, 1000 Ljubljana, Slovenia, ⁶Supernatural Ltd, Koledinečka 3, 10000 Zagreb, Croatia

Population data of rodent strictly protected species *Dinaromys bogdanovi*, *Dryomys nitedula*, *Muscardinus avellanarius* and *Cricetus cricetus* in Croatia is generally insufficiently known. Field protocols for the first two species are not available and have yet to be developed. The ‘zero state’ knowledge of populations will be established by processing the existing available data (habitat modelling) and collecting of new field data. This will greatly enhance the knowledge on the ecology of target species and consequently facilitate the development of effective conservation management. Some of the available methods of data collection are laborious, expensive and lack desired sensitivity to detect the target species. We are therefore seeking for improvements of the available protocols and the development of novel ones, specifically techniques which will provide unbiased information on the distribution, population size and habitat requirements. At last, we are keen to estimate the anthropogenic pressures and to assess the conservation status of the species. If appropriate, we shall propose implementation of urgent conservation measures already in duration of the project. Also, methods tested and improved for the duration of this survey will be again implemented during the next reporting periods. It is therefore crucial to standardize monitoring protocols and provide detailed instructions for the field work, sampling design, data processing and long-term storage of primary data.

Key words: habitat modelling, biodiversity, population, small mammals, monitoring, conservation management

O-67

KOLIKO DOBRO ZAŠTIĆENA PODRUČJA ŠTITE UGROŽENE VRSTE SLATKOVODNIH RAKOVA PORODICE ASTACIDAE U HRVATSKOJ?

I. Maguire¹, L. Lovrenčić¹, M. Temunović²

¹Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, (imaguire@biol.pmf.hr), ²Fakultet šumarstva i drvene tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Svetosimunska cesta 23, 10000 Zagreb, Hrvatska

Rakovi porodice Astacidae su ključne vrste slatkovodnih ekosustava. U Hrvatskoj su rasprostranjene četiri autohtone europske vrste, od kojih su tri (potočni rak, *Austropotamobius torrentium*; bjelonogi rak, *Austropotamobius pallipes*; riječni rak, *Astacus astacus*) ugrožene i zaštićene nacionalnim i međunarodnim zakonodavstvom. Glavne prijetnje njihovom opstanku su antopogeni pritisci na njihova staništa, unos i širenje alohtonih invazivnih vrsta raka i njihovih patogena te sve izraženije klimatske promjene. Cilj ovog istraživanja je bio procijeniti učinkovitost zaštićenih područja (nacionalnih parkova, parkova prirode, ...) i pan-europske mreže Natura 2000 u očuvanju raznolikosti autohtonih vrsta raka u Hrvatskoj kroz gap analizu. Gap analiza se temelji na preklapanju karata rasprostranjenosti pojedine vrste slatkovodnih raka i zaštićenih područja Hrvatske korištenjem GIS programskog paketa. Rezultati su pokazali da zaštićena područja (uključujući postojeću mrežu Natura 2000) u Hrvatskoj obuhvaćaju 73,3%

populacija potočnog raka te uključuju i područja njegove najveće raznolikosti. Za bjelonogog raka je utvrđeno da se 66% populacija nalazi unutar zaštićenih područja, a preklapanjem mape zaštićenih područja s mapom nalaza riječnog raka zaključeno je da je 50% populacija ove vrste unutar zaštićenih područja, Rezultati ovog istraživanja mogu poslužiti u izradi budućih planova upravljanja ovim ugroženim vrstama.

Ključne riječi: GAP analiza, riječni rak, potočni rak, bjelonogi rak

HOW WELL PROTECTED AREAS SAFEGUARD THREATENED FRESHWATER CRAYFISH IN CROATIA?

I. Maguire¹, L. Lovrenčić¹, M. Temunović²

¹Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (imaguire@biol.pmf.hr), ²Faculty of Forestry and Wood Technology, University of Zagreb, Svetosimunska 23, 10000 Zagreb, Croatia

Crayfish are keystone species in freshwater habitats. Croatian freshwater ecosystems are inhabited by four native European species, from which three (stone crayfish, *Austropotamobius torrentium*; white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes*; noble crayfish, *Astacus astacus*) are endangered and protected by national and international legislation. The main threats to their survival are anthropogenic pressures on their habitats, introduction and spread of non-native invasive crayfish species and their pathogens, and climate changes. The aim of this study was to assess the effectiveness of protected areas (national parks, nature parks) and pan-European Natura 2000 network in preserving native freshwater crayfish diversity in Croatia. To achieve that goal, we conducted GAP analysis, a GIS-based approach that overlaps species distribution data with a map of protected areas. The results revealed that 73.3% of the stone crayfish populations are covered by protected areas (including Natura 2000 sites). The analysis for the white-clawed crayfish showed that 66% of populations are distributed within protected areas, while for the noble crayfish 50% of populations are covered by protected areas. Results of this study could serve as an evaluation of the protected areas in conservation of these key freshwater species and help in development of future management plans.

Key words: GAP analysis, noble crayfish, stone crayfish, white-clawed crayfish

O-68

ORNITOLOŠKA ISTRAŽIVANJA ZA ENERGETSKE PROJEKTE U HRVATSKOJ KAO RIZNICE PODATAKA: PRIMJER SUROG ORLA

M. Maslać Mikulec, E. Patčev

Geonatura d.o.o., Fallerovo šetalište 22, 10000 Zagreb, Hrvatska (mmmkulec@geonatura.hr)

Klimatske promjene i sve veća potreba za energijom potiču potrebu za korištenjem obnovljivih izvora energije. S obzirom na to da vjetroelektrane (VE) mogu značajno negativno utjecati na biološku raznolikost, za ptice, šišmiše i velike zvijeri u Hrvatskoj su obavezna istraživanja. Za ptice je taj period godinu prije te dvije godine poslijе izgradnje VE, a uključuje minimalno 72 sata promatranja preleta godišnje sa svake stalne točke (broj točaka ovisi o veličini VE), istraživanje noćnih vrsta, istraživanje pjevica te dodatne, posebno dizajnirane, metodologije. S obzirom na

to da se ta iznimno velika količina podataka ne dijeli s nadležnim Ministarstvom, ne može se koristiti za bolje poznavanje hrvatske biološke raznolikosti, kao ni za procjene kumulativnih utjecaja energetskih projekata. Kako bi se pokazala vrijednost ovakvih podataka, a posebno za ugrožene vrste, iz interne baze podataka tvrtke Geonatura izdvojeni su i analizirani podaci za surog orla sa 17 lokacija vjetroelektrana u Hrvatskoj (2016.-2022.). Istraživanje je pokazalo: podatke o 300 nalaza surog orla, dva do sada nepoznata teritorija, starost zabilježenih parova, učestalost teritorijalnog ponašanja, visine leta, ponašanje mladih jedinki, ponašanje u blizini vjetroagregata, rijetko viđeno parenje te nekoliko događaja direktnih sukoba surih orlova. Ovi podaci značajno doprinose poznavanju hrvatske populacije surih orlova, koji broje ispod 20 aktivnih parova u Hrvatskoj.

Ključne riječi: ugrožena vrsta, ptice, vjetroelektrane, ponašanje, ekologija

ORNITHOLOGICAL RESEARCH OF ENERGY PROJECTS IN CROATIA AS A TREASURE TROVE OF DATA: THE EXAMPLE OF THE GOLDEN EAGLE

M. Maslać Mikulec, E. Patčev

Geonatura ltd, Fallerovo šetalište 22, 10000 Zagreb, Croatia (mmmkulec@geonatura.hr)

Climate change and the growing demand for energy are driving the need for renewable energy sources. Given that wind farms (WF) can have a significant negative impact on biodiversity, research is mandatory in Croatia for birds, bats and large carnivores. For birds, this period is one year before and two years after WF construction and it includes a minimum of 72 hours of observation per vantage point per year (number of points depends on WF size), nocturnal species research, songbirds research and additional specially designed methodologies. Because this extremely large quantity of data collected in WF research is not shared with the competent Ministry, it cannot be used to better understand Croatian biodiversity or to assess the cumulative impact caused by energy projects. In order to show the value of these data, especially for endangered species, in this research the data on the Golden Eagle from 17 WF locations in Croatia (2016-2022) was extracted from the internal Geonatura's database and analysed. The research showed: data on 300 recordings of Golden Eagles; two hitherto unknown territories; the age of recorded pairs; frequency of territorial behaviour; flight altitude; juvenile behaviour; behaviour in the vicinity of wind turbines; rarely seen mating events; and several events of direct conflicts between Golden Eagles. These data significantly contribute to the knowledge of the Croatian population of Golden Eagles, which has less than 20 active pairs in Croatia.

Keywords: endangered species, birds, wind farms, behavior, ecology

O-69

UPOTREBA BESPILOTNIH LETJELICA U BIOLOŠKIM ISTRAŽIVANJIMA VRSTA I STANIŠTA

Z. Mesić¹, N. Jantol², M. Augustinović³, B. Radun², S. Dujmović⁴, V. Kušan²

¹Veleučilište u Karlovcu, Trg Josipa Jurja Strossmayera 9, 47000 Karlovac, Hrvatska (zrinka.mesic@vuka.hr), ²Oikon d.o.o. – Institut za primijenjenu ekologiju, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Pro-silva d.o.o., 10020 Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴JUNP Brijuni, 52100 Pula, Hrvatska

Daljinska istraživanja (DI) su koristan izvor podataka u kartiranju i praćenju stanja vegetacije već više od 50 godina. Podaci prikupljeni DI su imali ograničenje u rezoluciji snimaka te su zbog toga korišteni samo za istraživanje nekih vrsta. Nasuprot tome, daljinski upravljanje letjelice (dronovi) omogućuju snimke većih rezolucija i stoga se mogu primijeniti za kartiranje vegetacije, flore i faune. U nekoliko projekata su korišteni dronovi sa kamerom i specifičnim (termalnim i multispektralnim) senzorima. Na teško dostupnim mjestima (hodanjem) ili na udaljenim područjima dronovi su se pokazali kao vrlo koristan alat u pregledu terena i daljnjoj organizaciji terena. Između ostalog, ovaj princip je primijenjen za kartiranje vertikalno distribuiranih stanišnih tipova (8210 Karbonatne stijene sa hazmofitskom vegetacijom). K tome, u praćenju stanja i kartiranju šumski staništa i staništa šikara dronovi omogućuju kartiranje većih područja i sa više objektivnosti, a vrste drveća i grmlja koje imaju izraženu (razlikovnu) fenofazu mogu biti kartirane kao pojedine jedinke. Također, stanišni tipovi u čijem određivanju je ključno prisustvo vrste sa vrlo jasno izraženom fenofazom mogu biti kartirane. Ova metoda je primijenjena prilikom istraživanja stanišnih tipova 5530 Termo-mediterranske (stenomediteranske) grmolike formacije s *Euphorbia dendroides* i 1420 Mediteranska i termoatlantska vegetacija halofilnih grmova. Termalni senzori su se pokazali kao korisni u praćenju stanja divljači na području NP Brijuni.

Ključne riječi: dron, ortofoto, praćenje stanja bioraznolikosti, Natura 2000 stanišni tip, kartiranje, divljač

USE OF UNMANNED AERIAL VEHICLE IN BIOLOGICAL REASEARCH OF SPECIES AND HABITATS

Z. Mesić¹, N. Jantol², M. Augustinović³, B. Radun², S. Dujmović⁴, V. Kušan²

¹Karlovac University of Applied Sciences, Trg Josipa Jurja Strossmayera 9, 47000 Karlovac, Croatia, ²Oikon Ltd. – Institute of Applied Ecology, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Croatia

³Pro-silva d.o.o., Trg senjskih uskoka 1-2, Zagreb, Croatia, ⁴Brijuni Public Authority, Brijuni, 52100 Pula, Croatia (zrinka.mesic@vuka.hr)

Remote sensing (RS), provide useful data for vegetation mapping and monitoring for more than 50 years. For many years RS had restriction in resolution of the provided images and due to that could be used for research of limited number of species. In contrast, the unmanned aerial vehicle (drones) provides higher resolution data (images) and provide more opportunities in vegetation, flora and fauna mapping. In several projects have been used the unmanned aerial vehicle (drones) equipped with cameras and specific (thermal or multispectral) sensors. On places that are hard to reach on foot or for remote places drones are proved to be useful for surveys and further organization of field work. Among other, such approach was implemented for the habitat types that are vertically distributed (8210 Calcareous rocky slopes with chasmophytic vegetation). In addition, the monitoring and mapping of forests and scrubs with normal cameras could be conducted on broader scale and with more objective assessment, as well as species with distinctive phenophases to other species in community could be mapped on the specimen level. Moreover, the habitat types that are determined by a species with distinctive phenophase could be easily mapped. Such method was applied for the habitat type 5330 Thermo-Mediterranean and pre-desert scrub and 1420 Mediterranean and thermo-Atlantic halophilous scrubs. The thermal sensors have been confirmed useful for monitoring of game in Brijuni National Park.

Key words: drone, ortophoto, biodiversity monitoring, Natura 2000 habitat type, mapping, game

O-70

KOMPLEKSNI PRISTUP RESTAURACIJI PRIRODNOG IHTIOLOŠKOG STANJA U NACIONALNOM PARKU PLITVIČKA JEZERA

K. Miculinić, S. Žalac, I. Špoljarić, A. Brozinčević

Javna ustanova Nacionalni park Plitvička jezera, Znanstveno - stručni centar dr. Ivo Pevalek, Josipa Jovića 19, 53231 Plitvička jezera, Hrvatska (andrijanab26@gmail.com)

Vode Plitvičkih jezera u prošlosti su bile salmonidnog karaktera i poznate po velikom broju pastrva. Ključna vrsta vodotoka Plitvičkih jezera je dunavska pastrva (*Salmo labrax*) no unos alohtonih vrsta, prvenstveno crvenperke (*Scardinius erythrophthalmus*), klena (*Squalius cephalus*), kalifornijske pastrve (*Oncorhynchus mykiss*) i štuke (*Esox lucius*), doveo je do značajno izmijenjenog sastava ihtiofaune, ali i do promjene ekološkog stanja vodotoka i jezera. Kako bi se povratilo prirodno stanje osmišljeno je i pokrenuto nekoliko povezanih aktivnosti. U tijeku su aktivnosti izlova alohtonih vrsta riba, porobljavanja dunavskom pastrvom te uklanjanja umjetnih barijera na vodotocima. Izlov alohtonih vrsta riba započeo je u opskrbnim vodotocima i Prošćanskem jezeru, prvom jezeru u sustavu, a nastaviti će se postupno sve do rijeke Korane. Rezultati prve godine izlova ukazuju na smanjenje rasprostranjenosti i veličina populacija glavnih alohtonih vrsta. Porobljavanje se obavlja na način da se za mriještenje biraju one jedinke čiji će haplotipovi povećati genetsku raznolikost. Uklanjanjem umjetnih barijera omogućiti će se uzvodne migracije pastrva na lokacije mriještenja te smanjiti fragmentiranost staništa. Ovakvo kompleksni zahvati, s ciljem restauriranja prirodnih staništa i ribljih vrsta, do sada nisu provođeni u Hrvatskoj, pa se očekuje da će razvijena metodologija pomoći u sličnim aktivnostima i na drugim lokacijama.

Ključne riječi: Nacionalni park Plitvička jezera, dunavska pastrva, izlov alohtonih vrsta riba, porobljavanje, uklanjanje barijera

A COMPLEX APPROACH TO THE RESTORATION OF THE NATURAL ICHTHYOLOGICAL CONDITION IN THE PLITVICE LAKES NATIONAL PARK

K. Miculinić, S. Žalac, I. Špoljarić, A. Brozinčević

Conservation Service, Public Institution Plitvice Lakes National Park, Josipa Jovića 19, 53231 Plitvička jezera, Croatia (andrijanab26@gmail.com)

The waters of Plitvice Lakes were salmonid waters in the past and known for a large number of trout. The most important species in watercourses of the Plitvice Lakes is the Danube trout (*Salmo labrax*), but the introduction of non-native species, especially the redfish (*Scardinius erythrophthalmus*), the chub (*Squalius cephalus*), the California trout (*Oncorhynchus mykiss*) and the pike (*Esox lucius*), led to a significant change in the composition of the ichthyofauna, but also to a change in the ecological status of watercourses and lakes. Various measures have been designed and initiated to restore the natural condition. Measures are currently underway to remove non-native fish species, restock Danube trout, and remove artificial dams on watercourses. Catching of non-native fish species has started in tributary waters and in Prošćansko Lake, the first lake in the system, and will gradually continue up to the Korana River. The results of the first fishing year indicate a decrease in the distribution and size of the

populations of the main non-native species. Restocking is done by selecting for spawning those individuals whose haplotypes increase genetic diversity. Removal of artificial dams will enable upstream migration of trout to spawning sites and reduce habitat fragmentation. Such complex interventions aimed at restoring natural habitats and fish species have not been carried out in Croatia before, so it is expected that the developed methodology will be helpful in similar activities elsewhere.

Keywords: Plitvice Lakes National Park, Danube trout, catching of non-native fish species, restocking, dam removal

O-71

INFESTACIJA EUROPSKE JEGULJE (*Anguilla anguilla*) NEMATODOM *Anguillicoloides crassus* U DELTI NERETVE

T. Radočaj¹, O. Barić¹, R. Sarmah², N. Iveša³, J. Jug-Dujaković⁴, A. Gavrilović¹

¹Zavod za ribarstvo, pčelarstvo, lovstvo i specijalnu zoologiju, Sveučilište u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (tena.djakovo@gmail.com), ²Department of Aquatic Environment Management, College of Fisheries, Assam Agricultural University, 6G83+G3V, Raha, Nagaon, Assam, 782103, India, ³Fakultet prirodnih znanosti u Puli, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Hrvatska, ⁴Sustainable Aquaculture Systems Inc., 715 Pittstown Road, Frenchtown, NJ 08825, SAD

Anguillicoloides crassus je parazit koji se nalazi u plivaćem mjeđuhru jegulje. Ovaj parazit ima štetne učinke koji narušavaju funkciju plivaćeg mjeđura i smanjuju učinak plivanja. Jedan je od glavnih razloga opadanja populacije europske jegulje, *Anguilla anguilla*. Cilj istraživanja bio je utvrditi pristunost i brojnost *A. crassus* po godišnjim dobima u delti Neretve. Uzorkovano je na dvije lokacije od siječnja do studenog 2021. godine, na glavnom ušću Neretve (NC) i na Maloj Neretvi (MN). Na glavnom ušću Neretve uzorkovano je 69 jedinki, dok je u Maloj Neretvi uzorkovano 25. Svakoj jedinki izmjerene su ukupna duljina i masa, nakon čega je uslijedila disekcija tjelesne šupljine i plivaćeg mjeđura kako bi se utvrdila prisutnost *A. crassus*. Nakon toga, pronađeni paraziti su prebrojani kod svake jedinke i pohranjeni u 96% etanolu. Za obradu podataka korišten je Microsoft Excel (2016). Prevalencija parazita u NC iznosila je 29%, dok je u MN bila 40%. Najveća prisutnost *A. crassus* zabilježena je u svibnju, a najmanja u srpnju i rujnu u NC. U MN najveća prisutnost zabilježena je u siječnju, a najmanja u svibnju. Na prvom mjestu prevalencija i prosječna težina i duljina pokazali su vrlo slabu pozitivnu korelaciju ($r=0,25$ i $r=0,1$), dok su u MN te korelacijske bile izrazito negativne ($r=-0,8$ i $r=-0,92$). Rezultati sugeriraju da bi trebalo istražiti druge čimbenike koji bi mogli utjecati na infestaciju.

Ključne riječi: delta Neretve, *Anguillicoloides crassus*, rasprostranjenost, *Anguilla anguilla*

INFESTATION OF EUROPEAN EEL (ANGUILLA ANGUILLA) WITH NEMATODE ANGUILLICOLOIDES CRASSUS IN THE NERETVA DELTA

T. Radočaj¹, O. Barić¹, R. Sarmah², N. Iveša³, J. Jug-Dujaković⁴, A. Gavrilović¹

¹Department of Fisheries, Apiculture, Wildlife Management and Spec. Zoology, University of Zagreb Faculty of Agriculture, Svetošimunska Cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia, ²Department of Aquatic Environment Management, College of Fisheries, Assam Agricultural University,

6G83+G3V, Raha, Nagaon, Assam, 782103, India, ³Department of Natural and Health Sciences, University of Pula, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Croatia, ⁴Sustainable Aquaculture Systems Inc., 715 Pittstown Road, Frenchtown, NJ 08825, USA (tena.djakovo@gmail.com)

Anguillicoloides crassus is a parasite found in the swim bladder of Anguillidae. It has adverse effects that impair swim bladder function and reduce swimming performance, and it is considered as one of the main reasons for the decline in the populations of European eel, *Anguilla anguilla*. The aim of this study was to determine the incidence and abundance of *A. crassus* in the Neretva Delta. It was sampled at two locations from January to November 2021, at the main Neretva confluence (NC), and at the Mala Neretva (MN). 69 individuals were sampled on the NC location, and 25 in the MN. For each individual, total body length and weight were measured, followed by dissection of the body cavity and swim bladder for the presence of *A. crassus*. The parasites found were counted for each individual and stored in 96% ethanol. Microsoft Excel (2016) was used for data processing. The prevalence of parasite at the NC was 29%, while in the MN it was 40%. The highest presence of *A. crassus* was recorded in May, while the lowest in July and September in the NC. On second location the highest presence was recorded in January, and the lowest in May. At the first location, prevalence and average weight and length showed weak positive correlation ($r=0,25$ and $r=0,1$), while in MN these correlations were strongly negative ($r=-0,8$ and $r=-0,92$). Results suggest that other factors that could affect the infestation should be researched.

Keywords: the Neretva Delta, *Anguilla anguilla*, prevalence , *Anguillicoloides crassus*

O-72

PROŠIRENJE POZNATOG AREALA VELIKIH VODENJAKA *Triturus sp.* U HRVATSKOJ

B. Schmidt¹, D. Kranželić¹, M. Jelić²

¹Udruga Hyla, Lipovac I, br. 7, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Gradski muzej Varaždin, Šetalište Josipa Jurja Strossmayera 1, 42000 Varaždin, Hrvatska (bruno.schmidt@hhdhyla.hr)

Na području Hrvatske rasprostranjene su dvije vrste velikih vodenjaka roda *Triturus*, veliki dunavski vodenjak *T. dobrogicus* (Kiritescu, 1903) i veliki vodenjak *T. carnifex* (Laurenti, 1768). Areal vrsta susreće se u središnjoj Hrvatskoj gdje međusobno hibridiziraju te je morfološka determinacija nepouzdana. Terenskim istraživanjima 2020. i 2021. godine istraživana je prisutnost vrsta na području Međimurske županije. Veliki vodenjaci zabilježeni su na osam novih lokacija čime se proširio njihov poznati areal u Hrvatskoj. Metodologija istraživanja uključivala je korištenje Ortmannovih zamki za vodenjake te su sve jedinke zabilježene tom metodom lova. Međimurska županija ulazi u zonu hibridizacije te su zbog nepouzdanosti determinacije korištene genetičke metode kako bi se odredila pripadnost određenoj vrsti. PCR metodom su umnožene i zatim sekvencirane ND4 regija mitohondrijske DNA te jedna regija jezgrine DNA. Rezultati analize ukazali su na prisutnost obje vrste no vrlo vjerojatno su na pojedinim lokalitetima utvrđeni i hibridi. Za potvrdu potencijalnih hibrida i tipa hibridizacije je potrebno da se u budućim istraživanjima koristi veći broj jezgrinih molekularnih markera (mikrosatelita). Preporučljivo je da se u istraživanjima vodenjaka na području Hrvatske koriste Ortmannove zamke radi njihove učinkovitosti, te genetičke metode radi determinacije vrste kako bi se proširilo znanje o arealu i hibridizaciji velikih vodenjaka a time i pospješila njihova zaštita.

Ključne riječi: distribucija, zona hibridizacije, Međimurska županija, Ortmannove zamke

EXPANSION OF THE KNOWN RANGE OF CRESTED NEWTS *Triturus sp.* IN CROATIA

B. Schmidt¹, D. Kranželić¹, M. Jelić²

¹Udruga Hyla, Lipovac I, br. 7, 10000 Zagreb, Croatia, ²Gradski muzej Varaždin, Šetalište Josipa Jurja Strossmayera 1, 42000 Varaždin, Croatia (bruno.schmidt@hhdhyla.hr)

Two species of crested newts *Triturus* sp. are present in Croatia, the Danube crested newt *T. dobrogicus* (Kiritzescu, 1903) and the Italian crested newt *T. carnifex* (Laurenti, 1768). The range of the species meets in central Croatia where they hybridize with each other, thus making morphological determination unreliable. Field research in 2020 and 2021 investigated the presence of crested newts in Međimurje County. Crested newts were recorded for the first time in 8 new locations, which expanded their known range in Croatia. The research methodology included the use of Ortmann's funnel traps, and all individuals were recorded by this method. Međimurje County is part of the hybridization zone, and due to the unreliability of determination, genetic methods were used to determine the species. The ND4 region of mitochondrial DNA and one region of nuclear DNA were amplified and then sequenced by PCR. The results of the analysis indicated the presence of both species, but it is very likely that hybrids were also found at certain localities. For the confirmation of potential hybrids and the type of hybridization, it is necessary to use a larger number of nuclear molecular markers (microsatellites) in future research. It is recommended that Ortmann's funnel traps be used in further studies for their effectiveness and genetic methods for species determination in order to expand knowledge about the range and hybridization of crested newts and thus enhance their protection.

Keywords: distribution, hybridization zone, Međimurje County, Ortmann's funnel trap

O-73

JESMO LI SPASILI DINARSKU POPULACIJU RISA OD IZUMIRANJA?

M. Sindičić¹, T. Gomerčić¹, T. Skrbinšek², M. Krofel², I. Topličanec¹, U. Fležar², V. Slijepčević³, S. Blasković¹, T. Sin⁴, J. Kubala⁵, R. Černe⁶

¹Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska (magda.sindicic@vef.unizg.hr), ²Biotehnički fakultet Sveučilišta u Ljubljani, Slovenija,

³Veleučilište u Karlovcu, Trg Josipa Jurja Strossmayera 9, 47000 Karlovac, Hrvatska, ⁴Association for the conservation of biological diversity ACDB, Forest Service, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, Slovenija, ⁵Technical University Zvolen, T. G. Masaryka 24, 960 01 Zvolen, Slovačka, ⁶Slovenian Forestry Institute, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

Od ljeta 2017. godine u Hrvatskoj, Sloveniji, Italiji, Slovačkoj i Rumunjskoj se provodi LIFE Lynx projekt „Spašavanje dinarske i jugoistočne alpske populacije risa od izumiranja“ (LIFE16 NAT/SI/000634). U razdoblju 2019. – 2022. ukupno 10 odraslih mužjaka preseljeno je iz Slovačke i Rumunjske u hrvatski (5) i slovenski (5) dio Dinarida s ciljem zaustavljanja parenja u srodstvu. Kako bi se povezale populacije risa u Dinariđima i Alpama, 2021. godine na područje Gorenjske regije u Sloveniji su naseljene tri ženke i dva mužjaka. Uspješnost integracije naseljenih risova prati se telemetrijskim ogrlicama, fotozamkama te analizom DNA. Jedna od ženki ispuštenih u

slovenske Alpe je imala mlade, te je potvrđeno preživljavanje jednog mладунца do subadultne dobi. U Dinaridima je analizom DNA i fotozamkama potvrđeno da je naseljeni ris Goru otac najmanje sedam mладунaca, dok se na temelju podataka s fotozamki pretpostavlja da su se još tri naseljena mužjaka razmnožila s lokalnim ženkama. Iako projekt još nije završio, možemo potvrditi da se većina naseljenih životinja integrira u populaciju što je pokazatelj da će repopulacija stvarno postići cilj zaustavljanja izumiranja risa u Dinaridima i jugoistočnim Alpama.

Ključne riječi: *Lynx lynx*, parenje u srodstvu, repopulacija

HAVE WE SAVED THE DINARIC LYNX POPULATION FROM EXTINCTION?

M. Sindičić¹, T. Gomerčić¹, T. Skrbinšek², M. Krofel², I. Topličanec¹, U. Fležar², V. Slijepčević³, S. Blasković¹, T. Sin⁴, J. Kubala⁵, R. Černe⁶

¹Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Heinzelova 55, Zagreb, Croatia (magda.sindicic@vef.unizg.hr), ²Biotechnical Faculty University of Ljubljana, Jamnikarjeva ulica 101, 1000 Ljubljana, Slovenia, ³University of Applied Sciences, Trg Josipa Jurja Strossmayera 9, 47000 Karlovac, Croatia, ⁴Association for the conservation of biological diversity ACDB, Forest Service, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, Slovenia, ⁵Technical University Zvolen, T. G. Masaryka 24, 960 01 Zvolen, Slovakia, ⁶Slovenian Forestry Institute, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, Slovenia

Since summer 2017, project „Preventing the extinction of the Dinaric-SE Alpine Lynx population through reinforcement and long-term conservation“ (LIFE16 NAT/SI/000634) has been implemented in Croatia, Slovenia, Italy, Romania, and Slovakia. In the 2019 - 2022 period, 10 adult male lynx were translocated from Slovakia and Romania to the Croatian (5) and Slovenian (5) part of the Dinaric mountains, to reduce population inbreeding. In 2021, three more females and two males were released in Gorenjska Region in Slovenian, aiming to establish a new stepping-stone population in the Eastern Alps. The success of the population reinforcement is being monitored with telemetry collars, camera traps and genetic analysis. One of the females translocated to the Alps had offspring, and the survival of one of them to the subadult age was confirmed. In the Dinarics, camera trap and DNA monitoring confirmed that lynx Goru is the father of at least seven cubs, while based on camera trap data it is suspected that additional three translocated males reproduced with local females. Even though the project is still not finished, we can confirm successful inclusion of most of the introduced animals thus indicating that the reinforcement will indeed prevent extinction of the Dinaric-Southeastern Alpine lynx population.

Key words: *Lynx lynx*, inbreeding, reinforcement

O-74

UPRAVLJAČKE AKTIVNOSTI ZA ZAŠTITU PTICA U MEĐIMURSKOJ ŽUPANIJI

S. Srša, M. Mesarić, I. Rojko, V. Bašek

Međimurska priroda - Javna ustanova za zaštitu prirode, Trg međimurske prirode 1, Križovec, 40315 Mursko Središće, Hrvatska (monika.cindric1@gmail.com)

Međimurska priroda – JU za zaštitu prirode provodi niz upravljačkih aktivnosti kako bi poboljšala stanišne uvjete za strogo zaštićene vrste ptica u Međimurskoj županiji, a posebno u područjima

očuvanja značajnim za ptice. Djelatnici JU sustavno prate ptice od posebnog interesa sukladno nacionalnim i međunarodnim monitoring programima. Konkretnе upravljačke aktivnosti za povećanje dostupnih mesta za gniažđenje zlatovrane provode se kroz postavljanje kućica za gniažđenje. Kroz organizaciju godišnjih volonterskih akcija „Čišćenja obale za bregunice“ i „Brojanje gniazežda lastavica i piljaka“ lokalno stanovništvo se izravno uključuje u aktivnosti zaštite prirode. Kao projektu aktivnost Međimurska priroda je u suradnji s Udrugom BIOM provela Trening prepoznavanja ptica. Cilj treninga bio je jačanje kapaciteta djelatnika ustanove i relevantnih dionika s područja Regionalnog parka Mura-Drava, postizanje više razine znanja o pticama, razlikovanju te praćenju stanja za vrste od interesa. Na lokacijama atraktivnim za promatranje ptica organiziraju se događaji za lokalno stanovništvo tzv. ptičarenje, a s ciljem dizanja svijesti o raznolikosti ptica oko nas te potrebi njihove zaštite. Kroz rad Čuvarske službe ustanove detektirano je sedam ilegalnih čeka na akumulacijskom jezeru Dubrava za koje se sumnjalo da se koriste za krivolov čije uklanjanje je organizirano tijekom 2021. godine u suradnji s Udrugom BIOM, JU Priroda Varaždinske županije te pripadnicima HGSS – Stanice Čakovec.

Ključne riječi: ptice, zaštita, monitoring, volonterska akcija, krivolov, trening, Međimurska priroda

MANAGEMENT ACTIVITIES FOR BIRDS PROTECTION IN MEĐIMURJE COUNTY

S. Srša, M. Mesarić, I. Rojko, V. Bašek

Međimurje Nature – Public Institution for Nature Protection, Križovec, 40315 Mursko Središće, Croatia (monika.cindric1@gmail.com)

Međimurje Nature - The Public Institution for Nature Protection implements several different management activities to improve the habitat conditions for strictly protected bird species in Međimurje County, especially in conservation areas important for birds. Public institution employees systematically monitor birds of special interest following national and international monitoring programs. Specific management activities to increase the available nesting sites of European roller are carried out through the installation of nesting houses. Through the organization of volunteer programs "Cleaning the shore for sand martins" and "Counting the nests of barn swallows and house martins", the local population is directly involved in nature protection activities. As a project activity, Public institution Međimurje Nature, in cooperation with the BIOM Association, conducted a Bird Recognition Training for twenty participants. The training aimed to strengthen the capacity of the institution's employees and relevant stakeholders from the Mura-Drava Regional Park, achieving a higher level of knowledge about birds, and their differentiation and monitoring the situation for species of interest. At locations attractive for birdwatching, events are organized for the local population, the so-called birding, to raise awareness of the bird diversity around us and the need for their protection. Through the work of the Park Rangers from the public institution, seven illegal hunter stands were detected on the accumulation lake Dubrava, which were suspected to be used for poaching. Their removal was organized in 2021 in cooperation with the BIOM Association, the Public Institution for Nature Protection of Varaždin County and members of the Croatian Mountain Rescue Service - Čakovec Station.

Keywords: birds, conservation, monitoring, volunteer actions, poaching, training, Međimurje nature

20 GODINA EKSPERIMENTALNOG EX SITU UZGOJA ORGANIZAMA U AQUARIUMU PULA

M. Stankić, I. Sudulić

Aquarium Pula, Verudella 33, 52100 Pula, Hrvatska (matea.stankic@gmail.com)

Posljednjih desetak godina javni akvariji su preuzeли ulogu biološkog rezervoara "Noine arke" u kojem se uzgajaju ugrožene i ornamentalne vrste u cilju obogaćivanja vlastitih izložbi, ali i smanjivanja trgovanja divljim svojtama. Od samog osnutka (2000. godine) u Aquariumu Pula se provode konzervacijske aktivnosti eksperimentalnog uzgoja zaštićenih vrsta kao što su morski konjić dugoklunići (*Hippocampus guttulatus*) i europska jegulja (*Anguilla anguilla*). Uzgoj morskih konjića je 2009. g. rezultirao F2 generacijom (11 jedinki), a 2008. g. inducirana je spolna zrelost jegulje do SFIV faze. Od 2016. godine uzgajaju se hrskavične ribe; raže kamenice (*Raja clavata*) do 70%, morske mačke bljedice (*Scyliorhinus canicula*) i mrkulje (*Scyliorhinus stellaris*) do 80%. Uzgajaju se tropске ribe vrsta *Amphiprion ocellaris* i *A. clarkii* do F1 generacije sa stopom preživljavanja od >60%. Od 2021. g. prati se uzgoju sivog morskog psa (*Chiloscyllium griseum*) uz 60%-nu uspješnost izvaljivanja samo do F1 generacije. Osim riba, prati se uspješnost izvaljivanja jaja obične sipe (*Sepia officinalis*) i lignje (*Loligo vulgaris*) u ex situ uvjetima te razvoj 6 vrsta režnjaka (Scyphozoa) od polipa do odrasle jedinke. Zbog sve većih promjena koja se događaju u morima i oceanima, Aquarium Pula postaje važna nacionalna ex situ lokacija za uzgoj periske (*Pinna nobilis*) i ostale jadranske organizme. Uz in situ, dokazali smo da je za očuvanje okoliša potrebno provoditi i ex situ zaštitu vrsta.

Ključne riječi: uzgoj, eksperimentalni uzgoj, ex situ, in situ, zaštićene vrste, tropске vrste, konzervacija

20 YEARS OF EXPERIMENTAL EX SITU BREEDING IN AQUARIUM PULA

M. Stankić, I. Sudulić

Aquarium Pula, Verudella 33, 52100 Pula, Croatia (matea.stankic@gmail.com)

In the last ten years, aquariums have become a biological reservoir "Noah's Ark" in which endangered and ornamental species are bred in order to enrich their own exhibitions, but also to reduce the trade of wild taxa. Since its establishment (2000), Aquarium Pula has been carrying out conservation activities of experimental breeding of protected species such as the long-snouted seahorse (*Hippocampus guttulatus*) and the European eel (*Anguilla anguilla*). Seahorse breeding in 2009 resulted in the F2 generation (11 individuals), and in 2008 the sexual maturity of the eel was induced to the SFIV phase. Since 2016, we have been breeding cartilaginous fish; thornback ray (*Raja clavata*) up to 70%, small-spotted catshark (*Scyliorhinus canicula*), and nursehound (*Scyliorhinus stellaris*) up to 80%. Tropical fish like *Amphiprion ocellaris* and *A. clarkii* are bred up to F1 generation with a survival rate of >60%. From 2021, the breeding of the gray shark (*Chiloscyllium griseum*) is monitored with a 60% hatching success only up to the F1 generation. The hatching of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and squid (*Loligo vulgaris*) in ex situ conditions and the development of 6 species of Scyphozoa, from polyp to adult, were monitored. Due to the increasing changes in the seas and oceans, Aquarium Pula is becoming a national ex situ location for the breeding of penshell (*Pinna nobilis*) and other Adriatic organisms. It is necessary to implement ex situ protection of species to preserve the environment.

Keywords: breeding, experimental breeding, *ex situ*, *in situ*, protected species, tropical species, conservation

O-76

UTVRĐIVANJE TRENUTNOG STUPNJA OČUVANJA CIJENIH STANIŠTA SUHIH TRAVNJAKA DINARE

L. Škunca, T. Hudina

Udruga BIOM, Čazmanska 2, 10000 Zagreb, Hrvatska (luka.skunca@biom.hr)

U sklopu projekta Dinara Back to LIFE proveli smo vegetacijsko istraživanje na 3 ciljna staništa suhih travnjaka, kako bi procijenili njihov trenutni stupanj očuvanja u Natura 2000 području HR5000028 Dinara. Istraživanje je provedeno na ukupno 50 ploha rasprostranjenih na 4 lokaliteta. Lokaliteti istraživanja odabrani su uglavnom na temelju planiranih aktivnosti Projekta – Badanj, Kijevo, Ježević i Vrdovo. Na svakom području definiran je poligon za aktivnost i za kontrolu, a unutar svakog poligona definiran je konačni smještaj ploha. Istraživanje je obuhvatilo 2 terenska izlaska u sklopu kojih smo prikupili florističke podatke na plohamama veličine 5x10m, koristeći kombiniranu Braun-Blanquet skalu od 9 stupnjeva. Ukupno smo zabilježili 252 biljne svojte s prosjekom svojti po snimci od 30,2. Na lokalitetu istraživanja Badanj nisu zabilježene značajne razlike između snimaka za aktivnost i za kontrolu te je stupanj očuvanja staništa 6170 i 6210 na cijelom istraživanom području izvanredan. Na području istraživanja Kijevo, Ježević i Vrdovo zabilježene su razlike u strukturi te u flornom sastavu između područja za aktivnost te za kontrolu, te je stupanj očuvanja staništa 62A0 procijenjen kao izvanredan za područje kontrole na svim istraživanim područjima, dok se stupanj očuvanja na područjima aktivnosti, smatra dobrim za područje Kijevo i Ježevića te prosječnim za područje Vrdova.

Ključne riječi: Suhı travnjaci, Dinara, Natura 2000

CURRENT CONSERVATION STATUS ASSESSMENT FOR TARGET DRY GRASSLAND HABITATS ON DINARA

L. Škunca, T. Hudina

Association BIOM, Čazmanska 2, 10000 Zagreb, Croatia (luka.skunca@biom.hr)

As part of the project Dinara Back to LIFE we did a vegetation survey of three dry grassland target habitats to assess their conservation status within the Natura 2000 area HR5000028 Dinara. It was carried out on a total of 50 plots spread across 4 different localities. The localities for the survey were based mostly on the planned restoration activities of the Project – Badanj, Kijevo, Ježević and Vrdovo. In every locality, we defined polygons for activities and for control, and within every polygon we defined the exact location for the plots. The survey encompassed 2 field trips in which we collected floristic data on 5x10m plots using Braun-Blanquet combined scale of 9 values. We recorded in total 252 plant taxa with an average number of taxa per plot being 30,2. In the survey area Badanj, we didn't record significant differences between plots for activities and plots for control, and conservation status of habitats 6170 and 6210 in the research area is estimated as excellent. In the survey areas Kijevo, Ježević and Vrdovo, we recorded differences in the vegetation structure and floristic composition between plots for activities and plots for

control, so the conservation status of habitat 62A0 is estimated as excellent for the area for control in all three survey areas, but for the area of activities, is estimated as good for Kijevo and Ježević, and poor for Vrdovo.

Keywords: Dry grasslands, Dinara, Natura 2000

O-77

PRILOG POZNAVANJU FAUNE DANJIH I NOĆNIH LEPTIRA TE VREtenaca BJELOVARSKO-BILOGORSKOG PODRUČJA TEMELJEN NA FOTOGRAFSKOM ISTRAŽIVANJU

M. Veljković

Ires ekologija d.o.o. za zaštitu prirode i okoliša, Prilaz baruna Filipovića 21, 10000 Zagreb, Hrvatska (monika.veljkovic@ires-ekologija.hr)

Digitalne fotografije visoke kvalitete daju priliku za istraživanje raznolikosti danjih i noćnih leptira te vretenaca na manje invazivan način te omogućuju proučavanje vrsta dugo nakon terenskih istraživanja. Ciljevi ovog istraživanja bili su inventarizirati vrste danjih i noćnih leptira te vretenaca bjelovarsko-bilogorskog područja korištenjem fotografskog pristupa te pružiti osnovne podatke za daljnja istraživanja. Fotografsko snimanje danjih i noćnih leptira obavljeno je tijekom 2017. godine u Gornjim Plavnicama blizu grada Bjelovara u kontinentalnom dijelu Hrvatske, dok su podaci u vezi vretenaca prikupljeni od 2017. do 2020. godine, također u Gornjim Plavnicama. Pritom je identificirano 100 vrsta leptira iz 14 porodica, uključujući tri vrste leptira uvrštene u Crvenu knjigu danjih leptira Hrvatske. Većina zabilježenih vrsta leptira pripada porodicama Nymphalidae i Lycaenidae, dok su najzastupljeniji noćni leptiri bili iz porodica Geometridae i Noctuidae. Tijekom fotografskog istraživanja faune vretenaca na temelju kvalitetnih fotografija i video zapisa identificirano je deset vrsta vretenaca, među kojima i jedna vrsta uvrštena u Crvenu knjigu vretenaca Hrvatske. Ovo istraživanje predstavlja doprinos poznавanju faune danjih i noćnih leptira te vretenaca bjelovarsko-bilogorskog područja, ali daje i dodatna saznanja o mogućnostima fotografskih istraživanja danjih i noćnih leptira te vretenaca.

Ključne riječi: Lepidoptera, Odonata, fauna, Gornje Plavnice, bjelovarsko-bilogorsko područje

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF BUTTERFLY, MOTH AND DRAGONFLY FAUNA OF THE BJELOVAR-BILOGOR AREA BASED ON PHOTOGRAPHIC STUDY

M. Veljković

Ires ekologija d.o.o., Prilaz baruna Filipovića 21, 10000 Zagreb, Croatia (monika.veljkovic@ires-ekologija.hr)

High quality digital photographs give an opportunity for less invasive research into butterfly, moth and dragonfly diversity and enables the study of species a long time after field research. This research aimed to inventory the butterfly, moth and dragonfly species of Bjelovar-Bilogora area by using the photographic approach and to provide baseline data for further study in the future. Butterfly and moth photographic survey was performed during 2017 in Gornje Plavnice near the Bjelovar town in the continental part of Croatia, while data regarding Odonata were collected from 2017 to 2020, also in Gornje Plavnice. During this research 100 species from 14 Lepidoptera families were identified, including three butterfly species listed in the Red Book of

Butterflies of Croatia. Most recorded butterfly species belong to the families Nymphalidae and Lycaenidae, while the most common moths were geometrid moths (Geometridae) and noctuid moths (Noctuidae). During photographic research of dragonfly fauna, ten dragonfly species were identified based on high quality photographs and high-quality videos, including one dragonfly species listed in the Red Data Book of Dragonflies of Croatia. This research presents a contribution to the knowledge of butterfly, moth and dragonfly fauna of the Bjelovar-Bilogora area but also provides additional knowledge about the possibilities of photographic research into butterflies, moths and dragonflies.

Keywords: Lepidoptera, Odonata, fauna, Gornje Plavnice, Bjelovar-Bilogora area

O-78

GENETIČKA I MORFOLOŠKA RAZNOLIKOST MASNICE *Leucos aula* (BONAPARTE, 1841)

M. Vucić¹, N. Bogutskaya², G. Klobučar¹, F. Lematt Ghrib³, B. Andelić Dmitrović¹, D. Jelić³

¹Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Natural History Museum Vienna, Burgring 7, 1100 Beč, Austrija,

³Hrvatski institut za biološku raznolikost, Maksimirска cesta 129/5, 10000 Zagreb, Hrvatska (matej.vucic@biol.pmf.hr)

Masnica, *Leucos aula*, autohtona je vrsta slatkvodnih riba koju nalazimo u vodnim tijelima jadranskog sliva od Istre u Hrvatskoj do rijeke Po u sjevernoj Italiji te u nekoliko manjih potoka i jezera u okolini Zadra. U Hrvatskoj je ova vrsta prirodno rasprostranjena u rijeci Raši na istarskom poluotoku, odakle je unesena u rijeku Pazinčicu. Ranije su zabilježene i populacije u potocima Jaruga, Baštica i Ljubač u Zadarskoj županiji. Postojeći podaci također ukazuju na pojavu ove vrste u rijeci Zrmanji i Vranskom jezeru, a nedavno je otkrivena i u jezeru Velo Blato na otoku Pagu. Cilj rada je bio usporediti genetske i morfološke karakteristike hrvatskih i talijanskih jedinki vrste *L. aula* u svrhu detekcije potencijalnih razlika. U analizu smo uključili jedinke iz cijelog areala kao i jedinke iz populacije Velo Blato na otoku Pagu, jer se za ovaj lokalitet smatra autohtonom. Rezultati genetskih i morfoloških analiza ne pokazuju značajnu razliku između proučavanih populacija. Bliska filogenetska povezanost *L. aula* s otoka Paga s kopnenim populacijama, kao i bliska filogenetska povezanost svih proučavanih populacija, ukazuju na zajedničko podrijetlo, a današnja rasprostranjenost je posljedica disperzije tijekom posljednjeg glacijalnog maksimuma. Morfološke analize su u skladu s filogenetskim podacima i ne otkrivaju značajne razlike između populacija vrste *L. aula*.

Ključne riječi: cyprinidae, distribucija, evolucijski odnosi, posljednji glacijalni maksimum, jadranski slijev

INSIGHT INTO THE GENETIC AND MORPHOLOGICAL DIVERSITY OF *Leucos aula* (BONAPARTE, 1841)

M. Vucić¹, N. Bogutskaya², G. Klobučar¹, F. Lematt Ghrib³, B. Andelić Dmitrović¹, D. Jelić³

¹University of Zagreb, Faculty of Science, Department of Biology, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia, ²Natural History Museum Vienna, Burgring 7, 1100 Vienna, Austria, ³Croatian Institute for Biodiversity, Maksimirска cesta 129/5, 10000 Zagreb, Croatia

(matej.vucic@biol.pmf.hr)

The North Italian roach, *Leucos aula*, is a native freshwater fish species in the Adriatic basin waterbodies from Istria in Croatia to the Po River in Northern Italy and smaller streams and lakes in the vicinity of Zadar, Croatia. In Croatia, this species is naturally distributed in the Raša River in the Istrian peninsula, from where it was introduced to the Pazinčica River. Also, populations of *L. aula* were previously recorded in the waterbodies Jaruga, Baštica and Ljubač in Zadar County. Existing data also indicates occurrence of this species in the Zrmanja River and Vrana Lake, while recently new population was discovered in the Velo Blato Lake on the Pag Island that is considered native for this locality. Aim of the study was to compare genetic and morphological data of Croatian and Italian *L. aula* populations.. Results of both morphological and molecular analyses show almost no difference between studied populations. Close phylogenetic relationship of *L. aula* from Pag Island to the mainland populations, as well as close phylogenetic relationship of all studied populations indicate their common ancestry and nowadays distribution is consequence of species dispersal during the Last Glacial Maximum. Morphological analyzes are consistent with phylogenetic data and do not reveal significant differences between populations of *L. aula*.

Keywords: Cyprinidae, distribution, evolutionary relationship, last glacial maximum, Adriatic basin

O-79

INTO THE WILD: ZNANSTVENA POZADINA LABORATORIJSKOG ISTRAŽIVANJA NA ŽIVOTINJAMA IZ DIVLJINE

D. Šikić, T. Gojak, M. Glogoški, S. A. Blažević, D. Lisičić

Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, Zagreb, Hrvatska (dunja.sikic@biol.pmf.hr)

Važnost rada na životinjskim modelima u biologiji je neminovna, a u fiziološkim je istraživanjima intuitivno da, kao modele, najčešće koristimo sisavce. Laboratorijske životinje generacijama žive u standardiziranim uvjetima, što minimizira utjecaje okoliša, no upravo je ta uniformnost ujedno i nedostatak pa se postavlja pitanje koristimo li potencijal nekonvencionalnih modela kralježnjaka te koje prednosti, ali i izazove, oni pružaju. Gmazovi, ptice i sisavci dijele amnionskog pretka stoga podjednako mogu pridonijeti komparativnim, evolucijskim, neurofiziološkim i drugim istraživanjima. Gušteri imaju jednostavniji mozak pogodan za proučavanje temeljnih mehanizama ponašanja pa bi se opaženo potencijalno moglo translatirati na druge vrste. Međutim, životinje treba uloviti na terenu, održavati ih i transportirati do nastambe, a uvjeti poput veličine i vrste kaveza, podloge, temperature i vlažnosti nisu propisani. Gušteri zahtijevaju i poseban sustav osvjetljenja, odnosno grijanja. Hrana podrazumijeva žive šturke (*Acheta domesticus*) koje treba nabaviti i održavati, a potrebna je i suplementacija kalcijem i vitaminima. Način rukovanja za bihevioralna istraživanja također nije propisan, dok za molekularna istraživanja, nema specifičnih reagensa. Kao rezultat našeg rada, želimo sa širom znanstvenom zajednicom podijeliti iskustvo uvođenja nekonvencionalnog životinjskog modela u istraživanje.

Ključne riječi: životinjski modeli, gušteri, fiziološka istraživanja, bihevioralna istraživanja

INTO THE WILD: THE SCIENCE BEHIND THE LABORATORY RESEARCH WITH WILD ANIMALS

D. Šikić, T. Gojak, M. Glogoški, S. A. Blažević, D. Lisičić

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, Zagreb, Croatia (dunja.sikic@biol.pmf.hr)

Work on animal models is important in biology and in physiological research. It is intuitive that, as models, we most often use mammals. Laboratory animals have been living in standardized conditions for generations, which minimizes environmental impacts, but this uniformity is also a disadvantage, so the question is whether we use the potential of unconventional vertebrate models and what advantages and challenges they provide. Reptiles, birds, and mammals share an amniotic ancestor and can therefore equally contribute to comparative, evolutionary, neurophysiological and other research. Lizards have a simpler brain suitable for studying the underlying mechanisms of behavior, so the observed potential could be translated into other species. However, animals need to be caught in the field, maintained and transported to housing. Conditions such as cage size and type, substrate, temperature and humidity are not prescribed. Lizards also require a special lighting system. The food includes live crickets (*Acheta domesticus*) that need to be procured and maintained and additional calcium and vitamin supplementation is needed. The method of handling for behavioral research is not prescribed and there are no

specific reagents for molecular research. As a result of our work, we want to share with the wider scientific community the experience of introducing an unconventional animal model into research.

Keywords: animal models, lizards, physiological research, behavioral research

O-80

INTERAKCIJE SIMPATRIČNIH VRSTA GUŠTERICA *Podarcis siculus* I *Podarcis melisellensis* TIJEKOM INSCENIRANIH BORBI

T. Gojak, M. Glogoški, D. Lisičić, D. Šikić, S. A. Blažević

Zavod za animalnu fiziologiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Agresivnost može značajno utjecati na populacijsku dinamiku. Krajnji cilj sukoba je da pobjednik osigura ekskluzivni posjed resursa. Kao rezultat toga, postoji nekoliko kriterija odlučivanja tijekom sukoba te taktika rješavanja istih, ovisno o ravnoteži između troškova borbe i predviđenih nagrada. Razlike između sudionika određuju ishode i eskalaciju agresivnih sukoba. Rasprostranjenost *Podarcis siculus* i *Podarcis melisellensis* preklapa se u istočnom Jadranu. *P. siculus* je uspješna invazivna vrsta, koja istiskuje druge nativne vrste kao što je *P. melisellensis* zbog visoke razine adaptivnog kapaciteta i sposobnosti brzog uspostavljanja populacija. Cilj studije bio je identificirati odnose između morfoloških osobina i uspjeha u agonističkim susretima među tim vrstama gušterica. U istraživanju je testirano 120 jedinki uhvaćene na tri različite lokacije središnje Dalmacije u Hrvatskoj. Gušteri su držani u kontroliranim laboratorijskim uvjetima, a razina agresivnosti u interakciji je mjerena testom otvorenog polja. Svaki je gušter dvaput prošao test, jednom intraspecijski i jednom interspecijski. Mjeren je broj agresivnih oblika ponašanja i vrijeme provedeno u centru. U intraspecijskim testovima, *P. siculus* je bio agresivniji, dok u interspecijskim nije bilo agresivnosti. Nadamo se da će daljnja istraživanja potvrditi i objasniti dobivene rezultate.

Ključne riječi: gušterice, agresivnost, bihevioralna ekologija, biološke interakcije

INTERACTION OF SYMPATRIC LIZARD SPECIES *Podarcis siculus* AND *Podarcis melisellensis* IN STAGED ENCOUNTERS

T. Gojak, M. Glogoški, D. Lisičić, D. Šikić, S. A. Blažević

Division of animal physiology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, Zagreb, Croatia

The ultimate goal of a fight is for the winner to secure exclusive possession of the resource. As a result, several conflict resolution tactics and decision criteria are present, depending on the balance between the costs of fighting and the predicted rewards. Participants' asymmetries determine the result of aggressive encounters and how far to escalate them. Population dynamics can be significantly influenced by aggression. The home ranges of *Podarcis siculus* and *Podarcis melisellensis* overlap in the eastern Adriatic. *P. siculus* is a successful invasive species, displacing native species such as *P. melisellensis* due to its high levels of adaptive capacity and ability to quickly establish populations. The study's goal was to identify relationships between

morphological traits and success in agonistic encounters between those lizard species. The study involved 120 individuals of both sexes who were caught in three different locations in Central Dalmatia, Croatia. The lizards were kept in a controlled laboratory setting. Aggression was tested using the open field test. Each lizard passed the test twice, once within species and once between species. The number of displays and attacks, as well as the time spent in the center, were measured. Contrary to our prediction, there seems to be higher aggression amongst individuals of the same species than towards individuals of the other species. Further behavioral research will hopefully enlighten this phenomenon.

Keywords: behavioural ecology, biological interaction, aggressivity, lizards

O-81

Uvodno predavanje / Introductory lecture

**OD ISTRAŽIVANJA DO DIJAGNOSTIKE – ISKUSTVO S PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKOG
FAKULTETA**

P. Korać, I. Urlić

Zavod za molekularnu biologiju, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska (petra.korac@biol.pmf.hr, inga.urlic@biol.pmf.hr)

Translacijska istraživanja se uglavnom definiraju kao prijenos znanja iz temeljnih, fundamentalnih znansoti, npr. istraživanja o specifičnoj bolesti, kroz studije na ljudima i kliničku praksi do procesa donošenja odluka. Kao jedna od vodećih regionalnih sveučilišnih institucija za znanstveni i stručni rad u području biologije, čiji je cilj „doprinos razvoju gospodarstva i društva u cjelini primijenjenim i razvojnim znanstvenim istraživanjima unutar nacionalnog trokuta znanja ostvarenog suradnjom s poslovnim sektorom, posebice industrijom i financijskim institucijama, te promicanje društvene odgovornosti i društvenih promjena, Prirodoslovno-matematički fakultet je pokrenuo uslugu molekularnih i staničnih analiza. U ovom predavanju bit će prezentirana naša iskustva vezana za administrativne procese, komunikaciju s poslovnim sektorom i zakonodavstvom. Cilj nam je ukazati na glavne prepreke i razmotriti moguća rješenja za laboratorije poput ovoga, koji povezuju akademiju i gospodarstvo.

Ključne riječi: Prirodoslovno-matematički fakultet, prijenos znanja, akademija, gospodarstvo, molekularne i stanične analize

FROM ACADEMY TO DIAGNOSTICS – FACULTY OF SCIENCE'S EXPERIENCE

P. Korać, I. Urlić

Faculty of Science, Department of Biology, University of Zagreb, Zagreb, Croatia (petra.korac@biol.pmf.hr, inga.urlic@biol.pmf.hr)

Translacijska istraživanja se uglavnom definiraju kao prijenos znanja iz temeljnih, fundamentalnih znansoti, npr. istraživanja o specifičnoj bolesti, kroz studije na ljudima i kliničku praksi do procesa donošenja odluka. Kao jedna od vodećih regionalnih sveučilišnih institucija za znanstveni i stručni rad u području biologije, čiji je cilj „doprinos razvoju gospodarstva i društva u cjelini primijenjenim i razvojnim znanstvenim istraživanjima unutar nacionalnog trokuta znanja ostvarenog suradnjom s poslovnim sektorom, posebice industrijom i financijskim institucijama“, te promicanje društvene odgovornosti i društvenih promjena, Prirodoslovno-matematički fakultet je pokrenuo uslugu molekularnih i staničnih analiza. U ovom predavanju bit će prezentirana naša iskustva vezana za administrativne procese, komunikaciju s poslovnim sektorom i zakonodavstvom. Cilj nam je ukazati na glavne prepreke i razmotriti moguća rješenja za laboratorije poput ovoga, koji povezuju akademiju i gospodarstvo.

Keywords: Faculty of Science, research translation, academy, business, molecular and cellular analyses

O-82

Uvodno predavanje / Introductory lecture

IZVORI STANICA ZA REGENERACIJU HRSKAVICE – POTRAGA ZA NAJBOLJIM

I. Urlić

Zavod za molekularnu biologiju, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (inga.urlic@biol.pmf.hr.)

Zglobna hijalina hrskavica prekriva klizne površine sinovijalnih zglobova osiguravajući nisko trenje i smanjujući mehaničko opterećenje zgloba. Hrskavica je avaskularno i aneuralno tkivo s rijetko raspoređenim stanicama i slabog regenerativnog potencijala. Čak i manja oštećenja tkiva kod odraslih osoba mogu dovesti do progresivne degeneracije i osteoartritisa, uvelike smanjujući kvalitetu života. Sadašnje metode samo donekle ublažavaju bol i poboljšavaju funkciju zgloba koljena. Razlog je nastanak fibrozne hrskavice kojoj nedostaju željena mehanička i morfološka svojstva normalne hrskavice. Stoga sadašnji klinički pristupi ne osiguravaju dugoročnu i kvalitetnu funkciju. Stanična terapija predstavlja obećavajuću strategiju za liječenje oštećenja hrskavice, sama ili u kombinaciji sa nosačima i bioaktivnim signalima. Hondrogeni potencijal može se pripisati nekoliko tipova stanica iz kategorije diferenciranih stanica, njihovih unipotentnih progenitora, kao i multipotentnih i pluripotentnih matičnih stanica. Ovaj pregled ima za cilj rasvijetliti prednosti i nedostatke svih vrsta stanica koje se trenutno razmatraju pri dizajniranju regenerativnih pristupa liječenju oštećenja hrskavice i upalnih stanja.

Ključne riječi: hondogeneza, regeneracija hrskavice, matične stanice, diferencijacija

CELL SOURCES FOR CARTILAGE REGENERATION – THE QUEST FOR THE BEST

I. Urlić

Division of Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov tg 6, 10000 Zagreb, Croatia (inga.urlic@biol.pmf.hr.)

Articular hyaline cartilage covers the gliding surfaces of synovial joints enabling low friction and damping the mechanical loads in the joint. It is an avascular and aneural tissue with low cell density and poor regenerative capacity. Even minor defects in adults could result in progressive degeneration and osteoarthritis, impeding quality of life. Current methods only relieve the pain and improve knee joint function to a certain extent. Fibrous cartilage, often produced by these methods, lacks the desired mechanical and morphological characteristics of normal cartilage and collectively, current clinical treatments do not sufficiently restore long-term function. Cell-based therapy represent a promising strategy for treatment of cartilage defects, alone or in combination with scaffolds and biological signals. Chondrogenic potential can be attributed to several cell types from the categories of differentiated cells, their unipotent progenitors, as well as multipotent and pluripotent stem cells. This overview aims to enlighten advantages and disadvantages of all cell types currently considered when designing regenerative approaches to treat cartilage defects and inflammatory conditions.

Keywords: chondrogenesis, cartilage regeneration, stem cells, differentiation

O-83

MOLEKULARNA KARAKTERIZACIJA VIRUSA EPSTEIN-BARR U HODGKINOVOM LIMFOMU I KARCINOMU NAZOFARINKSA

V. Begić^{1,2}, P. Šimičić³, M. Rozman³, S. Gašparov^{4,5}, S. Hančić⁴, S. Židovec Lepej³, P. Korač¹

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²OŠ Sesvetski Kraljevec, Školska ul. 10, 10360 Sesvete, Hrvatska (valerija.begic@skole.hr), ³Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Odjel za imunološku i molekularnu dijagnostiku, Mirogojska cesta 8, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Klinički zavod za patologiju i citologiju, KB Merkur, Zajčeva 19, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁵Zavod za patologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Šalata 3, 10000 Zagreb, Hrvatska

Virus Epstein-Barr je ubikvitarni ljudski gamaherpesvirus tip 4. Najčešće zaražava B-limfocite u kojima može uspostaviti stanje latencije i doživotno perzistirati u zaraženom organizmu. Infekcija virusom EBV može uzrokovati infektivnu mononukleozu, a povezuje se i s malignim bolestima, kao što su Burkittov limfom, Hodgkinov limfom, limfom NK- i T-stanica te karcinom nazofarinks. Stanične promjene i razvoj maligne bolesti posljedica su eksprimiranja virusnih proteina tijekom latentne i litičke faze. Na temelju polimorfizma gena EBNA2, EBNA3A, EBNA3B i EBNA3C virus EBV klasificira se u dva tipa, a najčešće na temelju raznolikosti gena LMP1 na više podtipova. S obzirom da istraživanja varijacija genoma virusa EBV može pridonijeti razumijevanju patogeneze malignih bolesti i razvoju terapijskih mehanizama, cilj ovoga istraživanja bio je odrediti podtipove virusa EBV u malignim tumorima različitog porijekla i različitog razvojnog stupnja. Istraživanje je obuhvatilo 50 uzoraka primarnog Hodgkinovog limfoma i 20 uzoraka metastaza karcinoma nazofarinks. Iz svih uzoraka izolirana je DNA i umnožen je i sekvenciran gen LMP1. Na temelju sekvenci gena LMP1 određeni su podtipovi virusa EBV. Rezultati pokazuju raspodjelu podtipova virusa EBV u malignim tumorima porijekla B-limfocita i malignim tumorima porijekla epitelnih stanica.

Ključne riječi: EBV, LMP1, genske varijante, maligni tumori

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF EPSTEIN-BARR VIRUS IN HODGKIN'S LYMPHOMA AND NASOPHARINGEAL CARCINOMA

V. Begić^{1,2}, P. Šimičić³, M. Rozman³, S. Gašparov^{4,5}, S. Hančić⁴, S. Židovec Lepej³, P. Korač¹

¹Faculty of Science, University of Zagreb, Department of Biology, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia, ²Primary School "Sesvetski Kraljevec", Sesvetski Kraljevec, Školska ul. 10, 10360 Sesvete, Croatia (valerija.begic@skole.hr), ³Department of Immunological and Molecular Diagnostics, University Hospital for Infectious Diseases "Dr. Fran Mihaljević", Mirogojska cesta 8, 10000 Zagreb, Croatia, ⁴Institute of Clinical Pathology and Cytology, Merkur University Hospital, Zajčeva 7, 10000 Zagreb, Croatia, ⁵Department of Pathology, Medical School Zagreb, University of Zagreb, Šalata 3, 10000 Zagreb, Croatia

Epstein-Barr virus is a ubiquitous human gamma herpesvirus type 4. It most commonly infects B-lymphocytes and can establish a life-long latency in an infected organism. EBV can cause infectious mononucleosis and has also been linked to malignancies such as Burkitt's lymphoma and Hodgkin's lymphoma, NK and T-cell lymphoma, as well as nasopharyngeal carcinoma. Cellular changes and disease progression are results of the expression of viral proteins during the latent and lytic phases.

Based on the EBNA2, EBNA3A, EBNA3B, and EBNA3C polymorphisms, EBV is classified into two types. Further subclassification is most often based on LMP1 variations. Because EBV genome variations can contribute to the understanding of the disease pathogenesis and the development of therapeutic mechanisms, the aim of this study is to determine EBV subtypes in malignant tumors of different origin and stage of development. This study included 50 samples of primary Hodgkin's lymphoma and 20 samples of nasopharyngeal carcinoma metastases. DNA was isolated from all tumor samples and the LMP1 gene was amplified and sequenced. EBV subtypes were determined based on LMP1 gene sequences. The results show the distribution of EBV subtypes in malignant tumors of B-cell and epithelial origin.

Keywords: EBV, LMP1, genetic variants, malignant tumors

O-84

TIPIZACIJA GENA KIR I HLA-C KAO DIJAGNOSTIČKA PRETRAGA U REPRODUKTIVNOJ IMUNOLOGIJI

M. Burek Kamenarić¹, Z. Grubić¹, K. Štingl Janković¹, M. Maskalan¹, H. Vrčić², R. Žunec¹

¹Zavod za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, Hrvatska (marija.burek@gmail.com), ²Zavod za humanu reprodukciju, Klinika za ženske bolesti i porode, Klinički bolnički centar Zagreb, Petrova 13, 10000 Zagreb, Hrvatska

Sposobnost majčinog imunološkog sustava da "tolerira" fetus koji nosi "strane" humane leukocitne antigene (HLA) oca ključna je za postizanje uspješne trudnoće. Ta se imunotolerancija postiže interakcijom receptora prirodnoubilačkih stanica sličnih imunoglobulinu (engl. killer cell immunoglobulin-like receptor, KIR) koji se nalaze na NK stanicama u maternici majke i fetalnih antigena HLA-C. Studije ukazuju na povećan rizik od komplikacija/neuspješnih trudnoća u slučajevima kada je majka nositelj KIR haplotipa AA, a fetus nosi više gena epitopne skupine HLA-C2 u odnosu na majku. Stoga, genotipizacija KIR i HLA-C majke i genotipizacija HLA-C oca mogu pomoći u predviđanju kompatibilnosti između receptora KIR majke i potencijalnih antigena HLA-C fetusa. U Centru za tipizaciju tkiva Zagreb do sada smo radili genotipizaciju KIR i HLA-C te analizirali kombinacije gena KIR i HLA-C u tri para (majka i partner) upućena iz ginekološke klinike zbog reproduktivne neplodnosti. Tipizacija gena HLA-C i KIR izvršena je metodom PCR-SSP. Niti jedan od parova nije imao nepovoljnju KIR AA haplotip/HLA-C2 epitop majka/partner kombinaciju. Zaključno, testiranje gena KIR/HLA-C moglo bi biti dodatna dijagnostička pretraga i trebala bi se implementirati u algoritam postupaka za dijagnosticiranje neplodnosti te pomoći u usmjeravanju medicinskih intervencija kako bi se postigla uspješna trudnoća.

Ključne riječi: humani lekocitni antigeni (HLA) receptori prirodnoubilačkih stanica sličnih imunoglobulinu (KIR) KIR AA haplotip NK stanice neplodnost

THE KIR AND HLA-C TYPING AS DIAGNOSTIC TOOL IN REPRODUCTIVE IMMUNOLOGY

M. Burek Kamenarić¹, Z. Grubić¹, K. Štingl Janković¹, M. Maskalan¹, H. Vrčić², R. Žunec¹

¹Tissue Typing Centre, Clinical Department for Transfusion Medicine and Transplantation Biology, University Hospital Center Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, Croatia

(marija.burek@gmail.com), ²Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital Centre Zagreb, School of Medicine, University of Zagreb, Petrova 13, 10000 Zagreb, Croatia

The ability of the mother's immune system to "tolerate" the embryo which presents "non-self" Human Lekocyte Antigens (HLA) from the father is essential to achieve a successful pregnancy. This immunotolerance is achieved through interactions between the killer-cell immunoglobuline like receptors (KIR) on maternal uterine NK cells and fetal HLA-C antigens. Recent studies have revealed an increased risk of pregnancy complications/failure in mothers with the KIR AA haplotype when the fetus has more HLA-C2 epitope group genes than the mother. So the KIR and HLA-C genotyping of the mother and HLA-C genotyping of the father can help predict compatibility between maternal uterine KIRs and potential HLA-C presented by the embryo. In the Tissue typing Centre Zagreb so far we performed KIR and HLA-C genotyping and analyze the combinations of KIR and HLA-C genes in three couples (mother and partner) referred from a gynecological clinic due to reproductive infertility. All individuals were tested for HLA-C and KIR polymorphisms using PCR-SSP method. None of the couples were deleterious KIR AA haplotype/ HLA-C2 epitope mother/partner combination. In conclusion, genetic testing for KIR/HLA-C could be additional diagnostic tool and should be implemented in algorithm of procedures for diagnosing infertility and help to direct medical interventions in order to achieve a successful pregnancy.

Keywords: Human Lekocyte Antigens (HLA, killer-cell immunoglobuline like receptors (KIR), KIR AA haplotype, NK cells, infertility

O-85

NARUŠAVANJE INTEGRITETA PLAZMATSKE MEMBRANE U STANIČAMA RAKA DOJKE I STANIČNOM MODELU EPITELNO-MEZENHIMSKE TRANZICIJE POSREDSTVOM ADAMANTANSKOG KRUNASTOG ETERA

K. Ester¹, P. Spurny², T. Šumanovac³, L. Uzelac¹, K. Majerski³, J. Ludwig², M. Kralj¹

¹Zavod za molekularnu medicinu, Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 4, 10000 Zagreb, Hrvatska (kester@irb.hr), ²Laboratory of Structural Biology and Bioinformatics, Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences, Zámek 136, 373 33 Nové Hrady, Češka, ³Zavod za organsku kemiju i biokemiju, Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska

Loša prognoza raka dojke je često povezana s rezistencijom na kemoterapiju, koja može biti uzrokovana visokim udjelom tumorskih matičnih stanica (TMS) unutar tumora. TMS imaju karakteristike subpopulacije stanica koje su prošle epitelno-mezenhimsku tranziciju (EMT), embrionalni program vezan uz invaziju i metastaziranje. Ciljanje staničnih membrana u tumorima predstavlja obećavajući pristup, zbog narušenog integriteta membrana kako u tumorima općenito, tako i u okviru EMT-a. Da bi ispitali osjetljivost stanica na perturbaciju plazmatske membrane, analizirali smo učinke adamantanom supstituiranog krunastog etera ZG613 na stanice raka dojke te stanični model EMT. Očekivani učinak spoja na membranu se temelji na lipofilnosti adamantana te ionofornoj aktivnosti krunastog etera. Analizirali smo utjecaj spoja na staničnu smrt, promjenu permeabilnosti plazmatske membrane, transport iona, te promjene u globalnoj ekspresiji gena. Spoj ZG613 uzrokuje povećanje permeabilnosti plazmatske membrane, podiže razinu unutarstaničnog kalcija te smanjuje razinu ATP-a. Ne djeluje na transport iona kalija i natrija. Sekvenciranje RNA je uputilo na promjene u procesima vezanim za održavanje integriteta staničnih

membrana. Stanični model EMT je pokazao pojačanu osjetljivost na tretman. Stanice raka dojke i stanični model EMT su pokazali osjetljivost na narušavanje integriteta plazmatske membrane posredstvom spoja ZG613.

Ključne riječi: rak dojke, tumorske matične stanice, krunasti eter s adamantanom, plazmatska membrana

DISTURBANCE OF PLASMA MEMBRANE INTEGRITY IN BREAST CANCER CELLS AND BREAST EPITHELIAL TO MESENCHYMAL TRANSITION-MODEL CELLS BY ADAMANTYL CROWN ETHER COMPOUND

K. Ester¹, P. Spurny², T. Šumanovac³, L. Uzelac¹, K. Majerski³, J. Ludwig², M. Kralj¹

¹Division of Molecular Medicine, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (kester@irb.hr), ²Laboratory of Structural Biology and Bioinformatics, Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences, Zámek 136, 373 33 Nové Hrady, Czech Republic,

³Division of Organic Chemistry and Biochemistry, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia

Breast cancer chemoresistance, which leads to poor prognosis, is often related to the high percentage of cancer stem cells (CSCs) within the tumour. CSCs overlaps with a subpopulation that have undergone epithelial to mesenchymal transition (EMT), developmental program activated during invasion and metastasis. Promising strategy to target cancer cells is to destabilise plasma/organelle membranes impaired in tumours and EMT. To test the sensitivity of breast cancer and EMT-model cells to compounds with membrane targeting potential, we assessed our proprietary adamantyl crown ether compound ZG613 as a potential breast cancer cells and breast EMT-model cells targeting agent. We postulated that ZG613 plasma membrane disruption's ability rely on adamantane hydrophobicity and crown ether ionophoric properties. We performed study of cell death, plasma membrane permeability, ion transport and RNA sequencing. Compound induces increase in plasma membrane permeability, rise in intracellular Ca++ level and depletion of ATP, but doesn't transport Na+ and K+. RNA sequencing pointed toward physical disruption of plasma membrane by ZG613. EMT-model cells showed increased sensitivity to membrane disruption and induction of death by the compound. Breast cancer cells and breast EMT-model cells are sensitive to disturbance of plasma membrane integrity by ZG613.

Keywords: breast cancer, cancer stem cells, adamantyl crown ether, plasma membrane

O-86

DONOR-SPECIFIČNA ANTITIJELA SUSTAVA HLA U TRANSPLANTACIJI BUBREGA

L. Jukić, M. Burek Kamenarić, R. Žunec

Odjel za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju
Klinički Bolnički Centar Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, Hrvatska (ljukic@kbc-zagreb.hr)

Sustav HLA (engl. Human Leukocyte Antigen) ima važnu ulogu u imunološkoj obrani domaćina zbog čega se koristi u pronalasku najpogodnijeg donora u transplantaciji organa. nepodudarnosti (MM, engl. Mismatch) u sustavu HLA između primatelja i donora utječe na preživljjenje presatka zato što pojava donor-specifičnih antitijela (DSA) de novo nakon transplantacije može povećati

rizik od akutnog i kroničnog odbacivanja organa. Epleti kao najmanje funkcionalne jedinice epitopa se u posljednjih nekoliko godina uzimaju u obzir prilikom pronalaska odgovarajućeg donora organa. Retrospektivnom analizom je utvrđena povezanost MM na lokusima HLA-A, -B, -DRB1 i -DQB1 s razvojem DSA kod 47 pacijenata s transplantiranim bubregom koji prije transplantacije nisu imali prisutna antitijela sustava HLA. Od ukupno 47 primatelja bubrega, 40% ih je razvilo DSA (DSA+) od čega je čak 63% razvilo samo antitijela HLA razreda II. MM na svim lokusima su doprinijeli razvoju lokusa specifičnih antitijela HLA, ali najveći utjecaj je uočen na lokusu HLA-DQB1 budući da je 41% primatelja koji su imali MM na HLA-DQB1 razvio DSA. Napravljena je analiza MM epleta lokusa HLA-DR/DQ pomoću alata HLAMatchmaker te je uočena statistički značajna razlika između DSA- (N=33) i DSA+ (N=14) primatelja za ukupni broj MM epleta (300 u skupini DSA-, 248 u skupini DSA+) i za vrijednost medijana (9 u skupini DSA-, 16.5 u skupini DSA+). Ovi rezultati naglašavaju važnost podudarnosti primatelja i donora u sustavu HLA razreda II.

Ključne riječi: nepodudarnosti sustava HLA razreda II, de novo DSA, epleti, HLAMatchmaker, odbacivanje organa

HLA DONOR SPECIFIC ANTIBODIES IN KIDNEY TRANSPLANTATION

L. Jukić, M. Burek Kamenarić, R. Žunec

Tissue Typing Centre, Clinical Department for Transfusion Medicine and Transplantation Biology, University Hospital Centre Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb, Croatia (ljukic@kbc-zagreb.hr)

Human leukocyte antigen (HLA) system plays the critical part of the host immune defense mechanism and is used to match organ recipient with the most appropriate donor in organ transplantation. Mismatches (MM) in HLA system have the impact on graft survival as de novo formation of donor-specific antibodies (DSA) posttransplant can increase the risk for acute and chronic rejections. Eplets, the smallest functional units of epitopes, are in recent years also being considered in recipient-donor matching. We have retrospectively analysed the relationship between MM at HLA-A, -B, -DRB1 and -DQB1 locus and the development of DSA in 47 kidney transplant patients that were negative for the presence of HLA antibodies before transplantation. Among 47 recipients, 40% developed DSA (DSA+) and among them, 63% developed only HLA class II antibodies. All HLA loci MM contributed to the development of HLA locus-specific antibodies, but HLA-DQ predominated, as 41% of recipients with HLA-DQ MM developed DSA. HLAMatchmaker analysis for HLA-DR/DQ eplet MM showed statistically significant difference between DSA- (N=33) and DSA+ recipients (N=14) for a total number of MM eplets (300 in DSA- vs 248 in DSA+) and for a median value (9 in DSA- vs 16.5 in DSA+). The results are indicating the importance of HLA-class II matching in kidney transplantation.

Keywords: HLA class II mismatch, *de novo* DSA, eplets, HLAMatchmaker, organ rejection

O-87

UTJECAJ DERIVATA VITAMINA C NA TUMORSKE MATIČNE STANICE

M. Ledinski¹, K. Caput Mihalić¹, I. Marić², P. Peharec Štefanić¹, I. Ladan³, M. Gotić⁴, I. Urlić¹

¹Zavod za molekularnu biologiju, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska (maja.ledinski@biol.pmf.hr), ²Laboratorij za radijacijsku kemiju i dozimetriju, Zavod za kemiju materijala, Institut "Ruđer Bošković", Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Odjel za dodatke prehrani i biološki aktivne tvari, Služba za zdravstvenu ekologiju, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Rockefellerova 7, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Laboratorij za molekulsku fiziku i sinteze novih materijala, Zavod za fiziku materijala, Institut "Ruđer Bošković", Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska

Iako je vitamin C prvenstveno otkriven kao antiskorbutski faktor, od njegove izolacije provedeno je više istraživanja kako bi se utvrdilo može li se koristiti u terapiji tumora. Međutim, razlike u primjeni vitamina C su dovele do oprečnih rezultata i nepovjerenja u njegovu sposobnost antitumorskog djelovanja. Također, njegova slaba stabilnost pri izlaganju svjetlosti, povišenoj temperaturi i kisiku otežava njegovu primjenu. Zbog toga smo sintetizirali čvrste lipidne nanočestice u koje smo ugradili askorbil palmitat, stabilniji lipidni derivat askorbinske kiseline. Po sintezi, nanočestice smo karakterizirali mjerenjem veličine, polidisperziteta (DLS) i zeta potencijala korištenjem (ELS), a i morfologiju evaluirali na TEM-u. Pratili smo ulazak nanočestica s ugrađenom fluorescentnom lipidnom bojom coumarin-6 u stanice tokom 48h. Kako bismo usporedili citotoksičnost askorbata dopremljenog nanočesticama i u slobodnom obliku, proveli smo MTT testove na tumorskim matičnim stanicama (engl. *cancer stem cells*, CSC) izoliranim iz uzorka sarkoma. Po odabiru optimalnog izvora askorbata, kvantitativnom lančanom reakcijom polimeraze smo ispitali njegov učinak na ekspresiju markera diferencijacije CSC kao mogući mehanizam citotoksičnog djelovanja. Ovim istraživanjem želimo rasvijetliti djelovanje askorbata na matične stanice sarkoma te tako doprinijeti u razumijevanju ove kontroverzne teme.

Ključne riječi: askorbinska kiselina; tumorske matične stanice; nanočestice; antitumorsko djelovanje

TARGETING OF TUMOR STEM CELLS WITH VITAMIN C DERIVATIVES

M. Ledinski¹, K. Caput Mihalić¹, I. Marić², P. Peharec Štefanić¹, I. Ladan³, M. Gotić⁴, I. Urlić¹

¹Division of Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia (maja.ledinski@biol.pmf.hr), ²Radiation Chemistry and Dosimetry Laboratory, Division of Materials Chemistry, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia, ³Department for Food Supplements and Biologically Active Compounds, Division for environmental health, Croatian institute of public health, Rockefeller street 7, 10000 Zagreb, Croatia, ⁴Laboratory for Molecular Physics and Synthesis of New Materials, Division of Materials Physics, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia

Although vitamin C was first discovered as an antiscorbutic factor, since its isolation multiple types of research have been conducted to explore whether it can be used in tumor therapy. However, differences in its application led to contrary results and suspicion of its antitumor effect. Also, low stability on light, increased temperature and oxygen limit its application. To overcome this, we have synthesized solid lipid nanoparticles loaded with ascorbyl palmitate, a more stable lipid derivative of ascorbic acid. Upon synthesis, we have characterized nanoparticles by measuring their size, polydispersity (DLS) and zeta potential (ELS) and evaluated their morphology using TEM. We have followed the cellular uptake of nanoparticles loaded with

fluorescent lipid dye coumarin-6 during 48h. In order to compare the cytotoxicity of ascorbate when delivered by nanoparticles and in free form, we have conducted MTT tests on cancer stem cells isolated from sarcoma samples. Upon choosing optimal ascorbate source, using qPCR we investigated its influence on expression of differentiation markers as possible mechanism of its cytotoxicity. With this research we want to elucidate the effect ascorbate has on sarcoma stem cells and thusly contribute to better understanding of this controversial topic.

Keywords: ascorbic acid, cancer stem cells, nanoparticles, antitumor effect

O-88

IMUNIZACIJA HLA U TRANSPLANTACIJI BUBREGA - USPOREDBA REZULTATA DVJE METODE

N. Martinez, M. Batarelo, M. Burek Kamenarić, R. Žunec

Odjel za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, Hrvatska (nmartine@kbc-zagreb.hr)

Određivanje prisutnosti i specifičnosti antitijela HLA imunološka je pretraga u pripremi bolesnika za transplantaciju organa. Imunizacija HLA testira se metodom limfocitotoksičnosti posredovane komplementom (CDC) i metodom čvrste faze s kuglicama obloženima antigenima HLA (Luminex). Cilj rada bio je usporediti rezultate obje metode u jednom kvartalnom testiranju 270 bolesnika na listi čekanja za transplantaciju bubrega. Negativan rezultat s obje metode imalo je 162 (60 %) bolesnika. Pozitivan rezultat imalo je 108 bolesnika: 48 (18%) s obje metode, 57 (21%) Luminex metodom, 3 (1%) CDC metodom. Sveukupno, metodom CDC imunizacija HLA dokazana je kod 51 (19%) bolesnika, a metodom Luminex kod 105 (39%) bolesnika. Visoka imuniziranošć je određena za 22 (8%) bolesnika metodom CDC, a za 78 (29%) bolesnika metodom Luminex. Metodom CDC kod 48 bolesnika određena su isključivo antitijela razreda I, dok su metodom Luminex određena antitijela HLA razreda I kod 25 bolesnika, razreda II kod 13 bolesnika, dok je 70 bolesnika imalo antitijela razreda I i razreda II. Antitijela IgM dokazana su isključivo metodom CDC i to kod ukupno 10 bolesnika, kod njih 7 uz prisustvo antitijela IgG, dok je kod 3 bolesnika bila isključivo riječ o IgM antitijelima. Luminex metoda je znatno osjetljivija i preciznija metoda određivanja prisutnosti i specifičnosti antitijela HLA, ali samo kombinacija obje metode omogućava određivanje IgM i IgG antitijela HLA razreda I (HLA-A,B,C) i razreda II (HLA-DR,DQ,DP).

Ključne riječi: HLA, senzibilizacija, transplantacija bubrega

HLA IMMUNIZATION IN KIDNEY TRANSPLANTATION - COMPARISON OF RESULTS OBTAINED BY TWO METHODS

N. Martinez, M. Batarelo, M. Burek Kamenarić, R. Žunec

Tissue Typing Centre, Clinical Department for Transfusion Medicine and Transplantation Biology, University Hospital Centre Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, Croatia (nmartine@kbc-zagreb.hr)

Determination of HLA antibodies presence and specificity is an immunological test used for patients awaiting organ transplantation. HLA immunization is detected by complement-mediated lymphocytotoxicity method (CDC) and solid phase method (Luminex). Aim of this study was to compare results obtained by both methods for 270 patients on the kidney transplantation waiting

list. Negative result was shown by both methods for 162 (60%) patients. Positive result was obtained for 108 patients: both methods tested positive for 48 patients (18%), 57 patients (21%) were positive only with Luminex method and for 3 patients (1%) antibodies were detected only by CDC method. HLA immunization by CDC was demonstrated in 51 (19%) patients and by Luminex in 105 (39%) patients. High immunization was determined for 22 (8%) patients by CDC method, and for 78 (29%) patients by Luminex method. CDC method detected only HLA class I antibodies in 48 patients. Conversely, Luminex method detected only HLA class I antibodies in 25 patients, HLA class II antibodies in 13 patients, while 70 patients had both HLA class I and class II antibodies. IgM antibodies were detected by CDC method in a total of 10 patients out of whom 7 patients also demonstrated the presence of IgG antibodies. Luminex method is a much more sensitive and accurate method for determining presence and specificity of HLA antibodies, but only a combination of both methods allows determination of IgM and IgG HLA class I and II antibodies.

Keywords: HLA, sensitisation, kidney transplantation

O-89

RAZNOLIKOST ALELA I HAPLOTIPOVA HLA U HRVATSKOJ

M. Maskalan, Z. Grubić, K. Štingl Janković, M. Burek Kamenarić, R. Žunec

Odjel za tipizaciju tkiva, Klinički zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, Hrvatska (mmaskala@kbc-zagreb.hr)

Istraživanja raspodjele alela glavnog sustava tkivne snošljivosti (engl. Human Leukocyte Antigen, HLA) provode se u svrhu populacijskih istraživanja kao i u programu transplantacije krvotvornih matičnih stanica (TKMS) od HLA podudarnog nesrodnog davatelja. Ovim radom obuhvaćena je skupina od 10 000 zdravih nesrodnih dobrovoljnih davatelja iz Hrvatskog registra dobrovoljnih davatelja krvotvornih matičnih stanica (HRDDKMS). Svim ispitnicima analizirani su lokusi HLA-A, -B, -C i -DRB1 jednom od molekularnih metoda. Na lokusu HLA-A uočeno je ukupno 49 različita alela, na lokusu HLA-B 92 alela, na lokusu HLA-C 36 različitih alela, dok je na lokusu HLA-DRB1 otkriveno 56 alela. Najčešći alel na lokusu HLA-A bio je A*02:01 (29,1%), na lokusu HLA-B, B*51:01 (10,5%), na lokusu HLA-C najčešći alel bio je C*07:01 (15,8%), a na lokusu HLA-DRB1 alel DRB1*03:01 (10,6%). Najčešći haplotip u ispitivanoj skupini bio je HLA-A*01:01~C*07:01~B*08:01~DRB1*03:01 (4,7%). Usporedba učestalosti alela i haplotipova HLA pokazala je neke specifičnosti naše populacije u odnosu na druge populacije europskog porijekla. Rezultati rada ističu važnost postojanja manjih i srednjih registara dobrovoljnih davatelja KMS čime se doprinosi prepoznavanju raznolikosti alela i haplotipova HLA. Također, služe unaprijeđenju postupka pronalaska najboljeg mogućeg davatelja za pojedinog bolesnika u programu TKMS.

Ključne riječi: HLA, transplantacija krvotvornih matičnih stanica, aleli i haplotipovi HLA

HLA ALLELE AND HAPLOTYPE DIVERSITY IN CROATIA

M. Maskalan, Z. Grubić, K. Štingl Janković, M. Burek Kamenarić, R. Žunec

Tissue Typing Centre, Clinical Department for Transfusion Medicine and Transplantation Biology, University Hospital Centre Zagreb, Kišpaticeva 12, 10000 Zagreb, Croatia (mmaskala@kbc-zagreb.hr)

Investigation of allele and haplotype distribution of genes pertaining to Human Leukocyte Antigen complex (HLA) is relevant for population studies but also in hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) from HLA matched unrelated donor. This study encompassed 10 000 healthy unrelated volunteer donors from Croatian Bone Marrow Donor Registry (CBMDR). All subjects were analyzed for HLA-A, -B, -C and -DRB1 loci by one of the PCR based methods. A total of 49 different alleles on HLA-A locus was observed, 92 alleles on HLA-B locus, 36 alleles on HLA-C locus and 56 alleles on HLA-DRB1 locus. Most frequent allele for HLA-A locus was A*02:01 (29,1%), for HLA-B locus most frequent was B*51:01 (10,5%), HLA-C*07:01 (15,8%) was the most frequent allele on HLA-C locus while for HLA-DRB1 most frequently observed allele was DRB1*03:01 (10,6%). Most common haplotype was HLA-A*01:01~C*07:01~B*08:01~DRB1*03:01 (4,7%). Comparison of allele and haplotype frequencies with other populations of European ancestry showed some specificities of our population. Obtained results emphasize importance of existence of small and medium size registries of HSC donors due to their contribution to HLA allele and haplotype diversity identification. Finally, data provided by this study will serve to improve the procedure of finding the best donor for a given patient in HSCT program.

Keywords: HLA, hematopoietic stem cell transplantation, HLA alleles and haplotypes

O-90

UTJECAJ LUTEOLINA I KRIZINA NA PROLIFERACIJU I OKSIDATIVNI STRES STANICA OSTEOSARKOMA, GLIOBLASTOMA I HUMANIH EMBRIONALNIH STANICA BUBREGA

K. Ostojić¹, I. Urlić¹, S. Kraljević-Pavelić²

¹Zavod za molekularnu biologiju, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (karla.ostojic@biol.pmf.hr), ²Katedra za temeljne medicinske znanosti, Fakultet zdravstvenih studija, Sveučilište u Rijeci, Ul. Viktora cara Emina 5, 51000 Rijeka, Hrvatska

Luteolin i krizin biološki su aktivni spojevi iz skupine flavonoida, a nalaze su u različitom voću, povrću te začinskom bilju i začinima. Pripisuje im se blagotvorno djelovanje na ljudsko zdravlje zbog širokog spektra biološkog učinka. Protutumorsku aktivnost ostvaruju djelujući na procese oksidativnog stresa i redoks ravnotežu u stanicama. Kao antioksidansi mogu smanjiti stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) i time utjecati na smanjenje malignih procesa, a kao prooksidansi mogu povećati stvaranje ROS, što je toksično za tumorske stanice. Uloga slobodnih radikala utvrđena je u patogenezi mnogih bolesti uključujući i malignih oboljenja. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati učinke luteolina i krizina kao potencijalnih inhibitora rasta tumorskih stanica osteosarkoma (U2OS) i glioblastoma (A125) u uvjetima *in vitro*. Utjecaj spojeva na vijabilnost stanica ispitana je u rastućim koncentracijama spojeva (20, 40, 60, 80, 100 µM) tijekom tretmana od 24, 48 i 72h. U istim je stanicama izmjerena razina oksidativnog stresa nakon 24h tretmana analizom razina ukupnog ROS u stanicama. Rezultati ukazuju na to kako djelovanje luteolina i krizina, na rast stanica i na razine ROS u U2OS i A125 ovise o koncentraciji i vremenu tretmana. Oba spoja imala su selektivni učinak na rast testiranih tumorskih stanica U2OS i A125, u odnosu na netumorske stanice HEK293 što se može povezati s indukcijom molekula ROS čije su razine proporcionalno korelirale sa smanjenom staničnom vijabilnošću.

Ključne riječi: flavonoidi, luteolin, krizin, reaktivni kisikovi spojevi, oksidativni stres, stanična linija U2OS, stanična linija A125

LUTEOLIN AND CHRYSIN EFFECT ON VIABILITY AND OXIDATIVE STRESS ON OSTEOSARCOMA, GLOBLASTOMA AND HUMAN EMBRIONIC KIDNEY CELLS

K. Ostojić¹, I. Urlić¹, S. Kraljević-Pavelić²

¹Division of Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov tg 6, 10000 Zagreb, Croatia (karla.ostojic@biol.pmf.hr), ²Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Health Science, University of Rijeka, Ul. Viktora cara Emina 5, 51000 Rijeka, Croatia

Luteolin and chrysin are biologically active compounds belonging to the group of flavonoids, and can be found in various fruits, vegetables, herbs and spices. They have a number of beneficial properties to the human health due to a wide range of biological effects. Antitumor effects are attributed to their ability to act on the redox status of the cell. As antioxidants they can reduce the formation of reactive oxygen species (ROS) and thus counteract malignant processes, while as prooxidants they can increase the levels of ROS that are consequently toxic for the tumor cell. The role of free radicals has previously been established in the pathogenesis of many diseases, including malignancies. The aim of this study was to examine the antiproliferative effects of luteolin and chrysin on osteosarcoma (U2OS) and glioblastoma (A125) cell lines. The effects of these compounds on cell viability was examined in a dose-dependent set-up where increasing concentrations from 20, 40, 60, 80 up to 100 µM were used for cell treatment over 24, 48 and 72h. In addition, oxidative stress levels were measured over 24h. The results indicate that both components effects on the cell viability depend on concentration and time of treatment. Components have shown selective antitumor effects on target tumor cells U2OS and A125, in comparison with nonmalignant cells HEK293, and the observed antiproliferative effect correlates with formation of ROS.

Keywords: flavonoids, luteolin, chrysin, reactive oxygen species, oxidative stress, cell line U2OS, cell line A125

O-91

RAZNOLIKOST LMP-1 GENA VIRUSA EPSTEIN-BARR

M. Rozman, K. Bodulić, S. Židovec Lepej

Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Mirogojska cesta 8, 10000 Zagreb, Hrvatska (marijarozman114@gmail.com)

Virus Epstein-Barr (EBV) pripada porodici Herpesviridae. Određene faze njegove latencije karakterizirane su ekspresijom onkogena LMP-1 čiji protein oponaša CD40 na limfocitima B. Šest varijanti LMP-1 je definirano mutacijama u C-terminalnoj regiji: China1, China2, North Carolina, Alaskan, Mediterranean s delecijom i Mediterranean bez delecije. Cilj ovog istraživanja bila je analiza raznolikosti LMP-1 u djece s akutnom EBV infekcijom poznatom kao infektivna mononukleoza (IM). Korišteni su uzorci periferne krvi 34 djece oboljele od IM. C-terminalni kraj je umnožen PCR-om i analiziran Sangerovim sekvenciranjem. Dobivene sekvence uspoređene su s referentnom sekvencom i analizirane bioinformatičkim alatima poravnajanja. Ukupno 14/34

sekvenci pripadale su divljem tipu EBV-a, 6/34 podtipu North Carolina, a 3/34 podtipu Mediterranean bez delecije. 3/34 ispitanika imalo je koinfekciju divljim tipom i North Carolina dok su 7/34 ispitanika imala koinfekciju divljim tipom i China1. Prema Mann-Whitney U testu koncentracija C-reaktivnog proteina bila je veća kod koinfekcije LMP-1 varijantama (medijan 13 mg/L) u usporedbi s infekcijom jednom varijantom (medijan 9,25 mg/L, p=0,048). Omjer CD4+/CD8+ bio je veći kod koinfekcije (0,3) u usporedbi s infekcijom jednom varijantom (0,2; p=0,05). Rezultati ovog istraživanja pokazali su raznolikost gena LMP-1 u IM te ukazali na povezanost različitih varijanti LMP-1 s parametrima imunosnog odgovora.

Ključne riječi: Epstein-Barr, LMP-1, latencija, koinfekcija

DIVERSITY OF LMP1 GENE IN EPSTEIN-BARR VIRUS

M. Rozman , K. Bodulić, S. Židovec Lepej

University Hospital for Infectious Diseases "Dr. Fran Mihaljević", Mirogojska cesta 8, 10000 Zagreb, Croatia (marijarozman114@gmail.com)

Epstein-Barr virus (EBV) belongs to the Herpesviridae family. Its certain latency stages are characterised by the expression of an LMP-1 oncogene which protein imitates CD40 on B-lymphocytes. Six LMP-1 variants are defined by mutations in C-terminal region: China1, China2, North Carolina, Alaskan, Mediterranean with deletion and Mediterranean without deletion. The aim of this study was to analyse diversity of LMP-1 polymorphisms in pediatric patients with acute state of EBV infection represented as infectious mononucleosis (IM). Peripheral blood samples, from 34 children with IM were used. C-terminal region was amplified by PCR and analysed with Sanger sequencing. Obtained sequences were compared with a reference sequence and analysed with bioinformatics alignment tools. In total 14/34 sequences were wild type, 6/34 North Carolina and 3/34 Mediterranean without deletion. 3/34 patients had coinfection with wild type and North Carolina while 7/34 had coinfection with wild type and China1. According to the Mann-Whitney U test, concentration of C-reactive protein was higher in coinfection of LMP-1 variants (median 13 mg/L) compared to the infection with a single variant (median 9,25 mg/L, p=0,048). The ratio of CD4+/CD8+ was higher in coinfection (0,3) compared with single variant (0,2, p=0,05). The results showed LMP-1 diversity in IM and association between different LMP-1 variants and parameters of immunological response.

Keywords: Epstein-Barr, LMP-1, latency, coinfection

O-92

ODREĐIVANJE STATUSA KIMERIZAMA KOD BOLESNIKA S DVOSTRUOKOM TRANSPLANTACIJOM KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA

K. Štingl Janković¹, M. Maskalan¹, M. Burek Kamenarić¹, R. Serventi-Seiwerth², N. Duraković², R. Vrhovac², R. Žunec¹, Z. Grubić¹

¹Odjel za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb, Hrvatska (katarinastingl@gmail.com), ²Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb, Hrvatska

Određivanje statusa kimerizma pruža korisne informacije o učinkovitosti transplantacije krvotvornih matičnih stanica (TKMS) u liječenju brojnih hematoloških bolesti i poremećaja. Analizu kratkih uzastopnih ponavljanja, kao metodu izbora za ovu pretragu, su u posljednje vrijeme zamijenile metode koje se temelje na lančanoj reakciji polimerazom u stvarnom vremenu uslijed svoje veće osjetljivosti. Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti važnost zadržavanja analize kratkih uzastopnih ponavljanja u slučajevima kada prva TKMS ne postigne željeni učinak te je potrebno provesti drugu i to s drugim davaljeljem. U istraživanje je uključeno 17 bolesnika čiji su uzorci prije TKMS, uzorci njihovih davaljelja kao i uzorak nakon TKMS analizirani za 21 biljeg uz pomoć komercijanog seta (Aneufast™ QF-PCR Kit, Genomed Biotech, Harrow, UK). U 16 slučajeva je u uzorku nakon transplantacije uočen samo drugi davaljelj, dok je u uzorku jednog bolesnika uočen i prvi i drugi davaljelj (36%:64%). Ovaj rezultat ukazuje na važnost uporabe analize kratkih uzastopnih ponavljanja u određivanju statusa kimerizma u svim slučajevima kada u ispitivanom uzorku postoji mogućnost prisutnosti više od dva različita genotipa. Za razliku od prisustva/odsustva insercija i delecija koje se koriste kao biljezi u metodama temeljenim na lančanoj reakciji polimerazom u stvarnom vremenu, kratka uzastopna ponavljanja pružaju dostatnu raznovrsnost za pouzdano razlikovanje svih genotipova u uzorku bolesnika nakon TKMS.

Ključne riječi: transplantacija krvotvornih matičnih stanica, kimerizam, kratka uzastopna ponavljanja

ECOND HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION WITH A DIFFERENT DONOR: IMPLICATIONS FOR CHIMERISM ANALYSIS

K. Štingl Janković¹, M. Maskalan¹, M. Burek Kamenarić¹, R. Serventi-Seiwerth², N. Duraković², R. Vrhovac², R. Žunec¹, Z. Grubić¹

¹Tissue typing Centre, Clinical Department for Transfusion Medicine and Transplantation Biology, University Hospital Centre Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, Croatia (katarinastingl@gmail.com), ²Division of Hematology, Department of Internal Medicine, University Hospital Centre Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, Croatia

Chimerism analysis provides valuable information about the efficacy of the hematopoietic stem cell (HSC) transplantation as treatment for various hematologic diseases and disorders. The method of choice for this analysis has recently shifted from short tandem repeat (STR) loci detection towards real-time PCR based methods due to their higher sensitivity. The present study was undertaken in order to evaluate whether the STR analysis should remain a preferred choice in cases when a patient receives a second HSC transplant from a different donor. The study included 17 patients for whom the first transplantation did not achieve favourable outcome, so a second transplantation, with a different donor, was performed. Samples of patient before HSCT, both donors and patient after second HSCT were amplified for 21 STR markers using a commercial kit (Aneufast™ QF-PCR Kit, Genomed Biotech, Harrow, UK). Only the second donor was present in 16 cases, while in the remaining one case, both the first and the second donor were detected in a 36% vs. 64% ratio in the post HSCT sample. This case supports the use of STR markers in chimerism evaluation in all cases when there is a possibility that more than two distinct genotypes are present in tested sample as is the case with second HSCT. As opposed to biallelic insertion/deletion polymorphisms analysed in real-time PCR based protocols, STR markers provide sufficient polymorphism to reliably distinguish all genotypes present in post HSCT sample.

Keywords: hematopoietic stem cell transplantation, chimerism, short tandem repeats

4. SIMPOZIJ EDUKACIJE BIOLOGIJE 4nd BIOLOGY EDUCATION SYMPOSIUM

O-93

BUBO MATERIJALI U POUČAVANJU UČENIKA 4. RAZREDA GIMNAZIJE

V. Ančić¹, B. Davda Sirovina², M. Jarnević³, Z. Pongrac Štimac⁴

¹Srednja škola Pakrac, Bolnička ulica 59, 34550, Pakrac, Hrvatska (vesna.ancic12@gmail.com), ²II. gimnazija, Zagreb, Križanićeva ulica 4, 10000 Zagreb, Hrvatska (bojanadavda@gmail.com), ³IV. gimnazija, Zagreb, Ulici Žarka Dolinara 9, 10000 Zagreb, Hrvatska (mjarn1304@gmail.com), ⁴V. gimnazija, Zagreb, Klaićeva ulica 1, 10000 Zagreb, Hrvatska (zrinkaps@gmail.com)

U projektu Učenje biologije u epidemiološki prilagođenom istraživačkom okruženju načinjeni su BUBO materijali za poučavanje učenika 4. razreda gimnazije. Za koncept A - energetski učinci prehrane živih bića, razvijena je tema Prehrana prilagođena uvjetima u kojima žive pojedine ljudske populacije na Zemlji. Simuliranim istraživačkim radom učenici upoznaju prehranu ljudi različitih klimatskih regija i analiziraju podmiruje li njihove energetske potrebe. Upoznaju kako je uporabom genetičkog inženjerstva moguće izmijeniti genome organizama i proizvesti jedinke poboljšanog nutritivnog sastava. Za koncept B - prilagodbe živih bića kao posljedice evolucije, razvijena je tema Povijesna veza između prehrane i podneblja u kojem žive određene populacije. Nastavak je teme koncepta A te učenici istražuju utjecaj migracija i podneblja na razvoj kulture i evoluciju čovjeka. Uz virtualnu terensku nastavu učenici upoznaju staništa deseteronožnih rukova, biologiju vrsta, razloge ugroženosti i mјere zaštite. Razlikovat će slatkovodne deseteronožne rukove dihotomskim ključem, a pretraživanjem NCBI banke gena postupkom „blastanja“ mtDNA sekvenci određivat će znanstvena imena. Uređivanjem filogenetskog stabla zaključit će o njihovim filogenetskim odnosima. Analiza odgovora učenika doprinijela je unapređenju kvalitete BUBO materijala, pokazala razumijevanje sadržaja i ostvarenost ishoda triju tema. Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom (IP-CORONA-2020-12-3798).

Ključne riječi: energetski učinci prehrane živih bića, prilagodbe živih bića kao posljedica evolucije, slatkovodni rukovi

BUBO MATERIALS IN TEACHING 12TH GRADE HIGH SCHOOL STUDENTS

V. Ančić¹, B. Davda Sirovina², M. Jarnević³, Z. Pongrac Štimac⁴

¹High school Pakrac, Bolnička ulica 59, 34550, Pakrac, Croatia (vesna.ancic12@gmail.com), ²2nd Gymnasium, Zagreb, Križanićeva ulica 4, 10000 Zagreb, Croatia (bojanadavda@gmail.com), ³4th Gymnasium, Zagreb, Ulica Žarka Dolinara 9, 10000 Zagreb, Croatia (mjarn1304@gmail.com), ⁴5th Gymnasium, Zagreb, Klaićeva ulica 1, 10000 Zagreb, Croatia (zrinkaps@gmail.com)

In the project Learning Biology in an Epidemiologically Adapted Research Environment, BUBO materials were made for teaching 12th grade high school students. In concept A - energy effects of the diet of living beings, the materials for the topic Nutrition adapted to the conditions in which certain human populations on Earth live have been developed. Through research, students get to know the nutrition of people from different climate regions and analyze whether it meets their energy needs. They learn how the use of genetic engineering can change the genomes of organisms and produce individuals with improved nutritional composition. In concept B - adaptation of living

beings as a consequence of evolution, the materials for the topic Historical connection between diet and climate in which certain populations live have been developed. It is a continuation of the theme in the concept A, and students get to explore the impact of migration and climate on the development of culture and human evolution. With virtual field lessons, students get to know the habitats of decapod crustaceans, the biology of the species, causes of endangerment, and conservation measures. Using mtDNA sequences, provided to them, they are going to search the NCBI gene bank using the BLAST procedure. This will provide them with a scientific names for the crabs. Arranging a phylogenetic tree will allow them to differentiate and conclude about their phylogenetic relationship. The analysis of students' responses contributed to the improvement of the quality of BUBO material, showed a understanding of the content and the achievement of the outcomes of the three topics. This work has been supported in part by Croatian Science Foundation under the project (IP-CORONA-2020-12-3798).

Keywords: energy effects of living beings, adaptations of living beings as a result of evolution, freshwater crabs

O-94

PRIMJERI POUČAVANJA ODABRANIH KONCEPATA IZ EKOLOGIJE

F. Babić¹, K. Brčić Đapić², R. Halapir Franković³

¹Gimnazija A. G. Matoša, Vjenac k. A. Stepinca 11, 31400 Đakovo, Hrvatska, ²Nadbiskupska klasična gimnazija, Voćarska 106, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³V. gimnazija, Zagreb, Klaićeva ulica 1, 10000 Zagreb, Hrvatska (fbabic.bio@gmail.com, kdjapic1@gmail.com, romana.halapir@gmail.com)

Tijekom školske godine 2021./2022. osmišljena je platforma za učenje BUBO (Baza Učenja Biologije uz Online podršku) na kojoj su sadržani kurikulumi, nastavni materijali, podrška učiteljima i interaktivni zadatci za učenike 1. razreda gimnazije. Materijali se temelje na istraživačkom i iskustvenom učenju, te su dizajnirani prema visoko interaktivnom modelu ASIO koji je usmjeren na učenika (ASIO model - Aktivnosti Simuliranog Istraživačkog Otkrivanja). Uz koncept Energetski učinci prehrane živih bića – pripremljeni su materijali za temu Protjecanje energije u ekosustavu, a uz koncept Prilagodbe živih bića kao posljedice evolucije – materijali Prilagodbe organizama na specifične uvjete okoliša. Učenicima ovoga uzrasta ti su biološki koncepti teško razumljivi te su zahtjevni za usvajanje, stoga su predstavljeni izazov u poučavanju. Cilj je da učenici praktičnim radom, promatranjem organizama na njihovim staništima ili virtualnom terenskom nastavom usvoje navedene koncepte - i to uspješnije nego u tradicionalnom poučavanju. Učenici su putem videozapisa upoznali listopadnu šumu zimi, biljne vrste toga ekosustava i njihove prilagodbe staništu. Za primjere prilagodbi u životinja korištene su autohtone vrste koje učenici dobro poznaju, ali su opisane posebno zanimljive prilagodbe koje se rjeđe spominju. U zadatcima koncepta A učenici su analitičkim i istraživačkim pristupom, na novim primjerima iz neposrednog okoliša, razvijali koncepte o izmjeni tvari i pretvorbi energije.

Ključne riječi: BUBO, ASIO, 1. r. gimnazije, ovisnost odnosa biomase i protoka energije, prilagodba organizama

EXAMPLES OF TEACHING SELECTED CONCEPTS FROM ECOLOGY

F. Babić¹, K. Brčić Đapić², R. Halapir Franković³

¹Gymnasium A. G. Matoša, Vrijenac k. A. Stepinca 11, 31400 Đakovo, Croatia, ²Archbishop's Classical Gymnasium, Voćarska 106, 10000 Zagreb, Croatia, ³5th Gymnasium, Zagreb, Klaićeva ulica 1, 10000 Zagreb, Croatia (fbabic.bio@gmail.com, kdjapic1@gmail.com, romana.halapir@gmail.com)

During the 2021/2022 school year the learning platform BUBO (Biology Learning Base with Online Support) was designed, which contains a curriculum, teaching materials, support for teachers and interactive tasks for 1st grade high school students. The materials are based on inquiry and experiential learning, and are designed according to the highly interactive, learner-centered ASIO model (ASIO model-Simulated Research Discovery Activities). In addition to the concept Energy effects of nutrition of living beings - materials were prepared for the topic Energy flow in the ecosystem, and in addition to the concept Adaptation of living beings as consequences of evolution - materials Adaptation of organisms to specific environmental conditions. For students of this age, these biological concepts are difficult to understand and are demanding to acquire, therefore they represented a challenge in teaching. The goal is for students to adopt the mentioned concepts through practical work, observation of organisms in their habitats or virtual field teaching - more successfully than in traditional teaching. Through the video, the students got to know the deciduous forest in winter, the plant species of that ecosystem and their adaptations to the habitat. For examples of adaptations in animals, autochthonous species that the students know well were used, but particularly interesting adaptations that are less often mentioned are described. In the tasks of concept, A, students developed concepts about the exchange of matter and energy conversion using an analytical and research approach, using new examples from the immediate environment.

Keywords: BUBO, ASIO, 2nd grade of high school, interdependence of biomass and energy flow, adaptation of organisms

O-95

RADNA BILJEŽNICA KAO PODRŠKA OSTVARIVANJU ODGOJNO-OBRAZOVNIH ISHODA

V. Begić¹, P. Korac²

¹OŠ Sesvetski Kraljevec, Školska ul. 10, 10360 Sesvete, Hrvatska (valerija.begic@skole.hr),

²Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (petra.korac@biol.pmf.hr)

Cilj rada je ukazati na prednost korištenja radne bilježnice na nastavi Prirode i Biologije za ostvarivanje odgojno-obrazovnih ishoda. Analiza je provedena korištenjem bilježaka uz rad s učenicima i refleksije nastavnika te anketnog upitnika provedenog među učenicima osnovne škole koji imaju iskustvo korištenja radne bilježnice kao pomagala za rad na satu. Za analizu su izdvojeni zadaci kojima je moguće potaknuti učenike na samostalno istraživanje i refleksiju, za koje se pokazalo da su usklađeni s nastavnim procesom i vremenskim okvirom nastavnog sata. Rezultati su pokazali da radna bilježnica koncipirana za poticanje aktivnog učenja, koja uključuje različite vrste zadataka, ne samo one za uvježbavanje usvojenih nastavnih sadržaja, već i one koji razvijaju samostalnost, prirodoznanstvene vještine i kreativno mišljenje, značajno utječe na razvoj konceptualnog razumijevanja biologije. Takva radna bilježnica treba sadržavati zadatke za istraživanje, zadatke viših kognitivnih razina i zadatke različitih tipova i težine za usustavljanje

obrađenih nastavnih sadržaja. Kako bi radna bilježnica bila podrška ostvarivanju odgojno-obrazovnih ishoda nužno ju je koristiti kao radni materijal za učenje tijekom poučavanja, a ne kao sredstvo ponavljanja u vidu domaće zadaće.

Ključne riječi: učenje biologije, konceptualno razumijevanje, aktivno učenje, prirodoznanstvene vještine, kreativno mišljenje

WORKBOOK AS A SUPPORT FOR ACHIEVING LEARNING OUTCOMES

V. Begić¹, P. Korać²

¹Primary School "Sesvetski Kraljevec", Školska ul. 10, 10360 Sesvete, Croatia (valerija.begic@skole.hr), ²Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (petra.korac@biol.pmf.hr)

The aim of the paper is to point out the advantage of using a workbook in the classes of Science/Biology for the achievement of learning outcomes. Teacher's notes and reflection, as well as questionnaire from students who have experience in using a workbook as an aid for working in class were analysed. For the analysis, assignments that can be used to encourage students' independent research and reflection were selected, which were found to be aligned with the teaching process and the time frame of the lesson. The results showed that a workbook designed to encourage active learning, which includes different types of assignments tasks, not only those used for repetition, but also those that develop independence, scientific competencies, and creative thinking, significantly impacts the development of conceptual understanding of biology. Such a workbook should contain research assignments, higher cognitive assignments and assignments of different types and difficulty for systematizing the processed teaching content. In order for the workbook to support the achievement of learning outcomes, it is necessary to use it as working material during classes, and not as a means of repetition in the form of homework.

Keywords: biology learning, conceptual understanding, active learning, science skills, creative thinking

O-96

INTERDISCIPLINARNI PRISTUP OSVJEŠTAVANJU PREHRAMBENIH NAVIKA UČENIKA

V. Bilogrević Gatolin¹, T. Pleić²

¹OŠ Ive Andrića, Ul. Milovana Kovačevića 18, 10000 Zagreb, Hrvatska (vbilog@gmail.com), ²IX. Gimnazija, Dobojska ul. 12, 10000 Zagreb, Hrvatska

Pokušavajući napustiti izraženi predmetno-satni sustav i podijeljenost između razina obrazovanja, učenici 5. i 7. razreda OŠ Ive Andrića i učenici 4. razreda IX. gimnazije zajedno su proučavali problem pretilost i pothranjenost. Osnovnoškolci su proučavali podrijetlo namirnica i njihovu kalorijsku vrijednost te rješavali zadatke u okviru tema Energetski učinci prehrane živih bića i Prehrana i zdravlje na nastavi Prirode i Biologije. Gimnazijalci su proučavali dostupne podatke FAO-a, WHO-a i HZIZ-a o gladi, pothranjenosti i pretilosti na različitim prostornim razinama u sklopu nastave Geografije. Ovakvim aktivnostima se ostvaruju i ishodi međupredmetnih tema Zdravlje, Osobni i socijalni razvoj te Poduzetništvo pa je njihova vrijednost prilikom učenja i poučavanja iznimna. Po završetku aktivnosti, učenici su videokonferencijski predstavljali rezultate svojega rada jedni

drugima. Zbog povezivanja sadržaja različitih nastavnih predmeta i razina obrazovanja aktivnost je osvijestila vrijednost takvih mogućnosti poučavanja za nastavnike. Učenici koji su učili na ovaj način pokazali su bolje razumijevanje koncepta Energetski učinci prehrane živih bića i Prehrana i zdravlje. Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom (IP-CORONA-2020-12-3798).

Ključne riječi: pretilost, pothranjenost, energetski učinci, prehrana, zdravlje

INTERDISCIPLINARY APPROACH TO AWARENESS OF STUDENTS' EATING

V. Bilogrević Gatolin¹, T. Pleić²

¹Primary school "Ivo Andrić", Ul. Milovana Kovačevića 18, 10000 Zagreb, Croatia (vbilog@gmail.com), ²9th Gymnasium, Dobojska ul. 12, 10000 Zagreb, Croatia

Trying to leave the rendered subject-hour system and the division between levels of education, students of 5th and 7th grade of Ivo Andrić Elementary School and students of 4th grade of 9th Gymnasium together studied the problem of obesity and malnutrition. Elementary school students studied the origin of foods and their caloric value and solved tasks within the topics Energy effects of nutrition of living beings and Nutrition and health in the teaching of Nature and Biology. High school students studied available data from the FAO, WHO and CNIPH on hunger, malnutrition and obesity at different spatial levels as part of Geography teaching. Such activities also achieve the outcomes of the interdisciplinary topics Health, Personal and Social Development and Entrepreneurship, so their value in learning and teaching is exceptional. At the end of the activity, the students presented the results of their work to each other in a videoconference. Due to the connection between the content of different subjects and the level of education, the activity pointed out the value of such teaching opportunities for teachers. Students who learned in this way showed a better understanding of the concept of the Energy effects of nutrition of living beings and Nutrition and Health. This work was co-financed by the Croatian Science Foundation project (IP-CORONA-2020-12-3798).

Keywords: obesity, malnutrition, energy effects, nutrition, health

O-97

MALA BIOLOŠKA KONFERENCIJA-PROJEKT ZA MALE I VELIKE BIOLOGE

S. Cvitičanin

Gimnazija Karlovac, Rakovac 4, 47000 Karlovac, Hrvatska (kontakt@gimnazija-karlovac.hr)

Cilj projekta je unapređivanje nastave biologije u osnovnoj školi. Današnja djeca su sve više izložena različitim internetskim sadržajima i mnoga djeca dolaskom u školu se po prvi puta susreću s nekim, nekad dobro poznatim pojmovima iz područja zoologije i botanike. Projektom je utvrđeno da među 71 učenikom između 7-9 godina, 41% nikada ne gleda dokumentarne emisije o životinjama. Oni koji gledaju prate ih na televizijskim(74%) ili internetskim platformama(11%). 28% učenika ne čita knjige o životinjama. Projekt se provodio na isti način 10 godina (od školske godine 2009./2010.) i obuhvaća 3 etape u kojima sudjeluju učenici od 1.-8. razreda osnovne škole. Svake godine, u rujnu (1.etapa) učenici 7. razreda provode rad na tekstu iz znanstvenog časopisa. U travnju (2.etapa) se prezentiraju radovi unutar razreda i organizira se „Mala biološka konferencija“ u kojoj se educiraju učenici nižih razreda (1.-4.) o izabranim temama. Na Dan biološke raznolikosti (22.5.) organizira se

izložba radova za sve učenike škole, što čini 3.etapu. Nakon 1.etape u rujnu, 90% učenika se putem ankete izjasnilo da su im tuđe teme bile interesantne i 47% učenika traži novi časopis na posudbu. Nakon izlaganja radova u 2. etapi, u travnju 92% učenika se osjećaju zadovoljno i 84% učenika se izjasnilo da im je lakše izlagati nego tijekom 1. etape. 100% učenika se izjasnilo da su saznali nove informacije o životinjama. Do sada je u rad bilo uključeno oko 400 predavača. Prezentacije je odgledalo i poslušalo 740 učenika, a izložbu je pogledalo po 16 razrednih odjela svake školske godine.

Ključne riječi: projekt iz biologije, osnovna i srednja škola, životinje, biološka raznolikost

MINI BIOLOGICAL CONFERENCE-PROJECT FOR JUNIOR AND SENIOR BIOLOGISTS (EXAMPLE FROM PRACTICE)

S. Cvitičanin

Gymnasium Karlovac, Rakovac 4, 47000 Karlovac, Croatia (kontakt@gimnazija-karlovac.hr)

The goal of the project is to improve the teaching of biology in elementary school. Today's children are increasingly exposed to various internet content and many children come to school for the first time encountering some once well-known terms from the fields of zoology and botany. The project found that among 71 students between the ages of 7-9, 41% never watch documentaries about animals. Those who watch follow them on television (74%) or online platforms (11%). 28% of students do not read books about animals. The project was carried out in the same way for 10 years (from the 2009/2010 school year) and includes 3 stages in which students from grades 1-8 participate. Every year, in September (stage 1), 7th grade students work on a text from a scientific journal. In April (2nd stage), papers are presented within the class and a "Small Biological Conference" is organized, in which students of lower grades (1st-4th) are educated on selected topics. On the Day of Biological Diversity (May 22), an exhibition of works is organized for all students of the school, which constitutes the 3rd stage. After the 1st stage in September, 90% of students declared through a survey that other people's topics were interesting to them and 47% of students are looking for a new magazine to borrow. After presenting the works in the 2nd stage, in April, 92% of the students feel satisfied and 84% of the students declared that it was easier for them to present than during the 1st stage. 100% of students declared that they learned new information about animals. So far, about 400 lecturers have been involved in the work. 740 students watched and listened to the presentations, and the exhibition was viewed by 16 classes each school year.

Keywords: biology project, elementary and high school, animals, biological diversity

O-98

UČENJE OTKRIVANJEM U NASTAVI PRIRODE I DRUŠTVA

A. Ćaleta¹, M. Šundov², I. Porobija³, I. Dominović⁴, M. Bulić⁵, I. Radanović⁶

¹OŠ Trilj, Poljičke Republike 18, 21240 Trilj, Hrvatska (ana.caleta55@gmail.com), ²OŠ Pujanki, Tijardovićeva 30, 21000 Split, Hrvatska (marijanasunndov@gmail.com), ³OŠ Kamešnica, Hrvatskih branitelja 26, 21238 Otok, Hrvatska (idula87@gmail.com), ⁴OŠ Manuš, Vukovarska 11, 21000 Split, Hrvatska (ilijana.dominovic@gmail.com), ⁵Filozofski fakultet, Sveučilište u Splitu, Poljička cesta 35, 21000 Split, Hrvatska (mbulic@ffst.hr), ⁶Biološki odsjek, Prirodoslovno-

matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska
(ines.radanovic@biol.pmf.hr)

U današnjim izazovnim vremenima važno je učenike naučiti samostalno promatrati, rješavati probleme, otkrivati, zaključivati, kritički promišljati i primjenjivati stečeno znanje u svakodnevnom životu. Upravo je učenje otkrivanjem, koje se zasniva na konstruktivizmu, u kojem učenici rješavaju zadane probleme sa ili bez vodstva učitelja, primjenjivo u nastavi Prirode i društva. U radu se prikazuje primjena strategije učenja otkrivanjem uz promatranje tijekom terenskog učenja. Istraživanje je provedeno u mjestu Trilj, na uzorku učenika trećega razreda osnovne škole. Učenici su učili o geografskim pojmovima orientacije u prostoru uz poveznice na orientaciju pomoću znakova u prirodi radeći u četiri etape: uočavanje i definiranje problema, formuliranje hipoteza, prikupljanje podataka, promatranje i praćenje te izvođenje zaključka. Prema fotografijama i crtežima prikupljenim tijekom terenske nastave učenici su izradili fotoherbarij i dokumentirali prirodnu baštinu zavičaja u svrhu sistematizacije znanja. Opažanja učenika uspoređena su s rezultatima završne provjere znanja uz naglasak na provjeru konceptualnog razumijevanja učenika. Rezultati istraživanja pokazuju kako učenici mogu primjenom učenja otkrivanjem ostvariti planirane odgojno-obrazovne ishode u nastavi Prirode i društva. Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom (IP-CORONA-2020-12-3798).

Ključne riječi: fotoherbarij, nastava prirode i društva, orientacija u prirodi, terenska nastava

DISCOVERY LEARNING IN CLASSES OF NATURE AND SOCIAL SCIENCES

A. Ćaleta¹, M. Šundov², I. Porobja³, I. Dominović⁴, M. Bulić⁵, I. Radanović⁶

¹Elementary school Trilj, Poljičke Republike 18, 21240 Trilj, Croatia (ana.caleta55@gmail.com),

²Elementary school Pujanki, Tijardovićeva 31, 21000 Split, Croatia (marijanasunndov@gmail.com), ³Elementary school Kamešnica, Hrvatskih branitelja 26, 21238 Otok, Croatia (idula87@gmail.com), ⁴Elementary school Manuš, Vukovarska 11, 21000 Split, Croatia (lijana.dominovic@gmail.com), ⁵Department of Teacher Education, Faculty of Humanities and Social Sciences, University of Split, Poljička cesta 35, 21000 Split, Croatia (mbulic@ffst.hr), ⁶Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (ines.radanovic@biol.pmf.hr)

In today's challenging times, it is important to teach students how to observe independently, solve problems, discover, deduce, critically reflect, and apply the knowledge acquired in everyday life. Discovery learning, which is based on constructivism and helps students solve given problems with or without the teacher's guidance, can be applied in classes of Nature and Social Sciences. The paper presents the application of the learning strategy of discovery learning and observing during the field class. The research was conducted in Trilj, on a sample of students in the third grade of elementary school. Students learned about geographical concepts of spatial orientation connecting them with orientation using signs in nature. This was done in four stages: identifying and defining problems, formulating hypotheses, collecting data, observing and monitoring, drawing conclusions. Using the photos and drawings collected during the field class, the students created a photoherbarium, thus documenting their homeland's natural heritage to systematize the knowledge. The students' observations were compared with the results of the final exams with an emphasis on checking the students' conceptual understanding. The research results show that discovery learning in Nature and Social Sciences classes can help students

achieve the required educational outcomes. This paper was co-financed by the Croatian Science Foundation within the project IP-CORONA-2020-12-3798.

Keywords: photoherbarium, Nature and Social Science teaching, spatial orientation, field class

O-99

PRILAGODBA NASTAVNIH MATERIJALA I METODA DJECI S TEŠKOĆAMA

G. Kralj¹, M. Bulić², I. Radanović³

¹OŠ "Ljubo Babić", Ante i Davida Starčevića 16, 10450 Jastrebarsko, Hrvatska (Gogakraljica@gmail.com) ²Filozofski fakultet, Sveučilište u Splitu, Poljička cesta 35, 21000 Split, Hrvatska (mbulic@ffst.hr) ³Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ines.radanovic@biol.pmf.hr)

Cilj projekta je unapređivanje nastave biologije u osnovnoj školi. Današnja djeca su sve više izložena različitim internetskim sadržajima i mnoga djeca dolaskom u školu se po prvi puta susreću s nekim, nekad dobro poznatim pojmovima iz područja zoologije i botanike. Projektom je utvrđeno da među 71 učenikom između 7-9 godina, 41% nikada ne gleda dokumentarne emisije o životinjama. Oni koji gledaju prate ih na televizijskim(74%) ili internetskim platformama(11%). 28% učenika ne čita knjige o životinjama. Projekt se provodio na isti način 10 godina (od školske godine 2009./2010.) i obuhvaća 3 etape u kojima sudjeluju učenici od 1.-8. razreda osnovne škole. Svake godine, u rujnu (1.etapa) učenici 7. razreda provode rad na tekstu iz znanstvenog časopisa. U travnju (2.etapa) se prezentiraju radovi unutar razreda i organizira se „Mala biološka konferencija“ u kojoj se educiraju učenici nižih razreda (1.-4.) o izabranim temama. Na Dan biološke raznolikosti (22.5.) organizira se izložba radova za sve učenike škole, što čini 3.etapu. Nakon 1.etape u rujnu, 90% učenika se putem ankete izjasnilo da su im tuđe teme bile interesantne i 47% učenika traži novi časopis na posudbu. Nakon izlaganja radova u 2. etapi, u travnju 92% učenika se osjećaju zadovoljno i 84% učenika se izjasnilo da im je lakše izlagati nego tijekom 1. etape. 100% učenika se izjasnilo da su saznali nove informacije o životinjama. Do sada je u rad bilo uključeno oko 400 predavača. Prezentacije je odgledalo i poslušalo 740 učenika, a izložbu je pogledalo po 16 razrednih odjela svake školske godine.

Ključne riječi: djeca s teškoćama u razvoju, konceptualno razumijevanje, nastava prirode i društva, pokus, prilagodba sadržaja

ADAPTING TEACHING MATERIALS AND METHODS TO CHILDREN WITH DISABILITIES

G. Kralj¹, M. Bulić², I. Radanović³

¹Elementary school "Ljubo Babić", Ante i Davida Starčevića 16, 10450 Jastrebarsko, Croatia, (Gogakraljica@gmail.com), ²Department of Teacher Education, Faculty of Humanities and Social Sciences, University of Split, Poljička cesta 35, 21000 Split, Croatia (mbulic@ffst.hr), ³Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (ines.radanovic@biol.pmf.hr)

Children with developmental disabilities should have the chance to work successfully in the teaching environment, which can be achieved through individualization and adaptation of both teaching materials and methods, bearing in mind that an inclusive school implies creating

conditions in which students with developmental disabilities learn together with other students. Such a school respects differences and applies teaching strategies adapted to each student. This paper presents a case study conducted in the first grade of elementary school in which teaching materials and methods were adapted and modern teaching strategies were used along with experiential learning and discovery learning. Since teaching contents had to be adapted to a large extent, the student has not successfully achieved all educational outcomes and will continue to achieve them through adapted lower-grades instruction. The results of the presented case study can be of great importance as indicators of the previous implementation of work with children with disabilities, but also as guidelines for further designing different ways of involving students with disabilities in the teaching process. This paper was co-financed by the Croatian Science Foundation within the project IP-CORONA-2020-12-3798.

Keywords: developmental disabilities, conceptual understanding, Nature and Society teaching, experiment, adaptation of content

O-100

ANALIZA VIDEO ZAPISA NASTAVNIH SATI KAO NAČIN ZA UNAPRJEĐENJE POUČAVANJA

I. Labak¹, O. Meštrović², J. Meštrović³

¹Odjel za biologiju, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Ulica cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (ilabak@biologija.unios.hr), ²OŠ „A. G. Matoš“, Ohridska ul. 21, 32100 Vinkovci, Hrvatska (ozrenka.mestrovic@skole.hr), ³OŠ Vođinci, Slavonska ul. 17, 32283 Vođinci, Hrvatska (jasenka.mestrovic@skole.hr)

Istraživanje je provedeno s ciljem utvrđivanja aspekata za unaprjeđenje poučavanja Biologije analizom video zapisa nastavnih sati i pisane provjere znanja. Tijekom školske godine 2020./2021. snimani su i analizirani nastavni sati Biologije nakon čega je usvojenost opažanih koncepata utvrđena pisanom provjerom znanja. Protokolom za analizu video zapisa opažala se prisutnosti poučavanja koje usmjerava konstrukciju znanja na višim kognitivnim razinama uz opažanje prisutnosti formativnog vrednovanja. Za pisaniu provjera, koja je bila provedena s 288 učenika osmih razreda, napravljena je metrijska analiza. Pitanja koja su prema indeksu težine okarakterizirana kao teška su pitanja viših razina koja su ispitivala koncepte evolucije, razvojnog ciklusa biljaka, fotosinteze i staničnog disanja. Protokol za analizu video zapisa omogućio je utvrđivanje razloga ostvarene uspješnosti u rješavanju pojedinog pitanja vezanog na određenu sekvencu poučavanja. Uočeno je da na uspješnost učenja utječe djelomična prisutnost poučavanja koje potiče konceptualno razumijevanje i odsutnost poučavanja rješavanjem problema, kao i djelomično pružanje povratne informacije o procesu i postignuću učenja te odsutnost poticanja na samoprocjenu. Istraživanje je provedeno u sklopu projekta „Stručno usavršavanje učitelja u funkciji unapređenja rezultata učenja učenika osnovne škole u prirodoslovnom i matematičkom području“ financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost (IP-2018-01-8363).

Ključne riječi: poučavanje biologije, pisana provjera, konceptualno razumijevanje, povratne informacije učenicima, rješavanje problema, samoprocjena učenika

ANALYSIS OF VIDEOS OF BIOLOGY CLASSES AS A WAY TO DETERMINE ASPECTS TO IMPROVE TEACHING

I. Labak¹, O. Meštrović², J. Meštrović³

¹Department of Biology, J. J. Strossmayer University of Osijek, Ulica cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (ilabak@biologija.unios.hr), ²Primary school "A. G. Matoš", Ohridska ul. 21, 32100 Vinkovci, Croatia (ozrenka.mestrovic@skole.hr), ³Vođinci Primary School, Slavonska ul. 17, 32283 Vođinci, Croatia (jasenka.mestrovic@skole.hr)

The research was conducted with the aim of determining aspects for improving the teaching of Biology by analyzing videos of lessons and written tests. During the school year 2020/2021. the lessons of Biology were recorded and analyzed, after which the adoption of the observed concepts were determined by a written knowledge test. The protocol for analysing video lessons included observation of the presence of teaching that directs the construction of knowledge at higher cognitive levels, as well as the presence of formative assessment. Metric analysis was performed for the written test, which was conducted on 288 eighth grade students. The questions that were characterized as difficult by the weight index were higher-level issues that question the concept of evolution, plant developmental cycle, photosynthesis and cellular respiration. The video analysis of the lessons made it possible to determine the causes for the achieved result of a particular question related to a certain teaching sequence. The reasons identified in the analysis of lessons, which are also aspects for improving teaching, are the partial presence of teaching that encourages conceptual understanding and partial provision of feedback on the learning process and achievement, and the absence of problem solving and encouraging self-assessment. The research was conducted as part of the project "Professional training of teachers in order to improve the learning outcomes of elementary school students in the field of science and mathematics" financed by the Croatian Science Foundation (IP-2018-01-8363).

Keywords: teaching biology, written test, conceptual understanding, student feedback, problem solving, student self-assessment

O-101

RAZVOJ PROCEDURALNOG I METAKOGNITIVNOG ZNANJA UČENIKA U VIRTUALNOM OKRUŽENJU

M. Marceljak Ilić¹, D. Horvat², K. Trstenjak Šifković²

¹XV. gimnazija, Jordanovac ul. 8, 10000 Zagreb, Hrvatska (mmarceljak@mioc.hr), ²Srednja škola Čakovec, Ul. Jakova Gotovca 2, 40000 Čakovec, Hrvatska (denis.horvat3@skole.hr, kristina.trstenjak@skole.hr)

Najveći izazov u suvremenoj nastavi biologije je razviti sposobnosti učenika za uspješno rješavanje zadataka koji ispituju proceduralne i metakognitivne dimenzije znanja. Tradicionalne predavačke metode su neadekvatan izvor znanja, koje ne omogućuju adekvatnu pripremu učenika za rješavanje zadataka viših kognitivnih razina. To je do sada najviše došlo do izražaja na ispitima državne mature iz biologije, gdje su pitanja koja propituju više kognitivne razine bile najlošije riješene. Ista problematika nosi i uzrok u nepostojanju adekvatnih online materijala za poučavanje tijekom virtualne nastave u COVID-19 okruženju. Ovim izlaganjem predložit ćemo nekoliko metoda rada na konkretnim primjerima, koje se mogu primjenjivati i putem virtualne nastave korištenjem platforme BUBO - Baza Učenja Biologije uz Online podršku za treći razred gimnazije. Cilj ovakvog načina poučavanja je što uspješnije prevladavanje problematike svladavanja koncepata koji uključuju teme: 1. Regulacija i održavanje homeostaze na razini stanice i organizma, 2. Evolucijski

razvoj prilagodbi, 3. Prilagodbe na ekstremne uvjete života te shvaćanje pojmova vezanih uz istraživačke projekte, izradu grafova i njihovu interpretaciju. Također ćemo predložiti nekoliko vrsta zadataka čije uspješno rješavanje bi trebalo biti omogućeno ovakvom vrstom rada tijekom nastave biologije.

Ključne riječi: proceduralno znanje, metakognitivno znanje, virtualna učionica, metode rada u nastavi biologije, BUBO

DEVELOPEMENT OF PROCEDURAL AND METACOGNITIVE KNOWLEDGE IN VIRTUAL CLASSROOM

M. Marceljak Ilić¹, D. Horvat², K. Trstenjak Šifković²

¹15th Gymnasium Zagreb, Jordanovac ul. 8, 10000 Zagreb, Croatia (mmarceljak@mioc.hr) ²Srednja škola Čakovec, Ul. Jakova Gotovca 2, 40000 Čakovec, Croatia (denis.horvat3@skole.hr, kristina.trstenjak@skole.hr)

The largest challenge in contemporary biology teaching is to develop student's skills to successfully solve tasks that involve procedural and metacognitive knowledge. Traditional teaching methods are an inadequate source, which does not allow adequate preparation of students for higher cognitive tasks. This has so far been most pronounced in the previous State exams in biology, where higher cognitive tasks resulted in very low scores. The same problem is also caused by the lack of appropriate online teaching sources during online teaching caused by COVID 19 restrictions. During this presentation, we will propose several teaching methods on specific examples, which can be applied through virtual teaching using the platform BUBO (Blended Learning for Understanding Biology) for the third grade of high school. The aim of this type of teaching is to successfully overcome the problem of mastering the concepts that include topics: 1. Homeostasis regulation within cell and organism, 2. Evolutionary development of adaptations, 3. Adaptations to extreme living conditions, and understanding of research projects, knowledge linked to science investigations and ability to read and create graphical data. Several types of problem-solving assignment will be suggested, whose success has origin in teaching methods during online teaching.

Keywords: procedural knowledge, metacognitive knowledge, virtual classroom, BUBO

O-102

ULOGA JAVNIH USTANOVA ZA UPRAVLJANJE ZAŠTIĆENIM DIJELOVIMA PRIRODE I EKOLOŠKOM MREŽOM U EDUKACIJI UČENIKA

M. Mesarić, M. Cindrić, I. Rojko

Međimurska priroda - Javna ustanova za zaštitu prirode, Trg međimurske prirode 1, Križovec, 40315 Mursko Središće, Hrvatska (pisarnica@medjimurska-priroda)

Prirodne i druge vrijednosti u zaštićenim područjima, ali i izvan posebno zaštićenih područja, štite se i edukacijskim aktivnostima - edukacijom do razumijevanja, razumijevanjem do poštovanja, poštovanjem do zaštite. Očuvat ćemo ono čemu znamo vrijednost i što poštujemo. Međimurska priroda – Javna ustanova za zaštitu prirode provodi niz različitih edukativnih aktivnosti kojima nastoji povećati spoznavanje i razumijevanje prirodnih vrijednosti među učenicima različitih dobnih

uzrasta. Diljem svijeta uz zaštićena područja postoje centri za posjetitelje. Centar za posjetitelje *Med dvemi vodami* osmišljen je na način da posjetiteljima približi prirodne vrijednosti Međimurske županije i njihov značaj. Centar sadrži mnogo interaktivnih elemenata, kratkih tekstova i video zapisa. Osim vođenja kroz postav stalne izložbe, centar nudi i različite edukativne radionice (Dabar, Leptiri plavci, Čaša prirode, Vode u zavičaju, Zaštićena područja) i programe na terenu (Pašnjaci međimurskog konja, Rijeka Mura i njezine šume, Kako promatrati ptice). Učenici imaju mogućnost uključivanja u volonterske programe na području Međimurske županije (Žabe na cesti!, Čišćenje obale za bregunice, Laste i piljci, Jelenak). Centar odašilje jasnu poruku: Priroda ne treba čovjeka, ali čovjek treba prirodu.

Ključne riječi: edukacija, interpretacija, zaštita prirode, centar za posjetitelje, *Med dvemi vodami*

THE ROLE OF PUBLIC INSTITUTIONS FOR THE MANAGEMENT OF PROTECTED AREAS OF NATURE AND THE NETWORK OF PROTECTED AREAS IN THE EDUCATION OF STUDENTS

M. Mesarić, M. Cindrić, I. Rojko

Međimurje Nature - Public Institution for Nature Protection, Trg međimurske prirode 1, Križovec, 40315 Mursko Središće, Croatia (pisarnica@medjimurska-priroda)

Natural and other values in protected areas, but also outside specially protected areas, are also protected through educational activities. Through interpretation, understanding; through understanding, appreciation; through appreciation, protection. We will preserve only what we know is valuable and what we respect. Međimurje Nature - Public Institution for Nature Protection conducts several educational activities aimed at increasing knowledge and understanding of the natural values of students of all ages. All over the world, in addition to protected areas, there are visitor centers. The Visitor Center *Between Two Waters* is designed to bring visitors closer to the natural values of Međimurje County and its importance. The center contains many interactive elements, short texts and videos. In addition to guiding tours through the permanent exhibition, the center also offers various educational workshops (Beaver, Blue Butterflies, A Cup of Nature, Waters in our Homeland, Protected Areas), and field programs (Međimurje Horse Pastures, Mura River and its Forests, Introduction to Birdwatching). Students have the opportunity to participate in volunteer programs in the area of Međimurje County (Frogs on the road! Cleaning the shore for sand martins, Barn Swallows and House Martins, and Stag beetle program). The center sends a clear message: Nature does not need man, but man needs nature.

Keywords: education, interpretation, nature protection, visitor center, *Between Two Waters*

O-103

UPORABA ISTRAŽIVAČKOG UČENJA TIJEKOM POUČAVANJA BIOLOGIJE U ONLINE OKRUŽENJU

O. Meštrović¹, J. Meštrović²

¹OŠ „A. G. Matoš“, Ohridska ul. 21, 32100 Vinkovci, Hrvatska (ozrenka.mestrovic@skole.hr), ²OŠ Vođinci, Slavonska ul. 17, 32283 Vođinci, Hrvatska (jasenka.mestrovic@skole.hr)

Kako bi učenici ostvarili trajna znanja nužno je iskustveno učenje. Tijekom pandemije COVID-19 ono je donekle zanemareno radi prelaska na online način poučavanja. Cilj istraživanja je bio osmislati nastavne lekcije u kojima bi učenici koristeći različite aktivnosti u online okruženju samostalno

izgrađivali trajne koncepte koristeći strategiju učenja otkrivanjem. Od učenika se očekivalo da tijekom cijelog procesa učenja dokumentiraju svoja predznanja, rezultate i zaključke. Osmišljene aktivnosti su postavljene na platformu BUBO (Moodle) u obliku prezentacija, raznih zadataka te radnih listića. Aktivnosti navedene u listićima osmišljene su za samostalno istraživanje učenika, no zbog neujednačene opremljenosti kućanstava postavljene su i videosnimke, simulacije te kvizovi koji su osigurali ujednačene uvjete za sve učenike. Učenička promišljanja su prikupljana u obliku odgovora na forumima, zadaća te u sklopu kviza ili testa. Kako bi osigurali da svi učenici izvrše osmišljene aktivnosti, u istraživanjima je korištena opcija grananja koja je učenicima omogućavala dodatnu pomoć u vidu poveznica i savjeta koji su im omogućavali lakše svladavanje pojedinih etapa istraživanja. Analizom predanih učeničkih radova, koji su ujedno i aspekti za unaprjeđenje osmišljenih online aktivnosti, uočeno je da učenici imaju donekle različite rezultate te da je nekim tijekom rada bila potrebna i dodatna podrška što je vjerojatno vezano uz prethodne vještine u korištenju IKT-a te razinu samostalnosti.

Ključne riječi: učenje otkrivanjem, online poučavanje, konceptualno razumijevanje

USING INQUIRY-BASED LEARNING FOR ONLINE BIOLOGY TEACHING

O. Meštrović¹, J. Meštrović²

¹Primary school "A. G. Matoš", Ohridska ul. 21, 32100 Vinkovci, Croatia (ozrenka.mestrovic@skole.hr), ²Vođinci Primary School, Slavonska ul. 17, 32283 Vođinci, Croatia (jasenka.mestrovic@skole.hr)

In order for students to achieve lasting knowledge, experiential learning is necessary. During the COVID-19 pandemic, this guideline was somewhat neglected due to transition to online teaching. The goal of this research was to design teaching lessons in which students would use various activities in the online environment to independently build permanent concepts using inquiry-based learning strategies. Students were expected to document their prior knowledge, results, and conclusions throughout the learning process. The designed activities were uploaded on the BUBO (Moodle) platform in the form of presentations for independent learning, various assignments and worksheets. Worksheet activities were designed for independent student research, but due to the uneven equipment of households, videos, simulations and quizzes were uploaded to provide equal conditions for all students. Student reflections were gathered in the form of answers on forums, essays and responses in quizzes and tests. In order to ensure that all students complete the designed activities, the research used the branching option, which provided students with additional help for students in the form of links or tips that allowed them to more easily master different stages of research. The analysis of submitted student works, which were also aspects for improving the designed online activities, we observed that students have somewhat different results and that some of them needed additional support during the work, which is probably associated to their ICT skills and their independence level.

Keywords: inquiry-based learning, online teaching, conceptual understanding

O-104

22 GODINE RAZVOJA EDUKACIJE U AQUARIJU PULA (2000. - 2022.)

Ž. Moslavac, T. Sović, M. Mičić

Aquarium Pula, Verudela 33, 52100 Pula, Hrvatska (infos@aquarium.hr)

Aquarium Pula, od osnutka pa do danas, usporedno razvija popratni edukativni materijal uz prikaz izložbi te oceanološku edukaciju u svrhu informiranja i osvještavanja šire javnosti te ciljanih skupina. Prvih godina poslovanja, uvodi se znanstveni ljetni kamp za vrtičke i osnovnoškolske uzraste, morsko kazalište i organizacija proslava dječjih rođendana (2001. - 2012.). Provedeno je preko 70 edukativnih manifestacija i više od 20 projekata s implementiranim elementima biološke edukacije, a najznačajniji program „Plava škola“, koji uključuje stručno vodstvo, terenski i laboratorijski rad, pohađalo je preko 100.000 sudionika iz Hrvatske i inozemstva (većinski njemačke grupe). Postepenim proširenjem izložbenog prostora te diverzifikacijom prikaza životinjskih vrsta i staništa, Aquarium Pula danas prikazuje preko 25 tematskih izložbi unutar kojih je opisano više od 250 životinjskih vrsta. Razvojem akvarija postepeno su uvedene i suvremene, interaktivne metode biološke edukacije potpomognute tehnologijom, a rezultati su korištenje podvodnih dronova, audiovodiča, chatbot-a, STEM radionica, interaktivnih panela te izrada dokumentarnih filmova. Implementacijom društvenih mreža u svrhu edukacije šire javnosti, do danas je na platformama dosegnuto preko 80.000 sveukupnih pregleda. Educiranje djece osnovnoškolskog uzrasta putem „Škole za život“, zajedno s dobivenim medijskim prostorom tijekom pandemije SARS-CoV-2, dodatno je povećalo doseg edukacije široj javnosti.

Ključne riječi: edukacija, tematske izložbe, podizanje svijesti javnosti

22 YEARS OF EDUCATION DEVELOPMENT IN AQUARIUM PULA (2000. - 2022.)

Ž. Moslavac, T. Sović, M. Mičić

Aquarium Pula, Verudela 33, 52100 Pula, Croatia (infos@aquarium.hr)

From its beginning, Aquarium Pula has been developing accompanying educational material with the presentation of exhibitions and oceanographic education to inform and raise awareness of the general public and target groups. Scientific summer camp for kindergartens and primary school ages, a maritime theater, and the children's birthday celebrations (2001 - 2012) were introduced in the beginning. Over 70 educational events and more than 20 projects with implemented elements of biological education were conducted, and the most important program "Blue School", which includes professional guidance, field and laboratory work, was attended by over 100.000 participants from Croatia and abroad (mostly German groups). Gradually expanding exhibition space and diversifying the display of animal species and habitats, Aquarium Pula today displays over 25 thematic exhibitions with more than 250 animal species described. Modern, interactive methods of biological education supported by technology were gradually introduced, and the results are the use of underwater drones, audioguide, chatbots, STEM workshops, interactive panels and the production of documentaries. Implementing social networks to educate the general public, over 80.000 overall views have been achieved on the platforms to date. Educating primary school children through the „School for Life“, together with the media space gained during the SARS-CoV-2 pandemic, has further increased the reach of education to the general public.

Keywords: education, themed exhibition, public awareness

O-105

RAZUMIJEVANJE KONCEPATA VEZANIH UZ USLOŽNJAVAњE PROBAVNOG SUSTAVA I ENERGETSKU UČINKOVITOST U 2. RAZREDU GIMNAZIJE

V. Kuhar¹, S. Remenar²

¹VII. gimnazija, Križanićeva 4, 10000 Zagreb, Hrvatska (vlatka.kuhar@skole.hr), ²Obrtnička škola za osobne usluge, Savska cesta 23, 10000 Zagreb, Hrvatska (suncica.remenar@skole.hr)

Cilj istraživanja bio je identifikacija predkoncepta i miskoncepta uz koncept usložnjavanja probavnog sustava u povezanosti s energijskim potrebama različitih organizama kod učenika 2. razreda gimnazije u sklopu eksperimentalnog dijela projekta „Učenje biologije u epidemiološki prilagođenom istraživačkom okruženju“ 2021./2022.godine. Na početku školske godine, na uzorku učenika 3. razreda (443) poučavanih u online okruženju, provedena je provjera usvojenosti ovih koncepata ostvarenih tijekom prethodne školske godine. Rezultati su uspoređeni s odgovorima učenika 2. razreda prije poučavanja odabralih koncepata te rezultatima provjere znanja nakon poučavanja (80 učenika). Usporedbom odgovora na pitanja otvorenog tipa koji otkrivaju razumijevanje ovih koncepata prije i nakon učenja te između generacija, uočeni su zajednički problemi u razumijevanju kao što je učinkovitost probavila s obzirom na odnos površine i volumena probavila te s obzirom na vrstu prehrane i energijsku vrijednost hrane. Na osnovu rezultata predložene su dopune i poboljšanja osmišljenog poučavanja s naglaskom na ostvarivanje konceptualne promjene kojom će se istaknuti povezanost energijske učinkovitosti prehrane i obilježe probavila. Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom (IP-CORONA-2020-12-3798).

Ključne riječi: predkonceptije, miskonceptije, konceptualna promjena, problemi pri rješavanju provjere

UNDERSTANDING CONCEPTS RELATED TO THE INCREASING COMPLEXITIES OF THE DIGESTIVE SYSTEM AND ENERGY EFFICIENCY IN THE 2ND GRADE OF GRAMMAR SCHOOL

V. Kuhar¹, S. Remenar²

¹7th Gymnasium, Križanićeva 4, 10000 Zagreb, Croatia (vlatka.kuhar@skole.hr), ²Obrtnička škola za osobne usluge, Savska cesta 23, 10000 Zagreb, Croatia (suncica.remenar@skole.hr)

The goal of the research was to identify preconceptions and misconceptions around the concept of increasing complexities of the digestive system in connection with the energy needs of different organisms in 2nd grade high school students as part of the experimental part of the project "Learning Biology in Epidemiologically Adapted Research Environment" 2021/2022. At the beginning of the school year, an assessment of these concepts was conducted on a sample of 3rd grade students (443 students) taught in an online environment during the previous school year. The results were compared with 2nd grade students' answers which were obtained through a questionnaire given before learning process, and through assessment after the learning process (80 students). By comparing the answers to open-ended questions that reveal the understanding of these concepts before and after learning and between generations, common problems in understanding were observed, such as understanding of digestive efficiency with regard to the ratio of surface area and volume of the digestive tract and with regard to the type of diet and the energy value of food. Based on the results, additions and improvements to the designed teaching were proposed with an emphasis on achieving a conceptual change that will highlight the connection between the energy efficiency of nutrition and the characteristics of digestion. This work was co-

financed by the Croatian Science Foundation project (IP-CORONA-2020-12-3798). Keywords: preconceptions, misconceptions, conceptual change, assessment process .

Keywords: preconceptions, misconceptions, conceptual change, assessment process problems

O-106

ISTRAŽIVANJE O PROVEDBI NASTAVE BIOLOGIJE NEKIH OSNOVNIH ŠKOLA U EPIDEMIOLOŠKIM UVJETIMA

M. Ruščić¹, B. Čorić¹, M. Katavić¹, A. Špernjak²

¹Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Splitu, Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska (mrus@pmfst.hr, bcoric@pmfst.hr, mkatavic@pmfst.hr), ²Fakultet za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru, Koroška cesta 160, 2000 Maribor, Slovenija (andreja.spernjak@uni.si)

Epidemija COVID-19 je imala učinak na poučavanje nastave biologije, koja se temelji na pokusu, izvornoj stvarnosti i sl. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi kvalitetu nastave biologije u epidemiološkim uvjetima, što uključuje ispitivanje zadovoljstva i motivacije učenika i učitelja, poteškoće i prednosti s kojima se susreću te prijedloge za poboljšavanje nastave. Istraživanje je provedeno online upitnikom tijekom 2021./2022., sudjelovala su 352 učenika i 35 učitelja iz 14 osnovnih škola šireg područja Splita. Učenici su utvrdili da se nastava izvodila u hibridnom obliku 45,5% i na daljinu 34,4%. Najčešće korištena platforma u nastavi je MS Teams. Udio učenika od 90,1% ističe da su bili motivirani te aktivno sudjelovali u online nastavi. 57,1% učitelja tvrdi da su učenici bili aktivni na njihovom satu. Tijekom online nastave učenici ističu tehničke poteškoće, slabiju kvalitetu slike i zvuka, lošu internetsku povezanost i zastarjelost uređaja. Uz tehničke poteškoće, učitelji ističu, duže vrijeme potrebno za nastavnu pripremu, nedovoljnu digitalnu pismenost, smanjenu kontrolu nad razredom i lošu povratnu informaciju o usvojenosti sadržaja. Kao prijedlog unaprjeđenja nastave na daljinu dio učenika ističe potrebu za više interakcija s nastavnikom, a manje samostalnih zadataka. Učitelji ističu potrebu za boljim ovladavanjem digitalnih alata, češće provjere znanja, oblikovanje nastave s većom motivacijom učenika te izbjegavanje blok sati u rasporedu.

Ključne riječi: digitalni alati, epidemija, nastava na daljinu, poučavanje

RESEARCH ON THE TEACHING OF BIOLOGY IN SOME PRIMARY SCHOOLS IN EPIDEMIOLOGICAL CONDITIONS

M. Ruščić¹, B. Čorić¹, M. Katavić¹, A. Špernjak²

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Split, Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia (mrus@pmfst.hr, bcoric@pmfst.hr, mkatavic@pmfst.h) ²Faculty of Natural Sciences and Mathematics, University of Maribor, Koroška cesta 160, 2000 Maribor, Slovenia (andreja.spernjak@uni.si)

The COVID-19 epidemic had an effect on the teaching of biology that is based on experiment, natural specimens, etc. The aim of this study was to determine the quality of biology teaching in epidemiological conditions, which includes examining the satisfaction and motivation of students and teachers, difficulties and advantages they encountered and suggestions for improving

teaching. The research was conducted using an online survey, during 2021./2022, with the participation of 352 students and 35 teachers from 14 primary schools in the wider area of Split. The students pointed out that 45.5% of classes are taught in hybrid form and 34.4% as an online class. The most commonly used platform for teaching is MS Teams. 90.1% of students point out that they actively participated in online teaching, while 57.1% of teachers claim that students were active in their class. During online classes, students encountered technical difficulties, such as poor picture and sound quality, poor internet connection and device obsolescence. In addition to technical difficulties, teachers point out the longer time required for teaching preparation, insufficient digital literacy, reduced control over the class and poor feedback on content acquisition. As a proposal to improve distance teaching, some students emphasize the need for more interaction with the teacher, and fewer independent tasks. Teachers emphasize the need for better mastery of digital tools, more frequent knowledge tests, designing classes with greater student motivation and avoiding block classes in the schedule.

Keywords: digital tools, epidemic, online class, teaching

O-107

KORIŠTENJE KARTICA ZA UČENJE PRIRODE U 5. RAZREDU OSNOVNE ŠKOLE

A. Skuhala

OŠ Breznički Hum, Breznički Hum 14, 42225 Breznički Hum, Hrvatska (ana.skuhala@skole.hr)

Cilj istraživanja je utvrditi kako ponavljanje primjenom kartica za učenje (flashcard) u online okruženju može utjecati na uspješniji proces učenja i postignuće kao produkt učenja. Istraživanje je provedeno 2022. godine, a vezano je uz nastavne teme Hrana kao izvor energije i Prilagodbe živih bića na život u vodi te Svojstva vode kao temu baziranu na terenskom istraživanju. Uzorak su sačinjavali učenici petih razreda koji su ponavljali u online interaktivnom obliku uz pomoć kartica za učenje pripremljenih u sustavu CRAM. Kartice su vezane uz pojmove obuhvaćene ishodima, ako učenik ne prepozna pojam, ponovno se vraća učenju istog na kraju ponavljanja. Kontrolni uzorak ponavljao je iste nastavne teme pri čemu su učiteljice ponavljanje temeljile na razgovoru s učenicima. Nakon ponavljanja, učenici su pisali završnu provjeru znanja. Za prikupljanje informacija o učenju uz kartice korišten je anketni upitnik kojim su učenici procjenjivali iskustva i iznosili dojmove o učenju uz kartice za ponavljanje. Učenici većinom procjenjuju kako im je učenje uz pomoć online kartica praktično i jednostavnije od klasičnog ponavljanja razgovorom. Usporedbom rezultata završne provjere znanja vidljivo je kako učenici koji su ponavljali uz pomoć kartica imaju bolje rezultate u rješavanju zadataka svih kognitivnih razina u odnosu na učenike koji su ponavljali razgovorom. Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom (IP-CORONA-2020-12-3798).

Ključne riječi: kartice za ponavljanje (flashcards), 11 godišnji učenici, online ponavljanje, učenje biologije

THE USE OF FLASHCARDS ELEVEN-YEAR-OLDS IN STUDYING NATURE

A. Skuhala

Primary school Breznički Hum, Breznički Hum 14, 42225 Breznički Hum, Croatia
(ana.skuhala@skole.hr)

The aim of the study is to determine how repetition by using flashcards in an online environment can contribute to a more successful process of learning and achievement as a consequence of learning. The research was conducted in 2022 as a part of the „Learning biology in epidemiologically adapted research environment“ project and it was based on three teaching units Food as a source of energy, Adaptations of living beings for life in water and Water properties based on field research. The sample consists of fifth-grade students who repeated the learning materials in online interactive form by using flashcards prepared in the CRAM system. The cards are linked to the concepts included in the educational outcomes - if students do not recognize the concept, they must return to learning this concept again at the end of the repetition. The control sample repeated the same teaching topics, whereby the teachers based the repetition on conversations with the students. After repetitions, students wrote the final exam. To collect information about learning with flashcards, a survey was used in which students evaluated their experiences and expressed impressions about learning with flashcards. Most students find studying with online flashcards practical and more simple than traditional repetitions through conversations. A comparison of the results shows that students who have been repeating with online flashcards achieved better results in solving tasks of all cognitive levels compared to students who repeated through conversations. This work has been supported in part by Croatian Science Foundation under the project (IP-CORONA-2020-12-3798).

Keywords: flashcards, eleven-year-olds, online repetition, learning biology

O-108

BIOAKUSTIKA - RADIONICA ZA MOTIVIRANE UČENIKE CENTRA IZVRSNOSTI ZA BIOLOGIJU

M. Slatki¹, M. Vidović², M. Šafran²

¹Druga gimnazija Varaždin, Hallerova aleja 6a, 42000 Varaždin, Hrvatska (mario.slatki@gmail.com),

²Prva gimnazija Varaždin, Petra Preradovića 14, 42000 Varaždin, Hrvatska (martina.vidovic1@skole.hr, marko.safran2@skole.hr)

U sklopu Centra izvrsnosti za biologiju Varaždinske županije motiviranim učenicima osnovnih i srednjih škola nudi se mogućnost za istraživačko, projektno i istaknuto učenje te za osmišljavanje i provedbu samostalnih istraživanja. Za pet učenika prvih razreda srednje škole u školskoj godini 2021./22. su organizirane tri radionice zajedničkog naziva "Tko to tamo pjeva? – bioakustikom do rješenja problema". Cilj radionica je osposobiti učenike za samostalno snimanje zvukova suvremenom opremom i analizu zvukova računalnim programom Raven Pro 1.6. Ukupno trajanje radionica je 12 školskih sati, a sastoje se od tri manje radionice: teoretska i praktična osnova, terenska nastava uz snimanje ptičjeg pjeva te analiza snimke putem sonograma i valnih zapisa. Ukupno su snimljene i analizirane 62 minute ptičjeg pjeva na kojima je kombinacijom sluha i vizualne analize sonograma determinirano 12 vrsta ptica pjevica. Učenici su radionice pratili sa zanimanjem i s lakoćom su savladali korištenje suvremenih informacijskih tehnologija na terenu i kod analize zvuka u učionici. Navedene vještine povezane su s gradivom prvog razreda srednje škole te omogućuju razumijevanje sadržaja poput ponašanja životinja, biotičkih ekoloških čimbenika i prilagodbi ptica na uvjete okoliša. Provodenjem radionica postignuti su osnovni ciljevi. Kod učenika je pobuđena prirodoslovna znanja i interes za bioakustikom, a osposobljeni su za samostalno prikupljanje zvučnih zapisa i analizu zvuka dostupnim programima. Svi pet učenika nakon radionice u mogućnosti je prepoznati barem pet ptičjih vrsta koje svakodnevno mogu čuti prema

pjevu. Kroz radionice su osposobljeni da samostalno ili uz mentorstvo nastavnika osmisle i provedu istraživanje analize vokalne komunikacije životinja.

Ključne riječi: bioakustika, centar izvrsnosti

BIOACOUSTICS - WORKSHOP FOR MOTIVATED STUDENTS OF THE CENTER OF EXCELLENCE FOR BIOLOGY

M. Slatki¹, M. Vidović², M. Šafran²

¹2nd Gymnasium Varaždin, Hallerova aleja 6a, 42000 Varaždin, Croatia (mario.slatki@gmail.com),

²1st Gymnasium Varaždin, Petra Preradovića 14, 42000 Varaždin, Croatia (martina.vidovic1@skole.hr; marko.safran2@skole.hr)

The Center of Excellence for Biology in Varaždin county offers opportunities for motivated primary and secondary school students for inquiry-based, project-based, and experiential learning, as well as for designing and conducting independent research. For five first grade high school students in the school year 2021/22 a workshop "Who sings there? - bioacoustics to solve the problem" was conducted. The aim of the workshop is to enable students to independently record sounds with modern equipment and analyze sounds with computer software. The total duration of the workshops is 12 school hours, and they consist of three smaller workshops: theoretical and practical basis, field teaching with recording of birdsong and analysis of the recording using sonograms and waveforms in Raven Pro 1.6. A total of 62 minutes of birdsong were recorded and analyzed, on which 12 species of songbirds were determined by a combination of hearing and visual sonogram analysis. The students followed the workshops with interest and easily mastered the use of modern information technologies in the field and in sound analysis in the classroom. The aforementioned skills are related to the first-grade high school curriculum and enable understanding of content such as animal behavior, biotic ecological factors and adaptation of birds to environmental conditions. By conducting the workshops, the basic goals were achieved. Student's scientific curiosity and interest in bioacoustics were induced, and they were trained to independently collect sound recordings and analyze them with available software. After the workshop, all five students can recognize at least five bird species that they can hear every day based on their song. Through the workshops, they are trained to independently or with the mentorship of a teacher design and conduct research on the analysis of animal vocal communication.

Keywords: bioacoustics, Center of Excellence

O-109

UČENJE O ENERGETSKIM UČINCIMA PREHRANE ŽIVIH BIĆA KROZ IG鲁

M. Štargl¹, M. Švelec²

¹OŠ "Veliko Trojstvo", Braće Radića 49, 43226 Veliko Trojstvo, Hrvatska (mihaela.stargl@skole.hr),

²OŠ "Ivana Kukuljevića Sakcinskog", Ivanec, Ak. Ladislava Šabana 17, 42240 Ivanec, Hrvatska (marina.svelec@skole.hr)

Učenje kroz igru tehnika je, koja uz pažljivo osmišljavanje može potaknuti aktivno učenje temeljeno na kritičkom promišljanju uz suradnju učenika. Uz dobro osmišljenu igru usvajanje nastavnih

sadržaja je učinkovitije jer pobuđuje interes učenika. Učenici uglavnom samostalno oblikuju primjere hranidbenih lanaca, ali se mogu uočiti poteškoće u razumijevanju prijenosa energije kroz hranidbeni lanac. Igra "Zvjezdica za zvjezdicom" razvijena je u sklopu projekta (IP-CORONA-2020-12-3798), kojeg sufinancira Hrvatska zaklada za znanost. Cilj igre je osigurati kod učenika razumijevanje hranidbenih odnosa te njihovo povezivanje s prijenosom energije kroz hranidbeni lanac. Igra je provedena s 50 učenika 8. razreda. Raspravom s učenicima temeljem njihovih odgovora na radnim listićima, osmišljenim u svrhu vrednovanja za učenje, utvrđeno je da su učenici uglavnom uspješno ostvarili odgojno-obrazovne ishode koji provjeravaju razumijevanje hranidbenih odnosa i energijskih učinaka prehrane. Na temelju riješenosti zadataka na radnim listićima utvrđeno je da su uspješno usvojeni koncepti Međuvisnost živih bića, Održavanje ravnoteže u prirodi te Pretvorbe energije na razini ekosustava. Manje poteškoće su vidljive u razumijevanju koncepta Prijenos energije kroz hranidbeni lanac. Na temelju analize učeničkih odgovora, prepostavlja se da bi boljem uspjehu pridonijela dubla rasprava temeljena na analizi učeničkih odgovora na pitanja po završetku igre.

Ključne riječi: učenje kroz igru, hranidbeni lanac, energija, ostvarivanje odgojno-obrazovnih ishoda

LEARNING ABOUT THE ENERGY EFFECTS OF NUTRITION OF LIVING BEINGS THROUGH GAME

M. Štargl¹, M. Švelec²

¹Primary School "Veliko Trostvo", Braće Radića 49, 43226 Veliko Trostvo, Croatia (mihaela.stargl@skole.hr), ²Primary School "Ivana Kukuljevića Sakićinskog", Ivanec, Ak. Ladislava Šabana 17, 42240 Ivanec, Croatia (marina.svelec@skole.hr)

Learning through carefully designed game is a technique that can encourage active learning based on critical thinking with the participation of students. Well-designed game is more effective for adoption of teaching content because it arouses interest in students. Students generally independently form examples of food chains, but there can be difficulties in understanding energy transfer through food chain. The game "Star after star" was developed as part of the project (IP-CORONA-2020-12-3798) cofinanced by the Croatian Science Foundation and was conducted with 50 8th graders. The aim of the game is ensuring that students understand nutritional relationships and their connection with energy transfer through food chain. By discussing with students based on their answers on worksheets, designed for the purpose of evaluation for learning, it was found that they mostly successfully achieved educational outcomes that test the understanding of nutritional relationships and energy effects of nutrition. Based on the completeness of the worksheets, it was found that the concepts of Interdependence of living beings, Maintaining natural balance and Energy conversion at the ecosystem level were successfully adopted. There were minor difficulties in understanding the concept of Energy transfer through food chain. After analysis of student responses, it is assumed that a deeper discussion based on the analysis of student responses at the end of the game would contribute to better success.

Keywords: Learning through game, food chain, energy, achieving educational outcomes

O-110

UČENJE O PRIJENOSU TVARI PRILAGOĐENO UČENICIMA RAZLIČITOG INTERESA

M. Švelec¹, O. Meštrović², I. Radanović³

¹OŠ "Ivana Kukuljevića Sakcinskog", Ivanec, Ak. Ladislava Šabana 17, 42243 Ivanec, Hrvatska (marina.svelec@skole.hr), ²OŠ „A. G. Matoš“, Ohridska 21, 32100 Vinkovci, Hrvatska (ozrenka.mestrovic@skole.hr), ³Bioološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ines.radanovic@biol.pmf.hr)

Zbog razlika učenika u predznanju, motivaciji, kognitivnim sposobnostima, tempu i stilu učenja potrebno je individualizirati poučavanje i učenje. Cilj istraživanja bio je analizirati uspješnost učenja koncepta *Prijenos tvari kroz tijelo živih bića* kod učenika 7. razreda osnovne škole s obzirom na razinu interesa. Tijekom 2022. godine učenici su učili temu *Kako do tvari potrebnih za život?* suradničkim učenjem, na način da su nakon učenja otkrivanjem u homogenim interesnim skupinama (slabi, umjereni, znatni i izraziti interes) formirali heterogene grupe unutar kojih su izmjenjivali rezultate istraživanja i izrađivali zajednički prikaz rezultata. Na osnovu poučavanja fokus grupe najviše je učenika bilo u interesnoj skupini umjerenoj interesa, a temeljem opažanja učitelja uz rješavanje radnih materijala ostvarili su vrlo dobro razumijevanje. Uočeni su problemi u razlikovanju procesa difuzije i osmoze kod učenika slabog interesa. Na osnovu provedenog poučavanja i učenja može se zaključiti da suradničko učenje uz diferencirane zadatke za učenike različitog interesa doprinosi boljem razumijevanju poučavanog biološkog koncepta. Vaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom (IP-CORONA-2020-12-3798).

Ključne riječi: Učenje otkrivanjem, različiti interesi učenika, suradničko učenje, konceptualno razumijevanje

SUBSTANCE TRANSFER LEARNING ADAPTED TO STUDENTS OF DIFFERENT INTERESTS

M. Švelec¹, O. Meštrović², I. Radanović³

¹Primary School "Ivana Kukuljevića Sakcinskog", Ivanec, Ak. Ladislava Šabana 17, 42243 Ivanec, Croatia (marina.svelec@skole.hr), ²Primary School „A. G. Matoš“, Ohridska 21, 32100 Vinkovci, Croatia (ozrenka.mestrovic@skole.hr), ³Department of Biology, University of Zagreb, Faculty of Science, Rooseveltov trg 6, Zagreb, Croatia (ines.radanovic@biol.pmf.hr)

Due to students' differences in prior knowledge, motivation, cognitive abilities, pace and learning style, it is necessary to individualize teaching and learning. The aim of the research was to analyze the success of learning the concept of Transfer of substances through the body of living beings among students of the 7th grade of elementary school, considering the level of interest. During 2022, students studied the topic How to get substances necessary for life? collaborative learning, in such a way that after learning by discovery in homogeneous interest groups (weak, moderate, significant and strong interest), they formed heterogeneous groups within which they exchanged research results and created a joint presentation of the results. Based on the teaching of the focus group, the majority of students were in the interest group of moderate interest, and based on the teacher's observations, they achieved a very good understanding by solving the work materials. Problems were observed in differentiating between diffusion and osmosis processes in students with low interest. Based on the conducted teaching and learning, it can be concluded that collaborative learning with differentiated tasks for students with different interests contributes to a better understanding of the taught biological concept. This work was co-financed by the Croatian Science Foundation project (IP-CORONA-2020-12-3798).

Keywords: discovery learning, different interests of students, collaborative learning, conceptual understanding.

O-111

BUBO VIRTUALNA UČIONICA ZA 3. RAZRED GIMNAZIJE KAO PODRŠKA ZA RAZVOJU METAKOGNITIVNIH ZNANJA I VJEŠTINA

K. Trstenjak Šifković¹, D. Horvat¹, M. Marceljak Ilić²

¹Srednja škola Čakovec, Jakova Gotovca 2, 40000 Čakovec, Hrvatska (kristina.trstenjak@skole.hr, denis.horvat3@skole.hr), ²XV. gimnazija, Jordanovac ul. 8, 10000 Zagreb, Hrvatska (mmarceljak@mioc.hr)

Pandemija COVID-19 postavila je nastavnicima izazov kako u online okruženju prikladno poučavati i vrednovati usvojenost znanja i prirodoznanstvenih vještina koje ispituju proceduralne i metakognitivne dimenzije znanja učenika. Ova misao je ujedno pokrenula projekt „Učenje biologije u epidemiološki prilagođenom istraživačkom okruženju“ kao dio projekta „zdravstveni, ekonomski i edukacijski aspekti COVID-19 pandemije“ (IP-CORONA-2020-12). Cilj našeg istraživanja je utvrditi učinkovitost korištenih materijala nastalih u sklopu projekta u rješavanju zadataka koji ispituju proceduralne i metakognitivne razine znanja u odnosu na tradicionalne metode poučavanja. Razvoj navedenih vještina kod učenika temeljen je na upotrebi materijala priređenih u virtualnoj učionici te je evaluiran putem online pisanih provjera znanja. Provedene su dvije evaluacije koncepata. Provedena je evaluacija putem online pisane provjere znanja za 3. razred gimnazije u rujnu 2021. među učenicima 4. razreda koji su gradivo tog razreda većinom odradivali u online okruženju frontalnim oblikom nastave uz metodu usmenog izlaganja. Rezultati iste uspoređeni su s rezultatima provjere provedene u lipnju 2022. među učenicima 3. razreda koji su gradivo odradivali pomoću BUBO materijala iz virtualne učionice. Provedene pisane provjere znanja ispitivale su proceduralne i metakognitivne razine znanja kroz iste koncepte koje su i kontrolna i eksperimentalna generacija ispitnika usvojile iz tema: 1.Regulacija i održavanje homeostaze na razini stanice i organizma, 2.Evolucijski razvoj, 3.Prilagodbe na ekstremne uvjete, a za svaku temu pripremljena su pitanja triju kognitivnih razina znanja. Provedenim istraživanjem zaključeno je kako su BUBO materijali doprinijeli lakšem usvajaju temu i uspješnijoj rješenosti zadatka viših kognitivnih razina na pisanoj provjeri znanja.

Ključne riječi: BUBO, online nastava, vrednovanje, metakognitivno znanje

BUBO, A VIRTUAL CLASSROOM FOR 11TH GRAMMAR SCHOOL STUDENTS AS A SUPPORT IN THE DEVELOPMENT OF METACOGNITIVE KNOWLEDGE AND SKILLS

K. Trstenjak Šifković¹, D. Horvat¹, M. Marceljak Ilić²

¹Srednja škola Čakovec, Jakova Gotovca 2, 40000 Čakovec, Croatia (kristina.trstenjak@skole.hr, denis.horvat3@skole.hr), ²15th Gymnasium, Jordanovac ul. 8, 10000 Zagreb, Croatia (mmarceljak@mioc.hr)

COVID-19 pandemic has imposed numerous challenges upon teachers on how to appropriately teach and assess the acquisition of knowledge and natural science competencies that involve procedural and metacognitive knowledge in the online environment. This idea developed the project “Learning biology in an epidemiologically adapted research environment” as a part of the Thematic Call for Research Projects “Health, Economic and Educational Aspects of the COVID-19 Pandemic” (Call identifier: IP-CORONA-2020-12). The aim of our investigation is to determine the

efficiency of used material and methods that were developed during the project based on modern methods and strategies which are focused on students with a common purpose of teaching biological concepts and that allow adequate preparation of students for solving higher cognitive tasks. The evaluation on two groups was done. The tested control group were 12th grade students who were thought during 11th grade in a virtual classroom using the traditional way of teaching. The results were compared with the experimental group; 11th grade students taught with online material in BUBO virtual classroom during online teaching and evaluated in June 2022. Both groups were thought the same concepts. Written exams were evaluating students' competencies required for solving tasks at higher procedural and metacognitive levels within the concept that includes themes: 1. Homeostasis regulation within cell and organism, 2. Evolutionary development of adaptations, 3. Adaptations to extreme living conditions. The exam includes questions for each theme with the evaluation of three levels of cognitive knowledge. The conducted research concluded that the BUBO materials contributed to easier studying of topics and more successful solving of tasks of higher cognitive levels on the test.

Keywords: BUBO, virtual classroom, evaluation, metacognitive knowledge

O-112

KAKO POUČAVATI O ZAŠTITI PRIRODE U KONTEKSTU GLOBALNIH KLIMATSKIH PROMJENA?

H. Valečić¹, M. Bastić²

¹OŠ Lovre pl. Matačića, Laurenčića ul. 1, 10000 Zagreb, Hrvatska (helena.valecic@skole.hr), ²OŠ Rudeš, Jablanska 51, 10000 Zagreb, Hrvatska (marijana.bastic@skole.hr)

Cilj je rada utvrditi doprinosi li opažanje promjena u prirodi i kritičko promišljanje uz simulacije promjena na Zemlji tijekom vremena, razumijevanju koncepta globalnih klimatskih promjena u nastavi Prirode. Istraživanje je provedeno 2022. godine na uzorku 100 učenika 6. razreda. Temeljem materijala za poučavanje i samostalno učenje na BUBO platformi, učenike se vodilo kroz terensko istraživanje i prikupljanje podataka od starijih sugrađana o promjenama u njihovu okolišu unazad nekoliko desetljeća te učenje uz simulacije procesa koji dovode do promjena. Provjerom predkonceptcija, uočena je miskonceptcija o učinku staklenika kao izrazito loša pojava i mišljenje da su klimatske promjene isključivo posljedica antropogenog utjecaja. Pristup poučavanju o klimatskim promjenama temeljio se na uspoređivanju pozitivnih i negativnih posljedica učinka staklenika za opstanak života na Zemlji te kako razlučiti ljudski utjecaj na klimu i prirodne procese koji mogu doprinijeti promjeni klime. Rezultati završne pisane provjere ukazuju napredak u razumijevanju pojava i procesa vezanih uz globalno zatopljenje i klimatske promjene, uz ispravljanje miskonceptcija i bolje povezivanje opaženih promjena na lokalnoj razini s procesima koji se odvijaju na globalnoj razini. Učenjem su uspješno osviješteni načini kojima svaki učenik, a time i svaki pojedinac, može doprinijeti usporavanju globalnih klimatskih promjena.

Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom (IP-CORONA-2020-12-3798).

Ključne riječi: opažanje, međugeneracijska iskustva, terenska nastava, osnovna škola, 6.razred

TEACHING ABOUT NATURE PROTECTION IN THE CONTEXT OF GLOBAL CLIMATE CHANGE

H. Valečić¹, M. Bastić²

¹Primary school Lovre pl. Matačić, Laurenčićva Street 1, 10000 Zagreb, Croatia (helena.valecic@skole.hr), ²Rudeš Elementary School, Jablanska 51, 10000 Zagreb, Croatia (marijana.bastic@skole.hr)

The aim of the paper is to determine whether the observation of changes in nature and critical reflection along with simulations of changes on Earth over time contribute to the understanding of the concept of global climate change in teaching Nature. The research was conducted in 2022. on a sample of 100 12 years old students. Based on materials for teaching and independent learning on the BUBO platform, students were guided through field research and data collection from older fellow citizens about changes in their environment over the past several decades, and learning with simulations of processes that lead to changes. By checking preconceptions, a misconception about the greenhouse effect as an extremely bad phenomenon and the opinion that climate change is only the result of anthropogenic influence was observed. The approach to teaching about climate change was based on comparing the positive and negative consequences of the greenhouse effect for the survival of life on Earth and how to distinguish between human influence on the climate and natural processes that can contribute to climate change. The results of the final written examination indicate progress in the understanding of phenomena and processes related to global warming and climate change, with the correction of misconceptions and a better connection of the observed changes at the local level with the processes taking place at the global level. Through learning, they have successfully become aware of the ways in which each student, and therefore each individual, can contribute to the slowing down of global climate change. This work was co-financed by the Croatian Foundation for Science project (IP-CORONA-2020-12-3798).

Keywords: observation, intergenerational experiences, field teaching, elementary school, 12 years old students

O-113

USPJEŠNOST ASIO MODELA UČENJA DAROVITIH UČENIKA NA NASTAVI PRIRODE U 6. RAZREDU

D. Vrbanović Lisac¹, I. Radanović²

¹V. gimnazija, Ul. Vjekoslava Klaića 1, 10000, Zagreb, Hrvatska (doroteavrbanovic@gmail.com),

²Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ines.radanovic@biol.pmf.hr)

Fleksibilni hibridni model poučavanja i učenja, ASIO model (Aktivnosti Simuliranog Istraživačkog Otkrivanja u biologiji) koji podržava iskustveno učenje prilagođen je online nastavi i nastavi u učionici. Posebna je pažnja posvećena izradi materijala za darovite učenike kako bi ostvarili najbolje napretke u skladu sa svojim karakteristikama. Za identifikaciju darovitih učenika korištene su Skale za procjenu potencijalne darovitosti u području prirodoslovlja. Učenici koji se smatraju darovitim, upućeni su u rješavanje dodatnih materijala, dok su na platformi BUBO materijali bili dostupni svim učenicima. U svrhu provjere učinka poučavanja i učenja prije i nakon uvođenja ASIO modela provedeno je testiranje. U rujnu 2021. provjeravana je usvojenost ishoda 6. razreda, prije uvođenja ASIO modela, na 61 učenika 7. razreda osnovne škole. Nakon toga su učitelji provodili poučavanje nove generacije učenika 6. razreda temeljeno na ASIO modelu te je u lipnju 2022. testiranju pristupilo 118 učenika. Analizom rezultata dviju različitih generacija, jedne poučavane na klasičan način, a druge primjenom ASIO modela, vidljivo je da učenici ostvaruju prosječno za 10 % bolje rezultate nakon učenja i poučavanja temeljenog na ASIO modelu u odnosu na klasično poučavanje.

Analizom izvještaja o pristupu BUBO materijalima vidljivo je da interaktivnim materijalima pristupa, ovisno o zahtjevnosti, od 17 do 63 učenika koji su visoko motivirani za učenje iako nisu svi procijenjeni kao daroviti. Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom (IP-CORONA-2020-12-3798).

Ključne riječi: daroviti učenici, hibridni model poučavanja uz Moodle, istraživačko učenje, učenje otkrivanjem, uspješnost učenja, osnovna škola

SUCCESS OF ASIO'S LEARNING MODEL FOR GIFTED TWELVE-YEAR OLD BIOLOGY STUDENTS

D. Vrbanović Lisac¹, I. Radanović²

¹5th Gymnasium, Klaićeva 1, 10000 Zagreb, Croatia (dorotea.vrbanovic@skole.hr), ²Department of Biology, University of Zagreb, Faculty of Science, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

A flexible hybrid model of teaching and learning, the ASIO model (Activities of Simulated Research Discovery in Biology), which supports the empirical study, was adapted for in-class and online learning. Special attention was given to creating materials for gifted students so that they can advance academically in accordance with their characteristics. Scales for assessing the potential giftedness of students in the STEM fields were used to identify gifted students. Students who were considered potentially gifted were instructed to partake in additional materials for in-class teaching, which were available to everyone on the BUBO platform. In order to asses the impact of teaching and learning before and after the introduction of the ASIO model, students were tested. In September 2021, the acquisition of educational outcomes prior to the application of the ASIO model was tested on 61 thirteen-year old students. Thereafter, teachers taught a new generation of twelve-year old students based on the ASIO activities, and in June 2022, 118 students participated in the final assessment. The analysis of the results of two different generations, one taught with in-class teaching and the other by applying the ASIO model, showed that students were better by 10% after learning and teaching based on the ASIO model in relation to in-class teaching. Students' access to BUBO materials was analysed and the results show that 17 to 63 students accessed interactive materials, depending on the level of knowledge, although not all were assessed to be gifted. This work was co-founded by the Croatian Science Foundation project (IP-Corona-2020-12-3798).

Keywords: gifted students, hybrid teaching model with Moodle, research learning, discovery learning, learning performance, elementary school

O-114

UČENJE BIOLOGIJE HIBRIDNIM MODELOM KOJI UVAŽAVA RAZLIČITE PROFILE UČENJA: DAROVITI UČENICI I DOMINANTNI TIP OSOBNOSTI UČENIKA

D. Vrbanović Lisac

V. gimnazija, Ul. Vjekoslava Klaića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska (doroteavrbanovic@gmail.com)

Cilj istraživanja bio je utvrditi uspješnost učenika osnovne škole u rješavanju interaktivnih online zadataka s obzirom na profil učenja kao odraz motiviranosti učitelja i učenika. U skladu sa sličnim istraživanjima, dio diferencijacija učenja pripremljen je s obzirom na darovitost i dominantan tip osobnosti. Izrađeni materijali za klasičnu nastavu u učionici prilagođeni su za online učenje na

platformi BUBO (Moodle sustav, MoD SRCE). U skladu s preferencijama učenja dominantnih tipova osobnosti pripremljeni su interaktivni zadaci za ponavljanje u obliku igra za učenje, najčešće druge kognitivne razine. Za darovite učenike izrađivani su zadaci viših kognitivnih razina i veće zahtjevnosti. Tijekom školske godine bilo je kontinuirano aktivno, u online učenju, oko 1500 učenika. Prema statističkoj analizi sudjelovanja polaznika, izborne online aktivnosti prihvata većina učenika koje su učitelji usmjerili na korištenje materijala i ti učenici se višestruko vraćaju materijalima. Na aktivnosti učenika, kao i razinu postignuća ostvarenu online aktivnostima najviše je utjecala motiviranost učenika, koja je najvećim dijelom odraz motiviranosti i angažmana učitelja uključenih u projekt. Učenici koji su procijenjeni kao daroviti rješavaju zadatke s velikom uspješnosti, dok kod ostalih učenika uspješnost varira ovisno o zahtjevnosti zadatka. Na korištenje materijala koji su prilagođeni različitim tipovima osobnosti veći utjecaj ima prijašnje iskustvo korištenja sličnih materijala u odnosu na atraktivnost materijala. Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom (IP-CORONA-2020-12-3798).

Ključne riječi: osnovna škola, hibridni model poučavanja, daroviti učenici, petofaktorski model ličnosti (Big - Five)

LEARNING BIOLOGY BY A HYBRID MODEL THAT RESPECTS DIFFERENT LEARNING PROFILES: GIFTED STUDENTS AND THE DOMINANT PERSONALITY TYPE OF STUDENTS

D. Vrbanović Lisac

5th Gymnasium, Kliačeva 1, 10000 Zagreb, Croatia (dorotea.vrbanovic@skole.hr)

The aim of the study was to determine the success of elementary school pupils in addressing interactive online tasks in relation to their learning profiles as a reflection of the motivation of teachers and students. According to similar research, part of the learning differentiation is prepared with regard to talent and a dominant type of personality. Designed in-class materials were adapted for online learning on the BUBO platform (Moodle system, MoD SRCE). In line with the preferences of learning of dominant types of personality, interactive review assignments were prepared in the form of learning games, which were often second cognitive level. For gifted students, assignments of higher cognitive levels and higher demands have been made. During the school year, about 1500 students were continuously active in online learning. According to statistical analysis of student participation, the majority of students who were directed by teachers readily participate in additional online activities and repeatedly return to those activities. Students' activities, as well as the level of achievement accomplished online, were the most affected by the motivation of students, which is largely a reflection of the motivation and engagement of teachers involved in the project. Students who have been assessed as gifted are showing great results, while others vary according to the task difficulty. When using materials that are adapted according to different personality type, previous experience with similar materials has bigger influence compared to the attractiveness of the materials. This work was co-financed by the Croatian Science Project Foundation (IP-Corona-2020-12-3798).

Keywords: elementary school, hybrid teaching model, gifted students, the Big Five Personality Model (Big - Five)

8. SIMPOZIJ HRVATSKOG DRUŠTVA ZA BILJNU BIOLOGIJU 8th SYMPOSIUM OF THE CROATIAN SOCIETY OF PLANT BIOLOGISTS

O-115

OSMOTROFIJA KOKOLITOFORIDA I CIKLUS UGLIKA U MORU

J. Godrijan¹, D. T. Drapeau², W. M. Balch²

¹Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (jelena.godrijan@irb.hr),

²Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, East Boothbay, 60 Bigelow Dr, East Boothbay, ME 04544, Maine, SAD

Kokolitoforidi su jednostanične, kalcificirajuće morske alge koje značajno utječu na kemiju morske vode i jedan su od najvažnijih pokretača globalnog ciklusa ugljika. Kokolitoforidi su preživjeli veliko evolucijsko usko grlo tijekom masovnog izumiranja K/PG koje je bilo povezano s dugim razdobljem tame. Osim toga, neke vrste koje žive duboko u subeufotičnoj zoni uspijevaju pri intenzitetima svjetlosti ispod onih potrebnih za fotosintezu. Fagotrofija se smatra potencijalnim mehanizmom koji bi mogao podržati preživljavanje u uvjetima slabog osvjetljenja i objasniti evolucijsku povijest i ekološku nišu ispod eufotičke zone. Mi smo postavili hipotezu da bi unos otopljenog organskog ugljika, osmotrofija, mogao pružiti istu potporu preživljavanju u mraku. Stoga smo izveli niz dugotrajnih i kratkoročnih eksperimenata s različitim otopljenim organskim spojevima, uključujući njihove radioaktivno označene oblike, koji su nam omogućili da odredimo potencijal kokolitoforida da metaboliziraju širok raspon organskih tvari, njihovu sposobnost dugotrajnog preživljavanja u mraku, kao i udio i mjesto ugljika fiksiranog u njihovim stanicama. Otkrili smo da veliki niz organskih spojeva, unatoč sporim stopama unosa, pruža mogućnost za preživljavanje u mraku. Dodatno, povezali smo biološku i karbonatnu pumpu putem apsorpcije otopljenog organskog ugljika, što ima značajne implikacije na paradigme biološke i alkalne pumpe ciklusa oceanskog ugljika.

Ključne riječi: kokolitoforidi, ciklus ugljika, osmotrofija, acetat, manitol, glicerol

COCCOLITHOPHORE OSMOTROPHY AND THE OCEAN CARBON CYCLE

J. Godrijan¹, D. T. Drapeau², W. M. Balch²

¹Ruđer Bošković Institute, Bijenička str. 54, 10000 Zagreb, Croatia (jelena.godrijan@irb.hr),

²Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, 60 Bigelow Dr, East Boothbay, ME 04544, Maine, USA

Coccolithophores are unicellular, calcifying marine algae that fundamentally affect the chemistry of seawater and are one of the most important drivers of the global carbon cycle. Coccolithophores have survived a major evolutionary bottleneck during the K/PG mass extinction that was associated with a long period of darkness. In addition, some deep-dwelling species in the sub-euphotic zone thrive at light intensities below those required for photosynthesis. Phagotrophy is considered as a potential mechanism that could support survival in low light conditions and explain the evolutionary history and ecological niche below the euphotic zone. We posed a hypothesis that the uptake of dissolved organic carbon, osmotrofija, could provide the same support for survival in darkness. We performed a series of long- and short-term experiments with various dissolved organic compounds, including their radiolabel forms, that allowed us to determine the potential of coccolithophores to

metabolize a wide range of organics, their ability to survive long-term in darkness, as well as the fraction and location of carbon fixed into their cells. We found that large array of organic compounds, despite slow uptake rates for individual organic compounds, sustain growth in darkness. Additionally, we linked the biological and carbonate pump via dissolved organic carbon uptake, which has significant implications for the biological and alkalinity pump paradigms of the ocean carbon cycle.

Keywords: Coccolithophores, carbon cycle, osmotrophy, acetate, mannitol, glycerol

SIMPOZIJ „OKOLIŠNA DNA“
SYMPOSIUM „ENVIRONMENTAL DNA“

O-116

Uvodno predavanje / Introductory lecture

PROCJENA KAKVOĆE VODA DETEKCIJOM OKOLIŠNE DNA

A. Bubić¹, T. Pokorn², S. Vrečko², I. Sabolić¹, L. Markulin¹, M. Dananić¹, T. P. Muha²

¹Labena d.o.o, Jaruščica 7, 10000 Zagreb, Hrvatska (ante.bubic@labena.hr, iva.sabolic@labena.hr, lucija.markulin@labena.hr, mario.dananic@labena.hr), ²BIA Separation, Teslova 30, 1000 Ljubljana, Slovenija (tine.pokorn@biaseparationscro.com, sabina.vrecko@biaseparationscro.com, teja.muha@biaseparationscro.com)

U posljednjih nekoliko desetljeća uspostavljeno je nekoliko direktiva kako bi se zaustavilo daljnje pogoršanje kakvoće voda te vratio dobro stanje slatkih i morskih voda. Očuvanje dobrog stanja voda bitno je za detekcijom funkciranje flore i faune. Zbog povećane potrebe za brzom procjenom biološkog statusa vode, fokus je usmjeren na razvoj molekularnih metoda za indirektnu detekciju vrsta koristeći okolišnu DNA. Izolacija te sekvenciranje okolišne DNA omogućuju brzo određivanje vrsta iz uzorka vode. Koriste se dva pristupa. Prvi pristup otkriva vrste od interesa pomoću qPCR ili ddPCR, što omogućuje rano otkrivanje invazivnih vrsta te otkrivanje i praćenje endemičnih, teško uhvatljivih te bioindikatorskih vrsta. Drugi pristup usmjeren je na otkrivanje više vrsta pomoću metabarkodiranja. Ovaj pristup se može primijeniti za redovitu procjenu kakvoće voda i procjenu biološke raznolikosti vrsta. Razvijamo poseban pristup praćenja kakvoće voda koji je usmjeren na prisutnosti ribljih bioindikatorskih vrsta. Bioindikatori su organizmi čija prisutnost i brojnost ukazuju na kakvoće okoliša. Odabrane vrste riba odražavaju različite razine kvalitete vode: loša (*Tinca tinca*), srednja (*Esox lucius*) i dobra (*Thymallus thymallus*). Početnice i sonde osmišljene su te optimizirane za otkrivanje prisutnosti odabranih bioindikatorskih vrsta u svrhu procjene statusa kakvoće vode.

Ključne riječi: okolišna DNA, eDNA, kvaliteta voda, ddPCR, metabarkodiranje

WATER QUALITY ASSESSMENT UTILISING ENVIRONMENTAL DNA DETECTION TECHNIQUE

A. Bubić¹, T. Pokorn², S. Vrečko², I. Sabolić¹, L. Markulin¹, M. Dananić¹, T. P. Muha²

¹Labena d.o.o, Jaruščica 7, 10000 Zagreb, Croatia (ante.bubic@labena.hr, iva.sabolic@labena.hr, lucija.markulin@labena.hr, mario.dananic@labena.hr), ²BIA Separation, Teslova 30, 1000 Ljubljana, Slovenia (tine.pokorn@biaseparationscro.com, sabina.vrecko@biaseparationscro.com, teja.muha@biaseparationscro.com)

In the last few decades, several directives were established to stop further deterioration of water quality and restore the good status of fresh and marine waters. Preservation of good water status is essential for the functionality of flora and fauna. Due to the increasing need to quickly assess biological water status, the focus has been turned to developing molecular methods for indirect detection of species via DNA present in the environment. Isolation and sequencing of environmental DNA allows rapid determination of species from the water sample. Two approaches are used; the first approach detects species of interest by using qPCR or ddPCR, which allows early detection of invasive species and the detection and monitoring of endemic, elusive, and bioindicator species. The second approach focuses on multi-species detection using metabarcoding

techniques. This approach can be applied for regular water quality assessment and species biodiversity evaluation. We are developing a species-specific approach to monitoring water quality by detecting the presence of fish bioindicator species. Bioindicators are organisms whose presence and abundance indicate the quality of the environment. Fish species that have been selected reflect different levels of water quality: poor (*Tinca tinca*), medium (*Esox lucius*), and good (*Thymallus thymallus*). Primers and probes have been designed and optimized to detect the presence of selected bioindicator species to estimate water quality status.

Keywords: environmental DNA, eDNA, water quality, ddPCR, metabarcoding

O-117

STATUS VEZE: KOMPPLICIRANO JE - LJUBAVNA PRIČA KORALJA I MIKROBA

A. Čačković¹, P. Ankon², P. Kružić², S. Orlić¹

¹Institut "Ruđer Bošković", Bijenička c. 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (acackov@irb.hr), ²Biološki odsjek, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Koraljni grebeni su među najraznolikijim i najsloženijim ekosustavima na svijetu. Koralji, sastavni dio grebena, osim simbiotskih algi, su holobioti koji ugošćuju raznoliku zajednicu mikroorganizama sastavljenih od bakterija, arheja, gljiva, protista i mikroskopskih eukariota. Mikroorganizmi su primarni pokretači biogeokemijskog kruženja na koraljima, a pod utjecajem promjena u okolišu njihove zajednice prolaze kroz promjene u sastavu što može uzrokovati izbjeljivanje, bolest te na kraju i samu smrt koralja. U okviru ovog istraživanja praćena je bakterijska zajednica, te promjene u njoj, u zdravim i nekrotičnim simbiotskim *Cladocora caespitosa*, *Madracis pharensis*, *Balanophyllia europaea*, te u nesimbiotskim koraljima *Leptopsammia pruvoti*, *Eunicella cavolini* i *Paramuricea clavata*. Uzorci koralja uz uzorce morske vode prikupljeni su unutar zaštićenih područja otoka Mljeta i Kornata. Kompozicije bakterijskih zajednica proučavane su pomoću sekvenciranja 16S rDNA. Bakterijske zajednice u koraljima i morskoj vodi su se razlikovale, pri čemu je zajednica koralja bila raznolikija. Bakterije koljena Proteobacteria su dominirale u svim prikupljenim uzorcima. Bakterije iz koljena Cyanobacteria i Verrucomicrobiota unutar zajednice morske vode te Acidobacteriota, Actinobacteriota i Planctomycetota unutar koraljnih zajednica bile su prisutne u velikoj brojnosti uz visokoprисутne bakterije koljena Bacteroidota.

Ključne riječi: koralji, bakterijske zajednice, nekroza, 16S rDNA

RELATIONSHIP STATUS: IT'S COMPLICATED - THE LOVE STORY OF CORALS AND MICROBES

A. Čačković¹, P. Ankon², P. Kružić², S. Orlić¹

¹Ruđer Bošković Institute, Bijenička c. 54, 10000 Zagreb, Croatia (acackov@irb.hr), ²Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Coral reefs are among the most biodiverse and complex ecosystems in the world. Corals, an integral part of reefs, in addition to symbiotic algae, are holobionts who host a diverse community of microorganisms composed of bacteria, archaea, fungi, protists, and microscopic eukaryotes. Microorganisms, primary drivers of biogeochemical cycling on corals, under the influence of

environmental change, elapse shifts in community composition and, therefore, may cause bleaching, disease, and in the end, mortality of coral hosts. This study examined the bacterial community structure and its changes in the healthy and necrotic symbiotic corals species *Cladocora caespitosa*, *Madracis pharensis*, and *Balanophyllia europaea*, as well as non-symbiotic species *Leptopsammia pruvoti*, *Eunicella cavolini* and *Paramuricea clavata*. Coral samples alongside seawater samples have been collected within the protected areas of the Islands Mljet and Kornati. The community compositions were studied using 16S rDNA sequencing. Bacterial communities in corals and seawater differed, with the coral community being more diverse. Proteobacteria dominated all collected samples. Cyanobacteria and Verrucomicrobiota within the seawater community and Acidobacteriota, Actinobacteriota, and Planctomycetota within coral communities appeared in high abundance alongside Bacteroidota, which were highly present in all samples.

Keywords: corals, bacterial communities, necrosis, 16S rDNA

O-118

RAZNOLIKOST PROTISTA U PERIFITONU SEDRENIH BARIJERA

A. Kulač¹, P. Žutinić¹, V. Gulin¹, R. Matoničkin Kepčija¹, M. Sertić Perić¹, S. Orlić^{2,3}, I. Sviličić Petrić², T. Marković⁴, M. Šušnjara¹, M. Gligora Udović¹

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (antonija.kulas@biol.pmf.hr, petar.zutinic@biol.pmf.hr, vesna.gulin@biol.pmf.hr, renata.matonickin.kepcija@biol.pmf.hr, mirela.sertic.peric@biol.pmf.hr, mirela.susnjara@biol.pmf.hr, marija.gligora.udovic@biol.pmf.hr), ²Institut "Ruđer Bošković", Bijenička c. 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (acakov@irb.hr), ³Centar izvrsnosti za znanost i tehnologiju (STIM), 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Hrvatski geološki institut, Zavod za hidrogeologiju i inženjersku geologiju, Sachsova 2, 10000 Zagreb, Hrvatska (tmarkovic@hgi-cgs.hr)

Protisti imaju brojne ekološke funkcije u vodenim staništima, ali za razliku od drugih vodenih organizama (npr. makrobeskralješnjaka) njihova biološka raznolikost je još uvijek slabije istražena. Općenito, poznавање bioraznolikosti protista ima ključnu ulogу u уčinkovитом upravljanju и очувању slatkovodnih rječnih sustava te u razumijevanju specifične uloge obraštajnih zajednica (perifiton). Rijeka Krka (južna Hrvatska) jedna je od specifičnih krških rijeka koju karakterizira zemljopisna i hidrološka posebnost, raznovrsnost staništa i velika biološka raznolikost vodenih organizama, posebice skupine protista. Glavni cilj istraživanja bio je dobiti detaljan uvid u strukturu zajednice protista u perifitonu i utvrditi razlike u njenoj raznolikosti duž toka rijeke Krke. Struktura zajednice protista istraživana je sekvensiranjem amplikona hipervarijabilne V9 regije gena 18S rRNA. Raznolikost skupine je istražena pomoću mjera alfa i beta raznolikosti. Alfa raznolikost pokazala je rastući trend od uzvodnog prema nizvodnom dijelu rijeke. Što se tiče beta raznolikosti, ona je ukazala na grupiranje uzoraka prema lokacijama, što je potvrđeno PERMANOVA permutacijskim statističkim testom. Kombinacija alfa i beta mjera raznolikosti može pružiti detaljniji uvid u raznolikost skupine protista, ali također i upozoriti na smanjenje raznolikosti vrsta, te bi se trebala implementirati u buduće upravljanje i zaštitu vodenih krških staništa/ekosustava.

Ključne riječi: protisti, raznolikost, obraštajna zajednica (perifiton), krška rijeka, hipervarijabilna regija V9

PROTIST DIVERSITY IN PERIPHERYTON OF TUFA-DEPOSITING SYSTEM

A. Kulaš¹, P. Žutinić¹, V. Gulin¹, R. Matoničkin Kepčija¹, M. Sertić Perić¹, S. Orlić^{2,3}, I. Sviličić Petrić², T. Marković⁴, M. Šušnjara¹, M. Gligora Udovičić¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (antonija.kulas@biol.pmf.hr, petar.zutinic@biol.pmf.hr, vesna.gulin@biol.pmf.hr, renata.matonickin.kepcija@biol.pmf.hr, mirela.sertic.peric@biol.pmf.hr, mirela.susnjara@biol.pmf.hr, marija.gligora.udovic@biol.pmf.hr), ²Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (sandi.orlic@irb.hr, ines.petric@irb.hr), ³Center of Excellence for Science and Technology Integrating Mediterranean Region (STIM), 10000 Zagreb, Croatia (sandi.orlic@irb.hr), ⁴Croatian Geological Survey, Department of Hydrogeology and Engineering Geology, Sachsova 2, 10000 Zagreb, Croatia (tmarkovic@hgi-cgs.hr)

Protists serve numerous ecological functions in aquatic habitats, but they receive less attention than other aquatic organisms (e.g. macroinvertebrates) and their biodiversity is still poorly investigated. Generally, understanding protist diversity is critical to the specific role of freshwater periphyton in effective management and conservation of freshwater river resources. The Krka River (southern Croatia) is a specific karst river, characterized by its geographic and hydrological uniqueness, habitat heterogeneity and the high biodiversity of aquatic organisms, especially protists. The main aim of the study was to obtain a detailed overview of protist community structure in the periphyton and to determine the differences in protist diversity along the Krka River. Protist community structure was examined by amplicon sequencing of hypervariable V9 region of the 18S rRNA gene. Diversity was explored using measures of alpha and beta diversity. Alpha diversity showed an increasing trend in the downstream direction of the River. Regarding beta diversity, the strong location effect, or grouping of samples by location, was confirmed by the PERMANOVA permutation test. The combination of alpha and beta diversity can provide deeper insight into protist diversity patterns, but can also indicate potential decline in species diversity, and should therefore be implemented in future management and protection of aquatic karst habitats.

Keywords: protists, diversity, periphyton, karst river, hypervariable region V9

O-119

PRAĆENJE PROMJENA MIKROBNIH ZAJEDNICA TIJEKOM SALINIZACIJE KORIŠTENJEM E-DNA METABARKODIRANJA

L. Selak¹, T. Marković², P. Pjevac^{3,4}, A. Čačković¹, M. Mitrović¹, K. Kajan^{1,5}, S. Orlić^{1,5}

¹Institut "Ruđer Bošković", Bijenička c. 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (acackov@irb.hr), ²Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (lorenaselak68@gmail.com), ³Hrvatski geološki institut, Milan Sachs 2, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Joint Microbiome Facility of the Medical University of Vienna and the University of Vienna, Djerassiplatz 1, Beč, Austrija, ⁵University of Vienna, Department of Microbiology and Ecosystem Science, Djerassiplatz 1, 1030 Beč, Austrija, ⁵Centar izvrsnosti za znanost i tehnologiju-Integracija Mediteranske Regije (STIM), Poljička cesta 35, 21000 Split, Hrvatska

Salinizacija obalnih slatkvodnih sustava predstavlja trenutni problem vodnih resursa u mediteranskoj regiji. Posljedice klimatskih promjena se očituju u promjenama uzoraka padalina, temperature zraka, globalnoj razini mora, a zajedno s antropogenim djelovanjem poput pojačane

vodoopskrbe pridonose povećanju rizika salinizacije obalnih vodnih tijela. Vransko jezero je obalno jezero u središnjoj Dalmaciji s iznimno bitnom ulogom u lokalnom poljoprivrednom razvoju. U razdobljima kada je narušena precipitacijsko-evaporacijska ravnoteža zabilježene su intruzije morske vode u jezero kroz djelomično okršeni greben i podzemni kanal. Unutar jedne hidrološke godine napravljen je monitoring na bazi e-DNA metabarkodiranja, uspoređujući dobivene rezultate tijekom mokrog i sušnog perioda u kojem raste potencijal salinizacije. Kako bi se uspostavilo utječe li povišenje saliniteta različito na mikrobne zajednice i postoje li oportunistički halofili, korišteno je visoko-protočno sekvenciranje 16S rRNA gena. Čitava mikrobna zajednica je bila pod utjecajem povećanja saliniteta, dok se nakon perioda salinizacije jezero nije tjednima vratio u početno stanje. Tijekom salinizacije, zabilježen je nagli porast sumpor-oksidirajućeg roda *Sulfurovum* čineći ga izvrsnim kandidatom za razvoj mikrobnog markera za intruziju morske vode u plitkim obalnim

Ključne riječi: sekvenciranje rRNA gena, salinizacija, mikrobne zajednice

TRACKING MICROBIAL RESPONSE TO SALINIZATION USING E-DNA METABARCODING

L. Selak¹, T. Marković², P. Pjevac^{3,4}, A. Čačković¹, M. Mitrović¹, K. Kajan^{1,5}, S. Orlić^{1,5}

¹Division of Materials Chemistry, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia, ²Croatian Geological Survey, Milan Sachs 2 Street, 10000 Zagreb, Croatia, ³Joint Microbiome Facility of the Medical University of Vienna and the University of Vienna, Djerassiplatz 1, 1030 Vienna, Austria, ⁴University of Vienna, Department of Microbiology and Ecosystem Science, Division of Microbial Ecology, Djerassiplatz 1, 1030 Vienna, Austria, ⁵Center of Excellence for Science and Technology-Integration of Mediterranean Region (STIM), Poljička cesta 35, 21000 Split, Croatia

Salinization of coastal freshwater systems imposes a current threat to water supply resources in the Mediterranean region. Climate change induces alterations in precipitation patterns and quantity, air temperature and seawater level, which, along with direct anthropogenic impact in form of increasing water supply usage contributes to a higher risk of coastal water bodies' salinization. Lake Vrana is located at the coastline in the mid-Dalmatia and has a significant role in local agricultural development. This lake is known to experience seawater intrusion through the semi-karstified ridge and conduit when precipitation and evaporation rates are imbalanced. The monitoring based on the e-DNA metabarcoding was carried out in a hydrological year, comparing results obtained from the wet and dry – salinization prone period. To differentiate the impact of salinity increase on different freshwater microbial communities, and determine opportunistic halophilic representatives, a 16S rRNA gene sequencing method was applied. Entire microbial community was driven by salinity increase, while after the salinization the lake did not return to the initial state in weeks. During the salinization, the bloom of sulfur-oxidizing genus *Sulfurovum* occurred, making them the ideal candidate for developing the microbial marker for seawater intrusion in coastal shallow lakes.

Keywords: rRNA gene sequencing, salinization, microbial communities

O-120

TROFIČKE INTERAKCIJE ČLANKONOŽACA U MEDITERANSKOJ POLJOPRIVREDI UTVRĐENE METODOM DNA METABARKODIRANJA

L. Šerić Jelaska¹, B. Andelić Dmitrović¹, D. Gajski²

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (slucija@biol.pmf.hr), ²Department of Botany and Zoology, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlarska 2, 61137 Brno, Češka

Metoda DNA metabarkodiranja se pokazala korisnom u istraživanju trofičkih interakcija u prirodi i time u procjeni usluga u ekosustavu koje pružaju različiti organizmi. Kako bi se otkrio potencijal člankonožaca u biokontroli u mediteranskim agroekosustavima, analizirali smo hranidbene odnose korištenjem metode DNA metabarkodiranja sadržaja probavila predatoričkih člankonožaca sakupljenih na terenu. Više od 800 jedinki člankonožaca prikupljeno je u maslinicima i vinogradima u Zadarskoj županiji, s integriranim (IPM) i ekološkim (EPM) načinima obrade, te unutar prirodnog staništa bez poljoprivrednih aktivnosti. Prikupljene jedinke su podvrgnute molekularnoj analizi sadržaja crijeva i high-throughput DNA sekvenciranju (HTS). Na staništima su dominirale predatoričke vrste trčaka *Poecilus koyi* i *Pterostichus melas*, kod paukova *Pardosa hortensis*, *Alopecosa* sp. i *Agalenata redii* te *Scolopendra* sp. i *Cryptops anomalans* među štrigama. Kombinirajući različite vrste početnica, uspješno smo umnožili i sekvencirali DNA iz sadržaja probavila istraživanih člankonožaca. Utvrđene su 463 operativne taksonomske jedinice (OTU) u analizi uzorka kod trčaka i 232 OTU kod pauka. Ishrana unutar iste trofičke razine zastupljena je s 13,5% OTU-a, a fitofagni kukci su bili zastupljeni s 47,9% OTU-a. Kod pauka je također uočen visok postotak fitofagnih kukaca od kojih su neki nametnici na biljnim kulturama. Analizirali smo raznolikost plijena između poljoprivrednih kultura i člankonožaca.

Ključne riječi: biokontrola, bioraznolikost, Hrvatska, sadržaj probavila, metagenomika, maslinici, vinogradi

TROPHIC INTERACTIONS OF PREDATORY ARTHROPODS IN MEDITERRANEAN AGRICULTURE VIA DNA METABARCODING DIET ANALYSES

L. Šerić Jelaska¹, B. Andelić Dmitrović¹, D. Gajski²

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (slucija@biol.pmf.hr), ²Department of Botany and Zoology, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlarska 2, 61137 Brno, Czech Republic

The DNA metabarcoding has become a widely used method for detecting trophic interactions in the field and can contribute in assessing ecosystem service provided by various organisms. Predatory arthropods can serve in pest control. To reveal their potential as biocontrol agents in the Mediterranean agroecosystems, a DNA metabarcoding diet analysis approach was used in detecting a wide variety of taxa from their gut contents. More than 800 individual predatory arthropods were collected in olive orchards and vineyards under Integrated Pest Management (IPM) and Ecological Pest Management (EPM), and within a natural habitat, in Zadar County, and subjected to molecular gut content analyses using HTS. Within the samples the most dominant carabid predatory species were *Poecilus koyi* and *Pterostichus melas*, Lycosidae species *Pardosa hortensis* and *Alopecosa* sp., Araneidae species *Agalenata redii* among spiders, and *Scolopendra* sp. and *Cryptops anomalans* among centipedes, but several dozen carabids, spider and centipede species were screened as well. Combining general and excluding primer pairs, we successfully sequenced DNA extracted from the gut contents of collected predatory animals. 463 Operational taxonomic unites (OTU) belonging to 24 various arthropods were detected in the case of carabids and 232 OTUs in the case of spiders. Among carabids intraguild predation was presented with 13.5% of OTUs and phytophagous insects as potential pest species were represented with 47.9%

of OTUs. In case of spiders, high percentage of phytophagous and known pest species was observed. Differences in prey diversity between the agricultural sites and among tested arthropods will be discussed.

Keywords: biocontrol, biodiversity, Croatia, gut content, metagenomics, olive orchards, vineyards

O-121

UPOTREBA OKOLIŠNE DNA ZA DETEKCIJU EUROPSKE JEGULJE (*Anguilla anguilla*, (LINNAEUS, 1758)) I NJENIH PRIKLADNIH STANIŠTA

M. Vucić¹, A. Galov¹, G. Klobučar¹, F. L. Ghrib², M. Jarak³, Ž. Pavlinec⁴, D. Jelić²

¹Bioološki odsjek, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Hrvatski institut za biološku raznolikost, Maksimirска cesta 129/5, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³WWF Adria, Gundulićeva 63, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Institut za ornitologiju, Hrvatska akademija za znanost i umjetnost, Gundulićeva 24, 10000 Zagreb, Hrvatska

Europska jegulja, *Anguilla anguilla*, jedna je od najvažnijih komercijalnih ribljih vrsta na svijetu. Njezina brojnost je u drastičnom padu posljednjih desetljeća te je trenutno na najnižoj razini u povijesti. Tijekom posljednja tri desetljeća novačenje staklenih jegulja palo je na 10% razine iz 1960-ih i 1970-ih. Glavni uzrok tomu je kombinacija prirodnih i antropogenih čimbenika kao što su prekomjerni ribolov, ilegalna trgovina i gubitak staništa. Jedna od najpogodnijih staništa ove vrste na njezinom južnom dijelu areala rasprostranjenja su i mediteranske obalne lagune, međutim, nagli pad brojnosti jegulja u tim lagunama upućuje na velike negativne promjene u kvaliteti tih staništa. Podaci o dinamici populacije jegulja neujednačeni su i neuravnoteženi. Korištenje molekularnih metoda detekcije za pouzdano praćenje ove vrste pokazalo se kao prikladna alternativa tradicionalnim metodama za učinkovito upravljanje. U ovom istraživanju je korištena metoda okolišne DNA (eDNA) za detekciju prisutnosti jegulje na ukupno 24 lokaliteta u Jadranskom moru koja se pokazala vrlo učinkovitom u otkrivanju prisutnosti ove vrste, kao i pogodnih slatkvodnih, slanih ili bočatih staništa. Ovaj način istraživanja i praćenja pokazao se iznimno koristan u proučavanju obrazaca distribucije i stanišnih preferencija ove vrste. Podaci dobiveni korištenjem eDNA mogu se koristiti za praćenje jegulje i za izradu učinkovitijih planova upravljanja i očuvanja.

Ključne riječi: okolišna DNA, jegulja, monitoring, Jadransko more, Mediteran

USING ENVIRONMENTAL DNA FOR THE DETECTION OF EUROPEAN EEL (*Anguilla Anguilla*, (LINNAEUS, 1758)) AND SUITABLE HABITATS

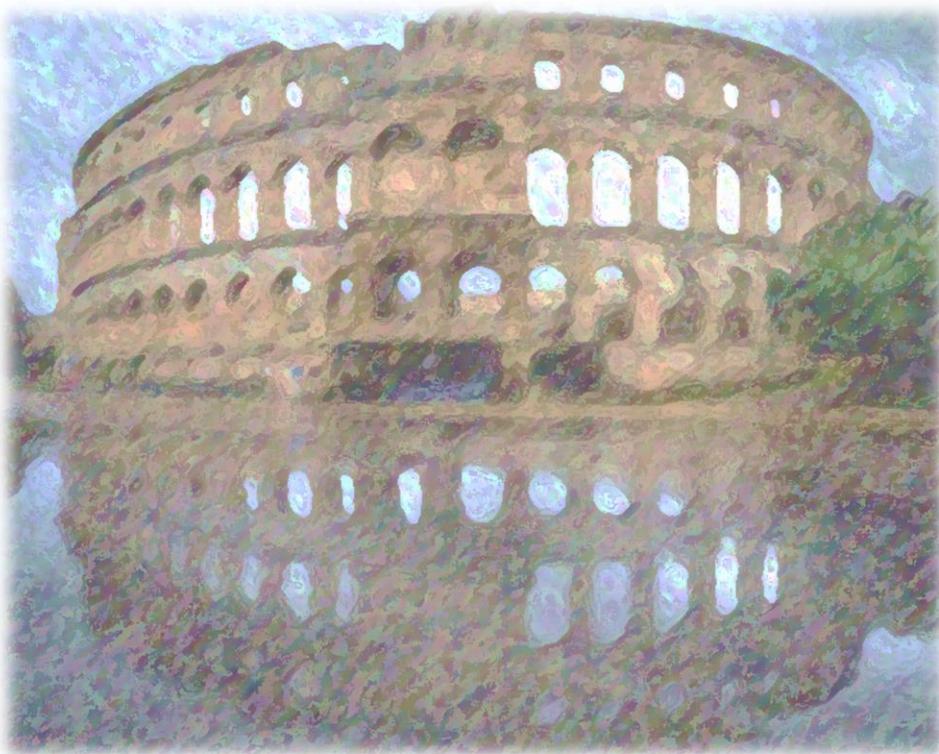
M. Vucić¹, A. Galov¹, G. Klobučar¹, F. L. Ghrib², M. Jarak³, Ž. Pavlinec⁴, D. Jelić²

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (matej.vucic@biol.pmf.hr, goran.klobucar@biol.pmf.hr, ana.galov@biol.pmf.hr), ²Croatian Institute for Biodiversity, Maksimirска cesta 129/5, 10000 Zagreb, Croatia (jelic.dusan@gmail.com, lemattkate@gmail.com), ³WWF Adria, Gundulićeva 63, 10000 Zagreb, Croatia (mjarak@wwfadria.org), ⁴Institute for Ornithology, Croatian Academy for Science and Arts, Gundulićeva 24, 10000 Zagreb, Croatia (zpavlinec@hazu.hr)

The European eel, *Anguilla anguilla*, is one of the most important commercial fish species in the world. Its abundance has dropped dramatically in recent decades, reaching an all-time low. Over

the last three decades, glass eel recruitment has plummeted to 10% of what it was in the 1960s and 1970s. The main cause of the decline is a combination of natural and anthropogenic causes such as overfishing, illegal trade, and habitat loss. Eels are largely associated with Mediterranean coastal lagoons, however, a sharp decline in eel productivity in these lagoons is symptomatic of ongoing major negative changes in the habitat quality. Data on eel population dynamics is dispersed and imbalanced. The use of molecular-based detection as a credible choice for monitoring this species has recently been proven to be a suitable alternative for effective management. We used the eDNA method to detect the presence of European eel at 24 localities in the Adriatic Sea. This method was proven to be efficient for the detection of this species, as well as suitable freshwater, saltwater or brackish habitats. This research and monitoring method is effective in studying the geographical patterns and habitat preferences of this species. Data obtained using eDNA can be used for eel monitoring and for creating more efficient management and conservation plans.

Keywords: environmental DNA, eel, monitoring, Adriatic sea, Mediterranean



POSTERSKE PREZENTACIJE

POSTERS

P-1

METILIRANOST GENA ZA METALOTIONEIN POKAZUJE PROSTORNU VARIJACIJU U KRVI PTIĆA BIJELE RODE (*Ciconia ciconia* L.)

V. Beneš¹, I. Lešić¹, B. Jarić², D. Bjedov³, A. Mikuška¹, T. Mikuška⁴, L. Begović¹

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska, ²Institut "Ruđer Bošković", Bijenička c. 54, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Hrvatski institut za bioraznolikost BIOTA d.o.o., Maksimirска cesta 129/5, 10000 Zagreb, Hrvatska,

⁴Hrvatsko društvo za zaštitu ptica i prirode, Gundulićeva 19/A, 31000 Osijek, Hrvatska

Bijela roda (*Ciconia ciconia* L.) migratorna je vrsta koja je rasprostranjena u cijeloj Europi. Karnivorna je i predatorska vrsta koja se hrani na poplavnim područjima i poljoprivrednim površinama u blizini ljudskih naselja u kojima gnijezdi. Zbog načina ishrane dolazi u kontakt s različitim izvorima onečišćenja koja se kroz lanac ishrane akumuliraju (npr. pesticidi i teški metali). Stres ili zagađenje okoliša, mogu dovesti do epigenetskih modifikacija koje za posljedicu imaju promjene u ekspresiji gena, a nasleđivanjem epigenetičke promjene mogu se prenositi na potomstvo. Cilj je bio istražiti postotak metilacije regulatorne regije gena za metalotionein (MT) koja je ključna za transkripcijsku aktivaciju metalima u odnosu na različite lokalitete. DNA metilacija analizirana je metodom Real-time Methylation Specific PCR (qMSP) u uzorcima krvi ptića bijele rode prikupljenih tijekom gnijezdeće sezone 2021. godine na 15 lokacija u Slavoniji, Baranji i središnjoj Hrvatskoj. Rezultati su pokazali da dva uzorka s područja s manjom okolišnom zagađenošću imaju manji indeks metiliranosti DNA (M.I.%). Razlike u postotku metilacije mogu se pripisati činjenici da povećana koncentracija metala u okolišu može dovesti do pojačane ekspresije gena za DNA metiltransferazu (DNMT3) što može dovesti do de novo metilacije. Međutim, potrebna su daljnja istraživanja za razumijevanje učinka teških metala na DNA metilaciju i ekspresiju gena za MT kod bijelih roda.

Ključne riječi: *Ciconia ciconia*, metalotioneini, DNA metilacija, qMSP, zagađenje

METHYLATION OF METALLOTHIONEIN GENE SHOWS SPATIAL VARIATION IN THE BLOOD OF WHITE STORK NESTLINGS (*Ciconia ciconia* L.)

V. Beneš¹, I. Lešić¹, B. Jarić², D. Bjedov³, A. Mikuška¹, T. Mikuška⁴, L. Begović¹

¹Department of Biology, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (veronika.benes@biologija.unios.hr, ivanlesic7@gmail.com, alma.mikuška@biologija.unios.hr, lbegovic@biologija.unios.hr), ²Ruđer Bošković Institute, Bijenička c. 54, 10000 Zagreb, Croatia (bernard.jaric@gmail.com), ³Croatian Institute for Biodiversity BIOTA Ltd., Maksimirска cesta 129/5, 10000 Zagreb, Croatia (dora.bjedov@gmail.com), ⁴Croatian Society for Birds and Nature Protection, Gundulićeva 19/A, 31000 Osijek, Croatia (tibor.kopacki.rit@gmail.com)

The white stork (*Ciconia ciconia* L.) is a migratory species that is widespread in almost all of Europe and northern Croatia. It feeds near agricultural areas and landfills, subsequently being exposed to various sources of pollution such as pesticides, fertilisers and heavy metals. Stress or environmental pollution, can lead to epigenetic modifications resulting in gene expression

changes, and by inheriting epigenetic changes, can be passed on to offspring. The aim was to investigate the methylation percentage of the metallothionein (MT) gene regulatory region, crucial for transcriptional activation by metals. DNA methylation was analysed by Real-time Methylation Specific PCR (qMSP) in the blood of white stork nestlings collected during breeding season 2021 from 15 locations in Slavonia, Baranja and central Croatia. The results showed that two samples from areas with less environmental pollution have a lower percentage of DNA methylation index (M.I.%). Differences in the percentage of methylation can be attributed to the fact that increased metal concentrations in the environment can lead to increased expression of the DNA methyltransferase (DNMT3) gene leading to de novo methylation. However, further research is needed to understand the effect of heavy metals on DNA methylation and MT gene expression in white storks

Keywords: *Ciconia ciconia*, metallothioneins, DNA methylation, qMSAp, pollution

P-2

KROMOSOMSKO SPARIVANJE U MEJOZI, EKSPRESIJA MEJOTSKIH GENA I METILACIJA RIBOSOMSKIH GENA U TRIPLOIDNOM I TETRAPLOIDNOM DALMATINSKOM BUHAČU (*Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Sch. Bip.)

N. Malenica¹, A. Jurković¹, J. Mlinarec², V. Besendorfer¹

¹Biočki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska (malenica@biol.pmf.hr) ²Oikon d.o.o. Institut za primijenjenu ekologiju, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Croatia (jmlinarec@oikon.hr)

Autopoliploidi nastaju udvostručenjem cijelog genoma (WGD) neke vrste. U ovom radu tetrapoliploidi i triplodi dalmatinskog buhača dobiveni su tretmanom kolhicinom ili naknadnim križanjem. De novo autopoliploidija može predstavljati problem u mejozi zbog stvaranja multivalenata i univalenata što vodi nepravilnoj segregaciji i smanjenoj fertilnosti. U mejozi 3n i 4n biljaka uočili smo formiranje univalenata, bivalenata i multivalenata. Pratili smo sparivanje i ponašanje kromosoma u mejozi koristeći repetitivne DNA kao kromosomske biljege. Kromosomsko mapiranje subtelomernih satelitnih DNA porodica TcSAT1 i TcSAT2 te intersticijskih telomernih ponavljanja (ITRs) omogućuje identifikaciju kromosoma koji se netipično sparaju ili onih koji su se izgubili uslijed mejotskih nepravilnosti. Kromosomsko sparivanje regulirano je s nekoliko mejotskih gena poput ASY1 i SMC3, uključenih u formiranje uzdužne osi homolognih kromosoma u mejozi, koheziju sestrinskih kromatida te rekombinaciju. Bit će pokazana njihova ekspresija u 2n, 3n i 4n buhaču. Također, poliploidizacija može uzrokovati epigenetičke promjene u genomima uključujući DNA metilaciju koja se kod biljaka javlja u tri kontekstualna slijeda: CG, CHG i CHH. Kako bi ispitali moguće promjene u metilaciji uzrokovane poliploidizacijom, istražili smo metilacijske obrasce gena za rRNA gena bisulfitnim sekvenciranjem. Pokazali smo da je razina metilacije u vegetativnim tkivima 2n, 3n i 4n biljaka ostala nepromijenjena.

Ključne riječi: autopoliploidija, buhač, DNA metilacija, telomerna ponavljanja, mejotski geni

MEIOTIC CHROMOSOME PAIRING, EXPRESSION OF MEIOTIC GENES AND METHYLATION PATTERN OF RIBOSOMAL GENES IN TRIPLOID AND TETRAPLOID DALMATIAN PYRETHRUM (*Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Sch. Bip.)

N. Malenica¹, A. Jurković¹, J. Mlinarec², V. Besendorfer¹

¹Division of Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (malenica@biol.pmf.hr), ²Oikon Ltd. Institute of Applied Ecology, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Croatia (jmlinarec@oikon.hr)

Autopolypliods arise through intraspecific whole genome duplication (WGD) events. In this work, triploids and tetraploids of Dalmatian pyrethrum were obtained by colchicine treatment or subsequent crossing. De novo autopolypliodization can be challenging through formation of multivalents and univalents that can lead to irregular chromosome segregation in meiosis and reduction of fertility. Indeed, in triploid and tetraploid pyrethrum plants we observed multivalents, bivalents and univalents. We studied chromosome pairing and behaviour in meiosis using repetitive DNAs as chromosome markers. Chromosome mapping of subtelomeric satellite DNA families TcSAT1 and TcSAT2, or interstitial telomeric repeats (ITRs) enable identification of aberrant chromosome pairing or missing chromosomes due to meiotic irregularities. Chromosome pairing is controlled by several meiotic genes like ASY1 and SMC3, involved in homologous chromosome axis formation, recombination and sister chromatid cohesion. Their expression in diploid, triploid and tetraploid pyrethrum will be presented. Plant polyploidization also can induce epigenetic changes in genomes including DNA methylation that occurs in CG, CHG and CHH contexts. To test possible changes in polyploidisation-induced methylation, we examined the methylation pattern of ribosomal RNA genes by bisulfite sequencing. We showed that overall methylation levels in vegetative tissues of 2n, 3n and 4n plants remains the same.

Keywords: autopolypliody, pyrethrum, DNA methylation, telomeric repeats, meiotic genes

P-3

STRUKTURA I METILACIJA 35S RDNA U ALOPOLIPLOIDIMA *Anemone multifida* (2N=4X=32, BBDD) I *A. baldensis* (2N=6X=48, AABBDD) I NJIHOVIM RODITELJSKIM VRSTAMA OTKRIVAJU NUKLEOLARNU DOMINACIJU

J. Mlinarec Novosel¹, Lj. L. Boštjančić^{2,3}, N. Malenica⁴, A. Jurković⁴, V. Besendorfer⁴

¹Oikon d.o.o.-Institut za primjenjenu ekologiju, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Croatia (jmlinarec@oikon.hr), ²LOEWE Centre for Translational Biodiversity Genomics (LOEWE-TBG), Senckenberg Biodiversity and Climate Research Centre, Senckenberganlage 25, D-60325 Frankfurt am Main, Njemačka, ³Department of Computer Science, ICube, UMR 7357, University of Strasbourg, CNRS, Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg, Rue Eugène Boeckel 1, 67000 Strasbourg, Francuska, ³Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska

Utišavanje transkripcije 35S rDNA lokusa naslijedenih od jednog roditelja događa se relativno često u alopoliploidima. Međutim, molekularni mehanizmi uz pomoć kojih je jedan roditeljski subgenom izabran za utišavanje transkripcije još su uvijek nejasni. Upotreboom metoda NGS, bojenja srebrom i bisulfnim sekvenciranjem otkrili smo strukturu, ekspresiju i krajolik metilacije 35S rDNA u dva alopoliploida zajedničkog podrijetla, *Anemone multifida* (2n = 4x = 32, BBDD) i *A. baldensis* (2n = 6x = 48, AABBDD), i u njihovim donorima genoma, *A. sylvestris* (AA), *A. cylindrica* (BB) i *A. parviflora* (DD). Veličina osnovne jedinice ponavljanja 35S rDNA varirala je od 10489-12084 pb. Anemone su pokazale organizaciju tipičnu za većinu ribosomskih 35S rDNA. NTS je varijabilniji od ETS. Unutar ETS pronađeno je pet do šest otoka bogatih CpG. Naši rezultati otkrivaju hipometilaciju 35S rDNA

porijeklom iz *A. parviflora* u *A. baldensis*. *Anemone baldensis* prolazi ekspanziju kopija 35S rDNA porijeklom iz *A. sylvestris* i smanjenje broja kopija 35S rDNA porijeklom iz *A. parviflora*, što je popraćeno nižom razinom metilacije 35S rDNA porijeklom iz *A. sylvestris* u usporedbi s 35S rDNA porijeklom iz *A. parviflora*. U *A. baldensis* nukleolarna dominacija usmjerena je prema subgenomu koji potječe od *A. sylvestris* pružajući dokaze o ulozi roditelj-specifične 35S rDNA metilacije u nukleolarnoj dominaciji.

Ključne riječi: bisulfitno sekvenciranje, CpG otoci, IGS, Ranunculaceae, poliploidija

STRUCTURE AND METHYLATION OF 35S RDNA IN ALLOPOLYPLOIDS *Anemone multifida* (2N=4X=32, BBDD) AND *A. baldensis* (2N=6X=48, AABBDD) AND THEIR PARENTAL SPECIES SHOW EVIDENCE OF NUCLEOLAR DOMINANCE

J. Mlinarec Novosel¹, Lj. L. Boštjančić^{2,3}, N. Malenica⁴, A. Jurković⁴, V. Besendorfer⁴

¹Oikon Ltd.-Institute of Applied Ecology, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Croatia (jmlinarec@oikon.hr), ²LOEWE Centre for Translational Biodiversity Genomics (LOEWE-TBG), Senckenberg Biodiversity and Climate Research Centre, Senckenberglanlage 25, D-60325 Frankfurt am Main, Germany, ³Department of Computer Science, ICube, UMR 7357, University of Strasbourg, CNRS, Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg, Rue Eugène Boeckel 1, 67000 Strasbourg, France, ⁴Division of Molecular Biology, Department of Biology, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia

Transcriptional silencing of 35S rDNA loci inherited from one parental species is occurring relatively frequently in allopolyploids. However, molecular mechanisms by which it is selected for transcriptional silencing remain unclear. We applied NGS, silver staining and bisulfite sequencing to study the structure, expression and methylation landscape of 35S rDNA in two allopolyploids of common origin, *Anemone multifida* (2n = 4x = 32, BBDD) and *A. baldensis* (2n = 6x = 48, AABBDD), and their diploid progenitors, *A. sylvestris* (AA), *A. cylindrica* (BB) and *A. parviflora* (DD). The size of the recovered 35S rDNA units varied from 10489-12084 bp. *Anemone* showed an organization typical of most ribosomal 35S rDNA. The NTS was more variable than the ETS. Five to six CpG-rich islands were found within the ETS. CpG island located adjacent to the transcription initiation site was highly variable regarding the sequence size and methylation level. Our results uncover hypomethylation of *A. parviflora*-derived 35S rDNA units in *A. baldensis*. *A. baldensis* underwent coupled *A. sylvestris*-derived 35S rDNA array expansion and *A. parviflora*-derived 35S rDNA copy number decrease that was accompanied by lower methylation level of *A. sylvestris*-derived 35S rDNA units in comparison to *A. parviflora*-derived 35S rDNA units. In *A. baldensis* nucleolar dominance is directed toward *A. sylvestris*-derived chromosomes providing evidence of the progenitor-specific 35S rDNA methylation in nucleolar dominance.

Keywords: bisulfite sequencing, CpG islands, IGS, Ranunculaceae, polyploidy

P-4

EVALUACIJA REKURENTNIH CNV-a U 15q11.2 REGIJI U TOČKAMA LOMA 1-2 (BP1-BP2)

L. Morožin Pohovski, A-M. Meašić, A. Bobinec, I. Sansović, K. Vulin, Lj. Odak

Klaićeva dječja bolnica Zagreb, Odjel za medicinsku genetiku i reproduktivno zdravlje, Znanstveni centar izvrsnosti za reproduktivnu i regenerativnu medicinu (CERRM), Medicinski fakultet,

Rekurentne promjene broja kopija (CNV) u genomskoj regiji 15q11.2 između točke loma 1 (BP1) i točke loma 2 (BP2) imaju značajnu varijabilnost u općoj populaciji, što čini lokus 15q11.2 BP1-BP2 najučestaliji poznati CNV. Analizirani su rezultati promjene broja kopija iz skupine od 2140 pacijenata s neurorazvojnim poremećajima (NDD). Svi bolesnici su prije genetičkog testiranja pregledani od strane kliničkog genetičara. Analiza je provedena korištenjem Agilent 60K oligonukleotidnog mikropostroja. Analiza rezultata kromosomskog mikropostrija provedena u 2140 bolesnika s NDD pokazala je 15q11.2 (BP1-BP2) CNV kod 23 bolesnika (1%). Otkriveno je 12 duplikacija i 11 delecija. Naslijedeni 15q11.2 CNV utvrđen je u 14 bolesnika (60,8%); 8 duplikacija i 6 delecija. Duplikacije otkrivena i u jednog zdravog člana obitelji. Prevalencija od 1% ukazuje da je 15q11.2 BP1-BP2 CNV jedna od najčešćih citogenomskih abnormalnosti. Više od polovice aberacija je nasljeđeno, što ukazuje da se ovaj CNV značajno prenosi od roditelja. Potrebno je daljnje istraživanje kako bi se u potpunosti procijenio utjecaj 15q11.2 (BP1-BP2) CNV na složenu etiologiju NDD-a. Ovaj rad je primio potporu Znanstvenog centra izvrsnosti za reproduktivnu i regenerativnu medicine, Republika Hrvatska, i Europske unije kroz Europski fond za regionalni razvoj, pod ugovorom KK.01.1.01.0008, projekt "Reprodukтивna i regenerativna medicina - istraživanje novih platformi i potencijala".

Ključne riječi: 15q11.2 mikrodelecija, 15q11.2 mikroduplikacija, komparativna genomska hibridizacija, genetičko testiranje

EVALUATION OF RECURRENT 15q11.2 CNVs OF THE REGION OF BREAKPOINTS 1-2 (BP1-BP2)

L. Morožin Pohovski, A-M. Meašić, A. Bobinec, I. Sansović, K. Vulin, Lj. Odak
Children's Hospital Zagreb, Department of Medical Genetics and Reproductive Health, Scientific Centre of Excellence for Reproductive and Regenerative Medicine (CERRM), University of Zagreb School of Medicine, V. Klaića 16, 10000 Zagreb, Croatia (leona.morozin@kdb.hr)

Recurrent copy number variations (CNVs) in the genomic region 15q11.2 between breakpoint 1 (BP1) and breakpoint 2 (BP2) has significant variability in the general population, making 15q11.2 BP1-BP2 the site of the most prevalent known CNV. We have analyzed the findings of CNV studies from a cohort of 2140 patients with neurodevelopmental disorders (NDDs). All patients were evaluated by clinical geneticists before genetic testing. The analysis was conducted using Agilent 60K oligonucleotide microarray. Chromosome microarray analysis was performed in 2140 patients with NDDs and 15q11.2 (BP1-BP2) CNVs were identified in 23 patients (1%). We identified 12 duplications and 11 deletions. Inherited 15q11.2 CNV were identified in 14 children (60,8%); 8 duplication and 6 deletion. Additionally, duplication was found in one healthy family member. A prevalence of 1% indicate that chromosome 15q11.2 BP1-BP2 CNV is emerging as one of the most common cytogenomic abnormalities. More than one-half of the imbalances are inherited, indicated that this CNV is significantly transmitted from parents. Further data collection is needed to fully evaluate the impact of 15q11.2 (BP1-BP2) CNVs on complex the etiology of NDDs. This study was supported by CERRM, Republic of Croatia, and by the EU through ERDF, under grant agreement No. KK.01.1.01.0008, project „Reproductive and Regenerative Medicine - Exploring New Platforms and Potentials“.

Keywords: 15q11.2 microdeletion, 15q11.2 microduplication, chromosomal microarray analysis, genetic testing

VARIJACIJE U BROJU KOPIJA GENA I NJIHOV DOPRINOS PRILAGODBI NA OKOLIŠ

I. Pokrovac, Ž. Pezer Sakač

Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (Ivan.Pokrovac@irb.hr, zpezer@irb.hr)

Varijacije u broju kopija su čest oblik genetičke varijacije koja značajno pridonosi divergenciji populacija i može imati veliki fenotipski učinak. Kako bismo bolje razumjeli kako varijacija broja kopija utječe na ekološku prilagodbu, proučavali smo populacije meksičke tetre, *Astyanax mexicanus*. Više neovisnih populacija ove vrste ribe migriralo je iz površinskih u špiljske vode, omogućivši nam da proučavamo ponovljene prilagodbe na slične ekološke uvjete. Koristeći tzv. read-depth pristup koji se zasniva na podacima sekvenciranja sljedeće generacije, otkrili smo varijante broja kopija (engl. CNVs) u 42 sekvencirana genoma jedinki iz tri špiljske i dvije površinske populacije prikupljenih u sjeveroistočnom Meksiku. CNVs koji se preklapaju s genima generalno imaju nisku frekvenciju u populacijama, no nekoliko ih je pronađeno isključivo u špiljskim populacijama u velikom broju jedinki. Geni s kojima se preklapaju su povezani s imunitetom, metabolizmom, funkcioniranjem mozga i razvojem oka. Ukupan set uzoraka sadrži više od 1500 gena koji su u cijelosti deletirani ili amplificirani, a njihov profil broja kopija održava filogenetski odnos među analiziranim populacijama riba. 73 gena imaju značajne razlike u broju kopija između špiljskih i površinskih populacija, od kojih 2/3 pokazuju svojstva mladih gena. Naše analize otkrivaju populacijsko specifičan profil varijacije broja kopija i identificiraju CNVs koje bi mogле biti važne za prilagodbu na podzemni okoliš.

Ključne riječi: varijacije u broju kopija, *Astyanax mexicanus*, sekvenciranje sljedeće generacije

GENE COPY NUMBER VARIATION CONTRIBUTES TO ENVIRONMENTAL ADAPTATION

I. Pokrovac, Ž. Pezer Sakač

Ruđer Bošković Institute, Bijenička 54, 10000 Zagreb, Croatia (Ivan.Pokrovac@irb.hr, zpezer@irb.hr)

Copy number variation is a frequent form of genetic variation that substantially contributes to population divergence and can produce large phenotypic effects. To better understand how copy number variation affects ecological adaptation, we studied populations of Mexican tetra, *Astyanax mexicanus*. Multiple independent populations of this fish species have migrated from surface to cave waters, creating a framework to study recurrent adaptation to similar ecological conditions. By using read-depth approach from NGS data, we detected copy number variants (CNVs) in 42 sequenced genomes of fish belonging to three cave and two surface populations collected in northeastern Mexico. CNVs that overlapped genes were generally found at low frequencies in populations; however, several of them were found exclusively in cave populations at high frequencies, overlapping genes related to immunity, metabolism, brain function and eye development. Over 1,500 genes were entirely encompassed by CNVs among the whole set of samples, and their copy number profile mirrored phylogenetic relationship among analyzed *Astyanax* populations. 73 genes had significant differences in copy number between cave and surface populations, with 2/3 of them showing properties of young genes. Our analyses reveal population-specific patterns of copy number variation and identify CNVs that might be important for adaptation to subterranean environment

Keywords: copy number variation, *Astyanax mexicanus*, next generation sequencing

P-6

POLIMORFIZMI LCT-13910C>T I LCT-22018G>A POVEZANI S ADULTNIM TIPOM INTOLERANCIJE NA LAKTOZU U HRVATSKOJ POPULACIJI

N. Starčević Čizmarević¹, J. Vraneković¹, G. Kendel Jovanović², S. Pavičić Žeželj², S. Ristić¹

¹Zavod za medicinsku biologiju i genetiku, Medicinski fakultet u Rijeci, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka, Hrvatska, ²Zdravstveno ekološki odjel, Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, Krešimirova 52, 51000 Rijeka, Hrvatska

Većina ljudi rađa se sa sposobnošću probave laktoze, međutim oko 75% svjetske populacije s vremenom izgubi tu sposobnost, dok preostali mogu probaviti laktozu i u odrasloj dobi (laktozna perzistencija – LP). Ovaj fenotip uvelike varira u ljudi ovisno o etničkoj pripadnosti. Dvije varijante gena MCM6 smještenog uzvodno od gena za laktozu (LTC) povezane su s LP u evropskim populacijama: polimorfna varijanta, LCT-13910C>T (rs4988235), pokazuje potpunu povezanost, dok je varijanta LCT-22018G>A (rs182549) snažno povezana. Područje koje sadrži gen MCM6 smatra se pojačivačem transkripcije LTC gena. S obzirom da nema podataka o ovim varijantama u hrvatskoj populaciji, cilj našeg istraživanja bio je analizirati prevalenciju -13910C>T i -22018G>A polimorfizama polimorfizama povezanih s adultnim tipom intolerancije na laktozu. Tristo odraslih zdravih osoba koje nisu u srodstvu (150 muškaraca i 150 žena) iz Hrvatske genotipizirano je PCR-RFLP tehnikom. Učestalost LCT-13910T i -22018A alela iznosila je 32,7%, odnosno 34,7%. Genotipovi povezani s LP fenotipom pronađeni su u 271 (90,3%) od 300 osoba. Genotip LTC -13910 CC /-22018 GG povezan s ne-perzistentnošću na laktozu pronađen je u 29 (9,7%) osoba. Ovi rezultati proširuju informacije o učestalosti i geografskoj distribuciji LTC polimorfizama u hrvatskoj populaciji s jugoistoka Europe i uklapaju se u postojeći europski sjever-jug gradijent za alel LCT-13910T.

Ključne riječi: Intolerancija na laktozu, Laktaza, MCM6, Polimorfizam, genetički

LCT-13910C>T AND LCT-22018G>A POLYMORPHISMS ASSOCIATED WITH ADULT-TYPE LACTOSE INTOLERANCE IN CROATIAN POPULATION

N. Starčević Čizmarević¹, J. Vraneković¹, G. Kendel Jovanović², S. Pavičić Žeželj², S. Ristić¹

¹Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, University of Rijeka, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka, Croatia (nadasc@uniri.hr), ²Department of Health Ecology, Teaching Institute of Public Health of Primorsko-goranska County, Krešimirova 52a, 51000 Rijeka, Croatia

Most people are born with the ability to digest lactose, but about 75% of the world's population loses this ability over time, while others can digest lactose into adulthood (lactase persistence - LP). This phenotype varies widely in humans depending on ethnicity. Two variants in the MCM6 gene upstream of lactase (LCT) gene have been associated with LP in European populations: a polymorphic variant, LCT-13910C>T (rs4988235), showed complete association, while the variant LCT-22018G>A (rs182549) was strongly but not completely associated. The region containing the MCM6 gene is considered an enhancer region for transcription of LCT. As there

are no data on these variants in the Croatian population, the aim of our study was to analyze the prevalence of -13910C>T and -22018G>A polymorphisms associated with adult-type lactose intolerance. Three hundred adult unrelated healthy individuals (150 men and 150 women) from Croatia were genotyped using the PCR-RFLP technique. The frequency of LCT-13910T and -22018A alleles was 32.7% and 34.7%, respectively. The genotypes associated with the LP phenotype were found in 271 (90.3%) of the 300 individuals. The LCT -13910 CC /-22018 GG genotype associated with non-persistence of lactase was found in 29 (9.7%) individuals. These results extend the information on the frequency and geographical distribution of LCT SNPs in the Croatian population from southeastern Europe and fit the observed European north-south gradient for the LCT-13910T allele.

Keywords: Lactase; Lactose Intolerance; MCM6; Polymorphism, Genetic

P-7

ANALIZA GENOMSKIH SPECIFIČNOSTI TRIJU SUBGENOMA U ALOTRIPLOIDU *Allium x cornutum* MAPIRANJEM MINISATELITA

I. Šamanić¹, T. Budimir¹, Ž. Fredotović¹, H. Kalinić¹, V. Besendorfer², J. Puizina¹

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet Split, Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska (isamanic@pmfst.hr), ²Biološki odsjek, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska

Kako bi istražili sastav i evoluciju ponavljajućih sekvenci u allotriploida *Allium x cornutum* i njegove tri roditeljske vrste iz roda *Allium*, sekcija *Cepa*, primijenili smo sekvenciranje sljedeće generacije niske pokrivenosti i grupiranje sekvenci na temelju sličnosti na sva četiri genoma. Kako bismo identificirali moguće genomske promjene, fokusirali smo se na satelitsku DNA kao dio genoma koji se najbrže razvija. Primjenom komparativne bioinformatike i fluorescentne hibridizacije in situ (FISH), otkrili smo tri satelitske obitelji DNA koje su zajedničke u allotriploida i njegovim roditeljskim vrstama. Štaviše, identificirali smo vrstu satelitske DNA s duljinom monomera od 97 pb koja je relativno zastupljenija u allotriploidu nego u bilo kojoj od tri roditeljske vrste. Na temelju FISH analize ova vrsta minisatelita lokalizirana je u pericentromernoj regiji drugog najvećeg para kromosoma *A. cepa*. U kariotipu triploidnog *A. x cornutum*, detektirana su tri signala na dva različita kromosoma: jedan u pericentromernom području dužeg te dva u pericentromernoj i interkalarnoj regiji kraćeg kromosoma. Dodatno citogenetičko mapiranje FISH tehnikom u druge dvije roditeljske vrste (*A. roylei* i *A. pskemense*) dat će odgovor na pitanje je li dinamika širenja ovog minisatelita možda proizvela novi tip genomskih rearanžmana u allotriploidnom kariotipu. Kartiranje minisatellitskih lokusa omogućit će citogenetički pregled povijesti distribucije roditeljskih tri-subgenoma u njihovom allotriploidu.

Ključne riječi: *Allium*, sekcija *Cepa*, minisateliti, poliploidija, evolucija genoma

ELUCIDATION OF THE GENOMIC SPECIFICITY OF THE THREE SUBGENOMES IN THE ALLOTRIPLOID *Allium x cornutum* USING MINISATELLITES

I. Šamanić¹, T. Budimir¹, Ž. Fredotović¹, H. Kalinić^{1a}, V. Besendorfer², J. Puizina¹

¹University of Split, Faculty of Science, Department of Biology, Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia; University of Split, Faculty of Science, Department of Computer Science, Ruđera Boškovića

To investigate how the repeat composition of the allotriploid *Allium x cornutum* and its three parental species from the *Allium* sect. *Cepa*, diverged, we applied low coverage next-generation sequencing and read clustering to their four genomes. To identify possible genomic changes, we focused on satellite DNA as the most rapidly evolving part of the genome. By applying comparative bioinformatics and fluorescent in situ hybridization (FISH), we uncovered three satellite DNA families that were shared among allotriploid and its parental species. Furthermore, we identified a satellite DNA class with a monomer length of 97 pb that is relatively more abundant in the allotriploid than in any of the three parental species. This type of minisatellite was mapped by FISH in the pericentromeric region of the second largest chromosome pair of *A. cepa*. In the karyotype of triploid *A. x cornutum*, two different chromosomes carried three signals: one locus in the pericentromeric region of the longer chromosome and two loci in both the pericentromeric and intercalary positions of the shorter chromosome. Ongoing FISH mapping in the other two parental species (*A. roylei* and *A. pskemense*) will answer the question of whether the dynamics of this minisatellite may have produced some type of genomic novelties in the allotriploid karyotype. Mapping of minisatellite loci will provide a cytogenetic overview of the history of parental tri-subgenome distribution in their allotriploid.

Keywords: *Allium* sect. *Cepa*, minisatellites, polyploidy, genome evolution

P-8

ODGOVOR NA TOPLINSKI STRES U UROČNJAKA S PROMIJEHENJENOM RAZINOM FUNKCIONALNOG PROTEINA DMS3

S. Vitko, M. Tkalec, T. Vuk, N. Bauer, D. Leljak Levanić, Ž. Vidaković Cifrek
Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska (sandra.vitko@biol.pmf.hr, mirta.tkalec@biol.pmf.hr, tamara.vuk@biol.pmf.hr, natasa.bauer@biol.pmf.hr, dunja@zg.biol.pmf.hr, zeljka.vidakovic-cifrek@biol.pmf.hr)

Protein DMS3 (engl. DEFECTIVE IN MERISTEM SILENCING 3) jedna je od ključnih komponenti DNA-metilacije usmjerenih malim molekulama RNA (RdDM). Posredujući u metilaciji DNA, RdDM ima ulogu u kontroli integriteta genoma i ekspresije gena, osobito tijekom prilagodbe biljaka na promjenjive okolišne uvjete. Cilj rada bio je istražiti učinak povišene temperature na odabrane fiziološke i biokemijske parametre u uročnjaku (*Arabidopsis thaliana*) s promijenjenom ekspresijom funkcionalnog proteina DMS3. Klijanci s pojačanom ekspresijom gena DMS3 (linija oeDMS3) ili nefunkcionalnim proteinom DMS3 (linija dms3 1) te divlji tip (wt) uzgajani su na temperaturi od 24 °C i zatim izloženi 37 °C tijekom šest sati. Biljni materijal sakupljen je u dvije vremenske točke - odmah nakon tretmana i nakon 24-satnog oporavka na 24 °C. U dms3 1, izlaganje 37 °C rezultiralo je smanjenjem fotosintetske učinkovitosti u obje vremenske točke. Povećan sadržaj prolina i MDA uočen je samo u dms3 1 nakon oporavka. U oeDMS3, aktivnost gvajakol peroksidaze (G POD), askorbat peroksidaze (APX) i katalaze (CAT) povećala se odmah nakon tretmana, dok se aktivnost superoksid dismutaze (SOD) povećala nakon oporavka. U dms3 1 samo se aktivnost CAT povećala neposredno nakon tretmana, dok se aktivnost G POD smanjila u obje vremenske točke. Rezultati ukazuju da je linija dms3 1 osjetljivija na toplinski stres u usporedbi s oeDMS3 i wt, sugerirajući da je protein DMS3 potreban za toleranciju povišenih

temperatura u uročnjaka.

Ključne riječi: RdDM, fotosinteza, prolin, antioksidacijski enzimi, lipidna peroksidacija

HEAT STRESS RESPONSE IN *Arabidopsis* WITH MODIFIED DMS3 EXPRESSION

S. Vitko, M. Tkalec, T. Vuk, N. Bauer, D. Leljak Levanić, Ž. Vidaković Cifrek

Division of Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (sandra.vitko@biol.pmf.hr, mirta.tkalec@biol.pmf.hr, tamara.vuk@biol.pmf.hr, natasa.bauer@biol.pmf.hr, dunja@zg.biol.pmf.hr, zeljka.vidakovic-cifrek@biol.pmf.hr)

The protein DEFECTIVE IN MERISTEM SILENCING 3 (DMS3) is one of the key components of RNA-directed DNA methylation (RdDM). By mediating DNA methylation, RdDM has a role in controlling genome integrity and gene expression, particularly during plant acclimation to fluctuating environmental conditions. The aim of this study was to question the impact of elevated temperature on selected physiological and biochemical parameters in *Arabidopsis thaliana* with modified DMS3 expression. Seedlings with overexpressed DMS3 gene (oeDMS3 line) or non-functional DMS3 protein (dms3 1 line) together with the wild type (wt), were cultured at temperature of 24 °C and subsequently exposed to 37 °C for six hours. Plant material was collected at two time points - immediately after the treatment and after a 24-hour recovery period at 24 °C. In dms3 1 line, exposure to 37 °C resulted in a decrease of photosynthetic performance at both time points. Increased proline and MDA content were observed only in dms3 1 after recovery. In oeDMS3 line, guaiacol peroxidase (G POD), ascorbate peroxidase (APX), and catalase (CAT) activity increased immediately after the treatment, whereas superoxide dismutase (SOD) increased after recovery. In dms3 1 line, only CAT activity increased immediately after the treatment, whereas G POD decreased at both time points. It can be concluded that dms3 1 was more heat-sensitive than oeDMS3 and wt, suggesting that the DMS3 protein is required for heat tolerance in *Arabidopsis*.

Keywords: RdDM, photosynthesis, proline, antioxidant enzymes, lipid peroxidation

P-9

ULOGA PROTEINA BPM1 U KONTROLI METILACIJSKIH OBRAZACA GENA KONTROLIRANIH MEHANIZMOM RDDM U VRSTE *Arabidopsis thaliana* L.

T. Vuk, L. Markulin, A. Škiljaica, M. Jagić, N. Bauer, D. Leljak Levanić

³Biološki odsjek, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska

Glavna uloga proteina BPM1 u uročnjaku (*Arabidopsis thaliana* L.) je u kompleksu kulin3-ovisnih E3 ligaza gdje domenom MATH prepoznaje specifične proteinske supstrate usmjeravajući ih u ubikvitinaciju i degradaciju na proteasomu 26S. Metodama ko-imunoprecipitacije i spektrometrije masa utvrđena je interakcija proteina BPM1 s DMS3 i RDM1 komponentama kompleksa DDR uključenog u RNA-posredovanu metilaciju DNA (RdDM). Kompleks DDR regrutira Polimerazu V te sudjeluje u pozicioniranju metilacijskog kompleksa na genom. Navedene interakcije nisu posredovane domenom MATH, ukazujući kako se kroz ovu interakciju proteini DMS3 i RDM1 ne

degradiraju. U svrhu razjašnjena uloge proteina BPM1 u RdDM-u, odabrano je pet gena za analizu metilacije bisulfitnim mapiranjem i pirosekvciranjem. Geni FWA i CML41 korišteni su kao kontrole budući da je njihova regulacija RdDM-om poznata od ranije. Kromatinskom imunoprecipitacijom identificirali smo zajedničke vezne regije proteina BPM1 i DMS3 na genomu linije s nefunkcionalnom proteasomalnom degradacijom, te izdvojili gene AGL14, RKP i FBW2 kao nove mete proteina BPM1 i RdDM-a. Metilacijski obrasci za svako metilacijsko mjesto i metilacijski kontekst, uspoređeni su između divljeg tipa te linije s overekspresijom proteina BPM1 i linije s nefunkcionalnim proteinom DMS3. Rezultati su pokazali značajno više razine metilacije povezane s RdDM-om u biljkama s povišenom ekspresijom proteina BPM1 te gubitak metilacije u RdDM-nefunkcionalnoj mutanti dms3.

Ključne riječi: BPM1, RdDM, metilacija DNA, pirosekvciranje

ROLE OF BPM1 PROTEIN IN THE CONTROL OF METHYLATION PATTERNS OF RDDM TARGETED GENES IN *Arabidopsis thaliana* L.

T. Vuk, L. Markulin, A. Škiljaica, M. Jagić, N. Bauer, D. Leljak Levanić

Division of Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (tamara.vuk@biol.pmf.hr)

The main role of the *Arabidopsis thaliana* BPM1 protein is within cullin3-based E3 ligases, where it acts as a substrate-specific adapter and through its MATH domain binds proteins destined for ubiquitination and degradation via 26S proteasome. Co-immunoprecipitation and mass spectrometry revealed interaction of BPM1 with DMS3 and RDM1, components of a DDR complex involved in RNA-directed DNA methylation (RdDM). The DDR complex recruits Polymerase V to chromatin and is indirectly responsible for positioning of methylation machinery at specific genomic locations. The BPM1 interactions with DMS3 and RDM1 were not mediated by MATH domain, indicating that DMS3 and RDM1 are not substrates directed for degradation. To elucidate the role of BPM1 protein in RdDM, five genes were selected for methylation analysis by bisulfite mapping and pyrosequencing. Genes FWA and CML41, known targets of the RdDM pathway, were used as controls. Novel target genes - AGL14, RKP and FBW2 - were detected using chromatin immunoprecipitation for identification of mutual binding regions of BPM1 and DMS3 in a line with dysfunctional proteasomal degradation. Methylation patterns for each individual methylation position, as well as for each methylation context were compared between wild type, BPM1 overexpressor and a mutant with a dysfunctional DMS3 protein. The results showed significantly higher RdDM mediated DNA methylation in BPM1 overexpressing plants and a loss of it in dms3 mutant.

Keywords: BPM1, RdDM, DNA methylation, pyrosequencing

P-10

FILOGENETSKI ODNOS IZMEĐU VRSTA *Troglaegeopsis mosorensis* (RIEDEL&RAĐA, 1983) i *Aegopis verticillus* LAMARCK, 1822 (GASTROPODA, ZONITIDAE)

B. Apostolska¹, M. Petrić², Ž. Trumbić², A. Paladin¹, T. Rađa³, M. Šantić¹

¹Prirodoslovno-matematički fakultet, Odjel za biologiju, Sveučilište u Splitu, Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska (radja@pmfst.hr), ²Sveučilišni odjel za studije mora, Sveučilište u Splitu, Rudjera Boškovića 37, 21000 Split, Hrvatska, ³Speleološko društvo "Špiljar", Varaždinska ul. 53, 21000, Split, Hrvatska

Sistematski položaj vrste *Troglaegeopsis mosorensis*, temeljen na morfologiji kućice i anatomiji spolnih organa, svrstavaju ovu vrstu u porodicu Zonitidae. Međutim, iako je kućica tipčna za porodicu Zonitidae, produženi vaginalni privjesak tzv. "brachium copulatorum" tipičan je za porodicu Vitrinidae. Da bismo potvrdili točnu pripadnost ove vrste ili porodici Zonitidae ili Vitrinidae, koristili smo Maximum Likelihood i Bayesian filogenetsku analizu na našim vrstama i vrstama roda *Zonites* i *Turcozonites* iz Banke gena na ukupno 4 gena mtDNA (16S, COI, H3 i ITS) na 21 jedinki *Troglaegeopsis mosorensis*, 4 primjerka roda *Meledella*, 6 jedinki *Aegopis verticillus* i 7 jedinki *Vitrina pellucida*. Dobiveni rezultati pokazuju potpuno odvajanje vrste *Troglaegeopsis mosorensis* od predstavnika porodice Zonitidae, ali i neočekivano vrste *Aegopis verticillus* što sugerira novi sistematski položaj na razini porodice.

Ključne riječi: Gastropoda, Zonitidae, *Troglaegeopsis mosorensis*, mtDNA, filogenetski položaj

PHYLOGENETIC RELATIONSHIP BETWEEN *Troglaegeopsis mosorensis* (RIEDEL & RAĐA, 1983) AND *Aegopis verticillus* LAMARCK, 1822 (GASTROPODA, ZONITIDAE) INFERRED FROM MITOCHONDRIAL DNA

B. Apostolska¹, M. Petrić², Ž. Trumbić², A. Paladin¹, T. Rađa³, M. Šantić¹

¹Faculty of Science, Department of Biology, University of Split, Rudjera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia (radja@pmfst.hr), ²Department of Marine Studies, University of Split, Rudjera Boškovića 37, 21000 Split, Croatia, ³Speleological Society "Špiljar", Varaždinska ul. 53, 21000, Split, Croatia

Taxonomic position of the species *Troglaegeopsis mosorensis* (Riedel & Rađa, 1983) (Kuščer, 1933), based on shell morphology and anatomy of reproductive organs place this species in a family Zonitidae. Shell morphology is very similar to representatives of family Zonitidae but "brachium copulatorum" (very long vaginal appendage) is a characteristic for family Vitrinidae. In our survey we combined morphology-based taxonomy and molecular techniques to define the current taxonomic status of *T. mosorensis* whose internal morphology (genital organs) bear some characteristics of the family Vitrinidae (Riedel and Radja 1983; Hausdorf 2002), but the species is included in the family Zonitidae. In order to determine whether species *Troglaegeopsis mosorensis* belongs to the family Zonitidae or Vitrinidae we performed a Maximum Likelihood and Bayesian phylogenetic analysis by combining our data and data on the species of the genus *Zonites* (Montfort, 1810) and *Turcozonites* (Riedel, 1987) from GenBank. We have determined the mitochondrial 16S rDNA, COI, H3 and ITS region sequences of 21 *Troglaegeopsis*, 4 *Meledella*, 6

Aegopis and 7 *Vitrina* specimens. Our results indicate the separate position of the genus *Troglaeopis* and unexpectedly *A. verticillus* in relation to the families Zonitidae and Vitrinidae that suggest new systematic position on family level for the genera *Troglaeopis* and *Aegopis*.

Keywords: Gastropoda, Zonitidae, *Troglaeopis mosorensis*, mtDNA, phylogenetic relationship

P-11

GENETIC CHARACTERISTICS OF INTRODUCED MOUFLONS IN CROATIA AND SLOVENIA

E. Bužan¹, F. Urzi¹, B. Pokorný², L. Duniš¹, A. Bončina¹, L. Iacolina^{1,3}, N. Šprem⁴, S. Stipoljev⁴, P. Mereu⁵, G. Leonī⁵, M. Pirastru⁵, T. Safner⁶

¹University of Primorska, Faculty of Mathematics, Natural Sciences and Information Technologies, Department of Biodiversity, Glagoljaška 8, 6000 Koper, Slovenia, (aja.boncina@famnit.upr.si), ²Faculty of Environmental Protection, Trg mladosti 7, 3320 Velenje, Slovenia, ³Aalborg University, Department of Chemistry and Bioscience, Frederik Bajers Vej 7H, 9220 Aalborg, Denmark, ⁴Faculty of Agriculture, Department of Fisheries, Apiculture, Wildlife Management and Special Zoology, University of Zagreb, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia, ⁵University of Sassari, Dipartimento di Scienze Biomediche, Via Muroni 25, 07100 Sassari, Italy, ⁶Faculty of Agriculture, Department of Plant Breeding, Genetics and Biometrics, University of Zagreb, Svetosimunska c. 25, 10000, Zagreb, Croatia

In the early 20th century, mouflons were introduced in Croatia, while introductions in Slovenia occurred in the 1950s and 1960s. Since the introduction, populations in both countries have remained stable, with occasional declines and increases in some areas. Our aim was to: i) determine the origin of introduced mouflons, ii) compare the neutral and adaptive genetic make up of introduced populations. We also included individuals from Germany, Corsica, Sardinia, and the Czech Republic in the genetic analysis, which was performed at neutral loci (partial fragment of mitochondrial control region, mtCR) and adaptive major histocompatibility complex (MHC; DRB exon 2) using the next generation approach. The haplotype network based on mtCR showed that most mouflons from Slovenia share the same haplotypes or are closely related to mouflons from Germany and Sardinia; a few share the same haplotypes as most mouflons from Croatia. All Croatian mouflons share the same or close haplotypes as the population from Croatia's Brijuni National Park. Similar results in both countries were revealed by MHC genes. The origin of populations, as indicated by the genetic data, is consistent with written historical data, but also clarifies some evidence for the introduction or release of additional individuals into some colonies for which historical data are not available. We confirmed that both mitochondrial DNA and MHC polymorphism can be used as powerful markers for studying translocation pathways.

Keywords: mouflon, introduction, mtCR, MHC, NGS

P-12

INTEGUMENT IN *Apfelbeckia insculpta* (L. Koch, 1867) (DIPLOPODA, CALLIPODIDA) – MORPHOANATOMICAL AND ULTRASTRUCTURAL STUDY

B. Ilić¹, M. Labudović Borović², B. Dudić¹, J. Milovanović¹, I. Novaković³, L. Lučić¹, S. Makarov¹

¹Institute of Zoology, Faculty of Biology, University of Belgrade, Studentski Trg 16, 11000 Belgrade,

Serbia (bojan.ilic@bio.bg.ac.rs), ²Institute of Histology and Embryology "Aleksandar Đ. Kostić", Faculty of Medicine, University of Belgrade, Doktora Subotića 8, 11000 Belgrade, Serbia, ³Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Njegoševa 12, 11000 Belgrade, Serbia

The morphoanatomical and ultrastructural features of the integument (cuticle + epidermis) of an endemic Balkan millipede, *Apfelbeckia insculpta* (L. Koch, 1867), are investigated utilizing light (LM) and transmission electron microscopy (TEM). Cuticle consists of epicuticle (outermost layer), exocuticle, endocuticle and membranous layer that is in contact with the underlying epidermis. Epicuticle is layer of varying thickness, while exocuticle is composed of helicoidally arranged sheets of microfibriles that appear as close-spaced light and dark bands. Endocuticle is the widest part of cuticle with the broad light bands that are oriented in the same direction. TEM micrographs show that these bands are composed of lamellae arranged in arcuate pattern and curved microfibriles. Membranous layer is intersected in some regions by canals that connect epidermis and different levels of the cuticle and/or surface. The epidermis is monostratified layer of cells that are characterized by distinct polarity. Basal part of epidermal cells is rich in rough endoplasmic reticulum and mitochondria, while apical part contains numerous osmophilic granules. Nuclei of epidermal cells are ovoid and positioned in different regions of cells. Interdigitations are formed among cells in some epidermal regions. Our study corroborates previous findings on integument organization in Diplopoda and shows that species-specific patterns of cuticular ultrastructure can be present in these arthropods.

Keywords: millipedes, cuticle, epidermis, light microscopy, transmission electron microscopy

P-13

MICROSTRUCTURAL ORGANIZATION OF ADHESIVE PADS IN *Apfelbeckia insculpta* (L. Koch, 1867) (DIPLOPODA, CALLIPODIDA)

B. Ilić, V. Vujić, J. Milovanović, Z. Jovanović, D. Stojanović, V. Tomić, S. Makarov

Institute of Zoology, Faculty of Biology, University of Belgrade, Studentski Trg 16, 11000 Belgrade, Serbia (bojan.ilic@bio.bg.ac.rs)

Males of many millipedes possess a number of secondary sexual characters (SSCs). Probably, the best-known SSCs in millipedes are gonopods, i.e., modified legs of the seventh body ring that are used for sperm transfer. Other SSCs can be found in diplopod males – modifications of gnathochilarium, coxal glands or adhesive pads on walking legs. Although the organization of SSCs has been well documented in diplopods, microstructure of leg adhesive pads is still understudied. The aim of this study was to determine the fine structure of adhesive pads in males of *Apfelbeckia insculpta* (L. Koch, 1867), an endemic species of Western Balkans. Microstructure of adhesive pad was studied using light and scanning electron microscopy. Adhesive pads are developed on all legs, excluding the first three and the last five leg-pairs. They are present on ventral surfaces of tibiae and tarsi, and their surface area is largest on anterior legs. Adhesive pads are formed of numerous filamentous bristles with acuminate tips. Each bristle has round socket on tibial and tarsal surface and shows light striation in upper parts. The tips of bristles on their ventral side are flattened and with horizontal striation that is narrowing toward the bristle tip. As adhesive pads are present only in males of *A. insculpta*, we assume that these structures enable male to achieve firmer grip and to hold onto female during mating.

Keywords: millipedes, sexual dimorphism, morphology, secondary sexual characters

P-14

MONITORING INVAZIVNE VRSTE *Aedes japonicus* (THEOBALD, 1901) NA PODRUČJU OSJEČKO-BARANJSKE ŽUPANIJE OD 2016. DO 2021. GODINE

I. Kurtek, N. Turić, H. Bekina, M. Sikora, I. Vukušić

Nastavni zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Drinska 8, 31000 Osijek, Hrvatska
(ikurtek.ddd@gmail.com, zzjz-os@os.htnet.hr)

Zbog klimatskih promjena i suvremenog transporta roba invazivne vrste komaraca se ubrzano šire Europom. Jedna od pet vrsta koje se šire je vrsta *Aedes (Finlaya) japonicus*. Na području Republike Hrvatske prisutnost vrste *A. japonicus* забиљежена je prvi put u rujnu 2013. u Đurmancu i na području graničnog prijelaza u Macelju te se širi prema istoku Republike Hrvatske, na području Osječko-baranjske županije. Nastavni zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske proveo je monitoring ove invazivne vrste u sklopu monitoringa invazivnih vrsta komaraca. Za potrebe monitoringa uzorkovana su jaja metodom ovipozicijskih lovki koje su poslije u laboratorijskim uvjetima razvijane do stadija odrasle jedinke u posudama za razvijanje te su odrasle jedinke izdvajane i determinirane kako bi se potvrdila prisutnost vrste. Uzorkovanje je provedeno od 2016. do 2021. godine na 24 postaje; na gotovo svakoj lokaciji odabrane su tri mikrolokacije. Uzorci su prikupljeni dinamikom uzorkovanja od 7 do 14 dana. Ovim monitoringom potvrđena je prisutnost i širenje vrste na području Osječko-baranjske županije. Širenje i povećanje brojnosti jedinki ove invazivne vrste mogao bi postati javnozdravstveni problem, budući da ovi komarci imaju potencijal postati napasnici kao i vektorski potencijal za bolesti koje se prenose komarcima.

Ključne riječi: invazivna vrsta, *Aedes japonicus*, širenje, Osječko-baranjska županija, umjetna i prirodna staništa

MONITORING OF THE INVASIVE SPECIES *Aedes japonicus* (THEOBALD, 1901) IN OSIJEK-BARANYA COUNTY BETWEEN 2016 AND 2021

I. Kurtek, N. Turić, H. Bekina, M. Sikora, I. Vukušić

Teaching institute of public health for the Osijek-Baranya country, Drinska 8, 31000 Osijek, Croatia
(ikurtek.ddd@gmail.com, zzjz-os@os.htnet.hr)

Due to climate change and modern goods transport invasive mosquito species are rapidly spreading throughout Europe. One of the five spreading species is the species *Aedes (Finlaya) japonicus*. The presence of the species *A. japonicus* was first recorded on the territory of the Republic of Croatia in September 2013 in Đurmanec and in the border crossing area in Macelj and it has been spreading to the east of Croatia. The Teaching Institute of Public Health for Osijek-Baranya County conducted monitoring of this invasive species as part of the monitoring of invasive mosquito species. For monitoring purposes, eggs were sampled using the oviposition trap method, which were later developed in laboratory conditions to the stage of an adult individual in developing vessels and adult individuals were extracted and determined to confirm the presence of the species. Sampling was carried out from 2016 to 2021 in 24 stations and three micro-locations were selected at almost each location. Samples were collected by sampling dynamics between 7

and 14 days. The presence and spread of the species in the area of Osijek-Baranya County have been confirmed by this monitoring. The spread and increase in the number of individuals of this invasive species could become a public health concern, since these mosquitoes have the potential to become pests as well as the vector potential for mosquito-borne diseases.

Keywords: invasive species, *Aedes japonicus*, spreading, Osijek-Baranya County, artificial and natural habitats

P-15

IZRADA DIHOTOMSKOG KLJUČA ZA ODREĐIVANJE VRSTA DESETERONOŽNIH SLATKOVODNIH RAKOVA NA PODRUČJU REPUBLIKE HRVATSKE

M. Machata¹, M. Đulabić Chalfe¹, I. Maguire², Z. Pongrac Štimac¹

¹V. Gimnazija, Zagreb, Klaićeva ulica 1, 10000 Zagreb, Hrvatska (marita.machata@skole.hr, zrinkaps@gmail.com), ²PMF - Biološki odsjek, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (imagine@biol.pmf.hr)

U Hrvatskoj su dosadašnjim istraživanjima utvrđene četiri autohtone europske vrste i tri alohtone invazivne vrste slatkovodnih deseteronožnih rakova iz porodice Astacidae, a posljednji sveobuhvatni determinacijski ključ rakova hrvatskih staništa iz 2002. godine nije ni javno ni digitalno dostupan, koristi djelomično zastariju/nevernu terminologiju i ne obuhvaća sve vrste danas rasprostranjene u Hrvatskoj. Cilj istraživanja bio je izraditi aktualni, interaktivni i široko dostupni online ključ za determinaciju autohtonih i alohtonih invazivnih vrsta rakova koji danas obitavaju na području Hrvatske na osnovi analize izmjerjenih morfometrijskih i merističkih obilježja te objavljivanjem na internetu omogućiti korištenje istog u znanstveno-obrazovne svrhe. Bilježene su i analizirane morfometrijske (8) i merističke (8) značajke na 20 jedinki svake vrste (10 mužjaka i 10 ženki) kako bi se zaključilo o varijabilnosti unutar vrste (intraspecijska) i između vrsta (interspecijska) te izdvojile značajke koje mogu služiti za razlikovanje vrsta. Na temelju prikupljenih podataka i rezultata analize izrađen je digitalni ključ s opcijom chatbota koji služi za razlikovanje svih sedam vrsta slatkovodnih rakova koji naseljavaju staništa Republike Hrvatske. Rad ukazuje na vrijednost upotrebe znanstvenih zbirki u učenju i poučavanju Biologije.

Ključne riječi: plemeniti rak, uskoškari rak, bjelonogi rak, potočni rak, signalni rak, bodljobradi rak, mramorni rak

KEY FOR DETERMINATION OF FRESHWATER CRAYFISH ON THE TERRITORY OF CROATIA

M. Machata¹, M. Đulabić Chalfe¹, I. Maguire², Z. Pongrac Štimac¹

¹5th Gymnasium, Zagreb, Klaićeva ulica 1, 10000 Zagreb, Croatia (marita.machata@skole.hr, zrinkaps@gmail.com), ²Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (imagine@biol.pmf.hr)

Croatian freshwater habitats are populated by four autochthonous European crayfish species and three allochthonous invasive crayfish species. The latest comprehensive determination key for crayfish inhabiting Croatian freshwaters, published in 2002, is neither publicly nor digitally accessible, uses partially outdated terminology and does not include all species that currently inhabit Croatian habitats. This research aims to produce an interactive, up-to-date, and widely

available online key for determination of autochthonous and allochthonous crayfish species in Croatia. The key is based on the analyses of measured morphometric and meristic feature and enable its scientific and educational use by making the key digitally accessible. Morphometric (8) and meristic (8) characteristics were recorded and analysed on 20 individuals per each species (10 male and 10 female) in order to establish variability within species (intraspecific) and between species (interspecific) and to single out features that are useful in species determination. Based on the collected and analysed data, a digital key with a chatbot feature was created to distinguish all seven species of freshwater crayfish inhabiting Croatian freshwaters. This presentation emphasizes the value of using scientific collections in teaching and learning Biology.

Keywords: noble crayfish, narrow-clawed crayfish, white-clawed crayfish, stone crayfish, signal crayfish, spiny-cheek crayfish, marbled crayfish

P-16

PRVI IZVJEŠTAJ O JEDINSTVENOM NALAZU FOSILIZIRANIH ZVJEZDAČA *Asteroidea DE BLAINVILLE, 1830* IZ ZASEOKA ČIĆIĆI U GORNJEM MUĆU

T. Milat, N. Ževrnja

Prirodoslovni muzej i zoološki vrt Split, Kolombatovićevo šetalište 2, 21000 Split, Hrvatska, (tino.milat@prirodoslovni.hr, nediljko@prirodoslovni.hr)

Za paleofaunu beskralježnjaka Republike Hrvatske jedinstven je nalaz fosiliziranih morskih zvjezdača iz zaseoka Čićeći u Gornjem Muću pronađenih krajem travnja 2020. godine. Fosilni materijal predstavljaju tri zvjezdače prosječne veličine 3,5 cm. Vidljive su samo jezgre. Na zvjezdačama ne postoje nikakvi detalji građe, a u svrhu daljnje determinacije. Sačuvanost zvjezdača možemo zahvaliti procesu sedimentacije koji se odvija relativno brzo i u mirnoj sredini. Samom analizom stijene na kojoj se nalaze jezgre zvjezdača zaključeno je da se radi o sajskim naslagama s elementima karbonatne sedimentacije koje spadaju u donji trijas (Induan). Ovakvi organizmi su dosta osjetljive građe, te se jako teško očuvaju njihovi fosili. Posjedovanje fosila zvjezdača čini Prirodoslovni muzej u Splitu, odnosno njegov fundus bogatijim za ovaj izrazito vrijedan i zanimljiv paleomaterijal. Ovim putem, kao i planiranim muzejskim izložbama predstavljamo javnosti ovaj vrijedan nalaz.

Ključne riječi: fosilizirane zvjezdače, Gornji Muć, Republika Hrvatska

FIRST REPORT ON THE UNIQUE FINDINGS OF FOSSILIZED STARFISH *Asteroidea DE BLAINVILLE, 1830* FROM THE HAMLET OF ČIĆIĆI IN GORNJI MUĆ

T. Milat, N. Ževrnja

Natural History Museum and Zoo Split, Kolombatovićevo šetalište 2, 21000 Split, Croatia (tino.milat@prirodoslovni.hr, nediljko@prirodoslovni.hr)

For the paleofauna of invertebrates of the Republic of Croatia, the finding of fossilized starfish from the hamlet of Čićeći in Gornji Muć, found at the end of April 2020, is unique. Fossil material is represented by three starfish with an average size of 3.5 cm. Only the cores are visible. There are no details of the material on the starfish, for the purpose of further determination. The

preservation of the starfish can be attributed to the sedimentation process that took place relatively quickly and in a calm environment. The analysis of the rock on which the star cores are located concluded that these are soot deposits with elements of carbonate sedimentation that belong to the Lower Triassic (Induan). The structure of such organisms are quite sensitive, and it is very difficult to preserve their fossils. Possession of the star fossil makes the Natural History Museum in Split, i.e. its holdings richer for this extremely valuable and interesting paleomaterial. This way, as well as the planned museum exhibitions, we present this valuable find to the public.

Keywords: fossilized starfish, Gornji Muć, Republic of Croatia

P-17

POSTEMBRYONIC DEVELOPMENT IN *Megaphyllum bosniense* (Verhoeff, 1897) (DIPLOPODA, JULIDA)

J. Milovanović, V. Vujić, B. Dudić, V. Tomić, Z. Jovanović, S. Makarov, B. Ilić

¹Institute of Zoology, Faculty of Biology, University of Belgrade, Studentski Trg 16, 11000 Belgrade, Serbia (jelena.milovanovic@bio.bg.ac.rs)

In this study, we examined postembryonic development of julidan millipede *Megaphyllum bosniense* (Verhoeff, 1897). Aims of this study were to determine the mode of postembryonic development, the number of postembryonic stadia, to determine the first postembryonic stadium when males and females can be distinguished and to determine when the adulthood is reached in our study species. All individuals examined in this study were sampled from Mt. Avala, Belgrade, Serbia. Apart from field collected millipedes, animals were bred and reared in laboratory in order to examine younger postembryonic stadia. Following characters were used for stadia separation: total number of body rings, numbers of podous and apodus body rings, number of rows of ocelli and number of ocelli. In *M. bosniense*, we determined that postembryonic period of life cycle consists of twelve stadia and sexes can be distinguished starting from the stadium VII. This is the first stadium where primordia of gonopods (modified legs of males that are used for sperm transfer) can be found. The presence of fully developed gonopods in males and eggs in ovaria in females implies that adulthood is reached at the stadium X. *Megaphyllum bosniense* undergoes euanamorphic mode of postembryonic development. Observed patterns of changes in morphological characters used in our study represent reliable system for stadia determination in *M. bosniense* and show that this species shares similar developmental pathways with other Julida.

Keywords: millipedes, postembryogenesis, anamorphosis, morphology

P-18

EFFECTS OF CADMIUM ON NATURAL SELECTION IN GYPSY MOTH (*Lymantria dispar* L.)

D. Mirčić¹, B. Stojković², L. Ilijin³, M. Mrdaković³, M. Vlahović³, D. Todorović³, V. Perić Mataruga³, J. Lazarević³

¹State University of Novi Pazar, Department for Natural Sciences and Mathematics, Dimitrija Tucovića bb, 36300 Novi Pazar, Serbia (dmircic@np.ac.rs), ²Institute of Zoology, Faculty of Biology, University of Belgrade, Studentski Trg 16, 11000 Belgrade, Serbia, ³Institute for biological research

Natural selection has significant effect on phenotypic changes in organisms exposed to chronic environmental stress induced by pollutants such as cadmium. The adaptation to such a stress comes as a direct result of natural selection in traits that will induce the evolution of tolerance to stressful environment both directly and indirectly. A statistic method was used in this experiment to determine the standard linear selection gradients (β') and standard linear selection differentials (i') used to estimate the intensity of the natural selection to certain traits of the adaptive values (LD – larval development; PM – pupae mass; PD – pupae development) in control group (C) and treatments ((T1 – 10 µg/g Cd; T2 – 30 µg/g Cd; iT3 – 50 µg/g Cd) where adults lifespan (AL) was considered to be the measure of the adaptive value. Significant negative selection gradients and differentials in males to LD in group T3 were determined in our experiment, as well as positive selection gradients and differentials in females to PM in groups C, T1 and T2. Females showed significant selection gradients and differentials to PM in groups C, T1 and T2 while the same occurred with males from group C. Positive selection gradients and differentials to PD were determined in females from group T1 and males from groups C and T2. When exposed to stressful environments, larger females and males with shorter larval and pupal development seem to be favoured by natural selection.

Keywords: cadmium, gypsy moth, directional selection, fitness-related traits

P-19

FLORA OTOČIĆA MAJSAN, MAJSANIĆ I GOJAK U KORČULANSKOM ARHİPELAGU (JUŽNA HRVATSKA)

M. Ruščić¹, B. Čorić¹, N. Marinović²

¹Prirodoslovno-matematički fakultet, Odjel za biologiju, Sveučilište u Splitu, Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska (mrus@pmfst.hr, bcoric@pmfst.hr), ²OŠ Smokvica, 20272 Smokvica, otok Korčula, Hrvatska (nikolina.marinovic8@skole.hr)

Na temelju istraživanja provedenog tijekom 2020. godine, izrađen je cjeloviti popis flore otočića Majsana, Majsanića i Gojaka smještenih u korčulanskom arhipelagu. Zabilježeno je 155 vrsta i podvrsta, od kojih 149 pripada kritosjemenjačama, pet golosjemenjačama i jedna papratnjača. Ukupna flora otočića je raspoređena u 48 porodica. Najveći broj svojti pripada porodici Poaceae (32,73 %), zatim Asteraceae (10,32%), Fabaceae (7,1%), Lamiaceae (6,45%) i Liliaceae (6,45%). Najzastupljeniji životni oblici su terofiti (26,45%), hemikriptofiti (23,24 %) i fanerofiti (20,00%), a od geoelemenata najveći broj vrsta pripada mediteranskom (69,67%) i južnoeuropskom (16,13%) flornom elementu. Utvrđene su četiri endemične, tri ugrožene i osam strogo zaštićenih svojti. Među endemima se ističu *Carduus micropteris* (Borbás) Teyber ssp. *micropteris* i *Vincetoxicum hirundinaria* Medik. ssp. *adriaticum* (Beck) Markgr. Sve zabilježene endemične svojte pripadaju ilirsko-jadranskim endemskim biljkama. Ugrožene svojte su *Desmazeria marina* (L.) Druce., *Elymus pycnathus* (Godr.) Melderis i *Narcissus tazetta* L.. Od strogo zaštićenih svojti ističu se *Chenopodium murale* L. i *Posidonia oceanica* (L.) Delile. U flori otočića Majsana zabilježena je invazivna vrsta *Conyza canadensis* (L.) Cronquist.

Ključne riječi: floristička analiza, jadranski otočići, Mediteran, stjenoviti obalni pojasi

THE FLORA OF THE ISLETS MAJSAN, MAJSANIĆ AND GOJAK IN THE KORČULA ARCHIPELAGO (SOUTHERN CROATIA)

M. Ruščić¹, B. Čorić¹, N. Marinović²

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Split, Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia (mrus@pmfst.hr, bcoric@pmfst.hr), ²Smokvica elementary school, Smokvica 166, 20272 Smokvica, Croatia (nikolina.marinovic8@skole.hr)

Based on the research carried out during 2020, this study presents complete floristic list of the islands of Majsan, Majsanić and Gojak located in the Korčula archipelago. It contains 155 species and subspecies, of which 149 belonged to angiosperms, 5 to gymnosperms and 1 to ferns. The total flora of the island is distributed in 48 families. The families with the highest number of taxa are Poaceae (32.73%), Asteraceae (10.32%), Fabaceae (7.1%), Lamiaceae (6.45%) and Liliaceae (6.45%). The most common life forms are therophytes (26.45%), hemicryptophytes (23.24%) and phanerophytes (20.00%), and the largest number of plant taxa is within the Mediterranean (69.67%) and South European (16.13%) floral element. A total of four endemic, three endangered and eight strictly protected taxa were recorded. Of the endemics, *Carduus micropterus* (Borbás) Teyber ssp. *micropterus* and *Vincetoxicum hirundinaria* Medik. ssp. *adriaticum* (Beck) Markgr stand out. All recorded endemic taxa belong to Illyrian-Adriatic endemic plants. Endangered taxa are *Desmazeria marina* (L.) Druce, *Elymus pycnathus* (Godr.) Melderis and *Narcissus tazetta* L. Strictly protected taxa include *Chenopodium murale* L. and *Posidonia oceanica* (L.) Delile. The invasive species *Conyza canadensis* (L.) Cronquist has been recorded in the flora of the islet of Majsan.

Keywords: Adriatic islets, floristic analysis, Mediterranean, rocky coastal belt

P-20

USPOREDBA OBOJENOSTI PTICA POD VIDLJIVOM I ULTRALJUBIČASTOM SVJETLOŠTI

M. Štimac¹, J. Kralj², R. Halapir Franković¹

¹V. Gimnazija, Zagreb, Klaićeva ulica 1, 10000 Zagreb, Hrvatska (stimacm5@gmail.com, romana.halapir@gmail.com), ²Zavod za ornitologiju HAZU Gundulićeva ulica 24, 10000 Zagreb, Hrvatska (jkralj@hazu.hr)

Većini vrsta razreda ptica osjetilo vida je najvažnije osjetilo, a neke vrste, poput pjevica, mogu vidjeti dio ultraljubičastog (UV) djela spektra. Neke su vrste uz pigmentnu i strukturnu obojenost perja razvile i UV obojenost, vidljivu pticama koje vide UV boje. Istraživanje je napravljeno na sylakovima 45 vrsta ptica znanstvene zbirke Zavoda za ornitologiju HAZU, na po tri sylaka svake vrste. Cilj istraživanja bio je utvrditi koje vrste ptica hrvatske ornitofaune imaju UV obojenost te istražiti mogu li rezultati istraživanja pomoći pri određivanju sistematske pripadnosti pojedine vrste. Utvrđivane su razlike u UV obojenosti između ljudskom oku jednobojsnih i višebojsnih ptica, razlike između ptica koje imaju pigmentnu obojenost i onih koje imaju i strukturnu obojenost i razlike u UV obojenosti između ptica pjevica i ostalih vrsta. Rezultati su pokazali da se UV odsjaj pojavljuje učestalije kod jednobojsnih ptica u odnosu na višebojne, kod vrsta koje imaju i strukturnu obojenost te kod pjevica. Za utvrđivanje sistematske pripadnosti i međusobnih odnosa istraživanih vrsta istraživanje treba ponoviti na većem i kvalitetnijem uzorku. Manjak sylakova ženki brojnih vrsta onemogućio je provjeru razlika UV obojenosti spolova i time

utvrđivanje spolnog dimorfizma pojedine vrste. Učenička istraživanja na znanstvenim zbirkama razvijaju zanimanje za znanstveni rad, posebice kad povezuju znanja različitih područja, biologije, kemije i fizike.

Ključne riječi: ptice, Hrvatska, UV obojenost, znanstvene zbirke u učenju i poučavanju

COMPARISON OF BIRD COLORATION UNDER VISIBLE AND ULTRAVIOLET LIGHT

M. Štimac¹, J. Kralj², R. Halapir Franković¹

¹15th Gymnasium, Zagreb, Klaićeva ulica 1, 10000 Zagreb, Croatia, ²Institute of Ornithology CASA, Gundulićeva ulica 24, 10000 Zagreb, Croatia (stimacm5@gmail.com, jkralj@hazu.hr, romana.halapir@gmail.com)

For most bird species, vision is the most important sense. Some species, such as songbirds, can see a part of the ultraviolet (UV) light range. In addition to the pigmentary and structural colours of feathers, some species have also developed UV coloration, visible to birds that see UV wavelengths. The research was performed on the skins of 45 bird species from the scientific collection of the Institute of Ornithology CASA, on three individuals per species. The aim of the study was to determine which species of birds of the Croatian fauna have UV coloration and to investigate UV colours can help in identification of certain species. We studied differences in UV coloration between 1) predominantly monochromatic and multi-coloured birds; 2) birds that have only pigmented coloration and those that have also structural coloration; and 3) songbirds and other species. The results showed that UV reflection occurs more frequently in monochromatic birds, in species that also have structural coloration, and in songbirds. To determine the systematic affiliation of studied species, the research should be repeated on a larger sample. The lack of skins of females of many species impeded testing the differences in UV coloration between sexes and determination of the sexual dimorphism in particular species. Student research using scientific collections develops an interest in scientific work, especially when combining knowledge in different fields as biology, chemistry and physics.

Keywords: birds, Croatia, UV colouring, scientific collections in learning and teaching

P-21

FLORA ZNAČAJNIH KRAJOBRAZA GRAB I RUDA (DALMACIJA, HRVATSKA)

D. Vladović¹, D. Hruševan², N. Ževrnja¹, G. Piasevoli³, S. Mekinić³, B. Jukić³, L. Vrtlar¹, M. Boban¹, T. Milat¹

¹Prirodoslovni muzej i zoološki vrt Split, Kolombatovićevo šetalište 2, 21000 Split, Hrvatska (dalibor@prirodoslovni.hr, nediljko@prirodoslovni.hr, lucija.simic@gmail.com, mcvitanicst@gmail.com, tino.milat@prirodoslovni.hr), ²Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Marulićev trg 9a, 10000, Zagreb, Hrvatska (dario.hrusevar@biol.pmf.hr), ³Javna ustanova za upravljanje zaštićenim dijelovima prirode na području Splitsko-dalmatinske županije „More i krš“, Prilaz braće Kaliterna 10, 21000 Split, Hrvatska (gvido.piasevoli@moreikrs.hr, stjepan.mekinic@moreikrs.hr, branimir.jukic@moreikrs.hr)

Tijekom 2017., 2018. i 2019. godine istraživana je flora značajnih krajobraza Grab i Ruda, u blizini grada Sinja, što je rezultiralo s 368 novouvrđenih svojti za područje značajnog krajobraza Grab i

344 novouvrđene svojte za značajni krajobraz Ruda. Prema dostupnoj literaturi i našim terenskim istraživanjima, ukupno je za istraživano područje značajnog krajobraza Graba zabilježeno 375 svojti vaskularne flore, a za područje značajnog krajobraza Ruda 436 svojti vaskularne flore. U radu je napravljena analiza flornih elemenata, životnih oblika te ugroženih, strogo zaštićenih i endemičnih svojti.

Ključne riječi: flora, Grab i Ruda, Hrvatska

FLORA OF SIGNIFICANT LANDSCAPES GRAB AND RUDA (DALMATIA, CROATIA)

D. Vladović¹, D. Hruševan², N. Ževrnja¹, G. Piasevoli³, S. Mekinić³, B. Jukić³, L. Vrtlar¹, M. Boban¹, T. Milat¹

¹Natural History Museum and Zoo, Kolombatovićevo šetalište 2, 21000 Split, Croatia (dalibor@prirodoslovni.hr, nediljko@prirodoslovni.hr, lucija.simic@gmail.com, mcvitanicst@gmail.com, tino.milat@prirodoslovni.hr), ²Division of Botany, University of Zagreb, Faculty of Science, Marulićev trg 9a, 10000, Zagreb, Croatia (dario.hrusevar@biol.pmf.hr), ³Public Institution for the Management of Protected Areas in the County of Split and Dalmatia „Sea and karst“, Prilaz braće Kaliterna 10, 21000 Split, Croatia (gvido.piasevoli@moreikrs.hr, stjepan.mekinic@moreikrs.hr, branimir.jukic@moreikrs.hr)

In 2017, 2018 and 2019, the flora of the significant landscapes of Grab and Ruda, near the town of Sinj, was researched. In the process, 368 taxa in the important landscape of Grab and 344 taxa in the important landscape of Ruda were recorded for the first time. In total, according to the available literature and our field study, 375 taxa of vascular flora were recorded in the important landscape of Grab and 436 taxa of vascular flora were recorded in the important landscape of Ruda. Analyses of floral elements and plant life forms were performed. Finally, an assessment of endangered, strictly protected and endemic taxa was made.

Keywords: flora, Grab and Ruda, Croatia

P-22

PRVA MOLEKULARNA FILOGENIJA VODENIH MUHA PLESĀČICA (DIPTERA: EMPIDIDAE)

T. Vojvoda Zeljko¹, M. Pavlek², E. Wahlberg³, B. Sinclair⁴, M. Ivković⁵

¹Laboratorij za procese taloženja, Zavod za kemiju materijala, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (tanja.vojvoda@irb.hr), ²Laboratorij za nekodirajuće DNA, Zavod za molekularnu biologiju, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (martina.pavlek@irb.hr), ³Department of Zoology, Swedish Museum of Natural History, P. O. Box 50007, 10405 Stockholm, Švedska (emma.wahlberg@nrm.se), ⁴Canadian National Collection of Insects, Ottawa Plant Laboratory-Entomology, CFIA, Ottawa, ON K1A OC6, Kanada (bradley.sinclair@inspection.gc.ca), ⁵Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (marjana.ivkovic@biol.pmf.hr)

Vodene muhe plesačice (Empididae; Clinocerinae i Hemerodromiinae) su važna sastavnica slatkovodnih zajednica, naročito u tekućicama. Ličinke i odrasli su predatori te su stoga od iznimne važnosti za razumijevanje slatkovodnih hranidbenih mreža. One nisu taksonomska, već ekološka

grupa te se dijele na dvije zasebne potporodice, Clinocerinae i Hemerodromiinae. Potporodica Clinocerinae sadrži više od 350 vrsta uključenih u 16 rodova. Prijasna klasifikacija bazirana je isključivo na morfološkoj vrsti, s iznimkom roda *Wiedemannia* za kojeg je napravljena filogenija na temelju molekularnih podataka. U ovom radu napravljena je prva molekularna filogenija potporodice Clinocerinae koja uključuje predstavnike svih rodova. DNA je izolirana iz svježih i muzejskih jedinki iz područja svih svjetskih biogeografskih regija. Sekvencirana su dva mitohondrialna gena, gen za podjedinicu citokrom c oksidaze I (COI) i citokrom β (Cytβ) te tri nuklearna gena, domena karbamoil fosfat sintetaze (rudimentarna CAD), gen za elongacijski faktor (EF-1α) te izocitrat dehidrogenaza (IDH). Filogenetska analiza napravljena je koristeći metode najveće vjerojatnosti i Bayesian analizom na matrici spojenih sekvenca. Naši preliminarni rezultati ne pokazuju dovoljno filogenetskog signala kako bi potvrdili pripadnost rodova *Proagomya* i *Asymphiloptera* potporodici Clinocerinae, za razliku od ostalih rodova koji tvore monofletsku grupu.

Ključne riječi: vodene muhe plasačice, Clinocerinae, *Proagomya*, *Asymphiloptera*, filogenija, monofilija

THE FIRST MOLECULAR PHYLOGENY OF CLINOCERINAE DANCE FLIES (DIPTERA: EMPIDIDAE)

T. Vojvoda Zeljko¹, M. Pavlek², E. Wahlberg³, B. Sinclair⁴, M. Ivković⁵

¹Laboratory for Precipitation Processes, Division of Materials Chemistry, Ruđer Bošković Institute, 10000 Zagreb, Croatia (tanja.vojvoda@irb.hr), ²Laboratory of Non-coding DNA, Division of Molecular Biology, Ruđer Bošković Institute, 10000 Zagreb, Croatia (martina.pavlek@irb.hr),

³Department of Zoology, Swedish Museum of Natural History, P. O. Box 50007, 10405 Stockholm, Sweden (emma.wahlberg@nrm.se), ⁴Canadian National Collection of Insects, Ottawa Plant Laboratory-Entomology, CFIA, Ottawa, ON K1A OC6, Canada (bradley.sinclair@inspection.gc.ca),

⁵Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (marija.ivkovic@biol.pmf.hr)

Aquatic dance flies (Empididae; Clinocerinae and Hemerodromiinae) are important components of freshwater assemblages, especially in running waters. They are predators as larvae and adults, and thus essential for understanding aquatic food webs. They are an ecological and not a taxonomical group that comprises two separate subfamilies, Clinocerinae and Hemerodromiinae. The subfamily Clinocerinae contains more than 350 species included in 16 genera. Previous classifications have been based on morphological data, with the exception of the genus *Wiedemannia* whose phylogeny is reconstructed based on molecular data. Here we present the first molecular phylogenetic study of the subfamily Clinocerinae which includes representative species from all genera. DNA was extracted from fresh and museum specimens which were collected from all world's biogeographical regions. We sequenced two mitochondrial genes, cytochrome oxidase c subunit I (COI) and cytochrome β (Cytβ), and three nuclear genes, carbamoylphosphate synthase domain of rudimentary (CAD), elongation factor-1α (EF-1α) and isocitrate dehydrogenase (IDH), and performed maximum likelihood and Bayesian analysis on a concatenated matrix. Our preliminary results did not show enough phylogenetic signal to unambiguously place the genera *Proagomya* and *Asymphiloptera* within the subfamily Clinocerinae, although the rest of the genera show a common ancestor indicating a monophyletic origin.

Keywords: aquatic dance flies, Clinocerinae, *Proagomya*, *Asymphiloptera*, phylogeny, monophyly

P-23

**LOCOMOTOR ACTIVITY AND RELATED MORPHOLOGICAL TRAITS IN THREE MILLIPEDE SPECIES
(DIPLOPODA: JULIDA)**

V. Vujić¹, Z. Jovanović¹, S. Pavković-Lučić¹, B. Petković², T. Savić², L. Lučić¹, B. Ilić¹

¹Faculty of Biology, University of Belgrade, Studentski trg 16, 11000 Belgrade, Serbia (vukica.vujic@bio.bg.ac.rs), ²Institute for Biological Research "Siniša Stanković", National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade, Despot Stefan Blvd. 142, 11060 Belgrade, Serbia

Millipedes (class Diplopoda) represent common members of soil fauna in many ecosystems. They are usually cylindrical or flattened, also characterized by two sets of legs per segment. The relationship between locomotion and morphology has been thoroughly investigated in many arthropods. However, in millipedes, previous studies were mostly based on the influence of different environmental factors on their locomotor activity. The aim of the present study was to analyze the relationship between locomotor activity and morphological variability of body features (body length, body mass), walking legs, and antennae in three European julids, *Pachyiulus hungaricus* (Karsch, 1881), *Megaphyllum unilineatum* (C. L. Koch, 1838) and *M. bosniense* (Verhoeff, 1897). Locomotor activity was videotaped by a web-camera during 15- minute periods and analyzed by ANY-maze software. Antennae and legs were photographed, and their size and shape were estimated using geometric morphometric approach afterwards. Obtained results point out that the evident difference in measured morphological traits among analyzed millipede species significantly determinates their locomotor activity. Moreover, the relationship between locomotor activity and morphological traits is both species-specific and sex-specific.

Keywords: millipedes, locomotor activity, morphological variability

P-24

**TESTING MORPHOLOGICAL INTEGRATION OF THE FORCIPULAR APPARATUS IN CENTIPEDE
Lithobius melanops NEWPORT, 1845 (CHILOPODA: LITHOBIMORPHA: LITHOBIIDAE)**

V. Vujić, B. Ilić, S. Pavković-Lučić, Z. Jovanović, J. Milovanović, B. Dudić, D. Stojanović, L. Lučić

Faculty of Biology, University of Belgrade, Studentski trg 16, 11000 Belgrade, Serbia (vukica.vujic@bio.bg.ac.rs)

Morphological integration and modularity have been studied in many animal species because of their evolutionary significance. The presence of modules, which have high level of integration within themselves, but low level of integration between themselves (modularity), may influence animal development, function and adaptive value. In centipedes (Chilopoda), the forcipular apparatus represents an interesting trait for the investigation of morphological integration, because of its crucial role in feeding and defense. The forcipules represent poisonous parts, which are important for prey catching. Their shape and size may influence the adaptive value. The aim of our study was to test if the forcipular coxosternite is a modul in centipede *Lithobius melanops* Newport, 1845, by using geometric morphometrics. The program TpsDig was used to digitize landmarks on each morphological structure, whereas modularity hypothesis was tested by using MorphoJ program. Results of Procrustes ANOVA have indicated the presence of fluctuating asymmetry. A priori defined hypothesis was not accepted, suggesting that the forcipular

coxosternite and forcipules evolved together. Mentioned parts should not be considered as separate modules, probably because both structures share similar developmental pathways and function in different forms of behavior and survival. We could assume that strong covariation between mentioned parts enables those organisms to better adapt to the environmental conditions.

Keywords: centipedes, modularity hypothesis, geometric morphometrics, forcipular coxosternite

P-25

MOGU LI KLIMATSKE PROMJENE UTJECATI NA INTERAKCIJU IZMEĐU BAKTERIJA PROMOTORA BILJNOG RASTA (PGPB) I FITOPATOGENIH GLJIVA?

A. Huđ¹, H. Senko¹, A. Mešić¹ S. Kajić², M. Petek², D. Šamec³, L. Brkljačić¹, N. Udiković-Kolić¹, G. Palijan⁴, I. Sviličić Petrić¹

¹Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (ahudj@irb.hr; hsenko@irb.hr, armin.mesic@irb.hr, lidija.brkljacic@irb.hr, nikolina.Udikovic@irb.hr, ines.petric@irb.hr), ²Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (skajic@agr.hr; mpetek@agr.hr), ³Sveučilište Sjever, Trg dr. Žarka Dolinara 1, 48000 Koprivnica, Hrvatska (dsamec@unin.hr), ⁴Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Ulica cara Hadrijana 8/a, 31000 Osijek, Hrvatska (goran.palijan@biologija.unios.hr)

Povećavanjem učestalosti i jačine ekstremnih meteoroloških pojava klimatske promjene izravno ugrožavaju sigurnost proizvodnje hrane, utječući tako na živote milijuna ljudi. Mnoga se istraživanja stoga usredotočuju na razvoj novih pristupa koji bi mogli pomoći ranjivom sektoru poljoprivrede u prilagodbi na klimatske promjene. Jedan od načina prilagodbe mogla bi biti i upotreba bakterijskih bioinokuluma koji bi biljkama pomogli da prežive ekstremne vremenske uvjete. Projekt PERSPIRE provodi se s ciljem istraživanja utjecaja dugotrajnih poplava, koje se sve češće pojavljuju kao posljedica klimatskih promjena, na interakciju (antagonizam/sinergizam) između bakterija promotora biljnog rasta (PGPB) i fitopatogenih gljiva. Pokus je proveden na biljci *Brassica oleracea* var. *capitata f. alba*, kao modelnoj biljci, koja je bila izložena jednoj ili dvije repetitivne dugotrajne poplave (7 dana) i to u različitim razvojnim fazama biljke. Tijekom pokusa je izolirano, korištenjem klasičnih mikrobioloških tehnika, 200 različitih bakterijskih izolata, koji su testirani na niz PGP svojstava. Četrdeset osam bakterijskih izolata koji su pokazivali najbolja PGP svojstva dalje je odabранo za ispitivanje djelovanja protiv tri fitopatogene gljive - *Fusarium oxysporum*, *F. verticilloides* i *Sclerotinia sclerotiorum*. Rezultati pokusa su pokazali da poplave mogu promijeniti populaciju bakterija u tlu odgovornu za obranu biljaka od fitopatogenih gljiva. Poplava koja je provedena na biljkama u različitim stadijima rasta dovela je do razvoja različitih bakterijskih sojeva koji su, osim toga, pokazali i različite razine antagonističkog djelovanja na testirane gljive. Od osam izolata koji su pokazali antagonistički učinak veći od 30%, dva su označena kao najperspektivniji bioinokulum kandidati - sojevi P1.13 – 15, *Bacillus thuringiensis* i P2.4 -16, *Enterobacter ludwigii*. Ove bakterije predstavljaju potencijalne bioinokulume koji bi se mogli koristiti u biokontroli usjeva pogodjenih poplavama kao posljedicom klimatskih promjena.

Ključne riječi: antagonizam, bioinokulum, mikrobiom, poljoprivreda, poplave

CAN CLIMATE CHANGE ALTER INTERACTION BETWEEN PLANT-GROWTH-PROMOTING-BACTERIA (PGPB) AND PHYTOPATHOGENIC FUNGI?

A. Huđ¹, H. Senko¹, A. Mešić¹ S. Kajić², M. Petek², D. Šamec³, L. Brkljačić¹, N. Udiković-Kolić¹, G. Palijan⁴, I. Sviličić Petrić¹

¹Institute Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (ahudj@irb.hr, hsenko@irb.hr, armin.mesic@irb.hr, lidija.brkljacic@irb.hr, nikolina.udikovic@irb.hr, ines.petric@irb.hr), ²University of Zagreb Faculty of Agriculture, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia (skajic@agr.hr, mpetek@agr.hr), ³University North, Trg dr. Žarka Dolinara 1, 48000 Koprivnica, Croatia (dsamec@unin.hr), ⁴Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Ulica cara Hadrijana 8/a, 31000 Osijek, Croatia (goran.palijan@biologija.unios.hr)

By increasing the frequency and virulence of the extreme meteorological phenomena climate change is directly threatening food security, affecting lives of millions of people. Many researchers are therefore focusing on developing novel approaches that could help adaptation of the fragile agricultural sector to a rapidly changing climate. One of the adaptation mechanisms could be bacterial bioinoculums that could help plant to survive under extreme weather conditions. The project PERSPIRE aimed to investigate the influence of long-term floods, appearing more frequent as a consequence of climate change, on the interaction (antagonistic/synergistic) that exists between plant-growth-promoting-bacteria (PGPB) and phytopathogenic fungi. Experiment was done with a model plant *Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba* exposed to either one or two long-term floods (7 days duration) at different stages of plant development. Two hundred bacterial strains were isolated from the soils, at different time intervals during experiment, using culture-based methods and tested for array of PGP properties. Fourty eight bacterial isolates showing best PGP properties were further selected for testing antagonistic/synergistic activity against three phytopathogenic fungi - *Fusarium oxysporum*, *F. verticilloides* and *Sclerotinia sclerotiorum*. Results suggested that floods can alter population of soil bacteria responsible for defending plants against plant pathogenic fungi. Flood treatment conducted on the plants in different stages of growth promoted appearance of different bacterial strains which, in addition, showed different levels of antagonistic effect against tested fungi. Out of eight isolates that showed antagonistic effect higher than 30%, two were designated as most promising bioinoculum candidates - strains P1.13 – 15, *Bacillus thuringiensis* and P2.4 -16, *Enterobacter ludwigii*. These bioinoculants could be potentially used as biocontrols in crops affected by flooding as a consequence of climate change.

Key words: antagonism, agriculture, bioinoculum, floods, microbiome

P-26

CIJANOBAKTERIJSKA RAZNOLIKOST OKLOPA JADRANSKIH GLAVATIH ŽELVI

L. Kanjer, K. Filek, S. Bosak

Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska (lucija.kanjer@biol.pmf.hr)

DNA metabarkodiranje se sve više koristi u opisivanju sastava mikrobnih zajednica u različitim staništima. Ova metoda je posebno obećavajuća za cijanobakterije budući da je tradicionalna morfološka identifikacija otežana fenotipskim varijacijama vrsta, nedostatkom obučenih taksonoma i podcenjenjivanjem raznolikosti vrsta. Brzina i neinvazivnost metode koja koristi sekvenciranje amplikona pokazali su se pogodnim za istraživanje mikrobioma ugroženih divljih životinja kao što su morske kornjače. Cijanobakterije su prepoznate kao važan dio mikrobne zajednice biofilma oklopa glavatih želvi (*Carreta caretta*) te je nađeno da pridonose i do 20%

cjelokupnoj zajednici u biofilmu. Cilj ovog istraživanja je pružiti detaljan uvid u sastav, raznolikost i ekologiju cijanobakterija koje nastanjuju oklop morskih kornjača koristeći pristup sekvenciranja amplikona. Uzorci biofilma oklopa prikupljeni su 2020. i 2021. godine od 28 glavatih želvi koje nastanjuju istočno Jadransko more. Izolirana je ukupna DNA te su 16S rDNA amplikoni sekvencirani pomoću Illumina MiSeq platforme. Korištena su dva seta specifičnih primera: set primera 341F/805R za V3-V4 regiju 16S rDNA i primeri 1328F/ 664R za 16S rDNA V6 regiju. Dobiveni podaci biti će bioinformatički analizirani, a rezultati ove studije poslužit će kao jedan od prvih koraka u razumijevanju odnosa između cijanobakterija i njihovih domaćina morskih kornjača, vrijednih i ugroženih morskih gmazova.

Ključne riječi: cijanobakterije, metabarkodiranje, 16S, mikrobiota, *Caretta caretta*

CYANOBACTERIAL DIVERSITY ASSOCIATED WITH ADRIATIC LOGGERHEAD SEA TURTLE CARAPACE

L. Kanjer, K. Filek, S. Bosak

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (lucija.kanjer@biol.pmf.hr)

Culture-independent, metabarcoding approach has been increasingly used in describing microbial community composition in various habitats. This method is especially promising for cyanobacteria since traditional morphological identification is challenged by species phenotypic variations, lack of trained taxonomists, and underestimation of cyanobacterial diversity. The speed and non-invasiveness of amplicon sequencing approach proved convenient for exploring the microbiota of endangered wild animals such as loggerhead sea turtles. Recently, as a part of the loggerhead sea turtles' surface microbiota, cyanobacteria were recorded and found to contribute up to 20% of the whole microbial community. The aim of this research is to provide detailed insight into the composition, diversity, and ecology of cyanobacteria inhabiting loggerhead sea turtle carapace by amplicon sequencing. Carapace biofilm samples were collected in 2020 and 2021 from 28 loggerheads from Adriatic Sea. DNA was extracted and 16S rDNA amplicons were sequenced on high throughput Illumina MiSeq platform. Two set of primers were used: primer set 341F/805R for V3-V4 region of 16S rDNA and primers 1328F/1664R for 16S rDNA V6 region. The sequencing data will be bioinformatically processed and the results of this baseline study will serve as one of the first steps in understanding the relationship between cyanobacteria and their sea turtle hosts, valuable but vulnerable marine reptile.

Keywords: cyanobacteria; metabarcoding; 16S; microbiota; *Caretta caretta*

P-27

PRISUTNOST BAKTERIJE *Wolbachia* sp. U MRAVIMA U HRVATSKOJ

S. Ranogajec Blažeka¹, D. Lisičić¹, M. Marceljak Ilić², M. Hajdarović², D. Bedenić², D. Pavoković¹
¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²XV. Gimnazija, Zagreb, Jordanovac ul. 8, 10000 Zagreb, Hrvatska

Bakterija *Wolbachia* sp. je najrasprostranjenija endosimbiotska bakterija u životinskom svijetu. Živi u velikom broju vrsta člankonožaca i obliča kao parazit ili mutualist. Glavni put prijenosa

između jedinki domaćina je vertikalni prijenos s majke na potomke, a moguć je i horizontalni prijenos između jedinki. Ove bakterije imaju karakteristične fenotipske učinke na reprodukciju i plodnost domaćina kako bi povećale svoje širenje. U ovom radu istražena je prisutnost bakterije *Wolbachia* sp. u mravima (Hymenoptera, Formicidae) u Republici Hrvatskoj. Metodom lančane reakcije polimerazom (PCR) na prisutnost bakterije, preko gena wsp, testirana su 92 uzorka mrava s 20 lokaliteta u Hrvatskoj. Bakterija je detektirana u uzorcima mrava s područja Svetе Nedelje, Osijeka, Korčule, Kleka, Gorskog kotara, Kalnika i Visa. Učestalost infekcije u ukupnom uzorku mrava iz cijele Hrvatske iznosila je 8 %. U mravima iz kontinentalne regije učestalost infekcije bila je 12 %, iz gorsko - kotlinske regije 20 %, a iz primorske regije 4 %. Sekvenciranjem po Sangeru i BLAST analizom PCR produkata dvaju uzoraka pozitivnih na bakteriju potvrđena je 100 % - tna sličnost sa sekvencom gena wsp vrste *Wolbachia pipiensis*. Zaključeno je da mravi u Hrvatskoj imaju nisku razinu infekcije bakterijom *Wolbachia* sp. te da su mjesta zaraze rijetka i izolirana.

Ključne riječi: endosimbiont, reproduktivni parazit, PCR, wsp, učestalost infekcije, sekvencioniranje

THE PRESENCE OF BACTERIA *Wolbachia* sp. IN ANTS IN CROATIA

S. Ranogajec Blažeka¹, D. Lisičić¹, M. Marceljak Ilić², M. Hajdarović², D. Bedenić², D. Pavoković¹

¹Department of Biology, University of Zagreb, Faculty of Science, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (dubravko@biol.pmf.hr), ²15th Gymnasium, Jordanovac 8, 10000 Zagreb, Croatia (mmarceljak@mioc.hr)

Wolbachia sp. is the most widespread endosymbiotic bacteria in the animal kingdom. It lives as a parasite or mutualist in a large number of arthropods and nematodes. Its main transmission route is vertical transmission from mother to offspring, but horizontal transmission is also possible. They have characteristic phenotypic effects on host reproduction and fertility to maximize their spread. In this study, the presence of *Wolbachia* sp. in ants in Croatia was investigated. A total of 92 ant samples from 20 different locations of Croatia were tested by the polymerase chain reaction (PCR) for the presence of the bacterial gene wsp. The bacterium was detected in 7 samples originating from Sveta Nedelja, Osijek, Korčula, Klek, Gorski kotar, Kalnik and Vis. The frequency of *Wolbachia* infection in the total sample of analyzed ants was 8%. In the ants from continental, mountainous and coastal region the frequency of infection was 12, 20 and 4 %, respectively. Sanger sequencing and BLAST analysis of PCR products from two samples confirmed the 100 % similarity with the wsp gene sequence of the species *Wolbachia pipiensis*. It was concluded that the analyzed ants in Croatia have a low level of infection with *Wolbachia* sp. and that sites of infection are rare and isolated.

Keywords: endosymbiont, reproductive parasite, PCR, wsp, infection frequency, sequencing

P-28

ANTIOXIDANT AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *Azolla filiculoides* EXTRACTS

S. Šovran¹, T. Tosti², A. Knežević¹, N. Unković¹, I. Đokić¹, M. Ljaljević Grbić¹

¹University of Belgrade, Faculty of Biology, Studentski trg 16, 11000 Belgrade, Serbia (sanjaf@bio.bg.ac.rs), ²University of Belgrade, Faculty of Chemistry, Studentski trg 12-16, 11000 Belgrade, Serbia

Azolla filiculoides (Lamarck), an aquatic perennial heterosporous fern, was collected in the Vranovo canal, near Smederevo (Serbia). Water, 70% EtOH, 96% EtOH and MetOH extracts of *A. filiculoides* were prepared and tested for the sugar profile, antioxidant and antifungal activity. The highest concentration of sugars was in the water extracts whereas the 96% EtOH extracts exhibited the lowest concentration. The most abundant was glucose (21.9-32.5%) and fructose (13.8-17.1%). Antioxidative potential was evaluated by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging assay. Tested extracts showed significant antioxidative potentials which varied depending on solvent used for the extraction. The highest antioxidative activity was noticed for both, 96% and 70% EtOH extracts, with EC₅₀ values of $117 \pm 5 \text{ } \mu\text{g/mL}$ and $118 \pm 7 \text{ } \mu\text{g/mL}$, respectively. Antifungal activity of extracts was evaluated against *Aspergillus flavus* and *Talaromyces minioluteus* by a serial dilution technique with tested range of concentrations of from 50 to 0.78 mg/mL. Extracts demonstrated weak antifungal activity, with minimum inhibitory concentrations in range of from 1.56 ± 0.00 to $20.83 \pm 7.22 \text{ mg/mL}$, and minimum fungicidal concentrations in range of from 33.33 ± 14.43 to $41.67 \pm 14.43 \text{ mg/mL}$. Water extract had the weakest activity. *Talaromyces minioluteus* was shown to be highly resistant since water and EtOH 70% extracts had no fungistatic or fungicidal activity against it.

Keywords: *Azolla filiculoides*, sugar profile, antioxidant activity, antifungal activity

P-29

SOS S MLJETA – HOĆEMO LI OSTATI BEZ NAJVЕĆEG KORALJNOG GREBENA U SREDOZEMNOM MORU?

P. Ankon¹, R. Guić², P. Kružić¹, R. Gračan¹

¹Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Oikon d.o.o. - Institut za primjenjenu ekologiju, Trg senjskih uskoka 1-2, 10020 Zagreb, Hrvatska (pavel.ankon@biol.pmf.hr)

Negativni utjecaj povišene temperature mora uzrokovani klimatskim promjenama izrazito je vidljiv na morskim sedentarnim organizmima kao odumiranje (nekroza) tkiva čijom progresijom nastupa mortalitet jedinki i smanjenje populacija. *Cladocora caespitosa*, vrsta kamenog koralja koja tvori najveći greben u Sredozemnom moru (Veliko jezero, NP Mljet) pri dužim razdobljima povišene temperature mora (preko 10 dana više od 27 °C) pokazuje značajnu nekrozu tkiva polipa kojoj prethodi izbacivanje simbiotskih zoosantela (izbjeljivanje koralja) kao posljedica temperaturnog šoka. Unatoč velikim količinama hranjivih soli u Velikom jezeru i svjetlosti u pličim dijelovima grebena koji pružaju optimalne uvjete za rast alga, povišenja temperature mora povećavaju kompeticiju u korist rasta alga pri čemu prvenstveno zelene alge *Anadyomene stellata*, *Halimeda tuna* i rodovi *Codium* i *Valonia* prerastaju kolonije i uzrokuju dodatno propadanje grebena odumiranjem polipa zbog nemogućnosti hranjenja. Utvrđeno je cvjetanje algi i njihovo taloženje na kolonijama koralja *C. caespitosa*, kao i mukus alga na kolonijama koralja koji guši polipe i uzrokuje njihovo ugibanje. Osim direktnih posljedica povišenja temperature mora u vidu izbjeljivanja polipa koralja i nekroze tkiva, izražena kompeticija koralja i algi uz pojavu mukusa na površini grebena zbog cvjetanja mora glavni su razlozi ugroze sve većeg i bržeg propadanja našeg najvećeg koraljnog grebena *C. caespitosa* u Sredozemnom moru.

Ključne riječi: *Cladocora caespitosa*, koraljni greben, klimatske promjene, kompeticija vrsta

SOS MLJET - WILL WE CONTINUE TO LOSE MEDITERRANEAN'S THE LARGEST CORAL REEF?

P. Ankon¹, R. Guić², P. Kružić¹, R. Gračan¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia, ²Oikon d.o.o. - Institute of Applied Ecology, Trg senjskih uskoka 1-2, 10020 Zagreb, Hrvatska (pavel.ankon@biol.pmf.hr)

The negative effects of increased sea surface temperatures brought on by climate change are clearly seen in tissue necrosis in marine sedentary species, which leads to individual mortality and population decline. The stone coral *Cladocora caespitosa* of the greatest Mediterranean reef in the Great Lake NP Mljet shows significant necrosis of polyp tissue as a result of temperature shock over prolonged periods of time (more than 10 days). Despite the abundance of nutrient salts in the Great Lakes and the light in the shallower parts of the reef that provide ideal conditions for algae growth, rising sea temperatures increase competition in favour of algae growth, with primarily green algae *Anadyomene stellata*, *Halimeda tuna*, *Codium*, and *Valonia* overgrowing colonies and contributing to further reef decay by polyp death due to their inability to feed. Furthermore, *C. caespitosa* coral colonies were shown to have algal mucus, which

suffocates polyps and results in their mortality, as well as algal blooms and their deposition. In addition to the direct effects of sea temperature increases, such as coral polyp bleaching and the tissue necrosis that follows, the indirect effects of sea rising temperatures include the intense competition between corals and algae and the rapid deterioration of our largest *C. caespitosa* reef in the Mediterranean.

Keywords: *Cladocora caespitosa*, coral reef, climate change, species competition

P-30

UTJECAJ ZIMSKOG VERTIKLNOG MIJEŠANJA NA POPULACIJU ČETINOČELJUSTA (CHAETOGNATHA) U JUŽNOM JADRANU

M. Batistić, R. Garić, M. Hure

Sveučilište u Dubrovniku, Institut za more i priobalje, Kneza Damjana Jude 12, 20000 Dubrovnik
(mirna.batistic@unidu.hr)

Južni Jadran je najdublji dio Jadranskog mora (1242 m) i jedno od tri mesta dubokog vertikalnog miješanja u Sredozemnom moru. Analizom uzoraka zooplanktona uzetih na otvorenom moru južnog Jadrana u veljači i lipnju 2021., istražili smo utjecaj zimskog vertikalnog miješanja na rasprostranjenost i abundanciju četinočeljusta od površine do 1200 m dubine. Krstarenje u veljači bilo je nakon epizoda jake bure i posljedično znatnih gubitaka topline na površini mora. Također, u intermedijarnom sloju zabilježen je ulaz slane istočnomediterske struje ($> 38,9$, LIW) koja uz navedene vremenske prilike stvara uvjete za vertikalno miješanje. Stoga je u veljači dubina miješanog sloja (DMS) bila do 600 m. U isto vrijeme zabilježena brojnost četinočeljusta bila je niska i gotovo jednaka od površine do DMS-a. Također, zabilježena je neuobičajena vertikalna raspodjela epipelagičkih vrsta u relativno visokom broju od 200 do 600 m dubine. U lipnju, kada je uočena izražena toplinska stratifikacija zabilježeno je izrazito povećanje brojnosti četinočeljusta u epipelagičkom sloju. To je vjerojatno povezano s proljetnim cvjetanjem fitoplanktona pojačanim unosom hranjivih tvari u eufotičnu zonu zbog zimske faze miješanja.

Ključne riječi: četinočeljusti, zimsko vertikalno miješanje, južni Jadran, Sredozemno more

IMPACT OF THE WINTER CONVECTIVE EVENT ON CHAETOGNATHS IN THE OPEN SOUTHERN ADRIATIC

M. Batistić, R. Garić, M. Hure

University of Dubrovnik, Institute for Marine and Coastal Research, Kneza Damjana Jude 12, 20000 Dubrovnik (mirna.batistic@unidu.hr)

The southern Adriatic is the deepest part of the Adriatic Sea (1242 m) and one of three sites of open-sea deep convection in the Mediterranean. By analyzing zooplankton samples taken in the open southern Adriatic in February and June 2021 we investigated effect of winter vertical mixing on chaetognaths abundance and distribution from surface till 1200 m depth. The February cruise took place after strong Bora wind episodes and consequently substantial winter heat loss at the air-sea interface. Also, in the intermediate layer, the entry of saline eastern Mediterranean current (> 38.9 , named LIW) was recorded, which, in addition to the stated weather condition, leads to vertical mixing. Therefore, we captured the episode of a deep mixing

which extended up to 600 m. During the convection time in winter, abundance of chaetognaths was low and evenly distributed from surface till 600 m depth. In addition, an unusual vertical distribution for epipelagic species in relative high abundance from 200 to 600 m depth was occurred. In June, when pronounced thermal stratification was observed an marked increase in chaetognaths abundance in epipelagic layer was registered. This is probably related to the spring phytoplankton bloom enhanced by nutrient input into euphotic zone due to winter mixing phase.

Keywords: chaetognatha, winter vertical mixing, south Adriatic, Mediterranean Sea

P-31

ŠUMA SMEĐE ALGE *Gongolaria barbata* U PLITKOJ LAGUNI NA JUŽNOJ OBALI ISTRE (SJEVERNI JADRAN)

A. Bilajac, E. Gljuščić, M. Najdek Dragić, Lj. Iveša

Institut Ruđer Bošković - Centar za istraživanje mora, G. Paliaga 5, 52210 Rovinj, Hrvatska

Šuma smeđe alge *Gongolaria barbata* u laguni Šćuza na južnoj obali Istre (sjeverni Jadran) predstavlja posljednje značajno utočište navedene vrste u plitkim dijelovima istarske obale. Laguna je karakterizirana ekstremnim zimskim i ljetnim temperaturama. Nadalje, odsustvo pojedinih brstioča u laguni potencijalno je glavni faktor koji favorizira rast i razvoj šume smeđe alge *G. barbata*. Dvije morfološki različite forme smeđe alge *G. barbata* obitavaju u laguni: pričvršćena i nepričvršćena forma. Analizirane su abundancija i morfološke karakteristike svake forme na nasumično uzorkovanim talusima. Mokra težina, duljina talusa, broj kauloida i ukupna duljina kauloida pokazuju značajno više vrijednosti kod nepričvršćene forme u usporedbi s pričvršćenom formom. Iako je glavni kauloid izrazito razgranat kod obje forme, ukupna duljina kauloida pokazuje do tri puta veće vrijednosti kod nepričvršćene forme. Navedena populacija podnosi ekstremne uvjete, dok usporedno preživljava u dvije različite forme. Nadalje, populacija smeđe alge *G. barbata* u laguni Šćuza mogla bi poslužiti kao donor rasplodnog materijala za buduće pokušaje obnove staništa na zapadnoj obali Istre gdje je u posljednjih nekoliko godina primijećena regresija populacija vrste *G. barbata*.

Ključne riječi: *Gongolaria barbata*, laguna, pričvršćena forma, nepričvršćena forma, sjeverni Jadran

***Gongolaria barbata* FOREST IN THE SHALLOW LAGOON ON THE SOUTHERN ISTRIAN COAST (NORTHERN ADRIATIC SEA)**

A. Bilajac, E. Gljuščić, M. Najdek Dragić, Lj. Iveša

Ruđer Bošković Institute, Center for Marine Research, Giordano Paliaga 5, 52210 Rovinj, Croatia
(abilajac@irb.hr)

The *Gongolaria barbata* forest inhabiting Šćuza lagoon on the southern Istrian coast (northern Adriatic) represents the last significant refuge for this species among the shallow waters of the Istrian Coast. The lagoon is characterised by extreme winter and summer temperatures. Moreover, the absence of certain grazers could be one of the main factors favouring the development and growth of *G. barbata* forest. Two morphologically distinct forms of *G. barbata* inhabit the lagoon: attached and detached. Abundance and morphological characteristics of

each form were analysed in randomly sampled thalli. The wet weight, thallus length, number of cauloids and total cauloid length were significantly higher in the detached than in the attached form. Although the main cauloid was highly branched in both forms, its total length was up to three times higher in the detached than in the attached form. Our study suggests that this population of *G. barbata* can thrive in the extreme conditions found in the lagoon, while also exhibiting two distinct forms. Furthermore, this large population could serve as a donor for future restoration attempts on the western Istrian Coast where a decline of *G. barbata* has been confirmed in recent years.

Keywords: *Gongolaria barbata*, lagoon, attached form, detached form, northern Adriatic.

P-32

ANOMALIJA LEĐNIH PLOČA NA KARAPAKSU ZELENE ŽELVE *Chelonia mydas* U PRIRODOSLOVNOM MUZEJU U SPLITU

J. Boban, N. Ževrnja, S. Vrgoč, B. Kokan

Prirodoslovni muzej i Zoo vrt, Kolombatovićevo šetalište 2, 21000 Split, Hrvatska
(josip@prirodoslovni.hr)

Jedna od glavnih karakteristika za određivanje vrsta morskih kornjača je raspored ploča na leđnom oklpu. Smatra se da je razlika u rasporedu ploča vodila tome da se kroz evolucijski razvoj odvoje različite vrste. Ukupno se četrnaest primjeraka suho prepariranih morskih kornjača čuva u Prirodoslovnom muzeju u Splitu. Od ukupno sedam vrsta morskih kornjača danas poznatih u svjetskim morima, četiri vrste se mogu vidjeti u prirodoslovnom muzeju u Splitu. Od četrnaest primjeraka morskih kornjača sedam primjeraka su vrsta glavata želva *Caretta caretta* od kojih su dva primjerka samo suho preparirani leđni oklop, dva primjerka su vrsta karetna želva *Eretmochelys imbricata*, jedan primjerak je vrsta sedmopruga usminjača *Dermochelys coriacea* i četiri primjerka vrste zelene želve *Chelonia mydas*. Jedan primjerak kornjače, vrste *Chelonia mydas* pokazuje jasne znakove anomalije u rasporedu leđnih ploča na karapaksu. Izmjerili smo i usporedili raspored ploča sa specifičnim obilježjima za vrstu zelene želve. U ovom radu izmjerili smo i usporedili: ukupnu dužinu (TL), maksimalnu ravnu dužinu karapaksa (SCLmax), minimalnu ravnu dužinu karapaksa (SCLmin) i ukupnu širinu karapaksa (TCW), ukupnu dužinu repa (TTL), dužinu glave (HL) i širinu glave (HW), dužinu plastrona (PL), promjer oka (ED), dužinu prednje lijeve peraje (LFL) i dužinu prednje desne peraje (RFL) sa točnošću od 1 mm. Zbog toga što su primjerici dermoplastično preparirani nije im izmjerena masa.

Ključne riječi: zelena želva, *Chelonia mydas*, morske kornjače, prirodoslovni muzej, anomalija leđnih ploča

SCUTE ANOMALY IN GREEN SEA TURTLE *Chelonia mydas* IN THE NATURAL HISTORY MUSEUM IN SPLIT

J. Boban, N. Ževrnja, S. Vrgoč, B. Kokan

Natural History Museum and Zoo Split, Kolombatovićevo šetalište 2, 21000 Split, Croatia
(josip@prirodoslovni.hr)

One of the main characteristics of determining turtle species is the scute pattern. It is considered that diversification of the scute pattern led to their diversification in their evolutionary path. Fourteen specimens of the sea turtles are kept in the Natural history museum in Split, preserved by taxidermy. Of possible seven known species of sea turtles, four species can be seen in the Museum. Of those fourteen specimens, there are seven specimens of loggerhead sea turtle *Caretta caretta* (two specimens are only carapace), two specimens of hawksbill sea turtle *Eretmochelys imbricata*, one specimen of leatherback sea turtle *Dermochelys coriacea*, and four specimens of green sea turtle *Chelonia mydas*. One specimen of a testudo, species *Chelonia mydas* shows a clear anomalous pattern of the vertebral scutes. We counted and described scutes and compared them with species characteristics pattern. In this paper, we measured and compared: total length (TL), maximum straight carapace length (SCLmax), minimum straight carapace length (SCLmin), total carapace width (TCW), total tail length (TTL), head length (HL) and head width (HW), plastron length (PL), eye diameter (ED), right front flipper length (RFL) and left front flipper length (LFL) all with accuracy of 1 mm. Because those specimens are preserved by taxidermy we haven't weighed them.

Keywords: Green sea turtle, *Chelonia mydas*, Sea turtles, Natural history museum, Scute anomaly

P-33

SEZONSKA DINAMIKA BESKRALJEŽNJAKA U NASELIJU ALGE *Corallina officinalis* NA PODRUČJU JUŽNE ISTRE

M. Buršić¹, Lj. Iveša², A. Jaklin², M. Arko Pijevac³, B. Brubo Mađarić⁴, M. Kučinić⁵

¹Fakultet prirodnih znanosti, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Hrvatska,

²Centar za istraživanje mora, Institut „Ruđer Bošković“, G. Paliage 5, 52210 Rovinj, Hrvatska,

³Prirodoslovni muzej u Rijeci, Lorenzov Prolaz 1, 51000 Rijeka, Hrvatska, ⁴Zavod za molekularnu

biologiju, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička 54, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁵Biološki odsjek,

Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb,

Hrvatska (moira.bursic@unipu.hr)

Dosadašnja istraživanja beskralježnjaka unutar naselja crvene vavnene alge *Corallina officinalis* ukazala su na izrazitu bioraznolikost ove zajednice obzirom na karakterističnu morfološku strukturu i složenost naselja same alge. U sklopu ovog istraživanja cilj je bio istražiti sezonske promjene u sastavu beskralježnjaka uzimajući u obzir vegetacijski minimum i maksimum alge. Istraživanje je provedeno na području južne Istre gdje je na četiri područja uzorkovanja odabran 9 lokacija s pokrivenošću algom većom od 90%. Na svakom lokalitetu uzorkovano je kvantitativno u 3 replikata, struganjem unutar kvadrata veličine 5x5 cm. Zabilježena je sezonska varijabilnost u abundanciji beskralježnjaka, te je u uzorcima prikupljenim tijekom maksimuma vegetacijske sezone (zima) alge ukupno izolirano 29.711 jedinki beskralježnjaka, dok je u uzorcima prikupljenim u minimumu vegetacijske sezone (ljeto) izolirano ukupno 22.292 jedinki. Prosječan broj jedinki po kvadratnom metru iznosio je 220.000 za zimu i 165.200 za ljeto, sa zabilježenim maksimumom od 586.000 jedinki tijekom zime na lokaciji na području Premanture. Amfipodni rakovi, mnogočetinaši, školjkaši i puževi su kao dominantne skupine činili više od 80% svih beskralježnjaka. Podaci potvrđuju da je ovo naselje izuzetno bogato beskralježnjacima, a zabilježena maksimalna gustoća jedinki najviša je u usporedbi sa sličnim istraživanjima diljem svijeta.

Ključne riječi: beskralješnjaci, *Corallina officinalis*, bioraznolikost, južna obala Istre

SEASONAL DYNAMICS OF INVERTEBRATES ASSOCIATED WITH *Corallina officinalis* IN SOUTHERN ISTRIA

M. Buršić¹, Lj. Iveša², A. Jaklin², M. Arko Pijevac³, B. Brubo Mađarić⁴, M. Kučinić⁵

¹Faculty of Natural Sciences, Juraj Dobrila University of Pula, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Croatia,

²Center for Marine Research, Ruđer Bošković Institute, G. Paliage 5, 52210 Rovinj, Croatia,

³Natural History Museum Rijeka, Lorenzov Prolaz 1, 51000 Rijeka, Croatia, ⁴Molecular Biology

Division, Ruđer Bošković Institute, Bjenička 54, 10000 Zagreb, Croatia, ⁵Department of Biology,

Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (moira.bursic@unipu.hr)

Research on invertebrates within the *Corallina officinalis* settlements has indicated a high biodiversity of this community due to the characteristic morphological structure and complexity of the habitat itself. As part of this study, the aim was to investigate the seasonal changes in the invertebrate composition, taking into account the maximum and minimum growth of the algae. This research was conducted in southern Istria, where 9 locations with algal coverage range above 90% were selected at four sampling areas. At each locality, sampling was performed quantitatively by scraping off within 3 replicates of 5x5 cm quadrats. Seasonal variability in invertebrate abundance was recorded, and a total of 29,711 invertebrates were isolated in samples collected during the maximum growth (winter) of algae, while a total of 22,292 individuals were isolated in samples collected during the minimum growth (summer). The average number of specimen per square meter was 220,000 for winter and 165,200 for summer, with a recorded maximum of 586,000 specimen during winter in Premantura sampling area. Amphipods, polychaetes, bivalves and gastropods, as the dominant groups, accounted for more than 80% of all invertebrates. The data confirm that this settlement is extremely rich in invertebrates, and the recorded maximum density of individuals is the highest compared to similar studies around the world.

Keywords: invertebrates, *Corallina officinalis*, southern Istrian coast

P-34

SYSTEM INCONSISTENCIES: INVESTIGATING THE PHYLOGENY OF CALANOID COPEPODS

M. Dénes, M. Hure, R. Garić

Institute for Marine and Coastal Research, University of Dubrovnik, Ul. kneza Damjana Jude 12, 20000 Dubrovnik, Croatia (marcell.denes@unidu.hr)

Calanoida, as part of the most abundant taxa of the meso-zooplankton community, plays and undeniably important role in the marine food-chain and nutrient circulation. The number of species are usually underestimated, mostly due to complicated identification characters and the lack of taxonomic experts. With the combination of molecular methods and standard approaches, it is getting easier to uncover the hidden diversity within the group. The available genetic databases show that the 185 Calanoid species of the Mediterranean are still underrepresented (16%) even in the most commonly used marker (COI). Our project "SpaTeGen"

is focused on building a database of genetic barcodes, covering the blank spots using a handful of markers (COI, 18S, 5.8S, ITS2, 28S), to help future species identification and biodiversity monitoring of the Adriatic region. Our knowledge must also be broadened for a better understanding of their evolutionary connections. Our preliminary results show that phylogeny based on genetic markers does not seem to support currently accepted systematics and that three calanoid families (Aetideidae, Euchaetidae and Clausocalanidae) might be polyphyletic.

Keywords: biodiversity, calanoida, barcoding, molecular phylogeny

P-35

ALOMETRIJA PRIRODNIH POPULACIJA DAGNJE *M. galloprovincialis* U JADRANU

M. Fafandel¹, M. Žmarić²

¹Institut „Ruđer Bošković“, Centar za istraživanje mora Rovinj, G. Paliaga 5, 52210 Rovinj, Hrvatska, ²Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Zagrebačka ul. 30, 52100 Pula, Hrvatska (maja@cim.irb.hr)

Svrha ovog rada je analiza biometrijskih podataka (masa, duljina) jedinki dagnje *Mytilus galloprovincialis* i opis prirodnih populacija obzirom na zakon kuba i indeks kondicije Prema alometrijskom rastu razlikujemo tri tipa i to: izometrični rast kada rast duljina prati povećanje mase, pozitivan alometrični rast kada povećanje mase je veće od povećanja duljine i negativan alometrički rast kada je rast je veći od povećanja mase. Indeks kondicije predstavlja količinu mekog tkiva u odnosu na ukupnu masu školjkaša i odraz je životnih uvjeta. Uzorci su prikupljeni od 2000. do 2010. godine u ožujku, lipnju, kolovozu i listopadu, duž istočne obale Jadranskog mora na 24 postaje. Kreirana su dva seta podataka. U prvom setu su podaci za 3422 jedinke na temelju kojih je određena alometrijska jednadžba rasta i testirana izometričnost po sezonomama na svim postajama. Za 16 postaja utvrđen je i oblik cjelogodišnjeg rasta i to: 13 je negativnog alometrijskog rasta, 2 populacije su izometrične dok je jedna postaja s pozitivnom alometrijom. Ukupni alometrijski pravac ukazuje na negativnu alometriju prirodnih populacija dagnje *M. galloprovincialis* istočne obale Jadrana. Drugi set sadržavao je podatke za 2298 jedinki kojima je određen indeks kondicije. Indeksi kondicije određeni su sezonski za 18 postaja. Na većini postaja (12) je najmanji indeks kondicije u ožujku a najveći u listopadu (10 postaja), odnosno kolovozu (7 postaja), dok ja na jednoj najmanji u kolovozu a najveći u ožujku.

Keywords: Jadransko more, *Mytilus galloprovincialis*, alometrija, indeks kondicije

ALLOMETRY OF NATURAL ADRIATIC MUSSEL *M. galloprovincialis* POPULATION

M. Fafandel¹, M. Žmarić²

¹Institute Ruđer Bošković, Center for Marine Research Rovinj, G. Paliaga 5, 52210 Rovinj, Croatia,

²Juraj Dobrila University of Pula, Zagrebačka ul. 30, 52100 Pula, Croatia

The purpose of this work was to analyse biometric data (weight, length) of *Mytilus galloprovincialis* specimen from natural populations and describe mussel growth according to cubic law and environmental conditions. Allometry distinguish 3 growth types: isometry, when the growth in length is accompanied by weight gain, positive allometry when the weight increase is greater than the increase in length and negative allometry when the increase in length is

greater than the weight increase. The condition index represents the ratio between soft tissue and total weight and is a reflection of the environmental conditions. Samples were collected from 2000 to 2010 in March, June, August and October, along the eastern coast of the Adriatic at 24 sites. Two data sets were created. The first set contains data for 3422 specimens for determination of allometric growth equation. The growth throughout the year was determined for 16 stations: 13 have a negative allometric growth, 2 populations are isometric while one express positive allometric growth. All population data indicated negative allometry of the natural mussel populations on the eastern Adriatic coast. The second set contained data for 2298 specimens for condition index determination. The condition index was determined seasonally for 18 sampling sites: 12 have the lowest condition index in March, 10 have highest in October and 7 in August , while at one location the lowest condition index was in August and the highest in March.

Key words: Adriatic Sea, *Mytilus galloprovincialis*, condition index, allometry,

P-36

NOVA SAZNANJA O RAZVOJNOM CIKLUSU EUFAUZIDA *Stylocheiron abbreviatum* G.O. Sars, 1883

B. Gangai Zovko¹, D. Lučić¹, M. Hure¹, I. Onofri¹, I. Violić²

¹Sveučilište u Dubrovniku, Institut za more i priobalje, Damjana Jude 12, 20000 Dubrovnik, Hrvatska, ²Sveučilište u Dubrovniku, Odjel za primjenjenu ekologiju, University of Dubrovnik, Ćira Carića 4, 20000 Dubrovnik, Hrvatska

Rezultati ovog istraživanja donose prve podatke o novim spoznajama razvojnog ciklusa za vrstu eufauzida *Stylocheiron abbreviatum* G.O. Sars, 1883. Eufauzidi su skupina morskih holoplanktonskih rakova raspoređenih u razred Malacostraca, podrazred Eumalacostraca, nadred Eucarida, red Euphausiacea. Rasprostranjenost im je najčešće vezana za određene vodene mase, a žive u najvećem dijelu u epipelagičkoj i batipelagičkoj zoni. Istraživanja su obavljena u području dubokog južnog Jadrana. Od 13 vrsta poznatih za Sredozemno more i 12 u Jadranskom moru, zabilježeni su razvojni stadiji 12 vrsta. Prilikom određivanja vrsta primijećena su manja odstupanja od do sada poznatih ključeva za razvojne stadije pa donosimo njihovu nadopunu za vrstu *Stylocheiron abbreviatum* G.O. Sars, 1883. *S. abbreviatum* pripada „*Stylocheiron maximum* skupini“ koju obilježava treća hodajuća noga strukturom štipaljke i oko bez naglašenih kristalinskih čunjeva. Od izlijeganja do juvenilnog oblika jedinka obično prolazi 7 faza (jaje, pseudonauplij, metanauplij, nauplij, kaliptopis, furcilia, odrasla jedinka) podijeljenih na 13 razvojnih stadija koji obično odgovaraju razdoblju između dva presvlačenja. Nova saznanja su 3 novopisana stadiji faze furcilia:; F I 2, F I 5, F II 2'+3. Za određivanje razvojnih radija korištena je metoda stanja razvoja plivajućih nožica i bodlji na telzonu.

Ključne riječi: zooplankton, eufauzidi, razvojni stadiji, Jadransko more

NEW FINDINGS ON THE DEVELOPMENTAL CYCLE OF THE EUPHAUSID *Stylocheiron abbreviatum* G.O. Sars, 1883

B. Gangai Zovko¹, D. Lučić¹, M. Hure¹, I. Onofri¹, I. Violić²

¹University of Dubrovnik, Institute for Marine and Coastal Research, Damjana Jude 12, 20000 Dubrovnik, Croatia, ²University of Dubrovnik, Ćira Carića 4, 20000 Dubrovnik, Croatia

The results of this study provide the first data on new findings of the developmental cycle of the euphausiid species *Stylocheiron abbreviatum* G.O. Sars, 1883. The euphausiids are a group of marine holoplankton crustaceans classified in the class Malacostraca, subclass Eumalacostraca, superorder Eucarida, order Euphausiacea. Their distribution is most often related to specific water masses, they live mainly in the epipelagic and batipelagic zones. The research was conducted in the area of the deep southern Adriatic Sea. Of the 13 species known for the Mediterranean Sea and 12 in the Adriatic Sea, 12 developmental stages of species were recorded. During the identification of the species, minor deviations from the previously known keys for developmental stages were found, so we bring their addition for the species *Stylocheiron abbreviatum* G.O. Sars, 1883. *S. abbreviatum* belongs to the "Stylocheiron maximum group", characterized by a third walking leg with a clamp structure and an eye without accentuated crystal cones. From hatching to juvenile form, the individual usually goes through 7 stages (egg, pseudonauplium, metanauplium, nauplii, calyptopis, furcilia, adult), which are subdivided into 13 developmental stages, usually corresponding to the period between two coatings. New findings are 3 newly written stadiums of the furcilia phase: F I 2, F I 5, F II 2' + 3. To determine the developmental stages, the method of development of pleopods and spines on the telzone was used

Key words: zooplankton, euphausiids, developmental stages, Adriatic Sea

P-37

ISTRAŽIVANJA ŽELATINOZNOG PLANKTONA U JADRANU U POSLJEDNJIH DESET GODINA

R. Garić¹, M. Batistić¹, M. Dénes¹, M. Hure¹, A. Baričević², M. Smolaka-Tanković²

¹Institut za more i priobalje, Sveučilište u Dubrovniku, Kneza D. Jude 12, 20000 Dubrovnik, Hrvatska (rade.garic@unidu.hr), ²Centar za istraživanje mora, Institut „Ruđer Bošković“, Giordano Paliaga 5, 52210 Rovinj, Hrvatska

Želatinozni zooplankton se pokazao kao dobar indikator termohalinskih promjena u Jadranu. Brojnost i pojavnost stranih ili nedavno uspostavljenih želatinoznih vrsta su direktno povezani s promjenama u obrascima cirkulacije, a potencijalno i s razinom zagrijavanja Jadranu. U posljednjih deset godina u Jadranu su otkrivene dvije nove želatinozne planktonske vrste za znanost: *Brooksia lacromae* (Thaliacea, Tunicata) i *Aurelia pseudosolida* (Ulmaridae, Cnidaria). Indopacifička vrsta *Paracytæis octona* (Cytaeididae, Cnidaria) je zabilježena od 2015. godine pa nadalje, dok su mediteranske vrste *Doliopsis rubescens* i *Pegea bicaudata* (Thaliacea, Tunicata) zabilježene u Jadranu prvi put 2016. godine. Sporadično su se bilježile i relativno rijetke vrste *Pyrosoma atlanticum* (Thaliacea, Tunicata), *Porpita porpita* (Porpitidae, Cnidaria) i *Flaccisagitta hexaptera* (Chaetognatha). Naši podaci sugeriraju da se ubrzavaju promjene u sastavu zajednica želatinoznog planktona u Jadranskem moru što upućuje na potrebu provođenja sustavnih programa monitoringa na državnoj razini. Da bi se procijenila mogućnost korištenja metoda sekvenciranja sljedeće generacije u praćenju promjena u sastavu Jadranskog zooplanktona proveli smo istraživanje u Sjevernom i Južnom Jadranu u trajanju od godine dana. Naši preliminarni podaci pokazuju da se rijetke vrste zooplanktona i pelagički plaštenjaci ne bilježe konzistentno upotreboom fragmenta gena podjedinice I citokrom oksidaze (COI).

Ključne riječi: Želatinozni zooplankton, termohaline promjene, Jadransko more

INVESTIGATIONS OF GELATINOUS ZOOPLANKTON IN THE ADRIATIC SEA IN THE LAST DECADE

R. Garić¹, M. Batistić¹, M. Dénes¹, M. Hure¹, A. Baričević², M. Smndlaka-Tanković²

¹Institute for marine and coastal research, University of Dubrovnik, Kneza D. Jude 12, 20000 Dubrovnik, Croatia (rade.garic@unidu.hr), ²Center for Marine Research, Ruđer Bošković Institute, Giordano Paliaga 5, 52210 Rovinj, Croatia

Gelatinous zooplankton has been shown to be a good indicator of thermohaline changes in the Adriatic Sea. The abundance and occurrence of allochthonous, or recently established, gelatinous species is directly linked to changes in circulation patterns and possibly with magnitude of warming in the Adriatic. In the last decade there have been some major discoveries of new gelatinous species. Two new species for the science were described: *Brooksia lacromae* (Thaliacea, Tunicata) and *Aurelia pseudosolida* (Ulmaridae, Cnidaria). Indopacific species *Paracytæis octona* (Cytæidiidae, Cnidaria) is recorded from 2015 in the Adriatic, while Mediterranean species *Doliopsis rubescens* and *Pegea bicaudata* (Thaliacea, Tunicata) were recorded for the first time in the Adriatic in 2016. There have also been occurrences of generally rare species *Pyrosoma atlanticum* (Thaliacea, Tunicata), *Porpita porpita* (Porpitidae, Cnidaria) and *Flaccisagitta hexaptera* (Chaetognatha). Our data suggest increasing pace of changes of gelatinous zooplankton community composition in the Adriatic Sea and the need for systematic monitoring campaigns. In order to assess possibility of using Next generation sequencing methods in monitoring changes in the Adriatic zooplankton we conducted a year-long investigation in South and North Adriatic. Our preliminary data show that rare species and pelagic tunicates might not be adequately recorded using COI gene fragment.

Keywords: Gelatinous zooplankton, thermohaline changes, Adriatic Sea

P-38

VERTIKALNA DISTRIBUCIJA BROJNOSTI I RAZNOLIKOSTI KOPEPODA POD RAZLIČITIM UVJETIMA OKOLIŠA U JUŽNOM JADRANU

M. Hure, M. Batistić, R. Garić

Sveučilište u Dubrovniku, Institut za more i priobalje, Kneza Damjana Jude 12, 20000 Dubrovnik, Hrvatska (marijana.hure@unidu.hr)

Vertikalna migracija je rašireno ponašanje mnogih svojti zooplanktona kroz koje organizmi aktivno sudjeluju u transportu tvari i energije u morskom okolišu. Cilj ovog istraživanja bio je razjasniti promjene u vertikalnoj distribuciji zajednica kopepoda pod dva različita okolišna uvjeta: ljetna stratifikacija (lipanj 2020) i događaj duboke zimske konvekcije (veljača 2021). Uzorci su uzeti tijekom ciklusa od 24 sata na jednoj postaji u južnom Jadranu od površine do 1200 m (u osam dubinskih slojeva). U lipnju je najveća brojnost kopepoda zabilježena u površinskom sloju tijekom ranog jutra, dok je tijekom intenzivnog dnevnog svjetla najveći dio populacije kopepoda bio koncentriran na sloju od 200-300 m. U veljači su maksimalne vrijednosti gustoće bile u površinskom sloju (0-50 m) tijekom cijelog ciklusa od 24 sata. Ukupno je identificirano 90 svojti kopepoda. Vertikalni obrasci raznolikosti pokazali su veće vrijednosti u srednjim slojevima (400-

600 m) tijekom podneva u oba godišnja doba. Izračunata srednja dubina pojavljivanja (WMD) za većinu istraživanih vrsta kalanoida bila je dublja u veljači nego u lipnju, što ukazuje na njihovo zadržavanje u dubljim slojevima tijekom razdoblja miješanja, a time i smanjuje rizik gubitka putem vizualnih grabežljivaca. Naši podaci naglašavaju važnu ulogu gradjenata okoliša u vertikalnom strukturiranju zajednica kopepoda u obje vremenske skale (dnevne i sezonske), u dinamičnom oligotrofnom pelagičkom sustavu.

Ključne riječi: vertikalna raspodjela, kopepodi, zimska konvekcija, Sredozemno more

VERTICAL DISTRIBUTION OF COPEPOD ABUNDANCES AND DIVERSITY UNDER THE DIFFERENT ENVIRONMENTAL CONDITIONS IN THE SOUTH ADRIATIC SEA

M. Hure, M. Batistić, R. Garić

University of Dubrovnik, Institute for Marine and Coastal Research, Kneza Damjana Jude 12, 20000 Dubrovnik, Croatia (marijana.hure@unidu.hr)

Vertical migration is a widespread behaviour of many zooplankton taxa through which organisms actively participate in the transport of matter and energy in the marine environment. The objective of this study was to elucidate changes in diel vertical distribution of copepod communities under two contrasting environmental conditions: summer stratification (June 2020) and deep winter convection event (February 2021). Samples were taken during a 24 h cycle at fixed station in the southern Adriatic from the surface to 1200 m (eight depth sampling intervals). In June, the highest copepod abundances were recorded in surface layer during the early morning while over the intense daylight the bulk of copepod population was concentrated at the 200-300 m layer. In February, maximum abundance values were in the surface layer (0-50 m) over the entire 24 h cycle. In all, 90 copepod taxa were identified. The vertical patterns of diversity showed higher values in the intermediate waters (400-600 m) during the midday in both seasons. Calculated weighted mean depth (WMD) for the majority of the investigated calanoid species was deeper in February than June, indicating their retention into deeper layers during the mixing period, and thus limiting the risk of loss to visual predators. Our data underline the important role of the environmental gradients in vertical structuring of the copepod communities in both, diel and seasonal timescales, in a dynamic oligotrophic pelagic system.

Keywords: vertical distribution, copepods, winter convection, Mediterranean Sea

P-39

RASPONJELA FITOPLANKTONA U RAZLIČITIM ZIMSKIM HIDROKLIMATSKIM UVJETIMA 2016.-2017. I 2020. NA OTVORENOM MORU JUŽNOG JADRANA

N. Jasprica, M. Čalić, N. Pasković

Sveučilište u Dubrovniku, Institut za more i priobalje, Kneza Damjana Jude 12, 20000 Dubrovnik, Hrvatska (nenad.jasprica@unidu.hr)

Struktura i dinamika fitoplanktonskih zajednica istraživana je na otvorenom moru južnoga Jadrana tijekom tri zimske sezone (2016., 2017., 2020.) u različitim oceanografskim i meteorološkim uvjetima. Glavni čimbenik okoliša bio je izraženi dotok Levantinske intermedijarne vode u Jadran, čemu je pogodovala ciklonska cirkulacija u sjevernom dijelu

Jonskog mora. Krstarenja su obavljena u sjevernom dijelu Južnojadranske kotline (JJK) s maksimalnom dubinom 1200 m. Visoke abundancije fitoplanktona u dubokom sloju povezane s jakim silaznim strujanjem zabilježene su 2016., a intenzivno površinsko cvjetanje fitoplanktona u ožujku 2017. Nasuprot tomu, u prosincu 2020. abundancije fitoplanktona bile su uobičajene za oligotrofno otvoreno more južnog Jadrana. Najveći udio u abundanciji fitoplanktona u JJK imali su nanofitoflagelati i dijatomeje. Prisutnost nekih obalnih fitoplanktonskih svojstava ukazuje na dotok obalnih vodenih masa, utjecaj guste vode iz sjevernog Jadrana te intenzivnu interakciju između kontinentalnog šelfa i otvorenog mora. Studija daje detaljniji doprinos suvremenim spoznajama o raspodjeli fitoplanktona i njihovom odgovoru na konvektivno miješanje, poglavito u pogledu vremena razvoja cvjetanja fitoplanktona.

Ključne riječi: Jadransko more, istočni Mediteran, hidroklimatski uvjeti, taksonomska sastav, vertikalno miješanje

PHYTOPLANKTON DISTRIBUTION RELATED TO DIFFERENT WINTER CONDITIONS IN 2016-2017 AND 2020 IN THE OPEN SOUTHERN ADRIATIC SEA (EASTERN MEDITERRANEAN)

N. Jasprica, M. Čalić, N. Pasković

Institute for Marine and Coastal Research, University of Dubrovnik, Kneza Damjana Jude 12, 20000 Dubrovnik, Croatia (nenad.jasprica@unidu.hr)

Phytoplankton community structure and dynamics were investigated in the open southern Adriatic Sea during three winter seasons (2016, 2017, 2020) under different oceanographic and meteorological conditions. The principal environmental factor was a pronounced inflow of the Levantine Intermediate water into the Adriatic, favoured by the cyclonic circulation of the North Ionian Gyre. Research cruises were undertaken in the northern part of the South Adriatic Pit (SAP) with a maximum depth of 1200 m. High abundances of phytoplankton in the deep layer associated with strong downward flow were recorded in 2016, and an intense surface phytoplankton bloom in March 2017. In December 2020, phytoplankton abundances were common for the habitually oligotrophic open southern Adriatic Sea. The phytoplankton community in SAP involved nanophytoflagellates and diatoms as the most abundant taxonomic group. Presence of some coastal phytoplankton taxa suggests the influx of coastal water masses and transport of species either longitudinally, from the northern to the southern Adriatic in concomitance of the North Adriatic Dense Water spreading, or transversal as a response to the strong mesoscale activity in the study region, comprising intense shelf - open sea interaction.

Keywords: Adriatic Sea, Eastern Mediterranean, hydroclimatic events, taxonomic composition, vertical mixing

P-40

SEZONSKA PROMJENA MORFOMETRIJSKIH I FIZIOLOŠKIH PARAMETARA KOD ČEŠLJAČE *Aequipecten opercularis* (LINNAEUS, 1758) U ZATOČENIŠTVU

I. Kovačić¹, A. Žunec², M. Matešković³, P. Burić², N. Iveša², M. Štifanić⁴

¹Fakultet za odgojne i obrazovne znanosti, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Hrvatska, ²Fakultet prirodnih znanosti, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Hrvatska, ³Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6,

10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Medicinski fakultet, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Hrvatska

Sezonske promjene okolišnih parametara značajno utječu na metaboličke aktivnosti i fiziologiju školjkaša. Kako bi se utvrdio utjecaj okolišnih parametara na jedinke češljače *Aequipecten opercularis* (Linnaeus, 1758), 160 školjkaša je sakupljeno u akvatoriju Rta Kamenjak u sjevernom Jadranu u listopadu 2020., te se njihova kultura održavala kroz godinu dana u bazenima s protočnom morskom vodom. Za procjenu sezonskog utjecaja temperature, pH vrijednosti i količine kisika na rast i fiziološko stanje, češljače su uzorkovane iz bazena četiri puta tijekom godine dana. Mjereni su morfometrijski parametri te su izračunati somatski indeksi i indeks kondicije. Sezonalnost ima najveći utjecaj na masu mokrog tkiva i na ukupnu masu školjkaša, te u na morfometrijske karakteristike. Najniži indeks kondicije zabilježen je ljeti (46,67%), a najviši u jesen (94,04%). Vrijednost somatskih indeksa mijenjala se tijekom sezone, mišićni indeks je zabilježen najniži ljeti (3,81%), a najviši u zimskom periodu (5,96%) dok je gonadosomatski indeks najmanji u jesen (18,01%), a najveći u proljeće (34,06%). Masa mokrog tkiva školjkaša i indeks kondicije ovisili su o temperaturi i pH vrijednosti morske vode, dok su ostali morfometrijski parametri pod manjim utjecajem okolišnih čimbenika.

Ključne riječi: uzgoj školjkaša, morfometrija, indeksi, češljača

SEASONAL CHANGES IN MORPHOMETRIC AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF THE QUEEN SCALLOP *Aequipecten opercularis* (LINNAEUS, 1758) CULTURED IN CAPTIVITY

I. Kovačić¹, A. Žunec², M. Matešković³, P. Burić², N. Iveša², M. Štifanić⁴

¹Fakultet za odgojne i obrazovne znanosti, Juraj Dobrila University of Pula, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Croatia, ²Faculty of Natural Sciences, Juraj Dobrila University of Pula, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Croatia, ³Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia,

⁴Medicinski fakultet, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Hrvatska

Seasonal changes in environmental parameters affect the metabolic activities and physiology of bivalves. The aim of this study was to determinate the impact of environmental parameters on the queen scallop *Aequipecten opercularis* (Linnaeus, 1758). Scallops were sampled in October 2020 at the Kamenjak Peninsula area, Northern Adriatic. Their culture was maintained for a period of one year in tanks with flowing seawater exchange. To assess the seasonal impact of temperature, pH, and oxygen levels on growth and physiological status, queen scallops were sampled from the tanks four times a year and morphometric parameters, somatic indices and condition index were measured. Seasons had the greatest impact on the scallop soft body weight, followed by the bivalve total weight, and finally on the morphometric characteristics. The highest condition index was recorded in autumn (94.04%) and the lowest in summer (46.67%). Somatic indices varied during the seasons; the muscle index was lowest in summer (3.81%) and the highest in winter (5.96%) while the gonadosomatic index is lowest in autumn (18.01%) and highest in spring (34.06%). The wet soft body weight and the condition index are dependent on the seawater temperature and pH, while morphometric parameters were less influenced by environmental factors.

Keywords: bivalve culturing, morphometry, physiology, queen scallop

***Pinctada radiata* NOVA VRSTA ŠKOLJKAŠA U JADRANU**

V. Kožul, A. Kurtela, N. Glavić, N. Antolović

Institut za more i priobalje, Sveučilište u Dubrovniku, Kneza D. Jude 12, 20000 Dubrovnik,
Hrvatska (valter.kozul@unidu.hr)

Pinctada radiata (Leach, 1814) je bisernica vrlo široko rasprostranjena koja naseljava plitke vode tropskih i suptropskih mora (Wada i Temkin, 2008), pripada familiji Pteriidae (Bivalvia: Pterioidea). U Mediteran je unešena najvjeroatnije kroz Suetski kanal aktivnostima u akvakulturi (*P. margaritifera*, *P. radiata*) ili pomorskim prometom (*E. vexillum*) (Gofas i Zenetos, 2003; Zenetos et al., 2003; Çevik et al., 2005). U Jadranu je ovaj školjkaš prvi put zabilježen 1996 u tršćanskom zaljevu Vio & De Min (1996). U hrvatskim vodama do danas je ova vrsta zabilježena dva puta, prvi put u njegovom sjevernom dijelu (Dogan and Nerlovic, 2008) i uz obale Mljetu više primjeraka (Gavrilovic et al., 2017). Pronađeni primjerak u ovom istraživanju razvio se na kolektorima za kamenice u Malostonskom zaljevu na 5 m dubine. Izmjerene vrijednosti su visina (SH) 89,81 mm, dužina (SL) 84,88 mm, and širina (SW) 22,76 mm. Novi školjkaši u Jadranskom moru nisu brojni ali mogu uticati na okoliš osobito ako se nađu u područjima intenzivnog komercijalnog uzgoja kao što je Malostonski zaljev (Bolotin et all, 2005). To je novi filtrator i konkurenca za hrani ostalim školjkašima pa je potrebno utvrditi načine kontrole i ekonomskog iskorištavanja.

Ključne riječi: *Pinctada radiata*, nova vrsta, Jadransko more

***Pinctada radiata* NEW MUSSEL SPECIES FOR THE ADRIATIC SEA**

V. Kožul, A. Kurtela, N. Glavić, N. Antolović

Institute for marine and coastal research, University of Dubrovnik, Kneza D. Jude 12, 20000 Dubrovnik, Croatia (valter.kozul@unidu.hr)

Pinctada radiata (Leach, 1814) is a pearl mussel that is very widespread and inhabits shallow waters of tropical and subtropical seas (Wada and Temkin, 2008), belongs to the family Pteriidae (Bivalvia: Pterioidea). It was most likely introduced into the Mediterranean through the Suez Canal by aquaculture activities (*P. margaritifera*, *P. radiata*) or via shipping (*E. vexillum*) (Gofas and Zenetos, 2003; Zenetos et al., 2003; Çevik et al., 2005). In the Adriatic, this shellfish was first recorded in 1996 in the Gulf of Trieste Vio & De Min (1996). To date, this species has been recorded twice in Croatian waters, for the first time in its northern part (Dogan and Nerlovic, 2008) and several specimens along the shores of Mljet (Gavrilovic et al., 2017). The specimen found developed on oyster collectors in the Mali Ston Bay at a depth of 5 m. The dimensions of the found specimen are: shell height (SH) 89.81 mm, shell length (SL) 84.88 mm, and shell width (SW) 22.76 mm. New bivalve molluscs in the Adriatic Sea are not numerous but can affect the environment, especially if they are in areas of intensive commercial breeding such as Mali Ston Bay (Bolotin et al., 2005). It is a new filter and competition for food for other bivalve molluscs. and economic exploitation.

Keywords: *Pinctada radiata*, new species, Adriatic Sea

**USPOREDBA UTJECAJA NANOČESTICA POLISTIRENA NA BIOMARKERE OKSIDATIVNOG STRESA
NAKON IZLAGANJA I OPORAVKA U MEDITERANSKOJ DAGNJI, *Mytilus galloprovincialis***

M. Marelja, D. M. Lyons

Centar za istraživanje mora, Institut „Ruđer Bošković“, G. Paliage 5, 52210 Rovinj, Hrvatska
(mmarelja@irb.hr)

Plastika je jedan od najvećih onečišćivila mora tijekom posljednjih nekoliko desetljeća. Zabrinutost je sve veća oko ekotoksikoloških učinaka, ne samo makro- i mikro-plastike, već u novije vrijeme i oko čestica nano veličina (1-100 nm). Razumijevanje posljedica oslobođanja nanoplastike postaje sve važnije, posebno zbog visokog potencijala bioakumulacije i biomagnifikacije u morskim hranidbenim mrežama. U ovom istraživanju predstavljena je sinteza nanočestica polistirena (NČ PS) i proučavanje njihovog utjecaja na mediteransku dagnju, *Mytilus galloprovincialis*. Dagnje su bile izložene NČ PS u koncentracijama od 0, 10, 50 i 100 mg L⁻¹ tijekom 96 sati nakon čega je slijedilo razdoblje oporavka od 96 sati. Mjereni su markeri oksidativnog stresa u škrigama i probavnoj žlijezdi, uključujući aktivnost enzima katalaze, glutation S-transferaze i acetilkolinesteraze, te peroksidacija lipida, nakon izlaganja i nakon oporavka. NČ PS izazvale su modulacijske učinke na aktivnosti enzima, dok je analiza istih biomarkera nakon razdoblja oporavka pokazala vrijednosti bliže kontroli. Ovi podaci ukazuju na štetne učinke nanoplastike na dagnje nakon kratkog akutnog izlaganja stvaranjem oksidativnog stresa. Međutim, dagnje pokazuju i sposobnost smanjenja oksidativnog stresa tijekom razdoblja oporavka, vjerojatno zbog aktivacije obrambenih mehanizama protiv oksidativnog stresa i postupnog pročišćavanja organizma od nanoplastike.

Ključne riječi: dagnje, nanoplastika, polistiren, AChE, GST, CAT, lipidna peroksidacija, oksidativni stres

COMPARISON IN EFFECTS OF POLYSTYRENE NANOPARTICLES ON OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN MEDITERRANEAN MUSSEL *Mytilus galloprovincialis* AFTER EXPOSURE AND RECOVERY

M. Marelja, D. M. Lyons

Institute Ruđer Bošković, Center for Marine Research Rovinj, G. Paliaga 5, 52210 Rovinj, Croatia
(mmarelja@irb.hr)

Over the past decades plastics have become one of the largest contributors to marine pollution. Concerns have been increasing about ecotoxicological effects, not only from macro- and micro-scale plastics but also more recently from nanosized particles (1-100 nm). Moreover, understanding the consequences of nanoplastics release, particularly due to their high potential for bioaccumulation and biomagnification along marine food chains, is of growing importance. The work reported herein was focused towards the synthesis of polystyrene nanoparticles (PS NPs) and investigation of their impact on mussel *Mytilus galloprovincialis*. Mussels were exposed to PS NPs at concentrations of 0, 10, 50 and 100 mg L⁻¹ for 96 h followed by a recovery period of 96 h. Oxidative stress markers, including enzymatic activity of catalase, glutathione S-transferase and acetylcholinesterase, and lipid peroxidation, were measured both after exposure and recovery period. The PS NPs have induced modulatory effects on the enzymes' activities while analysis of the same biomarkers after the recovery period showed values closer

to controls. These data indicate that nanoplastics may give rise to deleterious effects in mussels after short-term exposure through generation of oxidative stress. However, the mussels also indicate an ability to reduce oxidative stress during the recovery period, likely due to activation of oxidative stress defence mechanisms and the gradual clearing of the nanoplastics by depuration.

Keywords: mussels, nanoplastics, polystyrene, AChE, GST, CAT, lipid peroxidation, oxidative stress

P-43

UTJECAJ UZGOJA RIBE NA STRUKTURU ZAJEDNICA MEIOFAUNE NA PODRUČJU SREDNJEG JADRANA

B. Petani¹, F. Ape², S. Mirto³, I. Župan¹, T. Šarić¹, A. Baričević¹, B. Mustać¹

¹Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu, Sveučilište u Zadru, Trg Kneza Višeslava 9, 23000 Zadar, Hrvatska (bmustac@unizd.hr), ²Institute of Anthropic Impacts and Sustainability in Marine Environment, National Research Council (IAS-CNR), Lungomare Cristoforo Colombo n. 4521 (ex complex Roosevelt), Loc. Addaura, 90149 Palermo, Italija, ³Institute of Marine Science, National Research Council (ISMAR-CNR), Via Gobetti 101, 40129 Bologna, Italija

U posljednje vrijeme kao važan utjecaj uzgoja ribe na morski sediment uočava se varijabilnost u sastavu strukture zajednica meiofaune. Cilj ovog istraživanja je bio analizirati utjecaj organskih opterećenja iz ribogojilišta na sastav zajednica meiofaune u srednjem Jadranu, kod otoka Vrgade. Biokemijski sastav organske tvari i sastav zajednica meiofaune su istraživani na tri postaje: na rubu kaveza (ST 1) neposredno ispod kaveza farme (ST 2) i na kontrolnoj stanicu (CTRL ST) smještenoj na udaljenosti od cca 700 m od uzgajališta. Rezultati su pokazali značajne razlike u brojnosti i sastavu zajednica meiofauna u području kavezognog uzgoja u odnosu na područje izvan uzgojnih platformi. Pronađena je veća ukupna brojnost meiofaune, ali značajno manji broj svojti u sedimentima postaje ST 2 u usporedbi sa ostalim postajama. U istoj postaji, dominacija skupine nematoda u sastavu zajednice je bila značajno veća nego u ostalim promatranim postajama, dok je je značajno veći broj rijetkih svojti pronađen u kontrolnoj postaji CTRL ST u odnosu na postaje ST 1 i ST 2. Razlike u zajednicama meiofaune mogu se objasniti većom kvantitetom, ali manjom kvalitetom organske tvari u sedimentu ispod kaveza u odnosu na kontrolnu postaju. Veća varijabilnost brojnosti i strukture zajednica meiofaune uzrokovane taloženjem organske tvari u sedimentu ispod samog uzgajališta, naglašava važnost praćenja i korištenja meiofaune kao pokazatelja promjena u okolišu uzrokovanih antropogenim onečišćenjem.

Ključne riječi: Uzgoj ribe, Jadransko more, meiofauna, antropogeno onečišćenje

IMPACT OF FISH FARMING ON THE STRUCTURE OF MEIOFAUNA COMMUNITIES IN THE MIDDLE EASTERN ADRIATIC SEA

B. Petani¹, F. Ape², S. Mirto³, I. Župan¹, T. Šarić¹, A. Baričević¹, B. Mustać¹

¹Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu, Sveučilište u Zadru, Trg Kneza Višeslava 9, 23000 Zadar, Croatia (bmustac@unizd.hr), ²Institute of Anthropic Impacts and Sustainability in Marine Environment, National Research Council (IAS-CNR), Lungomare Cristoforo Colombo n. 4521 (ex

complex Roosevelt), Loc. Addaura, 90149 Palermo, Italy, ³Institute of Marine Science, National Research Council (ISMAR-CNR), Via Gobetti 101, 40129 Bologna, Italy

Variability of meiofaunal communities has been noted as an impact of fish farming on marine sediments. This study aimed to analyse the impact of organic loads from a fish farm on meiofaunal communities in the Adriatic Sea, near island Vrgada. Biochemical composition of sedimentary organic matter and meiofaunal assemblages were investigated at three stations: at the edge of the cages (ST 1) directly below the farm cages (ST 2) and at a control station (CTRL ST) situated at a distance of cca 700 m from the fish farm. The results showed significant differences in abundance, taxa richness and community composition of meiofauna between sediments inside and outside the fish farm. We observed significant higher total abundances of meiofauna but lower taxa richness at ST 2 compared to the other stations. In this station, the dominance of nematodes in the meiofaunal community was higher than in the other stations, while a significantly higher number of rare meiofaunal taxa was found at CTRL ST compared to farm stations. These differences in meiofaunal assemblages between aquaculture stations and control site could be explained by the higher quantity but lower quality of organic matter in the farm sediment. High variability of meiofaunal abundance and community structure caused by deposition of organic matter in the sediment below the farm emphasise the importance of monitoring and use of meiofauna as an indicator for changes in the environment caused by anthropogenic contamination.

Keywords: Fish farm, Adriatic Sea, meiofauna, anthropogenic contamination

P-44

IDENTIFICIRANJE IHTIOPLANKTONSKIH ZAJEDNICA KAŠTELANSKOG ZALJEGA DNA BARKODIRANJEM

L. Schmidt¹, B. Zorica², I. Lepen Pleić², M. Šestanović^{1,2}

¹Geopark Viški arhipelag, Hrvatskih mučenika 17, 21485 Komiža, Hrvatska ²Institut za oceanografiju i ribarstvo, Šetalište I. Meštrovića 63, 21000 Split, Hrvatska (lana.schmidt1990@gmail.com)

Od veljače 2021. do ožujka 2022. god. obavljeno je sedam znanstvenih ekspedicija istraživačkim brodom "Navicula" na području Kaštelanskog zaljeva (srednjeistočno Jadransko more). Prikupljeno je 140 uzoraka ihtioplanktona standardnom WP2 mrežom (otvor usta, 0,255 m²; oko mreže, 0,200 mm). Vertikalni ihtioplanktonski uzorci prikupljeni su do dubine od 5 m iznad morskog dna. Uzorci ihtioplanktona odmah su filtrirani i konzervirani u 96% etanolu. U laboratoriju, pod binokularnim mikroskopom, rani životni stadiji riba iz uzoraka ihtioplanktona su izolirani, prebrojani i fotografirani radi taksonomskog određivanja molekularnom analizom. Podjedinica mitohondrijske DNA gena citokrom oksidaze I (cox1), kao globalni sustav biološke identifikacije za životinje, pojačana je za diskriminaciju ličinki riba/juvenila/odraslih pomoću početnica (Ward et al. 2005.). PCR proizvodi su predani na izravno sekvenciranje u Macrogen (Macrogen Inc., Seoul, Koreja). Fish Barcode of Life (FISH-BOL) i BLASTn (NCBI), globalne biblioteke sekvenci, korištene su za identifikaciju sekvenci. Iz prikupljenih uzoraka ihtioplanktona izdvojen je 271 rani životni stadij (260 ribljih jaja; 11 ribljih ličinki) koji su pripadali 13 ribljih svojti. Najzastupljeniji su bili *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 (38%) i *Arnoglossus laterna* Walbaum, 1792

(15,5%). Općenito, većina ranih stadija ribe sakupljena je tijekom toplijeg dijela godine, točnije od svibnja do kolovoza.

Ključne riječi: rani životni stadij ribe, Kaštelski zaljev, istočni Jadran

IDENTIFYING THE ICHTHYOPLANKTON OF THE KAŠTELA BAY USING DNA BARCODES

L. Schmidt¹, B. Zorica², I. Lepen Pleić², M. Šestanović^{1,2}

¹Geopark Viški arhipelag, Hrvatskih mučenika 17, 21485 Komiža, Croatia, ²Institute of Oceanography and Fisheries, Šetalište I. Međstrovića 63, 21000 Split, Croatia

From February 2021 to March 2022 seven scientific cruises with research vessel "Navicula" were done in the area of Kaštela Bay (middle eastern Adriatic Sea). Throughout it, 140 ichthyoplankton samples were collected using a WP2 sampler (mouth opening, 0.255 m²; mesh size, 0.200 mm). Standard vertical plankton tows were made to 5 m above the seabed. Plankton samples were immediately filtered and preserved in 96% ethanol. In the laboratory, under the binocular microscope, fish early life stages from the ichthyoplankton samples were isolated, counted and photographed for taxonomical determination done by molecular analysis. The mitochondrial DNA gene cytochrome oxidase subunit I (cox1) as a global bio identification system for animals was amplified for fish larvae/juveniles/adults discrimination using primers (Ward et al. 2005). PCR products were submitted for direct sequencing to Macrogen (Macrogen Inc., Seoul, Korea). Fish Barcode of Life (FISH-BOL) and BLASTn (NCBI), global sequence libraries, were used for sequence identification. From collected ichthyoplankton samples, 271 early life stages (260 fish eggs; 11 fish larvae) were isolated and they belonged to 13 fish taxa. The most abundant were *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 (38%) and *Arnoglossus laterna* Walbaum, 1792 (15.5%). In general, majority of early fish stages were collected during the warmer part of the year, precisely from May till August.

Keywords: fish early life stage, Kaštela Bay, eastern Adriatic

P-45

ISHRANA PIRKE, *Serranus scriba* (LINNAEUS, 1758) U PODRUČJU SREDNJEG JADRA

M. Šantić, B. Apostolska

Odjel za biologiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Splitu, Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska (msantic@pmfst.hr)

Istražen je sastav hrane pirke iz područja srednjeg Jadrana. Uzorci su sakupljeni obalnom mrežom potegačom na tri različita lokaliteta u srednjem Jadranu, od siječnja do prosinca 2017 godine, na dubini od 2 do 35 m. Istražen je sadržaj želuca kod 275 jedinici koje su male raspon ukupne dužine tijela od 10.8 do 24.1 cm. Od ukupnog broja analiziranih želudaca, 28 je bilo potpuno prazno, bez sadržaja hrane. Za izračunavanje sastava hrane korišten je Indeks relativnog značaja hrane (IRI). Sadržaj hrane u želucima pripada u osam različitih skupina plijena: Gastropoda, Bivalvia, Polychaeta, Isopoda, Stomatopoda, Decapoda, Teleostei i ostaci Spermatophyta. Prema IRI indeksu, dekapodni rakovi predstavljaju glavnu hranu, iza njih slijede ribe koštunjače, a ostale skupine plijena imaju manji značaj u ishrani pirke. Na razini vrste, najznačajniji plijen je dekapodni rak *Alpheus glaber*. Sastav hrane ukazuje da je pirka

generalistički predator koja se hrani različitim tipovima bentoskih organizama. Istraživanje ishrane riba od iznimne je važnosti jer promjene u ishrani indikator su promjena u iskorištavanju ribljeg fonda.

Ključne riječi: Jadransko more, sastav hrane, pirka

DIET COMPOSITION OF PAINTED COMBER, *Serranus scriba* (LINNAEUS, 1758) FROM THE CENTRAL EASTERN ADRIATIC SEA

M. Šantić, B. Apostolska

Faculty of Science, Department of Biology, University of Split, Rudjera Boškovića 33, 21000 Split Croatia (msantic@pmfst.hr)

The diet composition of painted comber, *Serranus scriba* (Linnaeus, 1758) from the eastern central Adriatic Sea was studied. Samples were collected by beach seine at three different sites from January to December 2017. Sample sites were placed on the littoral bottoms at depths from 2 to 35 m. Stomach contents of 275 individuals, of 10.8 - 24.1 cm total length (TL) were analysed. Of the 275 analysed stomachs of painted comber, 28 were empty. Index of relative importance (IRI) were used for to quantify the diet. Food items identified in stomachs belonged to eight prey groups: Gastropoda, Bivalvia, Polychaeta, Isopoda, Stomatopoda, Decapoda, Teleostei and Spermatophyta remains. According to IRI, decapods were the most important prey group followed by teleostei, while other prey groups were less in importance. The most common identifiable prey species were the decapod *Alpheus glaber*. Prey groups found in stomachs indicate that painted comber can be a generalistic predator that feeds on various types of benthic organisms, which wide range and morphologies. Understanding the feeding ecology of fishes is important because changes in diet composition are good indicators of changes in fishery-exploited ecosystems.

Keywords: Adriatic Sea, diet composition, *Serranus scriba*

P-46

SREDOZEMNA MEDVJEDICA *Monachus monachus* (HERMANN, 1779.) - RIJEDAK PRIMJERAK HRVATSKE I SVJETSKE FAUNE IZ BOGATOG FUNDUSA PRIRODOSLOVNOG MUZEJA U SPLITU

N. Ževrnja, T. Milat

Prirodoslovni muzej i zoološki vrt Split, Kolombatovićev šetalište 2, 21000 Split, Hrvatska

Priča o dermoplastičnom preparatu sredozemne medvjedice (*Monachus monachus*) iz Zbirke sisavaca Prirodoslovnog muzeja u Splitu, pod inventarnim brojem 25, primjer je detaljne rekonstrukcije povijesti ovog jedinstvenog muzejskog primjerka od vremena ulova same jedinke, pa sve do današnjih dana. Prikaz nam daje uvid u cijeli niz događaja i osoba koje su obilježile ovu uistinu zanimljivu priču. Sredozemna medvjedica danas je jedan od najugroženijih sisavaca na svijetu. U radu je iznesena cjelokupna povijest ovog izrazito vrijednog muzejskog primjerka, te njegova uloga u promicanju zaštite prirode. Posjedovanje ovog jedinstvenog primjerka bogatstvo je ne samo za Prirodoslovni muzej u Splitu, već i za cijelu zajednicu uopće zbog izrazite rijetkosti i ugroženosti ovog morskog sisavca. Danas nam ovakvi dermoplastični preparati pružaju bazu za istraživanje ovih jedinstvenih životinja.

Ključne riječi: dermoplastični preparat sredozemne medvjedice, Zbirka sisavaca, Prirodoslovni muzej Split

MEDITERRANEAN SEAL *Monachus monachus* (HERMANN, 1779) - A RARE SPECIMEN OF CROATIAN AND WORLD FAUNA FROM THE RICH FUND OF THE NATURAL MUSEUM OF SPLIT

N. Ževrnja, T. Milat

Natural History Museum and Zoo Split, Kolombatovićevo šetalište 2, HR-21000 Split, Croatia

The story of the dermoplastastic preparation of the Mediterranean seal (*Monachus monachus*) from the Mammals Collection of the Natural History Museum in Split, under inventory number 25, is an example of a detailed reconstruction of the history of this unique museum specimen from the time the individual was caught. The review gives us an insight into a whole range of events and people that marked this truly interesting story. The Mediterranean seal is one of the most endangered mammals in the world today. The paper presents the entire history of this extremely valuable museum specimen, and its role in promoting nature protection. Possession of this unique specimen is a treasure not only for the Natural History Museum in Split, but for the whole community in general due to the extreme rarity and endangerment of this marine mammal. Today, such dermoplastastic preparations provide us with a basis for researching these unique animals.

Keywords: dermoplastastic preparation of the Mediterranean seal, Mammals Collection, Natural History Museum Split

P-47

UTJECAJ GRADITELJSKIH VRSTA *Cymodocea nodosa* I *Pinna nobilis* NA STRUKTURU MEIOFAUNE SEDIMENTA

A. Travizi¹, F. Bužleta²

¹Institut Ruđer Bošković, Centar za istraživanje mora, G. Paliaga 5, 52210 Rovinj, Hrvatska (travizi@irb.hr), ²Fakultet prirodnih znanosti, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Hrvatska (filip.buzleta28.02@gmail.com)

Analiziran je utjecaj dviju graditeljskih vrsta (*Cymodocea nodosa* i *Pinna nobilis*) na brojnost i raznolikost meiofaune u uvali Javorika, NP Brijuni. Definirane su četiri postaje koje se razlikuju ovisno o prisutnosti/odsutnosti/kombinaciji graditeljskih vrsta. Dvije postaje su bile određene prisustvom vrsta *C. nodosa* (C1) i *P. nobilis* (P1) pojedinačno, a preostale dvije prisustvom obju graditeljskih vrsta (CP1), odnosno njihovim odsustvom (S1). Uzorci su prikupljeni upotrebom ručnih korera (d=3,5cm, l=10 cm). Na svakoj postaji su uzeta tri replikatna uzorka za analizu meiofaune i tri za mjerjenje sedimenotoloških parametara. Prosječne brojnosti meiofaune kretale su se od 377 ind./10 cm⁻² (SP1) do 1851 ind./10 cm⁻² (CP1). Ukupno je zabilježeno 20 konstitutivnih svojstva meiofaune, najviše na postaji CP1 (19), zatim na C1 i P1 (11), a najmanje na S1 (9). Na svim postajama brojnošću je dominirala skupina Nematoda, slijedila je skupina Copepoda. Univarijatnim metodama je utvrđena statistički značajna razlika u brojnosti ukupne meiofaune, Nematoda i Copepoda među postajama CP1 i P1, te brojnosti Copepoda između C1 i svih ostalih postaja. Multivarijatnim analizama utvrđene su statistički značajne razlike u

strukturi meiofaune na postaji P1 te na postaji CP1, u odnosu na sve druge postaje. Pretpostavlja se da su postojeće razlike rezultat sinergističkog utjecaja graditeljskih vrsta na zajednice meiofaune općenito, te pojedinačnog utjecaja vrste *C. nodosa* na brojnost Copepoda.

Ključne riječi: meiofauna, sediment, graditeljske vrste, plemenita periska, uvala Verige, NP Brijuni

THE EFFECT OF ECOSYSTEM ENGINEER SPECIES *Cymodocea nodosa* AND *Pinna nobilis* ON MEIOFAUNAL COMMUNITY STRUCTURE

A. Travizi¹, F. Bužleta²

¹Ruđer Bošković Institute, Center for Marine Research, G. Paliaga 5, 52210 Rovinj, Croatia (travizi@irb.hr), ²Faculty of Natural Sciences, Juraj Dobrila University of Pula, Zagrebačka 30, 52100 Pula, Croatia (filip.buzleta28.02@gmail.com)

Ecosystem engineer species are increasingly recognized as a relevant ecological drivers of diversity and community composition in marine ecosystems. This presentation aimed to gain an preliminary insight on the effect of two ecosystem engineer species (*Cymodocea nodosa* and *Pinna nobilis*) on meiofaunal abundance and diversity in Javorika bay, Brijuni National Park. Four sampling sites were predefined, considering presence/absence or combination of engineering species. Two sites were defined based on the presence of *C. nodosa* (C1) and *P. nobilis* (P1) individually, while the other two were defined by presence of both engineering species (CP1) and total absence of engineering species (S1). Samples were collected by hand corers, using SCUBA diving method (d= 3,5cm, l= 10 cm). At each sampling site, three replicate corers were taken for meiofauna analysis, and the additional three for sedimentological analysis. Total of 20 meiofaunal constitutive taxa were found. Average abundance of meiofauna ranged from 377 ind./ 10 cm⁻² (site P1) to 1851 ind./ 10 cm⁻² (Site CP1). At all sites Nematoda were numerically predominant taxon, followed by Copepoda. Univariate analysis figured out a statistically significant difference in abundance of total meiofauna, Nematoda and Copepoda between CP1 and P1 sites, and between the abundance of Copepoda from the C1 related all other sites, respectively. Multivariate analyses revealed statistically significant differences in meifuna communities' structure, on the CP1 related to all other sites, and P1 related to all other sites. It is assumed that general differences in abundance are caused by synergistic effect of both ecosystem engineers, and single effect of *C. nodosa* related to abundance of Copepoda.

Keywords: meiofauna, sediment, ecosystem engineer species, fan mussel, little Neptune Grass, Verige Bay, Brijuni NP

BIOLOGIJA KOPNENIH VODA I KOPNA BIOLOGY OF FRESHWATER AND TERRESTRIAL ECOSYSTEMS

P-48

PRILOG POZNAVANJU TULARA (INSECTA, TRICHOPTERA) REPUBLIKE KAZAKHSTAN S NOTICOM NA DNA BARKODIRANJE

N. Zh. Akimbekova¹, S. V. Titov¹, D. Hlebec^{2,3}, M. Jelić⁴, K. K. Akhmetov¹, M. Kučinić²

¹Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Science, Toraighyrov University, Pavlodar, Lomov Street 64, 140008 Pavlodar, Kazakhstan, ²Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (kucinic@biol.pmf.hr), ³Centre for Taxonomy and Morphology, Leibniz Institute for the Analysis of Biodiversity Change - Hamburg site, Martin-Luther-King-Platz 3, 20146 Hamburg, Njemačka, ⁴Entomološki odjel, Gradski muzej Varaždin, Franjevački trg 10, 42000 Varaždin, Hrvatska

Republika Kazahstan, koji je teritorijalno deveta po veličini država na svijetu, nalazi se u središtu euroazijskog kontinenta. Kazahstan je od sjevera do juga podijeljen na sljedeće klimatske zone: šumovite stepе, stepе, polupustinje, pustinje, podplaninske i planinske zone. Stepe pokrivaju preko četvrtine Kazahstana, pustinje i polupustinje oko polovice, a planine, mora, jezera i rijeke ostatak. Jedna od novijih i najčešće korištenih metoda u analizi biološke raznolikosti i determinacije organizama je metoda DNA barkodiranja. Ova metoda se koristi za identifikaciju životinjskih vrsta i temelji se na sekvenciranju standardiziranog fragmenta gena mitohondrijske (mt) citokrom c oksidaze podjedinice 1 (COI). Tulari (Trichoptera) pripadaju jednom od 5 akvatičkih redova kukaca (Ephemeroptera, Odonata, Plecoptera, Megaloptera) i s 16.267 opisanih vrsta najbrojniji su red vodenih kukaca. Koriste se kao biološki pokazatelji kvalitete vode jer su vrlo osjetljivi na ekološki stres i onečišćenje. Stoga oni imaju bitnu ulogu u standardiziranoj ekološkoj procjeni vodenih ekosustava u većini zemalja. Našim istraživanjima prikupili smo uzorke s 12 lokaliteta u različitim dijelovima Kazahstana u period od 2015. do 2018. godine. U laboratoriju je morfološki analizirano oko 440 prikupljenih primjeraka Trichoptera, DNA barkodirano je oko 54 primjeraka i utvrđeno je 5 novih vrsta tulara u fauni Republike Kazahstan.

Ključne riječi: vodeni kukci, Kazahstan, bioraznolikost, molekularne metode

CONTRIBUTION TO KNOWLEDGE OF CADDISFLIES (INSECTA, TRICHOPTERA) IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN WITH NOTE ON DNA BARCODING

N. Zh. Akimbekova¹, S. V. Titov¹, D. Hlebec^{2,3}, M. Jelić⁴, K. K. Akhmetov¹, M. Kučinić²

¹Department of Biology and Ecology, Faculty of Natural Science, Toraighyrov University, Pavlodar, Lomov Street 64, 140008 Pavlodar, Republic of Kazakhstan, ²Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (kucinic@biol.pmf.hr), ³Centre for Taxonomy and Morphology, Leibniz Institute for the Analysis of Biodiversity Change - Hamburg site, Martin-Luther-King-Platz 3, 20146 Hamburg, Germany, ⁴Entomological Department, Varaždin City Museum, Franjevački trg 10, 42000 Varaždin, Croatia

The Republic of Kazakhstan, which is territorially the 9th largest country in the world, is located at the center of the Eurasian continent. Kazakhstan from north to south is divided into the following climatic zones: wooded steppe, steppe, semi-desert, desert, sub-mountain and mountain zones. Steppes cover over a quarter of Kazakhstan, deserts and semi-deserts about half, and mountains, seas, lakes, and rivers the rest. One of the recent and most frequently used method in analysis of biodiversity and determination of organisms within a particular area is the DNA barcoding method. This method is used to identify animal species and is based on sequencing of the standardized segment of the mitochondrial (mt) cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene. Caddisflies (Trichoptera) belong to one of the 5 aquatic orders (Ephemeroptera, Odonata, Plecoptera, Megaloptera) of insects and with 16.267 described species they are the most numerous order of aquatic insects. Caddisflies are used as biological indicators of water quality because they are highly sensitive to environmental stress and pollution. Therefore, they have an essential role in the standardized ecological assessment of aquatic ecosystems in most countries. Through our research, we collected samples from 12 localities in different parts of Kazakhstan in period from 2015 to 2018. 440 collected specimens were morphologically analyzed in the laboratory, 54 specimens were DNA barcoded and 5 species of Trichoptera were found for the first time in the fauna of the Republic of Kazakhstan.

Keywords: aquatic insects, Kazakhstan, biodiversity, molecular methods

P-49

PROSTORNO-VREMENSKA VARIJABILNOST OKOLIŠNIH ČIMBENIKA POVREMENIH TEKUĆICA DINARSKOG KRŠA

A. Brigić¹, F. Rebrina¹, M. Rumišek¹, L. Ružanović¹, V. Gulin¹, R. Matoničkin Kepčija¹, Z. Mihaljević¹, M. Vilenica²

¹Zoologički zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (andreja.brigic@biol.pmf.hr, fran.rebrina@biol.pmf.hr, mario.rumisek@biol.pmf.hr, lea.ruzanovic@biol.pmf.hr, vesna.gulin@biol.pmf.hr, renata.matonickin.kepcija@biol.pmf.hr, zlatko.mihaljevic@biol.pmf.hr), ²Učiteljski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Trg Matice hrvatske 12, 44250 Petrinja, Hrvatska (marina.vilenica@ufzg.hr)

Nestalnost protoka, vidljiva u ciklusima presušivanja i ponovne uspostave toka, glavni je pokretač ekoloških procesa u povremenim tekućicama. Uzrokuje izmjenu vodenih i kopnenih faza, formirajući mozaik lotičkih, lentičkih i kopnenih staništa, i dovodi do prostorno-vremenske varijabilnosti okolišnih čimbenika. Cilj istraživanja je odrediti prostorno-vremenske razlike u većem broju okolišnih čimbenika u povremenim tekućicama dinarskog krša. Istraživanje je provedeno na četiri povremene tekuće jadranskog slijeva: rijekama Krčić, Čikola, Guduća i Miljašić Jaruga, s tri postaje po rijeci. Okolišni čimbenici vode i tla mjereni su jednokratno in situ prilikom svakog terenskog izlaska i kontinuirano pomoću memorijskih elektroničkih uređaja (engl. data loggers). Fizikalno-kemijski čimbenici vode mjereni jednokratno u višestrukoj replikaciji (npr. temperatura, brzina vode, pH, koncentracija nitrata) statistički se značajno razlikuju između istraživanih postaja. Fizikalno-kemijski čimbenici tla mjereni su unutar tri glavna tipa staništa: suhog riječnog korita, riparijskog i susjednih okolnih staništa. Statističkim modelima su dokumentirane statistički značajne razlike u temperaturi, vlažnosti i pH tla u jednokratnim i kontinuiranim mjerjenjima. Ovi rezultati ukazuju na jednaku

učinkovitost u utvrđivanju razlika u prosječnim vrijednostima čimbenika između staništa na temelju jednokratnih mjerena u višestrukoj replikaciji i mjerena pomoću memorijskih električnih uređaja.

Ključne riječi: povremene tekućice, suho riječno korito

SPATIO-TEMPORAL VARIABILITY OF ENVIRONMENTAL PARAMETERS IN THE INTERMITTENT DINARIC KARST RIVERS

A. Brigić¹, F. Rebrina¹, M. Rumišek¹, L. Ružanović¹, V. Gulin¹, R. Matonićkin Kepčija¹, Z. Mihaljević¹, M. Vilenica²

¹Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (andreja.brigic@biol.pmf.hr, fran.rebrina@biol.pmf.hr, mario.rumisek@biol.pmf.hr, lea.ruzanovic@biol.pmf.hr, vesna.gulin@biol.pmf.hr, renata.matonickin.kepcija@biol.pmf.hr, zlatko.mihaljevic@biol.pmf.hr), ²Faculty of Teacher Education, University of Zagreb, Trg Matice hrvatske 12, 44250 Petrinja, Croatia (marina.vilenica@ufzg.hr)

Flow intermittency, manifested in drying and rewetting events, is the main driver of ecological processes in intermittent rivers. It leads to an alternation of aquatic and terrestrial phases, forming a habitat mosaic of lotic, lentic and terrestrial patches, and resulting in spatio-temporal variability of environmental parameters. The objective of this study is to determine spatio-temporal differences in multiple environmental parameters in the intermittent Dinaric karst rivers. The study was conducted at four intermittent rivers belonging to the Adriatic watershed: the Krčić, Čikola, Guduča and Miljašić Jaruga rivers, with three study sites per river. Water and soil environmental parameters were measured in situ by point sampling at each study site and by continuous sampling using data loggers. Physico-chemical water parameters measured by point sampling with multiple replicates (e.g. temperature, velocity, pH, nitrate concentration), differed significantly among the studied sites. Physico-chemical soil parameters were measured in three main habitat types: dry riverbed, riparian and adjacent upland habitats. Statistically significant differences in soil temperature, moisture and pH were recorded using statistical models for both point and continuous sampling. These results indicate that differences in mean values of environmental parameters among the studied habitat types can be determined with equal efficiency by point sampling with multiple replicates and continuous sampling using data loggers.

Keywords: intermittent rivers, dry riverbed

P-50

POVREMENA I STALNA LOTIČKA STANIŠTA: KOLIKO BRZO SE OBNAVLJAJU?

D. Bućan¹, V. Mičetić Stanković¹, M. Miliša²

¹Zoološki odjel, Hrvatski prirodoslovni muzej, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Hrvatska (denis.bucan@hpm.hr, vlatkams@hpm.hr), ²Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (marko.milisa@biol.pmf.hr)

Klimatske promjene negativno utječu na slatkovodne ekosustave uzrokujući isušivanje zbog porasta temperature zraka i promjene u količini padalina. Utjecaj tih promjena na živi svijet je u fokusu recentne limnologije gdje se zajednica bentičkih besralješnjaka, makrozoobentosa, koristi kao pokazatelj uvjeta u staništu. Iako u procjeni oporavka negativno zahvaćenih područja dinamika ponovnog naseljavanja staništa makrozoobentosom ima ključnu ulogu, još uvijek je nedovoljno podataka o tom procesu. Stoga, glavni cilj ovog istraživanja je utvrditi dinamiku i mehanizam naseljavanja makrozoobentosa obzirom na okolišne čimbenike. Proučavana su dva vodna tijela različita po tipologiji i antropogenom pritisku: prirodni stalni izvor i povremeni potok. Korištene su umjetne i prirodne podloge; umjetne podloge postavljane su u isto vrijeme u području stalnog izvora, a na području povremenog potoka uzrokovani su prirodni supstrati. Velika brojnost ličinki Diptera, posebice Chironomidae, je pronađena u oba vodna tijela. Prema rezultatima, Ephemeroptera i Chironomidae u stalnom i Oligochaeta, Plecoptera i Chironomidae u povremenom potoku su pioniri naseljavanja. Ovo istraživanje značajno doprinosi novim spoznajama o procesu naseljavanja te budućoj konzervaciji i restauraciji potencijalno ugrožene slatkovodne faune i njenih staništa.

Ključne riječi: bentos, dugoročno, Hrvatska, kratkoročno, migracija, naseljavanje

INTERMITTENT VS. PERENNIAL LOTIC HABITAT: HOW FAST DO THEY RECOVER?

D. Bućan¹, V. Mičetić Stanković¹, M. Miliša²

¹Department of Zoology, Croatian Natural History Museum, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Croatia (denis.bucan@hpm.hr, vlatkams@hpm.hr), ²Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (marko.milisa@biol.pmf.hr)

Freshwater ecosystems are being negatively impacted by climate change primarily through drying caused by continuously increasing temperatures and decreasing precipitation. The impacts on these ecosystems are one of the leading research topics in current limnology, where the benthic invertebrate community is used in habitat quality assessments. Although the dynamics of recolonization by the benthic community play a key role in the recovery of affected areas, knowledge about this process is still scarce. Therefore, the main objective of this study was to determine the dynamics and characteristics of colonization by benthic invertebrates in relation to environmental factors. In this study, we included two water bodies that differ in typology and anthropogenic pressure: a pristine permanent spring and an intermittent stream. Artificial and natural substrates were used for assessing the recovery process. A simultaneous placement design (SP) was used with artificial substrates in the permanent spring area and natural substrates in the intermittent stream. Large numbers of Diptera larvae, particularly Chironomidae, were found in both water bodies. Ephemeroptera and Chironomidae in the perennial and Oligochaeta, Plecoptera and Chironomidae in the intermittent watercourse are revealed as good pioneers of the recolonization process. This research will lead to new knowledge and contribute to the conservation and restoration of potentially endangered freshwater habitats and their fauna.

Keywords: benthos, colonization, Croatia, flow intermittence, long-term, migration, short-term

HRANIDBENE NAVIKE CRNE UDOVICE - *Latrodectus tredecimguttatus* (ROSSI, 1790) U ISTARSKOJ ŽUPANIJI

M. Cvek, N. Landeka

Nastavni zavod za javno zdravstvo Istarske županije - Istituto formativo di sanità pubblica della Regione Istriana, Nazorova 23, 52100 Pula, Hrvatska (ddd@zzjziz.hr)

S ciljem utvrđivanja stanja populacije crne udovice (*Latrodectus tredecimguttatus*) na području Istarske županije, provedena su istraživanja o hraničbenim navikama crne udovice u periodu od svibnja do listopada tijekom 2015. i 2016. godine kada su zaostali uzorci prehrane uzimani iz mreže na mjesecnoj odnosno tjednoj razini, prikupljene su točni podaci o preferiranim vrstama plijena u svakom pojedinom razdoblju, kao i podaci o povezanosti veličine plijena s hraničbenim navikama crne udovice. U radu su korištene tri metode; metoda izlova iz lovnih čaša iz kojih su uzimani uzorci, metoda prikupljanja zaostalih ostataka hrane izvučenih iz mreža pauka te metoda opservacije staklenki s crnim udovicama i puževima u laboratoriju. Dobivene su točne informacije o preferiranim vrstama plijena po pojedinim razdobljima te o povezanosti veličine plijena s hraničbenim navikama, posebice vrsta kojima se hrane mladi pauci tijekom svibnja i lipnja i koje zbog svoje veličine i čvrstoće teško mogu zaostati na mreži do jeseni. Također, istraživalo se hvata li crna udovica aktivno puževe u svom okolišu ili se radi o slučajnom ulovu. Utvrđeno je da je u pogledu izbora hrane odrasla jedinka oportunist, dok su juvenilni primjerici ograničeni na sitniji plijen premda pokušavaju uloviti i višestruko veći plijen. Najveća raznolikost u prehrani jest u juvenilnih pauka u lipnju kada je brojniji manji plijen obzirom da je pauk manji, a pred kraj sezone adulti preferiraju jedan veći plijen.

Ključne riječi: *Latrodectus tredecimguttatus*, hraničbene navike, oportunist, Istra, Hrvatska

FEEDING HABITS OF *Latrodectus tredecimguttatus* (ROSSI, 1790) IN COUNTY OF ISTRIA

M. Cvek, N. Landeka

Teaching Institute of Public Health of the County of Istria, Nazorova 23, 52100 Pula, Croatia (ddd@zzjziz.hr)

In order to determine the status of the black widow population (*Latrodectus tredecimguttatus*) in the County of Istria, research was conducted on the feeding habits of the black widow in the period from May to October during 2015 and 2016 when leftover dietary samples were taken from the web on a monthly or weekly basis, accurate data on preferred prey species in each period were collected, as well as data on the association of prey size with black widow feeding habits. Three methods were used; the method of catching from hunting vessels from which samples were taken, collecting leftover food extracted from spider webs and observing jars with black widows and snails in the laboratory. Accurate information was obtained on the preferred types of prey by individual periods and on the relationship between prey size and feeding habits, especially species fed to young spiders during May and June which due to their size and strength can hardly lag behind in the net until autumn. It was also researched if the black widow actively catches snails in her environment or whether it is an accidental catch. It has been established that the adult is an opportunist in terms of food choice, while juvenile specimens are limited to smaller prey, although they also try to catch

much larger prey. The greatest diversity in the diet is in juvenile spiders in June when the smaller prey is more numerous since the spider is smaller, and towards the end of the season the adults prefer one larger prey.

Key words: *Latrodectus tredecimguttatus*, feeding habits, opportunist, Istria, Croatia

P-52

DYNAMIC ENERGY BUDGET MODELS FOR TWO COMPETING LACERTIDS

U. Dajčman^{1,2}, U. Enriquez-Urzelai³, A. Žagar²

¹Biotechnical faculty, University of Ljubljana, Jamnikarjeva ulica 101, 1000 Ljubljana, Slovenia,

²Department of Ecosystem and Organism Research, National Institute of Biology, Večna pot 111, 1000 Ljubljana, Slovenia (Urban.Dajcman@nib.si), ³Institute of Vertebrate Biology, Czech Academy of Sciences, Květná 8, 60365 Brno, Czech Republic

Ectothermic organisms such as lizards are metabolically tied to many abiotic factors shaping their thermal environment. The dynamic nature of such environments can influence their development, growth and reproductive patterns. Simultaneously, intraguild biotic interactions can also influence their energy allocation. An example of such a pair of species are *Podarcis muralis* and *Iberolacerta horvathi*, lacertid lizards commonly sharing and inhabiting similar microhabitats throughout the Dinaric mountain range. Many previous studies focused on disentangling their ecophysiology and growth to study their competition. This abundance of literature data makes them good candidate species for mechanistic modeling approaches which can give further insight into the complex distribution and activity patterns of small lacertids. Here we present the results of a mechanistic modeling approach following the dynamic energy budget theory (DEB) for both species. We present the model results and estimates for various traits such as size at maturity, maximum size, reproductive output, length-mass allometry and growth curves. Our model results offer an important first step to building an integrative modeling framework for understanding species activity and distribution patterns while taking into account interspecific competition. These results also offer future prospects for studying the effects of temperature related climate change on interspecific interactions in ectotherms.

Keywords: Dynamic energy budget theory, competition, syntopy, biotic interactions, *P. muralis*, *I. horvathi*, Lacertidae

P-53

A RECORD OF PHORETIC ASSOCIATION BETWEEN MITE *Trichouropoda querleti* HIRSCHMANN, 1972 (ACARI: MESOSTIGMATA: TREMATURIDAE) AND CENTIPEDE *Lithobius forficatus* (LINNAEUS, 1758) (CHILOPODA: LITHOBIOMORPHA: LITHOBIIDAE) FROM NORTH MACEDONIA

Z. Jovanović, D. Stojanović, J. Milovanović, B. Ilić, V. Vujić, B. Dudić, S. Makarov

Institute of Zoology, Faculty of Biology, University of Belgrade, Studentski trg 16, 11000 Belgrade, Serbia (zjovanovic@bio.bg.ac.rs, dstojanovic@bio.bg.ac.rs,

Phoresy is a transportation strategy used by deutonymphs and adult females of mites, which might be caused by either environmental changes or seasonal migration. Many arthropods (various species of beetles, flies, myriapods, as well as crustaceans woodlice and amphipods) are suitable carriers for phoretic mites. Phoresy by mites has been more commonly investigated in millipedes (class Diplopoda) than in centipedes (class Chilopoda). *Lithobius forficatus* (Linnaeus, 1758) has previously been reported as a carrier for two mite species *Oodinychus ovalis* (C. L. Koch, 1839) and *Urobovella pulchella* (Berlese, 1904) in Poland and Slovakia. Here, we present the finding of phoretic deutonymph of *Trichouropoda querceti* Hirschmann, 1972 on male specimen of *L. forficatus* from North Macedonia. The centipede is collected at the site near the locality of Pisana Skala, in May of 2010 during the survey of the myriapod fauna of North Macedonia. Six specimens of mites were located laterally on the segments VII, VIII, X, XII, XIII, and XIV. Examinations and photographs were made with Nikon SMZ 1270 binocular stereomicroscope and Leica DMLB equipped with DFC295 camera (Leica Microsystems, Germany). Temporary microscopic slides were prepared in glycerol after clearing the specimens in 88% lactic acid for 48 hours. This is the first report of the mite *T. querceti* found on centipede *L. forficatus*.

Keywords: phoresy, mites, Mesostigmata, centipedes

P-54

EMERGENCIJA ROSANA I ŠUŠAKA (INSECTA: COLEOPTERA: SCIRTIDAE) U KRŠKIM VODENIM STANIŠTIMA

A. Klarin¹, V. Mičetić Stanković², M. Ivković³

¹Lojenov prilaz 4, 10000 Zagreb, Hrvatska (anaklarin99@gmail.com), ²Zoološki odjel, Hrvatski prirodoslovni muzej, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Hrvatska (vlatkams@hpm.hr), ³Zoologiski zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (mivkovic@biol.pmf.hr)

Kornjaši su, kao jedan od vrstama najbrojnijih redova kukaca, uz ostala staništa zavladali i onim vodenim. Povezanost s okolišnim uvjetima može biti iznimna zbog čega su izvrsni pokazatelji kvalitete staništa. No, iako određene porodice kornjaša svojom brojnošću dominiraju u zajednici makroskopskih beskralješnjaka dna i dalje su nedovoljno istražene ili čak zanemarene, poput porodice Scirtidae (Insecta: Coleoptera: Polyphaga). Do sada je zabilježeno 15 vrsta te porodice u Hrvatskoj, no zbog slabe istraženosti očekuje se da je taj broj i veći. Njeni predstavnici u ličinačkom stadiju žive u vodenom staništu, zakukulje se u obalnoj zoni, dok kao odrasli emergiraju na kopno. Cilj ovog istraživanja je utvrditi emergencijske značajke porodice Scirtidae i to populacija rosana (rod *Hydrocyphon*) i šušaka (rod *Elodes*) u odnosu na sezonu i okolišne čimbenike. Također, cilj je i utvrditi odnos spolova obzirom na sezonu i mikrostanište. Istraživanje je provedeno u lotičkim staništima Nacionalnog parka Plitvička jezera u razdoblju od 2007. do 2022. godine. Obzirom na metodologiju istraživanja te dosadašnju slabu istraženost porodice Scirtidae uopće, rezultati ovog rada su od iznimnog značaja pružajući temelj za buduća slična istraživanja.

Ključne riječi: ekologija, lotičko, taksonomija, voden kornjaši, životni ciklus

EMERGENCE OF SCIRTIDS (INSECTA: COLEOPTERA: SCIRTIDAE) IN KARST WATERBODIES

A. Klarin¹, V. Mičetić Stanković², M. Ivković³

¹Lojenov prilaz 4, 10000 Zagreb, Croatia (anaklarin99@gmail.com), ²Department of Zoology, Croatian Natural History Museum, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Croatia (vlatkams@hpm.hr),

³Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (marija.ivkovic@biol.pmf.hr)

Beetles have successfully colonized freshwater habitats as one of the most speciose insect orders. They can be extremely sensitive to environmental conditions which is why they are often used as bioindicators. Although some representatives can be numerous in benthic communities, knowledge about their biology and ecology is still very scarce, such as for the family Scirtidae (Insecta: Coleoptera: Polyphaga). So far, 15 species of Scirtidae have been recorded in Croatia, but the actual number is probably higher, as the family has never been studied in detail. Their larvae live in waterbodies, pupation usually takes place in the riparian area, whilst adults emerge in the land. The aim of this study is to determine the emergence patterns of scirtids in relation to season and environmental conditions in karst waterbodies. In addition, the aim was to determine sex ratio and its phenological and spatial characteristics. The study was conducted in lotic karst freshwater habitats in Plitvice Lakes NP from 2007 to 2022. Faunistic, biological, and ecological characteristics of scirtids are represented in detail which provides a basis for similar studies in this area.

Keywords: ecology, life cycle, lotic, taxonomy, water beetles

P-55

UTJECAJ NEKIH KLIMATSKIH ČIMBENIKA NA REPRODUKTIVNI UČINAK ROMANOVSKE OVCE U BILOGORSKOM KRAJU

M. Kovačić¹, D. Đuričić², M. Sudarić Bogojević¹, S. Krčmar¹

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Ul. cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (mislav.kovacic@biologija.unios.hr), ²Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Heinzelova ul. 55, 10000, Zagreb, Hrvatska

Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj temperature zraka, količinu dnevnih oborina i trajanje sunčeve svjetlosti na reproduktivni učinak romanovske ovce na području Bilogore, Hrvatska. Ovce su držane na ograđenom rotirajućem pašnjaku s pristupom stajama. Imale su slobodan pristup dobroj hrani i pitkoj vodi, kao i mogućnost prirodnog parenja. Tijekom 3 uzastopne godine (2019.-2021.) prikupljeni su podaci o reproduktivnom učinku četiri stada ovaca (od 26 do 57 jedinki u stadu). Podaci o promatranim klimatskim čimbenicima dobiveni su od najbliže meteorološke postaje koja se nalazi na udaljenosti od 5-15 km od farmi. Parenje je ukupno 425 ovaca, od kojih je 399 uspješno začelo, a ojanjeno je 851 janje. Prosječna veličina legla bila je 1,63. Prosječna plodnost tijekom istraživanja iznosila je 93,88%. Raspodjela janjenja nije bila ravnomjerno raspoređena tijekom cijele godine (zima 51,88%; proljeće 21,31%; ljeto 13,53% i jesen 13,28%). Vrhunac spolne aktivnosti bio je od kraja kolovoza do listopada. Utvrđena je pozitivna ili negativna korelacija ($p<0,0001$) između promatranih klimatskih čimbenika s

određenim reproduktivnim svojstvima (broj gravidnih i ne gravidnih ovaca). Klimatski čimbenici mogu izravno i neizravno utjecati na stočarsku proizvodnju te na razdoblja smanjene estrusne aktivnosti. Temperatura zraka, količina oborina i trajanje sunčeve svjetlosti u različitim mjesecima ili godišnjim dobima mogu utjecati na reproduktivni učinak romanovske ovce na istraživanom području.

Ključne riječi: klimatski čimbenici, reproduktivni učinak, romanovska ovca, Bilogorski kraj, Hrvatska

INFLUENCE OF SOME CLIMATE FACTORS ON THE REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF ROMANOV SHEEP IN BILOGORA REGION

M. Kovačić¹, D. Đuričić², M. Sudarić Bogojević¹, S. Krčmar¹

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Ul. cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (mislav.kovacic@biologija.unios.hr), ²Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Heinzelova ul. 55, 10000 Zagreb, Croatia

The study aimed to determine the influence of air temperature, amount of daily precipitation and sunlight duration on the reproductive performance of the Romanov sheep on the area of Bilogora, Croatia. The sheep were kept in a fenced rotating pasture with access to stables. They had free access to good food, and drinking water as well as the possibility of natural mating. During 3 consecutive years (2019-2021), the reproductive performance data of four sheep flocks (26-57) were collected. Data on observed climatic factors were obtained from the nearest meteorological station. Total 425 ewes were mated, of which 399 successfully conceived and 851 lambs were born. The average litter size was 1.63. The average fertility during the study was 93.88%. The distribution of lambings was not equally distributed throughout the year (winter 51.88%; spring 21.31%; summer 13.53% and autumn 13.28%). The peak of sexual activity was from the end of August to October. There was a positive or negative correlation ($p<0.0001$) between observed climatic factors with certain reproductive performance (number of pregnant and non-pregnant ewes). The climate factors may directly and indirectly affected livestock production and impact periods of reduced oestrous activity. Air temperature, amount of precipitation and sunlight duration during different months or seasons could impact the reproductive performance of Romanov sheep in the studied area.

Keywords: climate factors, reproductive performance, Romanov sheep, Bilogora region, Croatia

P-56

RASPROSTRANJENOST CRNE UDOVICE *Latrodectus tredecimguttatus* (ROSSI, 1790) (ARANEA: THERIDIIDAE) U REPUBLICI HRVATSKOJ I HERCEGOVINI (BiH)

N. Landeka¹, L. Katušić², I. Kirin¹

¹Nastavni zavod za javno zdravstvo Istarske županije - Istituto formativo di sanità pubblica della Regione Istriana, Nazorova 23, 52100 Pula, Hrvatska (ddd@zzjziz.hr), ²Zavod za zaštitu okoliša i prirode, Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja, Ul. Grada Vukovara 78, 10000 Zagreb, Hrvatska (luka.katusic1@gmail.com)

Rod *Latrodectus* je široko rasprostranjen, uglavnom u područjima s toplijom klimom, dok su neke vrste prisutne i u umjerenom klimatskom pojasu. Crna udovica (*Latrodectus tredecimguttatus*) nastanjuje južni i jugoistočni dio Europe i zapadni dio Azije, a u Hrvatskoj je prisutna u Istri, Primorju, nekim otocima i Dalmaciji. Podaci o rasprostranjenosti crne udovice prikupljeni su u razdoblju od 2011. do 2015. godine. Područja na kojima se provodilo istraživanje su Istarska županija, Primorsko-goranska, Ličko-senjska, Zadarska, Šibensko-kninska, Splitsko-dalmatinska, Dubrovačko-neretvanska te područje južne i zapadne Hercegovine. Rezultati su dobiveni pretraživanjem lokaliteta na temelju literaturnih podataka o lokalitetima na kojima je zabilježena prisutnost crne udovice, na temelju informacija prikupljenih na terenu i od mještana te pretraživanjem lokaliteta na temelju karakteristika staništa specifičnih za crnu udovicu. Ukupno je pretraženo 192 lokaliteta, a prisutnost crne udovice potvrđena je na 59 lokaliteta od kojih je 25 potpuno novih nalaza koji nisu prethodno opisani. Recentniji nalazi zabilježeni su na sljedećim lokalitetima: 2019. godine na Braču, 2021. godine u Šibeniku i na Braču te 2022. godine u Šibeniku. Kreiran je i predikcijski model u predviđanju potencijalnih staništa. Zbog različitih ekoloških čimbenika koji utječu na pojavnost ove vrste svi literaturni nalazi nisu potvrđeni što se može pripisati izrazito malobrojnoj populaciji u vrijeme istraživanja.

Ključne riječi: Hrvatska, crna udovica, rasprostranjenost, predikcijski model

DISTRIBUTION OF BLACK WIDOW *Latrodectus tredecimguttatus* (ROSSI, 1790) (ARANEA: THERIDIIDAE) IN CROATIA AND HERZEGOVINA (B&H)

N. Landeka¹, L. Katušić², I. Kirin¹

¹Teaching Institute of Public Health of the County of Istria, Nazorova 23, 52100 Pula, Croatia (ddd@zzjziz.hr), ²Institute for Environment and Nature, Ministry of Economy and Sustainable Development, Ul. Grada Vukovara 78, 10000 Zagreb, Croatia (luka.katusic1@gmail.com)

The genus *Latrodectus* is widespread, mainly in areas with warmer climates, while some species are also present in the temperate zone. The black widow (*Latrodectus tredecimguttatus*) inhabits the southern and southeastern parts of Europe and the western part of Asia, and in Croatia it is present in Istria, Primorje, some islands and Dalmatia. Data on the prevalence of black widow were collected in the period from 2011 to 2015. A total of 192 sites were searched, and the presence of the black widow was confirmed at 59 sites of which 25 were completely new findings not previously described. More recent findings were recorded at the following localities: in 2019 on Brač, in 2021 in Šibenik and Brač, and in 2022 also in Šibenik. Areas in which the research was conducted are Istria, Primorje-Gorski Kotar, Lika-Senj, Zadar, Šibenik-Knin, Split-Dalmatia, Dubrovnik-Neretva and the area of southern and western Herzegovina. The results were obtained by searching the site based on literature data on sites where the presence of the black widow was recorded, based on information collected directly in the field and from locals and by searching the site based on black widow habitat characteristics. A prediction model was also created in predicting potential habitats. Due to various ecological factors influencing the occurrence of this species, not all literature findings have been confirmed, which can be attributed to the extremely small population at the time of the study.

Keywords: Croatia, black widow, distribution, prediction model

USPOSTAVA POUZDANE METODE OCJENE EKOLOŠKOG STANJA KRŠKOG JEZERA NA TEMELJU FITOPLANKTONA

M. Šimunović¹, A. Kulaš², P. Žutinić², G. Goreta³, M. Šušnjara², M. Gligora Udovič²

¹Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju, Ul. Grada Vukovara 269D, 10000 Zagreb, Hrvatska (schimica@gmail.com), ²Bioološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (antonija.kulas@biol.pmf.hr, petar.zutinic@biol.pmf.hr, mirela.susnjara@biol.pmf.hr, marija.gligora.udovic@biol.pmf.hr), ³Javna ustanova „Nacionalni park Krka“, Trg Ivana Pavla II 5, 22000 Šibenik, Hrvatska (gordana.goreta@npk.hr)

Temeljem odredbi Okvirne direktive o vodama (ODV, 2000/60/EK) svaka zemlja je uspostavila vlastite metode ocjene ekološkog stanja jezera na temelju fitoplanktona kao biološkog elementa kakvoće. Jedinstvena staništa poput krških jezera zahtijevaju prilagođavanje indeksa kvalitete vode i pokazatelja za ocjenu stupnja eutrofikacije. Svrha istraživanja bila je ocijeniti: 1) ekološko stanje krškog jezera koristeći fitoplankton i pripadajuće fizikalno-kemijske elemente kakvoće te 2) trofičko stanje prema stupnju eutrofikacije i pokazateljima stanja te utjecaja. Također, naš cilj bio je provjeriti jesu li klorofil a (Chl-a) i indeks za fitoplankton jezera (HLPI) prikladni pokazatelji za praćenje jezera Visovac na rijeci Krki. Uzorkovanje je provedeno jednom mjesечно u razdoblju od travnja do rujna tijekom 2016. i 2019. godine. Rezultati mjerjenja Chl-a ukazuju da je jezero Visovac na granici oligotrofnog prema mezotrofnom stanju, dok je prema HLPI indeksu ekološko stanje ocijenjeno kao dobro. Na osnovu rezultata predlažemo korištenje Chl-a, kao ranog pokazatelja potencijalnog pogoršanja ekološkog stanja i za brzu ocjenu stanja na tjednoj razini. Praćenje stanja na osnovu HLPI indeksa, koji daje detaljniji uvid, preporuča se na mjesечноj razini. Kako bi se osiguralo kontinuirano i ciljano praćenje ovog osjetljivog krškog ekosustava, potrebno je uložiti daljnje napore u osiguravanje odgovarajuće razine pouzdanosti te u reviziju graničnih vrijednosti obuhvaćenih pokazatelja.

Ključne riječi: klorofil a, ekološko stanje, eutrofikacija, indeks za fitoplankton jezera, krško jezero

ESTABLISHING RELIABLE PHYTOPLANKTON METRICS FOR BIOASSESSMENT OF A KARSTIC LAKE

M. Šimunović¹, A. Kulaš², P. Žutinić², G. Goreta³, M. Šušnjara², M. Gligora Udovič²

¹Paying Agency for Agriculture, Fisheries and Rural Development, Ul. Grada Vukovara 269D, 10000 Zagreb, Croatia, (schimica@gmail.com), ²Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (antonija.kulas@biol.pmf.hr, petar.zutinic@biol.pmf.hr, mirela.susnjara@biol.pmf.hr, marija.gligora.udovic@biol.pmf.hr),

³Public Institution "National Park Krka", Trg Ivana Pavla II 5, 22000 Šibenik, Croatia (gordana.goreta@npk.hr)

Following the requirements of the Water Framework Directive (WFD, 2000/60/EC), each EU country has designed their own methods for ecological status assessment of lakes based on phytoplankton metrics. For unique habitats, such as karst lakes, water quality indices and

eutrophication indicators need to be adjusted. This study focuses on the assessment of: 1) ecological status of a karst lake using phytoplankton and supportive physico-chemical quality elements, and 2) trophic status based on eutrophication status and impact indicators. Furthermore, our goal was to test the applicability of Chlorophyll-a (Chl-a) and Hungarian Lake Phytoplankton Index (HLPI) as reliable metrics in the routine monitoring of the Lake Visovac (Krka River, Southern Croatia). Sampling was conducted during 2016 and 2019 on a monthly basis from April to September. According to the results of Chl-a, Lake Visovac was within the limits of oligo- to mesotrophic status, while HLPI indicated the good ecological status of the Lake. We suggest using Chl-a for rapid bioassessment on a weekly basis as an early warning indicator of potential deterioration. The use of more complex and detailed HLPI metric is recommended to be applied monthly. In order to achieve continuous targeted monitoring of this highly sensitive karst aquatic system, further efforts in improving the confidence level of the metrics and a comprehensive revision of boundaries for included indicators is necessary.

Keywords: chlorophyll-*a*, ecological status, eutrophication, Hungarian Lake Phytoplankton Index, karstic lake

P-58

INDICATIVE STATUS ASSESSMENT OF SERBIAN PART OF THE DANUBE RIVER AND ITS TRIBUTARIES BASED ON AQUATIC MACROINVERTEBRATES – JDS4

B. Tubić, N. Popović, A. Atanacković, K. Zorić, J. Tomović, M. Raković, J. Đuknić, N. Marinković, S. Andžus, M. Paunović

Institute for biological research "Siniša Stanković", National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade, Department of Hydroecology and Water Protection, Despot Stefan Blvd. 142, 11060 Belgrade, Serbia (bojana@ibiss.bg.ac.rs)

During the „Joint Danube Survey 4“ (JDS4) research program, performed in the first weeks of July 2019, Serbian national team carried out Multi-Habitat Sampling as a standardized WFD sampling method for the ecological status assessment (AQEM Consortium, 2002). Samples of aquatic macroinvertebrates were taken from 12 sites along Serbian stretch of the Danube River, 5 on the Danube River and 7 on its tributaries. Indicative Status Assessment (ISA) was performed using aquatic macroinvertebrates as bioindicators and taking into consideration community structure and composition. In total, 91 taxa belonging to 19 higher taxonomic groups were found, 57 of them were found in the Danube River and 62 taxa in the tributaries. Main groups in the benthic community in respect to taxa richness were Annelida (40,78%), Mollusca (25,60%), Crustacea (16,80%) and Insecta (15,92%). The most abundant taxa were *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862 and *Lithoglyphus naticoides* (Pfeiffer, 1828). Selected metrics used for the ISA, according to national legislation, were obtained through ASTERICS software (AQEM, 2002). ISA of Serbian stretch of the Danube River and its tributaries, which belong to the large lowland rivers, could be assessed as moderate (class III) to bad status (class V). Based on benthic macroinvertebrates community, it is concluded that investigated localities are primarily under the influence of moderate organic pollution as well as various types of hydromorphological pressures.

Keywords: aquatic macroinvertebrates; the Danube River; tributaries; JDS4; ecological status assessment

NOVE VRSTE RODA *Baetis* LEACH, 1815 (EPHEMEROPTERA) ZA HRVATSKU FAUNU

Y. Vidinova¹, L. Kladarić², M. Vilenica³, R. Ćuk², A. Popijač⁴

¹Department of aquatic ecosystems, Bulgarian Academy of Sciences, Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, 1 Tsar Osvoboditel Blvd, 1000 Sofia, Bugarska (vidinova@yahoo.com), ²Hrvatske vode, Glavni vodnogospodarski laboratorij Hrvatskih voda, Ul. Grada Vukovara 220, 10000 Zagreb, Hrvatska (lidija.kladaric@voda.hr, rcuk@voda.hr),

³Učiteljski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Trg Matice hrvatske 12, 44250 Petrinja, Hrvatska (marina.vilenica@ufzg.hr), ⁴Javna ustanova „Park prirode Kopački rit“, Mali Sakadaš 1, 31327 Kopačko, Bilje, Hrvatska (aleksandar.popijac@pp-kopacki-rit.hr)

Poznavanje faune slatkovodnih ekosustava je vrlo važan dio njihova biomonitoringa. Ličinke vodencvjetova naseljavaju i tekuća i stajaća vodna tijela. S obzirom da su vrlo osjetljivi na promjene u okolišu (primjerice one uzorkovane čovjekovim utjecajem ili klimatskim promjenama), diljem svijeta se koriste kao biološki indikatori u ekološkim istraživanjima i monitoringu slatkovodnih ekosustava. Iako je naše poznavanje faune vodencvjetova Republike Hrvatske tijekom zadnjeg desetljeća značajno poraslo, još uvijek postoje brojne nepoznanice. Tijekom ovog istraživanja, posjećeno je 406 lokacija širom Hrvatske te je sakupljeno 1046 uzoraka. U ovom radu predstavljamo pet vrsta vodencvjetova iz roda *Baetis* novih za faunu Republike Hrvatske: *B. digitatus* Bengtsson, 1912, *B. gemellus* Eaton, 1885, *B. gracilis* Bogorescu & Tabacaru, 1957, *B. pavidus* Grandi, 1951 i *B. subalpinus* Bengtsson, 1917. Prikazane su morfološke karakteristike svake vrste, dok je identifikacija nekih od njih potvrđena molekularnim analizama, tj. metodom DNA barkodiranja (*B. pavidus*, *B. gracilis* i *B. gemellus*). Uz do sada zabilježenih 13 vrsta roda *Baetis* na području Republike Hrvatske, ovim istraživanjem taj se broj popeo na 18, čime je ovaj rod najbrojniji vrstama u fauni vodencvjetova ovog područja. Prikazani rezultati predstavljaju značajan doprinos poznavanju faune vodencvjetova Republike Hrvatske.

Ključne riječi: vodencvjetovi, *Baetis*, nove vrste za faunu, bogatstvo vrsta, Balkanski poluotok

NEW *Baetis* LEACH, 1815 (EPHEMEROPTERA) SPECIES FOR CROATIA

Y. Vidinova¹, L. Kladarić², M. Vilenica³, R. Ćuk², A. Popijač⁴

¹Department of Aquatic Ecosystems, Bulgarian Academy of Sciences, Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, 1 Tsar Osvoboditel Blvd, 1000 Sofia, Bulgaria (vidinova@yahoo.com), ²Hrvatske vode, Central Water Management Laboratory, Ulica Grada Vukovara 220, 10000 Zagreb, Croatia (lidija.kladaric@voda.hr, rcuk@voda.hr), ³University of Zagreb, Faculty of Teacher Education, Trg Matice hrvatske 12, 44250 Petrinja, Croatia (marina.vilenica@ufzg.hr), ⁴Kopački rit Nature Park Public Institution, Mali Sakadaš 1, 31327 Kopačko, Bilje, Croatia (aleksandar.popijac@pp-kopacki-rit.hr)

Detailed knowledge of aquatic fauna is very important tool for biomonitoring of freshwater habitats. Mayflies can be found at both lotic and lentic habitats. Due to their sensitivity to changes in their habitats (e.g. anthropogenic impact and climate change), they are widely used as indicators in ecological freshwater assessments. Despite the recent progress in our

knowledge of mayfly biodiversity in Croatia during the past decade, there are still some gaps to be fulfilled. During this study, a total of 406 localities has been visited and all together 1046 samples have been collected. Here we present five new species of *Baetis* genus for the Croatian mayfly fauna: *B. digitatus* Bengtsson, 1912, *B. gemellus* Eaton, 1885, *B. gracilis* Bogoescu & Tabacaru, 1957, *B. pavidus* Grandi, 1951 and *B. subalpinus* Bengtsson, 1917. We present morphological features of all five species, while identification of some of them was confirmed with DNA barcoding methods (*B. pavidus*, *B. gracilis* and *B. gemellus*). Although 13 *Baetis* species are already known for the Croatian freshwater habitats, our results represent an important contribution to Croatian mayfly fauna, rising the number of species within this genus to 18, making it the most species rich mayfly genus in Croatia.

Keywords: Ephemeroptera, *Baetis*, new species records, species richness, Balkan peninsula

P-60

MICROMORPHOLOGY OF SCALES OF FOUR SPECIES OF LIZARDS ACROSS DIFFERENT CLIMATIC ZONES

A. Žagar¹, K. Konc², V. Perc², U. Dajčman², R. Megia-Palma³, M. Hočevar⁴, D. Drobne², S. Novak²

¹Department of Ecosystem and Organism Research, National Institute of Biology, Večna pot 111, 1000 Ljubljana, Slovenia (anamarija.zagar@nib.si), ²Biotechnical faculty, University of Ljubljana, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenia, ³Universidad de Alcalá (UAH), Department of Biomedicine and Biotechnology, School of Pharmacy, E-28805, Alcalá de Henares, Madrid, Spain), ⁴Institute of Metals and Technology (IMT), Lepi pot 11, 1000 Ljubljana, Slovenia

Many authors have suggested that the microstructure of the superficial surface of scales have undergone important adaptations and have functional value in lizards. In this study, we investigated the variation of the microstructure of the dorsal scales of four species of Lacertidae family that originated from different climate and habitat: *Zootoca vivipara* (temperate climate and forest), *Podarcis carbonelli* (Mediterranean climate and sand dune), *P. virescens* (Mediterranean climate and urbanized habitat), and *Gallotia galloti* (arid climate and rocky desert). In *G. galloti* we also compared microstructure of the skin between two populations originating from extremely different elevations: 120 and 2300 m a.s.l. to analyze intra-specific variation under different UV radiation pressure. Skin sheds were sputter-coated with gold/palladium and analyzed using scanning electron microscopy. At the highest magnification (5000x) we observed that dorsal scales of *Z. vivipara*, and both *Podarcis* species are proximally laminated (approx. 2 µm space between lamellae) and have a smooth surface at the lamellae end. On the contrary, *G. galloti* have smaller lamellae (approx. 1.5 µm space between lamellae) and have rounded and spiky microstructures present at the lamellae end that may have an adaptive role to cope with dry climatic conditions. No particular differences in skin microstructures have been detected between low- and high-elevation of *G. galloti*.

Keywords: lizards, skin morphology, scanning electron microscopy, adaptation

THE EFFECTS OF HYDROMORPHOLOGICAL PARAMETERS ON INVASIVE SPECIES IN THE RIPARIAN ZONES ALONG THE RIVERS IN SERBIA

M. Živković^{1,2}, A. Andđelković³, S. Popović⁴, M. Pećarević⁵, B. Miljanović²

¹University Educons, Faculty of Environmental Protect, Vojvode Putnika 85-87, 21208 Sremska Kamenica, Serbia (milica.zivkovic.edu@gmail.com), ²University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Biology and Ecology, Trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Serbia, ³Institute for Plant Protection and Environment, Banatska 33, 11000 Belgrade, Serbia,

⁴University Center of Ecology and Technoeconomics, Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Njegoseva 12, 11000 Belgrade, Serbia, ⁵University of Dubrovnik, Department of Applied Ecology, Branitelja Dubrovnika 29, 20000 Dubrovnik, Croatia

The rapid spread of invasive alien plants worldwide has occurred as a consequence of intensive anthropogenic movement, with riparian and aquatic habitats being especially under threat, as these habitats represent important corridors for the spread of invasive species. The European map of invasion levels predicts that the highest levels of invasion are to be expected in the Lower Danube Basin, then probably rives of the Middle Danube Basin. Field research was conducted in riparian areas of 34 rivers in Serbia, following the River Habitat Survey (RHS) methodology. The presence of 25 alien invasive species in riparian zones was documented, with the most dominant invasive species being: *Xanthium strumarium*, *Robinia pseudoacacia* and *Amorpha fruticosa*. One of the aims was also to determine the relevant HMS (Habitat Modification Score) and HQA (Habitat Quality Assessment Score) subscores (obtained as part of the RHS methodology) and to show their importance relative to the invasive species in riparian zones. Canonical correspondence analysis (CCA) analysis was used, and based on this analysis three HMS and HQA subscores (out of 18 in total) were determined to have a statistically significant effect: In-stream channel vegetation sub-score, Flow type sub-score and Land-use within 50m sub-score, while the strongest positive correlation with the first axes was evident for the Flow type HQA sub-score.

Keywords: rivers, hydromorphological parameters, invasive species

P-62

**UČINCI EKSTRAKTA OBIČNE PLANIKE (*Arbutus unedo* L.), ARBUTINA I HIDROKINONA NA
PK-15 STANICE**

V. Benković¹, I. Tkalčec¹, K. Jurica², A. Horvat Knežević¹

¹Zavod za animalnu fiziologiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (vesna@biol.pmf.hr, ines.tkalcec@hotmail.com, anica.horvat.knezevic@biol.pmf.hr), ²Ministarstvo unutarnjih poslova Republike Hrvatske 10000 Zagreb, Hrvatska (policija@mup.hr)

Obična planika (*Arbutus unedo* L.) (OP) je zimzeleni divlji grm ili malo drvo iz obitelji Ericaceae koje se naširoko koristi kao sastojak u tradicionalnoj medicini kao diuretik, uroantiseptik i laksativ zbog svojih antimikrobnih i antioksidativnih svojstava. Biološki aktivni spojevi koji se nalaze u listu OP su polifenoli, među kojima je najčešći arbutin. Potvrđena su njegova antioksidativna, antikancerogenka i protuupalna svojstva. Učinci arbutina proizlaze iz hidrokinona, njegovog metabolita. Poznato je da hidrokinon ima nefrotoksično i hepatotoksično djelovanje. Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti toksičnost vodenog ekstrakta lista obične planike (EOP) i arbutina u dozama od 400 µg/mL; 200 µg/mL i 11,4 µg/mL, te hidrokinona u dozama od 280 µg/mL; 140 µg/mL i 8 µg/mL na PK-15 staničnoj liniji nakon 24 h izloženosti, korištenjem MTS testa i alkalnog komet testa. EOP i arbutin u svim primjenjenim dozama nisu utjecali na vrijabilnost PK-15 dok je hidrokinon inducirao značajnu inhibiciju proliferacije stanica u usporedbi s kontrolom. Hidrokinon je uzrokovao statistički veće vrijednosti parametara kometa (duljina repa, intenzitet repa) u odnosu na kontrolu. EOP i arbutin pokazuju visoku biokompatibilnost prema PK-15 stanicama, s gotovo nikakvim ili zanemarivim štetnim učincima na razini stanica. Potrebne su daljnje studije koristi/rizika povezanih s primjenom OP u terapeutске svrhe na različitim tipovima stanica, kao i na modelima *in vivo*.

Ključne riječi: obična planika, arbutin, hidrokinon, nefrotoksičnost *in vitro*

THE EFFECTS OF WILD STRAWBERRY TREE (*Arbutus unedo* L.) LEAF EXTRACT, ARBUTIN AND HYDROQUINONE ON PK-15 CELLS

V. Benković¹, I. Tkalčec¹, K. Jurica², A. Horvat Knežević¹

¹Division of Animal Physiology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (vesna@biol.pmf.hr, ines.tkalcec@hotmail.com, anica.horvat.knezevic@biol.pmf.hr), ²Ministry of the Interior, 10000 Zagreb, Croatia (policija@mup.hr)

Strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) (ST) is an evergreen wild shrub or a small tree in the Ericaceae family widely used as an ingredient in the traditional medicine as a diuretic, uroantiseptic, and laxative due to its antimicrobial and antioxidant properties. Biologically active compounds found in the leaf of the ST are polyphenols, among which the most common is arbutin. Its antioxidant, anticarcinogenic, and anti-inflammatory properties have been confirmed. The effects of arbutin derive from hydroquinone, its metabolite. It is known that hydroquinone possesses a nephrotoxic effect. The aim of this study was to estimate the toxicity of the strawberry-tree leaf

aqueous extract (STE) and arbutin in doses of 400 µg/mL; 200 µg/mL and 11.4 µg/mL, and of hydroquinone in doses of 280 µg/mL; 140 µg/mL and 8 µg/mL on PK-15 cell line after 24 h exposure, evaluated using MTS assay and alkaline comet assay. STE and arbutin in all applied doses did not affect the viability of PK-15 while hydroquinone induced significant inhibition of cell proliferation compared to control. Hydroquinone caused statistically higher values of comet parameters (tail length, tail intensity) compared to control. STE and arbutin show high biocompatibility towards PK-15 cells, with almost no or negligible detrimental effects at the cell level. Further studies of benefits/risks associated with the administration of ST for therapeutic purposes on different cell types as well as *in vivo* models are needed.

Keywords: strawberry tree, arbutin, hydroquinone, nephrotoxicity *in vitro*

P-63

KONCENTRACIJE METALA I METALOIDA U KRVI PTIĆA BIJELE RODE (*Ciconia ciconia*) S PODRUČJA KONTINENTALNE HRVATSKE

D. Bjedov¹, M. Velki², T. Mikuška³, L. Jurinović⁴, N. Turić^{2,5}, L. Toth⁵, S. Ečimović², Z. Lončarić⁶, A. Mikuška²

¹Hrvatski institut za biološku raznolikost, BIOTA d.o.o., Maksimirска cesta 129/5, 10000 Zagreb, Croatia (dora.bjedov@gmail.com), ²Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (mvelki@biologija.unios.hr, natasa.turic@biologija.unios.hr, sandra@biologija.unios.hr, amikuska@biologija.unios.hr), ³Hrvatsko društvo za zaštitu ptica i prirode, Ivana Gundulića 19/A, 31000 Osijek, Croatia (tibor.kopacki.rit@gmail.com), ⁴Centar za peradarstvo, Hrvatski veterinarski institut, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatia (jurinovic@veinst.hr), ⁵Nastavni zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Drinska 8, 31000 Osijek, Croatia (leontinatoh.zzjz@gmail.com), ⁶Zavod za agroekologiju i zaštitu okoliša, Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Croatia (zdenko.loncaric@fazos.hr)

Cilj ovog istraživanja je analiza metala: olova (Pb), žive (Hg), kadmija (Cd) i metaloida: arseniјa (As), selena (Se) u krvi ptica bijele rode (*Ciconia ciconia*). Uzorkovala se krv ptica (n = 106) tijekom grijezdeće sezone 2021. u kontinentalnoj Hrvatskoj na sedam lokacija: Jakuševec, Lonjsko polje, Crnac polje, Jelas polje, Slavonski Brod - istok, Podunavlje i Donje Podravljе. Povišene koncentracije Pb u odnosu na druge postaje zabilježene su na područjima Slavonski Brod – istok u blizini metalne industrije, transporta, energetike i vojne industrije te na odlagalištu otpada Jakuševec. Iznenađujuće, najviše razine Hg pronađene su u Parku prirode Lonjsko polje. Povišena koncentracija Cd može biti posljedica otjecanja otpada iz petrokemijske industrije u poplavnom i retencijskom području Lonjskog polja. Na moguće onečišćenje površinskih voda korištenjem pesticida i gnojiva zbog intenzivne poljoprivrede upućuju povišene koncentracije Cd u Podunavlju i Donjem Podravljу u odnosu na druge postaje. Najviše koncentracije As zabilježene su u Podunavlju, području poznatom po kontaminaciji podzemnih voda As. Zbog intenzivne poljoprivrede i hortikulture, najviše razine Se zabilježene su u Crnac polju. Postoje značajne razlike u koncentraciji metala i metaloida između lokaliteta što ukazuje na lokalne izvore onečišćenja. Budući da su ptici prvenstveno izloženi unosom iz plijena, potreбno je kontinuirano praćenje, kao i procjena utjecaja metala i metaloida na fiziološke biomarkere.

Ključne riječi: izlaganje metalima, biomonitoring, vršni predator, onečišćenje, krv

METAL AND METALLOID CONCENTRATIONS IN THE BLOOD OF WHITE STORK (*Ciconia ciconia*) NESTLINGS FROM CONTINENTAL CROATIA

D. Bjedov¹, M. Velki², T. Mikuska³, L. Jurinović⁴, N. Turić^{2,5}, L. Toth⁵, S. Ečimović², Z. Lončarić⁶, A. Mikuška²

¹Croatian Institute for Biodiversity, BIOTA Ltd, Maksimirsa cesta 129/5, 10000 Zagreb, Croatia (dora.bjedov@gmail.com), ²Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana, 8/A, 31000 Osijek, Croatia (mvelki@biologija.unios.hr,

natasja.turic@biologija.unios.hr, sandra@biologija.unios.hr, amikuska@biologija.unios.hr), ³Croatian Society for Birds and Nature Protection, Ivana Gundulića 19/A, 31000 Osijek, Croatia (tibor.kopacki.rit@gmail.com), ⁴Poultry Centre, Croatian Veterinary Institute, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatia (jurinovic@veinst.hr), ⁵Teaching Institute of Public Health Osijek-Baranja county, Drinska 8, 31000 Osijek, Croatia (leontinatoth.zzz@gmail.com), ⁶Department of Agroecology and Environment Protection, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Croatia (zdenko.loncaric@fazos.hr)

The present research provides data on the concentrations of metals: lead (Pb), mercury (Hg), cadmium (Cd), and metalloids: arsenic (As), selenium (Se) in the blood of white stork (*Ciconia ciconia*) nestlings. Blood was sampled (n = 106) during breeding season 2021 in continental Croatia on seven locations: Jakuševec, Lonjsko polje, Crnac polje, Jelas polje, Slavonski Brod - east, Podunavlje, and Donje Podravljе. Increased Pb concentrations were recorded in the colony breeding at landfill Jakuševec, and in Slavonski Brod - east compared to other locations, presumably due to proximity to the metal and engineering industry. Surprisingly, the highest Hg levels were found at Nature park Lonjsko polje. Higher Hg concentration may be due to runoff from petrochemical industry in the flooding retention zone of the Nature park. Possible contamination of surface waters by usage of pesticides and fertilisers due to agricultural practice was indicated by higher Cd concentrations in Podunavlje and Donje Podravljе compared to other locations. The highest concentrations of As were recorded in Podunavlje, an area known for groundwater As contamination. Due to high agricultural and horticultural activities, Se levels were the highest at Crnac polje. Spatial variation in analysed metal and metalloid concentration is present, indicating local sources of pollution. Since nestlings are primarily exposed via ingested prey, continued monitoring, as well as biochemical assessment is required.

Keywords: metal exposure, biomonitoring, apex predator, contamination, blood

P-64

FLUORIDE ENHANCES POLYSTYRENE NANOPARTICLES CYTOTOXICITY IN COLONOCYTES IN VITRO MODEL

I. Inklewicz-Stępiak¹, E. Megiel²

¹Department of Pharmaceutical Pathophysiology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Gdańsk, Debinki 7 street, 80-211 Gdańsk, Poland (iwona.inklewicz-stepniak@gumed.edu.pl),

²Faculty of Chemistry, University of Warsaw, Ludwika Pasteura 1, 02-093 Warszawa, Poland (iinkiel@gumed.edu.pl)

Human gastrointestinal cells can be exposed to different xenobiotics present in food or drinking water. In this work, we assessed the cytotoxicity of polystyrene nanoparticles (PS-NPs) and how it is impacted by fluoride (F-) presence. We decided to examine PS-NPs and F- which can be found in drinking water and food. Amine-modified 100 nm PS-NPs were used and characterized by Scanning Electron Microscopy with Electron Dispersive Spectroscopy and Dynamic Light Scattering. The cytotoxicity of PS-NPs and F- alone or in co-exposure against colon cell (HT-29, Caco-2, CCD 841 CoN) was assessed by MTT assay. Flow cytometry was used to measure reactive oxygen species (ROS) production, cell cycle distribution, and apoptosis. Transmission Electron Microscopy was used to determine whether PS-NPs and/or F- can cause ultrastructure changes in the cells. We have shown that PS-NPs are cytotoxic to human colon cells in a time- and concentration-dependent manner. If HT-29 cells were co-exposed to PS-NPs and F-, an increased number of cells in G0/G1 phase and decreased number of cells in G2/M was observed. PS-NPs can cause apoptosis in HT-29 cells, this effect was enhanced if cells were co-exposed to PS-NP and F-. PS-NPs were internalised by the cells and caused ultrastructure changes. We have proven that polystyrene nanoparticles can be cytotoxic to human gastrointestinal cells and this effect is enhanced by fluoride. This work was funded by grant St-54 from Medical University of Gdańsk.

Keywords: PS-NPs, co-exposure, nanotoxicology, microplastic, amino-modified polystyrene nanoparticles

P-65

OCCURENCE OF MICROPLASTIC PARTICLES IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF FRESHWATER FISH SPECIES *Abramis brama* IN THE DANUBE RIVER, SERBIA

K. Jovičić, J. Vranković, M. Raković, V. Đikanović

Institute for Biological Research "Siniša Stanković", National Institute of Republic of Serbia, Department of Hydroecology and Water Protection, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Belgrade, Serbia (katarina.jovicic@ibiss.bg.ac.rs)

Microplastic (MP) pollution has attracted wide attention since the production and use of plastic materials has increased worldwide. However, there is a lack of information about MPs in freshwater ecosystems, given that they are less studied compared to marine ones. Fish species are of special interest since they are utilized in the human diet. Among various sources, synthetic textiles play a dominant role in microplastic emissions, especially in the form of short fibers. The aim of this study was to determine the occurrence of MPs in the gastrointestinal tract (GIT) of the freshwater fish species common bream (*Abramis brama* Linnaeus, 1758) from the Danube River (1169 river km) in the area of the city of Belgrade, Serbia (44° 49' 54.48" N, 20° 27' 23.68" E). A total of nine specimens were collected, and the whole GIT was removed. Digestion of organic content was performed with a combined alkaline-oxidative treatment (10% KOH and Triton X-100; 30% H₂O₂). Filtered samples were visually observed under a binocular microscope. A total number of 136 plastic particles were detected, all belonging to a class of fibers. The size of the particles varied from 0.5 mm to 50 mm. The obtained results are in accordance with previous studies that reported fibers as the dominant shape of MPs in fish. The given results represent a contribution to the research of the MPs' occurrence in freshwater species. However, there is a need for further studies involving other fish species.

Keywords: Freshwater ecosystem, plastic fibers, common bream, intestine

POJAVA ČESTICA MIKROPLASTIKE U GASTROINTESTINALNOM TRAKTU SLATKOVODNE VRSTE RIBA *Aramis brama* U RIJECI DUNAV, SRBIJA

K. Jovičić, J. Vranković, M. Raković, V. Đikanović

Institute for biological research "Siniša Stanković", National Institute of Republic of Serbia, Department of Hydroecology and Water Protection, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija (katarina.jovicic@ibiss.bg.ac.rs)

Zagađenje mikroplastikom (MP) privuklo je široku pozornost budući da je proizvodnja i upotreba plastičnih materijala porasla diljem svijeta. Međutim, nedostaju podaci o MP u slatkovodnim ekosustavima, s obzirom na to da su oni manje proučavani u odnosu na morske. Riblje vrste su od posebnog interesa jer se koriste u ljudskoj prehrani. Među različitim izvorima, sintetički tekstil ima dominantnu ulogu u emisijama mikroplastike, posebno u obliku kratkih vlakana. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi pojavu MPs u gastrointestinalnom traktu (GIT) slatkovodne vrste riba deverika (*Aramis brama* Linnaeus, 1758) u Rijeci Dunav (1169 riječni kilometar) na području Beograda, Srbija (44° 49' 54.48" N, 20° 27' 23.68" E). Ukupno je prikupljeno devet uzoraka, a izvađen je cijeli GIT. Digestija organskog sadržaja provedena je kombiniranim alkalno-oksidativnim tretmanom (10% KOH i Triton X-100; 30% H₂O₂). Filtrirani uzorci vizualno su promatrani pod binokularnim mikroskopom. Otkriveno je ukupno 136 plastičnih čestica, koje sve pripadaju klasi vlakana. Veličina čestica varira od 0,5 mm do 50 mm. Dobiveni rezultati su u skladu s prijašnjim istraživanjima koja navode da su vlakna dominantni oblik MP-a u ribama. Navedeni rezultati predstavljaju doprinos istraživanju prisutnosti MPs u slatkovodnim vrstama. Međutim, postoji potreba za dalnjim studijama koje će uključivati i druge vrste riba.

Ključne riječi: slatkovodni ekosustav, plastična vlakna, deverika, probavilo

P-66

PROCJENA TOKSIČNOSTI OTPADNIH VODA U KRŠKOM PODRUČJU PRIMJENOM TESTA INHIBICIJE RASTA ALGI

I. Karamatić¹, Ž. Cvetković², V. Mikulec², A. Brkić³, S. Šariri¹, D. Valić¹, T. Kralj¹, T. Mijošek¹, Z. Redžović¹, D. Ivanković¹, V. Filipović Marijić⁴

¹Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (ikaramat@irb.hr, ssariri@irb.hr, dvalic@irb.hr, tkralj@irb.hr, tmijosek@irb.hr, zredzov@irb.hr, djuric@irb.hr, vfilip@irb.hr), ²Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Mirogojska 16, 10000 Zagreb, Hrvatska (zelimira.cvetkovic@stampar.hr, vlatka.mikulec@stampar.hr), ³Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (abrkc@stud.biol.pmf.hr)

Procjena toksičnosti provodi se akutnim testovima koji ukazuju na potencijalni toksični učinak na vodene organizme. Istraživanje toksičnosti vode rijeke Krke provedeno je u njezinom uzvodnom toku, koji je pod direktnim utjecajem neprikladno obrađenih industrijskih i komunalnih otpadnih voda, primjenom zelene alge (*Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) F. Hindák, 1990). Toksičnost vode u krškom području testirana je na pet postaja, izvoru rijeke Krke (KRS, referentna postaja), kod komunalnog ispusta (MWW), industrijskih otpadnih voda (IWW) te pritokama

Orašnici (TOR) i Butišnici (TBU). Projek specifičnog rasta algi i postotak inhibicije izračunat je prema normi ISO 8692:2012 nakon 24, 48 i 72 h inkubacije mjerenjem optičke gustoće spektrofotometrom na 670 nm. Konačni rezultat testa predstavlja najviša koncentracija pri kojoj nije uočena inhibicija (<20 %), odnosno LIDA-vrijednost (eng. Lowest Ineffective Dilution). Rezultati testa ukazuju na potencijalnu toksičnost otpadne vode IWW (LIDA = 32, 72 h). Za ostale postaje LIDA iznosi: KRS i TBU = 1, TOR = 2 i MWW = 4, odnosno porast toksičnosti u otpadnih voda: KRS = TBU < TOR < MWW < IWW. Provedeni testovi potvrdili su alge kao osjetljive bioindikatore te ukazali na toksični utjecaj industrijskih otpadnih voda na rijeku Krku i na važnost pravilnog pročišćavanja otpadnih voda prije ispuštanja u okoliš. Stoga je potrebno provoditi daljnji monitoring kako bi se izbjegle ozbiljne posljedice na biotu i Nacionalni park Krka.

Ključne riječi: rijeka Krka, otpadne vode, testovi toksičnosti, zelena alga

ASSESSMENT OF THE WASTEWATER TOXICITY IN THE KARST AREA USING ALGAL GROWTH INHIBITION TEST

I. Karamatić¹, Ž. Cvetković², V. Mikulec², A. Brkić³, S. Šariri¹, D. Valić¹, T. Kralj¹, T. Mijošek¹, Z. Redžović¹, D. Ivanković¹, V. Filipović Marijić¹

¹Ruđer Bošković Institute, Bijenička 54, 10000 Zagreb, Croatia (ikaramat@irb.hr, ssariri@irb.hr, dvalic@irb.hr, tkralf@irb.hr, tmijosek@irb.hr, zredzov@irb.hr, djuric@irb.hr, vfilip@irb.hr),

²Andrija Štampar Teaching Institute of Public Health, Mirogojska 16, 10000 Zagreb, Croatia (zelimira.cvetkovic@stampar.hr, vlatka.mikulec@stampar.hr), ³Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (abrkic@stud.biol.pmf.hr)

Toxicity assessment is performed by acute tests that indicate potential toxic effect on aquatic organisms. In our research, toxicity testing was performed in the upstream flow of the Krka River, directly impacted by inappropriately treated industrial and municipal wastewaters, using green algae (*Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) F. Hindák, 1990). Toxicity of water in karst area was tested at five sites, Krka River source (KRS, reference site), near municipal (MWW) and industrial wastewater outlets (IWW) and in tributaries Orašnica (TOR) and Butišnica (TBU). The average algal specific growth and the percentage of inhibition was calculated according to ISO 8692:2012 after 24, 48 and 72 h incubation by measuring the optical density on a spectrophotometer at 670 nm. The final result of the test is presented by the highest concentration at which no inhibition was observed (<20%), called LID_A value (Lowest Ineffective Dilution). Results indicated the potential toxicity of IWW (LID_A = 32, 72 h). For other sites LID_A was: KRS and TBU = 1, TOR = 2 and MWW = 4, therefore indicating increase of toxicity in wastewaters: KRS = TBU < TOR < MWW < IWW. Toxicity testing confirmed algae as sensitive bioindicators and pointed to the toxic impact of industrial wastewater on the Krka River and the importance of proper wastewater treatment before discharge into the environment. Therefore, further monitoring is needed to avoid serious consequences for biota and the Krka National Park.

Keywords: Krka River, wastewaters, toxicity testing, green algae

P-67

EFFECT OF ACRYLAMIDE TREATMENT ON THE ACTIVITY AND EXPRESSION OF GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE IN RAT HEPATOCYTES

J. Marković Filipović¹, D. Kojić¹, M. Miler², J. Karan¹, I. Ivelja¹, M. Matavulj¹

¹University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Biology and Ecology, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Serbia (jelena.markovic@dbe.uns.ac.rs), ²Department of Cytology, Institute for Biological Research "Siniša Stanković" - National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Belgrade, Serbia

Acrylamide (AA) is carcinogen, mutagen and neurotoxic substance present in fried, roasted and baked starch-based goods. AA is formed in Maillard reaction from asparagine and carbonyl sources, such as reducing sugars, during thermal food processing at temperatures between 120°C and 180°C. The aim of our study was to determine whether acrylamide treatment affects the expression and activity of glutathione-S-transferase (GST) in hepatocyte. Viability of rat hepatoma cell line - H4IIE upon AA treatment was assessed by the MTT viability assay. Cells were cultivated in a 96-well plate and exposed to increasing concentrations of AA (2.5–5.5 mM) for 24 h. AA concentration of 4 mM induced death of 17.62% H4IIE cells, while 4.5 mM AA caused death of 48.45% cells. Therefore, AA concentrations of 4 mM and 4.5 mM were taken as IC₂₀ and IC₅₀, respectively. H4IIE cells were treated with IC₂₀ and IC₅₀ of AA for 24 h. Relative mRNA expression for GSTA2 and GSTP1 was quantified using real-time RT-PCR. Total GST activity was determined spectrophotometrically at 340 nm using DTNB as the substrate. After AA treatments, mRNA level for GSTA2 and GSTP1 and total GST activity increased in a concentration-dependent manner in H4IIE cells. Only treatment with higher AA concentration (4.5 mM) proved to be statistically significant for all three examined parameters. Our results indicate that by altering expression and activity of GST enzyme acrylamide exerts toxic effects on hepatocytes.

Keywords: Acrylamide, GST activity, GST expression, MTT viability assay, H4IIE cell line

P-68

UČINAK CaCl₂ I CaBr₂ NA RAZMNOŽAVANJE VRSTE *Daphnia magna* STRAUS

N. Mažuran, V. Hršak, G. Kovačević

Zoologiski zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (goran.kovacevic@biol.pmf.hr)

Koncentrirane otopine soli CaCl₂ i CaBr₂ gustoće do 2.3 kg/L redovito se koriste tijekom specijalnih operacija u istraživanjima i proizvodnji prirodnog plina i sirove nafte. Različite koncentracije soli visoke gustoće često se ostavljaju u isplaćnim jamama uz bušotine kao otpad te tako zagađuju površinske i podzemne vode. U ovom radu istraživali smo učinke CaCl₂ i CaBr₂ na vodenbuhu *Daphnia magna* u 21-dnevnom testu reprodukcije. Tri pokušne koncentracije (1925 mg L⁻¹, 481 mg L⁻¹ i 240 mg L⁻¹) prouzročile su značajno smanjenje razmnožavanja s povećanjem doze ($p<0.001$) i povećanje smrtnosti. Prosječan broj neonata po leglu smanjio se u sve tri CaCl₂ koncentracije i prosječan broj legala značajno se smanjio u najtoksičnijoj otopini (1925 mg L⁻¹). Obje ispitane koncentracije CaBr₂ su bile vrlo toksične za odrasle (50 and 60 % smrtnost) i embrije tako da su u CaBr₂ 1066 mg L⁻¹ i 533 mg L⁻¹ bila proizvedena samo abortirana jaja što je pokazalo embriotoksičnost te supstance. Uspoređujući dobivene rezultate s onima dobivenim u prethodnom istraživanju na slatkovodnom pužu *Planorbarius corneus* L. može se zaključiti da je *Daphnia magna* pokazala veću osjetljivost na ove kemikalije od puža. Rezultati

ukazuju da su visoke koncentracije ispitanih kemikalija štetne za razmnožavanje vrste *Daphnia magna* te mogu smanjiti njezinu brojnost.

Ključne riječi: *Daphnia magna*, kronični test reprodukcije, toksičnost CaCl_2 i CaBr_2 , embriotoksičnost bromida

THE EFFECTS OF CaCl_2 AND CaBr_2 ON THE REPRODUCTION OF *Daphnia magna* STRAUS

N. Mažuran, V. Hršak, G. Kovačević

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (goran.kovacevic@biol.pmf.hr)

Concentrated CaCl_2 and CaBr_2 salt solutions of densities up to 2.3 kg / L are regularly used to control the hydrostatic pressure in oil wells during special operations in exploration and production of natural gas and crude oil. Various concentrations of high density salts are frequently left in mud pits near the drilling site as waste polluting fresh and ground waters. In this study we investigated the effects of CaCl_2 and CaBr_2 on waterflea *Daphnia magna* in 21-day reproduction test. The three tested concentrations of CaCl_2 (1925 mg L⁻¹, 481 mg L⁻¹ and 240 mg L⁻¹) caused a significant dose-response decrease of reproduction ($p<0.001$) and increase of mortality. The average number of neonates per brood decreased in all three CaCl_2 concentrations and the average number of broods significantly decreased in the most toxic solution (1925 mg L⁻¹). Both tested concentrations of CaBr_2 were highly toxic to adults (50 and 60 % mortality) and embryos so that in CaBr_2 1066 mg L⁻¹ and 533 mg L⁻¹ only aborted eggs were produced demonstrating the embryotoxicity of the substance. Comparing the obtained results with those obtained in the previous research on freshwater snail *Planorbarius corneus* we can concluded that *Daphnia magna* showed a higher sensitivity to the chemicals than the snail. The results suggest that high concentrations of the tested chemicals are harmful to *Daphnia* reproduction and could reduce its abundance.

Keywords: *Daphnia magna*, chronic reproduction test, CaCl_2 and CaBr_2 toxicity, bromide embryotoxicity

P-69

OPORAVAK I FENOTIPSKA PLASTIČNOST KROZ DVije GENERACIJE U SLATKOVODNOG PUŽA *Planorbarius corneus* L. IZLOŽENOG HIPEROSMOTSKIM OTOPINAMA

N. Mažuran, V. Hršak, G. Kovačević

Zoologiski zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (goran.kovacevic@biol.pmf.hr)

Hiperomsotske otopine kalcij klorida i kalcij bromida koje se obilato koriste u naftnoj industriji mogu biti izvor zagađenja voda u područjima proizvodnje nafte i plina. U ovom radu istraživali smo može li puž *Planorbarius corneus* L. prethodno kronično izložen toksičnim koncentracijama ovih kemikalija obnoviti plodnost i rast u čistoj vodi. Također smo ispitali može li se inducirati povećana otpornost u F1 generaciji nakon kronične izloženosti tim kemikalijama roditelja i jaja. Ispitivanje sposobnosti oporavka pokazalo je veliki kompenzacijski potencijal puževa da značajno obnove razmnožavanje (do 17 puta više) i rast

(do 10 puta više) u odnosu na vrijeme izloženosti kemikalijama. U ispitivanju otpornosti opazili smo povećanu otpornost u F1 generaciji puževa u hiperosmotskim otopinama kalcij klorida. U otopinama koje su sadržavale bromid nije bilo značajnog poboljšanja razmnožavanja. Povećana otpornost vjerojatno je bila povezana s preusmjerenjem resursa s rasta i razmnožavanja na održavanje i preživljavanje. Rezultati ukazuju da se populacija puža *Planorbarius corneus* L. može oporaviti i nadomjestiti reproduktivne gubitke u slučaju privremenog zagađenja hiperosmotskim otopinama. Ispitivanje povećanja otpornosti ukazuje da ovakvo zagađenje može utjecati na veličinu populacije u staništima stalno zagađenim ovim otopinama.

Ključne riječi: kronična izloženost, hiperosmotske soli, kalcij klorid i kalcij bromid, aklimatizacija F1 podmlatka, plodnost, rast

FITNESS RECOVERY AND TWO-GENERATION PHENOTYPIC PLASTICITY IN THE FRESHWATER SNAIL *PLANORBARIUS CORNEUS* L. EXPOSED TO HYPEROSMOTIC SOLUTIONS

N. Mažuran, V. Hršak, G. Kovačević

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (goran.kovacevic@biol.pmf.hr)

Hyperosmotic solutions of calcium chloride and calcium bromide, extensively used in the oil industry, can be a source of aquatic pollution in oil and gas extraction areas. In the present study, we investigated whether the freshwater snail *Planorbarius corneus* L., previously chronically exposed to toxic concentrations of these chemicals, can recover fecundity and growth in clean water. We also examined if a higher tolerance could be induced in F1 offspring after parental and developmental chronic exposure to the chemicals. The fitness-recovery study showed a high compensatory potential of the snails to significantly recover fitness through increased reproduction which was up to 17 times higher and growth (up to 10 times higher) than during chemical exposure. In the tolerance study, we observed increased tolerance in F1 offspring in hyperosmotic solutions of calcium chloride. However, there was no significant improvement of reproduction performance in bromide-containing solutions. Increased tolerance was probably associated with a redirection of resources from growth and reproduction to maintenance and survival. The results suggested that the *P. corneus* population can recover fitness and compensate for reproductive losses in the case of temporary pollution with hyperosmotic solutions. The tolerance study results suggested that permanently polluted habitats could have an impact on the population size.

Keywords: chronic exposure, hyperosmotic salts, calcium chloride and calcium bromide, F1 offspring acclimation, fecundity, growth

P-70

APSORPCIJA KALCIJA U SLATKOVODNOG PUŽA *Planorbarius corneus* L. IZ VANJSKOG MEDIJA

N. Mažuran, G. Kovačević

Zoologiski zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (goran.kovacevic@biol.pmf.hr)

Sadržaj kalcija u vodi od životne je važnosti za slatkovodne puževe jer je povezan s brzinom rasta, uspjehom oplodnje jaja, obimom i brzinom razmnožavanja i rastom kućice. U ovom radu uspoređena je apsorpcija kalcija iz vanjskog medija (vodovodne vode) u dvije grupe slatkovodnog puža *Planorbarius corneus* L.: kontrolnih puževa stalno držanih u vodovodnoj vodi i pokusnih puževa izloženih otopinama visokih koncentracija kalcija (214 – 2137 mg/L) tijekom šest tjedana prije mjerjenja. Rezultati su pokazali veću apsorpciju u kontrolnih puževa (0.8 mg Ca²⁺ po pužu/danu), nego u pokusnih puževa (0.3 mg Ca²⁺ po pužu/danu), $p < 0.0001$. Mjerjenje Ca²⁺ u kućicama i tkivima pokazalo je viši sadržaj kalcija u pokusnih, nego u kontrolnih puževa, i u kućicama ($p < 0.02$) i u tkivima ($p < 0.05$). Niži omjer između kućica i tkiva i manji gubitak žarenjem pokazali su da su pokusni puževi pohranili 1.5 puta više kalcija u tkivima od kontrolnih. Suhe prazne kućice kontrolnih puževa iznosile su 27% od ukupne tjelesne mase, a u pokusnih puževa masa kućica bila je 30% veća, odnosno 34% ukupne mase puža. Rezultati ukazuju da je niža apsorpcija u pokusnih puževa bila prouzročena prije akumuliranim velikom količinom kalcija u tkivima i kućicama.

Ključne riječi: apsorpcija kalcija, sadržaj kalcija, učinak vanjske visoke koncentracije

CALCIUM UPTAKE BY FRESHWATER SNAIL *Planorbarius corneus* L. FROM THE EXTERNAL MEDIUM

N. Mažuran, G. Kovačević

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (goran.kovacevic@biol.pmf.hr)

Calcium content of water is of fundamental importance for freshwater snails since it is correlated with growth rates, egg fertility, fecundity and reproductive rate and shell growth. In this study calcium uptake from the external medium (tap water) in two groups of freshwater snail *Planorbarius corneus* L. was compared: control snails permanently maintained in tap water, and experimental snails exposed to solutions with high calcium concentration (214 – 2137 mg/L) for six weeks before the measurements. The results showed higher uptake in control snails (0.8 mg Ca²⁺ per snail/day) than in experimental snails (0.3 mg Ca²⁺ per snail per day), $p < 0.0001$. Measurements of Ca²⁺ in shells and tissues showed a higher calcium content in experimental snails than in control snails, both in the shells ($p < 0.02$) and in the tissue ($p < 0.05$). Lower shell/tissue ratio and lower mass loss by ashing showed that experimental snails stored 1.5 times more Ca²⁺ in soft tissues compared with control snails. Empty dry shells of the control snails accounted for 27% of the whole body mass, and in the experimental snails shell mass was 30% heavier or 34% of the body mass. The results suggested that the lower uptake by experimental snails was caused by previously accumulated high quantity of calcium in shells and soft tissues.

Keywords: calcium uptake, calcium content, external high concentration effect

P-71

ECOTOXICITY AND CYTOTOXICITY OF FUNCTIONALIZED NANOCELLULOSE

S. Novak¹, V. Kononenko¹, V. Perc¹, M. Hočevar², V. Kokol³, V. Vivod³, D. Drobne¹

¹Department of Biology, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Večna pot 111, 1000 Ljubljana, Slovenia (sara.novak@bf.uni-lj.si), ²Institute of Metals and Technology (IMT), Lepi pot 11, 1000 Ljubljana, Slovenia,³Faculty of Mechanical Engineering, University of Maribor, Smetanova ulica 17, 2000 Maribor, Slovenia

The aim of the study was to evaluate the differences in toxicity of cellulose nanocrystals (CNC) and cellulose nanofibrils (CNF) after their oxidation (CNC/CNF-ox) and amination (CNC/CNF-ox-amino). Ecotoxicity of all six cellulose materials and functional amine was tested with acute toxicity tests with *Daphnia magna* according to ISO standard 16197:2014. Tested concentrations were between 1 and 20 mg/L, additionally to two environmentally irrelevant concentrations (50 and 100 mg/L). After the exposure the adsorption of CNFs on animal body surface was observed with scanning electron microscopy (SEM). Cytotoxicity was tested on A549 human lung cells by three different cytotoxicity assays (Resazurin assay, Coomassie Blue assay, Neutral Red Uptake assay). Among all tested CNF suspensions, CNF-ox-amino and CNC-ox-amino showed most pronounced effect on *D. magna* immobilization. Clusters of particles were observed on animal body surface after the exposure to amino particles, while there was no material present after CNC-ox and CNF-ox exposure. Cytotoxicity results on A549 cells showed only small cytotoxic effects of CNC-ox-amino, CNF and CNF-ox-amino, where cytotoxicity occurred only at concentrations \geq 50 mg/L. All other tested materials were not cytotoxic also at the highest tested concentration (100 mg/L).

Keywords: *Daphnia magna*, nanocellulose, ecotoxicity, cytotoxicity

P-72

BIOASSIMILATION AND EFFECTS OF MICROPLASTIC ON VIABILITY OF *Tetrahymena thermophila*

V. Perc, S. Novak, V. Kononenko, S. Michelini, D. Drobne

Department of Biology, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Večna pot 111, 1000 Ljubljana, Slovenia (valentina.perc@bf.uni-lj.si)

The protozoan *Tetrahymena* sp. is a primary consumer in the freshwater food chain and have the ability to ingest microplastic particles and transfer them to the higher trophic levels. The accumulation of plastic particles in the digestive tract can cause physical damage, affect metabolism, stimulate inflammatory responses, and disrupt the immune system. The aim of our study was to investigate the toxicity and bioassimilation of two different microplastic particles, 5 μ m PET and 44 μ m HDPE, on the model organism *Tetrahymena thermophila*. The microplastic particles were provided by the partners of the EU PlasticsFate project and were synthesised without additives. The assays were performed based on the recently accepted ISO standard (ISO 4988:2022). *T. thermophila* was exposed to selected concentrations of microplastics for 24 hours. After the exposure, cell viability was measured by resazurin assay, LDH assay, and ATP assay. The uptake of the particles by test organism was observed using light microscopy after 4h and 24h of exposure. Exposure of *T. thermophila* to both forms of microplastics had no statistically significant effects on organism metabolic activity and ATP levels, also plasma membrane was not damaged. Micrographs revealed that smaller HDPE particles (5 μ m) were ingested by *Tetrahymena* sp. while larger PET particles (44 μ m) were not

present in digestive vacuoles of exposed organisms. Ingested and non-ingested microplastic particles did not cause any observable toxic effects on *T. thermophila*.

Keywords: *Tetrahymena thermophila*, microplastic particles, bioassimilation, viability

P-73

TRANSCRIPTOME CHANGES INDUCED BY LOW-DOSE AND LONG-TERM EXPOSURE TO DEHP IN HUMAN GRANULOSA CELLS

D. Samardžija Nenadov, K. Pogrmić-Majkić, B. Tešić, N. Andrić

University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Biology and Ecology, Trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Serbia

Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) is an endocrine disruptor found in different human body fluids at nM concentrations, including follicular. Numerous studies demonstrate its harmful effects on granulosa cells' steroidogenesis in animals. However, the effects of long-term exposure to low doses of DEHP on human granulosa cells are not evaluated. The aim of this study was to investigate the in vitro effects of long-term exposure to low doses of DEHP on transcriptomic profile in human granulosa cells, HGrC1. The cells were exposed in the culture flasks to 50 nM and 250 nM DEHP for 7 days and afterwards seeded in the plates and stimulated with forskolin (FOR; 25 µM) for 48 h. RNA sequencing results showed that 50 nM DEHP deregulated 24 genes in basal and 33 genes in FOR-stimulated conditions. 250 nM DEHP deregulated 15 genes in basal and 25 genes in FOR-stimulated conditions. Integrated analysis of transcriptome changes revealed that catecholamine and steroid metabolic process could be DEHP targets in unstimulated cells, whereas apoptotic and cellular protein and catecholamine metabolic processes could be DEHP targets in FOR-stimulated HGrC1. This study showed that in vitro low-dose and long-term exposure to DEHP can alter the function of human granulosa cells. This can provide more relevant data on the effect of DEHP on human female reproduction in real-life exposure scenario. Funding: Science Fund of the Republic of Serbia, program PROMIS, project DETOX, grant number 6062573.

Keywords: DEHP, granulosa cells, transcriptome analysis

P-74

AN EMBRIONIC DI(2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE (DEHP) EXPOSURE DISTURBS REPRODUCTION IN ADULT FEMALE ZEBRAFISH

B. Tešić, S. Fa Nedeljković, K. Pogrmić-Majkić, D. Samardžija Nenadov, B. Stanić, D. Kokai, N. Andrić

University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Biology and Ecology, Trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Serbia

Di(2-Ethylhexyl) Phthalate (DEHP) is ubiquitous synthetic chemical and endocrine disruptor, extensively used as plasticizer in many products. Most studies investigate effects of developmental or adult life chemical exposure with few of them addressing developmental origins of adult disease. Our study aims to investigate the effects of DEHP exposure during

embryogenesis on the development and function of the reproductive system in adult female zebrafish. Zebrafish embryos were treated with DEHP (0, 10-8 M, 10-7 M, 10-6 M) from 5 h post fertilization until 5 days post fertilization and then allowed to mature with no additional treatment. Fertility and fecundity were analyzed by counting fertilized and unfertilized eggs. Gonadosomatic index (GSI) was calculated as ratio of ovaries weight and body weight. qPCR was used for the analysis of relative gene expression and ELISA was used to determine hormone levels. Results showed a significant reduction in number of spawned eggs, GSI and blood estradiol level in DEHP treated groups. Gene expression analysis revealed that DEHP inhibited expression of fshr, lhr, esr1, esr2a, esr2b (gonadotropin and estrogen receptors) genes, but had no effect on genes controlling steroidogenesis and germ cells in the ovaries. This study showed that embryonic DEHP exposure can impair reproduction in adult female zebrafish. Funding: Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Grant No. 451-03-68/2022-14/200125)

Keywords: DEHP, zebrafish, toxicology, reproduction, endocrine disruptors

P-75

ISPITIVANJE AKUTNE I KRONIČNE TOKSIČNOSTI PESTICIDA – ŠTO SMO NAUČILI I ZAŠTO JE OBOJE POTREBNO

M. Velki¹, C. Lackmann², A. Šimić¹, S. Ečimović¹, T. B. Seiler³, H. Hollert²

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (mvelki@biologija.unios.hr, antonio.simic@biologija.unios.hr, sandra@biologija.unios.hr),

²Department of Evolutionary Ecology and Environmental Toxicology, Goethe University Frankfurt, Frankfurt/Main, Njemačka (lackmann@bio.uni-frankfurt.de, hollert@bio.uni-frankfurt.de), ³Ruhr District Institute of Hygiene, Rotthauer Str. 21, 45879 Gelsenkirchen, Njemačka (t.seiler@hyg.de)

Sve češće uočena izloženost pesticidima u okolišu ukazuje na potrebu procjene štetnih učinaka kako bi se razumjeli mehanizmi i umanjili negativni utjecaji. Istraživanja pokazuju da preporuka EU propisa na procjenu učinaka aktivnog sastojka, umjesto komercijalnog pripravka, može podcijeniti rizike i učinke izloženosti pesticidima na okoliš. Nadalje, važno je utvrditi treba li koristiti akutne i/ili kronične testove kako bi se precizno predvidjela toksičnost jer pesticid koji ne pokazuje akutne učinke i dalje bi mogao pokazati dugoročnu toksičnost. U ovom istraživanju testirano je djelovanje četiri komercijalna pripravka pesticida i njihovih aktivnih tvari, od čega su dva insekticida i dva herbicida. Akutna i kronična toksičnost na gujavice (*Eisenia andrei*) testirana je praćenjem mortaliteta, promjena u ponašanju (izbjegavanje), te mjerjenjem različitih biomarkera i uspješnosti razmnožavanja. Usporedba akutne toksičnosti aktivnog sastojka s akutnom toksičnosti komercijalnog pripravka pokazala je nižu toksičnost aktivnog sastojka. Učinci uočeni na substaničnoj razini, zajedno s promjenama u ponašanju i reprodukciji (broju kokona), ukazuju na potencijalne štetne učinke istraživanih pesticida na gujavice u okolišu. Dobiveni rezultati upućuju na potrebu sveobuhvatnog ispitivanja toksičnosti pesticida uključujući istraživanje i komercijalnih pripravaka, kao i primjenu kratkoročnih i dugoročnih testova.

Ključne riječi: pesticidi, testiranje toksičnosti, aktivna tvar, komercijalni pripravak, biomarkeri

ACUTE AND CHRONIC PESTICIDE TOXICITY TESTING – LESSONS LEARNED AND NECESSITY OF BOTH

M. Velki¹, C. Lackmann², A. Šimić¹, S. Ečimović¹, T. B. Seiler³, H. Hollert²

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (mvelki@biologija.unios.hr, antonio.simic@biologija.unios.hr, sandra@biologija.unios.hr), ²Department of Evolutionary Ecology and Environmental Toxicology, Goethe University Frankfurt, Biologicum, Campus Riedberg, Max-von-Laue-Str. 13 60438 Frankfurt am Main, Germany (lackmann@bio.uni-frankfurt.de, hollert@bio.uni-frankfurt.de), ³Ruhr District Institute of Hygiene, Rotthauer Str. 21, 45879 Gelsenkirchen, Germany (t.seiler@hyg.de)

Increasingly observed exposure of pesticides on the environment points to a need to assess adverse effects in order to understand the mechanisms and diminish the negative influences. Research suggests that the recommendation of EU regulations on assessment of the active ingredient instead of the commercial preparation might underestimate the risks and effects of pesticide exposures on the environment. Another important point is whether to use acute and/or chronic tests in order to accurately predict toxicity because pesticide showing no acute effects could still exhibit long-term toxicity. Effects of four commercial preparations of pesticides, two insecticides and two herbicides, and their active ingredients were assessed. Both acute and chronic toxicity to earthworm (*Eisenia andrei*) was evaluated by assessing mortality, avoidance behaviour, different biomarkers and reproductive success. Comparison of acute toxicity of active ingredient to commercial preparation showed lower toxicity of active ingredient only. Effects on subcellular endpoints, together with changes in behaviour and cocoon production, indicate the potential adverse effects of the investigated pesticides on earthworms in the environment. The observed results point to the need of comprehensive pesticide toxicity testing including testing of commercial preparation and applying both short- and long-term tests.

Keywords: pesticides, toxicity testing, active substance, commercial preparation, biomarkers

P-76

GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJA EUROAZIJSKE VIDRE (*Lutra lutra*) U NACIONALNOM PARKU PLITVIČKA JEZERA

M. Augustinović¹ K. Hocenski², M. Petković², J. Mlinarec Novosel²

¹PRO SILVA Ltd., Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²Oikon Ltd.-Institute of applied ecology, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Hrvatska (khocenski@oikon.hr)

Pouzdane informacije o statusu i trendovima populacije ključne su za poboljšanje prakse očuvanja i upravljanja. Euroazijska vidra je pretrpjela dramatičan pad u Europi, međutim, važne informacije, kao što su genetička struktura i veličina populacije određena DNA analizom još uvijek nedostaju u većini područja Europe. Ukupno 100 neinvazivnih uzoraka porijeklom od vidre sakupljeno je u periodu od veljače do travnja 2021. godine na području Nacionalnog parka „Plitvička jezera“ i podvrgnuto DNA analizi. Na temelju provedenih DNA analiza identificirano je ukupno 22 različitih mikrosatelitskih potpunih profila što ukazuje na postojanje najmanje 22 jedinke u analiziranom uzorku. Prosječna uočena heterozigotnost iznosila je 0,308, a prosječna očekivana heterozigotnost 0,434. Odstupanje od Hardy-Weinberg genetičke ravnoteže uočeno je za 4 od 9 mikrosatelitskih lokusa. Značajno visoka vrijednost križanja među blisko srodnim jedinkama ($Fis=0,230$) ukazuje na genetičku uniformnost populacije koja može biti posljedica parenja među jedinkama u bliskom srodstvu. Detaljna analiza je pokazala da između 15 parova postoji drugi stupanj srodstva. Značajno niska heterozigotnost (0,308) populacija vidre u Hrvatskoj, utvrđena u ovom istraživanju, u skladu je s drugim analiziranim populacijama u Europi. Zaključno, rezultati ovog istraživanja ukazuju na genetičku eroziju populacija vidri, te na potrebu za kontinuiranim monitoringom.

Ključne riječi: populacija, vidra, mikrosateliti, neinvazivni uzorci, Plitvička jezera

POPULATION GENETIC STRUCTURE OF THE EURASIAN OTTER (*Lutra lutra*) IN THE PLITVICE LAKES NATIONAL PARK

M. Augustinović¹ K. Hocenski², M. Petković², J. Mlinarec Novosel²

¹PRO SILVA Ltd., Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Croatia, ²Oikon Ltd.-Institute of applied ecology, Trg senjskih uskoka 1-2, 10000 Zagreb, Croatia (khocenski@oikon.hr)

Reliable information on the status and trends of the population is key to improving conservation and management practices. The Eurasian otter has suffered a dramatic decline in Europe, however, important information such as the genetic structure and population size determined by DNA analysis is still lacking in most parts of Europe. A total of 100 non-invasive samples originating from otter were collected in the period from February to April 2021 in the Plitvice Lakes National Park and subjected to DNA analysis. Based on the performed DNA analyzes, a total of 22 different complete microsatellite profiles were identified, which indicates the existence of at least 22 individuals in the analyzed sample. The mean observed heterozygosity was 0.308 and the mean expected heterozygosity was 0.434. Deviation from Hardy-Weinberg genetic equilibrium was observed for 4 of 9 microsatellite loci. A significantly high value of crossbreeding among closely related individuals ($Fis = 0.230$) indicates the genetic uniformity of

the population very likely due to mating among closely related individuals. A detailed analysis showed that there is a second degree of kinship between the 15 couples. Significantly low heterozygosity (0.308) of otter populations in Croatia, found in this study, is consistent with other analyzed populations in Europe. In conclusion, the results of this research indicate the genetic erosion of otter populations, and the need for continuous monitoring.

Key words: population, otter, microsatellites, noninvasive specimens, Plitvice Lakes

P-77

USLUGE EKOSUSTAVA KAO ALAT U SLUŽBI OČUVANJA PRIRODE

L. Buban, M. Škunca, I. Tomašin, M. Žiljak

Geonatura d.o.o. za stručne poslove zaštite prirode, Fallerovo šetalište 22, 10000 Zagreb, Hrvatska (lbuban@geonatura.hr)

Tijekom proteklih desetljeća koncept usluga ekosustava pronašao je svoj put u čitav niz područja, poput zaštite prirode, održivog upravljanja prirodnim resursima, prostornog planiranja, upravljanja rizicima, zdravstva te odlučivanja i donošenja politika na lokalnim, regionalnim i globalnim razinama. Mogućnosti primjene koncepta moguće bi se tako ugrubo podijeliti u četiri grupe: komunikaciju (s lokalnom zajednicom i širom javnošću te različitim dionicicima), upravljanje (npr. prilikom upravljanja nekim zaštićenim područjem), financiranje određenih aktivnosti (kroz uspostavu, odnosno kroz sudjelovanje u tržištima ili shemama plaćanja za usluge ekosustava) te istraživanje i/ili edukaciju. Kroz projekte provedene na području Dinare te Maksimira i Savice (dio projekta „Dinara back to LIFE“, odnosno „Gradski prozori u prirodu“) dan je uvid u usluge koje ekosustavi projektnih područja pružaju, ali i moguće korištenje dobivenih rezultata. Na primjeru Maksimira i Savice identificirani su sukobi u korištenju prostora koji utječu na očuvanje prirodnih vrijednosti ovih područja, dok je na primjeru Dinare dan prijedlog za analizu dva scenarija: s i bez provedbe planirane projektne aktivnosti. U skladu s navedenim, donesene su preporuke za ublažavanje ili izbjegavanje potencijalnih sukoba kako bi se osiguralo održivo upravljanje projektnim područjima.

Ključne riječi: Dinara, Maksimir, Savica, dobrobiti prirode, očuvanje ekosustava, zaštićeno područje

ECOSYSTEM SERVICES AS A TOOL IN NATURE PROTECTION

L. Buban, M. Škunca, I. Tomašin, M. Žiljak

Geonatura Ltd. Consultancy in Nature Protection, Fallerovo šetalište 22, 10000 Zagreb, Croatia (lbuban@geonatura.hr)

Over the last decades ecosystem services concept has found its way in a wide range of use: e.g., nature protection, sustainable management of natural resources, spatial planning, risk management, health, as well as decision-making process on local, regional and global scale. The use of the concept can be roughly divided into four groups: communication (with local community, general public and stakeholders), managing (e.g., management of protected areas), financing of various activities (by establishing or participating in markets or payment schemes for ecosystem services) and research and/or education. Through projects implemented on

Dinara Mountain and in Maksimir and Savica (part of the projects "Dinara back to LIFE" and "City Windows in Nature", respectively) an insight is given into the services provided by ecosystems of the project areas, as well as into the possible use of obtained results. On the example of Maksimir and Savica land use conflicts were identified, which affect the conservation of natural values of these areas; while on the example of Dinara a proposal was given for the analysis of two scenarios: with and without the implementation of planned project activity. Recommendations have been made to mitigate or avoid potential conflicts in order to ensure sustainable management of project areas.

Keywords: Dinara, Maksimir, Savica, nature benefits, ecosystem conservation, protected area

P-78

PRVI EKSPERIMENT OBNOVE NASELJA ENDEMSKE ALGE *Fucus virsoides* NA ZAPADNOJ OBALI ISTRE

E. Gluščić, A. Bilajac, Lj. Iveša

Institut „Ruđer Bošković“ - Centar za istraživanje mora Rovinj, Trg brodogradilišta 5, 52210 Rovinj, Hrvatska (eglusc@irb.hr)

Fucus virsoides J. Agardh, (hrv. Jadranski bračić) je endemska vrsta velike smeđe alge koja naseljava zonu plime i oseke te predstavlja ekvivalent atlantskih i pacifičkih fukusa (eng. Bladderwracks) u Jadranu. Iako je vrsta nekad bila veoma brojna i rasprostranjena posebno u sjevernom Jadranu, danas se može smatrati ekološki izumrlom pošto su jedine preostale populacije izrazito male i više ne formiraju pojaseve u zoni plime i oseke, što onemogućava pružanje povezanih usluga ekosustava. Za potrebe ponovne uspostave već izgubljenih, kao i ojačavanja preostalih malih naselja, razvili smo jednostavnu, ali učinkovitu metodu ex situ kultivacije jadranskog bračića na kamenim pločicama. Tijekom procesa, pratili smo rast mladica te redovno čistili obraštaj. Tako uzgojene alge (n=4) smo zasadili na 2 lokacije u blizini grada Rovinja, gdje su prijašnje populacije jadranskog bračića nestale tijekom prethodnih 10 godina te smo ih zaštitili kavezima protiv brstioca. 7 mjeseci kasnije, već razvijeni talusi su uspješno preživjeli te gotovo pokrili cijelu površinu pločica. Međutim, još je potrebno utvrditi sposobnost preživljavanja zasađenih primjeraka u sve ekstremnijim temperaturama *in situ* kao i mogućnost samostalnog širenja naselja. Slični eksperimenti na manjoj skali su planirani i u budućnosti, s ciljem stvaranja novih naselja koja imaju potencijal postepeno i polako obnoviti izgubljene pojaseve jadranskog bračića, bar na lokalnoj razini.

Ključne riječi: *Fucus virsoides*, ex situ kultivacija, preživljavanje, sjeverni Jadran

FIRST RESTORATION EXPERIMENT FOR ENDEMATIC *Fucus virsoides* ON WESTERN ISTRIAN COAST

E. Gluščić, A. Bilajac, Lj. Iveša

Ruđer Bošković Institute, Center for Marine Research, 52210 Rovinj, Croatia (eglusc@irb.hr)

Fucus virsoides J. Agardh is an endemic species of intertidal, canopy forming algae and is the equivalent of the much larger „Bladderwracks“ of the Atlantic and Pacific coasts. While this species was very common in the past, especially in the northern Adriatic, nowadays it can be considered ecologically extinct due to extremely small and isolated remnant populations that

can no longer form large, continuous belts and thus cannot provide the associated ecosystem services. We have developed a very simple, yet seemingly effective method for ex situ cultivation that is very useful for restoring lost, and the enhancement of remnant populations. During the cultivation, the growth of recruits was monitored and fouling was cleaned regularly. The ex-situ cultivated *F. virsoides* algae, grown on cut 10x10cm stones (n=4), protected by anti-grazer cages, were planted in two locations where the species had disappeared in the last 10 years. 7 months after the planting, the Fucus thalli survived successfully, completely covering all or most of the available space on the stones. However, it remains to be seen whether the Fucus thalli will survive the increasingly extreme temperatures *in situ* and successfully spread on their own. These small-scale experiments will continue in the future in an attempt to form new Fucus patches, that could potentially support the slow process of restoring the lost Fucus belts, at least on the local scale.

Keywords: *Fucus virsoides*, ex situ cultivation, survival, northern Adriatic

P-79

PREKOMORSKI PUTNICI – DOPRINOS POZNAVANJU GRABLJIVICA JADRANSKOG SEOBENOG PUTA

B. Horvatić, E. Patčev, M. Maslać Mikulec

Geonatura d.o.o., Fallerovo šetalište 22, 10000 Zagreb, Hrvatska (bhorvatic@geonatura.hr)

Jadranski seobeni put jedan je od važnijih seobenih puteva za europske populacije ptica, točnije, za ptice koje sele iz istočne Europe do sjeverne subsaharske Afrike i nazad. Iako važan seobeni put, o njemu ne postoji mnogo podataka te sustavnih istraživanja, u usporedbi s drugim seobenim putevima europskih populacija ptica. U sklopu istraživanja prije i poslije izgradnja vjetroelektrana, kroz godinu se provodi minimalno 72 sata na stalnim točkama promatranja (eng. vantage points) gdje se bilježe preleti grabljivica i lešinara. Kako bismo doprinijeli poznavanju seobe grabljivica iznad Hrvatske, odnosno, njihovom korištenju Jadranskog seobenog puta, analizirani su podaci iz interne baze podataka Geonature sa 14 takvih istraživanja, na ukupno 12 lokacija unutar 5 županija u mediteranskoj bioregiji, provedena od 2016. do 2022. godine. Ukupno smo zabilježili 481 prelet koji je klasificiran kao seoba. Tijekom jesenske seobe zabilježeno je 11 vrsta sa 192 preleta, dok je tijekom proljetne zabilježeno 10 vrsta sa 289 preleta. Najčešće zabilježena vrsta tijekom proljetne seobe jest eja močvarica (121 prelet), dok je to tijekom jesenske škanjac osaš (61 prelet). S obzirom na mali broj podataka dobivenih sustavnim istraživanjem grabljivica koje koriste Jadranski seobeni put, ovo predstavlja veliki doprinos poznavanju njihovih preletničkih populacija u Hrvatskoj, koje obogačuju našu biološku raznolikost.

Ključne riječi: eja močvarica, škanjac osaš, mediteranska bioreagija, proljetna seoba, jesenska seoba, migracija

OVERSEAS TRAVELERS - CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF RAPTORS ON THE ADRIATIC FLYWAY

B. Horvatić, E. Patčev, M. Maslać Mikulec

Geonatura d.o.o., Fallerovo šetalište 22, 10000 Zagreb, Croatia (bhorvatic@geonatura.hr)

The Adriatic Flyway is one of the most important migration routes for European bird populations, that is for birds migrating from Eastern Europe to northern sub-Saharan Africa and back. Although an important migratory route, there is little data and systematic research on it, compared to other migratory routes of European bird populations. As part of the research before and after the construction of wind farms, a minimum of 72 hours are spent throughout the year at vantage points where flights of raptors are recorded. In order to contribute to the knowledge of the migration of raptors over Croatia, i.e. their use of the Adriatic Flyway, data from the internal Geonatura database were analyzed with 14 such surveys at a total of 12 locations within 5 counties in the Mediterranean bioregion conducted from 2016 to 2022. We recorded a total of 481 overflights classified as migration. During the autumn migration, 11 species with a total of 192 overflights were recorded, while during the spring, 10 species with a total of 289 overflights were recorded. The most recorded species during spring migration is the Western Marsh-harrier (121 overflights) and during autumn the European Honey-buzzard (61 overflights). Given the small amount of data obtained from systematic research on raptors that use the Adriatic Flyway, this is a significant contribution to the knowledge of their migratory populations in Croatia, which enrich our biodiversity.

Keywords: Western Marsh-harrier, European Honey-buzzard, Mediterranean bioregion, spring migration, autumn migration, migration

P-80

MOBILNA APLIKACIJA "INVAZIVNE VRSTE U HRVATSKOJ"

P. Kutleša, M. Cigrovski Mustafić, S. Slivar

Zavod za zaštitu okoliša i prirode, Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja, Radnička cesta 80/7, 10000 Zagreb, Hrvatska (petra.kutlesa@mingor.hr)

Zavod za zaštitu okoliša i prirode Ministarstva gospodarstva i održivog razvoja izradio je mobilnu aplikaciju "Invasivne vrste u Hrvatskoj" u sklopu projekta Uspostava nacionalnog sustava za praćenje invazivnih stranih vrsta (eng. IAS). Projekt je financiran kroz Operativni program Konkurentnost i kohezija 2014. - 2020., a provodio se od 2017. do 2021. godine. Glavna svrha aplikacije je osvijestiti javnost o invazivnim stranim vrstama, potaknuti ih da prikupljaju podatke o IAS i tako pridonesu sprječavanju unošenja novih IAS. Dugoročna namjena aplikacije je razviti mrežu istraživača-amatera koji će dojavljivati nalaze stranih i invazivnih stranih vrsta i tako povećati znanje o IAS u Hrvatskoj kroz građani za znanost pristup. Budući da je tema invazivnih stranih vrsta, osim sektoru zaštite prirode, važna i drugim sektorima koji se u svom svakodnevnom radu susreću s invazivnim stranim vrstama, aplikacija je namijenjena i svima njima kao i djelatnicima javnih ustanova za upravljanje zaštićenim prirodnim vrijednostima i znanstvenim institucijama. Do sada je kroz aplikaciju prijavljeno oko 700 nalaza većinom stranih vrsta biljaka. Također je uspostavljen i nacionalni informacijski sustav o stranim vrstama putem kojeg su prikupljeni podaci svima javno dostupni na poveznici www.invasivnevrste.hr. Ovim posterom ćemo prikazati rezultate korištenja mobilne aplikacije u prvoj godini i pol njezina rada.

Ključne riječi: zaštita prirode, građani za znanost, strane biljke, prikupljanje podataka, informacijski sustav

MOBILE APPLICATION „INVAZIVNE VRSTE U HRVATSKOJ”

P. Kutleša, M. Cigrovski Mustafić, S. Slivar

State Institute for Nature Protection, Ministry of Economy and Sustainable Development,
Radnička cesta 80/7, 10000 Zagreb, Croatia (petra.kutlesa@mingor.hr)

As a part of the project “Establishment of the National Monitoring System for Invasive Alien Species (IAS)”, the Institute for Environment and Nature of the Ministry of Economy and Sustainable Development has developed a mobile application „Invasivne vrste u Hrvatskoj”. The project was financed through EU’s Operational Programme Competitiveness and Cohesion 2014 – 2020 (OPCC) from 2017 to 2021. The aim of the application is to raise the public awareness on IAS, to encourage public participation in data collection, and contribute to prevention of introduction on new IAS. The long-term purpose of the application is to develop a network of amateur researchers who will report field records of alien species and IAS, and to produce new knowledge on IAS in Croatia through citizen science. The IAS issue is important not only to the nature protection sector but also to other sectors that frequently deal with alien species. This application is interesting to all these sectors, as well as to public institutions for management of protected natural areas and scientific institutions. So far, we have received around 700 records of mostly alien plants, all through the application. A national information system for alien species is also in place, through which all collected data are publicly available on website www.invasivnevrste.hr. Here we provide a detailed overview of the results of using this app in the first year and a half of its use.

Keywords: nature protection, citizen science, alien plants, data collection, information system

P-81

PRVI NALAZ INVAZIVNIH VRSTA *Corbicula fluminea* (O. F. MÜLLER, 1774) I *Sinanodonta woodiana* (LEA, 1834) U RIJECI MIRNI (ISTRA, HRVATSKA)

J. Lajtner¹, N. Riccardi², M. Urbanska³

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, ²CNR - Water Research Institute, Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza, Italija, ³Institute of Zoology, Poznań University of Life Sciences, University of Life Sciences, Pul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań, Polska (jasna.lajtner@biol.pmf.hr)

Malakološka istraživanja slatkvodnih školjkaša u rijeci Mirni i njezinim pritocima provedena su u svibnju 2022. u okviru COST akcije. Cilj istraživanja je bio procijeniti sastav zajednice slatkvodnih školjkaša te utvrditi razlike u odnosu na ranija istraživanja. Školjkaši su traženi ručno ili ronjenjem na dah na četiri lokaliteta. Svi prikupljeni primjerici su izmjereni, fotografirani i nakon toga su nativne vrste vraćene u rijeku. Osim nativnih vrsta *Unio elongatulus* i *Microcondylaea bonellii*, čije vrijednosti se nisu značajnije mijenjale u odnosu na ranija istraživanja, zabilježene su i dvije invazivne vrste, *Corbicula fluminea* i *Sinanodonta woodiana*. Obje vrste su pronađene na najnizvodnije uzorkovanom lokalitetu u rijeci Mirni. Stanište je karakterizirano kamenjem, krupnim šljunkom, pijeskom i jakom strujom vode što u potpunosti odgovara vrsti *C. fluminea*. Na temelju velike učestalosti mladih jedinki (duljina školjke manja od 5 mm), možemo zaključiti da je populacija u fazi eksponencijalnog rasta. Iznenadujuće je otkriće odrasle jedinke *S. woodiana* (duljina školjke 106 cm, starost oko 6 godina) u staništu s

karakteristikama koje se smatraju neprikladnim za ovu vrstu. Budućim istraživanjima pokušat će se utvrditi na koji način i od kuda su se invazivne vrste proširele u rijeku Mirnu, pratit će se njihovo daljnje širenje kao i učinak na nativne vrste. Pri tome posebnu pažnju treba dati vrsti *M. bonellii* koja se prema IUCN-u nalazi u kategoriji kritično ugrožene vrste.

Ključne riječi: slatkovodni školjkaši, Bivalvia, invazivne vrste

FIRST FINDINGS OF THE INVASIVE SPECIES *Corbicula fluminea* (O. F. MÜLLER, 1774) AND *Sinanodonta woodiana* (LEA, 1834) IN THE MIRNA RIVER (ISTRIA, CROATIA)

J. Lajtner¹, N. Riccardi², M. Urbanska³

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia, ²CNR - Water Research Institute, Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza, Italy,

³Institute of Zoology, Poznań University of Life Sciences, Pul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań, Poland (jasna.lajtner@biol.pmf.hr)

Malacological research of the freshwater mussels in the river Mirna and its tributaries was conducted in May 2022 as a part of COST action. The aim of this study was to assess the composition of the mussel's assemblage and to identify differences from previous studies. Mussels were searched by hand or by snorkelling in the four sites. All collected specimens were measured, photographed and then the native species were returned to the river. In addition to the native species *Unio elongatus* and *Microcondylaea bonellii*, whose values have not changed significantly compared to previous research, two invasive species, *Corbicula fluminea* and *Sinanodonta woodiana*, have also been reported. Both species were found at the downstream site in the river Mirna. The site is characterized by stony sediment, coarse gravel, sand and strong currents of water, which fully corresponds to the species *C. fluminea*. Based on the high frequency of young individuals (shell length less than 5 mm), we can conclude that the population is in a phase of exponential growth. Surprising is the discovery of an adult *S. woodiana* (shell length 106 cm, an age of about 6 years) in a habitat with characteristics considered unsuitable for this species. Future research will need to determine the origin of these invasive species, their further spread as well as the effects on native species, especially on *M. bonellii*, which is in the category of critically endangered species according to the IUCN.

Key words: freshwater mussels, Bivalvia, invasive species

P-82

PORAST GNIJEZDEĆE POPULACIJE ORLA ŠTEKAVCA (*Haliaeetus albicilla*) U PARKU PRIRODE KOPAČKI RIT

A. Mikuška¹, T. Mikuška², V. Rožac³, M. Vereš³

¹Odjel za biologiju, Sveučilište „Josip Juraj Strossmayer“ Sveučilišta u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (amikuska@biologija.unios.hr), ²Hrvatsko društvo za zaštitu ptica i prirode, Ivana Gundulića 19a, 31000 Osijek, Hrvatska, ³Javna ustanova Park prirode Kopački Rit, Sakadaš, Kopačeve, 31327 Bilje, Hrvatska

Gniježđenje orla štekavca *Haliaeetus albicilla* u Parku prirode Kopački rit poznato je još od 19. stoljeća i traje bez prekida do danas. 1976. godine gniježđeća populacija je dosegnula svoj

minimum od 11 gnezdećih parova zbog negativnog utjecaja korištenja pesticida i proganjanja. Međutim, područje Kopačkog rita je ipak poslužio kao oaza, za opstanak preživjelih jedinki. Uspostavom zaštite ugroženih vrsta grabljivica i samog poplavnog područja, te zabranom upotrebe DDT-a, gnezdeća populacija orla štekavaca u Kopačkom ritu se počinje oporavljati krajem 20 stoljeća, te značajno rasti početkom 21 stoljeća. Danas se ona procjenjuje na 90 parova i predstavlja najgušću gnezdeću populaciju po jedinici površine ove vrste u Europi. Pri tome je gustoća gnezdećih parova porasla sa 0,062 para/km² (1976.) na 0,412 para/km² (2021.) tj. danas je 6,65 puta veća nego prije. Istovremeno, potencijalna površina pojedinog teritorija se smanjila sa 1906 ha/paru na 242 ha/paru. Raspored postojećih teritorija nam ukazuje da još uvijek postoji mesta za nove parove, ali dio novoformiranih parova zbog velike intraspecijske kompeticije napušta poplavno područje i pokušava se gnezdit u sub-optimalnim područjima.

Ključne riječi: orao štekavac, Kopački rit, populacija, porast

WHITE-TAILED EAGLE *Haliaeetus albicilla* BREEDING POPULATION INCREASE IN NATURE PARK KOPAČKI RIT

A. Mikuška¹, T. Mikuška², V. Rožac³, M. Vereš³

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (amikuska@biologija.unios.hr), ²Croatian Society for Birds and Nature Protection, Ivana Gundulića 19a, 31000 Osijek, Croatia, ³Public institution Nature park Kopački rit, Sakadaš, Kopačovo, 31327 Bilje, Croatia

Breeding of White-tailed Eagle *Haliaeetus albicilla* in Kopački rit Nature Park is known since 19th century and it is continuous until these days. Breeding population has reached its minimum of 11 pairs during 1976 due to pesticide use and persecution, but the area still served as an oasis that enabled survival of remaining individuals. With legal protection of endangered raptor species and floodplain area, as well as ban on DDT use, White-tailed Eagle breeding population has started to recover by the end of 20th century and strongly increase during 21st century. Nowadays the breeding population in Kopački rit Nature Park is estimated to 90 pairs and it represents the densest breeding population per surface area in the whole Europe. Density of breeding pairs increased from 0.062 pairs/km² (1976) to 0.412 pairs/km² (2021) and nowadays is 6.65 higher than before. At the same time potential surface area per breeding territory decreased from 1906 ha/pair to 242 ha/pair. Distribution of existing territories shows us that there is still some space left for new pairs. However, due to high intraspecific competition, part of the newly established pairs choose to leave the floodplain and breed in sub-optimal areas.

Keywords: White-tailed Eagle, Kopački rit, population, increase

P-83

DETERMINANTS OF ESCAPE BEHAVIOR IN THE URBAN HOODED CROW (*Corvus cornix*)

V. Parača^{1,2}, I. Novčić¹

¹Faculty of Biology, University of Belgrade, Studentski trg 16, 11000 Belgrade, Serbia, ²Center for Protection and Research of birds, Velje brdo 35, 81412 Podgorica, Montenegro (inovcic@bio.bg.ac.rs)

We examined escape behavior of the hooded crow (*Corvus cornix*) in an urban environment, with the goal of assessing the effect of various factors on components of escape behavior: alert distance (AD), flight initiation distance (FID), distance fled (DF), and escape method (flying vs. running/walking). The study was conducted in four parks in the center of Belgrade, Serbia, outside breeding period (winter 2020) and during breeding season (spring 2021). According to used (generalized) linear mixed models, AD was positively affected by starting distance, i.e. the distance at which we started approaching crows, as well as by the season, being significantly longer outside the breeding period. FID was longer during the breeding season, and increased with alert distance. DF was significantly influenced by escape method, with birds escaping distances over 10 m more often if used flying, whereas escape method itself was significantly influenced by FID, with birds escaping more often by flying at greater distances from approaching predator. Majority of individuals (78%) fled distances < 10 m after initiating escape, and escaped by walking or running (67%); the end point of escape in 83% of individuals was ground. This study shows that hooded crows, although being successful urban colonizers, are less prone to risk-taking during the period of reproduction, which may allow them to be more effective in taking care of their offspring.

Key words: urban environment, flight initiation distance, alert distance, distance fled, escape method

P-84

EKOLOŠKI BAZIRANO UREĐENJE GRADSKIH KRAJOBRAZA

P. Pereković, M. Kamenečki, D. Tomić Reljić

Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska
(dijetlic@gmail.com)

Metode, principi i tehnike krajobrazne arhitekture čine složeni skup postupaka koji se primjenjuju kako bi se, između ostalog, postigla ekološka održivost urbanih sredina. U tom smislu, svaki postupak uređenja otvorenih gradskih prostora može se shvatiti kao zahvat s utjecajem na okoliš, a svaku odluku prilikom oblikovanja (projektiranja, dizajniranja) otvorenih prostora kao odgovornu ekološku odluku. Metode, principi i tehnike ekološkog oblikovanja otvorenih prostora gradova su mnogobrojne. Ipak, one nisu sistematizirane, primjenjivane ili sustavno upravljane i provođene. Iz tog razloga, konvencionalni pristupi oblikovanja gradskih krajobraza mogu biti izrazito mnogo ili vrlo malo oslonjene na principe ekološkog dizajna. U radu je predstavljen sistematičan prikaz krajobraznih metoda, principa i tehnika primjenjivih u uređenju urbanih sredina koji mogu pridonijeti ekološkoj održivosti gradova. Svi su kategorizirani i opisani a njihova je selekcija bazirana na postojećim istraživanjima u području krajobrazne ekologije i krajobrazne arhitekture. Krajnji rezultat rada je izrada „check-liste“ primjenjive za analizu projekta krajobrazne arhitekture i uređenja gradskih krajobraza prema kriteriju ekološke održivosti i odgovornosti.

Ključne riječi: ekološki dizajn, krajobrazna arhitektura, gradski krajobraz

ECOLOGICALLY BASED URBAN LANDSCAPE DESIGN

P. Pereković, M. Kamenečki, D. Tomić Reljić

Methods, principles and techniques of landscape architecture form a complex set of procedures applied in order, among other things, to achieve ecological sustainability of urban areas. In this sense, every process of urban spaces design can be understood as a project with environmental impact, and every decision when designing open spaces as responsible environmental decision. Methods, principles and techniques of ecological design of open spaces of cities are numerous. However, they are not systematized, applied or systematically managed and implemented. For this reason, conventional approaches of urban landscape design may rely very much or very little on the principles of eco-design. The paper presents a systematic overview of landscape - ecological methods, principles and techniques applicable in urban planning that can contribute to the ecological sustainability of cities. Each of them is categorized and described and their selection is based on existing researches in the field of landscape architecture. The end result of the work is the development of a "check-list" applicable to the analysis of the project of landscape architecture and designing of urban landscapes according to the criteria of environmental sustainability and responsibility.

Key words: Ecological design, Landscape architecture, Urban landscape

P-85

BIORAZNOLIKOST U NESTAJANJU: KORNJAŠI (INSECTA: COLEOPTERA) GRADA ZAGREBA U ZBIRKAMA HRVATSKOG PRIRODOSLOVNOG MUZEJA

L. Ružanović¹, V. Mičetić Stanković²

¹Zoologički zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (lea.ruzanovic@biol.pmf.hr), ²Zoološki odjel, Hrvatski prirodoslovni muzej, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Hrvatska (vlatkams@hpm.hr)

Gubitak bioraznolikosti uzrokovani urbanizacijom fokus je mnogih znanstvenih istraživanja koja su većinom fokusirana na trenutno stanje. Iako su muzejske zbirke jedinstven izvor informacija o bioraznolikosti određenog područja tijekom duljeg vremenskog razdoblja i dalje se nedovoljno uključuju u istraživanja. Stoga, u sklopu ovog rada provedena je analiza utjecaja urbanizacije na kornjaše na području Grada Zagreba u posljednjih 100 godina i to s posebnim naglaskom na danas ugrožene predstavnike - saproksilne kornjaše. Ciljevi ovog istraživanja su: i) utvrditi faunu kornjaša sa recentnom nomenklaturom; ii) analizirati udio danas ugroženih vrsta; iii) geolocirati i usporediti kvantitetu i tip staništa s recentnim stanjem; iv) postaviti temelj za buduća istraživanja. Revidirani su predmeti iz dvije zbirke kornjaša Hrvatskog prirodoslovnog muzeja prikupljenih od 1891. do 1987. godine. Lokacije su uspoređene s recentnim stanjem pomoću digitalne baze podataka Corine Land Cover 1980. i 2018. te s lokacijama iz citizen science akcije o rasprostranjenosti saproksilnih kornjaša. Ukupno je zabilježeno 3750 predmeta kornjaša s utvrđenih 678 vrsta raspoređenih unutar 52 porodice. Od saproksilnih predstavnika 66 vrsta je danas ugroženo. Kornjaši su sakupljeni na 58 lokacija, a za njih 26% promijenio se sastav zemljjišnog pokrova. Rezultati ovog rada potvrđuju izrazitu urbanizaciju i predstavljaju temelj za buduća istraživanja urbane ekologije gdje neizostavan segment su i muzejske zbirke.

Ključne riječi: entomološka zbirka, muzejski predmet, ugrožena vrsta, urbana ekologija

BIODIVERSITY LOSS: BEETLES (INSECTA: COLEOPTERA) OF CITY OF ZAGREB FROM COLLECTIONS OF THE CROATIAN NATURAL HISTORY MUSEUM

L. Ružanović¹, V. Mičetić Stanković²

¹Division of Zoology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (lea.ruzanovic@biol.pmf.hr), ²Department of Zoology, Croatian Natural History Museum, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Croatia (vlatkams@hpm.hr)

Biodiversity loss due to human activity has long been the subject of scientific research, with a particular focus placed on recent anthropogenic activity. Museum collections are underused in research, even though they represent a unique source of biodiversity data for a certain area over a long period of time. This study evaluates the impact of urbanization on beetles, with particular emphasis on saproxylic representatives, in the last 100 years in the City of Zagreb. This research aimed to: i) determine the beetle fauna using recent nomenclature; ii) analyze the share of currently endangered species; iii) georeference and compare habitat type and quantity from collection creation time with the same habitat today; iv) provide the basis for future studies. We revised two beetle collections held in the Croatian Natural History Museum created from 1891 to 1987. We compared habitat types from 1980 with the ones from 2018, and also with locations of saproxylic beetles reported during a citizen science action using the Corine Land Cover digital database. In the museum collections, we found 3750 beetle specimens: 678 species from 52 families at 58 locations in the City of Zagreb, 26% of which show changes in land cover. Further, we found 66 nowadays endangered species of saproxylic representatives. Our results confirm intense urbanization and represent the basis for future research on urban ecology that utilizes museum collections.

Keywords: endangered species, entomological collection, museum object, urban ecology

P-86

KULTUROLOŠKE USLUGE EKOSUSTAVA DINARE

I. Tomašin, M. Škunca, L. Buban, M. Žiljak

Geonatura d.o.o. za stručne poslove zaštite prirode, Fallerovo šetalište 22, 10000 Zagreb, Hrvatska (itomasin@geonatura.hr)

Koncept usluga ekosustava razvijen je kako bi se lakše prepoznalo i vrednovalo sve izravne i neizravne doprinose ekosustava dobrobiti ljudi te pritom ukazalo na važnost očuvanja istih. Samo cjeloviti i očuvani ekosustavi imaju puni potencijal za pružanje (različitim) usluga ekosustava, pri čemu razlikujemo tri osnovna tipa - usluge opskrbe, usluge regulacije i podržavanja te kulturološke usluge. Dinara predstavlja područje očuvanih prirodnih vrijednosti i bogatog kulturnog i povijesnog nasljeđa te je 2021. g. zaštićena u kategoriji parka prirode. Na području Dinare, s ciljem obnove travnjaka i stvaranja društvenih preduvjeta za njihovo dugoročno održivo korištenje, Udruga BIOM i partneri od 2019. g. provode projekt „Dinara back to LIFE“. Kako bi se identificirao širok spektar usluga ekosustava koje projektno područje pruža lokalnom stanovništvu, izrađena je Studija, pri čemu je fokus stavljen na usluge koje su neraskidivo povezane s kulturnom i prirodnom baštinom ovog kraja. Rezultati studije, između ostalog, ukazuju na izrazitu važnost značajki ekosustava koje vežemo s kulturološkim uslugama,

a koje (1) doprinose razvoju znanja i kulturnoj ostavštini; (2) omogućuju edukaciju, ugodna estetska iskustva, sport i rekreaciju; (3) pružaju inspiraciju i nadahnute te osjećaj pripadnosti; (4) imaju duhovno ili simboličko značenje te intrizičnu ili 'baštinsku' vrijednost. Ovim radom izdvojene su prepoznate kulturološke usluge projektnog područja i njihov značaj za lokalnu zajednicu.

Ključne riječi: dobrobiti prirode, prirodne vrijednosti, zaštićeno područje, kulturna baština, lokalna zajednica

CULTURAL ECOSYSTEM SERVICES OF DINARA MOUNTAIN

I. Tomašin, M. Škunca, L. Buban, M. Žiljak

Geonatura Ltd. Consultancy in Nature Protection, Fallerovo šetalište 22, 10000 Zagreb, Croatia
(itomasin@geonatura.hr)

Concept of ecosystem services was developed to help identify and evaluate all direct and indirect contributions of ecosystems to human well-being, while highlighting the importance of their preservation. Only intact and preserved ecosystems have the full potential to provide (different) ecosystem services, while we distinguish three basic types – provisioning, regulation and maintenance, and cultural services. Dinara Mountain represents an area of preserved natural values and rich cultural and historical heritage, thus it was protected as a nature park in 2021. In the same area, since 2019, the Association BIOM and partners are implementing "Dinara back to LIFE" project, aiming to restore grasslands and create institutional requirements for their sustainable use. To identify the wide range of ecosystem services that project area provides to the local community, a study was prepared, focusing on services inextricably linked to the cultural and natural heritage of this region. Obtained results, inter alia, indicate the notable importance of ecosystem features we associate with cultural services, i.e., which (1) contribute to the knowledge and cultural heritage; (2) provide education, aesthetic experiences, sports and recreation; (3) provide inspiration and a sense of belonging; (4) have spiritual or symbolic meaning and intrinsic or bequest value. This presentation outlines the recognized cultural services of the project area and their importance for the local community.

Keywords: nature benefits, natural values, protected area, cultural heritage, local community

P-87

INVAZIVNA STRANA BILJKA *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planchon U URBANIM PODRUČJIMA ZAGREBAČKE ŽUPANIJE

D. Vlahović¹, D. Vladović², B. Mitić³

¹OŠ Bogumila Tonija, Ivana Perkovca 90, 10430 Samobor, Hrvatska, ²Prirodoslovni muzej Split, Poljana kneza Trpimira 3, 21000 Split, Hrvatska, ³Bioološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Marulićev trg 9a, 10000 Zagreb, Hrvatska
(dianavlahov@gmail.com)

Peterolisna lozika (*Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planchon) česta je invazivna strana penjačica u Hrvatskoj, posebice zbog česte uporabe u hortikulti. Cilj našeg rada bio je istražiti njegovu prostornu rasprostranjenost u urbanim područjima Zagrebačke županije. Istraživanje je

provedeno tijekom 2012. godine u svih devet gradova Zagrebačke županije. U 2016. godini istraživanje je ponovljeno na istim plohamama u dva suprotna grada Županije: Dugom Selu (istočni dio Županije) i Samoboru (zapadni dio Županije), s namjerom utvrđivanja mogućeg širenja vrste. Ukupno je istražena 541 parcela (250x250 m² svaka), a peterolisna lozika je 2012. godine zabilježena na 199 parcela (36,8% istraženih ploha). U Ivanić Gradu vrsta je utvrđena na 27 od 73 istražene plohe, u Jastrebarskom na 14 od 48 plohe, u Svetom Ivanu Zelini na 20 od 44 plohe, u Svetoj Nedjelji na 3 od 31 plohe, u Velikoj Gorici na 26 od 76 plohe., u Vrbovcu na 24 od 48 ploha, u Zaprešiću na 12 od 58 ploha, u Dugom Selu na 12 od 54 ploha te u Samoboru na 61 od 109 istraženih ploha. Analiza prostorne rasprostranjenosti u 2016. godini pokazala je značajno povećanje površina koje pokriva peterolisna lozika u četverogodišnjem razdoblju: zabilježeno je u Dugom Selu na 22 parcele, te u Samoboru na 87 parcela. Povećanje je bilo značajnije u urbanim dijelovima gradova, a manje u prigradskim i ruralnim područjima, vjerojatno zbog značajne antropochornosti ove vrste.

Ključne riječi: kartiranje invazivnih stranih biljaka, sjeverozapadna Hrvatska, prostorna rasprostranjenost, peterolisna lozika

INVASIVE ALIEN PLANT *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planchon IN URBAN AREAS OF ZAGREB COUNTY

D. Vlahović¹, D. Vladović², B. Mitić³

¹Primary School Bogumila Tonija, Ivana Perkovca 90, 10430 Samobor, Croatia, ²Nature History Museum Split, Poljana kneza Trpimira 3, 21000 Split, Croatia, ³Department of Biology, University of Zagreb, Faculty of Science, Marulićev trg 9a, 10000 Zagreb, Croatia (dianavlahov@gmail.com)

Virginia creeper (*Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planchon) is a frequent invasive alien perennial vine in Croatia, especially because of its often use in horticulture. The aim of our work was to research its spatial distribution in urban areas of the Zagreb County. Research was conducted during the year 2012 in the all nine towns of the Zagreb County. In 2016, the survey was repeated on the same plots in two opposite towns of the County: Dugo Selo (eastern part of the County) and Samobor (western part of the County), with the intention to detect possible spread of the species. A total of 541 plots (250x250 m² each) were surveyed, and in 2012 Virginia creeper was found on 199 plots (36.8% of investigated plots). In Ivanić Grad, the species was established on 27 of 73 surveyed plots, in Jastrebarsko on 14 of 48 plots, in Sveti Ivan Zelina on 20 of 44 plots, in Sveta Nedjelja on 3 of 31 plots, in Velika Gorica on 26 of 76 plots, in Vrbovec on 24 of 48 plots, in Zaprešić on 12 of 58 plots, in Dugo Selo on 12 of 54 plots, and in Samobor on 61 of 109 surveyed plots. The analysis of spatial distribution in 2016 showed a significant increase in the areas covered by Virginia creeper in a four-year period: it was recorded in Dugo Selo on 22 plots, and in Samobor on 87 plots. The increase was more significant in urban parts of the towns, and less in the suburban and rural areas, probably due to significant anthropochory.

Keywords: mapping of invasive alien plants, northwest Croatia, spatial distribution, Virginia creeper

P-88

EKOLOŠKA ANALIZA INVAZIVNIH BILJAKA U POŽEŠKOJ KOTLINI I PROCJENA NJIHOVE INVAZIVNOSTI

D. Zima¹, E. Štefanić², L. Zima³

¹Veleučilište u Požegi, Vukovarska 17, 34000 Požega, Hrvatska, ²Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska, ³Gimnazija u Požegi, Ul. dr. Franje Tuđmana 4, 34000 Požega, Hrvatska (zimadinko@gmail.com)

Praćenje rasprostranjenosti invazivnih vrsta izvršeno je tijekom ljetnih mjeseci od 2018.- 2020. godine Za svaku vrstu izdvojeni su ekološki indeksi po Landoltu. Opća invazivnost vrste ocjenjena je kao neznačajna (N), mala (M), srednja (S) i velika (V). Analiza ekoloških indeksa za vlažnost ukazuje na dominaciju mezofita. 85,3% biljnih vrsta obitava na slabo kiselom do neutralnom staništu. 61,8% biljnih svojstva je vezano za staništa bogata dušikom. Dominiraju vrste polusjene i one koje rastu u uvjetima pune dnevne svjetlosti podnoseći i izvjesnu zasjenjenost. Kod istraživanih invazivnih biljnih svojstava najzastupljenije su one koje uspjevaju na izrazito termofilnim (52,9%) ili termofilnim staništima (40,0%). Procjenjeni rang invazivnosti ukazuje da je u Požeškoj kotlini sa visokim stupnjem invazivnosti 38,2 %. biljnih vrsta. Najinvazivnije biljne vrste na istraživanom području su: *Ailanthus altissima* i *Ambrosia artemisiifolia*. Zatim slijede *Amaranthus retroflexus*, *Conyza canadensis*, *Erigeron annuus*, *Phytolacca americana*, *Robinia pseudoacacia*, *Solidago canadensis*, *Solidago gigantea* i *Sorghum halepense*. Zabilježenih svojstava sa srednjim stupnjem invazivnosti je 29,4 %. Ključni faktori invazivnosti su svojstva: sposobni su kompetitori, imaju sposobnosti i vegetativnog i generativnog razmnožavanja, nemaju prirodnih neprijatelja, imaju brzi rast do spolne zrelosti, proizvode preko 1000 sjemenki po jedinku godišnje, imaju sposobnost razmnožavanja više puta godišnje i nema razvijene kontrolne mehanizme.

Ključne riječi: invazivne biljke; ekološka analiza, invazivnost

ECOLOGICAL ANALYSIS OF INVASIVE PLANTS IN THE POŽEGA VALLEY, R. CROATIA AND ASSESSMENT OF THEIR INVASIVENESS

D. Zima¹, E. Štefanić², L. Zima³

¹Polytechnic in Požega, Vukovarska 17, 34000 Požega, Croatia, ²Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Croatia, ³Gymnasium Požega, Ul. dr. Franje Tuđmana 4, 34000 Požega, Croatia (zimadinko@gmail.com)

Monitoring of the distribution of invasive plant species was performed during the summer months of 2018-2020. The general invasiveness of the species was assessed as insignificant (N), small (M), medium (S) and large (V). Analysis of ecological humidity indices indicates mesophyte dominance. 85.3% of plant species live in slightly acidic to neutral habitats. 61.8% of plant taxa are related to nitrogen-rich habitats. Dominated by semi-shade species and those that grow in conditions of full daylight, tolerating a certain shade. Among the investigated invasive plant taxa, the most common are those that thrive in highly thermophilic (52.9%) or thermophilic habitats (40.0%). The estimated rank of invasiveness indicates that in the Požega valley with a high degree of invasiveness is 38.2%. plant species. The most invasive plant species are: *Ailanthus altissima*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Amaranthus retroflexus*, *Conyza canadensis*, *Erigeron annuus*, *Phytolacca americana*, *Robinia pseudoacacia*, *Solidago canadensis*, *Solidago gigantea* and *Sorghum halepense*. The key factors of invasiveness are: they are capable competitors, have the ability of vegetative and generative reproduction, have no natural enemies, have rapid growth to sexual maturity, produce over 1000 seeds per individual per year, have the ability to reproduce several times a year and have no developed control mechanisms.

Keywords: invasive plant, ecological analysis, invasiveness

P-89

NEUROKEMIJSKA I MOLEKULARNO-GENETIČKA PODLOGA PROMJENA U EKSPLORATORNOM PONAŠANJU ŠTAKORA NAKON NEONATALNOG IZLAGANJA HIPOKSII

B. Nikolić¹, S. Trnski², N. Jovanov Milošević², D. Hranilović¹

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (barbara.nikolic@biol.pmf.hr), ²Hrvatski institut za istraživanje mozga, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata ul. 12, 10000 Zagreb, Hrvatska

Uslijed različitih komplikacija tijekom trudnoće i prijevremenog poroda može doći do nastanka hipoksije koja predstavlja rizik za hipoksijsko-ishemijsku ozljedu mozga čije posljedice ovise o vremenu nastanka, jačini i lokalizaciji ozljede. S ciljem razvoja životinjskog modela blage hipoksijske ozljede mozga, Wistar štakore izložili smo akutnoj hipoksiji (8% O₂, 2h) prvo postnatalnog dana (PND1). U dobi PND30-PND45, štakore smo izložili nizu bihevioralnih testova, a žrtvovanje je izvršeno u dobi PND50 nakon čega su prikupljeni uzorci moždanog debla za određivanje razine katekolamina te talamus, somatosenzoričkog korteksa i hipokampusa za određivanje diferencijalne genske ekspresije. Rezultati su pokazali kako akutna neonatalna hipoksija uzrokuje promjenu u eksploratornom ponašanju štakora koju prati povišena razina dopamina u moždanom deblu te promjene u ekspresiji dopaminskih receptora u talamusu i somatosenzoričkom korteksu. Hipoksija je uzrokovala i povišenu ekspresiju gena koji sudjeluju u dopaminskoj signalizaciji u talamusu, ekscitaciji i inhibiciji u somatosenzoričkom korteksu te neuromodulaciji prostornog pamćenja u hipokampusu. Prepostavljamo da u podlozi promijenjenog eksploratornog ponašanja stoji poremećeno somatosenzoričko procesiranje koje nastaje djelovanjem hipoksije izravno na somatosenzorički korteks ili neizravno putem narušene talamo-kortikalne komunikacije i/ili otežano prostorno pamćenje uzrokovano strukturnim promjenama u hipokampusu.

Ključne riječi: hipoksijska ozljeda mozga, somatosenzoričko procesiranje, prostorno pamćenje

NEUROCHEMICAL AND MOLECULAR-GENETIC BACKGROUND OF CHANGES IN RAT EXPLORATORY BEHAVIOR AFTER EXPOSURE TO NEONATAL HYPOXIA

B. Nikolić¹, S. Trnski², N. Jovanov Milošević², D. Hranilović¹

¹Department of Biology, University of Zagreb, Faculty of Science, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (barbara.nikolic@biol.pmf.hr), ²Croatian Institute for Brain Research, University of Zagreb, School of Medicine, Šalata ul. 12, 10000 Zagreb, Croatia

Various complications during pregnancy and preterm birth can lead to hypoxia posing a risk of hypoxic-ischemic brain injury, with consequences depending on the time of onset, severity, and location of the injury. In order to develop an animal model of mild hypoxic brain injury, Wistar rats were exposed to acute hypoxia (8% O₂, 2h) on the first postnatal day (PND1). The animals were submitted to a battery of behavioral tests at PND30-PND45, and sacrificed at PND50. Brainstem samples were collected to determine catecholamine levels, and thalamus, somatosensory cortex and hippocampus to determine differential gene expression. The results showed that acute neonatal hypoxia caused a change in the exploratory behavior of rats, accompanied by elevated levels of dopamine in the brainstem and increased dopamine receptor gene expression in the

thalamus and somatosensory cortex. Hypoxia also caused increased expression of genes involved in: dopamine signaling in the thalamus, excitation and inhibition in the somatosensory cortex, and neuromodulation of spatial memory in the hippocampus. We assume that the observed changes in exploratory behavior may represent a consequence of disturbed somatosensory processing, caused either by the direct effect of hypoxia on the somatosensory cortex or indirect effect through impaired thalamo-cortical communication, and/or the consequence of impaired spatial memory caused by structural changes in the hippocampus.

Keywords: hypoxic brain injury, somatosensory processing, spatial memory

P-90

MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA MUTACIJE L265P U GENU *MYD88*

I. Arić, V. Buršić, B. Gizdić, K. M. Tupek, I. Sviben, Z. Mitrović, O. Jakšić, V. Pejša, R. Kušec
Zavod za hematologiju KB Dubrava Zagreb, Odjel za molekularnu dijagnostiku i genetiku KZLD KB
Dubrava, Avenija Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ivonaaric5@gmail.com)

Mutacijski status L265P u genu *MYD88* povezan je s razvojem i širenjem makroglobulinemije Waldenström. Prema nacionalnom konsenzusu o modernoj dijagnostici u hematologiji u Republici Hrvatskoj dogovoren je razvoj testa za mutaciju L265P u genu *MYD88* u Kliničkoj bolnici Dubrava u Laboratoriju za Molekularnu dijagnostiku i genetiku. Razvijena je metoda Sangerovog sekvenciranja kojoj prethodi izolacija DNA iz koštane srži, periferne krvi ili biopsije tumorskog tkiva, a slijedi umnažanje želenog fragmenta DNA specifičnim probama metodom PCR. Usporedbom rezultata Sangerovog sekvenciranja i analize *high resolution melt* (HRM), mutacija L265P u genu *MYD88* je dokazana u 21% pacijenata prve serije koja je sadržavala 14 ispitanika od kojih su 3 pacijenta bila pozitivna na navedenu mutaciju. Zaključeno je da će se metoda Sangerovog sekvenciranja koristiti kao primarna pri dijagnozi mutacije L265P u genu *MYD88* zbog veće osjetljivosti i specifičnosti.

Ključne riječi: sekvenciranje po Sangeru, Waldenströmova makroglobulinemija, gen *MYD88*, mutacija

MOLECULAR DIAGNOSTICS OF THE L265P MUTATION IN THE *MYD88* GENE

I. Arić, V. Buršić, B. Gizdić, K. M. Tupek, I. Sviben, Z. Mitrović, O. Jakšić, V. Pejša, R. Kušec
Department of Hematology KB Dubrava Zagreb, Division of molecular diagnostics and genetics
KZLD KB Dubrava, Avenija Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb, Croatia (ivonaaric5@gmail.com)

The L265P mutation in the *MYD88* gene is associated with the development and progression of Waldenström's macroglobulinemia. According to the national consensus of modern diagnostics in hematology in the Republic of Croatia, it was agreed to develop a test for the L265P mutation in the *MYD88* gene at the Dubrava Clinical Hospital in the Laboratory for Molecular Diagnostics and Genetics. A Sanger sequencing method was developed which is preceded by the DNA isolation from bone marrow, peripheral blood and tumor tissue biopsies followed by PCR amplification of the desired DNA fragment. By comparing the results of HRM analysis with the Sanger sequencing method the L265P mutation in the *MYD88* gene was found in 21% of patients in the first series, which included 14 patients with a histological diagnosis of lymphoplasmacytoid lymphoma or Waldenström's macroglobulinemia. Three patients were positive for this mutation. Sanger sequencing was selected as the primary method in the diagnosis of the L265P mutation in the *MYD88* gene due to its greater sensitivity and specificity.

Keywords: Sanger sequencing, Waldenström's macroglobulinemia, *MYD88* gene, mutation

P-91

PRVI LABORATORIJ ZA NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTIRANJE U HRVATSKOJ: SAZNANJA NA TEMELJU 3.5 GODINE NEPREKIDNOG RADA

L. Belužić, J. Marinac, M. Katić

Poliklinika Breyer, Ilica 191, 10000 Zagreb (lucija.beluzic@breyer.hr)

Određivanje rizika fetusa za kromosomske aneuploidije analizom slobodno cirkulirajuće DNA u majčinoj plazmi primjer je brze i učinkovite kliničke integracije sekvenciranja u zdravstvo. U laboratoriju za neinvazivno prenatalno testiranje Poliklinike Breyer do svibnja 2022. obrađeno je više od 50 000 uzoraka. Osnovni cilj bio je uspostaviti neprekidan rad i istovremeno održati najvišu kvalitetu. Dodatni ciljevi uključuju poboljšanje parametara testa, sustavno praćenje slučajeva kod kojih je detektiran rizik za rijetke aneuploidije i evaluaciju prioriteta pacijentica prilikom prenatalnog testiranja u Poliklinici. 1342 uzorka su prošla cijelovit laboratorijski proces od prikupljanja i praćenja, pripreme DNA knjižnice, sekvenciranja genoma, bioinformatičke obrade na lokalnim serverima do interpretacije nalaza. Stopa pogreške smanjuje se pripremom DNA nanokuglica procesom linearнog kružnog umnožavanja uz pojačavanje signala tzv. „Combinatorial probe-anchor synthesis (CPAS)“ pristupom. Statistika je provedena na kliničkim podacima pacijentica koje su za to dale pristanak. Naši podaci pokazuju smanjen postotak odbijenih uzoraka i ponovljenih analiza te skraćeno vrijeme obrade uzorka u odnosu na validacijsku statistiku. Većina pacijentica bira najširu opciju testiranja i testiranje u ranoj trudnoći (prije 14 + 0). Naši podaci pokazuju da su kontinuirano praćenje i obrada uzorka na jednoj lokaciji višestruko korisni te su nam omogućili prvi uvid u prioritete pacijentica.

Ključne riječi: neinvazivno prenatalno testiranje, slobodna cirkulirajuća DNA, sekvenciranje sljedeće generacije, poboljšanje parametara testa, prioriteti pacijentica

FIRST LABORATORY FOR NON-INVASIVE PRENATAL TESTING IN CROATIA: INSIGHTS BASED ON 3.5 YEARS OF CONTINUOUS OPERATION

L. Belužić, J. Marinac, M. Katić

Breyer Polyclinic, Ilica 191, 10000 Zagreb, Croatia (lucija.beluzic@breyer.hr)

Analysis of cell-free DNA (cfDNA) in maternal plasma to determine fetal risk for chromosomal aneuploidies is an example of rapid and efficient clinical integration of next generation sequencing (NGS) in healthcare. By May 2022, more than 50 000 samples had been analyzed in the laboratory for non-invasive prenatal testing (NIPT) at Breyer Polyclinic. The main goal was to establish continuous (24/7) laboratory operations while ensuring the highest quality results. Other objectives were to improve test parameters, to systematically follow up cases with rare findings and to assess preferences for prenatal testing in Breyer. 1342 samples underwent the entire laboratory process: collection and tracking, library preparation from cfDNA, whole genome sequencing (WGS) in conjunction with on-site bioinformatics and report validation. To reduce sequencing error, DNA nanoballs (DNBs) were prepared by linear rolling circle amplification (RCA), while combinatorial probe-anchor synthesis (CPAS) was used to amplify the signal during sequencing. Statistics were performed for only a portion of the clinical data based on patient consent. Our data show a lower number of rejected samples and repeated analyses with improved turnaround time (TAT) compared with validation statistics. Patients predominantly choose the broadest testing option and test early in pregnancy (before 14 + 0).

Our data show that real-time sample monitoring in one location is beneficial in several ways and provides initial insight into the testing preferences of patients.

Keywords: non-invasive prenatal testing, cell-free DNA, next generation sequencing, test parameter optimization, patient preferences

P-92

UTJECAJ PANDEMIJE BOLESTI COVID-19 NA BROJ DIJAGNOSTICIRANIH KARCINOMA DOJKE

D. Lukic¹, D. Beloša¹, M. Sudarić Bogojević¹, D. Švagelj²

¹Odjel za biologiju, Josip Juraj Strossmayer Sveučilište u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (diana.lukic@biologija.unios.hr), ²Opća županijska bolnica Vinkovci, Zvonarska 57, 32100 Vinkovci, Hrvatska

Cilj istraživanja je utvrditi utjecaj pandemije bolesti COVID-19 na broj dijagnosticiranih karcinoma dojke kod žena u Općoj županijskoj bolnici Vinkovci. Ova studija sadrži podatke o 116 dijagnosticiranih karcinoma dojke u razdoblju od ožujka do prosinca 2019., 2020. i 2021. godine. Medijan dobi pacijentica u 2019. iznosio je 68 godina, u rasponu od 37 do 92 godine, u 2020. 66 godina u rasponu od 38 do 82 godine, a u 2021. 69 godina s rasponom od 35 do 101 godine. Medijan veličine tumora u 2019. iznosio je 1,8 cm u rasponu od 0,5 cm do 8 cm, u 2020. 1,9 cm u rasponu od 0,5 cm do 7 cm, a u 2021. 1,5 cm s rasponom od 0,4 cm do 5 cm. Nije utvrđena statistički značajna razlika u dobi ($p>0.05$) pacijentica niti u veličini tumora ($p>0.05$) između istraživanih godina. Od 44 pacijentice u 2019. kod njih 37 odstranjeni su limfni čvorovi, te su kod 49% žena nađene metastaze u limfne čvorove pazuha. U 2020. od ukupno 32 pacijentice, kod njih 24 su odstranjeni i limfni čvorovi pazuha, a u 25% limfnih čvorova su nađene metastaze, dok je od ukupno 40 pacijentica u 2021. kod njih 27 s odstranjениm limfnim čvorovima, 33% onih s metastazama. Iako razlika broja dijagnosticiranih karcinoma dojke između istraživanih godina nije statistički značajna, nešto manji broj u 2020. godini upućuje da je COVID-19 pandemija mogla imati utjecaj na smanjenje broja dijagnosticiranih karcinoma dojke, što je vjerojatno uvjetovano smanjenim opsegom rada bolnice.

Ključne riječi: karcinom dojke, pandemija COVID-19, metastaze u limfne čvorove

THE IMPACT OF THE COVID-19 PANDEMIC ON THE NUMBER OF DIAGNOSED BREAST CANCER

D. Lukic¹, D. Beloša¹, M. Sudarić Bogojević¹, D. Švagelj²

¹Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (diana.lukic@biologija.unios.hr), ²General County Hospital Vinkovci, Zvonarska 57, 32100 Vinkovci, Croatia

The aim of the study was to determine the impact of the COVID-19 pandemic on the number of diagnosed breast cancer in women at the General County Hospital Vinkovci. This study contains data on 116 diagnosed breast cancer between March and December 2019; 2020 and 2021. The median age of patients in 2019 was 68 years, ranging from 37 to 92 years, in 2020 66 years ranging from 38 to 82 years, and in 2021 69 years ranging from 35 to 101 years. The median tumor size in 2019 was 1.8 cm in the range of 0.5 cm to 8 cm, in 2020 1.9 cm in the range of 0.5 cm to 7 cm, and in 2021 1.5 cm in the range from 0.4 cm to 5 cm. There was no statistically

significant difference in the age ($p>0.05$) of patients or tumor size ($p>0.05$) between the studied years. Out of 44 patients in 2019, 37 of them had their lymph nodes removed, and 49% of women had metastases to the lymph nodes in their armpits. In 2020, out of a total of 32 patients, 24 of them had armpit lymph nodes removed, and metastases were found in 25% of lymph nodes, while out of a total of 40 patients in 2021, 27 of them had lymph nodes removed, 33% had metastases. Although the difference in the number of diagnosed breast cancer between the years studied is not statistically significant, the smaller number in 2020 suggests that the COVID-19 pandemic may have had an impact on reducing the number of diagnosed breast cancers, probably due to reduced hospital workload.

Keywords: breast cancer, pandemic COVID-19, lymph node metastases

P-93

TKIVNO BANKARSTVO: OBRADA SPONGIOZNOG KOŠTANOOG TKIVA DOBIVENOG IZ GLAVE FEMURA ŽIVIH DARIVATELJA

D. Puljić¹, M. Zekušić¹, T. Vučemilo¹, A. Jularić¹, M. Skoko¹, M. Bujić Mihica¹, I. Vrgoč Zimić¹, T. Dolenec¹, D. Vidović², S. Babić², I. Batarilo³, S. Ramić⁴, P. Sesar⁴

¹Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zavod za transfuzijsku i regenerativnu medicinu, Vinogradска cesta 29, 10000 Zagreb, Hrvatska (dominik.puljic@kbcsm.hr), ²Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Klinika za traumatologiju, Draškovićeva ul. 19, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Odjel za mikrobiologiju, Petrova ul. 3, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Klinički zavod za patologiju i citologiju Ljudevit Jurak, Vinogradská cesta 29, 10000 Zagreb, Hrvatska

Spongiosno koštano tkivo koristi se u rekonstruktivnim zahvatima kao vrijedan materijal za obnovu i zamjenu koštanoog tkiva. Cilj je bio ispitati aseptično uzimanje i rezanje glave femura na fragmente u operacijskoj sali, sterilnost spongiosnog koštanoog tkiva obrađenog u mikrobiološkom sigurnosnom kabinetu (MSC) te prikazati histološku strukturu i vitalnost tkiva. Tijekom ugradnje totalne endoproteze kuka kod živih darivatelja uzete su glave femura i izrezane na fragmente. Od svake glave uzorkovan je bris za mikrobiološku i biopat za patohistološku analizu. Fragmenti su obrađeni u MSC, a sterilnost spongioze kontrolirana je analizom briseva i bioptata u duplikatu metodom direktnе inokulacije u tekućoj podlozi za anaerobne i aerobne bakterije te gljive. Sterilnost okolišnih uvjeta (površina, zrak i prsti operatera) kontrolirana je kontaktnim i taložnim pločama. Mikrobiološki je analizirano 27 uzoraka: 16 iz operacijske sale (bioloških n=10, okolišnih n=6) i 11 iz MSC (bioloških n=7, okolišnih n=4). U operacijskoj sali dobiven je 100 % sterilan rezultat koštanoog tkiva te prstiju operatera, a rezultati kontrole zraka bili su u granicama prihvatljivosti. Svi mikrobiološki rezultati uzoraka dobivenih u MSC bili su 100 % sterilni. Patohistološkom analizom potvrđeni su vitalni osteociti u lakunama cirkumferentne lamele, pojedinačni osteoklasti te brojni osteoblasti u površinskom dijelu kosti bez pronađenih patoloških promjena.

Ključne riječi: spongiosno koštano tkivo, mikrobiološka sterilnost, patohistološka analiza

TISSUE BANKING: PROCESSING OF SPONGY BONE OBTAINED FROM THE FEMORAL HEAD OF LIVING DONORS

D. Puljić¹, M. Zekušić¹, T. Vučemilo¹, A. Jularić¹, M. Skoko¹, M. Bujić Mihica¹, I. Vrgoč Zimić¹, T. Dolenc¹, D. Vidović², S. Babić², I. Batarilo³, S. Ramić⁴, P. Sesar⁴

¹University Hospital Center Sestre milosrdnice, Department of Transfusion and Regenerative Medicine, Vinogradска cesta 29, 10000 Zagreb, Croatia (dominik.puljic@kbcsm.hr), ²University Hospital Center Sestre milosrdnice, Clinic for Traumatology, Draškovićeva ul. 19, 10000 Zagreb, Croatia, ³Croatian Institute of Transfusion Medicine, Department of Microbiology, Petrova ul. 3, 10000 Zagreb, Croatia, ⁴University Hospital Center Sestre milosrdnice, Ljudevit Jurak Department of Pathology, Vinogradска cesta 29, 10000 Zagreb, Croatia

Spongy bone is used in reconstructive procedures as a valuable material for bone regeneration and replacement. The aim was to examine the aseptic procurement and cutting of femoral head fragments in the operating room, the sterility of spongy bone obtained in the microbiological safety cabinet (MSC) and to show histological structure and vitality of tissue. During the implantation of a total hip endoprosthesis in living donors, the femoral heads were removed and cut into fragments. A swab for microbiological and a biopsy for pathohistological analysis were sampled from each head. Fragments were processed in MSC and the sterility of spongiosis was controlled by analysing duplicate swabs and biopsies by direct inoculation in a liquid medium for anaerobic and aerobic bacteria and fungi. Sterility of environmental conditions (surface, air and operator's fingers) was controlled by contact and sediment plates. 27 samples were microbiologically analysed: 16 from the operating room (biological n=10, environmental n=6) and 11 from MSC (biological n=7, environmental n=4). A 100 % sterile result of bone tissue and operator's fingers was obtained in the operating room and the results of air control were within acceptable limits. All results sampled in the MSC were 100 % sterile. Pathohistological analysis confirmed vital osteocytes in the lacunae of the circumferential lamellae, individual osteoclasts and numerous osteoblasts in the surface of the bone without any pathological changes.

Keywords: spongy bone tissue, microbiological sterility, pathohistological analysis

P-94

PRISUTNOST VIRUSA ZAPADNOG NILA U UZORCIMA KOMARACA U PREKOGRANIČNOM PODRUČJU HRVATSKA – SRBIJA TIJEKOM 2018. I 2019. GODINE

M. Sikora¹, N. Turić¹, H. Bekina¹, D. Čubrilo²

¹Nastavni zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Drinska 8, 31000 Osijek, 31000 Osijek, Hrvatska, ²Zavod za javno zdravlje Sombor, Vojvođanska 47, 25000 Sombor, Srbija

Vođeni tvrdnjom „Komarci ne poznaju granice“, implementiran je projekt Kontrola komaraca u prekograničnom području (MOS-Cross). Jedan od ciljeva projekta bio je utvrditi prisutnost virusa zapadnog Nila (engl. West Nile virus, WNV) u uzorcima komaraca roda Culex na području Osječko-baranjske županije i na području Zapadno-bačkog Okruga. Uzorci komaraca roda Culex uzorkovani su od lipnja do listopada 2018. i 2019. godine metodom CDC (Centers for Disease Control) klopki. Analiza uzoraka vršena je metodom Real Time PCR. Nastavni zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije je 2018. godine analizirao 25 skupnih uzoraka komaraca na prisutnost virusne RNA (WNV). U 8 skupnih uzoraka je detektirana prisutnost virusne RNA. Iste godine je prijavljeno 17 oboljelih osoba, dok je jedna osoba preminula. U 2019. godini je

analizirano 25 skupnih uzoraka komaraca i niti u jednom nije detektirana prisutnost WNV. U 2019. godini Služba za epidemiologiju nije zaprimila prijavu oboljenja. U 2020. i 2021. godini nije bilo prijavljenih oboljenja WNV. U 2018. godini, ZZJZ Sombor je analizirao 50 skupnih uzoraka komaraca te je u 8 skupnih uzoraka detektirano prisustvo virusne RNA. U 2019. godini je analizirano 50 skupnih uzoraka te ni u jednom uzorku nije detektirana prisutnost virusne RNA. U 2018. godini prijavljeno je 8 slučajeva infekcije WNV u Zapadnobačkom okrugu, dok su u 2019. bile 3 prijave oboljenja. Prekogranična suradnja u kontroli komaraca nastavila se projektom MOS-Cross2, koji će trajati do 2023. godine na proširenom prekograničnom području.

Ključne riječi: Virus Zapadnog Nila, komarci, vektori, prekogranična suradnja.

PRESENCE OF WEST NILE VIRUS IN MOSQUITO SAMPLES IN CROATIA-SERBIA CROSS-BORDER AREA DURING YEAR 2018 AND 2019

M. Sikora¹, N. Turić¹, H. Bekina¹, D. Čubrilo²

¹Teaching Institute of Public Health for the Osijek-Baranja County, Drinska 8, 31000 Osijek, Croatia, ² Public Health Institute Sombor, Vojvođanska 47, 25000 Sombor, Serbia

Project Mosquito Control in Cross-border Area (MOS-Cross) implementation was guided by statement: "Mosquitoes know no borders!". One of the project goals was to determine presence of West Nile Virus (WNV) in mosquitoes from genus Culex in area of Osijek-Baranja County and West Bačka District. Mosquito samples were collected from July to October in years 2018 and 2019 using CDC trap method. Sample analysis was done with Real Time PCR method. Teaching Institute of Public Health tested 25 mosquito pools on presence of viral RNA (WNV) in 2018. 8 pools tested positive on viral RNA. In the same year 17 infected person and case of death were reported. In 2019 25 mosquito pools were tested and none were positive on viral RNA. No infections were reported to the Department of Epidemiology in 2019. In 2020 and 2021 no new cases of WNV infection were reported. In 2018 Public Health Institute Sombor analysed 50 mosquito pools, 8 pools were positive on viral RNA. In 2019. 50 pools were analysed and none were positive on viral RNA. In 2018 8 cases of WNV were reported in West Bačka District, in 2019 there were 3 cases of infection. Cross-border cooperation in mosquito control continued through project MOS-Cross2, which will be implemented until 2023 in expanded cross-border area.

Keywords: West Nile Virus, mosquitoes, vectors, cross-border collaboration

P-95

BANKA SJEMENIKA: 9 GODINA ISKUSTVA U KRIOPOHRANI TKIVA SJEMENIKA

M. Vilaj^{1,2}, B. Golubić Ćepulić¹, D. Ježek^{1,2,3}

¹Zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, Klinski bolnički centar Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb, Hrvatska (marija.vilaj@kbc-zagreb.hr), ²Znanstveni centar izvrsnosti za reproduktivnu i regenerativnu medicinu, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Šalata 3, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Zavod za histologiju i embriologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Šalata 3, 10000 Zagreb, Hrvatska

Banka sjemenika djeluje od 2013. godine unutar Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC-a Zagreb. Cilj njezinog djelovanja je prikupljanje i pohrana tkiva

sjemenika onkoloških pacijenata prije gonadotoksičnog liječenja te pacijenata s azoospermijom. Kriopohrana tkiva sjemenika prikupljenog biopsijom omogućava kombinirani TESE/ICSI postupak (TESE-izolacija spermija iz tkiva sjemenika, ICSI- intracitoplazmatska mikroinjekcija spermija) u slučaju pronalaska spermija u tkivu sjemenika. Tijekom devet godina djelovanja Banke sjemenika, pohranjeni su bioptički uzorci tkiva 389 pacijenata. Patohistološki nalazi biopsije sjemenika ukazuju na zastupljenost različitih dijagnoza pacijenata, dok je u tkivu sjemenika 59% pacijenata pronađeno prisustvo testikularnih spermija što ih čini pogodnim donorima za postupak ICSI. Budući da u Hrvatskoj ne postoji jedinstveni IVF registar, točan broj djece rođen pomoću TESE/ICSI postupka nije poznat. Međutim, prema nama dostupnim informacijama, ovim postupkom rođeno je 60-ak djece što odgovara uspješnosti TESE/ICSI postupaka prijavljenoj Ministarstvu zdravstva od strane Ustanova ovlaštenih za IVF postupke. Osnovni uzrok neplodnosti kod 50% parova je neplodnost muškarca što predstavlja značajan doprinos općem padu plodnosti. Prema rezultatima djelovanja Banke sjemenika vidljiva je njezina važna uloga u unaprijeđenju demografske slike Hrvatske.

Ključne riječi: tkivno bankarstvo, kriopohrana tkiva sjemenika, muška neplodnost

TESTICULAR TISSUE BANK: 9 YEARS OF EXPERIENCE IN TESTICULAR TISSUE CRYOPRESERVATION

M. Vilaj^{1,2}, B. Golubić Ćepulić¹, D. Ježek^{1,2,3}

¹Department of Transfusion Medicine and Transplantation Biology, University Hospital Centre Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb, Croatia (marija.vilaj@kbc-zagreb.hr), ²Scientific Center of Excellence for Reproductive and Regenerative Medicine, School of Medicine, University of Zagreb, Šalata 3, 10000 Zagreb, Croatia, ³Department of Histology and Embryology, School of Medicine, University of Zagreb, Šalata 3, 10000 Zagreb, Croatia

The Testicular Tissue Bank has been operating since 2013 within the Department of Transfusion Medicine and Transplantation Biology, University Hospital Centre Zagreb. Its activity aims to testicular tissue collection and cryopreservation in patients with azoospermia or oncological patients prior to gonadotoxic treatment. Cryopreservation of testicular tissue samples allows a combined TESE/ICSI procedure in case the spermatozoa are found in testicular tissue. During the 9 years of experience in testicular tissue cryopreservation, samples from 389 patients have been stored in Testicular Tissue Bank. Results of the pathohistological analysis indicate the prevalence of different diagnoses in patients. At the same time, the presence of testicular sperm was found in 59% of patients, which makes them suitable donors for the ICSI procedure. Since there is no common IVF registry in Croatia, the exact number of children born using the TESE/ICSI procedure is unknown. However, according to the information available, about 60 children have been born after TESE/ICSI treatment, which corresponds to the success of TESE/ICSI procedures reported to the Ministry of Health by the IVF clinics. The main cause of infertility in 50% of couples is the male factor, which contributes to the overall decline in fertility. Obtained results of Testicular Tissue Bank activity confirm its important role in improving the demographic picture of Croatia.

Keywords: tissue banking, testicular tissue cryopreservation, male infertility

4. SIMPOZIJ EDUKACIJE BIOLOGIJE 4th BIOLOGY EDUCATION SYMPOSIUM

P-96

KAKO NAČINI USVAJANJA NASTAVNIH SADRŽAJA UTJEČU NA ISHOD UČENJA

N. Kletečki¹, T. Jaćimović², A. Belančić³

¹OŠ Bogumila Tonija, I. Perkovca 90, 10430 Samobor, Hrvatska (natasa.kletecki@gmail.com), ²OŠ Jože Šurana, Istarska 2, 52463 Višnjan, Hrvatska (tatjana.jacimovic@gmail.com), ³OŠ Ivane Brlić Mažuranić, Josipa bana Jelačića 1, 47300 Ogulin, Hrvatska (anita.belancic@skole.hr)

Cilj ovog istraživanja je usporediti usvojenost ishoda učenja vezanih u temu Tlo u uvjetima nastave na daljinu i u razredu. Istraživanje je provedeno tijekom šk.g. 2019./2020. i šk.g. 2021./22. U šk.g. 2019./2020. istraživanjem je obuhvaćeno 106 učenika OŠ Bogumila Tonija, Samobor. Tijekom nastave na daljinu u obradi nastavnih sadržaja korištene su videolekcije. Provjera usvojenosti ishoda provedena je online. Istraživanjem u šk.g. 2021./22. je obuhvaćeno 80 učenika OŠ Bogumila Tonija Samobor, 46 OŠ Ivane Brlić Mažuranić Ogulin i 25 OŠ Jože Šurana iz Višnjana. Tijekom obrade teme izvođeni su praktični radovi. U obje školske godine usvojenost ishoda provjerena je istom provjerom. Nakon provedenog testiranja ispitana je zainteresiranost učenika za temu Tlo putem anketnog upitnika. Rezultati istraživanja pokazali su kako učenici uglavnom uspješno usvajaju ishode kako u nastavi na daljinu tako i u razredu. Poteškoće se javljaju u povezivanju pojmova ključnih za izgradnju temeljnih koncepata. U oba testiranja uočeno je kako većina učenika uspješno rješava zadatke koji ispituju reproduktivno znanje. Najbolje su rezultate postigli učenici koji su samostalno izvodili praktične radove čime su poticani na argumentirano povezivanje stečenog znanja.

Ključne riječi: tlo, nastava na daljinu, videolekcija, ostvarivanje odgojno-obrazovnih ishoda

HOW DO THE WAYS OF ADOPTING TEACHING CONTENT AFFECT THE LEARNING OUTCOMES?

N. Kletečki¹, T. Jaćimović², A. Belančić³

¹Primary school Bogumila Tonija, I. Perkovca 90, 10430 Samobor, Croatia (natasa.kletecki@gmail.com), ²Primary school Jože Šurana, Istarska 2, 52463 Višnjan, Croatia (tatjana.jacimovic@gmail.com), ³Primary school Ivane Brlić Mažuranić, Josipa bana Jelačića 1, 47300 Ogulin, Croatia (anita.belancic@skole.hr)

The aim of this research is to compare the adoption of learning outcomes related to the Soil topic in distance learning and in-classroom conditions. The research was conducted during the school year 2019./2020. and school year 2021./22. In the school year 2019./2020. the research included 106 students from the Bogumil Toni Elementary School, Samobor. During distance learning, video lectures were used in the processing of teaching content, and students did not perform practical work. The learning outcome check was conducted online. In the school year 2021/22. 80 students of Bogumil Toni Elementary School, Samobor, 50 students of Ivana Brlić Mažuranić Elementary School, Ogulin, and 25 students of Jože Šurana Elementary School, Višnjan were included in the research whereby the students performed practical work independently or got acquainted with the topic of Soil through demonstration experiments. In both school years, the adoption of the outcomes was checked by the same knowledge test. After the testing, students' interest in the topic of Soil was examined. The results of the research showed that students generally successfully adopt outcomes in both distance and classroom teaching. Difficulties arise in connecting terms

crucial to building basic concepts. In both tests, it was observed that most students successfully solve tasks that test reproductive knowledge. The best results were achieved by students who independently performed practical work, which encouraged them to argue and connect the acquired knowledge. Keywords: soil; distance learning; video lecture; achieving educational outcomes

Keywords: soil, distance learning, video lecture, achieving educational outcomes

P-97

ISTRAŽIVAČKI RADOVI U SKLOPU PROJEKTA BIOSIGURNOST I BIOZAŠTITA U NASTAVI PRIRODE, BIOLOGIJE I KEMIJE U OSNOVNOJ I SREDNJOJ ŠKOLI

N. Kletečki¹, M. Cvetković-Kižlin¹, K. Stepinac²

¹OŠ Bogumila Tonija, I. Perkovca 90, 10430 Samobor, Hrvatska, (nataša.kletecki@gmail.com), ²SŠ Jastrebarsko, V. Holjevca 11, 10450 Jastrebarsko, Hrvatska (klementinastepinac@gmail.com)

Potreba za kontinuiranom edukacijom učenika, učitelja, nastavnika i stručnih suradnika u području očuvanja ljudskog zdravlja i prevencije zaraznih bolesti dio je globalnih društvenih promjena, a došla do izražaja u vrijeme pandemije SARS-CoV-2 virusa. U tim je uvjetima pokrenut i projekt *Biosigurnost i biozaštita* u okviru kojeg učenici provode i istraživanja na zadanoj temi. U projekt su uključeni učenici i nastavnici različitih profila, no sadržaji su u najvećoj su mjeri primjenjivi u nastavi prirode, biologije i kemije. Svojim ćemo radom prikazati na koji se način provode neke od projektnih aktivnosti u OŠ Bogumila Tonija, Samobor i SŠ Jastrebarsko, te koje sve kompetencije učenici stječu radom na projektu. Poseban je naglasak na istraživačkim radovima jer kod učenika razvijaju širok spektar vještina, potiču značajlu i interes za znanost. Učenici 5. razreda kroz istraživanje u okviru projekta *Biosigurnost i biozaštita* dobili su mogućnost da se vrlo rano susretnu s znanstvenom metodologijom. Istaknut ćemo i povezanosti sadržaja učeničkih istraživačkih projekata s problemima očuvanja ljudskog zdravlja i prevencije zaraznih bolesti u lokalnoj zajednici. Bit će prezentirani i rezultati ankete čiji je cilj bio procijeniti zainteresiranost učenika za teme prevencije zaraznih bolesti, a time i nastavak rada na projektu. U anketu je uključeno po 30 učenika 6. i 8. razreda osnovne škole i 30 učenika srednje škole.

Ključne riječi: biosigurnost i biozaštita, projekt, primjena u nastavi

RESEARCH PAPERS WITHIN THE PROJECT BIOSECURITY AND BIOSECURITY IN TEACHING NATURE, BIOLOGY AND CHEMISTRY IN PRIMARY AND SECONDARY SCHOOL

N. Kletečki¹, M. Cvetković-Kižlin¹, K. Stepinac²

¹Primary school Bogumila Tonija, I. Perkovca 90, 10430 Samobor, Croatia (nataša.kletecki@gmail.com), ²SŠ Jastrebarsko, V. Holjevca 11, 10450 Jastrebarsko, Hrvatska (klementinastepinac@gmail.com)

The need for continuous education of students, teachers and professional associates in the field of human health and prevention of infectious diseases is part of global social change, and came to the fore during the pandemic SARS-CoV-2 virus. In these conditions, the project Biosafety and Biosecurity was launched, within which students also conduct research on a given topic. The project

involves students and teachers of various profiles, but the contents are mostly applicable in the teaching of nature, biology and chemistry. With our work, we will show how some of the project activities are carried out in the elementary schools Bogumil Toni, Samobor and high school Jastrebarsko, and what competencies students acquire by working on the project. Special emphasis is placed on research papers because they develop a wide range of skills in students, stimulate curiosity and interest in science. 5th grade students through the research within the project Biosafety and Biosecurity were given the opportunity to meet the scientific methodology very early. We will also emphasize the connection between the content of student research projects and the problems of preserving human health and preventing infectious diseases in the local community. The results of a survey aimed at assessing students' interest in infectious disease prevention topics, and thus continuing work on the project, will also be presented. Key words: biosafety and bioprotection, project, application in teaching. 30 6th and 8th grade elementary school students and 30 high school students were included in the survey.

Keywords: biosafety and bioprotection, project, application in teaching

P-98

PREDNOSTI ČETVEROSATA U PROVOĐENJU VJEŽBI PROGRAMA PRIRODOSLOVNE GIMNAZIJE

T. Šalamon, L. Kralj, Ž. Lukša

Gimnazija Josipa Slavenskog Čakovec, Vladimira Nazora 34, 40000 Čakovec, Hrvatska (gimnazija-cakovec@ck.t-com.hr)

Istraživanje je provedeno s ciljem utvrđivanja prednosti četverosata u provođenju vježbi iz biologije programa prirodoslovne gimnazije. Prema kurikulumu, vježbe su planirane jedan sat tjedno. Zbog učinkovitije provedbe kompleksnijih vježbi, iste su organizirane svaka četiri tjedna u četverosatu, u dvije grupe. Pošlo se od pretpostavke da će ovakva organizacija pospješiti izvođenje kompleksnijih vježbi i provođenje terenske nastave. U istraživanju sudjeluju učenici programa prirodoslovne gimnazije prvih, drugih i trećih razreda (jedan razred po generaciji) Gimnazije Josipa Slavenskog Čakovec. Drugačiji pristup omogućuje provođenje terenskih vježbi izvan kruga škole, uključivanje u volonterske akcije i suradnju s lokalnom zajednicom te provođenje dugotrajnijih praktičnih istraživačkih radova u školskom laboratoriju. Rezultat četverosatnih vježbi aktivno je učenje metodom praktičnoga rada koja se često organizira u skupinama, poticanje motivacije učenika za istraživačkim učenjem, neposredno iskustvo te razvijanje vještine i socijalne kompetencije. Također, organizacija vježbi u četverosatu podrazumijeva smanjenje broja nastavnih predmeta tijekom jednoga dana, smanjenje raspršenosti pažnje učenika na više različitih, nepovezanih nastavnih predmeta i sadržaja. Provođenje vježbi u četverosatu predstavlja dugotrajanju pripremu za nastavnike, ali lakšu organizaciju terenske nastave i cjelovite strukture vježbi.

Ključne riječi: četverosat, vježbe, prirodoslovni program

THE ADVANTAGES OF DOUBLE-BLOCK SCHEDULE IN PRACTICAL LESSONS WITHIN THE NATURAL SCIENCES PROGRAMME OF GRAMMAR SCHOOLS

T. Šalamon, L. Kralj, Ž. Lukša

Gymnasium Josipa Slavenskog Čakovec, Vladimira Nazora 34, 40000 Čakovec, Croatia (gimnazija-cakovec@ck.t-com.hr)

The research was conducted with the aim of investigating the advantages of double-block schedule in conducting practical biology lessons within the natural sciences programme of grammar schools. According to the curriculum, the exercises are planned for one hour a week. In order to implement complex practical tasks more efficiently, we organised the practical work in double-blocks (blocks of four hours) every four weeks, with the students divided into two groups. Our hypothesis was that such an organization would facilitate the performance of more complex exercises and the implementation of field teaching. Students from the first, second and third grade science high school programs (one grade per generation) of the Josip Slavenski High School in Čakovec participated in this research. This alternative approach enables the teacher to organise outdoor practical work, namely trips outside the school grounds, involvement in volunteer actions and cooperation with the local community as well as conducting longer-term practical research in the school laboratory. The result of organising practical work in the double-block schedule is active learning using the method of practical work, often organised as group work, enhancing students' motivation by encouraging learning through research and immediate experience, and developing practical skills and social competences. Also, double blocks results in reducing the number of subjects during one day, reducing the distraction of students' attention to several different, unrelated subjects and content. Organising practical work in double-blocks schedule requires more preparation time for the teacher, but easier organisation of fieldwork and a complete structure of practical work.

Keywords: double-block schedule, practical work, natural sciences programme

P-99

RAZVOJ VJEŠTINE MIKROSKOPIRANJA I PREPOZNAVANJA RAZLIČITIH BIOLOŠKIH STRUKTURA KROZ eTWINNING PROJEKT „SVIJET POD MIKROSKOPOM“

D. Vlahović¹, M. Čiček², B. Mitić³

¹OŠ Bogumila Tonija, Ivana Perkovca 90, 10430 Samobor, Hrvatska (dianavlahov@gmail.com), ²OŠ Augusta Šenoe, Selska cesta 95, 10110 Zagreb, Hrvatska (martina.miksic@gmail.com), ³Biološki odsjek, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Marulićev trg 9a, 10000 Zagreb, Hrvatska (bozena.mitic@biol.pmf.hr)

Razvoj vještine mikroskopiranja i prepoznavanja različitih bioloških struktura tijekom provedbe eTwinning projekta "Svijet pod mikroskopom" uključivao je promatranje različitih mikroskopskih uzoraka i preparata, bilježenja opažanja i zaključivanje temeljem opaženog. Cilj istraživanja bio je utvrditi koliki postotak od ukupnog broja ispitanika po završetku projekta može samostalno prepoznati različite uzorke mikroskopskih preparata, kao i povezati pojedine stanične strukture s njihovim ulogama u stanici. Podaci su prikupljeni Microsoft Forms anketom u OŠ Bogumila Tonija u Samoboru i OŠ Augusta Šenoe u Zagrebu. U anketi su sudjelovala 202 učenika od 6. do 8. razreda. Rezultati ankete pokazuju pravilno prepoznavanje različitih uzoraka mikroskopskih preparata, kao i točno povezivanje pojedinih staničnih struktura s njihovim ulogama u stanici u rasponu od 50-93%. Od ukupnog broja ispitanika kloroplaste je prepoznalo 72% te ih pravilno opisalo kao strukture koje upijaju Sunčevu energiju i stvaraju šećer. Dio krila kukca prepoznalo je 64% ispitanika. Jezgru unutar stanice luka prepoznalo je 63% ispitanika te je u otvorenom odgovoru navelo odgovornom za upravljanje radom stanice. 80% ispitanika prepoznaže škrabna zrnca u plodu banane, dok 53% prepoznaje crnu plijesan. Tučak prepoznaće 65% ispitanika,

a pelud čak 93% ispitanika. Na kraju istraživanja učenici su procijenili osobni razvoj vještine mikroskopiranja, sposobnost promatranja i prepoznavanja bioloških struktura te zaključivanja na temelju promatranog ocjenom vrlo dobar (3.99) na procjenskoj skali od 1-5. Time se primjena usvojenih vještina tijekom eTwinning projekta „Svijet pod mikroskopom“ pokazala kao vrlo vrijedan poticaj usvajanju bioloških sadržaja te povećanom zanimanju za slične buduće školske projekte.

Ključne riječi: mikroskopski preparati, edukacija, osnovna škola, anketa

DEVELOPMENT OF MICROSCOPY SKILLS AND RECOGNITION OF DIFFERENT BIOLOGICAL STRUCTURES THROUGH THE eTWINNING PROJECT "THE WORLD UNDER THE MICROSCOPE"

D. Vlahović¹, M. Čiček², B. Mitić³

¹Primary School Bogumil Toni, Ivana Perkovca 90, 10430 Samobor, Croatia (dianavlahov@gmail.com), ²Primary School August Šenoa, Selska cesta 95, 10110 Zagreb, Croatia (martina.miksic@gmail.com), ³Department of Biology, University of Zagreb, Faculty of Science, Marulićev trg 9a, 10000 Zagreb, Croatia (bozena.mitic@biol.pmf.hr)

Development of microscopy skills and recognition of different biological structures through the eTwinning project "The world under the microscope" included observing different microscopic samples and slides, recording observations and drawing conclusions based on observations. The goal of the research was to determine what percentage of the total number of examined students could, upon completion of the project, independently recognize different samples of microscopic slides, as well as connect individual cell structures with their roles in the cell. The data were collected via Microsoft Forms survey at the Elementary Schools Bogumil Toni in Samobor and August Šenoa in Zagreb. The survey included 202 students from 6th to 8th grade. The results of the survey showed that the students were able to correctly recognize different samples of microscopic slides, as well as properly connect individual cell structures with their roles in the cell in the range of 50-93%. Of the total number of respondents, 72% recognized chloroplasts and correctly described them as structures that absorb solar energy and produce sugar. Part of the insect's wing was recognized by 64% of respondents. The nucleus inside the onion cell and its role in cell function was recognized by 63% of respondents. 80% of respondents recognize starch grains in banana fruit while 53% recognize black mold. Pistil was recognized by 65% of respondents, and pollen by as many as 93% of respondents. At the end of the research, the students assessed their personal development of microscopy skills, the ability to observe and recognize biological structures, and to draw conclusions based on what was observed with a grade of very good (3.99) on a rating scale of 1-5. Thus, the application of acquired skills during the eTwinning project "The World under the Microscope" proved to be a very valuable incentive to the adoption of biological content and increased interest in similar future school projects.

Keywords: microscopic preparation, education, primary school student, questionnaire

8. SIMPOZIJ HRVATSKOG DRUŠTVA ZA BILJNU BIOLOGIJU 8th SYMPOSIUM OF THE CROATIAN SOCIETY OF PLANT BIOLOGISTS

P-100

KRATKOTRAJNI TOPLITNI STRES IZAZIVA BRZI ANTIOKSIDATIVNI ODGOVOR DJELOVANJEM PEROKSIDAZE KOD JEČMA (*Hordeum vulgare L.*)

L. Begović¹, A. Blažević¹, M. Varga¹, S. Mlinarić¹, I. Abičić², A. Lalić²

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (lbegovic@biologija.unios.hr, andela.blazevic@biologija.unios.hr, martina.varga@biologija.unios.hr, smlinaric@biologija.unios.hr), ²Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Hrvatska (ivan.abicic@poljinov.hr, alojzije.lalic@poljinov.hr)

Toplotni stres jedan je od glavnih abiotičkih stresova koji uzrokuje različite fiziološke i molekularne odgovore u žitaricama. Peroxisidaze klase III smanjuju razinu reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) u stanicama i stoga predstavljaju učinkovit dio antioksidativnog sustava. Istraživali smo fiziološki i biohemski odgovor dviju sorti ječma, moderne sorte Zlatko i stare autohtone sorte Mursa, na kratkotrajni toplinski stres. Biljke su uzgajane u kontroliranim uvjetima s dnevnom temperaturom od 23 °C (16 sati) i noćnom temperaturom od 18 °C (8 sati). Nakon 14 dana uzgoja, klijanci ječma izloženi su toplinskom stresu tijekom 24 sata na 35 °C (dan) i 23 °C (noć). Parametri oksidativnog stresa, vodikov peroksid i peroksidacija lipida, nisu se povećali. Međutim, značajno povećanje aktivnost gvajakol peroksidaze uočena je u oba genotipa. Mjerjenje fotosintetske učinkovitosti pokazala su da je kratkotrajni toplinski stres smanjio vrijednosti indeksa fotosintetske učinkovitosti (PIABS) i maksimalnog kvantnog prinosa (Fv/Fm) u obje sorte. Zaključno, stara sorta Mursa pokazala je povećane koncentracije ukupnog klorofila, karotenoida i proteina u odnosu na modernu sortu Zlatko što ukazuje na bolju aktivaciju zaštitnih mehanizama. Antioksidativna obrana potaknula je učinkovito i brzo aktivaciju peroksidaze usmjereni na smanjenje štetnog djelovanja ROS-a uzrokovanih kratkotrajnim toplinskim stresom u obje sorte ječma.

Ključne riječi: peroksidaze, ječam, toplotni stress, oksidativni stress, fotosinteza

SHORT-TERM HEAT STRESS INDUCES QUICK ANTIOXIDATIVE RESPONSE BY PEROXIDASE ACTION IN BARLEY (*Hordeum vulgare L.*)

L. Begović¹, A. Blažević¹, M. Varga¹, S. Mlinarić¹, I. Abičić², A. Lalić²

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (lbegovic@biologija.unios.hr, andela.blazevic@biologija.unios.hr, martina.varga@biologija.unios.hr, smlinaric@biologija.unios.hr), ²Agricultural Institute Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Croatia (ivan.abicic@poljinov.hr, alojzije.lalic@poljinov.hr)

High temperature stress is one of the major abiotic stresses that causes different physiological and molecular responses in crops. Class III peroxidase reduce the levels of reactive oxygen species (ROS) in the cells and therefore, represent effective part of the antioxidant system. We investigated physiological and biochemical response of two barley varieties, modern Zlatko and old autochthonous variety Mursa, to short-term heat stress. Plants were grown under controlled conditions with a daytime temperature of 23 °C (16 hours) and a night temperature of 18 °C (8 hours). After 14 days of cultivation, barley seedlings were exposed to heat stress during 24 hours

at 35 °C (day) and 23 °C (night). Oxidative stress parameters, hydrogen peroxide and lipid peroxidation, didn't increased. However, significantly increased guaiacol peroxidase activity was observed in both genotypes. Measurements of photosynthetic efficiency indicated that short-term heat stress decreased values of photosynthetic efficiency index (PIABS) and the maximum quantum yield (Fv/Fm) in both varieties. In conclusion, old variety Mursa showed increased total chlorophyll, carotenoid and protein concentrations in comparison to modern variety Zlatko indicating better activation of protective mechanisms. The antioxidative defense triggered efficient and fast activation of peroxidase directed to diminish deleterious action of ROS generated by short-term heat stress in both barley varieties.

Keywords: peroxidase, barley, heat-stress, oxidative stress, photosynthesis

P-101

PROMJENE ANTOOKSIDACIJSKOG POTENCIJALA EKSTRAKATA KLIJANACA BROKULE I RAŠTIKE TIJEKOM *IN VITRO* SIMULIRANE LJUDSKE PROBAVE

D. Davosir, I. Šola

Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ddavosir@stud.biol.pmf.hr, ivana.sola@biol.pmf.hr),

Klijanci kupusnjača sve su zastupljeniji u ljudskoj prehrani i često ih se označava kao funkcionalnu hranu zbog velikog udjela spojeva s antioksidacijskim djelovanjem. U ovom istraživanju, analiziran je antioksidacijski potencijal ekstrakata dva tipa klijanaca kupusnjača, brokule (*Brassica oleracea* var. *italica*) i raštike (*B. oleracea* var. *acephala*). Etanolni ekstrakti klijanaca podvrgnuti su *in vitro* simuliranoj ljudskoj probavi te je antioksidacijski kapacitet ekstrakata prije i nakon simulirane probave u fazi usta, želuca i crijeva izmjerena metodama ABTS, DPPH i FRAP. Rezultati mjerena metodom ABTS pokazali su da je antioksidacijski potencijal klijanaca brokule i raštike najveći nakon crijevne faze probave. To ukazuje na visoku gastrointestinalnu stabilnost spojeva s antioksidacijskim djelovanjem iz ekstrakata klijanaca brokule i raštike. Sve tri metode potvrđile su veći antioksidacijski potencijal ekstrakata raštike, prije i nakon *in vitro* probave, u odnosu na ekstrakte brokule, što dokazuje da su klijanci raštike bogatiji izvor spojeva s jakom antioksidacijskom aktivnošću. Rezultati sugeriraju korištenje klijanaca kupusnjača kao prirodnog izvora spojeva s visokom gastrointestinalnom stabilnosti i jakim antioksidacijskim djelovanjem, što ukazuje i na njihove potencijalne biološke učinke *in vivo* povoljne za ljudsko zdravlje.

Ključne riječi: funkcionalna hrana, gastrointestinalna stabilnost, kupusnjače

CHANGES OF ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF BROCCOLI AND KALE SEEDLINGS EXTRACTS DURING *IN VITRO* SIMULATED HUMAN DIGESTION

D. Davosir, I. Šola

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (ddavosir@stud.biol.pmf.hr, ivana.sola@biol.pmf.hr)

Seedlings of cruciferous plants are becoming more represented in human diet and are often labelled as functional food because of their richness in healthy antioxidative compounds. In this study, we analysed the antioxidative potential of extracts from two types of cruciferous

seedlings, broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) and kale (*B. oleracea* var. *acephala*). Ethanolic extracts were subjected to *in vitro* simulated human digestion, and the antioxidative capacity of the extracts before and after salivary, gastric and intestinal phase of digestion was assessed using ABTS, DPPH and FRAP assays. ABTS assay revealed the highest antioxidative potential of both broccoli and kale seedlings extracts in the intestinal phase, pointing to the high gastrointestinal stability of antioxidative compounds from broccoli and kale extracts. Each of the three assays revealed the higher antioxidative potential of kale extract before and after *in vitro* digestion in comparison to the antioxidative potential of broccoli extract, pointing to kale seedlings being a richer source of compounds with high antioxidative activity. The results support the use of cruciferous seedlings as a natural source of compounds with high gastrointestinal stability and high antioxidative potential, pointing to their potential healthy bioactive properties *in vivo*.

Keywords: brassicaceous vegetables, functional food, gastrointestinal stability

P-102

VISOKA TEMPERATURA MIJENJA KONCENTRACIJU UKUPNIH FENOLNIH SPOJEVA, GLUKOZINOLATA, ŠEĆERA I PROTEINA U KLJANCIMA BROKULE (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.)

D. Gmižić, I. Šola

Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (daria.gmizic@biol.pmf.hr)

Uz trenutne klimatske promjene, biljke su izložene rastućim temperaturama koje utječu na njihov fitokemijski sastav. U sklopu ovog rada cilj je bio istražiti učinak visoke temperature na koncentraciju ukupnih fenolnih spojeva, proteina, glukozinolata i topivih šećera u kljancima brokule (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.), te navedene fitokemikalije sortirati prema stupnju njihove stabilnosti/osjetljivosti spram visoke temperature. U tu svrhu, u zimskim mjesecima 2021./2022. g. uzgojili smo šest bioloških replika kljianaca brokule pri visokoj temperaturi (38 °C dan/33 °C noć) i, kao kontrolu, šest bioloških replika pri regularnoj temperaturi (23 °C dan/18 °C noć). Ekstrakti liofiliziranog tkiva brokule pripremljeni su u različitim otapalima i provedene su spektrofotometrijske analize spomenutih grupa fitokemikalija. Visoka temperatura značajno je povećala koncentraciju ukupnih fenolnih spojeva i topivih šećera u kljancima brokule, ali smanjila koncentraciju ukupnih proteina i glukozinolata. Među testiranim spojevima kljianaca, najosjetljiviji na visoku temperaturu bili su topivi šećeri čija se koncentracija gotovo udvostručila, a najstabilniji ukupni proteini. Zaključno, visoka temperatura specifično je utjecala na različite skupine fitokemikalija u kljancima brokule, što sugerira potrebu dalnjih detaljnijih istraživanja.

Ključne riječi: fitokemikalije, globalno zatopljenje, klimatske promjene, kupusnjače

HIGH TEMPERATURE CHANGES TOTAL PHENOLICS, GLUCOSINOLATES, SUGARS AND PROTEINS LEVEL IN BROCCOLI SPROUTS (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.)

D. Gmižić, I. Šola

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (daria.gmizic@biol.pmf.hr)

With current climate change, plants are exposed to rising temperatures which affect their phytochemical composition. This work was aimed to investigate the effect of high temperature on the concentration of total phenolics, proteins, glucosinolates and soluble sugars in broccoli sprouts (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.), and to sort phytochemicals according to the level of their stability/susceptibility to high temperature. To investigate this, in the winter of 2021/2022, we cultivated six biological replicas of broccoli sprouts at high temperature (38 °C day/33 °C night) and six biological replicas at regular temperature (23 °C day/18 °C night) as a control group. Extracts of lyophilized broccoli tissue were made in different types of solvents, and phytochemicals were measured spectrophotometrically. According to the results, high temperature significantly increased the concentration of total phenolics and soluble sugars, however, decreased the concentration of total proteins and glucosinolates. Out of these phytochemicals, the most susceptible to change under high temperature were soluble sugars, which almost doubled in their concentration, and the least susceptible were total proteins. In conclusion, high temperature specifically affected different groups of broccoli phytochemicals, and further research in more details is definitely needed.

Keywords: Brassicaceae, climate changes, global warming, phytochemicals

P-103

PROTEIN BPM1 SUDJELUJE U REGULACIJI METILACIJE DNA DE NOVO I EKSPRESIJE GENA TIJEKOM EMBRIogeneZE UROČNJAKA (*Arabidopsis thaliana*)

M. Jagić¹, T. Vuk¹, L. Markulin¹, S. Mihaljević², N. Bauer¹, D. Leljak Levanić¹

¹Biološki odsjek, Zavod za molekularnu biologiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska (mateja.jagic@biol.pmf.hr), ²Laboratorij za kemijsku biologiju, Zavod za molekularnu biologiju, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska

U biljaka proces embriogeneze, može započeti iz oplođene jajne stanice (zigotna embriogeneza), ali i indukcijom somatskih stanica (somatska embriogeneza). U oba slučaja dolazi do značajnog epigenetičkog reprogramiranja, a jedan od ključnih mehanizama je metilacija DNA posredovanu malim molekulama RNA (engl. RNA-directed DNA methylation, RdDM) koja osigurava metilaciju de novo. Uročnjakov protein BPM1 dio je velike porodice proteina MATH-BTB koji sudjeluju u brojnim razvojnim procesima biljaka i životinja kao komponente proteina ubikvitinskih ligaza ovisnih o kulinu. Dodatno, protein BPM1 stupa u interakciju s proteinima DMS3 i RDM1, važnim komponentama u procesu RdDM-a. Interakcije se ostvaruju neovisno o kulinu, upućujući na ulogu proteina BPM1 u regulaciji metilacije DNA de novo. Kromatinskom imunoprecipitacijom identificirane su zajedničke vezne regije proteina BPM1 i DMS3 na genomu uročnjaka te su odabrani geni na kojima su provedene analize ekspresije i metilacije u somatskim i zigotnim embrijima uročnjaka. Također, ispitana je učinkovitost indukcije somatskih embrija u transgeničnim linijama s prekomjernom ekspresijom proteina BPM1 ili DMS3, u liniji s utišanim genima BPM te liniji s nefunkcionalnim proteinom DMS3. Embriogeni potencijal linije s utišanim genima BPM bio je smanjen, dok u linijama s prekomjernom ekspresijom nije došlo do značajnih promjena u odnosu na divlji tip. Dobiveni rezultati upućuju na novu ulogu proteina MATH-BTB u regulaciji metilacije DNA tijekom embriogeneze.

Ključne riječi: zigotna embriogeneza, somatska embriogeneza, metilacija DNA de novo, BPM1, *Arabidopsis thaliana*

BPM1 PROTEIN IS INVOLVED IN THE REGULATION OF DE NOVO DNA METHYLATION AND GENE EXPRESSION DURING *Arabidopsis thaliana* EMBRYOGENESIS

M. Jagić¹, T. Vuk¹, L. Markulin¹, S. Mihaljević², N. Bauer¹, D. Leljak Levanić¹

¹Division of Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (mateja.jagic@biol.pmf.hr), ²Laboratory for Chemical Biology, Division of Molecular Biology, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia

In plants, the process of embryogenesis can begin from fertilized egg cell (zygotic embryogenesis), but also with the induction of somatic cells (somatic embryogenesis). In both cases, significant epigenetic reprogramming occurs, and one of the key mechanisms is RNA-directed DNA methylation (RdDM) that ensures de novo methylation. *Arabidopsis* BPM1 protein is part of a large MATH-BTB protein family known to participate in a number of plant and animal developmental processes as components of cullin-dependent ubiquitin ligases. Additionally, BPM1 protein interacts with DMS3 and RDM1 proteins, important components of the RdDM pathway. Those interactions occur in a cullin-independent manner, suggesting the role of BPM1 protein in regulating de novo DNA methylation. Common binding regions of the BPM1 and DMS3 in the *Arabidopsis* genome were identified by chromatin immunoprecipitation and expression and methylation analyzes of selected genes were performed in the *Arabidopsis* zygotic and somatic embryos. Also, the efficiency of somatic embryos induction in transgenic lines with BPM1 or DMS3 overexpression, in the line with silenced BPM genes and the line with the non-functional DMS3 protein, was investigated. The embryogenic potential of the line with silenced BPM genes was reduced, while there were no significant changes of overexpressing lines compared to the wild type. Results obtained here point to a role of MATH-BTB proteins in regulation of DNA methylation during embryogenesis.

Keywords: zygotic embryogenesis, somatic embryogenesis, RdDM, BPM1, *Arabidopsis thaliana*

P-104

AKUMULACIJA ŠKROBA U MALOJ VODENOJ LEĆI USLIJED IZLAGANJA POVIŠENOM SALINITETU I 6-BENZILAMINOPURINU

D. Lazić¹, K. Živković¹, D. Horvat², M. Viljevac Vuletić², V. Cesar^{1,3}, V. Peršić¹, J. Antunović Dunić¹

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Ulica cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek (dora.lazic@biologija.unios.hr, katja.zivkovic@biologija.unios.hr, vcesarus@yahoo.com, vpersic@biologija.unios.hr, jantunovic@biologija.unios.hr)

²Poljoprivredni institut Osijek Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, (daniela.horvat@poljinos.hr, marija.viljevac@poljinos.hr), ³Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Crkvena 21, 31000 Osijek, Hrvatska

Vodena leća (*Lemna minor* L.) je mali plutajući makrofit visokog kapaciteta bioakumulacije i fitoremedijacije otpadnih voda te visokog prinosa suhe tvari, celuloze i škroba. Odgovarajuća

manipulacija uvjetima rasta može osigurati znatno povećanje akumulacije škroba. Cilj istraživanja je ispitati utjecaj fitohormona 6-benzilaminopurina (1 μ M 6-BA) i povišenog saliniteta (50, 100, 150 mM NaCl), pojedinačno i u kombinaciji, na akumulaciju škroba i fenola, kao i na antioksidacijski kapacitet male vodene leće. Nakon desetodnevног eksperimenta, povišeni salinitet smanjio je prirast i veličinu frondova male vodene leće, dok je fitohormon 6-BA imao stimulativno djelovanje. Istovremeno, progresivna akumulacija škroba zabilježena je spektrofotometrijskim mjerjenjem, a na histološkim preparatima u mezofilu frondova pokazano je pojačano nakupljanje škrobnih zrnaca. Sadržaj polifenolnih kiselina (klorogenica, ferulična, p-kumarinska i siringilna), određen HPLC-om, razlikovalo se ovisno o koncentraciji soli. Viši salinitet značajno je smanjio ukupni sadržaj fenola ukazujući na stresne učinke soli. Usljed djelovanja povišenog saliniteta i fitohormona u kombinaciji zabilježen je visok sadržaj fenola i snažna antioksidacijska aktivnost. Dobiveni rezultati ukazuju na učinkovit mehanizam tolerancije na povišen salinitet, što malu vodenu leću čini izvrsnom potencijalnom sirovinom za proizvodnju bioetanola u umjereno zaslanjenim ekosustavima.

Ključne riječi: *Lemna minor* L., natrijev klorid, citokinin, polifenolne kiseline, škrobna zrnca, svjetlosna mikroskopija, biogorivo

STARCH ACCUMULATION IN COMMON DUCKWEED INDUCED BY INCREASED SALINITY AND 6-BENZYLAMINOPURINE

D. Lazić¹, K. Živković¹, D. Horvat², M. Viljevac Vuletić², V. Cesar^{1,3}, V. Peršić¹, J. Antunović Dunić¹

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Ulica cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (dora.lazic@biologija.unios.hr, katja.zivkovic@biologija.unios.hr, vcesarus@yahoo.com, vpersic@biologija.unios.hr, jantunovic@biologija.unios.hr), ²Agricultural Institute Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Croatia (daniela.horvat@poljinos.hr, marija.viljevac@poljinos.hr), ³Faculty of Dental Medicine and Health, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Crkvena 21, 31000 Osijek, Croatia

Common duckweed (*Lemna minor* L.), a small floating macrophyte with a high phytoremediation and bioaccumulation capacity, is characterized by high dry matter yield, cellulose, and starch content. Appropriate manipulation of growing conditions can provide a substantial increase in starch accumulation. Hence, this study aimed to investigate the impact of individual and simultaneous exposure to phytohormone 6-benzylaminopurine (1 μ M 6-BA) and increased salinity (50, 100, 150 mM NaCl) on starch and phenolics accumulation, as well as on the antioxidant capacity of common duckweed. After ten days of exposure, increased salinity inhibited duckweed's growth rate and frond size, while 6-BA stimulated it. Simultaneously, the progressive accumulation of starch due to increased salinity was measured and localized on semi-thin microscopic sections in the mesophyll layer. The content of polyphenolic acids (chlorogenic, ferulic, p-coumaric, and syringyl acid), determined by HPLC, differed depending on salinity level. Higher salinity caused a significant decrease in the total phenolic content, indicating salt's negative effect. However, high phenolic content and potent antioxidant activity were observed in the combination of salt and phytohormone. These results suggest an effective tolerance mechanism to increased salinity, making duckweeds an excellent potential feedstock for bioethanol production in moderately saline ecosystems.

Keywords: *Lemna minor* L., sodium chloride, cytokinin, polyphenolic acid, starch grains, light microscopy, biofuel

P-105

PROFIL EKSPRESIJE MARKER GENA UKLJUČENIH U OBRAMBENI ODGOVOR POSREDOVAN JASMONSKOM KISELINOM, U INTERAKCIJI VIROIDA VRETENASTOG GOMOLJA KRUMPIRA (PSTVD) I KRUMPIRA

I. Marković¹, M. Jagić², J. Milanović³, I. Habuš Jerčić⁴, S. Kereša⁴, D. Leljak Levanić², S. Mihaljević¹

¹Laboratorij za kemijsku biologiju, Zavod za molekularnu biologiju, Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (Iva.Markovic@irb.hr), ²Biološki odsjek, Zavod za molekularnu biologiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska, ³Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Gorice 68b, 10000 Zagreb, Hrvatska, ⁴Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb

Viroidi su male kružne nekodirajuće RNA molekule. Patogeneza viroida povezana je s poremećajem staničnog metabolizma i obrambenih signalnih putova, kroz transkripcijsku ili posttranskripcijsku modulaciju ekspresije gena. Istražili smo signalne putove u krumpiru (*Solanum tuberosum* L.) usredotočivši se na signalni put jasmonske kiseline (JA) u odgovoru na infekciju virodom vretenastog gomolja krumpira (PSTVd). U istraživanju smo koristili transgene JA-deficijentne (StOPR3-RNAi) i JA-neosjetljive (StCOI1-RNAi) linije i biljke divljeg tipa (WT). Dinamika akumulacije viroida i analiza ekspresije gena uključenih u obrambeni odgovor biljke praćena je od 1 do 8 wpi, metodom PCR u stvarnom vremenu. Od 2 do 6 wpi, razina viroidne RNA bila je značajno veća u sistemski zaraženim listovima opr3 biljaka u usporedbi s coi1 i WT biljkama, što ukazuje na povećanu osjetljivost JA-deficijentnih biljaka na PSTVd. Geni povezani s patogenetizmom, PR1 i PR2, bili su jače eksprimirani u JA-deficijentnim i WT biljkama, a manje u JA-neosjetljivim mutantama. Komponente JA signalinga kao što su geni COI1, JAZ1, MPK4 i PAL, bili su manje eksprimirani u zaraženim biljkama svih ispitanih linija, a posebno u JA-neosjetljivim biljkama. Analiza transgenih linija također je otkrila smanjeno nakupljanje vodikovog peroksida i kaloze, što je u skladu s obrascima ekspresije gena za peroksidaze i kaloza sintazu. Čini se da inhibicija JA odgovora u coi1 biljkama rezultira privremenom odgodom razvoja simptoma.

Ključne riječi: diferencijalna ekspresija gena, jasmonska kiselina, signaling, krumpir, viroidi

EXPRESSION PROFILING OF MARKER GENES RESPONSIVE TO THE DEFENSE-ASSOCIATED PHYTOHORMONE JASMONIC ACID IN POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTVD)-POTATO INTERACTION

I. Marković¹, M. Jagić², J. Milanović³, I. Habuš Jerčić⁴, S. Kereša⁴, D. Leljak Levanić², S. Mihaljević¹

¹Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (Iva.Markovic@irb.hr),

²Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia, ³Centre for Plant Protection, Croatian Agency for Agriculture and Food, Gorice 68b, 10000 Zagreb, Croatia, ⁴Division of Plant Science, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia

Viroids are small circular RNA molecules that do not encode proteins. The pathogenesis of viroids is associated with disruption of cellular metabolism and defense signaling pathways through transcriptional or posttranscriptional modulation of gene expression. We investigated potato

(*Solanum tuberosum* L.) defense signaling pathways focusing on the jasmonic acid (JA) signaling pathway in response to Potato spindle tuber viroid (PSTVd) using transgenic JA-deficient (*StOPR3-RNAi*), JA-insensitive (*StCOI1-RNAi*), and wild-type (WT) plant lines. The dynamics of systemic viroid replication and expression of selected defense-related host genes were monitored from 1 to 8 wpi by real-time PCR. From 2 to 6 wpi, viroid RNA levels were significantly higher in infected leaves of *opr3* compared with *coi1* and WT plants, indicating increased susceptibility of JA-deficient plants to PSTVd. The pathogenesis-related genes PR1 and PR2 were up-regulated in both JA-deficient and WT plants, but less so in JA-insensitive mutants. Components of JA signaling such as the COI1, JAZ1, MPK4, and PAL genes were down-regulated in infected plants of all lines examined, especially in JA-insensitive plants. Evaluation of these transgenic lines also revealed reduced hydrogen peroxide and callose accumulation, consistent with the expression patterns of the peroxidase and callose synthase genes. It appears that inhibition of the JA response in *coi1* plants results in a temporary delay in symptom development.

Keywords: differential gene expression, jasmonic acid, potato, signaling, viroids

P-106

UTJECAJ PRODUŽENOG FOTOPERIODA NA POKRETAČKE SILE FOTOSINTEZE KONOPLJE

S. Mlinarić¹, A. Vicić², M. Šrager Gajdošik², V. Gvozdić², L. Begović¹

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (smmlinarić@biologija.unios.hr, lidija.begovic@biologija.unios.hr), ²Odjel za kemiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (antonija.vicic@kemija.unios.hr, mgajdosik@kemija.unios.hr, vgvozdic@kemija.unios.hr)

Cannabis sativa L. subsp. *sativa*, ili industrijska konoplja, stoljećima se uzgaja zbog nutritivnih i ljekovitih svojstava. Nedavno je predstavljena kao funkcionalna hrana s neograničenim zdravstvenim prednostima i bioaktivnim svojstvima. Uzgoj u zatvorenom prostoru podrazumijeva kontrolu životnog ciklusa biljke, optimalnu kvalitetu svjetlosti, količinu i fotoperiod što dovodi do snažnog porasta biomase konoplje kao i proizvodnje željenog profila kanabinoida. Konoplja je primarno biljka kratkog dana i manipulacije u fotoperiodu mogu pogodovati vegetativnom rastu ili pak stvaranju cvjetova. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj različitih fotoperioda (16/8, 20/4 i 24/0; 250 umol m⁻²s⁻¹) na fotosintetsku učinkovitost u dvije sorte konopije (Finola i USO) mjerenjem brze fluorescencije klorofila *a*. Obje sorte pokazale su najniži indeks fotosintetske učinkovitosti (PItotal) na 20/4 u usporedbi s 16/8, što upućuje da je ovo bio najnepovoljniji omjer svjetla i tame. Izračunom ukupnih pokretačkih sila fotosinteze (DFtotal), uočene su značajne negativne vrijednosti na 20/4 u obje sorte. Procjena djelomičnih pokretačkih sila pokazala je da su smanjenja DFtotal bila rezultat negativnih konstanti brzine prijenosa elektrona između dva fotosustava (yE0) kao i zbog događaja koji uključuju PSI (dR0). Takvi rezultati ukazuju da je izlaganje fotoperiodu 20/4 dovelo do smanjenja doprinosa reakcija neovisnih o svjetlosti ukupnom potencijalu pretvorbe energije u obje sorte konoplje.

Ključne riječi: Industrijska konoplja, fotoperiod, indeks fotosintetske učinkovitosti, fotosintetski elektro potencijal

EFFECT OF PROLONGED PHOTOPERIOD ON DRIVING FORCES FOR PHOTOSYNTHESIS IN CANNABIS

S. Mlinarić¹, A. Vicić², M. Šrainer Gajdošik², V. Gvozdić², L. Begović¹

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 8/A, -31000 Osijek, Croatia (smlinarić@biologija.unios.hr, lbegovic@biologija.unios.hr), Department of Chemistry, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (antonija.vicic@kemija.unios.hr, mgajdosik@kemija.unios.hr, vgvozdic@kemija.unios.hr)

Cannabis sativa L. subsp. *sativa*, or industrial hemp, has been cultivated for centuries for its nutritional and medicinal benefits. Recently, it has been introduced as functional food with indefinite health benefits and bioactive properties. Indoor cultivation implies control of plant life cycle, the optimum light quality, quantity and photoperiod which leads to a dynamic growth of *Cannabis* biomass as well as the production of desirable cannabinoid profile. *Cannabis* is a primary short-day plant and manipulations in photoperiod can favor vegetative growth or flower initiation. The aim of this study was to determine the influence of different photoperiods (16/8, 20/4 and 24/0; 250umol m⁻²s⁻¹) on the photosynthetic efficiency in two cultivars of Cannabis (Finola and USO) by measuring fast chlorophyll *a* fluorescence. Both cultivars revealed lowest total performance index (PItotal) at 20/4 compared to 16/8 suggesting this was the least favorable light/dark ratio. By calculating total driving forces for photosynthesis (DFtotal), significant negative values were observed at 20/4 in both cultivars. Estimation of partial driving forces revealed that reductions in DFtotal were the result of more negative rate constants for electron transport between two photosystems (*yE0*) as well as of the events that involve PSI (*dR0*). Such results suggested that exposure to 20/4 photoperiod decreased the contribution of dark reactions to the overall potential of energy conversion in both *Cannabis* cultivars.

Keywords: Industrial hemp, photoperiod, performance index, photosynthetic electro potential

P-107

REDOKS STATUS OZIME PŠENICE IZLOŽENE SUŠI POČETKOM STADIJA VLATANJA

G. Mirković¹, T. Gutić¹, R. Vuković¹, I. Štolfa Čamagajevac¹, A. Vuković¹, J. Duvnjak², K. Šunić², N. Sabo¹, A. Lučić¹, V. Španić²

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (gabrijel.mirkovic@biologija.unios.hr, tea.gutic@biologija.unios.hr, rosemary@biologija.unios.hr; istolfa@biologija.unios.hr; avukovic@biologija.unios.hr, nsabo@biologija.unios.hr, ana.lucic@biologija.unios.hr), ²Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Hrvatska (jurica.duvnjak@poljinos.hr, katarina.sunic@poljinos.hr, valentina.spanic@poljinos.hr)

U uvjetima nedostatka vode dolazi do nakupljanja reaktivnih kisikovih tvari koje narušavaju staničnu redoks homeostazu te uzrokuju oksidacijsko oštećenje biomolekula. U održavanju stanične redoks homeostaze značajnu ulogu imaju metaboliti kao što su neenzimski antioksidansi, askorbat (AsA) i glutation (GSH), koji direktno ili indirektno kao kosupstrati antioksidacijskih enzima, neutraliziraju slobodne radikale. Cilj je ovog istraživanja odrediti utjecaj srednjeg i visokog intenziteta suše na redoks status različitih genotipova ozime pšenice

početkom stadija vlatanja, kada biljka ima veću potrebu za hranjivima i vodom čiji nedostatak može znatno utjecati na formiranje klasnog vretena i broj klasića, a time i na prinos zrna. Uz pokazatelje oksidacijskog statusa, vodikov peroksid (H_2O_2) i malondialdehid, kao biomarkeri redoks statusa stanice određivani su i AsA i GSH, te njihovi oksidirani oblici (DHA i GSSG). Šest genotipova koji se međusobno razlikuju u tolerantnosti na sušu pokazali su različiti redoks status. Količine malondialdehida i H_2O_2 povećane su u svih genotipova uslijed visokog intenziteta suše, a u osjetljivim genotipovima i uslijed srednjeg intenziteta suše. Sadržaj metabolita AsA, GSH, GSSG i DHA ovisio je o genotipu i intenzitetu suše. Viši omjeri GSH/GSSG i AsA/DHA pridonijeli su otpornosti tolerantnijih genotipova pšenice na sušu početkom stadija vlatanja.

Ključne riječi: pšenica, suša, oksidacijski status, antioksidacijski odgovor, glutation

REDOX STATUS OF WINTER WHEAT EXPOSED TO DROUGHT IN THE EARLY STEM ELONGATION PHASE

G. Mirković¹, T. Gutić¹, R. Vuković¹, I. Štolfa Čamagajevac¹, A. Vuković¹, J. Duvnjak², K. Šunić², N. Sabo¹, A. Lučić¹, V. Španić²

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (gabrijel.mirkovic@biologija.unios.hr, tea.gutic@biologija.unios.hr, rosemary@biologija.unios.hr, istolfa@biologija.unios.hr, avukovic@biologija.unios.hr, nsabo@biologija.unios.hr, ana.lucic@biologija.unios.hr), ²Agricultural Institute Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Croatia (jurica.duvnjak@poljinos.hr, katarina.sunic@poljinos.hr, valentina.spanic@poljinos.hr)

In water-deficit conditions reactive oxygen species accumulate, thus disrupting cell redox homeostasis and inducing oxidative damage to biomolecules. Metabolites such as non-enzymatic antioxidants, ascorbate (AsA) and glutathione (GSH), which directly or indirectly as cosubstrates of antioxidant enzymes neutralize free radicals, have an essential role in maintaining cellular redox homeostasis. This study aims to determine the impact of moderate and severe drought intensity on the redox status of different winter wheat genotypes at the beginning of the stem elongation phase when the plant has a greater demand for nutrients and water, the lack of which can significantly affect the formation of head spindle and number of the spikelets and consequently the grain yield. In addition to oxidative status indicators, hydrogen peroxide (H_2O_2) and malondialdehyde, AsA and GSH, as well as their oxidized forms (DHA and GSSG), were determined as biomarkers of cell redox status. Six genotypes that differed in drought tolerance showed different redox statuses. Contents of both malondialdehyde and H_2O_2 were higher in all wheat genotypes under severe drought and in susceptible genotypes under moderate drought intensity. The content of metabolites AsA, GSH, GSSG, and DHA depended on the genotype and the drought intensity. Higher GSH/GSSG and AsA/DHA ratios contributed to drought tolerance in more resistant genotypes during the early stem elongation phase.

Key words: wheat, drought, oxidative status, antioxidative response, glutathione

P-108

PLAZMOM AKTIVIRANA VODA (PAV) KAO KORISTAN BIOSTIMULANS ZA KLIJANJE SJEMENA I RAST BILJAKA PAPRIKE (*Capsicum annuum L.*)

B. Salopek-Sondi¹, I. Orehovec¹, S. Valić¹, M. Ilakovac Kveder¹, S. Milošević², M. Rakić², B. Japundžić-Palenkić³, N. Romanjek Fajdetić³, T. Benković Lačić³, R. Benković³, S. Antunović³, K. Miroslavljević³

¹Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (salopek@irb.hr), ²Institut za fiziku, Bijenička cesta 46, 10000, Zagreb, Hrvatska, ³Sveučilište Slavonski Brod, Trg Ivane Brlić Mažuranić 2, 35000 Slavonski Brod, Hrvatska

Klijanje sjemena i rast biljaka glavni su uvjeti za uspješnu poljoprivrednu proizvodnju mnogih usjeva, osobito u doba trenutnih klimatskih promjena koje mogu ugroziti rast biljaka i prinos usjeva. Stoga je biostimulacija klijanja sjemena i poboljšanje snage biljaka korištenjem različitih sredstava jedan od pristupa koji se koristi u poljoprivredi. Plazmom aktivirana voda (PAW) je ekološki prihvatljivo, u posljednje vrijeme vrlo popularno sredstvo koje se koristi u mnogim eksperimentalnim pristupima za poboljšanje rasta biljaka, vitalnosti i tolerancije na nepovoljne okolišne uvjete. PAW je generiran mlazom plazme i analiziran na sadržaj ROS i NO prije upotrebe. Sjeme dviju sorti paprike (*C. annuum*), Bernita i Bibic, tretirano je preko noći PAW i kontrolnom vodom te su u laboratorijskim uvjetima provedena ispitivanja klijavosti i rasta klijanaca. Nadalje, sjeme (tretirano PAW i kontrola) je posađeno u staklenik, a dvomjesečne biljke ispitane su na proizvodnju biomase, sadržaj bioaktivnih biljnih spojeva (ukupni fenoli, flavonoidi, fenolne kiseline, prolin) i antioksidacijski kapacitet. Konačno, kvaliteta uroda paprike ispitana je u PAW i kontrolnim biljkama. Pokazalo se da PAW ima tendenciju poboljšanja klijavosti sjemena i rasta presadnica, kao i bujnosti biljaka i kvalitete usjeva.

ključne riječi: Plazmom aktivirana voda, paprika, klijanje sjemena, rast biljaka

PLASMA ACTIVATED WATER (PAW) AS USEFUL BIOSTIMULANS FOR PEPPER (*Capsicum annuum* L.) SEED GERMINATION AND PLANT VIGOR

B. Salopek-Sondi¹, I. Orehovec¹, S. Valić¹, M. Ilakovac Kveder¹, S. Milošević², M. Rakić², B. Japundžić-Palenkić³, N. Romanjek Fajdetić³, T. Benković Lačić³, R. Benković³, S. Antunović³, K. Miroslavljević³

¹Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (salopek@irb.hr), ²Institute of Physics, Bijenička cesta 46, 10000, Zagreb, Croatia, ³Biotechnical Department, University of Slavonski Brod, Trg Ivane Brlić Mažuranić 2, 35000 Slavonski Brod, Croatia

Proper seed germination and plant growth are main requirements for successful agricultural production of many crops, particularly in the era of current climate changes that may jeopardize plant growth and crop yield. Thus, biostimulation of seed germination and improvement of plant strength by using different agents is one of the approaches used in agriculture. Plasma activated water (PAW) is eco-friendly, recently very popular agent used in many experimental designs for improvement of plant growth, vigor and tolerance to unpleasant environmental conditions. PAW was generated with the plasma jet and analyzed for ROS and NO content before use. Seed of two pepper (*C. annuum*) varieties, Bernita and Bibic, were treated with PAW and control water over night and tests of germination and seedlings growth were performed in laboratory conditions. Furthermore, seeds (PAW treated and control) were planted in greenhouse and 2 months plants were examined for biomass production, content of bioactive plant compounds (total phenolics, flavonoids, phenolic acids, proline) and antioxidative activity. Finally, the pepper crop quality was examined in PAW and control plants. It was shown that PAW has tendency to improve seed germination and seedlings growth, as well as plant vigor and crop quality.

Keywords: Plasma activated water, pepper, seed germination, plant vigor

P-109

SPECIJALIZIRANI METABOLITI U BILJKAMA "ŽIVIM FOSILIMA": VAŽAN FAKTOR ZA PREŽIVLJAVANJE U NEPOVOLJNIM OKOLIŠNIM UVJETIMA

D. Šamec¹, E. Karalija², B. Šarkanji¹

¹Odjel za prehrambenu tehnologiju, Sveučilišni centar Koprivnica, Sveučilište Sjever, Trg Dr. Žarka Dolinara 1, 48000, Koprivnica, Hrvatska (dsamec@unin.hr, bsarkanj@unin.hr), ²Odsjek za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu, Zmaja od Bosne 33-35, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina (erna.k@pmf.unsa.ba)

Biljke koje su se razvile u ranijim epohama, no opstale na zemlji do danas poznate su kao "živi fosili". Karakterizira ih fascinantna prilagodba na nepovoljne okolišne uvjete uvjete koja im je omogućila opstanak do današnjih dana. Okolišni stres može se definirati kao svaka promjena uvjeta rasta u prirodnom staništu biljke koja mijenja ili remeti njezinu metaboličku homeostazu. Kao sesilni organizmi, biljke reagiraju na stresne uvjete promjenama u obrascu ekspresije gena proteina koji kontroliraju biosintezu metabolita uključenih u interakcije između biljke i njezine okoline. Stoga je biosinteza i raznolikost specijaliziranih metabolita ključna za preživljavanje u stresnom okruženju. Metaboličko profiliranje "živih fosila" važna je poveznica za objašnjenje prilagodbe biljaka na promjenjive okolišne uvjete. U sklopu postera prezentirat će se rezultati metaboličkog profiliranja "živih fosilnih" biljaka *Psilotum nudum* L., *Equisetum* sp. i *Ginkgo biloba* L. dobiveni posljednjih godina korištenjem multiplatformskog metaboličkog profiliranja, kao i najnoviji podaci dobiveni u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost „Uloga biflavonoida u biljkama: *Ginkgo biloba* L. kao modelni sustav“ (UIP-2019-04-1018).

Ključne riječi: "živi fosili", specijalizirani biljni metaboliti, *Ginkgo biloba* L., *Psilotum nudum* L., *Equisetum* sp.

SPECIALIZED METABOLITES IN „LIVING FOSSIL“ PLANTS: IMPORTANT FACTORS FOR SURVIVAL IN A CHANGING ENVIRONMENT

D. Šamec¹, E. Karalija², B. Šarkanji¹

¹Department of Food Technology, University Center Koprivnica, University North, Trg Dr. Žarka Dolinara 1, 48000, Koprivnica, Croatia (dsamec@unin.hr, bsarkanj@unin.hr), ²Department for Biology, Faculty of Science, University of Sarajevo, Zmaja od Bosne 33-35, 71000 Sarajevo, Bosnia and Herzegovina (erna.k@pmf.unsa.ba)

Plants that lived in ancient times and still survive on earth today are known as a "living fossils." These plants are characterised by a fascinating adaptation to adverse environmental conditions that has allowed them to survive to the present day. Environmental stress can be defined as any change in growth conditions in the plant's natural habitat that alters or disrupts its metabolic homeostasis. As sessile organisms, plants respond to stress conditions with changes in the gene expression pattern of proteins that control the biosynthesis of metabolites involved in the interactions between a plant and its environment. Thus, the biosynthesis and diversity of specific metabolites is critical for survival in a stressful environment. Metabolic profiling of "living fossils"

is an important link to explain plant adaptation to changing environmental conditions. This poster will present the results of metabolic profiling of "living fossil" plants *Psilotum nudum* L., *Equisetum* sp. and *Ginkgo biloba* L. obtained in recent years using multiplatform metabolic profiling, as well as the most recent data obtained within the Croatian Science Foundation project "Biflavonoids role in plants: *Ginkgo biloba* L. as a model system" (UIP-2019-04-1018).

Keywords: "living fossils", plant specialized metabolites, *Ginkgo biloba* L., *Psilotum nudum* L., *Equisetum* sp.

P-110

VODENI EKSTRAKTI KLIJANACA BROKULE MIJENJAJU STUPANJ GLIKACIJE PROTEINA I AKTIVNOST ENZIMA α -LIPAZE: UTJECAJ VISOKE TEMPERATURE UZGOJA

I. Šola, S. Gulin, V. Vujičić Bok, D. Pavoković, G. Rusak

Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ivana.sola@biol.pmf.hr)

Biljke se visokoj temperaturi (VT) prilagođavaju promjenom transkriptoma, proteoma i metaboloma. Takva prilagodljivost posljedica je njihovih intenzivnih promjena u biokemijskim putevima, što može značajno promijeniti i njihove biološke učinke. U ovom radu istražili smo učinak VT na antiglikacijski potencijal vodenog ekstrakta klijanaca brokule (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.), te njihovu mogućnost inhibicije α -lipaze, enzima potrebnog za hidrolizu prehrambenih lipida. Potencijal antiglikacije procijenjen je postotkom inhibicije stvaranja krajnjih produkata glikacije (AGEs, advanced glycation end products), a potencijal hidrolize prehrambenih lipida putem postotka inhibicije α -lipaze. Klijanci su uzgajani u klima komori s temperaturnim rasponom 23°C/16h, 18°C/8h - kontrolnu skupinu i 38°C/16h, 33°C/8h - VT). Ekstrakti su pripremljeni iz liofiliziranog biljnog materijala u kipućoj (100°C) vodi nakon čega je slijedila inkubacija na rotacijskom ekstraktoru 1 sat/23°C. Rezultati su pokazali da su vodeni ekstrakti HT-klijanaca brokule učinkovitiji u inhibiciji stvaranja AGEs od kontrolne skupine. Tijekom in vitro simulirane ljudske probave, potencijal inhibicije je povećan, ali je razlika između HT- i kontrolne skupine smanjena. S druge strane, aktivnost α -lipaze nije se značajno razlikovala ($p \leq 0,05$) između HT- i kontrole, a potencijal inhibicije tijekom probave se smanjio. Dodatna identifikacija proteina, čija se količina promjenila, je trenutno u procesu. Ovi rezultati pokazuju da HT značajno mijenja biopotencijal biljaka.

Ključne riječi: antiglikacijski potencijal, funkcionalna hrana, globalno zatopljenje, klijanci kupusnjača, pretilost

BROCCOLI SEEDLINGS WATER EXTRACTS CHANGE THE LEVEL OF PROTEIN GLYCATION AND ACTIVITY OF α -LIPASE: EFFECT OF HIGH GROWING TEMPERATURE

I. Šola, S. Gulin, V. Vujičić Bok, D. Pavoković, G. Rusak

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (ivana.sola@biol.pmf.hr)

Plants can adapt to high temperature (HT) by changing their transcriptome, proteome and metabolome. Such adaptability is due to their intensive shifts in biochemical pathways, which

can significantly change their bioactivity as well. In this work we investigated the effect of HT on the antiglycation and antiobesity potential of broccoli (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.) seedlings water extract. The antiglycation potential was estimated via the percentage of inhibition of advanced glycation end-products (AGEs) formation, and antiobesity potential via the percentage of inhibition of α -lipase, enzyme required for hydrolysis of dietary lipids. Seedlings were grown in a climatic chamber with temperature range 23°C/16h, 18°C/8h for control group, and 38°C/16h, 33°C/8h for HT group). The extracts were prepared from freeze-dried plant material using boiling (100°C) water followed by incubation on rotary extractor for 1 hour at 23°C. Results showed that water extracts of HT-broccoli seedlings were more efficient in the inhibition of AGEs than control group. During in vitro simulated human digestion, the inhibition potential was increased, however the difference between HT- and control group was reduced. On the other hand, the activity of α -lipase did not significantly ($p \leq 0.05$) differ between HT- and control group, and the inhibition potential during digestion was decreased. The identification of proteins that change during HT are in the process. These results show that HT significantly changes the biopotential of plants..

Keywords: antiglycation potential, antiobesity potential, functional food, global warming, brassicaceous microgreens

P-111

RAZVOJNO-SPECIFIČNE PROMJENE KONCENTRACIJE FENOLNIH SPOJEVA I VITAMINA C, TE ANTIOKSIDACIJSKOG POTENCIJALA KLIJANACA PEKINŠKOG KUPUSA

I. Šola, M. Dujmović, V. Vujičić Bok, G. Rusak

Biološki odjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ivana.sola@biol.pmf.hr)

Konzumacija svježih klijanaca kupusnjača značajno je porasla posljednjih godina, stoga je njihova nutritivna karakterizacija nužna. U ovom radu spektrofotometrijski je izmjerena udio ukupnih fenola, flavonola i hidroksicimetnih kiselina, te su novorazvijenom metodom tekućinske kromatografije visoke razlučivosti analizirani pojedinačni flavonoidi, fenolne kiseline i vitamin C. Određen je i antioksidacijski potencijal pet razvojnih stadija kineskog kupusa. Razvojni stadiji sadržavali su: 1) samo kotiledone (klijanci), 2) kotiledone i dva lista, 3) četiri lista, 4) šest listova ili 5) deset listova. Analiza glavnih komponenata (PCA) i hijerarhijsko grupiranje (HC) korišteni su za vizualizaciju trenda klasifikacije između faza. Klijanci su sadržavali više sinapinske kiseline i vitamina C od starijih biljaka. Biljke koje su sadržavale šest ili deset listova imale su više ferulične kiseline i izoramnetina od onih u ranijim fazama razvoja. Ukupni fenoli, flavonoli, hidroksicimetne kiseline, kvercetin i antioksidacijski potencijal nisu se statistički razlikovali između klijanaca i stadija sa šest ili deset listova, te su njihove koncentracije bile značajno veće nego u stadijima s dva ili četiri lista. PCA i HC potvrdili su veću fitokemijsku sličnost između klijanaca i biljaka sa šest ili deset listova, nego biljaka s dva ili četiri lista. Na temelju navedenih parametara, klijanci kineskog kupusa i biljke sa šest ili deset listova bile bi bolji odabir od biljaka s dva ili četiri lista.

Ključne riječi: fenolne kiseline, flavonoidi, klijanci kupusnjača, L-askorbinska kiselina, nutritivni potencijal

DEVELOPMENTALLY-RELATED CHANGES IN PHENOLIC AND L-ASCORBIC ACID CONTENT, AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF CHINESE CABBAGE SPROUTS

I. Šola, M. Dujmović, V. Vujčić Bok, G. Rusak

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (ivana.sola@biol.pmf.hr)

The human consumption of fresh cruciferous sprouts has significantly increased in recent years, therefore, their nutritional characterization has become urgent. In this study the contents of total phenolics, flavonols and hydroxycinnamic acids were measured spectrophotometrically, while individual flavonoids, phenolic acids and vitamin C were analysed using a newly developed high performance liquid chromatography method. Also, the antioxidant potential of five Chinese cabbage sprout growth stages was determined. These stages contained either cotyledons only (seedlings), cotyledons and two leaves, four leaves, six leaves, or ten leaves. Principal component analysis (PCA) and hierarchical clustering (HC) were used to visualize the classification trend between the stages. Seedlings contained more sinapic acid and vitamin C than older plants. Plants containing six or ten leaves had more ferulic acid and isorhamnetin than younger ones. Total phenolics, flavonols, hydroxycinnamic acids, quercetin and antioxidant capacity did not statistically differ between seedlings and stages with six or ten leaves and their concentrations were significantly higher than in stages with two or four leaves. PCA and HC confirmed the higher phytochemical similarity between seedlings and plants with six or ten leaves than plants with two or four leaves. Therefore, Chinese cabbage sprouts and plants with six or ten leaves should be preferred over plants with two or four leaves.

Keywords: cruciferous sprouts, flavonoids, L-ascorbic acid, nutritional potential, phenolic acids

P-112

BIPOTENCIJAL NEDOVOLJNO ISKORIŠTENIH CVJETNIH PUPOVA RUŽIČNJAČA

I. Šola¹, D. Poljuha², M. Mikulic-Petkovsek³, D. Davosir¹, M. Pinterić⁴, J. Bilic⁵, R. Veberic³, M. Hudina³, G. Rusak¹

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ivana.sola@biol.pmf.hr, ddavosir@stud.biol.pmf.hr, gordana.rusak@biol.pmf.hr), ²Department of Agriculture and Nutrition, Institut za poljoprivredu i turizam Poreč, Karla Huguesa 8, 52440 Poreč, Hrvatska (danijela@iptpo.hr), ³Department of Agronomy, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenija (maja.mikulic-petkovsek@bf.uni-lj.si), robert.veberic@bf.uni-lj.si, metka.hudina@bf.uni-lj.si), ⁴Zavod za molekularnu medicinu, Institut Ruđer Bošković, 10000 Zagreb, Hrvatska (Marija.Pinteric@irb.hr), ⁵Centar za istraživanje materijala Istarske županije - METRIS, Riva 6, 52100 Pula, Hrvatska (jbilic@iv.hr)

Cilj ovog rada bio je odrediti biopotencijal tkiva mladih cvjetnih pupova rodova *Prunus*, *Malus* i *Chaenomeles* kako bi se procijenila mogućnost njihove primjene u prehrambenoj industriji, te definirao polifenolni profil za kontrolu njihove kvalitete. Spektrofotometrijski je izmjerena sadržaj različitih bioaktivnih spojeva i njihov antioksidacijski kapacitet, analizirani su glavni fenolni spojevi metodom LC-DAD-MS, antidiabetički potencijal određen je testovima inhibicije α-amilaze i α-glukozidaze, protuupalni potencijal korištenjem testa inhibicije 5-lipoksigenaze, a

citotoksičnost je određena MTT testom. Različitim statističkim metodama definirani su odnosi između uzoraka i izmjerjenih parametara. Ukupno je identificirano 77 spojeva. Najučinkovitiji u inhibiciji antidiabetičkih enzima i protuupalne 5-lipoksgenaze bio je ekstrakt *C. japonica*. Inhibicija α -glukozidaze snažno je pozitivno korelirala s ukupnim i kondenziranim taninima, procyanidin dimerima i procyanidin tetramerom, te vrlo snažno s klorogenском kiselinom. U inhibiciji α -amilaze, ekstrakti *C. japonica* i *P. serrulata* 'Kiku Shidare Zakura' bili su jednakо učinkoviti kao standardni inhibitor, maltoza. Najučinkovitiji u inhibiciji rasta i proliferacije stanica HepG2, HCT116 i HaCaT bio je ekstrakt *P. avium*. Rezultati sugeriraju potencijalnu upotrebu cvjetnih pupova rodova *Prunus*, *Malus* i *Chaenomeles* kao funkcionalnih sastojaka hrane.

Ključne riječi: 5-lipoksgenaza, α -amilaza, α -glukozidaza, antidiabetički potencijal, antiupalni potencijal, citotoksičnost, funkcionalna hrana, LC-DAD-MS

BIPOTENTIAL OF UNDERUTILIZED ROSACEAE INFLORESCENCES

I. Šola¹, D. Poljuha², M. Mikulic-Petkovsek³, D. Davosir¹, M. Pinterić⁴, J. Bilić⁵, R. Veberic³, M. Hudina³, G. Rusak¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (ivan.a.sola@biol.pmf.hr, ddavosir@stud.biol.pmf.hr, gordana.rusak@biol.pmf.hr), ²Department of Agriculture and Nutrition, Institute of Agriculture and Tourism, Karla Huguesa 8, 52440 Poreč, Croatia (danijela@iptpo.hr), ³Department of Agronomy, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenia (maja.mikulic-petkovsek@bf.uni-lj.si, robert.veberic@bf.uni-lj.si, metka.hudina@bf.uni-lj.si), ⁴Division of Molecular Medicine, Ruđer Bošković Institute, 10000 Zagreb, Croatia (Marija.Pinteric@irb.hr), ⁵METRIS Research Centre, Istrian University of Applied Sciences, Riva 6, 52100 Pula, Croatia (jbilic@iv.hr)

The aim of this work was to assess the biopotential of the young inflorescence tissues of *Prunus*, *Malus* and *Chaenomeles* in order to evaluate the possibility of their application in the food industry, and to provide a polyphenolic fingerprint for their quality control. The contents of different bioactive compounds and their antioxidant capacities were spectrophotometrically measured, the main phenolic compounds were analysed using LC-DAD-MS, the antidiabetic potential was determined using α -amylase and α -glucosidase inhibition assays, the anti-inflammatory potential was determined using a 5-lipoxygenase inhibition assay, and the cytotoxicity was determined by MTT assay. Using different statistical methods, the relations between the samples and the measured parameters were revealed. In total, 77 compounds were identified. The most effective in the inhibition of antidiabetic enzymes and anti-inflammatory 5-lipoxygenase was *C. japonica*. The inhibition of α -glucosidase was strongly positively correlated with the total and condensed tannins, procyanidin dimers and procyanidin tetramer, and was very strongly correlated with chlorogenic acid. In α -amylase inhibition, *C. japonica* and *P. serrulata* 'Kiku Shidare Zakura' were equally efficient to the standard inhibitor, maltose. The most effective in the growth and proliferation inhibition of HepG2, HCT116 and HaCaT cells was *P. avium*. The results suggest *Prunus*, *Malus* and *Chaenomeles* inflorescences as functional food ingredients.

Keywords: 5-lipoxygenase, α -amylase, α -glucosidase, antidiabetic potential, anti-inflammatory potential, cytotoxicity, functional food, LC-DAD-MS

P-113

ODGOVOR MAHOVINE *Physcomitrium patens* NA INFEKCIJU VIRUSOM MOZAIIKA KRASTAVCA S PRIDRUŽENOM SATELITNOM RNA

I. Šola¹, J. Ludwig-Müller², G. Rusak¹

¹Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (ivana.sola@biol.pmf.hr), ²Institute of Botany, Technische Universität Dresden, 01062 Dresden, Njemačka

Informacije o interakciji između nevaskularnih biljaka i patogena vrlo su oskudne. Nevaskularne biljke poput mahovina (Bryophyta) znatno su manje zastupljene u svakodnevnom životu ljudi, stoga su i manje istražene u smislu biotičkog stresa. S obzirom da se ove biljke milijunima godina uspješno bore protiv patogena, proučavanje njihovih mehanizama obrane moglo bi pružiti vrijedne informacije o održavanju homeostaze u promjenjivom okruženju. Ovo je prvo istraživanje mogućnosti prijenosa virusa mozaika krastavca s pridruženom satelitnom RNA (CMVsat) u mahovinu *Physcomitrium patens*, i tek drugi dokaz mehaničke inokulacije virusa u *P. patens*. Koncentracija proteina omotača CMVsat bila je viša u biljkama inkubiranim virusom 10 nego 5 dana. CMVsat infekcija nije aktivirala biosintezu salicilne kiseline (SA) u mahovini. Glavni flavonoidni spoj bio je kvercetin i njegova se koncentracija povećala nakon infekcije. Što više, povećala se i koncentracija indol-3-octene kiseline (IAA). Razina CMVsat bila je niža u GH3-dvostrukim nokautima koji su, u kontrolnim uvjetima, pokazivali više razine IAA od divljeg tipa, a koncentracija IAA se nije mijenjala nakon infekcije u GH3-dvostrukim nokautima. Visoka koncentracija IAA u nokautima mogla bi biti čimbenik koji je smanjio virusnu infekciju. Interakcija između SA, kvercetina i IAA tijekom odgovora *P. patens* na CMVsat je moguća i stoga je izazovna tema za buduća istraživanja.

Ključne riječi: biotički stres, flavonoidi, indol-3-octena kiselina, nevaskularne biljke, salicilna kiselina

RESPONSE OF THE MOSS *Physcomitrium patens* TO SATELLITE-ASSOCIATED CUCUMBER MOSAIC VIRUS INFECTION

I. Šola¹, J. Ludwig-Müller², G. Rusak¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (ivana.sola@biol.pmf.hr), ²Institute of Botany, Technische Universität Dresden, 01062 Dresden, Germany

Knowledge on the interaction between non-vascular plants and pathogens is very scarce. Non-vascular plants like mosses (Bryophyta) are significantly less represented in people's daily life, therefore less investigated in terms of biotic stress. Given that these plants successfully fight pathogens for millions of years, studying their mechanisms of defence could provide valuable information on maintaining homeostasis in a changing environment. This study is the first to report on the transmission of a satellite-associated cucumber mosaic virus (CMVsat) into the moss *Physcomitrium patens*, and only the second report on the successful mechanical inoculation of a virus into *P. patens*. The concentration of the CMVsat coat protein was higher in plants incubated for 10 than for 5 days. The CMVsat infection did not activate the biosynthesis of salicylic acid (SA) in moss. The major flavonoid compound was quercetin and its concentration

increased after infection. Moreover, the concentration of indole-3-acetic acid (IAA) also increased. The level of CMVsat was lower in GH3-double knockouts which, under control conditions, showed higher IAA levels than wild type, and IAA did not change after infection in GH3-double knockouts. The high IAA concentrations in the knockouts could have been a factor that reduced viral infection. An interaction between SA, quercetin and IAA during the response of *P. patens* towards CMVsat is possible and therefore a challenging subject for future research.

Keywords: biotic stress, flavonoids, indol-3-acetic acid, non-vascular plants, salicylic acid

P-114

ULOGA ASKORBAT-GLUTATIONSKOГ CIKLUSA U TOLERANTNOSTI KLIJANACA OZIME PŠENICE NA OSMOTSKI STRES

I. Štolfa Čamagajevac¹, R. Vuković¹, A. Vuković¹, K. Šunić², N. Sabo¹, R. Sekulić¹, V. Španić²

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (avukovic@biologija.unios.hr, rosemary@biologija.unios.hr, istolfa@biologija.unios.hr, nsabo@biologija.unios.hr, ramona.sekulic@biologija.unios.hr),

²Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Hrvatska (katarina.sunic@poljinos.hr, valentina.spanic@poljinos.hr)

Nedostatak vode tijekom sjetve ozime pšenice znatno utječe na klijanje sjemena, te tijekom rasta klijanaca uzrokuje promjene u fiziološkim i biokemijskim procesima rezultirajući smanjenim rastom i razvojem klijanaca te u konačnici nižim prinosom zrna. Cilj je ovog istraživanja bio odrediti fiziološki i biokemijski odgovor različitim genotipova ozime pšenice na dvije razine osmotskog stresa u fazi klijanja i nicanja. Odgovor klijanaca pšenice na osmotski stres ovisio je o genotipu i jakosti osmotorskog stresa, te je bio izraženiji pri jačem osmotском stresu. Lipidna peroksidacija inducirana je u klijanaca većine genotipova ovisno o jačini osmotskog stresa, dok je antioksidacijski odgovor ovisio o genotipu. Antioksidacijski je odgovor određen mjerjenjem količine glutationa, te aktivnosti antioksidacijskih enzima kao i enzima askorbat-glutationskog (AsA-GSH) ciklusa. Najznačajniju ulogu u antioksidacijskom odgovoru klijanaca pšenice na osmotski stres imao je AsA-GSH ciklus. Klijanci svih genotipova su imali značajno povećanu količinu GSH kao i povećanu aktivnost glutation-reduktaze pri jačem osmotском stresu. Uz druge mehanizme tolerantnosti na sušu, pojačana aktivnost AsA-GSH ciklusa doprinosi većoj tolerantnosti genotipova otpornih na sušu. Dobiveni rezultati doprinijet će selekciji genotipova otpornih na sušu u ranoj fazi rasta, kao i razumijevanju kompleksnih mehanizama koji doprinose njihovoј tolerantnosti.

Ključne riječi: pšenica, osmotski stres, antioksidacijski odgovor, glutation, askorbinska kiselina

THE ROLE OF THE ASCORBATE-GLUTATHIONE CYCLE IN THE TOLERANCE OF WINTER WHEAT SEEDLINGS TO OSMOTIC STRESS

I. Štolfa Čamagajevac¹, R. Vuković¹, A. Vuković¹, K. Šunić², N. Sabo¹, R. Sekulić¹, V. Španić²

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (avukovic@biologija.unios.hr, rosemary@biologija.unios.hr, istolfa@biologija.unios.hr, nsabo@biologija.unios.hr, ramona.sekulic@biologija.unios.hr),

²Agricultural Institute Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Croatia
(katarina.sunic@poljinos.hr, valentina.spanic@poljinos.hr)

Water deficit during the winter wheat sowing period affects seed germination and causes changes in physiological and biochemical processes during seedling establishment, resulting in reduced growth and development of seedlings affecting overall grain yield productivity. This study aimed to evaluate the physiological and biochemical response of different winter wheat genotypes under two osmotic stress levels at the germination/seedling growth stage. Wheat seedlings' response to osmotic stress depended on the genotype and the severity of osmotic stress, whereas it was more pronounced at severe osmotic stress. Both osmotic stress levels induced lipid peroxidation in seedlings of most genotypes in a concentration-dependent manner, while the antioxidative response was genotype-specific. The antioxidative response was determined by measuring glutathione contents and activities of antioxidant enzymes as well as enzymes of the ascorbate-glutathione (AsA-GSH) cycle. The most significant role in the antioxidative response of wheat seedlings to osmotic stress had the AsA-GSH cycle. Seedlings of all genotypes displayed significantly higher GSH content and glutathione reductase activity under severe osmotic stress. In addition to other drought tolerance mechanisms, enhanced activity of the AsA-GSH cycle conferred better stress tolerance in drought-tolerant genotypes. Obtained results will enable the selection of drought-tolerant genotypes in the seedling growth stage and understanding the complex mechanisms contributing to their tolerance.

Key words: wheat, osmotic stress, antioxidative response, glutathione, ascorbic acid

P-115

UTJECAJ POVIŠENE TEMPERATURE NA GERMINACIJU SJEMENKI, BILJNI RAST I FIZIOLOGIJU RAJČICE

M. Tokić, D. Leljak Levanić, N. Bauer

Biološki odsjek, Zavod za molekularnu biologiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Hrvatska (mirta.tokic@biol.pmf.hr, dunja@zg.biol.pmf.hr, natasa.bauer@biol.pmf.hr)

Kao rezultat klimatskih promjena, globalno zatopljenje ima značajan utjecaj na prinos usjeva i prehrambenu industriju diljem svijeta. Kao sesilni organizmi, biljke su tijekom evolucije razvile različite mehanizme kako bi se obranile od nepovoljnih uvjeta. Složeni molekularni putevi sudjeluju u primanju i provođenju signala, omogućujući odgovor na vanjski stimulus. Kako bi istražili utjecaj toplinskog stresa, izabrana je poljoprivredno važna vrsta rajčica (*Solanum lycopersicum*). Tretmani su se sastojali od dužeg izlaganja na 37 °C i kratkotrajnog stresa na 45 °C. Germinacija sjemenki pratila se u temperaturnom rasponu od 24-36 °C kako bi se odredio postotak germinacije. Osim toga, odredili smo stopu rasta korijena i morfologiju klijanaca. Za procjenu jačine stresa, biokemijskim testovima mjerili smo razine prolina i malondialdehida (MDA), HSP90 imunodetekcijom, a gene uključene u toplinski stres kvantitativnim PCR-om. Oba su tretmana prouzročila povećanje razina HSP90 i gena uključenih u toplinski stres, dok je samo jači tretman (45 °C) značajno povećao sadržaj prolina i MDA u klijancima rajčice. U oba slučaja došlo je do inhibicije razvoja klijanaca i rasta korijena, no više izraženo u jačem tretmanu. Najviša permisivna temperatura kod koje je još moguća germinacija rajčice jest 34 °C. Zaključno, toplinski

stres u klijancima rajčice negativno utječe na rast i razvoj, kao i na promjene u biokemijskim i molekularnim putevima.

Ključne riječi: rajčica, toplinski stres, germinacija, HSP90, prolin

INCREASED TEMPERATURE EFFECTS ON TOMATO SEED GERMINATION, SEEDLING GROWTH AND PHYSIOLOGY

M. Tokić, D. Leljak Levanić, N. Bauer

¹Division of Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10000 Zagreb, Croatia (mirta.tokic@biol.pmf.hr, dunja@zg.biol.pmf.hr, natasa.bauer@biol.pmf.hr)

With ongoing climate change, rising temperatures are becoming a severe threat to crop yield and food security worldwide. Owing to their sessile lifestyle, plants had evolved many ways to circumvent their apparent handicap. Complex molecular machineries deal with sensing, transmittance and response to environmental stimuli. To evaluate the impact of heat stress (HS), the globally cultivated tomato (*Solanum lycopersicum*) was chosen as a model plant. Tomato germination potential was investigated at a temperature range from 24 to 36 °C. Seedling treatments consisted of prolonged exposure to 37 °C and a short-term exposure to 45 °C. Root growth and seedling morphology were determined. For HS evaluation, proline and malondialdehyde (MDA) content were measured, HSP90 immunoassayed and HS-related gene expression analyzed by quantitative PCR. The maximal permissive germination temperature for tomato seeds was 34 °C. Both HS regimes caused increased levels of HSP90 and HS-related gene expression in seedlings. Prolonged exposure to 37 °C did not, in contrast to the 45 °C-treatment, significantly affect proline and MDA levels, but inhibited root and shoot growth. The heat wave-like treatment at 45 °C completely blocked primary root growth and strongly inhibited seedling development. Inclusive, both types of exposures negatively affected growth, biochemical and molecular pathways, indicating high sensitivity of tomato seedlings to applied HS treatments.

Keywords: heat stress, tomato, germination, HSP90, proline

P-116

SORTNO-SPECIFIČNI UČINAK KADMIJA NA EKSPRESIJU GENA MT I PCS U SOJE

R. Vuković¹, I. Štolfa Čamagajevac¹, A. Vuković¹, S. Šormaz¹, Z. Lončarić²

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (rosemary@biologija.unios.hr, istolfa@biologija.unios.hr, avukovic@biologija.unios.hr), ²Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska (zloncaric@fazos.hr)

Kadmij uzrokuje promjene fizioloških, biokemijskih i molekularnih procesa biljaka smanjujući tako njihov rast i prinos. Kako bi se zaštitile od toksičnih utjecaja teških metala, biljke su razvile različite detoksikacijske mehanizme, uključujući kelaciju i sekvestraciju, koji imaju važnu ulogu u održavanju niskih razina metalnih kationa u citosolu stanica. Tiolni spojevi kao što su metalotioneini (produkti mt gena) i fitokelatini (enzimski produkti fitokelatin-sintaze, PCS) najznačajniji su spojevi koji sudjeluju u detoksikaciji teških metala. Različite biljne vrste kao i

kultivari iste vrste pokazuju značajne razlike u akumulaciji i toleranciji na kadmij. Cilj je ovoga istraživanja bio odrediti učinak rastućih koncentracija kadmija (25, 50, 100 µM) na razinu ekspresije gena *pcs1*, *mt1*, *mt2*, *mt3* u izdanku tri kultivara soje (Korana, Lucija, Ika), koji se razlikuju u stupnju akumulacije kadmija u sjemenu. Tretman kadmijem značajno je utjecao na ekspresiju gena *pcs1*, *mt1*, *mt2* i *mt3* pri čemu je razina ekspresije ovisila o primjenjenoj koncentraciji, kao i samom kultivaru soje. Nove spoznaje o molekularnim mehanizmima tolerancije na kadmij daju širi uvid u istraživanu problematiku, te razvijanje dalnjih strategija za povećanje tolerancije na kadmij.

Ključne riječi: kadmij, metalotioneini, fitokelatin-sintaza, soja

CULTIVAR-SPECIFIC IMPACT OF CADMIUM ON THE EXPRESSION OF GENES MT AND PCS IN SOYBEAN

R. Vuković¹, I. Štolfa Čamagajevac¹, A. Vuković¹, S. Šormaz¹, Z. Lončarić²

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (rosemary@biologija.unios.hr, istolfa@biologija.unios.hr, avukovic@biologija.unios.hr), ²Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Croatia (zloncaric@fazos.hr)

Cadmium causes changes in the physiological, biochemical, and molecular processes of plants, thus reducing their growth and yield. To protect from the heavy metals' toxic effects, plants have adopted various detoxification mechanisms, including chelation and sequestration, that are important in maintaining low levels of metal cations in the cell cytosol. Thiol compounds such as metallothioneins (products of mt genes) and phytochelatins (products of phytochelatin synthase enzyme, PCS) are the most important compounds involved in the detoxification of heavy metals. Different plant species and cultivars of the same species show significant differences in cadmium accumulation and tolerance. This study aimed to determine the impact of increasing cadmium concentrations (25, 50, 100 µM) on the expression of genes *pcs1*, *mt1*, *mt2*, and *mt3* in the seedlings of the three soybean cultivars (Korana, Lucija, Ika), which differ in the degree of cadmium accumulation in seeds. Cadmium treatment significantly increased the expression of the *pcs1*, *mt1*, *mt2*, and *mt3* genes, and the level of expression was concentration and cultivar dependent. New insights into the molecular mechanisms of cadmium tolerance provide a broader knowledge of the researched issues and the development of different strategies for increasing cadmium tolerance.

Keywords: cadmium, metallothionein, phytochelatin synthase, soybean

P-117

MOLEKULARNI ODGOVOR KLIJANACA OZIME PŠENICE NA OSMOTSKI STRES

A. Vuković¹, R. Vuković¹, I. Štolfa Čamagajevac¹, K. Šunić², L. Begović¹, S. Mlinarić¹, N. Sabo¹, V. Španić²

¹Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Hrvatska (avukovic@biologija.unios.hr, rosemary@biologija.unios.hr; istolfa@biologija.unios.hr, lidija.begovic@biologija.unios.hr, smlinaric@biologija.unios.hr, nsabo@biologija.unios.hr), ²Odjel za oplemenjivanje i genetiku strnih žitarica, Poljoprivredni

institut Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Hrvatska (katarina.sunic@poljinos.hr, valentina.spanic@poljinos.hr)

Usljed klimatskih promjena posljednjih godina dolazi do sve većeg nedostatka vode tijekom perioda sjetve ozime pšenice. Kao odgovor na osmotski stres biljke su razvile različite mehanizme tolerantnosti na sušu, uključujući i ekspresiju različitih gena osjetljivih na stres. Cilj je ovog istraživanja bio odrediti molekularni odgovor šest hrvatskih genotipova ozime pšenice na dvije razine osmotskog stresa u fazi klijanja i nicanja. Analizirana je ekspresija gena osjetljivih na sušu koji kodiraju dehidrine (DHN5 i WZY2) i pirolin-5-karboksilat sintazu (P5CS), ključni enzim u biosintezi prolina, te gena koji kodiraju transkripcijske faktore (WRKY2 i DREB1A) odgovorne za regulaciju gena osjetljivih na stres. Usljed osmotskog stresa došlo je do veće ekspresije gena P5CS u klijancima pšenice, koja je bila u korelaciji sa sadržajem prolina. Ekspresija gena DHN5 i WZY2 bila je značajno inducirana uslijed osmotskog stresa u svih genotipova, dok je ekspresija gena koji kodiraju transkripcijske faktore različito regulirana. Tako je u većine genotipova ekspresija gena DREB1 bila povećana uslijed većeg osmotskog stresa, dok je ekspresija gena WRKY2 bila smanjena ili nepromijenjena u odnosu na kontrolu. U različitim genotipova, tolerantnost na sušu uglavnom je bila povezana s osmotskom prilagodbom i ekspresijom dehidrina. Identifikacija molekularnih mehanizama odgovora na sušu će doprinijeti razumijevanju kompleksnih strategija koje doprinose tolerantnosti pšenice u ranoj fazi rasta.

Ključne riječi: osmotski stres, pirolin-5-karboksilat sintaza, dehidrini, transkripcijski faktori, pšenica

MOLECULAR RESPONSE OF WINTER WHEAT SEEDLINGS TO OSMOTIC STRESS

A. Vuković¹, R. Vuković¹, I. Štolfa Čamagajevac¹, K. Šunić², L. Begović¹, S. Mlinarić¹, N. Sabo¹, V. Španić²

¹Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek, Croatia (avukovic@biologija.unios.hr, rosemary@biologija.unios.hr, istolfa@biologija.unios.hr, lidija.begovic@biologija.unios.hr, smlinaric@biologija.unios.hr, nsabo@biologija.unios.hr), ²Agricultural Institute Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Croatia (katarina.sunic@poljinos.hr, valentina.spanic@poljinos.hr)

Due to climate change in recent years, there has been an increasing water deficit during the winter wheat sowing period. In response to osmotic stress, plants have adopted various drought tolerance mechanisms, including different stress-responsive genes expression. This study evaluated the molecular response of six Croatian winter wheat genotypes under two osmotic stress levels at the germination/seedling growth stage. Expression patterns of drought-responsive genes encoding dehydrins (DHN5 and WZY2) and pyrroline-5-carboxylate synthase, the key enzyme in proline biosynthesis, and genes encoding transcription factors (WRKY2 and DREB1A) that regulate stress-responsive genes expression, were analysed. Under osmotic stress, wheat seedlings responded in higher P5CS gene expression, which was correlated with the proline accumulation. The expression of genes DHN5 and WZY2 was highly induced under the osmotic stress in all genotypes, while genes encoding transcription factors were differentially regulated. The expression of DREB1 was upregulated under severe osmotic stress in most genotypes, while the expression of WRKY2 was downregulated or revealed control levels. Drought tolerance in different genotypes was mainly associated with osmotic adjustment and dehydrins expression. Identifying molecular mechanisms in drought response would advance

understanding of the complex strategies contributing to wheat tolerance in the early growth stage.

Keywords: osmotic stress, dehydrins, pyrroline-5-carboxylate synthase, transcription factors, wheat

P-118

STABILNOST I BIODOSTUPNOST FITOKEMIKALIJA ŠPINATA I LIMUNOVOG SOKA U IN VITRO PROBAVI

V. Vujčić Bok, I. Šola, G. Rusak

Botanički zavod, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Marulićev trg 9a, 10000 Zagreb, Hrvatska (vvujcic@biol.pmf.hr, isola@biol.pmf.hr, grusak@biol.pmf.hr)

Cilj ovog rada bio je ispitati stabilnost i biodostupnost polifenola, nitrata, askorbinske kiseline i oksalne kiseline u vodenim ekstraktima špinata sa različitim dodatkom limunova soka (0, 2, 5, 10 i 20%) u *in vitro* modelu probave koji obuhvaća tri faze ljudske probave (usta, želudac i crijevo). DPPH i FRAP metodama testirana je potencijalna antioksidacijska aktivnost ekstrakta špinata sa limunovim sokom. Inhibicijom enzima α -amilaze testirana je potencijalna antidijabetička aktivnost. U izvornim (neprovavljenim) i provavljenim (početna, usna, želučana i crijevna faza) ekstraktima špinata sa 20% limunovog soka izmjerena je najviša koncentracija ukupnih fenola, flavonoida, fenolnih kiselina, oksalne kiseline i nitrata. Isti ekstrakt imao je najvišu koncentraciju p-kumarinske kiseline nakon početne faze, L-askorbinske kiseline nakon usne faze i kvercetina nakon intestinalne faze *in vitro* probave. Skoro svi ekstrakti špinata sa limunom su imali visoku biodostupnost individualnih i ukupnih polifenola, nitrata, oksalata i L-askorbinske kiseline u gotovo svim fazama *in vitro* probave. Povećanjem doze limunovog soka došlo je do povećanja antioksidacijske i antidijabetičke aktivnosti u ekstraktima špinata. Prema tome, najbolji izvor prehrambenih polifenola, nitrata i L-askorbinske kiseline je ekstrakt špinata sa najvećim dodatkom limunovog soka. Navedeni ekstrakt stoga bi se mogao koristiti kao funkcionalno piće.

Ključne riječi: *Spinacia oleracea* L., polifenoli, L-askorbinska kiselina, nitrati, oksalati, *in vitro* probava

STABILITY AND DIGESTIVE AVAILABILITY OF SPINACH LEMON JUICE PHYTOCHEMICALS DURING IN VITRO DIGESTION

V. Vujčić Bok, I. Šola, G. Rusak

Division of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb, Marulićev trg 9a, 10000 Zagreb, Croatia (vvujcic@biol.pmf.hr, isola@biol.pmf.hr, grusak@biol.pmf.hr)

The aim of this study was to determine stability and bioavailability of polyphenols, nitrate, L-ascorbic acid and oxalic acid in spinach water extracts with various addition of lemon juice (0, 2, 5, 10 and 20%) using *in vitro* digestion model with three stages of human digestion (mouth, stomach and intestine). DPPH and FRAP methods were preformed to test spinach lemon juice extracts for potential antioxidant activity. α -amylase inhibitory activity was performed to test potential antidiabetic activity. Predigested and almost all digested (initial, oral, gastric and

intestinal phase) spinach extracts with 20% of lemon juice had the highest concentration of total polyphenols, total flavonoids, total phenolic acids, oxalic acid and nitrate. Same extract has highest concentration of p-coumaric acid after initial, L-ascorbic acid after oral and quercetin after intestinal phase of *in vitro* digestion. Almost all spinach lemon juice extracts had high bioaccessibility of tested individual and total polyphenols, nitrate, oxalic and L-ascorbic acid for almost all phases of *in vitro* digestion. Lemon juice addition increase antioxidant and antidiabetic activity of spinach extracts in dose depending manner. Accordingly, the best source of dietary polyphenols, nitrate and L-ascorbic acid with antioxidant and antidiabetic activity was spinach lemon juice extract with highest addition of lemon juice. So, this extract could be used as functional drink.

Key words: *Spinacia oleracea* L., polyphenols, l-ascorbic acid, nitrate, oxalate, *in vitro* digestion

P-119

KEMIJSKI SASTAV I NOVE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI ETERIČNOG ULJA I HIDROLATA VRSTE *Hypericum perforatum* L. ssp. *veronense* (SCHRANK) H. LINDB.

E. Vuko, V. Dunkić, M. Ruščić, M. Nazlić, N. Mandić, Ž. Fredotović

Prirodoslovno-matematički fakultet u Splitu, R. Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska
(zfredotov@pmfst.hr)

U ekstraktima vrste *Hypericum perforatum* ssp. *veronense* (Schrank) H. Lindb. (Clusiaceae) analiziran je fitokemijski sastav slobodnih hlapljivih tvari lipofilne frakcije (eteričnog ulja) i vodene frakcije (hidrolata) te njihove biološke aktivnosti. Sastav sekretnih produkata može biti koristan u fitotaksonomiji dviju podvrsta ovog roda, *H. p.* ssp. *veronense* i ssp. *angustifolium*. U sastavu eteričnog ulja i hidrolata dominiraju monoterpeni i oksigenirani monoterpeni. Eterično ulje pokazuje značajnu antioksidacijsku aktivnost, za razliku od antiproliferacijske, gdje je učinak hidrolat bio značajniji na sve tri testirane stanične linije raka: Hela (stanična linija raka vrata maternice), HCT116 (stanična linija raka debelog crijeva čovjeka) i U2OS (stanice humanog osteosarkoma). Eterično ulje i hidrolat pokazuju protutifovirusno djelovanje na lokalnim biljnim domaćinima inficiranim virusom mozaika duhana. U provedenom istraživanju dobiveni su prvi rezultati o biološkim aktivnostima hidrolata vrste *H. perforatum* ssp. *veronense*, koji upućuju na činjenicu da je ova tradicionalna ljekovita biljka vrijedan izvor hlapljivih tvari s obećavajućim antiproliferativnim, antioksidativnim i protutifovirusnim djelovanjem.

Ključne riječi: *Hypericum perforatum* ssp. *veronense*; eterično ulje; hidrolat; antiproliferativno; antioksidativno, protutifovirusno djelovanje

CHEMICAL COMPOSITION AND NEW BIOLOGICAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OIL AND HYDROSOL OF *Hypericum perforatum* L. ssp. *veronense* (Schrank) H. Lindb.

E. Vuko, V. Dunkić, M. Ruščić, M. Nazlić, N. Mandić, Ž. Fredotović

Department of Biology, Faculty of Science, University of Split, R. Boškovića 33, 21000 Split, Croatia (zfredotov@pmfst.hr)

The biological activities and phytochemical profile of free volatiles in the lipophilic fraction (essential oil) and for the first time in the water fraction (hydrosol) were studied in the species

Hypericum perforatum ssp. *veronense* (Schrank) H. Lindb. (Clusiaceae). The aim was to provide phytochemical data for *H. perforatum* ssp. *veronense* useful for distinguishing ssp. *veronense* from ssp. *angustifolium*, since there are taxonomic inconsistencies between them and the composition of secretory products could be helpful in this regard. Overall, the class of monoterpenes and oxygenated monoterpenes dominated in the EO and hydrosol samples. The essential oil showed high antioxidant activity, in contrast to the antiproliferative activity, where the hydrosol showed exceptional activity against three cancer cell lines: Hela (cervical cancer cell line), HCT116 (human colon cancer cell line), and U2OS (human osteosarcoma cell line). Both the essential oil and hydrosol showed antiphytoviral activity against tobacco mosaic virus infection on the local host plants. This is the first report addressing the biological activities of hydrosol from *H. perforatum* ssp. *veronense*, and the results obtained suggest that this traditional medicinal plant is a valuable source of volatiles with promising antiproliferative, antioxidant, and antiphytoviral activities.

Keywords: *Hypericum perforatum* ssp. *veronense*; essential oil; hydrosol; antiproliferative; antioxidant; antiphytoviral activity

SIMPOZIJ „OKOLIŠNA DNA“ SYMPOSIUM „ENVIRONMENTAL DNA“

P-120

eDNA METABARKODING FITOPLANKTONA U USPOREDBI S KLASIČNOM MIKROSKOPSKOM ANALIZOM

N. Hanžek¹, M. Gligora Udovič², K. Kajan^{3,4}, G. Borics^{5,6}, G. Várbíró⁷, T. Stoeck⁸, S. Orlić^{3,4}, I. Stanković¹
¹Institut za vode "Josip Juraj Strossmayer", Ul. grada Vukovara 220, 10000 Zagreb, Hrvatska (nikola.hanzek@voda.hr, igor.stankovic@voda.hr), ²Biološki odsjek, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (marija.gligora.udovic@biol.pmf.hr), ³Institut „Ruđer Bošković“, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska (kkajan@irb.hr, sandi.orlic@irb.hr), ⁴Centar izvrsnosti za znanost i tehnologiju (STIM), 10000 Zagreb, Hrvatska (kkajan@irb.hr, sandi.orlic@irb.hr), ⁵Centre for Ecological Research, Institute of Aquatic Ecology, Department of Tisza Research, Bem square 1, 4026 Debrecen, Madžarska (boricsg@gmail.com), ⁶University of Nyíregyháza, 31/B Sóstói street, 4400 Nyíregyháza, Mađarska, ⁷Centre for Ecological Research, Institute of Aquatic Ecology, Department of Tisza Research, Bem square 1, 4026 Debrecen, Madžarska (varbirog@gmail.com), ⁸University of Kaiserslautern, Ecology Group, Erwin-Schrödinger-Straße, D-67663 Kaiserslautern, Njemačka (thorsten.stoeck@biologie.uni-kl.de)

Posljednjih godina postignut je značajan napredak u području istraživanja metabarkodiranja okolišne DNA (eDNA). U sedam hrvatskih prirodnih krških jezera površine veće od 0,5 km² u razdoblju od travnja do rujna provedeno je istraživanje usporedivosti zajednice fitoplanktona dobivene temeljem eDNA metabarkodiranja (V9 regija eukariotskog SSU rRNA gena) i mikroskopiranja (Utermöhl metoda). Izračun indeksa za fitoplankton jezera (HLPI) korišten je u oba pristupa u svrhu primjene metabarkodiranja eDNA u ocjeni ekološkog stanja jezera. Iako su zabilježene razlike u taksonomskom sastavu i sastavu funkcionalnih grupa (FG), vrijednosti HLPI oba pristupa pokazale su značajnu korelaciju, pretežito zbog jednakih ili sličnih faktora dodijeljenih različitim FG sa sličnim ekološkim zahtjevima i preferiranim staništima. Direktnom usporedbom svojti, najviše preklapanja zabilježeno je u jezerima Kozjak i Prošće, a najmanje u plitkom Vranskom jezeru. Slabo preklapanje može biti objašnjeno manjkom reprezentativnih sekvenci u bazi podataka za ciljanu V9 18S rRNA regiju gena. Iako je zabilježena primjenjivost V9 regije 18S rRNA gena u ocjeni ekološke kakvoće, prisutne razlike u sastavu zajednice zahtjevaju daljnji razvoj i standardizaciju u korištenju eDNA metabarkodiranja.

Ključne riječi: Hrvatska prirodna krška jezera, 18S rRNA V9, Utermöhl metoda, funkcionalne grupe, indeks za fitoplankton jezera

PHYTOPLANKTON eDNA METABARCODING VS. CLASSICAL MICROSCOPY

N. Hanžek¹, M. Gligora Udovič², K. Kajan^{3,4}, G. Borics^{5,6}, G. Várbíró⁷, T. Stoeck⁸, S. Orlić^{3,4}, I. Stanković¹
¹Water Research Institute "Josip Juraj Strossmayer", Ulica grada Vukovara 220, 10000 Zagreb, Croatia (nikola.hanzek@voda.hr, igor.stankovic@voda.hr), ²University of Zagreb, Faculty of Science, Department of Biology, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (marija.gligora.udovic@biol.pmf.hr), ³Division of Materials Chemistry, Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia (kkajan@irb.hr, sandi.orlic@irb.hr), ⁴Center of Excellence for Science and Technology-Integration of Mediterranean Region (STIM), 10000 Zagreb, Croatia

(kkajan@irb.hr, sandi.orlic@irb.hr), ⁵Centre for Ecological Research, Institute of Aquatic Ecology, Department of Tisza Research, Bem square 1, 4026 Debrecen, Hungary (boricsg@gmail.com), ⁶University of Nyíregyháza, 31/B Sóstói street, 4400 Nyíregyháza, Hungary, ⁷Centre for Ecological Research, Institute of Aquatic Ecology, Department of Tisza Research, Bem square 1, 4026 Debrecen, Hungary (varbirog@gmail.com), ⁸University of Kaiserslautern, Ecology Group, Erwin-Schrödinger-Straße, D-67663 Kaiserslautern, Germany (thorsten.stoeck@biologie.uni-kl.de)

In recent years, great progress has been made in the field of environmental DNA metabarcoding (eDNA) research. The comparability of phytoplankton communities obtained by eDNA metabarcoding (V9 region of the eukaryotic SSU rRNA gene) in relation to the morphological approach (Utermöhl method) was studied from April to September in seven Croatian natural karst lakes with an area greater than 0,5 km². The lake phytoplankton index (HLPI) was calculated for both approaches to apply the eDNA metabarcoding for assessing the ecological status of the lakes. Although taxonomic and functional group (FG) composition differed, phytoplankton index values from both approaches were significantly correlated, mainly due to the same or similar factors assigned to different FGs with similar ecological requirements and favourable habitats. When comparing taxa directly, the most overlap between methods was found in lakes Kozjak and Prošće, and the least in shallow Lake Vransko. The weak overlap can be explained by a lack of representative sequences in the database for the targeted 18S rRNA gene. Although the applicability of the V9 region of 18S rRNA in assessing ecological status has been demonstrated, differences in community composition require further development and standardisation of eDNA metabarcoding.

Keywords: Croatian natural karst lakes, 18S rRNA V9, Utermöhl method, functional groups, The lake phytoplankton index

P-121

ODREĐIVANJE EKOLOŠKOG STANJA SEDRENIH SLAPOVA RIJEKE UNE PUTEM eDNA METABARKODIRANJA DIJATOMEJA

J. Kamberović¹, M. Gligora Udovič², A. Kulaš², P. Žutinić², M. Šušnjara², A. Ahmić¹, A. Jusufović¹, A. Gajić¹, B. Kalamujić Stroil^{3,4}

¹University of Tuzla, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Department of Biology, Urfeta Vejzagića 4, 75000 Tuzla, Bosna i Hercegovina (jasmina.kamberovic13@gmail.com), ²Biološki odsjek, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska (marija.gligora.udovic@biol.pmf.hr), ³Society for Genetic Conservation of B&H Endemic and Autochthonous Resources, Zmaja od Bosne 8, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina (belma.kalamujic@ingeb.unsa.ba), ⁴University of Sarajevo-Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, Zmaja od Bosne 8, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Dijatomeje (alge kremenjašice) predstavljaju nezaobilazan biološki element u ekološkim ocjenama kakvoće slatkovodnih ekosustava. Napredak modernih molekularnih metoda, poput eDNA metabarkodiranja u kombinaciji sa sekvenciranjem visoke propusnosti (HTS), omogućio je bržu i jeftiniju nadogradnju na klasične dugotrajne metode mikroskopske identifikacije dijatomeja. Primjena eDNA metabarkodiranja dijatomeja ima velik potencijal u monitoringu vodnih ekosustava, ali uz potrebu za standardizacijom same metode. Primjena molekularnog pristupa u određivanju ocjene ekološkog stanja pomoću dijatomeja u specifičnim staništima kao što su

osedravajuće rijeke još je uvijek u začecima. Cilj je ovog istraživanja ispitati primjenjivost eDNA metabarkodiranja bentoskih dijatomeja u određivanju ocjene ekološkog stanja krške rijeke Une (Bosna i Hercegovina) na 8 sedrenih slapova. Molekularna taksonomska identifikacija uključivala je korištenje barkod regije gena *rbcL* od 312 parova baza učitanih u obliku MiSeq sekvene te varijanti amplikonske sekvene (ASV) dobivenih pomoću DADA2 pipeline programa uz korištenje referentne baze podataka Diat.barcode v10.1. Istovremeno je provedena i morfološka identifikacija dijatomeja pomoću svjetlosnog i skenirajućeg mikroskopa. Određivanje do razine vrste dalo je veći odziv tradicionalnim mikroskopskim pristupom, dok je metodom metabarkodiranja otkriveno do 70% varijanti (ASV) koje nisu mogle biti taksonomski određene. Usposrednom oba pristupa prisutan je visok postotak neodređenih varijanti, ali one ne odražavaju isti postotak, odnosno broj neidentificiranih vrsta. Ekološko stanje uzdužnog profila rijeke Une na temelju Hrvatskog trofičkog indeksa dijatomeja (TDIHR) ocijenjeno je kao dobro i vrlo dobro (koristeći morfološki pristup) te dobro (prema molekularnom pristupu). Nepotpunost referentne baze podataka za vrste koje nastanjuju specifična staništa poput sedrenih barijera predstavlja veliki nedostatak u iznimno rastućem i vrlo obećavajućem molekularnom pristupu eDNA metabarkodiranja.

Ključne riječi: dijatomeje, bioraznolikost, sedra, eDNA metabarkodiranje, rijeka Una

ECOLOGICAL STATUS OF THE TUFA-DEPOSITING UNA RIVER BASED ON DIATOM eDNA METABARCODING APPROACH

J. Kamberović¹, M. Gligora Udović², A. Kulaš², P. Žutinić², M. Šušnjara², A. Ahmić¹, A. Jusufović¹, A. Gajić¹, B. Kalamujić Stroili^{3,4}

¹University of Tuzla, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Department of Biology, Urfeta Vejzagića 4, 75000 Tuzla, Bosnia and Herzegovina (jasmina.kamberovic13@gmail.com),

²Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Croatia (marija.gligora.udovic@biol.pmf.hr), ³Society for Genetic Conservation of B&H Endemic and Autochthonous Resources, Zmaja od Bosne 8, 71000 Sarajevo, Bosnia and Herzegovina (belma.kalamujic@ingeb.unsa.ba) ⁴University of Sarajevo-Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, Zmaja od Bosne 8, 71000 Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

Diatoms are a widely used biological element in the ecological status assessment of freshwater ecosystems. The recent advances in modern molecular methods of eDNA metabarcoding combined with High-Throughput Sequencing (HTS) have provided faster, cost-efficient complement to the traditional time-consuming microscopic identification of diatoms. Several studies revealed a great potential of eDNA diatom metabarcoding for application in water monitoring, but also stressed the need for standardization of methods. The application of molecular approach for identification and ecological status assessment using diatoms in specific habitats such as tufa depositing rivers has not yet been sufficiently explored. This pilot study aimed to test the applicability of eDNA metabarcoding of benthic diatoms for ecological status assessment of the karstic Una River (Bosnia and Herzegovina) on 8 locations representing tufa waterfalls. The barcode region of the 312bp *rbcL* gene presented as MiSeq reads and Amplicon Sequence Variants (ASVs) obtained by DADA2 pipeline were used in taxonomical assignment with Diat.barcode v10.1 reference database. Morphological identification of diatoms via light and scanning microscopy was performed in parallel. Species level was higher when assessed by traditional microscopy method, while metabarcoding approach detected up to 70% of taxonomically not assigned ASVs. When compared, in both approaches a high percentage of unassigned ASVs was present, but they did not reflect the same percentage or number of unidentified species. Based on the Croatian Trophic

Diatom Index (TDIHR), the ecological status of the Una River was classified as Good and High (according to morphological approach) and Good (according to molecular approach) along the longitudinal profile. The incompleteness of a reference database for species inhabiting specific habitats like tufa deposits represents a major drawback in the extremely growing and very promising molecular approach of eDNA metabarcoding.

Keywords: diatoms, biodiversity, tufa deposits, eDNA metabarcoding, rbcL, Una River

Kratice / Abbreviations:

PL – plenarno predavanje / Plenary lecture

O – usmeno izlaganje / Oral presentation

P – postersko priopćenje / Poster presentation

POKROVITELJI / PATRONS



ISTARSKA|REGIONE
ŽUPANIJA|ISTRIANA



GRAD PULA
CITTÀ DI POLA



AQUARIUM PULA

SPONZORI / SPONSORS:

Zlatni sponzor /Golden sponsor



Sponzori / Sponsors:



**FOND ZA ZAŠTITU OKOLIŠA
I ENERGETSKU UČINKOVITOST**



Turistička zajednica Pula



Alfa d.d.



Ru-Ve d.o.o.



Kefo d.o.o.



Biosistemi d.o.o.



MEDIC D.O.O.



AlphaChrom d.o.o.



ISTRIAN name for the MOST DISTINCTIVE
WINEMAKER & winery

Wine Station - OPG Trapan Bruno
300



Nastavni zavod za javno zdravstvo Istarske županije –
Istituto formativo di sanità pubblica della Regione Istriana



PRO PUTUJ d.o.o.



INEL - medicinska tehnika d.o.o.

www.inel-mt.hr