



Sveučilište u Zagrebu
AGRONOMSKI FAKULTET

Vanesa Lorencin

**SEZONSKI UTJECAJ NA BIOKEMIJSKA,
STRUKTURNA I MASNOKISELINSKA
SVOJSTVA TKIVA JAKOVLJEVE
KAPICE *Pecten jacobaeus* (Linnaeus,
1758) IZ SJEVERNOG JADRANA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2024.



University of Zagreb
FACULTY OF AGRICULTURE

Vanesa Lorencin

**SEASONAL IMPACT ON BIOCHEMICAL,
STRUCTURAL AND FATTY ACID
PROPERTIES OF MEDITERRANEAN
SCALLOP *Pecten*
jacobaeus (Linnaeus, 1758) TISSUES
FROM THE NORTHERN ADRIATIC**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2024.



Sveučilište u Zagrebu
AGRONOMSKI FAKULTET

Vanesa Lorencin

**SEZONSKI UTJECAJ NA BIOKEMIJSKA,
STRUKTURNA I MASNOKISELINSKA
SVOJSTVA TKIVA JAKOVLJEVE
KAPICE *Pecten jacobaeus* (Linnaeus,
1758) IZ SJEVERNOG JADRANA**

Doktorski rad

Mentori:

Izv. prof. dr. sc. Daniel Matulić, izvanredni
profesor/znanstveni savjetnik

Dr. sc. Natalija Topić Popović, znanstvena savjetnica

Zagreb, 2024.



University of Zagreb

FACULTY OF AGRICULTURE

Vanesa Lorencin

**SEASONAL IMPACT ON BIOCHEMICAL,
STRUCTURAL AND FATTY ACID
PROPERTIES OF MEDITERRANEAN
SCALLOP *Pecten*
jacobaeus (Linnaeus, 1758) TISSUES
FROM THE NORTHERN ADRIATIC**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Dr. Daniel Matulić, Associate professor/Scientific advisor

Dr. Natalija Topić Popović, PhD, MSc, DVM, Scientific
advisor

Zagreb, 2024.

Bibliografski podaci:

- Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
- Znanstveno polje: Poljoprivreda
- Znanstvena grana: Ribarstvo
- Institucija: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za ribarstvo, pčelarstvo, lovstvo i specijalnu zoologiju
- Voditelji doktorskog rada: izv. prof. dr. sc. Daniel Matulić i dr. sc. Natalija Topić Popović, dr. med. vet.
- Broj stranica: 97
- Broj slika: 35
- Broj tablica: 20
- Broj literaturnih referenci: 152
- Datum obrane doktorskog rada:
- Sastav povjerenstva za obranu doktorskog rada:
 1. prof. dr. sc. Tea Tomljanović (predsjednica),
 2. prof. dr. sc. Ana Gavrilović,
 3. dr.sc. Ivančica Strunjak-Perović

Rad je pohranjen u:

Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ulica Hrvatske bratske zajednice 4
p.p. 550, 10 000 Zagreb,
Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog Fakulteta, Svetošimunska cesta 25,
10 000 Zagreb.

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Sveučilišta u Zagrebu
Agronomskog Fakulteta, održanoj dana 18. siječnja 2022. godine te odobrena na
sjednici
Senata Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 29. ožujka 2022. godine.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, **Vanesa Lorencin**, izjavljujem da sam samostalno izradila doktorski rad pod naslovom:

**SEZONSKI UTJECAJ NA BIOKEMIJSKA, STRUKTURNA I MASNOKISELINSKA
SVOJSTVA TKIVA JAKOVLJEVE KAPICE *Pecten jacobaeus* (Linnaeus, 1758) IZ
SJEVERNOG JADRANA**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovog doktorskog rada;
- da je doktorski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u izradi istoga nisam koristila drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

Zagreb, 21. 12. 2023. godine

Potpis doktorandice

Životopisi mentora:

Izv. prof. dr. sc. DANIEL MATULIĆ, znanstveni savjetnik, zaposlen je pri Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, Odsjeku za animalne znanosti, Zavodu za ribarstvo, pčelarstvo, lovstvo i specijalnu zoologiju. Doktorirao je 2013. g. na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu s temom *Zamjena ribljeg brašna sojinim brašnom i pivskim kvascem u hranidbi smeđeg somića (Ameiurus nebulosus L.)*. Njegov znanstveni opus obuhvaća ukupno 45 objavljenih radova, od čega je njih 19 citirano u WOS bazama. Izlagao je i publicirao 38 sažetaka na različitim nacionalnim i međunarodnim skupovima. Koautor je i dvaju poglavlja knjige u izdanju *Springer Naturea*. Kao voditelj ili suradnik, aktivno sudjeluje pri izradi i realizaciji nacionalnih i međunarodnih projekata i različitih programa. Izv. prof. dr. sc. Daniel Matulić od 2011. g. član je uredništva međunarodnog znanstveno-tehničkog časopisa *Croatian Journal of Fisheries: Ribarstvo*, a od 2016. do 2020. bio je i njegov glavni urednik. Održava nastavu na 22 predmeta pri Agronomskom fakultetu vezanu za preddiplomske, diplomske i poslijediplomske studije. Mentor je više od 60 završnih i diplomskih radova. Znanstveno i nastavno usavršavao se na mnogim međunarodnim renomiranim institucijama kao gostujući znanstvenik. Njegov glavni znanstveno-istraživački interes čine teme na području akvakulture (IMTA, RAS) te multifunkcionalne akvakulture, hranidbe riba (ekologija, zamjena ribljeg brašna), hidroekološke problematike otvorenih voda te ihtiologije.

Dr. sc. NATALIJA TOPIĆ POPOVIĆ, dr. med. vet. znanstvena je savjetnica pri Institutu Ruđer Bošković (IRB), Zavodu za kemiju materijala, Laboratoriju za biotehnologiju u akvakulturi (LBA). Doktorirala je 2003. na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu s temom *Induction of Cytochrome P450 Enzymes of Fish by Oxytetracycline and Combination Ormetoprim-Sulfadimethoxine*, disertaciju je izradila na Cornell Universityju, Ithaca, New York, SAD. Dr. sc. Topić Popović bila je Fulbrightova stipendistica (2001. –2002.) pri Cornell Universityju, College of Veterinary Medicine, Department of Microbiology and Immunology, Aquatic Animal Diseases Laboratory. Njezin znanstveni opus obuhvaća 63 objavljena članka indeksirana u WoSCC bazi, 3 članka indeksirana u Scopus bazi koji nisu WoSCC, 5 članaka indeksiranih u drugim bibliografskim bazama, 11 članaka objavljenih u zbornicima međunarodnih i domaćih skupova, 62 sažetka objavljena u zbornicima međunarodnih i domaćih skupova i 1 knjigu (<https://www.bib.irb.hr/pregled/profil/28616>). Aktivno sudjeluje pri izradi i realizaciji projekata i programa: 30 međunarodnih i domaćih projekata i programa, od čega je voditeljica 4 projekta, uključujući 2 istraživanja u međunarodnoj suradnji. Dr. sc. Topić Popović dobitnica je dviju godišnjih nagrada IRB-a za izvrsne znanstvene radove, članica je uredništva dvaju međunarodnih časopisa, suorganizirala je 12 znanstveno-stručnih

skupova, jednu međunarodnu radionicu i jedan međunarodni *webinar*. Na poslijediplomskom specijalističkom studiju Ribarstvo pri Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (2011<) drži nastavu unutar kolegija Anatomija, fiziologija i embriologija akvatičnih organizama, kao i na sveučilišnom poslijediplomskom interdisciplinarnom doktorskom studiju Molekularne bioznanosti Sveučilišta u Dubrovniku, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i Instituta Ruđer Bošković – unutar modula Biologija mora i kolegija Ribe u biomedicinskim istraživanjima (2005. –2022.). Kao znanstvenica gostovala je u međunarodno renomiranim institucijama; sudjelovala je u edukaciji mlađih suradnika na zajedničkom znanstvenom radu koji je rezultirao publikacijama te vođenjem diplomskog/magistarskog/doktorskog rada suradnika; aktivna je u uvođenju novih problematika, razvoju novih metoda i tehnika u znanstveni rad na IRB-u. Njezini su glavni znanstveno-istraživački interesi razvoj bioloških markera za detekciju disbalansa ekosustava na različitim razinama biološke organizacije; razvoj dijagnostike bakterijskih patogena riba i beskralježnjaka; razvoj i procjena bioloških indikatora stresa za akvatične vrste te procjena biokemijskog statusa tkiva akvatičnih organizama.

Zahvala:

Sažetak

Jakovljeva kapica (*Pecten jacobaeus*, L.) endemski je školjkaš u Mediteranu. Prirodno se u većem broju pojavljuje samo u sjevernom Jadranu. Na području sjeverozapadne Istre jakovljeva kapica relativno je čest nalaz i lovi se u komercijalne svrhe. Poznavanje fiziološkog statusa jakovljeve kapice analizom biokemijskih, lipidnih i masnokiselinskih značajki pojedinih tkiva te histološkog statusa tijekom sezona važno je radi njezina očuvanja u prirodnom okolišu te mogućeg uzgoja. U tkivima gonada ustanovljena je sezonalna varijacija razvojnih stadija te produženi reproduktivni ciklus s dva razdoblja mrijesta. Dokazana je značajna uloga energetskih metabolita i lipida u otpornosti kapica na stres prouzročen temperaturnim ekstremima. Uočeno je smanjenje antioksidativne obrane tijekom hladnih mjeseci, uz nakupljanje produkata lipidne peroksidacije u tkivima. Sastav masnih kiselina jakovljeve kapice razlikuje se između tkiva i sezona te ukazuje na to da je mišić, koji je razlog komercijalne eksploatacije, najbolji za konzumaciju u proljeće i ljeto, jer je zbroj nezasićenih masnih kiselina (MUFA i PUFA) mišića veći od 50 % u ukupnim lipidima. Omjeri n-3/n-6 masnih kiselina su u tom periodu najveći, a vrijednosti kolesterola i glukoze najniže. Rezultati istraživanja upućuju na to da su uvjeti okoliša (temperatura mora) i reproduktivno razdoblje glavni procesi koji utječu na sezonalne obrasce biokemijskih i masnokiselinskih parametara jakovljeve kapice.

Ključne riječi: jakovljeva kapica, tkiva, biokemija, masnokiselinska svojstva, sezonalnost

Extended summary

Seasonal impact on biochemical, structural and fatty acid properties of Mediterranean scallop *Pecten jacobaeus* (Linnaeus, 1758) tissues from the Northern Adriatic

Mediterranean scallop (*Pecten jacobaeus*, L.) is the endemic bivalve of the Mediterranean. It naturally occurs in larger quantities only in the Northern Adriatic. In the Northwestern Istria, Mediterranean scallop is a relatively common finding, fished for commercial purposes. Overfishing of the species may occur because of a small fishing area and high market value. Knowledge of the physiological status of the Mediterranean scallop through analyzing the biochemical, lipid and fatty acid structure of tissues as well as histological status during the seasons is important for its preservation in the natural environment and possible aquaculture.

The aim of the research was to examine the seasonal impact in both sexes and four tissues (gills, digestive gland, gonads, muscle) on biochemical indicators (concentration of metabolites, proteins/enzymes, electrolytes, antioxidant capacity, status of lipids and fatty acids (saturated, monounsaturated, polyunsaturated, omega-3 and omega-6 fatty acids)) and histological-morphological characteristics.

Shellfish were collected seasonally (spring, summer, autumn and winter) by a bottom trawl three nautical miles off the Western Istria coast. The seabed of covered area was predominantly sandy with maximum depth of 40 meters. Upon hauling, the catch was emptied on the deck, scallops were separated from the rest of the catch, sorted, counted and transported on ice to the coast. There they were inspected for external signs of mechanical damage, wet weighed and measured (total mass of the shellfish, mass of soft tissue, mass of individual organs, length and width of the shell). Based on the measured data, the length-weight ratio, condition index (IK) and gonadosomatic index (GSI) were calculated. The samples determined for the measurement of biochemical indicators, lipid and fatty acid status were placed in polyethylene bags with sealing strips. After that, the samples were frozen and kept at -86 °C. Samples for histological-morphological analyzes were not frozen, but stored in a 4% formalin solution. Hydrographic parameters (sea temperature, salinity and dissolved oxygen) were measured during seasons. Four scallop tissues were studied for the selected biochemical properties, antioxidant defenses and free radical scavengers. These included tissue magnesium (Mg), calcium (Ca), glucose (GLU), triglyceride (TRIG), and cholesterol (CHOL) concentrations, activities of lactate dehydrogenase (LDH), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), total antioxidant status (TAS), malondialdehyde (MDA), total carotenoid and astaxanthin contents. Total lipids and fatty acids were analyzed in the digestive gland, muscle and gonads. Fatty acids were grouped according to their degree of saturation, as saturated (SFA), monounsaturated (MUFA), and polyunsaturated (PUFA) fatty acids, and as omega-3 (n-3), omega-6 (n-6), and omega-9 (n-9) fatty acids.

The research results indicate that environmental conditions (sea temperature) and the reproductive period are the main processes that influence the seasonal patterns of biochemical and fatty acid parameters of the Mediterranean scallop. Seasonal variation of developmental stages and an extended reproductive cycle showed strong gametogenic and reproductive activity in autumn (gamete maturation) and winter (spawning), with intensification of the gametogenic stage in warm months, when reproductive activity is at maximum, as well as summer spawning. The significant role of energy metabolites and lipids in the resistance of Mediterranean scallops to stress caused by temperature extremes was proven. A decrease in antioxidant defense was observed during the cold months, along with the accumulation of lipid peroxidation products in tissues. The carotenoid astaxanthin was the most abundant in the winter months. Given that carotenoids were most numerous

in the tissue of the digestive gland, it is most likely that they were ingested through diet. As the energy reserves stored in the muscle are used for gamete development and vary with respect to the availability of food, it is possible to conclude that the catabolism of the muscle reserves did not take place due to the availability of food which was sufficient for both somatogenic and gametogenic growth of scallops. The fatty acid composition of Mediterranean scallop differed between tissues and seasons and indicates that muscle, which is the reason for commercial exploitation of the species, is best for consumption in spring and summer, because the sum of unsaturated fatty acids (MUFA and PUFA) was greater than 50% in total lipids. The n-3/n-6 fatty acid ratios were the highest in that period, while cholesterol and glucose values were the lowest.

Key words: Mediterranean scallop, tissues, biochemistry, fatty acid properties, seasonality

Ovu disertaciju je ocijenilo povjerenstvo u sastavu:

prof. dr. sc. Tea Tomljanović (predsjednica),

prof. dr. sc. Ana Gavrilović,

dr. sc. Ivančica Strunjak-Perović.

Disertacija je obranjena na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu,

___ . ___ . 202__ . pred povjerenstvom u sastavu:

prof. dr. sc. Tea Tomljanović (predsjednica)

prof. dr. sc. Ana Gavrilović

dr. sc. Ivančica Strunjak-Perović

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja	3
2. PREGLED RELEVANTNE LITERATURE	4
2.1. Jakovljeva kapica – anatomija i sistematika	4
2.2. Morfološke značajke tkiva školjkaša	7
2.3. Biokemijski pokazatelji tkiva školjkaša	9
2.4. Masnokiselinski sastav tkiva školjkaša.....	10
2.5. Molekularne analize školjkaša	12
2.6. Potencijal uzgoja kapica	13
2.7. Hidrografski parametri mora	14
3. MATERIJAL I METODE RADA	15
3.1. Opis lokacije i uzimanja uzoraka	15
3.2. Određivanje osnovnih hidrografskih parametara mora.....	16
3.3. Analiza biometrijskih pokazatelja	16
3.4. Histološka analiza uzoraka	17
3.5. Analize biokemijskih pokazatelja tkiva	18
3.5.1. Biokemijske analize tkiva	19
3.5.2. Analiza antioksidativnog kapaciteta.....	19
3.5.2.1. Nusprodukt lipidne peroksidacije (malondialdehid (MDA))	19
3.5.2.2. Antioksidativni enzimi (superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, laktat dehidrogenaza).....	20
3.6. Određivanje ukupnih lipida i masnih kiselina	22
3.6.1. Ekstrakcija ukupnih lipida.....	22
3.6.2. Postupak transmetilacije	23
3.6.3. Plinska kromatografija.....	23
3.7. Molekularne analize	24
3.8. Statistička obrada rezultata	25
4. REZULTATI	26
4.1. Hidrografski parametri	26
4.2. Biometrijski podaci	26
4.2.1. Dužinsko-maseni odnos.....	26
4.2.2. Indeks kondicije jakovljevih kapica	28
4.2.3. Gonadosomatski indeks.....	29
4.3. Histološka analiza uzoraka	29
4.4. Analize biokemijskih pokazatelja tkiva	32
4.5. Masne kiseline.....	55

4.6. Molekularne analize	70
5. RASPRAVA	71
6. ZAKLJUČCI	81
7. POPIS LITERATURE.....	83
8. ŽIVOTOPIS.....	97

Popis kratica

AA arahidonska kiselina

ANOVAjednosmjerna analiza varijance

BHTbutilirani hidroksitoluen

CaKalcij

CHOLkolesterol

DHAdokoaheksaenska kiselina

DMSODimetil sulfoksida

DNKDeoksiribonukleinska kiselina

EPAeikozapentaenska kiselina

FAMEmetilni ester masnih kiselina

ggram

GC plinska kromatografija

GLUglukoza

GPxglutation peroksidaza

GSHreducirani glutation

GSIgonadosomatski indeks

HEhematoksilin-eozin

Hzherc

IKindeks kondicije

IRBINstitut Ruđer Bošković

IZORInstituta za oceanografiju i ribarstvo u Splitu

KWKruskal-Wallis test

LBALaboratorij za biotehnologiju u akvakulturi

LDHlaktat dehidrogenaza

M. Mytilus

MAmiristinska kiselina

MDAmalondialdehid

Mgmagnezij

mLmililitar

mmmilimetar

mMmilimolar

mVmilivolt

μLmikrolitar

MUFAjednostruko nezasićene masne kiseline

n-3/6/9omega-3/6/9

NaClnatrijev-klorid

OAoleinska kiselina

P. Pecten

PApalmitinska kiselina

PBSfosfatno-puferirana fiziološka otopina

PIGEparafinom impregnirana grafitna elektroda

POpalmitoleinska kiselina

PUFAvišestruko nezasićene masne kiseline

ROSreaktivni kisikovi spojevi

rpmokretaji u minuti

SAstearinska

SADSjedinjene Američke Države

SD standardna devijacija

SFAzasićene masne kiseline

SODsuperoksid dismutaza

SPVeng. stripping voltammetry microprobe

sur.suradnici

SWVkvadratna valna voltametrij

TASukupan antioksidativni status

TBAtiobarbiturna kiselina

TBARSreaktivne tvari tiobarbiturne kiseline

TCAtriklor-octena kiselina

TRIGtrigliceridi

VEFVeterinarski fakultet

womega

Popis tablica

Tablica 1. Temperatura, salinitet i otopljeni kisik mora kroz sezone, mjereni na lokaciji i u blizini lokacije uzorkovanja

Tablica 2. Dužina, širina i masa cijelog školjkaša kroz sezone

Tablica 3. Dužinsko-maseni odnos jakovljeve kapice kroz sezone

Tablica 4. Indeks kondicije jakovljeve kapice kroz sezone

Tablica 5. Gonadosomatski indeks jakovljeve kapice kroz sezone

Tablica 6. Vrijednosti kalcija (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama

Tablica 7. Vrijednosti magnezija (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama

Tablica 8. Vrijednosti glukoze (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama

Tablica 9. Vrijednosti kolesterola (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama

Tablica 10. Vrijednosti triglicerida (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama

Tablica 11. Vrijednosti ukupnog antioksidativnog statusa, TAS (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama

Tablica 12. Vrijednosti superoksid dismutaze, SOD (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama

Tablica 13. Vrijednosti glutacion peroksidaze, GPx (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama

Tablica 14. Vrijednosti laktat dehidrogenaze, LDH (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama

Tablica 15. Vrijednosti reaktivnih tvari tiobarbiturne kiseline, TBARS (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama

Tablica 16. Vrijednosti ukupnih lipida (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama

Tablica 17a. Relativni udio (%) po skupinama masnih kiselina u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama.

Tablica 17b. Relativni udio (%) zasićenih masnih kiselina (SFA) u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama.

Tablica 17c. Relativni udio (%) jednostruko nezasićenih masnih kiselina zasićenih (MUFA) u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama.

Tablica 17d. Relativni udio (%) višestruko nezasićenih masnih kiselina zasićenih (PUFA) u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama.

Popis slika

Slika 1. *Pecten jacobaeus*, L.

Slika 2. Smjer kretanja kapica i smjer vodenog mlaza prilikom kretanja (A) „skakanje“ (B) plivanje

Slika 3. Rasprostranjenost jakovljeve kapice

Slika 4. Makroskopske promjene u gonadi

Slika 5. Građa probavne žlijezde

Slika 6. Masne kiseline prema stupnju zasićenosti

Slika 7. Karta istraživanog područja

Slika 8. Uređaji za mjerenje hidrografskih parametara (oksimetar i refraktometar)

Slika 9. Disekcija mekih tkiva

Slika 10. Priprema i pregled histoloških preparata

Slika 11. Priprema uzoraka za analizu biokemijskih pokazatelja tkiva

Slika 12. Biokemijski analizator

Slika 13. Analiza koncentracije malondialdehida u uzorcima tkiva

Slika 14. Analiza karotenoida

Slika 15. Kriomlin

Slika 16. Ekstrakcija ukupnih lipida

Slika 17. Postupak transmetilacije

Slika 18. Plinski kromatograf

Slika 19. Linijski rast dužine ljušture jakovljeve kapice u odnosu na ukupnu masu školjkaša po sezoni

Slika 20. Prikaz histološko-morfoloških presjeka tkiva gonada i probavne žlijezde jakovljeve kapice *P. jacobaeus*.

Slika 21. Zrelost gameta i sezonalni gametogeni ciklus *P. jacobaeus*

Slika 22. Histološki prikaz tkiva škrga *P. jacobaeus*

Slika 23. Prosječne vrijednosti i trend kretanja biokemijskih parametara, enzimskih parametara antioksidativnog kapaciteta kao i parametara lipidne peroksidacije u pojedinim tkivima jakovljeve kapice kroz sezone

Slika 24. Boxplot distribucija vrijednosti biokemijskih parametara jakovljeve kapice kroz sezone u pojedinim tkivima

Slika 25. Boxplot distribucija vrijednosti biokemijskih parametara i parametra lipidne peroksidacije jakovljeve kapice kroz sezone u pojedinim tkivima

Slika 26. Boxplot distribucija vrijednosti biokemijskih parametara jakovljeve kapice prema spolu školjkaša u pojedinim tkivima

Slika 27. Boxplot distribucija vrijednosti antioksidativnih parametara i parametra lipidne peroksidacije jakovljeve kapice po spolovima u pojedinim tkivima

Slika 28. Korelogram svih mjerenih biokemijskih parametara, parametara antioksidativnog kapaciteta i parametra lipidne peroksidacije, s naznačenim pozitivnim i negativnim Spearmanovim koeficijentima korelacije koji su izostavljeni ako nisu bili značajni nakon primjene Bonferronijeve prilagodbe p vrijednosti

Slika 29. Korelogram svih mjerenih biokemijskih parametara, parametara antioksidativnog kapaciteta i parametra lipidne peroksidacije, s naznačenim pozitivnim koeficijentima korelacije, u tkivu probavne žlijezde jakovljeve kapice

Slika 30. Korelogram svih mjerenih biokemijskih parametara, parametara antioksidativnog kapaciteta i parametra lipidne peroksidacije, s naznačenim pozitivnim i negativnim koeficijentima korelacije, u tkivu mišića jakovljeve kapice

Slika 31. Korelogram svih mjerenih biokemijskih parametara, parametara antioksidativnog kapaciteta i parametra lipidne peroksidacije, s naznačenim pozitivnim i negativnim koeficijentima korelacije, u tkivu škrge jakovljeve kapice

Slika 32. Korelogram svih mjerenih biokemijskih parametara, parametara antioksidativnog kapaciteta i parametra lipidne peroksidacije, s naznačenim pozitivnim koeficijentima korelacije, u tkivu gonada jakovljeve kapice

Slika 33. Pravokutnovalni voltamogram ekstrakta probavne žlijezde jakovljeve kapice

Slika 34. Prosječne vrijednosti i trend kretanja masnih kiselina grupiranih prema stupnju zasićenosti kao SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6, n-3/n-6, n-9 masne kiseline pojedinim tkivima jakovljeve kapice kroz sezone

Slika 35. Prosječne vrijednosti i trend kretanja masnih kiselina u pojedinim tkivima jakovljeve kapice kroz sezone

1. UVOD

Jakovljeva kapica (*Pecten jacobaeus*, L.) endem je Sredozemnog mora. Školjkaš je iz porodice češljača (*Pectinidae*) s oko 400 poznatih vrsta koje obitavaju u svim svjetskim morima, od polarnih područja do tropskih krajeva. Većina komercijalno važnih vrsta pojavljuje se u obalnim vodama (Brand, 2006). Iako je rasprostranjena diljem Mediterana (Piccinetti i sur., 1986; Mattei, 1995; Mattei i Pelizzato, 1996), *P. jacobaeus* se u komercijalnim količinama nalazi samo u sjevernom Jadranu (Katsanevakis, 2005), gdje je gastronomski vrlo cijenjena. Kapica je čest nalaz u kočama/dredžama kao sekundarni ulov, a postoji opasnost i od njezina prelova. Iako je bilo pokušaja, jakovljeva kapica komercijalno se ne uzgaja (Marguš i Teskeredžić, 2005). Često se, uz ostale školjkaše, preporučuje za ljudsku prehranu zbog obilja proteina, niske razine kolesterola, visokog postotka višestruko nezasićenih masnih kiselina i esencijalnih elemenata (Bilandžić i sur., 2015). Stoga je njezino očuvanje u prirodnom okolišu, kao i istraživanje mogućnosti uzgoja, od iznimnog značenja.

Jakovljeva kapica je hermafrodit koji dostiže spolnu zrelost s 50-60 mm dužine ljušture, dok joj je maksimalna dužina ljušture 150 mm (Renzoni, 1991; Valli, 1979). Prilikom spolne diferencijacije i gametogeneze, gonade dobivaju tipičnu mutno-bijelu ili narančastu boju. Gonada spolno zrelih kapica prijanja na prednji rub mišića aduktora. Ventralno od gonade nalaze se škrge koje se naslanjaju na aduktor putem suspenzornih membrana. Želudac je smješten unutar probavne žlijezde. Crijevo tvori nekoliko petlji u probavnoj žlijezdi, a iz nje ulazi u gonadu, kruži oko dorzalnog dijela aduktora te prelazi perikard i ventrikul (Beninger i Le Penec, 2016).

Prugasti mišić aduktor glavni je razlog komercijalne eksploatacije jakovljeve kapice. Iako su rast i dobna struktura kapice u Jadranskom moru dobro istraženi (Peharda i sur., 2003; Peharda i sur., 2019), kao i utjecaj izlaganja zagađivačima i tkivni sadržaj nekih makrominerala (Romani i sur., 2006; Stefano i sur., 2008; Bilandžić i sur., 2015), antioksidativni kapacitet, lipidna peroksidacija, histološka struktura, biokemijski i masno-kiselinski sastav kapica iz sjevernog Jadrana do sada nisu bili predmetom istraživanja. Na području sjevernog Jadrana ustanovljene su alteracije saliniteta mora, temperature te kakvoće vode zbog sezonskih razlika, ali i utjecaja rijeke Po, što može imati učinak na fiziološke i biokemijske odgovore školjkaša. Kapacitet prilagodbe kapica na fizikalno-kemijske varijabilnosti mora od iznimnog je značenja jer može negativno utjecati na njihov rast, preživljavanje i reakciju na stres (Matozzo i sur., 2013; Velez i sur., 2016). U procjeni stresa i ostalih patološko-fizioloških promjena, analiza biokemijskih svojstava tkiva i histološko-patološke analize tkiva važni su čimbenici koji mogu dati informacije i o razini

stresa, kao i o metaboličkim, funkcionalnim i morfološkim poremećajima tkiva (Čož-Rakovac i sur., 2008; Fazio i sur., 2013). Isto tako, lipidi su važne energetske rezerve organizama koji žive u vodi (Arts i sur., 2009). Glavni su izvor metaboličke energije i važan materijal za izgradnju staničnih membrana, sudjeluju u mnogim biokemijskim procesima, fiziologiji i reproduktivnom ciklusu školjkaša te reflektiraju specifične sezonalne biotičke i abiotičke promjene okoliša u kojem se organizmi nalaze (Pázos i sur., 1997; Arts i sur., 2001; Vance i Vance, 2002, Barišić, 2016).

Stratifikacija vodenog stupca na području sjevernog Jadrana intenzivnija je ljeti zbog dotoka površinskih voda rijeke Po i pridnenog raslojavanja slane tople vode (Jeffries i Lee, 2007). Stoga se u kapica nerijetko očekuje smanjenje gonadosomatskog indeksa (GSI) na proljeće i ljeto, što bi moglo korelirati i s mrijestom, odnosno resorpcijom gameta radi povišene temperature i obilja fitoplanktona. Poznato je da su gonade jakovljeve kapice u sjevernom Jadranu zrele od svibnja do srpnja i od studenog do veljače (Renzoni i sur., 1988), tako da i u ovom istraživanju očekujemo jesenski maksimum GSI, kao i povišenje GSI vezano za pad temperature mora (Takahashi i Mori, 1971). Može se pretpostaviti da će kapice imati nižu aktivnost antioksidativnih enzima ljeti, zbog nižih koncentracija kisika u moru, u usporedbi sa zimskim razdobljem kada je razina kisika veća, ali i zbog utjecaja visoke temperature na enzimsku i ukupnu metaboličku aktivnost (Viarengo i sur., 1991).

Utvrđivanje fiziološkog statusa te biokemijskog/kemijskog profila tkiva kapica kao bioloških senzora od iznimne je važnosti jer oni mogu služiti kao dijagnostički alat za procjenu zdravstvenog stanja kapica, metaboličkih, funkcionalnih i morfoloških aberacija tkiva vezanih za sezonalnu promjenu temperature i saliniteta mora (Affonso i sur., 2002; Čož-Rakovac i sur., 2008; Topić Popović i sur., 2008; Ferri i sur., 2011).

1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja

Jakovljeva kapica važna je komercijalna vrsta školjkaša (porodica češljača - Pectinidae) na istočnoj strani sjevernog Jadrana. Zbog malog ribolovnog područja rasprostranjenosti, a velike gastronomske vrijednosti, postoji mogućnost prelova vrste. Stoga je važno ispitati i utvrditi parametre koji mogu poslužiti za daljnji razvoj uzgoja, definirati gospodarski održivo ribarstvo kao alat za očuvanje vrste u njezinu staništu i definirati nutritivne vrijednosti pojedinog tkiva školjkaša za ljudsku prehranu.

Pretpostavke (hipoteze) istraživanja

- sezona utječe na biokemijske pokazatelje u tkivima jakovljevih kapica oba spola;
- sezona utječe na status lipida i masnih kiselina u tkivima jakovljevih kapica kod oba spola;
- sezona utječe na histološko-morfološke karakteristike tkiva jakovljevih kapica.

Ciljevi istraživanja

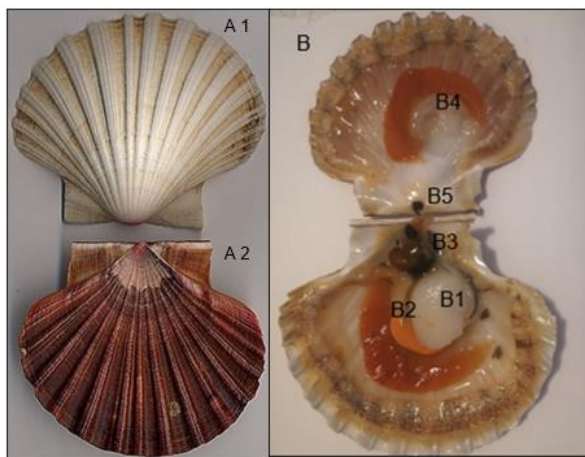
U tkivima jakovljevih kapica oba spola, testiran je utjecaj sezona na:

- biokemijske pokazatelje (koncentracija metabolita, proteina/enzima, elektrolita, antioksidativnog kapaciteta);
- status lipida i masnih kiselina (zasićene, jednostruko nezasićene, višestruko nezasićene, omega-3 i omega-6 masne kiseline);
- histološko-morfološke karakteristike.

2. PREGLED RELEVANTNE LITERATURE

2.1. Jakovljeva kapica – anatomija i sistematika

Pecten jacobaeus je školjkaš iz razreda Bivalvia, porodice Pectinidae. Školjka (ljuštura) kapice ima oblik lepeze s proširenjem na mjestu gdje se nalazi brava (Milišić, 2007). Ljušture nisu simetrične, gornja je ravna, a donja konveksna s 15-18 vrlo naglašenih i ukošenih rebara. Gornja (lijeva) ljuštura je smečkasta, a donja (desna) bjelkasto-smeđa. (Mattei i Pellizzato, 1996; Beaumont i Gjedrem, 2007) (Slika 1.). Veliki stražnji mišić aduktor, koji se nalazi u središtu školjke, jest točka vodilja za definiranje položaja ostalih tkiva. Primarna funkcija mišića aduktora je kontrola otvaranja i zatvaranja školjke prilikom plivanja te zaštite od predatora i reakcije na promjene u okolišu (Chantler, 2016). Na prednji (anteriorni) rub mišića pričvršćena je gonada, a njezin slobodni dio zakrivljen je oko ventralnog ruba mišića. Ventralno od gonade nalaze se dvije velike škrge koje su pričvršćene na mišić aduktor preko suspenzornih membrana na desnom i lijevom umetku mišića u ljušturu. Školjkaši su filtratori koji uzimaju hranu iz vode koja ih okružuje, a hranu donesenu strujama filtriraju kroz škržne listiće. Takav način hranjenja pridonosi ekološkoj ravnoteži morskih ekosustava zbog uklanjanja organske tvari iz vodenog stupca. Probavna žlijezda nalazi se ventralno od ligamenta (Beninger i Le Penneec, 2016) (Slika 1.).



Slika 1. *Pecten jacobaeus*, L. A ljušture, A1 – donja (desna), A2 – gornja (lijeva) ljuštura (Álvarez-Rodríguez i García-Calvo, 2011); B meko tkivo, B1 – mišić aduktor, B2 – gonada, B3 – probavna žlijezda, B4 – škrge, B5 – ligament

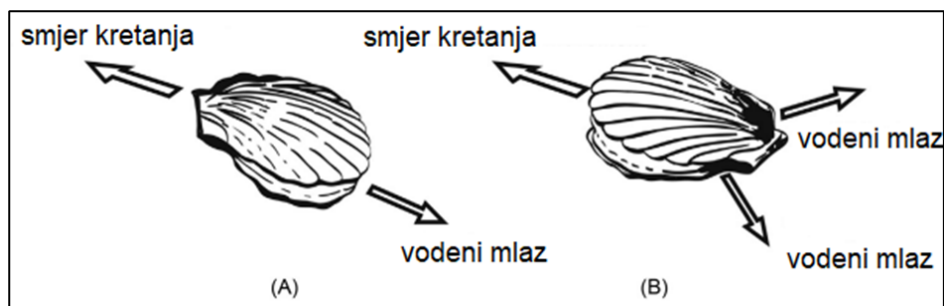
Prehrana školjkaša jedan je od najvažnijih endogenih čimbenika koji utječu na rast i razmnožavanje. Rast kapica ovisi o kvaliteti i količini hrane koja je dostupna u okolišu u kojem žive (MacDonald i Thompson, 1985). Glavni izvor hrane je fitoplankton (Shumway i sur., 1987). Sastav hrane koju kapica uzima iz okoliša ovisi i o sezoni pa je tako fitoplankton

najzastupljeniji za vrijeme proljetnje cvatnje. U crijevu kapica pronađene su razne vrste dijatomeja i dinoflagelati (Soria i sur., 2016).

Kapice su školjkaši koji brzo rastu u prve dvije godine života (Marguš i Teskeredžić, 2005). Jakovljeve kapice većinom dosežu 120-140 mm dužinu ljušture. U sjevernom Jadranu pronađeni su primjerci od 150 mm (Cetinić i Soldo, 1999). U talijanskom dijelu sjevernog Jadrana u dvije godine postižu 100 mm dužine dok im na hrvatskoj strani treba još godinu dana da dostignu istu dužinu (Perharda i sur., 2003).

Kapice, poput ostalih morskih školjkaša, imaju reproduktivne stadije koji uključuju razdoblja od stvaranja gameta, mrijesta, oplodnje, razvoja ličinki, naseljavanja, do metamorfoze (Barber i Blake, 2016). Spolna žlijezda lako je vidljiva i anatomski se razlikuje od ostatka visceralne mase. Kako gonada sazrijeva, makroskopske promjene lako su vidljive. Povećava se u težini i veličini te postaje okruglija u presjeku kako gamete postaju veće i brojnije. Nakon mrijesta i oslobađanja gameta, spolne žlijezde postaju manje, plosnatijeg presjeka, bezbojne i vodenaste (Barber i Blake, 2016).

Porodici češljača pripadaju rijetki školjkaši koji mogu plivati (Antolović, 2012). Školjkaš pliva tako da otvaranjem i zatvaranjem ljuštura brzim pokretima istiskuje vodu i time stvara potisak koji je pokreće unazad (Slika 2.). Na taj način relativno brzo savladava kraće udaljenosti u potrazi za hranom ili bježeći od neprijatelja (Milišić, 2007).



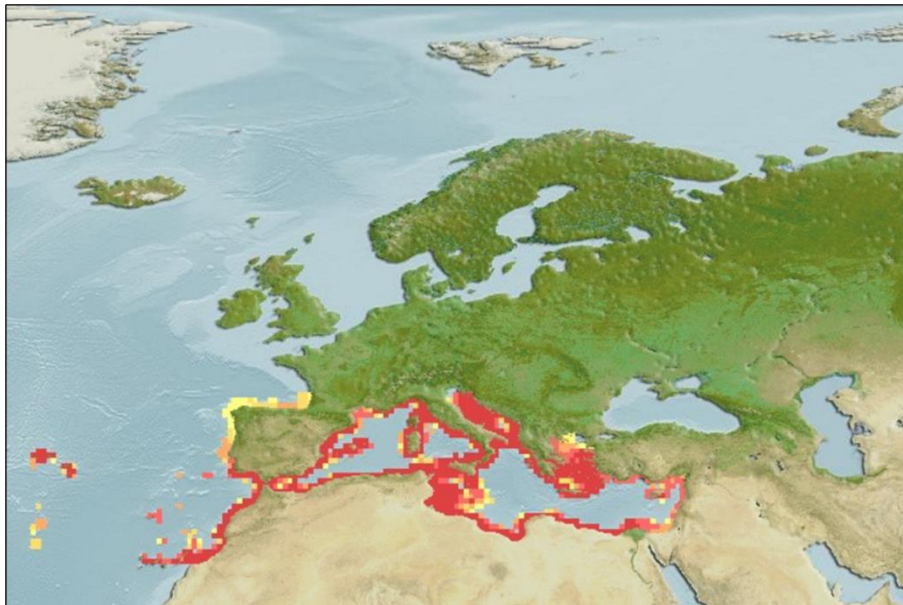
Slika 2. Smjer kretanja kapica i smjer vodenog mlaza prilikom kretanja (A) „skakanje“ (B) plivanje (Brand, 2016)

Različiti autori smatraju da je plivanje kapica evoluiralo modifikacijom već postojećih mehanizama za čišćenje plaštane šupljine kod predaka koji su bili pričvršćeni za podlogu s bisusnim nitima. Vjerojatno sve kapice tvore bisusnu nit za pričvršćivanje u ranijim stadijima života, a kako rastu nit se reducira (Yonge, 1936).

Školjkaši iz porodice Pectinidae rasprostranjeni su u svim svjetskim morima te predstavljaju skupinu životinja koja se razlikuje morfološki, bihevioralno i biološki (Serb, 2016). Postoji oko 400 poznatih živućih vrsta kapica. Zbog velikog broja vrsta i velike geografske rasprostranjenosti, važan su dio bentoskih zajednica. Vrste koje imaju dovoljno

veliko tijelo i žive u gustim populacijama te se mogu komercijalno iskorištavati nalaze se uglavnom u višim geografskim širinama, između 30° i 55° sjeverne i južne zemljine polutke te u obalnim vodama (Brand, 2016). Zemljopisna rasprostranjenost vrste ovisi o mnogim međusobno povezanim čimbenicima, ali za većinu je temperatura osnovni čimbenik koji definira geografski raspon. U Europi je zastupljeno nekoliko vrsta kapica: *P. jacobaeus*, *P. maximus*, *Aequipecten opercularis*, *Flexopecten glaber*, *Mimachlamys varia* i *Chlamys islandica* (Brand, 2016; Ezgeta-Balić i sur., 2022).

Pecten jacobaeus je endem Sredozemnog mora (Micarelli i Ceccarelli, 1994) (Slika 3.). Najzapadnija granica rasprostranjenosti je španjolska obala (Katsanevakis, 2005). Jakovljeva kapica živi uglavnom na pjeskovitim i ljušturasto-pjeskovitim područjima. Obitava u priobalnoj zoni između 5 i 30 m dubine, a rjeđe se ulovi i na 50 m dubine (Milišić, 2007).

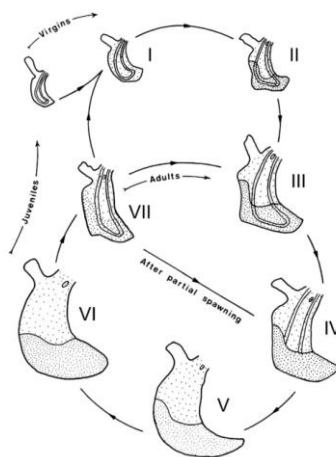


Slika 3. Rasprostranjenost *Pecten jacobaeus*

(preuzeto s: <https://www.sealifebase.se/summary/Pecten-jacobaeus.html>; 10. 8. 2023.)

2.2. Morfološke značajke tkiva školjkaša

Histološka, odnosno histopatološka analiza morskih organizama upotrebljava se za procjenu jedinki i populacija s obzirom na to da uključuje mjerenja reproduktivnih i metaboličkih procesa, a omogućava i otkrivanje niza patogena koji mogu utjecati na mortalitet (Bignell i sur., 2008). Kapice imaju reproduktivne cikluse koji uključuju sljedeće cikluse: stvaranje gameta, mrijest, oplodnju, razvoj ličinki, naseljavanje, metamorfozu i rast do reproduktivne zrelosti. Ciklusi gametogeneze javljaju se redovito tijekom cijelog života kapica i uključuju vegetativno razdoblje nakon kojeg slijede razdoblja diferencijacije, citoplazmatskog rasta, sazrijevanja, mrijesta (oslobađanje spolnih stanica) i resorpcije neizmriještenih gameta, a sva ta razdoblja utječu na veličinu spolne žlijezde (Barber i Blake, 2016) (Slika 4.).



Slika 4. Makroskopske promjene u gonadi: stadij I – razvoj; stadij II – diferencijacija; stadij III – citoplazmatski rast; stadij IV – početak sazrijevanje; stadij V – sazrijevanje; stadij VI – gonada prije mrijesta; stadij VII – gonada nakon mrijesta (Masona, 1958).

Muške gonade kapica su krem boje, a ženske narančaste ili crvenkaste. Tang (1941) je kod kapice *P. maximus* primijetio da se tijekom sazrijevanja ženskih gonada postupno povećavao postotak crvene boje. Veličina i boja spolnih žlijezda kapica mogu se mijenjati sezonski te biti pokazatelji reproduktivnog statusa. Spolne žlijezde su u obliku jezika, kod hermafrodita proksimalni dio tvori testis, a distalni ovarij (Mason, 1958). U gonadama kapica mogu se vidjeti različiti razvojni stadiji spolnih stanica (oocita i spermatoocita) ovisno o fazi reproduktivnog ciklusa (Barber i Blake, 2016).

Na vrijeme i trajanje reproduktivnog ciklusa utječu endogeni (genetski) i egzogeni (okolišni) čimbenici (Salomonsen i sur., 2015). Mason (1958) je proučavao mrijest kapice *P. maximus* u laboratoriju te je zapazio da muške i ženske spolne stanice nakon sazrijevanja prolaze kroz bubrežne kanale u plaštanu šupljinu. Tijekom mrijesta, ženske i

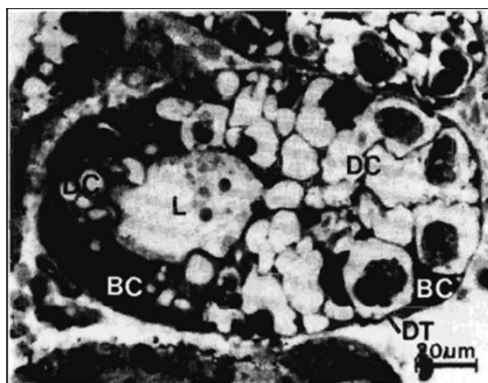
muške spolne stanice ne izlaze istovremeno, već u razmaku od nekoliko sati. Rezultati mrijesta i oplodnje povezani su sa zrelošću gameta koja ovisi o sezoni (Barber i Blake, 2016). Kod *P. jacobaeus* postoje dva reproduktivna vrhunca u jednoj godini, intenzivniji u jesen te slabiji u proljeće (Ezgeta-Balić i sur., 2022). Poznavanje razdoblja mrijesta važno je za razumijevanje i planiranje izlova u prirodnim populacijama te povećanja uspješnosti sakupljanja mladi za uzgoj (Barber i Blake, 2016).

Kapice su bentoski beskralježnjaci koji kroz plašt, škrge i probavnu žlijezdu izmjenjuju tvari s morskim okolišem koji ih okružuje (Pennec i Pennec, 2001).

Plašt kapica sastoji se od dvostrane naborane epitelne membrane koja pokriva unutarnji dio ljušture. Osim toga, plašt štiti unutarnje organe kapice od potencijalnih prijetnji i predatora te sudjeluje u tvorbi ljušture i ligamenta. Na samom rubu plašta nalazi se velik broj osjetilnih ticala i očiju koje reagiraju na svjetlo. Velum je dio plašta koji usmjerava izlaz vode između školjki za vrijeme odbacivanja pseudofecesa ili plivanja (Beninger i Le Pennec, 2016).

Škrge kapica su višestruko heterorabične što znači da su u obliku slova W sastavljene od dva različita tipa škržnih filamenata (glavni i obični) koji se protežu od osi škrge. Glavni filament ima važanu ulogu u obradi čestica iz okoliša. Škržni filament obloženi su cilijama. Ovakav tip škrge specifičan je za porodicu Pectinidae (Beninger i Le Pennec, 2016).

Probavna žlijezda kapica sastoji se, kao i kod drugih školjkaša, od primarnih kanalića koji nastaju iz želuca, a zatim se tanji, razgranati sekundarni kanali otvaraju u probavne divertikule. Stanice sekundarnih kanalića posjeduju donji četkasti rub bez trepetljika i sadrže obilje kapljica lipida. Na presjecima probavnih kanalića mogu se vidjeti jajoliki ili cjevasti oblici u dvije regije (Henry i sur., 1991) (Slika 5.).



Slika 5. Građa probavne žlijezde: DT – probavni kanalić, na lijevoj strani probavnog kanalića; DC – funkcionalni kanalić i BC – bazofilne stanice koje okružuju L – lumen; na desnoj strani probavnog kanalića vidi se raspadanje unesene hrane (Henry i sur., 1991)

2.3. Biokemijski pokazatelji tkiva školjkaša

Porodica *Pectinidae* zanimljiva je za proučavanje biokemijskog sastava i odnosa između različitih tkiva (gonade, mišića aduktora, probavne žlijezde i plašta) jer se ona mogu lako izdvojiti od ostatka organizma. Mišić aduktor i probavna žlijezda u kopicama glavni su organi za skladištenje energije (Pázos i sur., 1997). Promjene u biokemijskom sastavu mogu biti pokazatelji energetskeg metabolizma potrebnog za životni ciklus školjkaša, posebice preživljavanje, rast i razmnožavanje (Lodeiros i sur., 2001; Sifi i Soltani, 2018). Sezonske metaboličke aktivnosti posljedica su složenih interakcija između dostupnosti hrane, okolišnih uvjeta, rasta i razmnožavanja (Gabbott, 1983). Analize biokemijskog sastava, lipidnog statusa i antioksidativnog stanja školjkaša mogu pokazati utjecaj abiotičkih i biotičkih čimbenika okoliša na stanične reakcije (Niyogi i sur., 2001; Barišić, 2015). Zdravlje akvatičnih organizama povezano je s oksidativnim stresom (Di Giulio i sur., 1989) koji nastaje pri smanjenoj antioksidativnoj obrani, a reaktivni kisikovi spojevi (ROS, engl. *reactive oxygen species*) proizvode se u tkivima organizma (Matozzo i sur., 2013) i temelj su mnogih fizioloških aberacija (Winston, 1991). Kod mekušaca, stanični imunski sustav sastoji se od hemocita i njihov fagocitni imunski odgovor prva je i jedina linija imunski obrane (Guan, 2007; Basuyaux i sur., 2018). Slobodni radikali nastaju hemolitičkim cijepanjem kovalentne veze, pri čemu svaki elektron ostaje vezan u susjednom atomu. Zbog nesparenoga elektrona, slobodni su radikali vrlo reaktivni. Kisikovi radikali mogu uzrokovati lipidnu peroksidaciju, oštećenje DNK i bjelančevina (Štefan i sur., 2007). Poznato je da lipidna peroksidacija uzrokuje stanično oštećenje inaktivacijom membranskih enzima i receptora te depolimerizaciju polisaharida, unakrsno povezivanje i raspadanje proteina (Oruc i Usta, 2007). Važan biomarker za procjenu oksidativnog stresa je produkt lipidne peroksidacije malondialdehid (MDA) koji reagira s tiobarbiturnom kiselinom (TBA) u kiselim uvjetima i uvjetima povišene temperature (Guerra i sur., 2012). Akvatični organizmi sadrže enzime koji sprečavaju stvaranje kisikovih radikala, a to su: superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT) i glutation peroksidaza (GPx) te neenzimsku obranu poput glutationa (GSH), vitamina E i C, karotenoida (Winston, 1991). U akvatičnim organizmima, posebno u mekušcima, karotenoidi su odgovorni za pigmentaciju tkiva (Meyers, 1994) i djeluju kao antioksidativna zaštita tkiva od slobodnih radikala (Wang i sur., 2018). Matozzo i sur. (2013) proveli su istraživanje na oksidativni stres u škrgama i probavnoj žlijezdi kod vrsta *Chamelea gallina* i *Mytilus galloprovincialis* sakupljenih uz sjeverozapadnu obalu Jadranskog mora. Regoli i sur. (1997) mjerili su koncentraciju ukupnog glutationa i aktivnost antioksidativnog enzima (glioksalaze) u škrgama i probavnoj žlijezdi *P. jacobaeus* i *M. galloprovincialis* u sjevernom Jadranu. Prijašnje studije dokazale su prisutnost antioksidativne aktivnosti, posebno u probavnoj žlijezdi školjkaša (Sheehan i Power, 1996).

U tkivima školjkaša za održavanje ionske homeostaze važnu ulogu imaju elektroliti magnezija (Mg) i kalcija (Ca) (Carregosa i sur., 2014). Magnezij utječe na oslobađanje prostaglandina iz tkiva školjkaša (Freas i Grollman, 1980) te samim time i na njihovu reprodukciju (Deridovich i Reunova, 1993). Uz elektrolite biokemijski pokazatelji u tkivima su glukoza (GLU), trigliceridi (TRIG) i kolesterol (CHOL). Koncentracije GLU u tkivima pohranjene su u obliku glikogena te zajedno s proteinima sudjeluju u stvaranju reproduktivnih organa i proliferaciji gameta. Prije gametogeneze, energija u obliku glikogena, proteina i lipida pohranjuje se u plaštu i probavnoj žlijezdi (Martínez-Pita i sur., 2012). Lipidi se skladište u obliku TRIG u probavnoj žlijezdi. Sinteza, skladištenje i iskorištavanje TRIG sezonski su uvjetovani (Pernet i sur., 2007). CHOL je glavni sterol u gonadi, probavnoj žlijezdi, mišiću i plaštu kapice (Palacios i sur., 2007).

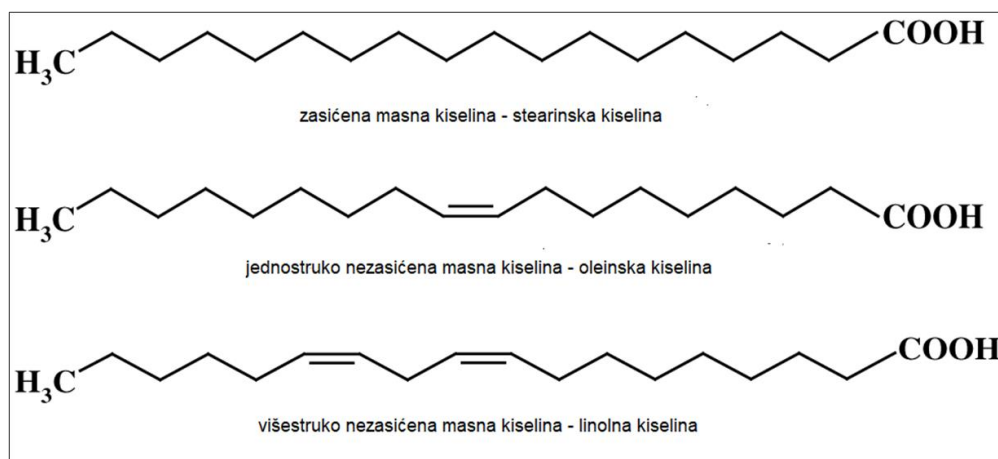
Biokemijski pokazatelji, antioksidativni kapacitet i lipidna peroksidacija u jakovljevim kopicama sjevernog Jadrana do sada nisu istraženi.

2.4. Masnokiselinski sastav tkiva školjkaša

Prva istraživanja masnih kiselina mekušaca, uglavnom školjkaša i puževa, provedena su sedamdesetih godina 20. st. (Sajjadi i Eghtesadi-Araghi, 2011). Masnokiselinski sastav mekušaca ovisi o mnogim biološkom i okolišnim čimbenicima, poput vrste hrane i temperature mora (Linehan i sur., 1999). Lipidi su heterogena skupina molekula koja ima važnu ulogu u vitalnim funkcijama morskih organizama (Sargent, 1976). Sudjeluju u biochemijskim procesima, fiziologiji i reprodukciji mekušaca. Utječu na kvalitetu gameta i preživljavanje ličinki (Arts i sur., 2001). Tijekom reproduktivnog ciklusa u kopicama se prenosi energija (Palacios i sur., 2007) tako da se tijekom gametogeneze lipidi iz drugih tkiva prenose u gonade (Pázos i sur., 1997; Lodeiros i sur., 2001). Probavna žlijezda školjkaša ima dvojaku funkciju: kontrolira proces izvanstanične probave i pohranjuje energetske rezerve (lipide i glikogen) zajedno s mišićem aduktorom (Saucedo i sur., 2002) koje se prenose u gonadu tijekom razvoja gameta (Darriba i sur., 2005).

Masne kiseline čine strukturne dijelove različitih vrsta lipida (Barišić, 2015), djeluju kao prekursori bioaktivnih molekula te utječu na procese kao što su reprodukcija, osmoregulacija i odgovor na stres (Topić-Popović i sur., 2012). U posljednje vrijeme sastav masnih kiselina mekušaca postao je predmetom brojnih istraživanja jer ima ključnu ulogu u morskoj ekologiji, trofičkim hranidbenim lancima kao važan izvor lako dostupnih esencijalnih masnih kiselina (Arts i sur., 2001) te kao kvalitativni markeri za praćenje ili potvrđivanje odnosa predator-plijen u morskom okolišu (Dalsgaard i sur., 2003). Životinje i ljudi ne mogu sami sintetizirati esencijalne masne kiseline već ih moraju unositi u organizam hranom.

Masne kiseline dijele se prema stupnju zasićenosti na zasićene masne kiseline (SFA, prema engl. *saturated fatty acids*), jednostruko nezasićene masne kiseline (MUFA, prema engl. *monounsaturated fatty acids*) i višestruko nezasićene masne kiseline (PUFA, prema engl. *polyunsaturated fatty acids*) (Slika 6.).



Slika 6. Masne kiseline prema stupnju zasićenosti

Većina zasićenih masnih kiselina sastoji se od ravnih ugljikovodičnih lanaca s parnim brojem ugljikovih atoma (Rustan i Christian, 2005) te ne sadrže dvostruke kovalentne veze (Delaš, 2011). Najzastupljenije SFA u životinjskim i biljnim tkivima sastavljene su od lanaca s 14, 16 i 18 atoma ugljika: miristinska kiselina (C 14:0), palmitinska kiselina (C 16:0) i stearinska kiselina (C 18:0) (Barišić, 2016). Jednostruko nezasićene masne kiseline sadrži jednu dvostruku vezu koja se može pojaviti na različitim položajima (Rustan i Christian, 2005). Višestruko nezasićene masne kiseline dijele se u dvije skupine, n-3 i n-6, ovisno o položaju prve dvostruke veze računajući od kraja lanca odnosno metilne skupine (označenom kao n ili ω) (Barišić, 2015). Omega-3 i omega-6 masne kiseline važne su komponente staničnih membrana. Dok su stanični proteini genetski određeni, sastav PUFA staničnih membrana u velikoj je mjeri ovisan o prehrani (Simopoulos, 1991). Visoki omjer n-3/n-6 jedinstvena je nutritivna karakteristika morskih organizama, posebno školjkaša. Omega-3 PUFA masne kiseline su ključne u prevenciji kroničnih upalnih i kardiovaskularnih bolesti (Orban i sur., 2004) te su neophodne za rast i razvoj tijekom životnog ciklusa. Kapice su bogate omega-3 masnim kiselinama od kojih su najzastupljenije eikozapentaenska kiselina (EPA, 20:5n-3) i dokozaheksaenska kiselina (DHA, 22:6n-3) (Freites i sur., 2002). Sastav masnih kiselina može se razlikovati ovisno o vrsti i staništu na kojemu školjkaš živi, reproduktivnom ciklusu, vremenu izlova te drugim abiotičkim i biotičkim čimbenicima. Analiza masnih kiselina u različitim tkivima kapice važna je za razumijevanja njihove

prehrambene vrijednosti i potencijalnih zdravstvenih dobrobiti te kretanja kroz hranidbeni lanac.

Prema dosadašnjim istraživanjima sastav masnih kiselina u ukupnim lipidima kapica ispitan je na različitim tkivima (u škrgama, plaštu, mišiću, gonadama i probavnoj žlijezdi) te na kopicama iz različitih vrsta staništa. Udio ukupnih lipida u škrgama i plaštu vrste *P. magellanicus* (Napolitano i Ackman, 1993) i *A. purpuratus* značajno je niži nego u drugim ispitanim tkivima (Caers i sur., 1999). Nizak udio lipida sadrži i mišić aduktor te zbog toga nije zanimljiv kao trofički marker, ali je važan u istraživanju sastava masnih kiselina zbog svoje komercijalne važnosti. Gonade i probavna žlijezda tkiva su koja sadrže najviši udio lipida. U gonadama udio lipida ovisi o sezoni mrijesta. Prato i sur. (2018) istražili su tri različite vrste kapice (*Flexopecten glaber*, *Mimachlamys varia* i *P. jacobaeus*) te su ustanovili da udio lipida u gonadama značajno opadne za vrijeme mrijesta, a da je najviši udio lipida u probavnoj žlijezdi svih ispitanih vrsta. Sastav masnih kiselina u probavnoj žlijezdi u ovisnosti je o vrsti staništa zbog različite prehrane kapica (Nerot, 2015).

2.5. Molekularne analize školjkaša

U molekularnoj filogenetici vrste su predstavljene nukleotidnim sekvencama koje kodiraju gene ili aminokiseline. Ti su podaci usklađeni kao znakovi u matrici i analiziraju se prema matematičkom modelu koji pokazuje evolucijsku promjenu. Češljače bi se moglo upotrebljavati kao jedan od modela u evolucijskoj biologiji. Iako su vrste unutar porodice Pectinidae dobro opisane, postoje neslaganja prilikom definiranja potporodica i rodova jer se oni determiniraju prema morfologiji odraslih jedinki (Shumway i Parsons, 2016). U Sredozemnom moru pronađene su dvije vrste roda *Pecten*, *P. maximus* i *P. jacobaeus*, koje se razlikuju po obliku ljuštare. Genetičke studije provedene s različitim tipovima genetskih markera, kao što su alozimi, polimorfni restrikcijski fragmenti mitohondrijskog DNK-a, mitohondrijske sekvence i mikrosateliti, upućuju na to da te dvije kapice mogu biti vrste ili podvrste (Wilding i sur., 1999; Rios i sur., 2002; Saavedra i Peña, 2005; Morvezen i sur., 2016). Telahigue i sur. (2018) dokazali su da *P. jacobaeus* s područja Grčke i Tunisa ima visoke vrijednosti raznolikosti haplotipova i niske vrijednosti raznolikosti nukleotida, što je i specifično za tu vrstu. Pojedini autori smatraju da se *P. jacobaeus* križa s *P. maximus* samo u zapadnom dijelu Sredozemnog mora, što dovodi do njihove značajne diferencijacije (Wilding i sur., 1999).

2.6. Potencijal uzgoja kapica

Morski školjkaši, kao i ostale vrste koje pripadaju koljenu mekušaca, važani su za ljudsku prehranu zbog svojeg nutritivnog sastava. Bogati su esencijalnim masnim kiselinama, a njihova konzumacija ima pozitivne učinke na zdravlje. Zbog visoke gastronomske važnosti te mogućeg nestanka iz prirodnog okoliša, postale su predmetom brojnih istraživanja usmjerenih na razvoj tehnologije uzgoja. Prvi pokušaj uzgoja češljača u Europi bio je u zemljama duž atlanske obale 1970-ih nakon uspjeha japanskih uzgajivača (Ventilla, 1982). Vrste kapica *P. maximus*, *A. opercularis* i *Mimachlamys varia* bile su najznačajnije za razvoj uzgoja. Poznato je da se komercijalno uzgajala vrsta *P. maximus* u mrjestilištima u zaljevu Brest (Dao i sur., 1999), u zaljevu Mulroy (Gallagher, 2007) te u Malagi i Valenciji zajedno s *M. varia* (Strand i sur., 2016). Iako se količina proizvedene mlađi kapice *P. maximus* u mrjestilištima povećala tijekom posljednjih desetljeća, uzgoj još uvijek započinje uzimanjem mlađi iz okoliša. Odrasle jedinke u mrjestilištu se kondicioniraju u vodi obogaćenoj mikroalgama te se povećanjem temperature vode potakne mrijest (Beaumont i Gjedrem, 2007). Smatra se da uzgoj kapica treba temeljiti na mlađi uzgojenoj u mrjestilištu, jer ne ovisi o varijabilnim ekološkim čibenicima (Antolović i Antolović, 2012).

Uzgojne količine kapica u Europi su beznačajne radi brojnih poteškoća: nedovoljna opskba mlađi iz prirodnog okoliša (Gallagher, 2007) ili iz mrjestilišta (Andersen i sur., 2011), visoki troškovi proizvodnje mlađi, nisko preživljavanje zbog grabežljivaca (Magnesen i Redmond, 2012), dug ciklus proizvodnje, niža ili nedovoljna tržišna vrijednost u usporedbi s divljim populacijama.

Uzgoj jakovljevih kapica nije uspostavljen na istočnoj obali Jadranskog mora kao niti u Europi, iako je bilo eksperimentalnih pokušaja (Marguš i Teskeredžić, 2005; Strand i sur., 2016). Prema dosadašnjim istraživanjima, važna je dubina postavljanja kolektora, gdje je dokazano da je najviše jedinki uhvaćeno na dubini od 15 metara, kao i mjesec prihvata ličinki (lipanj) te je privat mlađi izostao u razdoblju od listopada do veljače. Maksimalan mortalitet bio je zabilježen u travnju (Marguš i Teskeredžić, 2005). Gonadosomatski indeks, dubina, temperatura mora, salinitet, kisik, dostupnost hrane parametri su koji se trebaju pratiti kako bi se uzgoj mogao što kvalitetnije uspostaviti (Marguš i Teskeredžić, 2005) s ciljem proizvodnje komercijalnih količina kapice kao što je postignuto na vrstama uzgajanim u Kini, Japanu i Čileu (Spencer, 2002) te smanjenja ribolovnog napora.

Izlov vrsta *P. maximus* i *A. opercularis* u pojedinim dijelovima Ujedinjenog Kraljevstva znatno se povećao u posljednjih trideset godina zbog neučinkovitog upravljanja, što dovodi u pitanje održivost vrste u prirodnom staništu. Stoga je uz razvoj uzgoja bitno i gospodarski održivo ribarstvo te definiranje zatvorenih područja za ribolov s ciljem održivosti vrste (Duncan i sur., 2016).

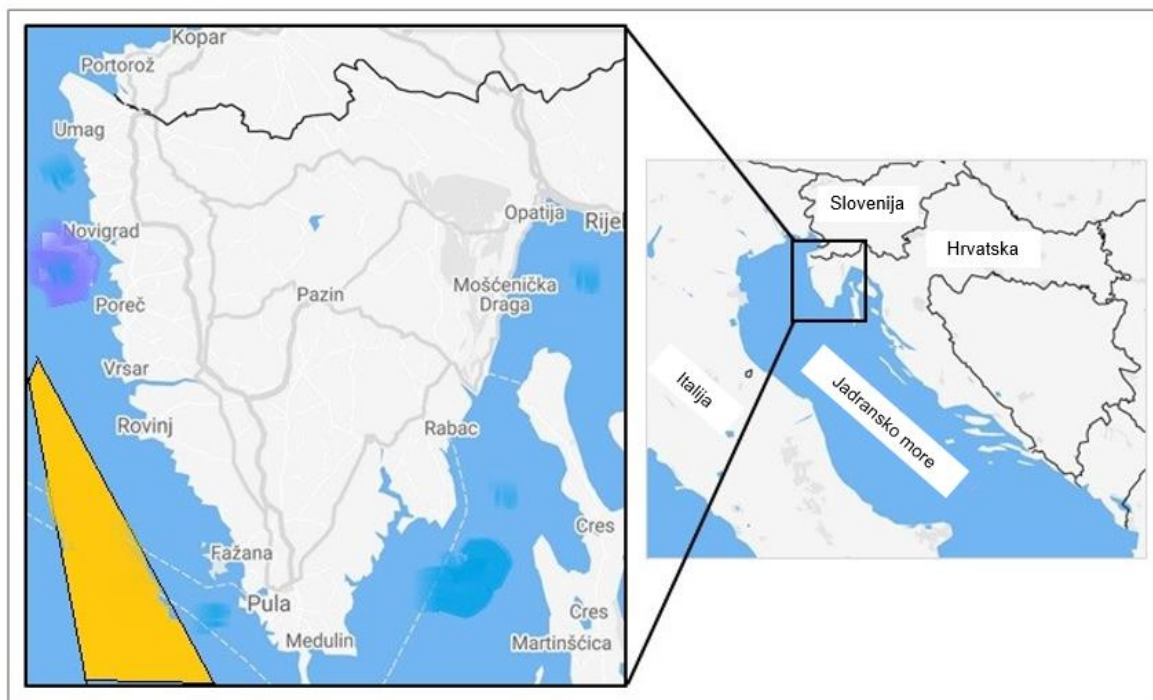
2.7. Hidrografski parametri mora

U radu je istraživana utjecaj sezonalnosti na različite parametre tkiva. Sezonalnost je definirana prema temperaturi mora. Iz dosadašnjih istraživanja poznato je da zemljopisna rasprostranjenost vrste ovisi o mnogo međusobno povezanih čimbenika (temperaturi, salinitetu, otopljenom kisiku), ali za većinu morskih životinja temperatura je primarni čimbenik. Temperatura može izravno ili neizravno utjecati na preživljavanje ličinki i odraslih jedinki, a poznato je da utječe na reprodukciju (sazrijevanje gameta, mrijest, embrionalni razvoj), duljinu planktonskog stadija, naseljavanje ličinki (Kinne, 1970) i na masnokiselinski sastav morskih organizama (Linehan i sur., 1999.). Porast temperature mora utječe na rast kapica, iako temperatura viša od 22 °C usporava njihove metaboličke procese (Marguš i Teskeredžić, 2005). Salinitet je još jedan čimbenik koji djeluje na rasprostranjenost kapica. Nekoliko je istraživanja o utjecaju saliniteta na rasprostranjenost te toleranciju kapice na salinitet. Vrste *Argopecten gibbus*, *A. purpuratus* i *Aequipecten opercularis* nemaju dobra preživljavanja u morima sa smanjenim salinitetom (Brand, 2016). *Argopecten gibbus* pojavljuje se na području gdje je salinitet prilično stabilan i u rasponu od 31 do 37 ‰ (Allen i Costello, 1972). Zanimljivo je da prihvat ličinki *P. jacobaeus* u ušću rijeke Krke ovisi o salinitetu, pa je tako najintenzivniji pri salinitetu višem od 30 ‰ (Marguš i Teskeredžić, 2005). Salinitet i otopljeni kisik u moru mogu utjecati na mrijest, tako primjerice kod vrste *P. yessoensis* smanjenje otopljenog kisika inhibira mrijest (Barber i Blake, 2016).

3. MATERIJAL I METODE RADA

3.1. Opis lokacije i uzimanja uzoraka

Jakovljeve kapice sakupljene su u sjevernom Jadranu, tri nautičke milje ispred hrvatske strane obale zapadne Istre, unutar ribolovne zone A (Slika 7.). Područje uzorkovanja locirano je uz pomoć sonara i prijašnjeg iskustva ribara. Obuhvaćeno područje imalo je najveću dubinu od 40 metara, dok je morsko dno bilo pretežno pjeskovito.



Slika 7. Karta istraživanog područja (narančastom bojom označeno je područje uzimanja uzoraka *P. jacobaeus* za daljnje analize)

Školjkaši su sakupljeni u proljeće, ljeto, jesen i zimu pridnenom povlačnom mrežom – kočom. Nakon izvlačenja ulov je ispražnjen na palubu i jakovljeve kapice odvojene su od ostalog ulova, sortirane, izbrojene te na ledu prevezene do obale. Na kopnu su mokro izvagane i pregledane na vanjske znakove mehaničkog oštećenja. Uzorci određeni za mjerenje biokemijskih pokazatelja, statusa lipida i masnih kiselina stavljeni su u polietilenske vrećice s trakicama za zatvaranje. Nakon toga uzorci su zamrznuti i držani na -86 °C do daljnjih analiza. Prije laboratorijskih analiza, svi su uzorci odmrznuti, meka tkiva su disecirana, pojedinačno izvagana te osušena upijajućim papirom. Uzorci za histološko-morfološke analize nisu zamrzavani, nego su pohranjeni u 4%-tnu otopinu formalina zbog sprečavanja autolize odnosno procesa propadanja stanica nakon uginuća organizma (Kozarić, 1997; Popović, 2012).

3.2. Određivanje osnovnih hidrografskih parametara mora

Osnovni hidrografski parametri mora (temperatura, salinitet i otopljeni kisik) mjereni su jedanput na mjesec na području izlovene zone školjkaša te su uspoređeni s podacima dobivenim od Instituta za oceanografiju i ribarstvo u Splitu (IZOR). Temperatura mora i otopljeni kisik mjereni su oksimetarskom sondom (YSI 54ARC, SAD) na površini i na 15 m dubine, a salinitet je mjereno refraktometrom (Atago, Japan) na površini.



Slika 8. Uređaji za mjerenje hidrografskih parametara (oksimetar i refraktometar)

3.3. Analiza biometrijskih pokazatelja

Školjkašima su mjereni biometrijski pokazatelji (masa ukupnog školjkaša, masa mekog tkiva, masa pojedinog organa te dužina i širina ljuštura). Na temelju izmjerenih podataka izračunat je dužinsko-maseni odnos, indeks kondicije (IK) i gonadosomatski indeks (GSI). Dužina (anteriorno-posteriorna os) i visina (dorzo-ventralna os) svakog uzorka izmjerene su pomičnom mjerkom s točnošću od 0,1 mm. Ukupno je izmjereno 160 školjkaša uzorkovanih kroz 2019. i 2020. godinu.

Dužinsko-maseni odnos je odnos između dužine tijela i ukupne mase jakovljevih kapica koji je izračunat prema Rickeru (1971) uporabom alometrijske jednadžbe $W = aL^b$ uzimanjem logaritma: $\log_{10} W = \log a + b \log L$, gdje je:

W = ukupna masa (g),

L = ukupna dužina (mm),

a = regresijska konstanta koja je ujedno i presjek i

b = koeficijent regresije.

Indeks kondicije predstavlja masu mekog tkiva u odnosu na ukupnu masu školjkaša i odraz je fiziološkog stanja školjkaša (Pampanin i sur., 2005) te je izračunat prema Hickman i Illingworth (1980):

$$IK = \text{masa mokrog tkiva (g)} / \text{masa cijelog školjkaša (g)} \times 100$$

Gonadosomatski indeks za određivanje gametogenih ciklusa jakovljevih kapica izračunat je prema formuli koju su definirali Barber i Blake (2006):

$$GSI = \text{masa vlažne gonade (g)} / \text{masa ukupnog vlažnog tkiva (g)} \times 100$$



Slika 9. Disekcija mekih tkiva

3.4. Histološka analiza uzoraka

Histološka analiza tkiva provedena je u Laboratoriju za biotehnologiju u akvakulturi (LBA) Instituta Ruđer Bošković (IRB) u Zagrebu.

Za pripremu histoloških preparata iz 4%-tne otopine formalina uzeta su tkiva škrge, gonada i probavne žlijezde. Nakon fiksacije, tkiva su dehidrirana i uklopljena u parafinske blokove. Proces dehidracije odvijao se kroz seriju rastućih koncentracija etanola (od 70 % do 100 %) i ksilena. Nakon dehidracije, tkiva su stavljena u plastične histološke kazetice te u parafin tako da su kazetice ubačene u spremište parafina zagrijanog dispencora parafina (Leica, Njemačka) te ostavljene u dispencoru preko noći. Sljedeći korak bio je postavljanje tkiva u parafinske blokove. Tkiva su iz kazete izvađena toplom pincetom i postavljena u kalup tako da se izbjegne stvaranje mjehurića. Kazete su stavljene na vrh kalupa te je iz dispencora nadolijevan vrući parafin. Kada se parafin ohladio, parafinski blok je izvađen iz kalupa i pripremljen za rezanje. Mikrotomom (RM2255, Leica, Njemačka) tkiva u parafinskim blokovima izrezana su na 3-5 μm debljine kao sagitalni i transverzalni presjeci. Preparati su obojeni su hematoksilin-eozinom (HE) i analizirani binokularnim mikroskopom (Olympus® BX51, Njemačka), fotografirani i preneseni na AnalySIS Soft Imaging Sustav (Olympus) radi kvalitativne procjene.

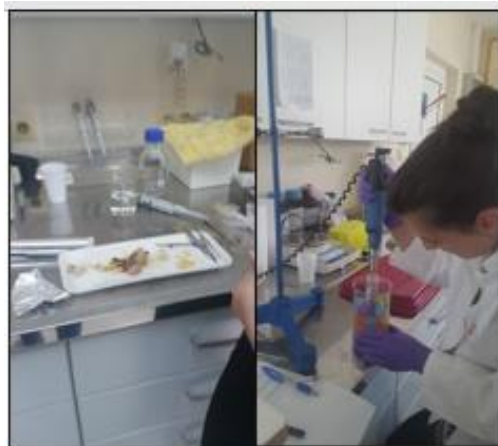
Procjenjivano je šest različitih faza sazrijevanja tkiva gonada kako su opisali Narvarte i Kroeck (2002) (dorada modela Lasta i Calva (1978)).



Slika 10. Priprema i obrada histoloških preparata

3.5. Analize biokemijskih pokazatelja tkiva

Biokemijski pokazatelji analizirani su u mišiću, gonadi, škrigama i probavnoj žlijezdi jakovljevih kapica. Svako je tkivo posebno izvagano na preciznoj vagi (Kern, ABJ-NM/ABS-N, Njemačka) i homogenizirano na ledu homogenizatorom (Ultra-Turrax, IKA, Njemačka) u izotoničnoj otopini 0,9 % NaCl s 0,1 mM inhibitora proteaze fenilmetilsulfonil fluorida, PMSF (1 g tkiva / 2 mL izotonične otopine). Dobiveni homogenati su centrifugirani (20 minuta, 4 °C, 12 000 okretaja u minuti (rpm)) u centrifugi (Centrifuge 5804R, Eppendorf, Njemačka). Supernatant je korišten za biokemijske analize tkiva i analizu antioksidativnog kapaciteta, a nastali talog za elektrokemijsku analizu karotenoida.



Slika 11. Priprema uzoraka za analizu biokemijskih pokazatelja tkiva

3.5.1. Biokemijske analize tkiva

Biokemijske analize tkiva provedene su na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (VEF), na Klinici za unutarnje bolesti. Koncentracije elektrolita (magnezija (Mg) i kalcija (Ca)), metabolita (glukoze (GLU), lipida (triglicerida (TRIG)) i kolesterola (CHOL)) u supernatantu homogenata određene su prema uputama proizvođača komercijalnim reagensima (Abbott, Njemačka) na biokemijskom analizatoru (Abbott Architect c4000, Njemačka) (Slika 12.).



Slika 12. Biokemijski analizator

Koncentracija Mg mjerena je u 3,2 μ L supernatanta, enzimatskom metodom izocitrat dehidrogenaze, dok je koncentracija Ca mjerena u 2,6 μ L supernatanta uporabom arsenazo-III metode. Koncentracija GLU određena je u 2,0 μ L supernatanta enzimskom metodom na bazi heksokinaze/glukoza-6-fosfata katalitičkom reakcijom dehidrogenaze. Koncentracije TRIG i CHOL određene su u 2,4 μ L supernatanta korištenjem enzimskih metoda s glicerol-fosfatoksidazom i kolesterol-esterazom/kolesterol-oksidazom. Koncentracije GLU, TRIG, CHOL, Mg i Ca izmjerene su kao mmol/L tkiva i preračunate u mg/g tkiva.

3.5.2. Analiza antioksidativnog kapaciteta

U tkivima su mjerene razine biomarkera oksidativnog stresa odnosno pokazatelja lipidne peroksidacije i antioksidativnog kapaciteta (nusprodukta lipidne peroksidacije i aktivnosti antioksidativnih enzima).

3.5.2.1. Nusprodukt lipidne peroksidacije (malondialdehid (MDA))

Nusprodukt lipidne peroksidacije mjeran je u laboratorijima LBA, IRB prema metodi koju su opisali Babić i sur. (2016). Određivanje peroksidacije lipida temelji se na stvaranju

reaktivnih tvari tiobarbiturne kiseline (prema engl. *TBA reactive substances*, TBARS) (Ribera i sur., 2001). Malondialdehid (MDA) je spoj koji reagira s TBA-om, a ta je reakcija mjerljiva spektrofotometrijski kroz stvaranje crvenog pigmenta. Za analizu je uzet supernatant homogenata svakog pojedinog tkiva.

Otopine potrebne za analizu napravljene su dan prije, jer se pojedini spojevi teže otapaju, te su skladištene na 4 °C. Nakon centrifugiranja, 250 µL supernatanta homogenata prebačeno je u mikroeprevetu (tubicu Eppendorf). U supernatant je dodano 500 µL mješavine reagensa triklor-octene kiseline (TCA)/butiliranog hidroksitoluena (BHT) (10% TCA, 0,01% BHT). Uzorci su vorteksirani, ohlađeni (15 min, 4 °C) i centrifugirani (10 min, 4 °C, 9000 rpm). Nakon centrifugiranja, 750 µL bistrog supernatanta odvojeno je u mikroeprevetu kojoj su prethodno izbušene rupice na poklopcima te je nadodano 500 µL otopine TBA. Uzorci su opet vorteksirani te stavljeni u grijaći blok (ThermoMixerC, Eppendorf, Njemačka) (30 min, 99 °C). Kako bi se reakcija zaustavila, uzorci su stavljeni na 4 °C da se u potpunosti ohlade. Rashlađeni obojeni uzorci raspoređeni su u triplikatima u prozirne ploče s 96 bunarčića (u svaki bunarčić dodano je 200 µL uzorka) te je izmjerena apsorbancija na 535 nm valne dužine s pomoću spektrofotofluorimetra FLUOstar OPTIMA čitača ploča (Infinite M200, Tecan, Austrija). S obzirom na to da je dobiveni rezultat jedinica absorbance, napravljen je kalibracijski pravac kako bi se odredila koncentracija u tkivima. Koncentracijska krivulja napravljena je razrjeđenjem standardne otopine MDA u fosfatno-puferiranoj fiziološkoj otopini (PBS). Koncentracija TBARS-a u supernatantu izražena je kao apsorbancija u mg/g tkiva.



Slika 13. Analiza koncentracije malondialdehida u uzorcima tkiva

3.5.2.2. Antioksidativni enzimi (superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, laktat dehidrogenaza)

Aktivnosti antioksidativnih enzima mjerene su na Klinici za unutarnje bolesti VEF-a prema uputama proizvođača, komercijalnim reagensima (Randox, Irska) na biokemijskom analizatoru (Architect c4000, Abbott, Njemačka).

Aktivnost superoksid dismutaze (SOD) mjerena je stupnjem inhibicije stvaranja superoksidnog radikala u 5,0 µL supernatanta. Određivanje aktivnosti glutation peroksidaze

(GPx) temelji se na oksidaciji glutationa hidroperoksidom i njegovoj aktivnosti u 4,0 μ L supernatanta. Aktivnost laktat dehidrogenaze (LDH) mjeri se određivanjem interkonverzije piruvata i laktata u uzorku, redukcijom NAD-a u NADH, iz alikvota supernatanta uzorka. Aktivnosti enzima izražene su kao U/g proteina.

3.5.2.3. Ukupan antioksidativni status (TAS)

Ukupan antioksidativni status mjerjen je na Klinici za unutarnje bolesti VEF-a. Ukupan antioksidativni status uključuje enzimске i neenzimске antioksidanse u tkivima. Koncentracija TAS-a mjerena je u 4,0 μ L supernatanta suzbijanjem proizvodnje radikala, što je vizualizirano sa specifičnim kromogenom. TAS je mjerjen prema uputama proizvođača komercijalnim reagensima (Randox) na biokemijskom analizatoru (Architect c4000), a izražen je kao mmol/g proteina.

3.5.2.4. Karotenoidi

Postupak ekstrakcije prilagođen je metodi opisanoj u radu Li i sur. (2012). Iz taloga homogeniziranog uzorka odmjeren je približno 1,5 g. U tubice s izvaganim uzorcima dodano je 5 mL dimetil sulfoksida (DMSO), tubice su začepljene, inkubirane i stavljene u vodenu kupelj (30 minuta, 50 °C) te vorteksirane svakih 10 minuta. Nakon kupelji uzorci su centrifugirani (5 min, 4000 rpm) te je supernatant sakupljen u novu tubicu. Na preostali talog dodano je 5 mL acetona i smjesa je potom vorteksirana. Uzorci su potom ponovno centrifugirani pri istim uvjetima kao što je prije navedeno te je supernatant odvojen. Ovaj je postupak ponavljan do potpunog obezbojenja supernatanta. Primijenjena je voltometrijska metoda nazvana *stripping voltammetry microprobe* (SPV) koja se temelji na stvaranju filma taloga analita na površini parafinom impregnirane grafitne elektrode (PIGE) stavljanjem 5 μ L otopine ekstrakta u aceton i dopuštajući otapalu da ispari na zraku. Talog je zatim analiziran kvadratnom valnom voltametrijom (SWV) u optimalnim eksperimentalnim uvjetima. Aceton je korišten kao otapalo jer ima nisku točku vrelišta (56 °C) tako da može lako ispariti s površine elektrode, što je ključno jer su ekstrahirani karotenoidi vrlo osjetljivi na visoke temperature i kisik. Radna elektroda bila je uronjena u elektrolit samo tijekom voltometrijskih mjerenja. U elektrolit je uronjeno manje od 1 mm grafitne šipke. SWV na modificiranom PIGE-u izveden je korištenjem povećanja potencijalnog koraka od 2 mV, amplitude kvadratnog vala od 50 mV i frekvencijom od 100 Hz.



Slika 14. Analiza karotenoida

3.6. Određivanje ukupnih lipida i masnih kiselina

Tkiva školjkaša odvojena su nakon vaganja (mišić, gonada, probavna žlijezda). Svako je pojedino tkivo posebno izvavano te samljeveno na vibracijskom kriomlinu (Freezer/Mill*6875, SPEX SamplePrep, SAD) sa spremnikom tekućeg dušika na $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Određivanje ukupnih lipida i masnih kiselina obavljeno je kombinacijom metoda prema Pethybridge i sur. (2014) i Parrish i sur. (2015).

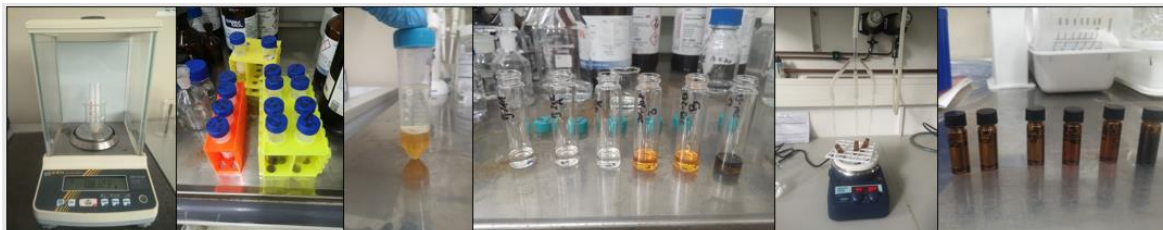


Slika 15. Kriomlin

3.6.1. Ekstrakcija ukupnih lipida

Nakon mljevenja tkiva izvavano je 0,8 g uzorka. Na uzorak izvaganog tkiva dodana je smjesa otapala kloroform (CHCl_3):metanol (MeOH) i ultračiste vode (Milli Q) u omjeru 10:20:7,5 te je ostavljena u digestoru (24 sata). Sljedeći je dan dodano 5 mL kloroforma i 5 mL slane Milli Q vode (9 g NaCl/L) kako bi konačni omjer otapala bio 1:1:0,9 te je uzorak centrifugiran (15 min, 3500 rpm) da bi se razdvojile faze. Donja je faza odvojena te uparena do suhog stanja u struji dušika. Dobiveni ekstrakt otopljen je u 3 mL kloroforma i prebačen

u prethodno izvaganu praznu vijalu te je opet uparen do suhog stanja u struji dušika. Vijala s lipidima izvagana je kako bi se mogao izračunati udio lipida (engl. *total lipid extract*, TLE): $m(\text{lipida}) / m(\text{lipida}) \text{ g} \times 100$.



Slika 16. Ekstrakcija ukupnih lipida

3.6.2. Postupak transmetilacije

U vijalu s uparenim lipidima nakon vaganja dodan je 1 mL kloroforma te je uzorak vorteksiran. Iz uzorka je izuzeto 200 μL , prebačeno u tubu i upareno do suhog stanja u struji dušika. U upareni uzorak dodano je 3 mL smjese otapala metanol: diklormetan:koncentrirana HCl (10:1:1) te je postupak direktne transmetilacije proveden u vodenoj kupelji (2 sata, 80 $^{\circ}\text{C}$). Zatim su uzorci ohlađeni do sobne temperature. U otopinu je dodano redom: 1 mL Milli-Q vode, 1,8 mL heksan:diklormetana (4:1 v/v) te je sve promiješano, vorteksirano i centrifugirano (5 min, 2000 rpm). Gornji organski sloj koji sadrži estere masnih kiselina (engl. *fatty acid methyl esters*, FAME) prebačen je u novu vijalu i uparen do suhog u struji dušika. Postupak reekstrakcije smjesom 1,8 mL otapala ponovljen je još jedanput.



Slika 17. Postupak transmetilacije

3.6.3. Plinska kromatografija

Upareni ekstrakti metilnih estera masnih kiselina resuspendirani su u 1 mL heksana. Prije stavljanja u plinski kromatograf odvojeno je 200 μL uzorka u vijalu te je dodan interni standard (19:0 FAME). Uzorci su injektirani u plinski kromatograf (8890 GC System, Agilent, SAD). Za kromatografiju je korištena kolona DB-WAX Ultra I proizvođača Agilent (123-7063UI-INT), dužine 60 m, unutarnjeg promjera 320 μm te debljine aktivnog sloja 0,50 μm .

Temperaturni uvjeti bili su sljedeći: temperatura injektora 250 °C, temperatura detektora 250 °C. Kao plin nosač korišten je helij uz protok 12.418 mL/min, u „*split modeu*” omjera 2,5:1. Ukupno trajanje programa iznosilo je 51 min. (Supelco 37 Component FAME Mix



Slika 18. Plinski kromatograf

3.7. Molekularne analize

Uzorci tkiva 10 organizama pohranjeni su u 96 % etanolu do daljnje obrade u laboratoriju LBA, IRB. Ukupna DNK izolirana je iz tkiva plašta s pomoću DNeasy Tissue Kita (Qiagen, Njemačka) prema uputama proizvođača. Količina i kvaliteta dobivene DNK procijenjena je elektroforezom na 1 % agaroznom gelu uz korištenje etidijeva bromida za vizualizaciju i dokumentiranje na sustavu za oslikavanje DNK. DNK sekvence djelomične mitohondrijske 18S rRNK umnožene su pomoću početnica Myt18S F i Myt18S R (Santaclara i sur., 2006). Sve PCR amplifikacije sastojale su se od reakcijskih volumena od 25 μ L koji su sadržavali 0,2 mM svakog dNTP-a, 0,2 μ M svake početnice, 1 U Taq polimeraze, 1,5 mM MgCl i oko 50 ng DNK. Profil PCR ciklusa sastojao se od početnih 10 min na 95 °C, 35 ciklusa od 45 sek na 95 °C, 45 sek na 50 °C i 90 sek na 72 °C, s konačnim produžetkom od 7 min na 72 °C. PCR proizvodi sekvencirani su u oba smjera korištenjem istih početnica kao za PCR u tvrtki Macro gen Europe (Amsterdam, Nizozemska). Sve sekvence pokazale su isti haplotip koji je pohranjen u GenBanku (pristupni broj MT020507). Dobiveni haplotip uspoređivan je s objavljenim haplotipovima s pomoću alata za pretraživanje BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

3.8. Statistička obrada rezultata

Za obradu podataka i izradu grafikona hidrografskih parametara i biometrijskih parametara korišten je program Microsoft Office Excel.

Sve eksplorativne analize podataka (standardne mjere centralne tendencije – aritmetička sredina i medijan; varijacije – standardna devijacija i raspon) i statistički testovi obavljani su korištenjem alata R v3.2.21 (*R: A language and environment for statistical computing. URL: <https://www.R-project.org/>*). Histološki, biokemijski parametri, ukupni lipidi i masne kiseline analizirani su kao zavisne varijable od interesa za svako tkivo jakovljeve kapice, u usporedbi s dominantnim spolom i sezonom u godini kao eksploratornim varijablama. Parametrijski test jednosmjerna ANOVA (*post-hoc* Tukeyjeva metoda iskrene značajne razlike (HSD)) korišten je inicijalno, a ako presumpcije testa (normalnost reziduala i homogenost varijance) nisu bile zadovoljene, koristio se neparametrijski Kruskal-Wallisov (KW) test, odnosno *post-hoc* Dunnov test. Za unakrsna ispitivanja razlika između grupa *post-hoc* testovi uključivali su Tukeyjevu HSD metodu nakon signifikantnih ANOVA rezultata odnosno Dunnov test s Holmesovom prilagodbom p vrijednosti nakon značajnog KW rezultata. Za ispitivanja normalne distribucije podataka korišten je Shapiro-Wilkov test, a korelacije između mjerenih parametara analizirane su korištenjem Spearmanovog koeficijenta korelacije. Za korelacijske testove korištena je Bonferronijeva prilagodba p vrijednosti. Razina značajnosti određena je na manje od 0,05.

4. REZULTATI

4.1. Hidrografski parametri

Vrijednosti temperature, saliniteta mora i otopljenog kisika mjerile su se na lokaciji uzorkovanja i u blizini lokacije uzorkovanja. Najmanja aritmetička sredina temperature mora (12,23 °C) izmjerena je u zimu, a najviša (23,90 °C) u ljeto. Najmanja aritmetička sredina saliniteta (36,88 psu) izmjerena je u proljeće, a najviša (38,18 psu) u zimu. Najmanja aritmetička sredina otopljenog kisika (5,55 mg/L) izmjerena je u ljeto, a najviša (6,97 mg/L) u zimu.

Tablica 1. Temperatura, salinitet i otopljeni kisik mora kroz sezone, mjereni na lokaciji i u blizini lokacije uzorkovanja.

Parametar	Sezona			
	Proljeće	Ljeto	Jesen	Zima
Temperatura (°C)	18,12 ± 3,42	23,90 ± 0,87	21,15 ± 1,45	12,23 ± 2,48
Salinitet (psu, ‰)	36,88 ± 0,99	37,83 ± 0,30	37,67 ± 0,59	38,18 ± 0,44
Otopljeni kisik (mg/L)	6,51 ± 0,33	5,55 ± 0,35	5,64 ± 0,15	6,97 ± 0,83

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina (\bar{X}) ± standardna devijacija (SD).

4.2. Biometrijski podaci

4.2.1. Dužinsko-maseni odnos

Jakovljevim kapicama izmjerena je dužina, širina ljuštore i ukupna masa cijelog školjkaša. Najmanja aritmetička sredina dužine ljuštore (95,34 mm) izmjerena je u zimu, a najveća (102,02 mm) u proljeće. Najmanja aritmetička sredina širine ljuštore (83,47 mm) izmjerena je u zimu, a najveća (88,74 mm) u proljeće. Najmanja aritmetička sredina mase cijelog školjkaša (43,54 g) izmjerena je u zimu, a najveća (54,86 g) u proljeće.

Tablica 2. Dužina, širina i ukupna masa cijelog školjkaša kroz sezone

Sezona	N	Parametar								
		$L(\bar{x}) \pm SD$	$L_{(min)}$	$L_{(maks)}$	$\bar{S}(\bar{x}) \pm SD$	$\bar{S}_{(min)}$	$\bar{S}_{(maks)}$	$W(\bar{x}) \pm SD$	$W_{(min)}$	$W_{(maks)}$
Proljeće	40	102,02 ± 13,28	79,6	129,1	88,74 ± 10,56	72,5	112,9	54,86 ± 19,72	29,91	99,4
Ljeto	40	96,85 ± 15,64	71,4	117,1	85,67 ± 12,11	68,1	110,9	43,54 ± 15,65	21,01	69,7
Jesen	40	97,66 ± 7,03	85	110,7	84,29 ± 6,82	75	95,9	46,67 ± 7,33	34,1	60,55
Zima	40	95,34 ± 11,45	74,9	119,9	83,47 ± 7,64	67,5	101,8	44,87 ± 13,96	20,62	77,88

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina (\bar{X}) ± standardna devijacija (SD), te kao minimumi i maksimumi. N – ukupan broj uzoraka; $L(\bar{x})$ – aritmetička sredina dužine ljuštore u mm; $\bar{S}(\bar{x})$ – aritmetička sredina širine ljuštore u mm; $L_{(min)}$ – minimalna vrijednost dužine u mm, $L_{(maks)}$ – maksimalna vrijednost dužine u mm; $\bar{S}_{(min)}$ – minimalna vrijednost širine u mm; $\bar{S}_{(maks)}$ – maksimalna vrijednost širine u mm; $W(\bar{x})$ – aritmetička sredina ukupne mase cijelog školjkaša u gr; $W_{(min)}$ – minimalna vrijednost mase u gr; $W_{(maks)}$ – maksimalna vrijednost mase u gr; SD – standardna devijacija

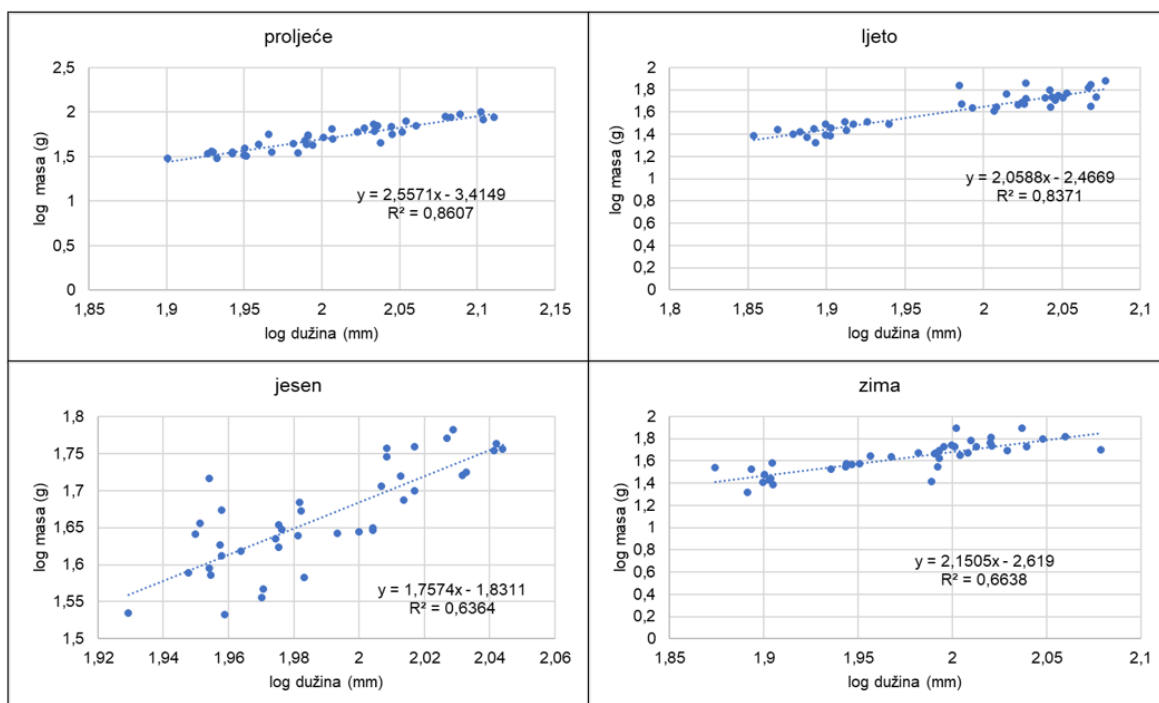
Dužinsko-maseni odnos prikazan je alometrijskom jednadžbom $W=aL^b$ (Tablica 3.) gdje parametri W (ukupna masa školjkaša) i L (dužina školjkaša) ostaju u prvobitnom obliku simbola, a vrijednosti parametara a i b se upisuju u jednadžbu. Regresijski koeficijent (b) u svakoj je sezoni manji od 3, što znači da su u svakoj sezoni školjkaši imali negativni alometrijski rast, odnosno rast ljuštore je bio veći od povećanja ukupne mase školjkaša.

Tablica 3. Dužinsko-maseni odnos jakovljeve kapice kroz sezone.

Sezona	N	Parametar	
		Dužinsko-maseni odnos $W=aL^b$	R^2
Proljeće	40	$W=0,000385L^{2,557118}$	0,8606
Ljeto	40	$W=0,003413L^{2,058763}$	0,8371
Jesen	40	$W=0,014754L^{1,757445}$	0,6364
Zima	40	$W=0,002404L^{2,150483}$	0,6638

Rezultati su prikazani alometrijskom jednadžbom pravca ($W=aL^b$) i koeficijentom determinacije (R^2). N – broj uzoraka; W – ukupna masa školjkaša (g); L = dužina (mm) a – regresijska konstanta koja je ujedno i presjek, b = regresija koeficijenta.

Na Slici 19. prikazana je dužina svakog školjkaša (mm) logaritmirana dekadskim logaritmom (x os) te ukupna masa svakog školjkaša (g) logaritmirana dekadskim logaritmom (y os) a po sezonama (proljeće, ljeto, jesen i zima).



Slika 19. Linijski rast dužine ljušture jakovljeve kapice u odnosu na ukupnu masu školjkaša po sezoni.

4.2.2. Indeks kondicije jakovljevih kapica

Najmanja aritmetička sredina indeksa kondicije (33,27) izmjerena je u zimi, a najveća (37,4) u ljeto. Ustanovljeno je da postoje sezonske varijacije.

Tablica 4. Indeks kondicije (IK) jakovljeve kapice kroz sezone.

Parametar	Sezona			
	Proljeće	Ljeto	Jesen	Zima
IK ($\bar{X} \pm SD$)	34,74 \pm 3,58	37,4 \pm 3,49	33,5 \pm 3,18	33,27 \pm 3,61
IK (min)	30,11	29,77	26,19	22,84
IK (maks)	44,89	44,05	38,46	39,16

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina (\bar{X}) \pm standardna devijacija (SD) te minimumi (min) i maksimumi (maks).

4.2.3. Gonadosomatski indeks

Najmanja aritmetička sredina gonadosomatskog indeksa (3,89) izmjerena je u ljeto, a najveća (6,12) u jesen. Ustanovljeno je da postoje sezonske varijacije.

Tablica 5. Gonadosomatski indeks (GSI) jakovljeve kapice kroz sezone.

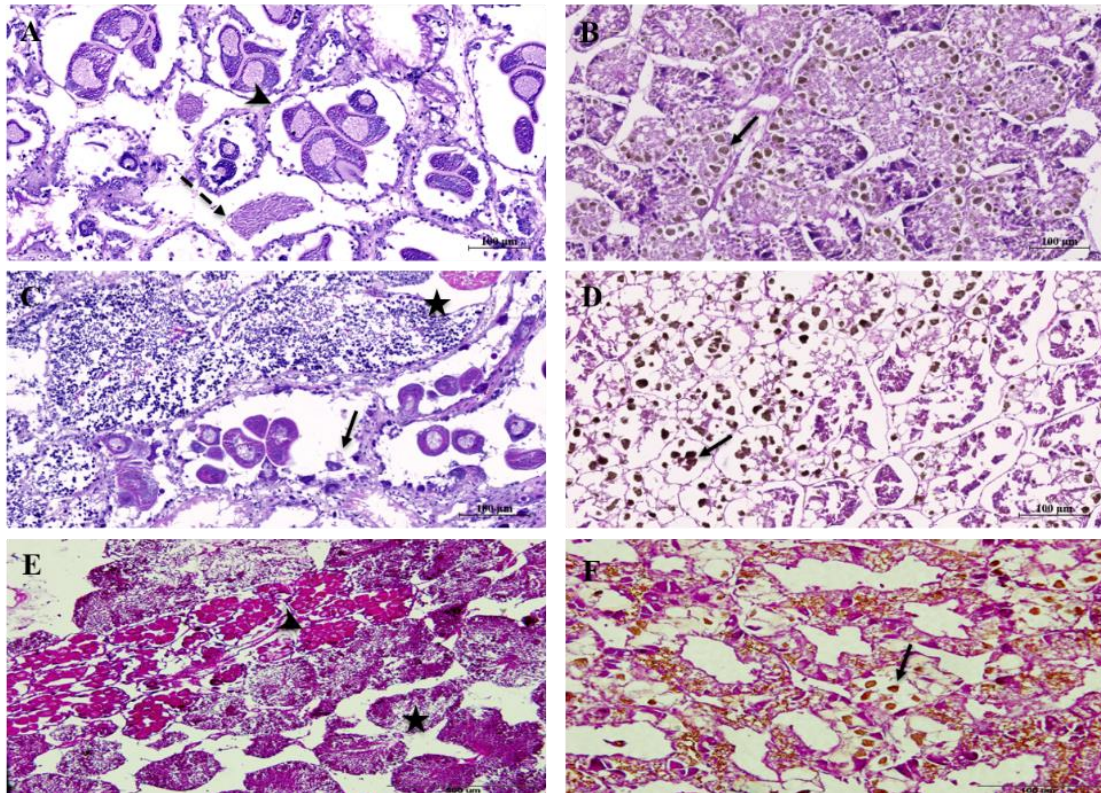
Parametar	Sezona			
	Proljeće	Ljeto	Jesen	Zima
GSI ($\bar{X} \pm SD$)	4,71 \pm 2,31	3,89 \pm 2,12	6,12 \pm 3,6	5,79 \pm 1,7
GSI (min)	1,80	1,04	1,31	2,18
GSI (maks)	9,67	8,74	16,67	9,57

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina (\bar{X}) \pm standardna devijacija (SD) te minimumi (min) i maksimumi (maks).

4.3. Histološka analiza uzoraka

Na tkivima istraživanih jakovljevih kapica nisu ustanovljene lezije ni promjene koje bi upućivale na bolest. Nije otkrivena nazočnost nametnika, bakterija ni gljivica, a niti oštećenja tkiva koja bi upućivala na njihovu eventualnu propagaciju. Histološko-morfološke analize istraživanih organizama nisu pokazale strukturne ni funkcionalne promjene na istraživanim tkivima mišića ni škruga kroz istraživane sezone. Na tkivima gonada ustanovljena je sezonalna varijacija razvojnih stadija, dok su na tkivima kanalića probavne žlijezde kroz sve sezone vidljive manje ili veće promjene veličine i broja lipidnih vakuola u tubuloacinarnim završecima.

Na Slici 20. prikazane su sezonalne varijacije razvojnih stadija ovarija koji se mogu razlučiti kroz proljeće i ljeto kao kasni aktivni razvojni stadij (20A), na jesen kao rani razvojni aktivni stadij (20C) te zimi kao mrijest (na Slici 20E prikazan je presjek djelomično izmriještenog ovarija). Predviteloga oocita označena je strelicom na Slici 20C, viteloga oocita označena je isprekidanom strelicom na Slici 20A, zrela oocita označena je vrhom strelice na Slikama 20A i 20E, dok je spermatozoa muškog dijela gonade tkiva hermafrodita označena zvjezdicom na Slikama 20C i 20E. Promjene lipidne morfologije tubuloacinarnih završetaka kanalića probavne žlijezde vidljive su na tkivima hepatopankreasa djelomice kroz proljeće i kroz ljeto (20B), izraženije na jesen (20D) i kroz zimu (20F). Lipidne vakuole unutar tkiva kanalića hepatopankreasa označene su strelicom na Slikama 20B, 20D i 20F.

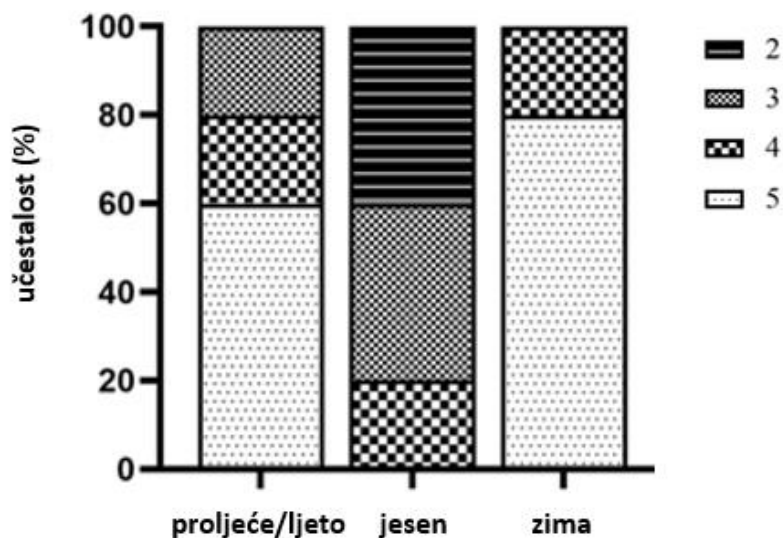


Slika 20. Prikaz histološko-morfoloških presjeka tkiva gonada i probavne žlijezde jakovljeve kapice *P. jacobaeus*.

Gametogeni ciklus kroz sezone prikazan je histogramom na Slici 21., gdje se vidi sezonski uvjetovana učestalost pojavljivanja određenih razvojnih stadija gonada jakovljeve kapice. Kroz proljeće, ljeto i zimu dominira stadij djelomičnog mrijesta, dok su u jesen podjednako zastupljeni stadiji ranog aktivnog i kasnog aktivnog gametogenog stadija, a tek donekle zreli stadij. Zreli i kasni aktivni gametogeni stadij uočen je i kroz proljeće i ljeto. Tijekom zime stadij djelomičnog mrijesta bio je zastupljen s 80 %, a zreli stadij gonada s 20 %. Pojavnost obaju stadija bila je 80 % u razdoblju proljeća i ljeta, dok su na jesen istraživani organizmi bili u fazi postupnog sazrijevanja od ranog do zrelog stadija gonada.

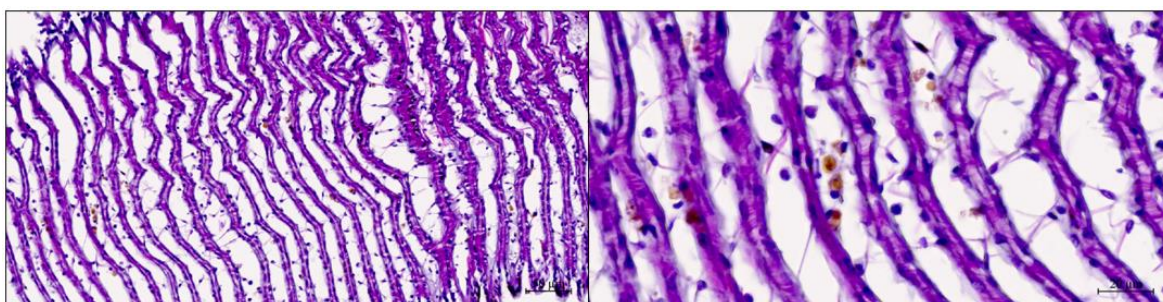
Rani aktivni razvojni stadij gonada imao je dobro definirane folikule, gdje je lumen zauzimao do 50 % folikula. Mužjaci u tom stadiju tvorili su nekoliko slojeva germatogenih stanica i spermatogonija, dok su ženke tvorile ogonije i primarne oocite. Kasni aktivni razvojni stadij podrazumijevao je velike folikule koji su zauzimali do 75 % gonade, s ograničenim intrafolikularnim prostorom. Zreli je stadij izgubio intrafolikularni prostor, spermatozoe su zapremale do 100 % folikula, dok su ženke imale folikule pune slobodnih oocita. U fazi mrijesta vidljivo je da su zrele gamete ispuštene kroz gonodukte uz pojavljivanje druge serije zametnih stanica na folikularnoj stijenci. U fazi djelomičnog mrijesta folikuli su i nadalje puni zrelih gameta, ali neke se doimaju otpuštenima, uz prisutnost fagocita u intrafolikularnom prostoru.

Na Slici 21. sezona (proljeće/ljeto, jesen i zima) je označena na osi x, a učestalost pojavljivanja različitih gonadalnih razvojnih faza (2 - rani aktivni stadij, 3 - kasni aktivni stadij, 4 - zreli stadij i 5 - djelomično izmriješteni stadij) na analiziranim tkivima gameta jakovljevih kapica brojčano prikazana na osi y.



Slika 21. Zrelost gameta i sezonalni gametogeni ciklus *P. jacobaeus*.

Na Slici 22. prikazana je tipična struktura škrge jakovljeve kapice. Škrge se sastoje od tankih listića tkiva (škržni filamenti) koji se protežu od osi škrge. Škržni filamenti izdužene su prstolike izbočine obložene brojnim sićušnim nitima (cilije), između kojih struji voda. Obložene su specijaliziranim stanicama i strukturama koje omogućuju učinkovitu izmjenu plina s okolnim morem.



Slika 22. Histološki prikaz tkiva škrge *P. jacobaeus* s jasno vidljivim krvnim žilama, hemocitima, cilijama i trabekularnim stanicama.

4.4. Analize biokemijskih pokazatelja tkiva

Biokemijski parametri (elektroliti Ca i Mg, energetski i lipidni metaboliti GLU, CHOL i TRIG), enzimski i neenzimski parametri antioksidativnog kapaciteta (TAS, SOD, GPx, karotenoidi) kao i parametar lipidne peroksidacije (TBARS) bili su mjerljivi u svim tkivima i kroz sve sezone, osim karotenoida koji su bili mjerljivi samo u probavnoj žlijezdi. Od biokemijskih parametara antioksidativnog kapaciteta, vrijednosti LDH u većini uzoraka nisu bile mjerljive, što se u prikazima vidi kao ujednačeno niske vrijednosti na razini 0. Statističkim analizama rezultata ustanovljene su značajne razlike biokemijskih parametara i parametara lipidne peroksidacije između sezona, kao i između spolova za većinu istraživanih analita (Tablice 6.-15.). Izmjerene koncentracije Ca i Mg bile su najviše u jesen i zimi, u usporedbi s toplijim sezonama, u svim tkivima osim gonada. Koncentracije GLU značajno su varirale u škragama i mišiću na jesen i zimi, u usporedbi s toplijim sezonama. Sličan sezonski odnos mogao se očitati i za CHOL u probavnoj žlijezdi, dok je TRIG bio značajno povišen na jesen, opet u probavnoj žlijezdi. Vrijednosti TAS bile su različite u probavnoj žlijezdi u zimskom razdoblju u odnosu na druge sezone. Vrijednosti SOD značajno su varirale pogotovo u mišiću i gonadi ljeti u odnosu na zimu, a GPx u mišiću ljeti u odnosu na zimu. Zimsko-ljetne razlike uočljive su i kod LDH i TBARS vrijednosti u probavnoj žlijezdi.

Tablica 6. Vrijednosti kalcija (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama.

Sezona	Tkivo			
	Probavna žlijezda	Škrge	Mišić	Gonada
	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum			
Proljeće	86,67 (35,12) ^a	8,73 (2,81) ^{ab1}	2,5 (0,75) ^{b3}	62,16 (67,08) ^a
	78,71 (51,88)	7,74 (2,34)	2,66 (0,9)	40,45 (22,69)
	44,8 - 128,37	5,58 - 12,97	1,78 - 3,57	6,97 - 178,18
Ljeto	93,01 (25,47) ^a	9,07 (1,98) ^{ab1}	2,54 (0,91) ^{b13}	160,12 (96,18) ^a
	89,23 (20,11)	8,97 (2,62)	2,33 (0,47)	120,77 (58,17)
	69,49 - 134,53	6,84 - 11,75	1,72 - 4,06	68,57 - 318,26
Jesen	113,88 (43,28) ^a	14,37 (2,5) ^{bc2}	6,9 (6,75) ^{c12}	57,86 (64,66) ^{ab}
	125,82 (46,86)	14,34 (1,87)	4,59 (2,04)	36,44 (36,14)
	44,55 - 167,08	10,1 - 17,69	3,19 - 23,41	10,85 - 211,43
Zima	118,04 (28,81) ^a	14,55 (1,72) ^{b2}	5,47 (1,19) ^{b2}	62,76 (22,75) ^c
	101,46 (43,2)	14,42 (2,4)	5,87 (1,61)	50,71 (35,75)
	90,17 - 154,11	12,48 - 16,7	3,86 - 6,75	39,25 - 89,03
Ukupno	104,33 (35,57) ^a	12,03 (3,55) ^c	4,68 (4,37) ^b	82,09 (75,48) ^a
	101,46 (57,47)	12,48 (5,14)	3,85 (2,81)	53,94 (67,83)
	44,55 - 167,08	5,58 - 17,69	1,72 - 23,41	6,97 - 318,26
Spol školjkaša				
Ženski	81,18 (31,18) ^a	9,22 (2,81) ^{ab1}	2,48 (0,74) ^{b1}	84,92 (62,85) ^a
	78,71 (24,42)	9,84 (2,7)	2,52 (0,9)	53,94 (80,32)
	44,8 - 128,37	5,58 - 12,97	1,78 - 3,57	31,24 - 178,18
Muški	125,6 (12,62)	7,29 (0,64) ¹	3,36 (0,99) ¹²	162,62 (220,11)
	125,6 (8,92)	7,29 (0,45)	3,36 (0,7)	162,62 (155,64)
	116,68 - 134,53	6,84 - 7,74	2,66 - 4,06	6,97 - 318,26
Hermafroditi	108,91 (36,39) ^a	13,5 (2,89) ^{b2}	5,54 (5,01) ^{b2}	71,14 (55,47) ^a
	104,07 (53,93)	13,96 (2,77)	4,4 (2,36)	54,68 (48,89)
	44,55 - 167,08	7,58 - 17,69	1,72 - 23,41	10,85 - 211,43

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva.

Tablica 7. Vrijednosti magnezija (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama.

	Tkivo			
	Probavna žlijezda	Škrge	Mišić	Gonada
Sezona	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum			
Proljeće	98,98 (34,93) ^{a1}	27,78 (9,6) ^{ab1}	12,74 (3,63) ^{b2}	197,05 (220,65) ^a
	93,62 (31,91)	26,76 (7,11)	14,32 (4,45)	126,47 (69,06)
	47,18 - 137,54	16,99 - 42,66	8,02 - 16,93	23,94 - 581,18
Ljeto	106,6 (25,14) ^{ac12}	31,17 (6,47) ^{bc1}	12,48 (4,03) ^{b2}	509,96 (287,13) ^a
	93,82 (40,22)	31,47 (8,49)	11,42 (2,13)	400,52 (200,27)
	84,99 - 139,58	23,5 - 39,64	9,51 - 19,44	232,47 - 976,41
Jesen	150,5 (46,65) ^{a12}	48,34 (8,81) ^{ab2}	34,32 (32,67) ^{b1}	205,28 (242,03) ^a
	156,29 (50,24)	49,68 (9,68)	23,78 (12,53)	118,41 (125,85)
	56,25 - 197,66	31,95 - 58,17	16,59 - 113,94	33,13 - 782,06
Zima	167,43 (22,93) ^{a2}	47,76 (5,86) ^{b2}	24,43 (4,18) ^{b1}	197,72 (66,04) ^a
	160,23 (35,62)	48,66 (8,67)	26,68 (6,61)	169,36 (109,4)
	144,47 - 197,25	41,71 - 55,45	19,44 - 28,57	134,36 - 278,87
Ukupno	133,44 (43,89) ^a	40,01 (12,08) ^c	22,73 (21,08) ^b	268,08 (245,51) ^a
	137,54 (73,3)	41,71 (19,11)	18,18 (12,32)	169,36 (213,32)
	47,18 - 197,66	16,99 - 58,17	8,02 - 113,94	23,94 - 976,41
Spol školjkaša				
Ženski	99,61 (35,53) ^a	29,4 (10,06) ^{ab1}	12,29 (3,53) ^b	272,37 (210,84) ^a
	93,62 (35,08)	29,81 (12,16)	12,07 (4,45)	161,37 (274,06)
	47,18 - 137,54	16,99 - 42,66	8,02 - 16,93	92,31 - 581,18
Muški	131,91 (10,85)	25,13 (2,31) ¹	16,88 (3,62)	500,18 (673,5)
	131,91 (7,67)	25,13 (1,63)	16,88 (2,56)	500,18 (476,23)
	124,23 - 139,58	23,5 - 26,76	14,32 - 19,44	23,94 - 976,41
Hermafroditi	144,2 (44,46) ^a	45,19 (9,55) ^{b2}	26,73 (24,28) ^b	237,73 (195,29) ^a
	147,13 (58,16)	46,63 (10,9)	21,82 (10,68)	188,86 (138,27)
	56,25 - 197,66	26,37 - 58,17	9,51 - 113,94	33,13 - 782,06

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva.

Tablica 8. Vrijednosti glukoze (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama.

Sezona	Tkivo			
	Probavna žlijezda	Škrge	Mišić	Gonada
	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum			
Proljeće	518,44 (253,09) ^a	20,82 (8,87) ^{b1}	58,14 (27,65) ^{ab2}	260,03 (207,17) ^{ab}
	433,43 (255,91)	18,68 (2,43)	53,89 (22,03)	257,55 (192,05)
	311,37 - 926,64	10,77 - 35,1	20,96 - 95,64	41,16 - 577,4
Ljeto	699,78 (487,71) ^a	19,92 (11,09) ^{b1}	76,68 (41,92) ^{ab12}	691,62 (460,58) ^a
	598,2 (240,35)	18,79 (10,23)	63,21 (7,54)	675,68 (292,34)
	287,6 - 1531,53	3,01 - 31,32	47,08 - 150,63	240,74 - 1441,44
Jesen	763,52 (273,51) ^a	42,35 (13,88) ^{b2}	204,69 (172,76) ^{b1}	314,8 (317,33) ^b
	775,41 (322,8)	40,09 (12,5)	115,45 (164,73)	171,95 (385,96)
	380,12 - 1111,11	27,08 - 71,86	82,44 - 583,39	51,92 - 947,23
Zima	346,27 (136,71) ^{ab}	37,01 (13,25) ^{c12}	158,72 (48,32) ^{ac1}	495,46 (197,04) ^b
	336,62 (97,69)	33 (2,53)	160,14 (41,27)	411,84 (288,4)
	233,3 - 573,55	25,78 - 59,96	103,97 - 231,51	312,77 - 766,26
Ukupno	605,68 (331,95) ^a	31,63 (15,36) ^b	135,01 (119,95) ^c	424,08 (336,69) ^a
	573,55 (435,71)	31,88 (15,3)	103,2 (91,27)	349,01 (438,65)
	233,3 - 1531,53	3,01 - 71,86	20,96 - 583,39	41,16 - 1441,44
Spol školjkaša				
Ženski	738,06 (508,47) ^a	17,22 (11,91) ^{b1}	51,65 (19,14) ^{ab1}	386,93 (232,39) ^a
	588,34 (594,21)	18,56 (7,91)	53,89 (14,13)	308,05 (319,85)
	311,37 - 1531,53	3,01 - 35,1	20,96 - 71,11	116 - 675,68
Muški	547,2 (160,9)	24,68 (5,22) ¹²	123,14 (38,88) ¹²	741,3 (990,15)
	547,2 (113,77)	24,68 (3,69)	123,14 (27,49)	741,3 (700,14)
	433,43 - 660,98	20,99 - 28,37	95,64 - 150,63	41,16 - 1441,44
Hermafroditi	571,62 (288,8) ^b	37,01 (14,14) ^{c2}	162,55 (133,27) ^{a2}	396,04 (267,92) ^{ab}
	497,09 (404,87)	33,54 (14,99)	115,45 (98,45)	376,48 (420,12)
	233,3 - 1111,11	18,14 - 71,86	47,08 - 583,39	51,92 - 947,23

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva.

Tablica 9. Vrijednosti kolesterola (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama.

Sezona	Tkivo			
	Probavna žlijezda	Škrge	Mišić	Gonada
	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum			
Proljeće	43,1 (14,7) ^{ac1} 39,14 (21,02) 24,39 - 59,1	4,83 (2,26) ^{bc} 5,26 (4,08) 2,21 - 7,08	4,08 (1,99) ^b 3,58 (3,19) 2,17 - 6,7	68,33 (49,37) ^a 44,74 (57,88) 20,12 - 140,4
Ljeto	44,13 (15,07) ^{ab1} 39,13 (16,55) 24,75 - 63	5,75 (1,17) ^b 5,75 (0,85) 4,44 - 7,56	6,61 (3,69) ^b 4,73 (1,69) 4,44 - 13,07	206,19 (177,14) ^a 105,87 (218,47) 58,4 - 470,03
Jesen	67,33 (28,68) ^{a12} 68,82 (37,23) 18,01 - 99,45	10,41 (3,58) ^b 10,78 (4,38) 4,75 - 15,59	20,17 (15,88) ^b 12,22 (24,09) 5,16 - 43,42	96,88 (69,1) ^a 93,92 (73,99) 8,73 - 220,63
Zima	86,04 (19,73) ^{a2} 80,05 (35,57) 67,15 - 109,05	11,33 (4,25) ^b 10,53 (0,4) 6,58 - 18,27	18,61 (8,71) ^b 17,31 (6,18) 11,05 - 33,09	140,86 (16) ^c 143,27 (8,65) 114,91 - 157,76
Ukupno	61,09 (26,6) ^a 59,1 (39,76) 18,01 - 109,05	8,38 (4,06) ^b 7,28 (5,21) 2,21 - 18,27	13,38 (12,26) ^b 9,25 (10,25) 2,17 - 43,42	124 (101,42) ^a 102,96 (94,16) 8,73 - 470,03
Spol školjkaša				
Ženski	42,74 (14,3) ^{ab} 39,14 (19,24) 24,39 - 59,1	4,43 (1,91) ^{b1} 5,06 (2,49) 2,21 - 6,84	3,68 (1,47) ^{b1} 3,58 (2,35) 2,17 - 5,56	82,13 (41,55) ^a 89,1 (52,41) 39,26 - 140,4
Muški	59,97 (4,28) 59,97 (3,03) 56,94 - 63	6,5 (0,83) ¹² 6,5 (0,58) 5,91 - 7,08	9,88 (4,51) ¹² 9,88 (3,19) 6,7 - 13,07	245,08 (318,14) 245,08 (224,96) 20,12 - 470,03
Hermafroditi	66,96 (28,86) ^a 68,17 (51,39) 18,01 - 109,05	9,85 (3,89) ^{b2} 10,48 (4,05) 4,44 - 18,27	16,85 (13,14) ^{b2} 12,05 (14,68) 4,44 - 43,42	121,95 (73,04) ^a 110,39 (66,54) 8,73 - 307,57

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva.

Tablica 10. Vrijednosti triglicerida (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama.

Sezona	Tkivo			
	Probavna žlijezda	Škrge	Mišić	Gonada
	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum			
Proljeće	525,6 (283,42) ^{b2}	11,71 (4,46) ^c	20,19 (6,06) ^{ac}	180,59 (129,87) ^{ab}
	504,22 (215,3)	10,55 (6,89)	17,13 (5,69)	129,99 (152,49)
	285,47 - 993,32	6,52 - 16,88	14,94 - 29,84	38,13 - 362,03
Ljeto	536,16 (235,08) ^{b12}	11,09 (2,35) ^a	17,61 (10,87) ^a	307,17 (222,12) ^{ab}
	456,64 (291,32)	10,18 (2,12)	14,92 (9,77)	242,65 (65,77)
	297,82 - 875,64	8,79 - 14,77	9,21 - 35,59	126,42 - 692,57
Jesen	1126,14(563,45) ^{b1}	27,32 (20,64) ^c	49,33 (47,36) ^{ac}	197,3 (133,06) ^{ab}
	1049,19 (334,72)	15,39 (23,48)	33,8 (19,52)	148,1 (214,95)
	557,29 - 2400,11	11,51 - 60,72	16,29 - 161,88	45 - 392,57
Zima	581,59 (135,81) ^{a12}	12,8 (2,12) ^b	32,04 (5) ^b	369,81 (115,65) ^c
	596,83 (159,28)	13,14 (1,77)	31,65 (4,51)	300,25 (90,51)
	428,74 - 771,64	9,28 - 14,49	24,41 - 37,32	294,99 - 564,04
Ukupno	748,95 (456,89) ^c	17,24 (14,07) ^b	32,34 (30,57) ^b	255,05 (161,82) ^a
	635,01 (468,3)	13,14 (4,89)	25,44 (18,51)	262,63 (200,49)
	285,47 - 2400,11	6,52 - 60,72	9,21 - 161,88	38,13 - 692,57
Spol školjkaša				
Ženski	553,77 (290,89) ^b	12,56 (4,58) ^a	16,08 (4,7) ^a	213,8 (102,73) ^{ab}
	504,22 (356,15)	14,77 (6,89)	16,68 (2,19)	204,22 (132,64)
	285,47 - 993,32	6,52 - 16,88	9,29 - 22,37	110,14 - 362,03
Muški	702,9 (244,29)	10,17 (0,54)	32,71 (4,06)	365,35 (462,76)
	702,9 (172,74)	10,17 (0,38)	32,71 (2,87)	365,35 (327,22)
	530,16 - 875,64	9,79 - 10,55	29,84 - 35,59	38,13 - 692,57
Hermafroditi	815,7 (511,75) ^c	19,59 (16,27) ^b	37,37 (35,33) ^b	254,16 (138,29) ^a
	674,8 (573,19)	13,66 (3,16)	31,39 (13,54)	282,49 (173,83)
	297,82 - 2400,11	8,79 - 60,72	9,21 - 161,88	45 - 564,04

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva.

Tablica 11. Vrijednosti ukupnog antioksidativnog statusa, TAS (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama.

	Tkivo			
	Probavna žlijezda	Škrge	Mišić	Gonada
Sezona	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum			
Proljeće	17,58 (12,58) ^{a1}	0,79 (0,74) ^b	0,06 (0,02) ^{b12}	1,91 (2,88) ^b
	9,23 (19,7)	0,88 (1,11)	0,06 (0,02)	0,59 (1,57)
	7,16 - 33,61	0,04 - 1,78	0,03 - 0,09	0,08 - 6,93
Ljeto	16,54 (6,28) ^{b1}	0,45 (0,55) ^{ab}	0,05 (0,03) ^{a1}	5,72 (9,56) ^{ab}
	18,11 (7,5)	0,07 (0,84)	0,04 (0,02)	1,1 (2,1)
	8,3 - 24,22	0,04 - 1,2	0,03 - 0,1	0,59 - 22,73
Jesen	19,55 (13,89) ^{b1}	0,81 (0,96) ^a	0,14 (0,13) ^{a12}	1,24 (2,01) ^a
	16,7 (11,4)	0,14 (1,71)	0,09 (0,07)	0,34 (1,11)
	4,02 - 48,95	0,07 - 2,15	0,05 - 0,45	0,05 - 5,85
Zima	49,6 (13,84) ^{a2}	1,04 (1,24) ^b	0,99 (0,82) ^{b2}	4,25 (5,39) ^b
	47,99 (24,99)	0,15 (2,16)	1,52 (1,49)	0,88 (5,78)
	35,71 - 65,66	0,12 - 2,48	0,1 - 1,65	0,56 - 12,81
Ukupno	25 (17,59) ^c	0,78 (0,88) ^{ab}	0,29 (0,52) ^b	3,02 (5,3) ^a
	19,78 (23,9)	0,15 (1,39)	0,08 (0,07)	0,85 (2,39)
	4,02 - 65,66	0,04 - 2,48	0,03 - 1,65	0,05 - 22,73
Spol školjkaša				
Ženski	15,78 (11,13) ^b	0,8 (0,75) ^{ab}	0,05 (0,02) ^a	6,44 (9,49) ^{ab}
	9,23 (10,67)	0,88 (1,12)	0,06 (0,02)	1,77 (6,33)
	7,16 - 33,61	0,04 - 1,78	0,03 - 0,08	0,2 - 22,73
Muški	26,51 (3,25) ^a	1,04 (0,2) ^b	0,09 (0,01) ^b	1,61 (2,17) ^b
	26,51 (2,3)	1,04 (0,14)	0,09 (0,01)	1,61 (1,53)
	24,22 - 28,81	0,9 - 1,19	0,09 - 0,1	0,08 - 3,14
Hermafroditi	27,69 (19,58) ^b	0,74 (0,98) ^a	0,39 (0,6) ^a	2,12 (3,44) ^a
	20,61 (26,97)	0,13 (1,72)	0,1 (0,16)	0,73 (1,02)
	4,02 - 65,66	0,04 - 2,48	0,03 - 1,65	0,05 - 12,81

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva.

Tablica 12. Vrijednosti superoksid dismutaze, SOD (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama.

Sezona	Tkivo			
	Probavna žlijezda	Škrge	Mišić	Gonada
	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum			
Proljeće	67,5 (26,56) ^b	1046,04(735,57) ^a	589,69 (370,19) ^{a12}	433,02(214,19) ^{ab12}
	53,79 (35,27)	822,75 (305,75)	705 (494,62)	538,2 (285,08)
	45,79 - 106,67	501,2 - 2326,5	126,68 - 1030	138,12 - 644,25
Ljeto	82,96 (38,72) ^a	739,54 (118,35) ^b	792,57 (598,78) ^{b1}	546,79 (225,63) ^{ab1}
	81,99 (34,61)	753,6 (126,1)	1155,5 (1055,5)	509 (179,37)
	42,29 - 142,78	613,96 - 913,25	74,33 - 1264,5	249 - 858,5
Jesen	103,4 (54,64) ^a	549,37 (58,27) ^b	180,85 (138,19) ^{a12}	358,09(306,65) ^{ab12}
	80,15 (73,37)	561,73 (86,3)	165,23 (198,41)	209,31 (357,06)
	57,47 - 194,29	456,5 - 615,8	0 - 366,62	90,33 - 948,25
Zima	82,62 (17,9) ^a	584,41 (179,13) ^b	59,1 (38,61) ^{a2}	108,26 (62,48) ^{a2}
	81,73 (11,09)	657,2 (291,13)	67,5 (43,17)	80,44 (33,58)
	59,83 - 109	382 - 778,4	0 - 96,17	67,89 - 217
Ukupno	86,64 (40,01) ^b	706,3 (382,95) ^c	376,24 (427,71) ^a	361,09 (267,9) ^a
	81,73 (41,12)	615,8 (237,22)	187 (454,9)	249 (411,31)
	42,29 - 194,29	382 - 2326,5	0 - 1264,5	67,89 - 948,25
Spol školjkaša				
Ženski	74,98 (27) ^b	1128,45(680,27) ^{a1}	795,45 (332,5) ^a	577,09 (208,44) ^{ab}
	83,27 (43,18)	913,25 (120)	790,7 (325)	564,8 (106,05)
	45,79 - 106,67	637 - 2326,5	296,08 - 1155,5	279,72 - 858,5
Muški	48,04 (8,13)	636,35 (191,13) ¹²	100,51 (37,01)	323,56 (262,25)
	48,04 (5,75)	636,35 (135,15)	100,51 (26,17)	323,56 (185,44)
	42,29 - 53,79	501,2 - 771,5	74,33 - 126,68	138,12 - 509
Hermafroditi	95,1 (42,77) ^b	583,12 (114,06) ^{c2}	279,71 (400,1) ^{ab}	298,28 (262,95) ^a
	81,86 (51,39)	597,8 (142,95)	141,93 (242)	207 (353,89)
	56,57 - 194,29	382 - 778,4	0 - 1264,5	67,89 - 948,25

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva.

Tablica 13. Vrijednosti glutation peroksidaze, GPx (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama.

Sezona	Tkivo			
	Probavna žlijezda	Škrge	Mišić	Gonada
	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum			
Proljeće	45,95 (6,2) ^b	97,58 (43,78) ^{ab}	141,81 (59,69) ^{a1}	71,47 (17,86) ^{ab}
	43,97 (3,16)	82,69 (12,95)	171,03 (102,15)	77,05 (14,6)
	39,75 - 56,16	70,59 - 175,04	68,52 - 194,45	45,96 - 93,5
Ljeto	43,3 (8,24) ^a	77,57 (10,47) ^{ab}	132,99 (58,41) ^{b12}	70,89 (15,63) ^a
	44,87 (8,77)	73,44 (18,21)	172,59 (85,12)	73,23 (15,91)
	32,1 - 53,54	68,25 - 90,57	51,94 - 176,44	52,02 - 92,69
Jesen	49,01 (9,09)	66,03 (8,4)	68,27 (18,34) ¹²	57,06 (19,13)
	45,87 (9,5)	68,5 (12,69)	73,72 (24,75)	48,56 (29,71)
	39,22 - 65,52	56,52 - 79,47	40,45 - 88,27	38,08 - 89,66
Zima	47,65 (2,55) ^{ab}	65,49 (6,56) ^c	56,28 (9,78) ^{ac2}	43,89 (6,17) ^b
	46,64 (2,29)	69,31 (11,49)	57,96 (15,72)	42,42 (4)
	44,8 - 51,42	58,3 - 71,52	43,95 - 66,47	38,31 - 54,18
Ukupno	46,81 (7,19) ^c	75,28 (23,79) ^{ab}	95,72 (53,09) ^b	60,34 (18,57) ^a
	46,51 (6,34)	69,9 (8,24)	79,9 (70,93)	54,18 (32,62)
	32,1 - 65,52	56,52 - 175,04	40,45 - 194,45	38,08 - 93,5
Spol školjkaša				
Ženski	47,47 (5,14) ^b	100,84 (41,84) ^{ab1}	163,01 (43,88) ^{a1}	80,82 (12,64) ^{ab2}
	46,51 (3,41)	86,25 (4,2)	174,56 (17,56)	77,72 (15,64)
	43,35 - 56,16	73,3 - 175,04	86,44 - 194,45	63,12 - 93,5
Muški	35,93 (5,41)	80,58 (14,13) ¹²	60,23 (11,72) ¹²	59,59 (19,28) ¹²
	35,93 (3,83)	80,58 (9,99)	60,23 (8,29)	59,59 (13,63)
	32,1 - 39,75	70,59 - 90,57	51,94 - 68,52	45,96 - 73,23
Hermafroditi	47,96 (7,03) ^a	66,63 (6,97) ^{b2}	79,12 (40,5) ^{b2}	54,03 (16) ^{a1}
	46,6 (7,19)	68,76 (11,92)	67 (30,02)	48,56 (20,68)
	38,61 - 65,52	56,52 - 79,47	40,45 - 176,44	38,08 - 89,66

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva.

Tablica 14. Vrijednosti laktat dehidrogenaze, LDH (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama.

Sezona	Tkivo	
	Probavna žlijezda	Mišić
	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum	
Proljeće	0,23 (0,23) ¹²	17,13 (8,28)
	0,29 (0,38)	15 (3,75)
	0 - 0,5	10,5 - 31,4
Ljeto	0,42 (0,13) ²	17,3 (15,14)
	0,36 (0,12)	18,5 (14,5)
	0,31 - 0,64	0 - 39,5
Jesen	0,34 (0,18) ²	17,58 (12,24)
	0,34 (0,14)	18,12 (10,07)
	0 - 0,6	0 - 40
Zima	0,05 (0,11) ^{b1}	19,2 (18,48) ^a
	0 (0)	17 (27,33)
	0 - 0,25	2,17 - 45,17
Ukupno	0,27 (0,21) ^b	17,77 (12,83) ^a
	0,31 (0,4)	16,25 (13,82)
	0 - 0,64	0 - 45,17
Spol školjkaša		
Ženski	0,3 (0,29)	14,55 (3,13)
	0,38 (0,5)	15 (3,75)
	0 - 0,64	10,5 - 18,5
Muški	0,32 (0,05) ^b	26,45 (7) ^a
	0,32 (0,04)	26,45 (4,95)
	0,29 - 0,36	21,5 - 31,4
Hermafroditi	0,25 (0,2) ^b	17,7 (14,9) ^a
	0,3 (0,39)	16,5 (20,88)
	0 - 0,6	0 - 45,17

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva. Vrijednosti LDH nisu bile mjerljive u tkivu škrge i gonada pa stoga nisu prikazane.

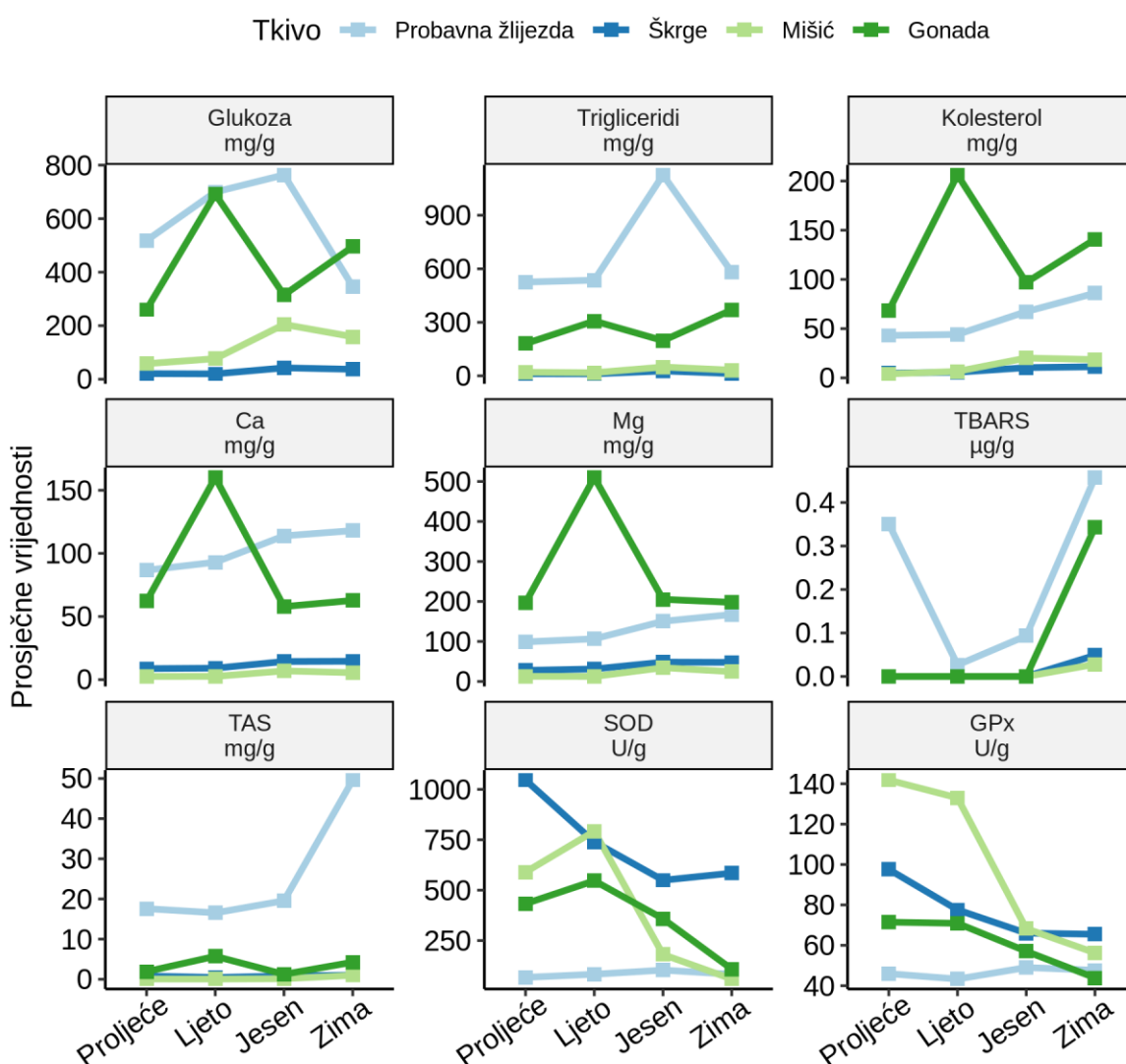
Tablica 15. Vrijednosti reaktivnih tvari tiobarbiturne kiseline, TBARS (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama te prema spolu organizama.

Sezona	Tkivo			
	Probavna žlijezda	Škrge	Mišić	Gonada
	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum			
Proljeće	0,35 (0,66) ¹²	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0,06 (0,04)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0,03 - 1,54	0 - 0	0 - 0	0 - 0
Ljeto	0,03 (0,03) ¹	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0,02 (0,05)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0 - 0,06	0 - 0	0 - 0	0 - 0
Jesen	0,09 (0,1) ¹²	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0,09 (0,14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0 - 0,27	0 - 0	0 - 0	0 - 0
Zima	0,46 (0,18) ^{a2}	0,05 (0,03) ^{bc}	0,03 (0,03) ^c	0,34 (0,2) ^{ab}
	0,44 (0,2)	0,05 (0,02)	0,02 (0,02)	0,28 (0,17)
	0,29 - 0,73	0,01 - 0,07	0 - 0,08	0,16 - 0,66
Ukupno	0,21 (0,35) ^b	0,01 (0,02) ^a	0,01 (0,02) ^a	0,07 (0,17) ^a
	0,07 (0,26)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0 - 1,54	0 - 0,07	0 - 0,08	0 - 0,66
Spol školjkaša				
Ženski	0,05 (0,03) ¹	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0,04 (0,03)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0,02 - 0,08	0 - 0	0 - 0	0 - 0
Muški	0,8 (1,05) ²	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0,8 (0,74)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	0,06 - 1,54	0 - 0	0 - 0	0 - 0
Hermafroditi	0,19 (0,22) ^{b1}	0,02 (0,03) ^a	0,01 (0,02) ^a	0,11 (0,19) ^{ab}
	0,13 (0,29)	0 (0,02)	0 (0)	0 (0,18)
	0 - 0,73	0 - 0,07	0 - 0,08	0 - 0,66

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva. Uzorci koji nisu imali TBARS u tkivu ili su ispod granice detekcije testa označeni su nulom te su izostavljeni iz statističkih analiza.

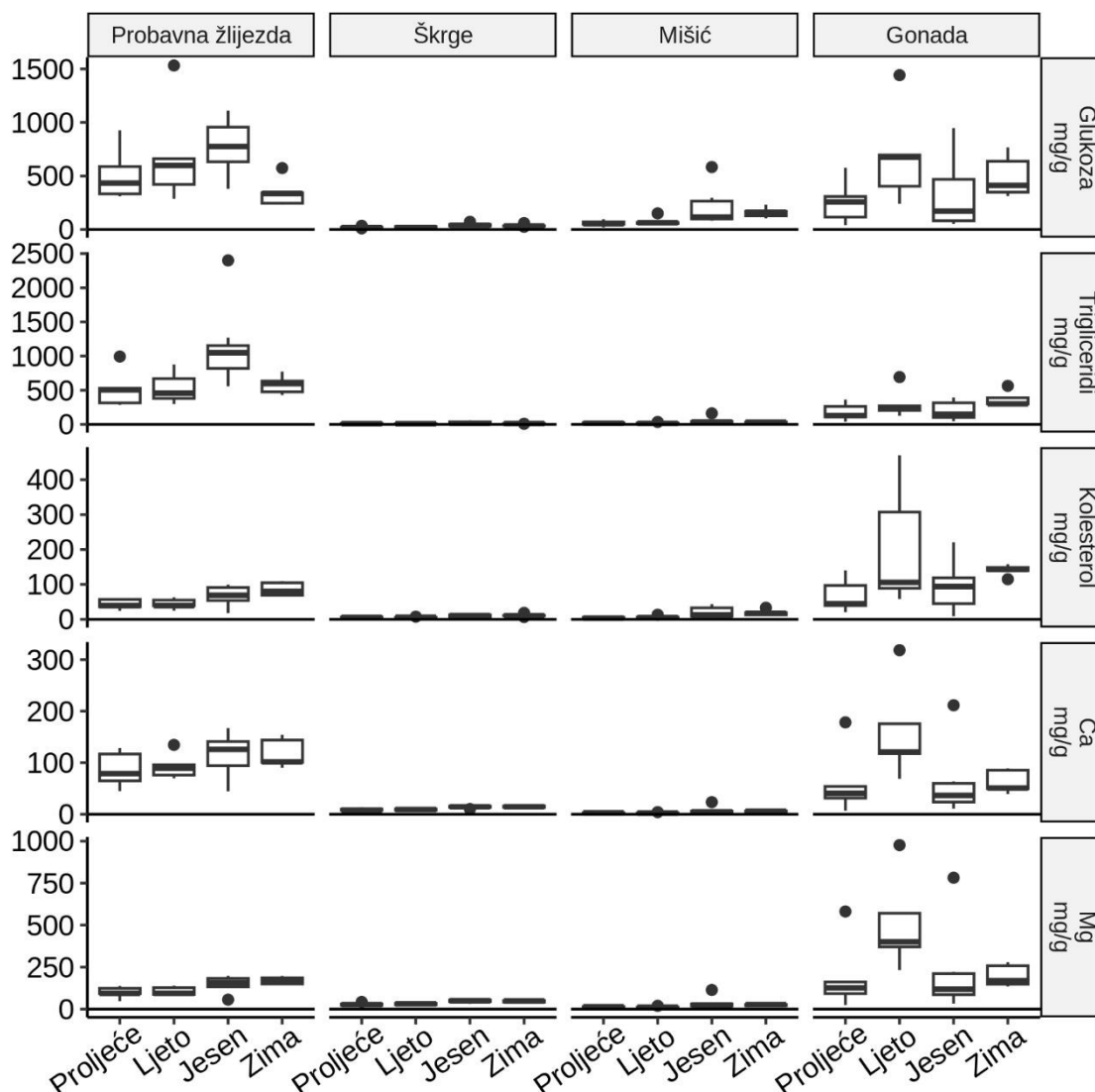
Interakcije i trendovi kretanja prosječnih vrijednosti biokemijskih parametara (elektroliti Ca i Mg, energetski i lipidni metaboliti GLU, CHOL i TRIG), enzimskih parametara antioksidativnog kapaciteta (TAS, SOD, GPx) kao i parametara lipidne peroksidacije (TBARS) u pojedinim tkivima kroz sezone pregledno su prikazani na Slici 23. gdje su prosječne vrijednosti u pojedinom tkivu jakovljeve kapice označene brojačno na osi y, a sezone (proljeće, ljeto, jesen i zima) na osi x.

Najviše vrijednosti GLU (jesen), TRIG (jesen) i TBARS (zima) zabilježene su u tkivu probavne žlijezde, dok su najviše vrijednosti CHOL, Ca i Mg zabilježene u tkivu gonada ljeti. Najviša aktivnost SOD zabilježena je u škragama (proljeće), dok je najviša aktivnost GPx bila u mišiću (proljeće).



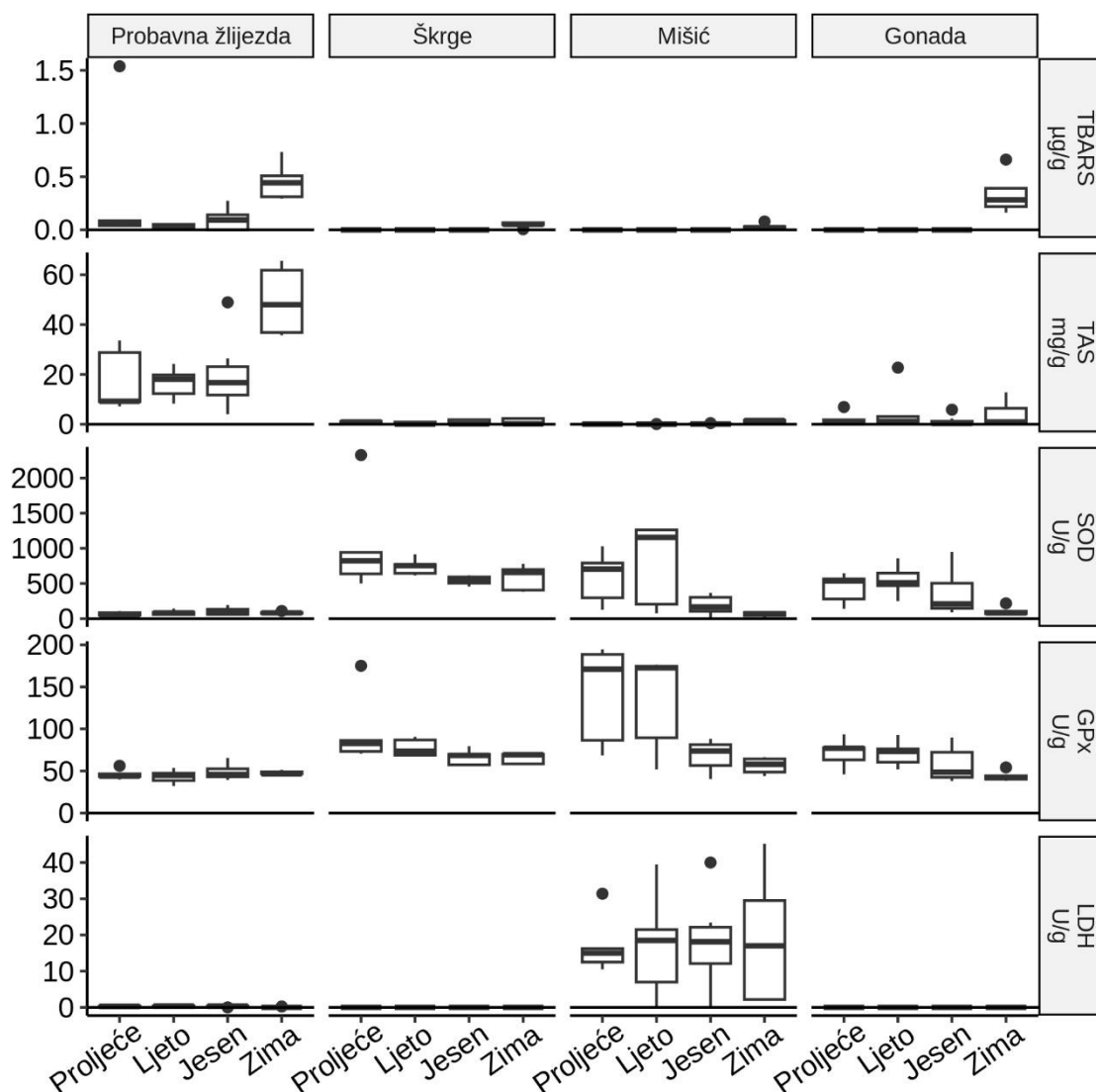
Slika 23. Prosječne vrijednosti i trend kretanja biokemijskih parametara, enzimskih parametara antioksidativnog kapaciteta kao i parametara lipidne peroksidacije u pojedinim tkivima jakovljeve kapice kroz sezone

Distribucija mjerenih biokemijskih parametara, enzimskih parametara antioksidativnog kapaciteta kao i parametara lipidne peroksidacije u pojedinim tkivima jakovljeve kapice kroz sezone prikazana je na Slikama 24. i 25.



Slika 24. Boxplot distribucija vrijednosti biokemijskih parametara jakovljeve kapice kroz sezone u pojedinim tkivima.

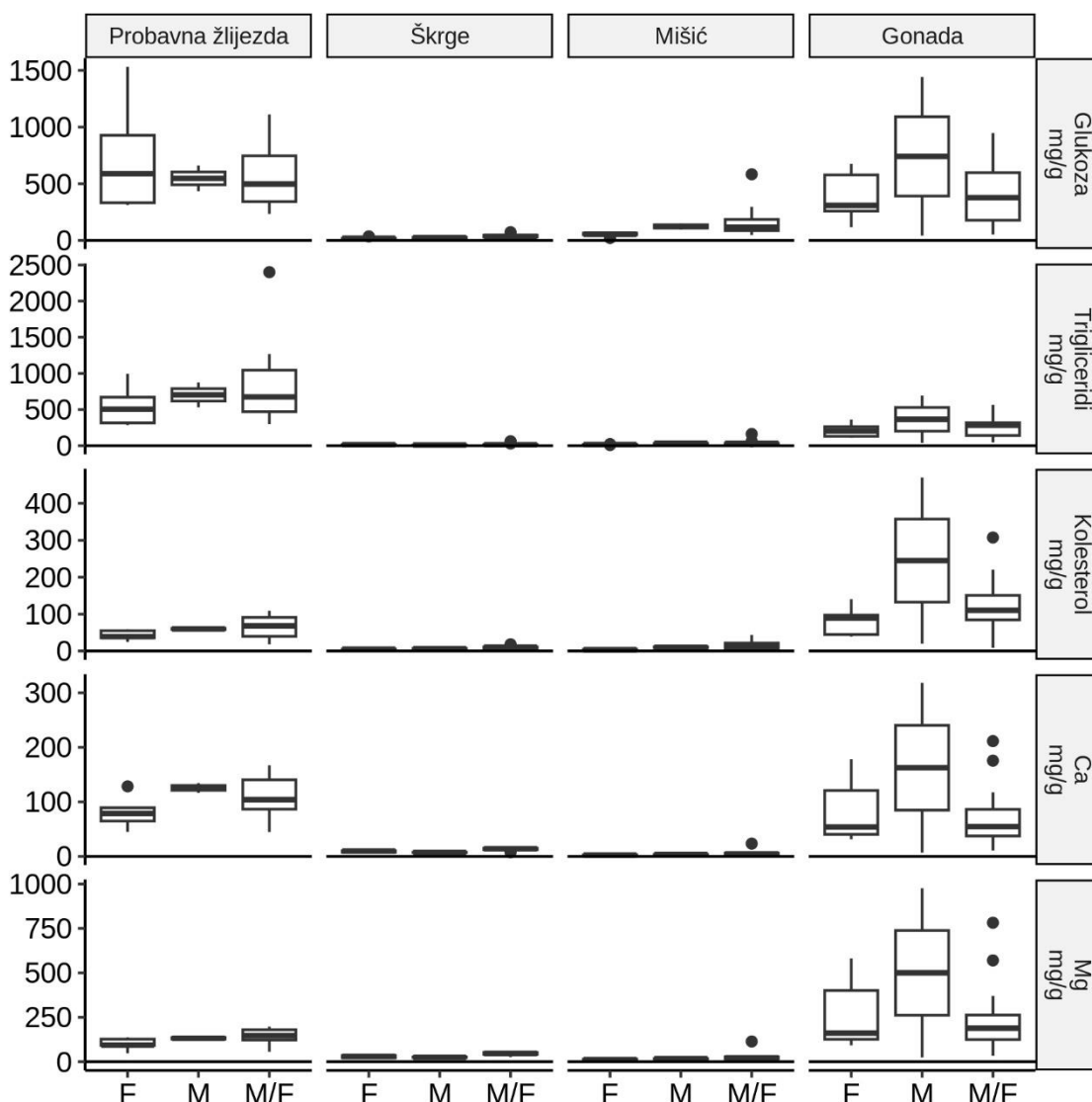
Sezone su označene na osi x, dok su vrijednosti mjerenih parametara označene brojčano na osi y. Masno otisnuta poprečna linija označava medijan, dok prostori ispod i iznad medijana označavaju prvi i treći kvartil. Linije koje izlaze izvan okvira najviša su ili najniža vrijednost koja nije veća od 1,5 puta interkvartilnog raspona prvog ili trećeg kvartila. Vrijednosti izvan tih linija su točke koje su prikazane zasebno. Nula na osi x označena je tankom linijom da bi se razlikovala od niskih vrijednosti mjerenih parametara.



Slika 25. Boxplot distribucija vrijednosti biokemijskih parametara i parametara lipidne peroksidacije jakovljeve kapice kroz sezone u pojedinim tkivima.

Sezone su označene na osi x, dok su vrijednosti mjerenih parametara označene brojačno na osi y. Masno otisnuta poprečna linija označava medijan, dok prostori iznad i ispod medijana označavaju prvi i treći kvartil. Linije koje izlaze izvan okvira najviša su ili najniža vrijednost koja nije veća od 1,5 puta interkvartilnog raspona prvog ili trećeg kvartila. Vrijednosti izvan tih linija su točke koje su prikazane zasebno. Os x označena je tankom linijom da bi se razlikovala od niskih vrijednosti mjerenih parametara.

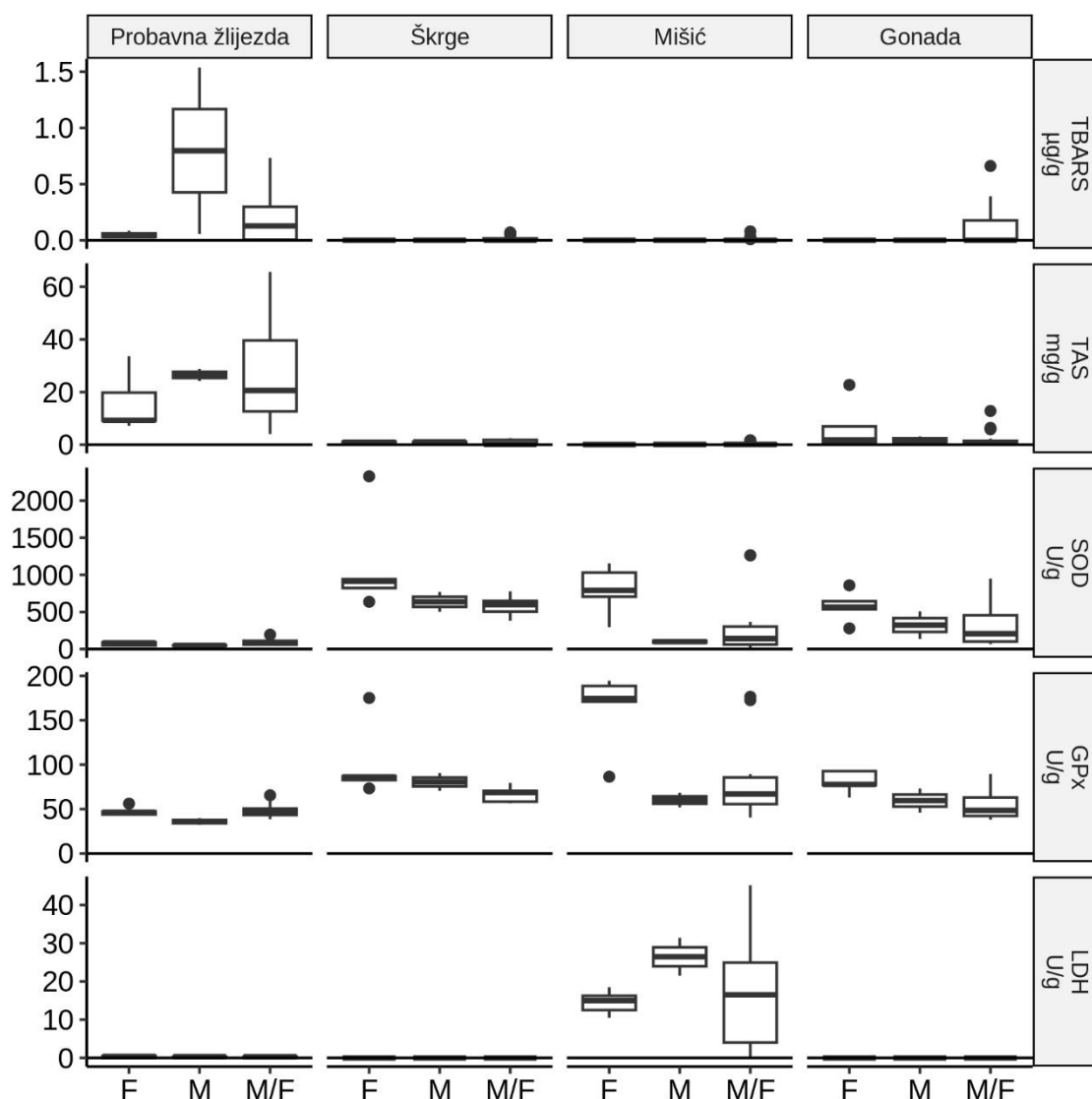
Ako se distribucija vrijednosti antioksidativnih parametara i parametara lipidne peroksidacije jakovljeve kapice promatra izvan konteksta sezone, ali u odnosu tkiva i spola jakovljeve kapice, najveći raspon distribucije uočava se u gonadama mužjaka za većinu biokemijskih parametara (Slika 26.), odnosno u probavnoj žlijezdi dominantnih mužjaka i hermafrodita (TBARS, odnosno TAS), kao i u mišiću hermafrodita (LDH) (Slika 27.).



Slika 26. Boxplot distribucija vrijednosti biokemijskih parametara jakovljeve kapice prema spolu školjkaša u pojedinim tkivima, nezavisno od sezone.

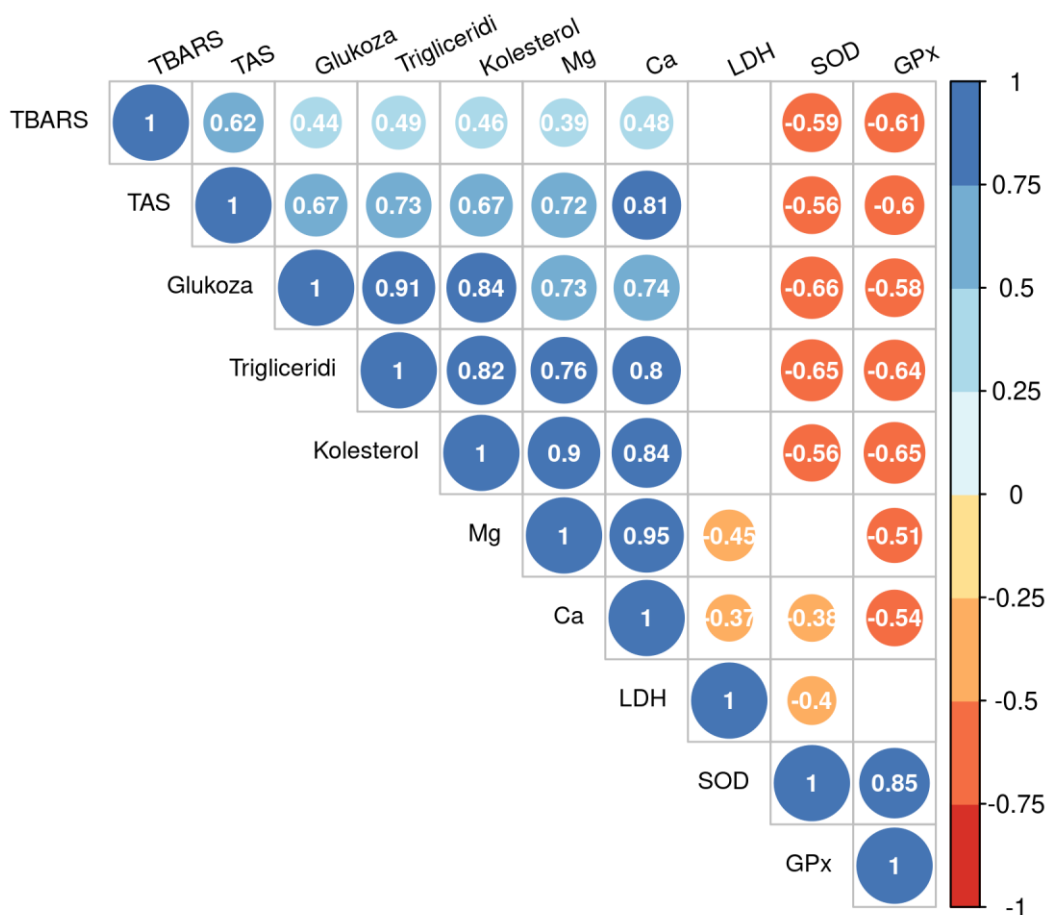
Spolovi su dominantno ženke (F), dominantno mužjaci (M) i hermafroditi (M/F), opisani na osi x, dok su vrijednosti mjerenih parametara označene brojačno na osi y. Masno otisnuta poprečna linija označava medijan, dok prostori iznad i ispod medijana označavaju prvi i treći kvartil. Linije koje izlaze izvan okvira najviša su ili najniža vrijednost koja nije veća od 1,5 puta interkvartilnog raspona prvog ili trećeg kvartila. Vrijednosti izvan tih linija su točke koje

su prikazane zasebno. Os x označena je tankom linijom da bi se razlikovala od niskih vrijednosti mjerenih parametara.



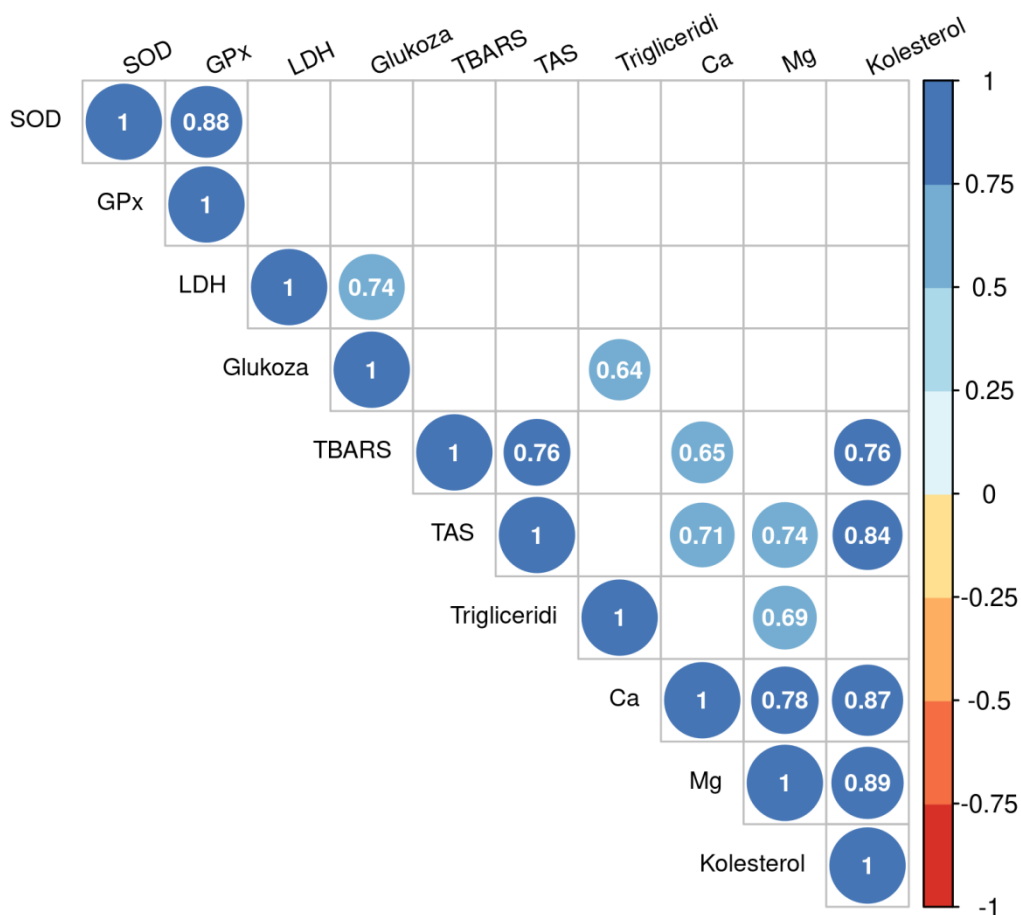
Slika 27. Boxplot distribucija vrijednosti antioksidativnih parametara i parametra lipidne peroksidacije jakovljeve kapice po spolovima u pojedinim tkivima, nezavisno od sezone. Spolovi su dominantno ženke (F), dominantno mužjaci (M) i hermafroditi (M/F), opisani na osi x, dok su vrijednosti mjerenih parametara označene brojačno na osi y. Masno otisnuta poprečna linija označava medijan, dok prostori iznad i ispod medijana označavaju prvi i treći kvartil. Linije koje izlaze izvan okvira najviša su ili najniža vrijednost koja nije veća od 1,5 puta interkvartilnog raspona prvog ili trećeg kvartila. Vrijednosti izvan tih linija su točke koje su prikazane zasebno. Os x označena je tankom linijom da bi se razlikovala od niskih vrijednosti mjerenih parametara.

Korelacija svih mjerenih biokemijskih parametara, antioksidativnih parametara i parametra lipidne peroksidacije kroz čitavo istraživano razdoblje, nezavisno od tkiva, spola i sezone, prikazana je na korelogramu na Slici 28. Visoki pozitivni korelacijski koeficijenti zabilježeni su između GLU, TRIG i CHOL, između TRIG, Mg i Ca, između CHOL, Mg i Ca, kao i između SOD i GPx te između TAS i Ca.

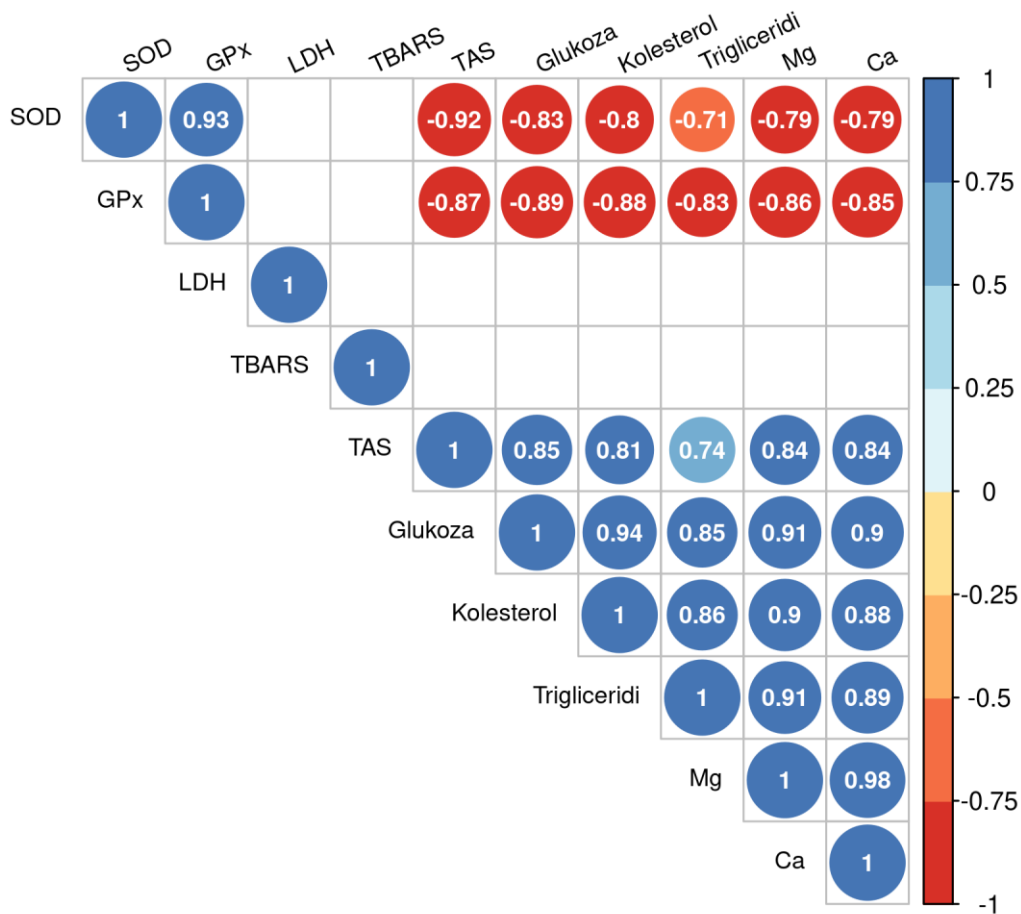


Slika 28. Korelogram svih mjerenih biokemijskih parametara, parametara antioksidativnog kapaciteta i parametra lipidne peroksidacije, s naznačenim pozitivnim (plavo) i negativnim (crveno) Spearmanovim koeficijentima korelacije koji su izostavljeni ako nisu bili značajni nakon primjene Bonferronijeve prilagodbe p vrijednosti.

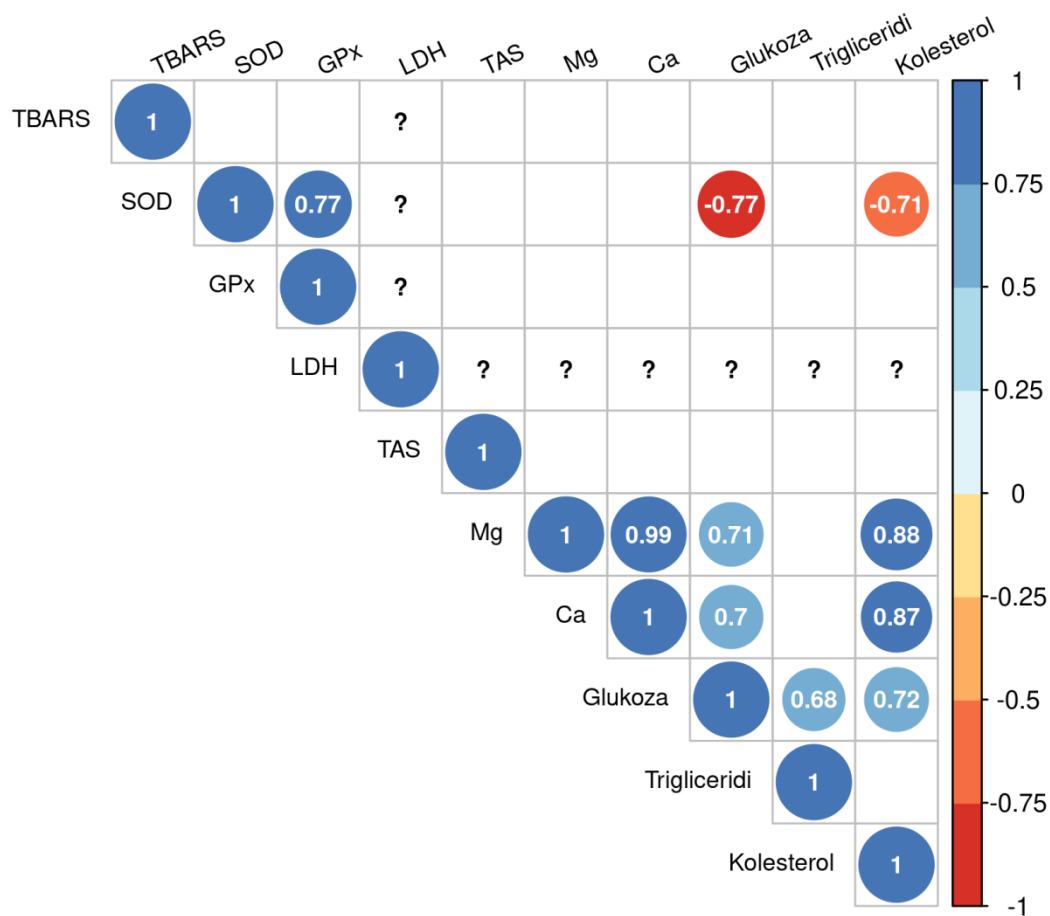
Korelogrami svih mjerenih biokemijskih parametara, antioksidativnih parametara i parametra lipidne peroksidacije kroz čitavo istraživano razdoblje, nezavisno od spola i sezone, prikazani su za svako istraživano tkivo u Slikama 29. - 32.



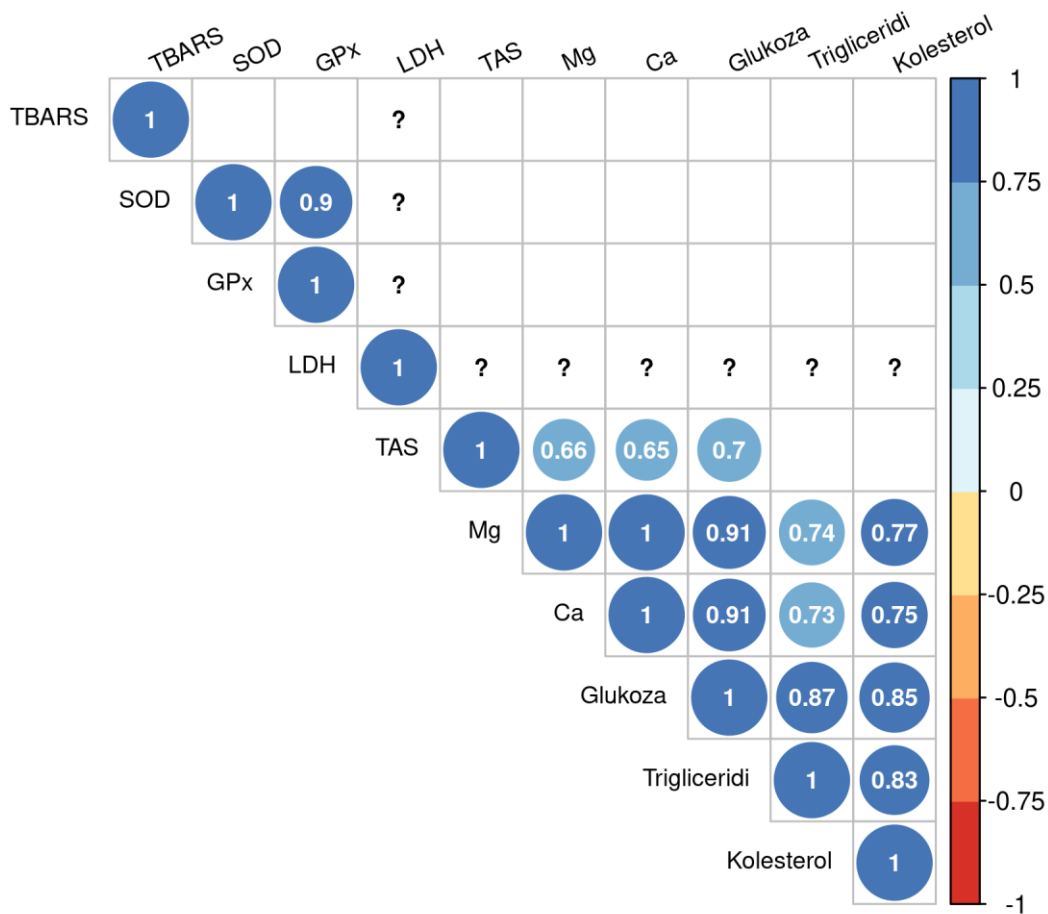
Slika 29. Korelogram svih mjerenih biokemijskih parametara, parametara antioksidativnog kapaciteta i parametra lipidne peroksidacije, s naznačenim pozitivnim (plavo) koeficijentima korelacije, u tkivu probavne žlijezde jakovljeve kapice.



Slika 30. Korelogram svih mjerenih biokemijskih parametara, parametara antioksidativnog kapaciteta i parametra lipidne peroksidacije, s naznačenim pozitivnim (plavo) i negativnim (crveno) koeficijentima korelacije, u tkivu mišića jakovljeve kapice.



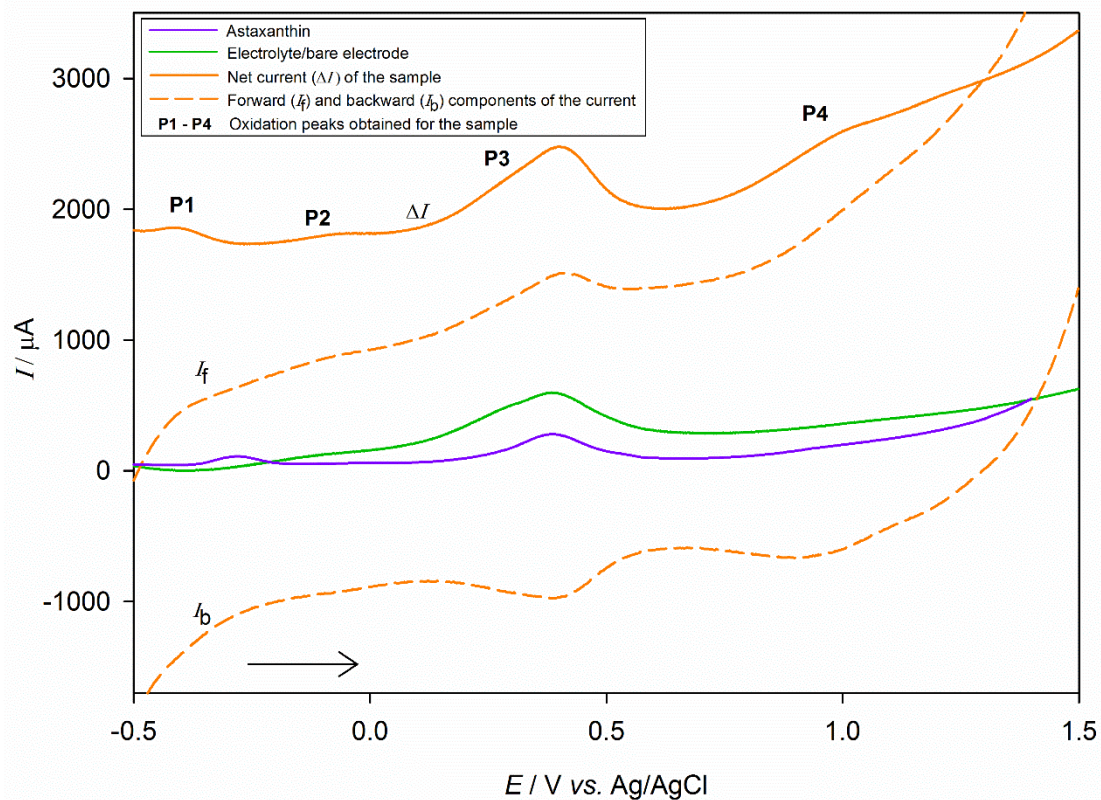
Slika 31. Korelogram svih mjerenih biokemijskih parametara, parametara antioksidativnog kapaciteta i parametra lipidne peroksidacije, s naznačenim pozitivnim (plavo) i negativnim (crveno) koeficijentima korelacije, u tkivu škrगा jakovljeve kapice. Vrijednosti LDH nisu bile mjerljive u tkivu škrगा i zbog toga su označene znakom ?.



Slika 32. Korelogram svih mjerenih biokemijskih parametara, parametara antioksidativnog kapaciteta i parametra lipidne peroksidacije, s naznačenim pozitivnim (plavo) koeficijentima korelacije, u tkivu gonada jakovljeve kapice. Vrijednosti LDH nisu bile mjerljive u tkivu gonada i zbog toga su označene znakom ?.

Karotenoidi u tkivima jakovljeve kapice mjereni su pravokutnovalnom voltametrijom s pravokutnim valovima potencijala, koja mjeri struju pri kraju trajanja pozitivne i negativne poluperiode izmjeničnog pravokutnog pulsa. Dobiveni voltametrijski spektri nisu bili karakteristični za karotenoide u tkivima mišića, škrge i gonada. Međutim, voltamogrami precipitatnog filma ekstrakta probavne žlijezde na površini PIGE elektrode uronjene u vodenu otopinu 0,1 M HClO₄, pokazali su reprezentativne spektre u svim uzorcima probavne žlijezde. Oni potvrđuju da su karotenoidi uspješno ekstrahirani iz tkiva probavne žlijezde, a u suglasju su i s voltametrijskim odgovorom za karotenoid astaksantin. Osim toga, budući da je oksidacijski potencijal vrha krivulje P1 pomaknut prema negativnim vrijednostima i da je njegov oksidacijski proces ireverzibilan, ustanovljeno je da u uzorku probavne žlijezde postoji više od jednog karotenoida. U tom je smislu voltametrija omogućila brzi probir karotenoida jakovljeve kapice, a izmjereni karotenoidi u probavnoj žlijezdi upućuju na njihovo podrijetlo ingestijom.

Na Slici 33. prikazani su reprezentativni pravokutnovalni voltamogrami precipitatnog filma ekstrakta probavne žlijezde, tipični za spektre dobivene iz svih analiziranih uzoraka probavne žlijezde. Kada je frekvencija bila podešena na 100 Hz, voltamogram se sastojao od ireverzibilnog P1 vrha krivulje (engl. *peak*) s potencijalom -0,409 V prema Ag/AgCl/3M KCl. Ireverzibilnost vrha potvrđena je povratnom komponentom struje (ib). Nadalje, vrh krivulje P2 koji se pojavljuje na -0,070 V bio je popraćen s još jednim reverzibilnim oksidacijskim vrhom krivulje na P3 pri 0,389 V te slabo razvijenim kvazireverzibilnim vrhom P4, s neto potencijalom od 0,969 V. Reprezentativni vrhovi krivulja varirali su tijekom sezona, a maksimum su imali u zimskim mjesecima.



Slika 33. Pravokutnovalni voltamogram ekstrakta probavne žlijezde jakovljeve kapice. Voltamogram odgovara oksidaciji precipitatnog filma ekstrakta probavne žlijezde zimi, imobiliziranog na parafinom impregniranoj grafitnoj elektrodi (PIGE) i uronjenog u vodenu otopinu 0,1 M HClO_4 . Frekvencija je bila 100 Hz, pulsna amplituda 50 mV i potencijal pomaka 2 mV. Vrhovi krivulja (*peak*) P1, P2 i P4 tipični su za karotenoide. Na osi x izražen je potencijal od -0,409 V prema Ag/AgCl/3M KCl elektrodi, dok je na osi y izražena anodna struja u μA .

4.5. Masne kiseline

Vrijednosti ukupnih lipida izmjerenih u trima tkivima jakovljeve kapice (probavnoj žlijezdi, mišiću i gonadama) kroz sve sezone prikazani su u Tablici 16. Ukupni lipidi nisu mjereni u tkivu škrga. Usporedba između spolova nije napravljena, jer su svi bili hermafroditi. Kroz sve sezone (osim proljeća/gonada) vrijednosti ukupnih lipida u mišiću bile su značajno različite od vrijednosti u probavnoj žlijezdi i gonadama, a značajno su varirale između proljeća i ljeta u tkivu mišića.

Tablica 16. Vrijednosti ukupnih lipida (mg/g) u različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama.

Sezona	Tkivo		
	Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
Proljeće	67,72 (19,43) ^a	17,36 (6,33) ^{b2}	34,14 (13,84) ^{ab}
	76,12 (18,02)	19,15 (9,91)	41,57 (12,26)
	45,5 - 81,54	9,6 - 31,75	18,17 - 42,68
Ljeto	74,71 (16,61) ^a	11,23 (4,77) ^{b1}	33,63 (8,37) ^a
	69,83 (16,07)	10,38 (2,86)	37,94 (7,5)
	61,08 - 93,22	1,71 - 21,46	23,98 - 38,98
Jesen	54,68 (8,68) ^a	15,36 (4,97) ^{b12}	34,65 (11,5) ^a
	53,97 (8,66)	15,33 (5,86)	28,99 (10,41)
	46,38 - 63,7	10,43 - 27,92	27,07 - 47,89
Zima	76,19 (21,26) ^a	15,18 (6,53) ^{b12}	38,88 (1,79) ^a
	64,54 (18,72)	12,65 (10,08)	38,02 (1,63)
	63,3 - 100,73	8,62 - 29,97	37,67 - 40,94
Ukupno	68,32 (17,13) ^a	14,78 (5,99) ^b	35,33 (8,77) ^a
	64,12 (18,17)	12,41 (9,29)	37,98 (12,58)
	45,5 - 100,73	1,71 - 31,75	18,17 - 47,89

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva za svaku od 4 sezone i ukupno za sve sezone, odnosno između vrste tkiva za svaki spol. Brojevi u eksponentu se interpretiraju po stupcima te označavaju razlike između sezona odnosno između spolova školjkaša za svako tkivo posebno. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju unutar sezone odnosno spola. Sezone, odnosno spolovi označeni različitim brojevima se značajno ($p < 0,05$) razlikuju unutar pojedinog tkiva.

Vrijednosti masnih kiselina izmjerenih u trima tkivima jakovljeve kapice (probavnoj žlijezdi, mišiću i gonadi) kroz sve sezone prikazani su u Tablicama 17a., 17b., 17c. i 17d.. Masne kiseline nisu mjerene u tkivu škruga radi nedostatnog volumena ekstrakta lipida tih sitnih tkiva. U ostalim je tkivima masne kiseline bilo moguće mjeriti jedino u grupiranim uzorcima (engl. *pooling*). Stoga su rezultati za pojedinačne sezone prikazani kao zbirno mjerenje svih uzoraka određenog tkiva i nemaju izražene aritmetičke sredine, standardne devijacije, medijane, minimalne i maksimalne vrijednosti. Usporedba između spolova nije napravljena, jer su svi bili hermafroditi. Uz vrijednosti masnih kiselina posebno su, u Tablici 17a., prikazane i vrijednosti masnih kiselina grupiranih prema stupnju zasićenosti kao zasićene masne kiseline (SFA), jednostruko nezasićene masne kiseline (MUFA), višestruko nezasićene masne kiseline (PUFA), omega-3 (n-3), omega-6 (n-6) i omega 9 (n-9) te odnos između n-3/n-6. Vrijednosti ukupnog zbroja MUFA bile su značajno različite između tkiva.

Tablica 17a. Relativni udio (%) po skupinama masnih kiselina u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama.

Skupina	Sezona	Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
		Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
Σ SFA	Proljeće	49,98	46,16	46,47
	Ljeto	55,93	46,11	45,99
	Jesen	49,20	60,22	52,74
	Zima	49,82	64,08	53,34
	Ukupno	51,23 (3,15) 49,9 (1,8) 49,2 - 55,93	54,14 (9,38) 53,19 (15,04) 46,11 - 64,08	49,63 (3,94) 49,6 (6,53) 45,99 – 53,34
Σ MUFA	Proljeće	14,43	6,36	12,97
	Ljeto	7,90	5,08	7,86
	Jesen	12,13	5,50	9,50
	Zima	19,94	5,75	8,93
	Ukupno	13,6 (5,02) ^b 13,28 (4,73) 7,9 - 19,94	5,67 (0,53) ^a 5,63 (0,51) 5,08 - 6,36	9,81 (2,21) ^{ab} 9,21 (1,71) 7,86 – 12,97
Σ PUFA	Proljeće	35,60	47,480	40,56
	Ljeto	36,16	48,81	46,15
	Jesen	38,67	34,27	37,77
	Zima	30,23	30,17	37,73
	Ukupno	35,17 (3,55) 35,88 (2,54) 30,23 - 38,67	40,18 (9,36) 40,88 (14,57) 30,17 - 48,81	40,55 (3,96) 39,16 (4,2) 37,73 – 46,15

Nastavak Tablice 17a.

		Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
Skupina	Sezona	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
Σ n-3	Proljeće	23,75	37,56	31,03
	Ljeto	25,98	39,04	39,12
	Jesen	21,03	27,10	31,13
	Zima	16,82	21,27	32,89
	Ukupno	21,89 (3,94) 22,39 (4,33) 16,82 - 25,98	31,24 (8,51) 32,33 (12,29) 21,27 - 39,04	33,54 (3,81) 32,01 (3,34) 31,03 - 39,12
Σ n-6	Proljeće	5,05	3,89	9,00
	Ljeto	2,58	3,82	4,73
	Jesen	8,30	2,89	5,20
	Zima	2,46	4,55	3,53
	Ukupno	4,6 (2,74) 3,81 (3,31) 2,46 - 8,3	3,79 (0,68) 3,86 (0,47) 2,89 - 4,55	5,62 (2,37) 4,97 (1,72) 3,53 - 9
n-3/n-6	Proljeće	6,05	9,99	4,13
	Ljeto	10,32	10,37	8,53
	Jesen	2,65	9,40	6,01
	Zima	6,87	4,97	9,54
	Ukupno	6,48 (3,15) 6,46 (2,53) 2,65 - 10,32	8,68 (2,51) 9,7 (1,79) 4,97 - 10,37	7,05 (2,45) 7,27 (3,24) 4,13 - 9,54
Σ n-9	Proljeće	3,36	3,71	3,41
	Ljeto	3,38	3,88	3,14
	Jesen	4,75	3,94	3,80
	Zima	4,34	2,83	3,66
	Ukupno	3,96 (0,7) 3,86 (1,07) 3,36 - 4,75	3,59 (0,51) 3,79 (0,4) 2,83 - 3,94	3,5 (0,29) 3,53 (0,35) 3,14 - 3,8

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva ukupno za sve sezone. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju. Masne kiseline nisu se mogle izmjeriti u tkivu škruga. U ostalim je tkivima masne kiseline bilo moguće mjeriti jedino u grupiranim uzorcima. Stoga su rezultati za pojedinačne sezone prikazani kao zbirno mjerenje svih uzoraka određenog tkiva i nemaju izražene aritmetičke sredine, standardne devijacije, medijane, minimalne i maksimalne vrijednosti.

U Tablici 17b. prikazan je relativni udio zasićenih masnih kiselina (SFA) u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice po sezonama. Najzastupljenije SFA bile su miristinska kiselina (MA, C 14:0), palmitinska kiselina (PA, C 16:0) i stearinska kiselina (SA, C 18:0). Palmitinska kiselina (PA, C 16:0) je bila glavna zasićena masna kiselina u svim tkivima jakovljeve kapice. Druga po redu SFA po vrijednostima bila je stearinska kiselina (SA, C 18:0). Vrijednosti C 14:0 bile su značajno različite između ukupnih vrijednosti tkiva. Vrijednosti SFA C 23:0 nisu izmjerene niti u jednoj sezoni niti u jednom tkivu pa stoga nisu prikazane u tablici. U mišiću nisu izmjerene niti C 13:0, C 20:0 i C 21:0. U svim tkivima u proljeće nije izmjerena C 22:0. U svim tkivima u ljeto nisu izmjerene C 4:0, C 13:0, C 21:0 i C 22:0. U svim tkivima u jesen nije izmjerena masna kiselina C 21:0. U svim tkivima u zimu nisu izmjerene C 13:0, C 20:0, C 21:0 i C22:0.

Tablica 17b. Relativni udio (%) zasićenih masnih kiselina (SFA) u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama.

Masna kiselina	Sezona	Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
		Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
C 4:0	Proljeće	1,34	1,48	0,63
	Ljeto	0,00	0,00	0,00
	Jesen	0,00	0,08	0,00
	Zima	0,35	0,12	0,00
	Ukupno	0,42 (0,63) 0,17 (0,6) 0 - 1,34	0,42 (0,71) 0,1 (0,4) 0 - 1,48	0,16 (0,32) 0 (0,16) 0 - 0,63
C 6:0	Proljeće	0,39	0,59	0,69
	Ljeto	0,00	0,17	0,23
	Jesen	0,38	0,79	0,66
	Zima	0,16	0,38	0,00
	Ukupno	0,23 (0,19) 0,27 (0,26) 0 - 0,39	0,48 (0,27) 0,48 (0,32) 0,17 - 0,79	0,40 (0,34) 0,45 (0,5) 0 - 0,69
C 8:0	Proljeće	0,58	2,00	0,71
	Ljeto	0,26	3,35	0,49
	Jesen	0,34	0,58	0,35
	Zima	0,19	0,67	0,28
	Ukupno	0,34 (0,17) 0,3 (0,15) 0,19 - 0,58	1,65 (1,31) 1,34 (1,69) 0,58 - 3,35	0,46 (0,19) 0,42 (0,21) 0,28 - 0,71

Nastavak Tablice 17b.

		Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
Masna kiselina	Sezona	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
C 10:0	Proljeće	0,27	1,23	0,48
	Proljeće	0,27	1,23	0,48
	Ljeto	0,35	1,74	0,65
	Jesen	0,48	0,42	0,69
	Zima	0,72	2,48	1,09
	Ukupno	0,45 (0,2) 0,41 (0,21) 0,27 - 0,72	1,47 (0,87) 1,48 (0,9) 0,42 - 2,48	0,73 (0,26) 0,67 (0,19) 0,48 - 1,09
C 11:0	Proljeće	0,23	0,00	0,28
	Ljeto	0,11	0,05	0,06
	Jesen	0,12	0,00	0,11
	Zima	0,05	0,21	0,00
	Ukupno	0,13 (0,07) 0,12 (0,05) 0,05 - 0,23	0,07 (0,1) 0,03 (0,09) 0 - 0,21	0,12 (0,12) 0,09 (0,11) 0 - 0,28
C 12:0	Proljeće	0,40	0,00	0,34
	Ljeto	0,16	0,00	0,04
	Jesen	0,47	0,69	0,37
	Zima	0,09	0,58	0,15
	Ukupno	0,28 (0,19) 0,28 (0,28) 0,09 - 0,47	0,32 (0,37) 0,29 (0,6) 0 - 0,69	0,23 (0,16) 0,24 (0,23) 0,04 - 0,37
C 13:0	Proljeće	0,17	0,00	0,00
	Ljeto	0,00	0,00	0,00
	Jesen	0,13	0,00	0,03
	Zima	0,00	0,00	0,00
	Ukupno	0,07 (0,09) 0,06 (0,14) 0 - 0,17	0 (0) 0 (0) 0 - 0	0,01 (0,02) 0 (0,01) 0 - 0,03
C 14:0	Proljeće	3,56	2,44	4,86
	Ljeto	11,24	3,30	4,21
	Jesen	7,08	1,93	1,66
	Zima	10,03	2,13	4,27
	Ukupno	7,98 (3,43) ^b 8,56 (4,13) 3,56 - 11,24	2,45 (0,61) ^a 2,29 (0,58) 1,93 - 3,3	3,75 (1,43) ^{ab} 4,24 (0,84) 1,66 - 4,86

Nastavak Tablice 17b.

		Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
Masna kiselina	Sezona	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
C 15:0	Proljeće	0,80	1,19	0,68
	Ljeto	0,98	1,28	0,96
	Jesen	0,77	0,82	1,13
	Zima	0,59	0,6	0,82
	Ukupno	0,78 (0,16) 0,78 (0,12) 0,59 - 0,98	0,97 (0,32) 1 (0,45) 0,6 - 1,28	0,9 (0,19) 0,89 (0,21) 0,68 - 1,13
C 16:0	Proljeće	27,03	23,26	24,93
	Ljeto	26,2	22,88	25,12
	Jesen	24,14	28,62	26,29
	Zima	24,51	27,96	26,96
	Ukupno	25,47 (1,37) 25,35 (1,99) 24,14 - 27,03	25,68 (3,03) 25,61 (4,95) 22,88 - 28,62	25,83 (0,97) 25,71 (1,38) 24,93 - 26,96
C 17:0	Proljeće	0,72	1,33	0,98
	Ljeto	1,18	0,22	1,17
	Jesen	2,26	10,52	4,22
	Zima	0,30	0,33	0,66
	Ukupno	1,12 (0,85) 0,95 (0,83) 0,3 - 2,26	3,1 (4,97) 0,83 (3,32) 0,22 - 10,52	1,76 (1,66) 1,08 (1,03) 0,66 - 4,22
C18:0	Proljeće	12,52	10,81	9,70
	Ljeto	13,14	11,49	11,31
	Jesen	8,91	13,84	14,09
	Zima	10,9	27,27	16,95
	Ukupno	11,37 (1,89) 11,71 (2,27) 8,91 - 13,14	15,85 (7,72) 12,67 (5,87) 10,81 - 27,27	13,01 (3,19) 12,7 (3,9) 9,7 - 16,95
C 20:0	Proljeće	0,00	0,00	0,23
	Ljeto	0,37	0,00	0,00
	Jesen	0,65	0,00	0,35
	Zima	0,00	0,00	0,00
	Ukupno	0,26 (0,32) 0,19 (0,44) 0 - 0,65	0 (0) 0 (0) 0 - 0	0,14 (0,17) 0,11 (0,26) 0 - 0,35

Nastavak Tablice 17b.

		Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
Masna kiselina	Sezona	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
C 21:0	Proljeće	0,14	0,00	0,04
	Ljeto	0,00	0,00	0,00
	Jesen	0,00	0,00	0,00
	Zima	0,00	0,00	0,00
	Ukupno	0,04 (0,07) 0 (0,04) 0 - 0,14	0,00	0,01 (0,02) 0 (0,01) 0 - 0,04
C 22:0	Proljeće	0,00	0,00	0,00
	Ljeto	0,00	0,00	0,00
	Jesen	1,73	0,45	0,51
	Zima	0,00	0,00	0,00
	Ukupno	0,43 (0,87) 0 (0,43) 0 - 1,73	0,11 (0,22) 0 (0,11) 0 - 0,45	0,13 (0,26) 0 (0,13) 0 - 0,51
C 24:0	Proljeće	1,82	1,83	1,91
	Ljeto	1,96	1,62	1,74
	Jesen	1,73	1,50	2,27
	Zima	1,94	1,36	2,16
	Ukupno	1,86 (0,11) 1,88 (0,15) 1,73 - 1,96	1,58 (0,2) 1,56 (0,2) 1,36 - 1,83	2,02 (0,24) 2,03 (0,32) 1,74 - 2,27

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva ukupno za sve sezone. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju. Masne kiseline nisu se mogle izmjeriti u tkivu škrge. U ostalim je tkivima masne kiseline bilo moguće mjeriti jedino u grupiranim uzorcima. Stoga su rezultati za pojedinačne sezone prikazani kao zbirno mjerenje svih uzoraka određenog tkiva i nemaju izražene aritmetičke sredine, standardne devijacije, medijane, minimalne i maksimalne vrijednosti. Uzorci koji u tkivu nisu imali masnu kiselinu ili su ispod granice detekcije testa, označeni su nulom te su izostavljeni iz statističkih analiza.

U Tablici 17c. prikazan je relativni udio jednostruko nezasićenih masnih kiselina zasićenih (MUFA) u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice po sezonama. Oleinska kiselina (OA, C 18:1n-9) bila je glavna jednostruko nezasićena masna kiselina u mišiću i gonadi, a druga po zastupljenosti bila je palmitoleinska kiselina (PO, C 16:1n-7). U probavnoj žlijezdi dominantna je bila PO. Vrijednosti C 16:1 bile su značajno različite između ukupnih vrijednosti tkiva probavne žlijezde i mišića, a vrijednosti C 17:1 bile su značajno različite između ukupnih vrijednosti tkiva mišića i gonada. Vrijednosti masne C 24:1n-9 nisu izmjerene niti u jednoj sezoni niti u jednom tkive pa stoga nisu prikazane. Ostale masne kiseline u skupini MUFA nisu se značajno razlikovale u različitim tkivima niti u sezonama.

Tablica 17c. Relativni udio (%) jednostruko nezasićenih masnih kiselina zasićenih (MUFA) u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama.

Masna kiselina	Sezona	Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
		Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
C 14:1	Proljeće	0,29	0,00	0,22
	Ljeto	0,37	0,00	0,25
	Jesen	0,23	0,15	0,23
	Zima	0,32	0,38	0,27
	Ukupno	0,3 (0,06) 0,31 (0,06) 0,23 - 0,37	0,13 (0,18) 0,07 (0,2) 0 - 0,38	0,24 (0,02) 0,24 (0,03) 0,22 - 0,27
C 15:1	Proljeće	0,54	0,00	0,24
	Ljeto	0,23	0,00	0,24
	Jesen	0,15	0,00	0,32
	Zima	0,20	0,65	0,24
	Ukupno	0,28 (0,18) 0,22 (0,12) 0,15 - 0,54	0,16 (0,32) 0 (0,16) 0 - 0,65	0,26 (0,04) 0,24 (0,02) 0,24 - 0,32
C 16:1	Proljeće	8,18	1,69	5,98
	Ljeto	2,64	1,20	1,73
	Jesen	5,43	0,95	2,74
	Zima	13,37	1,17	1,9
	Ukupno	7,41 (4,58) ^b 6,8 (4,75) 2,64 - 13,37	1,25 (0,31) ^a 1,18 (0,21) 0,95 - 1,69	3,09 (1,98) ^{ab} 2,32 (1,69) 1,73 - 5,98

Nastavak Tablice 17c.

		Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
Masna kiselina	Sezona	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
C 17:1	Proljeće	2,05	0,97	3,12
	Ljeto	1,28	0,00	2,49
	Jesen	1,57	0,47	2,41
	Zima	1,70	0,73	2,86
	Ukupno	1,65 (0,32) ^{ab} 1,63 (0,3) 1,28 - 2,05	0,54 (0,41) ^b 0,6 (0,43) 0 - 0,97	2,72 (0,33) ^a 2,68 (0,45) 2,41 - 3,12
C 18:1cn-9	Proljeće	2,91	3,12	3,00
	Ljeto	2,63	3,51	2,68
	Jesen	4,29	3,50	3,44
	Zima	4,14	2,47	3,47
	Ukupno	3,49 (0,84) 3,52 (1,34) 2,63 - 4,29	3,15 (0,49) 3,31 (0,55) 2,47 - 3,51	3,15 (0,38) 3,22 (0,54) 2,68 - 3,47
C 20:1n-9	Proljeće	0,41	0,59	0,30
	Ljeto	0,58	0,37	0,33
	Jesen	0,16	0,09	0,18
	Zima	0,10	0,35	0,19
	Ukupno	0,31 (0,22) 0,28 (0,3) 0,1 - 0,58	0,35 (0,2) 0,36 (0,14) 0,09 - 0,59	0,25 (0,07) 0,24 (0,12) 0,18 - 0,33
C 22:1n-9	Proljeće	0,05	0,00	0,11
	Ljeto	0,17	0,00	0,14
	Jesen	0,31	0,35	0,17
	Zima	0,10	0,02	0,00
	Ukupno	0,16 (0,11) 0,13 (0,12) 0,05 - 0,31	0,09 (0,17) 0,01 (0,1) 0 - 0,35	0,1 (0,07) 0,13 (0,06) 0 - 0,17

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva ukupno za sve sezone. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju. Masne kiseline nisu se mogle izmjeriti u tkivu škrge. U ostalim je tkivima masne kiseline bilo moguće mjeriti jedino u grupiranim uzorcima. Stoga su rezultati za pojedinačne sezone prikazani kao zbirno mjerenje svih uzoraka određenog tkiva i nemaju izražene aritmetičke sredine, standardne devijacije, medijane, minimalne i maksimalne vrijednosti. Uzorci koji u tkivu nisu imali masnu kiselinu ili su ispod granice detekcije testa, označeni su nulom te su izostavljeni iz statističkih analiza.

U Tablici 17d. prikazan je relativni udio višestruko nezasićenih masnih kiselina zasićenih (PUFA) u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice po sezonama. Dokozaheksaenska kiselina (DHA, C 22:6n-3) bila je glavna višestruko nezasićena masna kiselina u svim organima i sezonama, dok je druga po redu bila C 20:3n-3. U mišiću i probavnoj žlijezdi vrijednosti DHA bile su najveće u ljeto. Vrijednosti C 20:3n-6 bile su značajno različite između ukupnih vrijednosti tkiva probavne žlijezde i gonada, a vrijednosti C 20:4n-6 između ukupnih vrijednosti tkiva probavne žlijezde i gonada. Arahidonska kiselina (AA C 20:4n-6) nije pronađena u mišiću jakovljeve kapice niti u jednoj sezoni. U mišiću nije izmjerena C 20:4n-6. U svim tkivima u proljeće nije izmjerena C 18:2n-6. U svim tkivima u ljeto nije izmjerena C 22:2n-6. Vrijednosti C 20:4n-6 bile su značajno različite između ukupnih vrijednosti tkiva.

Tablica 17d. Relativni udio (%) višestruko nezasićenih masnih kiselina (PUFA) u ukupnim lipidima prema različitim tkivima jakovljeve kapice s dodatnom razdiobom prema sezonama.

Masna kiselina	Sezona	Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
C 18:2t	Proljeće	0,39	0,60	0,52
	Ljeto	4,13	0,95	2,30
	Jesen	1,75	0,94	1,44
	Zima	2,09	0,76	1,31
	Ukupno	2,09 (1,55) 1,92 (1,19) 0,39 - 4,13	0,81 (0,17) 0,85 (0,22) 0,6 - 0,95	1,39 (0,73) 1,37 (0,54) 0,52 - 2,3
C 18:2n-6	Proljeće	0,00	0,00	0,00
	Ljeto	0,43	0,00	0,23
	Jesen	1,16	0,29	0,08
	Zima	0,06	0,26	0,06
	Ukupno	0,41 (0,53) 0,24 (0,57) 0 - 1,16	0,14 (0,16) 0,13 (0,27) 0 - 0,29	0,09 (0,1) 0,07 (0,07) 0 - 0,23
C 18:3n-3	Proljeće	0,70	1,00	0,83
	Ljeto	0,50	1,14	0,87
	Jesen	1,49	1,20	0,96
	Zima	0,53	0,55	0,79
	Ukupno	0,81 (0,46) 0,62 (0,37) 0,5 - 1,49	0,97 (0,29) 1,07 (0,27) 0,55 - 1,2	0,8 (0,17) 0,85 (0,13) 0,79 - 0,96

Nastavak Tablice 17d.

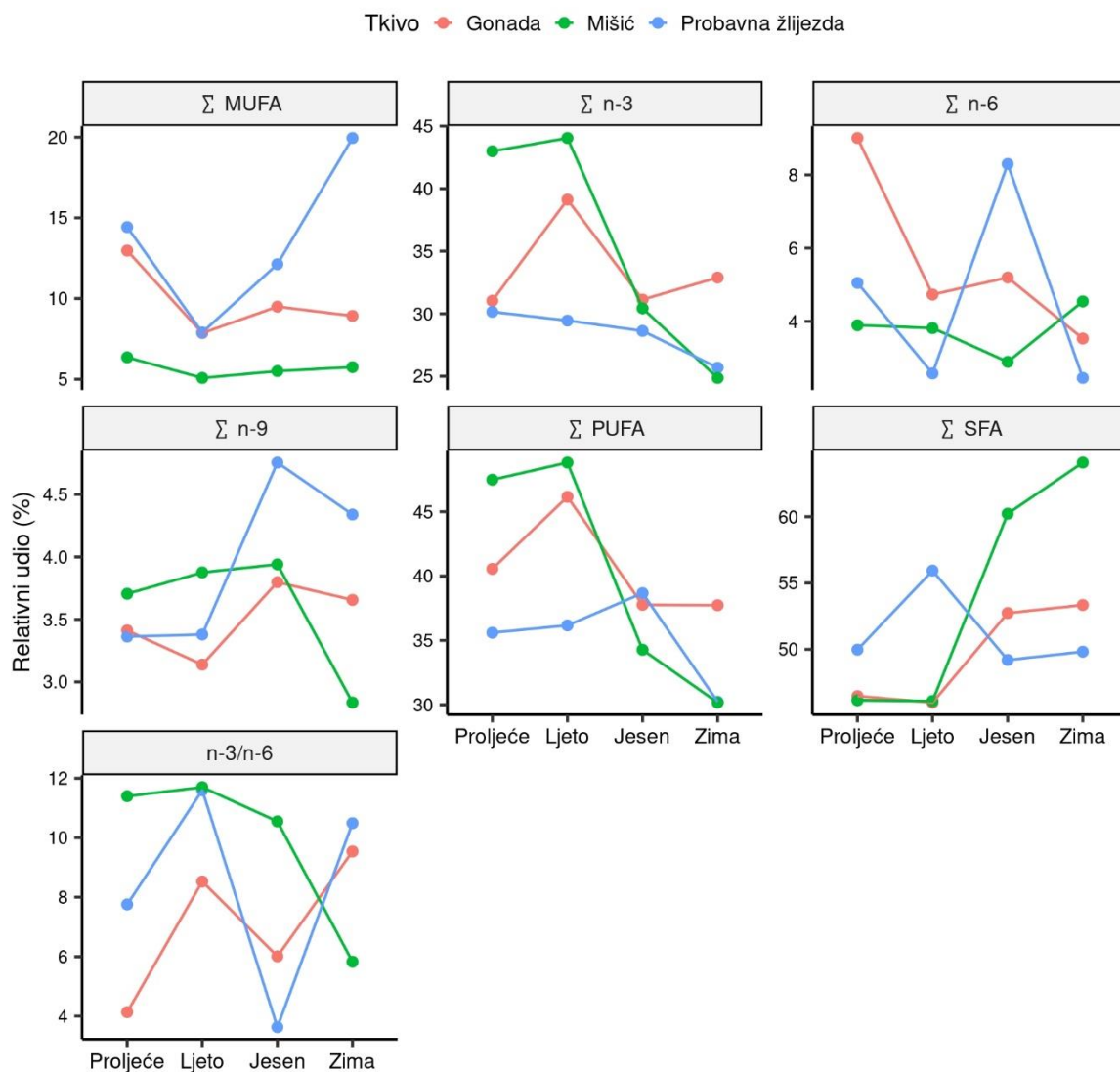
Masna kiselina	Sezona	Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
		Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
C 18:3n-6	Proljeće	2,66	1,06	5,76
	Ljeto	0,46	1,11	1,63
	Jesen	5,49	0,69	1,48
	Zima	0,28	1,22	0,79
	Ukupno	2,22 (2,43) 1,56 (2,95) 0,28 - 5,49	1,02 (0,23) 1,08 (0,17) 0,69 - 1,22	2,42 (2,26) 1,56 (1,35) 0,79 - 5,76
C 20:2n-6	Proljeće	1,15	0,05	0,32
	Ljeto	0,29	0,00	0,31
	Jesen	0,28	0,00	0,39
	Zima	0,26	0,29	0,26
	Ukupno	0,5 (0,44) 0,29 (0,23) 0,26 - 1,15	0,09 (0,14) 0,03 (0,11) 0 - 0,29	0,32 (0,05) 0,32 (0,04) 0,26 - 0,39
C 20:3n-3	Proljeće	6,40	5,42	5,78
	Ljeto	3,48	5,01	5,67
	Jesen	7,59	3,33	6,33
	Zima	8,86	3,59	7,65
	Ukupno	6,58 (2,3) 7 (2,24) 3,48 - 8,86	4,34 (1,03) 4,3 (1,58) 3,33 - 5,42	6,36 (0,91) 6,05 (0,9) 5,67 - 7,65
C 20:3n-6	Proljeće	0,97	2,78	2,17
	Ljeto	1,37	2,71	2,56
	Jesen	1,17	1,92	3,07
	Zima	1,54	2,09	2,10
	Ukupno	1,26 (0,25) ^b 1,27 (0,29) 0,97 - 1,54	2,37 (0,43) ^{ab} 2,4 (0,68) 1,92 - 2,78	2,47 (0,45) ^a 2,36 (0,54) 2,1 - 3,07
C 20:4n-6	Proljeće	0,27	0,00	0,25
	Ljeto	0,03	0,00	0,00
	Jesen	0,15	0,00	0,06
	Zima	0,08	0,00	0,00
	Ukupno	0,13 (0,11) ^b 0,12 (0,11) 0,03 - 0,27	0,00	0,08 (0,12) ^a 0,03 (0,11) 0 - 0,25

Nastavak Tablice 17d.

		Tkivo		
		Probavna žlijezda	Mišić	Gonada
Masna kiselina	Sezona	Aritmetička sredina (SD) Medijan (interkvartilni raspon) Minimum – Maksimum		
C 20:5n-3	Proljeće	0,40	0,71	1,98
	Ljeto	0,34	0,48	0,60
	Jesen	0,38	0,41	0,35
	Zima	0,32	0,18	0,59
	Ukupno	0,36 (0,04) 0,36 (0,05) 0,32 - 0,4	0,44 (0,22) 0,44 (0,18) 0,18 - 0,71	0,88 (0,74) 0,6 (0,42) 0,35 - 1,98
C 22:2n-6	Proljeće	0,00	0,00	0,50
	Ljeto	0,00	0,00	0,00
	Jesen	0,05	0,00	0,12
	Zima	0,23	0,68	0,32
	Ukupno	0,07 (0,11) 0,03 (0,1) 0 - 0,23	0,17 (0,34) 0 (0,17) 0 - 0,68	0,24 (0,22) 0,22 (0,28) 0 - 0,5
C 22:6n-3	Proljeće	22,64	35,86	22,45
	Ljeto	25,13	37,42	31,98
	Jesen	19,16	25,49	23,49
	Zima	15,96	20,54	24,10
	Ukupno	20,72 (4,01) 20,9 (4,91) 15,96 - 25,13	29,83 (8,15) 30,68 (12) 20,54 - 37,42	25,5 (4,37) 23,79 (2,38) 22,45 - 31,98

Slova u eksponentu se interpretiraju po redovima te označavaju razlike između vrste tkiva ukupno za sve sezone. Tkiva označena različitim slovima značajno ($p < 0,05$) se razlikuju. Masne kiseline nisu se mogle izmjeriti u tkivu škrge. U ostalim je tkivima masne kiseline bilo moguće mjeriti jedino u grupiranim uzorcima. Stoga su rezultati za pojedinačne sezone prikazani kao zbirno mjerenje svih uzoraka određenog tkiva i nemaju izražene aritmetičke sredine, standardne devijacije, medijane, minimalne i maksimalne vrijednosti. Uzorci koji u tkivu nisu imali masnu kiselinu ili su ispod granice detekcije testa, označeni su nulom te su izostavljeni iz statističkih analiza.

Interakcije i trendovi kretanja prosječnih vrijednosti masnih kiselina grupiranih prema stupnju zasićenosti kao SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6, n-3/n-6, n-9 masne kiseline pojedinim tkivima jakovljeve kapice kroz sezone pregledno su prikazani na Slici 34. Najviše vrijednosti SFA (zima) zabilježene su u tkivu mišića, MUFA (zima) u tkivu gonade i probavne žlijezde, PUFA (ljetu) u tkivu mišića, n-3 (ljetu) u tkivu mišića, n-6 (proljeće) u tkivu gonada, n-9 (jesen) u tkivu probavnoj žlijezdi.

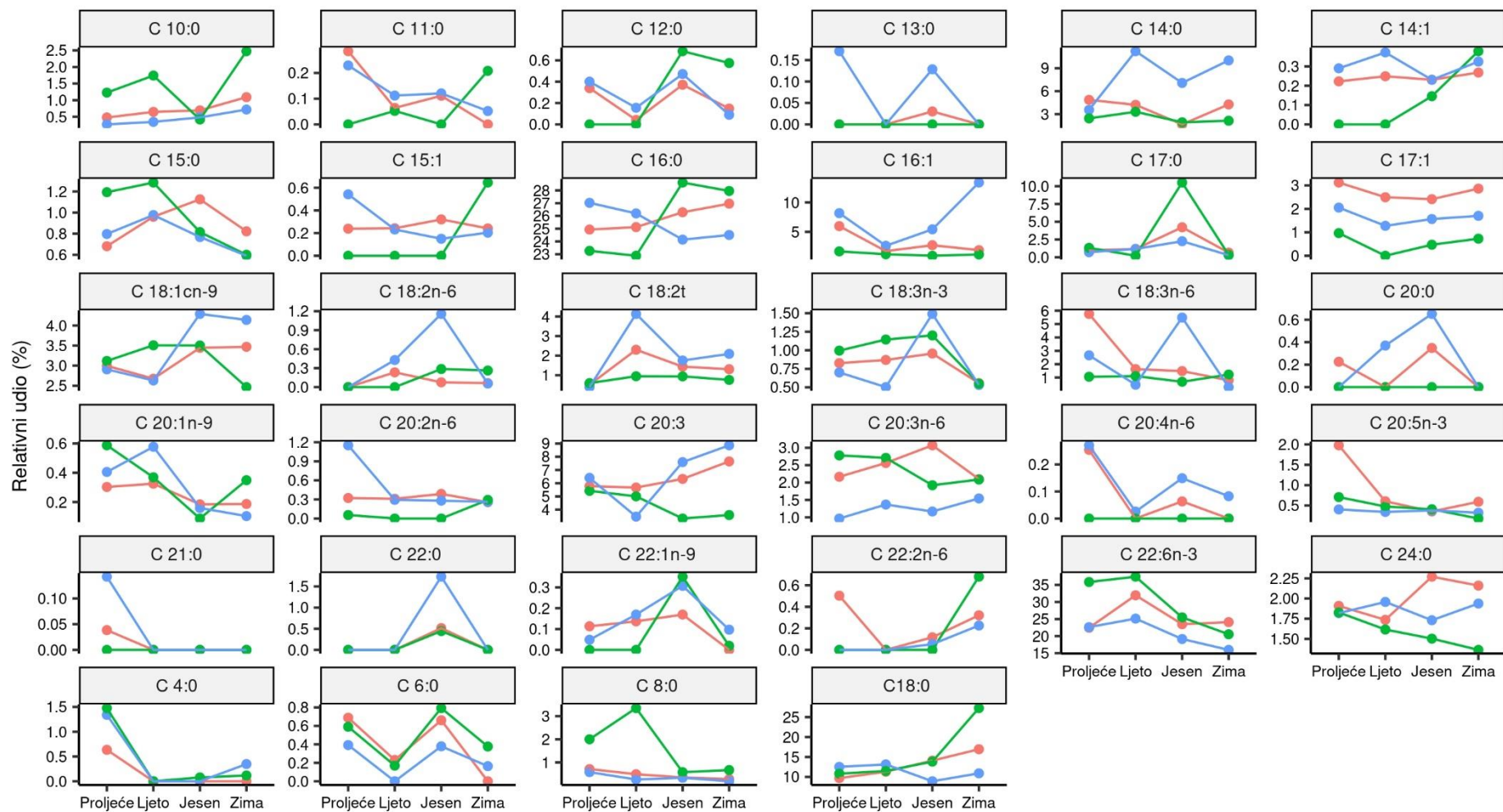


Slika 34. Trend kretanja masnih kiselina u ukupnim lipidima grupiranih prema stupnju zasićenosti kao SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6, n-3/n-6, n-9 masne kiseline u pojedinim tkivima jakovljeve kapice (gonada, mišić i probavna žlijezda) kroz sezone (proljeće, ljeto, jesen, zima) označen je na osi x. Relativni udio (%) označen je brojčano na osi y.

Interakcije i trendovi kretanja prosječnih vrijednosti masnih kiselina pojedinih tkiva jakovljeve kapice kroz sezone pregledno su prikazani na Slici 35. Najzastupljenija zasićena masna kiselina (SFA) u svim tkivima bila je palmitinska kiselina (PA, C 16:0), a druga po redu bila je stearinska kiselina (SA, C 18:0). Najzastupljenija jednostruko nezasićena masna kiselina (MUFA) u mišiću i gonadi bila je oleinska kiselina (OA, C 18:1n-9), a druga po redu bila je palmitoleinska kiselina (PO, C 16:1n-7), dok je u probavnoj žlijezdi bilo obrnuto. Najzastupljenija višestruko nezasićena masna kiselina (PUFA) u svim tkivima bila je dokozaheksaenska kiselina (DHA, C 22:6n-3), dok je druga po redu bila C 20:3n-3.

U probavnoj žlijezdi u proljeće, ljeto, jesen i zimu izmjereni su najviši udjeli PA u ukupnim lipidima. U mišiću u proljeće i ljeto su izmjereni najviši udjeli DHA u ukupnim lipidima, a u jesen i zimu izmjereni su najviši udjeli PA u ukupnim lipidima. U gonadi u proljeće, jesen i zimu izmjereni su najviši udjeli PA, u ljeto DHA u ukupnim lipidima.

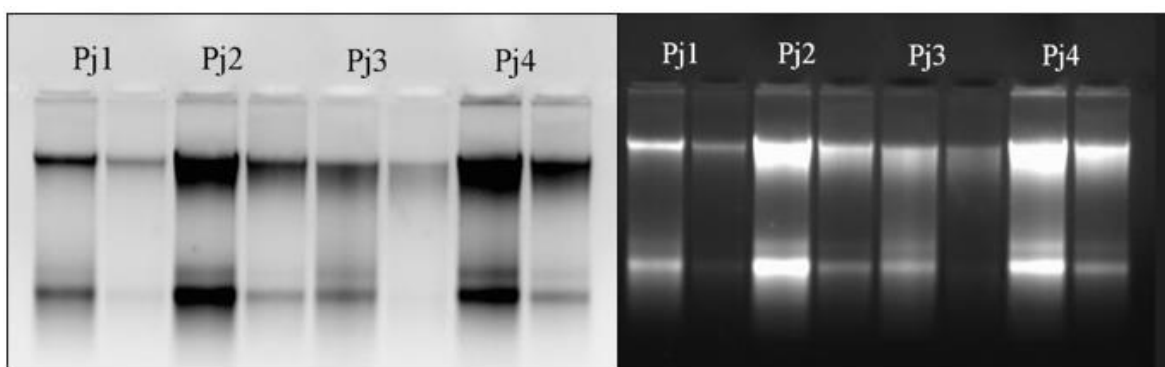
Tkivo ● Gonada ● Mišić ● Probavna žlijezda



Slika 35. Trend kretanja masnih kiselina u ukupnim lipidima u pojedinim tkivima jakovljeve kapice (gonada, mišić i probavna žlijezda) kroz sezone (proljeće, ljeto, jesen, zima) označen je na osi x. Relativni udio (%) označen je brojčano na osi y.

4.6. Molekularne analize

Djelomična regija 18S rRNK veličine između 859 i 886 parova baza umnožena je u svim ispitivanim uzorcima. Sve sekvence pokazale su isti haplotip (MT020507). Megablastna pretraga NCBI-jeve baze podataka nukleotida GenBank pokazala je da je haplotip koji smo identificirali identičan djelomičnoj sekvenci rRNK *P. jacobaeus* 18S (AY070112) (Gribet i Distel, 2003), *P. maximus* (L49053) (Frischer i sur., 1998), *P. maximus* izolatu PmIV1 (EU660802) (Espineira i sur., 2009), *P. jacobaeus* izolatu 17 (JQ611498) (Malkowsky i Klusmann-Kolb, 2012) te sekvenci *P. jacobaeus* izolatu 18 (JQ611499) (Malkowsky i Klusmann-Kolb, 2012).



Slika 36. Provjera izolirane DNK

5. RASPRAVA

Jakovljeva kapica komercijalno je važan školjkaš iz porodice češljača (Pectinidae) koji je relativno lako dostupan za ulov u obalnim vodama sjevernog Jadrana gdje mu prijete opasnost od prelova. Istovremeno, biološka obilježja navedenog organizma nisu dovoljno istražena, pogotovo u odnosu na sezonalne oscilacije temperature mora, što je ključno u spoznaji njegova odgovora na potencijalne stresore te mogućnosti održanja vrste. Stoga je ovo višedisciplinsko istraživanje jakovljeve kapice homogenih haplotipova nastojalo dati odgovore ne samo na utjecaj sezona u godini na biokemijske parametre tkiva, već i na status lipida i masnih kiselina te na histološko-morfološke karakteristike njihovih tkiva kroz sezone u godini. Ovakav je pristup odabran zbog mogućih pogrešnih interpretacija pojedinačnih analiza i stoga podrazumijeva širi ekološki okvir razmatranja vrste te daje utemeljene pretpostavke o biološkim odgovorima jakovljeve kapice na sezonalne promjene.

Na lokaciji uzimanja uzoraka (3 nautičke milje od zapadne obale Istre) za potrebe provedbe istraživanja uzeti su u obzir sljedeći hidrografski parametri mora: temperatura, salinitet i otopljeni kisik. Svi navedeni parametri varirali su ovisno o sezoni. Konkretno, temperatura mora je od zime prema ljeti rasla: maksimum je dosegla u ljetnim mjesecima, a prelaskom iz ljeta u jesen je počela opadati. Vrijednosti saliniteta kretale su se u rasponu od 36,88 (u proljeće) do 38,18 (u zimu) dok prijašnja istraživanja ukazuju na raspon od 38,1 do 38,7 (Ezgeta-Balić i sur., 2022). Različiti rasponi saliniteta mogu ovisiti i o dubini uzimanja uzoraka kao što je prikazano u radu Viličić (2014). Vrijednosti otopljenog kisika bile su obrnuto proporcionalne temperaturi mora s minimalnim vrijednostima u ljetnom razdoblju, a maksimalnim u vrijeme niskih temperatura.

Biometrijski podaci (ukupna masa školjkaša, masa mekog tkiva i pojedinih organa te dužina i širina ljuštura) jakovljeve kapice u sjevernom Jadranu dokumentirani su u mnogim prethodnim istraživanjima. Najveća dužina ljuštura jakovljeve kapice zabilježena u ovom istraživanju bila je 129,1 mm što je manje nego u dosadašnjim istraživanjima kapice u sjevernom Jadranu u kojima su zabilježeni primjerci od 150 mm (Cetinić i Soldo, 1999) i 142 mm (Peharda i sur., 2003). Najveća visina ljuštura jakovljeve kapice u ovom istraživanju bila je 112,9 mm dok je kao najveći primjerak u prethodnim istraživanjima zabilježen onaj od 124,5 mm (Peharda i sur., 2003). U dostupnoj literaturi nije opisan dužinsko-maseni odnos jakovljeve kapice Jadranskog mora. Rezultati dužinsko-masenog odnosa otkrili su da je vrijednost eksponenta b manja od 3 u svim sezonama što dokazuje negativan alometrijski rast, a isto je utvrđeno i kod kapice *Bractechlamys vexillum* (Buban i sur., 2019). Negativan alometrijski rast podrazumijeva brži rast ljuštura u dužinu od povećanja mase jakovljeve kapice (Buban i sur., 2019). Razlike u vrijednostima dužinsko-masenog odnosa odraz su fiziološkog stanja organizma na određenoj lokaciji (Murphy i sur., 1990). U ovom

istraživanju aritmetička sredina indeksa kondicije jakovljeve kapice povećavala se od zime do ljeta te smanjila u jesen kao što je navedeno u radu za malu kapicu *Chlamys varia* (Marguš i sur., 1993). Najveća vrijednost indeksa kondicije jakovljeve kapice (44,89) bila je u proljeće, kao što su opisali i Markovski i Bratoš Cetinić (2022), a najmanja vrijednost zimi, što je različito od podataka u istom istraživanju gdje je indeks kondicije bio najmanji u proljeće (Markovski i Bratoš Cetinić, 2022). Smanjenje indeksa kondicije zimi može biti povezano sa smanjenjem temperature te dostupnosti hrane (Richardson, 2001). Praćenjem indeksa kondicije utvrđuje se dinamika promjene mase mekih tkiva tijekom godine što je rezultat razvojnih faza spolnog ciklusa i promjena ekoloških čimbenika (Marguš i sur., 1993).

Školjkaše se dugo smatralo gonohoričnim organizmima kod kojih su spolovi odvojeni i nedvosmisleni (Barber i sur., 1991). Međutim, porodica češljača su uglavnom hermafroditi, s brojnim specifičnim i individualnim spolnim varijacijama, no s tendencijom ka protandriji odnosno proizvodnji prvo muških, a potom ženskih gameta (Shumway i Parsons, 2016). Upravo zbog te činjenice u ovom su istraživanju organizmi označeni kao (dominantno) mužjaci, (dominantno) ženke ili kao (ujednačeni) hermafroditi. Kod većine vrsta kapica u fazi izraženog hermafroditizma gonade imaju diferencirane i muške i ženske značajke, gdje su muške gonade proksimalno, a ženske distalno, no protandrija im uglavnom onemogućuje samooplodnju (Shumway i Parsons, 2016). Na spolnu determinaciju utječu čimbenici okoliša, dostupnost hrane te razine temperature mora (Bernard i sur., 2011). Kod *Argopecten irradians*, primjerice, slaba dostupnost hrane, smanjivanje saliniteta i niske temperature rezultiraju gametogeneza muških gonada, dok je oogeneza potisnuta (Duggan, 1975). U ovom istraživanju utvrđeno je kako je gametogeneza varirala kroz temperaturne (sezonalne) cikluse. Na jesen, kada je gonadosomatski indeks (GSI) bio na vrhuncu, uočen je rani i kasni aktivni gametogeni stadij. Na temelju strukturno-morfoloških histoloških analiza i procjene GSI moguće je zaključiti da *P. jacobaeus* u sjevernom Jadranu prolazi kroz snažnu gametogenu i reproduktivnu aktivnost tijekom jeseni i zime, i to na način da tijekom jeseni dolazi do sazrijevanja gameta, a tijekom zime mrijest. S druge strane, u toplim mjesecima, s porastom temperature mora, gametogeni stadij se intenzivira te je reproduktivna aktivnost maksimalna, kada je moguće uočiti i zreli i kasni aktivni gametogeni stadij te dominantni ljetni mrijest. U tom je smislu zabilježen produženi reproduktivni ciklus kroz velik dio godine, kao i u radu Marguša i Teskeredžića (2005) na jakovljevim kopicama u ušću rijeke Krke. Važno je napomenuti da se rezultati ovog istraživanja podudaraju i s nalazima na *P. jacobaeus* (Ezgeta-Balić i sur., 2022), koji su također ustanovili dva godišnja razdoblja mrijesta bez perioda odmora gonada te maksimalne GSI vrijednosti u jesen (krajem rujna) i minimalne ljeti (između svibnja i srpnja). U kapice *Aequipecten tehuelchus* također su zabilježeni produženi reproduktivni ciklusi, a histološke slike u jednom su

presjeku otkrile postojanje više komponenti oocita uz asinhrono sazrijevanje, što je utvrđeno i u sklopu ovog istraživanja (Viarengo i sur., 1991). Pad vrijednosti GSI u ljeto najvjerojatnije je vezan za mrijest ili resorpciju gameta zbog povišenih temperatura mora, kao i obilja fitoplanktona. Prethodna istraživanja jakovljevih kapica sjevernog Jadrana pokazala su da im gonade sazrijevaju od svibnja do srpnja te u veljači (Renzoni i sur., 1988), što se podudara s ovim istraživanjem dobivenim/utvrđenim nalazima rasta GSI na jesen te s povišenjem GSI razmjerno sa smanjenjem temperature mora (Takahashi i Mori, 1971). Teskeredžić i Marguš (2005) su za lokaciju srednjeg Jadrana zaključili da GSI jakovljeve kapice, nakon intenzivnog proljetnog mrijesta, pada do zime, što upućuje na zaključak kako bi niske GSI vrijednosti mogle biti posljedica mrijesta, a dijelom i povišenih temperatura mora. Nadalje, isti autori zaključuju da je temperatura mora viša od 22 °C potencijalno letalna za jakovljevu kapicu, kada se inhibira obnova gonadalnog tkiva i nastupa loše kondicijsko stanje. Za vrijeme provedbe ovog istraživanja ljetne temperature mora bile su i znatno više od graničnih 22 °C, no na tkivima kapica nisu zabilježene strukturno-morfološke promjene koje bi upućivale na oštećenja, bolest ili lezije. Osim toga, dužina kapica uglavnom je bila 100 mm ili više, što ukazuje na prilagođene, spolno zrele organizme starosti više od tri godine (Peharda i sur., 2003).

Razmatrajući sezonske cikluse u kontekstu pohrane energije, važno je istaknuti da se kapice prije razvoja gonada koriste prethodno deponiranim energetske rezervama koje se pohranjuju u probavnoj žlijezdi kao lipidi te u mišiću, koji je primarno mjesto pohrane energije, kao glikogen i protein (Barber i sur., 1991). U tom se smislu gametogeneza povezuje s povećanjem mase gonada i zastupljenosti lipida i proteina na račun prethodno pohranjenih energetske rezervi. Korištenje lipida iz probavne žlijezde u skladu je s početkom rasta oocita, dok se smanjenje sadržaja glikogena u mišiću može korelirati s promjerom oocita tijekom vitelogeneze i mrijesta (Shumway i Parsons, 2016). Nakon mrijesta energetske se rezerve iscrpljuju i pridonose povećanim mortalitetima kapice (Barber i sur., 1991). Dakle, s obzirom na to da kapice prolaze kroz cikluse pohrane i uporabe energije, biokemijski sastav tkiva pokazuje koji je parametar aktivan u energetske metabolizmu kroz godinu.

U ovom su istraživanju vrijednosti glukoze (GLU) bile prosječno najviše u probavnoj žlijezdi, nešto niže u gonadi, mišiću, a najniže u škragama. Razmatrajući vrijednosti GLU prema sezonama u godini, najviše vrijednosti izmjerene su na jesen u probavnoj žlijezdi te su bile značajno različite od ostala tri tkiva. Taj je nalaz moguće staviti u odnos s dostupnošću hrane jer je u jesenskom razdoblju u moru obilje dijatomeja i kokolitoforida - izvora hrane za kapice (Godrijan, 2015; Barber i sur., 2016). Naime, miješanje vodenog stupca, koje u sjevernom Jadranu počinje u listopadu, utječe na sukcesiju više vrsta dijatomeja, a ta se izmjena najbrže odvija na jesen i zimi. U tom razdoblju na istočnom dijelu

sjevernog Jadrana kokolitoforidi znatno pridonose brojnosti fitoplanktona (Godrijan, 2015). S druge strane, kasno proljeće ključna je sezona za razvoj ostalih vrsta fitoplanktona koji su izvor hrane za jakovljevu kapicu tog područja (Viličić, 2014). Stoga su i u mišiću bile značajno različite vrijednosti GLU između proljeća i jeseni/zime. Zanimljivo je da su bioenergetski pomaci koncentracije GLU u tkivima probavne žlijezde i gonade bili statistički neznačajni u odnosu na temperaturne razlike kroz sezone, označavajući manju osjetljivost ovih tkiva na eventualni stres izazvan padom ili rastom temperature mora (Falfushynska i sur., 2019). Koncentracije GLU mogu se u školjkaša povisiti i tijekom izrazitog stresa, npr. pada temperature, što se odvija na račun nevitarnih funkcija organizma poput rasta, reprodukcije i kretanja, a moguće ih je ustanoviti testovima izlaganja (Hannan i sur., 2016). U ovom se istraživanju povišenje koncentracije GLU dogodilo u tkivu gonade zimi, iako nije bilo statistički značajno. Od svih istraživanih tkiva, jedino su u tkivu mišića ustanovljeni negativni koeficijent korelacije između GLU i CHOL u ukupnim uzorcima, a značajno su varirali između proljetnih i zimskih jedinki. To je moguće objasniti činjenicom da se energetske rezerve pohranjene u mišiću (i probavnoj žlijezdi) upotrebljavaju za razvoj gameta i variraju s obzirom na dostupnost hrane, no ako je dostupnost hrane dovoljna i za somatogeni i za gametogeni rast, katabolizam mišićnih rezervi se ne odvija (Barber i sur., 2016). Kolesterol je drugi energetska izvor za metaboličke potrebe kapice, s najvišim zabilježenim vrijednostima u tkivu gonade u svim sezonama, a najviše ljeti. Povišenje vrijednosti CHOL može upućivati na pojačanje rigidnosti staničnih membrana u tkivima s obzirom na to da je sadržaj CHOL u izravnom odnosu s rigidnošću membrana, što djeluje kao zaštitni mehanizam u temperaturnim ekstremima. Istovremeno, pad vrijednosti CHOL može upućivati na povećanje fluidnosti membrana (Rodrigues i sur., 2023). Naime, najkonzistentniji biokemijski mehanizam aklimatizacije školjkaša na temperaturne fluktuacije uključuje homeoviskoznu adaptaciju fluidnosti membrana, često popraćenu i povećanim udjelom nezasićenih masnih kiselina, što im omogućuje povećanu fluidnost pri niskim temperaturama (Fokina i sur., 2015). Dobro je poznato da lipidi imaju važnu ulogu u otpornosti školjkaša na stres prouzročen niskim temperaturama. Pri niskim temperaturama mora od 15 i 13 °C (Zhu i sur., 2022), razina CHOL i TRIG u probavnoj žlijezdi kapica značajno se povisila, kao i razina TRIG u mišiću. To je podudarno s rezultatima ovog istraživanja, iako je razina TRIG u mišiću jakovljevih kapica bila najviša u jesenskim mjesecima, a zimski je maksimum statistički značajno pokazivala u tkivu gonada u odnosu na druga istraživana tkiva. Škrge školjkaša, međutim, najizloženiji su i najosjetljiviji organ za razne stresore iz okoliša jer predstavljaju tkivo inicijalnog doticaja s okolišem, a modifikacija sastava njihova lipida, posebice CHOL, odražava primarni kompenzatorni odgovor na stres (Fokina i sur., 2015). U ovom su istraživanju škrge jakovljevih kapica maksimalne prosječne vrijednosti CHOL i TRIG značajno pokazivale zimi (CHOL) i na jesen

(TRIG) - u vrijeme postupnog pada temperature mora i smanjivanja stratifikacije vodenog stupca (Jeffries i Lee, 2007).

Odnosi zastupljenosti Mg i Ca u ljušturama školjkaša omogućuju analize varijacija saliniteta i temperature tijekom formiranja ljušture (Tynan i sur., 2016). U tkivima jakovljeve kapice u ovom istraživanju njihove međusobne korelacije bile su pozitivno značajne. Trendovi kretanja prosječnih vrijednosti Mg i Ca bili su podudarni, uz više prosječne vrijednosti Mg kroz sve sezone. Zbog važnosti Ca i Mg za strukturu i funkciju poprečno-prugastog mišića u jakovljevim kopicama, njihove relativno niske razine u mišićnom tkivu u odnosu na većinu drugih tkiva, u ovom istraživanju nisu bile očekivane. Međutim, poznato je da hemociti prenose Ca iz probavne žlijezde u druga tkiva (Chantler, 2016). Tako je njegova najviša prosječna vrijednost izmjerena u gonadama ljeti, značajno različita od koncentracije u zimskom razdoblju. Magnezij, s druge strane, igra regulatornu ulogu u oksidativnim procesima te se smatra bitnim kočimbenikom sinteze glutaciona. Smanjenje razine Mg dovodi do smanjenja razine glutaciona i pojačava proizvodnju reaktivnih oksidativnih vrsta (ROS) (Brucka-Jastrzebska i sur., 2009). Rezultati ovog istraživanja ukazuju da je najmanja razina Mg izmjerena u mišićnom tkivu u proljeće i ljeto, u kojemu i Mg i Ca imaju najviši faktor korelacije s CHOL i TRIG, a negativnu korelaciju sa SOD i GPx.

U školjkašima podvrgnutim temperaturnom, reproduktivnom, metaboličkom i drugom stresu povećava se proizvodnja ROS te raste koncentracija vodikova peroksida i slobodnih radikala, uključujući hidroksi radikal i superoksid anion (Barišić i sur., 2017). Njima se suprotstavlja stanična antioksidativna obrana, a šteta nastala od prooksidansa ovisi o omjeru stvaranja oksidansa i njihovih čistača, uglavnom enzima i drugih neenzimskih molekula (Regoli i sur., 1997). U ovom su istraživanju sezonske varijacije aktivnosti antioksidativnih enzima jakovljeve kapice bile obrnuto proporcionalne za TAS i TBARS u odnosu na GPx i SOD. Zimski maksimumi TAS i TBARS u probavnoj žlijezdi u odnosu na ljetne maksimume GPx i SOD (koji su pogotovo bili izraženi u mišiću) upućuju na smanjenje antioksidativne obrane tijekom hladnih mjeseci, a povezani su s nakupljanjem produkata lipidne peroksidacije poput MDA u probavnoj žlijezdi jakovljevih kopicama, što su također primijetili Viarengo i sur. (1991). Zimske temperature i visoke razine oksidativnog oštećenja pridonijele su značajnom smanjenju mišićne mase *P. jacobaeus*. U radu Zhu i sur. (2022) lipidna peroksidacija školjkaša pojačala se pri niskim temperaturama, gdje su škrge bile oštećene pri 13 i 11 °C, a kondicijski indeks smanjio se tek pri 11 °C. Iako niske temperature često upućuju na više koncentracije otopljenog kisika u moru, što utječe na proizvodnju peroksidnih radikala, peroksidacija lipida u jakovljevim kopicama (Viarengo i sur., 1995) također je bila pojačana i pri povišenim temperaturama mora. Pri toplim temperaturama mora, aktivnosti SOD u probavnim žlijezdama i škragama dagnji rastu (Matozzo i sur., 2013), no u ovom su istraživanju ljeti porasle uglavnom u mišiću i gonadama jakovljevih kopicama,

dok su u škrgama bile na vrhuncu na proljeće. Međutim, povećanje aktivnosti antioksidativnih enzima moglo bi biti povezano i djelomično odgovorno za smanjene razine TBARS (Matozzo i sur., 2013). Pad koncentracije TBARS ljeti, povezan s niskim GSI kapice, mogao se odviti nakon mrijesta *P. jacobaeus*. Smanjenje razine antioksidativne obrane može se povezati s varijabilnim metaboličkim statusom kapica, što ovisi ne samo o sazrijevanju gonada nego i o dostupnosti hrane. Hranidbeni uvjeti jakovljevih kapica možda su tako pridonijeli visokim razinama GPx u mišiću i gonadama ljeti s obzirom na to da se *P. jacobaeus* oslanja na suspendirani materijal detritusa i fitoplankton kao izvor hrane. Poznato je da odrasle kapice unose relativno velike čestice hrane zbog nepostojanja mehanizama škrga za njihovo sortiranje (MacDonald i sur., 2016). Stoga su na visoke razine GPx mogle utjecati komponente ishrane *P. jacobaeus* (Regoli i sur., 1997). SOD i GPx su u ovom istraživanju pokazali najveću osjetljivost prema temperaturnoj dinamici okolnog mora (mišić, gonada, škrge) te variraju tijekom godine s najvišim vrijednostima u toplo doba godine i najnižim zimi. Ovi enzimi štite stanice od slobodnih radikala proisteklih od temperaturnog stresa i stresa reproduktivnog ciklusa te radikale konjugiraju do glutationa, neutralizirajući mjesta vezivanja elektrona i stvarajući produkte topive u vodi (Barišić i sur., 2017). Neenzimski borci protiv oksidativnog stresa u ovom istraživanju su i karotenoidi. Analizirana su tri različita karotenoida, od kojih je najzastupljeniji bio astaksantin, s maksimumom u zimskim mjesecima. S obzirom na to da su se karotenoidi najviše mogli razlučiti u tkivu probavne žlijezde, najvjerojatnije je da su uneseni hranom. Naime, njihova sezonska varijacija mogla bi se povezati i s dostupnošću hrane i fluktuacijama biomase hrane tipične za taj dio Jadrana (Viarengo i sur., 1991). U sjevernom Jadranu dijatomeje su najbrojnije u pogledu sadržaja pigmenata (Haxo i Blinks, 1950), posebice karotenoida, što objašnjava njihov visoki udjel u jesen i zimi u ovom istraživanju. Karotenoidi uspješno djeluju pri uklanjanju ROS i peroksilnih radikala, pridonose smanjenju peroksidacije lipida, međutim pojačana svjetlost može dovesti do njihove fotoinhibicije i ponovnog stvaranja ROS, što je bitno za organizme koji obitavaju u plićem moru (Kuczynska i sur., 2015). Pokazalo se da sadržaj karotenoida u tkivima školjkaša ima značajnu pozitivnu korelaciju s ostatkom njihova antioksidativnog obrambenog sustava jer visok sadržaj karotenoida omogućuje visoku otpornost na onečišćenje mora i abiotičke stresore poput temperaturnih ekstrema (Wang i sur., 2019).

Analize masnih kiselina jakovljevih kapica u različitim tkivima važne su zbog boljeg razumijevanja fiziologije i ekologije kapice (Nerot i sur., 2013) te utjecaja zagađivača na zdravlje školjkaša (Bilandžić i sur., 2015). Kada je temperatura mora 21 °C i viša (tijekom provedbe ovog istraživanja takve su temperature zabilježene u ljeto i jesen) počinje metabolizam lipida. Kroz zastupljenost masnih kiselina u tkivima može se zaključiti koju hranu školjkaš unosi iz okoliša (Mayzaud i sur., 1989) što je važno i za zdravlje ljudi kojima

se preporuča konzumiranje morskih organizama kao glavnog izvora PUFA (Ackman, 1988; Thomas i Holub 1994). Dostupnost hrane ovisna je o sezoni pa je tako u proljeće, kada se počinje dizati temperatura mora, veća pojavnost dijatomeja, a ljeti dinoflagelata (Mayzuaad, 1989). Analizom podataka prikupljenih u ovom istraživanju utvrđena je zastupljenost masnih kiselina u ukupnim lipidima u probavnoj žlijezdi, mišiću i gonadi jakovljeve kapice te je dokazan vrlo sličan masnokiselinski sastav kao u drugim ispitivanim vrstama kapica s visokim udjelom palmitinske kiseline (PA, C 16:0), stearinske kiseline (SA, C 18:0) i dokozaheksaenske kiseline (DHA, C 22:6n-3) (Caers i sur., 1999; Telahigue i sur., 2010). Iako je u drugim školjkašima izmjeren visoki udio eikozapentaenske kiseline (EPA, C 20:5n-3), u ovom radu to nije potvrđeno. Vrijednosti ukupnih lipida u mišiću jakovljeve kapice u ovom istraživanju bile su niske kao i u mišiću *P. maximus* (Strohmeier i sur., 2000). Nadalje, vrijednosti ukupnih lipida u mišiću kroz sve sezone (osim proljeća/gonada) bile su značajno različite od vrijednosti u probavnoj žlijezdi i gonadama, a značajno su varirale između proljeća i ljeta u tkivu mišića. Smanjenje vrijednosti ukupnih lipida u mišiću može biti povezano s odgovorom na stres, odnosno sezonskim promjenama u okolišu (najviše vrijednosti temperature mora i najniže vrijednosti otopljenog kisika), budući je dokazano da na sastav mišića oni imaju veću ulogu nego dostupnost i sastav hrane (Napolitano, 1997). Najviše vrijednosti ukupnih lipida izmjerene su u probavnoj žlijezdi što dokazuje da se u probavnoj žlijezdi pohranjuju energetske rezerve (Saucedo i sur., 2002) koje se koriste za zahtjevne metaboličke procese. Smanjenje ukupnih lipida u probavnoj žlijezdi u proljeće i jesen te njihovo povećanje u ljeto i zimu može biti povezano s reproduktivnim ciklusom jakovljevih kapica tijekom kojeg se lipidi iz probavne žlijezde prenose u gonade te sudjeluju u procesu gametogeneze budući je dokazano da gonade jakovljevih kapica sazrijevaju u proljeće i jesen (Rezoni i sur, 1988). Usporedbom objavljenih znanstvenih radova vidljivo je kako su maksimalne vrijednosti ukupnih lipida izmjerene u drugim sezonama, ali prije sezona mrijesta. Najveća vrijednost ukupnih lipida bila je u zimu u probavnoj žlijezdi što je različito u odnosu na vrijednosti prikazane u radu Strohmeier i sur. (2000) gdje je najveća vrijednost lipida dobivena ljeti (kolovoz i rujana), ali se može povezati (korelirati) s razinama CHOL i TRIG u istoj sezoni kao odgovor na stres prouzročen niskim temperaturama. U gonadama jakovljevih kapica najveće vrijednosti ukupnih lipida izmjerene su u vrijeme najnižih temperatura mora (zimi) što može ukazivati na korištenje energije iz pohranjenih rezervi te razvoja muških spolnih stanica (Strohmeier i sur., 2000). Vrijednost ukupnih lipida u gonadi u proljeće i jesen bile su veće nego u ljeto, a poznato je da se lipidi akumuliraju u oocite tijekom sazrijevanja gameta, što je potvrđeno i ovim istraživanjem. Pad vrijednosti ukupnih lipida u gonadi u ljeto može se povezati s padom vrijednosti GSI što je vezano za dominantni ljetni mrijest. Zaključno, pad vrijednosti ukupnih lipida u gonadi i mišiću u suprotnoj su korelaciji s vrijednostima enzima (SOD i GPx) koji su pokazatelji postojanja

slobodnih radikala za vrijeme temperaturnog stresa i stresa nastalog tijekom reproduktivnog ciklusa.

Masne kiseline u ovom istraživanju prikazane su u skupinama prema stupnju zasićenosti kao zasićene masne kiseline (SFA), jednostruko nezasićene masne kiseline (MUFA) i višestruko nezasićene masne kiseline (PUFA) te omega-3, omega-6 i omega-9 masne kiseline (n-3, n-6, n-9). Najzastupljenije zasićene masne kiseline u tkivima školjkaša su miristinska kiselina (MA, C 14:0), palmitinska kiselina (PA, C 16:0) i stearinska kiselina (SA, C 18:0) (Barišić, 2015) što se pokazalo i u ovom istraživanju. U dosadašnjim istraživanjima na školjkašima udio zbroja SFA u ukupnim lipidima bio je manji od zbroja nezasićenih masnih kiselina što je u ovom istraživanju dokazano jedino u gonadama. Aritmetička sredina zbroja SFA bila je najveća u probavnoj žlijezdi u ljeto u periodu visoke temperature morske vode što bi značilo da jakovljeva kapica može pretvoriti nelipidnu prehanu u hranu bogatu lipidima. Palmitinska kiselina (PA, C 16:0) bila je glavna zasićena masna kiselina u svim tkivima jakovljeve kapice što se podudara s ranijim istraživanjima na kopicama (Caers i sur. 1999; Nerot i sur, 2015; Prato i sur., 2018). Vrijednosti PA u gonadi povećavale su se od proljeća prema jeseni, a u probavnoj žlijezdi su se u istom periodu smanjivale. Veće vrijednosti u probavnoj žlijezdi u proljeće mogu biti povezane s proljetnom cvatnjom fitoplanktona u kojoj dominiraju dijatomeje (Mayzuad, 1989). U mišiću jakovljeve kapice vrijednost PA smanjivala se od jeseni prema proljeću. Druga po redu SFA po vrijednostima bila je stearinska kiselina (SA, C 18:0) koja je u mišiću bila viša nego u gonadi kao kod Telahigue i sur. (2010), a različito od rezultata u radu Prato i sur. (2018). Vrijednosti SA u gonadi i mišiću povećavale su se od proljeća prema zimi. Najčešće MUFA (C16:1, C18:1n-9) većina životinja može sama sintetizirati *de novo* (Arts i sur., 2001). U ovom istraživanju udio zbroja MUFA u ukupnim lipidima bio je najveći u probavnoj žlijezdi u zimi, a najmanji u mišiću ljeti. U svim tkivima jakovljeve kapice najmanji udio zbroja MUFA bio je u ljeto. Masna kiselina C 24:1n-9 nije pronađena niti u jednom tkivu jakovljeve kapice što se podudara s rezultatima u istraživanju Telahigue i sur. (2010). Oleinska kiselina (OA, C 18:1n-9) bila je glavna jednostruko nezasićena masna kiselina u mišiću i gonadi, a druga po zastupljenosti bila je palmitoleinska kiselina (PO, C 16:1n-7) što se podudara s prijašnjim istraživanjima (Telahigue i sur. 2010; Prato i sur., 2018). U probavnoj žlijezdi dominantna je bila PO što je usporedivo s dobivenim rezultatom u probavnoj žlijezdi *P. maximus* (Nerot i sur., 2015). Udio PO u ukupnim lipidima bio je manji u mišiću nego u gonadi što se podudara s prijašnjim istraživanjima jakovljeve kapice te je manji i naprema probavnoj žlijezdi što se također podudara s rezultatima Nerot i sur. (2015). Vrijednosti C 16:1 smanjuju se u svim tkivima u ljeto naprema proljeću što može biti povezano s opadanjem obilja fitoplanktona, samim time i otopljenog kisika te povećanjem zooplanktona (Viličić, 2014). Poznato je da je povećanje vrijednosti C 16:1 usko povezano s prisutnosti fitoplanktona prvenstveno

sastavljenog od dijatomeja (Mayzuad i sur., 1989; Dalsgaard i sur., 2003). U skupinu MUFA spada i masna kiselina cis-10-heptadekanska kiselina (C 17:1) čije se aritmetičke sredine razlikuju između tkiva, ali ne i između sezona. Ostale masne kiseline u skupini MUFA nisu se značajno razlikovale u različitim tkivima niti u sezonama. MUFA je skupina masnih kiselina koja dobiva sve veću pozornost u očuvanju ljudskog zdravlja te korisnog učinka na smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti i upalnih procesa (Kalogeropoulos i sur., 2004; Prato i sur., 2018). U ovom istraživanju udio zbroja PUFA u ukupnim lipidima bio je najveći u mišiću u ljeto, ali je udio ukupne aritmetičke sredine zbroja PUFA bio najveći u gonadi. Najmanja aritmetička sredina PUFA bila je u mišiću u zimu. Udio PUFA u svim tkivima u ovom istraživanju bio je veći u sezonama viših temperatura mora (ljeto/jesen) što se ne podudara s drugim studijama napravljenim na različitim vrstama školjkaša (Piretti i sur., 1988, Barišić i sur., 2017). Visoki udio PUFA u vrijeme visokih temperatura mora može se dogoditi zbog odgovora školjkaša na potencijalne stresore (kontaminante) kao što je opisano u radu Rodrigues i sur. (2023). Udio zbroja PUFA u mišiću jakovljeve kapice bio je viši nego u probavnoj žlijezdi kao i kod vrste *Pecten maximus* (Nerot i sur., 2015). Dokozaheksaenska kiselina (DHA, C 22:6n-3) bila je glavna višestruko nezasićena masna kiselina u svim organima i sezonama, dok je druga po redu bila C 20:3n-3. Udio DHA u skupini PUFA pronađen je u mišiću jakovljeve kapice kao što se pokazalo u prijašnjim istraživanjima kapica (Caers i sur., 1999; Telahigue i sur., 2010; Nerot i sur., 2015; Prato i sur., 2018). U mišiću i probavnoj žlijezdi vrijednosti DHA bile su najveće u ljeto što može ukazivati na to da dinoflagelati doprinose prehrani jakovljeve kapice (Nerot i sur., 2015). Jedino u mišiću jakovljeve kapice niti u jednoj sezoni nije pronađena arahidonska kiselina (AA C 20:4n-6) naprema ostalim masnim kiselinama u skupini PUFA. Pronađene vrijednosti AA u probavnoj žlijezdi i gonadi jakovljeve kapice bile su najveće u proljeće što može biti povezano s imunološkim odgovorom školjkaša zbog povećanja bakterija u moru kada je porasla temperatura mora (Pernet i sur., 2007). Gonade pektinida imaju visok udio nezasićenih masnih kiselina (Napolitano i Ackman, 1993; Soudant i sur., 1996; Palacios i sur., 2007.) što su pokazali i rezultati u ovom istraživanju gdje je udio nezasićenih masnih kiselina (PUFA i MUFA) u ukupnim lipidima u proljeće i ljeto bio iznad 50 %. MUFA n-9 masne kiseline bile su oleinska kiselina (C 18:1n-9), likozenska kiselina (C 20:1n-9) i eručna kiselina (C 22:1n-9), gdje je oleinska kiselina bila dominantna. Najveće vrijednosti MUFA n-9 bile su u svim tkivima u jesen što može biti dokaz prisutnosti fitoplaktona kao izvora hrane u jesenskom razdoblju. PUFA n-3 masne kiseline ključne su u prevencija kardiovaskularnih bolesti i upalnih procesa (Orban i sur., 2004). Aritmetičke sredine zbroja PUFA n-3 u svim tkivima povećavale su se od zime prema ljetu što je proporcionalno vrijednostima zbroja višestruko nezasićenih masnih kiselina te temperaturi mora. Iako nisu pronađene značajne razlike u zbroju PUFA n-3 između tkiva i sezona najmanji (u zimu) i najveći (u ljeto) udio

zbroja PUFA n-3 u ukupnim lipidima izmjeren je u mišiću. Vrijednosti zbroja PUFA n-6 nisu pokazale značajne razlike između tkiva i sezona, ali su niže od vrijednosti zbroja PUFA n-3 što se podudara s dosadašnjim istraživanjima napravljenim na jakovljevoj kapici (Telahigue i sur., 2010; Prato i sur., 2018). Najmanji udio n-6 izmjeren je u probavnoj žlijezdi (u zimu), a najveći u gonadi (u proljeće). Visok omjer n-3/n-6 je jedinstvena nutritivna odlika morskih organizama, posebno školjkaša (Orban i sur., 2004) te može biti i pokazatelj njihove fiziološke kondicije (Barišić, 2015). U ovom istraživanju najveće aritmetičke sredine omjera n-3/n-6 zabilježene su u mišiću što je usporedivo s istraživanjem koje su napravili Caers i sur. (1999) na mišiću kapice *Argopecten purpuratus*. Vrijednost omjera n-3/n-6 u ovom istraživanju u svim tkivima i sezonama viši je od 2 što znači da su vrijednosti PUFA n-3 veće od vrijednosti PUFA n-6. Visok omjer n-3/n-6 dokaz je dobrih nutritivnih karakteristike jakovljeve kapice koje su važne za zdravlje ljudi koji ih ne mogu sami sintetizirati (Prato i sur., 2018) već ih moraju u organizam unijeti hranom. Sve te spoznaje važne su za planiranje mogućeg uzgoja jakovljevih kapica.

6. ZAKLJUČCI

Rezultati ovog istraživanja upućuju na to da postoji utjecaj sezona na strukturno-morfološka, biokemijska i masnokiselinska svojstva jakovljeve kapice istočnog dijela sjevernog Jadrana.

Rezultati dužinsko-masenog odnosa pokazuju negativan alometrijski rast u svim sezonama.

Histološko-morfološke analize istraživanih organizama nisu pokazale strukturne ni funkcionalne promjene na istraživanim tkivima mišića, škrge i probavne žlijezde kroz istraživane sezone. U tkivima gonada ustanovljena je sezonalna varijacija razvojnih stadija te produženi reproduktivni ciklus s dva razdoblja mrijesta. Kapica prolazi kroz snažnu gametogenu i reproduktivnu aktivnost na jesen (sazrijevanje gameta) i zimi (mrijest), uz intenziviranje gametogenog stadija u toplim mjesecima, kada je reproduktivna aktivnost maksimalna, kao i ljetni mrijest.

U istraživanju je dokazana značajna uloga energetske metabolite i lipida pri otpornosti kapica na stres prouzročen temperaturnim ekstremima. Uočeno je smanjenje antioksidativne obrane tijekom hladnih mjeseci, uz nakupljanje produkata lipidne peroksidacije u tkivima jakovljeve kapice. Rezultati biokemijskih parametara i parametara lipidne peroksidacije mjerenih u tkivima pokazali su značajne razlike između sezona i spolova za većinu istraživanih analita. Kako se energetske rezerve pohranjene u mišiću upotrebljavaju za razvoj gameta i variraju s obzirom na dostupnost hrane, moguće je zaključiti da se katabolizam mišićnih rezervi nije odvijao zbog dostupnosti hrane koja je bila dovoljna i za somatogeni i za gametogeni rast kapica.

Vrijednosti ukupnih lipida jakovljeve kapice značajno su se razlikovale u mišiću naprema vrijednostima u probavnoj žlijezdi i gonadi kroz gotovo sve sezone te u mišiću između proljeća i ljeta. Rezultati ukupnog zbroja MUFA ukazuju na značajne razlike između pojedinih tkiva. Značajne razlike bile su između ukupnih vrijednosti tkiva jakovljeve kapice kod masnih kiselina C 14:0, C 16:1, C 17:1, C 20:3n-6 i C 20:4n-6.

Zbroj nezasićenih masnih kiselina (MUFA i PUFA) u mišiću i gonadi bio je veći od 50 % u ukupnim lipidima u proljeće i ljeto dok je u probavnoj žlijezdi taj zbroj bio viši od 50 % u proljeće, jesen i zimu. Omjeri n-3/n-6 masnih kiselina u mišiću bili su najveći u istim sezonama što dokazuje nutritivnu važnost školjkaša. S druge strane visoke vrijednosti PUFA ljeti mogu ukazivati na prisutnost onečišćivača u morskom okolišu.

Rezultati ovog istraživanja upućuju na to da je mišić jakovljeve kapice najbolje konzumirati u proljeće i ljeto, jer su vrijednosti kolesterola i glukoze najniže u tim sezonama.

Zaključno, rezultati ovog istraživanja ukazuju na to da su uvjeti okoliša (temperatura mora) i reproduktivno razdoblje glavni procesi koji utječu na sezonalne obrasce biokemijskih i masnokiselinskih parametara jakovljeve kapice.

7. POPIS LITERATURE

1. Ackman R.G. (1988). The year of the fish oils. *Chemistry and Industry*, str. 139–145.
2. Affonso E.G., Polez V.L.P., Corrêa C.F., Mazon A.F., Araújo M.R.R., Moraes G., Rantin F.T. (2002). Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & pharmacology* 133(3): 375-382. doi: 10.1016/s1532-0456(02)00127-8
3. Allen D.M., Costello T.J. (1972). The Calico Scallop, *Argopecten gibbus*. NOAA Technical Report NMFS SSRF-656. National Marine Fisheries Service.
4. Álvarez-Rodríguez M., García-Calvo L. (2011). La concha del peregrino (*Pecten jacobaeus*), símbolo del Camino de Santiago. *Ambiociencias* 8: 12-20.
5. Andersen S., Christophersen G., Magnesen T. (2011). Spat production of the great scallop (*Pecten maximus*): a roller coaster. *Canadian Journal of Zoology* 89(7): 579-598. doi: 10.1139/z11-035
6. Antolović M., Antolović N. (2012). Biološke i ekološke karakteristike male kapice (*Chlamys varia* LIN., 1758) - osnova kontroliranog uzgoja. *Ribarstvo* 70: 31-40.
7. Arts M.T., Ackman R.G., Holub B.J. (2001). Essential fatty acids in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58: 122-137. doi: 10.1139/f00-224
8. Arts M.T., Brett M.T., Kainz M.J. (2009). Lipids in Aquatic Ecosystems. *Aquatic Ecology* 43(4): 1201-1205. doi: 10.1007/s10452-009-9300-5
9. Babić, S., Barišić, J., Malev, O., Klobučar, G., Topić Popović, N., Strunjak-Perović, I., Krasnići, N., Čož-rakovac, R., Klobučar, R.S. (2016). Sewage sludge toxicity assessment using earthworm *Eisenia fetida*: can biochemical and histopathological analysis provide fast and accurate insight?. *Environmental science and pollution research international* 23: 12150–12163. doi: 10.1007/s11356-016-6097-3
10. Barber, B.J., Ford, S.E., Wargo, R.N., (1991). Genetic Variation in the Timing of Gonadal Maturation and Spawning of the Eastern Oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). *The Biological bulletin* 181: 216–221. doi: 10.2307/1542092
11. Barber B.J., Blake N. (2016). Reproductive Physiology. U: *Scallops Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries* (ur. Shumway S.E., Parsons G.J.). Elsevier Ltd., Amsterdam, Netherlands, str. 253-299.
12. Barišić J. (2015) Varijacija masnokiselinskog sastava lipidnih frakcija i antioksidativni status europske plosnate kamenice (*Ostrea edulis* L.) tijekom godine. Doktorska disertacija.

13. Barišić J., Čož-Rakovac R., Delaš, I., Topić Popović N., Gavrilović A., Jug-Dujaković J., Brailo M., Sauerborn-Klobučar R., Babić S., Strunjak-Perović I. (2017). Predictive modeling of European flat oyster (*Ostrea edulis* L.) fatty acid composition. *Aquaculture International* 25: 805–825. doi: 10.1007/s10499-016-0079-9
14. Beaumont A.R., Gjedrem T. (2007). *Scallops - Pecten maximus and P. jacobaeus*, Genetic Impact of Aquaculture Activities on Native Populations, str. 83-90.
15. Beninger P.G., Le Pennec M. (2016). *Scallop Structure and Function*. U: *Scallops Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries* (ur. Shumway S.E., Parsons G.J.). Elsevier Ltd., Amsterdam, Netherlands, str. 85-160. doi: 10.1016/B978-0-444-62710-0.00003-1
16. Bernar I., De Kermoisan G., Pouvreau S. (2011). Effect of phytoplankton and temperature on the reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: Investigation through DEB theory. *Journal of Sea Research* 66: 349–360. doi: 10.1016/j.seares.2011.07.009
17. Bignell J., Dodge M., Feist S., Lyons B., Martin P., Taylor N.G.H, Stone D., Travalent L., Stentiford G. (2008). Mussel histopathology: Effects of season, disease and species. *Aquatic Biology*. 2(1):1-15. doi: 10.3354/AB00031
18. Bilandžić N., Sedak M. Čalopek B., Đokić M., Solomun Kolanović B., Varenina I., Božić Đ., Varga I., Đafić N., Mišetić D., Zrnčić S., Oraić D. (2015). Razlike u sadržaju kemijskih elemenata školjkaša s obalnih uzgajališta Istre. *Veterinarska Stanica* 46(1): 9-17.
19. Brand A.R. (2006). Chapter 11 Scallop Ecology: Distributions and Behaviour. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* 35: 651-744. doi: 10.1016/S0167-9309(06)80039-6
20. Brucka-Jastrzebska E., Kawczuga D., Grzelak A., Bartosz, G. (2009). Magnesium content, total antioxidant status and lipid peroxidation in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss* Walbaum). *Magnesium research* 22 (4): 273–279. doi: 10.1684/mrh.2009.0185
21. Buban I., Soliman V., Bobiles R., Camaya A. (2019). Morpho-biometric Relationship, Relative Condition Factor and Meat Yield of Distant Scallop *Bractechlamys vexillum* (Reeve, 1853) in Asid Gulf, Philippines. *Asian Fisheries Science* 32: 147-153. doi: 10.33997/j.afs.2019.32.4.002
22. Caers M., Coutteau K. C., Cure K., Morales V., Gajardo G., Sorgeloos P. (1999). The Chilian scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819): I. Fatty acid composition and lipid content of six organs. *Comparative Biochemistry and Physiology* 123(B): 89–96. doi: 10.1080/10942912.2018.1425703
23. Carregosa V., Figueira E., Gil A. M., Pereira S., Pinto J., Soares A. M., Freitas R. (2014). Tolerance of *Venerupis philippinarum* to salinity: osmotic and metabolic aspects. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology* 171: 36–43. doi: 10.1016/j.cbpa.2014.02.009

24. Chantler P.D. (2016). Scallop Adductor Muscles: Structure and Function, U: *Scallops Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries* (ur. Shumway S.E., Parsons G.J.). Elsevier Ltd., Amsterdam, Netherlands, str. 229–316. doi: 10.1016/S0167-9309(06)80031-1
25. Cetinić P., Soldo A. (1999). Dredge catches of pilgrim's scallop (*Pecten jacobaeus* L.) in the eastern Adriatic Sea. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis*, 192: 37–43.
26. Čož-Rakovac R., Strunjak-Perović I., Topić Popović N., Hacmanjek M., Šmuc T., Jadan M., Lipej Z., Homen Z. (2008). Cage culture effects on mullets (Mugilidae) liver histology and blood chemistry profile. *Journal of Fish Biology* 72: 2557-2569. doi: 10.1111/j.1095-8649.2008.01865.x
27. Dalsgaard J., St John M., Kattner G., Müller-Navarra D., Hagen W. (2003). Fatty Acid Trophic Markers in the Pelagic Marine Environment. *Advances in Marine Biology* 46: 225–340. doi: 10.1016/s0065-2881(03)46005-7
28. Dao J.C., Fleury P.G., Barret J. (1999). Scallop culture in Europe, U: Howell B., Moksness E., Svåsand T. *Stock Enhancement and Sea Ranching*, Fishing News Books/Blackwell Science Ltd, Oxford, England, str. 423-435
29. Darriba S., San Juan F., Guerra, A. (2005). Energy storage and utilization in relation to the reproductive cycle in the razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865). *ICES Journal of Marine Science* 62: 886-896. doi: 10.1016/j.icesjms.2005.02.010
30. Delaš I. (2011). Benefits and hazards of fat-free diets. *Trends in Food Science & Technology* 22 (10): 576-582. doi: 10.1016/j.tifs.2011.08.008
31. Deridovich I.I., Reunova O.V. (1993). Prostaglandins: Reproduction control in bivalve molluscs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A Physiology* 104(1): 123–27.
32. Di Giulio R., Washburn P., Wenning R., Winston G., Jewell C., (1989). Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress. *Environmental Toxicology and Chemistry* 8(12): 1103-1123. doi: 10.1002/etc.5620081203
33. Dinh T. T., To K. V., Schilling M. W. (2021). Fatty Acid Composition of Meat Animals as Flavor Precursors. *Meat and Muscle Biology* 5(1):1–16. doi: 10.22175/mmb.12251
34. Duggan, W.P. (1975). Reactions of the Bay Scallop, *Argopecten irradians*, to Gradual Reductions in Salinity. *Chesapeake Science* 16: 284-286.
35. Duncan P.F., Brand A.B., Strand Ø, Foucher E. (2016). The European Scallop Fisheries for *Pecten maximus*, *Aequipecten opercularis*, *Chlamys islandica*, and *Mimachlamys varia* U: *Scallops Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries* (ur. Shumway S.E., Parsons G.J.). Elsevier Ltd., Amsterdam, Netherlands, str. 781-858. doi: 10.1016/B978-0-444-62710-0.00019-5
36. Espineira M, Gonzalez-Lavin N, Vieites J.M., Santaclara F.J. (2009). Development of a method for the genetic identification of commercial bivalve species based on

- mitochondrial 18S rRNA sequences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(2): 495–502. doi: 10.1021/jf802787d
37. Ezgeta-Balić D., Peharda M., Schöne B.R., Uvanović H., Vrgoč N., Markulin K., Radonić I., Denamiel C., Kovač Ž. (2022). Different life strategies of the three commercially exploited scallop species living under the same environmental conditions. *Frontiers in Marine Science* 9. doi: 10.3389/fmars.2022.992042
38. Falfushynska H.I., Gnatyshyna L.L., Ivanina A.V., Khoma V.V., Stoliar O.B., Sokolova I.M. (2019). Bioenergetic responses of freshwater mussels *Unio tumidus* to the combined effects of nano-ZnO and temperature regime. *Science of The Total Environment* 650 (1): 1440–1450. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.09.136
39. Fazio F., Marafioti S., Arfuso F., Piccione G., Faggio C. (2013). Comparative study of the biochemical and haematological parameters of four wild Tyrrhenian fish species. *Veterinarni Medicina* 58(11): 576-581. doi: 10.17221/7139-VETMED
40. Ferri J., Topić Popović N., Čož-Rakovac R., Beer-Ljubić B., Strunjak-Perović I., Škeljo F., Jadan M., Petrić M., Barišić J., Šimpraga M., Stanić R. (2011). The effect of artificial feed on blood biochemistry profile and liver histology of wild saddled bream, *Oblada melanura* (Sparidae). *Marine Environmental Research* 71(3): 218-224. doi: 10.1016/j.marenvres.2011.01.006
41. Fokina N.N., Ruokolainen T.R., Bakhmet I.N., Nemova N.N. (2015). Lipid composition in response to temperature changes in blue mussels *Mytilus edulis* L. from the White Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 95(8): 1629-1634. doi: 10.1017/S0025315415000326
42. Freas W., Grollman, S. (1980). Ionic and osmotic influence on prostaglandin release from the gill tissue of a marine bivalve, *Modiolus demissus*. *The Journal of experimental biology* 84: 169–185. doi: 10.1242/jeb.84.1.169
43. Freitas L., Fernandez-Reiriz M. J., Labarta U. (2002). Fatty acid profiles of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) mussel of subtidal and rocky shore origin. *Comparative Biochemistry and Physiology* 132 (29): 453–461. doi: 10.1016/s1096-4959(02)00057-x
44. Frischer M., Williams J., Haggart J.W. (1998). A molecular phylogeny of some major groups of Pectinidae inferred from 18S rRNA gene sequences, u: Johnston PA, Haggart JW. *Bivalves: An Eon of Evolution. Paleobiological Studies Honoring Norman D. Newell*, University of Calgary Press, Calgary, str. 213–221.
45. Gabbott P. A. (1983). *Developmental and seasonal metabolic activities in marine mollusca*, u K. M. Wilbur Academic Press. *The Mollusca, Environmental Biochemistry and Physiology*, New York 2, str. 165-219.

46. Gallagher J. (2007). A year in the life of North West Shell Fish Ltd, Irelands largest scallop (*Pecten maximus*) produce. 16th International Pectinid Workshop Halifax, 11.-18.05.2007., Nova Scotia, Canada, str. 1311.
47. Giribet G., Distel D.L. (2003). Bivalve phylogeny and molecular data, u: Lydeard C, Lindberg DR. Molecular systematics and phylogeography of mollusks, Smithsonian Books, Washington DC, Sjedinjene Američke Države, str. 45–90.
48. Godrijan J. (2015). Značaj, bioraznolikosti i dinamika kokolitoforida u obalnom području istočnog djela sjevernog Jadrana. Doktorska disertacija.
49. Guan R., Mariuzz, R.A. (2007). Peptidoglycan recognition proteins of the innate immune system. Trends Microbiol 15(3). 127–134. doi: 10.1016/j.tim.2007.01.006
50. Guerra C., Zenteno-Savín T., Maeda-Martínez A. N., Philipp E. E., Abele D. (2012). Changes in oxidative stress parameters in relation to age, growth and reproduction in the short-lived catarina scallop *Argopecten ventricosus* reared in its natural environment. Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology 162(4): 421–430. doi: 10.1016/j.cbpa.2012.04.018.
51. Hannan K. D., Jeffrey J. D., Hasler C. T., Suski C. D. (2016). Physiological responses of three species of unionid mussels to intermittent exposure to elevated carbon dioxide. Conservation physiology 4(1): 066. doi: 10.1093/conphys/cow066
52. Haxo F.T., Blinks R. (1950). Photosynthetic action spectra of marine algae. J Gen Physiol 33(4): 389–422. doi: 10.1085/jgp.33.4.389
53. Henry M., Boucaud-Camou E., Lefort Y. (1991). Functional micro-anatomy of the digestive gland of the scallop *Pecten maximus* (L.) Aquatic Living Resources 4(3): 191-202. doi: 10.1051/alr:1991021
54. Hickman R.W., Illingworth, J. (1980). Condition cycle of the green lipped mussel *Perna canaliculus* in New Zealand. Marine Biology 60(1): 27-38.
55. Jeffries M.A., Lee C.M. (2007). A climatology of the northern Adriatic Sea's response to bora and river forcing. Journal of Geophysical Research 112:C03S02: 1-18. doi: 10.1029/2006JC003664
56. Kalogeropoulos N., Andrikopoulos N., Hassapidou M. (2004). Dietary Evaluation of Mediterranean Fish and Molluscs Pan-Fried in Virgin Olive Oil. Journal of the Science of Food and Agriculture 84: 1750–1758. doi: 10.1002/jsfa.1878
57. Katsanevakis S. (2005). Abundance and spatial distribution of the Mediterranean scallop, *Pecten jacobaeus*, in a marine lake. Fisheries Research 76: 417–429. doi: 10.1016/j.fishres.2005.07.004
58. Kinne O. (1970). Temperature: 3. Animals: 1. Invertebrates, Marine ecology: a comprehensive, integrated treatise on life in oceans and coastal waters: 1. Environmental factors: 1: 407-514.

59. Kozarić Z. (1997). Veterinarska histologija, Naklada Karolina. Zagreb, str. 30.
60. Kuczynska P., Jemiola-Rzeminska M., Strzalka K. (2015). Photosynthetic Pigments in Diatoms. *Marine Drugs* 13(9): 5847–5881. doi: 10.3390/md13095847
61. Larsen J.B., Frischer M.E., Rasmussen L.J., Hansen B.W. (2005). Single-step nested multiplex PCR to differentiate between various bivalve larvae. *Marine Biology* 146(6): 119–112. doi: 10.1007/s00227-004-1524-2
62. Le Pennec G., Le Pennec M., Beninger G. (2001). Seasonal digestive gland dynamics of the scallop *Pecten maximus* in the Bay of Brest (France). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 81(4): 663–671. doi: 10.1017/S0025315401004349
63. Linehan L.G., O'Connor T.P., Burnell G. (1999). Seasonal variation in the chemical composition and fatty acid profile of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Food Chemistry*. 64(2): 211-214. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00144-7
64. Lodeiros C.J., Rengel J.J., Guderley H., Nusetti O., Himmelman J.H. (2001). Biochemical composition and energy allocation in the tropical scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* during the months leading up to and following the development of gonads. *Aquaculture* 199(1): 63-72. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00505-1
65. MacDonald B.A., Bricelj V.M., Shumway S.E. (2016). Physiology: Energy Acquisition and Utilisation, u: Shumway S.E., Parsons G.J.. *Scallops Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries*, Third Edition, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, str. 301–353.
66. MacDonald B.A., Thompson R.J. (1985). Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. *Marine Biology* 93: 37–48. doi: 10.1007/BF00428653
67. Magnesen T., Redmond K.J. (2012). Potential predation rates by the sea stars *Asterias rubens* and *Marthasterias glacialis*, on juvenile scallops, *Pecten maximus*, ready for sea ranching. *Aquaculture International* 20: 189–199. doi: 10.1007/s10499-011-9451-y
68. Malkowsky Y., Klusmann-Kolb A. (2012). Phylogeny and spatio-temporal distribution of European Pectinidae (Mollusca: Bivalvia). *Systematics and Biodiversity* 10(2): 233-242. doi: 10.1080/14772000.2012.676572
69. Marguš D., Teskeredžić E., Teskeredžić Z., Tomec, M. (1993). Reproductivni ciklud msle kapice (*Chlamys varia* L.) i monitoring ličinki češljača (Pectinidae) u planktonu ušća rijeke Krke. *Ribarstvo* 48(4):115-125.
70. Marguš D., Teskeredžić E. (2005). Prihvat ličinki, preživljenje i rast juvenilnih juvenilnih jakovskih kapica (*Pecten jacobaeus* Linnaeus, 1758.) u kontroliranom uzgoju u uvali Šarina Draga – ušće rijeke Krke. *Ribarstvo*. 63(1): 1-14.
71. Markovski M., Bratoš Cetinić A. (2022). About the Mediterranean scallop *Pecten jacobaeus* (Linnaeus, 1758) in the bay of Valdibora, Croatia. 57. hrvatski i 17.

- međunarodni Simpozij agronoma, 19.-24.06.2022., Osijek i Vodice, Hrvatska, str. 367 – 372.
72. Martínez-Pita I., Sánchez-Lazo C., Ruíz-Jarabo I., Herrera M., Mancera M. (2012). Biochemical composition, lipid classes, fatty acids and sexual hormones in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from cultivated populations in south Spain. *Aquaculture* 358–359: 274–283. doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.06.003
 73. Mason J. (1958). The breeding of the scallop (*Pecten maximus* L.) in Manx waters. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 37: 653-671. doi: 10.1017/s0025315400005701
 74. Matozzo V., Chinellato A., Munari M., Bressan M., Marin M.G. (2013). Can the combination of decreased pH and increased temperature values induce oxidative stress in the clam *Chamelea gallina* and the mussel *Mytilus galloprovincialis*? *Marine Pollution Bulletin* 72(1): 34-40. doi: 10.1016/j.marpolbul.2013.05.004
 75. Mattei N., Pellizzato M. (1996). A population study on three stocks of a commercial Adriatic pectinid (*Pecten jacobaeus*). *Fisheries Research* 26(1–2): 49–65. doi: 10.1016/0165-7836(95)00413-0
 76. Mayzaud P., Chanut J.P., Ackman R.G. (1989). Seasonal-changes of the biochemical composition of marine particulate matter with special reference to fatty-acids and sterols. *Marine Ecology Progress Series* 56: 189–204.
 77. Meyers P.S. (1994). Developments in World aquaculture, feed formulation and role of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry* 66(5): 1069-1076. doi: 10.1351/pac199466051069
 78. Micarelli P., Ceccarelli R. (1994). *Biologia, riproduzione e allevamento dei Pettinidi*. *Laguna* 20: 16 – 27. doi: 10.13140/RG.2.1.3553.1604
 79. Milišić N. (2007). *Glavonošci, puževi i školjke Jadrana*. Marjan tisak, str. 110.
 80. Morvezen R., Boudry P., Laroche J., Charrier G. (2016). Stock enhancement or sea ranching? Insights from monitoring the genetic diversity, relatedness and effective population size in a seeded great scallop population (*Pecten maximus*). *Heredity* 117(3): 142–148. doi: 10.1038/hdy.2016.42
 81. Murphy B.R., Brown M.L., Springer T.A. (1990). Evaluation of the relative weight (wr) index, with new applications to walleye. *North American Journal of Fisheries Management* 10(1): 85–97. doi: 10.1577/1548-8675(1990)010<0085:EOTRWW>2.3.CO;2
 82. Napolitano G.E., Ackman R.G. (1993). Fatty acid dynamics in sea scallops *Placopecten magellanicus* (Gmelin, 1791) from Georges Bank, Nova Scotia. *Journal of Shellfish Research* 12: 267–277.

83. Narvarte M., Kroeck M. (2002). Intraspecific variation in the reproductive cycle of the tehuelche scallop *Aequipecten tehuelchus* (Pelecypoda, Pectinidae), in San Matias Gulf, Patagonia, Argentina. *Journal of Shellfish Research* 21(2): 571-576.
84. Nerot C., Meziane T., Schaal G., Grall J., Lorrain A., Paulet Y.M., Kraffe E. (2015). Spatial changes in fatty acids signatures of the great scallop *Pecten maximus* across the Bay of Biscay continental shelf. *Continental Shelf Research* 109: 1-9. doi: 10.1016/j.csr.2015.08.032
85. Niyogi S., Biswas S., Sarker S., Datta A. (2001). Antioxidant enzymes in brackishwater oyster, *Saccostrea cucullata* as potential biomarkers of polyaromatic hydrocarbon pollution in Hooghly Estuary (India): seasonality and its consequences. *Science of The Total Environment* 281(1-3): 237-246. doi: 10.1016/s0048-9697(01)00850-6
86. Orban E., Di Lena G., Masci M., Navigato T., Casini I., Caproni R. (2004). Growth, nutritional quality and safety of oysters (*Crassostrea gigas*) cultured in the lagoon of Venice (Italy). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84(14): 1929–1938. doi: 10.1002/jsfa.1896
87. Oruç E. Ö., Usta D. (2007). Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental toxicology and pharmacology* 23(1): 48–55. doi: 10.1016/j.etap.2006.06.005
88. Palacios E., Racotta I.S., Arjona O., Marty Y., Le Coz J.R., Moal J. (2007). Lipid composition of the pacific lion-paw scallop, *Nodipecten subnodosus*, in relation to gametogenesis 2. Lipid classes and sterol. *Aquaculture* 266(1-4): 266–273. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.02.030
89. Pampanin D.M., Volpato E., Marangon I., Nasci C. (2005). Physiological measurements from native and transplanted mussel (*Mytilus galloprovincialis*) in the canals of Venice. Survival in air and condition index. *Comparative Biochemistry and Physiology* 140(1): 41-52. doi: 10.1016/j.cbpb.2004.10.016
90. Parrish C.C., Nichols P.D., Pethybridge H., Young J.W. (2015). Direct determination of fatty acids in fish tissues: quantifying top predator trophic connections. *Oecologia* 177(1): 85–95. doi: 10.1007/s00442-014-3131-3
91. Pázos A.J., Román G., Acosta C.P., Abad M., Sánchez J.L. (1997). Seasonal changes in condition and biochemical composition of the scallop *Pecten maximus* L. from suspended culture in the Ria de Arousa (Galicia, N.W. Spain) in relation to environmental conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 211: 169-193. doi: 10.1016/S0022-0981(96)02724-4
92. Peharda M., Soldo A., Pallaoro A., Matic S., Cetinic P. (2003). Age and growth of the Mediterranean scallop *Pecten jacobaeus* (Linnaeus 1758) in the Northern Adriatic Sea. *Journal of Shellfish Research* 22(3): 639-642.

93. Peharda M., Thébault J., Markulin K., Schöne B.R., Janeković I., Chauvaud L. (2019). Contrasting shell growth strategies in two Mediterranean bivalves revealed by oxygen-isotope ratio geochemistry: The case of *Pecten jacobaeus* and *Glycymeris pilosa*. *Chemical Geology* 526: 23-35. doi: 10.1016/j.chemgeo.2017.09.029
94. Pernet F., Tremblay R., Cormeau L., Guderley H. (2007). Temperature adaptation in two bivalve species from different thermal habitats: energetics and remodelling of membrane lipids. *The Journal of experimental biology* 210(17): 2999–3014. doi: 10.1242/jeb.006007
95. Pethybridge H.R., Parrish C.C., Bruce B.D., Young J.W., Nichols P.D. (2014). Lipid, fatty acid and energy density profiles of white sharks: insights into the feeding ecology and ecophysiology of a complex top predator. *PloS one* 9(5): doi: 10.1371/journal.pone.0097877
96. Piccinetti C., Šimunović A., Jukić S. (1986). Distribution and abundance of *Chlamys opercularis* (L.) and *Pecten jacobaeus* L. in the Adriatic Sea. *FAO Fisheries Report* 345: 99–105.
97. Piretti M.V., Zuppa F., Pagliuca G., Taioli F. (1988). Variations of fatty acid constituents in selected tissues of the bivalve mollusc *Scapharia inaequivalis* (brugiere). *Comparative Biochemistry and Physiology* 89(1), str. 183-187. doi: 10.1016/0305-0491(88)90281-7
98. Popović Z. (2012). Biološko – ekološke značajke školjšaša *Venus verrucosa* L. (Bivalvia: Veneridae) u Jadranu. *Doktorska disertacija*.
99. Prato E., Biandolino F., Parlapiano I., Papa L., Kelly M., Fanelli G. (2018). Bioactive fatty acids of three commercial scallop species. *International Journal of Food Properties* 21(1): 519-532. doi: 10.1080/10942912.2018.1425703
100. Racotta I.S., Ramirez J.L., Ibarra A.M., Rodriguez-Jaramillo M.C., Carreño D., Palacios, E. (2003). Growth and gametogenesis in the lion-paw scallop *Nodipecten (Lyropecten) subnodosus*. *Aquaculture* 217(1): 335–349. doi: 10.1016/S0044-8486(02)00366-6
101. Regoli F., Pricipato G.B., Bertoli E., Nigro M., Orlando E. (1997). Biochemical characterization of the antioxidant system in the scallop *Adamussium colbecki*, a sentinel organism for monitoring the Antarctic environment. *Polar Biology* 17: 251–258. doi: 10.1007/s003000050129
102. Renzoni A., Castagnolo L., Castelli M., Focardi S. (1988). Valutazione degli stocks naturali di *Pecten* e *Chlamys* nell'Alto Adriatico: produzione mediante pratiche di acquacoltura. *MMMCNR: Atti seminari della unita operative responsabili dei progetti di ricerca promossi nell'ambito dello schema preliminare di piano per la pesca e l'acquacoltura* 2: 561-574.

103. Renzoni A. (1991). Developments in Aquaculture and Fisheries Science. U: Scallops Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries. Third Edition (ur. Shumway S.E., Parsons G.J.). Elsevier Ltd., Amsterdam, Netherlands, str. 777-788.
104. Ribera D., Narbonne J.F., Arnaud C., Saint-Denis M. (2001). Biochemical responses of the earthworm *Eisenia fetida andrei* exposed to contaminated artificial soil, effects of carbaryl. *Soil Biol Biochem* 33(7-8): 1123–1130. doi: 10.1016/S0038-0717(01)00035-9
105. Richardson C.A. (2001). Molluscs as archives of environmental change. *Oceanography and Marine Biology* 39: 103–164.
106. Ricker W.E. (1968). Methods for assessment of fish reproduction in fresh waters. International Biological Programme by Blackwell Scientific, Oxford, England, str. 98-130.
107. Ríos C., Sanz S., Saavedra C., Peña J.B. (2002). Allozyme variation in populations of scallops, *Pecten jacobaeus* (L.) and *P. maximus* (L.) (Bivalvia: Pectinidae) across the Almeria-Oran front. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 267(2): 223 – 244. doi: 10.1016/S0022-0981(01)00371-9
108. Rodrigues J.A., Bispo D.S.C., Silva M.G., Araújo R., Soares A.M.V.M., Freitas R., Gil A.M. (2023). Impact of Sea Warming and 17- α -Ethinylestradiol Exposure on the Lipid Metabolism of *Ruditapes philippinarum* Clams. *International Journal of Molecular Sciences* 24(11): 9485. doi: 10.3390/ijms24119485
109. Romani R., Corsi I., Bonacci S., Focardi S., De Medio G.E., De Santis A., Incarnato F., Giovannini E., Rosi G. (2006). Organophosphate-resistant forms of acetylcholinesterases in two scallops-the Antarctic *Adamussium colbecki* and the Mediterranean *Pecten jacobaeus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 145(2): 188-196. doi: 10.1016/j.cbpb.2006.07.005
110. Rustan A.C., Drevon A.C. (2005). Fatty Acids: Structures and Properties. U: Encyclopedia of Life Science. doi: 10.1038/npg.els.0003894C
111. Saavedra C., Peña B.J. (2005). Nucleotide diversity and Pleistocene population expansion in Atlantic and Mediterranean scallops (*Pecten maximus* and *P. jacobaeus*) as revealed by the mitochondrial 16S ribosomal RNA gene. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 323(2): 138-150. doi: 10.1016/j.jembe.2005.03.006
112. Sajjadi N., Eghtesadi-Araghi P. (2011). Determination of Fatty Acid Compositions as Biomarkers in the Diet of *Turbo coronatus* in Chabahar Bay. *Journal* 2(5): 35-42.
113. Sargent J.R. (1976). The structure, metabolism and function of lipids in marine organisms. U: Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology (ur. Malins D.C., Sargent J. R.) Academic Press, London, England, str.149-212.
114. Salomonsen H.M., Lambert G.I., Murray L.G., Kaiser M.J. (2015). The spawning of King scallop, *Pecten maximus*, in Welsh waters – A preliminary study. Bangor

- University, Fisheries and Conservation 57: 21.
115. Santaclara F.J., Espineira M., Cabado A.G., Aldasoro A., Gonzalez-Lavin N., Vieites J.M. (2006). Development of a method for the genetic identification of mussel species belonging to *Mytilus*, *Perna*, *Aulacomya*, and other genera. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(22): 8461–8470. doi: 10.1021/jf061400u
116. Saucedo P.E., Rodríguez-Jaramillo C., Monteforte M. (2002). Microscopic anatomy of gonad tissue and specialized storage cells associated with oogenesis and spermatogenesis in the Calafi a mother-of-pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856). *Journal of Shellfish Research*. 21(1):145 – 155.
117. Serb, J.M. (2016). Reconciling Morphological and Molecular Approaches in Developing a Phylogeny for the Pectinidae (Mollusca: Bivalvia). U: *Scallops Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries* (ur. Shumway S.E., Parsons G.J.). Elsevier Ltd., Amsterdam, Netherlands, str. 1-29. doi: 10.1016/B978-0-444-62710-0.00001-8
118. Sheehan D., Power A. (1999). Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidant defence mechanisms of bivalve molluscs. *Comparative Biochemistry and Physiology* 123(3): 193–999. doi: 10.1016/s0742-8413(99)00033-x
119. Shumway S.E., Schick D.F., Selvin R. (1987). Food resources related to habitat in the scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin 1791): A qualitative study. *Journal of Shellfish Research* 6(2). 89-95.
120. Shumway, S.E., Parsons, G.J. (2016). *Scallops: Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries*. Elsevier Science, 3rd edition.
121. Sifi K., Soltani N. (2018). Seasonal changes of two biomarkers of oxidative stress (LDH, MDA) in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca: Bivalvia) from the Gulf of Annaba (Algeria): correlation with carbohydrate and lipid contents. *Molluscan Research* 39(1): 315-323. doi: 10.1080/13235818.2018.1499389
122. Simopoulos A. P. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *The American journal of clinical nutrition* 54(3): 438–463. doi: 10.1093/ajcn/54.3.438
123. Soudant P., Moal J., Marty Y., Samain J.F. (1996). Impact of the quality of dietary fatty acids on metabolism and the composition of polar lipid classes in female gonads of *Pecten maximus* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 205(1-2): 149–163. doi: 10.1016/S0022-0981(96)02608-1
124. Soria G., Orensanz J.M., Morsán M.E., Parma M.A., Amoroso O.R. (2016). *Scallops Biology, Fisheries, and Management in Argentina*. U: *Scallops Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries* (ur. Shumway S.E., Parsons G.J.). Elsevier Ltd., Amsterdam, Netherlands, str. 1019-1046. doi: 10.1016/B978-0-444-62710-0.00025-0
125. Spencer B. E. (2002). *Molluscan Shellfish Farming*. Blackwell Science, Oxford.

126. Stefano B., Ilaria C., Silvano F. (2008). Cholinesterase activities in the scallop *Pecten jacobaeus*: Characterization and effects of exposure to aquatic contaminants. *Science of the Total Environment* 392(1): 99-109. doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.11.029
127. Strand O., Louro A., Duncan F.P. (2016). European Aquaculture. U: *Scallops Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries* (ur. Shumway S.E., Parsons G.J.). Elsevier Ltd., Amsterdam, Netherlands, str. 859-890. doi: 10.1016/B978-0-444-62710-0.00020-1
128. Strohmeier T., Duinker A., Lie Ø. (2000). Seasonal variations in chemical composition of the female gonad and storage organs in *Pecten maximus* (L.) suggesting that somatic and reproductive growth are separated in time. *Journal of Shellfish Research* 19(2): 741-747.
129. Štefan L., Tepšić T., Zavidic T., Urukalo M., Tota D., Domitrović R. (2007). Lipidna peroksidacija: uzroci i posljedice. *Medicina* 43(2): 84-93.
130. Tabakaeva O., Tabakaev A.. (2017). Lipids and Fatty Acids from Soft Tissues of the Bivalve Mollusk *Spisula sachalinensis*. *Chemistry of Natural Compounds* 53: 16–20. doi: 10.1007/s10600-017-1900-z.
131. Takahashi K., Mori K. (1971). Seasonal variations in the metabolism of lipids and glycogen in the scallop, *Patinopecten yessoensis* (Jay) I. Biochemical studies. *Tohoku Journal of Agricultural Research* 22: 114-125.
132. Tang S.F. (1941). The breeding of the scallop (*Pecten maximus* L.) with a note on the growth rate. *Proc. Trans. Liverpool Biol. Soc.* 54: 9-28
133. Telahigue K., Chetoui I., Rabeh I., Romdhane M.S., Cafsi M.E. (2010). Comparative fatty acid profiles in edible parts of wild scallops from the Tunisian coast. *Food Chemistry*, 122: 744-746. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.03.047
134. Telahigue K., Hajji T., El Cafsi M., Saavedra C. (2018). Genetic structure and demographic history of the endemic Mediterranean scallop *Pecten jacobaeus* inferred from mitochondrial 16s DNA sequence analysis. *Bothalia - African Biodiversity and Conservation* 41(1): 61-73. doi: 10.32800/abc.2018.41.0061
135. Thomas L.M., Holub B.J. (1994). Nutritional aspects of fats and oils. U: *Technological advances in improved and alternate sources of lipids.* (ur. Kamel B.S. i Kakuda Y.). Blackie Academic & Professional, Glasgow, U.K., str. 16–49.
136. Topić Popović N., Srebočan E., Čož-Rakovac R., Hacmanjek M., Strunjak-Perović I., Jadan M. (2008). Blood biochemistry of captive Atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus* farmed in the Adriatic Sea. *Journal of Applied Ichthyology* 24: 614-616. doi: 10.1111/j.1439-0426.2008.01108.x
137. Topić Popović N., Kozračinski L., Strunjak-Perović I., Čož-Rakovac R., Jadan M., Cvrtić-Fleck Z., Barišić J. (2012). Fatty acid and proximate composition of bluefin tuna

- (*Thunnus thynnus*) muscle with regard to plasma lipids. *Aquaculture Research* 43(5): 722–729. doi: 10.1111/j.1439-0426.2008.01108.x
138. Tynan S., Opdyke B.N., Walczak M.H., Eggins S., Dutton A. (2016). Assessment of Mg/Ca in *Saccostrea glomerata* (the Sydney rock oyster) shell as a potential temperature record. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 484(19): 79–88. doi: 10.1016/j.palaeo.2016.08.009
139. Valli G. (1979). Biometria e riproduzione in *Pecten jacobaeus* del Golfo di Trieste (Mare Adriatico). *Bollettino della Società adriatica di scienze naturali in Trieste* 63: 121-139.
140. Vance D.E., Vance J.E. (2002). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Elsevier Science, North York. doi: 10.1016/s0167-7306(08)x6026-0
141. Velez C., Figueira E., Soraes A.M.V.M., Freitas R. (2016). Native and introduced clams biochemical responses to salinity and pH changes. *Science of the Total Environment* 566-567: 260-268. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.05.019
142. Ventilla R.F. (1982). The scallop industry in Japan. *Advances in Marine Biology* 20: 310–382.
143. Viarengo A., Canesi L., Pertica M., Livingstone D.R. (1991). Seasonal variations in the antioxidant defence systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology* 100(1-2): 187-190. doi: 10.1016/0742-8413(91)90151-i
144. Viarengo A., Canesi L., Garcia Martinez P., Peters L.D., Livingstone D.R. (1995). Prooxidant processes and antioxidant defence systems in the tissues of the Antarctic scallop (*Adamussium colbecki*) compared with the Mediterranean scallop (*Pecten jacobaeus*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 111(1): 119–126. doi: 10.1016/0305-0491(94)00228-M
145. Viličić D. (2014). Specific oceanological characteristics of the Croatian part of the Adriatic. *Hrvatske vode* 22(90): 297–314.
146. Wang J., Dong B., Yu Z.X., Yao C.L. (2018). The impact of acute thermal stress on green mussel *Perna viridis*: Oxidative damage and responses. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 222: 7–15. doi: 10.1016/j.cbpa.2018.04.001
147. Winsto G., Di Giulio R. (1991). Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology* 19: 137-161. doi: 10.1016/0166-445X(91)90033-6
148. Wilding C., Beaumont A., Latchford J. (1999). Are *Pecten maximus* and *Pecten jacobaeus* different species? *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 79(5): 949-952. doi: 10.1017/S0025315499001149
149. Yonge C.M. (1936). The evolution of the swimming habit in the Lamellibranchia. *Memoire de la Musee Royal d'Histoire Naturelle des Belge* 3: 77–100.

150. Zhu W., Zhang C., Tan K., Wang B., Huang R., Wen J., Xu B., Liu X., Lichu L., Zheng H. (2022). Variation of lipids and fatty acids in noble scallop *Chlamys nobilis* under low temperature stress. *Aquaculture* 554(2): 738121. doi: 10.1016/j.aquaculture.2022.738121
151. Zhukova N. V. (2019). Fatty Acids of Marine Mollusks: Impact of Diet, Bacterial Symbiosis and Biosynthetic Potential. *Biomolecules* 9(12): 857. doi: 10.3390/biom9120857
152. Žmarić M. (2019). Analiza alometrije prirodnih populacija dagnje u Jadranu. Završni rad.

8. ŽIVOTOPIS

Vanessa Lorencin, diplomirana inženjerka biologije (ekologija) i profesorica biologije rođena je 28. lipnja 1984. godine u Puli (Republika Hrvatska). Osnovnu školu završila je u Medulinu, a opću gimnaziju u Puli. Studij biologije završila je 2010. godine na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. U razdoblju od travnja 2011. do siječnja 2016. godine obnašala je funkciju tehnologinje te rukovoditeljice uzgajališta Budava u tvrtki Cromaris d.d. Od ožujka 2016. zaposlena je u Lokalnoj akcijskoj grupi u ribarstvu „Istarski švoj“ na poziciji stručne suradnice za ribarstvo. Poslijediplomski doktorski studij Poljoprivredne znanosti pri Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2013. godine, te pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Daniela Matulića i dr. sc. Natalije Topić Popović, dr. med. vet. izrađuje ovu disertaciju. Doktorandica je autorica četiri znanstvena rada.

Popis radova:

1. Topić Popović, N.; Lorencin, V.; Strunjak-Perović, I.; Čož-Rakovac, R. (2023). Shell Waste Management and Utilization: Mitigating Organic Pollution and Enhancing Sustainability. *Applied Sciences* 13 (1): 623.

2. Čolak, S., Lorencin, V., Končar, D., Šarić, T., Petani, B., Mustać, B. (2021). Seasonal dynamics of parasite *Lernanthropus kroyeri* (van Beneden, 1851) on cultured sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) from the Adriatic Sea. *Aquaculture*: 735851

3. Topić Popović, N., Krbavčić, M., Barišić, J., Beer Ljubić, B., Strunjak-Perović, I., Babić, S., Lorencin, V., Matulić, D., Tomljanović, T., Čož-Rakovac, R. (2021). Comparative Tissue Responses of Marine Mollusks on Seasonal Changes in the Northern Adriatic Sea. *Applied Sciences* 11(6): 2874.

4. Topić Popović, N., Beer Ljubić, B., Strunjak-Perović, I., Babić, S., Lorencin, V., Jadan, M., Čižmek, L., Matulić, D., Bojanić, K., & Čož-Rakovac, R. (2020). Seasonal antioxidant and biochemical properties of the Northern Adriatic *Pecten jacobaeus*. *PloS one*, 15(3): 0230539.