

# Dinamika, povezanost i genetička struktura hlapa *Homarus gammarus* (Linnaeus, 1758) u Jadranu

---

Pavičić, Mišo

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:839963>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-08**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

GEOLOŠKI ODSJEK

Mišo Pavičić

**DINAMIKA, POVEZANOST I GENETIČKA  
STRUKTURA HLAPA *HOMARUS*  
*GAMMARUS* (LINNAEUS, 1758) U  
JADRANU**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2022



Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

GEOLOŠKI ODSJEK

Mišo Pavičić

**DINAMIKA, POVEZANOST I GENETIČKA  
STRUKTURA HLAPA *HOMARUS*  
*GAMMARUS* (LINNAEUS, 1758) U  
JADRANU**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

Dr. sc. Sanja Matić-Skoko

Dr. sc. Tanja Šegvić Bubić

Zagreb, 2022



Sveučilište u Zagrebu

FACULTY OF SCIENCE  
DEPARTMENT OF GEOLOGY

Mišo Pavičić

**DYNAMICS, CONNECTIVITY AND  
GENETIC STRUCTURE OF THE  
EUROPEAN LOBSTER *HOMARUS  
GAMMARUS* (LINNAEUS, 1758) IN THE  
ADRIATIC SEA**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisors:

Sanja Matić-Skoko, PhD

Tanja Šegvić Bubić, PhD

Zagreb, 2022

Ovaj doktorski rad izrađen je u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog doktorskog studija Oceanologije pri Geološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom dr. sc. Sanje Matić-Skoko i dr. sc. Tanje Šegvić Bubić. Istraživanje je provedeno u sklopu projekta Procjena stanja populacija velikih rakova (Ministarstvo poljoprivrede, Uprava ribarstva). Prikupljanje biološkog materijala se odvijalo u Jadranu i u ostalim regijama Sredozemnog mora. Obrada uzoraka, analiza podataka i pisanje doktorskog rada provedeni su na Institutu za oceanografiju i ribarstvo, u Splitu, u Hrvatskoj.

## ZAHVALA

Želio bih se zahvaliti mentoricama dr. sc. Sanji Matić - Skoko i dr. sc. Tanji Šegvić Bubić na ukazanom povjerenju, prenesenom znanju te bezbrojnim savjetima, suradnji i velikoj podršci pri izradi ove doktorske disertacije. Hvala što ste me uz ovako zanimljivu i primjenjivu temu uveli u svijet znanosti.

Zahvaljujem članovima povjerenstva doc. dr. sc. Zoranu Marčiću, prof. dr. sc. Jakovu Dulčiću i izv. prof. dr.sc. Marku Čaleti na savjetima pri izradi završne verzije ovog doktorskog rada.

Želio bih se zahvaliti Ivi Žužul na pomoći i suradnji u molekularnom laboratoriju, te pomoći pri obradi podataka. Također, zahvaljujem dr.sc. Jadranki Šepić na pomoći s analizama oceanografskih podataka. Također, zahvaljujem Dariu Vrdoljaku i Igoru Talijančiću na pomoći i suradnji tijekom posljednjih šest godina.

Želio bih se zahvaliti kolegicama iz ureda Niki Stagličić i Dubravki Bojanić Varezić na brojnim savjetima i pomoći te Branku Dragičeviću i svim kolegama iz laboratorija i IOR-a koji su na bilo koji način pridonijeli izradi ove doktorske disertacije.

Želio bih se zahvaliti svim ribarima na pomoći pri prikupljanju bioloških uzoraka.

Hvala svim prijateljima koji su vjerovali u mene i bili mi podrška u mom radu. Također, želio bih se zahvaliti profesoru Anti Lončaru iz gimnazije zbog kojeg sam zavolio biologiju.

Posebna zahvala ide mojoj obitelji a ponajviše mojoj majci, na ljubavi, razumijevanju i potpori tijekom trajanja doktorata. Hvala na svemu!

**DINAMIKA, POVEZANOST I GENETIČKA STRUKTURA HLAPA *HOMARUS*  
*GAMMARUS* (LINNAEUS, 1758) U JADRANU**

MIŠO PAVIČIĆ

Prirodoslovno-matematički fakultet, Geološki odsjek

Stanje populacije hlapa (*Homarus gammarus*) u Jadranskom moru procijenjeno je primjenom metoda ribarstvene biologije i populacijske genetike. Analizom službenih podataka o ulovu hlapa u razdoblju od 2008. do 2017. uočeno je povećanje ulova, ribolovnog napora i ulova po jedinici ribolovnog napora u sjevernom Jadranu, dok je u istom razdoblju zabilježen pozitivan trend izmjerene i modelirane pridnene temperature mora. Utvrđena je značajna povezanost pridnene temperature mora i ulova po jedinici ribolovnog napora u sjevernom i srednjem Jadranu. Najzastupljeniji dužinski razredi hlapa su bili od 80 - 120 mm dužine glavopršnjaka, a jedinke ispod minimalne veličine ulova su činile 52,83 % ukupnog uzorka. Zabilježene su niske vrijednosti ulova po jedinici ribolovnog napora (4,6 - 239 g/vrši) s najvišim vrijednostima u proljeće i ljeto. Manje jedinke hlapa nastanjuju plića staništa i bliže obali, dok se sve veće jedinke pojavljuju dalje od obale. Postoji spolni dimorfizam u rastu hlapa s izraženijim rastom mase za mužjake nego ženke, dok ženke s dužinama glavopršnjaka većim od 80 mm imaju značajno širi abdomen od mužjaka. Prekomjerni izlov, gubitak staništa i druge antropogene aktivnosti nisu značajno utjecale na neutralnu genetičku raznolikost. Ukupna genetička udaljenost je bila niska između istraživanih populacija ( $F_{ST} = 0,0062$ ). Genetička diferencijacija je utvrđena među populacijama iz različitih bazena Sredozemnog mora, dok su populacije iz Jadranskog mora bile panmiktične. Prosječna suvremena efektivna veličina populacije ( $N_E$ ) procijenjena za populacije hlapa se kotala od 1,560 do 2,094 ovisno o metodi te su najveće vrijednosti zabilježene za populacije sjevernog Jadrana. Procjene stope migracije ukazuju da sjeveroistočna obala Jadranskog mora djeluje kao glavni izvor protoka gena te se genetički materijal može prenijeti od 300 do 600 km ovisno o trajanju pelagične faze ličinke hlapa i dinamici morske vode. Ovo istraživanje predstavlja prvo sveobuhvatno istraživanje stanja populacije hlapa u Jadranskom moru i rezultati ovog istraživanja mogu služiti kao informacije potrebne za održivo i učinkovitije upravljanje ovom ekološki i ekonomski važnom vrstom rakova u Jadranskom moru.

(183 stranice, 14 tablica, 53 slike, 396 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Ključne riječi: dekapodni rak, dinamika populacija, stok, DNA biljezi, populacijska struktura, protok gena

Mentorice: dr. sc. Sanja Matić-Skoko, znanstvena savjetnica u trajnom zvanju  
dr. sc. Tanja Šegvić Bubić, viša znanstvena suradnica

Ocjenjivači: doc. dr. sc. Zoran Marčić, viši znanstveni suradnik  
prof. dr. sc. Jakov Dulčić, znanstveni savjetnik u trajnom zvanju  
izv. prof. dr. sc. Marko Čaleta, znanstveni savjetnik

**DYNAMICS, CONNECTIVITY AND GENETIC STRUCTURE OF THE EUROPEAN  
LOBSTER *HOMARUS GAMMARUS* (LINNAEUS, 1758) IN THE ADRIATIC SEA**

MIŠO PAVIČIĆ

Faculty of Science, Department of Geology

Population dynamics of European lobster (*Homarus gammarus*) in the Adriatic Sea was assessed using various fisheries biology and population genetics methods. The analysis of European lobster official catch data from 2008 to 2017 showed an increase in landings, fishing effort and catch per unit effort in the northern Adriatic. A positive trend of increasing measured and modelled sea bottom temperature was also recorded. A significant correlation between sea bottom temperature and catch per unit effort in the northern and central Adriatic has been established. Dominance of specimens in the 80 - 120 mm carapace length size classes was observed and individuals below the minimum landing size accounted for 52.83 % of the total sample. Low values of catch per unit effort were recorded, ranging from 4.6 to 239 g/pot with the highest values observed in spring and summer. Smaller individuals inhabit shallower habitats and closer to coast while larger individuals occur farther from coast. Sexual dimorphism in growth was observed with more pronounced increase in weight for males than females, while females have a significantly wider abdomen than males when carapace length exceeds 80 mm. Overfishing, habitat loss and other anthropogenic activities did not significantly affect neutral genetic diversity. The global genetic distance between the studied populations was low ( $F_{ST} = 0.0062$ ). Genetic differentiation was found among populations from different Mediterranean basins, while populations from the Adriatic Sea were panmictic. The average contemporary effective population size ( $N_E$ ) estimated for European lobster populations ranged from 1,560 to 2,094, depending on the method used, with the highest values for populations in the northern Adriatic. Estimates of migration rates indicate that the north-eastern coast of the Adriatic Sea acts as the main source of gene flow, and genetic material can be transferred from 300 to 600 km depending on the pelagic larval duration. This research is the first comprehensive study of the European lobster population status in the Adriatic Sea, the results of which can serve as a basis for sustainable and effective fisheries management of this ecologically and economically important crustacean species.

(183 pages, 14 tables, 53 figures, 396 references, original in Croatian)

Keywords: decapoda, population dynamics, stock, DNA markers, population structure, gene flow

Supervisors: Sanja Matić-Skoko, PhD Senior Scientist / Full Professor  
Tanja Šegvić Bubić, PhD Senior Research Associate

Reviewers: Zoran Marčić, PhD Senior Research Associate / Assistant Professor  
Jakov Dulčić, PhD Senior Scientist / Full Professor  
Marko Čaleta, PhD Senior Scientist / Associate Professor



# Sadržaj

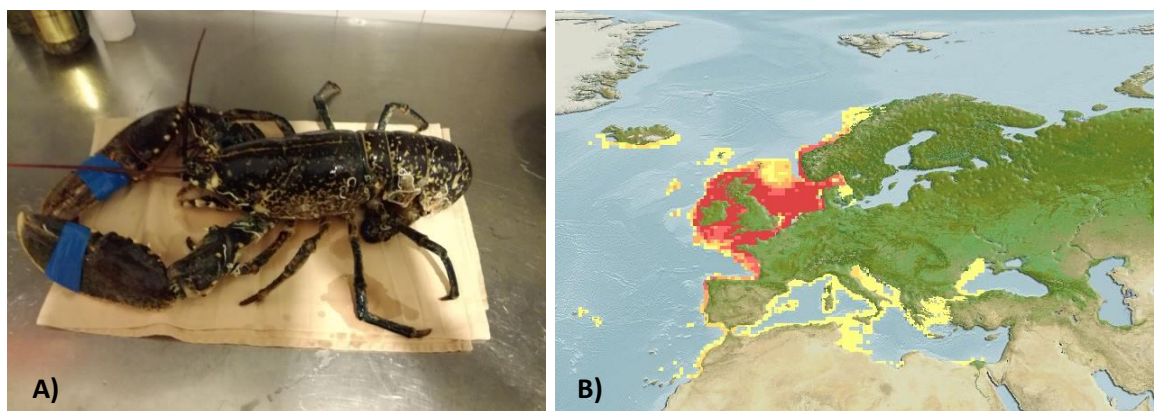
1. UVOD.....	3
1.1. Biologija i ekologija hlapa ( <i>Homarus gammarus</i> ) .....	3
1.1.1. Rast.....	5
1.1.2. Razmnožavanje .....	6
1.1.3. Planktonski i bentički razvoj .....	8
1.2. Ribarstvo i akvakultura hlapa .....	10
1.3. Fizičko-oceanografske karakteristike Jadranskog mora .....	14
1.4. Utjecaj klimatskih promjena na ribarstvo .....	16
1.5. Procjene stanja i dinamika populacija u ribarstvu.....	19
1.6. Genetička raznolikost .....	23
1.7. Metode molekularne genetike u populacijskim istraživanjima .....	25
1.7.1. Mitohondrijska DNA (mtDNA) .....	26
1.7.2. Mikrosateliti .....	29
1.8. Statističke metode u analizi genetičke raznolikosti.....	31
1.8.1. Deskriptivna statistika .....	31
1.8.2. Bayesovska analiza populacijske strukture.....	32
1.8.3. Procjena efektivne veličine populacije .....	34
1.8.4. Migracije u morskim ekosustavima .....	36
1.9. Pregled dosadašnjih istraživanja .....	38
2. CILJEVI I HIPOTEZE DOKTORSKOG RADA .....	43
3. MATERIJALI I METODE.....	45
3.1. Područje istraživanja .....	45
3.2. Prikupljanje podataka .....	47
3.2.1. Okolišne varijable .....	47
3.2.2. Ribarstveno-biološki parametri.....	48
3.2.3. Uzorkovanje tkiva i DNA izolacija .....	51
3.2.4. Genotipizacija mikrosatelitnih biljega .....	53
3.2.5. Podjedinica I citokrom - oksidaze (COI) regija mtDNA .....	56
3.3. Obrada podataka .....	59
3.3.1. Modeliranje pridnene temperature mora .....	59
3.3.2. Trendovi ulova hlapa na istočnoj jadranskoj obali .....	59
3.3.3. Morfometrijski odnosi i W/CL indeks .....	61
3.3.4. Analiza dinamike ulova hlapa s obzirom na sezonu i spol .....	61
3.3.5. Genetička raznolikost .....	62

3.3.6.	Genetička varijabilnost i populacijska struktura .....	63
3.3.7.	Demografske promjene, efektivna veličina populacije i stope migracija .....	64
3.3.8.	Mitohondrijska DNA (mtDNA), genetička raznolikost i populacijska ekspanzija .....	66
4.	REZULTATI .....	68
4.1.	Trendovi ulova hlapa u Jadranskom moru .....	68
4.2.	Vremenski niz pridnene temperature mora .....	71
4.3.	Sezonske promjene pridnene temperature mora .....	72
4.4.	Vremenski niz modelirane pridnene temperature mora i ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE) hlapa .....	77
4.5.	Frekvencija ulova i ulov po jedinici ribolovnog napora .....	83
4.6.	Morfometrijski odnosi .....	87
4.7.	Genetička raznolikost .....	93
4.8.	Genetička udaljenost i populacijska struktura .....	98
4.9.	Demografski obrasci i protok gena .....	104
4.10.	MtDNA haplotipna raznolikost i populacijska ekspanzija .....	111
5.	RASPRAVA .....	116
6.	ZAKLJUČCI .....	139
7.	LITERATURA .....	143
8.	PRILOZI .....	173
9.	ŽIVOTOPIS .....	176

## 1. UVOD

### 1.1. Biologija i ekologija hlapa (*Homarus gammarus*)

Hlap (*Homarus gammarus* (Linnaeus, 1758)) pripada potkoljenu Crustacea, red Decapoda (deseteronošci) (Slika 1.1.1.A). U red Decapoda ubrajaju se većina komercijalno važnih vrsta rakova poput hlapa, jastoga (*Palinurus elephas* (J. C. Fabricius, 1787)), rakovice (*Maja squinado* (Herbst, 1788)), škampa (*Nephrops norvegicus* (Linnaeus 1758)) (Phillips, 2013). Hlap ima široku geografsku rasprostranjenost. Rasprostranjen je od Lofotenskih otoka na sjeveru Norveške do jugoistočne Švedske i Danske, ali je odsutan u Baltičkom moru vjerojatno zbog sniženog saliniteta i temperaturnih ekstrema (Slika 1.1.1.B). Njegova rasprostranjenost prema jugu proteže se uz obale kontinentalne Europe, oko Velike Britanije i Irske, do južne granice od oko 30° sjeverne geografske širine na atlantskoj obali Maroka. Hlap je rasprostranjen u Sredozemnom moru, iako manje brojno. Također, zabilježen je na zapadnom djelu Crnog mora i u Bosporskom prolazu (Holthius, 1991; Triantafyllidis i sur., 2005). Rasprostranjen je u cijelom Jadranskom moru, ali je najzastupljeniji u njegovom sjevernom dijelu (Grubišić, 1988).

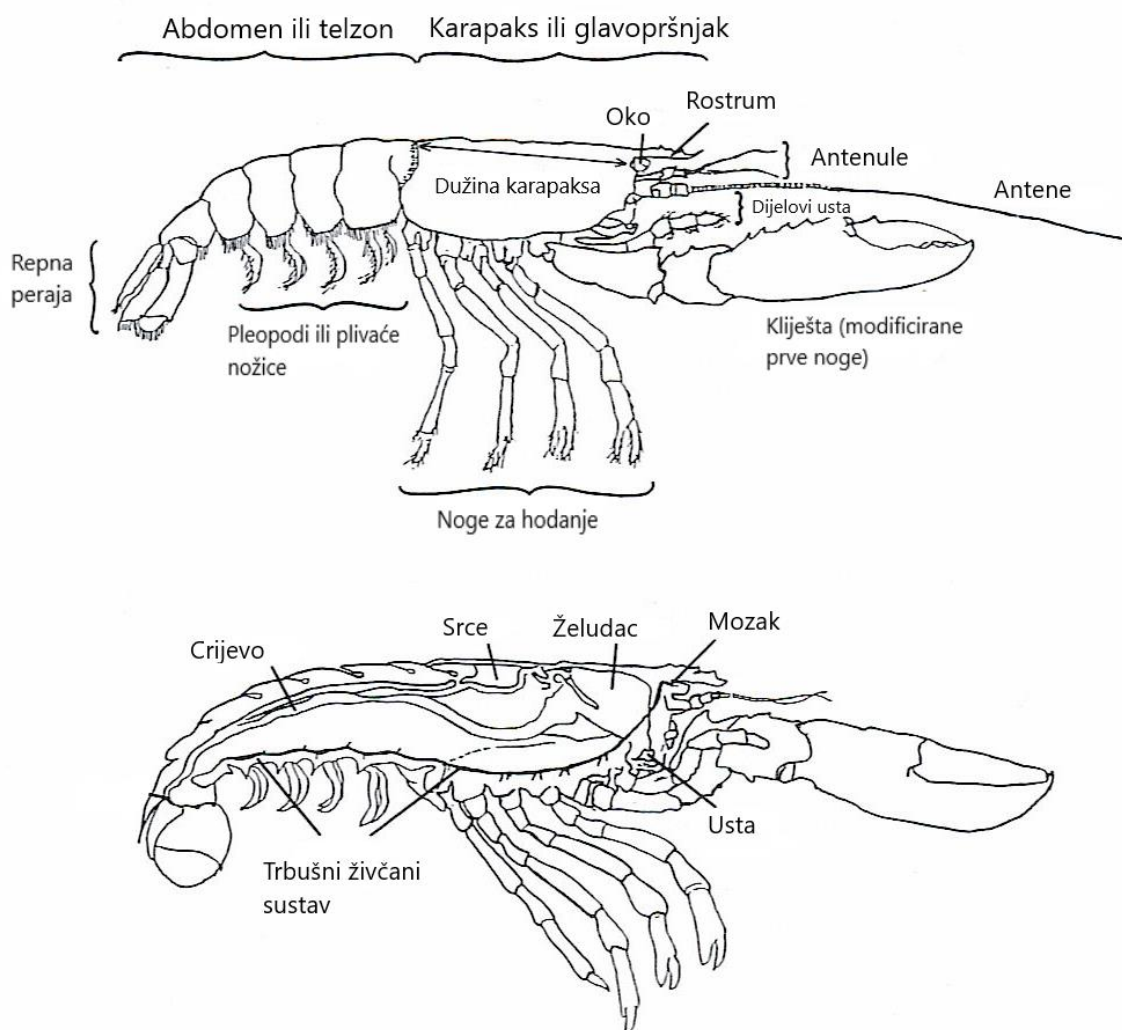


**Slika 1.1.1.** Jedinka hlapa (*H. gammarus*) (lijevo - izvor: Mišo Pavičić) i područje rasprostranjenosti hlapa (desno - izvor: [www.aquamaps.com](http://www.aquamaps.com))

Hlap je predmet ciljanog ribolova već pet stoljeća (Spanier i sur., 2015) te se uglavnom lovi klopkastim alatima s mamcem (najčešće različiti tipovi vrša). Od sredine 20. stoljeća povećani antropogeni pritisci uzrokovali su kolaps stokova hlapa na većini područja rasprostranjenosti (Hinchcliffe i sur., 2021), od kojeg je oporavak bio spor ili do njega nikad nije ni došlo (Cob i Castro, 2006). Opća biologija hlapa relativno je dobro poznata u usporedbi s drugim morskim beskralježnjacima zbog njihove široke rasprostranjenosti, podataka o

povijesnom ribolovu i pokušaja uzgoja. Svejedno, nedostaju važne informacije o ekologiji ove vrste, posebice tijekom rane bentičke faze života te nakon metamorfoze u postličinku (André i Knutsen, 2010; Ellis i sur., 2015b).

Hlap obitava na kontinentalnom šelfu do dubine od 150 m, iako se najčešće lovi na dubinama manjim od 50 m (Holthuis, 1991). Uobičajeno se nalazi na stjenovitom, čvrstom dnu (Grubišić, 1988), ali može se zakopati i u mulj. Izrazito je teritorijalan. Koristi stjenovite grebene kao zaklon, osobito za vrijeme presvlačenja. Ima modificirane prve noge za hodanje u karakteristična kliješta od kojih su jedna deblja i veća i služe za drobljenje dok su druga tanja i oštrija te služe za rezanje. Unutarnji organi su zaštićeni tvrdim oklopom koji se sastoji od karapaksa ili glavopršnjaka i abdomena ili repa (Slika 1.1.2.). Rep se može brzo stezati što omogućava hlapu plivanje unazad (Wahle i sur., 2013).

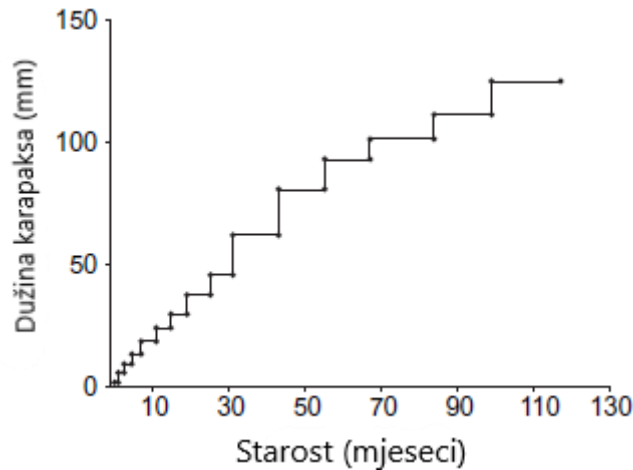


**Slika 1.1.2.** Morfologija (vanjski izgled) i anatomija odrasle jedinke hlapa (*Homarus gammarus*) (izvor: [www.nationallobsterhatchery.co.uk](http://www.nationallobsterhatchery.co.uk))

Hlapovi se smatraju sedentarnim životinjama s malim rasponom kretanja (Jørstad i sur., 2004). Kretanje i migracije hlapa su slabo istražene. Odrasli hlapovi imaju radijus kretanja najčešće do 3 km od zaklona (Smith i sur., 2001; Skerret i sur., 2015). Hlapovi su kriptični tijekom cijelog svog života i zadržavaju se u skloništima. Kretanje hlapova je vezano za hranjenje i traženje partnera. Hlapovi koriste kemosenzorne dlačice i antene tijekom razdoblja slabe vidljivosti kada napuštaju skloništa zbog hranjenja (Moore i sur., 1991). Primarno je noćna životinja te se hrani školjkašima, malim rakovima i kolutićavcima, ali je i strvinar (Mente i sur., 2001; Wahle i sur., 2013). Hranjenje je povezano s dostupnošću plijena i metaboličkom stopom (Skerret i sur., 2015) i koleba ovisno o životnom stadiju i razdoblju presvlačenja (Phillips, 2013).

### **1.1.1. Rast**

Presvlačenje je proces rasta hlapa u duljinu odbacivanjem tvrdog oklopa (Laurans i sur., 2009). Tijekom presvlačenja tkivo upija (apsorbira) vodu i tako hlap nabubri što uzrokuje puknuće vanjskog oklopa. Nakon što se oslobodio starog oklopa javlja se daljnje oticanje i počinje se stvarati novi oklop. Tek presvučene jedinke su osjetljive na predaciju i ostaju skrivene dok se novi oklop ne stvrdne. Taj proces može trajati nekoliko sati do nekoliko tjedana, ovisno o veličini jedinke, dostupnosti kalcija u vodi i brzini kojom se isti taloži u oklop. Stope rasta su opisane frekvencijom presvlačenja i veličinom svakog prirasta (Coleman i sur., 2020). Tijekom presvlačenja, duljina karapaksa se poveća za 10 - 15 %, a masa se može povećati čak do 50 % ([www.nationallobsterhatchery.co.uk](http://www.nationallobsterhatchery.co.uk)). Po završetku postupka presvlačenja, jedinka svoj stari oklop pojede kako bi nadoknadila utrošeni kalcij za stvaranje novog oklopa. Mlade jedinke se presvlače oko 25 puta tijekom prvih pet godina života te jednom tjedno tijekom prvog mjeseca života. Odrasle jedinke se presvlače rjeđe, dok se stare i velike jedinke presvlače jednom u dvije godine (Phillips, 2013) (Slika 1.1.3.).



**Slika 1.1.3.** Prikaz rasta jedinke u *Homarus* spp. (izvor: Phillips, 2006)

Trenutno ne postoji precizna rutinska metoda za određivanje starosti rakova zbog presvlačenja i nedostatka korelacije između godišnjih kohorti i veličine (Hopkins, 2012). Nedavno utvrđeni prstenovi rasta u kalcificiranim dijelovima očnog stalka i želučanog mlina, čine te strukture potencijalno zanimljivim za procjenu određivanja starosti rakova (Kilada i sur., 2012).

### 1.1.2. Razmnožavanje

Spolovi su kod hlapa odvojeni te je prisutan spolni dimorfizam. Ženke imaju širi zadak u odnosu na mužjaka jer nose jaja na zatku. Donji dio svakog segmenta na zatku je zaobljen, a prvi par plivaćih nožica (pleopoda) je mekan i perjast. Genitalni otvori se nalaze na bazi trećih nogu za hodanje. Mužjaci imaju uži zadak nego ženke, donji dio svakog segmenta zatka im je oštiji, prvi par plivaćih nožica je čvršći i koštan, a genitalni otvori se nalaze na bazi petih nogu za hodanje (Slika 1.1.4.) (Grubišić, 1988; Phillips, 2013). Hlap spolno sazrijeva između 5. i 8. godine života (Prodöhl i sur., 2007) pri dužini karapaksa od 75 do 80 mm. Na spolno sazrijevanje hlapova utječu temperatura i specifične osobine svake jedinke. Mužjaci često sazrijevaju ranije nego ženke, iako dužina pri prvoj spolnoj zrelosti može značajno varirati (Tully i sur., 2001; Jørstad i sur., 2005).



**Slika 1.1.4.** Morfološke razlike između ženki (lijevo) i mužjaka (desno) hlapa (izvor: [www.bim.ie](http://www.bim.ie))

Hlap se mrijesti ljeti, tijekom ili nakon razdoblja presvlačenja (Phillips, 2013). Ženke često slijede dvogodišnji reproduktivni ciklus. Nakon duge gestacije i izvaljivanja ličinki iz jajašaca slijedi presvlačenje i ponovno razmnožavanje, pa su do kraja druge godine ponovno s vanjskim jajašcima (Agnalt i sur., 2007). Također je zabilježen mrijest i u godini kada nema presvlačenja, presvlačenje i izbacivanje jajašaca u istoj godini i ponovna oplodnja bez ponovnog mrijesta s mužjakom (Atema i Voight, 1995; Agnalt i sur., 2007). Velike ženke (>120 mm dužine karapaksa) se presvuku i onda prolaze kroz dva uzastopna mrijesta prije ponovnog presvlačenja, što ukazuje na postojanje kapaciteta za skladištenje spermija (Waddy i Aiken, 1986). "Super ženka" je naziv za ženku koja se mrijesti i presvlači svake godine (Comeau i Savoie, 2002).



Oplođnja je kod hlapa vanjska i događa se tijekom izbacivanja jaja na trbušnu stranu abdomena i plivaćih nožica gdje se oplođena jaja nalaze tijekom duge gestacije od oko 10 mjeseci (Atema i Voight, 1995; Agnalt i sur., 2007). Količina jajašaca kod ženki hlapa na abdomenu može biti u rasponu od 2000 do 50 000 i ovisi o veličini jedinke (Agnalt i sur., 2007; Lizárraga-Cubedo i sur., 2003). Oplođena jajašca mijenjaju boju tijekom razvoja (Slika 1.1.5.). Ona su u početku tamno zelena, zatim crna i postaju sve crvenija kako se embrij razvija i konzumira žumanjčanu vrećicu. Izvaljivanje iz jaja se događa ljeti, u razdoblju od jednog do dva tjedna (Agnalt i sur., 2007), kada se ličinke stadija I (zoea) uzastopnim trzajima abdomena i plivaćih nožica otpuštaju u stupac morske vode kako bi započele svoju planktonsku fazu razvoja.



**Slika 1.1.5.** Jajašca hlapa u vrijeme blizu izvaljivanja (lijevo - izvor: [www.nationallobsterhatchery.com](http://www.nationallobsterhatchery.com)) i ženka s jajima (desno - izvor: Mišo Pavičić)

### **1.1.3. Planktonski i bentički razvoj**

Ličinke (zoea) su planktonske i hrane se zooplanktonom. Planktonska faza traje 10 do 15 dana u kontroliranim uvjetima dok u prirodnim uvjetima traje 15 do 35 dana te je vrijeme razvoja ličinke značajno ovisno o temperaturi (Browne i sur., 2009; Schmalenbach i Franke, 2010). Ličinke prolaze tri razvojna stadija do metamorfoze u post-ličinku ili stadij IV gdje se potom spuštaju na morsko dno i počinju živjeti kao bentički organizmi (Slika 1.1.6.). Preživljavanje do stadija poslijeličinke u kontroliranim uvjetima je izrazito varijabilno (5 - 25 %) te je i genetički uvjetovano (Jørstad i sur., 2005). Usprkos značajnim istraživanjima, malo je spoznaja o ovoj životnoj fazi hlapa jer su rijetko uočeni i promatrani u prirodnom okruženju (Agnalt i sur., 2009).





**Slika 1.1.6.** Razvojni stadiji hlapa (*Homarus gammarus*), od jajašca do odrasle jedinke (izvor: Alex Hyde)

Zoea I ili prvi ličinački stadij je stadij u kojem ličinke reagiraju pozitivno na svjetlo i isključivo su planktonske. Ličinke su segmentirane, kutikula je prozirna i vidljivi su unutarnji organi. U drugom ličinačkom stadiju ili zoea II (Slika 1.1.7.), ponašanje i boja ličinki je slična prijašnjem stadiju, a uočava se razvoj prvih parov nogu i pleopoda. Uropodi na kraju telzona nisu podijeljeni. Zoea III ili treći ličinački stadij je stadij u kojem su pleopodi i kliješta većih dimenzija. Ličinke u odsutnosti strujanja u bazenu imaju tendenciju tonjenja. Također, primjećuje se prvi par uropoda. Kod post-ličinki (stadij IV) ili megalopa, morfologija se značajno razlikuje od prijašnjih stadija. Jedinke postaju aktivni plivači jer koriste pleopode za plivanje dok se pereopodi koriste za kretanje po dnu (Browne i sur., 2009).



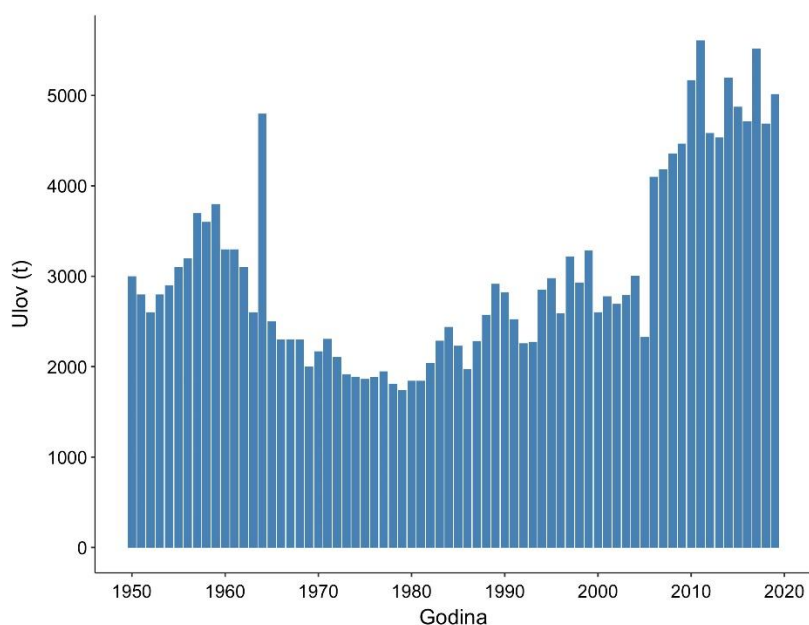
**Slika 1.1.7.** Drugi ličinački stadij ili zoea II hlapa (*Homarus gammarus*) (izvor: Alex Hyde)

Par dana nakon metamorfoze u stadij IV, poslijeličinka se spušta na morsko dno i traži stanište pogodno za naseljavanje. Tijekom rane bentičke faze života (5 - 25 mm dužine karapaksa) jedinke su kriptične, i prema dostupnim literaturnim podacima, postoji više saznanja o ekologiji u ovoj životnoj fazi kod vrste *Homarus americanus* H. Milne Edwards, 1837 nego o *H. gammarus* (Wahle i sur., 2013). Novo naseljene jedinke *H. americanus* mogu se naći u plitkim, stjenovitim staništima uzorkovanjem faune na šljunčanim i kamenitim dnima, no te se metode nisu pokazale uspješnima u pronalaženju mladih jedinki *H. gammarus* u sličnim staništima u Europi (Selgrath i sur., 2007).

## **1.2. Ribarstvo i akvakultura hlapa**

Hlap je visoko cijenjen morski organizam, lovi se na čitavom području rasprostranjenosti i postiže vrlo visoku cijenu na tržištu. Ribolov hlapa jedan je od najvrijednijih ribolova u sjevernoj Europi i uglavnom se odvija u Ujedinjenom Kraljevstvu, Irskoj i sjevernoj Francuskoj (Browne i sur., 2001). U proteklih 70 godina ulov hlapa je varirao

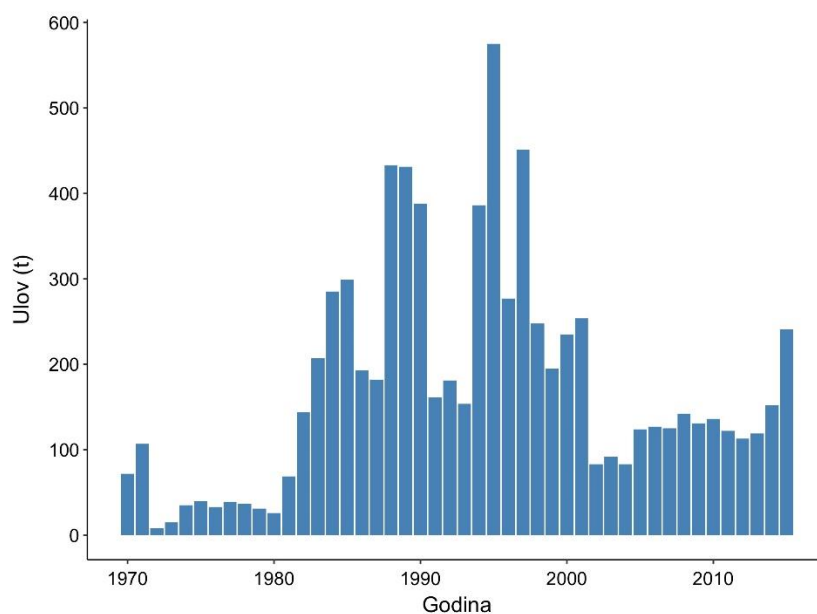
između 1600 i 5500 tona, dok je u zadnjih 10 godina ulov iznosio prosječno 5000 t (FAO, 2021) (Slika 1.2.1.). Prije 1960. godine Norveška je bilježila godišnji ulov u rasponu od 600 do 1000 tona, a tijekom slijedeća dva desetljeća zabilježen je kolaps u ribarstvu i godišnji ulovi su osamdesetih godina prošlog stoljeća pali ispod 30 tona. Ukupni ulovi hlapa za cijelu Europu su bili relativno stabilni do sredine 60-tih kada počinju padati. U 1970-ima, ulovi su pali na oko 1800-1900 tona, ali su se počeli pokazivati znakovi oporavka u ranim 80-ima. Od 1980. godine svjetski ulov ove vrste smatra se stabilno rastućim. U sjeverno-europskim zemljama hlap se lovi najčešće vršama s mamcem, koje su različitih dizajna, veličina i oblika (Cobb i Castro, 2006).



**Slika 1.2.1.** Statistika ulova hlapa (*Homarus gammarus*) za cijelo područje Europe (izvor: [www.fao.org](http://www.fao.org))

Unutar mediteranskih zemalja godišnji prijavljeni ulovi nikad nisu postigli istu razinu kao i oni u području sjeverne Europe. Općenito, u Sredozemnom moru hlap nije ciljane vrsta i češće je usputni ulov u trostrukim mrežama stajaćicama koje ciljaju na jastoga *Palinurus elephas* (Quetglas i sur., 2004) ili u jednostrukim mrežama namijenjenim za ulov ribe (Gönülal, 2015). Prosječni prijavljeni ulov hlapa na području Sredozemnog mora je oko 140 t godišnje u razdoblju od 2006. do 2015. (FAO, 2021) (Slika 1.2.2.). Međutim, smatra se kako podaci nisu pretjerano pouzdani (Le Manach i sur., 2011; Pere i sur., 2019), jer se sav ulov ne prijavljuje. Također, na nacionalnoj razini u FAO statistici za pojedine zemlje nema uopće prijave ulova u

određenim godinama. Većina prijavljenog ulova iz Sredozemnog mora dolazi iz grčke flote koja je prijašnjih godina prijavljivala više od 50 % ulova hlapa (FAO, 2021), a zadnjih godina nedostaju podaci u potpunosti.



**Slika 1.2.2.** Statistika ulova hlapa (*Homarus gammarus*) na području Sredozemnog mora (izvor: [www.fao.org](http://www.fao.org))

Prema važećim propisima, hlap se može loviti od 5. svibnja do 1. rujna (NN 42/2016) u cijelom ribolovnom moru Republike Hrvatske, odnosno na području svoje rasprostranjenosti i nisu definirani alati koji su strogo namijenjeni za lov ove vrste. Ipak, najčešće se lovi vršama za lov velikih rakova i mrežama stajaćicama, jednostrukim i trostrukim mrežama različitih veličina oka. U skladu s Mediteranskom uredbom (EC 1967/2006), Naredba o zaštiti riba i drugih morskih organizama iz 2016. godine propisuje minimalnu lovnu dužinu hlapa (NN 42/2016). Veličina hlapa mjeri se kao duljina njegovog karapaksa, usporedno sa središnjom linijom, od zadnjeg dijela oka do središnje točke vanjskog leđnog ruba i ta duljina mora biti minimalno 10,5 cm; ili kao ukupna duljina, mjereno od vrha rostruma do zadnjeg dijela telzona, bez ticala i ista mora biti minimalno 30 cm. Također, ženke s vidljivim jajima na abdomenu moraju se vratiti u more.

Količine uzgojenih hlapova nisu značajne, međutim zabilježen je konstantni rast proizvodnje na svjetskoj razini. Ovaj trend može se objasniti činjenicom da je ulov hlapa

stabilan već duži niz godina dok je potražnja na globalnom tržištu u porastu. U usporedbi s drugim uzgajanim rakovima, uzgoj ličinki hlapa je jednostavniji i kraće traje. Ličinke se hrane prirodnom i umjetnom hranom, otporne su na bolesti i imaju potencijal bržeg rasta u toplijem moru (Kristiansen i sur., 2004). Temperatura je primarni regulator rasta, a optimalna temperatura mora za uzgoj je oko 20 - 22 °C (Aiken i Waddy, 1995). Uzgoj ličinki hlapa pri 20 °C traje oko 12 dana (Waddy, 1988) u odnosu na 35 dana pri temperaturi mora od 15 °C (van Olst i sur., 1980). Uzgajani hlap može doseći masu 250 - 300 g (ukupna dužina 210 mm, dužina karapaksa 75 mm) tijekom uzgojnog ciklusa koji traje 24 - 30 mjeseci pri konstantnoj temperaturi od 20 °C (Wickins i sur., 1991). Temeljni zootehnički čimbenici koji utječu na stopu rasta hlapova uključuju rukovanje, gustoću jedinki, veličinu staništa, socijalne interakcije i kakvoću mora (Aiken i Waddy, 1995). Posljedično, zbog povećane stope mortaliteta uslijed kanibalizma koji je najizraženiji tijekom presvlačenja, neophodno je uzgajane jedinke držati odvojene u naprednijoj fazi kada se spuštaju na dno (Slika 1.2.3.).



**Slika 1.2.3.** Mladi hlapovi (*H. gammarus*) u uzgoju (izvor: [www.nationallobsterhatchery.co.uk](http://www.nationallobsterhatchery.co.uk))

Potpuni uzgojni ciklus podrazumijeva uzgoj hlapova od jajašca do tržišne veličine. Uzgoj je kompliciran zbog kanibalizma među jedinkama, iako je tehnički napredak postignut (Daniels i sur., 2015). Većina uzgojnih inicijativa kod hlapova se zasniva na ribolovu temeljenom na uzgoju (Wahle i sur., 2013), tj. povećanje ribolova hlapova puštanjem uzgojenih nedoraslih jedinki u divljinu (repopulacija), kako bi se obnovio uništen stok ili održao ulov (Bell i sur., 2008). Svrha repopulacije je prevladati ograničenja novačenja u divljim populacijama uzgojem potomaka tijekom ranjivih životnih stadija prije puštanja u divljinu u

fazi kada više nisu toliko ranjivi (Jørstad i sur., 2005). U kontroliranim uvjetima je preživljavanje ličinki uspješnije nego u divljini zbog odsustva predacije. Repopulacija je učinkovita i provediva kod morskih organizmima koji pokazuju visoki fekunditet, nisku razinu preživljavanje potomaka, a zaokruženi uzgojni ciklus nije postignut. Nadalje, postoji mogućnost negativnog utjecaja repopulacije na genetičku strukturu prirodnog stoka (Araki i Schmid, 2010). Glavni cilj selekcijskih postupaka u uzgoju je uzgoj jedinki dobrih osobina u kontroliranim uvjetima. Ovo nedvojbeno dovodi do genetičkih promjena u domestificiranom stoku. Mrijest između divljih i uzgojenih jedinki ili namjerno puštanje mladih jedinki u divljinu može rezultirati genetičkim promjenama u divljim populacijama tj. smanjenje sveukupnog fitnesa i produktivnosti (Mercer i Browne, 1994).

### **1.3. Fizičko-oceanografske karakteristike Jadranskog mora**

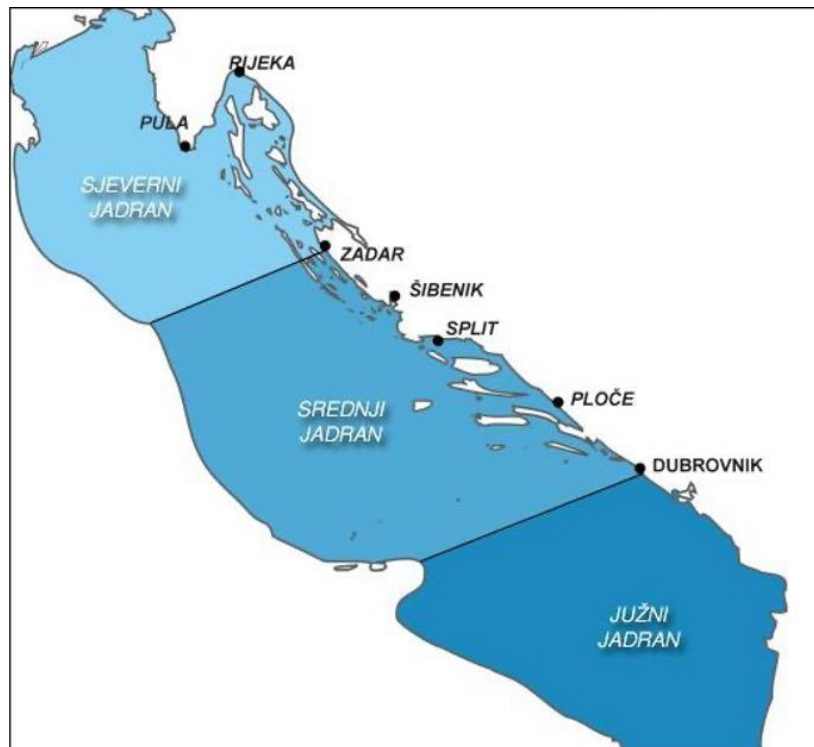
Jadransko more smješteno je na najsjevernijem dijelu srednjeg Sredozemnog mora. Površina Jadranskog mora iznosi 138 600 km<sup>2</sup>, srednja dubina 239 m i volumen 35 000 km<sup>3</sup> (Cushman-Roisin i sur., 2001). Poluzatvorenog je tipa te se sastoji od dvije depresije, Južnojadranske i Jabučke kotline s dubinama od 1230 m odnosno 280 m, odvojene palagruškim pragom (širina 150 km i dubine do 130 m) i Otrantskim tjesnacem (širina 72 km i dubine 780 m). Karakterizira ga 300 km širok i plitki šelf (dubine do 80 m) u sjevernom dijelu. Sastoji se od dva geomorfološki različita dijela; sjevernog plitkog područja i duboke Južnojadranske kotline (Trincardi i sur., 1994). Međutim, podjela Jadranskog mora na tri dijela (sjeverni, srednji i južni) se mnogo češće koristi (Slika 1.3.). Sjeverni se Jadran proteže do linije Zadar - Ancona. Prosječna dubina sjevernog Jadrana iznosi oko 40 m. Srednji Jadran obuhvaća dva dijela, Jabučku kotlinu i Palagruški prag. Najdublja točka Jabučke kotline iznosi 260 m. Od Jabučke kotline do Palagruškog praga dno se lagano uzdiže do dubine od 170 m. Palagruški prag predstavlja pravu prirodnu barijeru između dubokog južnojadranskog bazena i njegovog mnogo plićeeg sjevernog dijela. Južni Jadran predstavlja područje južno od Palagruškog praga koje obuhvaća duboku Južnojadransku kotlinu s maksimalnom dubinom preko 1200 m (Cushman-Roisin i sur., 2001).

Temperatura mora uvjetovana je izraženom sezonskom promjenom toplinskog toka (Artegiani i sur., 1997), što rezultira pridnenim temperaturama u plitkim predjelima od 6 °C tijekom jakih zimskih zahlađenja do 20 °C tijekom jesenskog miješanja na sjevernom Jadranu. Dublje regije na srednjem Jadranu imaju manje sezonske promjene pridnene temperature koje

se nalaze u rasponu od 13 °C do 17 °C (Buljan i Zore-Armanda, 1976; Lipizer i sur., 2014). Sjeverni Jadran je pod najvećim utjecajem dotoka slatke vode, od kojih je najveća rijeka Po (1500 m<sup>3</sup>/s u prosjeku). Salinitet se u prosjeku smanjuje od južnog Jadrana (38,5-38,9) do najsjevernijeg dijela Jadrana (površinski manje od 35,0 tijekom proljeća i ljeta) (Lipizer i sur., 2014; Vilibić i sur., 2019). Kako se slatka voda zadržava na površini, prosječni salinitet pri dnu na većem dijelu sjevernog Jadrana je oko 38,0 (Vilibić i sur., 2019).

Najveća sezonska varijabilnost površinske temperature mora u Sredozemlju dokumentirana je za područje plitkog sjevernog Jadrana (Shaltout i Olmstedt, 2014). Općenito, plitki sjeverni Jadran je jedinstven morski ekosustav karakteriziran sa specifičnim hidrografskim uvjetima i relativno visokom bioraznolikošću. To je područje najproduktivnije unutar Jadranskog mora zbog utjecaja rijeke Po (Aubry i sur., 2012; Djakovac i sur., 2012), sa snažno izraženim višegodišnjim i godišnjim kolebanjima okolišnih parametara (temperatura, salinitet i hranjive soli) (Shaltout i Omstedt, 2014; Vilibić i sur., 2019). Sjeverni Jadran je i mjesto gdje nastaje gusta jadranska voda (Buljan i Zore-Armanda, 1976; Bergamasco i sur., 1999; Mihanović i sur., 2018), koja pokreće jadransko-jonsku termohalinu cirkulaciju i dotok tople i slane vode u Jadran (Orlić i sur., 2006). Značajne varijacije u temperaturi, salinitetu i biogeokemijskim procesima događaju se u Jadranu na dekadnoj vremenskoj skali, potaknute izmjenom režima Jadransko-jonskog bimodalnog oscilirajućeg sustava (BiOS) u sjevernom Jonskom moru (Civitarese i sur., 2010; Gačić i sur., 2010; Batistić i sur., 2014). Utvrđeno je kako su ove oscilacije dominantne za promjenu termohalinih svojstava u većem dijelu Jadranskog mora (Mihanović i sur., 2015). Uočeno je kako termohalina cirkulacija vjerojatno slabi zbog klimatskih promjena, potencijalno utječući na biološku raznolikost morskih organizama (Vilibić i sur., 2013).





**Slika 1.3.** Karta podjele Jadranskog mora (izvor: [www.meteo.hr](http://www.meteo.hr))

#### 1.4. Utjecaj klimatskih promjena na ribarstvo

Morski ekosustavi koji održavaju ribarstvo i akvakulturu doživljavaju značajne promjene kao rezultat globalnog zatopljenja. Te promjene uključuju porast temperature mora, otapanje leda, porast razine mora, smanjenje koncentracije otopljenog kisika, mijenjanje globalne i lokalne cirkulacije oceana, zakiseljavanje mora te smanjenje primarne proizvodnje (FAO, 2018). Klimatske promjene uključuju zbir učinaka koji zajedno mogu dramatično promijeniti prirodni okoliš i imati značajan utjecaj na svjetsko ribarstvo, najčešće negativni. Dostupne projekcije ukazuju kako će klimatske promjene biti sve naglašenije u budućnosti (Bahri i sur., 2018). Površinske vode oceana zagrijale su se u prosjeku za  $0,7\text{ }^{\circ}\text{C}$  po stoljeću na globalnoj razini od 1900. do 2016. (Huang i sur., 2015). Trendovi temperature oceana variraju u različitim regijama. No, pozitivni trendovi su zabilježeni u većem dijelu svijeta. Na sjevernoj polutki zatopljenje je izraženije, posebno u sjevernom Atlantiku (Bahri i sur., 2018), dok u suptropskim područjima i na Arktiku trend površinske temperature mora premašuje raspon prirodne sezonske varijabilnosti (Henson i sur., 2017). Procijenjeno je zagrijavanje oceana do kraja dvadeset i prvog stoljeća za  $0,6\text{ }^{\circ}\text{C}$  do  $2,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  u usporedbi s prosjekom od 1986. do 2005. (IPCC, 2014).



Klimatske promjene utječu na sektor ribarstva i akvakulture, na komercijalno važne stokove riba i morskih beskralježnjaka. Produktivnost vrsta i njihov rast mijenjaju se što ostavlja posljedice na ribolov. Posljedice su rezultat promjena u: rasprostranjenosti vrsta (najčešće širenje areala prema sjeveru), migracijskom ponašanju i transportu ličinki (Kalikoski i sur., 2018). Projekcije ukupnog ribolovnog potencijala na globalnoj razini pod klimatskim promjenama ukazuju na smanjenje za 2,8 % do 5,3 % do 2050. godine što može biti potaknuto izravnim učinkom zagrijavanja na fiziologiju morskih organizama, smanjenjem dostupne hrane i gubitkom staništa (Cheung i sur., 2018). Rezultat kombinacije prirodne klimatske varijabilnosti (Atlantska višedekadna oscilacija) i klimatskih promjena je nedavno uočeno zagrijavanje Sredozemnog mora (Macias i sur., 2013). Procijenjeno je površinsko zagrijavanje Sredozemnog mora u rasponu od 1,73 °C do 2,97 °C u razdoblju od 2070. do 2099. u odnosu na 1961. do 1990. (Adloff i sur., 2015). Morska bioraznolikost Sredozemnog mora danas se susreće s znatnim strukturnim promjenama u flori i fauni. Primjeri promjena u rasprostranjenosti vrsta i lokalnoj brojnosti povezanih sa zagrijavanjem mora su meridionalizacija i tropikalizacija. Meridionalizacija je naziv za fenomen promjene u rasprostranjenosti populacija autohtonih termofilnih vrsta u hladnije regije sjevernog Sredozemlja (Lloret i sur., 2015), dok tropikalizacija opisuje unos i širenje stranih vrsta, uključujući lesepsijske migrante iz Crvenog mora i iz Indo-pacifičke regije (Boero i sur., 2008). Takve promjene su zabilježene i u Jadranskom moru (Dulčić i Grbec, 2000; Dulčić i Dragičević, 2011). Pretpostavlja se kako bi najhladniji dijelovi Sredozemnog mora, Lionski zaljev i Sjeverni Jadran, u početku mogli služiti kao utočišta za vrste koje su prilagođene borealnim uvjetima okoliša. No, s nastavkom zagrijavanja mora navedena područja bi mogla postati „slijepa ulica“ za takve vrste (Ben Rais Lasram i sur., 2010).

Sredozemno i Crno more zajedno predstavljaju jedno od tri glavna ribolovna područja za koje je prema procjeni iz 2015. utvrđen najveći postotak stokova koji se izlovaljavaju na neodrživim razinama (Vannuccini i sur., 2018). Priobalni ribolov je dominantni segment ribarske flote u regijama Mediterana i Crnog mora koji čini 80 % ukupne flote, dok koćarski ribolov ostvaruje ulove s najvećom vrijednošću, a plivaričarski ribolov ima najveći iskrcaj po masi (FAO, 2016). Priobalni ribolov posebno je osjetljiv na klimatske promjene zbog klimatsko ekstremnih događaja, podizanja razine mora, zakiseljavanja mora i obalne erozije (Pranovi i sur., 2013; FAO, 2018). Posljedice klimatskih promjena uključuju narušen tradicionalni ribolov koji će se trebati prilagoditi.

Rakovi sve više dominiraju u globalnom ribarstvu. Ribolov dekapodnih rakova raste brže od ribolova bilo koje druge glavne skupine. Izravne i neizravne antropogene promjene u ekosustavu nastavljaju pogodovati rakovima (Boenish i sur., 2021). Brojne populacije vršnih predatora su prelovljene zbog prekomjernog iskorištavanja (Pauly, 1998). Kao posljedica smanjenja brojnosti vršnih predatora uočene su promjene u regionalnim trofičkim kaskadama i isticanje mezopredatora (Paine, 2010). Dekapodni rakovi, uključujući razne hlapove, jastoge i kozice, čine sve važniju komponentu ovih ekoloških prijelaza (Anderson i sur., 2011). Relativno povećanje ulova rakova nadmašilo je sve druge glavne skupine vrsta od 1990. godine. Ribolov rakova se povećao u globalnom ulovu, s 4,4 % na 7,8 % (Boenish i sur., 2021). Rakovi imaju nekoliko važnih osobina koje povećavaju njihovu produktivnost i otpornost, i koje su im omogućile prilagodbu na antropogene promjene. Te osobine uključuju: plastičnost u hranjenju, relativno nisku temperaturnu osjetljivost, prirodnu obranu (čvrsti oklop i kriptično ponašanje), relativno brz rast te roditeljsku brigu (nošenje jaja na plivaćim nožicama abdomena). Rakovi se ubrajaju među vrste koje su otpornije na iskorištavanje i promjene temperature. Iste osobine koje rakovima pružaju prilagodljivost na prekomjerno iskorištavanje također mogu učiniti ove vrste otpornijima na klimatske promjene (Boenish i sur., 2021).

S druge strane, relativno dugi stadij ličinki rakova, ovisno o vrsti, ipak ih čini osjetljivima na klimatske varijabilnosti (Wahle i sur., 2015). Čimbenici okoliša utječu na rakove tijekom njihovog složenog životnog ciklusa, uključujući razvoj embrija, vrijeme i duljinu trajanja razdoblja mrijesta, trajanje ličinačke faze, prostornu distribuciju naseljavanja, stopu rasta, veličinu dostizanja spolne zrelosti i lovnost (Green i sur., 2014). Temperature mora iznad optimalnog raspona kod rakova mogu smanjiti preživljavanje, rast i razmnožavanje kao rezultat stresa, smanjenog novačenja i povećanja bolesti (Aiken i Waddy, 1986, Shields, 2019), što može imati kaskadne učinke na dinamiku populacije. Stopa rasta općenito je u pozitivnoj korelaciji s temperaturom među rakovima unutar temperaturne tolerancije svake vrste (Hartnoll 2001). Također, utvrđeno je i da se sama lovnost rakova povećava s povećanjem temperature mora (Green i sur., 2014) što je vjerojatno uvjetovano njihovim povećanom aktivnošću pri višim temperaturama.

## 1.5. Procjene stanja i dinamika populacija u ribarstvu

Dinamiku populacije čine procesi odgovorni za promjene u brojnosti ili biomasi populacije kroz vrijeme. Izrazi procjena populacije i procjena stoka se često koriste naizmjenično. Populacija se definira kao skupina jedinki iste vrste koje su prostorno, genetički ili demografski odvojene od drugih skupina (Wells i Richmond, 1995). Svaka populacija ima jedinstvenu dinamiku koja utječe na njezin trenutni i budući status. Općenito, stok je dio populacije ili subpopulacija, dok se procjena stoka često odnosi na onaj dio populacije koji se iskorištava u ribarstvu (Ricker, 1975) i daje informacije o njegovom trenutnom stanju, učincima trenutnih i budućih mjera upravljanja, dajući podlogu potrebnu za održivo ribarstvo na nekom području (Pope i sur., 2010). Jedna populacija može imati nekoliko stokova koji imaju različitu dinamiku čak i uz iste mjere gospodarenja jer su ribolovne aktivnosti drukčije ili geografska obilježja specifičnog područja značajno oblikuju svaki od stokova. Stoga se modeli procjene stokova, koji podržavaju održivo ribarstvo, temelje na ekološkim principima (Hilborn, 2011), i zahtijevaju informacije o karakterističnim osobinama vrsta, ali i samim ribolovnim aktivnostima na pojedinom području kao ulazne parametre.

Informacije o biološkim obilježjima i specifičnom ribolovnom naporu na morske vrste u osnovi se mogu izvesti iz dva glavna izvora, a to su podaci neovisni o ribarstvu (znanstvena istraživanja na moru) i podaci o ribarstvu (prikupljanje podataka i uzorkovanje od strane promatrača na plovilima, iskrcajnim mjestima te podaci iz očevidnika). Ova dva izvora mogu pružiti različite vrste informacija s dodatnim detaljima i trebaju biti pažljivo odabrani prema prirodi istraživanja i ciljevima kojima se teži. Istraživanja neovisna o ribarstvu uglavnom se oslanjaju na skupe istraživačke programe na moru koji se provode u relativno kratkom vremenskom razdoblju. Podaci istraživanja smatraju se kvalitetnijima jer su uzorkovanje i prikupljanje znanstveno osmišljeni i standardizirani. Osim toga, i statistika uzorkovanja i biološke informacije o ciljnim vrstama uzimaju se u obzir tijekom izrade istraživanja (Board, 2000). Međutim, općenito imaju ograničenu pokrivenost u prostoru i vremenu (u smislu sezonalnosti, kao i broja godina dostupnih podataka), što može dovesti do pristranih i nepreciznih procjena (Hilborn i Walters, 2013). Prema Hilbornu i Waltersu (2013), postoje dva glavna nedostatka u istraživanjima neovisnim o ribarstvu: vrijeme uzorkovanja u odnosu na sezonski ciklus i mjesto uzorkovanja ciljane vrste te činjenica da se može prikupiti samo ograničena količina podataka. Oba nedostatka dovode do nereprezentativnog uzorkovanja. Istraživanja ovisna o ribarstvu mogu pružiti duge vremenske serije, široku prostornu

pokrivenost tijekom cijele godine i informacije o velikom broju ciljanih vrsta, vrsti ribolovnih alata i plovila, mjesta iskrcaja i kanala distribucije (Lunn i Dearden, 2006). No, podaci ove vrste ponekad nemaju posebne pojedinosti kao što su točna lokacija ulova i točan identitet vrste (ulovi se uglavnom identificiraju na višoj taksonomskoj razini; npr. veliki rakovi), a također treba uzeti u obzir pitanja pristranosti zbog ograničenja koja nameće zakonodavstvo i namjerno pogrešno prijavljivanje ulova. Neki od nedostataka istraživanja ovisnih o ribarstvu mogu se prevladati korištenjem promatrača na brodu, ali se na taj način neizbježno može pokriti samo mali dio ribolovnih aktivnosti. Drugi se problem javlja zbog ponavljanja uzorkovanih ribolovnih mjesta (podaci se uvijek prikupljaju u radu s istim ribarima i na istim područjima), a uzorci se prikupljaju korištenjem preferencijalnog uzorkovanja jer su ribolovne flote komercijalno vođene, za razliku od sustavnog slučajnog odabira znanstvenog istraživanja. Najčešći podaci iz ribarstva su informacije o ulovu i ribolovnom naporu iz komercijalnog ribolova. Takvi podaci se koriste za procjenu ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE) ili stope ulova (Maunder i Punt, 2004).

Novačenje, rast i stopa smrtnosti primarni su procesi koji utječu na ribolovni segment populacije (Brown i Guy, 2007). Informacije o morfometrijskim odnosima i odnosima tjelesne mase i dužine ili širine u populaciji važan su alat u ribarstvenoj biologiji, procjeni stoka, ali i ekologiji vrste. U ribarstvenim istraživanjima, dužinsko - maseni odnos i indeks kondicije su dva glavna parametra koji se koriste i usko povezani (Froese, 2006). Dužinsko - maseni odnos je odnos između mase i duljine za određenu vrstu i može se koristiti za procjenu obrasca rasta. Procjene parametara rasta mogu pružiti bitne uvide u dinamiku resursa i mogu se koristiti kao ulazni podaci za modele procjena stokova u ribarstvu (Zheng i sur., 1995; Baggio, 2011). U nedostatku podataka o parametrima poput odnosa spolova, obilježja rasta, starosti ili smrtnosti, za potpunu procjenu populacije, pa tako i rakova, morfometrijski odnosi i alometrija korisni su alati za otkrivanje karakteristika populacije organizama tijekom rasta (Devescovi i Lucu, 2000; Martínez-Calderon i sur., 2018), za procjenu biomase populacije usporedbu morfoloških osobina između različitih vrsta ili populacija na području rasprostranjenosti (Zheng i sur., 1995; Santos i sur., 2002; Baggio, 2011) kao i za procjenu funkcionalne zrelosti (Tully i sur., 2001; Lizárraga-Cubedo i sur., 2003). Morfometrijski odnosi se mogu koristiti za pretvaranje duljina u biomasu, određivanje indeksa kondicije i za usporedbu rasta jedinki u populaciji. Nadalje, omjer spolova, indeks kondicije i veličinska raspodjela po dužinskim razredima daju informacije o produktivnosti, razdoblju spolne zrelosti, novačenju kohorti i procjeni potencijalnog stoka (Martínez-Calderón i sur., 2018).

Koristan pokazatelj statusa stoka i reproduktivnog kapaciteta je biomasa stoka u mrijestu (engl. *spawning stock biomass*, SSB). SSB se definira kao masa jedinki u stoku koje su dosegle spolnu zrelost i mogu se razmnožavati (Kell i sur., 2016). Odnos između veličine roditeljskog stoka i naknadnog novačenja temelj je za upravljanje iskorištavanjem populacijama (Walters i Martell, 2004). Novačenje se odnosi na pojavu novih, mladih jedinki u populaciji nakon prethodnog reproduktivnog događaja. Razni čimbenici mogu utjecati na stopu novačenja kao što je fekunditet, indeks kondicije odraslih jedinki te uvjeti u okolišu. Rast se može izraziti povećanjem veličine, volumena ili mase tijekom vremena i utječe na povezane populacijske procese poput prirodne smrtnosti i spolne zrelosti te na ranjivost prema nekom ribolovnom alatu. Organizmi koji nemaju egzoskelet imaju kontinuirani rast, ali kod rakova, koji imaju čvrsti egzoskelet rast je diskontinuiran proces. Takav proces je karakteriziran nizom presvlačenja ili odbacivanja egzoskeleta odvojenih određenim vremenskim razdobljem (Hartnoll, 1982.), a stope rasta su opisane kombinacijom frekvencije presvlačenja i veličinom svakog prirasta. Istraživanja rasta na nekoliko vrsta rakova sugeriraju kako okolišni čimbenici, posebice temperatura, mogu objasniti barem neke od varijacija u odnosu veličine i dobi, dok su veća razdoblja između presvlačenja i manje stope rasta uočene pri granicama temperaturnog optimuma (Green i sur., 2014). Ključna komponenta dinamike biomase populacije i njezine otpornosti na iskorištavanje je rast i njegov odnos s drugim životnim procesima kao što su sazrijevanje i prirodna smrtnost (Coleman i sur., 2020). Prirodna smrtnost je smrtnost jedinki u populaciji zbog prirodnih procesa kao što su predacija i bolest, dok se ribolovna smrtnost odnosi na dio jedinki uklonjenih iz populacije tijekom ribolova (Sparre i sur., 1989). Ako se ribolovna smrtnost ne kontrolira može doći do visokih stopa smrtnosti. Kako se ribolovni napor i ulov povećava, brojnost stoka i prosječni ulov se smanjuje. Ovo je temeljna teorija upravljanja ribarstvom. Pad brojnosti stoka i prosječnog ulova može se objasniti pojmovima *growth overfishing* i *recruitment overfishing*. *Growth overfishing* nastaje kad se puno malih jedinki lovi i ne mogu dostići prosječnu masu odraslih jedinki, zbog velikog ribolovnog napora i male selektivnosti alata. Do *recruitment overfishing* dolazi kada je dio stoka koji se može razmnožavati na niskim razinama tako da ne može proizvesti dovoljno novaka da nadomjesti gubitak ostvaren ribolovom (Ben-Hasan i sur., 2021).

Produktivnost i intervali između životnih događaja povezanih s veličinom (dostupnost u ribolovu i postizanje spolne zrelosti) su definirani stopama rasta i usko su povezani s lokaliziranim čimbenicima okoliša kao što je temperatura (Hartnoll, 2001; Wahle i Fogarty, 2006). U rakova se alometrijski odnosi između veličine tijela i različitih dijelova tijela koriste

za procjenu spolne zrelosti, uz pretpostavku da se sekundarne spolne karakteristike pojavljuju i rastu različitom brzinom kod zrelih i nezrelih stadija (Leme, 2005). Omjer širine abdomena i duljine karapaksa može se potencijalno koristiti kod ženki hlapa za utvrđivanje veličine pri spolnoj zrelosti, ali treba ga uzeti s oprezom (Conan i sur., 2001; Tully i sur., 2001). Razlog tome je što morfologija ženki može snažnije reagirati na lokalne selekcijske pritiske od morfologije mužjaka. Stoga se kao osnovno načelo dobrog upravljanja stokovima rakova smatra određivanje one minimalne lovne veličine koja je primjerena veličini prve spolne zrelosti (Bannister, 1999).

Nesumnjivo, neregulirani ribolov ostavlja biološke, socijalne i ekonomske posljedice koje su naravno nepoželjne. Sve veći ribolovni napor, onečišćenje, promjene temperature i zakiseljavanje mora utječu na ribarstvo i povećavaju opasnost od kolapsa stokova. Za uspješno upravljanje stokovima potrebno je pratiti pritiske i same stokove te provoditi niz mjera upravljanja. Akcije gospodarenja uključuju nekoliko mogućnosti: kontrolu ulova, kontrolu ribolovnog napora i uvođenje tehničkih mjera za pojedine ribolovne alate. Akcije se moraju provoditi u smislu pozitivne implementacije uz podršku ribara. Nažalost, neke akcije mogu imati neželjene i neočekivane posljedice gospodarenja ukoliko nisu uključeni svi biološki, ekonomski i socijalni parametri. Kontrola ulova ima za namjeru kontrolirati ribolovnu smrtnost ograničavajući masu ulova (ukupni dozvoljeni ulov, kvote, individualne kvote). Kontrola ribolovnog napora ograničava broj brodova ili ribara, količinu, veličinu i tip alata, i vrijeme koje alat može biti u vodi (licence, individualne kvote napora te ograničenja broda ili alata) s namjerom kako bi se smanjio ribolovni napor i/ili ribolovna smrtnost. Tehničke mjere ograničavaju veličinu i spol lovljenih organizama (MLS – *minimum landing sizes*; spolna ograničenja: zabranjeno je loviti zrele jedinke, te ženke koje nose jaja), te vrijeme, odnosno područje dozvoljenog ribolova (lovostaj i zatvorena područja). Neuspjeh u učinkovitom upravljanju stokovima može imati katastrofalne učinke na biološku raznolikost, odnose u hranidbenim mrežama te socio-ekonomske uvjete ribarskog sektora. Strategije upravljanja koje uspješno čuvaju stokove i osiguravaju optimalne prihode su nužne, a i dalje glavni problem za upravljanje ribarstvom predstavlja nedostatak informacija o prijašnjem i trenutnom stanju stoka. Stoga je potrebno uložiti dodatne napore u kvalitetne metode prikupljanja i provjere podataka. Sve popularnije mjere gospodarenja i očuvanja morskog okoliša su morska zaštićena područja i zone bez ribolova. Jedna od najučinkovitijih metoda za zaštitu resursa je morsko zaštićeno područje (engl. *marine protected area*, MPA), jasno definiran geografski prostor kojim se upravlja za dugoročno očuvanje vrsta gdje su privremeno ili stalno zabranjene

ribolovne aktivnosti (Di Franco i sur., 2020). Ovakav tip zaštite ima niz pozitivnih učinaka na iskorištavane vrste i morska staništa poput povećanja brojnosti, veličine i biomase iskorištavanih vrsta i povećanja ulova (Moland i sur., 2013a; Moland i sur., 2013b; Nillos Kleiven i sur., 2017; Moland i sur., 2021), zaštite specifičnih osobina vrsta (Sørdalen i sur., 2020; Moland i sur., 2021) i zaštita genetičke strukture od selekcije ribolovom (Huserbråten i sur., 2013).

## 1.6. Genetička raznolikost

Populacijska genetika je polje evolucijske biologije čiji je cilj razumjeti čimbenike koji mijenjaju distribuciju i frekvenciju alela unutar populacija. U osnovi ona proučava kako evolucijske sile poput mutacije, selekcije, genskog otklona i migracije utječu na genetičku raznolikost (Hansen, 2003). Genetička raznolikost je glavni izvor biološke raznolikosti u ekosustavu. Genetičku raznolikost čine razlike u slijedu nukleotida u molekuli DNA jedinki iste vrste. Male varijacije u slijedu nukleotida mogu rezultirati različitim slijedom aminokiselina u proteinima koje ti geni kodiraju. Različiti slijed aminokiselina u proteinima može utjecati na biokemijsku funkciju ili može dovesti do morfoloških nejednakosti jedinki u populaciji. Genetička raznolikost prema samoj definiciji predstavlja raznolikost alela i genotipova unutar vrste ili populacije te odražava ravnotežu između pojave i nestanka alela. Veća genetička raznolikost smanjuje negativne učinke križanja u bliskom srodstvu i omogućava vrstama viši potencijal prilagodbe na klimatske promjene i otpornost na različite bolesti (Frankham, 2005). Glavni pokretači gubitka genetičke raznolikosti uključuju klimatske promjene, fragmentaciju i uništavanje staništa, prekomjerni ulov i smanjenje veličine populacije.

Dodatno, genetička varijacija opisuje prisutnost različitog broja alela s različitim frekvencijama u određenoj populaciji te omogućuje prilagodbu i specijaciju vrste te predstavlja evolucijski potencijal. Genetička raznolikost na populacijskoj razini je zbroj varijabilnosti genoma jedinki od kojih je sačinjena. Razina genetičke raznolikosti u zatvorenim populacijama predstavlja zbroj ravnoteže između povijesnih mutacija i samog procesa mutacija, prirodne selekcije i genskog otklona (engl. *genetic drift*). U otvorenim populacijama imigranti mogu uvesti alele kroz protok gena iz drugih populacija i tako promijeniti frekvencije alela. Neutralna teorija molekularne evolucije (Kimura, 1983) pretpostavlja da su lokusi koji

se koriste za istraživanje populacijske strukture neutralni, što znači da će razlike između populacija biti rezultat mutacija i nasumičnog genskog otklona bez utjecaja selekcije. S druge strane, adaptivna varijacija se odnosi na osobine koje su od funkcionalnog značaja i vjerojatno su pod utjecajem prirodne selekcije.

Genski otklon značajno utječe na genetičku raznolikost budući da predstavlja nezavisan proces nasumične promjene u učestalosti alela među generacijama u populaciji, bez obzira na selekcijske pritiske (Rowe i sur., 2017). Snaga genskog otklona obrnuto je proporcionalna veličini populacije u panmiktičnoj populaciji, tj. populaciji s jednakim očekivanim doprinosom jedinki u reprodukciji (Ellegren i Galtier, 2016). Također, pretpostavka neutralne teorije je da bi genetička raznolikost trebala biti pozitivno korelirana s efektivnom veličinom populacije ( $N_e$ ), koja se definira kao broj jedinki u populaciji koje se uspješno razmnožavaju u svakoj generaciji (Charlesworth, 2009). Velike populacije podržavaju višu razinu genetičke raznolikosti, alelnu varijaciju i prosječnu heterozigotnost. U većim populacijama svaki novi alel će postojati duže te će kumulativno biti veći broj alela u vremenu. Rijetki aleli će stoga biti izgubljeni brže u malim nego u velikim populacijama.

Gubitak genetičke raznolikosti može biti posljedica naglog smanjenja veličine populacije i kada mala veličina populacije postoji kroz nekoliko generacija. Do naglog smanjenja veličine populacije dolazi kada populacija prolazi kroz usko grlo (engl. *bottleneck*), tj. kada se efektivna veličina bitno spusti ispod dugoročnog prosjeka. Opseg gubitka genetičke raznolikosti ovisi o jačini i trajanju uskog grla. Usko grlo koje traje kratko može rezultirati ograničenim gubitkom genetičke varijacije, dok usko grlo koje traje nekoliko generacija može rezultirati značajnim gubitkom genetičke raznolikosti (Rowe i sur., 2017). Gubitak raznolikosti je dodatno pospješen u smanjenim populacijama gdje nema imigracije tijekom mnogo generacija. Razmnožavanje u srodstvu (engl. *inbreeding*) može dovesti do gubitka heterozigotnosti i akumulacije štetnih alela. Općenito, u malim populacijama razmnožavanje u srodstvu je češće nego u većim, ali štetni aleli su rijetki zbog djelovanja selekcije. Povećanje homozigotnosti recesivnih alela može utjecati na smanjenje adaptabilnih sposobnosti (engl. *fitness*) potomaka odnosno uzrokovati srodničku depresiju (engl. *inbreeding depression*). Nesrodnička depresija (engl. *outbreeding depression*) je pojava smanjenja sposobnosti prilagodbe potomaka zbog križanja jedinki iz genetički udaljenih populacija i unosa novih nenativnih alela kod novonastalih jedinki (Rowe i sur., 2017).



## 1.7. Metode molekularne genetike u populacijskim istraživanjima

Mjerenja genetičke raznolikosti u populacijama su neophodna za tumačenje, razumijevanje i učinkovito upravljanje. Početna istraživanja molekularne genetike tijekom 1960-ih su bila ograničena na proteine, hemoglobin i transferin. Poslije su enzimatski proteini i alozimi bili dominantna metoda do 1980-tih (Williamson, 2001). Otkriće točnog opisa modela molekule deoksiribonukleinske kiseline (DNA) i razvoj DNA umnažanja pomoću tehnike lančane reakcije polimerazom (engl. *Polymerase Chain Reaction: PCR*) je otvorila mogućnost istraživanja genetičkih promjena u populacijama. Osnovne istraživačke metode u molekularnoj genetici, lančana reakcija polimerazom (PCR) i sekvencioniranje (određivanje sljedova nukleotida) DNA, postale su učinkovite i prihvatljive znanstvenicima tijekom posljednjih desetljeća (Awise, 2004). Također, kompjuterski programi za obradu podataka koji su se razvijali usporedno s razvojem molekularnih tehnika omogućili su primjenu u raznim područjima istraživanja. Danas su dostupne mnoge molekularne metode za istraživanja različitih aspekata divljih populacija, matičnih stokova i interakcija između divljih i uzgojnih stokova riba i drugih morskih organizama.

Molekularni biljeg ili marker je gen ili segment DNA poznate lokacije na kromosomu koji se može koristiti za određivanje jedinki, populacija ili vrsta. Biljeg bi se trebao lako identificirati u fenotipu npr. pomoću vidljive osobine ili lako otkriti molekularnim tehnikama (Williamson, 2001). Izbor molekularnih biljega za pojedina istraživanja nije jednostavan i često ovisi o iskustvu istraživača, o laboratorijskoj opremi te dostupnim sredstvima. U svrhu identifikacije stokova postoje tri glavna čimbenika koja se uzimaju u obzir prilikom odabira i korištenja molekularnih biljega. Prvo, vrsta biljega treba biti odabrana kako bi osigurala mjeru bioloških procesa za koje se smatra da određuju interesni uzorak; nefunkcionalne genomske regije se koriste za istraživanje genskog otklona i protoka gena, dok se funkcionalne regije koriste za mjerenje utjecaja prirodne i antropogeno uvjetovane selekcije. Drugo, varijabilnost odabranog biljega mora biti takva da osigura dovoljnu statističku moć za otkivanje željenih učinaka. Treće, broj korištenih biljega mora jamčiti realan i nepristran pogled na proces koji se istražuje (Mariani i Bekkevold, 2014).

Molekularni biljezi koji su se najčešće koristili i koriste se u populacijskim istraživanjima su alozimi, polimorfizam duljine restrikcijskih fragmenata - RFLP (engl. *restriction fragment length polymorphism*), nasumično umnožena polimorfna DNA - RAPD

(engl. *random amplified polymorphic DNA*), polimorfizam duljine umnoženih fragmenata – AFLP (engl. *amplified fragment length polymorphism*), varijabilni broj uzdužno opetovanih sljedova - VNTR (engl. *variable number tandem repeats*), polimorfizam pojedinačnih nukleotida - SNP (engl. *single nucleotide polymorphism*) i mitohondrijska DNA.

Varijeteti proteina, poznati kao alozimi, su bili prvi molekularni biljeg široko primijenjen u ekologiji. Međutim, danas su alozimi stvar prošlosti. Posljednja dva desetljeća sve više korišteni molekularni biljezi su polimorfizmi pojedinačnih nukleotida (engl. *Single Nucleotide Polymorphism: SNP*). SNP-ovi su varijacije DNA sekvence na jednom nukleotidnom položaju te mogu biti locirani u kodirajućim i nekodirajućim regijama genoma s obično dva alela u populaciji. Brza genotipizacija stotine biljega u jednoj analizi s niskim postotkom pogreške te novi razvoji u genotipiziranju sekvencioniranjem i povezani bioinformatički alati (Peterson i sur., 2012) omogućili su SNP-ovima široku primjenu u populacijskoj genetici. SNP-ovi su korisni i pouzdani biljezi za određivanje strukture stoka i identificiranja genetičkog podrijetla jedinke (Seeb i sur., 2011). Analiza SNP panela od oko 200 - 400 neutralnih biljega može pružiti više informacija o stoku nego analiza 20 - 30 mikrosatelita (Mariani i Bekkevold, 2014). Osim mogućnosti ispitivanja neutralne varijacije, SNP biljezi su uspješni kod identifikacije lokusa pod selekcijom. SNP-ovi su se pokazali kao učinkoviti molekularni biljezi u otkrivanju populacijske strukture i identifikacije stokova, te će se njihova primjena u ribarstvenim istraživanjima nastaviti koristiti i poboljšavati (Mariani i Bekkevold, 2014).

### **1.7.1. Mitohondrijska DNA (mtDNA)**

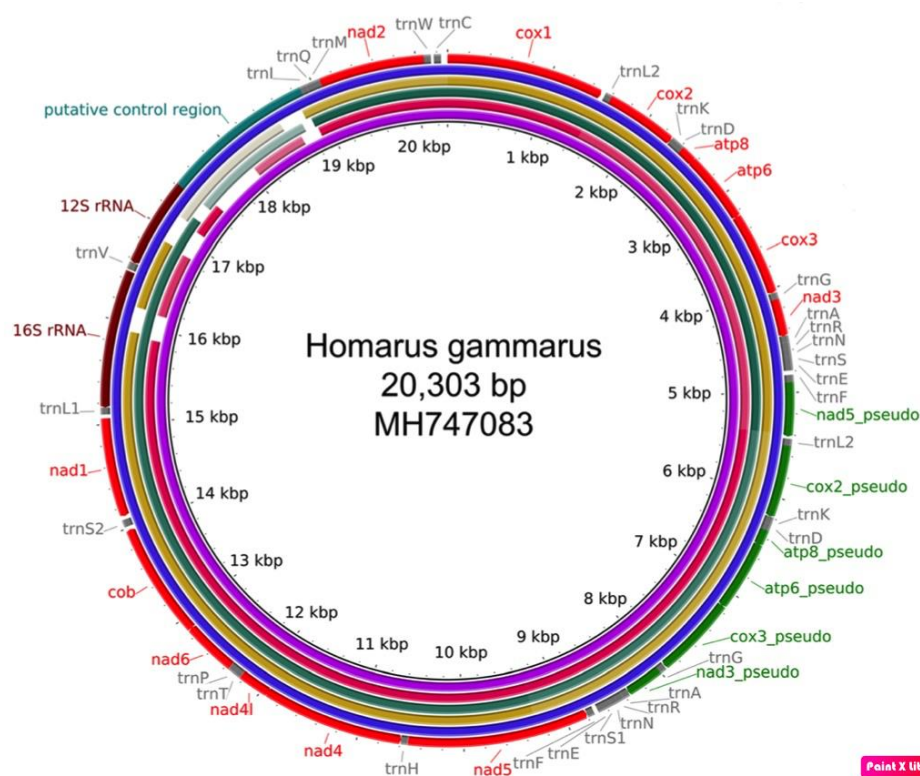
Mitohondrijska DNA predstavlja samo malu frakciju veličine genoma eukariota (<1 %). Nalazi se u citoplazmi unutar mitohondrija i često je korišten marker u populacijskoj genetici. Glavne karakteristike mtDNA su: visoka stopa mutacije, majčinsko nasljeđivanje, cijeli genom se prepisuje kao jedinica, ne podliježe rekombinaciji, pojavljuje se u više kopija po stanici. Također, replikacija je kontinuirana, jednosmjerna i simetrična bez očitog mehanizma uređivanja ili popravka i optimalne je veličine, bez prisustva introna kod životinjskih vrsta uključujući čovjeka (Billington, 2003). MtDNA je fizički odvojena od ostatka stanične DNA i relativno lako se izolira. Jedna od posljedica majčinskog nasljeđivanja je ta da efektivna veličina populacije za mtDNA je znatno manja nego za jezgrenu DNA te je

zbog toga mtDNA osjetljiviji pokazatelj populacijskih fenomena kao što su usko grlo (engl. *bottleneck*) i hibridizacija. Evolucija mtDNA je skoro neutralna što znači da se mutacije događaju u neutralnoj regiji, iako postoje dokazi da na mtDNA ponekad utječe selekcija (Gerber i sur., 2001), stoga na haplotipnu distribuciju više utječu demografski događaji nego selekcija. Budući da ne postoji rekombinacija između roditeljskih molekula mtDNA kod životinja, svaki uniparentno nasljeđeni haplotip ima jednog pretka u prijašnjoj generaciji. Preko mutacija mtDNA moguće je opisati genetičke veze između haplotipova, te haplotipna distribucija i relativna frekvencija mogu se koristiti za opisivanje povijesnih veza između populacija (Rowe i sur., 2017). Evolucijska stopa mtDNA je opisana kao sat, u nedostatku bilo kakvih mutacija pod selekcijom samo neutralne mutacije akumuliraju se s vremenom, tako da divergencija mtDNA bi trebale otprilike odražavati vrijeme divergencije. Zbog ovih karakteristika mtDNA je idealan genetički marker za istraživanje povijesti populacije i vrsta (Galtier i sur., 2009).

Neke regije mtDNA evoluiraju različitom stopom i koriste se za rješavanje taksonomskih dilema poput identifikacije vrsta ili populacijskih jedinica unutar vrsta. Najčešće korištene regije mtDNA u filogeografiji su: citokrom oskidaza I i II, RNA male i velike podjedinice, citokrom b i kontrolna regija. Citokrom b se vrlo često koristi kod istraživanja strukture i podrijetla populacija. DNA barkodiranje na temelju fragmenata COI gena (engl. *cytochrome c oxidase subunit I*) u mitohondrijskom genomu široko se primjenjuje u identifikaciji vrsta i studijama biološke raznolikosti (Bingpeng i sur., 2018). DNA barkoding tehnologija je metoda u kojoj se COI gen koristi kao barkod za identifikaciju vrsta (Hebert i sur., 2003). Intraspecifična raznolikost COI gena u životinja je značajno niža od interspecifične raznolikosti te je korištenje COI gena kao barkoda učinkovito za klasifikaciju i identifikaciju kralježnjaka i beskralježnjaka. Prednosti DNA barkoding tehnologije su slijedeće: 1) neke vrste imaju iznimno slične morfološke karakteristike te ih je s njima teško razlikovati, a DNA barkoding tehnologija može točno razdvojiti vrste; 2) morfološke karakteristike se mogu značajno razlikovati tijekom životnih stadija, ali se jedinice u različitim životnim stadijima mogu identificirati pomoću DNA barkodinga i 3) DNA barkoding tehnologija može poslužiti otkrivanju kriptičnih vrsta (Bingpeng i sur., 2018). Pomoću baza podataka Barcode of Life Database (BOLD) i Banka Gena (GenBank) pri Nacionalnom centru za biotehnološke informacije SAD-a (National Center for Biotechnology Information, NCBI) gdje su pohranjeni barkodovi brojnih vrsta životinja i biljaka, vrši se pretraga i uspoređivanje sekvence organizma od interesa. Uspješnost identificiranje vrste ovisi o zastupljenosti sekvenci te vrste u

spomenutim bazama. Evolucija mtDNA sekvence je dobro proučena. Zamjena baza se događa dosta često, no struktura mtDNA i poredak gena je jako konzervativan. Budući da se mtDNA prenosi kao jedan gen, treba biti oprezan pri donošenju zaključaka o čitavoj populaciji jer se evolucija pojedinog gena može razlikovati od evolucijskog prosjeka čitavog genoma. Osim toga podaci dobiveni iz mtDNA imaju neke nedostatke, kao prisustvo mitohondrijskih pseudogena u jezgrenom genomu te visoku stopu odumiranja alela (Zhang i Hewitt, 2003). Mitohondrijski DNA genom ima ograničenu mogućnost kao izvor populacijskih markera i pruža samo djelomični genetički status populacije zbog majčinskog nasljeđivanja (Antoniou i Magoulas, 2014). Zato će zaključci o povijesti vrste ili populacije vjerojatno biti vrlo pristrani, te je očita potreba za nezavisnim genomskim biljezima za podupiranje mtDNA.

MtDNA ima brojne primjene u ribarstvu i akvakulturi. Postala je popularan biljeg u populacijskim i evolucijskim istraživanjima (Awise, 1994). MtDNA istraživanja mogu pridonijeti identifikaciji stokova, pružiti informacije o hibridizaciji i introgresiji, služiti kao genetički biljeg u forenzici te u programima zaštite vrsta (Billington, 2003). Kompletni genom mtDNA hlapa sastoji se od 20 303 pb (Slika 1.7.) (Gan i sur., 2019).



**Slika 1.7.** Kompletni genom mtDNA hlapa (*H. gammarus*), izvor: Gan i sur. (2019)

### 1.7.2. Mikrosateliti

Mikrosateliti su ponavljajući sljedovi nukleotida veličine od 2 do 6 parova baza (pb). Poznati su i kao jednostavne sekvence ponavljanja (engl. *Simple Sequence Repeats*: SSR), varijabilni broj tandema ponavljanja (engl. *Variable Number Tandem Repeats*: VNTR) i kratki slijed ponavljanja (engl. *Short Tandem Repeats*: STR) (Selkoe i Toonen, 2006). Mikrosateliti su DNA sekvence mono-, di-, tri-, tetra-, pentanukleotidnih jedinica (npr.  $[AT]_n$ ,  $[ATCG]_n$ ) koje se ponavljaju u tandemu i široko su rasprostranjene u genomu (Powell i sur., 1996). Mikrosatelitni lokus obično varira u dužini između 5 i 40 ponavljanja. Dinukleotidna, trinukleotidna i tetranukleotidna ponavljanja su najučestaliji izbor za genetička istraživanja (Selkoe i Toonen, 2006). Mikrosateliti se mogu opisati prema tipu ponavljanja: (i) pravilni, ponavljanja su identične dužine i slijeda,  $(AT)_{20}$ ; (ii) prekinuta ponavljanja, ponavljajući slijed je prekinut drugim nukleotidnim slijedom koji se ne ponavlja, npr:  $(AT)_{12}CG(AT)_6$ ; (iii) složeni, prisustvo dva ili više različitih motiva u ponavljanju, npr.  $(AT)_7(GC)_6$  (Selkoe i Toonen, 2006). Litt i Luty (1989) su prvi upotrijebili izraz "mikrosateliti" analizirajući brojnost i rasprostranjenost sljedova  $(TG)_n$  u kardijalnom aktinskom genu. Mikrosateliti su kodominantni i nasljeđuju se po Mendelovom principu te detektiraju homozigote i heterozigote. Oni su jedni od najbrže evoluirajućih genetičkih markera, imaju  $10^{-2} - 10^{-6}$  mutacija po lokusu po generaciji, u prosjeku  $5 \times 10^{-4}$  (Schlötterer i Pemberton, 1994). Visoki polimorfizam i analiza temeljena na PCR tehnici učinila je mikrosatelite jednim od najpopularnijih genetičkih markera (Rowe i sur., 2017).

Mikrosatelitni lokusi se analiziraju PCR tehnikom kada specifična početnica (veličine 15 - 25 parova baza) naliže na neponavljajuću graničnu regiju lokusa. Zbog visoke stope mutacija, mikrosateliti su potencijalno najinformativniji molekularni biljezi. Jedna od prednosti upotrebe mikrosatelita kao molekularnih biljega je jednostavna i jeftina detekcija putem PCR-a. Umnoženi fragmenti koji su fluorescentno obilježeni se analiziraju kapilarnom elektroforezom i njihova se veličina precizno procjenjuje pomoću laserske detekcije na automatskom sekvenceru. Aleli s manjim brojem ponavljanja bit će kraći, putovati će brže i biti će zabilježeni laserom prije nego fragmenti s većim brojem ponavljanja. Oba roditeljska alela na svakom lokusu su uočljiva; ako je jedinka homozigot samo će jedan vrh biti vidljiv, a ako je heterozigot biti će vidljiva oba vrha (Mariani i Bekkevold, 2014).

S postojećim je molekularnim metodama moguće očitati dužine polimorfizama mikrosatelita na velikom broju uzoraka za genetičke analize unutar ili među populacijama.

Lokusi s većim brojem alela su korisniji za studije identifikacije roditelja i potomaka u miješanim populacijama, dok su lokusi s manjim brojem alela prikladniji za studije populacijske genetike i filogenije (Estoup i Angers, 1998). Početnice razvijene za jednu vrstu mogu se koristiti za druge vrste istog roda ili porodice, posebno za kralježnjake kao što su ribe, gmazovi i sisavci (Peakall i sur., 1998). Ove osobine omogućuju uspješnu primjenu mikrosatelita u širokom rasponu temeljnih i primjenjivih područja (Chistiakov i sur., 2006).

Iako mikrosateliti imaju brojne prednosti pred drugim molekularnim biljezima, podaci mogu uključivati pogreške u genotipizaciji koje mogu utjecati na konačne zaključke (Bonin i sur., 2004). Pogreške u genotipizaciji mogu rezultirati iz više varijabli (kvaliteta reagensa, pogreška Taq polimeraze ili kontaminacija), a primarna je posljedica pogrešna interpretacija alela. Jedan od glavnih problema je prisustvo nultih alela; delecija ili mutacija na lokusu na mjestu nalijeganja početnice koja sprječava umnažanje lokusa i identifikaciju heterozigota, te može dovesti do pogrešne procjene frekvencije alela i stope segregacije. Nadalje, problem predstavlja homoplazija, odnosno identični aleli, ali ne kao rezultat zajedničkog pretka nego zbog nasumičnih mutacija. Homoplazija može omesti signal razdvajanja populacija na većoj vremenskoj skali, u velikim populacijama i na lokusima s velikom stopom mutacije (Estoup i sur., 2002). Također, izazov predstavlja neravnoteža vezanosti gena (engl. *Linkage disequilibrium*); odstupanja od slučajne povezanosti alela u populaciji koje su primarno uzrokovane podstrukturiranjem populacije i visokom stopom križanja unutar populacije (Weising i sur., 2005). Kompjuterski programi i analiza potomaka mogu prepoznati ovaj problem.

Različiti mutacijski mehanizmi su odgovorni za varijabilnost mikrosatelitnih regija. Replikacijsko klizanje (engl. *replication slippage*) je mutacijski mehanizam specifičan za kratka, uzastopna ponavljanja sekvenci koji se događa tijekom DNA replikacije, što dovodi do skraćanja ili produljenja DNA molekule (Schlötterer i Pemberton, 1994). Nejednaka rekombinacija tijekom mejoze rezultira smanjenjem ili potpunim gubitkom mikrosatelitnih regija na jednom kromosomu i povećanjem njihovog broja na drugom. Najčešća mutacija kod mikrosatelita je promjena od jedne ponavljajuće jedinice. Mikrosatelitne mutacije su rezultat klizanja prilikom DNA replikacije i varijacije u broju ponavljanja između alela (Goldstein i Schlötterer, 1999). Produljenje ili delecije pojedinih ponavljajućih jedinica su odgovorni za većinu varijacija u dužini mikrosatelita. Razumijevanje modela mutacije koji leži u osnovi evolucije mikrosatelita je od velike važnosti za razvoj statistike koja točno odražava strukturu populacije. Osnovni mutacijski modeli koji su razvijeni od strane populacijskih genetičara su:

model beskonačnih alela (engl. *Infinite Allels Model*, IAM) (Kimura i Crow, 1964), model stupanjske mutacije (engl. *Stepwise Mutation Model*, SMM) (Kimura i Ohta, 1978) i dvofazni model (engl. *two-phase model*, TPM) (Di Rienzo i sur., 1994). U IAM modelu svaka mutacija stvara novi alel pri određenoj stopi, te ovaj model ne dopušta homoplaziju. U modelu stupanjske mutacije (SMM), svaka mutacija stvara novi alel dodavanjem ili delecijom jedne ponavljajuće jedinice mikrosatelita s jednakom vjerojatnošću u oba smjera. SMM model se primjenjuje pri procjeni povezanosti jedinki i podstrukturiranosti populacija. Dvofazni model (TPM) je prošireni SMM model, uzima u obzir veće mutacijske događaje tj. dodavanje ili deleciju nekoliko ponavljajućih jedinica. Za mikrosatelitne lokuse većina studija pokazuje da je TPM najrealniji model mutacije (Schlötterer, 2000; Ellegren, 2004).

Zbog svojih osobina, mikrosateliti kao molekularni biljezi se primjenjuju pri npr. mapiranju genoma, određivanju genetičke raznolikosti i identifikaciji jedinki, populacijskim i filogenetičkim odnosima, proučavanju migracijske stope i veličine populacije, te u istraživanjima bioinvazije i epidemiologije. Također, jedna od karakteristika mikrosatelita je razlučivanje relativno visokih stopa migracija i povezanosti jedinki. Prvi riblji mikrosatelitni biljezi su bili izolirani iz DNA potočne pastrve (*Salmo trutta* Linnaeus 1758) (Estoup i sur., 1993) i primijenjeni su za upravljanje stokova potočne pastrve. Nakon toga, mikrosateliti su razvijeni za mnoge vrste i upotrijebljeni za analizu populacijskih struktura. Mikrosatelitne biljege specifične za hlapa opisali su André i Knutsen (2010) te dodatno Ellis i sur. (2015a).

## **1.8. Statističke metode u analizi genetičke raznolikosti**

### **1.8.1. Deskriptivna statistika**

Populacijsko genetičke analize temeljene na neutralnim markerima podrazumijevaju da postoji Hardy-Weinbergova ravnoteža, što znači da se frekvencije genotipova mogu predvidjeti iz frekvencije alela. Također, pri korištenju više lokusa u analizi potrebno je provjeriti postoji li neravnoteža vezanosti gena (engl. *linkage disequilibrium*) odnosno neslučajna povezanost alela na različitim lokusima u populaciji (Waples i Do, 2010).

Informativnost mikrosatelitnih biljega i genetička raznolikost na razini populacije mogu se procijeniti s nekoliko parametara. Genetička raznolikost se opisuje udjelom polimorfnih lokusa ( $P$ ), prosječnim brojem alela po lokusu ( $N_A$ ), efektivnim brojem alela po lokusu ( $N_e$ ), očekivanom ( $H_e$ ) i uočenom razinom heterozigotnosti ( $H_o$ ). Efektivni broj alela je broj jednako

učestih alela koji bi bili potrebni da se postigne ista očekivana heterozigotnost u proučavanoj populaciji. Ovaj broj je općenito manji od opaženog broja alela. Alelno bogatstvo ( $A_r$ ) je mjera broja alela po lokusu s tim da je veličina uzorka pri izračunu uzeta u obzir. Uočena heterozigotnost ( $H_o$ ) je udio heterozigota u populaciji, dok očekivana heterozigotnost ( $H_e$ ) je udio heterozigotnih jedinki u populaciji koje se očekuju iz alelnih frekvencija pretpostavljajući da je populacija u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži. Očekivana heterozigotnost može biti veća od uočene heterozigotnosti zbog nul-alela na mikrosatelitnim lokusima ili zbog srođivanja. Za haplotipne podatke poput mitohondrijske DNA, genetička raznolikost se procjenjuje pomoću broja haplotipova ( $H$ ), polimorfni mjesta ( $S$ ), raznolikosti haplotipova ( $h$ , genska raznolikost), nukleotidne raznolikosti ( $\pi$ ) i srednjeg broja razlika između parova sljedova ( $k$ ) (Nei, 1987; Tajima, 1983).

F-statistika procjenjuje raspodjelu genetičke varijacije unutar i između populacija (Wright, 1931). Na fiksacijske indekse utječe stopa protoka gena i genski otklon. Koeficijent križanja u bliskom srodstvu ( $F_{IS}$ , engl. *inbreeding coefficient*) mjeri stupanj križanja u bliskom srodstvu jedinki unutar subpopulacije, tj. odstupanje populacije od Hardy-Weinbergove ravnoteže. Vrijednosti ovog parametra se kreću od 0 (nema križanja u bliskom srodstvu) do 1 (potpuno križanje u bliskom srodstvu), iako su moguće negativne vrijednosti što upućuje na višak heterozigota.  $F_{ST}$  indeks ili indeks genetičke diferencijacije predstavlja omjer prosječne heterozigotnosti podpopulacije i očekivane heterozigotnosti metapopulacije. Vrijednosti  $F_{ST}$  indeksa se kreću od 0, nema populacijske strukture, do 1, potpuno odvojene populacije.  $F_{ST}$  je primjereniji od dostupnih ekvivalentnih statistika za procjene diferencijacije populacija u slučajevima gdje je prisutna visoka razina protoka gena, te kada je veličina uzorka umjerena ili mala ( $\leq 10$ ) ili kada je broj lokusa u analizi mali ( $< 20$ ) (Gaggiotti i sur., 1999).  $F_{ST}$  se smatra najinformativnijom statistikom za ispitivanje ukupne razine genetičke diferencijacije među subpopulacijama.

### **1.8.2. Bayesovska analiza populacijske strukture**

U prirodi je prisutno mnogo tipova populacijske podstrukturiranosti. Jedna od primjena populacijske genetike je otkrivanje tih podstrukture i njezine razine. Bayesovska analiza populacijske strukture temelji na se Bayesovom teoremu koji omogućava procjene vjerojatnosti parametara na temelju posteriornih vjerojatnosti. Takve metode obično daju višestruke posteriorne vjerojatnosti, što omogućava da se istovremeno testira više hipoteza



(Rowe i sur., 2017). Bayesovska analiza populacijske strukture ima za cilj utvrditi strukturiranje unutar populacija s ciljem određivanja pripadnosti jedinki genetičkim grupama (klasterima) uz određivanje najvjerojatnijeg broja populacija (K). Najvjerojatniji broj klastera (K) se procjenjuje iz cijelog seta genotipova uspoređujući posteriorne vjerojatnosti unutar raspona mogućeg broja populacija. Model pretpostavlja da su populacije u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži kao i ravnotežu vezanosti gena (eng. *linkage equilibrium*) unutar svake skupine, ali ne uzima informaciju o lokaciji uzorkovanja ili pripadnost svake jedinke (Pritchard i sur., 2000). Bayesovska analiza populacijske strukture je ograničena malim brojem uzoraka i malim brojem biljega (Corander i sur., 2003).

Testovi pridruživanja (engl. *assignment tests*) u genetički diskretne skupine na temelju multilokusnih genotipova nude najobjektivniji način određivanja strukture populacije. Koristi se sustavni Bayesov pristup grupiranju primjenom algoritma Markovljevog lanca Monte Carlo (MCMC). MCMC proces počinje slučajnim dodjeljivanjem jedinki u unaprijed određen broj grupa, nakon čega se procjenjuju varijantne frekvencije u svakoj skupini i jedinke se ponovno dodjeljuju na temelju tih procjena frekvencija. Ovo se ponavlja mnogo puta, obično 100 000 puta, u procesu *burn-in* koji rezultira u konvergenciji prema pouzdanoj procjeni frekvencija alela u svakoj populaciji i vjerojatnosti pridruživanja jedinki u populaciji. Za mjerenje pretpostavljenog broja populacija koristi se MCMC algoritam i izvodi se odvojeno od *burn-in* procesa, te se analize za svaku pretpostavljenu populaciju obavljaju pojedinačno. Na podatke od K pretpostavljenih populacija ili genetičkih skupina primjenjuje se model, od kojih je svaka karakterizirana podskupom frekvencija alela identificiranih u podacima. Sljedeći korak je računanje vjerojatnosti podataka za raspon vrijednosti K računajući posteriorne vjerojatnosti od K tijekom ponavljanja MCMC algoritma (Porrás-Hurtado i sur., 2013).  $L(K)$  je pojam koji opisuje proces izračunavanja log vjerojatnosti podataka u svakom koraku MCMC. Nakon usrednjavanja log vjerojatnosti i dodatnih derivacija  $L(K)$  moguće je odabrati najbolji K, a jedinke pridružiti pojedinim klasterima.

STRUCTURE (Pritchard i sur., 2000) je jedan od najčešće korištenih programa za određivanje populacijske strukture. Dva modela populacijske strukture koji ovaj program koristi za procijene podrijetla su bez miješanja (engl. *no admixture*) i mješovito podrijetlo jedinki (engl. *admixture*) (Pritchard i sur., 2000). Model bez miješanja je prikladan kada nema prethodnog znanja o podrijetlu proučavanih populacija ili kada se pretpostavlja da su populacije odvojene. U situacijama kada postoji miješanje između populacija *admixture* model je prikladniji, jer velik dio uzorkovanih jedinki može imati nedavne pretke iz više populacije.

Oba modela mogu koristiti informaciju o lokaciji uzorkovanja primjenom parametra *locprior*. Ovaj parametar je koristan kada postoji slaba struktura populacije odnosno kada do te situacije dolazi zbog korištenja malog broja biljega, male veličine uzorka ili zbog bliskih odnosa među populacijama (Porras-Hurtado i sur., 2013).

### 1.8.3. Procjena efektivne veličine populacije

Efektivna veličina populacije ( $N_E$ ) predstavlja veličinu idealne populacije koja bi doživjela istu količinu genskog otklona kao realna populacija koju promatramo (Charlesworth, 2009). Efektivna veličina populacije ( $N_E$ ) ključni je parametar u populacijskoj genetici. Ima važnu primjenu u ribarstvu i analizi stokova, evolucijskoj biologiji, konzervacijskoj genetici i istraživanjima razmnožavanja, jer mjeri stope genskog otklona i srođivanja. Na efektivnu veličinu populacije utječu evolucijske sile kao što su mutacija, selekcija i migracija (Wang i sur., 2016).  $N_E$  je važnija mjera održivosti populacije nego ukupna veličine populacije ( $N_c$ ) koja uključuje jedinke koje se ne razmnožavaju i puno je veća od  $N_E$ .

S obzirom na koncept efektivne veličine populacije, različiti pristupi se mogu koristiti za procjenu efektivne veličine populacije iz demografskih podataka, kao što je ukupna veličina ( $N_c$ ) ili varijanca reproduktivnog uspjeha. Također, različite metode mogu se koristiti za procjenu efektivne veličine populacije na temelju njezinih genetičkih svojstava uočenim s biljezima. Metode mogu biti temeljene na vremenskoj promjeni u frekvenciji alela i neravnoteži vezanosti gena (LD). Procjene  $N_E$  iz različitih istraživanja je teško uspoređivati jer se različiti  $N_E$  koncepti i procjene odnose na različite vremenske okvire (suvremena, povijesna) i prostorne skale (Schwartz i sur., 1998).

U teoriji je moguće procijeniti  $N_E$  iz očekivanog odnosa prema heterozigotnosti. Prosječna očekivana heterozigotnost ( $H_e$ ), kao mjera genetičke raznolikosti, bi trebala korelirati s veličinom populacije (Rowe i sur., 2017). Zbog niske preciznosti malo je primjena ove metode u empirijskim istraživanjima (Luikart i Cornuet, 1999). Metoda procjene  $N_E$  temeljena na neravnoteži vezanosti gena (LD) (Hill, 1981) je najčešće korištena metoda jednog uzorka, tj. grupa jedinki koja predstavlja populaciju. LD metoda iziskuje samo jedan uzorak. Princip LD metode je kako se  $N_E$  smanjuje, genski otklon uzrokuje neslučajne asocijacije među alelima na različitim lokusima, tj. neravnotežu vezanosti gena (LD). LN  $N_E$  pretpostavlja nasumično parenje u populaciji. Ova metoda posebno je prikladna za vrste s dugim generacijskim intervalom gdje su dva uzorka razdvojena nekoliko generacija, što znači mnogo

godina (Wang i sur., 2016). LD metoda može značajno podcijeniti  $N_E$  kada je veličina uzorka mala. Precizne procjene  $N_E$  mogu se dobiti korištenjem 10 - 20 mikrosatelitnih lokusa i veličinom uzorka od 25 do 50 jedinki iz populacija s nepreklapajućim generacijama (Waples i Do, 2010). Procjene LD  $N_E$  su podložne pristranosti jer brojni procesi osim male  $N_E$  mogu dovesti do LD, uključujući podstrukturu, imigraciju, blisko srodstvo i preklapanje generacija (Luikart i sur., 2010).

Dodatno, metoda s kojom se može procijeniti  $N_E$  je i metoda temeljena na teoriji koalescencije (engl. *coalescence theory*) (Kingman, 1982). Koalescentna teorija se bavi praćenjem alelnih predaka do njihove točke spajanja, tj. do vremena njihovog zajedničkog pretka. To omogućava dobivanje više informacija iz genotipova nego što je moguće samo s uspoređivanjem alelnih frekvencija, te se može koristiti za procjenu genskog otklona. Ova metoda procjene  $N_E$  je također temeljena na jednom uzorku. Teoriju koalescencije za procjenu  $N_E$  koristi program Migrate (Beerli, 2008) kao program najveće vjerojatnosti (engl. *maximum likelihood*) koji analizira asimetrične obrasce protoka gena između dviju populacija. Efektivna veličina populacije, stope migracije i vrijeme razdvajanja izraženi su kao efektivna veličina populacije skalirana mutacijom.  $N_E$  se može procijeniti i iz dobno strukturirane populacije metodom vjerojatnosti koja pretpostavlja da je uzorak uzet nasumično. Podaci o spolu, dobi i multilokusnom genotipu se koriste za određivanje roditeljstva među uzorkovanim jedinkama. Informacije o roditeljstvu zajedno s ostalim informacijama koriste se u okviru vjerojatnosti za određivanje efektivne veličine populacije, generacijskog intervala i drugih parametara dobno strukturirane populacije (Wang i sur., 2010). Osim metoda temeljene na jednom uzorku za procjenu  $N_E$  postoje metode temeljene na dva uzorka. One su najčešće korištene metode i temelje se na vremenskoj promjeni frekvencija alela. Vremenska metoda (engl. *temporal method*) (Waples, 1989) prati promjene frekvencija alela iz dva ili više uzorka iz različitih vremenskih perioda. Načelo metode je da će veličina promjene frekvencije alela između generacija rasti kako se  $N_E$  smanjuje. Pretpostavke o nepreklapanju generacija i nedostatku dobne strukture su pretpostavke vremenske metode koja se najčešće krše. Zbog uzorka iz dva vremenska perioda ova metoda procjene  $N_E$  može biti skupa i dugotrajna.

Procjena efektivne veličine i razjašnjavanje temeljnih procesa koji utječu na opaženu efektivnu veličinu su ključni u predviđanju evolucijskih putanja populacija i u procjeni održivosti populacije. Sposobnost procjene parametara veličine populacije znatno se poboljšala tijekom protekla dva desetljeća i njezina primjena biti će preciznija u budućnosti s obzirom na brz napredak genomskih i računalnih tehnologija.

#### 1.8.4. Migracije u morskim ekosustavima

Većina morskih makrobekralješnjaka i riba ima životni ciklus koji se sastoji od pelagične ličinačke faze i relativno sedentarnih odraslih jedinki (Nolasco i sur., 2018). Za većinu morskih organizama povezanost (engl. *connectivity*) je definirana kretanjem tj. disperzijom jedinki u pelagičnim fazama razvoja (jaja, ličinke, poslijeličinke) i usko je povezana s morskim strujama i topografskim karakteristikama, koje mogu predstavljati prirodnu barijeru. Trajanje pelagične ličinačke faze (engl. *Pelagic Larval Duration*, PLD) je važan čimbenik u povezanosti između morskih populacija (Cowen i sur., 2007.). Povezanost u morskim ekosustavima i populacijska genetika povezani su preko učinaka migracija ili protoka gena na razlike u frekvencijama alela između populacija (Hedgecock i sur., 2007). Protok gena i migracije složena su pitanja sa širokim primjenama u populacijskoj biologiji. Populacije evoluiraju s promjenama u frekvenciji alela, koje su rezultat evolucijskih sila kao što su mutacije, slučajni genski otklon, migracije (protok gena) i selekcija. Genski otklon i selekcija uzrokuju odjeljivanje populacija dok migracije djeluju kao sila koja umanjuje razlike. Ako je protok gena između dvije populacije velik te populacije će na kraju postići iste frekvencije genotipova. Genetička povezanost se definira kao stupanj do kojeg protok gena utječe na evolucijske procese unutar subpopulacija, dok se demografska povezanost odnosi na to kako migracije utječu na rast i vitalne procese unutar populacije (Lowe i Allendorf, 2010). Pojam migracije u populacijskoj genetici označava preživljavanje i uspješnu reprodukciju migranata u novoj subpopulaciji. Stope migracija u teoriji mogu biti visoke, ali bez protoka gena ako se nijedna jedinka ne razmnožava u novoj subpopulaciji.

Protok gena među populacijama može se procijeniti pomoću neizravnih i izravnih metoda (Hedgecock i sur., 2007; Lowe i Allendorf, 2010). Za obje metode, najčešće korišteni biljezi su mikrosateliti i polimorfizmi pojedinačnih nukleotida (SNP), iako se SNP-ovi sve više koriste zbog napretka u metodologijama sekvencioniranja. Neizravne metode procjenjuju protok gena iz genetičkih razlika između prostorno odijeljenih populacija. F-statistika, posebice  $F_{ST}$ , dala je osnovu za većinu pristupa po pitanju protoka gena. Visoke vrijednosti  $F_{ST}$  upućuju na male stope migracije, dok male vrijednosti  $F_{ST}$  upućuju na visoke stope migracije. Ovaj pristup pretpostavlja da su populacije u ravnoteži između genskog otklona i protoka gena, te pretpostavlja otočni model migracije u kojemu je protok gena jednako vjerojatan među svim subpopulacijama koje su jednake veličine. Zbog ovih pretpostavki ovaj pristup ne odražava pravu sliku u prirodi (Whitlock i McCauley, 1999). Također, jedna od neizravnih metoda je

metoda privatnih alela (Slatkin, 1985). Privatni alel je onaj koji se nalazi u samo jednoj populaciji. Slatkin (1985) je pokazao da postoji linearni odnos između  $Nm$  (prosječni broj migranata koji se uspješno razmnožavaju) i prosječne frekvencije privatnih alela u ravnoteži. Ova metoda nije uspješna kada je disperzija velika. S napretkom u populacijskoj genetici razvile su se nove metode za procjenu protoka gena. Pristupi koji se temelje na teoriji koalescencije koriste informacije o podrijetlu i pružaju pouzdanije procjene stopa migracije među populacijama. Procjenu  $Nm$  i veličine populacije metodom maksimalne vjerojatnosti objavio je Beerli i Felsenstein (2001). Koalescentne metode temeljene na vjerojatnosti koriste sve podatke, a ne ukupnu statistiku kao što je  $F_{ST}$ . Ove metode također imaju neke nedostatke kao što je osjetljivost na neuzorkovane populacije (Slatkin, 2005). Neizravne metode procjenjuju povezanost na evolucijskoj vremenskoj skali, dok izravne metode procjenjuju povezanost unazad jedne ili nekoliko generacija (Hedgecock i sur., 2007).

Izravne metode protoka gena se temelje na pridruživanju jedinki u populacije iz koje potječu računajući vjerojatnost da jedinka potječe iz određene populacije ili seta roditelja (Manel i sur., 2005). Pretpostavke ovog pristupa su da su sve populacije unaprijed određene, uzorkovane nasumično i ne odstupaju od Hardy-Weinbergove ravnoteže (Hedgecock i sur., 2007). Pridruživanje jedinki u populacije zahtijeva određenu razinu genetičke diferencijacije. Stoga, ove metode pridruživanja nisu uspješne kada je prisutna velika razina protoka gena (Lowe i Allendorf, 2010). Testovi pridruživanja oslanjaju se na visoko polimorfne markere i najučinkovitiji su za srednje do visoko strukturirane populacije (Cornuet i sur., 1999). Razvojem novih metoda poput maksimalne vjerojatnosti i Bayesovog pristupa, omogućeno je uzimanje u obzir manje pretpostavki i postignuta je veća preciznost (Manel i sur., 2005). Isto tako, postignuta je mogućnost procjene stope migracije (Wilson i Rannala, 2003). Ovaj pristup može dati precizne procjene stope migracije čak i kada je migracija velika ako genetička diferencijacija nije premala ( $F_{ST} > 0,05$ ) (Lowe i Allendorf, 2010).

Procjene povezanosti su učinkovite kada je genetička podjela visoka. Općenito, morske vrste karakterizira visok protok gena, te je identificiranje diskretnih populacija zahtjevno (Waples i Gaggiotti, 2006). Niska genetička diferencijacija između populacija može ukazivati na visok protok gena ili veliku efektivnu veličinu populacije, ali isti obrazac također može sugerirati da je više uzoraka iz jedne panmiktične populacije (Jenkins i Stevens, 2018). Stoga, važno je razviti metode za mjerenje povezanosti u slučajevima kada je protok gena visok što je slučaj za mnoge iskorištavane morske vrste (Hedgecock i sur., 2007). Većinu morskih vrsta karakterizira visok fekunditet ( $10^6 - 10^8$  jajašca po ženki po generaciji) i visoka smrtnost ličinki.

Prema hipotezi o *sweepstakes reproductive success* (SRS), razmnožavanje morskih vrsta s visokim fekunditetom i malim preživljavanjem ličinki lutrija je u kojoj mali udio odraslih jedinki čini većinu reprodukcije i novačenja koji slučajno uspiju uskladiti svoju reprodukciju s oceanografskim uvjetima pogodnim za mrijest, oplodnju, razvoj ličinke i naseljavanje (Hedgecock i Pudovkin, 2011). Ovaj događaj rezultira snažnim lokalnim genskim otklonom tijekom stadija ličinke i naknadnim smanjenjem genetičke raznolikosti unovačenih jedinki. Ozbiljnost i učestalost ovakvih događaja ovisi o uvjetima u okolišu, te statistička moć za njihovo uočavanje ovisi o ozbiljnosti takvih događaja i metodi koja se koristi. S obzirom na povezanost, SRS događaji otežavaju indirektnu procjenu stopa migracija pomoću  $F_{ST}$  (Hedgecock i sur., 2007).

### 1.9. Pregled dosadašnjih istraživanja

Klimatske promjene, prekomjerni izlov i degradacija staništa su glavni razlozi drastičnog opadanja populacija morskih organizama u posljednjih 30 godina (WWF, 2015). Uloga temperature i njezin naknadni učinak na dinamiku populacija postaje sve važniji za upravljanje utjecajem klimatskih promjena na ribarstvo (Steneck i Wahle, 2013). Posljedice klimatskih promjena već su zabilježene u nekoliko stokova rakova diljem svijeta uglavnom povezanih sa zagrijavanjem mora (Cockcroft i sur., 2008; Pecl i sur., 2009; Caputi i sur., 2010; Wahle i sur., 2015; Rheuban i sur., 2017; Le Bris i sur., 2018). Boavida-Portugal i sur. (2018) su u istraživanju procijenili suženje (smanjenje) ekološke niše rakova između 40 % i 100 % do kraja stoljeća. Predviđa da će rakovi iz roda *Homarus* i *Nephrops* pomicati svoju ekološku nišu prema sjevernim geografskim širinama što će vjerojatno utjecati na sjevernoeuropsko, sjevernoameričko i kanadsko ribarstvo s potencijalnim štetnim učincima na obalne zajednice (Greenan i sur., 2019).

Utjecaj klimatskih promjena posebno je zanimljiv kod američkog hlapa (*Homarus americanus*) jer je još davno uočena povezanost temperature mora i stope njegovog ulova (McCleese i Wildner, 1958). Također, Zhao i sur. (2019) su uočili povezanost pridnene temperature mora i lovnosti američkog hlapa tijekom mnogo godina. U zaljevu Maine se ulov američkog hlapa konstantno povećava zbog gubitka predatora i povećanja pridnene temperature mora i učinkovitih mjera upravljanja koje su na snazi (Boudreau i sur., 2015; Le Bris i sur., 2018). Suprotno tome, na području toplije južne Nove Engleske populacija američkog hlapa se smanjuje jer su mjere upravljanja blaže. Uočena je pojava izbijanja

epizootskih bolesti kod svih vrsta beskralježnjaka s porastom temperature i gustoće populacije, kao što je slučaj kod američkog hlapa (Steneck i Wahle, 2013; Wahle i sur., 2015; Shields, 2019). Nadalje, predviđen je budući pomak distribucije i širenje staništa američkog hlapa prema sjeveru i prema pučini te gubitak staništa u južnim područjima gdje će temperature početi prelaziti optimalni termalni raspon, ukoliko se pridnena temperatura mora nastavi podizati (Rheuban i sur., 2017).

Slično, zabilježen je veliki pomak u dostupnosti resursa jastoga *Jasus lalandii* (H Milne Edwards, 1837) prema višim geografskim širinama u južnoj Africi u razdoblju od 1980 - 2000. Na području zapadne obale ukupni ulov jastoga opao je s oko 60 % na <10 %, dok je u južnoj regiji porastao s oko 18 % na 60 % tijekom tog razdoblja (Cockcroft i sur., 2008). Utjecaj klimatskih promjena i povećanja temperature mora zabilježen je kod dvije vrste jastoga *Panulirus cygnus* RW George, 1962 na zapadnoj obali Australije i *Jasus edwardsii* (Hutton, 1875) na području južne Australije (Tasmanija). Povećanje temperature mora kod vrste *P. cygnus* rezultiralo je smanjenjem veličine prve spolne zrelosti, povećanjem brojnosti jastoga u dubljim vodama i sukladno tome pomaku ulova prema dubljim vodama (Caputi i sur., 2010). Slični učinci zabilježeni su i kod vrste *J. edwardsii*. Očekuje se da će klimatske promjene imati značajan utjecaj na ribarstvo jastoga *J. edwardsii* s padom biomase jastoga koji će se u početku dogoditi u sjevernim i sjeveroistočnim regijama prije nego na jugu Tasmanije (Pecl i sur., 2009). Značajna povezanost između okolišne varijabilnosti i ribarstva hlapova (*H. gammarus*) je utvrđena na području Škotske (Lizárraga-Cubedo i sur., 2015). Za hlapa koji je predmet ovog istraživanja za sada nema objavljenih istraživanja utjecaja klimatskih promjena, tj. povećanja temperature mora na ulove i CPUE, kao i na pomak distribucije u južnim Europskim regijama.

Ribarstveno - biološke karakteristike hlapa istraživane su na cijelom području rasprostranjenosti, poglavito na sjeveru Europe, dok je za područje Sredozemnog mora dostupno svega nekoliko istraživanja što je povezano s manjom brojnosti hlapova u Sredozemnom moru (Triantafyllidis i sur., 2005; Pere i sur., 2019). Ribarstvena istraživanja hlapova provedena su na području Norveške (Jørstad i sur., 2004; Agnalt i sur., 2009), Švedske (Sundelof i sur., 2013), Engleske (Addison i Lovewell, 1991; Addison, 1995; Woodruff, 2017; Skerritt i sur., 2020), Škotske (Lizárraga-Cubedo i sur., 2003; Lizárraga-Cubedo i sur., 2015), atlantske Francuske (Bennet i sur., 1993; Laurans i sur., 2009) i Njemačke (Schmalenbach, 2009). U sredozemnom moru, na području Korzike, Pere i sur. (2019) su istraživali ulove hlapa i predstavili neke osnovne ribarstveno - biološke podatke o ovoj vrsti. Za područje Jadranskoga mora dostupna su tek dva istraživanja. Devescovi i Lucu (2000) su istraživali presvlačenje i

rast hlapa u sjevernom Jadranu, dok su Cetinić i sur. (2001) istraživali ulov, morfološke karakteristike i dužinsko - masene odnose hlapa u Jadranu te selektivnost alata kojim se hlap lovi. Hlap se najčešće lovi pomoću vrša s mamcem, a lovnost hlapova u vršama ovisi o veličini, spolu, presvlačenju i okolišnim čimbenicima kao što je temperatura (Miller, 1990; Pere i sur., 2019; Skerritt i sur., 2020). Hlap je sedentarna životinja s malim rasponom kretanja od svog skloništa. U istraživanjima kretanja hlapa najviše ponovnih ulova se događa unutar nekoliko kilometara od mjesta puštanja, najčešće unutar 3 km (Smith i sur., 2001; Moland i sur., 2011; Skerritt i sur., 2015). Starost je kod hlapova teško odrediti jer presvlačenjem odbacuju čvrsti oklop (Hopkins, 2012).

U nedostatku dostupnih podataka (rast, starost, smrtnost) za procjenu stanja stokova rakova, morfometrijski odnosi se mogu koristiti za procjenu specifičnih karakteristika stokova. Morfometrijski odnosi i alometrija su istraživani kod vrsta rakova iz infrareda *Brachyura* (Ribeiro i sur., 2013; Glamuzina i sur., 2017), kod raznih vrsta jastoga (Horsford i sur., 2014; Martínez-Calderón i sur., 2018; Kampouris i sur., 2020) i kod američkog hlapa (French McCay i sur., 2003; Steinback i sur., 2008; Baggio, 2011). Također, provedena su istraživanja morfometrije, morfometrijskih odnosa i alometrije kod europskog hlapa (Devescovi i Lucu, 2000; Cetinić i sur., 2001; Debuse i sur., 2001; Tully i sur., 2001; Lizárraga-Cubedo i sur., 2003; Agnalt i sur., 2009; Schmalenbach, 2009). Coleman i sur. (2020) su istražili geografske razlike prirasta presvlačenja i vjerojatnosti presvlačenja unutar područja rasprostranjenosti hlapa. Presvlačenje i reprodukcija su povezani procesi kod hlapova. Istraživanja veličine pri spolnoj zrelosti hlapa (Tully i sur., 2001; Lizárraga-Cubedo i sur., 2003; Laurans i sur., 2009; Wood, 2018), reproduktivnog potencijala i fekunditeta (Tully, 2001; Agnalt, 2007; Ellis i sur., 2015c) te ponašanja kod razmnožavanja i kompeticije (Debuse i sur., 1999; Debuse i sur., 2003; van der Meeren i sur., 2008; Sørдалen i sur., 2018) su dostupna. Pelagična ličinačka faza hlapa traje od 2 do 4 tjedna te je značajno ovisna o temperaturi mora (Browne, 2009; Schmalenbach i Franke, 2010). Nakon metamorfoze mlade jedinke naseljavaju morsko dno i postaju kriптиčne. Ova životna faza je puno bolje istražena kod američkog hlapa (Wahle i sur., 2013) nego kod europskog hlapa. Morska zaštićena područja su pozitivan primjer u održivom upravljanju ribarstvom (Nillos Kleieven i sur., 2019). Pozitivni učinci morskih zaštićenih područja su zabilježeni diljem svijeta. Morska zaštićena područja za hlapove u Norveškoj i Švedskoj su se pokazala kao pozitivan primjer u zaštiti stokova hlapova, uključujući pozitivne učinke na gustoću populacije, preživljavanje, veličinu tijela, ponašanje te interakciju s okolnim ribarstvom (Huserbråten i sur., 2013; Moland i sur., 2013a, 2013b; Moland i sur., 2021;



Knutsen i sur., 2022). Na području sjeverne Europe prisutni su brojni programi poribljavanja i obogaćivanja stokova hlapova (Ellis i sur., 2015b; Hinchcliffe i sur., 2021), ali nedostaju podaci o ekologiji rane bentičke faze hlapa i utjecaju poribljavanja na genetičku strukturu divljih populacija.

Na cijelom se području rasprostranjenosti stokovi hlapa smatraju iskorištenima ili prekomjerno iskorištenima (Spanier i sur., 2015; Hinchcliffe i sur., 2021). U posljednja dva desetljeća, intenzivno su se provodila genetička istraživanja hlapa, posebno u sjevernoj Europi gdje su uvedeni programi obogaćivanja stokova koji podupiru ribarstvenu produkciju u izlovljenim područjima. Genetička raznolikost i populacijska struktura vrste istraživana je korištenjem suvremenih i tradicionalnih molekularnih biljega kao što su RAPD (Ulrich i sur., 2001), alozimi (Jørstad i sur., 2005), mtDNA i RFLP (Triantafyllidis i sur., 2005) mikrosateliti (Ellis i sur., 2015a; Watson i sur., 2016, Ellis i sur., 2017) i jednonukleotidni polimorfizmi SNP-ovi (Jenkins i sur., 2019, 2020). Nekoliko genetički različitih klastera je prepoznato na području rasprostranjenosti vrste (Triantafyllidis i sur., 2005; Ellis i sur., 2017). Genetička udaljenost između populacija je relativno niska (Ellis i sur., 2017). Populacije hlapova s granica rasprostranjenosti, kao što je u slučaju populacija iz sjeverne Norveške i Egejskog mora, pokazuju se kao diskretne biološke jedinice zbog smanjene stope migracije i povećanog genskog otklona (Triantafyllidis i sur., 2005; Ellis i sur., 2017). Genetička podjela je uočena uspoređujući populacije hlapove iz Atlantika i Sredozemnog mora. U Sredozemlju, strukturiranje populacija je također uočeno između srednjeg dijela i Egejskog mora (Jenkins i sur., 2019). Međutim, dodatna heterogenost između populacija iz Sredozemnog mora nije jasno uočena zbog ograničenog broja uzorkovanih populacija širom bazena, kao npr. populacije iz srednjeg Sredozemnog mora (Jonsko i Jadransko more) i iz zapadnog Sredozemnog mora (Balearsko i Alboransko more) koje nedostaju. Nadalje, mtDNA analiza je podržala podregionalnu podjelu unutar Sredozemnog mora, potvrđujući različitost egejskih populacija od jadranskih i zapadno mediteranskih (Triantafyllidis i sur., 2005). Detaljna analiza genetičke raznolikosti i strukture hlapa nije ranije provedena za Jadransko more, osim južnog Jadranskog mora koje je bilo zastupljeno sa samo jednom lokacijom uzorkovanja (Triantafyllidis i sur., 2005.).

Jenkins i sur. (2020) su pokazali kako translokacija i programi poribljavanja s jedinkama hlapova atlantskog podrijetla potencijalno mogu utjecati na genetičku strukturu hlapa na području Korzike. Također, Ellis i sur. (2020) su koristili molekularne biljege (SNP-ove) za identifikaciju jedinki američkog hlapa (*H. americanus*) i otkrivanje hibridnih jedinki

unutar Europskog stoka koji se ne mogu identificirati klasičnim morfološkim metodama. Povezanost je temeljna komponenta populacijske dinamike. Proučavanje povezanosti unutar vrsta omogućuje određivanje učinkovite disperzije ličinki i migracije između populacija (Cowen i sur., 2007). Iako je opća biologija hlapa dobro poznata, nedostaju empirijska saznanja o povezanosti populacija. Kako faza pelagične ličinke hlapa traje nekoliko tjedana, moguća je disperzija ličinki na velike udaljenosti pomoću morskih struja. Huserbråten i sur. (2013) su istražili učinkovitost zaštićenog područja za hlapove, te ustanovili da ograničeno kretanje odraslih jedinki zajedno s visokim protokom gena upućuje na to da je povezanost populacija primarno određena disperzijom ličinki koja je pak uvjetovana prevladavajućim morskim strujama.

## 2. CILJEVI I HIPOTEZE DOKTORSKOG RADA

Na osnovu svega navedenog i potrebe za sagledavanjem statusa hlapa u Jadranskom moru, s ribarstvenog i ekološkog stajališta uporabom suvremenih metoda ribarstvene biologije i populacijske genetike, utvrđeni su sljedeći ciljevi:

Odrediti:

1. vremenski trend ulova, ribolovnog napora i ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE) hlapa (*H. gammarus*) u razdoblju 2008. - 2017. u pojedinim ribolovnim zonama iz podataka ovisnih o ribarstvu
2. vremenski trend pridnene temperature mora u razdoblju 2008. - 2017. na osnovu mjerenja i modeliranja
3. povezanost pridnene temperature mora i ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE) hlapa (*H. gammarus*) na istočnoj strani Jadrana korelacijskim analizama
4. demografsku strukturu hlapa (*H. gammarus*) u Jadranu na temelju biometrijskih osobina populacija (dužinsko - masena struktura, indeks kondicije, morfometrijski odnosi) iz podataka neovisnih o ribarstvu
5. utjecaj intenzivnog ribolovnog napora na genetičku raznolikost hlapa (*H. gammarus*) i rekonstruirati demografsku povijest koristeći mtDNA i mikrosatelite
6. genetičku strukturu hlapa (*H. gammarus*) u Jadranskom moru i procijeniti povezanost populacija unutar Jadrana te između Jadrana i Sredozemnog mora pomoću mikrosatelita
7. odrediti efektivnu veličinu populacije hlapa (*H. gammarus*) pomoću mikrosatelita
8. preporuke za buduće mjere regulacije ribolova i zaštite vrste i esencijalnih staništa hlapa (*H. gammarus*)

Temeljem navedenih ciljeva postavljene su sljedeće hipoteze:

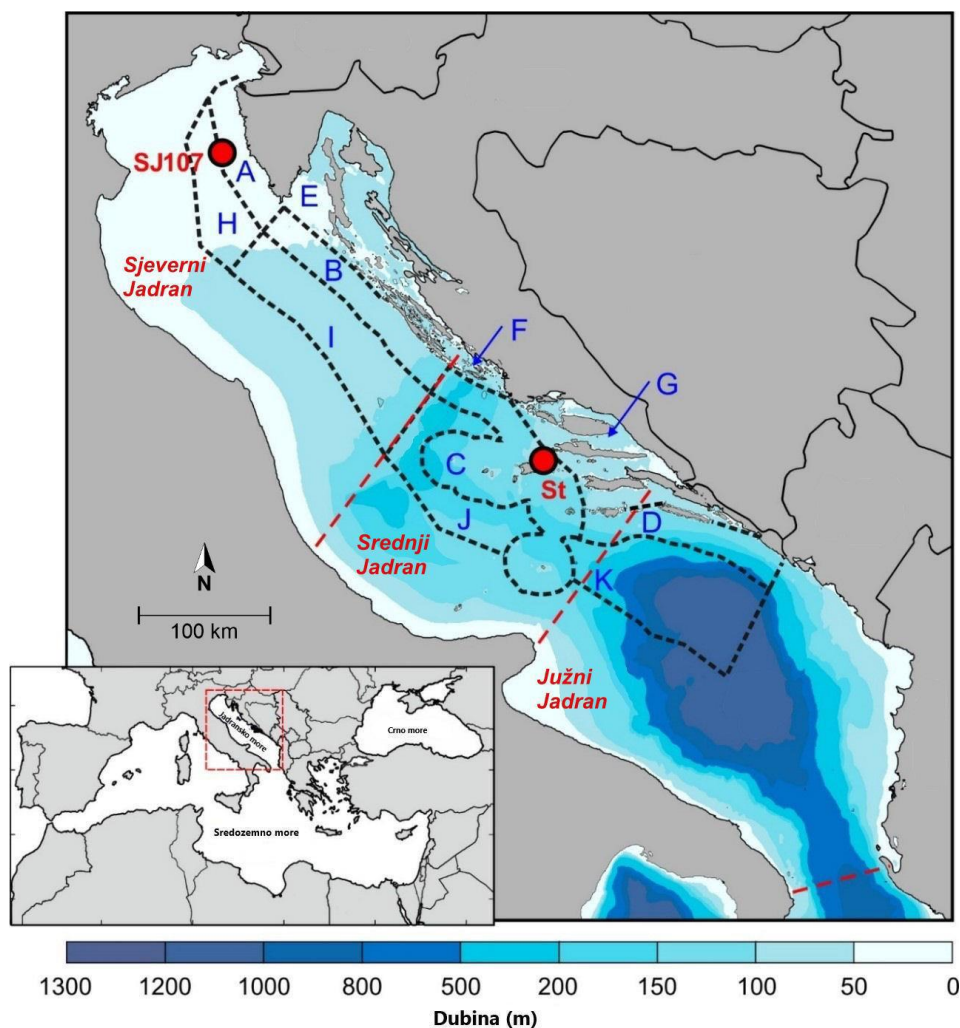
1. Postoji prostorna razlika u veličinskoj raspodjeli jedinki hlapa (*H. gammarus*) u odnosu na udaljenost od obale na hrvatskoj strani Jadrana
2. Niski ulov jedinki hlapa (*H. gammarus*) po jedinici ribolovnog napora (CPUE) je karakterističan za istočnu obalu Jadrana
3. Porast pridnene temperature mora u razdoblju (2008. - 2017.) doveo je do povećanja ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE) hlapa (*H. gammarus*) na istočnoj obali Jadrana

4. Postoji spolni dimorfizam rasta kod hlapa (*H. gammarus*) u Jadranu
5. Ribolov, gubitak staništa i drugi antropogeni učinci značajno ne utječu na genetičku raznolikost hlapa (*H. gammarus*) u Jadranu
6. Populacije hlapa (*H. gammarus*) u istraživanom području Jadrana su panmiktične
7. Visok stupanj protoka gena je svojstven populacijama hlapa (*H. gammarus*) sjevernog Jadrana
8. Pravni je okvir upravljanja hlapom (*H. gammarus*) kao ribolovnim resursom u gospodarskom ribolovu na istočnoj obali Jadrana zadovoljavajući.

### **3. MATERIJALI I METODE**

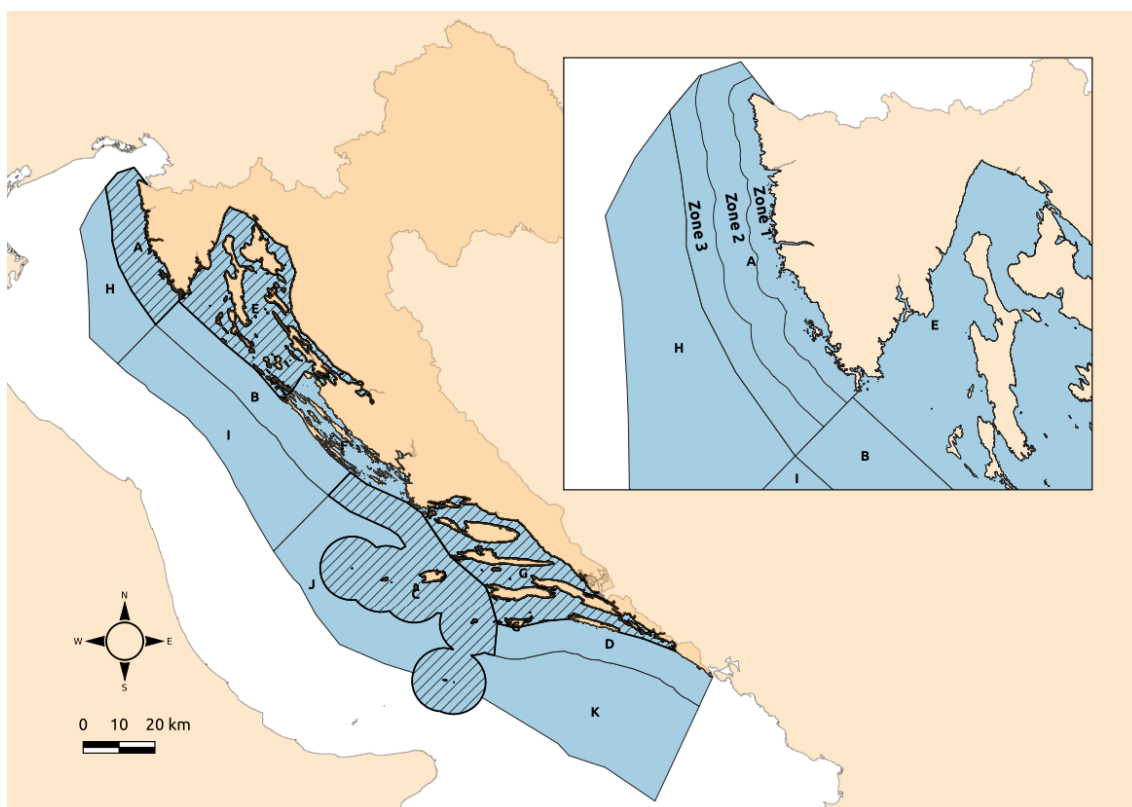
#### **3.1. Područje istraživanja**

Zbog administrativnih razloga i prikupljanja podataka hrvatsko ribolovno more je podijeljeno na manje jedinice odnosno ribolovne zone (ribolovne zone - otvoreno more A, B, C, D, unutarnje more E, F, G i ekološko i ribolovno zaštićene zone H, I, i J kao zaštićene ribolovne zone unutar hrvatskog gospodarskog pojasa). Službena statistika Ministarstva poljoprivrede, Uprave ribarstva, o ulova hlapa po ribolovnim zonama i ribolovnim alatima za razdoblje od 2008. - 2020. je korištena za procjenu trenda ulova u navedenom razdoblju. U smislu biomase, najveći dio ulova iz službene statistike (prema dostavljenim očevidnicima ribara u razdoblju 2008. - 2020.) potječe iz sjevernog Jadrana (ribolovne zone A i E). Za potrebe procjene utjecaja pridnene temperature mora na godišnje ulove hlapa i CPUE, ribolovne zone svrstane su u tri kategorije: sjeverni (ribolovne zone A, B i E), srednji (ribolovne zone C, F i G) te južni Jadran (ribolovna zona D) (Slika 3.1.1.).



**Slika 3.1.1.** Batimetrijska karta Jadranskog mora s postajama mjerenja SJ107 i Stončica (St) i podjelom na 11 ribolovnih zona (Slika je napravljena u programu Matlab 2014 i Corel Draw 2021)

Uzorkovanje jedinki hlapa, *Homarus gammarus* je provedeno od rujna 2016. do kolovoza 2017. godine uzduž istočne jadranske obale na četiri šira područja. Ukupno 92,4 % svih uzoraka je prikupljeno na području zapadne obale Istre (ribolovna zona A, do 35 m dubine, pjeskovito-muljevito dno), dok su ostali uzorci prikupljeni u širem akvatoriju triju otoka, Malog Lošinja (ribolovna zona E, do 50 m dubine, kamenito-pjeskovito-muljevito dno), Hvara (ribolovna zona G, do 70 m dubine, čvrsto dno) i Visa (ribolovna zona C, do 90 m dubine, čvrsto dno (Slika 3.1.2.)). Dodatno, za potrebe prostorne analize ostvarenog ulova, ribolovna zona A je podijeljena na tri podzone temeljem udaljenosti od obale; zona 1 (do 3. nautičke milje od obale), zona 2 (od 3. do 8. nautičke milje) te zona 3 (od 8. do 12. nautičke milje).



**Slika 3.1.2.** Područje uzorkovanja hlapa, *Homarus gammarus* u istočnom Jadranskom moru (ribolovne zone A, E, C, i G); ribolovna zona A je podijeljena na tri podzone na temelju udaljenosti od obale: zona 1 ( $< 3\text{ Nm}$ ), zona 2 (3 - 8 Nm) i zona 3 ( $> 8\text{ Nm}$ ).

## 3.2. Prikupljanje podataka

### 3.2.1. Okolišne varijable

U radu su korišteni podaci pridnene temperature izmjerenih na standardnim oceanografskim postajama te onih preuzetih iz numeričkog modela Regionalni sustav modeliranja oceana (ROMS) (Janeković i sur., 2014). Temperaturna mjerenja su obavljena na postaji Stončica (OC05a) u srednjem Jadranu ( $43^{\circ} 0' 0'' \text{ N}$ ,  $16^{\circ} 20' 0'' \text{ E}$ ) (dubina 95 m) i postaji SJ107 u sjevernom Jadranu ( $45^{\circ} 2' 52'' \text{ S}$ ,  $13^{\circ} 19' 0'' \text{ E}$ ) (dubina 35 m) u razdoblju od 2008. do 2017. godine. Ove postaje dio su transekata fizičke oceanografije praćenih najmanje pola stoljeća, Stončica od strane Instituta za oceanografiju i ribarstvo (Split) te postaja SJ107 od strane Instituta Ruđer Bošković (CIM Rovinj) (Marić i sur., 2012; Vilibić i sur., 2012) kroz projekte financirane od strane Hrvatskih voda i Ministarstva gospodarstva i održivog razvoja. Dubine na kojima su obavljena mjerenja odgovaraju tipičnim dubinama obitavanja hlapa na kojima se lovi u sjevernom (30 - 40 m) i srednjem (50 - 100 m) Jadranu. Mjerenje se uglavnom

provodilo jednom mjesečno ili jednom u dva mjeseca. Mjerenje je obavljeno u 64 % i 75 % svih mjeseci u promatranom razdoblju na postajama Stončica i SJ107 pomoću instrumenta koji se koristi za mjerenje vodljivosti, temperature i gustoće medija (CTD sonda IDRONAUT 316, SeaBird-25 i 911+) točnosti  $\pm 0,003$  °C na postaji Stončica te reverznim termometrima (Richter and Wiese, Berlin - točnost  $\pm 0:01$ °C; SiS RTM 4002 - točnost  $\pm 0:003$ °C) na postaji SJ107. Za potrebe ovog rada uzeti su podaci koji odgovaraju pridnenim mjerenjima (2 m iznad morskog dna).

### 3.2.2. Ribarstveno-biološki parametri

Ukupno su prikupljene 1273 jedinke hlapa, *H. gammarus*, u sjevernom i srednjem Jadranskom moru koje su korištene za morfometrijsku analizu. Od ukupnog uzorka, 1176 jedinki je prikupljeno eksperimentalno koristeći se vršama s mamcem veličine oka 40 mm u suradnji s lokalnim ribarima u ribolovnoj zoni A, kako bi se utvrdio udio nezrelih jedinki u ostvarenom ulovu s obzirom na udaljenost od obale. Korištene vrše su napravljene od najlonske mreže pričvršćene na metalni okvir s jednim ulazom napravljenim od žice. Vrše su najčešće postavljane na morsko dno u grupe od 12 vrša na 5 lokacija (dubina od 25 - 35 m) (Slika 3.2.1.). Različite vrste riba (kočarski prilov) su korištene kao mamac u vršama. Ukupno, 97 jedinki hlapa, koje su korištene samo za morfometrijsku analizu, je prikupljeno koristeći mreže stajačice (60 mm veličina oka) u suradnji s lokalnim priobalnim ribarima u ribolovnim zonama C, E i G na dubinama od 40 - 80 m (Slika 3.2.2.).

Vrše za lov ribe i vrše za lov velikih rakova (jastoga, hlapa i kuke *Scyllarides latus* (Latreille, 1803)) su vrlo star ribolovni alat, koji se ističe jednostavnošću i lakim rukovanjem. Izrađuje se od tekstilnog mrežnog tega i obruča (metalnog ili drvenog). Mogu biti valjkastog, stožastog i elipsastog oblika, ali i oblika boce sa skraćenim grlom ili bez grla, oblika srca, prizme, kocke i drugih oblika. Vrša može imati jedan ili više ulaza - vršnjaka. Mrežni teg na vršama može biti četverostranog (kvadratnog ili romboidnog) ili šesterostranog oblika. Po važećim propisima kod tekstilnog mrežnog tega, koji se danas plete od sintetičkog konca, veličina jedne stranice oka ne smije biti manja od 32 mm za vrše za lov ribe te 55 mm za vrše za lov velikih rakova. Najveći dopušteni broj vrša za lov ribe iznosi 50, dok za velike rakove iznosi 150 komada (NN 84/2015). Prilikom rada sa vršama potrebna je upotreba mamca, bez koje se ne može loviti. Mamac koji se najčešće upotrebljava u lovu hlapova i jastoga razlikuje se ovisno o području ribolova. Najčešće se koristi svježa ili usoljena riba svih vrsta koje imaju



manju komercijalnu vrijednost. Za lov hlapova, na području zapadne obale Istre, kao mamac koriste se komadi ugora, špara, šaruna i arbuna batoglavca. Na srednjem i južnom Jadranu upotrebljavaju se srdela, crnej, bukva i šarun za lov jastoga i hlapa.



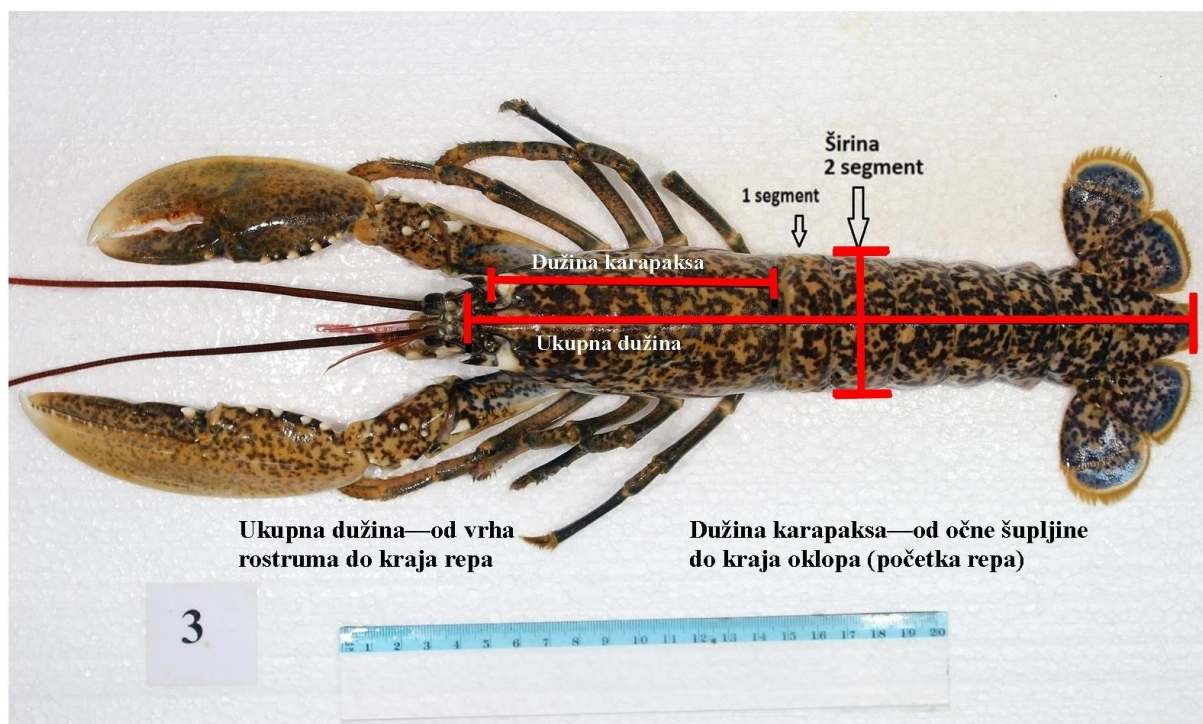
**Slika 3.2.1.** Vrše korištene za lov hlapa *Homarus gammarus* (izvor: Mišo Pavičić)

Psara je jednostruka mreža stajaćica koja je namijenjena za ulov pridnenih vrsta riba, prvenstveno hrskavičnjača (Slika 3.2.2.). Zbog visokog koeficijenta nabiranja, lovnost mreže je puno učinkovitija u odnosu na ostale jednostruke mreže stajaćice. Veličina jedne stranice oka na mrežama psarama može biti od 60 do 120 mm, ali najčešće se koristi između 60 ili 70 mm. Izrađene su od sintetičkog uvijenog konca različite debljine (210/6, 210/9 ili 210/12) ili od multifilamenta (0,20\*6). Koristi se na području cijelog Jadrana s drugačijim karakteristikama izrade. Tijekom ovog istraživanja, psare su korištene uglavnom oko otoka Drvenik Veli i Hvara prilikom ribolova hlapa.



**Slika 3.2.2.** Mreža psara, veličina oka 60 mm, korištene za lov hlapa *Homarus gammarus*  
(izvor: Mišo Pavičić)

Ulov po jedinici ribolovnog napora (engl. *Catch per unit effort (CPUE)*) je određen kao masa ulovljenih jedinki hlapa po jednoj vrši. Sve jedinke hlapa su mjerene na brodu ili prilikom iskrcaja na obali. Biometrijska mjerenja (dužina glavopršnjaka (engl. *carapace length (CL)*), ukupna dužina (engl. *total length (TL)*), i širina zatka (engl. *abdomen width (AW)*)) su mjerene koristeći se pomičnom mjerkom i metrom do točnosti od 0,1 cm (Slika 3.2.3.). Jedinkama se također mjerila masa (*W*) do točnosti od 0,1 g dok se spol jedinki određivao makroskopski uz iskazivanje omjera spolova (mužjak (*M*) / ženka (*F*)). Dužina glavopršnjaka (*CL*) je mjerena od stražnjeg dijela očne šupljine do kraja glavopršnjaka. Ukupna dužina (*TL*) je mjerena od vrha rostruma do kraja zatka (abdomena). Širina zatka (*AW*) je mjerena na najširem dijelu drugog segmenta zatka (Debuse i sur., 2001; Lizárraga-Cubedo i sur., 2003). Indeks kondicije ili *W/CL* indeks (Martínez-Calderón i sur., 2018) je procijenjen od jedinki korištenih u morfometrijskoj analizi te je izračunat kao ukupna masa (*W*) podijeljena s dužinom glavopršnjaka (*CL*).



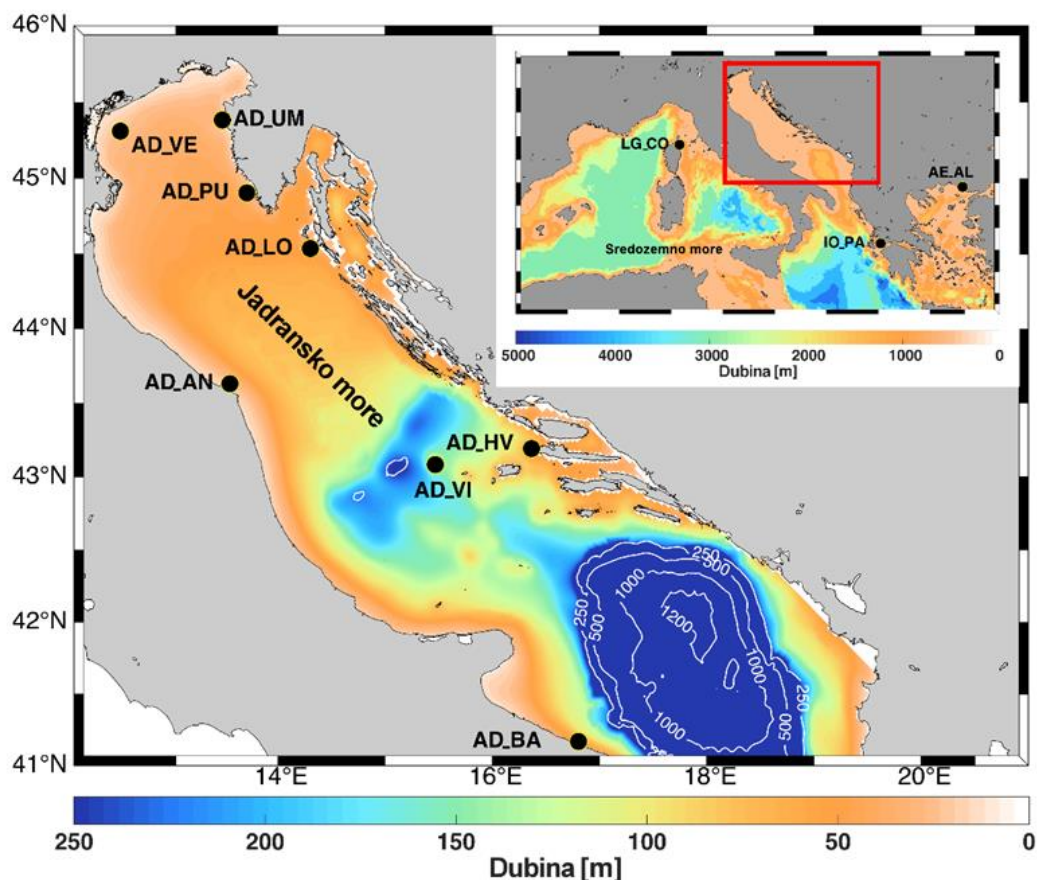
**Slika 3.2.3.** Biometrijsko mjerenje hlapa (*Homarus gammarus*) s označenim mjernim varijablama (izvor: Mišo Pavičić)

### 3.2.3. Uzorkovanje tkiva i DNA izolacija

Ukupno je 331 uzorak hlapa prikupljen za genetičku analizu iz srednjeg i istočnog Sredozemnog mora (Slika 3.2.4., Tablica 3.1.). Prikupljanje uzoraka u Jadranskom moru je bilo intenzivnije, pa se tako hlap skupljao na osam različitih lokacija u sjevernom i srednjem Jadranu s istočne i zapadne strane bazena tijekom 2017. i 2018. godine. Prikupljanje uzoraka se primarno odvijalo u suradnji s lokalnim gospodarskim ribarima. Svako prikupljenoj jedinki hlapa je uzet uzorak tkiva (dio pleopoda - nožice za hodanje) i pohranjen u 96 postotnom etanolu za genetičku analizu. Također, mjerena je dužina glavopršnjaka (mm) i svakoj jedinki je određen spol. Biološki uzorci hlapa iz Jonskog, Egejskog i Ligurskog mora sakupljeni su u suradnji sa inozemnim znanstvenim institucijama. U Jonskom moru je sakupljanje vršeno tijekom 2001. godine te su uzorci zaprimljeni u obliku izolirane DNA, dok je u Ligurskom moru sakupljanje provedeno u razdoblju od 2015. do 2017. godine te su sačuvana tkiva jedinki služila za daljnju molekularnu analizu. Veličina uzorka je varirala od 4 do 48 ovisno o lokaciji. Osim uzoraka hlapa prikupljeni su i metapodaci o mjestu i datumu ulova te ribolovnoj regiji.



Za jedinke iz Jadranskog mora poznate veličine, dužina glavopršnjaka od 87 mm je korištena kao granica za određivanje spolno zrelih i nezrelih jedinki (Phillips, 2013).



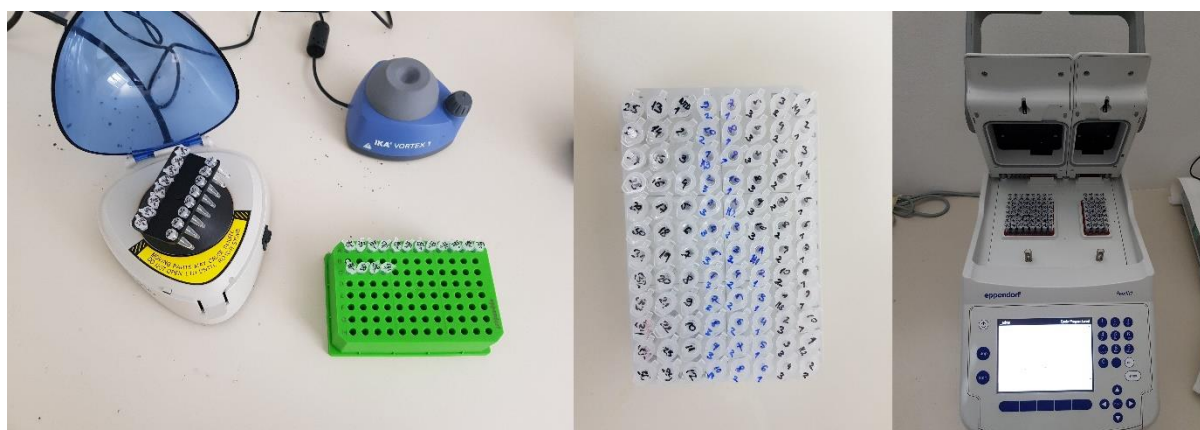
**Slika 3.2.4.** Batimetrija srednjeg i istočnog Mediterana s lokacijama uzorkovanja hlapa, *Homarus gammarus* za genetičku analizu. Prva dva slova su oznaka geografskog podrijetla uzoraka (AD, Jadransko more; IO, Jonsko more; AE, Egejsko more; LG, Ligursko more) dok druga dva slova označuju lokaciju uzorkovanja (VE, Venecija; UM, Umag; PU, Pula; LO, Lošinj; AN, Ankona; HV, Hvar; VI, Vis; BA, Bari; CO, Korzika; PA, Patras; AL, Alexandroupoli). Informacije o uključenim populacijama i regionalnoj podijeli su prikazane u tablici 3.1. Izobate označuju dubine od 250, 500, 1000 i 1200 m. Boje predstavljaju različite dubine.

Ukupna genomska DNA je izolirana iz tkiva pomoću alkalne lize tkiva s proteinaze K, te je primijenjen standardni fenol-kloroform protokol izdvajanja. Dio tkiva je ostavljen preko noći u 300  $\mu$ l Lysis pufera i 4  $\mu$ l proteinaze K u termomikseru na 55 °C kako bi se razradio. Jednak volumen fenol-kloroforma je dodan nakon inkubacije te je uzorak centrifugiran 5 min na 13000 okretaja/min. Nakon centrifugiranja otpipetirana je gornja frakcija u kojoj se nalazila otopljena DNA. Nakon toga dodan je dvostruki volumen 96 % etanola te je ponovno

centrifugirano 15 min na 13 000 okretaja/min. Nakon centrifuge odstranjen je etanol i precipitacija je ponovljena sa 500  $\mu$ l 70 % etanola. Nakon centrifuge (5 min, 13 000 okretaja/min) odstranjen je alkohol te je sadržaj posušen do ishlapljenja etanola. TE pufer je dodan posušenim uzorcima da se DNA otopi. Od količine dobivenog taloga ovisio je volumen dodanog TE pufera (20-40  $\mu$ l). Čistoća i koncentracija DNA je izmjerena spektrofotometrom (IMPLEN N50, Njemačka). Nakon toga, pripravljena je radna koncentracija (15 ng/ $\mu$ l) za svaki uzorak potrebna za lančanu reakciju polimerazom (engl. *Polymerase Chain Reaction, PCR*). Uzorci su do daljnje obrade čuvani na -20°C. Na 20 nasumično odabranih uzoraka, provjera kvalitete DNA je provedena gel elektroforezom.

### 3.2.4. Genotipizacija mikrosatelitnih biljega

Lokusi mikrosatelitnih biljega odabrani su pregledom recentne literature povezane s istraživanjima populacijske genetike hlapa u Europi i svijetu. U ovom istraživanju korišteno je 15 mikrosatelitnih biljega specifičnih za hlapa prema protokolu opisanom u Ellis i sur. (2015a), od čega su 12 biljega izvorno opisani u André i Knutsen (2010) te tri u Ellis i sur. (2015a). Parovi mikrosatelitnih početnica korištenih za analizu genotipova su prikazani u tablici 3.2. Pomoću tri združene PCR reakcije provedena je amplifikacija mikrosatelitnih lokusa. Svaka združena reakcija je obuhvaćala pet mikrosatelitnih biljega. Prva reakcija (M1) je obuhvaćala biljege HGA8, HGB4, HGC118, HGD106 i HGD117, druga reakcija (M2) je uključila biljege HGC103, HGB6, HGC120, HGD129 i HGC6, a treća (M3) HGD110, HGC129, HGC131b, HGC111 i HGD111. Fluorescentnim bojama označen je po jedan član svakog para početnica kako bi se raspoznavali PCR produkti iste veličine. Korištene su plava (FAM), zelena (VIC), crna (NED) i crvena (PET) boja (Tablica 3.2.). Početnice su otapane u TE puferu kako bi se dobila otopina koncentracije 100  $\mu$ M. Nakon toga, izrađena je radna otopina svih početnica u kojoj je koncentracija svake iznosila 2  $\mu$ M (engl. *primer mix*) te se dalje koristila za pripremu PCR reakcija (Slika 3.2.5.).



**Slika 3.2.5.** Priprema uzoraka za PCR reakciju

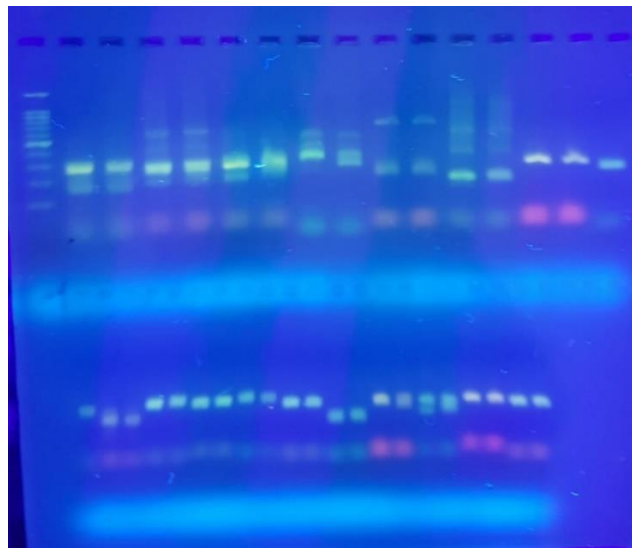
Lančanom reakcijom polimerazom (PCR) umnoženi su mikrosatelitni lokusi (Tablica 3.3.) korištenjem uređaja Eppendorf Mastercycler Nexus GX2. Mikrosateliti su umnoženi u 10  $\mu\text{L}$  volumena reakcije s 10 ng DNA uzorka korištenjem Type-It Multiplex kita (Qiagen). Konačne koncentracije od 0.2  $\mu\text{M}$  su ujednačene za sve početnice. Za sve združene PCR reakcije korišten je isti protokol sa sljedećim koracima: početna denaturacija na 95  $^{\circ}\text{C}$  u trajanju od 5 minuta, zatim 26 ciklusa denaturacije na 95  $^{\circ}\text{C}$  trajanja 30 s, prijanjanje početnica na temperaturi od 60  $^{\circ}\text{C}$  u trajanju od 90 s i produljenje na 72  $^{\circ}\text{C}$  u trajanju od 30 s. Završno produljenje postavljeno je na temperaturi od 60  $^{\circ}\text{C}$  u trajanju od 30 minuta.

**Tablica 3.3.** Sastav PCR reakcijske smjese

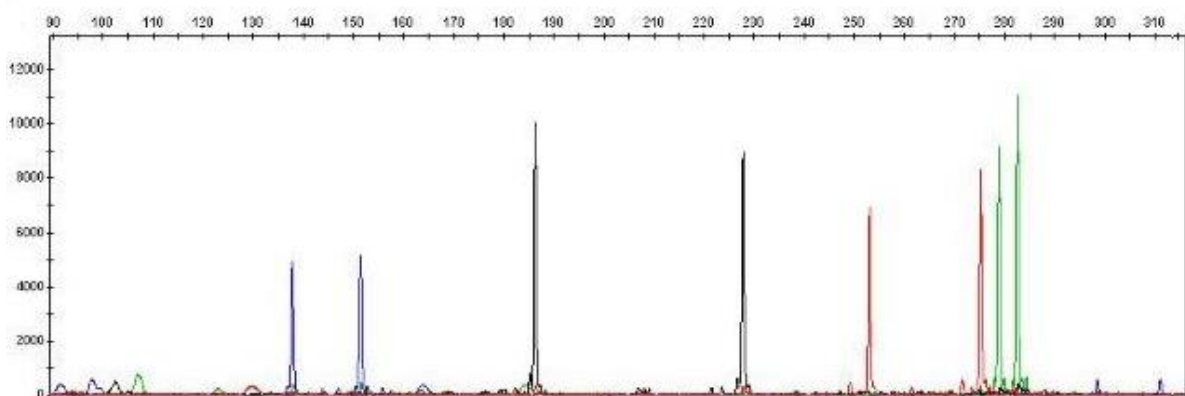
Sastavnice	Volumen/reakcija	Finalna koncentracija
Type-it Mix	5 $\mu\text{l}$	3 mM $\text{MgCl}_2$
Primer Mix	1 $\mu\text{l}$	0,2 $\mu\text{M}$ svake početnice
Voda oslobođena RNase	3 $\mu\text{l}$	-
DNA	1 $\mu\text{l}$	15 ng
Ukupni volumen reakcije	10 $\mu\text{l}$	

Za preliminarnu provjeru umnožavanja mikrosatelitnih lokusa lančanom reakcijom polimerazom upotrebljena je elektroforeza na 3 % agaroznom gelu koji je prethodno obojen s 5  $\mu\text{L}$  SYBR<sup>TM</sup> Safe (ThermoFisher Scientific) kako bi se DNA fragmenti pripremili za detekciju pod UV svjetlom transiluminatora. Od svakog uzorka, 5  $\mu\text{L}$  PCR produkta je pomiješano s 1  $\mu\text{L}$  boje za nanošenje na gel (5x GelPilot DNA Loading Dye, QIAGEN) i

stavljeno u jažice gela. Elektroforeza je trajala 40 minuta uz napon od 100 V. Uzorci koji su na gelu izloženom UV svjetlom transiluminatora pokazivali DNA produkt u veličinskom rasponu od 100 - 350 bp (Slika 3.2.6.) poslani su u DNA servis Macrogen (Seoul, Južna Koreja) na daljnju obradu kapilarnom elektroforezom na uređaju ABI3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems®). Ovaj uređaj zahtijeva fluorescentno označene početnice. Dužinski standard 500 Liz (Applied Biosystems) označen narančastom (LIZ) bojom je dodan PCR produktima. Rezultati u obliku .fsa podataka su pregledavani te je određivanje mikrosatelitnih alela izvršeno je uz pomoć računalnog programa Genemapper v.3.5 (Applied Biosystems) (Slika 3.2.7.). Da bi se otklonile potencijalne greške prilikom očitavanja svaki uzorak je pregledan od strane dvije osobe.



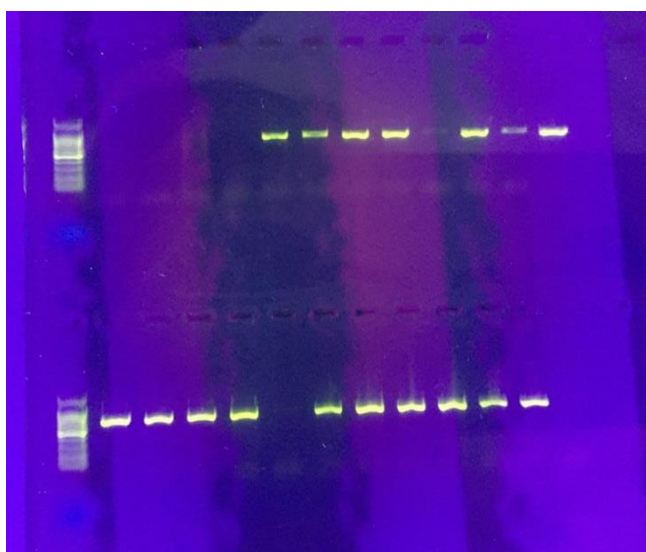
**Slika 3.2.6.** Provjera umnažanja mikrosatelitnih lokusa na 3% gelu pod UV svjetlom



**Slika 3.2.7.** Detektirani fragmenti lokusa HGD106, HGB4, HGA8, HGC118, HGD117 i HGD106 u *GeneMapper* softverskom paketu nakon elektroforeze na ABI Prism genetičkom analizatoru. (Izvor: Mišo Pavičić)

### 3.2.5. Podjedinica I citokrom - oksidaze (COI) regija mtDNA

Dio gena citokrom c oksidaze podjedinice 1 (COI) mtDNA amplificiran je na manjem setu uzorka (vidi tablicu 3.1. za šifre populacija) s parom općih početnica LCO i HCO (Folmer i sur., 1994.). PCR uvjeti bili su sljedeći: početna denaturacija 15 minuta na 95 °C, zatim 5 ciklusa denaturacije 30 s na 94 °C, prijanjanje početnica 30 s na 45 °C i produljenje na 72 °C tijekom 1 min, nakon čega slijedi 35 ciklusa denaturacije 30 s pri 94 °C, prijanjane početnica na 50 °C tijekom 30 s i produljenje na 72 °C tijekom 1 min, te završno produljenje na 72 °C tijekom 10 min. Za preliminarnu provjeru umnožavanja PCR produkata upotrebljena je elektroforeza na 1 % agaroznom gelu koji je prethodno obojen s 5 µL SYBR™ Safe (ThermoFisher Scientific) kako bi se mtDNA fragmenti pripremili za detekciju pod UV svjetlom transiluminatora. Od svakog uzorka, 5 µL PCR produkta je pomiješano s 1 µL boje za nanošenje na gel (5x GelPilot DNA Loading Dye, QIAGEN) i stavljeno u jažice gela. Elektroforeza je trajala 30 minuta uz napon od 90 V. Uzorci koji su na gelu izloženom UV svjetlom transiluminatora pokazivali mtDNA produkt u veličinskom rasponu od 500 - 650 bp (Slika 3.2.8.) poslani su na sekvencioniranje. Pročišćavanje i sekvenciranje PCR produkata napravljeni su u servisu Macrogen (Amsterdam, Nizozemska) na ABI 3730 automatskom sekvenceru. Problemi pri prikupljanju svježih uzoraka su postojali. Stoga, dio uzoraka koji su uspješno genotipizirani na mikrosatelitne markere trebali su biti isključeni iz mtDNA analize zbog lošeg umnažanja produkta.



**Slika 3.2.8.** Provjera PCR produkata na 1 % gelu pod UV svjetlom



**Table 3.1.** Informacije o uzorcima hlapa *Homarus gammarus* (lokacija, oznake, broj uzorka, period i geografske koordinate) koji su genetički testirani s 14 neutralnim mikrosatelitnim biljezima (SSR) i mtDNA COI biljegom. Prva dva slova populacijske oznake označavaju geografsko podrijetlo uzoraka (AD, Jadransko more; IO, Jonsko more; AE, Egejsko more; LG, Ligursko more), druga dva slova označavaju lokaciju uzorkovanja, dok zadnje slovo označava razvojni stadij jedinke (A, odrasli; J, nedorasli).

Lokacija	Država (GSA)	Populacijske oznake	Broj uzoraka		Godina	Širina	Dužina
			SSR	mtDNA			
Venecija	Italy (GSA 17)	AD_VE_A	20	-	2018.	45.311057	12.531770
Umag	Croatia (GSA 17)	AD_UM_A	48	7	2017. - 2018.	45.385039	13.4825
		AD_UM_J	8	-			
Pula	Croatia (GSA 17)	AD_PU_A	48	3	2017. - 2018.	44.904897	13.710469
		AD_PU_J	24	-			
Lošinj	Croatia (GSA 17)	AD_LO_A	34	8	2017. - 2018.	44.536533	14.303519
Ankona	Italy (GSA 17)	AD_AN_A	14	6	2018.	43.631994	13.553164
		AD_AN_J	16	-			
Hvar	Croatia (GSA 17)	AD_HV_A	39	11	2017. - 2018.	43.191894	16.366064
Vis	Croatia (GSA 17)	AD_VI_A	28	14	2017. - 2018.	43.083017	15.468786
Bari	Italy (GSA 18)	AD_BA_A	-	3	2017.	41.168583	16.803222
Korzika	France (GSA 8)	LG_CO_A	28	5	2015. - 2017.	42.6373	9.475144
Patras	Greece (GSA 20)	IO_PA_A	4	2	2001.	38.291290	21.127216
Alexandroupoli	Greece (GSA 22)	AE_AL_A	20	4	2001.	40.816339	25.869478
<b>Ukupno</b>			331	63			

**Table 3.2.** Sekvence početnica, fluorescentne boje, kombinacija početnica u tri multiplex PCR reakcije (M1, M2, M3), ponavljajući motiv, broj alela i izvor za svaki mikrosatelitni biljeg.

Multiplex PCR	Lokus	Uzvodna i nizvodna početnica	Boja	Motiv	Raspon (bp)	Broj alela	Izvor
M1	HGA8	F: TTGAACAGCAAAAACGTAGTG R: ACATCACACCACAACACTCTG	6-FAM	Tetra	269 - 325	12	André i Knutsen (2010)
	HGB4	F: TTCGCTAGTCCGTCTGTCC R: ACGAAGGATTACGGCACAT	NED	Tetra	187 - 231	6	André i Knutsen (2010)
	HGC118	F: TCGTTTCCAATGGTCTCG R: AAGTTGAAGGAGGTGCTTGAC	VIC	Tetra	262 - 296	7	André i Knutsen (2010)
	HGD106	F: CATACCGAACCAAGTGTAAC R: GCCCACAGTAACAGATAAGAG	6-FAM	Tetra	139 - 167	7	André i Knutsen (2010)
	HGD117	F: GCCTACTCTCTCCTTCCTTC R: CCTGTCTATCGTTCTGTTTG	PET	Tetra	254 - 302	10	Ellis i sur. (2015a)
M2	HGC103	F: TGGTATTATGGCTACGACAAG R: CAAAAGACGGGTTTCAATC	6-FAM	Tetra	220 - 254	11	André i Knutsen (2010)
	HGB6	F: AGAAGGGAGGTGGGTGAG R: ATGAACCCGTCTGAGGTTATC	VIC	Tetra	150 - 190	7	André i Knutsen (2010)
	HGC120	F: CCCTCTCTCATCCCTCTTATC R: ACCCTTATTCATCCATCCTTC	VIC	Tetra	251 - 297	13	André i Knutsen (2010)
	HGD129	F: TTGAACGCTATGAACTGAGAC R: AGGCATACAAATAAACGCAC	NED	Tetra	234 - 290	10	Ellis i sur. (2015a)
	HGC6	F: AGGCTGCATAGTTACACGTTTG R: ACCCAGTGTCAAGGAATAGTCC	PET	Tetra	274 - 318	6	André i Knutsen (2010)
M3	HGD110	F: ACGGATGGATGGATAGGTAG R: ATTCTCTGGCAGGTCAAGAC	6-FAM	Tetra	176 - 220	11	Ellis i sur. (2015a)
	HGC129	F: TTGAACGCTATGAACTGAGAC R: AGGCATACAAATAAACGCAC	6-FAM	Tetra	247 - 291	6	André i Knutsen (2010)
	HGC131b	F: CATGGGTGATTAGGATGACC R: TGGCACCATAGGTTTCGTATC	VIC	Tetra	226 - 276	12	André i Knutsen (2010)
	HGC111	F: TGAAGCGTGGAGGACCTT R: CACACCTGTCTGGCTACACC	NED	Tetra	160 - 190	10	André i Knutsen (2010)
	HGD111	F: TAAAGGTGATGTTCAAGTCCAC R: CTTGACCCGCTACCAATAC	PET	Tetra	231 - 275	8	André i Knutsen (2010)

### **3.3. Obrada podataka**

#### **3.3.1. Modeliranje pridnene temperature mora**

Dnevne vrijednosti Regionalnog sustava modeliranja oceana (ROMS) korištene su za reprodukciju temperaturnih promjena u Jadranu između 2008. i 2017. Ovaj model konačnih razlika sadrži potpunu trodimenzionalnu nelinearnu hidrodinamiku i termodinamiku koja se temelji na primitivnim jednadžbama gibanja, jednadžbi kontinuiteta, jednadžbama očuvanja topline i soli i jednadžbi stanja. ROMS koristi s-koordinatni sustav u kojem je gornja ploha slobodna površina mora, a donja morsko dno (Janeković i sur., 2014). U vertikalnom smjeru primitivne jednadžbe su diskretizirane korištenjem S koordinate koja prati batimetriju. Nelinearni numerički algoritmi koje koristi ROMS detaljno su opisani u Shchepetkin i McWilliams (2005, 2009). Bočni granični uvjeti preuzeti su iz AREG modela Jadranskog prognostičkog sustava (AFS) (Oddo i sur., 2006), dok je atmosfersko forsiranje propisano bulk formulacijom (Fairall i sur., 1996), koristeći sve potrebne varijable iz operativnog lokalnog modela ALADIN/HR (Tudor i sur., 2013). ROMS horizontalna rezolucija je 2 km, a ima 20 sigma slojeva u vertikalnoj. Riječni dotoci su uvedeni u model oceana slijedeći klimatologiju Vilibić i sur. (2016) za sve rijeke osim rijeke Po za koje su korišteni stvarni dnevni dotoci. Sve ostale detalje o postavci modela daju Janeković i sur. (2014) i Vilibić i sur. (2016). U radu su analizirane temperature modelirane na najnižoj sigma koordinati, koja otprilike odgovara morskom dnu. Dodatno, izračunati su prosječne vrijednosti pridnene temperature za svaku ribolovnu zonu i godinu/sezonu uzimajući u obzir svaku točku modela unutar poligona ribolovne zone.

Iz prikupljenih podataka o pridnenoj temperaturi s postaja i numeričkog modela izračunat je vremenski niz pridnene temperature mora. Mann-Kendall neparametarski test korišten je za procjenu značaja trenda.

#### **3.3.2. Trendovi ulova hlapa na istočnoj jadranskoj obali**

Službena statistika Ministarstva poljoprivrede, Uprave ribarstva ulova hlapa po ribolovnoj zoni i ribolovnom alatu za razdoblje od 2008. - 2020. je korištena za analizu godišnjih ulova hlapa po ribolovnim zonama na istočnoj obali Jadrana. Podaci odgovaraju otvorenoj sezoni lova hlapova koja je propisana i traje od 5. svibnja do 31. kolovoza (NN 42/2016). Prije samih analiza, podaci su standardizirani kao ulov po jedinici ribolovnog napora (CPUE) izražen kao

biomasa hlapa (*H. gammarus*) ulovljenog po ribolovnom danu kako bi se izbjegle greške u interpretacije ostvarenog ulova. Za daljnje analize trendova ulova, ribolovnog napora i CPUE po ribolovnim zonama te utjecaja pridnene temperature mora na CPUE, dio službenih podataka (2008. - 2017.) o ulovu je izuzet iz analize zbog nemogućnosti određivanja ribolovnog napora kako ne bi utjecali na rezultate. Značajnost trenda ulova hlapa po ribolovnim zonama u razdoblju 2008. - 2017. testirana je Mann-Kendall neparametarskim testom.

Korištenje CPUE-a kao indeksa brojnosti temelji se na odnosu koji se široko koristi u kvantitativnoj analizi ribarstva. Odnos povezuje ulov (C) u vremenu (t) (dan, mjesec, godina) s brojnosti i ribolovnim naporom:

$$C(t) = q E(t) N(t),$$

gdje je E(t) ribolovni napor u vremenu, N(t) brojnost ili gustoća populacije u vremenu i q udio brojnosti koji je ulovljen s jednom jedinicom ribolovnog napora ili koeficijent lovnosti (engl. *catchability*). Preformuliranje jednadžbe dovodi do veze između CPUE i brojnosti:

$$CPUE(t) = C(t) / E(t) = q N(t),$$

što čini CPUE proporcionalan brojnosti, s q konstantnim tijekom vremena (Maunder i sur., 2006). Kako se koeficijent lovnosti mijenja tijekom vremena, potrebne su prilagodbe učinaka lovnosti u prostoru i vremenu što se naziva standardizacija ulova i napora (engl. *catch-effort standardization*). CPUE treba pažljivo interpretirati jer i nakon standardizacije još uvijek nema jamstva da je linearno proporcionalan brojnosti. Također, na stopu ulova rakova u komercijalnom ribarstvu mogu utjecati promjene u okolišnim čimbenicima, primjerice promjene u temperaturi mora (Koeller, 1999). CPUE i veličinska raspodjela ulova čine temelj većine metoda procjena ribarstva rakova pa tako i hlapa (Addison, 1997). Unatoč raznim dostupnim metodama i modelima procjena brojnosti stoka poput deplecijskih modela, rekonstrukcije ulova iz povijesnih podataka i metode ulova - tagiranja - ponovnog ulova, CPUE je ponekad jedini dostupni indeks.

Korelacija pridnene temperature mora s ulovom po jedinici ribolovnog napora (CPUE) s obzirom na pojedinačne ribolovne zone i njihove regionalne grupe (Sjeverni Jadran, zone A, B i E; Srednji Jadran, zone C, F i G) ispitana je linearnom regresijom u programu STATISTICA.

### 3.3.3. Morfometrijski odnosi i W/CL indeks

Morfometrijski odnosi i alometrija između mužjaka i ženki hlapa su ispitivani kod jedinki za koje se mogao odrediti spol (N = 936). Morfometrijski odnosi se koriste za predviđanje vrijednosti Y od X, dok se alometrija koristi za testiranje kako jedna varijabla ovisi o drugoj (Warton i sur., 2006). U ovom istraživanju sljedeći morfometrijski odnosi su ispitani za mužjake i ženke hlapa: W vs. CL, TL vs. CL, W vs. TL i AW vs. CL. Odnosi W vs. CL i W vs. TL su opisani s eksponencijalnom jednačbom

$$y = a x^b \text{ (Ricker, 1973),}$$

dok su odnosi TL vs. CL i AW vs. CL opisani linearnom jednačbom

$$y = a x + b.$$

Morfometrijski odnosi su ispitani običnom regresijom najmanjih kvadrata (Warton i sur., 2006) te za svaki odnos nagibi regresijskih krivulja su uspoređeni između spolova s Student-t testom (Zar, 1999). Logaritamski transformirani podaci su se koristili za testiranje alometrije, što je uključivalo testiranje odgovaranja nagiba pravca specifičnoj vrijednosti (izometrija;  $b = 1$  za dužinsko-dužinske odnose,  $b = 3$  za dužinsko-masene odnose) (Hartnoll, 1982). Smanjena ili standardizirana regresija glavne osi (engl. *standardised major axis regression*) kao odgovarajuća metoda za ovu svrhu je korištena za izračun nagiba krivulje (Warton i sur., 2006) te su nagibi testirani na odstupanja od izometrije Student-t testom.

### 3.3.4. Analiza dinamike ulova hlapa s obzirom na sezonu i spol

Za procjenu sezonske varijacije ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE) i W/CL indeksa, razdoblje uzorkovanja je analizirano sezonski; jesen (listopad - prosinac), zima (siječanj - ožujak), proljeće (travanj - lipanj) i ljeto (srpanj - rujanj). Permutacijska analiza varijanci PERMANOVA (Anderson, 2001) je korištena za testiranje razlika CPUE između sezona (fiksno, 4 razine - jesen, zima, proljeće i ljeto) i razlika u dužinama i masi (CL, TL, W) između ribolovnih zona (fiksno, 3 razine - 1, 2, i 3). Gdje je bilo potrebno *post-hoc* usporedba parova je primijenjena za daljnje testiranje. PERMANOVA je korištena za testiranje razlika W/CL indeksa između sezone i spola (fiksno, 2 razine - ženka i mužjak). Kako je W/CL indeks uvjetovan veličinom jedinke (Martínez-Calderón i sur., 2018; Briones-Fourzán i sur., 2009), CL je postavljena kao kovarijanca za daljnje testiranje sezonske varijacije W/CL indeksa.

PERMANOVA je napravljena u PRIMER-E programu (Clarke i Gorley, 2015) s paketom PERMANOVA+ (Anderson i sur., 2008).

Obična regresija najmanjih kvadrata, smanjena regresija glavne osi i grafovi su napravljeni u programu SigmaPlot v.14.0 (Systat Software, Inc., San Jose California USA, [www.systatsoftware.com](http://www.systatsoftware.com)) i PAST v.4.05 (Hammer i sur., 2001). R program je također korišten za izradu grafova (R Core Team).

### 3.3.5. Genetička raznolikost

Postojanje i učestalost nul-alela za svaki lokus ispitano je računalnim programima MICROCHECKER v.2.2.3 (Van Oosterhout i sur., 2004) i FREENA (Chapuis and Estoup, 2007). Koeficijent križanja u bliskom srodstvu (fiksacijski indeks,  $F_{IS}$ ), neravnoteža vezanosti gena (engl. *linkage disequilibrium*, LD), procjena odstupanja genotipova od Hardy-Weinbergove ravnoteže (HWE), uočena i očekivana heterozigotnost ( $H_o$ ,  $H_e$ ) su ispitani programom GENEPOP 4.0 (Raymond i Rousset, 1995; Rousset, 2008). Srednji broj alela po lokusu ( $A$ ) i efektivni broj alela po lokusu ( $A_e$ ) su izračunati programom POPGENE 1.32 (Yeh i sur., 1999). Alelna bogatstvo ( $A_r$ ) i razlike u alelnom bogatstvu i heterozigotnosti između populacija su izračunati u programu FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2002). Gdje god je bilo potrebno, razina statističke značajnosti je usklađena Bonferroni metodom za višestruko testiranje (Rice, 1989).

Odnos adaptabilnih vrijednosti genotipova u promatranoj populaciji i heterozigotnosti se istražio mjerenjem genetičke raznolikosti. Četiri različite mjere heterozigotnosti za svaku jedinku s poznatom duljinom glavopršnjaka i spolom procijenjene su kao udjeli heterozigotnih genotipova s funkcijom GENHET.R (Coulon, 2010) u R programu (R Core Team, 2017).

Četiri izračunate mjere heterozigotnosti su:

- a) Standardizirana heterozigotnost na temelju srednje uočene heterozigotnosti ( $H_s_{obs}$ ) izračunata je dijeljenjem udjela heterozigotnih lokusa (PHt) po jedinci sa srednjom uočenom heterozigotnošću tipiziranih lokusa. Ova je procjena vrlo konzervativna i ima dobre rezultate u slučajevima kada podaci pokazuju nul-alele ili ispadanje alela (Coltman i sur., 1999).

b) Standardizirana heterozigotnost na temelju srednje očekivane heterozigotnosti ( $Hs\_exp$ ) izračunata je dijeljenjem udjela heterozigotnih lokusa (PHt) po jedinki sa srednjom očekivanom heterozigotnošću tipiziranih lokusa (Amos i sur., 2001).

c) Unutarnja srodnost (engl. *Internal relatedness*, *IR*) je mjera roditeljskog srodstva koja mjeri heterozigotnost po učestalosti alela. Izračunava se po formuli:  $2H - \sum f_i / 2N - \sum f_i$ , gdje je H broj homozigotnih lokusa u jedinki, N je ukupan broj lokusa, a  $f_i$  je učestalost i-tog alela u genotipu. IR pretpostavlja vrijednosti između -1 (svi heterozigoti) i 1 (svi homozigoti). Negativne IR vrijednosti ukazuju na više jedinki križanih van srodstva, a pozitivne IR vrijednosti upućuju na više jedinki križanih u srodstvu unutar proučavanog uzorka (Amos i sur., 2001).

d) Homozigotnost po lokusu HL izračunava se formulom:  $\sum E_h / \sum E_h + \sum E_j$ , gdje su  $E_h$  i  $E_j$  očekivane heterozigotnosti lokusa koje jedinka nosi u homozigozi (h) i u heterozigozi (j). S obzirom da je informativnost lokusa varijabilna, HL razmatra doprinos svakog lokusa umjesto doprinos svakog alela (Aparicio i sur., 2006).

Linearnom regresijom ispitan je odnos spolova i adaptabilnih vrijednosti genotipova s razinom heterozigotnosti u programu STATISTICA.

### 3.3.6. Genetička varijabilnost i populacijska struktura

Razina protoka gena između populacija s različitim lokacija je procijenjena primjenom Wright-ove statistike odnosno  $F_{ST}$  indeksa koji predstavlja omjer prosječne heterozigotnosti podpopulacije i očekivane heterozigotnosti metapopulacije (Wright, 1931). Vrijednosti  $F_{ST}$  indeksa između parova populacija (engl. *pair-wise*) na 14 lokusa su izračunate u programu ARLEQUIN v.3.5, koristeći 10,000 permutacija za testiranje statističke značajnosti. Mjera Jost' D na temelju identiteta alela (Jost, 2008) izračunata je u programu GENODIVE (Meirmans i Van Tienderen, 2004). Jost' D je eksplicitna mjera relativne diferencijacije između populacija. D se razlikuje od  $F_{ST}$ ,  $F_{ST}$  mjeri odstupanja od panmiksije, dok D mjeri odstupanja od ukupne diferencijacije. D je baziran na efektivnom broju alela umjesto na heterozigotnosti, te označava udio alelne raznolikosti među populacijama, dok je  $F_{ST}$  proporcionalan varijanci učestalosti alela među populacijama. D je više povezan s genetičkom udaljenosti između populacija nego s varijancom alelnih frekvencija.

Za procjenu doprinosa nul-alela u setu podataka i njihov utjecaj na genetičku udaljenost program FreeNA je korišten za izračun  $F_{ST}$  statistike, uz isključivanje i uključivanje metode korekcije ENA (engl. *Excluding Null Alleles*). Koristeći 50.000 ponavljanja preko lokusa, procijenjeni su 95 %-tni intervali pouzdanosti (CI) za globalne  $F_{ST}$  vrijednosti.

Pomoću Bayes-ove klaster metode koja je temeljena na Markov Chain Monte Carlo (MCMC) algoritmu u programu STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard i sur., 2000) je testirana procjena postojanja strukturiranja unutar populacija s ciljem određivanja pripadnosti jedinki genetičkim grupama (klasterima) uz određivanje najvjerojatnijeg broja populacija (K). Parametri postavljeni u programu STRUCTURE su uključivali model miješanja (engl. *admixture ancestry model*) s koreliranim frekvencijama alela, period ponavljanja (engl. *burn-in period*)  $50^3$  i  $50^4$  MCMC koraka. Vrijednost K je bila u rasponu od 1 do maksimalnog broja uzorkovanih populacija, uključujući 20 ponavljanja za svaku vrijednost. Koristeći program Structure Harvester 0.6.93 (Earl i von Holdt, 2012), najvjerojatniji broj klastera procijenjen je s  $\ln P(D)$  i  $\Delta K$  vrijednostima i vizualiziran pomoću CLUMPP (Jakobsson i Rosenberg, 2007) i DISTRUCT (Rosenberg, 2004) programima. Također, populacijska struktura je analizirana uz pomoć diskriminacijske analize glavnih komponenta (DAPC) u Adegnet paketu (v.1.3-0) za R softver (Jombart, 2008). DAPC je izvršena s funkcijom `dapc` s *a priori* zadanom lokacijom uzorkovanja. Dobiveni broj glavnih komponenta je optimiziran izvršavanjem funkcije `xvalDapc`.

Analiza izolacije prema udaljenosti (engl. *Isolation by distance, IBD*) testirana je s paketom Adegnet i funkcijom `mantel.randtest` u programu R s 1000 permutacija. Za istraživanje obrasca IBD-a, opisane kao kontinuirana ili rascjepkana linija genetičke diferencijacije, primijenjena je dvodimenzionalna procjena gustoće (funkcija `kde2d`) za mjerenje lokalne gustoće udaljenosti i funkcija `image` za vizualizaciju u paketu MASS (Venables i Ripley, 2002).

### 3.3.7. Demografske promjene, efektivna veličina populacije i stope migracija

Program BOTTLENECK 1.2.02 (Piry i sur., 1999) korišten je za otkrivanje nedavnog smanjenja efektivne veličine populacije ( $N_e$ ) u relativno kratkom razdoblju (nekoliko  $N_e$  generacija). S 20 000 ponavljanja, dvofazni model (engl. *two-phase model, TPM*) s 90 % postupnih mutacija (SMM, engl. *Stepwise Mutation Model*) i 10 % dopuštene varijance unutar



broja ponavljanja je testiran za populacije s brojem uzoraka iznad 20. Vjerojatnost značajnog viška heterozigota u populaciji je testirana s neparametarskim Wilcoxonovim testom ranga prema preporuci Piry i sur. (1999). Kako bi se dodatno istražilo smanjenje veličine populacije, test omjera M (engl. *M ratio*) proveden je u programu MPVal, a kritična vrijednost  $M_c$  procijenjena je u programu CriticalM za svaku populaciju (Garza i Williamson, 2001). M omjer ovisi o ukupnom broju alela ( $k$ ) i ukupnom rasponu veličine alela ( $r$ ) na određenom lokusu. U nedavno smanjenim populacijama, očekuje se da će M-omjeri biti manji nego u populacijama pod ravnotežom između mutacija i genskog otklona (engl. *drift*) i kao takvi, mogu se održati stotinama generacija (Garza i Williamson, 2001) za razliku od ishoda viška heterozigotnosti. Empirijske vrijednosti M-omjera uspoređene su s graničnom vrijednosti uskog grla od 0,68 (Garza i Williamson, 2001) i sa simuliranom ravnotežnom distribucijom formiranom na dvofaznom modelu mutacija. Uz simulaciju od 10 000 ponavljanja,  $M_c$  je izračunat uzimajući u obzir srednju veličinu ne-postupnih mutacija ( $\Delta g$ ) = 3,1 i udio postupnih mutacija ( $p_s$ ) = 78 % (Peery i sur., 2012). Tri različite vrijednosti (0,5, 1, 4) postavljene su za theta ( $\Theta = 4N_e\mu$ ) koje odgovaraju efektivnoj veličini populacije prije efekta uskog grla od 250, 500 i 2000.

Suvremeni protok gena od nekoliko generacija ( $m_c$ ) i povijesni protok gena koji pokriva mnogo duži vremenski period ( $\sim 4 N_e$  generacije u prošlost,  $m_h$ ) su procijenjeni između populacija s programima BayesAss1.3 (Wilson i Rannala, 2003) i Migrate (Beerli i Felsenstein, 2001; Beerli, 2006). Za BayesAss, provedeno je nekoliko analiza s različitim početnim postavkama, a svaka izvedba Markovljevog Monte Carlo lanca uključivala je  $3 \times 10^6$  ponavljanja i odbacivanje prvih  $10^6$  ponavljanja kao zagrijavanje. Delta vrijednosti DA, DF i DM postavljene su na 0,7, 0,6, odnosno 0,5. Uspješnost konvergencije Markovljevih Monte Carlo lanaca je analizirana pomoću programa TRACER-a v.171 (Rambaut i sur., 2018), a najbolji model određen je na temelju Bayes-ove mjere odstupanja (Spiegelhalter i sur., 2002.). Program Migrate v 3.7.2 (Beerli, 2008) i primjena Bayes-ove metode korištena je za procjenu protoka gena, tj. stope migracije skalirane mutacijom (engl. *mutation-scaled rates of migration*) ( $M = m_h/\mu$ ;  $m_h$  je povijesna stopa migracije;  $\mu$  je stopa mutacije po generaciji) i efektivne veličine populacije prema mutaciji (engl. *mutation-scaled effective population size*) ( $\Theta = 4N_e\mu$ ;  $N_e$  je povijesna efektivna veličina populacije). "The Brownian motion mutation model" i  $F_{ST}$  izračuni korišteni su kao početni parametri uz konstantne stope mutacije za sve lokuse. Za procjenu  $\Theta$  (raspon = 0 - 50, srednja vrijednost = 25) i M (raspon = 0 - 50, srednja vrijednost = 25) primijenjena je jednolična *a priori* raspodjela. Dugi lanac je postavljen na 1 000 000 generacija s *burn-in* od 50 000 ponavljanja za svaki lokus da zabilježi 20 000

genealogija (generacija) s porastom uzorka od 50. Za poboljšanje MCMC metode, primijenjena je statička shema grijanja s četiri temperature (1, 1.5, 3, i 6).

Program NeEstimator V2 (Do i sur., 2014) je alat za procjenu suvremene efektivne veličine populacije koji koristi multilokusne diploidne genotipove. Korišten je za procjenu trenutne efektivne veličine populacije za populacije pomoću metode temeljene na neravnoteži vezanih gena (LD) s veličinom uzorka preko 20 jedinki. Aleli s frekvencijama ispod 0,02 uklonjeni su iz analize, balansirajući između preciznosti i potencijalne pristranosti visoko polimorfni mikrosatelitnih lokusa. Osim toga, metoda vjerojatnosti primijenjena u programu AgeStructure (Wang i sur., 2010) korištena je za procjenu generacijskog vremena i efektivne veličine populacije hlapa poznate dužine i spola (uzorci iz Jadrana). Podaci o spolu, dobi i multilokusnom genotipu 159 mužjaka i 107 ženki korišteni su za Ne procjenu dobro strukturirane populacije hlapa s preklapajućim generacijama. Starost jedinki je izračunata na temelju duljine glavopršnjaka (Uglem i sur., 2005).

### **3.3.8. Mitohondrijska DNA (mtDNA), genetička raznolikost i populacijska ekspanzija**

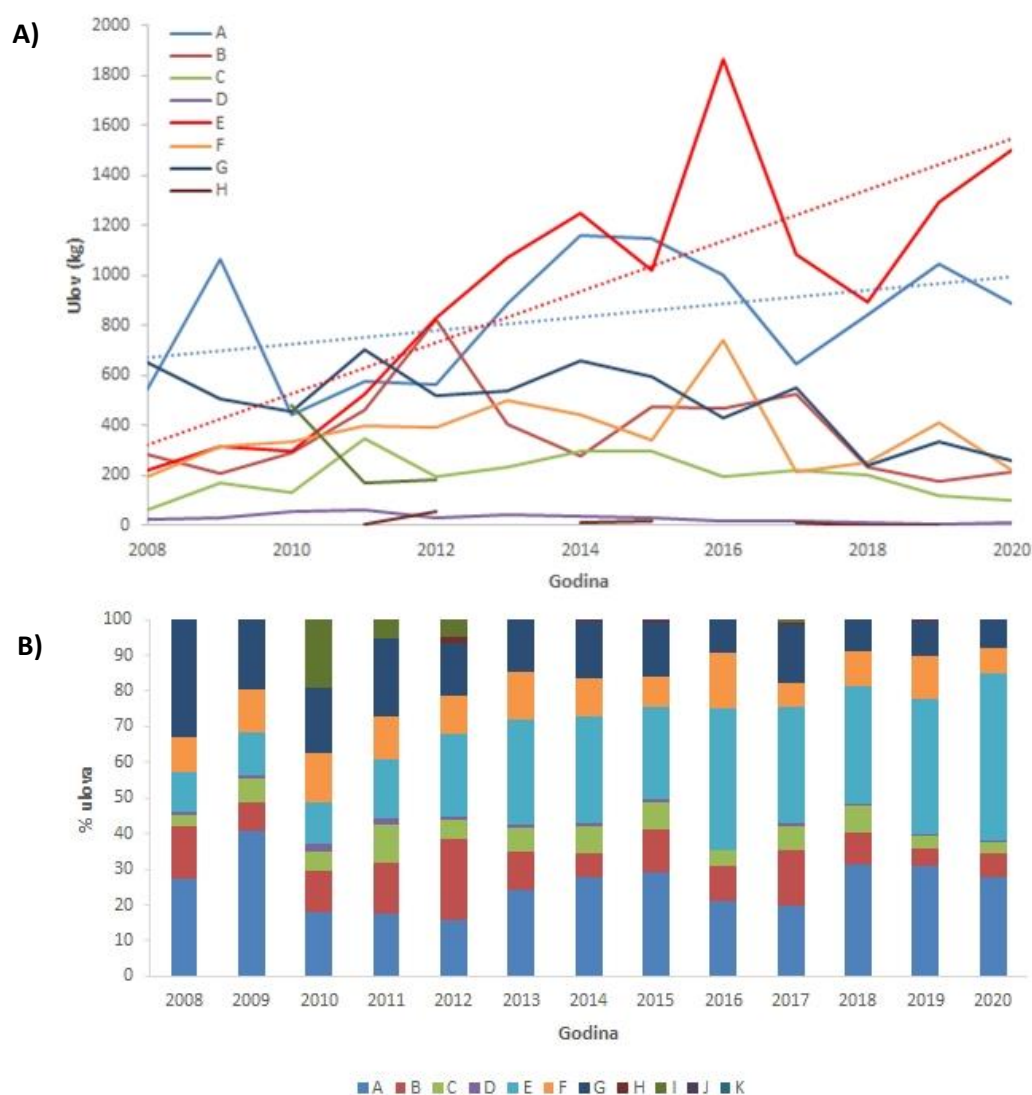
Poravnavanje dobivenih sekvenci mtDNA je napravljeno u programu Mega7 koristeći ClustalW alat (Kumar i sur., 2016). Molekularna raznolikost je analizirana u programu Dnasp 5.19 (Librado i Rozas, 2009) računajući broj haplotipova (H), polimorfna mjesta (S), haplotipnu i nukleotidnu raznolikost. Mreža haplotipova napravljena je u programu PopART (<http://popart.otago.ac.nz>). Povijesne demografske promjene su testirane s Tajima D (Tajima, 1989) i Fu FST (Fu, 1997) testovima u programu Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier i Lischer, 2010). Vrijednosti testa upućuju na nedavni efekt uskog grla ili populacijsku ekspanziju. Rezultati testova su blizu nule u populaciji konstantne veličine, značajne negativne vrijednosti ukazuju na naglo povećanje veličine populacije, dok značajne pozitivne vrijednosti ukazuju na procese kao što su populacijska podjela ili efekt uskog grla. Fu's FST se smatra osjetljivijim u otkrivanju širenja populacije i mogućeg rasta populacije u prošlosti. Neusklađena distribucija (engl. *mismatch distribution*) je distribucija broja razlika između parova sekvenci slučajno uzorkovanih iz ukupnog uzorka (Barton i sur., 2007). Populacijska ekspanzija ili ravnoteža određena je oblikom neusklađenosti distribucije. Neusklađenost distribucije je simulirano u programu Arlequin 3.5.1.2 koristeći model iznenadne ekspanzije (engl. *sudden expansion model*). Model je statistički testiran pomoću metode odstupanja od sume kvadrata (engl. *sum*

*of square deviations*, SSD) da bi se odbacila hipoteza demografske ekspanzije. Koristeći Arlequin (Rogers and Harpending, 1992) vrijeme od populacijske ekspanzije ( $t$ ) je procijenjeno kao  $t = \tau/2u$ , gdje je  $\tau$  vremenska skala mutacije. Stopa mutacije po lokusu po generaciji ( $2u$ ) je izračunata množenjem duljine sekvence  $\times$  stopa mutacije  $\times$  generacijsko vrijeme. U nedostatku kalibrirane stope mutacije mtDNA hlapa, stopa mutacije od 1,66 % do 2,33 % na milijun godina COI gena dekapodnog raka iz roda *Sesarma* (porodica Sesarmidae) je testirana (Schubart i sur., 1998). Donji interval pouzdanosti od 9,81 godina je primijenjen kao generacijsko vrijeme hlapa.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Trendovi ulova hlapa u Jadranskom moru

Prema podacima Uprave ribarstva Ministarstva poljoprivrede, prosječni godišnji ulov hlapa u posljednjih 13 godina iznosio je oko 3308,12 kg (od 1989,95 kg u 2008. do 4723,88 kg u 2016.). U posljednjih su nekoliko godina ulovi bili oko prosjeka, dok je u cijelom razdoblju zabilježen trend rasta od 18,5 %. Hlap se najviše lovi u ribolovnim zonama A i E, koje pokrivaju obalno područje sjevernog Jadrana, uz kontinuirani porast ulova (Uprava ribarstva, 2020.) (Slika 4.1.1. A, B). Količine ulova iz drugih ribolovnih zona bile su niske i zanemarive (ribolovne zone H, I i J) ili ih uopće nije bilo (ribolovna zona K).



**Slika 4.1.1.** (A) Službeni ulovi hlapa, *Homarus gammarus* (Uprava za ribarstvo; 2008. - 2020.) s istaknutim trendovima u ribolovnim zonama A (plavi točkasti pravac) i E (crveni točkasti pravac). (B) Postotak ulova hlapa po godini u svakoj ribolovnoj zoni.

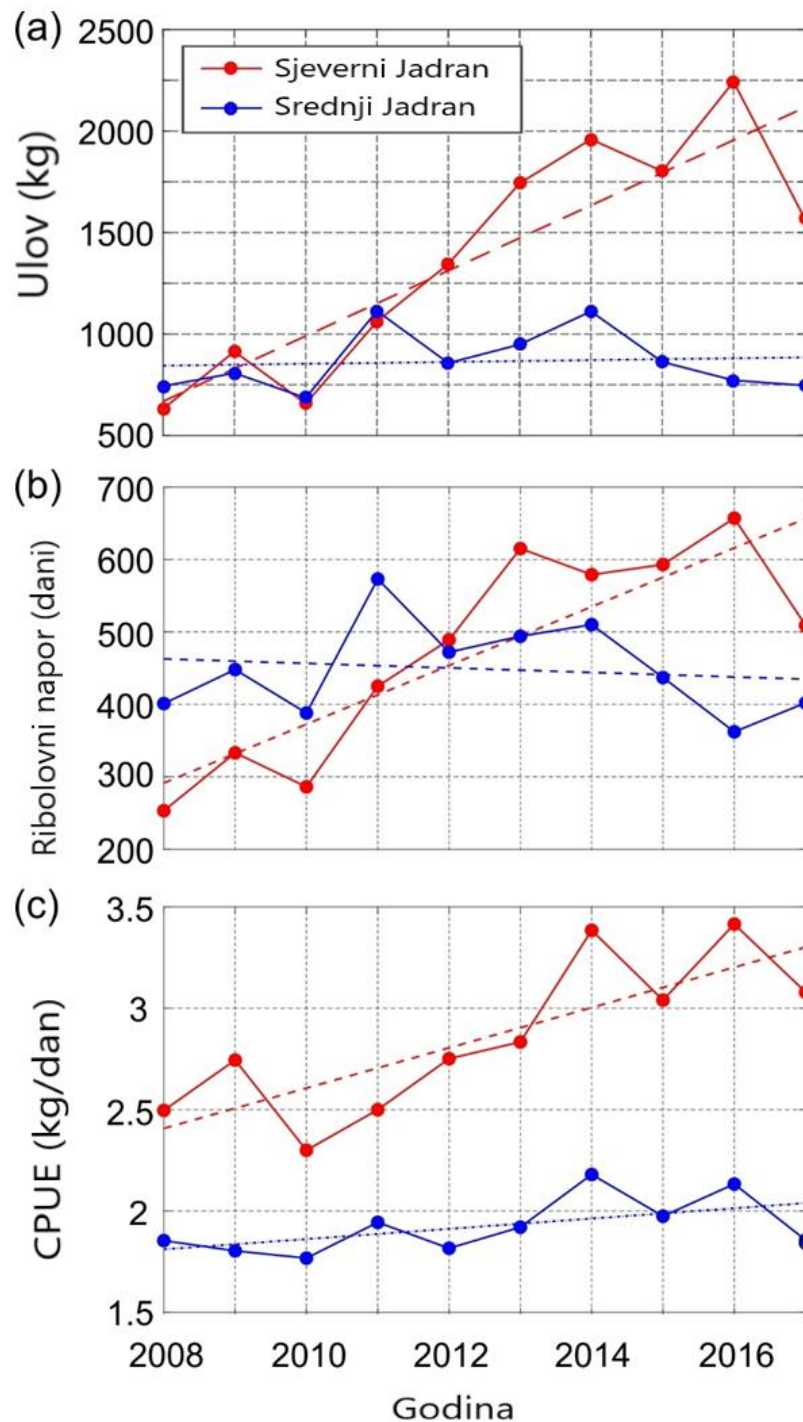
Ukupno 22,83 t hlapa je ulovljeno na istočnoj Jadranskoj obali tijekom istraživanog perioda (Uprava Ribarstva 2008. - 2017.). Najviši ukupni godišnji ulovi su ostvareni u ribolovnim zonama A (7,47 t), E (5,31 t) i G (4,76). Ukupni godišnji ulovi po grupiranim zonama su bili: sjeverni Jadran 13,93 t, srednji Jadran 8,65 t i južni Jadran 0,25 t (Tablica 4.1.). Na sjevernom Jadranu prosječni godišnji ulov hlapa u tri sjevernojadranske zone kretao se od 0,21 t (2008.; ulov = 631,5 kg; CPUE = 2,5 kg/dan; Slika 4.1.2.) do 0,75 t (2016.; ulov = 2244 kg; 41 kg/dan), dok se prosječni ulov hlapa u tri srednjojadranske zone kretao od 0,23 t (2010.; ulov = 685,7 kg; CPUE = 1,77 kg/dan) do 0,37 t (2014; ulov = 1112 kg; CPUE = 2,18 kg/dan). U istom razdoblju ulov u južnom Jadranu (zona D) bio je ispod 50 kg godišnje, odnosno od 14 kg (2008.; 10 ribolovnih dana što odgovara CPUE-u od 1,4 kg/dan) do 41,1 kg (2010.; 25 ribolovnih dana i CPUE od 1,6 kg/dan). Zbog malog ulova u zoni D, odnosno područje južnog Jadrana, nije uključeno u daljnu analizu.

**Table 4.1.** Ulovi hlapa, *Homarus gammarus*, po ribolovnim zonama i grupiranim ribolovnim područjima (sjeverni, srednji i južni Jadran) (Uprava ribarstva 2008. - 2017.)

Područje	Ribolovne zone	Ulovi / zone (t)	Ulovi / područje (t)
Sjeverni Jadran	A	7,47	13,92
	B	1,14	
	E	5,31	
Srednji Jadran	C	1,35	8,65
	F	2,54	
	G	4,76	
Južni Jadran	D	0,25	0,25

Vremenski trendovi (2008. - 2017.) ulova hlapa u Jadranskom moru (Slika 4.1.2.A) ukazuju na statistički značajan porast na sjevernom Jadranu (160,9 kg/god;  $p < 0,05$ ;  $R^2 = 0,755$ ) i statistički neznačajan blagi porast u srednjem Jadranu (4,5 kg/god;  $p > 0,05$ ;  $R^2 = 0,008$ ). Vremenski trendovi (2008. - 2017.) ribolovnog napora su bili: trend ribolovnog napora tijekom vremena na sjevernom Jadranu je pozitivan i statistički značajan (40,6 dana/god,  $p < 0,05$ ;  $R^2 = 0,728$ ), a na srednjem Jadranu je blago negativan i statistički neznačajan (- 3,1

dan/god,  $p > 0,05$ ;  $R^2 = 0,021$ ) (Slika 4.1.2.B). Vremenski trendovi (2008.-2017.) CPUE hlapa su slični: CPUE trend tijekom vremena na sjevernom Jadranu pozitivan i statistički značajan ( $0,09 \text{ kg/dan}$ ,  $p < 0,05$ ,  $R^2 = 0,643$ ), a na srednjem Jadranu je blago pozitivan i statistički neznačajan ( $0,03 \text{ kg/dan}$ ,  $p > 0,05$ ,  $R^2 = 0,307$ ) (Slika 4.1.2.C).

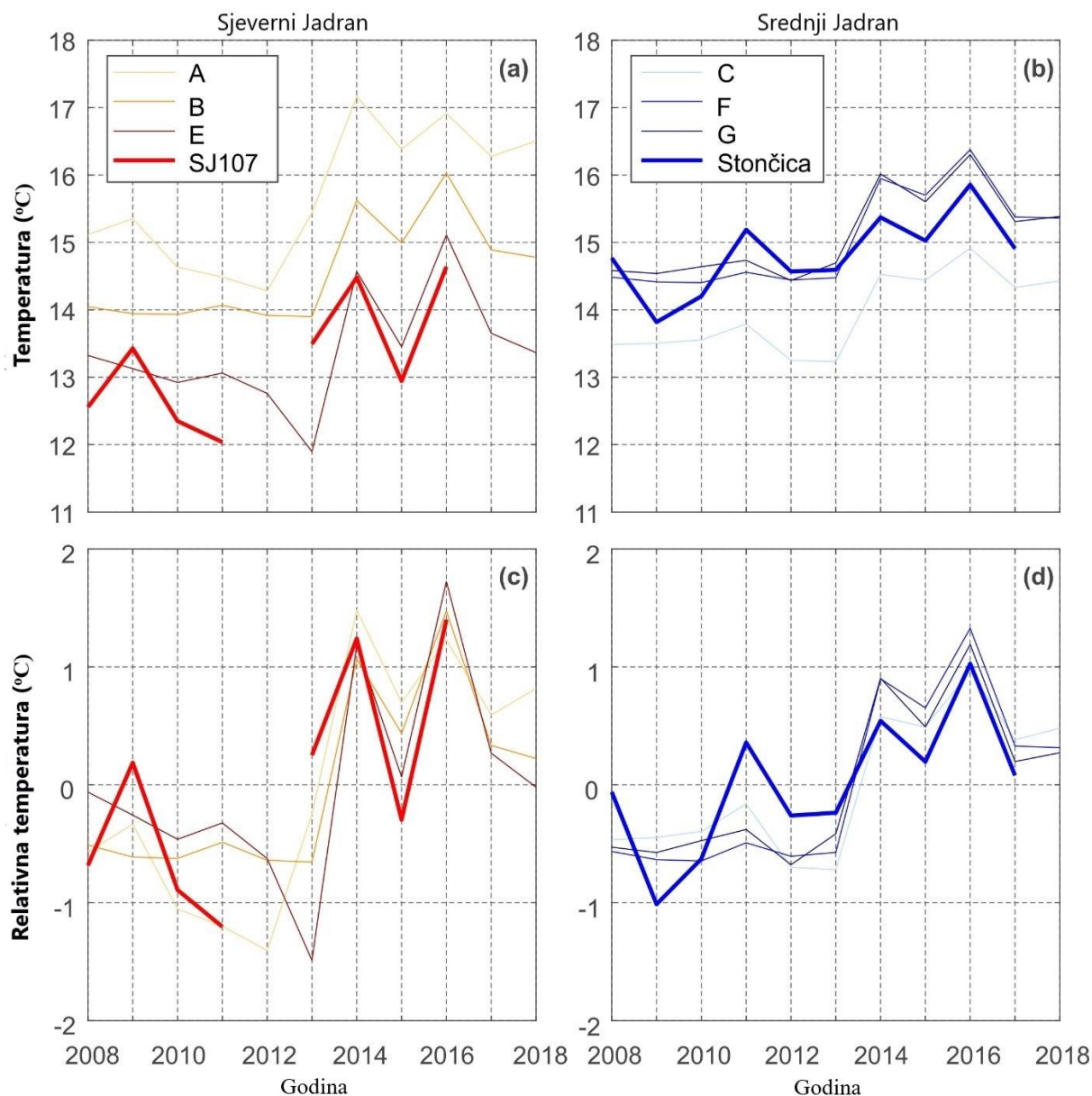


**Slika 4.1.2.** Vremenski niz (2008-2017) ulova hlapa (a), ribolovnog napora (dani) (b) i CPUE (kg/dan) (c). Također, prikazani su trendovi ulova, ribolovnog napora i CPUE (isprekidana crta).

## 4.2. Vremenski niz pridnene temperature mora

Vremenski niz godišnjih srednjih vrijednosti izmjerenih pridnenih temperatura mora na postajama SJ107 i Stončica i modeliranih pridnenih temperatura u odabranim ribolovnim zonama prikazani su na slici 4.2.1. Godišnje srednje vrijednosti izmjerenih pridnenih temperatura na SJ107 za 2012. i 2017. godinu nisu izračunate. U 2012. godini mjerenja nisu obavljena na SJ107 postaji od veljače do lipnja, odnosno u dijelu godine s najnižim pridnenim temperaturama. U 2017. godini mjerenja nisu obavljena tijekom rujna do prosinca, odnosno u dijelu godine za koji su karakteristične najviše pridnene temperature. Uključivanje ovih vrijednosti rezultiralo bi značajnim precjenjivanjem (podcjenjivanjem) izmjerenih godišnjih prosjeka za 2012. i 2017. godinu.

Trendovi pridnene temperature mora na obje postaje ( $0,15\text{ °C/god}$ ,  $p < 0,05$ , na SJ107;  $0,14\text{ °C/god}$ ,  $p < 0,05$  na Stončici) i po ribolovnim zonama su pozitivni i statistički značajni. Trend pridnene temperature mora očito je vođen izrazitim skokom vrijednosti pridnene temperature, počevši od 2013. godine (Slika 4.2.1.). Trendovi modeliranih temperatura veći su od trendova izmjerenih temperatura ( $0,15\text{ °C/god}$ ,  $p < 0,05$  odnosno  $0,26\text{ °C/god}$ ,  $p < 0,05$  na Stončici i SJ107), ponajviše zbog snažnog precjenjivanja modeliranih ljetnih temperatura. Precjenjivanje se posebno ističe u sjevernom Jadranu i taj se fenomen naglo počinje javljati tijekom ljeta 2013. Skok se može uočiti po mjerenjima i po modelu u srednjem i sjevernom Jadranu. Skok je izraženiji u sjevernom ( $\sim 1,5 - 2,5\text{ °C}$ ) u odnosu na srednji Jadran ( $\sim 1\text{ °C}$ ). Model nije u potpunosti uspješan u reproduciranju apsolutnih vrijednosti pridnenih temperatura, posebice u plitkom sjevernom Jadranu (Slika 4.2.1.a). Ipak, varijabilnost godišnje i sezonske temperature reproducira se iznimno zadovoljavajuće za oba područja (Slika 4.2.1. c, d) i zbog toga je model korišten za detaljnije analize.



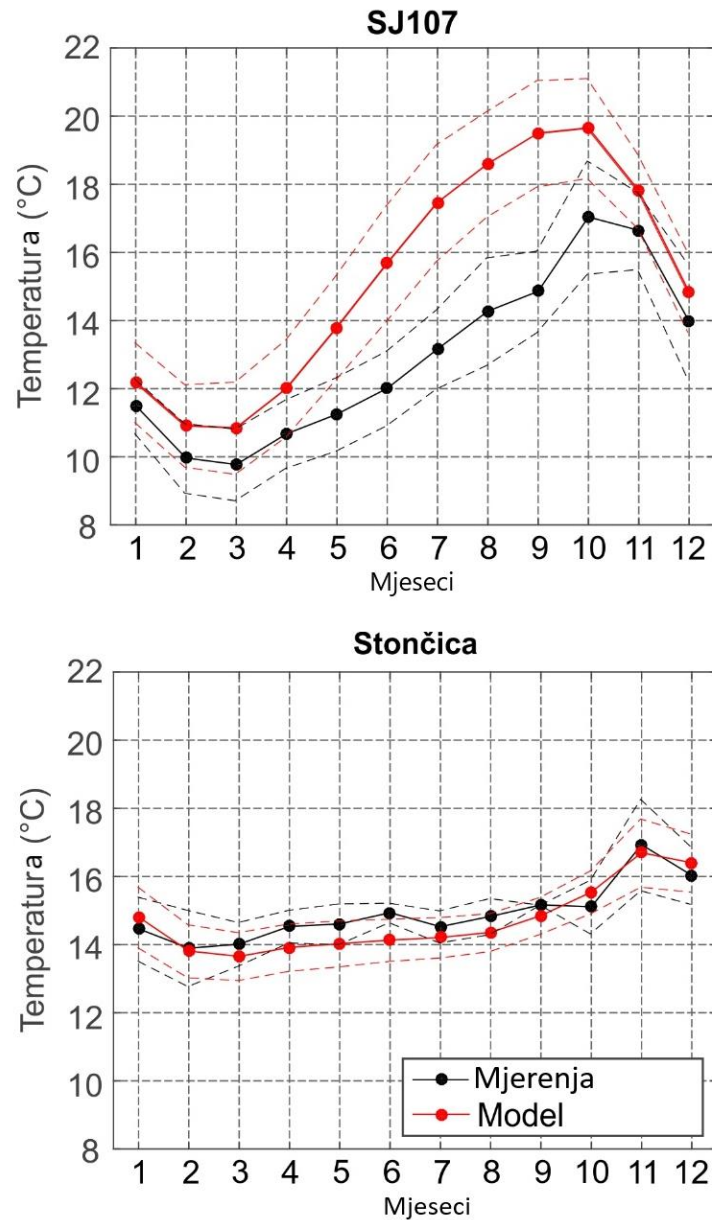
**Slika 4.2.1.** Usporedba modela i mjerenja srednje godišnje vrijednosti temperature mora na: (a) mjernejoj postaji SJ107 i ribolovnim zonama sjevernog Jadrana (ribolovne zone A, B i E); (b) mjerna postaja Stončica i srednje Jadranske ribolovne zone (ribolovne zone C, F, G). (c)-(d) isto kao (a)-(b), ali s uklonjenim srednjim vrijednostima.

### 4.3. Sezonske promjene pridnene temperature mora

Sezonske promjene pridnene temperature na postaji SJ107 (dubina 34 m) i postaji Stončica (dubina 95 m) prikazane su na slici 4.3.1. te upućuju na razliku između procesa koji reguliraju temperaturne promjene u srednjem i sjevernom Jadranu. Sezonske promjene znatno

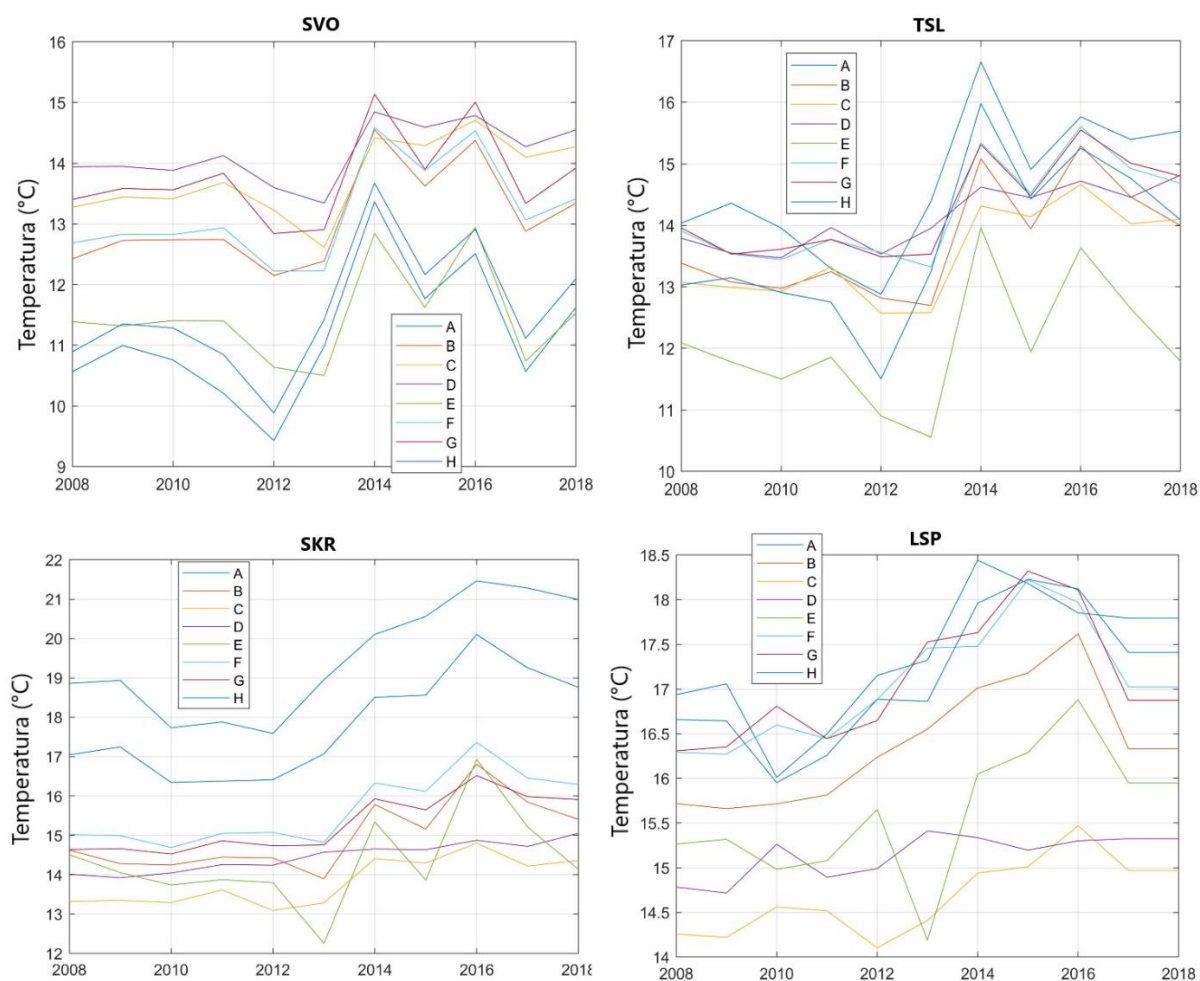


su jače izražene u sjevernom Jadranu, gdje njihov raspon doseže otprilike 7 °C, dok su navedene promjene znatno manje vidljive u dubljem srednjem Jadranu (raspon otprilike 3 °C). Sjeverni Jadran je veći dio godine znatno hladniji, osobito zimi (veljača - ožujak). Listopad je jedini mjesec u godini kada je pridnena temperatura viša u sjevernom Jadranu nego u dubljem srednjem Jadranu.



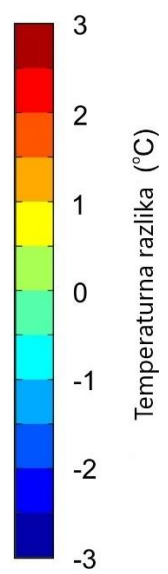
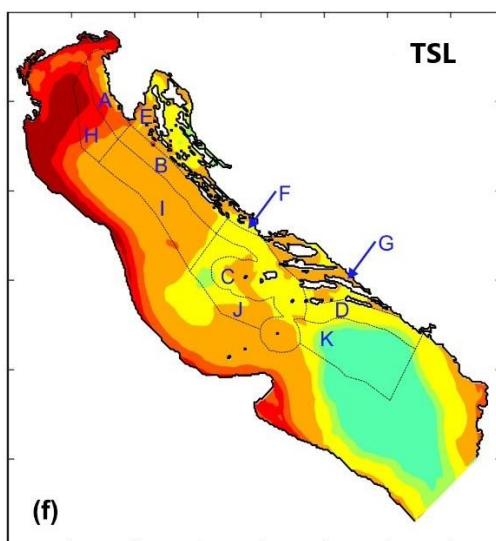
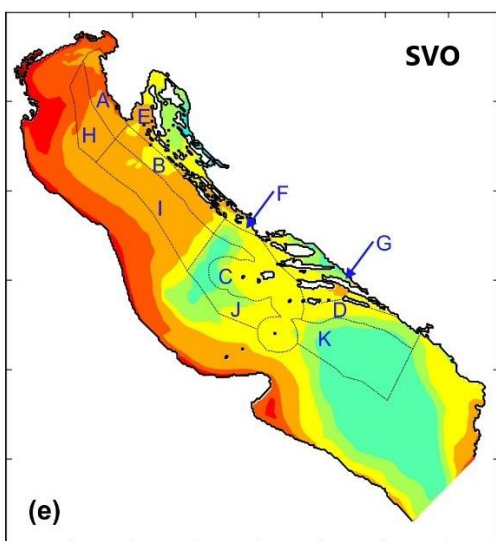
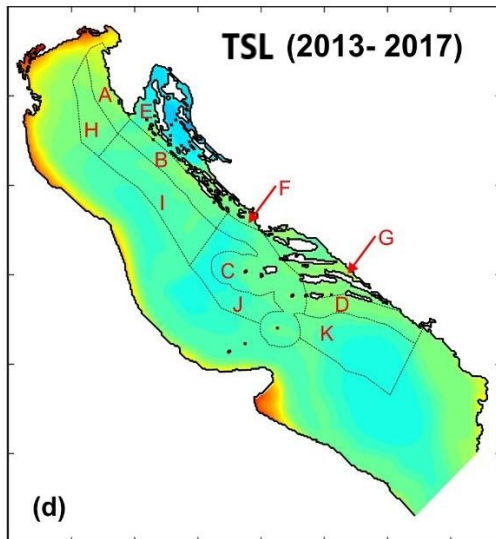
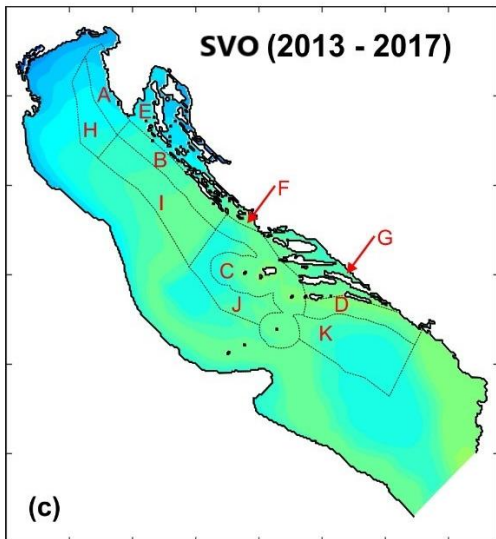
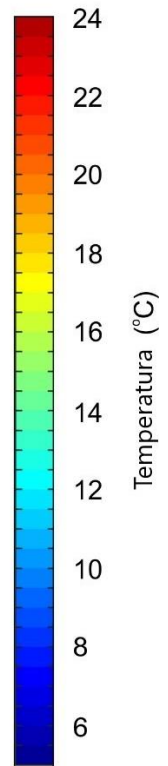
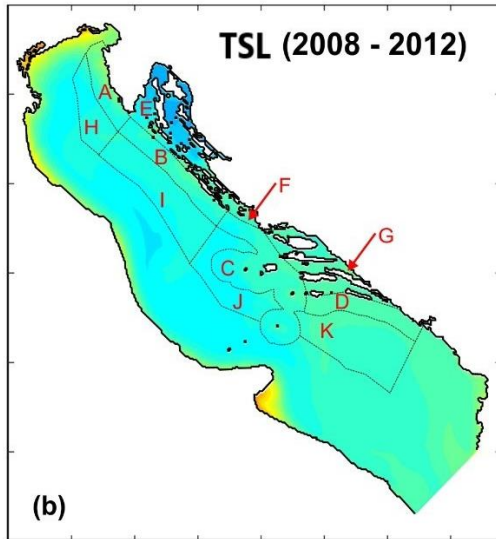
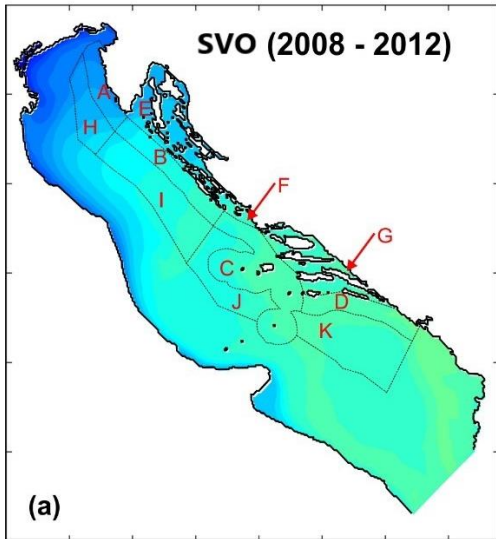
**Slika 4.3.1.** Mjesečne srednje vrijednosti izmjerene (crna) i modelirane (crvena) pridnena temperature mora (puna crta) i odgovarajuće standardne devijacije (isprekidana crta) (gore) SJ107; (dolje) Stončica.

Kao što je već uočeno na slici 4.2.1., modelirane vrijednosti su precijenjene na postaji SJ107 za 0,6 - 0,9 °C tijekom zimskih mjeseci i mnogo više u razdoblju razvijene termokline (od svibnja do listopada; do 4,0 °C). Također, model malo podcjenjuje pridnene temperature na postaji Stončica (odstupanje modela od mjerenja je do -0,8 °C u lipnju). Odstupanje vrijednosti modela može biti posljedica sustavnog odstupanja vrijednosti protoka topline na granici atmosfera - more ili bočnih rubnih uvjeta koji propagiraju od Otranta prema srednjem i sjevernom Jadranu. Također, odstupanje vrijednosti modela može biti posljedica nepravilne reprodukcije procesa vertikalnog miješanja. Ipak, treba napomenuti da se faza sezonskog signala i njegova varijabilnost dobro reproduciraju. Standardne devijacije pridnene temperature mora su dosljedne između modela i mjerenja, i veće su na sjevernom Jadranu (~ 1 °C) nego na srednjem Jadranu (~ 0,5 °C). Model dobro reproducira sezonske SVO (siječanj - veljača - ožujak) i TSL (travanj - svibanj - lipanj) pridnene temperature mora (Slika 4.3.2.). SVO i TSL su dva najrelevantnija razdoblja, neposredno prije otvorene sezone ribolova i u trenutku ribolova, u kojima promjene u pridnenim temperaturama mora mogu utjecati na ulov hlapa i CPUE.



**Slika 4.3.2.** Sezonske srednje vrijednosti modelirane pridnene temperature mora po ribolovnim zonama (SVO: siječanj - veljača - ožujak; TSL: travanj - svibanj - lipanj; SKR: srpanj - kolovoz - rujna; LSP - listopad - studeni - prosinac)

Prostorno-vremenska distribucija zimskih (SVO) i proljetnih (TSL) temperaturnih vrijednosti modela prikazana je na slici 4.3.3. Modelirane pridnene temperature pokazuju značajan porast zimske (SVO) i proljetne (TSL) sezone na cijelom Jadranu između prvih (2008. - 2012.) i posljednjih (2013. - 2017.) pet godina simulacije. Promjene su jasno vidljive na grafovima temperaturnih razlika za SVO i TSL (Slika 4.3.3. e i f). Najveći porast, tijekom obje sezone, bilježi se u plitkom sjevernom Jadranu, preko zone A, dok je porast manji u dubljim središnjim i južnim dijelovima Jadrana. Porast zimske (SVO) temperature u zoni A je između 1 i 2 °C, a na većem dijelu srednjeg Jadrana između 0 i 1 °C. Porast proljetne (TSL) temperature još je veći u oba područja, do 2,5 °C u zoni A sjevernog Jadrana i do 1,5 °C u zonama srednjeg Jadrana.



Temperatura (°C)

Temperaturna razlika (°C)

**Slika 4.3.3.** Modelirane pridnene temperature mora SVO (siječanj - veljača - ožujak) (a i c), te TSL (travanj - svibanj - lipanj) (b i d) za razdoblje 2008. - 2012. i 2013. - 2017; razlika temperatura između dva razdoblja (e i f)

#### 4.4. Vremenski niz modelirane pridnene temperature mora i ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE) hlapa

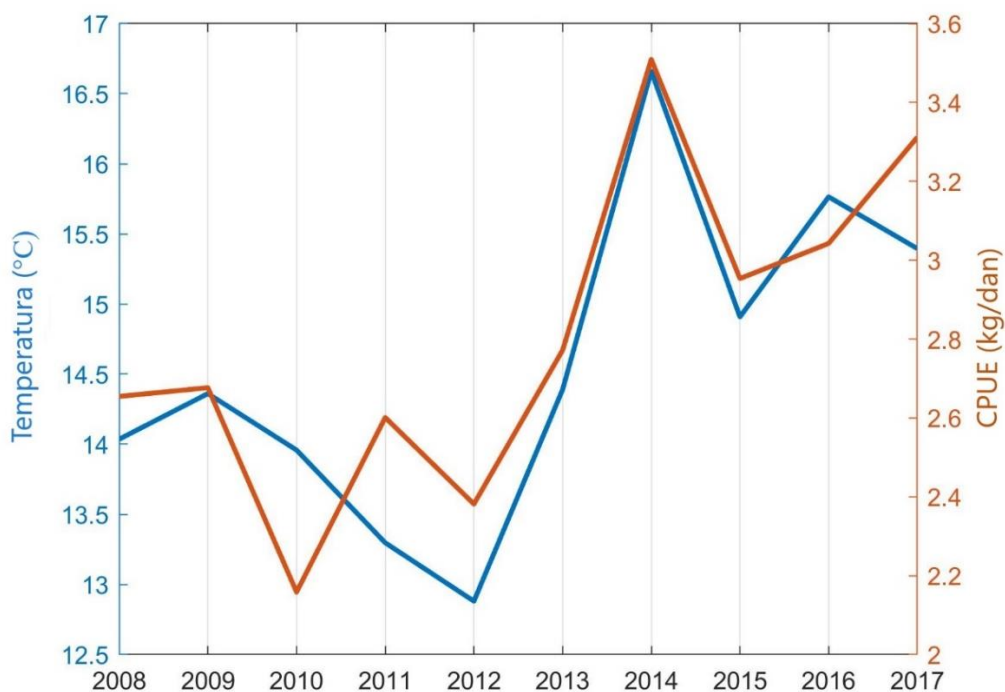
Korelacija između pridnene temperature mora (SVO i TSL) i ulova po jedinici ribolovnog napora CPUE (kg/dan) po ribolovnim zonama za vremensko razdoblje od 2008. do 2017. godine pokazala se statistički značajna za ribolovne zone A i C (tablica 4.4.1.). Korelacija pridnene temperature i CPUE za ribolovnu zonu G pokazala se značajna samo za proljetne (TSL) temperature. Statistički značajna korelacija za zimske temperature (SVO) je bila za ribolovnu zonu A ( $r = 0,701$ ,  $p = 0,024$ ) te zonu C ( $r = 0,627$ ,  $p = 0,052$ ). Uočen je blagi porast CPUE s porastom pridnene temperature za ribolovne zone E ( $r = 0,573$ ,  $p = 0,083$ ) i G ( $r = 0,555$ ,  $p = 0,096$ ), ali taj porast nije statistički značajan (Slike 4.4.1. - 4.4.5.). Statistički najznačajnija korelacija za proljetne temperature (TSL) je utvrđena za ribolovnu zonu A ( $r = 0,878$ ,  $p = 0,001$ ), zatim za zonu G ( $r = 0,765$ ,  $p = 0,01$ ) te za zonu C ( $r = 0,714$ ,  $p = 0,02$ ).

**Tablica 4.4.1.** Koeficijent korelacije ( $r$ ) i  $p$  vrijednost između vremenskih nizova (2008. - 2017.) pridnene temperature mora i CPUE (kg/dan) hlapa po ribolovnim zonama (podebljane  $p$  vrijednosti za razinu značajnosti iznad 95 %)

Ribolovne zone	SVO (siječanj - veljača - ožujak)		TSL (travanj - svibanj - lipanj)	
	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>
A	<b>0,701</b>	<b>0,024</b>	<b>0,878</b>	<b>0,001</b>
B	0,111	0,759	0,252	0,482
C	<b>0,627</b>	<b>0,052</b>	<b>0,714</b>	<b>0,020</b>
D	0,396	0,257	0,441	0,203
E	0,573	0,083	0,452	0,190
F	0,189	0,602	0,065	0,858
G	0,555	0,096	<b>0,765</b>	<b>0,010</b>

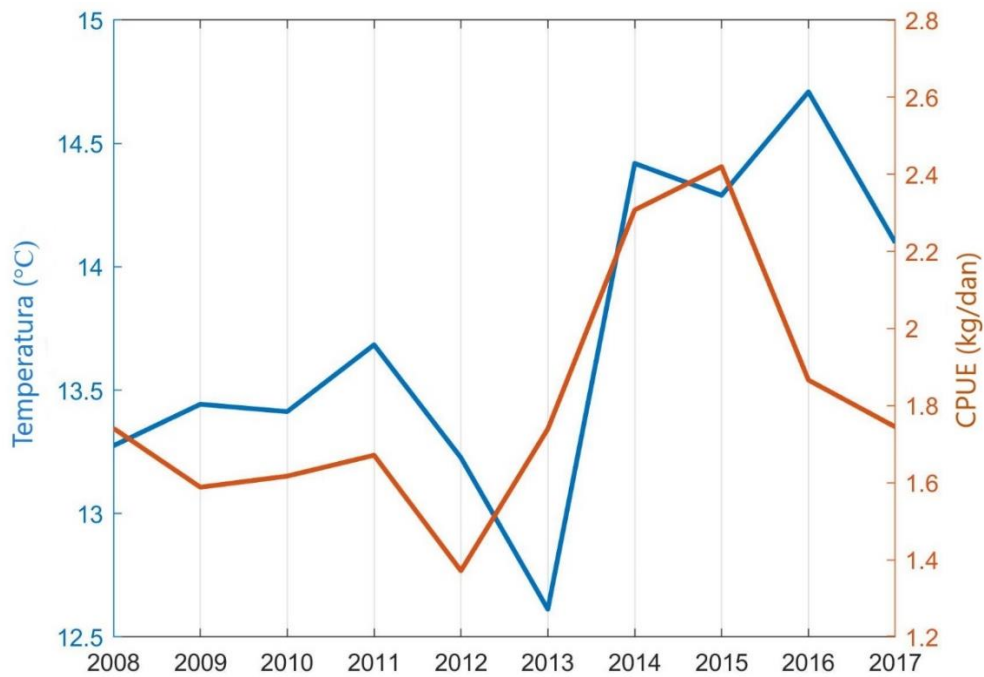


**Slika 4.4.1.** Vremenski niz zimske (SVO; siječanj - veljača - ožujak) pridnene temperature mora i CPUE (kg/dan) hlapa u ribolovnoj zoni A

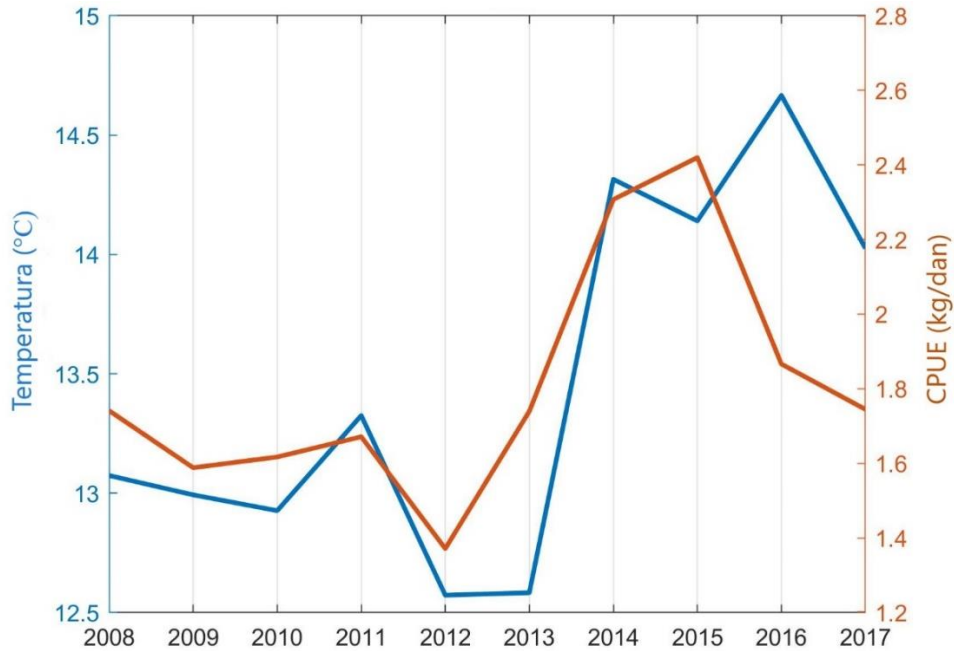


**Slika 4.4.2.** Vremenski niz proljetne (TSL; travanj - svibanj - lipanj) pridnene temperature mora i CPUE (kg/dan) hlapa u ribolovnoj zoni A

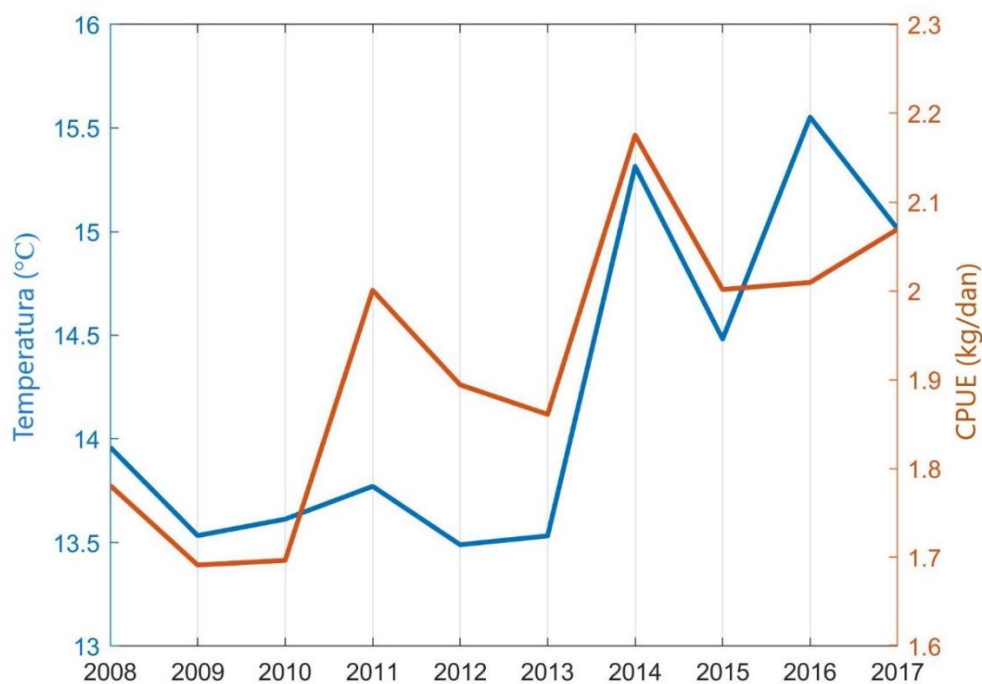




**Slika 4.4.3.** Vremenski niz zimske (SVO; siječanj - veljača - ožujak) pridnene temperature mora i CPUE (kg/dan) hlapa u ribolovnoj zoni C



**Slika 4.4.4.** Vremenski niz proljetne (TSL; travanj - svibanj - lipanj) pridnene temperature mora i CPUE (kg/dan) hlapa u ribolovnoj zoni C



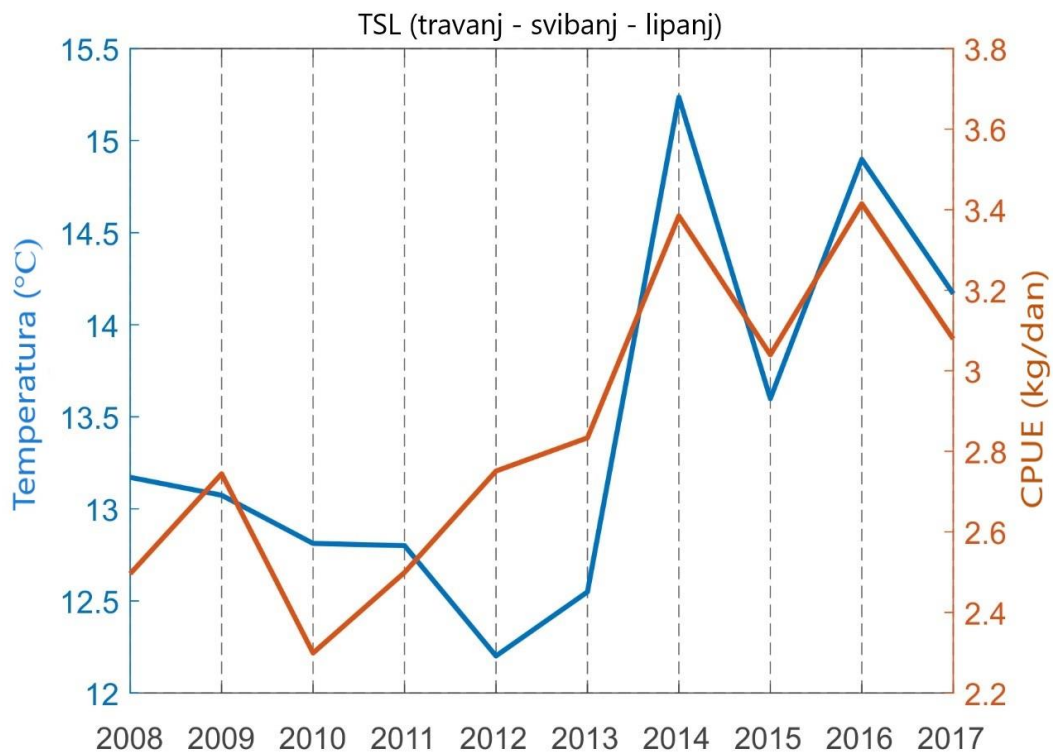
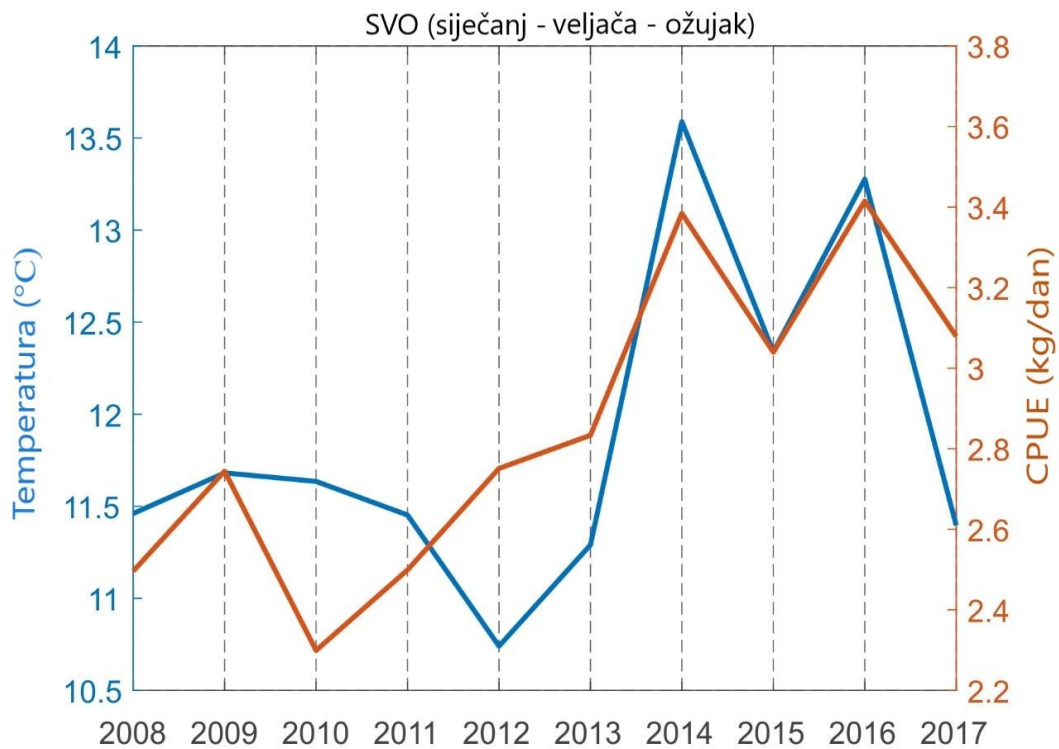
**Slika 4.4.5.** Vremenski niz proljetne (TSL; travanj - svibanj - lipanj) pridnene temperature mora i CPUE (kg/dan) hlapa u ribolovnoj zoni G

Korelacija između zimske (SVO) i proljetne (TSL) pridnene temperature mora i ulova po jedinici ribolovnog napora CPUE (kg/dan) po grupiranim ribolovnim zonama (Sjeverni Jadran - zone A, B i E; srednji Jadran - zone C, G i F) za vremensko razdoblje od 2008. do 2017. godine pokazala se statistički značajnom (tablica 4.4.2.) (Slika 4.4.6. - 4.4.7.).

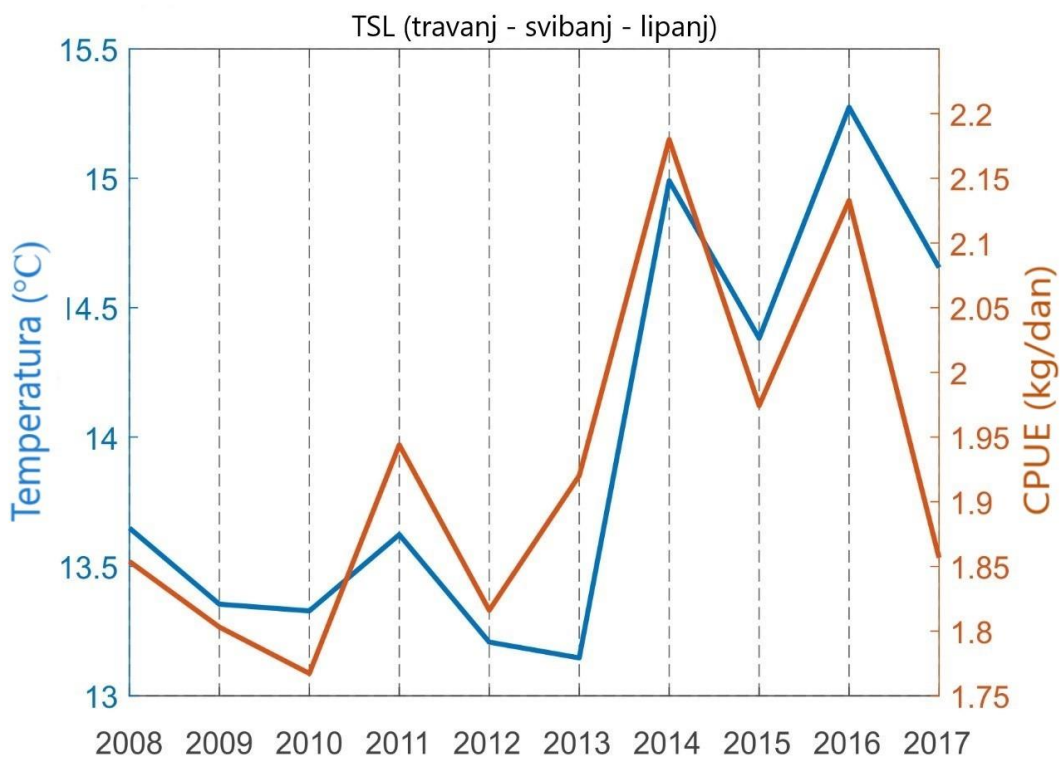
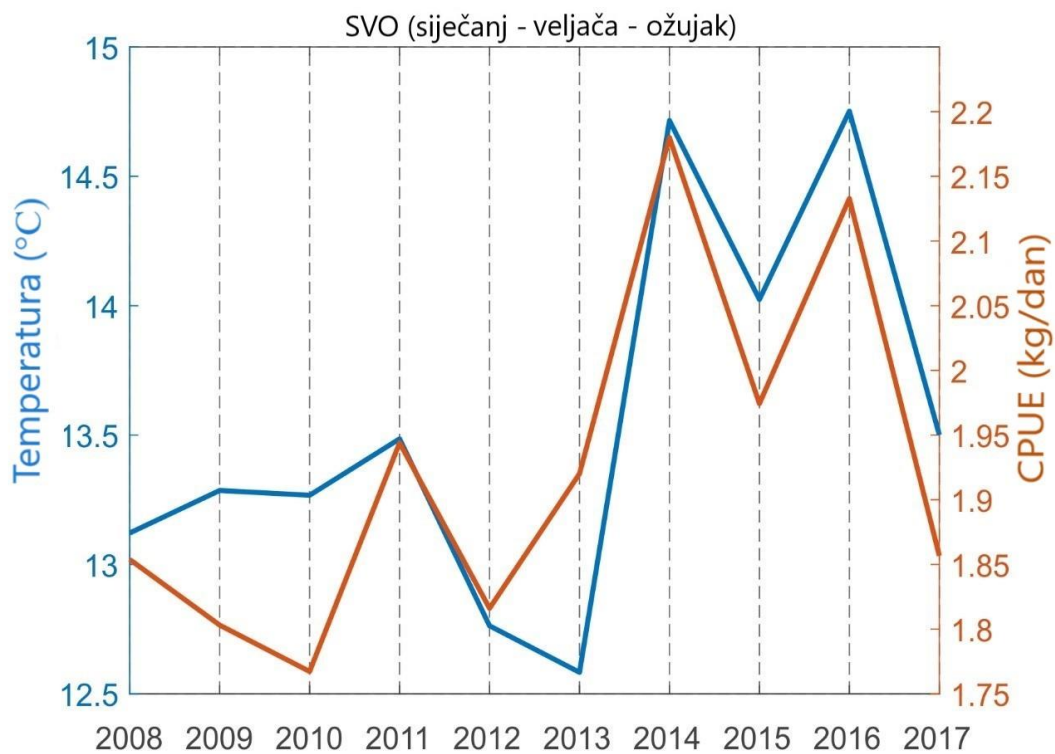
**Tablica 4.4.2.** Koeficijent korelacije (r) i p vrijednost između vremenskih nizova pridnene temperature mora i CPUE (kg/dan) hlapa za grupirane ribolovne zone (Sjeverni Jadran - zone A, B i E; srednji Jadran - zone C, G i F) (podebljane p vrijednosti za razinu značajnosti iznad 95 %)

Područje	SVO (siječanj - veljača - ožujak)		TSL (travanj - svibanj - lipanj)	
	r	p	r	p
Sjeverni Jadran (A, B, E)	0,736	<b>0,015</b>	0,82	<b>0,003</b>
Srednji Jadran (C, G, F)	0,836	<b>0,003</b>	0,79	<b>0,006</b>





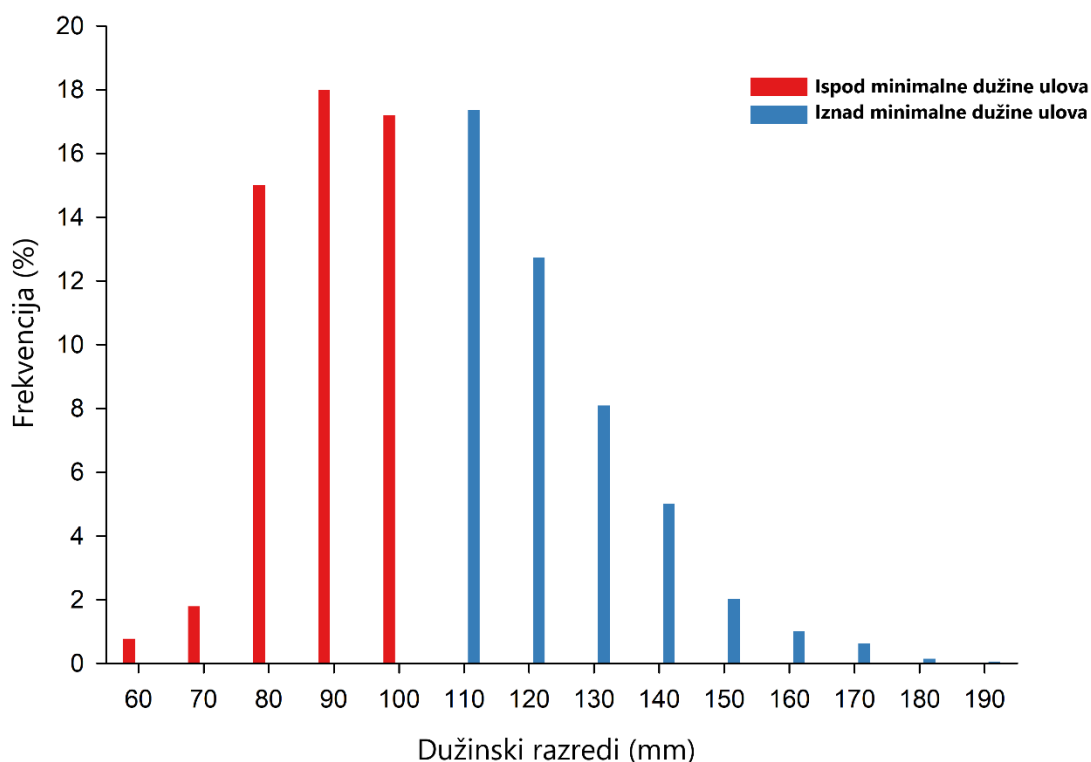
**Slika 4.4.6.** Vremenski niz zimske (SVO) i proljetne (TSL) pridnene temperature mora i CPUE (kg/dan) hlapa za grupirane ribolovne zone sjevernog Jadrana (zone A, B i E)



**Slika 4.4.7.** Vremenski niz zimske (SVO) i proljetne (TSL) pridnene temperature mora i CPUE (kg/dan) hlapa za grupirane ribolovne zone srednjeg Jadrana (zone C, G i F)

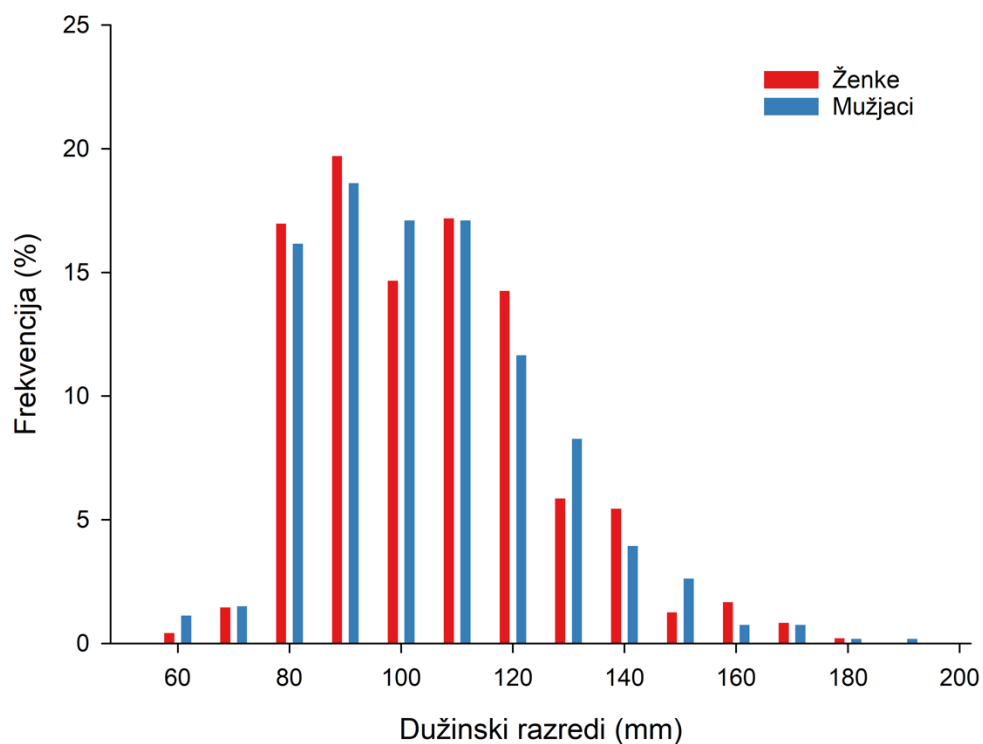
#### 4.5. Frekvencija ulova i ulov po jedinici ribolovnog napora

Hlapovi ispod minimalne veličine ulova (MLS) od 105 mm CL činili su 52,83 % ukupnog uzorka (Slika 4.5.1.) i vraćeni su u more. Hlapovi ispod MLS-a u jesen, zimi, proljeće i ljeto činili su 59,8 %, 50,4 %, 61 %, odnosno 52,4 % ulova. Omjer spolova bio je blago u korist mužjaka (mužjaci 52,7 %, ženke 47,3 %) ( $\chi^2 = 1,89$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0,17$ ). Dužina glavopršnjaka (CL) ženki je bila od 63 do 180 mm (srednja vrijednost  $104,01 \pm 20,96$  mm standardne devijacije), a mužjaka od 55 do 189 mm (srednja vrijednost  $103,78 \pm 21,05$  mm standardne devijacije). Masa ženki i mužjaka je bila od 180 do 2480 g (srednja vrijednost  $735,72 \pm 454,62$  g standardne devijacije) odnosno 105 do 4118 g (srednja vrijednost  $725,55 \pm 491,47$  g standardne devijacije).

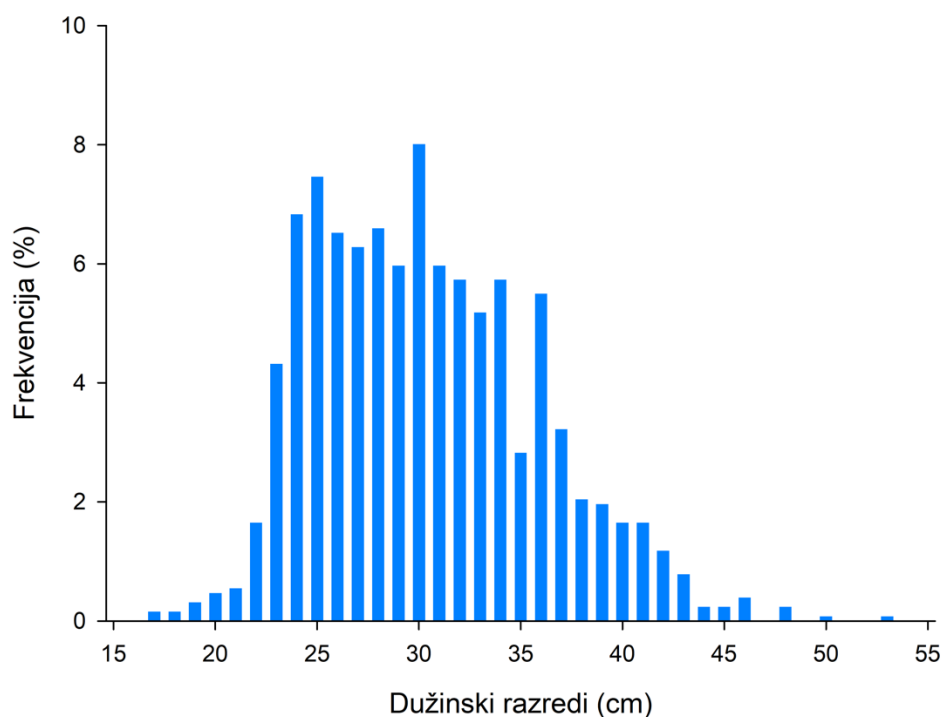


**Slika 4.5.1.** Frekvencija ukupnog uzorka hlapa (*Homarus gammarus*) po dužinskim razredima (dužina glavopršnjaka, CL) u odnosu na minimalnu dužinu ulova (MLS = 105 mm CL).

Dužinski razredi prema dužini glavopršnjaka (CL) bili su u rasponu od 60 – 190 mm. Najzastupljeniji dužinski razredi za mužjake i ženke hlapa u uzorku bili su od 80 – 120 mm dužine glavopršnjaka (CL) (Slika 4.5.2.). Gledajući ukupnu dužinu (TL) za cijeli uzorak dužinski razredi su bili u rasponu od 15 – 53 cm, s najučestalijim dužinskim razredima od 23 – 36 cm ukupne dužine (Slika 4.5.3.).

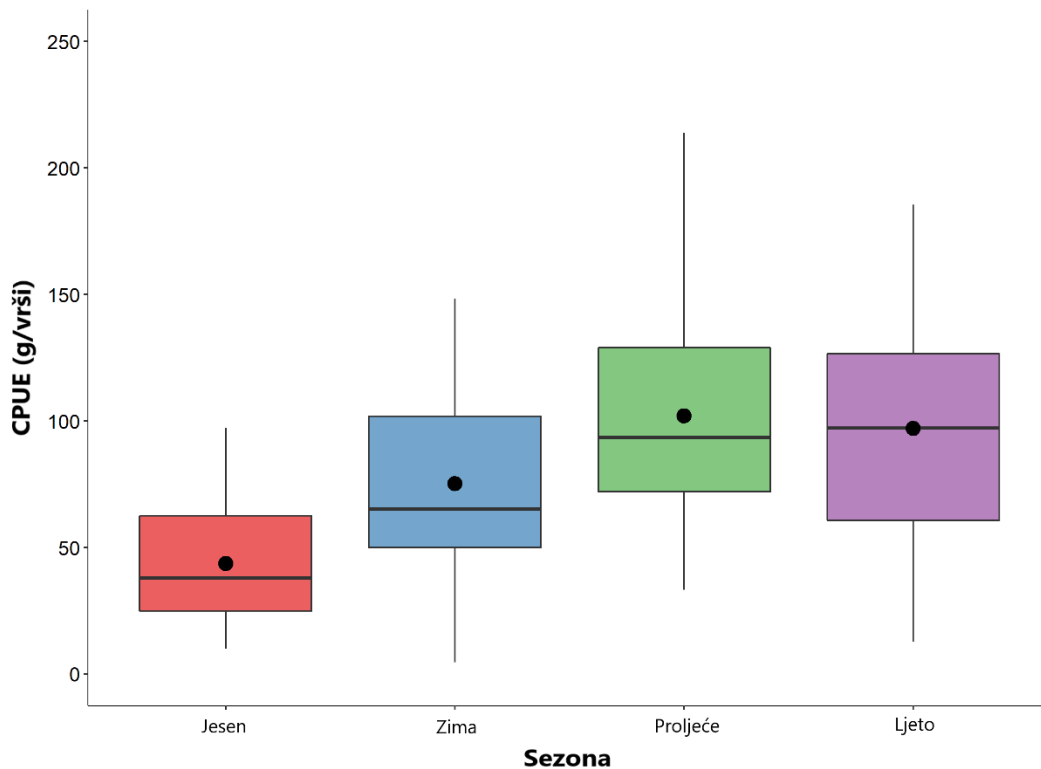


**Slika 4.5.2.** Frekvencija ulova hlapa (*Homarus gammarus*) po spolu po dužinskim razredima (dužina glavopršnjaka, CL)



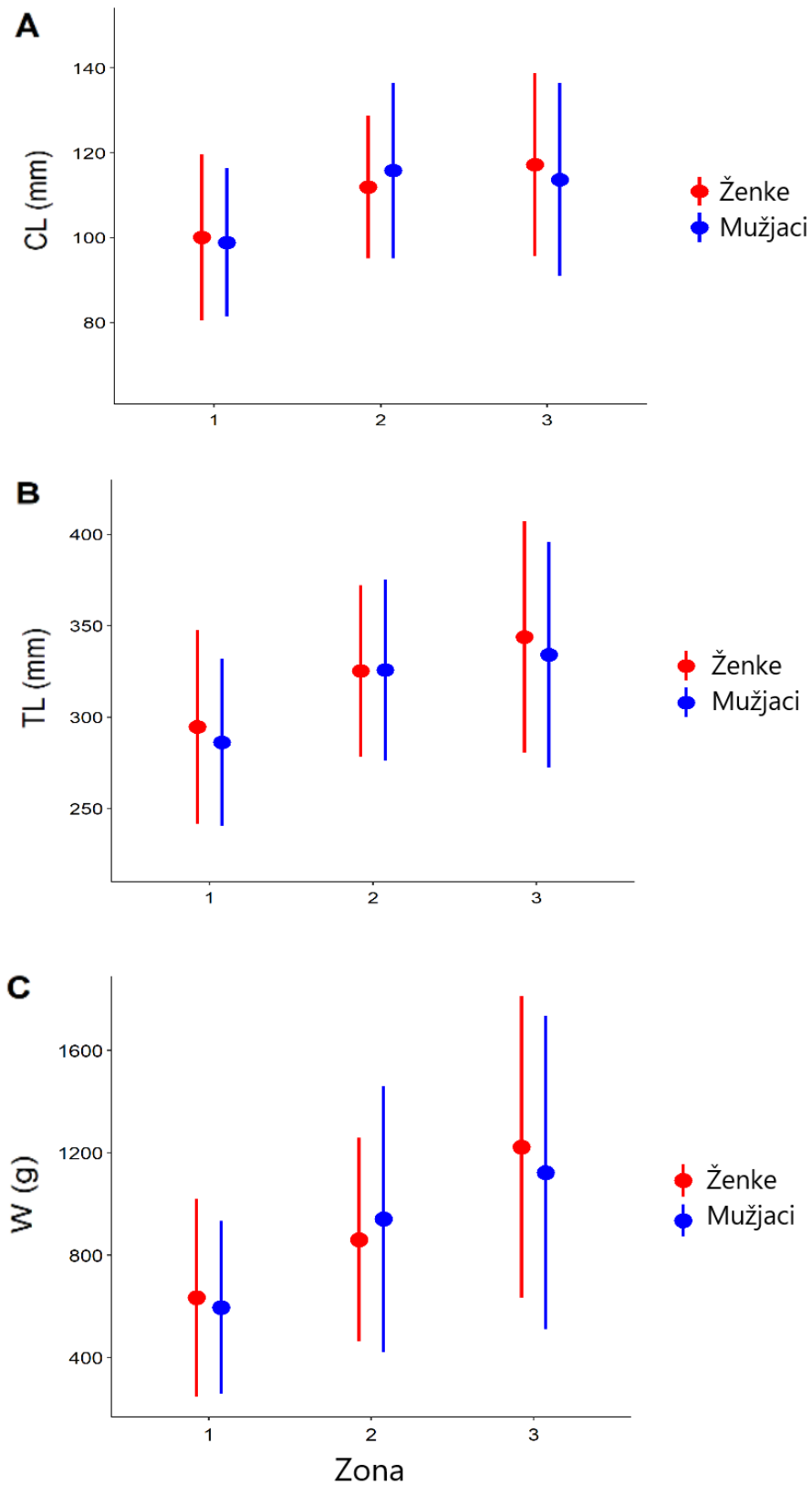
**Slika 4.5.3.** Frekvencija ukupnog ulova hlapa (*Homarus gammarus*) po dužinskim razredima (ukupna dužina, TL)

Ulov po jedinici ribolovnog napora (CPUE) je varirao od 4,6 do 239 g po vrši. Srednja vrijednost CPUE bila je najniža u jesen (43,7 g/vrši), dok su CPUE bili slični u proljeće (102 g/vrši) i ljeti (101,2 g/vrši) (Slika 4.5.4.). Jednosmjerna PERMANOVA pokazala je da su vrijednosti CPUE značajno različite između godišnjih doba (Pseudo-F = 12,16, P = 0,001). Sve usporedbe u parovima između godišnjih doba bile su značajno različite, osim između proljeća i ljeta (P > 0,05).



**Slika 4.5.4.** Sezonske varijacije ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE, g/vrši) hlapa (*Homarus gammarus*) u jadranskom moru. Crne linije označavaju median, a crne točke označavaju srednje vrijednosti.

Općenito, ženke i mužjaci su se postupno povećavali u CL, TL i W od obale do otvorenih voda. Dužina glavopršnjaka (CL) ženki u ribolovnim zonama 1, 2 i 3 iznosila je  $100,05 \pm 19,54$  mm,  $111,92 \pm 16,82$  mm i  $117,21 \pm 21,52$  mm, dok je CL mužjaka u istim zonama iznosila  $98,84 \pm 17,52$  mm,  $115,79 \pm 20,68$  mm, i  $113,67 \pm 22,71$  mm. Ukupna dužina (TL) ženki u ribolovnim zonama 1, 2 i 3 iznosila je  $294,69 \pm 52,85$  mm,  $325,27 \pm 47,0$  mm i  $343,82 \pm 63,31$  mm, dok je TL mužjaka iznosila  $286,25 \pm 45,86$  mm,  $325,76 \pm 49,41$  mm, i  $334,12 \pm 61,70$  mm. Masa ženki u ribolovnim zonama 1, 2 i 3 bila je  $633,99 \pm 387,84$  g,  $860,38 \pm 397,85$  g i  $1222,56 \pm 588,99$  g, dok je masa mužjaka iznosila  $595,28 \pm 337,54$  g,  $941,18 \pm 518,43$  g, i  $1122 \pm 611,87$  g (Slika 4.5.5.).



**Slika 4.5.5.** Varijacije CL (A), TL (B) i W (C) (srednjak  $\pm$  standardna devijacija) ženki i mužjaka hlapa po ribolovnim zonama 1, 2 i 3. CL, dužina glavopršnjaka; W, masa; i TL, ukupna dužina.

Za sva tri mjerenja (CL, TL i W), dvosmjerna PERMANOVA pokazala je značajnu razliku između ribolovnih zona (za CL Pseudo-F = 37,86, P = 0,001; za TL Pseudo-F = 42,09, P = 0,001; za W Pseudo-F = 78,72, P = 0,001), iako ove razlike nisu bile značajne po spolu ili u interakciji ribolovna zona - spol. Usporedbe u parovima pokazale su značajne razlike u vrijednostima CL, TL i W između ribolovnih zona 1 i 2 i ribolovnih zona 1 i 3, ali ne i između ribolovnih zona 2 i 3.

#### 4.6. Morfometrijski odnosi

Morfometrijski odnosi obične regresije najmanjih kvadrata mužjaka i ženki hlapa prikazani su u tablici 4.6.1. i slici 4.6.1. Odnosi CL vs. W i TL vs. W opisani su eksponencijalnom funkcijom (za sve odnose  $R^2 > 0,89$ ). Povećanjem CL i TL, W se povećava više u mužjaka nego u ženki (Slika 4.6.1. A, B). Ostale dimenzije (TL i AW) povećavaju se linearno s povećanjem CL (Slika 4.6.1. C, D). S povećanjem CL i TL, AW se povećao više kod ženki nego kod mužjaka. Pri dužini glavopršnjaka od 80 mm ženke su počele razvijati sekundarne spolne karakteristike, odnosno imaju širi abdomen nego mužjaci. Nagibi svih običnih regresija najmanjih kvadrata značajno su se razlikovali između ženki i mužjaka (Tablica 4.6.1.). Rezultati standardizirane regresije glavne osi za sve odnose s log-transformiranim podacima između ženki i mužjaka prikazani su u tablici 4.6.2. Odnosi log CL vs. log W i log CL vs. log TL za oba spola pokazali su negativnu alometriju, dok su log TL vs. log W odnosi za oba spola pokazali pozitivnu alometriju. Svi odnosi između spolova pokazali su istu vrstu alometrije, osim log AW vs log CL odnosa, koji su pokazali pozitivnu alometriju za ženke i negativnu alometriju za mužjake.

**Table 4.6.1.** Parametri obične regresije najmanjih kvadrata između mužjaka i ženki hlapa (*Homarus gammarus*).

	Spol	Odnos	Odsječak a (95% CI)	Nagib b (95% CI)	R <sup>2</sup>	N
W vs. CL	Ženke	$W = 0,0004568 \times CL^{2,561}$	0,0004568 (0,003052 - 0,006084)	2,561 (2,492 - 2,630)*	0,919	447
	Mužjaci	$W = 0,001311 \times CL^{2,822}$	0,001311 (0,000791 - 0,001831)	2,822 (2,740 - 2,904)*	0,890	489
TL vs. CL	Ženke	$TL = 32,893 + 2,617 \times CL$	32,893 (28,098 - 37,689)	2,617 (2,571 - 2,662)*	0,966	447
	Mužjaci	$TL = 42,351 + 2,467 \times CL$	42,351 (37,228 - 47,474)	2,467 (2,419 - 2,516)*	0,953	489
W vs. TL	Ženke	$W = 2,243 \times 10^{-5} \times TL^{3,004}$	0,000022431 (0,0000155 - 0,0000293)	3,004 (2,952 - 3,096)*	0,966	447
	Mužjaci	$W = 2,287 \times 10^{-6} \times TL^{3,408}$	0,0000022887 (0,00000151 - 0,00000307)	3,408 (3,350 - 3,466)*	0,958	489
AW vs. CL	Ženke	$AW = -19,327 + 0,724 \times CL$	-19,327 (-21,133 - (-17,520))	0,724 (0,707 - 0,742)*	0,942	422
	Mužjaci	$AW = 3,211 + 0,439 \times CL$	3,211 (2,089 - 4,333)	0,439 (0,428 - 0,449)*	0,934	450

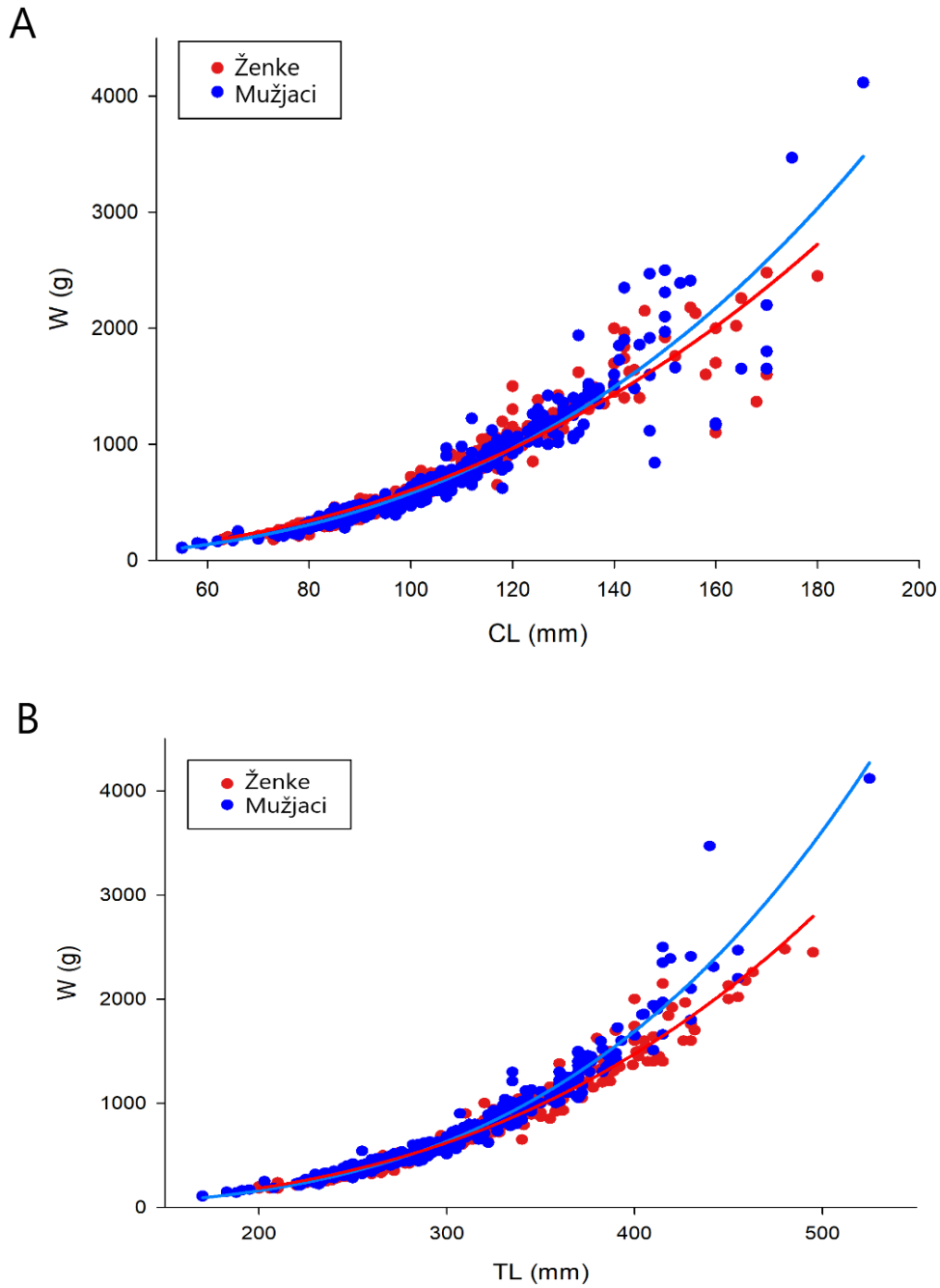
CL, dužina glavopršnjaka; W, masa; TL, ukupna dužina; AW, širina abdomena, \*  $p < 0,05$



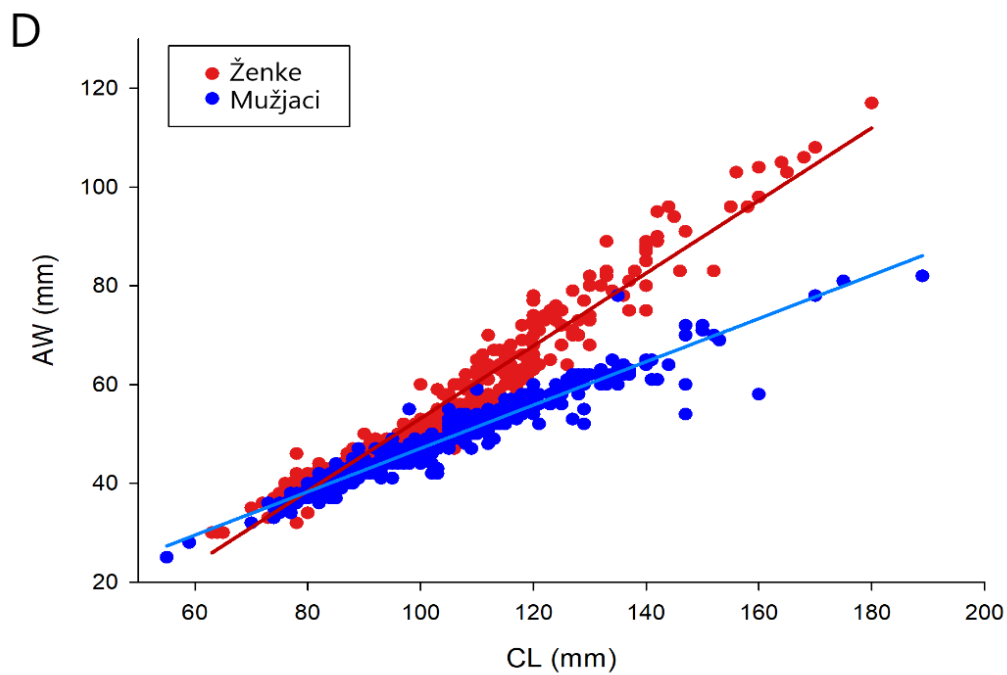
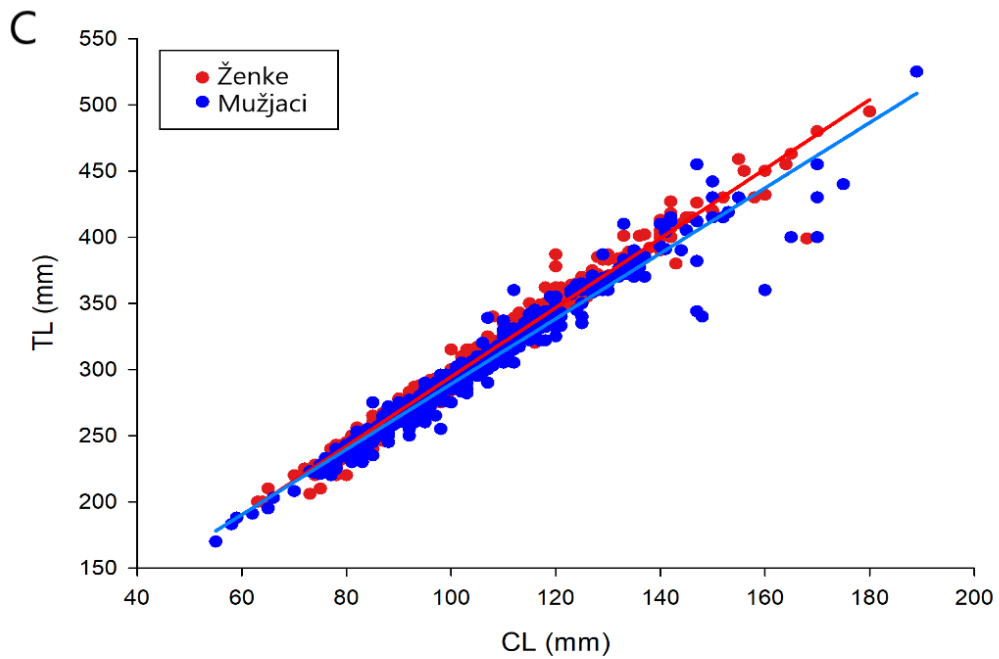
**Table 4.6.2.** Parametri standardizirane regresije glavne osi između mužjaka i ženki hlapa (*Homarus gammarus*) i testovi alometrije.

	<b>Spol</b>	<b>Odsječak a (95 % CI)</b>	<b>Nagib b (95 % CI)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>N</b>	<b>t</b>	<b>p</b>	<b>Alometrija</b>
Log W vs. Log CL	Ženke	-3,056 (-3,201 - (-2,918))	2,909 (2,839 - 2,981)	0,963	447	3,494	< 0,001	Negativna
	Mužjaci	-3,134 (-3,295 - (-2,972))	2,943 (2,862 - 3,025)	0,955	489	2,017	0,044	Negativna
Log TL vs. Log CL	Ženke	0,636 (0,596 - 0,676)	0,917 (0,897 - 0,937)	0,974	447	11,772	< 0,001	Negativna
	Mužjaci	0,688 (0,646 - 0,729)	0,887 (0,866 - 0,908)	0,966	489	15,271	< 0,001	Negativna
Log W vs. Log TL	Ženke	-5,073 (-5,202 - (-4,943))	3,172 (3,120 - 3,224)	0,978	447	7,784	< 0,001	Pozitivna
	Mužjaci	-5,419 (-5,561 - (-5,270))	3,320 (3,259 - 3,377)	0,975	489	13,436	< 0,001	Pozitivna
Log AW vs. Log CL	Ženke	-0,947 (-1,013 - 0,884)	1,334 (1,303 - 1,368)	0,953	422	23,570	< 0,001	Pozitivna
	Mužjaci	-0,079 (-0,328 - 0,229)	0,976 (0,951 - 1,000)	0,944	450	2,223	0,027	Negativna

CL, dužina glavopršnjaka; W, masa; TL, ukupna dužina; AW, širina abdomena. 95 %-tni interval pouzdanosti (CI) je prikazan.

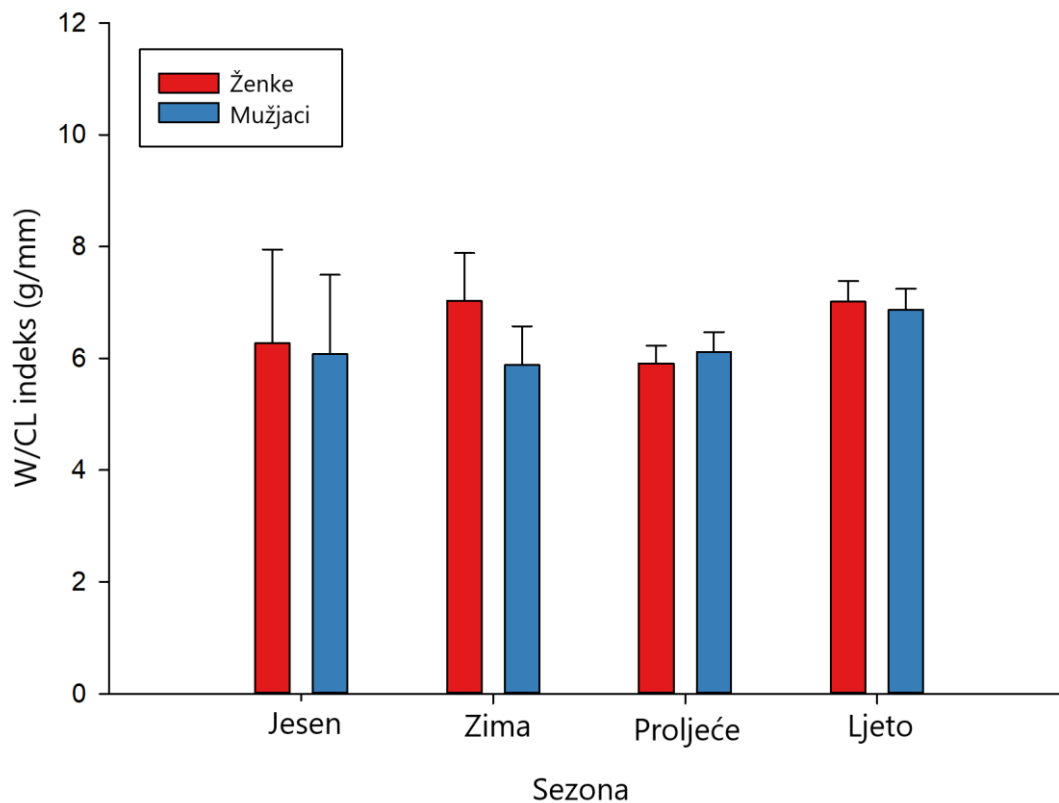


**Slika 4.6.1.** Morfometrijski odnosi mužjaka i ženki hlapa (*Homarus gammarus*) iz istočnog Jadranskog mora - (A) CL vs. W; (B) TL vs. W; (C) CL vs. TL; i (D) CL vs. AW. CL, dužina glavopršnjaka; W, masa; TL, ukupna dužina; i AW, širina abdomena.



**Slika 4.6.1.** Morfometrijski odnosi mužjaka i ženki hlapa (*Homarus gammarus*) iz istočnog Jadranskog mora - (A) CL vs. W; (B) TL vs. W; (C) CL vs. TL; i (D) CL vs. AW. CL, dužina glavopršnjaka; W, masa; TL, ukupna dužina; i AW, širina abdomena.

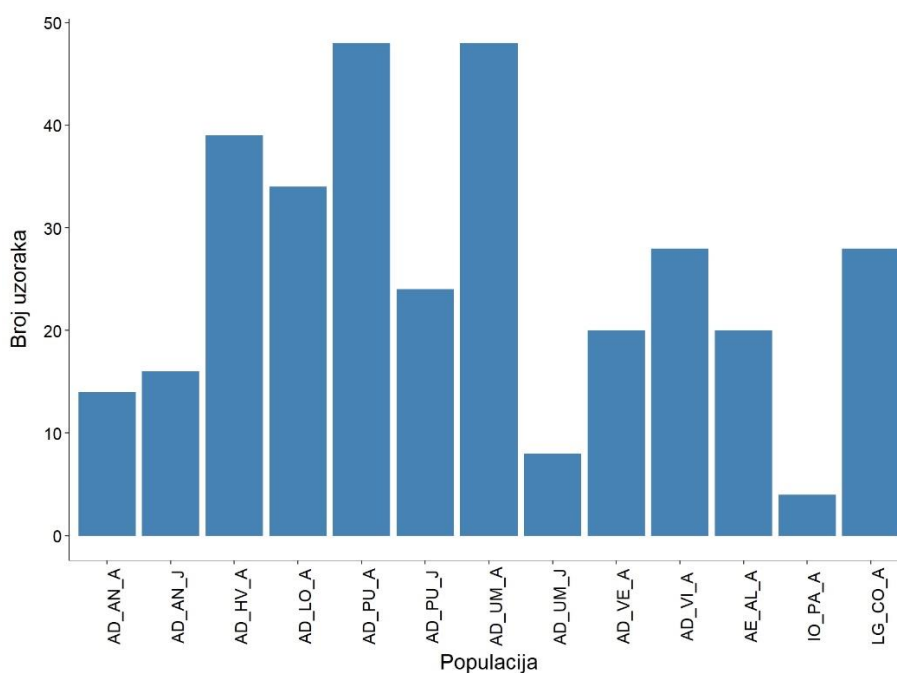
Srednje vrijednosti W/CL indeksa bile su veće u ženki u svim godišnjim dobima, osim u proljeće. Naime, srednja vrijednost indeksa W/CL (g/mm) ženki i mužjaka u jesen iznosila je 6,27, odnosno 6,09; 7,03 i 5,88 zimi; 5,91 i 6,11 u proljeće; te 7,01 i 6,87 ljeti (Slika 4.6.2). Rezultati dvosmjerne PERMANOVE W/CL indeksa pokazali su značajan učinak sezone, ali bez značajnih razlika za spol ili interakciju spol-sezona. Nakon kontroliranja značajnog učinka dužine glavopršnjaka CL (kovarijanca), učinak sezone na W/CL indeks nije ostao značajan.



**Slika 4.6.2.** Sezonske varijacije W/CL indeksa (indeks kondicije) ženki i mužjaka hlapa (*Homarus gammarus*) (srednjak  $\pm$  95 %-tni intervali pouzdanosti).

#### 4.7. Genetička raznolikost

Višelokusna genotipizacija izvršena je na ukupno 331 jedinci hlapa (*Homarus gammarus*) primjenom 15 mikrosatelitnih biljega specifičnih za predmetnu vrstu. Broj uzoraka po populaciji bio je u rasponu od 4 (populacija IO\_PA\_A) do 48 (populacije AD\_UM\_A i AD\_PU\_A) (Slika 4.7.1.; Tablica 3.1.).



**Slika 4.7.1.** Broj uzoraka po populaciji hlapa, *Homarus gammarus*, primjenom neutralnih mikrosatelitnih biljega

Postotak neumnoženih uzoraka po lokusu i populaciji se kretao od 0 do 3,5 %, s prosjekom od 0,04 %. Prisutnost nul-alela identificiran je na lokusima HGA8, HGC120 i HGC129 pomoću programa MICROCHECKER. Velika učestalost nul-alela je identificirana na lokusu HGA8 (>10 %), te je u skladu s tim taj lokus isključen iz daljnjih analiza. Lokusi HGC120 i HGC129 su zadržani u daljnjoj obradi jer su pokazali prisutnost nul-alela s niskim frekvencijama (< 4 %). Vrijednosti  $F_{ST}$  sa i bez primjene ENA korekcijske metode bile su usporedive 0,0068 naspram 0,0062, s preklapanjem u intervalu pouzdanosti od 95 %. Neravnoteža vezanosti gena (engl. *linkage disequilibrium*) između lokusa nije uočena nakon isključenja lokusa HGA8. Također, nije uočeno značajno odstupanje od Hardy-Weinbergove ravnoteže (Prilog: Tablica P1.) što je i pokazao Fisherov egzaktni test.

U istraživanim populacijama svih 14 ispitanih lokusa su bili polimorfni. Srednji broj alela (A) je bio rasponu od 6 do 12 alela po lokusu, s prosjekom od 9 alela za ukupni set podataka (Prilog: Tablica P1.). Broj alela po lokusu je malo smanjen u juvenilnim populacijama, vjerojatno zbog ograničene veličine uzorka. Srednja očekivana (He) i opažena (Ho) heterozigotnost su pokazale umjerenu varijaciju među populacijama i ontogenetskim stadijem (odrasli / nedorasli). Srednja očekivana heterozigotnost (He) je bila u rasponu od 0,63 (AE\_AL) do 0,73 (IO\_PA) (Tablica 4.7.1.). Srednja opažena heterozigotnost je bila u rasponu od 0,63 (AD\_UM\_J i AD\_PU\_J) do 0,77 (IO\_PA). Slična razina raznolikosti među populacijama i stadijima uočena je s indeksima efektivnog broja alela (Ae) i alelnog bogatstva (Ar). Efektivni broj alela (Ae) po lokusu je bio u rasponu od 2,9 (IO\_PA) do 3,7 (AD\_LO). Alelno bogatstvo (Ar), mjera broja alela nezavisnih od veličine uzorka, kretalo u rasponu od 3,4 (AE\_AL) do 3,8 (AD\_LO). Vrijednosti koeficijenta križanja u bliskom srodstvu ( $F_{IS}$ ) bile su niske i statistički neznačajne, te su bile u rasponu od 0,001 (AD\_VE\_A) do 0,077 (AD\_PU\_J) (Tablica 4.7.1.). Najveća genetička raznolikost uočena je u populacijama uzorkovanim u srednjem Jadranu (AD\_VI\_A i AD\_AN\_J) te u populaciji uzorkovanoj na granici sjevernog i srednjeg Jadrana (AD\_LO\_A).

Lokusi HGC120, HGD110 i HGC131b su pokazali najveću varijabilnost, s rasponom broja alela od 4 do 10, dok su najmanje varijabilni lokusi bili HGB6 i HGC118 s rasponom broja alela od 5 do 7 i 4 do 6.

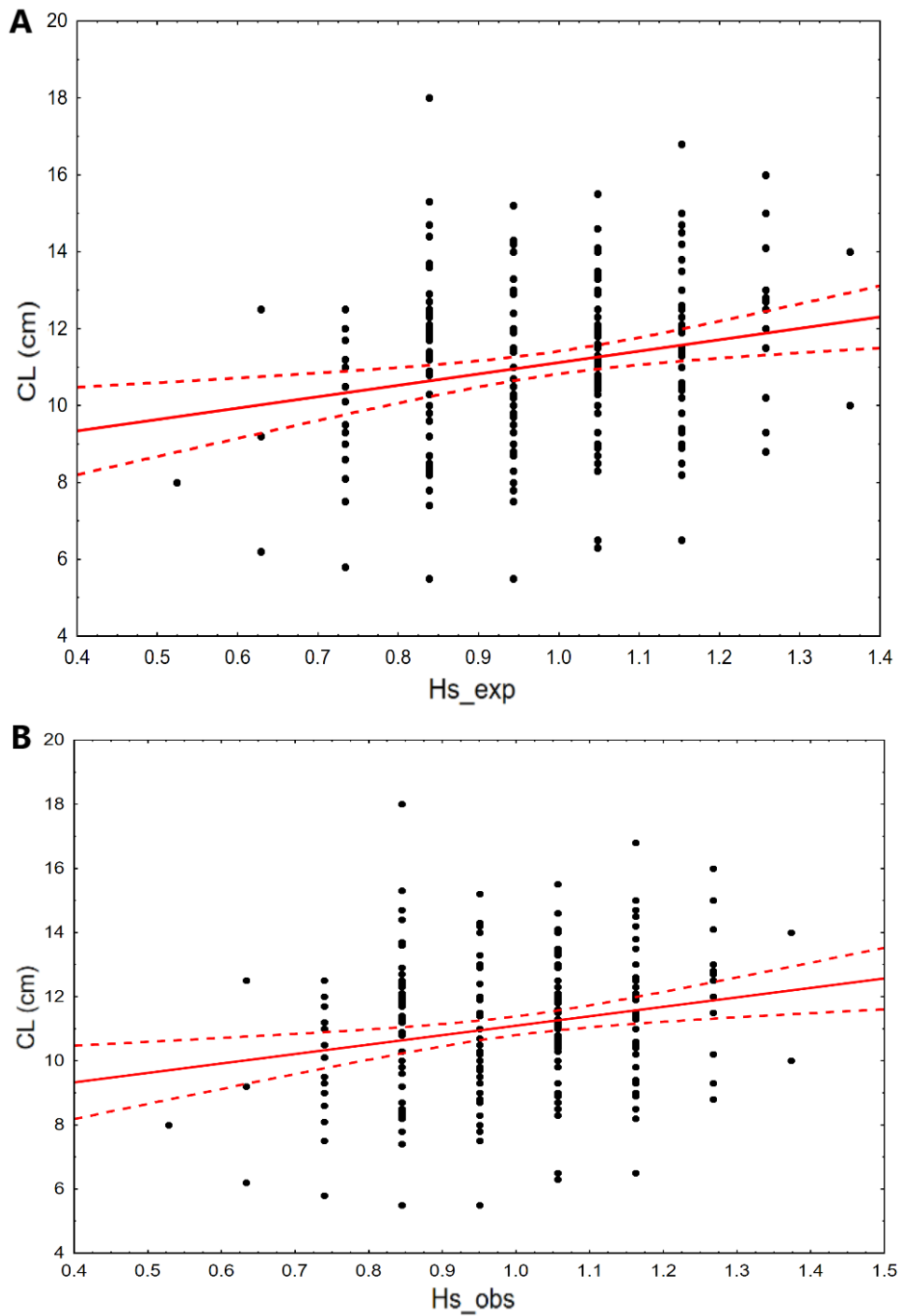
**Tablica 4.7.1.** Genetička raznolikost hlapa *Homarus gammarus* u srednjem i istočnom Sredozemnom moru za 14 mikrosatelitnih lokusa. A - srednji broj alela; Ae - efektivni broj alela; Ar - alelno bogatstvo; He - očekivana heterozigotnost; Ho - uočena heterozigotnost;  $F_{IS}$  - fiksacijski indeks. Zadnje slovo u populacijskoj oznaci označava ontogenetsko stanje jedinke (A, odrasli (*adults*); J, nedorasli (*juveniles*)).

Populacije	A	Ae	Ar	Ho	He	$F_{IS}$
<b>Odrasli</b>						
AD_VE_A	6 ± 1,5	3,2 ± 1,1	3,5 ± 0,7	0,66 ± 0,1	0,67 ± 0,1	0,007
AD_UM_A	6,8 ± 1,2	3,5 ± 1,1	3,6 ± 0,7	0,67 ± 0,2	0,68 ± 0,1	0,018
AD_PU_A	7 ± 1,8	3,5 ± 1,3	3,7 ± 0,8	0,68 ± 0,1	0,68 ± 0,1	0,008

AD_LO_A	7,1 ± 1,6	3,7 ± 1,3	3,8 ± 0,8	0,70 ± 0,2	0,70 ± 0,1	0,001
AD_AN_A	5,5 ± 1,4	3,3 ± 1,1	3,6 ± 0,7	0,67 ± 0,2	0,69 ± 0,1	0,032
AD_HV_A	6,8 ± 1,8	3,6 ± 1,4	3,6 ± 0,8	0,67 ± 0,1	0,68 ± 0,2	0,006
AD_VI_A	6,6 ± 1,7	3,5 ± 1,3	3,7 ± 0,9	0,70 ± 0,2	0,68 ± 0,2	0,034
LG_CO_A	6,7 ± 1,7	3,4 ± 1,2	3,7 ± 0,7	0,68 ± 0,1	0,68 ± 0,1	0,002
IO_PA_A	3,9 ± 0,9	2,9 ± 0,9	3,7 ± 1,1	0,77 ± 0,2	0,73 ± 0,2	0,062
AE_AL_A	5,6 ± 1,8	3,1 ± 1,3	3,4 ± 0,9	0,64 ± 0,2	0,63 ± 0,2	0,018
<i>Ukupno</i>	8,9 ± 2,1	3,6 ± 1,2	3,6 ± 0,1	0,68 ± 0,1	0,68 ± 0,1	0,03
<b>Nedorasli</b>						
AD_UM_J	4,4 ± 1,3	3,0 ± 1,1	3,4 ± 0,9	0,63 ± 0,2	0,66 ± 0,2	0,036
AD_PU_J	6,0 ± 1,4	3,3 ± 1,1	3,6 ± 0,7	0,63 ± 0,1	0,68 ± 0,1	0,077
AD_AN_J	5,9 ± 1,4	3,1 ± 0,8	3,6 ± 0,6	0,72 ± 0,1	0,68 ± 0,1	0,055
<i>Ukupno</i>	6,9 ± 1,5	3,3 ± 1,0	3,5 ± 0,1	0,66 ± 0,1	0,67 ± 0,1	0,027

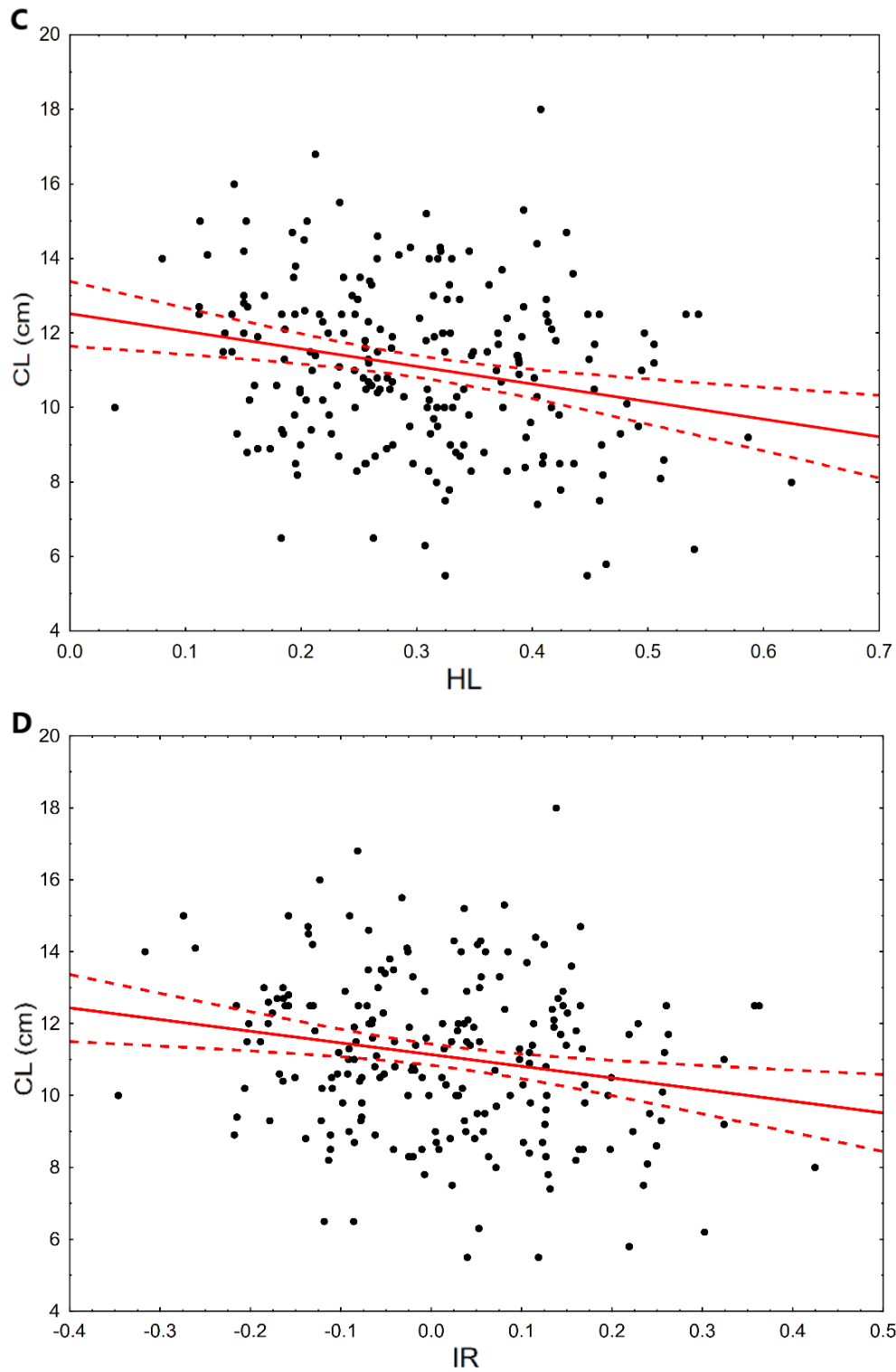
---

Između mužjaka i ženki hlapa u Jadranskom moru za pojedinačne procjene heterozigotnosti, standardizirana očekivana i uočena heterozigotnost ( $Hs_{exp}$ ,  $HS_{obs}$ ), unutarnja srodnost (IR) i homozigotnost po lokusu (HL), nisu uočene statistički značajne razlike (Mann–Whitney U test,  $p > 0,05$ ). Udio heterozigotnih lokusa nije bio u korelaciji s dužinom glavopršnjaka (tj. starosti) za mužjake i ženke hlapa zajedno. ( $p > 0,05$ ; Slika 4.7.2.).



**Slika 4.7.2.** Regresijski grafovi četiri različite mjere heterozigotnosti, tj. standardizirane očekivane (A) i uočene heterozigotnosti (B) po jedinki ( $Hs\_exp$ ,  $HS\_obs$ ), unutarnje srodnosti (C) (IR) i homozigotnosti (D) po lokusu (HL) u odnosu na duljinu glavopršnjaka u mužjaka i ženki hlapa.





**Slika 4.7.2. nastavak.** Regresijski grafovi četiri različite mjere heterozigotnosti, tj. standardizirane očekivane (A) i uočene heterozigotnosti (B) po jedinki ( $Hs_{exp}$ ,  $HS_{obs}$ ), unutarnje srodnosti (C) (IR) i homozigotnosti (D) po lokusu (HL) u odnosu na duljinu glavopršnjaka u mužjaka i ženki hlapa.

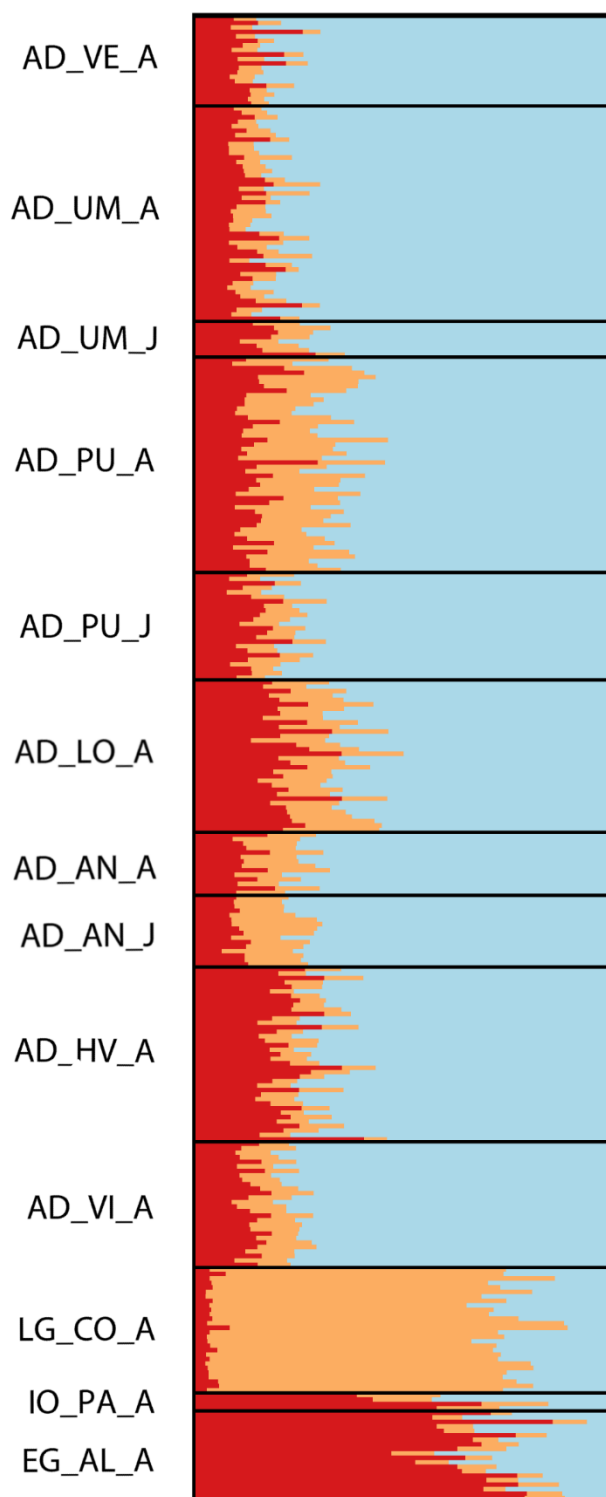
#### 4.8. Genetička udaljenost i populacijska struktura

Genetička udaljenost procijenjena s  $F_{ST}$  i  $Dest$  statistikom je iznosila 0,0062 ( $p < 0,001$ ) i 0,023, ukazujući na relativno nisku genetičku udaljenost između istraživanih populacija. Nakon Bonferronijeve korekcije, obje mjere genetičke udaljenosti su dale sukladne rezultate u usporedbi po parovima, pri čemu je 17 od 79 interakcija bilo statistički značajno ( $p < 0,001$ ). Potpuni prikaz  $F_{ST}$  i  $Dest$  vrijednosti između parova populacija seta podataka prikazan je u Tablici 4.8.1. U prosjeku, vrijednosti  $Dest$  bile su 1 do 2 puta veće od ekvivalentne statistike. Uočene su visoke i značajne udaljenosti u parovima populacija iz različitih mediteranskih bazena, odnosno između populacija iz Egejskog i Jadranskog mora, Jadranskog i Ligurskog mora, te Egejskog i Ligurskog mora. Većina jadranskih populacija je pokazala ograničen protok gena prema populacijama Egejskog i Ligurskog mora. Populacije iz zapadnog srednjeg Jadrana (AD\_AN) i populacije nedoraslih jedinki (AD\_UM\_J i AD\_PU\_J) iz sjevernog Jadrana nisu pokazale značajnu genetičku udaljenost od populacije u Ligurskom moru (LG\_CO\_A). Unutar populacija iz Jadranskog mora nisu zabilježene značajne genetičke udaljenosti, osim populacija uzorkovanih na istočnoj strani Jadrana. Populacija otoka Visa (AD\_VI) uzorkovana na najudaljenijoj točki srednjeg Jadrana pokazala je značajnu interakciju s populacijom otoka Lošinja (AD\_LO) iz sjevernog Jadrana.

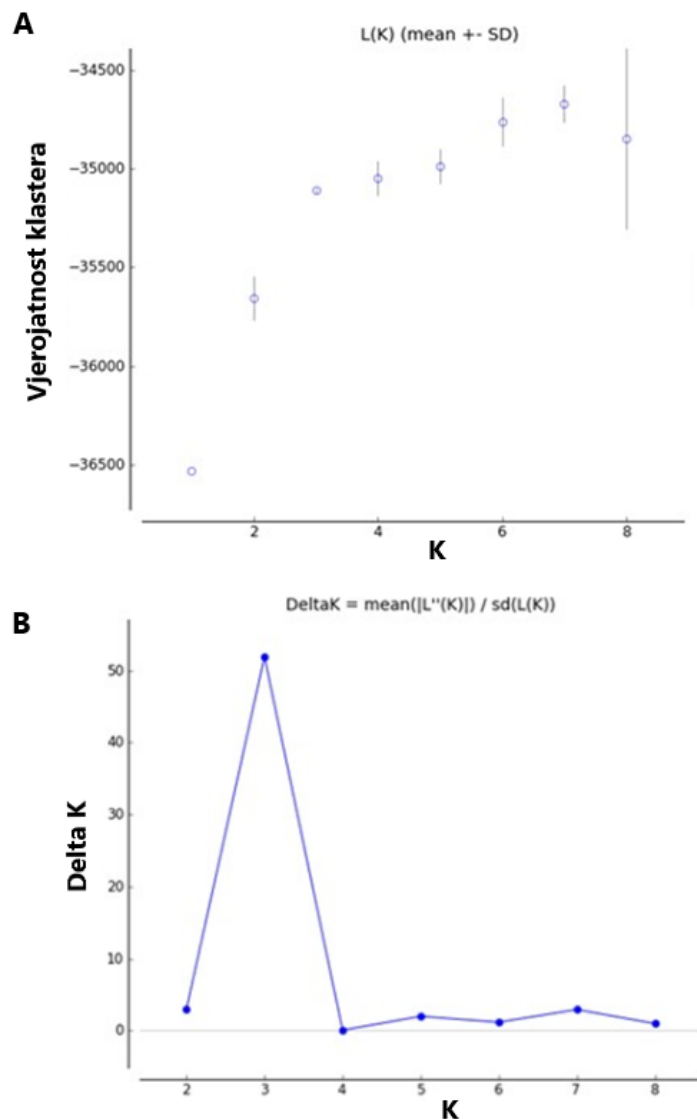
Analizom populacijske strukture u programu STRUCTURE prepoznata su tri zasebna klastera hlapa ( $K = 3$ ) korištenjem Bayesove metode klasteriranja na istraživanom području (Slika 4.8.1. i 4.8.2.). Opažena je homogenost jadranskih populacija, koje su pridružene u prvi klaster (plavi) s postotkom pridruživanja od 71 % što je u skladu s  $F_{ST}$  vrijednostima. Populacija iz Ligurskog mora pridružena je u drugi klaster (narančasti) (82 %), dok je populacija iz Egejskog mora pridružena u treći klaster (crveni) (63 %). Populacija iz Jonskog mora djelomično je dodijeljena svakom od triju klastera. Gledajući zasebno samo Jadransko more daljnja hijerarhijska analiza strukturiranosti populacija provedena u programu STRUCTURE nije uočena. Srednja vrijednost  $L(K)$  je ukazala na panmiksiju jer je broj populacija identificiran kao  $K=1$ .

**Table 4.8.1.**  $F_{ST}$  vrijednosti (ispod dijagonale) i  $Dest$  (iznad dijagonale) između parova populacija hlapa *Homarus gammarus* na temelju 14 neutralnih mikrosatelitnih lokusa između 13 populacija uključujući odrasle i nedorasle jedinke. Značajne  $F_{ST}$  i  $Dest$  vrijednosti su podcrtane pri  $p < 0,001$  (Bonferroni korekcija).

	AD_VE_A	AD_UM_A	AD_PU_A	AD_LO_A	AD_AN_A	AD_HV_A	AD_VI_A	LG_CO_A	IO_PA_A	AE_AL_A	AD_UM_J	AD_PU_J	AD_AN_J
AD_VE_A		0,012	0,000	0,013	0,013	0,001	0,005	<u>0,045</u>	0,013	<u>0,055</u>	0,005	0,012	0,002
AD_UM_A	0,006		0,010	0,013	0,009	0,003	0,009	<u>0,042</u>	0,042	<u>0,061</u>	0,009	0,004	0,001
AD_PU_A	0,000	0,005		0,010	0,016	0,007	0,010	<u>0,021</u>	0,032	<u>0,052</u>	0,004	0,001	0,005
AD_LO_A	0,006	0,006	0,005		0,007	0,005	<u>0,024</u>	<u>0,057</u>	0,045	<u>0,038</u>	0,002	0,010	0,010
AD_AN_A	0,005	0,003	0,007	0,003		0,014	0,009	0,015	0,037	<u>0,052</u>	0,046	0,029	0,027
AD_HV_A	0,000	0,001	0,003	0,002	0,006		0,004	<u>0,036</u>	0,043	<u>0,041</u>	0,018	0,008	0,002
AD_VI_A	0,003	0,004	0,004	<u>0,010</u>	0,004	0,002		<u>0,045</u>	0,017	<u>0,047</u>	0,002	0,006	0,014
LG_CO_A	<u>0,022</u>	<u>0,020</u>	<u>0,010</u>	<u>0,025</u>	0,008	<u>0,017</u>	<u>0,021</u>		0,024	<u>0,107</u>	0,010	0,021	0,007
IO_PA_A	0,008	0,021	0,017	0,023	0,018	0,023	0,012	0,013		0,017	0,056	0,033	0,043
AE_AL_A	<u>0,029</u>	<u>0,030</u>	<u>0,026</u>	<u>0,018</u>	<u>0,027</u>	<u>0,021</u>	<u>0,023</u>	<u>0,054</u>	0,011		0,026	<u>0,061</u>	<u>0,063</u>
AD_UM_J	0,004	0,004	0,002	0,001	0,021	0,009	0,001	0,006	0,030	0,015		0,027	0,017
AD_PU_J	0,005	0,002	0,000	0,005	0,012	0,003	0,004	0,010	0,015	<u>0,032</u>	0,011		0,018
AD_AN_J	0,002	0,001	0,003	0,004	0,013	0,000	0,005	0,002	0,026	<u>0,031</u>	0,009	0,008	



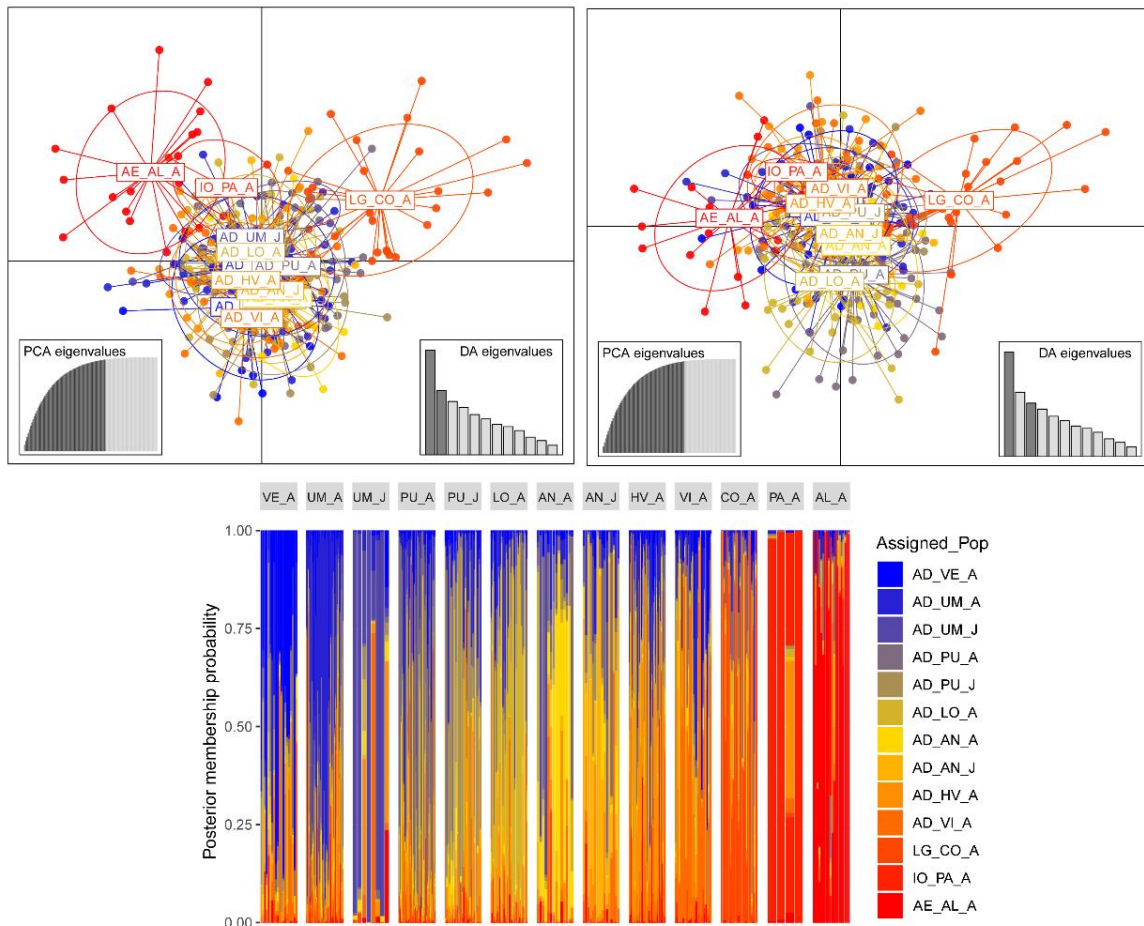
**Slika 4.8.1.** Bayesova STRUCTURE analiza genotipova 14 mikrosatelitnih lokusa hlapa *Homarus gammarus*. Podjela razlučuje pripadnost jedinki u tri ( $K = 3$ ) klastera. Crne linije odjeljuju jedinke prema mjestu uzorkovanja.



**Slika 4.8.2.** Prikaz broja klastera za set podataka o populaciji hlapa *Homarus gammarus*. (A) Srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija vjerojatnosti svakog klastera (K); (B) vrijednosti Delta K izračunate kao srednja vrijednost stope promjene drugog reda vjerojatnosti K podijeljena sa standardnom devijacijom vjerojatnosti K. K s najvećom vrijednosti Delta K predstavlja najvjerojatniji broj populacija.

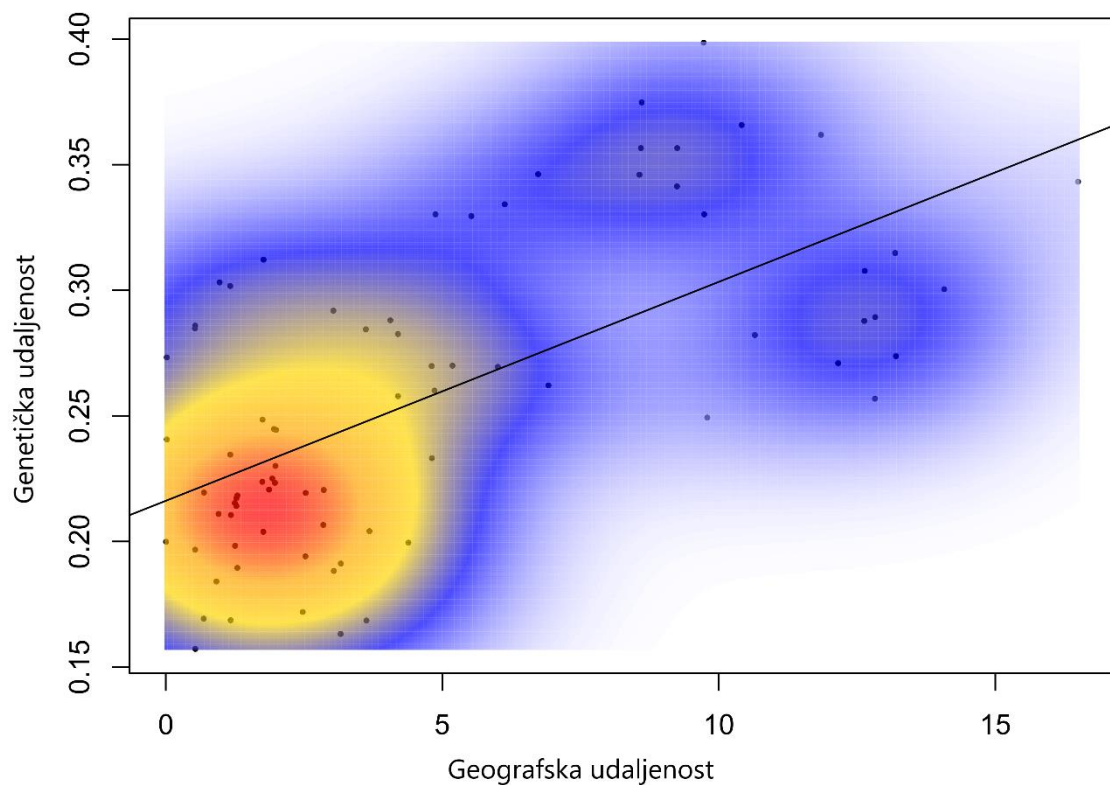
Prisutnost triju klastera također je potkrijepljena optimalnim brojem klastera identificiranih korištenjem diskriminantne analize glavnih komponenta (DAPC) i uzastopnih analiza klasteriranja K-srednjih vrijednosti. Kada je svaka lokacija tretirana kao *a priori*

klaster, DAPC analiza je grupirala populacije slično strukturalnom obrascu uočenom u programu STRUCTURE (Slika 4.8.3.) gdje se vidi postupni prijelaz klastera iz smjera Jadranskog mora do Jonskog i Egejskog mora.



**Slika 4.8.3.** Vrh: Grafovi Diskriminantne analize glavnih komponenti (DAPC) s lokacijom uzorkovanja kao *a priori*. Točke predstavljaju jedinke, obojene po lokaciji uzorkovanja i opisane elipsom pouzdanosti od 95 %. Vrijednosti DA i PCA predstavljaju količinu genetičke varijacije u analizi pri čemu prvi graf predstavlja linearnu diskriminantu 1 vs linearnu diskriminantu 2, a drugi graf predstavlja linearnu diskriminantu 1 vs linearnu diskriminantu 3. Dno: Graf udjela vjerojatnosti pridruživanja jedinki u odnosu na njihovu izvornu populaciju.

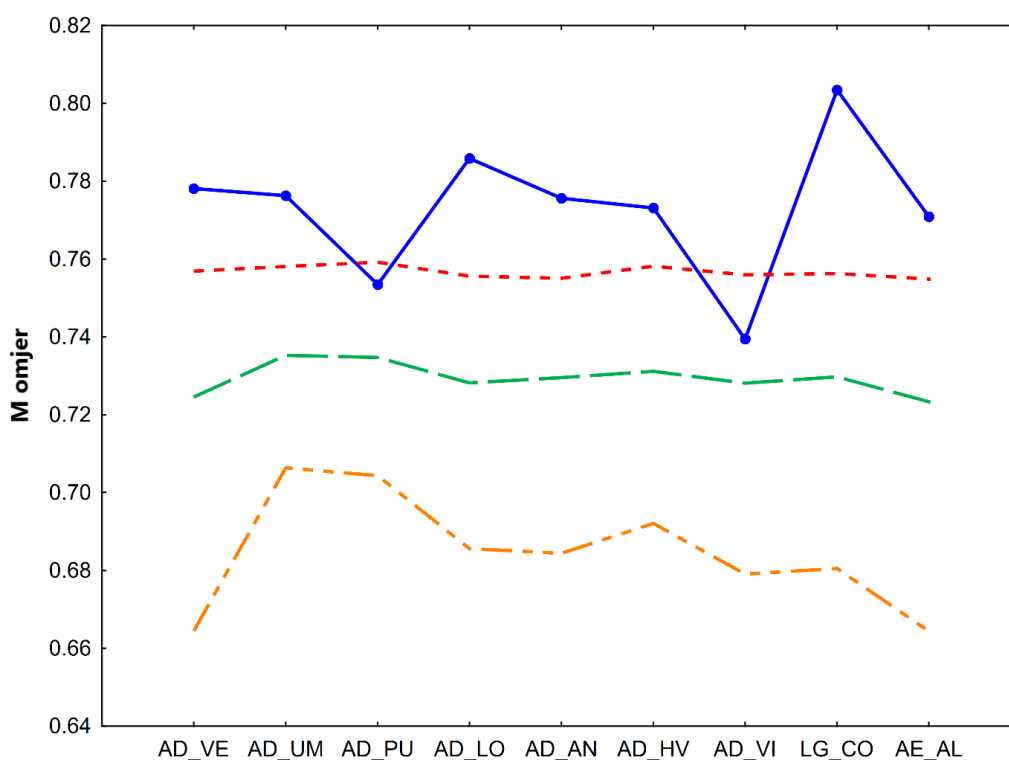
Zabilježena je umjerena izolacija prema udaljenosti, IBD ( $r = 0,63$ ,  $p = 0,01$ ). Graf raspršenosti lokalnih gustoća udaljenosti pokazao je rascjepkani oblik genetičke udaljenosti među populacijama, što je rezultat višestruke gustoće genetičke povezanosti s prostornim diskontinuitetima (Slika 4.8.4.). Daljnja analiza provedena isključivo na populacijama Jadranskog mora nije otkrila izolaciju prema udaljenosti (IBD) zbog genetičke homogenosti ( $r = 0,01$ ,  $p = 0,78$ ).



**Slika 4.8.4.** Graf izolacije prema udaljenosti koji pokazuje odnose genetičke udaljenosti u odnosu na geografske udaljenosti za populacije hlapa *Homarus gammarus*. Za ilustraciju grafa primijenjena je dvodimenzionalna procjena gustoće u paketu MASS u R programu, gdje različite boje predstavljaju različite gustoće korelacije genetičkih i geografskih udaljenosti (crvena boja, visoka gustoća; plava boja, niska gustoća).

#### 4.9. Demografski obrasci i protok gena

Prema rezultatima dvofaznog modela (TPM) s 90 % postupnih mutacija i neparametarskim Wilcoxonovim testom ranga nije uočen značajan višak heterozigota unutar istraživanih populacija. Ovi rezultati ukazuju da populacije nisu prošle nedavno kroz usko grlo. Također, test M omjera (engl. *M ratio*) nije pokazao signal nedavnog smanjenja efektivne veličine populacije. Opaženi srednji M omjer od  $0,77 \pm 0,02$  za cijeli set podataka je bio veći od 0,68, tj. opće prihvaćene granične vrijednosti u konzervacijskoj genetici. Većina uzorkovanih populacija je imala procijenjene vrijednosti M-omjera ( $0,77 - 0,80$ ) iznad kritičnih M vrijednosti. Rezultati analize kod dvije populacije iz Jadranskog mora (AD\_PU i AD\_VI) ukazuju na nedavno smanjenje efektivne veličine populacije, ali isključivo za theta ( $\theta$ ) vrijednosti od 0,5 što bi odgovaralo vrijednosti efektivne veličine populacije od 250 (Slika 4.9.1.).



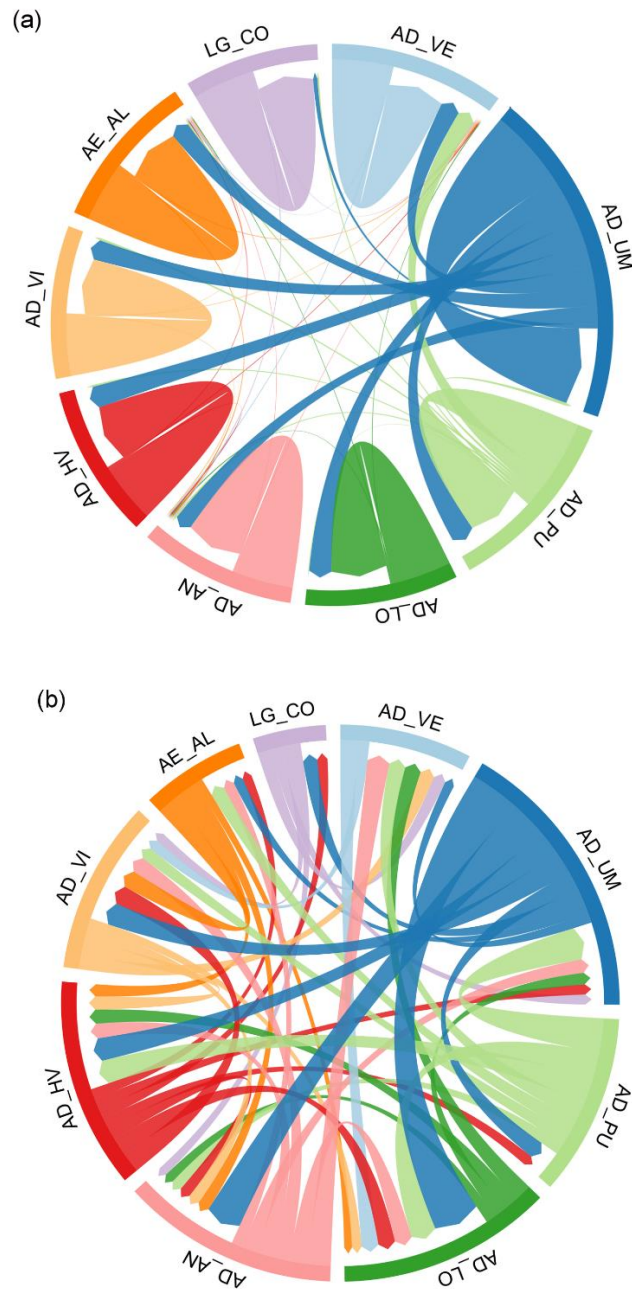
**Slika 4.9.1.** Uočene i simulirane vrijednosti Garza-Williamson indeksa (M-omjer) za populacije hlapa *Homarus gammarus*. Uočene vrijednosti M-omjera prikazane su kao puna plava linija. Simulirane vrijednosti kritične M vrijednosti ( $M_c$ ) ispod kojih je vidljivo usko grlo izračunate su za različite theta vrijednosti i prikazane kao kratka crvena isprekidana linija ( $\theta = 0,5$ ), duga zelena isprekidana linija ( $\theta = 1$ ) i duga/kratka narančasta isprekidana linija ( $\theta = 4$ ).



M-omjer populacije i  $M_c$  parametri izračunati su korištenjem M-P-Val i Critical M programa. Populacija iz Jonskog mora isključena je iz analize zbog male veličine uzorka.

S procjenama suvremenog protoka gena primjenom programa BayesAss uočeno je da su populacije u sjevernom Jadranu (AD\_UM i AD\_LO) bile prevladavajući izvor egzogenih alelnih varijanti. Procijenjene stope emigracije su bile u rasponu od 0,06 za najudaljeniju populaciju Korzike (LG\_CO) iz Ligurskog mora do 0,26 za populaciju Lošinja (AD\_LO) sa sjevernog Jadrana (Slika 4.9.2.a, Tablica 4.9.1.a). Nadalje, za populaciju oko Umaga (AD\_UM) na sjevernom Jadranu nije uočeno primanje gena iz drugih populacija. Među ostalim lokacijama otkriven je mali protok gena, što sugerira da one djeluju kao populacije koje primaju gene (engl. *sink populations*) budući da je većina procijenjenih vrijednosti migracija imala 95 %-ne intervale pouzdanosti koji se preklapaju s nulom.

Povijesne vrijednosti protoka gena procijenjene pomoću Migrate-n programa bile su od 0,83 do 11,3. Uočene su nešto složenije interakcije između i unutar populacija u odnosu na suvremene procjene protoka gena (Slika 4.9.2.b, Tablica 4.9.1.b). Kao glavni izvor protoka gena uočena je populacija oko Umaga (AD\_UM) te manje izražena populacija oko Pule (AD\_PU), podržavajući asimetričnu migraciju sa sjevera prema jugu Jadrana. Između zemljopisno udaljenih klastera, populacija iz Egejskog mora (AE\_AL) i Ligurskog mora (LG\_CO), zabilježena je niža stopa protoka gena (1,27 - 1,4) što je u skladu s lokalnim oceanografskim karakteristikama i relevantnim barijerama. Protok gena između populacija iz različitih bazena bio je vidljiv samo u slučaju populacije Egejskog mora (AE\_AL izvorna populacija) i populacija iz istočnog srednjeg Jadrana (AD\_VI i AD\_HV; populacije koje su primile gene). Općenito, povijesne procjene stope migracije podržavaju veći protok gena među istraživanim populacijama.



**Slika 4.9.2.** Dijagrami protoka gena za populacije hlapa *Homarus gammarus* koji predstavljaju (a) suvremene procjene protoka gena ( $m$ ) pomoću BayesAss programa i (b) povijesne procjene protoka gena ( $M$ ) pomoću Migrate-n programa. Širina mreže predstavlja ukupnu vrijednost protoka gena procijenjenog za svaku populaciju. Strelice pokazuju smjer protoka gena među populacijama, dok je širina strelica proporcionalna relativnoj količini protoka gena uočenoj među povezanim populacijama. Šira strelica povezana je s većim protokom gena. Prag za grafičku ilustraciju procjene protoka gena postavljen je na 0,01 za BayesAss i 2,0 za Migrate-n. Točne procjene protoka gena prikazane su u tablici 4.9.1. a i b.

**Tablica 4.9.1. (a)** Suvremeni protok gena s intervalima pouzdanosti od 95 % za hlapa *Homarus gammarus* procijenjen s programom BayesAss. Populacija iz Jonskog mora isključena je iz analize zbog male veličine uzorka. Izvorne populacije = redovi, ponorne populacije = stupci. Korišteni kodovi i boje populacija su kao na slici 4.9.2.

Pop ID	AD_VE	AD_UM	AD_PU	AD_LO	AD_AN	AD_HV	AD_VI	LG_CO	AE_AL
AD_VE	0,678 (0,66- 0,70)	0,006 (0,0- 0,02)	0,0058 (0,00- 0,02)	0,0076 (0,0- 0,02)	0,0144 (0,0- 0,04)	0,007 (0,0- 0,02)	0,0089 (0,0- 0,03)	0,0091 (0,0- 0,03)	0,0116 (0,0- 0,03)
AD_UM	0,2329 (0,17- 0,29)	0,9231 (0,87- 0,98)	0,2792 (0,24- 0,31)	0,2676 (0,23- 0,31)	0,2063 (0,14- 0,28)	0,2621 (0,22- 0,31)	0,2432 (0,18- 0,30)	0,0519 (0,0- 0,10)	0,2293 (0,17- 0,29)
AD_PU	0,2186 (0,15- 0,28)	0,0353 (0,01- 0,08)	0,6791 (0,66- 0,70)	0,0118 (0,0- 0,03)	0,026 (0,0- 0,07)	0,0224 (0,0- 0,06)	0,0282 (0,0- 0,07)	0,0201 (0,0- 0,05)	0,0237 (0,0- 0,06)
AD_LO	0,0114 (0,0- 0,03)	0,006 (0,0- 0,02)	0,0059 (0,0- 0,02)	0,6743 (0,66- 0,69)	0,0145 (0,0- 0,04)	0,007 (0,0- 0,02)	0,0088 (0,0- 0,03)	0,009 (0,0- 0,02)	0,0113 (0,0- 0,04)
AD_AN	0,0115 (0,0- 0,03)	0,0059 (0,0- 0,02)	0,006 (0,0- 0,02)	0,0076 (0,0- 0,02)	0,6811 (0,65- 0,71)	0,0069 (0,0- 0,02)	0,0088 (0,0- 0,02)	0,0089 (0,0- 0,02)	0,0114 (0,0- 0,03)
AD_HV	0,0114 (0,0- 0,03)	0,0058 (0,0- 0,02)	0,0059 (0,0- 0,02)	0,0078 (0,0- 0,02)	0,0144 (0,0- 0,04)	0,6736 (0,66- 0,68)	0,0088 (0,0- 0,03)	0,009 (0,0- 0,03)	0,0116 (0,0- 0,03)
AD_VI	0,0115 (0,0- 0,03)	0,006 (0,0- 0,02)	0,0059 (0,0- 0,02)	0,0078 (0,0- 0,02)	0,0143 (0,0- 0,04)	0,0071 (0,0- 0,02)	0,6757 (0,66- 0,69)	0,0089 (0,0- 0,03)	0,0115 (0,01- 0,04)
LG_CO	0,0116 (0,0- 0,03)	0,006 (0,0- 0,02)	0,0063 (0,0- 0,02)	0,0078 (0,0- 0,02)	0,0146 (0,0- 0,04)	0,007 (0,0- 0,02)	0,0088 (0,0- 0,02)	0,6756 (0,66- 0,69)	0,0115 (0,0- 0,03)
AE_AL	0,0114 (0,0- 0,03)	0,006 (0,0- 0,02)	0,0059 (0,0- 0,02)	0,0077 (0,0- 0,02)	0,0145 (0,01- 0,04)	0,0069 (0,0- 0,02)	0,0087 (0,0- 0,03)	0,0089 (0,0- 0,03)	0,6781 (0,66- 0,70)

(b) Povijesni protok gena (M) s intervalima pouzdanosti od 95 % za hlapa *Homarus gammarus* procijenjen pomoću Migrate-n programa. Populacija iz Jonskog mora je isključena iz analize zbog male veličine uzorka. Izvorne populacije = redovi, ponorne populacije = stupci. Korišteni kodovi i boje populacija su kao na slici 4.9.2.

Pop ID	AD_VE	AD_UM	AD_PU	AD_LO	AD_AN	AD_HV	AD_VI	AE_AL	LG_CO
AD_VE	0	2 (0,65- 2,95)	0,99 (0,37- 2,03)	4,1 (3,71- 5,18)	1 (0,73- 2,27)	1,62 (0,83- 2,39)	2,52 (1,63- 3,41)	2,05 (1,27- 2,79)	2 (1,44- 3,51)
AD_UM	2,33 (1,11- 3,71)	0	4,17 (3,93- 5,57)	11,36 (9,61- 14,53)	8,58 (7,01- 10,24)	5,57 (4,31- 6,53)	5,42 (3,44- 7,08)	2,39 (1,67- 3,03)	3,46 (2,28- 4,61)
AD_PU	3,99 (3,17- 4,73)	7,86 (6,57- 10,65)	0	6,12 (5,01- 7,68)	2,66 (2,01- 3,27)	5,71 (4,31- 6,75)	3 (2,5- 5,121)	4,5 (3,58- 5,84)	1 (0,59- 2,64)
AD_LO	3,91 (2,61- 5,18)	2,82 (1,51- 4,04)	1,98 (1,07- 2,33)	0	2,31 (1,89- 4,25)	3,43 (1,44- 3,78)	1,76 (0,68- 2,78)	1,2 (0,01- 2,55)	1,76 (1,45- 3,37)
AD_AN	5,39 (3,85- 6,73)	3,3 (2,21- 4,13)	1,94 (1,27- 2,59)	4,22 (3,25- 4,99)	0	3,6 (2,75- 4,43)	3,95 (2,83- 4,93)	2,65 (1,29- 3,43)	1,93 (1,23- 2,63)
AD_HV	1,86 (1,11- 2,45)	2,49 (1,81- 3,15)	2,52 (1,01- 3,37)	4,1 (2,31- 6,07)	2,73 (1,99- 3,43)	0	4,6 (2,45- 6,49)	2,27 (1,43- 3,17)	2,5 (2,21- 4,21)
AD_VI	3,44 (2,35- 4,23)	0,9 (0,73- 2,05)	1,63 (0,57- 2,43)	1,51 (0,67- 2,27)	2,78 (1,64- 3,91)	3,26 (2,45- 4,03)	0	0,83 (0,5- 2,08)	2,01 (1,29- 2,65)
AE_AL	1,3 (0,97- 2,05)	0,88 (0,21- 1,53)	0,9 (0,51- 1,69)	1,9 (1,23- 2,53)	2,87 (2,07- 3,69)	2,96 (1,97- 3,27)	4,28 (3,44- 5,81)	0	1,27 (0,81- 3,75)
LG_CO	3,03 (1,98- 3,85)	2,44 (1,65- 3,19)	1,57 (0,77- 2,39)	1,63 (1,19- 3,33)	2,21 (1,57- 2,85)	1,21 (0,59- 1,81)	2,26 (0,58- 3,11)	1,4 (0,59- 2,19)	0

Trenutna efektivna veličina populacije,  $N_e$ , hlapa je bila od 74 (AD\_HV) do 43 751 (AD\_UM). Za sve procjene gornja granica pouzdanosti dosegla je beskonačnost osim populacije s Hvara (AD\_HV), što ukazuje na nedovoljnu veličinu uzorka za hvatanje signala genskog otklona (Tablica 4.9.2.).  $N_e$  vrijednosti s donjom i gornjom granicom pouzdanosti od 95 % zabilježene su samo za populaciju Hvara (AD\_HV) na srednjem Jadranu i za ukupne procjene, tj. skupne jadranske uzorke (2094) i cijeli skup podataka (1560). Metoda vjerojatnosti implementirana u AgeStructure programu korištena je za procjenu efektivne veličine za populacije s preklapajućim generacijama. Dobno strukturirana efektivna veličina populacije  $N_e$  je bila 1651 (95 % CI: 656 – 2051) za združene jadranske populacije. Ta je vrijednost bila nešto niža od vrijednosti procijenjene metodom temeljene na neravnoteži vezanosti gena dok se 95 % - tni intervali pouzdanosti (CI) djelomično preklapaju (Tablica 4.9.2.). Očinsko generacijsko vrijeme (GI) od 11,42 (95 % CI: 9,81 - 12,67) i majčinsko GI od 12,74 (95 % CI: 11,24 - 12,88) su procijenjeni za združene jadranske populacije kojima je određen spol i izmjerena veličina. Distribucija efektivnog broja jedinki koje se mogu razmnožavati svake dobne klase varirala je između spolova, pri čemu su ženke u prosjeku imale 20 % veće vrijednosti od mužjaka (Tablica 4.9.3.). Efektivna veličina populacije ( $\Theta$ ) izračunata u Migrate-n bila je u rasponu od 0,7 (AD\_HV) do 1,8 (AD\_UM), što ukazuje da populacije sjevernog Jadrana imaju najveću efektivnu veličinu. Ipak, stopu mutacije treba uzeti u obzir za interpretaciju procjena iznosa  $N_e$ . Do danas ne postoje objavljene stope mutacija za mikrosatelitne lokuse dekapoda. Primjenom stope mutacije zabilježene kod kukca iz reda Orthoptera (koljeno Arthropoda, Chapuis i sur., 2015), procijenjene theta vrijednosti odgovarale bi  $N_e$  vrijednostima u rasponu od 791 (AD\_HV) do 2087 (AD\_UM) (Tablica 4.9.2.).

**Table 4.9.2.** Trenutna, povijesna i dobno strukturirana efektivna veličina populacije ( $N_e$ ) s 95 %-tnim intervalima pouzdanosti (CI) za populacije hlapa *Homarus gammarus* na temelju 14 neutralnih mikrosatelitnih lokusa. Suvremena  $N_e$  procijenjena je u programu NeEstimator V2, theta ( $\Theta$ ) i povijesna  $N_e$  procijenjeni su pomoću Migrate-n gdje je jednadžba  $N_e = \text{theta}/4\mu$  korištena za izračunavanje povijesne  $N_e$ , uz pretpostavku stope mutacije ( $\mu$ ) od  $2,1 \times 10^{-4}$  po generaciji. Program AgeStructure primijenjen je za procjenu AgeStructure  $N_e$  jedinki iz Jadranskog mora poznate dužine i spola.

Pop ID	Suvremena $N_e$ (95 % CI)	Theta (95 % CI)	Povijesna $N_e$
AD_VE	251 (61, $\infty$ )	1,005 (0,449 - 1,529)	1196,4
AD_UM	43751 (333, $\infty$ )	1,753 (1,129 - 2,349)	2087,6
AD_PU	3192 (407, $\infty$ )	1,451 (0,889 - 1,989)	1728,4
AD_LO	427 (137, $\infty$ )	1,220 (0,489 - 1,729)	1453,0
AD_AN	$\infty$ (212, $\infty$ )	1,155 (0,589 - 1,689)	1376,1
AD_HV	74 (53,117)	0,665 (0,120 - 1,170)	791,3
AD_VI	248 (87, $\infty$ )	0,981 (0,330 - 1,609)	1167,8
LG_CO	$\infty$ (154, $\infty$ )	0,966 (0,369 - 1,530)	1149,6
IO_PA	$\infty$ (195, $\infty$ )	-	-
AE_AL	441 (64, $\infty$ )	0,674 (0,129 - 1,182)	802,3
<b>Ukupno *</b>	2094 (1024, 107189)		
Ukupno **	1560 (987, 3450)		
<b>AgeStructure <math>N_e</math> (95 % CI)</b>			
1651 (656 - 2051)			

\* Ukupna  $N_e$  za jadranske uzorke; \*\* Ukupna  $N_e$  za cijeli skup podataka; Populacija iz Jonskog mora (IO\_PA) je isključena iz Migrate-n analize zbog male veličine uzorka.

**Tablica 4.9.3.** Distribucija efektivne veličine populacije  $N_e$  po starosnim razredima za ženke i mužjake hlapa *Homarus gammarus* iz Jadranskog mora. Program AgeStructure (Wang i sur., 2010) je korišten za procjenu  $N_e$  na temelju 159 mužjaka i 107 ženki.

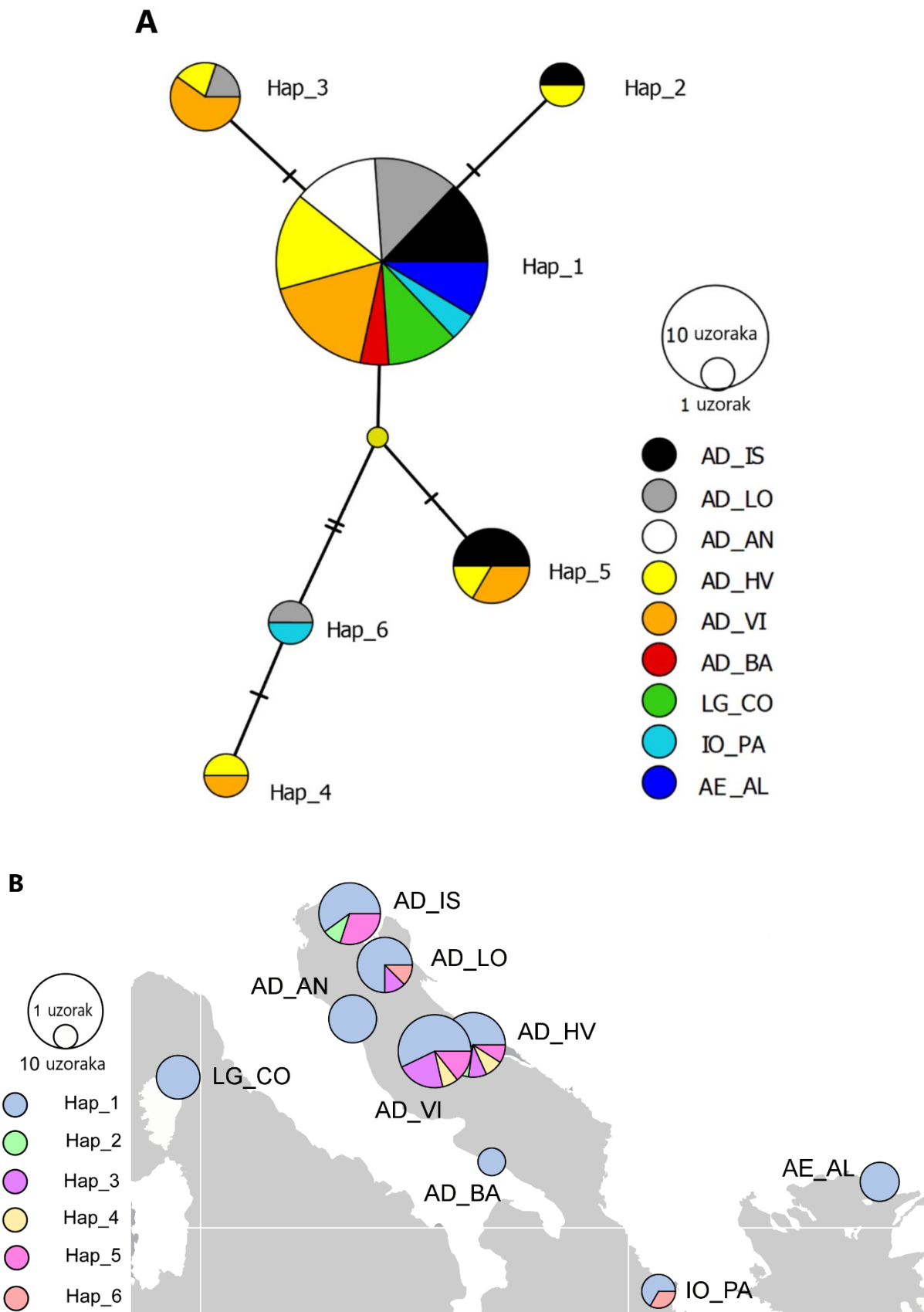
AgeClass	$N_e$		
	Ženke	Mušjaci	$\Delta$
1	78,9	63,9	15
2	78,9	63,9	15
3	78,9	63,9	15
4	78,9	60,6	18,3
5	76,6	59	17,6
6	74	57,5	16,5
7	72,5	56,2	16,3
8	70,1	55	15,1
9	67,8	53,4	14,4
10	65,5	51,9	13,6
11	63,4	50,3	13,1
12	61	49	12
13	58,6	46,9	11,7
14	57,8	45,9	11,9
15	57,4	44,2	13,2
16	54,5	40,4	14,1
17	16	12,5	3,5

#### 4.10. MtDNA haplotipna raznolikost i populacijska ekspanzija

Zbog slabo umnoženih produkata dizajn istraživanja rezultirao je neuravnoteženim brojem uzoraka među lokacijama. Stoga su populacije regrupirane. Lokacije sa sjevernog Jadrana (AD\_UM, AD\_PU) objedinjene su u jednu populaciju (AD\_IS), lokacija Venecija je isključena, a lokacija blizu Barija (AD\_BA) uvedena je u skup podataka, ali s ograničenim brojem uzoraka (Tablica 4.10.1.). Ukupno je analizirano 63 sekvenci COI gena hlapa, *Homarus gammarus*. Dužina segmenta mitohondrijske COI regije je iznosila 574 parova baza. U ukupnom uzorku je identificirano 23 polimorfna mjesta i 6 haplotipova na 63 jedinke (GenBank br. MT983889 - MT983894). Broj haplotipova po populaciji je bio od 1 do 5 (Slika

4.10.1.). Najveći broj haplotipova nađen je u populaciji AD\_HV (5). Raznolikost haplotipova (Hd) u prosjeku je iznosila 0,46 za pet populacija, a bila je veća za populacije srednjeg Jadrana (0,63) od onih na sjevernom Jadranu (0,44). Nukleotidna raznolikost u prosjeku je iznosila 2,43 za pet populacija. Najčešći haplotip (Hap\_1) pronađen je na svim lokacijama uzorkovanja (Slika 4.10.1.). Najudaljeniji rijetki haplotip (Hap\_4) pripadao je populacijama iz srednjeg Jadrana (AD\_HV i AD\_VI) i bio je povezan s najčešćim haplotipom vektorom koji predstavlja neuzorkovani haplotip predaka, najvjerojatnije zbog ograničene veličine uzorka. Rezultati Tajima D testa neutralne evolucije te rezultati Fu-ove Fs statistike i p vrijednosti su prikazani u tablici 4.10.1. Za populaciju AD\_BA vrijednosti Tajima D testa nisu mogle biti izračunate zbog malog broja uzorka. Vrijednosti Tajima D i Fu Fs testa za ukupni uzorak bile su negativne, ali nisu statistički značajno odstupale od modela neutralne evolucije, pri čemu su analiza neusklađenosti distribucije (engl. *mismatch distribution*) i SSD test (suma kvadrata devijacija) podržali hipotezu o iznenadnoj ekspanziji populacije. Neznačajne vrijednosti testova neutralnosti vjerojatno odražavaju ograničenu moć ovih testova za otkrivanje odstupanja od ravnoteže zbog male veličine uzorka. Na temelju stopa mutacija u rasponu od 1,66 % do 2,33 % na milijun godina, vrijednosti tau (parametar ekspanzije) izračunate iz neusklađenosti distribucije svih sekvenci iz Jadranskog mora dale su procjene divergencije u rasponu od 13,5 do 18,9 kilo parova baza.





**Slika 4.10.1.** Median-joining mreža temeljena na COI haplotipovima (A) i geografska distribucija haplotipova (B) za hlapa *Homarus gammarus*. Obojeni krugovi predstavljaju

haplotipove pronađene u uzorkovanim populacijama čije su veličine proporcionalne broju jedinki. Haplotipovi koji nedostaju označeni su malim žutim točkicama. Grafikoni na karti prikazuju frekvencije haplotipova pronađene na svakoj lokaciji.

**Tablica 4.10.1.** Testovi genetičke raznolikosti i neutralnosti (Tajima D i Fu FS) i analiza distribucije neusklađenosti prema modelu iznenadne ekspanzije za COI sekvence mitohondrijske DNA hlapa, *Homarus gammarus* iz Jadranskog mora.

	Genetička raznolikost				Testovi neutralnosti		Parametri prostorne ekspanzije	
	Haplotipovi (H)	Polimorfna mjesta (S)	Haplotipna raznolikost (Hd)	Nukleotidna raznolikost ( $\pi$ )	Tajima D (P) $\times 10^{-3}$	Fu FS (P)	Tau	SSD (P)
<b>Populacija</b>								
AD_IS	3	3	0,60 $\pm$ 0,13	1,97 $\pm$ 1,58	0,247 (0,693)	0,723 (0,621)	1,971	0,050 (0,311)
AD_LO	3	4	0,46 $\pm$ 0,20	1,74 $\pm$ 1,49	-1,535 (0,042)	0,204 (0,465)	2,777	0,031 (0,540)
AD_HV	5	7	0,62 $\pm$ 0,16	2,47 $\pm$ 1,84	-1,650 (0,038)	-1,204 (0,144)	3,155	0,011 (0,742)
AD_VI	4	6	0,65 $\pm$ 0,12	2,47 $\pm$ 1,80	-0,893 (0,205)	0,358 (0,556)	0,322	0,004 (0,802)
AD_BA	2	3	0,67 $\pm$ 0,31	3,48 $\pm$ 3,29	-	1,609 (0,674)	3,488	0,284 (0,193)
<b>Regija</b>								
Sjeverni_AD	5	6	0,44 $\pm$ 0,12	1,48 $\pm$ 1,21	-1,422 (0,061)	-1,304 (0,124)	1,880	0,005 (0,701)
Srednji_AD	5	7	0,62 $\pm$ 0,10	2,39 $\pm$ 1,70	-0,802 (0,243)	-0,009 (0,509)	0,188	0,006 (0,734)
<b>Ukupno</b>	6	7	0,46 $\pm$ 0,07	1,68 $\pm$ 1,29	-0,893 (0,229)	-0,918 (0,309)	1,804	0,001 (0,845)

Tau, parametar ekspanzije; SSD, zbroj kvadrata odstupanja između promatrane i očekivane distribucije; P-vrijednosti su prikazane u zagradama.

## 5. RASPRAVA

### Utjecaj antropogenih pritisaka na recentni ulov hlapa u Jadranu

Populacije hlapa (*Homarus gammarus*) na cijelom području rasprostranjenosti smatraju se iskorištenima ili prekomjerno iskorištenima (Bannister, 2006; Sundelof i sur., 2013; Skerritt i sur., 2020). Svi stokovi hlapa duž atlantskih obala progresivno opadaju kao posljedica intenzivnog povijesnog i trenutnog ribolova. Na području Skandinavije, Sredozemnog i zapadnog Crnog mora, stokovi hlapova su doživjeli značajan kolaps od kojih je oporavak bio spor ili je izostao (Agnalt i sur., 2007; Kleiven i sur., 2012; Spanier i sur., 2015). Visoka učinkovitost ribolovnih alata, posebno poboljšanog dizajna vrša za rakove, pridonosi prekomjernom iskorištavanju stokova hlapova (Tully, 2001). Ukupni godišnji ulovi hlapa u Europi u posljednjih 10 godina iznose oko 5000 tona (FAO, 2021) te sjevernoeuropske zemlje prijavljuju znatno veće ulove od onih na području Sredozemnog mora. Službeni podaci jasno ukazuju na povećanje prijavljenog ulova hlapa zadnja dva desetljeća (FAO, 2021), što može biti posljedica povećanja ribolovnog napora ili tehnološkog napretka ribolovnog alata (Kleiven i sur., 2022) kao i boljeg i vjerodostojnijeg prijavljivanja ulova. Također, povećanje prijavljenog ulova hlapa može biti i znak povećanja brojnosti hlapova u divljini, kao što je već uočeno kod američkog hlapa (Steneck i Wahle, 2013). Općenito, ribolov dekapodnih rakova raste brže od ribolova bilo koje druge glavne skupine organizama te izravne i neizravne antropogene promjene u ekosustavu nastavljaju pogodovati rakovima (Boenish i sur., 2021).

Europski ribolov hlapa je općenito nereguliran ili je minimalno reguliran samo za minimalnu veličinu ulova i zabranu ulova ženki s jajašcima (Cobb i Castro, 2006). U novije vrijeme, upravljanje ribarstvom se globalno pomiče s pristupa gospodarenja jednom vrstom na pristup koji se temelji na ekosustavu. Zbog toga je važno razumjeti funkciju ove vrste u morskom ekosustavu. Nažalost, na području Sredozemnog mora nedostaje bioloških i ekoloških podataka o hlapu kao iskorištavanoj vrsti, što se može pripisati smanjenoj brojnosti hlapova u Sredozemnom moru u odnosu na istočnu obalu Atlantika i sjevernu Europu, a to postaje sve značajnije zbog klimatskih promjena (Caputi i sur., 2013; Green i sur., 2014). Ipak, nije jasno pomanjkanje znanstvenog interesa za istraživanjem hlapa u Sredozemnom moru jer su i mnoge manje gospodarski interesantne i rjeđe vrste bolje istražene. Nadalje, vjerodostojni podaci o ulovu i ribolovnom naporu su jako bitni za učinkovito upravljanje ribolovnim stokovima za sve sektore uključujući rekreativni i sportski ribolov. Od 1950-e godine dostupni su podaci o ulovu hlapa na području Sredozemnog mora te je prosječni godišnji prijavljeni ulov

u zadnjih deset godina bio oko 140 t (FAO, 2021). Statistiku ulova hlapa koja dolazi iz priobalnog ribolova općenito treba uzeti u obzir s oprezom u cijeloj sredozemnoj regiji, budući je stvarni ulov na području cijele regije teško procijeniti i često se takvi podaci podcjenjuju (Lloret i sur., 2018; Pere i sur., 2019). Također, povijesni podaci ukazuju na činjenicu da se statistika ulova hlapa i jastoga vodila zajedno pod grupom veliki rakovi što je i slučaj za Hrvatsku. Stoga, službeni prijavljeni ulovi mogu se značajno razlikovati od stvarnih ulova. Tako je na području Norveške procijenjeni stvarni ulov hlapa bio 14 puta veći od prijavljenog službenog ulova (Kleiven i sur., 2012). U navedenom istraživanju istaknuto je da rekreacijski ribolov ima značajnu ulogu u ukupnom ulovu s udjelom od oko 65 %. Pere i sur. (2019) su procijenili prosječni godišnji ulov hlapa na području Korzike na oko 6,7 t što je značajno više od službenog prijavljenog ulova (Le Manach i sur., 2011). Uprava za ribarstvo Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske od 2008. godine prikuplja podatke na jedinstven način što je bio jedan od preduvjeta za ulazak u EU. Dakle, podaci odabrani za ovo istraživanje (2008. – 2020.) imaju određen stupanj pouzdanosti. Međutim, pouzdanost statistike ulova može biti nedovoljna, budući podaci neovisni o ribarstvu za cijelo razdoblje nisu bili dostupni za validaciju podataka ulova i CPUE u odnosu na brojnost populacije, kao što su predložili Salas i sur. (2007). Hrvatski prijavljeni ulov hlapa u razdoblju od 2008. do 2020. godine bio je u rasponu od 1,9 do 4,7 tona godišnje s prosjekom oko 3,3 t. Međutim, te podatke treba uzeti s oprezom jer se temelje isključivo na ribarskim dnevnicima. Takvi podaci često ne prikazuju stvarno stanje, jer je podcjenjivanje ukupnog ulova široko rasprostranjeno kako zbog pogrešnog izvješćivanja o ulovu izvan sezone tako i ne kvantificiranju hlapova ulovljenih ispod minimalne veličine (Leonart i Maynou, 2003; Matić-Skoko i sur., 2011; Stagličić i sur., 2011), dok su neprijavljeni i nezakoniti ulovi znatni (Matić-Skoko i sur., 2016). Također, uspješnost preživljavanja puštenih jedinki ispod minimalne veličine je upitna, ako su ozlijeđeni ili pušteni na neprikladnom staništu. Sve to ukazuje na nedostatak relevantnih podataka za utvrđivanje stanja stokova hlapa u Sredozemnom moru te veliku neizvjesnost u pogledu donošenja mjera za njegovo buduće učinkovito upravljanje. Nepodudarnost stvarnog i prijavljenog ulova hlapa realna je situacija i za istočnu obalu Jadrana, gdje se hlap uglavnom lovi u obalnim vodama (ribolovne zone A i E) dok je ulov u otvorenim vodama zanemariv. Svakako, zabilježeni pozitivan trend ulova posljednjih godina je u skladu sa zapaženim povećanjem ulova na cijelom području Europe (FAO, 2021) te se nametnulo pitanje ima li taj porast uzročno - posljedičnu vezu s promjenama u okolišu, posebice s promjenama povezanim s globalnim zatopljenjem.

Podaci ovisni o ribarstvu kao što su podaci o ulovu, ribolovnom naporu i CPUE često se koriste za donošenje mjera upravljanja kada nema drugi dostupnih podataka. Mogući razlozi uočenog porasta prijavljenog ulova hlapa na istočnoj obali Jadrana, analizirani su kroz trendove ulova, ribolovnog napora i CPUE te njihovu povezanost s pridnom temperaturom mora, za razdoblje od 2008. - 2017. godine. Rezultati jasno ukazuju na statistički značajni porast ulova hlapa i porast ribolovnog napora u sjevernom Jadranu. Također, zabilježen je značajni porast CPUE u sjevernom Jadranu, dok za srednji Jadran postoji blagi, ali neznačajan porast. Istraživanje provedeno na području Norveške je pokazalo kako tehnološki napredak vrša za lov hlapova može zamaskirati konstantni pad ulova hlapa, odnosno njihovu stvarnu brojnost i biomasu. Uključivanje parametara tehnološkog napretka u analizu s ostalim postojećim informacijama rezultiralo je padom standardiziranog CPUE za 57 %, dok je nestandardizirani CPUE ukazivao na povećanje brojnosti hlapova za 8 % tijekom istraživanja (Kleiven i sur., 2022). Stoga je standardizacija CPUE ključni korak za određivanje indeksa koji vjerodostojno prikazuju stanje stokova, jer su takvi indeksi skloni pristranosti kako se ribarstvo mijenja tijekom vremena. Nadalje, postoji nedostatak znanja o tome kako se mijenja brojnost i posljedično tome ulov hlapa na cijelom području rasprostranjenosti, u svjetlu visokih antropogenih pritisaka, posebice klimatskih promjena. Poznato je da okolišni čimbenici pridonose međugodišnjoj varijabilnosti ključnih parametara za sve morske stokove, a promjene tih čimbenika mogu utjecati na dinamiku njihovih populacija (Cushing, 1982). Kolebanja brojnosti hlapa zasigurno se mogu pojaviti kao posljedica kombinacije procesa vezanih uz okoliš i ribarstvo (Lizárraga-Cubedo i sur., 2015). Budući da je povećanje ulova hlapa u sjevernom Jadranu također povezano s povećanjem CPUE, to može ukazivati i na njegovu veću brojnost i/ili povećanu lovnost (Bueno-Pardo i sur., 2020) na tom području.

Uočene temperaturne promjene u ovom istraživanju mogu biti rezultat dugotrajnih klimatskih promjena ili su samo lokalni ili regionalni fenomen. Satelitne analize površinske temperature mora pokazale su najveći trend porasta u lipnju, sa stopom od 4,3 °C tijekom 100 godina na cijelom Mediteranu i cca. 30 % veće stope porasta na sjevernom Jadranu (Pastor i sur., 2018). Ove promjene se povezuju s višedekadnim oscilacijama (kao što je *Atlantic Multidecadal Oscillation*, Knight i sur., 2006) i stvarnim trendovima zagrijavanja (Iona i sur., 2018). Vilibić i sur. (2019) su utvrdili značajan porast temperature na sjevernom Jadranu između 1979. i 2017. godine, posebno visok na površini mora i tijekom ljetne sezone. Modelirane pridnene temperature u ovome istraživanju pokazuju značajno povećanje zimske (SVO) i proljetne (TSL) temperature u cijelom Jadranu između prvih (2008. - 2012.) i

posljednjih (2013. - 2017.) pet godina simulacije. Najveći porast temperature, tijekom obje sezone, zabilježen je u plitkom sjevernom Jadranu, u zoni A (a to je ujedno i zona s najvećim ulovima hlapa) što potvrđuje prethodno objavljene rezultate (Pastor i sur., 2018). Povećanje nije toliko izraženo u središnjim i južnim dijelovima Jadrana jer je vodeni stupac iznad termokline relativno mali naspram ukupne dubine (Buljan i Zore-Armanda, 1976; Lipizer i sur., 2014). Povećanje zimske pridnene temperature u zoni A je između 1 i 2 °C, a na većem dijelu srednjeg Jadrana između 0 i 1 °C. Porast proljetne pridnene temperature još je veći u oba područja: do 2,5 °C u zoni A sjevernog Jadrana i do 1,5 °C u zonama srednjeg Jadrana. Unatoč uočenim promjenama, zimske pridnene temperature ostaju niže na sjevernom u odnosu na srednji Jadran. S druge strane, proljetne temperature na sjevernom Jadranu su više od temperatura srednjeg Jadrana, pri čemu se temperaturna razlika između dvaju područja s vremenom povećava, zbog učinkovitijeg prijenosa topline prema dnu u plitkim vodama (Artegiani i sur., 1997).

U ovome istraživanju uočena je statistički značajna korelacija između zimskih (SVO) i proljetnih (TSL) pridnenih temperatura mora i CPUE u sjevernom i srednjem Jadranu. Značajna povezanost temperature i ostalih okolišnih varijabli na ribarstvo hlapova je utvrđena i na području Škotske (Lizárraga-Cubedo i sur., 2015). McCleese i Wildner (1958) otkrili su snažnu korelaciju između dugotrajnih stopa ulova američkog hlapa i površinske temperature mora na velikim prostornim skalama, s odmakom od 0 do 3 godine. Također, slični zaključci su uočeni o utjecaju ribolovnog napora i temperature na stope ulova američkog hlapa na različitim prostornim i vremenskim skalama te se promjene u ribolovnom naporu trebaju uzeti u obzir osobito na manjim prostornim skalama (Koeller, 1999). Zhao i sur. (2019) pokazali su da porast temperature u zaljevu Maine dovodi do povećane lovnosti američkog hlapa tijekom višegodišnjeg razdoblja. Razlog tomu je što je povećanje temperature mora pridonijelo širenju pogodnog staništa za nedorasle jedinke na sjevernom dijelu zaljeva Maine (Steneck i Wahle, 2013; Tanaka i Chen, 2016). Ove promjene u okolišu također su bile popraćene smanjenjem broja velikih grabežljivaca kao što je bakalar (*Gadus morhua*) (Le Bris i sur., 2018). Suprotno tome, zagrijavanje mora u južnoj regiji zaljeva Maine povezano je sa smanjenim ulovima zbog gubitka i dostupnosti pogodnog staništa za novo naseljene jedinke (Tanaka i Chen, 2015; Wahle i sur., 2015). Također, na tom području je uočena i povećana učestalost epizootskih bolesti (Glenn i Pugh, 2006.). Iako u objavljenoj literaturi nema jasno definiranih podataka o granicama temperaturnog raspona za europskog hlapa, Caputi i sur. (2013) te Green i sur. (2014) upozoravaju da bi hlap mogao biti osjetljiv na klimatske promjene. Porast temperature

je najvažniji čimbenik koji pokreće pomake u rasponu rasprostranjenosti i to s povećanjem brojnosti na višim geografskim širinama i smanjenjem brojnosti na nižim širinama (Le Bris i sur., 2018). Ako se pridnena temperatura mora nastavi podizati procijenjeno je daljnje pomicanje distribucije američkog hlapa prema sjeveru i u dublje vode (Rheuban i sur., 2017). Za očekivati je kako bi se takve prognoze mogle preslikati i na europskog hlapa. Temperatura mora je moguće jedan od važnijih čimbenika okoliša koji utječe na kolebanja brojnosti hlapa, no još uvijek je nejasno kako ona pridonosi ukupnoj varijaciji stope ulova i postoje li vremenske i prostorne razlike.

Kod hlapova temperatura mora utječe na njihovo ponašanje, a posljedično tome i na dostupnost ribarstvu (Lizárraga-Cubedo i sur., 2015). Lovnost je povezana s kretanjem hlapova i na nju utječu brojni čimbenici, uključujući ponašanje pri hranjenju i da li je jedinka u procesu presvlačenja (Wahle i sur., 2013), a oba su usko povezana s temperaturom (Green i sur., 2014). Više temperature mora potiču povećano kretanje hlapova što ih čini dostupnijim ribolovnom alatu, tj. povećava im se lovnost (Smith i sur., 1999; Moland i sur., 2011). Porast temperature mora na početku ribolovne sezone (proljeće) uzrokuje veću mobilnost i aktivnost hranjenja hlapa (Bennet i Lovewell, 1977; Lizárraga-Cubedo i sur., 2015). Ono što slijedi je smanjena mobilnost koja se može pripisati razdoblju presvlačenja (Miller, 1990; Sheehy i sur., 1999) te ponovno povećanje mobilnosti povezane s većom aktivnošću uočenom tijekom razdoblja nakon presvlačenja. Uočeno je ograničeno kretanje odraslih jedinki hlapa (Moland i sur., 2011.; Skerritt i sur., 2015), dok američki hlap pokazuje veće obrasce kretanja i migracije (Estrella i Morrissey, 1997). Također, Moland i sur. (2011) izvijestili su o povezanosti sezonske varijacije aktivnosti hlapa s temperaturom mora, pri čemu se aktivnost hlapa smanjila tijekom zime s minimumom tijekom veljače i ožujka, a počela se povećavati od travnja. To je u skladu s odabranim zimskim (SVO) i proljetnim (TSL) temperaturama u ovome istraživanju, kako bi se analizirala povezanost CPUE i pridnene temperature mora prije sezone ribolova i tijekom ribolovne sezone. Temperatura je također u pozitivnoj korelaciji sa stopom rasta kod rakova, s obzirom da utječe na temperaturnu toleranciju svake vrste (Hartnoll, 2001). Viša temperatura može pozitivno stimulirati brzinu rasta smanjenjem vremena između dva presvlačenja ili povećanjem prirasta prilikom presvlačenja (Green i sur., 2014). Također, utvrđeno je kako toplinski udari mogu utjecati na pomicanje procesa presvlačenja kod populacije američkog hlapa, rezultirajući s pomakom ulova koji odgovara temperaturnom pomaku (Mills i sur., 2013).



Većina rakova ima sinkronizirani mrijest i vrijeme njihove reprodukcije je temeljeno prvenstveno na temperaturi (Lawrence i Soame, 2004). Usklađivanje izvaljivanja ličinki s obiljem hrane povećava stopu preživljavanja ličinki (Cushing, 1972). U ovome istraživanju zabilježeni pozitivni trendovi pridnene temperature mora potencijalno mogu biti zaslužni za uspješniji mrijest i povećano novačenje u sjevernom Jadranu, posebice zbog činjenice da su pozitivni trendovi uočeni i prije 2008. godine (Vilibić i sur., 2019). Ženke hlapa mrijeste se ljeti (Tully i sur., 2001), a ličinke se izvaljuju u kasno proljeće ili rano ljeto (Phillips, 2013). Na vrijeme trajanja razvoja jajašca uvelike utječe temperatura, a poznato je kako povećanje temperature skraćuje proces inkubacije jajašca (Green i sur., 2014.). U kontekstu klimatskih promjena u Sjevernom moru, zabilježeno je da tijekom blagih zima (režimi s povišenim temperaturama) dolazi do snažnih sezonskih pomaka izvaljivanja ličinki, dok su eksperimentalna istraživanja pokazala skraćivanje trajanja ličinačke faze uz značajno povećavanje stope preživljavanja na višim temperaturama (Schmalenbach i Franke, 2010). Prvih nekoliko tjedana nakon izvaljivanja, kod hlapova slijedi pelagična faza, a trajanje ove faze ovisi o temperaturi i koleba između 14 i 35 dana (Jørstad i sur., 2001; Browne i sur., 2009). Iako još uvijek nedostaju ekološka istraživanja bentoskih poslijeličinki hlapa u divljini (Linnane i sur., 2001), one vjerojatno naseljavaju stjenovite podloge koje im pružaju zaklon i ostaju kriptične, a izlaze iz svojih skrovišta tek nakon što dosegnu između 25 i 40 mm duljine karapaksa (CL) (Linnane i sur., 2000 a,b; Ball i sur., 2001). Stoga bi više temperature u plitkim obalnim vodama tijekom ljetnog razdoblja u Sredozemnom moru mogle imati veliku ulogu u preživljavanju i uspjehu novačenja jedinki hlapa (Pere i sur., 2019), pa tako i u vrlo plitkom sjevernom Jadranu. Štoviše, u preliminarnoj studiji koja je nedavno provedena na sjevernom Jadranu zapažen je veći odnos neodraslih jedinki u ulovu u odnosu na odrasle hlapove (Pavičić i sur., 2018). U budućim istraživanjima svakako je potrebno ciljano utvrditi dinamiku populacije hlapa u Jadranu, posebice stopu novačenja.

### **Karakteristike populacije hlapa u Jadranskom moru: implikacije za održivo ribarstvo**

Brojnost i biomasa hlapa je različita na području njegove rasprostranjenosti (Phillips, 2013). Evidentan je obrazac niske brojnosti hlapa u cijelom Sredozemnom moru, gdje su okolišni uvjeti poput temperature nepovoljniji za ovu vrstu u odnosu na Atlantik (Pere i sur., 2019). Hlap preferira hladnija mora i područja kontinentalnog šelfa do 50 m dubine (Holthuis, 1991; Galparsoro i sur., 2009) i zato ga u Sredozemnom moru ima najviše u sjevernijim

područjima, poput sjevernog dijela Egejskog i Ligurskog mora i sjevernog Jadrana (Triantafyllidis i sur., 2005; Pere i sur., 2019; Pavičić i sur., 2018). U ovom istraživanju, ulov po jedinici ribolovnog napora (CPUE) je varirao od 4,6 do 239,0 g/vrši i značajno se razlikovao između godišnjih doba, dostižući najveće vrijednosti u toplijim mjesecima, što je u korelaciji s otvorenom ribolovnom sezonom koja traje od 5. svibnja do 31. kolovoza (NN 42/2016). Rezultati ovog istraživanja ukazuju na iznimno niske stope ulova, što bi moglo značiti nisku brojnost ove vrste u istraživanom području. Slične rezultate, tj. niske stope ulova hlapa zabilježili su Pere i sur. (2019) na području Korzike, iako direktne usporedbe nisu moguće zbog korištenja različitog ribolovnog alata. Pere i sur. (2019) zabilježili su da je CPUE hlapa značajno kolebao kao funkcija mjeseca, ribolovnog područja i dubine u ribolovnom području oko Korzike. Značajno veće vrijednosti CPUE su zabilježene na području sjeverne Europe (Addison, 1995; Jørstad i sur., 2004; Schmalenbach, 2009; Agnalt i sur., 2009; Skerritt i sur., 2020), što ukazuje na veću brojnost hlapova na tom području u odnosu na Sredozemno more. Međutim, kolebanja brojnosti hlapa mogu se pojaviti i kao posljedica kombinacije procesa vezanih uz promjene okoliša i ribarstvo, poput povećanja učinkovitosti lovnosti ribolovnog alata i promjene ponašanja ciljane vrste (Lizárraga-Cubedo i sur., 2015), uključujući hranidbene navike i status presvlačenja (Wahle i sur., 2013). Kako je raspravljano u gornjem odlomku, odavno je poznato da temperatura mora utječe na ponašanje dekapodnih rakova i sukladno tome utječe na vjerojatnost njihova ulova u vrši (McCleese i Wildner, 1958; Green i sur., 2014).

Osim same brojnosti, za dinamiku populacija svih vrsta iznimno je važna dužinsko-starosna struktura populacija, odnosno stokova te omjer spolova. Ukoliko su oba parametra daleko od ravnotežnog, mogu ukazivati na ozbiljne probleme kroz koji neka populacija prolazi (prelov). U ovom istraživanju, jedinice hlapa ispod dozvoljene minimalne dužine ulova uglavnom su lovljene u proljeće i jesen (> 59 %), vjerojatno zbog povećanja aktivnosti hranjenja hlapa te povećane temperature mora kako predlažu Lizárraga-Cubedo i sur. (2015) te Skerritt i sur. (2015). Omjer spolova je bio neznatno veći u korist mužjaka, što bi moglo ukazivati na konstantno bolju stopu izbjegavanja vrša od strane ženki tijekom cijele godine, zbog različitih hranidbenih navika ili traženja skloništa (Krouse, 1989). Slične rezultate omjera spolova u ulovu tokom godine zabilježili su Laurans i sur. (2009). Također, u ovom je istraživanju uočeno kako se udaljavanjem od obale pojavljuju veće jedinice hlapa oba spola u ulovu, što je skladu s ostalim istraživanjima koja su zabilježila da nedorasle jedinice naseljavaju plića staništa (Linnane i sur., 2000 a,b). Frekvencijska raspodjela dužina ukazuje na prisutnost

najvećih jedinki u klasi duljine od 190 mm CL, bez prisutnosti jedinki manjih od 60 mm CL. Slična opažanja zabilježili su Latrouite (2001) i Prodöhl i sur. (2007) u Atlantiku, a Pere i sur. (2019) u Sredozemnom moru oko otoka Korzike, zaključivši da bi kriptično ponašanje i ograničeno kretanje mogli objasniti izostanak nedoraslih jedinki hlapova u ulovu uz naravno općenito prisutnu zakonodavnu zapreku o ulovu takvih jedinki što zasigurno utječe na rezultat. Slične krajnje točke raspona dužinskih razreda zabilježili su Pere i sur. (2019), dok su najučestaliji dužinski razredi u ulovu bili nešto veći u odnosu na ovo istraživanje te je zabilježena nešto veća srednja vrijednost dužine karapaksa. Općenito, dužinska raspodjela u ovom istraživanju i istraživanju Pere i sur. (2019) ukazuje na to da je srednja vrijednost dužine karapaksa ulovljenih jedinki veća u Sredozemnom moru u usporedbi sa stokovima iz sjevernog Atlantika (Bennet i Howard, 1987; Lizárraga-Cubedo i sur., 2003; Agnalt i sur., 2009; Laurans i sur., 2009). Ovi rezultati se također mogu povezati sa selektivnošću korištenog ribolovnog alata (Pere i sur., 2019; Schoeman i sur., 2010), što je ovdje očito, jer je više od polovice svih jedinki koje su bile ispod minimalne dužine ulova uhvaćeno u vršama za uzorkovanje veličine oka od 40 mm, za razliku od 55 mm veličine oka koja je propisana pravilnikom za lov velikih rakova (NN 84/2015). Srednja vrijednost ukupne dužine čitavog uzorka u ovom istraživanju je bila niža (30,26 cm) u odnosu na istraživanje Cetinić i sur. (2001) koja je iznosila 32,6 cm, ali je zabilježen sličan raspon dužinskih razreda. U navedenom su istraživanju zabilježene i nešto veće srednje vrijednosti mase ukupnog uzorka i po spolu. Uzrok tomu može biti broj uzorkovanih jedinki, jer se istraživanje Cetinić i sur. (2001) provelo na dosta manjem broju jedinki ( $n = 184$ ) za razliku od ovog istraživanja ( $n = 1273$ ). Ipak, uočeno smanjenje srednje lovne dužine hlapa potrebno je tumačiti s oprezom obzirom da se navedena istraživanja razlikuju u korištenim ribolovnim alatima i veličini prikupljenog uzorka, no uobičajeno je da kod vrsta komercijalne važnosti poput hlapa ribolovni napor igra važnu ulogu u strukturi i dinamici populacije (Pauly, 1998). No, negativni trendovi na skali od 20 godina uvijek zahtijevaju kontinuirano promatranje kako bi se moglo utvrditi da li je posrijedi prirodno kolebanje ili potencijalno negativni status populacije u odnosu na promatrani parametar.

Određivanje starosti je važno u istraživanjima životnog ciklusa vrste i učinkovitim upravljanju stokovima (Uglen i sur., 2005), no kod rakova je ono komplicirano (Kilada i Driscoll, 2017), s obzirom na nedostatak čvrstih struktura nakon svakog presvlačenja i ne postojanja strukture koja bi predstavljala životni vijek od trenutka rođenja do trenutka ulova. Stoga za rakove uglavnom ne postoje starosne strukture koje bi bile podloga za procjenu stanja stoka, a time i održivo gospodarenje stokovima. U takvim situacijama se mogu koristiti

morfometrijske karakteristike populacije za upravljanje stokovima (Zheng i sur., 1995; Santos i sur., 2002; Baggio, 2011). Razlike u morfometrijskim osobinama među populacijama obično proizlaze iz kombinacije genetičkih varijacija i različitih uvjeta okoline (Hoffmann i Merilä, 1999) koje mogu biti nasljedne. Populacije se nadalje mogu razlikovati zbog odgovora na lokalne selekcijske pritiske (Schluter, 2000) pa se kod morskih vrsta ovi pritisci smatraju kao prevladavajući mehanizam divergencije među populacijama unatoč postojanju barijera protoka gena (Ward i sur., 1994).

Morfometrijski odnosi i alometrija proučavani su kod mnogih vrsta rakova, iz reda Decapoda (Ribeiro i sur., 2013; Glamuzina i sur., 2017), kod raznih vrsta jastoga (Horsford i sur., 2014; Martínez-Calderón i sur., 2018; Kampouris i sur., 2020) i kod američkog hlapa (French McCay i sur., 2003; Steinback i sur., 2008; Baggio, 2011). Također, dostupna su morfometrijska istraživanja za europskog hlapa (Devescovi i Lucu, 2000; Cetinić i sur., 2001; Debuse i sur., 2001; Tully i sur., 2001; Lizárraga-Cubedo i sur., 2003; Agnalt i sur., 2009; Schmalenbach, 2009), no ona su u primjeni metoda i analiziranih morfometrijskih odnosa heterogena čime se otežava direktna usporedba. U ovome istraživanju, rezultati obične regresije najmanjih kvadrata pokazale su da se masa eksponencijalno povećava s porastom dužine karapaksa i ukupne dužine, dok se ukupna dužina i širina drugog segmenta abdomena linearno povećavaju s dužinom karapaksa. Uspoređujući nagibe običnih regresija najmanjih kvadrata, uočene su značajne razlike u svim odnosima između mužjaka i ženki, što ukazuje na različite stope rasta po spolu, gdje mužjaci rastu nešto brže od ženki (Sheehy i sur., 1999; Lizárraga-Cubedo i sur., 2003; Schmalenbach, 2009). Uočeno smanjenje stope rasta ukupne dužine u odnosu na dužinu karapaksa i dužine karapaksa u odnosu na masu za oba spola, odražava morfološke promjene od izduženog tijela prema težem, kao što su također uočili Martínez-Calderón i sur. (2018) za karipskog jastoga (*Panulirus argus*) i Radhakrishnan i sur. (2015) za *Panulirus homarus*. Različite vrijednosti koeficijenta  $b$  su zabilježene kod američkog hlapa. French McCay i sur. (2003) zabilježili su koeficijent  $b$  od 2,934 za populaciju američkog hlapa, dok su Steinback i sur. (2008) izvijestili o koeficijentu  $b$  od 3,347 za mužjake i 2,972 za ženke američkog hlapa. Baggio (2011) je zabilježio izometrijski rast američkog hlapa (CL vs. W). U ovom istraživanju zabilježena je negativna alometrija za mužjake i ženke hlapa u odnosu  $\log CL$  naspram  $\log W$ , dok je u istraživanju na području otoka Helgoland (Sjeverno more) zabilježena negativna alometrija za ženke, a pozitivna za mužjake (Schmalenbach, 2009). Nadalje, u istraživanju na području Norveške zabilježena je pozitivna alometrija za odnos CL naspram W za ukupni uzorak hlapa ( $b = 3,295$ ) (Kristiansen i sur., 2004). Zabilježen je nešto

veći rast kod mužjaka nego ženki koje su pri određenoj dužini imale nešto manju masu. Manje stope rasta ženki su najvjerojatnije povezane s proizvodnjom jajašaca, koja zahtjevaju više energije nego proizvodnja muških spolnih stanica (Wood, 2018). U ovom istraživanju uočena je pozitivna alometrija za log TL naspram log W za oba spola, dok je za odnos log CL naspram log AW alometrija bila pozitivna za ženke i negativna za mužjake kao što su uočili i Agnalt i sur. (2009). Pozitivna alometrija je također zabilježena između TL i W u mužjaka hlapa u sjevernom Jadranu (Devescovi i Lucu, 2000) te u ukupnom uzorku i po spolu u istočnom Jadranu (Cetinić i sur., 2001) što potvrđuju rezultati ovog istraživanja. Opisani alometrijski odnosi, negativni za masu naspram dužine glavopršnjaka te pozitivni za masu naspram ukupne dužine hlapova ukazuju na izraženiji dužinski rast glavopršnjaka dok većinu mase hlapovi nakupljaju u predjelu abdomena. Iako je indeks kondicije posljedica dužinsko-masenog odnosa, varijacije u indeksu kondicije (W/CL indeks) nisu pokazale značajan sezonski učinak nakon kontrole dužine karapaksa kao kovarijance. Sezonsku varijaciju indeksa kondicije uočili su Martínez-Calderón i sur. (2018), što ukazuje da je to posljedica kombinacije i varijacija u lokalnim čimbenicima, kao što su rizik od grabežljivaca i dostupnost hrane (Ball i sur., 2001). Također, indeks kondicije se pokazao učinkovit za usporedbu nutritivnog statusa između populacija (Martínez-Calderón i sur., 2018).

Općenito, zabilježene su razlike u stopama rasta između različitih regija i po spolu te je temperatura mora prepoznata kao lokalni čimbenik prilagodbe (Coleman i sur., 2020). Razlike u dužinsko-masenim odnosima i indeksu kondicije između različitih regija i između spolova, mogu biti rezultat brojnih čimbenika s obzirom da na promjene alometrijskih vrijednosti utječe čitav niz čimbenika uključujući dostupnost hrane u različitim životnim fazama, različite hidrografske karakteristike staništa, opće fiziološko stanje organizma, stupanj spolne zrelosti i niz drugih ekoloških i bioloških čimbenika (Froese, 2006).

U ovom istraživanju, kod odnosa širine abdomena (AW) naspram CL uočena je značajna razlika između spolova. Nakon dužine od 80 mm CL, ženke nakon presvlačenja imaju proporcionalno širi abdomen od mužjaka. Omjer AW/CL korišten je za procjenu morfometrijske zrelosti koja prethodi funkcionalnoj zrelosti (Tully i sur., 2001; Conan i sur., 2001). U ovom istraživanju nisu uočene točke infleksije u omjeru AW/CL, kako bi se odredilo pri kojoj dužini 50 % ženki je zrelo u populaciji. Međutim, korištenje odnosa AW/CL za procjenu veličine pri spolnoj zrelosti treba uzeti u obzir s oprezom (Landers i sur., 2001). Nekoliko autora izvijestilo je o geografskoj varijabilnosti veličine spolne zrelosti. Funkcionalna i morfometrijska veličina spolne zrelosti bila je 91,6 mm odnosno 84,3 mm CL

za hlapa u obalnim vodama Northumberlanda, UK (Woodruff, 2017). Tully i sur. (2001) procijenili su vrijednost funkcionalne zrelosti  $L_{50}$  većom od 92,5 mm, dok su Laurans i sur. (2009) izvijestili o još većoj vrijednosti funkcionalne zrelosti  $L_{50}$  od 103 – 106 mm CL. Lizárraga-Cubedo i sur. (2003) otkrili su manju veličinu spolne zrelosti za populaciju iz Firth of Forth (oko 80 mm CL) od populacije iz Hebrides u Škotskoj. Brojni čimbenici su povezani s varijacijama veličine spolne zrelosti za vrste iz roda *Homarus*, uključujući temperaturu (Landers i sur., 2001; Baudron i sur., 2014; Le Bris i sur., 2017), ribolovni pritisak (The Shelfish Team, 2014; Haarr i sur., 2018), kompeticiju unutar vrste (Grabowski i sur., 2010) i predaciju (Le Bris i sur., 2017; Turner i sur., 2009). Ove razlike u veličini prve spolne zrelosti također mogu biti posljedica lovnosti ženki hlapa (Tully, 2001), iako Laurans i sur. (2009) nisu otkrili razlike u lovnosti ženki s jajima i bez njih. Poznavanje reproduktivnog kapaciteta ključno je za upravljanje iskorištavanjem populacijama jer je potrebno za modele dinamike stoka i novačenja i može se koristiti za definiranje graničnih vrijednosti ribolovne smrtnosti (Laurans i sur., 2009). Također, važno je znati razlike u reproduktivnim karakteristikama između različitih regija kako bi se primjenjivale regionalno specifične mjere upravljanja iskorištavanih vrsta.

### **Genetička raznolikost, populacijska struktura i povezanost hlapa u Jadranskom i Sredozemnom moru**

Poznavanje distribucije vrsta, strukture i veličine populacije u odnosu na prikladnost staništa na lokalnim i širokim prostornim skalama ključni su parametri za održivo upravljanje ribarstvom temeljeno na ekosustavu. To je posebno važno za poluzatvoreno Sredozemno more, gdje je intenzivan ribolovni napor prepoznat kao jedan od glavnih čimbenika stresa na morski ekosustav (Coll i sur., 2012; Colloca i sur., 2013; Corrales i sur., 2018). Naime, većina komercijalnih morskih stokova smatra se potpuno iskorištenim ili prelovljenima (Vasilakopoulos i sur., 2014; Osio i sur., 2015; Tsikliras i sur., 2015; FAO, 2018) te je Sredozemno more prepoznato kao jedno od tri glavna ribolovna područja za koje je utvrđen najveći postotak stokova koji se izlovljavaju na neodrživim razinama prema procijeni iz 2015. godine (Vannuccini i sur., 2018). Na cijelom području rasprostranjenosti danas se stokovi europskog hlapa smatraju iskorištenima zbog značajnog smanjenja ulova kao što je i slučaj u mnogim regijama Sredozemnog mora (Lloret i Riera, 2008; Lotze i sur., 2011; Pere i sur., 2019), iako gotovo nikakva procjena stokova još nije provedena. Genetički pristupi temeljeni

na protoku gena i procjeni raznolikosti se mogu također koristiti za učinkovito upravljanje, jer je genetička raznolikost odavno prepoznata kao jedan od temelja očuvanja biološke raznolikosti (Laikre i sur., 2010). S druge strane, intenzivni ribolovni napor može negativno utjecati na genetičku raznolikost iskorištavanih vrsta kroz selekciju i genski otklon (Marty i sur., 2015). Ribarstvena znanost je prepoznala važnost znanja o strukturi stoka i dinamici populacija iskorištavanih vrsta za održivo upravljanje resursima (Ovenden i sur., 2015) i u tu svrhu uspješno primjenjuje pristupe populacijske genetike (Cadrin i sur., 2014), uključujući određivanje strukture stoka, genetičke raznolikosti, efektivne veličine populacije i otpornosti populacije te adaptivnog odgovora na ribolov (Ovenden i sur., 2015; Matić-Skoko i sur., 2018).

U svrhu određivanja genetičke raznolikosti, populacijske strukture, efektivne veličine populacije i migracijskih obrazaca koji utječu na genetičku povezanost hlapa u ovome istraživanju korišteno je 14 neutralnih mikrosatelitnih lokusa i dio COI regije mtDNA usporedbom 331 jedinke uzorkovane iz središnjeg i istočnog Sredozemnog mora. Ovo istraživanje predstavlja prvi opis genetičke raznolikosti i strukture populacije hlapa *H. gammarus*, dekapodnog raka od ekološke i gospodarske važnosti u Jadranskom moru. Standardizirani set mikrosatelitnih lokusa, posebno dizajniranih za hlapa, pokazao se robusnim i učinkovitim u analizi genetičke raznolikosti i populacijske strukture. Nakon isključenja lokusa HGA8 koji je pokazivao visoku učestalost nul-alela ( $> 10\%$ ), nije uočena neravnoteža vezanosti gena i nije uočeno značajno odstupanje od Hardy-Weinbergove ravnoteže.

Općenito, u ovome istraživanju zabilježene su slične vrijednosti srednjeg broja alela po lokusu, efektivnog broja alela te alelnog bogatstva u istraživanim populacijama. Srednja očekivana ( $H_e$ ) i opažena ( $H_o$ ) heterozigotnost su pokazale umjerenu varijaciju među populacijama i ontogenetskim stadijem te su najveće vrijednosti zabilježene za populaciju iz Jonskog mora vjerojatno zbog manjeg broja uzoraka u odnosu na ostale populacije. Također, vrijednosti koeficijenta križanja u bliskom srodstvu ( $F_{IS}$ ) bile su niske i statistički neznačajne. Fiksacijski indeks opisuje odnos između razlika očekivane i uočene heterozigotnosti, gdje vrijednosti oko nule ukazuju da je populacija u ravnoteži, dok vrijednosti značajno poviše nule ukazuju na višak homozigotnosti što može biti posljedica križanja jedinki u bliskom srodstvu. Indeksi genetičke raznolikosti za nedorasle i odrasle jedinke su bili usporedivi s vrijednostima uočenim za populacije hlapa iz sjevernoeuropskih mora gdje su korišteni isti mikrosatelitni biljezi (Ellis i sur., 2017). Osim toga, genetička raznolikost je bila usporediva s rezultatima istraživanja populacije s otoka Lundy, zaštićenog morskog područja u kanalu Bristol

(Ujedinjeno Kraljevstvo) koji je uspostavljen 2003. (Watson i sur., 2016), što ukazuje na stabilnost genetičke varijabilnosti unatoč intenzivnom ribolovnom naporu unutar regija.

U dostupnim istraživanjima populacijske strukture hlapa na različitim prostornim skalama korišteni su novi i tradicionalni markeri, tj. RAPD (Ulrich i sur., 2001), alozimi (Jørstad i sur., 2005), mtDNA i RFLP (Triantafyllidis i sur., 2005), mikrosateliti (Huserbråten i sur., 2013; Watson i sur., 2016; Ellis i sur., 2017) i SNP-ovi (Jenkins i sur., 2019, 2020). Na širokoj prostornoj skali uočeni su obrasci diskontinuiteta protoka gena i identificirano je nekoliko glavnih grupa, tj. Atlantska, sjeverno Norveška, Nizozemska i grupa iz Sredozemnog mora s prisutnošću izolacije prema udaljenosti (IBD) na europskoj razini (Triantafyllidis i sur., 2005; Ellis i sur., 2017). Nadalje, u istraživanju Ellis i sur. (2017) kod populacije iz Švedske zabilježen je ograničen protok gena, no ti su uzorci bili genotipizirani od strane drugih istraživača te uočena genetička divergencija može proizaći iz razlika u očitavanju alela. U istraživanju Triantafyllidis i sur. (2005) nije uočena diferencijacija između uzoraka iz Švedske i ostalih iz Atlantske regije, ali treba napomenuti kako se ovo istraživanje temeljilo na mtDNA koja može podcijeniti suvremenu divergenciju (Rowe i sur., 2017). Oba prethodno navedena istraživanja pokazuju kako populacije smještene na granicama areala rasprostranjenosti, kao u slučaju populacija koje potječu iz sjeverne Norveške i Egejskog mora, predstavljaju diskretne biološke jedinice zbog smanjene stope migracije i posljedično povećanog genskog otklona, ali i zbog povijesnog preloma populacija. Dodatno, analiza mtDNA također je podržala subregionalnu podjelu unutar Sredozemnog mora, potvrđujući diferencijaciju populacija iz Egejskog mora, Jadranskog mora i iz zapadnog dijela Sredozemnog mora (Triantafyllidis i sur., 2005) iako zaključke treba uzeti s oprezom zbog malog broja uzoraka populacija iz Jadranskog mora i zapadnog Sredozemnog mora. Takav obrazac diferencijacije uočen je i u ovom istraživanju, gdje je najviša razina genetičke diferencijacije utvrđena među populacijama iz različitih bazena Sredozemnog mora, dok su populacije iz Jadranskog mora bile panmiktične. Uočena je niska razine ukupne genetičke diferencijacije hlapa ( $F_{ST} = 0,0062$ ,  $Dest = 0,023$ ) i ove vrijednosti se preklapaju s prethodno dokumentiranom razinom ukupne genetičke diferencijacije pomoću istog skupa mikrosatelitnih lokusa na širokom skupu uzoraka prikupljenih diljem Europe ( $F_{ST} = 0,007$ ,  $Dest = 0,011$ ; Ellis i sur., 2017). Iako je uočena niska razina ukupne genetičke diferencijacije, većina usporedbi  $F_{ST}$ -a u parovima su bile značajne između populacija iz različitih bazena Sredozemnog mora, odnosno između populacija iz Egejskog i Jadranskog mora, Jadranskog i Ligurskog mora te Egejskog i Ligurskog mora. Većina jadranskih populacija je pokazala ograničen protok gena prema populaciji iz Ligurskog



mora, osim populacije iz zapadnog srednjeg Jadrana (AD\_AN) i populacija nedoraslih jedinki (AD\_UM\_J i AD\_PU\_J). Unutar Jadranskog mora značajna genetička udaljenost je zabilježena između populacije otoka Visa (AD\_VI) i populacije otoka Lošinja (AD\_LO). Visok protok gena i niske vrijednosti  $F_{ST}$ -a kod morskih vrsta ne znače izostanak populacijske strukture, jer izmjena samo nekoliko jedinki po generaciji između populacija može održati genetičku homogenost (Waples, 1998). Visoki protok gena zabilježen u Jadranskom moru i smanjeni protok prema drugim bazenima potvrđen je s objema prostornim analizama koje sugeriraju zadržavanje ličinki i ograničenu disperziju unutar Jadranskog mora. Naime, hijerarhijska strukturalna analiza i DAPC analiza zabilježile su tri različita klastera. Sve jadranske populacije svrstane su u prvi klaster s postotkom pridruživanja od 71 %, populacije iz Ligurskog i Egejskog mora u drugi i treći klaster s postotkom pridruživanja od 82 % i 63 %, s izuzetkom populacije iz Jonskog mora koja je pokazala heterogenije podrijetlo, što je u skladu s  $F_{ST}$  vrijednostima. Poluzatvoreno Jadransko more predstavlja jednu od definiranih filogeografskih regija unutar Sredozemnog mora. Naime, smanjeni protok gena između Jadranskog i ostatka Sredozemnog mora već je ranije dokumentiran za nekoliko drugih morskih vrsta kao što je kućica (*Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758), Cordero i sur., 2014), sipa (*Sepia officinalis* Linnaeus, 1758, Pérez-Losada i sur., 2007), list (*Solea solea* (Linnaeus, 1758), Sabatini i sur., 2018) i hridinasti ježinac (*Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), Maltagliati i sur., 2010). Daljnja hijerarhijska analiza strukturalnosti populacija samo za Jadransko more nije uočena.

Ipak, u ovoj studiji uočena je difuzna barijera između Jadranskog i Jonskog mora, iako se zbog male veličine uzorka jonske skupine ne mogu donijeti čvrsti zaključci u pogledu povezanosti populacija. Jonska populacija pokazala je obrazac diferencijacije od sjevera prema jugu karakteriziran niskim i neznajčajnim  $F_{ST}$  usporedbama u parovima sa svim ostalim uzorkovanim skupinama. Nadalje, sve jedinke u toj skupini bile su djelomično raspoređene u sva tri klastera identificirana Bayesovskom analizom. Jonsko more ne predstavlja filogeografsku barijeru i povezano je s Jadranskim morem oceanografskim procesima prvenstveno obalnim morskim strujama (Villamor i sur., 2014). Stoga izmjena ličinki i suvremeni protok gena uvelike ovise o sposobnosti disperzije vrste (Rossi i sur., 2014).

Najrazličitije jedinke karakterizirane visokim koeficijentom pridruživanja u svoj klaster potječu iz Ligurskog mora vjerojatno kao rezultat značajne izolacije prema udaljenosti (IBD). Rezultati ovog istraživanja ukazuju na diskontinuitet diferencijacije umjesto kontinuirane linije genetičke diferencijacije. Uočeni diskontinuitet je rezultat prisutnosti barijera protoka gena ili

potencijalno može ukazivati na pristran uzorak s neformalnom distribucijom uzorkovanja unutar regije istraživanja (Meirmans, 2012). Ipak, pretpostavlja se kako je u slučaju populacije iz Ligurskog mora, IBD manje važan pokretač suvremene populacijske strukture. Ograničeni protok gena prema središnjem Sredozemnom moru može se djelomično objasniti Sicilijskim tjesnacem koji dijeli Sredozemno more na dva dijela, zapadni i istočni. Sicilijski tjesnac je prepoznata oceanska fronta kao barijera protoka gena kod nekih morskih riba kao što je vrsta ribe iz porodice gobida (*Pomatoschistus tortonesei* Miller, 1969; Mejri i sur., 2009), skuša (*Scomber scombrus* Linnaeus, 1758) i lokarda (*Scomber colias* Gmelin, 1789) (Zardoya i sur., 2004). Osim toga, programi poribljavanja mogu utjecati na genetičku strukturu domaće populacije ako se koriste jedinke koje potječu van područja prirodne povezanosti populacija. Programi poribljavanja se općenito provode da bi obogatili divlje populacije koje su prelovljene ili su pred kolapsom stoka. Jedan takav program poribljavanja se provodio na području Korzike tijekom 1970-tih godina gdje su korišteni hlapovi koji potječu s atlantske obale Francuske. U nedavnom istraživanju temeljenom na analizi 79 SNP-ova uočeno je da je program poribljavanja koji se provodio na području Korzike ostavio trag atlantskog podrijetla u suvremenoj strukturi populacije i utjecao na genetičku strukturu prirodne populacije (Jenkins i sur., 2020). Ukupno tijekom provedenog poribljavanja pušteno je oko 11 000 mladih jedinki hlapa atlantskog podrijetla na području Korzike te nije uspostavljen monitoring plan preživljavanja puštenih jedinki i novačenja u domaću populaciju. Takav utjecaj poribljavanja s hlapovima atlantskog podrijetla može dodatno objasniti uočeni diskontinuitet genetičke diferencijacije uočen unutar Sredozemnog mora u ovom istraživanju. Slično intraspecifični hibridizacijski obrazac između uzgojne komarče (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) atlantskog podrijetla koje su prebjegle iz uzgajališta i divljih jedinki već je dokumentiran u Jadranu gdje su jako izmiješane populacije imale smanjenju genetičku raznolikost (Šegvić-Bubić i sur., 2017; Žužul i sur., 2019).

Rezultati ovog istraživanja ukazuju kako uočeno smanjenje veličine populacije zbog prekomjernog izlova, gubitka staništa i drugih antropogenih aktivnosti nisu značajno utjecali na neutralnu genetičku raznolikost. Rezultati testa viška heterozigota u populaciji prema dvofaznom modelu nisu pokazali signale genetičke erozije u svim testiranim populacijama hlapa, dok su M omjeri bili iznad 0,68 (prosjeck 0,77) kao granična vrijednost za demografski stabilne prirodne populacije (Garza i Williamson, 2001). U istraživanju Watson i sur. (2016) zabilježene su značajne vrijednosti M omjera što sugerira povijesno smanjenje veličine populacije hlapa u Irskom moru, dok nedavno smanjenje veličine populacije nije uočeno.

Također, slične vrijednosti indeksa genetičke raznolikosti bile su zabilježene na širem području sjeverne Europe (Watson i sur., 2016; Ellis i sur., 2017). Ipak, postoji potencijalno ograničenje ovog skupa podataka za otkrivanje učinka uskog grla zbog relativno kratkog vremena koje je prošlo od značajnog smanjenja veličine populacije hlapa u Jadranskom moru. Naime, posljednji značajan procijenjeni pad ulova zabilježen je tijekom 1990-ih, od 119 t po godini do 10 t po godini (Lotze i sur., 2011). Uzimajući u obzir dugovječnost ove vrste (42-72 godine, Sheehy i sur., 1999) i relativno dugo generacijsko vrijeme (9,81–12,88 godina, ovo istraživanje), može se pretpostaviti da je prošlo premalo vremena/generacija da se uoči gubitak genetičke raznolikosti genskim otklonom.

Povezanost kod većine morskih organizama je definirana kretanjem tj. disperzijom jedinki u pelagičnim fazama razvoja i usko je povezana s morskim strujama te je zato trajanje pelagične faze važan čimbenik povezanosti morskih populacija (Cowen i sur., 2007). U ovom istraživanju suvremene i povijesne procjene protoka gena pokazale su ograničenu razmjenu genetičkog materijala između različitih bazena Sredozemnog mora, ali ne i unutar Jadranskog mora. Naime, rezultati analiza provedenih s Migrate i BayesAss programima pokazali su da sjeveroistočna obala Jadranskog mora djeluje kao glavni izvor protoka gena u Jadranskom moru, s asimetričnim migracijskim obrascem od sjevernih prema južnim regijama. Ovi rezultati su dodatno potkrijepljeni nedostatkom izolacije prema udaljenosti (IBD) unutar Jadranskog mora. Općenito, povijesne procjene stope migracije podržavaju veći protok gena među istraživanim populacijama. Iako je dijagnostika modela za ove analize i konvergencija dobro izvedena, BayesAss metoda ima manju osjetljivost kada su vrijednosti  $F_{ST}$  između populacija manje od 0,05, ili u slučajevima visoke stope migracije (Faubet i sur., 2007). Budući da su globalne i vrijednosti  $F_{ST}$  -a u parovima među uzorkovanim populacijama bile ispod praga kojeg zahtijeva ova metoda, potreban je oprez kod tumačenja ovih rezultata kao preciznih vrijednosti stopa migracije. Huserbråten i sur. (2013) su istraživali protok gena između populacija hlapa u zaštićenim područjima u Norveškoj primjenom mikrosatelitnih biljega. Autori su zabilježili visok protok gena unutra područja istraživanja s procijenjenom  $F_{ST}$  vrijednosti manjom od 0,0001 na cca. 400 km obale, što ukazuje na to da je povezanost populacija primarno određena disperzijom ličinki koja je pak uvjetovana prevladavajućim morskim strujama. Galparsoro i sur. (2009) izradili su modeliranu kartu prikladnosti staništa za Biskajski zaljev te istaknuli da su najpovoljnija staništa za hlapa mjesta na granici između sedimentnih i stjenovitih dna na dubinama od 35 do 40 m, s umjerenim do jakim uvjetima energije valova. Istočna obala sjevernog Jadrana ima slične karakteristike staništa. Jadransko

more je podijeljeno u tri pod regije, gdje dubina raste od sjevera prema jugu (Trincardi i sur., 1994). Sjeverni Jadran je najopsežniji kontinentalni šelf Sredozemnog mora s prosječnom dubinom dna od oko 35 m (Trincardi i sur., 1994). Područje gdje su izvorne populacije protoka gena (AD\_UM, AD\_PU) uzorkovane je istočna obala sjevernog Jadrana, koju karakteriziraju uglavnom muljevita dna prošarana krškim elementima (Fütterer i Paul, 1976). Srednji i južni Jadran karakteriziraju prosječne dubine od 150 m i široke depresije duboke 1218–1225 m, dok heterogeno dno i relativno male dubine čine istočnu obalu sjevernog Jadrana najpogodnijim staništem za hlapa. Kameni supstrat pruža zaklon od grabežljivaca dok sedimentna podloga povećava dostupnost hrane za hlapa. Budući da odrasli hlapovi pokazuju mali raspon kretanja, najčešće do 3 km od zaklona (Moland i sur., 2011; Øresland i Ulmestrand, 2013; Skerritt i sur., 2015), protok gena unutar Jadrana vjerojatno je primarno određen potencijalom disperzije planktonskih ličinki uz potporu lokalnih oceanografskih karakteristika.

Specifične lokalne oceanografske karakteristike igraju važnu ulogu u povezanosti populacija. Strujanja u Jadranskom moru su uglavnom u smjeru suprotnom od kazaljke na satu, sa strujama koje se kreću prema sjeveru uzduž istočne obale i vraćaju se u smjeru juga uzduž zapadne obale, s izraženim vrtlozima u južnom, srednjem i sjevernom Jadranu (Orlić i sur., 2012). Uz opći obrazac panmiksije, takav cirkulacijski sustav uvelike utječe na povezanost populacija u Jadranu (Melià i sur., 2016) te može biti odgovoran za blagi prekid protoka gena uočen između populacije otoka Visa (AD\_VI) iz srednjeg Jadrana i populacija otoka Lošinja (AD\_LO) iz sjevernog Jadrana. Iako je novačenje unutar iste populacije na maloj prostornoj skali bilo zabilježeno na drugim područjima (Øresland i Ulmestrand, 2013; Watson i sur., 2016), pretpostavljamo da struja zapadnog Jadrana podržava disperziju ličinki iz sjevernog Jadrana, utječući na genetičku homogenost populacija. Uzimajući u obzir trajanje pelagične faze ličinke, od 2 do 4 tjedna (Schmalenbach i Franke, 2010) i prosjek brzine struje od 25 cm/s (Poulain, 2001), genetički materijal bi se potencijalno mogao prenijeti na relativno velikim udaljenostima, od 300 do 600 km. Zbog vremenskih fluktuacija povezanosti populacija, bilo bi poželjno ponovno uzorkovanje, uključujući populacije na najjužnijim granicama bazena kako bi se mogao procijeniti genetički identitet svih mogućih populacija kao izvor protoka gena unutar Jadranskog mora.

Praktični način integracije genetičkih informacija u upravljanje ribarstvom je praćenje efektivne veličine populacije ( $N_e$ ). Efektivna veličina populacije je ključni parametar u populacijskoj genetici jer određuje razinu genetičke varijacije koja se može održati i pruža uvid u rizik od izumiranja kao i u dugoročni evolucijski potencijal (Charlesworth, 2009). Kao takva,

genetička raznolikost i  $N_E$  mogu se koristiti kao *proxy* za razinu opasnosti iskorištavanih vrsta kada nisu dostupni svi potrebni podaci za potpunu procjenu stokova (Hare i sur., 2011; Ovenden i sur., 2015). U ovome istraživanju prosječna suvremena efektivna veličina populacije ( $N_E$ ) procijenjena za populacije hlapa varirala je od 1,560 do 2,094, ovisno o korištenoj metodi, s preklapanjem intervala pouzdanosti ovih vrijednosti s povijesnim procjenama po populaciji. Najveće vrijednosti efektivne veličine populacije zabilježene su za populacije sjevernog Jadrana (AD\_UM i AD\_PU). Mogući problem za procjenu efektivne veličine populacije ( $N_E$ ) LD metodom (NeEstimator; Do i sur., 2014) mogu predstavljati preklapajuće generacije. Druga metoda tj. metoda vjerojatnosti implementirana u AgeStructure programu (Wang i sur., 2010) korištena je kako bi se otklonio potencijalni učinak preklapajućih generacija na procjene  $N_E$ . Ova metoda je posebno razvijena za populacije s preklapajućim generacijama te analizira samo jedinke poznate dobi i spola. Ova dva različita pristupa dala su sukladne procjene  $N_E$  za jadranski bazen, što ukazuje na pouzdanost rezultata procjena  $N_E$ . Zanimljivo je da je analiza AgeStructure pokazala nešto niže vrijednosti  $N_E$  po dobnoj klasi za mužjake do 20 % za razliku od  $N_E$  ženki. Kod hlapova postoje razlike u ponašanju između spolova na način da su mužjaci manje rezidentni i koriste više prostora (Skerritt i sur., 2015), te su kao takvi osjetljiviji na ribolov od ženki. U skladu s navedenim su i rezultati prethodnog poglavlja gdje se uočava da su u lovinama značajno prisutniji mužjaci. Takve razlike među spolovima mogu utjecati na veličinu populacije i posljedično na  $N_E$  mužjaka. Slična ukupna procjena  $N_E$  uočena je kod hlapova iz sjevernoeuropskih mora (Ellis i sur., 2017). Također, slične vrijednosti  $N_E$  su uočene u istraživanju na području Irskog mora, no u analizi je korišten manji broj mikrosatelitnih lokusa (Watson i sur., 2016). Osim toga, ove  $N_E$  vrijednosti spadaju u raspon kritične veličine populacije ( $N_E \approx 1000 - 5000$ ) potrebne za održavanje dovoljne genetičke varijance za adaptivni odgovor u kvantitativnim osobinama (Bürger i Lynch, 1997). Rezultati ukazuju na odgovarajuću snagu hlapa da odgovori na izazove okoliša, kao što je već zabilježeno kod nekih drugih morskih vrsta koje su prelovljene, npr. kod plavoperajne tune (*Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758), Riccioni i sur., 2010) i vrste ribe iz porodice Scienidae (*Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890); Valenzuela-Quiñonez i sur., 2014).

Genetička raznolikost i demografska povijest populacije hlapa analizirana je pomoću COI regije mtDNA. Prosječna haplotipna raznolikost (0,456) u svim istraživanim populacijama je u skladu sa zabilježenim podacima za druge morske rakove u Sredozemnom moru poput vrste *Pachygrapsus marmoratus* (J.C. Fabricius, 1787) (Deli i sur., 2015) te *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (Marra i sur., 2015). Haplotipna raznolikost je bila niža od onih

zabilježenih za populacije hlapa ispitane pomoću RFLP analize 3-kb fragmenta mtDNA (Triantafyllidis i sur., 2005). U navedenom istraživanju zabilježeno je smanjenje genetičke raznolikosti u populacijama iz Jadrana i Egejskog mora u usporedbi s drugim regijama u Sredozemnom moru, pretpostavljajući da je mogući uzrok tomu sinergijski učinak uskog grla, odsutnost imigracije koja bi povećala genetičku varijaciju i visoka iskorištavanost populacija. Indeksi raznolikosti mtDNA iz ovog istraživanja nisu usporedivi s ostalim istraživanjima, s obzirom na korištenje različitih genetičkih biljega i/ili dužine sekvence i ograničenosti veličine uzorka. Širenje rasprostranjenosti je proces koji se događa u evolucijskoj povijesti većine vrsta te može značajno utjecati na obrasce genetičke raznolikosti s izravnim posljedicama na očuvanje biološke raznolikosti. Kolonizacija povoljnih staništa često se oslanja na *founder* događaje, uspostava nove populacije iz malog broja jedinki, koji dovode do diferencijacije između novoosnovanih i izvornih populacija putem genskog otklona (Waters i sur., 2013). U ovome istraživanju hipoteza iznenadne populacijske ekspanzije nije odbačena za skup podataka COI regije. Procjene vremena ekspanzije podržavaju hipotezu o događaju u pleistocenu za Jadransko more, tj. posljednji glacijalni maksimum (LGM ~ 18 kilo pb), gdje je na širenje i smanjenje europskih populacija hlapova utjecala razina mora (Svitoch i sur., 2000). Sjeverne i središnje regije Jadrana tada nisu bile pod morem i razina mora je bila oko 130 m niža nego danas (Malvić i Velić, 2011; Sikora i sur., 2014). Nadalje, orijentacija bazena sjever - jug pridonijela je postglacijalnoj rekolonizaciji Jadrana iz južnih područja u smjeru sjevera (Bianchi i sur., 2012). Nekoliko *founder* događaja duž rekolonizacijske osi mogli su dovesti do smanjena genetičke raznolikosti na granicama raspona ekspanzije zbog genskog otklona. Utjecaj takve dinamike rekolonizacije na genetičku raznolikost je zabilježena za gorgoniju *Paramuricea clavata* (Risso, 1826) u istočnom Jadranu, za koju je zabilježena niža genetička raznolikost populacija uzorkovanih prema sjeveru, te nije došlo do drastičnog smanjenja veličine populacije tijekom rekolonizacije (Ledoux i sur., 2018). U ovome istraživanju, istim čimbenicima mogu se objasniti različite razine raznolikosti haplotipova hlapa uočene između sjevernog (0,44) i srednjeg Jadrana (0,62), kao što je zabilježeno i kod obrvana, *Aphanius fasciatus* (Valenciennes, 1821) (Buj i sur., 2015). Ipak, malo se zna o procesima koji oblikuju i održavaju obrasce genetičke raznolikosti u Jadranu te su potrebna daljnja istraživanja.

## Održivo gospodarenje i zaštita hlapa

Mjere upravljanja ribarstvom hlapa u Hrvatskoj uključuju minimalnu veličinu ulova, zatvorenu sezonu i zabranu ulova ženki s jajima (NN, 42/2016.). Trenutno, ribolovna sezona je otvorena od 5. svibnja do 1. rujna. S obzirom na moguće ranije pojačano kretanje hlapova zbog povišene temperature, uočen je trend ilegalnog ulova hlapa u Hrvatskoj prije sezone ribolova, uglavnom u ožujku i travnju (osobni komentar). U budućnosti će stoga trebati razmotriti izmjene postojećeg vremenskog okvira zabrane ribolova ukoliko se nastave uočeni trendovi pojave. Također, posljednjih godina u Europi su uvedene dodatne mjere za zaštitu hlapova, kao što je obilježavanje repne peraje u obliku V ureza za ženke s vanjskim jajima (Tully, 2001) i uspostava zaštićenih područja (Moland i sur., 2021), pa bi se o provedbi ovih mjera trebalo razmisliti i u Hrvatskoj. Klimatske promjene će zasigurno izazvati različite učinke na oba sektora ribarstva, gospodarski i rekreacijski. Gospodarski ribari mogu se prilagoditi ovim promjenama uglavnom kroz širenje ribolovnih područja sljedeći distribucije ciljanih vrsta, što će posljedično povećati operativne troškove. No, pitanje je kako će se uočeni trendovi odraziti na rekreativni sektor posebice iz razloga što on i sad predstavlja nepoznanicu po pitanju količine ostvarenog ulova. Učinci klimatskih promjena na ribarsku zajednicu će biti značajni jer je društveno-ekološki sustav već pod pritiskom, zbog prekomjernog izlova u Sredozemnom moru (Miller i sur., 2010; Colloca i sur., 2011; Pranovi i sur., 2013) i očituje se smanjenom demografskom strukturom i ograničenjem zemljopisne distribucije pojedinih vrsta, ali i gubitkom raznolikosti općenito (Rijnsdorp i sur., 2009; Perry i sur. 2010; Planque i sur., 2010). Već je prethodno istaknuto kako se razlike u veličini spolne zrelosti, fekunditetu i strukturi populacije hlapa između različitih područja mogu pojaviti kao odgovor na lokalne uvjete okoliša i lokalne strategije ribolova (Lizárraga-Cubedo i sur., 2015) koje se bitno mogu razlikovati čak i između dva susjedna područja/regije/ribolovne zone. Ribolov hlapa je najčešće reguliran samo minimalnom veličinom ulova (Pere i sur., 2019) i upravitelji u ribarstvu moraju biti sigurni da propis o minimalnoj veličini ulova odgovara stvarnoj veličini spolne zrelosti na području upravljanja. Stoga je EU regulativa prepoznala i propisala različite minimalne veličine ulova za hlapa za zemlje sjeverne Europe i Sredozemnog mora. No, možda je isto potrebno razmotriti i na subregionalnoj razini jer je na području rasprostranjenosti hlapa dokumentirano nekoliko genetički različitih populacija (Triantafyllidis i sur., 2005; Ellis i sur., 2017), dok su jadranske populacije panmiktične kako smo pojasnili u prethodnom poglavlju (ovo istraživanje). Ako se ovi trendovi zagrijavanja mora nastave može se očekivati kako će razlike u glavnim biološkim točkama između atlantskih i mediteranskih stokova postati još

izraženije. U ovome istraživanju potvrđeno je da je sjeverni Jadran posebno osjetljivo područje na klimatske promjene. Kako je plitki sjeverni Jadran konfiguriran kao slijepa ulica (Ben Rais Lasram i sur., 2010; Pranovi i sur., 2016) i sprječava daljnju migraciju borealnih vrsta, poput hlapa, prema sjeveru upitno je kako će se ove vrste ponašati u budućnosti. Zasigurno, uočene promjene zahtijevaju dublju i složeniju analizu stoka hlapa i ažuriranje postojećih mjera upravljanja na području Jadranskog i Sredozemnog mora.

Minimalna dužina lovnosti najčešće se određuje prema dužini prve spolne zrelosti vrste (Lizárraga-Cubedo i sur., 2003; Laurans i sur., 2009). Trenutna minimalna dužina lovnosti hlapa u Sredozemnom moru određena od Europske unije je 105 mm CL, kao jedina mjera upravljanja, s ciljem zaštite neodraslih jedinki i osiguravanja mrijesta prije nego što jedinke postanu ranjive na ribolov (Le Bris i sur., 2017). Ista minimalna dužina ulova je primijenjena i u Hrvatskoj. Iako analiza selektivnosti vrša namijenjenih lovu ribe (40 mm) i velikih rakova (55 mm) u ovome istraživanju nije provedena, no vjerojatno bi omjer jedinki hlapa ispod 105 mm CL bio znatno niži od ovdje dobivenog. Naši rezultati upućuju na to da postojeći pravni okvir u hrvatskom morskom ribarstvu za hlapa održava ulov u pozitivnom trendu, s biološkim karakteristikama koje ne upućuju na značajnu promjenu unutar analizirane populacije. Međutim, produljenje ribolovne sezone (obuhvaćanje travnja i rujna) nije preporučljivo, unatoč pozitivnom trendu ulova posljednjih godina. Dodatni napor je poželjan zbog smanjenja ribolovnog pritiska u obalnom dijelu (<3 nm), ne samo za aktivne ribolovne alate već i za pasivne alate, kao što su različite mreže stajačice i vrše.

Unos nezavičajnih vrsta može negativno utjecati na bioraznolikost, funkcije u ekosustavu i na same zavičajne vrste (Molnar i sur., 2008). Jedna od takvih vrsta je i američki hlap (*Homarus americanus*) koji je putem uvoza živih jedinki s američkog tržišta, bilo bijegom ili puštanjem, unesen na području sjeverne Europe (Ellis i sur., 2020). Također, na području Sredozemnog mora zabilježena su dva nalaza američkog hlapa, i to u Jadranu (Pavičić i sur., 2020) i Egejskom moru (Kampouris i sur., 2021). Pretpostavlja se da je vektor unosa također trgovina živim hlapovima. U slučaju ponavljanja takvih nalaza, postoji opasnost od negativnog utjecaja na populaciju europskog hlapa jer ove dvije vrste naseljavaju slična staništa, a moguć je i prijenos bolesti uz potencijalnu mogućnost hibridizacije (Ellis i sur., 2020).

Poznavanje strukture stoka i povezanosti populacija važno je za učinkovito upravljanje ribarstvom. Prvi put, ovo istraživanje daje detaljnu genetičku strukturu hlapa u Jadranskom moru i informacije o povezanosti populacija između Jadrana i ostalih regija Sredozemnog



mora. Hlap odavno pokazuje znakove prekomjernog iskorištavanja u Jadranu (Lotze i sur., 2011), no unatoč provedbi regulatornih mjera za hlapa poput minimalne veličine ulova i dopuštene sezone ribolova, druge dodatne strateške ili dugoročne upravljačke mjere nisu predložene za povećanje brojnosti i biomase te očuvanje ove vrste. Poboljšanje produktivnosti i održivosti ribarstva hlapova u Europi se prakticira kroz dva pristupa: poribljavanje (Ellis i sur., 2015b; Hinchcliffe i sur., 2021) i uspostavljanje morskih zaštićenih područja (MPA) (Moland i sur., 2021; Knutsen i sur., 2022). Poribljavanja hlapova ima svrhu u obogaćivanju prelovljenih stokova te su uglavnom provođena na području sjeverne Europe (Hinchcliffe i sur., 2021), dok se samo jedan takav program poribljavanja provodio u Sredozemnom moru, i to tijekom 1970-ih na području Korzike (Jenkins i sur., 2020). Zbog još uvijek nepovoljnih metoda označavanja mladih jedinki i ograničenih saznanja o ekologiji hlapa, posebice ranih razvojnih stadija, procjena utjecaja i potencijal poribljavanja hlapova ostaju do danas ograničeni. S druge strane, morska zaštićena područja su pokazala visok potencijal u održivom upravljanju ribarstvom hlapova (Moland i sur., 2021; Knutsen i sur., 2022). Naime, nakon četiri godine od uspostavljanja zaštićenih područja u južnoj Norveškoj, vrijednosti CPUE-a iz eksperimentalnog ribolova su se povećale za oko 2,6 puta u usporedbi s vrijednostima prije zaštite (Moland i sur., 2013a; Nillos Kleiven i sur., 2019), dok se u istom razdoblju u kontrolnim područjima CPUE povećao 87 % (Moland i sur., 2013a). Također, slični rezultati zaštite uočeni su na zapadnoj obali Švedske gdje je uočeno smanjenje prirodne smrtnosti hlapova, povećanje srednje dužine tijela i CPUE-a (Moland i sur., 2013b). Sveukupno, zabilježen je niz pozitivnih učinaka zaštićenih područja na hlapove poput povećanja brojnosti, veličine i biomase i povećanja ulova (Moland i sur., 2013a; Moland i sur., 2013b; Nillos Kleiven i sur., 2017; Moland i sur., 2021), zaštita specifičnih osobina (Sørdalen i sur., 2020; Moland i sur., 2021) i zaštita genetičke strukture od selekcije ribolovom (Huserbråten i sur., 2013). Preporuka izvedena iz rezultata ovog istraživanja je uspostava novih međusobno povezanih zaštićenih područja, ciljajući prvenstveno na istočni dio sjevernog Jadrana, područje prepoznato kao glavni izvor protoka gena prema rezultatima ovog rada. Osim već postojećih zaštićenih područja, poput Nacionalnog parka Brijuni u sjevernom Jadranu, veliki udio staništa hlapa ostaje osjetljivo na antropogene poremećaje i sadašnja razina zaštite od 3 % područja sjevernog Jadrana čini se nedovoljnom (Bastari i sur., 2016). Za postizanje uspjeha zaštite biološke raznolikosti, morska zaštićena područja bi trebala biti prvenstveno povezana s drugim zaštićenim područjima putem migracija odraslih jedinki ili disperzijom ličinki. Poznavanje bioloških osobina vrste kao što je trajanje pelagične faze ličinke i strategija mrijesta, zajedno s Lagrangeovim transportom čestica unutar lokalnog strujnog sustava za istraživanje transporta

ličinki i povezanosti populacija, trebaju se uzeti u obzir za prikladno prostorno planiranje područja za zaštitu (Bray i sur., 2017; Legrand i sur., 2019).

U ovome istraživanju nije zabilježen gubitak neutralne genetičke raznolikosti za populacije hlapa, ali ribarstvo i antropogeni utjecaji mogu uzrokovati promjene važnih osobina pod selekcijom koje se ne mogu jednostavno procijeniti s genetičkim biljezima korištenim u ovom radu. Osim toga, važno ograničenje metoda pridruživanja koje su se koristile je njihova moć otkrivanja migranata u slučajevima niske razine diferencijacije populacija, iako to može biti premošteno većom veličinom uzorka i dodatnim lokusima, što rezultira odgovarajućom snagom za otkrivanje migranata (Paetkau i sur., 2004; Manel i sur., 2005.). U većini slučajeva morske vrste funkcioniraju kao diskretne populacije u odrasloj bentičkoj fazi, povezane morskim strujama i disperzijom ličinki u pelagičnoj fazi, gdje se može očekivati visok protok gena i nedostatak strukture populacija kada se koriste neutralni mikrosatelitni biljezi. Homogenost jadranskih populacija hlapova i uočena razina povezanosti ističu potrebu za zajedničkim upravljanjem stokova hlapa s Hrvatske i talijanske strane. Jedan od prioriteta upravljanja ribarstvom i zaštitom je prepoznavanje populacija koje su glavni izvor protoka gena, što je dovelo do povećanja istraživanja populacijske genomike i korištenja polimorfizma pojedinačnih nukleotida (SNP) kao biljega. SNP biljezi imaju mogućnost testiranja velikog broja lokusa, otkrivanja fine populacijske strukture i asimetrične dinamike protoka gena. Mnoge morske vrste pokazale su znatne razine diferencijacije analizom lokusa gena kandidata pod selekcijom (Cure i sur., 2017), dajući nove uvide u izvornu populaciju i povezanosti populacija novačenjem.

Nedavno razvijeni SNP markeri koristeći RAD sekvenciranje pokazali su se pouzdanim u otkrivanju populacijske strukture hlapa (Jenkins i sur., 2019). Ipak, rezultati ovog istraživanja pružaju nove uvide u genetičku raznolikost i strukturu hlapa u Jadranskom moru i koristiti će za upravljanje ribarstvom i prostorno planiranje mreže morskih zaštićenih područja. Međutim, za potrebe praćenja stanja populacija i možebitnih promjena genetičke arhitekture kvantitativnih osobina kao odgovora na antropogene i/ili klimatske selekcijske pritiske, preporučljivo je korištenje SNP markera u budućim istraživanjima hlapa ne samo u Jadranskom i Sredozemnom moru, nego na cjelokupnom području njegove rasprostranjenosti.

## 6. ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenih istraživanja o statusu hlapa (*Homarus gammarus*) u Jadranskom moru, s ribarstvenog i ekološkog stajališta uporabom suvremenih metoda ribarstvene biologije i populacijske genetike, doneseni su sljedeći zaključci:

1. Za područje sjevernog Jadrana u razdoblju od 2008. do 2017. zabilježeni su statistički značajni porasti ulova, ribolovnog napora i ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE). Za područje srednjeg Jadrana zabilježen je blagi, ali statistički neznačajan porast ulova i ulova po jedinici ribolovnog napora dok je trend ribolovnog napora za područje srednjeg Jadrana bio blago negativan i neznačajan.
2. Zabilježeni su pozitivni i statistički značajni trendovi pridnene temperature mora na obje istraživane postaje i to 0,15 °C/god ( $p < 0,05$ ) na postaji SJ107 te 0,14 °C/god ( $p < 0,05$ ) na postaji Stončici u vremenskom razdoblju od 2008. do 2017. Također, zabilježeni su pozitivni i značajni trendovi modeliranih temperatura koji su veći od trendova izmjerenih temperatura i to 0,26 °C/god ( $p < 0,05$ ) na postaji SJ107 te 0,15 °C/god ( $p < 0,05$ ) na Stončici. Regionalni sustav modeliranja oceana (ROMS) se pokazao uspješan u reproduciranju varijabilnosti godišnjih i sezonskih pridnenih temperatura mora za sjeverni i srednji Jadran.
3. Prostorno - vremenske distribucije zimskih (SVO) i proljetnih (TSL) temperaturnih vrijednosti modela pokazuju značajan porast zimske (SVO) i proljetne (TSL) sezone na cijelom Jadranu između prvih (2008. - 2012.) i posljednjih (2013. - 2017.) pet godina simulacije. Najveći porast zabilježen je u plitkom sjevernom Jadranu tijekom obje sezone (ribolovna zona A), dok je porast manji u dubljim središnjim i južnim dijelovima Jadrana (ribolovne zone C, F, G). Porast zimske (SVO) temperature u sjevernom Jadranu je između 1 i 2 °C, a na većem dijelu srednjeg Jadrana između 0 i 1 °C. Porast proljetne (TSL) temperature još je veći u oba područja, do 2,5 °C u ribolovnoj zoni A sjevernog Jadrana i do 1,5 °C u ribolovnim zonama srednjeg Jadrana (C, F, G).
4. Uočena je statistički značajna korelacija između zimskih (SVO) i proljetnih (TSL) pridnenih temperatura mora i ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE) za ribolovne zone A i C, dok je za zonu G korelacija bila značajna samo za proljetne temperature.

Korelacija između grupiranih ribolovnih zona, za sjeverni i srednji Jadran, i ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE) je bila statistički značajna za oba područja.

5. Dužinski razredi prema dužini glavopršnjaka (CL) hlapa u uzorku bili su u rasponu od 60 - 190 mm. Najzastupljeniji dužinski razredi za mužjake i ženke hlapa u uzorku bili su od 80 - 120 mm dužine glavopršnjaka. Hlapovi ispod minimalne veličine ulova (MLS) od 105 mm CL činili su 52,83 % ukupnog uzorka te je omjer spolova bio blago veći za mužjake (52,7 %) u odnosu na ženke (47,3 %).
6. Općenito, zabilježene su niske vrijednosti ulova po jedinici ribolovnog napora (CPUE) koji je bio u rasponu od 4,6 do 239 g po vrši. Značajne razlike uočene su između svih sezona osim toplog dijela godine, proljeća i ljeta, kada su zabilježene i najveće vrijednosti (proljeće: 102 g/vrši; ljeto: 101,2 g/vrši). Uočeno je kako manje jedinke hlapa nastanjuju plića staništa i bliže obali, dok se sve veće jedinke pojavljuju dalje od obale.
7. Zabilježen je spolni dimorfizam u rastu između mužjaka i ženki hlapa. Nagibi svih morfometrijskih odnosa obične regresije najmanjih kvadrata značajno su se razlikovali između ženki i mužjaka. Zabilježen je izraženiji rast u masu za mužjake nego ženke pri određenoj dužini glavopršnjaka (CL) ili ukupne dužine (TL). Pri dužini glavopršnjaka od 80 mm ženke su počele razvijati sekundarne spolne karakteristike, odnosno imaju širi abdomen nego mužjaci.
8. Rezultati standardizirane regresije glavne osi ukazuju na negativni alometrijski rast za odnose  $\log CL$  vs.  $\log W$  i  $\log CL$  vs.  $\log TL$  za oba spola, dok su  $\log TL$  vs.  $\log W$  odnosi za oba spola pokazali pozitivnu alometriju. Za sve odnose između spolova uočena je ista vrsta alometrije, osim  $\log AW$  vs  $\log CL$  odnosa, koji su pokazali pozitivnu alometriju za ženke i negativnu alometriju za mužjake.
9. Standardizirani set mikrosatelitnih lokusa, posebno dizajniranih za hlapa, pokazao se robusnim i učinkovitim u analizi genetičke raznolikosti i populacijske strukture. Populacije nisu pokazale na značajno odstupanje od Hardy-Weinbergove ravnoteže te nije uočena neravnoteža vezanosti gena.

10. Uočeno smanjenje veličine populacije zbog prekomjernog izlova, gubitka staništa i drugih antropogenih aktivnosti nije značajno utjecalo na neutralnu genetičku raznolikost. Rezultati testa viška heterozigota u populaciji prema dvofaznom modelu nisu pokazali signale genetičke erozije u testiranim populacijama hlapa, dok su  $M$  omjeri bili iznad 0,68 kao granična vrijednost za demografski stabilne prirodne populacije.
11. Ukupna genetička udaljenost procijenjena s  $F_{ST}$  i  $D_{est}$  statistikom je iznosila 0,0062 ( $p < 0,001$ ) i 0,023 što ukazuje na relativno nisku genetičku udaljenost između istraživanih populacija. Najviša razina genetičke diferencijacije je utvrđena među populacijama iz različitih bazena Sredozemnog mora, dok su populacije iz Jadranskog mora bile panmiktične.
12. Analizom populacijske strukture prepoznata su tri zasebna klastera hlapa. Opažena je homogenost jadranskih populacija, koje su pridružene u prvi klaster s postotkom pridruživanja od 71 %. Populacija iz Ligurskog mora pridružena je u drugi klaster (82 %), a populacija iz Egejskog mora pridružena u treći klaster (63 %) dok je populacija iz Jonskog mora djelomično dodijeljena svakom od triju klastera. Analiza izolacije prema udaljenosti (IBD) je također potvrdila ove rezultate dok analiza provedena isključivo na populacijama Jadranskog mora nije otkrila izolaciju prema udaljenosti zbog genetičke homogenosti.
13. Suvremene i povijesne procjene protoka gena pokazale su ograničenu razmjenu genetičkog materijala između različitih bazena Sredozemnog mora, ali ne i unutar Jadranskog mora. Povijesne procjene stope migracije u odnosu na suvremene pokazuju veći protok gena među istraživanim populacijama. Rezultati ukazuju da sjeveroistočna obala Jadranskog mora djeluje kao glavni izvor protoka gena u Jadranskom moru, s asimetričnim migracijskim obrascem od sjevernih prema južnim regijama.
14. Povezanost populacija je određena trajanjem pelagične faze ličinke i specifičnim oceanografskim karakteristikama. S obzirom na specifična strujanja u Jadranu i trajanje pelagične faze ličinke hlapa od dva do četiri tjedna genetički materijal se može prenijeti na relativno velikim udaljenostima, od 300 do 600 km.

15. Prosječna suvremena efektivna veličina populacije ( $N_E$ ) procijenjena za populacije hlapa je kolebala od 1,560 do 2,094, ovisno o korištenoj metodi, s preklapanjem intervala pouzdanosti ovih vrijednosti s povijesnim procjenama po populaciji. Najveće vrijednosti efektivne veličine populacije zabilježene su za populacije sjevernog Jadrana (AD\_UM i AD\_PU) te se uočene nešto veće vrijednosti efektivne veličine populacije do 20 % za ženke nego za mužjake. Procijenjeno očinsko generacijsko vrijeme (GI) hlapa iznosi 11,42 (95 % CI: 9,81 - 12,67) dok majčinsko GI iznosi 12,74 (95 % CI: 11,24 - 12,88).
16. Prosječna haplotipna raznolikost u svim istraživanim populacijama je iznosila 0,456, te su različite razine raznolikosti haplotipova hlapa uočene između sjevernog (0,44) i srednjeg Jadrana (0,62). Vrijednosti testova neutralnosti za ukupni uzorak bile su negativne, ali nisu statistički značajno odstupali od modela neutralne evolucije, pri čemu su analiza neusklađenosti distribucije i SSD test podržali hipotezu o iznenadnoj ekspanziji populacije. Vrijednosti parametra ekspanzije izračunate iz neusklađenosti distribucije svih sekvenci iz Jadranskog mora dale su procjene divergencije u rasponu od 13,5 do 18,9 kilo pb.
17. Postojeći pravni okvir u hrvatskom morskom ribarstvu za hlapa održava ulov u pozitivnom trendu, s biološkim karakteristikama koje ne upućuju na značajnu promjenu unutar analizirane populacije. Produljenje ribolovne sezone (obuhvaćanje travnja i rujna) nije preporučljivo, unatoč pozitivnom trendu ulova posljednjih godina. Preporuka za dodatne mjere za zaštitu hlapova su obilježavanje repne peraje u obliku V ureza za ženke s vanjskim jajima kako bi se zaštitile reproduktivno sposobne ženke i uspostava novih međusobno povezanih zaštićenih područja, ciljajući prvenstveno na istočni dio sjevernog Jadrana, područje prepoznato kao glavni izvor protoka gena prema rezultatima ovog istraživanja.

## 7. LITERATURA

1. Addison, J. T. (1995). Influence of behavioural interactions on lobster distribution and abundance as inferred from pot-caught samples. U: ICES Marine Science Symposia. International Council for the Exploration of the Sea, Copenhagen, Denmark, str. 294 - 300.
2. Addison, J. T. (1997). Lobster stock assessment: Report from a workshop; I. Marine and Freshwater Research, 48 (8): 941 - 944.
3. Addison, J. T., Lovewell, S. R. J. (1991). Size composition and pot selectivity in the lobster (*Homarus gammarus* (L.)) and crab (*Cancer pagurus* L.) fisheries on the east coast of England. ICES Journal of Marine Science, 48: 79 - 90.
4. Adloff, F., Somot, S., Sevault, F., Jordà, G., Aznar, R., Déqué, M., Herrmann, M., Marcos, M., Dubois, C., Padorno, E., Alvarez-Fanjul, E., Gomis, D. (2015). Mediterranean Sea response to climate change in an ensemble of twenty first century scenarios. Climate Dynamics, 45 (9–10): 2775 - 2802.
5. Agnalt, A-L., Kristiansen, T.S., Jørstad, K.E. (2007). Growth, reproductive cycle, and movement of berried European lobsters (*Homarus gammarus*) in a local stock off southwestern Norway. ICES Journal of Marine Science, 64: 288 - 297.
6. Agnalt, A. L., Farestveit, E., Gundersen, K., Jørstad, K. E., Kristiansen, T. S. (2009). Population characteristics of the world's northernmost stocks of European lobster (*Homarus gammarus*) in Tysfjord and Nordfolda northern Norway. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 43: 47 - 57.
7. Aiken, D. E., Waddy, S. L. (1986). Environmental influence on recruitment of the american lobster, *Homarus americanus*: a perspective. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 43: 2258 - 2270.
8. Aiken, D. E., Waddy, S.L. (1995). Aquaculture. U: Factor, J. R. (ur.), Biology of the lobster *Homarus americanus*. Academic Press, Inc., San Diego, str. 153 - 175.
9. Amos, W., Wilmer, J., Fullard, K., Burg, T. M., Croxall, J. P., Bloch, D., Coulson, T. (2001). The influence of parental relatedness on reproductive success. Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences, 268: 2021 - 2027.
10. Anderson, M.J. (2001). Permutation tests for univariate or multivariate analysis of variance and regression. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 58: 626 - 639.
11. Anderson, S.C., Mills Flemming, J., Watson, R., Lotze, H. K. (2011). Rapid global expansion of invertebrate fisheries: trends, drivers, and ecosystem effects. PLoS ONE, 6: e14735.
12. Anderson, M. J., Gorley, R. N., Clarke, K. R. (2008). PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods; PRIMER-E Ltd.: Plymouth, UK.
13. André, C., Knutsen, H. (2010). Development of twelve novel microsatellite loci in the European lobster (*Homarus gammarus*). Conservation Genetics Resources, 2: 233 - 236.

14. Antoniou, A., Magoulas, A. (2014). Application of Mitochondrial DNA in Stock Identification. U: Cadrin, S.X., Kerr, L.A., Mariani, S. (ur.), Stock Identification Methods. Second ed. Academic Press, San Diego, str. 257 - 295.
15. Aparicio, J. M., Ortego, J., Cordero, P. J. (2006). What should we weigh to estimate heterozygosity, alleles or loci? *Molecular Ecology*, 15: 4659 - 4665.
16. Araki, H., Schmid, C. (2010). Is hatchery stocking a help or harm? Evidence, limitations and future directions in ecological and genetic surveys. *Aquaculture*, 308: S2 - S11.
17. Artegiani, A., Bregant, D., Paschini, E., Pinardi, N., Raicich, F., Russo, A. (1997). The Adriatic Sea general circulation, part I: air– sea interactions and water mass structure. *Journal of Physical Oceanography*, 27: 1492 - 1514.
18. Atema, J., Voigt, R. (1995). Behavior and Sensory Biology. U: Factor, J.R. (ur.), Biology of the Lobster *Homarus americanus*. Academic Press, San Diego, str. 313 - 348.
19. Aubry, F.B., Cossarini, G., Acri, F., Bastianini, M., Bianchi, F., Camatti, E., De Lazzari, A., Pugnetti, A., Solidoro, C., Socal, G. (2012). Plankton communities in the northern Adriatic Sea: Patterns and changes over the last 30 years. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 115: 125 - 137.
20. Avise, J. C. (1994). Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York, 511 str.
21. Baggio, M. (2011). Estimating weight-length relationships without individual weight data: An application to the American lobster (*Homarus americanus*) fishery of Long Island Sound. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21: 771 - 777.
22. Bahri, T., Baragne, M., Moustahfid, H. (2018). Climate change and aquatic systems. U: Baragne, M., Bahri, T., Beveridge, M. C. M., Cochrane, K. L., Funge-Smith, S., Poulain, F. (ur.), Impacts of climate change on fisheries and aquaculture. Synthesis of current knowledge, adaptation and mitigation options. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 627. Rome, str. 1 - 19.
23. Ball, B., Linnane, A., Munday, B., Browne, R., Mercer, J.P. (2001). The effect of cover on in situ predation in early benthic phase European lobster *Homarus gammarus*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 81: 639 - 642.
24. Bannister, R. (1999). Crab and lobster: have we reached the critical point. Based on an article first published in *Fishing News*, 10.
25. Bannister, R. C. A. (2006). Towards a national development strategy for shellfish in England. Report for the Sea Fish Industry Authority. Shellfish Association of great Britain, 30 str. [www.shellfish.org.uk/files/Literature/Projects-Reports/0605-National-Shellfish-Strategy-Bannister.pdf](http://www.shellfish.org.uk/files/Literature/Projects-Reports/0605-National-Shellfish-Strategy-Bannister.pdf)
26. Barton, N.H., Briggs, D.E.G., Eisen, J.A., Goldstein, D.B., Patel, N.H. (2007). Evolution. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 833 str.



27. Bastari, A., Micheli, F., Ferretti, F., Pusceddu, A., Cerrano, C. (2016). Large marine protected areas (LMPAs) in the Mediterranean Sea: the opportunity of the Adriatic Sea. *Marine Policy*, 68: 165 - 177.
28. Batistić, M., Garić, R., Molinero, J.C. (2014). Interannual variations in Adriatic Sea zooplankton mirror shifts in circulation regimes in the Ionian Sea. *Climate Research*, 61: 231 - 240.
29. Baudron, A. R., Needle, C. L., Rijnsdorp, A. D., Tara Marshall, C. (2014). Warming temperatures and smaller body sizes: Synchronous changes in growth of North Sea fishes. *Global Change Biology*, 20: 1023 - 1031.
30. Beerli, P. (2006). Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters. *Bioinformatics*, 22: 341–345. doi:10.1093/bioinformatics/bti803.
31. Beerli, P. (2008). MIGRATE -- population genetics inference using the coalescent. <https://peterbeerli.com/migrate-html5/index.html>
32. Beerli, P., Felsenstein, J. (2001). Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 4563 - 4568. doi:10.1073/pnas.081068098
33. Bell, J.D., Leber, K.M., Blankenship, H.L., Loneragan, N.R., Masuda, R. (2008). A new era for restocking, stock enhancement and sea ranching of coastal fisheries resources. *Reviews in Fisheries Science*, 16: 1 - 8.
34. Ben-Hasan, A., Walters, C., Hordyk, A., Christensen, V., Al-Husaini, M. (2021). Alleviating Growth and Recruitment Overfishing through Simple Management Changes: Insights from an Overexploited Long-Lived Fish. *Marine and Coastal Fisheries*, 13: 87 - 98.
35. Ben Rais Lasram, F., Guilhaumon, F., Albouy, C., Somot, S., Thuiller, W., Mouillot, D. (2010). The Mediterranean Sea as a ‘cul de-sac’ for endemic fishes facing climate change. *Global Change Biology*, 16: 3233 - 3245.
36. Bennet, D. B., Howard, A. E. (1987). Estimates of lobster (*Homarus gammarus*) fecundity from East and West Britain. ICES Document CM 1987/K: 47, Oxford University Press, Oxford, UK.
37. Bennet, D., Casey, J., Dare, P., Dawson, W., Flatman, S., Hulme, T., Macer, C., Millner, R., Pickett, G., Vince, M., Lorange, P., Souplet, A., Giret, M., Morin, J., Berthou, A., Latrouite, D., Morizur, Y., Bossy, S., Ozanne, S. (1993). Identification biogéographique des principaux stocks exploités en Manche, relations avec ceux des régions voisines. Ifremer, 258 str. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00000/719/>
38. Bennett, D. B., Lovewell, S. R. J. (1977). The Effects of Pot Immersion Time on Catches of Lobsters *Homarus gammarus* (L) in the Welsh Coast Fishery. Great Britain Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 4 str.

39. Bergamasco, A., Oguz, T., Malanotte-Rizzoli, P. (1999). Modelling dense water mass formation and winter circulation in the northern and central Adriatic Sea. *Journal of Marine Systems*, 20: 279 - 300.
40. Bianchi, C. N., Morri, C., Chiantore, M., Montefalcone, M., Parravicini, V., Rovere, A. (2012). Mediterranean Sea biodiversity between the legacy from the past and a future of change. U: Stambler, N. (ur.), *Life in the Mediterranean Sea: A Look at Habitat Changes*. Nova Science Publishers, Inc., New York, str. 1 - 56.
41. Billington, N. (2003). Mitochondrial DNA. U: E. M. Hallerman (ur.), *Population genetics: principles and applications for fisheries scientists*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, str. 59 - 100.
42. Bingpeng, X., Heshan, L., Zhilan, Z., Chunguang, W., Yanguo, W., Jianjun, W. (2018). DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait. *PLoS ONE*, 13 (6): e0198109.
43. Board O. S. (2000). *Improving the Collection, Management and Use of Marine Fisheries Data*. National Academies Press, Washington, D.C, 236 str.
44. Boavida-Portugal, J., Rosa, R., Calado, R. Pinto, M., Boavida-Portugal, I., Araújo, M. B. Guilhaumon, F. (2018). Climate change impacts on the distribution of coastal lobsters. *Marine Biology*, 165: 186.
45. Boenish, R., Kritzer, J.P., Kleisner, K., Steneck, R. S., Werner, K. M., Zhu, W., Schram, F., Rader, D., Cheung, W., Ingles, J., Tian, Y., Mimikakis, J. (2021). The global rise of crustacean fisheries. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 20 (2): 102 - 110.
46. Boero, F., Féral, J. P., Azzurro, E., Cardin, V., Riedel, B., Despalatovic, M., Munda, I., Moschella P., Zaouali, J., Fonda Umani, S., Theocharis, A., Wiltshire, K., Briand, F. (2008). Executive summary. U: Briand, F.(ur.), *Climate warming and related changes in Mediterranean marine biota*. CIESM Workshop Monographs, No.35. CIESM, Monaco, str. 5 - 21.
47. Bonin, A., Bellemain, E., Bronken Eidesen, P., Pompanon, F., Brochmann, C., Taberlet, P. (2004). How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. *Molecular Ecology*, 13 (11): 3261 - 3273.
48. Boudreau, S. A., Anderson, S. C., Worm, B. (2015). Top-down and bottom-up forces interact at thermal range extremes on American lobster. *Journal of Animal Ecology*, 84: 840–850.
49. Bray, L., Kassis, D., Hall-Spencer, J. M. (2017). Assessing larval connectivity for marine spatial planning in the Adriatic. *Marine Environmental Research*, 125: 73 - 81.
50. Briones-Fourzán, P., Baeza-Martínez, K., Lozano-Álvarez, E. (2009). Nutritional indices of juvenile Caribbean spiny lobsters in a Mexican reef lagoon: Are changes over a 10-year span related to the emergence of *Panulirus argus* Virus 1 (PaV1)? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 370: 82 - 88.

51. Brown, M. L., Guy, C. S. (2007). Science and statistics in fisheries research. U: Guy, C. S., Brown, M. L. (ur.), Analysis and interpretation of freshwater fisheries data. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, str.1 - 29.
52. Browne, R., Benavente, G. P., Uglem, I., Balsa, C. M. (2009). An illustrated hatchery guide for the production of clawed lobsters (Using a green water technique), Galicia, 36 str.
53. Browne, R.M., Mercer, J.P., Duncan, M.J. (2001). An historical over-view of the Republic of Ireland's lobster (*Homarus gammarus* Linnaeus) fishery, with reference to European and North American (*Homarus americanus* Milne Edwards) lobster landings. U: Coastal Shellfish-A Sustainable Resource. Springer, str. 49 - 62.
54. Bueno-Pardo, J., Pierce, GJ., Cabecinha, E., Grilo, C., Assis, J., Valavanis, V., Pita, C., Dubert, J., Leitão, F., Queiroga, H. (2020). Trends and drivers of marine fish landings in Portugal since its entrance in the European Union. ICES Journal of Marine Science, 77 (3): 988 - 1001.
55. Buj, I., Miočić-Stošić, J., Marčić, Z., Mustafić, P., Zanella, D., Mrakovčić, M., Mihinjač, T., Čaleta, M. (2015). Population genetic structure and demographic history of *Aphanius fasciatus* (Cyprinodontidae, Cyprinodontiformes) from hypersaline habitats in the eastern Adriatic. Scientia Marina, 79 (4): 399-408.
56. Buljan, M., Zore-Armanda, M. (1976). Oceanographic properties of the Adriatic Sea. Oceanography and Marine Biology: An Annual Review, 14: 11 - 98.
57. Bürger, R., Lynch, M. (1997). Adaptation and extinction in changing environments. U: Bijlsma, R., Loeschcke, V. (ur.) Environmental Stress, Adaptation and Evolution. Experientia Supplementum, vol 83. Birkhäuser, Basel. [https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8882-0\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8882-0_12)
58. Caputi, N., Lestang, S., Frusher, S., Wahle, R. A. (2013). The Impact of Climate Change on Exploited Lobster Stocks. U: Phillips, B. (ur.), Lobsters: Biology, Management, Aquaculture and Fisheries. John Wiley & Sons, Ltd., Oxford, UK, str. 84 - 112.
59. Caputi, N., Melville-Smith, R., de Lestang, S., Pearce, A, Feng, M. (2010). The effect of climate change on the western rock lobster (*Panulirus cygnus*) fishery of Western Australia. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 67: 85 - 96.
60. Cadrin, S. X., Kerr, L. A., Mariani, S. (2014). Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science, 2nd Ed. Academic Press, Cambridge, 553 str.
61. Cetinić, P., Dulčić, J., Jardas, I., Kraljević, M., Matić, S., Pallaoro, A., Soldo, A. (2001). Istraživanje stanja naselja jastoga i hlapa. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split. 58 str.
62. Chapuis, M. P., Estoup, A. (2007). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. Molecular Biology and Evolution, 24: 621 - 631.
63. Charlesworth, B. (2009). Effective population size and patterns of molecular evolution and variation. Nature Reviews Genetics, 10: 195 - 205.

64. Cheung, W. W. L., Bruggeman, J., Butenschön, M. (2018). Projected changes in global and national potential marine fisheries catch under climate change scenarios in the twenty-first century. U: Baragne, M., Bahri, T., Beveridge, M. C. M., Cochrane, K. L., Funge-Smith, S., Poulain, F. (ur.), Impacts of climate change on fisheries and aquaculture. Synthesis of current knowledge, adaptation and mitigation options. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 627. Rome, str. 63 - 87.
65. Chistiakov, D. A., Hellemans, B., Volckaert, F. A. M. (2006). Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*, 255: 1 - 29.
66. Civitarese, G., M. Gačić, M. Lipizer, Borzelli, E. (2010). On the impact of the Bimodal Oscillating System (BiOS) on the biogeochemistry and biology of the Adriatic and Ionian Seas (Eastern Mediterranean). *Biogeosciences*, 7: 3987 - 3997.
67. Clarke, K. R., Gorley, R. N. (2015). PRIMER v7: User Manual/Tutorial; PRIMER-E Ltd.: Plymouth, UK.
68. Cobb, J. S., Castro, K. M. (2006). *Homarus* Species. U: Phillips, B. (ur.), Lobsters: Biology, Management, Aquaculture and Fisheries. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK. str. 310 - 339.
69. Cockcroft, A. C., van Zyl, D., Hutchings, L. (2008). Large-scale changes in the spatial distribution of South African West Coast rock lobsters: an overview. *African Journal of Marine Science*, 30: 149 - 159.
70. Coleman, M. T., Agnalt, A. - L., Emmerson, J., Laurens, M., Porter, J. S., Bell, M. C. (2020). From the Adriatic to Northern Norway - geographic differences in moult increment and moult probability of the European lobster (*Homarus gammarus*), across the natural range. *ICES Journal of Marine Science*, 78 (2): 611 - 620.
71. Coll, M., Piroddi, C., Albouy, C., Ben Rais Lasram, F., Cheung, W. W. L., Christensen, V., Karpouzi, V. S., Guilhaumon, F., Mouillot, D., Paleczny, M., Palomares, M. L., Steenbeek, J., Trujillo, P., Watson, R., Pauly, D. (2012). The Mediterranean Sea under siege: spatial overlap between marine biodiversity, cumulative threats and marine reserves. *Global Ecology and Biogeography*, 21: 465 - 480.
72. Colloca, F., Cardinale, M., Maynou, F., Giannoulaki, M., Scarcella, G., Jenko, K., Bellido, J. M., Fiorentino, F. (2013). Rebuilding Mediterranean fisheries: a new paradigm for ecological sustainability. *Fish and Fisheries*, 14: 89 - 109.
73. Coltman, D. W., Pilkington, J. G., Smith, J. A., Pemberton, J. M. (1999). Parasite-mediated selection against inbred Soay sheep in a free-living, Island population. *Evolution*, 53: 1259 - 1267.
74. Comeau, M., Savoie, F. (2002). Maturity and reproductive cycle of the female American lobster, *Homarus americanus*, in the southern Gulf of St. Lawrence, Canada. *Journal of Crustacean Biology* 22 (4): 762 - 774.
75. Conan, G. Y., Comeau, M., Moriyasu, M. (2001). Are Morphometrical Approaches Appropriate to Establish Size at Maturity for Male American Lobster, *Homarus americanus*? *Journal of Crustacean Biology*, 21: 937 - 947.

76. Corander, J., Waldmann, P., Sillanpaa, M. J. (2003). Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics*, 163: 367 - 374.
77. Cordero, D., Peña, J. B., Saavedra, C. (2014). Phylogeographic analysis of introns and mitochondrial DNA in the clam *Ruditapes decussatus* uncovers the effects of Pleistocene glaciations and endogenous barriers to gene flow. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 71: 274 - 287.
78. Cornuet, J. M., Piry, S., Luikart, G., Estoup, A., Solignac, M. (1999). New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics*, 153 (1): 1989 - 2,000.
79. Corrales, X., Coll, M., Ofir, E., Heymans, J. J., Steenbeek, J., Goren, M., Edelist, D., Gal, G. (2018). Future scenarios of marine resources and ecosystem conditions in the Eastern Mediterranean under the impacts of fishing, alien species and sea warming. *Scientific Reports*, 8: 14284.
80. Coulon, A. (2010). genhet: an easy-to-use R function to estimate individual heterozygosity. *Molecular Ecology Resources*, 10: 167 - 169.
81. Cowen, R. K., Gawarkiewicz, G., Pineda, J., Thorrold, S. R., Werner, F. E. (2007). Population connectivity in marine systems. *Oceanography*, 20: 14 - 21.
82. Cure, K., Thomas, L., Hobbs, J. P. A., Fairclough, D. V., Kennington, W. J. (2017). Genomic signatures of local adaptation reveal source-sink dynamics in a high gene flow fish species. *Scientific Reports*, 7: 8618.
83. Cushing, D.H. (1982). *Climate and Fisheries*. Academic Press, New York, NY, USA, 373 str.
84. Cushman-Roisin, B., Gačić, M., Poulain, P. M., Artegiani, A. (2001). *Physical oceanography of the Adriatic Sea. Past, Present and Future*. Springer, Dordrecht, 304 str.
85. Daniels, C. L., Wills, B., Ruiz-Perez, M., Miles, E., Wilson, R.W., Boothroyd, D. (2015). Development of sea based container culture for rearing European lobster (*Homarus gammarus*) around South West England. *Aquaculture*, 448: 185 - 195.
86. Debuse, V. J., Addison, J. T., Reynolds, J. D. (1999). The effects of sex ratio on sexual competition in the European lobster. *Animal Behaviour*, 58: 973 - 981.
87. Debuse, V. J., Addison, J. T., Reynolds, J. D. (2001). Morphometric variability in UK populations of the European lobster. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 81: 469 - 474.
88. Debuse, V. J., Addison, J. T., Reynolds, J. D. (2003). Effects of breeding site density on competition and sexual selection in the European lobster. *Behavioural Ecology*, 14: 396 - 402.
89. Deli, T., Bahles, H., Said, K., Chatti, N. (2015). Patterns of genetic and morphometric diversity in the marbled crab (*Pachygrapsus marmoratus*, Brachyura, Grapsidae) populations across the Tunisian coast. *Acta Oceanologica Sinica*, 34: 49 - 58.

90. Devescovi, M., Lucu, Č. (2000). Growth patterns of the lobster *Homarus gammarus* in the North Adriatic. *Periodicum Biologorum*, 102: 189 - 193.
91. Di Franco, A., Hogg, K. E., Calò, A., Bennett, N. J., Sévin-Allouet, M. - A., Esparza Alaminos, O., Lang, M., Koutsoubas, D., Prvan, M., Santarossa, L., Niccolini, F., Milazzo, M., Guidetti, P. (2020). Improving marine protected area governance through collaboration and co-production. *Journal of Environmental Management*, 269: 110757.
92. Di Rienzo, A., Peterson, A. C., Garza, J. C., Valdes, A. M., Slatkin, M. (1994). Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 3166 - 3170.
93. Djakovac, T., Degobbi, D. Supić, N., Precali, R. (2012). Marked reduction of eutrophication pressure in the northeastern Adriatic in the period 2000 - 2009. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 115: 25 - 32.
94. Do, C., Waples, R. S., Peel, D., Macbeth, G. M., Tillett, B. J., Ovenden, J. R. (2014). NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 14: 209 - 214.
95. Dulčić, J., Grbec, B. (2000). Climate change and Adriatic ichthyofauna. *Fisheries Oceanography*, 9:187 - 191.
96. Dulčić, J., Dragičević, B., (2011). Nove ribe Jadranskog i Sredozemnog mora. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb, 160 str.
97. Earl, D. A., VonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4: 359 – 361.
98. EC 1967/2006. European Union Council Regulation (EC) No. 1967/2006 of 21 December 2006. Concerning Management Measures for the Sustainable Exploitation of Fishery Resources in the Mediterranean Sea, Amending Regulation (EEC) No. 2847/93 and Repealing Regulation (EC) No. 1626/94, European Union, Brussels, Belgium.
99. Ellegren, H. (2004). Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5: 435 - 445.
100. Ellegren, H., Galtier, N. (2016). Determinants of genetic diversity. *Nature Reviews Genetics*, 17: 422 - 433. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.58>
101. Ellis, C. D., Hodgson, D. J., André, C., Sjørdalen, T. K., Knutsen, H., Griffiths, A. G. F. (2015a). Genotype reconstruction of paternity in European lobsters (*Homarus gammarus*). *PLoS One*, 10: 1 - 14.
102. Ellis, C. D., Hodgson, D. J., Daniels, C. L., Boothroyd, D. P., Bannister, R. C. A., Griffiths, A. G. F. (2015b). European lobster stocking requires comprehensive impact assessment to determine fishery benefits. *ICES Journal of Marine Science*, 72 (suppl\_1): i35–i48.

103. Ellis, C. D., Knott, H., Daniels, C. L., Witt, M. J., Hodgson, D. J. (2015c). Geographic and environmental drivers of fecundity in the European lobster (*Homarus gammarus*). ICES Journal of Marine Science, 72 (suppl\_1): i91 - i100.
104. Ellis, C. D., Hodgson, D. J., Daniels, C. L., Collins, M., Griffiths, A. G. F. (2017). Population genetic structure in European lobsters: implications for connectivity, diversity and hatchery stocking. Marine Ecology Progress Series, 563: 123 - 137.
105. Ellis, C.D., Jenkins, T.L., Svanberg, L. Eriksson, S.P., Stevens, J.R. (2020). Crossing the pond: genetic assignment detects lobster hybridisation. Scientific Reports, 10: 7781.
106. Estoup, A., Presa, P., Krieg, F., Vaiman, D., Guyomard, R. (1993). (CT)<sub>n</sub> and (GT)<sub>n</sub> microsatellites: a new class of genetic markers for *Salmo trutta* L. (brown trout). Heredity, 71: 488–496.
107. Estoup, A., Jarne, P., Cornuet, J.M. (2002). Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. Molecular Ecology, 11 (9): 1591 - 1604.
108. Estoup, A., Angers, B. (1998). Microsatellites and minisatellites for molecular ecology: theoretical and empirical considerations. U: Carvalho, G.R. (ur.), Advances in Molecular Ecology, NATO Science Series. IOS Press, Amsterdam, str. 55-86.
109. Estrella, B. T., Morrissey, T. D. (1997). Seasonal movement of off-shore American lobster, *Homarus americanus*, tagged along the eastern shore of Cape Cod, Massachusetts. Fisheries Bulletin, 95: 466 - 476.
110. Excoffier, L., Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources, 10: 564 - 567.
111. Fairall, C. W., Bradley, E. F., Rogers, D. P., Edson, J. B., Young, G. S. (1996). Bulk parameterization of air-sea fluxes for tropical ocean-global atmosphere coupled-ocean atmosphere response experiment. Journal of Geophysical Research, 101 (C2): 3747 - 3764.
112. Faubet, P., Waples, R. S., Gaggiotti, O. E. (2007). Evaluating the performance of a multilocus Bayesian method for the estimation of migration rates. Molecular Ecology, 16: 1149 - 1166.
113. FAO. (2016). The state of Mediterranean and Black Sea fisheries. General Fisheries Commission for the Mediterranean. Rome. 134 str. <http://www.fao.org/3/a-i5496e.pdf>.
114. FAO. (2018). Impacts of climate change on fisheries and aquaculture. Synthesis of current knowledge, adaptation and mitigation options. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 627. Rome, 654 str. <https://www.fao.org/3/i9705en/I9705EN.pdf>
115. FAO. (2021). Fishery and Aquaculture Statistics. Global capture production 1950 - 2019 (FishstatJ). FAO Fisheries Division, Rome. [www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en](http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en)

116. Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294 - 299.
117. Frankham, R. (2005). Genetics and extinction. *Biological Conservation*, 126: 131 - 140.
118. French McCay, D., Gibson, M., Cobb, J. (2003). Scaling restoration of American lobsters: combined demographic and discounting model for an exploited species. *Marine Ecology Progress Series*, 264: 177 - 196.
119. Froese R. (2006). Cube law, condition factor and weight–length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 241 - 253.
120. Fu, Y. - X. (1997). Statistical Tests of Neutrality of Mutations Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection. *Genetics*, 147 (2): 915 - 925.
121. Fütterer, D., Paul, J. (1976). Recent and Pleistocene sediments off the Istrian coast (Northern Adriatic). *Senckenbergiana maritima*, 8: 1 - 21.
122. Gačić, M., Borzelli, G. L. E., Civitarese, G., Cardin, V., Yari, S. (2010). Can internal processes sustain reversals of the ocean upper circulation? The Ionian Sea example. *Geophysical Research Letters*, 37: L09608.
123. Gaggiotti, O.E., Lange, O., Rassmann, K., Gliddon, C. (1999). A comparison of two indirect methods for estimating average levels of gene flow using microsatellite data. *Molecular Ecology*, 8: 1513 - 1520. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00730.x>
124. Galparsoro, I., Borja, Á., Bald, J., Liria, P., Chust, G. (2009). Predicting suitable habitat for the European lobster (*Homarus gammarus*), on the Basque continental shelf (Bay of Biscay), using Ecological-Niche Factor Analysis. *Ecological Modelling*, 220: 556 - 567.
125. Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S., Hurst, G.D.D. (2009). Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular Ecology*, 18: 4541 - 4550.
126. Gan, H.M., Grandjean, F., Jenkins, T.L., Austin, C. M. (2019). Absence of evidence is not evidence of absence: Nanopore sequencing and complete assembly of the European lobster (*Homarus gammarus*) mitogenome uncovers the missing nad2 and a new major gene cluster duplication. *BMC Genomics*, 20: 335.
127. Garza, J. C., Williamson, E. G. (2001). Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology*, 10: 305 - 318.
128. Gerber, A. S., Loggins, R., Kumar, S., Dowling, T. E. (2001). Does Nonneutral Evolution Shape Observed Patterns of DNA Variation in Animal Mitochondrial Genomes? *Annual Review of Genetics*, 35 (1): 539 - 566.
129. Glamuzina, L., Conides, A., Mancinelli, G., Dobroslavić, T., Bartulović, V., Matic-Skoko, S., Glamuzina, B. (2017). Population Dynamics and Reproduction of Mediterranean Green Crab *Carcinus aestuarii* in Parila Lagoon (Neretva Estuary, Adriatic Sea, Croatia) as Fishery Management Tools. *Marine and Coastal Fisheries*, 9 (1): 260 - 270.



130. Glenn, R. P., Pugh, T. L. (2006). Epizootic shell disease in American lobster (*Homarus americanus*) in Massachusetts coastal waters: Interactions of temperature, maturity, and intermolt duration. *Journal of Crustacean Biology*, 26: 639 - 645.
131. Gönülal, O. (2015). Spiny lobster (*Palinurus elephas* Fabricius, 1787) and common lobster (*Homarus gammarus* Linnaeus, 1758) fishing in the Aegean Sea. U: Katagan, T., Tokaç, A., Besiktepe, S., Öztürk, B. (ur.), *The Aegean Sea Marine Biodiversity, Fisheries, Conservation and Governance*. Turkish Marine Research Foundation (TUDAV), Istanbul, Turkey, 714 str.
132. Goldstein, S. J., Schlotterer, C. (1999). *Microsatellites: Evolution and Applications*. Oxford University Press, Oxford, UK, 352 str.
133. Goudet, J. (2002). FSTAT, A Program to Estimate And Test Gene Diversities And Fixation Indices (Version 2.9.3.2). <https://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
134. Grabowski, J. H., Clesceri, E. J., Baukus, A. J., Gaudette, J., Weber, M., Yund, P. O. (2010). Use of Herring Bait to Farm Lobsters in the Gulf of Maine. *PLoS ONE*, 5: e10188.
135. Green, B. S., Gardner, C., Hochmuth, J. D., Linnane, A. (2014). Environmental effects on fished lobsters and crabs. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 24: 613 - 638.
136. Greenan, B. J. W., Shackell, N. L., Ferguson, K., Greyson, P., Cogswell, A., Brickman, D., Wang, Z., Cook, A., Brennan, C. E., Saba, V. S. (2019). Climate Change Vulnerability of American Lobster Fishing Communities in Atlantic Canada. *Frontiers in Marine Science*, 6: 579.
137. Grubišić, F. (1988). *Ribe, rakovi i školjke Jadrana*. ITRO Naprijed, Zagreb, 239 str.
138. Haarr, M. L., Sainte-Marie, B., Comeau, M., Tremblay, M. J., Rochette, R. (2018). Female American lobster (*Homarus americanus*) size-at-maturity declined in Canada during the 20<sup>th</sup> and early 21<sup>st</sup> centuries. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 75: 908 - 924.
139. Hare, M. P., Nunney, L., Schwartz, M. K., Ruzzante, D. E., Burford, M., Waples, R. S., Ruegg, K., Palstra, F. (2011). Understanding and estimating effective population size for practical application in marine species management. *Conservation Biology*, 25 (3): 438 - 449.
140. Hammer, Ø., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. (2001). Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4: 1 - 9.
141. Hansen, M. M. (2003). Application of molecular markers in population and conservation genetics, with special emphasis on fishes. DSc Thesis, Faculty of Natural Sciences, University of Aarhus, 68 str.
142. Hartnoll, R. G. (1982). Growth. U: Abele, L.G. (ur.), *The Biology of Crustacea: Embriology, Morphology and Genetics*. Academic Press, New York, NY, USA, str. 111 - 196.
143. Hartnoll, R. G. (2001). Growth in Crustacea - twenty years on. *Hydrobiologia*, 449: 111 - 122.

144. Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings Biological Sciences*, 270 (1512): 313 - 321.
145. Hedgecock, D., Barber, P. H., Edmands, S. (2007). Genetic approaches to measuring connectivity. *Oceanography*, 20 (3): 70 - 79.
146. Hedgecock, D., Pudovkin, A. I. (2011). Sweepstakes reproductive success in highly fecund marine fish and shellfish: A review and commentary. *Bulletin of Marine Science*, 87: 971 - 1002.
147. Henson, S. A., Beaulieu, C., Ilyina, T., John, J. G., Long, M., Séférian, R., Tjiputra, J., Sarmiento, J. L. (2017). Rapid emergence of climate change in environmental drivers of marine ecosystems. *Nature Communications*, 8: 14682.
148. Hilborn, R. (2011). Future directions in ecosystem based fisheries management: A personal perspective. *Fisheries Research*, 108 (2–3): 235 - 239.
149. Hilborn, R., Walters, C. J. (2013). *Quantitative fisheries stock assessment: choice, dynamics and uncertainty*. Springer Science & Business Media, Dordrecht. 570 str.
150. Hill, W. G. (1981). Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genetics Research*, 38: 209 - 216.
151. Hinchcliffe, J., Agnalt, A. L., Daniels, C. L., Drengstig, A., Lund, I., McMinn, J., Powell, A. (2021). European lobster *Homarus gammarus* aquaculture: Technical developments, opportunities and requirements. *Reviews in Aquaculture*, 14 (2): 919 - 937.
152. Hoffmann, A. A., Merilä, J. (1999). Heritable variation and evolution under favourable and unfavourable conditions. *Trends in Ecology & Evolution*, 14: 96 - 101.
153. Holthuis, L. B. (1991). *FAO Species Catalogue. Marine lobsters of the World. An annotated and illustrated catalogue of species of interest to fisheries known to date*. FAO Fisheries Synopsis, 125: 13.
154. Hopkins, P. M. (2012). The eyes have it: A brief history of crustacean neuroendocrinology. *General and Comparative Endocrinology*, 175 (3): 357 - 366.
155. Horsford, I., Simon, H., Archibald, M., Webber, J., Joseph, T. (2014). Biology, status, and current management of the Caribbean Spiny Lobster (*Panulirus argus*). *Gulf and Caribbean Fisheries Institute*, 66, 423 - 433.
156. Huang, B., Banzon, V. F., Freeman, E., Lawrimore, J., Liu, W., Peterson, T. C., Smith, T. M., Thorne, P. W., Woodruff, S. D., Zhang H. - M. (2015). Extended Reconstructed Sea Surface Temperature Version 4 (ERSST. v4). Part I: Upgrades and intercomparisons. *Journal of Climate*, 28: 911 - 930.
157. Huserbråten, M. B. O., Moland, E., Knutsen, H., Olsen, E. M., André, C., Stenseth, N. Chr. (2013). Conservation, Spillover and Gene Flow within a Network of Northern European Marine Protected Areas. *PLoS ONE*, 8 (9): e73388.
158. Iona, A., Theodorou, A., Sofianos, S., Watelet, S., Troupin, C., Beckers, J. M. (2018). Mediterranean Sea climatic indices: monitoring long-term variability and climate changes. *Earth System Science Data*, 10: 1829 - 1842.

159. IPCC. (2014). Climate change 2014: Synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report on the Intergovernmental Panel on Climate Change. Core writing team, Pachauri, R.K., Meyer, L.A. (ur.), Geneva, Intergovernmental Panel on Climate Change. 151 str. <http://www.ipcc.ch/report/ar5/syr/>
160. Jakobsson, M., Rosenberg, N. A. (2007). CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23: 1801 - 1806.
161. Janeković, I., Mihanović, H., Vilibić, I., Tudor, M. (2014). Extreme cooling and dense water formation estimates in open and coastal regions of the Adriatic Sea during the winter of 2012. *Journal of Geophysical Research*, 119: 3200 - 3218.
162. Jenkins, T. L., Stevens, J. R. (2018). Assessing connectivity between MPAs: Selecting taxa and translating genetic data to inform policy. *Marine Policy*, 94: 165 - 173.
163. Jenkins, T. L., Ellis, C. D., Triantafyllidis, A., Stevens, J. R. (2019). Single nucleotide polymorphisms reveal a genetic cline across the north-east Atlantic and enable powerful population assignment in the European lobster. *Evolutionary Applications*, 12: 1881 - 1899.
164. Jenkins, T. L., Ellis, C. D., Durieux, E. D. H., Filippi, J., Braconi, J., Stevens, J. R. (2020). Historical translocations and stocking alter the genetic structure of a Mediterranean lobster fishery. *Ecology and Evolution*, 10: 5631 - 5636.
165. Jombart, T. (2008). *adegenet*: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24: 1403 - 1405.
166. Jørstad, K. E., Agnalt A. L., Kristiansen. T. S., Nøstvold, E. (2001). High survival and growth of European lobster juveniles (*Homarus gammarus*) reared communally on a natural-bottom substrate. *Marine and Freshwater Research*, 52: 1431 - 1438.
167. Jørstad, K. E., Prodohl, P. A., Agnalt, A. L., Hughes, M., Apostolidis, A., Triantafyllidis, A., Farestveit, E., Kristiansen, T., Mercer, J., Svasand, T. (2004). Sub-Arctic populations of European lobster (*Homarus gammarus*) in Northern Norway. *Environmental Biology of Fishes*, 69: 223 - 231.
168. Jørstad, K. E., Farestveit, E., Kelly, E., Triantaphyllidis, C. (2005). Allozyme variation in European lobster (*Homarus gammarus*) throughout its distribution range. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 39: 515 - 526.
169. Jost, L. (2008). G ST and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17: 4015 - 4026.
170. Kalikoski, D. C., Jentoft, S., Charles, A., Salazar Herrera, D., Cook, K., Béné, C., Allison, E. H. (2018). Understanding the impacts of climate change for fisheries and aquaculture: applying a poverty lens. U: Baragne, M., Bahri, T., Beveridge, M. C. M., Cochrane, K. L., Funge-Smith, S., Poulain, F. (ur.), Impacts of climate change on fisheries and aquaculture. Synthesis of current knowledge, adaptation and mitigation options. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 627. Rome, str. 19-41.

171. Kampouris, T. E., Koutsoubas, D., Milenkova, D., Economidis, G., Tamvakidis, S., Batjakas, I. E. (2020). New data on the biology and fisheries of the threatened *Palinurus elephas* (Fabricius, 1787) (Decapoda, achelata, Palinuridae) from the north-west Aegean Sea, Greece. *Water*, 12 (9): 2390. <https://doi.org/10.3390/W12092390>
172. Kampouris, T.E., Gkafas, G.A., Sarantopoulou, J., Exadactylos, A., Batjakas, I.E. (2021). An American in the Aegean: first record of the American lobster *Homarus americanus* H. Milne Edwards, 1837 from the eastern Mediterranean Sea. *BioInvasions Records*, 10 (1): 170 - 180.
173. Kell, L. T., Nash, R. D. M., Dickey-Collas, M., Mosqueira, I., Szuwalski, C. (2016). Is spawning stock biomass a robust proxy for reproductive potential? *Fish and Fisheries*, 17: 596 - 616.
174. Kilada, R., Driscoll, J. G. (2017). Age determination in crustaceans: A review. *Hydrobiologia*, 799: 21 - 36.
175. Kilada, R., Sainte-Marie, B., Rochette, R., Davis, N., Vanier, C., Campana S. (2012). Direct determination of age in shrimps, crabs, and lobsters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 69 (11): 1728 - 1733.
176. Kimura, M. (1983). *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
177. Kimura, M., Ohta, T. (1978). Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 75: 2868 - 2872.
178. Kimura, M., Crow, J. F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49: 725 - 738.
179. Kingman, J. F. C. (1982). The coalescent. *Stochastic processes and applications*, 13: 235 - 248.
180. Kleiven, A. R., Olsen, E. M., Vølstad, J. H. (2012). Total Catch of a Red-Listed Marine Species Is an Order of Magnitude Higher than Official Data. *PLoS ONE*, 7 (2): e31216.
181. Kleiven, A. R., Espeland, S. H., Stiansen, S., Ono, K., Zimmermann, F., Olsen, E. M. (2022). Technological creep masks continued decline in a lobster (*Homarus gammarus*) fishery over a century. *Scientific Reports*, 12: 3318.
182. Knight, J. R., Folland, C. K., Scaife, A. A. (2006). Climate impacts of the Atlantic Multidecadal Oscillation. *Geophysical Research Letters*, 33: L17706.
183. Knutsen, J. A., Kleiven, A. R., Olsen, E. M., Knutsen, H., Espeland, S. H., Sjørdalen, T. K., Thorbjørnsen, S. H., Hutchings, J. A., Fernández-Chacón, A., Huserbråten, M., Villegas-Ríos, D., Halvorsen, K. T., Nillos Kleiven, P. J., Langeland, T. K., Moland, E. (2022). Lobster reserves as a management tool in coastal waters: Two decades of experience in Norway. *Marine Policy*, 136: 104908.

184. Koeller, P. (1999). Influence of temperature and effort on lobster catches at different temporal and spatial scales and the implications for stock assessments. *Fisheries Bulletin*, 97: 62 - 70.
185. Kristiansen, T.S., Drenstvig, A., Bergheim, A., Drenstvig, T., Kollsgard, I., Svendsen, R., Nostvold, E., Farestveit, E., Aardal, L. (2004). Development of methods for intensive farming of European lobster in recirculated seawater. *Fisken og havet*, 6: 52.
186. Krouse, J.S. (1989) Performance and selectivity of trap fisheries for crustaceans. U: Caddy, J.F. (ur.), *Marine Invertebrate Fisheries: Their Assessment and Management*. Wiley, New York, NY, USA, str. 307 - 325.
187. Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K., Dudley, J. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1870 - 1874. doi:10.1093/molbev/msw054.
188. Laikre, I., Allendorf, F. W., Aroner, I.C., Baker, C. S., Gregovich, D. P., Hansen, M. M., Jackson, J. A., Kendall, K. C., Mckelvey, K., Neel, M. C., Olivieri, I., Ryman, N., Schwartz, M. K., Bull, R. S., Stetz, J. B., Tallmon, D. A., Taylor, B. L., Vojta, C. D., Waller, D. M., Waples, R. S. (2010). Neglect of genetic diversity in implementation of the convention on biological diversity. *Conservation Biology*, 24: 86 - 88.
189. Landers, D. F., Keser, M., Saila, S.B. (2001). Changes in female lobster (*Homarus americanus*) size at maturity and implications for the lobster resource in Long Island Sound, Connecticut. *Marine and Freshwater Research*, 52: 1283 - 1290.
190. Laurans, M., Fifas, S., Demaneche, S., Brérette, S., Debec, O. (2009). Modelling seasonal and annual variation in size at functional maturity in the European lobster (*Homarus gammarus*) from self-sampling data. *ICES Journal of Marine Science*, 66: 1892 - 1898.
191. Latrouite, D. (2001). Le homard (*Homarus gammarus*) du nord golfe de Gascogne-Manche ouest (divisions VIIe + VIIIa du CIEM). U: Contrat Ifremer/MAPA—Réf. 99-11-03-01 Rapport Final. Ifremer, Brest, France, str. 1 - 13.
192. Lawrence, A. J., Soame, J. M. (2004). The effects of climate change on the reproduction of coastal invertebrates. *Ibis*, 146: 29 - 39.
193. Le Bris, A., Mills, K. E., Wahle, R. A., Chen, Y., Alexander, M. A., Allyn, A. J., Schuetz, J. G., Scott, J. D., Pershing, A. J. (2018). Climate vulnerability and resilience in fisheries. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115 (8): 1831-1836.
194. Le Manach F., Dura D., Pere A., Riutort, J. J., Lejeune, P., Santoni, M. C., Culioli, J. M., Pauly, D. (2011). Preliminary estimate of total marine fisheries catches in Corsica, France (1950 - 2008). U: Zeller, D., Harper, S., (ur). *Fisheries catch reconstructions: Islands, Part II*. Fisheries Centre Reports, 19 (4). Fisheries Centre, University of British Columbia.
195. Ledoux, J. - B., Frleta-Valić, M., Kipson, S., Antunes, A., Cebrian, E., Linares, C., Sánchez, P., Leblois, R., Garrabou, J. (2018). Postglacial range expansion shaped the spatial genetic structure in a marine habitat-forming species: implications for conservation plans in the Eastern Adriatic Sea. *Journal of Biogeography*, 45: 2645 - 2657.

196. Legrand, T., Di Franco, A., Ser-Giacomi, E., Caló, A., Rossi, V. (2019). A multidisciplinary analytical framework to delineate spawning areas and quantify larval dispersal in coastal fish. *Marine Environmental Research*, 151: 104761.
197. Leme, M. H. A. (2005). Size at sexual maturity of female crabs *Sesarma rectum* Randall (Crustacea, Brachyura) and ontogenetic variations in the abdomen relative growth. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22: 433 - 437.
198. Librado, P., Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451 - 1452. doi:10.1093/bioinformatics/btp187.
199. Linnane, A., Ball, B., Munday, B., Mercer, J.P. (2000a). On the occurrence of juvenile lobster *Homarus gammarus* in intertidal habitat. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 80: 375 - 376.
200. Linnane, A., Mazzoni, D., Mercer, J.P. (2000b). A long-term mesocosm study on the settlement and survival of juvenile European lobster *Homarus gammarus* L. in four natural substrata. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 249: 51 - 64.
201. Linnane, A., Ball, B., Mercer, J.P., Browne, R., van der Meer, G.I., Ringvold, H., Bannister, R.C., Mazzoni, D., Munday, B. (2001). Searching for the early benthic phase (EBP) of the European lobster: a trans-European study of cobble fauna. *Hydrobiologia*, 465: 63 - 72.
202. Lipizer, M., Partescano, E., Rabitti, A., Giorgetti, A., Crise, A. (2014). Qualified temperature, salinity and dissolved oxygen climatologies in a changing Adriatic Sea. *Ocean Science*, 10: 771 - 797.
203. Litt, M., Luty, J. A. (1989). A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*, 44 (3): 397 - 401.
204. Lizárraga-Cubedo, H. A., Tuck, I., Bailey, N., Pierce, G. J., Kinneer, J. A. M. (2003). Comparisons of size at maturity and fecundity of two Scottish populations of the European lobster, *Homarus gammarus*. *Fisheries Research*, 65: 137 - 152.
205. Lizárraga-Cubedo, H.A., Tuck, I., Bailey, N., Pierce, G.J., Zuur, A.F., Bova, D. (2015). Scottish lobster fisheries and environmental variability. *ICES Journal of Marine Science*, 72: i211-i224. doi:10.1093/icesjms/fsu248.
206. Leonart, J., Maynou, F. (2003). Fish stock assessments in the Mediterranean: State of the art. *Scientia Marina*, 67: 37 - 49.
207. Lloret, J., Riera, V. (2008). Evolution of a Mediterranean coastal zone: human impacts on the marine environment of Cape Creus. *Environmental Management*, 42: 977 - 988.
208. Lloret, J., Sabatés, A., Muñoz, M., Demestre, M., Solé, I., Font, T., Casadevall, M., Martin, P., Gómez, S. (2015). How a multidisciplinary approach involving ethnoecology, biology and fisheries can help explain the spatio-temporal changes in marine fish abundance resulting from climate change. *Global Ecology and Biogeography*, 24 (4): 448 - 461.

209. Lloret, J., Cowx, I. G., Cabral, H., Castro, M., Font, T., Gonçalves, J. M. S., Gordo, A., Hoefnagel, E., Matic-Skoko, S., Mikkelsen, E., Morales-Nin, B., Moutopoulos, D. K., Muñoz, M., Neves dos Santos, M., Pintassilgo, P., Pita, C., Stergiou, K. I., Ünal, V., Erzini, K. (2018). Small-scale coastal fisheries in European Seas are not what they were: Ecological, social and economic changes. *Marine Policy*, 98: 176 - 186.
210. Lotze, H. K., Coll, M., Dunne, J. A. (2011). Historical changes in marine resources, food-web structure and ecosystem functioning in the Adriatic Sea, Mediterranean. *Ecosystems*, 14: 198 - 222.
211. Lowe, W. H., Allendorf, F. W. (2010). What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology*, 19: 3038 - 3051.
212. Luikart, G., Cornuet, J. - M. (1999). Estimating the effective number of breeders from heterozygote excess in progeny. *Genetics*, 151: 1211 - 1216.
213. Luikart, G., Ryman, N., Tallmon, D. A., Schwatz, M. K., Allendorf, F. W. (2010). Estimation of census and effective population sizes: the increasing usefulness of DNA-based approaches. *Conservation Genetics*, 11: 355 - 373.
214. Lunn K. E., Dearden, P. (2006). Monitoring small-scale marine fisheries: An example from Thailand's Ko Chang archipelago. *Fisheries Research*, 77: 60 - 71.
215. Macias, D., Garcia-Gorriz, E., Stips, A. (2013). Understanding the causes of recent warming of Mediterranean waters. How much could be attributed to climate change? *PloS ONE*, 8 (11): e81591.
216. Maltagliati, F., Di Giuseppe, G., Barbieri, M., Castelli, A., Dini, F. (2010). Phylogeography and genetic structure of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) inferred from the mitochondrial cytochrome b gene. *Biological Journal of the Linnean Society*, 100: 910 - 923.
217. Malvić, T., Velić, J. (2011). Neogene tectonics in croatian part of the pannonian basin and reflectance in hydrocarbon accumulations. U: Schattner, U. (ur.), *New Frontiers in Tectonic Research - at the Midst of Plate Convergence*. InTech, Rijeka, str. 215-238.
218. Manel, S., Gaggioti, O. E., Waples, R. S. (2005). Assignment methods: Matching biological questions with appropriate techniques. *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 136 - 142.
219. Marić, D., Kraus, R., Godrijan, J., Supić, N., Djakovac, T., Precali, R. (2012). Phytoplankton response to climatic and anthropogenic influences in the north-eastern Adriatic during the last four decades. *Estuarine and Coastal Shelf Science*, 115: 98 - 112.
220. Mariani, S., Bekkevold, D. (2014). The nuclear genome: neutral and adaptive markers in fishery science. U: Cadrin, S. X., Kerr, L. A., Mariani, S. (ur.), *Stock Identification Methods*. Second ed. Academic Press, San Diego, str. 297 - 328.
221. Marra, A., Mona, S., Sà, R. M., D'Onghia, G., Maiorano, P. (2015). Population genetic history of *Aristeus antennatus* (Crustacea: Decapoda) in the Western and Central Mediterranean Sea. *PLoS One*, 10: e0117272.

222. Martínez-Calderón, R., Lozano-Álvarez, E., Briones-Fourzán, P. (2018). Morphometric relationships and seasonal variation in size, weight, and a condition index of post-settlement stages of the Caribbean spiny lobster. *PeerJ*, 6: e5297.
223. Marty, L., Dieckmann, U., Ernande, B. (2015). Fisheries-induced neutral and adaptive evolution in exploited fish populations and consequences for their adaptive potential. *Evolutionary Applications*, 8: 47 - 63.
224. Matić-Skoko, S., Stagličić, N., Pallaoro, A., Kraljević, M., Dulčić, J., Tutman, P., Dragičević, B. (2011). Effectiveness of conventional management in Mediterranean type artisanal fisheries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 91: 314 - 324.
225. Matić-Skoko, S., Stagličić, N., Blažević, D., Šiljić, J., Iritani, D. (2016). Croatian marine fisheries (Adriatic Sea): 1950-2013. U: Pauly, D., Zeller, D., (ur.), *Global atlas of Marine Fisheries - A Critical Appraisal of Catches and Ecosystem Impacts*. Island Press, Washington, DC, USA, 232-232 str.
226. Matić-Skoko, S., Šegvić-Bubić, T., Mandić, I., Izquierdo-Gomez, D., Arneri, E., Carbonara, P., Grati, F., Ikica, Z., Kolutari, J., Milone, N., Sartor, P., Scarcella, G., Tokaç, A., Tzanatos, E. (2018). Evidence of subtle genetic structure in the sympatric species *Mullus barbatus* and *Mullus surmuletus* (Linnaeus, 1758) in the Mediterranean Sea. *Scientific Reports*, 8: 676.
227. Maunder, M. N., Punt, A. E. (2004). Standardizing catch and effort data: A review of recent approaches. *Fisheries Research*, 70 (2): 141 - 159.
228. Maunder, M. N., Sibert, J. R., Fonteneau, A., Hampton, J., Kleiber, P., Harley, S.J. (2006). Interpreting catch per unit effort data to assess the status of individual stocks and communities. *ICES Journal of Marine Science*, 63 (8): 1373 - 1385.
229. McCleese, D. W., Wildner, D. G. (1958). Overview of the Inshore Lobster Resources in the Scotia-Fundy Region. In *Canadian Atlantic Fisheries Scientific Advisory Committee (CAFSAC) Research Document 85*; CAFSAC: Halifax, Canada, 20 p.
230. Meirmans, P. G., Van Tienderen, P. H. (2004). GENOTYPE and GENODIVE: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, 4: 792 - 794.
231. Meirmans, P. G. (2012). The trouble with isolation by distance. *Molecular Ecology*, 21: 2839 - 2846.
232. Mejri, R., Lo Brutto, S., Ben Hassine, O. K., Arculeo, M. (2009). A study on *Pomatoschistus tortonesei* Miller 1968 (Perciformes, Gobiidae) reveals the Siculo-Tunisian Strait (STS) as a breakpoint to gene flow in the Mediterranean basin. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53: 596 - 601.
233. Melià, P., Schiavina, M., Rossetto, M., Gatto, M., Frascchetti, S., Casagrandi, R. (2016). Looking for hotspots of marine metacommunity connectivity: a methodological framework. *Scientific Reports*, 6: 23705.



234. Mente, E., Houlihan, D. F., Smith, K. (2001). Growth, feeding frequency, protein turnover, and amino acid metabolism in European lobster *Homarus gammarus* L. *Journal of Experimental Zoology*, 289 (7): 419 - 432.
235. Mercer, J. P., Browne, R. (1994). Lobster stock enhancement in Ireland. *Aquaculture Ireland*, 59: 20 - 24.
236. Mihanović, H., Vilibić, I., Dunić, N., Šepić, J. (2015). Mapping of decadal central Adriatic oceanographic variability and its relation to the BiOS regime. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 120: 5615 - 5630.
237. Mihanović, H., Janeković, I., Vilibić, I., Kovačević, V., Bensi, M. (2018). Modelling interannual changes in dense water formation on the northern Adriatic shelf. *Pure and Applied Geophysics*, 175: 4065 - 4081.
238. Miller R. J. (1990). Effectiveness of crab and lobster traps. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47: 1228 - 1251.
239. Miller, K., Charles, A., Barange, M., Brander, K., Gallucci, V. F., Gasalla, M. A., Khan, A., Munro, G., Murtugudde, R., Ommer, R. E., Perry, R.I. (2010). Climate change, uncertainty, and resilient fisheries: institutional responses through integrative science. *Progress in Oceanography*, 87, 338 - 346.
240. Mills, K. E., Pershing, A. J., Brown, C. J., Chen, Y., Chiang, F. - S., Holland, D. S., Lehuta, S., Nye, J. A., Sun, J. C., Thomas, A. C., Wahle, R. A. (2013). Fisheries management in a changing climate: lessons from the 2012 ocean heat wave in the Northwest Atlantic. *Oceanography*, 26 (2): 191 - 195.
241. Moland E., Olsen E. M., Knutsen H., Knutsen, J. A., Enersen, S. E., André, C., Stenseth, N. Chr. (2011). Activity patterns of wild European lobster *Homarus gammarus* in coastal marine reserves: implications for future reserve design. *Marine Ecology Progress Series*, 429: 197 - 207.
242. Moland, E., Olsen, E. M., Knutsen, H., Garrigou, P., Espeland, S. H., Kleiven, A. R., André, C., Knutsen, J. A. (2013a). Lobster and cod benefit from small-scale northern marine protected areas: inference from an empirical before-after control-impact study. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280: 20122679.
243. Moland, E., Ulmestrand, M., Olsen, E. M., Stenseth, N.C. (2013b). Long-term decrease in sex-specific natural mortality of European lobster within a marine protected area. *Marine Ecology Progress Series*, 491: 153 - 164.
244. Moland, E., Fernández-Chacón, A., Sjørdalen, TK., Villegas-Ríos, D., Thorbjørnsen, SH., Halvorsen, KT., Huserbråten, M., Olsen, EM., Nillos Kleiven, PJ., Kleiven, A. R., Knutsen, H., Espeland, S. H., Freitas, C. Knutsen, J. A. (2021). Restoration of Abundance and Dynamics of Coastal Fish and Lobster Within Northern Marine Protected Areas Across Two Decades. *Frontiers in Marine Science*, 8: 674756.
245. Molnar, J. L., Gamboa, R. L., Revenga, C., Spalding, M. D. (2008). Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6: 485 - 492.

246. Moore, P. A., Scholz, N., Atema, J. (1991). Chemical orientation of lobsters, *Homarus americanus*, in turbulent odor plumes. *Journal of Chemical Ecology*, 17 (7): 1293 - 1307.
247. NN 84/2015. Pravilnik o obavljanju gospodarskog ribolova na moru mrežama stajaćicama, klopkastim, udičarskim i probodnim ribolovnim alatima te posebnim načinima ribolova. Narodne Novine, 1640.
248. NN 42/2016. Pravilnik o zaštiti riba i drugih morskih organizama. Narodne Novine, 1096.
249. Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, 512 str.
250. Nillos Kleiven, P. J., Espeland, S. H., Olsen, E. M., Abesamis, R. A., Moland, E., Kleiven, A. R. (2019). Fishing pressure impacts the abundance gradient of European lobsters across the borders of a newly established marine protected area. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286 (1894): 20182455.
251. Nolasco, R., Gomes, I., Peteiro, L., Albuquerque, R., Luna, T., Dubert, J., Swearer, S. E., Queiroga, H. (2018). Independent estimates of marine population connectivity are more concordant when accounting for uncertainties in larval origins. *Scientific Reports*, 8: 2641.
252. Oddo, P., Pinardi, N., Zavatarelli, M., Coluccelli, A. (2006). The Adriatic basin forecasting system. *Acta Adriatica*, 47: 169 - 184.
253. Orlić, M., Dadić, V., Grbec, B., Leder, N., Marki, A., Matic, F., Mihanović, H., Beg Paklar, G., Pasarić, M., Pasarić, Z., Vilibić, I. (2006). Wintertime buoyancy forcing, changing seawater properties and two different circulation systems produced in the Adriatic. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 111: C03S07.
254. Orlić, M., Gačić, M., LaViolette, P. E. (2012). The currents and circulation of the Adriatic Sea. *Oceanologica Acta*, 15: 109 - 124.
255. Øresland, V., Ulmestrand, M. (2013). European lobster subpopulations from limited adult movements and larval retention. *ICES Journal of Marine Science*, 70: 532 - 539.
256. Osio, G. C., Orio, A., Millar, C. P. (2015). Assessing the vulnerability of Mediterranean demersal stocks and predicting exploitation status of unassessed stocks. *Fisheries Research*, 171: 110 - 121.
257. Ovenden, J. R., Berry, O., Welch, D. J., Buckworth, R. C., Dichmont, C. M. (2015). Ocean's eleven: a critical evaluation of the role of population, evolutionary and molecular genetics in the management of wild fisheries. *Fish and Fisheries*, 16: 125 - 159.
258. Paetkau, D., Slade, R., Burden, M., Estoup, A. (2004). Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology*, 13: 55 - 65.
259. Paine, R. T. (2010). Food chain dynamics and trophic cascades in inter-tidal habitats. U: Terborgh, J., Estes, J. A. (ur.), *Trophic cascades: predators, prey, and the changing dynamics of nature*. Washington, DC, Island Press, str. 21-35.

260. Pastor, F., Valiente, J.mA., Palau, J. L. (2018). Sea surface temperature in the Mediterranean: Trends and spatial patterns (1982-2016). *Pure and Applied Geophysics*, 175: 4017 - 4029.
261. Pauly D. (1998). Fishing down marine food webs. *Science*, 279: 860 - 863.
262. Pavičić, M., Vrdoljak, D., Matic-Skoko, S. (2018). Population structure and morphometric relationships of the european lobster (*Homarus gammarus*) in the eastern Adriatic Sea. U: Berillis, P., Karapanagiotidis, I. (ur.), *HydroMedit 2018 Book of Proceedings*. Volos, Greece, str. 692-693.
263. Pavičić, M., Dragičević, B., Žužul, I., Vrdoljak, D., Matic-Skoko, S., Šegvić-Bubić, T. (2020). First record of American lobster, *Homarus americanus* (H. Milne Edwards, 1837), in the Mediterranean Sea. *Bioinvasions Records*, 9: 83 - 88.
264. Peakall, R., Gilmore, S., Keys, W., Morgante, M., Rafalski, A. (1998). Cross-species amplification of soybean (*Glycine max*) simple sequence repeats (SSRs) within the genus and other legume genera: implications for the transferability of SSRs in plants. *Molecular Biology and Evolution*, 15 (10): 1275 - 1287.
265. Pecl, G., Frusher, S., Gardner, C., Haward, M., Hobday, A., Jennings, S., Nursey-Bray, M., Punt, A., Revill, H., van Putten, I. (2009). The east coast Tasmanian rock lobster fishery - vulnerability to climate change impacts and adaptation response options. Report to the Department of Climate Change, Commonwealth of Australia, Australia, 114 str.
266. Peery, M. Z., Kirby, R., Reid, B. N., Stoelting, R., Doucet-Béer, E., Robinson, S., Vásquez-Carrillo, C., Pauli, J. N., Palsbøll, P.J. (2012). Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines. *Molecular Ecology*, 21: 3403 - 3418.
267. Pere, A., Marengo, M., Lejeune, P., Durieux, E. D. H. (2019). Evaluation of *Homarus gammarus* (Crustacea: Decapoda: Nephropidae) catches and potential in a mediterranean small-scale fishery. *Scientia Marina*, 83: 69 - 77.
268. Perry, R. I., Cury, P., Brander, K., Jenning, S., Möllmann, C., Planque, B. (2010). Sensitivity of marine systems to climate and fishing: concepts, issues and management responses. *Journal of Marine Systems*, 79: 427 - 435.
269. Pérez-Losada, M., Nolte, M. J., Crandall, K. A., Shaw, P. W. (2007). Testing hypotheses of population structuring in the Northeast Atlantic Ocean and Mediterranean Sea using the common cuttlefish *Sepia officinalis*. *Molecular Ecology*, 16: 2667 - 2679.
270. Peterson, B. K., Weber, J. N., Kay, E. H., Fisher, H. S., Hoekstra, H. E. (2012). Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS One*, 7 (5): 37135.
271. Phillips, B. F. (2006). *Lobsters: Biology, Management, Aquaculture and Fisheries*. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
272. Phillips, B. F. (2013). *Lobsters: Biology, Management, Aquaculture and Fisheries*. Second Edition. John Wiley & Sons, Ltd, Oxford, UK.

273. Piry, S., Luikart, G., Cornuet, J. - M. (1999). Computer note. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90: 502 - 503.
274. Planque, B., Fromentin, J. M., Cury, P., Drinkwater, J. F., Jennings, S., Perry, R. I., Kifani, S. (2010). How does fishing alter marine populations and ecosystems sensitivity to climate? *Journal of Marine Systems*, 79: 403 - 417.
275. Pope, K. L., Lochmann, S., Young, M. K. (2010). Methods for assessing fish populations. U: Hubert, Wayne A; Quist, Michael C. (ur.), *Inland Fisheries Management in North America*, 3rd edition. American Fisheries Society, Bethesda, MD, str. 325 - 351.
276. Porras-Hurtado, L., Ruiz, Y., Santos, C., Phillips, C., Carracedo, Á., Lareu, M. V. (2013). An overview of STRUCTURE: Applications, parameter settings, and supporting software. *Frontiers in Genetics*, 4: 98.
277. Poulain, P. M. (2001). Adriatic Sea surface circulation as derived from drifter data between 1990 and 1999. *Journal of Marine Systems*, 29: 3 - 32.
278. Powell, W., Machray, G. C., Provan, J. (1996). Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*, 1 (7): 215 - 222.
279. Pranovi, F., Caccin, A., Franzoi, P., Malavasi, S., Zucchetta, M., Torricelli, P. (2013). Vulnerability of artisanal fisheries to climate change in the Venice Lagoon. *Journal of Fish Biology*, 83: 847 - 864.
280. Pranovi, F., Colla, S., Valeri, P., Anelli, M. (2016). Present and future status of artisanal fisheries in the Adriatic Sea (western Mediterranean Sea). *Ocean & Coastal Management*, 122: 49 - 56.
281. Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155: 945 - 959. <http://www.stats.ox.ac.uk/pritch/home.html>.
282. Prodöhl, P. A., Jørstad, K. E., Triantafyllidis, A., Katsares, V., Triantaphyllidis, C. (2007). European lobster-*Homarus gammarus*, U: Svåsand, T., Crosetti, D., García-Vázquez, E., Verspoor, E. (ur.), *Genimpact - Evaluation of Genetic Impact of AquaCulture Activities on Native Populations*. Final scientific report, 91 - 98 str.
283. Quetglas, A., Gaamour, A., Reñones, O., Missaoui, H., Zarrouk, T., Elabed, A., Goñi, R. (2004). Common spiny lobster (*Palinurus elephas* Fabricius 1787) fisheries in the western Mediterranean: A comparison of Spanish and Tunisian fisheries. *Bolletí de la Societat d'Història Natural de les Balears*, 47: 63 - 80.
284. R Core Team R: A Language and Environment for Statistical Computing; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria. <https://www.r-project.org/>
285. Radhakrishnan, E. V., Thangaraja, R., Vijayakumaran, M. (2015). Ontogenetic changes in morphometry of the spiny lobster, *Panulirus homarus homarus* (Linnaeus, 1758) from southern Indian coast. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 57: 05 - 13.

286. Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., Suchard, M. A. (2018). Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67: 901 - 904.
287. Raymond, M., Rousset, F. (1995). An exact test for population differentiation. *Evolution*, 49: 1280 - 1283.
288. Rheuban, J. E., Kavanaugh, M. T., Doney, S. C. (2017). Implications of future northwest Atlantic bottom temperatures on the American Lobster (*Homarus americanus*) fishery. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 122: 9387 - 9398.
289. Ribeiro, F. B., Matthews Cascon, H., Bezerra, L. E. A. (2013). Morphometric sexual maturity and allometric growth of the crab *Sesarma rectum* Randall, 1840 (Crustacea: Sesarmidae) in an impacted tropical mangrove in northeast Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41 (2): 361–368.
290. Riccioni, G., Landi, M., Ferrara, G., Milano, I., Cariani, A., Zane, L., Sella, M., Barbujani, G., Tinti, F. (2010). Spatio-temporal population structuring and genetic diversity retention in depleted Atlantic Bluefin tuna of the Mediterranean Sea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107: 2102 - 2107.
291. Ricker, W. E. (1973). Linear Regressions in Fishery Research. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 30: 409 - 434.
292. Ricker, W. E. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, 191, 382 str.
293. Rice, W. R. (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43: 223 - 225. doi:10.1111/j.1558-5646.1989.tb04220.x.
294. Rijnsdorp, A. D., Peck, M. A., Engelhard, G. H., Möllmann, C., Pinnegar, J. K. (2009). Resolving the effect of climate change on fish populations. *ICES Journal of Marine Science*, 66: 1570 - 1583.
295. Rogers, A. R., Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, 9: 552 - 569.
296. Rosenberg, N. A. (2004). DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4: 137 - 138.
297. Rossi, V., Ser-Giacomi, E., López, C., Hernández-García, E. (2014). Hydrodynamic provinces and oceanic connectivity from a transport network help designing marine reserves. *Geophysics Research Letters*, 41: 2883 - 2891.
298. Rousset, F. (2008). GENEPOP'007: A complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8: 103 - 106.
299. Rowe, G., Sweet, M., Beebee, T. J. C. (2017). *An introduction to molecular ecology*. Oxford University Press, 535 str.
300. Sabatini, L., Bullo, M., Cariani, A., Celić, I., Ferrari, A., Guarniero, I., Leoni, S., Marčeta, B., Marcone, A., Polidori, P., Raicevich, S., Tinti, F., Vrgoč, N., Scarcella, G. (2018). Good practices for common sole assessment in the Adriatic Sea: genetic and

- morphological differentiation of *Solea solea* (Linnaeus, 1758) from *S. aegyptiaca* (Chabanaud, 1927) and stock identification. *Journal of Sea Research*, 137: 57 - 64.
301. Salas, S., Chuenpagdee, R., Seijo, J. C., Charles, A. (2007). Challenges in the assessment and management of small-scale fisheries in Latin America and the Caribbean. *Fisheries Research*, 87: 5e16.
302. Santos, M. N., Gaspar, M. B., Vasconcelos, P., Monteiro, C. C. (2002). Weight-length relationships for 50 selected fish species of the Algarve coast (southern Portugal). *Fisheries Research*, 59: 289 - 295.
303. Schlötterer, C. (2000). Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109: 365 - 371.
304. Schlötterer, C., Pemberton, J. (1994). The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations. U: Schierwater, B., Streit, B., Wagner, G. P., DeSalle, R. (ur.), *Molecular ecology and evolution: Approaches and applications*. Birkhäuser, Basel, Switzerland, 203 - 214 str.
305. Schluter, D. (2000). *The Ecology of Adaptive Radiation*. Oxford University Press. Oxford, UK, 296 str.
306. Schmalenbach, I. (2009). Studies on the developmental conditions of the European lobster (*Homarus gammarus* Linnaeus, 1758) at the rocky island of Helgoland (German Bight, North Sea). PhD Thesis, University of Hamburg, 178 str.
307. Schmalenbach, I., Franke, H. D. (2010). Potential impact of climate warming on the recruitment of an economically and ecologically important species, the European lobster (*Homarus gammarus*) at Helgoland, North Sea. *Marine Biology*, 157 (5): 1127 - 1135.
308. Schoeman, D. S., Cockcroft, A. C., Van Zyl, D. L., Goosen, P. C. (2010). South African rock lobster *Jasus lalandii* commercial fishery. *South African Journal of Marine Science*, 24: 37 - 48.
309. Schubart, C. D., Diesel, R., Hedges, S. B. (1998). Rapid evolution to terrestrial life in Jamaican crabs. *Nature*, 393: 363 - 365.
310. Schwartz, M. K., Tallmon, D. A., Luikart, G. (1998). Review of DNA-based census and effective population size estimators. *Animal Conservation*, 1: 293 - 299.
311. Seeb, L. W., Seeb, J. E., Habicht, C., Farley, E. V., Utter, F. M. (2011). Single-nucleotide polymorphic genotypes reveal patterns of early juvenile migration of sockeye salmon in the Eastern Bering Sea. *Transactions of the American Fisheries Society*, 140: 734 - 748.
312. Selgrath, J. C., Hovel, K. A., Wahle, R. A. (2007). Effects of habitat edges on American lobster abundance and survival. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 353: 253 - 264.
313. Selkoe, K. A., Toonen, R. J. (2006). Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9 (5): 615 - 629.
314. Shaltout, M., Omstedt, A. (2014). Recent sea surface temperature trends and future scenarios for the Mediterranean Sea. *Oceanologia*, 56 (3): 411 - 443.

315. Shchepetkin, A. F., McWilliams, J. C. (2005). The regional oceanic modelling system: A split-explicit, free-surface, topography-following coordinate ocean model. *Ocean Modelling*, 9: 347–404.
316. Shchepetkin, A. F., McWilliams, J. C. (2009). Correction and commentary for “Ocean forecasting in terrain-following coordinates: Formulation and skill assessment of the regional ocean modeling system” by Haidvogel et al., *J. Comput. Phys.*, 227, pp. 3595 - 3624. *Journal of Computational Physics*, 228: 8985 - 9000.
317. Sheehy, M. R. J., Bannister, R. C. A., Wickins, J. F., Shelton, P. M. J. (1999). New perspectives on the growth and longevity of the European lobster (*Homarus gammarus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56: 1904 - 1915.
318. Shields, J. D. (2019). Climate change enhances disease processes in crustaceans: case studies in lobsters, crabs, and shrimps: *Journal of Crustacean Biology*, 39 (6): 673 - 683.
319. Sikora, M., Mihanović, H., Vilibić, I. (2014). Paleo-coastline of the Central Eastern Adriatic Sea, and paleo-channels of the Cetina and Neretva rivers during the last glacial maximum. *Acta Adriatica*, 55: 3 - 18.
320. Skerritt, D. J., Robertson, P. A., Mill, A. C., Polunin, N. V. C., Fitzsimmons, C. (2015). Fine-scale movement, activity patterns and home-ranges of European lobster *Homarus gammarus*. *Marine Ecology Progress Series*, 536: 203 - 219.
321. Skerritt, D. J., Bannister, R. C. A., Polunin, N. V. C., Fitzsimmons, C. (2020). Inter- and intra-specific interactions affecting crustacean trap fisheries - implications for management. *Fisheries Management and Ecology*, 27: 445 - 453.
322. Slatkin, M. (1985). Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*, 39: 53 - 65.
323. Slatkin, M. (2005). Seeing ghosts: the effect of unsampled populations on migration rates estimated for sampled populations. *Molecular Ecology*, 14: 67 - 73.
324. Smith, I. P., Collins, K. J., Jensen, A. C. (1999). Seasonal changes in the level and diel pattern of activity in the European lobster *Homarus gammarus*. *Marine Ecology Progress Series*, 186: 255 - 264.
325. Smith, I. P., Jensen, A. C., Collins, K. J., Matthey, E. L. (2001). Movement of wild European lobsters *Homarus gammarus* in natural habitat. *Marine Ecology Progress Series*, 222: 177 - 186.
326. Sjørdalen, T., Halvorsen, K. T., Harrison, H. G., Ellis, C. D., Vøllestad, L. A., Knutsen, H., Moland, E., Olsen, E. M. (2018). Harvesting changes mating behavior in European lobster. *Evolutionary Applications*, 11: 963 - 977.
327. Sjørdalen, T. K., Halvorsen, K. T., Vøllestad, L. A., Moland, E., Olsen, E. M. (2020). Marine protected areas rescue a sexually selected trait in European lobster. *Evolutionary Applications*, 13: 2222 - 2233.
328. Spanier, E., Lavalli, K. L., Goldstein, J. S., Groeneveld, J. C., Jordaan, G. L., Jones, C. M., Phillips, B. F., Bianchini, M. L., Kibler, R. D., Díaz, D., Mallol, S., Goñi, R., van Der Meer, G. I., Agnalt, A - L., Behringer, D. C., Keegan, W. F., Jeffs, A. (2015). A concise

- review of lobster utilization by worldwide human populations from prehistory to the modern era. *ICES Journal of Marine Science*, 72 (S1): i7–i21.
329. Sparre, P., Ursin E., Venema S. C. (1989). Introduction to tropical fish stock assessment. Part 1- Manual. FAO Fisheries Technical Paper No. 3061. FAO, Rome, 337 str.
330. Spiegelhalter, D. J., Best, N. G., Carlin, B. P., van der Linde, A. (2002). Bayesian measures of model complexity and fit. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)*, 64: 583 - 639.
331. Stagličić, N., Matić-Skoko, S., Pallaoro, A., Grgičević, R., Kraljević, M., Tutman, P., Dragičević, B., Dulčić, J. (2011). Long-term trends in the structure of eastern Adriatic littoral fish assemblages: Consequences for fisheries management. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 94: 263 - 271.
332. Steinback, S. R., Allen, R. B., Thunberg, E. (2008). The benefits of rationalization: The case of the American lobster fishery. *Marine Resource Economics*, 23 (1): 37 - 63.
333. Steneck, R. S., Wahle, R. A. (2013). American lobster dynamics in a brave new ocean. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 70: 1612 - 1624.
334. Sundelof, A., Bartolino, V., Ulmestrand, M., Cardinale, M. (2013). Multi-Annual Fluctuations in Reconstructed Historical Time-Series of a European Lobster (*Homarus gammarus*) Population Disappear at Increased Exploitation Levels. *PLoS ONE* 8 (4): e58160.
335. Svitoch, A. A., Selivanov, A. O., Yanina, T. A. (2000). The pont-caspian and Mediterranean basins in the Pleistocene (paleogeography and correlation). *Oceanology*, 40: 868 - 881.
336. Šegvić-Bubić, T., Grubišić, L., Trumbić, Ž., Stanić, R., Ljubković, J., Maršić-Lučić, J., Katavić, I. (2017). Genetic characterization of wild and farmed European seabass in the Adriatic Sea: assessment of farmed escapees using a Bayesian approach. *ICES Journal of Marine Science*, 74: 369 - 378.
337. Tajima F. (1983). Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, 105: 437 - 467.
338. Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123: 585 - 595.
339. Tanaka, K., Chen, Y. (2015). Spatiotemporal variability of suitable habitat for American lobster (*Homarus americanus*) in Long Island Sound. *Journal of Shellfish Research*, 34: 531 - 543.
340. Tanaka, K., Chen, Y. (2016). Modeling spatiotemporal variability of the bioclimate envelope of *Homarus americanus* in the coastal waters of Maine and New Hampshire. *Fisheries Research*, 177: 137 - 152.
341. The Shellfish Team (2014). Lobster (*Homarus gammarus*) Cefas Stock Status Report 2014. Cefas, UK.



342. Triantafyllidis, A., Apostolidis, A. P., Katsares, V., Kelly, E., Mercer, J., Hughes, M., Jørstad, K. E., Tsolou, A., Hynes, R., Triantaphyllidis, C. (2005). Mitochondrial DNA variation in the European lobster (*Homarus gammarus*) throughout the range. *Marine Biology*, 146: 223 - 235.
343. Trincardi, F., Correggiari, A., Roveri, M. (1994). Late quaternary transgressive erosion and deposition in a modern epicontinental shelf: the Adriatic semi enclosed basin. *Geo-Marine Letters*, 14: 41 - 51.
344. Tsikliras, A. C., Dinouli, A., Tsiros, V. - Z., Tsalkou, E. (2015). The Mediterranean and Black Sea fisheries at risk from overexploitation. *PLoS One*, 10: e0121188.
345. Tudor, M., Ivatek-Šahdan, S., Stanešić, A., Horvath, K., Bajić, A. (2013). Forecasting weather in Croatia using ALADIN numerical weather prediction model. U: Zhang, Y., Ray, P. (ur.), *Climate Change and Regional/Local Responses*. InTech, Rijeka, Croatia, str. 59 - 88.
346. Tully, O. (2001). Impact of the v-notch technical conservation measure on reproductive potential in a lobster (*Homarus gammarus* L.) fishery in Ireland. *Marine and Freshwater Research*, 52: 1551 - 1557.
347. Tully, O., Roantree, V., Robinson, M. (2001). Maturity, fecundity and reproductive potential of the European lobster (*Homarus gammarus*) in Ireland. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 81 (1): 61 - 68.
348. Turner, R., Hardy, M., Green, J., Polunin, N. (2009). *Defining the Northumberland Lobster Fishery*. Newcastle University, London, UK.
349. Uglem, I., Belchier, M., Svasand, T. (2005). Age determination of European lobsters (*Homarus Gammarus* L.) by histological quantification of lipofuscin. *Journal of Crustacean Biology*, 25: 95 - 99.
350. Ulrich, I., Müller, J., Schütt, C., Buchholz, F. (2001). A study of population genetics in the European lobster, *Homarus gammarus* (Decapoda, Nephropidae). *Crustaceana*, 74: 825 - 837.
351. Valenzuela-Quiñonez, F., Garza, J. C., De-Anda-Montañez, J. A., García-de-León, F. J. (2014). Inferring past demographic changes in a critically endangered marine fish after fishery collapse. *ICES Journal of Marine Science*, 71: 1619 - 1628.
352. van der Meeren, G.I., Chandrapavan, A., Breithaupt, T. (2008). Sexual and aggressive interactions in a mixed species group of lobsters *Homarus gammarus* and *H. americanus*. *Aquatic Biology*, 2: 191 - 200.
353. van Olst, J. C., Carlberg, J. M., Hughes, J. T. (1980). Chapter 10: Aquaculture. U: Cobb, J.S, Phillips, B. F. (ur.), *The biology and management of lobsters*. Vol II. Ecology and management. Academic Press, Inc., str. 333 - 384.
354. Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4: 535 - 538.

355. Vannuccini, S., Kavallari, A., Bellù, L. G., Müller, M., Wisser, D. (2018). Understanding the impacts of climate change for fisheries and aquaculture: global and regional supply and demand trends and prospects. U: Baragne, M., Bahri, T., Beveridge, M. C. M., Cochrane, K. L., Funge-Smith, S., Poulain, F. (ur.), Impacts of climate change on fisheries and aquaculture. Synthesis of current knowledge, adaptation and mitigation options. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 627. Rome, str. 1-19.
356. Vasilakopoulos, P., Maravelias, C. D., Tserpes, G. (2014). The alarming decline of mediterranean fish stocks. *Current Biology*, 24: 1643 - 1648.
357. Venables, W. N., Ripley, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S* Fourth edition. Springer, New York, 495 str.
358. Vilibić, I., Matijević, S., Šepić, J., Kušpilić, G. (2012). Changes in the Adriatic oceanographic properties induced by the Eastern Mediterranean Transient. *Biogeosciences*, 9: 2085 - 2097.
359. Vilibić, I., Šepić, J., Proust, N. (2013). Weakening of thermohaline circulation in the Adriatic Sea. *Climate Research*, 55: 217 - 225.
360. Vilibić, I., Mihanović, H., Janeković, I., Šepić, J. (2016). Modelling the formation of dense water in the northern Adriatic: sensitivity studies. *Ocean Modelling*, 101: 17 - 29.
361. Vilibić, I., Zemunik, P., Šepić, J., Dunić, N., Marzouk, O., Mihanović, H., Denamiel, C., Precali, R., Djakovac, T. (2019). Present-climate trends and variability in thermohaline properties of the northern Adriatic shelf. *Ocean Science*, 15: 1351 - 1362.
362. Villamor, A., Costantini, F., Abbiati, M. (2014). Genetic structuring across marine biogeographic boundaries in rocky shore invertebrates. *PLoS One*, 9: e101135.
363. Waddy, S., Aiken, D. E. (1986). Multiple fertilizations and consecutive spawning in large American lobsters, *Homarus americanus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 43: 2291 - 2294.
364. Waddy, S. L. (1988). Farming the homarid lobsters: State of the art. *World Aquaculture*, 19: 63 - 71.
365. Wahle, R. A., Fogarty, M. J. (2006). Growth and development: understanding and modelling growth variability in lobsters. U: Phillips, B. (ur.), *Lobsters: Biology, Management, Aquaculture and Fisheries*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, str. 1 - 44.
366. Wahle, R. A., Castro, K. M., Tully, O., Cobb, J. S. (2013). *Homarus*. U: Phillips, B. (ur.), *Lobsters: Biology, Management, Aquaculture and Fisheries*. John Wiley & Sons, Ltd., Oxford, UK, str 221 - 258.
367. Wahle, R. A., Dellinger, L., Olszewski, S., Jekielek, P. (2015). American lobster nurseries of southern New England receding in the face of climate change. *ICES Journal of Marine Science*, 72: 69 - 78.
368. Walters i Martell, (2004). *Fisheries Ecology And Management*. Princeton University Press, Princeton, NJ, 423 str.

369. Wang, J., Brekke, P., Huchard, E., Knapp, L. A., Cowlshaw, G. (2010). Estimation of parameters of inbreeding and genetic drift in populations with overlapping generations. *Evolution*, 64: 1704 - 1718.
370. Wang, J., Santiago, E., Caballero, A. (2016). Prediction and estimation of effective population size. *Heredity* 117: 193 - 206.
371. Walters, C. J., Martell, S. J. D. (2004). *Fisheries Ecology and Management*. Princeton University Press, Princeton, NJ, 448 str.
372. Waples, R. S. (1989). A generalized approach for estimating effective population size from temporal changes in allele frequency. *Genetics*, 121: 379 - 391
373. Waples, R. (1998). Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *Journal of Heredity*, 89: 438 - 450.
374. Waples, R. S., Gaggiotti, O. (2006). What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Molecular Ecology*, 15: 1419 - 1439.
375. Waples, R. S. Do, C. (2010). Linkage disequilibrium estimates of contemporary  $N_e$  using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evolutionary Applications*, 3: 244 - 262.
376. Ward, R. D., Woodwark, M., Skibinski, D. O. F. (1994). A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. *Journal of Fish Biology*, 44: 213 - 232.
377. Warton, D. I., Wright, I. J., Falster, D. S., Westoby, M. (2006). Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological Reviews*, 81: 259.
378. Waters, J. M., Fraser, C. I., Hewitt, G. M. (2013). Founder takes all: density-dependent processes structure biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 28 (2): 78 - 85.
379. Watson, H. V., McKeown, N. J., Coscia, I., Wootton, E., Ironside, J. E. (2016). Population genetic structure of the European lobster (*Homarus gammarus*) in the Irish Sea and implications for the effectiveness of the first British marine protected area. *Fisheries Research*, 183: 287 - 293.
380. Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., Kahl, G. (2005). *DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods and Applications*. CRC Press, Boca Raton, United States, 472 str.
381. Wells, J. V., Richmond, M. E. (1995). Populations, metapopulations, and species populations: what are they and who should care? *Wildlife Society Bulletin*, 23: 458 - 462.
382. Whitlock, M. C., McCauley, D. E. (1999). Indirect measures of gene flow and migration:  $F_{ST} \approx 1/(4Nm+1)$ . *Heredity*, 82: 117 - 125.
383. Wickins, J. F., Beard, T. W. (1991). Variability in size at moult among individual broods of cultured lobsters, *Homarus gammarus* (L.). *Aquaculture and Fisheries Management*, 22: 481 - 489.

384. Williamson, J. H. (2001). Broodstock management for imperilled and other fishes. U: Wedemeyer, G. A. (ur.), Fish hatchery management, second edition. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, str. 397 - 482.
385. Wilson, G. A., Rannala, B. (2003). Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics*, 163: 1177 - 1191.
386. Wood, J. M. (2018). New estimates and complications in the assessment of female functional maturity for the European lobster (*Homarus gammarus*) on the Yorkshire Coast (UK). *Journal of Fisheries*. 6 (2): 635 - 638.
387. Woodruff, J. (2017). Stock Assessment - An Evaluation of the Minimum Landing Size and the Pot Limitation Byelaw in the Northumberland Lobster Fishery. NIFCA, Northumberland, UK, 18 str.
388. Wright, S. (1931). Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, 16: 97 - 159.
389. WWF (2015). Living blue planet report. Species, habitats and human well-being. Gland, Switzerland, 72 str.
390. Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T. (1999). POPGENE Version 1.32 Microsoft Windows-based freeware for populations genetic analysis. University of Alberta, Edmonton.
391. Zar, J. H. (1999). Biostatistical Analysis 4th ed. Prentice Hall, Hoboken, NJ, USA, 663 str.
392. Zardoya, R., Castilho, R., Grande, C., Favre-Krey, L., Caetano, S., Marcato, S., Krey, G., Patarnello, T., (2004). Differential population structuring of two closely related fish species, the mackerel (*Scomber scombrus*) and the chub mackerel (*Scomber japonicus*), in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology*, 13: 1785 - 1798.
393. Zhang, D. X., Hewitt, G. M. (2003). Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular Ecology*, 12: 563 - 584.
394. Zhao, X., Ding, P., Pang, J. (2019). Implications of ocean bottom temperatures on the catch ability of American lobster. *E3S Web of Conferences*, 79: 03007.
395. Zheng, J., Murphy, M. C., Kruse, G. H. (1995). A length-based population model and stock-recruitment relationships for red king crab, *Paralithodes camtschaticus*, in Bristol Bay, Alaska. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52: 1229 - 1246.
396. Žužul, I., Šegvić-Bubić, T., Talijančić, I., Džoić, T., Lepen Pleić, I., Beg Paklar, G., Ivatek-Šahdan, S., Katavić, I., Grubišić, L. (2019). Spatial connectivity pattern of expanding gilthead seabream populations and its interactions with aquaculture sites: a combined population genetic and physical modelling approach. *Scientific Reports*, 9: 14718.

Internetski navodi:

National Lobster Hatchery. Pristupljeno sa:

<https://www.nationallobsterhatchery.co.uk/>

## 8. PRILOZI

**Tablica P1.** Sažeta statistika za genetičku raznolikost vrste *Homarus gammarus*, prikazuje broj uzoraka (n), broj alela (nA), opaženu heterozigotnost (Ho) i očekivanu heterozigotnost (He) i fiksacijski indeks (FIS) za 14 mikrosatelitnih lokusa za svih 13 populacija.

Lo		AD_VE_A	AD_UM_A	AD_PU_A	AD_LO_A	AD_AN_A	AD_HV_A	AD_VI_A	LG_CO_A	IO_PA_A	EG_AL_A	AD_UM_J	AD_PU_J	AD_AN_J
D106	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	6	6	7	6	6	6	6	7	4	5	5	5	5
	HO	0,85	0,85	0,77	0,82	0,79	0,67	0,75	0,86	1,00	0,80	0,63	0,67	0,81
	HE	0,78	0,80	0,79	0,78	0,80	0,75	0,73	0,76	0,82	0,74	0,78	0,69	0,75
	FIS	-0,1	-0,07	0,02	-0,06	0,02	0,11	-0,04	-0,13	-0,26	-0,08	0,21	0,03	-0,08
C118	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	6	6	6	6	6	6	6	6	4	5	4	6	6
	HO	0,65	0,60	0,60	0,74	0,71	0,62	0,57	0,61	0,50	0,55	0,63	0,71	0,50
	HE	0,59	0,58	0,60	0,70	0,68	0,59	0,54	0,58	0,79	0,73	0,65	0,63	0,62
	FIS	-0,11	-0,05	0,06	-0,05	-0,05	-0,05	-0,06	-0,04	0,4	0,25	0,04	-0,13	0,2
B4	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	4	5	6	6	4	5	4	6	2	3	3	4	3
	HO	0,45	0,48	0,50	0,56	0,50	0,49	0,46	0,61	0,25	0,45	0,13	0,58	0,50
	HE	0,54	0,50	0,55	0,82	0,58	0,40	0,40	0,62	0,25	0,38	0,24	0,48	0,45
	FIS	0,17	0,03	0,09	-0,17	0,14	-0,21	-0,15	0,02	0	-0,19	0,5	-0,22	-0,13
D117	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	3	7	5	6	4	6	5	3	3	6	3	5	4
	HO	0,60	0,48	0,58	0,68	0,79	0,62	0,75	0,46	0,75	0,55	0,75	0,29	0,69
	HE	0,55	0,59	0,59	0,60	0,60	0,61	0,62	0,44	0,61	0,56	0,54	0,58	0,56
	FIS	-0,1	0,18	0,02	-0,14	-0,32	-0,01	-0,22	-0,05	-0,29	0,02	-0,42	0,50	-0,23
C103	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	6	7	6	6	5	5	6	5	3	4	4	6	5
	HO	0,70	0,71	0,73	0,65	0,71	0,82	0,79	0,64	0,75	0,60	0,75	0,71	0,75
	HE	0,64	0,69	0,70	0,72	0,70	0,73	0,69	0,70	0,71	0,63	0,64	0,71	0,72
	FIS	-0,09	-0,02	-0,04	-0,10	-0,01	-0,13	-0,14	0,08	-0,06	0,05	-0,18	0,01	-0,05
C120	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	7	9	10	9	6	9	8	7	5	6	4	7	6
	HO	0,70	0,75	0,81	0,74	0,71	0,69	0,71	0,79	1,00	0,55	0,63	0,54	0,75
	HE	0,79	0,80	0,84	0,78	0,77	0,81	0,78	0,86	0,86	0,59	0,78	0,82	0,79
	FIS	0,12	0,06	0,04	0,06	0,08	0,15	0,08	0,09	-0,2	0,07	0,21	0,34	0,05
B6	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	5	6	6	7	5	6	6	6	5	6	5	5	7
	HO	0,90	0,79	0,73	0,82	0,71	0,82	0,79	0,79	0,75	0,75	1,00	0,67	0,75
	HE	0,76	0,73	0,76	0,83	0,74	0,75	0,77	0,76	0,86	0,72	0,78	0,74	0,69
	FIS	-0,18	-0,08	0,04	0,01	0,04	-0,1	-0,02	-0,04	0,14	-0,04	-0,32	0,11	-0,08
D129	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	6	7	6	7	4	6	8	6	4	5	3	7	6
	HO	0,55	0,79	0,54	0,65	0,57	0,72	0,71	0,61	0,75	0,70	0,63	0,67	0,81
	HE	0,53	0,77	0,56	0,69	0,66	0,69	0,74	0,63	0,75	0,59	0,69	0,63	0,69
	FIS	-0,04	-0,03	0,03	0,07	0,14	-0,04	0,03	0,03	0	-0,19	0,10	-0,05	-0,19
C6	n	20	48	48	34	14	39	28	27	/	20	8	24	16
	nA	6	6	6	6	4	6	5	7	/	2	3	6	6
	HO	0,40	0,33	0,40	0,29	0,21	0,31	0,25	0,41	/	0,10	0,25	0,50	0,63
	HE	0,36	0,37	0,40	0,36	0,32	0,30	0,26	0,49	/	0,10	0,24	0,50	0,56
	FIS	-0,11	0,09	0,01	0,2	0,35	-0,01	0,06	0,18	/	-0,03	-0,04	0,01	-0,12

<b>C129</b>	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	8	6	9	8	7	10	9	7	5	7	5	8	6
	HO	0,70	0,67	0,75	0,74	0,57	0,72	0,71	0,71	0,75	0,75	0,63	0,75	0,75
	HE	0,81	0,73	0,77	0,82	0,77	0,83	0,79	0,71	0,79	0,77	0,79	0,83	0,73
	FIS	0,14	0,08	0,03	0,1	0,26	0,14	0,1	-0,001	0,05	0,03	0,22	0,1	-0,03
<b>D110</b>	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	6	8	9	10	7	8	8	9	4	8	7	5	7
	HO	0,85	0,73	0,77	0,88	0,71	0,74	0,86	0,71	1,00	0,80	0,88	0,54	0,81
	HE	0,71	0,76	0,78	0,78	0,77	0,77	0,77	0,78	0,75	0,69	0,79	0,71	0,74
	FIS	-0,2	0,05	0,01	-0,14	0,08	0,04	-0,12	0,09	-0,41	-0,17	-0,11	0,24	-0,1
<b>C131b</b>	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	9	9	10	10	8	10	9	10	4	9	7	8	9
	HO	0,65	0,83	0,77	0,79	1,00	0,79	0,96	0,79	0,75	0,80	1,00	0,75	0,88
	HE	0,81	0,82	0,80	0,85	0,86	0,86	0,86	0,79	0,75	0,87	0,87	0,80	0,70
	FIS	0,2	-0,02	0,04	0,07	-0,17	0,07	-0,12	0,01	0	0,08	-0,17	0,06	-0,1
<b>C111</b>	n	20	48	48	34	14	39	28	28	4	20	8	24	16
	nA	5	6	5	5	4	5	4	7	4	6	4	4	6
	HO	0,60	0,63	0,85	0,88	0,86	0,74	0,71	0,75	1,00	0,80	0,50	0,75	0,75
	HE	0,71	0,73	0,75	0,74	0,68	0,69	0,76	0,70	0,79	0,77	0,75	0,68	0,74
	FIS	0,16	0,15	-0,14	-0,19	-0,27	-0,08	0,06	-0,08	-0,33	-0,04	0,35	-0,11	-0,01
<b>D111</b>	n	20	48	48	34	14	39	28	27	4	20	8	24	16
	nA	7	7	7	8	7	7	8	8	4	6	4	8	6
	HO	0,65	0,73	0,69	0,59	0,50	0,69	0,75	0,78	0,75	0,75	0,50	0,67	0,69
	HE	0,73	0,68	0,68	0,71	0,71	0,72	0,76	0,70	0,79	0,65	0,65	0,71	0,72
	FIS	0,11	-0,07	-0,004	0,18	0,3	0,04	0,01	-0,12	0,05	-0,17	0,24	0,06	0,05

## 9. ŽIVOTOPIS

Mišo Pavičić rođen je 09. siječnja 1988. u Splitu, u Hrvatskoj. Završio je opću gimnaziju u Jelsi na otoku Hvaru 2006. godine te je upisao studij Biologija i Ekologija mora pri Sveučilišnom odjelu za studije mora Sveučilišta u Splitu. Preddiplomski studij je završio 2010. godine te postao prvostupnik biologije i ekologije mora. Diplomski studij je završio 2012. godine i stekao titulu magistra biologije i ekologije mora. Od 2014. godine radi na Institutu za oceanografiju i ribarstvo, gdje je obavljao poslove povezane s biologijom i ekologijom riba, priobalnim ribolovom, terenskim istraživanjima, obradom i analizom podataka. Pod mentorstvom dr. sc. Sanje Matić-Skoko i dr. sc. Tanje Šegvić Bubić (Institut za oceanografiju i ribarstvo) upisuje poslijediplomski doktorski studij Oceanologije na Geološkom odsjeku Prirodosovnog-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu 2016 godine. Od 2017. godine nacionalni je izvjestitelj za Okvirnu direktivu o morskoj strategiji i Direktivu o kakvoći vode za kupanje. Sudjelovao je na brojnim nacionalnim i međunarodnim projektima. Također, sudjelovao je na nekoliko nacionalnih i međunarodnih usavršavanja vezanih za statističku obradu podataka i genetiku. Prvi je autor na pet znanstvenih radova te koautor na dvanaest znanstvenih radova. Na međunarodnim znanstvenim konferencijama je sudjelovao kao prvi autor s osam poster prezentacija te koautor na 18 prezentacija.



## ZNANSTVENA AKTIVNOST I PUBLIKACIJE

### ZNANSTVENI RADOVI

Matić-Skoko, S., **Pavičić, M.**, Šepić, J., Janeković, I., Vrdoljak, D., Vilibić, I., Stagličić, N., Šegvić-Bubić, T., Vujević, A. (2022). Impacts of Sea Bottom Temperature on CPUE of European Lobster *Homarus gammarus* (Linnaeus, 1758; Decapoda, Nephropidae) in the Eastern Adriatic Sea. *Frontiers in marine science*, 9: 891197. doi:10.3389/fmars.2022.891197.

Matić-Skoko, S., Vrdoljak, D., Uvanović, H., **Pavičić, M.**, Tutman, P., Bojanić Varezić, D., Kovačić, M. (2022). Effects of Interannual Environmental Changes on Juvenile Fish Settlement in Coastal Nurseries: The Case of the Adriatic Sea. *Frontiers in Marine Science*, 9: 849902. doi:10.3389/fmars.2022.849092.

Kovačić, M., Dragičević, B., **Pavičić, M.**, Žužul, I., Šegvić-Bubić, T. (2022). New records of recently described *Zebrus pallaoroi* (Actinopterygii: Gobiiformes: Gobiidae) with notes on its morphology, ecology, and molecular identification. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 52 (1), 13-19. doi:10.3897/aiep.52.79723.

Gorjanc, S., Klančnik, K., Papadopoulou, N. K., Murillas-Maza, A., Jarni, K., Paramana, T., **Pavičić, M.**, Ronchi, F., Uyerra, M. C., Koren, Š., Dassenakis, M., Vidjak, O., Smith, C. J., Skejić, S. (2022). Evaluating the progress in achieving Good Environmental Status in the Mediterranean: A methodology to assess the effectiveness of Marine Strategy Framework Directive's Programmes of Measures. *Marine policy*, 136: 104889. doi:10.1016/j.marpol.2021.104889.

Dulčić, J., **Pavičić, M.**, Žužul, I., Stanić, R., Ugarković, P., Dragičević, B. (2021). First record of the marlin sucker *Remora osteochir* (Cuvier, 1829) (Carangiformes, Echeneidae) in the Adriatic Sea. *Cybium*, 45 (4): 303-306. doi:10.26028/cybium/2021-454-006.

Stagličić, N., Bojanić Varezić, D., Kurtović Mrčelić, J., **Pavičić, M.**, Tutman, P. (2021). Marine litter on the shallow seafloor at Natura 2000 sites of the Central Eastern Adriatic Sea. *Marine pollution bulletin*, 168: 112432. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112432.

**Pavičić, M.**, Matić-Skoko, S., Vrdoljak, D., Vujević, A. (2021). Population Characteristics of the European Lobster, *Homarus gammarus* in the Adriatic Sea: Implications for Sustainable Fisheries Management. *Water*, 13 (8): 1072. 15 doi:10.3390/w13081072.

Orfanidis, S., Alvito, A., Azzurro, E., Badreddine, A., Ben Souissi, J., Chamorro, M., Crocetta, F., Dalyan, C., Fortič, A., Galanti, L., Geyran, K., Ghanem, R., Goruppi, A., Grech, D.,

Katsanevakis, S., Madrenas, E., Mastrototaro, F., Montesanto, F., **Pavičić, M.**, Pica, D., Pola, L., Pontes, M., Ragkousis, M., Rosso, A., Sánchez-Tocino, L., Tierno de Figueroa, J. M., Tiralongo, F., Tirelli, V., Tsioli, S., Tunçer, S., Vrdoljak, D., Vuletin, V., Zaouali, J., Zenetos, A. (2021). New Alien Mediterranean Biodiversity Records (March 2021). *Mediterranean Marine Science*, 22 (1): 180-198. doi:<https://doi.org/10.12681/mms.25294>.

Matić-Skoko, S., Vrdoljak, D., Uvanović, H., **Pavičić, M.**, Tutman, P., Bojanić Varezić, D. (2020). Early evidence of a shift in juvenile fish communities in response to conditions in nursery areas. *Scientific reports*, 10: 21078. doi:10.1038/s41598-020-78181-w.

**Pavičić, M.**, Žužul, I., Matić-Skoko, S., Triantafyllidis, A., Grati, F., Durieux, E. D. H., Celić, I., Šegvić-Bubić, T. (2020). Population Genetic Structure and Connectivity of the European Lobster *Homarus gammarus* in the Adriatic and Mediterranean Seas. *Frontiers in Genetics*, 11: 576023. doi:10.3389/fgene.2020.576023.

Murillas-Maza, A., Uyarra, M., Papadopoulou, K., Smith, C., Gorjanc, S., Klancnik, K., Paramana, T., Chalkiadaki, O., Dassenakis, M. & **Pavicic, M.** (2020). Programmes of measures of the marine strategy framework directive: Are they contributing to achieving good environmental status in the Mediterranean? *Marine Pollution Bulletin*, 161: 111715. doi:10.1016/j.marpolbul.2020.111715.

**Pavičić, M.**, Dragičević, B., Žužul, I., Vrdoljak, D., Matić-Skoko, S., Šegvić-Bubić, T. (2020). First record of American lobster, *Homarus americanus* (H. Milne Edwards, 1837), in the Mediterranean Sea. *BioInvasions Records*, 9 (1): 83-88. <https://doi.org/10.3391/bir.2020.9.1.11>

**Pavičić, M.**, Šiljić, J., Brajčić-Jurica, D., Matić-Skoko, S. (2018). Feeding habits of the striped red mullet, *Mullus surmuletus* in the eastern Adriatic Sea. *Acta Adriatica*, 59 (1): 123-136.

Stamouli, C. , Akel, E. H. KH. , Azzurro, E., Bakui, R., Bas, A. A. , Bitar. G. , Boyaci, Y.Ö., Cakalli, M., Corsini-Foka, M, Crocetta, F., Dragičević, B., Dulčić, J., Durucan, F., El Zrelli, R., Erguden, D., Filiz, H., Giardina, F., Giovo, I., Gönülal, O., Hemeida, F., Kassar, A.,Kondylatos, G., Macali, A., Mancini, E., Ovalis, P., Paladini de Mendoza, F., **Pavičić, M.**, Rabaoui, L., Rizikalla, S.I., Tiralongo, F., Turan, C., Vrdoljak, D., Yapici, S., Zenetos, A. (2017). On the occurrence of the alien mollusc *Rapana venosa* in the Croatian part of the Adriatic Sea. *Mediterranean Marine Science*, 18 (3): 534–556. doi: <http://dx.doi.org/10.12681/mms.15823>.

Tutman, P., Bojanić-Varezić, D., Prvan, M., Božanić, J., Nazlić, M., Šiljić, J., **Pavičić, M.** (2017). Integrirano planiranje u cilju smanjivanja utjecaja otpada iz mora – projekt DeFishGear. *Tehnoeko*, 67 (1): 20-29.

**Pavičić, M.**, Šiljić, J., Dugandžić, P., Skaramuca, B. (2014). New Record of Blue Runner, *Caranx crysos* (Mitchill, 1815), in the Adriatic Sea. *Croatian Journal of Fisheries*, 72: 235 – 240.

Dulčić, J., Dragičević, B., **Pavičić, M.**, Ikica, Z., Joksimović, A., Marković, O. (2014). Additional records of non-indigenous, rare and less known fishes in the eastern Adriatic. *Annales, Series Historia Naturalis*, 24 (1): 17-22.

## KONGRESNA PRIOPĆENJA

Šiljić, J., **Pavičić, M.**, Tutman, P. (2014). Marine Litter in the Croatian part of the Adriatic Sea. Mediterranean Conference on Combating Marine Litter in the Adriatic MacroRegion. Athens, Greece.

**Pavičić, M.**, Šiljić, J., Tutman, P., Bojanić Varezić, D. (2015). Fishing for litter activities in the fishing port Vira, island of Hvar, Croatia. U: Pojana, G. (ur.), Proceedings of In the Wake of Plastics. University Ca'Foscari, Venecija, str. 70-70.

Bojanić Varezić, D., Tutman, P., Šiljić, J., **Pavičić, M.** (2015). Marine litter – accumulation hot spots on the Croatian part of the Adriatic Sea. U: Pojana, G. (ur.), Proceedings of In the Wake of Plastics. University Ca'Foscari, Venecija, str. 56-56.

Šiljić, J., Bojanić Varezić, D., **Pavičić, M.**, Tutman, P. (2015). The occurrence of microplastic debris in the sea surface and on the beaches of middle Adriatic Sea, Croatia. U: Pojana, G. (ur.), Proceedings of In the Wake of Plastics. University Ca'Foscari, Venecija, str. 63-63.

Tutman, P., Žuljević, A., Cvitković, I., **Pavičić, M.**, Šiljić, J., Bojanić Varezić, D. (2015). Ghost-net fishing along the Croatian coastline; occurrence and biological impact on marine biodiversity, a preliminary assesment. U: Pojana, G. (ur.), Proceedings of In the Wake of Plastics. University Ca'Foscari, Venecija, str. 29-29.

Šiljić, J., **Pavičić, M.**, Tutman, P., Brajčić, D., Bojanić Varezić, D., Matić-Skoko, S. (2015). Microplastic occurrence and diet composition in red mullet, *Mullus surmuletus*, in eastern

Adriatic sea. U: Kržan, A., Horvat, P. (ur.), Proceedings of the MICRO2015 Seminar of microplastics issues. National Institute of Chemistry, Ljubljana, str. 66-66.

Tutman, P., Bojanić Varezić, D., Šiljić, J., **Pavičić, M.** (2016). Targeted recovery of ghost nets – Implementation insights from a Croatian experience. U: Regional Meeting – Joint commitment for marine litter free Mediterranean Sea. Tirana, Albanija.

Tutman, P., Bojanić Varezić, D., Prvan, M., Nazlić, M., Božanić, J., Šiljić, J., **Pavičić, M.** (2016). Integrirano planiranje u cilju smanjivanja utjecaja morskog otpada – projekt DeFishGear. U: Milanović, Z., Sinčić, D., Jeftić, Lj., Kalambura, S., Žunec, N. (ur.), Konferencija o zaštiti okoliša - Vizije gospodarenja otpadom. Opatija, Hrvatska.

Vrdoljak, D., Matić-Skoko, S., **Pavičić, M.**, Stagličić, N., Bojanić Varezić, D., (2017). Assessment of predator (dolphins) damage along the eastern Adriatic coast. Book of abstracts SEEIC 2017. Sarajevo, str. 41-41.

**Pavičić, M.**, Vrdoljak, D., Matić-Skoko, S., (2017). Population structure of common lobster, *Homarus gammarus* in the northern Adriatic Sea. U: Ramšak, A., Francé, J., Orlando-Bonaca, M., Turk, V., Flander-Putrlle, V., Mozetič, P., Lipej, L., Tinta, T., Trkov, D., Turk Dermastia, T., Malej, A. (ur.), Abstract Book 52<sup>nd</sup> European Marine Biology Symposium. Piran, Slovenia, str. 172-172.

Vrdoljak, D., Grubišić, L., **Pavičić, M.**, Matić-Skoko, S., (2017). Determination of sexual dimorphism of common octopus (*Octopus vulgaris*) and implications for aquaculture. Aquaculture Europe 2017 Abstracts. Dubrovnik, str. 1238-1238.

Vrdoljak, D., Uvanović, H., Mertz-Kraus, R., Matić-Skoko, S., **Pavičić, M.**, Peharda, M. (2018). Assessment of otolith geochemistry for identifying gilthead seabream, *Sparus aurata* Linnaeus 1758. movement between marine waters and estuaries. U: Kružić, P., Caput Mihalić, K., Gottstein, S., Pavoković, D., Kučinić, M. (ur.), Book of abstracts of the 13<sup>th</sup> Croatian biological congress. Poreč, Croatia, str. 318-318.

**Pavičić, M.**, Vilibić, I., Šepić, J., Vrdoljak, D., Šegvić Bubić, T., Vujević, A., Matić-Skoko, S. (2018). Temperature-driven abundance change of the European lobster (*Hommarus gammarus*) in the Adriatic Sea. U: Kružić, P., Caput Mihalić, K., Gottstein, S., Pavoković, D., Kučinić, M. (ur.), Book of abstracts of the 13<sup>th</sup> Croatian biological congress. Poreč, Croatia, str. 304-304.

**Pavičić, M.**, Vrdoljak, D., Matić-Skoko, S. (2018). Population structure and morphometric relationships of the european lobster (*Homarus gammarus*) in the eastern Adriatic Sea. U: Berillis, P., Karapanagiotidis, I. (ur.), HydroMedit 2018 Book of Proceedings. Volos, Greece, str. 692-693.

Vrdoljak D., Matić-Skoko S., Tutman P., Bojanić Varezić D., Uvanović H., **Pavičić M.** (2018). Temporal trends in the structure of juvenile ichthyocommunities in the eastern middle Adriatic. U: Berillis, P., Karapanagiotidis, I. (ur.), HydroMedit 2018 Book of Proceedings. Volos, Greece, str. 782-783.

Bojanić Varezić, D., Tutman, P., Stagličić, N., **Pavičić, M.** (2019). Preliminarni rezultati praćenja stanja otpada na morskom dnu u području ekološke mreže Natura 2000 otoka Lokruma (HR4000017 Lokrum). U: Crnčević, M., Bratoš Cetinić, A. (ur.), Zbornik sažetaka znanstveno-stručnog skupa s međunarodnim sudjelovanjem „Otok Lokrum: Od znanstvenih spoznaja do upravljanja zaštićenim područjem“. Javna ustanova Rezervat Lokrum, Dubrovnik.

Bojanić Varezić, D., Stagličić, N., Tutman, P., **Pavičić, M.**, Kurtović Mrčelić, J., Rožić, S., Žunec, A. (2019). Preliminary results of seafloor monitoring of marine litter in the Natura 2000 sites (Vis and Pakleni islands, Croatia). U: Book of Abstracts of the International Conference Adriatic Biodiversity Protection – AdriBioPro2019. Institute of Marine Biology, University of Montenegro, Kotor, Montenegro, str. 45-45.

Vrdoljak, D., Matić-Skoko S., Tutman P., Bojanić Varezić D., Uvanović H., **Pavičić M.** (2019). Temporal trends in abundance, biomass, diversity and structure of eastern middle Adriatic coastal fish assemblages. U: Book of Abstracts of the International Conference Adriatic Biodiversity Protection – AdriBioPro2019. Institute of Marine Biology, University of Montenegro, Kotor, Montenegro, str. 36-36.

Matić-Skoko, S., Vrdoljak, D., Tutman, P., Bojanić Varezić, D., Uvanović, H., **Pavičić, M.** (2019). Preliminary assessment of *Diplodus vulgaris* (Sparidae) nursery grounds along the eastern coast of the Adriatic Sea. U: Book of Abstracts of the International Conference Adriatic Biodiversity Protection – AdriBioPro2019. Institute of Marine Biology, University of Montenegro, Kotor, Montenegro, str. 37-37.

**Pavičić, M.**, Vrdoljak, D., Matić-Skoko, S. (2019). First record of American lobster (*Homarus americanus*) in the Adriatic Sea. U: Book of Abstracts of the International Conference Adriatic

Biodiversity Protection – AdriBioPro2019. Institute of Marine Biology, University of Montenegro, Kotor, Montenegro, str. 79-79.

Vrdoljak D., Uvanović H., Mertz-Kraus R., Matić-Skoko S., **Pavičić M.**, Peharda M. (2019). Otolith geochemistry of *Diplodus puntazzo* and *Diplodus vulgaris* from marine waters and estuaries in the eastern Adriatic Sea. U: Peharda, M., Ezgeta-Balić, D., Uvanović, H. (ur.), Book of Abstracts of the 5<sup>th</sup> International Sclerochronology Conference, ISC 2019. Split, Croatia, str. 168-168.

Vrdoljak, D., Uvanović, H., Mertz-Kraus, R., Matić-Skoko, S., **Pavičić, M.**, Peharda M. (2019). Otolith analysis to investigate variation in early life of the gilthead sea bream, *Sparus aurata* in the eastern Adriatic Sea. U: Kottelat, M., Buj, I., Bohlen, J., Correia, A. T., Kalous, L., Rüber, L. (ur.), XVI European Congress of Ichthyology. Lausanne, Switzerland, str. 247-248.

**Pavičić, M.**, Matić-Skoko, S., Vrdoljak, D., Uvanović, H. (2019). Preliminary assessment of sheltered sandy beaches as fish nursery grounds along the eastern coast of the Adriatic Sea. U: Kottelat, M., Buj, I., Bohlen, J., Correia, A. T., Kalous, L., Rüber, L. (ur.), XVI European Congress of Ichthyology. Lausanne, Switzerland, str. 335-336.

**Pavičić, M.**, Šegvić-Bubić, T., Žužul, T., Vrdoljak, D., Matić-Skoko, S. (2019). Population structure and genetic diversity of the European lobster (*Homarus gammarus*). 54<sup>th</sup> European Marine Biology Symposium - Book of Abstracts. Dublin, Ireland, str. 176-176.

Dulčić, J., Dragičević, B., Matić-Skoko, S., **Pavičić, M.**, Vrdoljak, D. (2019). Bluefish, *Pomatomus saltatrix* again in the fishing catches in the northern Adriatic. U: Briand, F. (ur.), Rapport Du 42<sup>e</sup> Congres De La CIESM. Cascais, Portugal, str. 277-277.

**Pavičić, M.**, Dragičević, B., Stagličić, N., Vrdoljak, D. (2021). *Abudefduf cf. saxatilis*, a new record in the Eastern Adriatic Sea. U: Jelaska, S. (ur.), Book of Abstracts of the 4th Croatian Symposium on Invasive Species. Zagreb, Croatia, str. 91-91.

### **Sudjelovanja na radionicama:**

1. Multivariate Analysis in Ecology (& Other Sciences), using PRIMER version 7 - online workshop, 14th-18th June 2021.
2. An overview of otolith microchemistry: an introduction into some of the analytical challenges and statistical approaches – 11th of June 2021, Institute of Oceanography and Fisheries, Split, Croatia.
3. ICES Training course: Genetics in support of fisheries and aquaculture management 17-19 September 2019, Centre of Marine Sciences (CCMAR) University of Algarve, Portugal.
4. Getting started with R, from the 18th to the 22nd of June 2018, Berlin, Germany. (Physalia Courses).
5. Isotopes in marine and fisheries ecology, October 17, 2018. Institute of Oceanography and Fisheries, Split.
6. Methods and analysis in dendochronology and sclerochronology, September 24, 2018. Institute of Oceanography and Fisheries, Split.